รายงาน
ผลงานวิจัยประจำปี ๒๕๕๓
เล่ม ๓

ลำดับเลขที่ ๑/๒๕๕๔

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

คำนำ

“รายงานผลงานวิจัย ประจำปี 2553” เป็นเอกสารวิชาการที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จัดทำจากผลงานวิจัยของข้าราชการ จากกลุ่มกีฏและสัตววิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช กลุ่มวิจัยวัชพืช และกลุ่มวิจัยการกักกันพืช และกลุ่มบริหารศัตรูพืช ที่ดำเนินงานด้วยงบประมาณ ภายใต้**แผนงานวิจัยและพัฒนากรมวิชาการเกษตร ปี 2549 - 2553** ประกอบด้วยผลงานวิจัยด้านอารักขาพืชที่ครอบคลุม 8 โครงการวิจัย ได้แก่ ศึกษาการป้องกันกำจัดศัตรูพืชชนิดใหม่ ศึกษาการจัดการศัตรูพืชสำคัญทางเศรษฐกิจ ศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชต่อศัตรูธรรมชาติ ศึกษาการบริหารศัตรูพืชแบบผสมผสาน การผลิตและการใช้สารสกัดจากพืชทดแทนสารเคมี การผลิตและการใช้ชีวภาพและชีวินทรีย์ การกักกันพืช และการเฝ้าระวังศัตรูพืช และยังรวมถึงงานวิจัยด้านอื่น ๆ ได้แก่ เทคโนโลยีชีวภาพ การอนุรักษ์ทรัพยากรพันธุกรรม การคุ้มครองพันธุ์พืช พืชสมุนไพร พืชผัก และเห็ด ไม้ดอกไม้ประดับ พืชไร่เศรษฐกิจ และไม้ผลเศรษฐกิจ เป็นการรวมการดำเนินงาน จาก 15 แผนงาน 42 โครงการวิจัย 65 กิจกรรม นอกจากนี้ยังมีโครงการเร่งด่วนที่ได้รับมอบหมายเป็นภารกิจเพิ่มเติมที่สำนักฯ ต้องรับผิดชอบ รวมจำนวนการทดลองทั้งสิ้น 240 เรื่อง โดยทุกการทดลองเป็นการดำเนินงานที่เสร็จสิ้นตามแผนงานวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

การจัดทำผลงานวิจัยเล่มนี้ เสร็จสมบูรณ์เรียบร้อยด้วยดีเพราะ ความร่วมมือร่วมใจของนักวิจัยทุกท่าน จากกลุ่มวิชาการ ของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่มุ่งหวังจะเผยแพร่ผลงานด้านอารักขาพืชที่ตนได้วิจัยด้วยความพากเพียร และมุ่งมั่น ให้ผู้สนใจได้นำข้อมูลไปใช้ประโยชน์ ทั้งการอ้างอิง การประยุกต์ เพื่อขยายผล ตลอดจนการต่อยอดผลงานวิจัย สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จึงขอขอบคุณผู้เกี่ยวข้องทุกท่านไว้ในโอกาสนี้ด้วย

(นางพิศวาท บัวรา)
ผู้อำนวยการสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
พฤษภาคม 2554

สารบัญ

หน้า

รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553 เล่มที่ 1.....1-668

รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553 เล่มที่ 2.....669-1603

รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553 เล่มที่ 3.....1604-2191

รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553 เล่มที่ 4.....2192-2854

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

โครงการวิจัย ศึกษาสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชชนิดใหม่ 07-01-49-01

กิจกรรม ศึกษาสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชชนิดใหม่

กิจกรรมย่อย ศึกษาสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชชนิดใหม่

การทดลอง - ทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสำคัญในมะม่วง.....1
07-01-49-01-01-01-04-49
➢ *สราญจิต ไกรฤกษ์ และคณะ*

- ทดสอบและเปรียบเทียบประสิทธิภาพสารสกัดจากพืช.....16
ในการป้องกันกำจัดหอยเชอรี่; *Pomacea* sp.
07-01-49-01-01-01-07-49
➢ *ชมพูนุท จรรยาเพศ และคณะ*

- ประสิทธิภาพแบคทีเรีย ไวรัส และสารฆ่าแมลงในการ.....33
ป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอม
07-01-49-01-01-01-11-49
➢ *อุราพร หนูนารถ และคณะ*

- การศึกษาประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดวัชพืชชนิดใหม่.....41
ในพืชเศรษฐกิจ (ถั่วเหลืองฝักสด)
07-01-49-01-01-01-23-51
➢ *คมสัน นครศรี และคณะ*

- ทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงบางชนิดป้องกันกำจัด.....50
แมลงปากดูดในกระเจี๊ยบเขียวโดยวิธีราดบริเวณโคนต้น
07-01-49-01-01-01-24-51
➢ *ทวีศักดิ์ ชโยภาส และคณะ*

- ประสิทธิภาพแบคทีเรีย ไวรัส และสารฆ่าแมลงในการป้องกัน..... 57
กำจัดหนอนกระทู้ผักและผลกระทบต่อแมลงศัตรูธรรมชาติในพริก
07-01-49-01-01-01-25-51
➢ *สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น*
- ประสิทธิภาพของสารควบคุมไส้เดือนฝอยเพื่อป้องกันกำจัด.....71
โรครากปมในพริก
07-01-49-01-01-01-26-51
➢ *มนตรี เอี่ยมวิมังสา และคณะ*
- ทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัด..... 80
หนอนเจาะสมอฝ้าย; *Helicoverpa armigera* (Hubner))
ในกระเจี๊ยบเขียว
07-01-49-01-01-01-27-51
➢ *สมรวย รวมชัยอภิกุล และอุราพร หนูนารถ*
- ประสิทธิภาพน้ำมันปิโตรเลียม และสารฆ่าแมลงบางชนิด.....91
ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยหอยและเพลี้ยแป้งในขิง
07-01-49-01-01-01-28-51
➢ *สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น*
- การทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงและสารสกัดจาก.....100
ธรรมชาติป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสำคัญในผักชี และผักชีฝรั่ง
07-01-49-01-01-01-29-51
➢ *สุเทพ สหายา และคณะ*
- การทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงและสารสกัดธรรมชาติ.....110
ป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งในน้อยหน่า
07-01-49-01-01-01-30-51
➢ *พวงผกา อ่างมณี และคณะ*
- ทดสอบประสิทธิภาพและพัฒนาเทคนิคการพ่นสาร.....124
ป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสำคัญในคะน้า
07-01-49-01-01-01-31-52
➢ *จีรนุช เอกอำนวย และคณะ*

- ทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงป้องกันกำจัดแมลงศัตรู.....142
สำคัญในถั่วเขียว
07-01-49-01-01-01-33-52
➢ *บุญทิวา วาทิรอยรัมย์ และคณะ*
- ทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงป้องกันกำจัดบั่วกล้วยไม้;.....154
Contarinia maculipennis Felt ในกล้วยไม้
07-01-49-01-01-01-34-52
➢ *สมรวย รวมชัยอภิกุล และคณะ*
- ศึกษาประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการควบคุม.....160
โรคลำต้นไหม้
07-01-49-01-01-01-35-52
➢ *ศรีสุข พูนผลกุล และวรางคนา แซ่อ้วง*
- ทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัด.....166
แมลงศัตรูที่สำคัญในมันสำปะหลัง
07-01-49-01-01-01-36-52
➢ *สุเทพ สหายา และคณะ*
- ทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดไรศัตรูสำคัญ.....181
ในมันสำปะหลัง
07-01-49-01-01-01-37-52
➢ *พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ และคณะ*
- ประสิทธิภาพของสารควบคุมไส้เดือนฝอย เพื่อป้องกันกำจัด.....188
โรครากปมในฝรั่ง
07-01-49-01-01-01-38-52
➢ *ธิติยา สารพัฒน์ และคณะ*
- การทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงเพื่อทดแทนสารฆ่าแมลง.....195
กลุ่มออแกนโนฟอสเฟตป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟในหน่อไม้ฝรั่ง
(การทดลองเพิ่มเติม ปี พ.ศ. 2553)
➢ *อุราพร หนูนารถ และคณะ*

โครงการวิจัย ศึกษาการจัดการศัตรูพืชสำคัญทางเศรษฐกิจ 07-01-49-02

กิจกรรม การจัดการศัตรูพืชสำคัญของพริก

กิจกรรมย่อย การจัดการแมลงวันผลไม้ในพริก

การทดลอง - การใช้เหยื่อโปรตีน เพื่อป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้ในพริก.....200
07-01-49-02-01-02-05-51
➢ *วิภาดา ปลอดครบุรี และคณะ*

กิจกรรม การจัดการศัตรูสำคัญของพริก

กิจกรรมย่อย การจัดการโรคเหี่ยวของพริก

การทดลอง - การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ.....211
Bacillus subtilis ในการควบคุมเชื้อ *Ralstonia solanecearum*
สาเหตุโรคเหี่ยวในพริก
07-01-49-02-01-03-01-51
➢ *บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ และคณะ*

กิจกรรม การจัดการศัตรูสำคัญในมะม่วง

กิจกรรมย่อย การจัดการโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง

การทดลอง - การจัดการโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง..... 223
โดยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์
07-01-49-02-03-01-01-49
➢ *โดย นลินี ศิวากรณ์ และคณะ*
- ศึกษาและพัฒนาวิธีการพ่นสารเพื่อป้องกันกำจัด.....230
โรคแอนแทรคโนสในมะม่วง
07-01-49-02-03-01-03-49
➢ *ดำรง เวชกิจ และคณะ*

กิจกรรมย่อย การจัดการแมลงวันผลไม้ในมะม่วง

การทดลอง - การศึกษาชนิด ชีววิทยา และประสิทธิภาพการกิน.....241
ของแมงมุมตัวห้ำต่อแมลงวันผลไม้ในสวนมะม่วง
07-01-49-02-03-02-01-49
➢ *วิมลวรรณ โชติวงศ์ และคณะ*

- การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชและ.....274
น้ำมันปิโตรเลียมเพื่อยับยั้งการวางไข่ของแมลงวันผลไม้ในมะม่วง
07-01-49-02-03-02-02-49
➢ *เกรียงไกร จำเริญมา และคณะ*
- ศึกษาความหนาแน่นและช่วงฤดูการระบาดของแมลงวันผลไม้.....289
ในมะม่วง
07-01-49-02-03-02-03-51
➢ *เกรียงไกร จำเริญมา และคณะ*

กิจกรรม การจัดการด้วงหนวดยาวเจาะลำต้นในทุเรียน

กิจกรรมย่อย การจัดการด้วงหนวดยาวเจาะลำต้นในทุเรียน

การทดลอง - ศึกษาเทคนิคการป้องกันกำจัดตัวเต็มวัยด้วงหนวดยาว.....305
เจาะลำต้นทุเรียนอย่างเหมาะสมในสภาพสวน
07-01-49-02-05-01-05-51
➢ *ศรุต สุทธิอารมณ์ และคณะ*
- การศึกษาประสิทธิภาพกับดักแสงไฟสีต่าง ๆ เพื่อดึงดูด.....310
ตัวเต็มวัยด้วงหนวดยาวทำลายทุเรียน
07-01-49-02-05-01-06-51
➢ *ศรุต สุทธิอารมณ์ และคณะ*
- การศึกษาประสิทธิภาพของสารชีวินทรีย์ในการป้องกันกำจัด.....314
ด้วงหนวดยาวเจาะลำต้นทุเรียนในระยะหนอน
07-01-49-02-05-01-07-52
➢ *ศรุต สุทธิอารมณ์ และคณะ*

กิจกรรม การจัดการศัตรูสำคัญของฝรั่ง

กิจกรรมย่อย การจัดการแมลงวันผลไม้ฝรั่ง

การทดลอง - การใช้เหยื่อโปรตีนเพื่อป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้ในฝรั่ง.....320
07-01-49-02-09-01-01-49
➢ *วิภาดา ปลอดครบุรี และคณะ*

กิจกรรม การจัดการศัตรูสำคัญของปาล์มน้ำมัน

กิจกรรมย่อย การจัดการโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันในระยะต้นกล้า

การทดลอง - การใช้สารไคโตซานในการป้องกันกำจัดโรคลำต้นเน่า.....335
ของปาล์มน้ำมัน
07-01-49-02-11-01-01-51

➢ *ธารทิพย ภาสบุตร และคณะ*

กิจกรรม การจัดการศัตรูสำคัญของลำไย

กิจกรรมย่อย การจัดการโรคราน้ำฝนของลำไย

การทดลอง - การจัดการโรคราน้ำฝนของลำไย.....349
07-01-49-02-10-01-01-50

➢ *อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ และคณะ*

กิจกรรมย่อย การจัดการวัชพืชของลำไย

การทดลอง - การจัดการวัชพืชของลำไย.....362
07-01-49-02-10-02-01-51

➢ *จรัญญา ปิ่นสุภา และคณะ*

กิจกรรม การจัดการศัตรูสำคัญของชมพู่

กิจกรรมย่อย การจัดการศัตรูสำคัญของชมพู่

การทดลอง - การศึกษาชนิดของแมลงวันผลไม้ ศัตรูธรรมชาติและฤดู.....371
การระบาดของแมลงวันผลไม้ที่สำคัญในแหล่งปลูกชมพู่
07-01-49-02-12-01-01-51

➢ *สัญญาณี ศรีคชา และคณะ*

- การใช้เหยื่อโปรตีนเพื่อป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้ในชมพู่.....385
07-01-49-02-12-01-02-51

➢ *สัญญาณี ศรีคชา และคณะ*

กิจกรรม การจัดการด้านวัชพืช

กิจกรรมย่อย การจัดการวัชพืช

การทดลอง - การจัดการวัชพืชในพืชผักสวนครัว
07-01-49-02-13-01-01-51

• การจัดการวัชพืชในมะเขือเปราะ.....389

➢ *เสริมศิริ คงแสงดาว และคณะ*

กิจกรรม การจัดการศัตรูสำคัญของส้มเขียวหวาน

กิจกรรมย่อย การจัดการศัตรูสำคัญของส้มเขียวหวาน

การทดลอง - ศึกษาเทคนิคการพ่นสารเพื่อป้องกันกำจัด.....402
แมลงศัตรูส้มเขียวหวาน
07-01-49-02-15-01-01-51
➢ *พฤทธิชาติ ปุณวัฒโท และคณะ*

กิจกรรม การจัดการศัตรูสำคัญของปทุมมา

กิจกรรมย่อย การจัดการศัตรูสำคัญของปทุมมา

การทดลอง - การจัดการโรคเหี่ยวของปทุมมาที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย.....433
Ralstonia solanacearum
07-01-49-02-16-01-01-51
➢ *ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ*

กิจกรรม การจัดการโรคสำคัญของข้าวโพด

กิจกรรมย่อย การจัดการโรคสำคัญของข้าวโพด

การทดลอง - การควบคุมโรคใบไหม้แผลใหญ่โดยชีววิธี.....438
07-01-49-02-17-01-01-51
➢ *พีระวรรณ พัฒนวิภาส และคณะ*
- ปฏิกิริยาพันธุ์ข้าวโพดต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่.....451
07-01-49-02-17-01-02-51
➢ *พีระวรรณ พัฒนวิภาส และคณะ*

กิจกรรม การจัดการโรคลำต้นไหม้หน่อไม้ฝรั่ง 07-01-53 (การทดลองเพิ่มเติม ปี พ.ศ. 2553)

กิจกรรมย่อย การจัดการโรคลำต้นไหม้หน่อไม้ฝรั่ง

การทดลอง - การพัฒนารูปแบบการป้องกันกำจัดโรคลำต้นไหม้.....460
ของหน่อไม้ฝรั่งแบบผสมผสาน
➢ *ทัศนาพร ทัศคร และคณะ*

โครงการวิจัย ศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชต่อศัตรูธรรมชาติ และแมลงที่มีประโยชน์ 07-01-49-03

กิจกรรม ศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชต่อศัตรูธรรมชาติ และแมลงที่มีประโยชน์

กิจกรรมย่อย ศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชต่อศัตรูธรรมชาติ และแมลงที่มีประโยชน์

การทดลอง - การทดสอบความเป็นพิษของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช.....472
ชนิดต่าง ๆ ที่มีต่อไรตัวห้ำ
07-01-49-03-01-01-07-50
➢ *มานิตา คงชื่นสิน และคณะ*
- ผลของสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืชต่อผึ้งพันธุ์.....482
07-01-49-03-01-01-08-51
➢ *พวงผกา อ่างมณี และคณะ*
- ผลกระทบของสารฆ่าแมลงที่มีต่อมวนเพชฌฆาต;.....487
Sycanus versicolor Dohm.
07-01-49-03-01-01-09-51
➢ *รัตนา นชะพงษ์ และคณะ*
- ระดับความเป็นพิษของสารฆ่าแมลงต่อหนอนใยผัก;.....503
Plutella xylostella (Linneaus) จากพื้นที่ปลูกสำคัญ 3 แห่ง
07-01-49-03-01-01-10-51
➢ *สุภราดา สุคนธาภิรมย์ ณ พัทลุง และคณะ*
- ผลของการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูทานตะวันต่อผึ้ง.....517
และแมลงผสมเกสรในสภาพไร่
07-01-49-03-01-01-11-52
➢ *ยุทธนา แสงโชติ และคณะ*
- ผลกระทบของสารป้องกันกำจัดไรศัตรูพืชต่อผึ้งพันธุ์.....527
07-01-49-03-01-01-12-52
➢ *ยุทธนา แสงโชติ และวาทิน จันทร์สง่า*
- ผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่มีต่อมวนพิฆาต;.....533
Eocanthecona furcellata (Wolff)
07-01-49-03-01-01-13-52
➢ *รัตนา นชะพงษ์ และอุราพร หนูนารถ*

- ทดสอบผลของสารป้องกันกำจัดแมลงต่อแตนเบียน.....546
ควบคุมแมลงดำหนามมะพร้าว
07-01-49-03-01-01-14-52
➢ *รจนา ไวยเจริญ และคณะ*

โครงการวิจัย ศึกษาการบริหารศัตรูพืชแบบผสมผสาน 07-01-49-04

กิจกรรม การบริหารศัตรูพืชแบบผสมผสาน

กิจกรรมย่อย การบริหารศัตรูพืชแบบผสมผสาน

การทดลอง - การบริหารศัตรูลำไยแบบผสมผสาน.....559
07-01-49-04-01-01-06-51
➢ *อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ และคณะ*
- การบริหารศัตรูส้มโอแบบผสมผสาน.....568
07-01 49-04-01-01-07-51
➢ *สุพัตรา อินทวิมลศรี และคณะ*
- การจัดการศัตรูขิงแบบผสมผสาน.....583
07-01-49-04-01-01-10-52
➢ *ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ*

โครงการวิจัย เทคโนโลยีการผลิตและการใช้สารสกัดจากพืชทดแทนสารเคมี 07-01-49-05

กิจกรรม วิจัยเทคโนโลยีการผลิตและการใช้สารสกัดจากพืชเพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืช

กิจกรรมย่อย วิจัยเทคโนโลยีการผลิตและการใช้สารสกัดจากพืชเพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืช

การทดลอง - วิจัยการใช้หนอนตายหยากและหางไหลเพื่อกำจัดสัตว์ศัตรูพืช
07-01-49-05-01-01-13-51
• วิจัยการใช้หนอนตายหยากและหางไหลเพื่อกำจัด.....590
หนูศัตรูพืช
➢ *กรแก้ว เสือสะอาด และคณะ*
• วิจัยการใช้หนอนตายหยากและหางไหล.....613
เพื่อกำจัดหอยเชอรี่และหอยทากบก
➢ *ปราสาททอง พรหมเกิด และคณะ*
- เปรียบเทียบประสิทธิภาพสารสกัดลำโพง มะขามและ.....626
ประคำดีควายกับหอยเชอรี่
07-01-49-05-01-01-15-52
➢ *ชมพูนุท จรรยาเพศ และคณะ*

กิจกรรม วิจัยเทคโนโลยีการผลิตและการใช้สารสกัดจากพืชควบคุมวัชพืช

กิจกรรมย่อย วิจัยเทคโนโลยีการผลิตและการใช้สารสกัดจากพืชเพื่อควบคุมวัชพืช

การทดลอง - การศึกษาผลทางอัลลิโลพาธิกของพืชที่รุกรานบางชนิด.....639
ในประเทศไทยและการนำมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมพืช
07-01-49-05-01-02-07-50
➢ *ศิริพร ซึงสนธิพร และธัญชนก จงรักไทย*
- ผลของสารสกัดจากใบมะขามต่อการเจริญเติบโต.....650
ของวัชพืชบางชนิดและการนำมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมวัชพืช
07-01-49-05-01-02-08-50
➢ *ศิริพร ซึงสนธิพร และธัญชนก จงรักไทย*
- วิจัยและพัฒนาสารจากแมงลักป่าเพื่อการป้องกันกำจัดวัชพืช.....657
07-01-49-05-01-02-09-52
➢ *จรัญญา ปิ่นสุภา และคมสัน นครศรี*

โครงการวิจัย การผลิตและการใช้ชีวภาพและชีวินทรีย์ 07-01-49-06

กิจกรรม การผลิตและการใช้แมลงและไรศัตรูธรรมชาติควบคุมศัตรูพืช

กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้แมลงเบียนควบคุมศัตรูพืช

การทดลอง - การเพาะเลี้ยงแตนเบียนชนิด *Tetrastichus brontispae* 669
Ferriere เพื่อใช้ควบคุมแมลงดำหนามมะพร้าว
07-01-49-06-03-01-02-51
➢ *รจนา ไวยเจริญ และคณะ*
- ศึกษาการใช้และประเมินประสิทธิภาพศัตรูธรรมชาติ.....687
ในการควบคุมแมลงดำหนามมะพร้าว
07-01-49-06-03-01-03-51
➢ *ประภัสสร เชยคำแหง และคณะ*

กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้แมลงและไรตัวห้ำควบคุมศัตรูพืช

การทดลอง - การศึกษาศักยภาพการผลิตและการใช้ประโยชน์.....692
จากแมลงช้างปีกใส; *Mallada basalis* (Walker) และ
Plesiochrysa ramburi (Schneider) ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช
07-01-49-06-03-02-01-51
➢ *ประภัสสร เชยคำแหง และคณะ*

- การใช้ไรตัวห้ำควบคุมเพลี้ยไฟและไรศัตรูพืช.....704
07-01-49-06-03-02-02-51
➢ *มานิตา คงชื่นสิน และคณะ*
- เปรียบเทียบประสิทธิภาพการควบคุมแมลงศัตรูพืช.....729
ของแมลงช้างปีกใสสกุล; *Mallada* sp. และ *Plesiochrysa* sp.
ในห้องปฏิบัติการ
07-01-49-06-03-02-03-52
➢ *ประภัสสร เชยคำแหง และคณะ*
- ศึกษาพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำเพื่อใช้.....735
ควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี
07-01-49-06-03-02-04-52
➢ *รจนา ไวยเจริญ และคณะ*
- การทดสอบประสิทธิภาพของมวนตัวห้ำ; *Orius* spp. 751
(Hemiptera:Anthocoridae)ในการกินแมลงหวี่ขาวศัตรูพืช
07-01-49-06-03-02-05-53
➢ *สาทิพย์ มาลี*
- พัฒนาการผลิตมวนเพชฌฆาต.....756
07-01-49-06-03-02-06-53
➢ *รัตนา นชะพงษ์*

กิจกรรม การผลิตและการใช้เชื้อจุลินทรีย์และไส้เดือนฝอยควบคุมแมลงศัตรูพืช

กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ควบคุมแมลง

การทดลอง - การคัดเลือกสายพันธุ์ *Bacillus thuringiensis*.....766
ที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมหนอนกระทู้ผัก และหนอนกระทู้หอม
07-01-49-06-04-01-01-51
➢ *อิศเรส เทียนทัด และคณะ*
- การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย Bt. และไวรัส NPV.....782
เพื่อควบคุมหนอนเจาะสมอฝ้ายในทานตะวัน
07-01-49-06-04-01-02-51
➢ *อิศเรส เทียนทัด และคณะ*

- การใช้สูตรผสมของ *Bacillus thuringiensis* ร่วมกับไวรัส 791
Se NPV และ Ha NPV รูปสารแขวนลอยเข้มข้น
เพื่อควบคุมหนอนผีเสื้อศัตรูหน่อไม้ฝรั่ง
07-01-49-06-04-01-03-51
➢ *อิศเรส เทียนทัด และคณะ*
- การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย 801
Bacillus thuringiensis ที่ผลิตด้วยวิธีการมาตรฐาน
และวิธีการผลิตแบบพื้นบ้าน
07-01-49-06-04-01-04-52
➢ *อิศเรส เทียนทัด และคณะ*

กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้ไวรัส NPV ควบคุมแมลงศัตรูพืช

การทดลอง
- การทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ไวรัส NPV ของ.....810
หนอนกระทู้หอมจากเซลล์เพาะเลี้ยง
07-01-49-06-04-02-04-51
➢ *สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต และคณะ*
- การศึกษาประสิทธิภาพและกรรมวิธีการอบแห้งไวรัส NPV 817
กำจัดหนอนกระทู้ผัก
07-01-49-06-04-02-05-52
➢ *สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี และคณะ*
- พัฒนาการผลิตไวรัส Se MNPV จากเซลล์เพาะเลี้ยง 826
เป็นปริมาณมาก
07-01-49-06-04-02-07-52
➢ *สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต และคณะ*
- การพัฒนาสูตรอาหารเทียมสำหรับเลี้ยงหนอน เพื่อผลิตเชื้อ.....833
ไวรัส เอ็น พี วี
07-01-49-06-04-02-08-52
➢ *สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี และคณะ*

กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้เชื้อราควบคุมแมลงศัตรูพืช

การทดลอง
- การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียว; 842
Metarhizium anisopliae
07-01-49-06-04-03-01-51
➢ *เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ และคณะ*

- การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวมัสคาดีน; *Metarhizium* 854
anisopliae ในรูปแบบผงในห้องปฏิบัติการ
07-01-49-06-04-03-02-52
➢ *เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ และคณะ*

กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้ไส้เดือนฝอยควบคุมแมลงศัตรูพืช

การทดลอง - วิจัยและพัฒนาการผลิตไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่ทนอุณหภูมิสูง.....865
Steinernema riobrave เพื่อการควบคุมแมลงศัตรูพืช
07-01-49-06-04-04-03-51
➢ *วิไลวรรณ เวชยันต์ และคณะ*

- ศึกษาประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ท้องถิ่น.....876
Steinernema siamkayai ในการทำลายศัตรูพืชตระกูลกะหล่ำ
07-01-49-06-04-04-04-51
➢ *วิไลวรรณ เวชยันต์ และสาทิพย์ มาลี*

- การศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ไส้เดือนฝอยสูตรผง.....891
ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช
07-01-49-06-04-04-05-51
➢ *สาทิพย์ มาลี และวิไลวรรณ เวชยันต์*

- ศึกษาผลของสารกำจัดศัตรูพืชต่อความอยู่รอดและประสิทธิภาพ.....900
ของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง
07-01-49-06-04-04-06-51
➢ *สาทิพย์ มาลี และวิไลวรรณ เวชยันต์*

- การศึกษาประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในการควบคุม.....909
หนอนผีเสื้อศัตรูหน่อไม้ฝรั่งเพื่อการส่งออก
07-01-49-06-04-04-07-51
➢ *สาทิพย์ มาลี และวิไลวรรณ เวชยันต์*

- ทดสอบประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในการควบคุม.....918
หนอนแมลงวันศัตรูในเห็ด
07-01-49-06-04-04-08-51
➢ *วิไลวรรณ เวชยันต์ และสาทิพย์ มาลี*

- ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการอยู่รอดและประสิทธิภาพการเข้าทำลาย.....928
แมลงของไส้เดือนฝอย Steinernema และ Heterorhabditid
07-01-49-06-04-04-10-52
➢ *วิไลวรรณ เวชยันต์ และสาทิพย์ มาลี*

กิจกรรม การผลิตและการใช้เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมสัตว์ศัตรูพืช

กิจกรรมย่อย โรงงานต้นแบบการผลิตขยายสปอร์โรซีสต์ของปรสิตโปรโตซัว *Sarcocystis singaporensis* เป็นสารชีวินทรีย์กำจัดหนูในเชิงพาณิชย์

การทดลอง - ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตขยายเชื้อโปรโตซัว.....937
ในงูเหลือมสภาพโรงเรือน
07-01-49-06-05-01-01-51
➢ *ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ และคณะ*

- ศึกษาสายพันธุ์หนูที่เหมาะสมต่อการผลิตขยาย.....949
เชื้อโปรโตซัวในหนูในโรงเรือน
07-01-49-06-05-01-02-51
➢ *ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ และคณะ*

- ศึกษาวิธีการควบคุมคุณภาพการผลิตสปอร์โรซีสต์ของโปรโตซัว.....954
S. singaporensis
07-01-49-06-05-01-03-51
➢ *ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ และคณะ*

กิจกรรมย่อย วิจัยและพัฒนารูปแบบเหยื่อที่เหมาะสมต่อการผลิตเหยื่อโปรโตซัว ในเชิงธุรกิจ

การทดลอง - ศึกษาสูตรอาหารและรูปแบบใหม่ของเหยื่อโปรโตซัว.....960
07-01-49-06-05-02-01-51
➢ *ดาราพร รินทะรักษ์ และคณะ*

- ศึกษาระยะเวลาการเก็บรักษาเหยื่อโปรโตซัวรูปแบบใหม่.....977
07-01-49-06-05-02-02-52
➢ *ดาราพร รินทะรักษ์ และคณะ*

- ทดสอบประสิทธิภาพเหยื่อโปรโตซัวรูปแบบใหม่ใน.....983
การป้องกันกำจัดหนู
07-01-49-06-05-02-03-52
➢ *ดาราพร รินทะรักษ์ และคณะ*

กิจกรรม การผลิตและการใช้เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมโรคพืช

กิจกรรมย่อย การพัฒนาผลิตภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ควบคุมโรคเหี่ยว

การทดลอง - การพัฒนาผลิตภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus subtilis*.....988
ควบคุมโรคเหี่ยวในขิง
07-01-49-06-06-02-02-51

➢ *บุษราคัม อุดมศักดิ์ และณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล*

- การพัฒนาการผลิตเชื้อปฏิปักษ์ควบคุมโรคเหี่ยวเขียว.....1006
ของมันฝรั่งเพื่อเกษตรกร
07-01-49-06-06-03-01-51

➢ *วงศ์ บุญสืบสกุล และคณะ*

- การควบคุมโรคเหี่ยวแบคทีเรียของมะเขือเทศโดยชีววิธี.....1012
07-01-49-06-06-03-03-52

➢ *วงศ์ บุญสืบสกุล และคณะ*

โครงการวิจัย วิจัยการกักกันพืช 07-01-49-07

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดศัตรูพืชกักกัน

กิจกรรมย่อย วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดศัตรูพืชกักกัน

การทดลอง - วิจัยและพัฒนาสถานภาพการเป็นพืชอาศัยและวิธีกำจัดแมลง
ด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันทองในผลลำไยเพื่อการส่งออก
07-01-49-07-01-02-01-49

• ศึกษาความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้.....1023
ระยะไข่และหนอนในผลลำไยต่อวิธีการกำจัดแมลงด้วย
ความร้อนด้วยวิธีการอบไอน้ำ

➢ *สลักจิต พานคำ และคณะ*

• การศึกษาลักษณะความเสียหายของลำไยจากวิธีการ.....1038
กำจัดแมลงด้วยความร้อน

➢ *สลักจิต พานคำ และอุดร อุณหวุฒิ*

- วิจัยและพัฒนาสถานภาพการเป็นพืชอาศัยและวิธีกำจัดแมลง.....1052
ด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลลิ้นจี่เพื่อการส่งออก
07-01-49-07-01-02-02-49

➢ *รัชฎา อินทรกำแหง และคณะ*

- วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัด.....1063
แมลงวันทองในมะม่วงพันธุ์มหาชนก โชคอนันต์ และเขียวเสวย
เพื่อการส่งออก
07-01-49-07-01-02-03-49

➢ *รัชฎา อินทรกำแหง และคณะ*

- วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัด.....1074
แมลงวันผลไม้ในผลส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้งเพื่อการส่งออก
07-01-49-07-01-02-04-49

➢ *อุดร อุณหวุฒิ และคณะ*

- ความเสียหายของเงาะจากวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อน.....1089
07-01-49-07-01-02-05-49

➢ *อุดร อุณหวุฒิ และคณะ*

<u>โครงการวิจัยเร่งด่วนปี พ.ศ. 2553</u>

กิจกรรม การศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

กิจกรรมย่อย การศึกษาศัตรูพืชในประเทศไทยเพื่อการค้าระหว่างประเทศ

การทดลอง - การศึกษาชนิดแมลง ไร สัตว์ เชื้อโรคพืช และวัชพืชของพืชส่งออกและพืชนำเข้า

• การศึกษาชนิดของแมลงศัตรูพืชส่งออกและพืชนำเข้า.....1105
07-01-49-07-02-01-01-53

➢ *ลักขณา บำรุงศรี และคณะ*

• การศึกษาชนิดของโรคพืชของพืชเพื่อการส่งออก.....1111
(มะละกอ และ มะพร้าวน้ำหอม) และพืชนำเข้า(ปาล์มน้ำมัน และ
หัวพันธุ์ไม้ดอก)
07-01-49-07-02-01-02-53

➢ *พรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ*

• การศึกษาชนิดวัชพืชของพืชนำเข้า..... 1125
พืชตระกูลกะหล่ำ
07-01-49-07-02-01-03-53

➢ *ศิริพร ซึงสนธิพร และคณะ*

กิจกรรมย่อย การศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

การทดลอง - การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของพืชนำเข้า

• การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช.....1147
สำหรับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดจากสหรัฐอเมริกา
07-01-49-07-02-02-01-53-01
➢ *ณัฏฐพร อุทัยมงคล และคณะ*

• การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของ.....1175
เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าจากอินเดีย
07-01-49-07-02-02-01-53-02
➢ *ณัฏฐพร อุทัยมงคล และวาสนา ฤทธิ์ไธสง*

• การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับ.....1201
การนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจากสหรัฐอเมริกา
07-01-49-07-02-02-01-53-03
➢ *สุคนธ์ทิพย์ สมบัติ และคณะ*

• การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช.....1214
ของอุ่นนำเข้าจากประเทศอินเดีย
07-01-49-07-03-02-01-51-12 และ 07-01-49-07-02-02-01-53-05
➢ *อลงกต โพธิ์ดี และคณะ*

• การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช.....1222
ของอุ่นนำเข้าจากประเทศออสเตรเลีย
07-01-49-07-03-02-01-51-13 และ 07-01-49-07-02-02-01-53-06
➢ *อลงกต โพธิ์ดี และคณะ*

• การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช.....1231
ของผลส้มสดนำเข้าจากสาธารณรัฐแอฟริกาใต้
07-01-49-07-02-02-01-53-07
➢ *วลัยกร รัตนเดชากุล และคณะ*

• การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช.....1242
ของผลเชอร์รี่สดนำเข้าจากเครือรัฐออสเตรเลีย
07-01-49-07-02-02-01-53-08
➢ *วรัญญา มาลี และคณะ*

• การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช.....1253
แมลงฟอลซ ค๊อดลิ่ง ม็อธ
07-01-49-07-02-02-01-53-09
➢ *วลัยกร รัตนเดชากุล และคณะ*

• ศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช.....1259
ของเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่าง
➢ *สุรพล ยินอัศวพรรณ และคณะ*

กิจกรรมย่อย ศึกษาศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับพืชนำเข้า

การทดลอง - การศึกษาศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับต้นกล้วยไม้และเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจาก
ต่างประเทศ
• การศึกษาศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์.....1272
ข้าวโพดนำเข้าจากต่างประเทศ
07-01-49-07-02-03-01-53
➢ *ชลธิชา รักใคร่ และคณะ*
• การศึกษาศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์สกุลแตงนำเข้า.....1280
จากต่างประเทศ(เมล็ดพันธุ์เมล่อน)
07-01-49-07-02-03-02-53
➢ *วันเพ็ญ ศรีชาติ และคณะ*
• การศึกษาศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์.....1294
ผักกาดขาว
07-01-49-07-02-03-03-53
➢ *ศรีวิเศษ เกษสังข์ และคณะ*
• การศึกษาศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์คะน้า.....1302
นำเข้าจากต่างประเทศ
07-01-49-07-02-03-04-53
➢ *นงพร มาอยู่ดี และคณะ*
• การศึกษาศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับต้นกล้วยไม้.....1308
นำเข้าจากต่างประเทศ
07-01-49-07-02-03-05-53
➢ *วานิช คำพานิช และคณะ*

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบศัตรูพืชกักกัน

กิจกรรมย่อย วิจัยและพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบศัตรูพืชกักกัน

การทดลอง - พัฒนาเทคนิคการตรวจวินิจฉัยเชื้อไวรอยด์กับส่วนขยายพันธุ์.....1319
ของส้ม
07-01-49-07-03-01-01-53
➢ *ปริเชษฐ์ ตั้งกาญจนภาสน์ และคณะ*

โครงการวิจัย การเฝ้าระวังศัตรูพืช 07-01-51-01

กิจกรรม การเฝ้าระวังเชื้อสาเหตุโรคพืชที่เป็นศัตรูพืชกักกัน

กิจกรรมย่อย การเฝ้าระวังเชื้อสาเหตุโรคพืชที่เป็นศัตรูพืชกักกัน

การทดลอง - การเฝ้าระวังการเกิดและการแพร่กระจายของรา *Guignardia*.....1336
citricarpa สาเหตุโรคจุดดำของส้มโอ
07-01-51-01-01-01-01-51
➢ *พรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ*
- ชีววิทยาและนิเวศวิทยาของเชื้อรา *Guignardia citricarpa* 1352
สาเหตุโรคจุดดำของส้มโอ : การเข้าทำลายของรา *Guignardia*
citricarpa สาเหตุโรคจุดดำของส้มโอ
07-01-51-01-01-01-02-51
➢ *สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และคณะ*
- การเฝ้าระวังการเกิดและการแพร่กระจายของรา.....1361
Sclerophthora rayssiae และ *S. macrospora*
สาเหตุโรคราน้ำค้างของข้าวโพด
07-01-51-01-01-01-03-51
➢ *พีระวรรณ พัฒนวิภาส และคณะ*
- การเฝ้าระวังการเกิดและการแพร่กระจายของแบคทีเรีย.....1366
Pantoea stewartii
07-01-51-01-01-01-04-51
➢ *ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ*
- การเฝ้าระวังการเกิดและการแพร่กระจายของเชื้อแบคทีเรีย.....1377
Acidovorax avenae subsp. *citrulli* สาเหตุโรคผลเน่าของพืช
ตระกูลแตง
07-01-51-01-01-01-05-51
➢ *ปิยะรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และคณะ*

- ชีววิทยาและนิเวศวิทยาของแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* 1390
subsp *citrulli* สาเหตุโรคผลเน่าของพืชตระกูลแตง :
การมีชีวิตรอดการอาศัยอยู่ และการศึกษาจำนวนประชากร
แบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *citrulli* บนเมล็ดพันธุ์
พืชตระกูลแตงในดินและน้ำจากแหล่งปลูก
07-01-51-01-01-01-06-51
➢ *บุษราคัม อุดมศักดิ์ และคณะ*
- การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของไส้เดือนฝอย *Radopholus*.....1402
similis ในไม้น้ำและไม้ดอกไม้ประดับ
07-01-51-01-01-01-07-51
➢ *นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และวานิช คำพานิช*
- ชีววิทยาและนิเวศวิทยาของไส้เดือนฝอย *Radopholus* 1415
similis ในไม้น้ำและไม้ดอกไม้ประดับ
07-01-51-01-01-01-08-51
➢ *นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และวานิช คำพานิช*
- การเฝ้าระวังโรคไวรัสของกล้วยไม้ที่เกิดจากเชื้อ OFV, TRSV 1424
และ Potyvirus
07-01-51-01-01-01-09-51
➢ *สิทธิศักดิ์ แสไพศาล และคณะ*

กิจกรรม การเฝ้าระวังแมลง ไร และสัตว์ศัตรูพืชที่เป็นศัตรูพืชกักกัน

กิจกรรมย่อย การเฝ้าระวังแมลง ไร และสัตว์ศัตรูพืชที่เป็นศัตรูพืชกักกัน

การทดลอง - การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง;.....1433
Sternochetus mangiferae ในมะม่วง
07-01-51-01-02-01-01-51
➢ *สราญจิต ไกรฤกษ์ และคณะ*
- การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของหนอนเจาะผล;.....1444
Cryptophalebia ombrodelta (Lower) ในลำไย
07-01-51-01-02-01-02-51
➢ *บุษบง มนัสมั่นคง และคณะ*

- สถานการณ์การแพร่กระจายของเพลี้ยแป้ง *Cataenococcus*.....1453
hispidus Green และ *Planococcus lichi* Cox ในลำไย
07-01-51-01-02-01-03-51
➢ *ศรีจำนรรค์ ศรีจันทรา และคณะ*

กิจกรรม การเฝ้าระวังวัชพืช

กิจกรรมย่อย การเฝ้าระวังวัชพืช

การทดลอง - เฝ้าระวังการแพร่กระจายของ *Congress grass*;.....1468
Parthenium hysterophorus L.
07-01-51-01-03-01-01-51
➢ *ศิริพร ซึงสนธิพร และธัญชนก จงรักไทย*

- การเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของ *Conyza canadenis*.....1478
(L.)Cronq ในพืชไร่ พืชผักเมืองหนาวและไม้ดอกเมืองหนาว
07-01-51-01-03-01-02-51
➢ *คมสัน นครศรี และคณะ*

- การเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของ *Euphorbia dentata* 1488
และ *Agrostis* spp. ในพืชไร่
07-01-51-01-03-01-03-51
➢ *คมสัน นครศรี และจรัญญา ปิ่นสุภา*

- การเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของจอกหูหนูยักษ์ในประเทศไทย.....1495
07-01-51-01-03-01-04-51
➢ *ศิริพร ซึงสนธิพร และคณะ*

<u>โครงการวิจัยเพิ่มเติม ปี พ.ศ. 2553</u>

โครงการ วิจัยการแก้ปัญหาศัตรูพืชในพืชส่งออก 07-01-53

กิจกรรม วิจัยการแก้ปัญหาศัตรูพืชในกลุ่มพืชผักสวนครัว

กิจกรรมย่อย วิจัยการแก้ปัญหาศัตรูพืชในกลุ่มพืชผักสวนครัว

การทดลอง - ทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวและ.....1519
หนอนชอนใบในผักสวนครัว(กะเพรา โหระพา และแมงลัก)
➢ *สุเทพ สหายา และพวงผกา อ่างมณี*

- ทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีและสารสกัดจากพืช.....1532
ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูที่สำคัญในมะเขือเปราะ
➢ *สัญญาณี ศรีคชา และคณะ*

- การทดสอบประสิทธิภาพของสารกำจัดแมลงศัตรูสำคัญ.....1541
ในผักแพวและผักแขยง
➢ *วิภาดา ปลอดครบุรี และคณะ*
- การทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัด.....1550
แมลงหวี่ขาวในผักชีเพื่อการส่งออก
➢ *ยุทธนา แสงโชติ และคณะ*
- การทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสำคัญ.....1554
ในสะระแหน่
➢ *พวงผกา อ่างมณี และคณะ*
- การศึกษาชนิดและทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัด.....1564
แมลงศัตรูสำคัญในชะพลู
➢ *ศรุต สุทธิอารมณ์ และคณะ*
- การศึกษาชนิดและทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัด.....1569
แมลงศัตรูพรรณไม้น้ำ
➢ *วนาพร วงษ์นิคง และคณะ*
- การทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดศัตรูที่สำคัญ.....1581
ในไม้ประดับสกุล Hoya
➢ *ยุทธนา แสงโชติ และคณะ*
- ศึกษาชนิดและการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสำคัญในโป๊ยเซียน.....1586
เพื่อการส่งออก
➢ *บุษบง มนัสมั่นคง และคณะ*
- ประสิทธิภาพสารเคมีในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูที่สำคัญ..... 1597
ในชบา สำหรับการปลูกต่อเพื่อการส่งออก
➢ *สราญจิต ไกรฤกษ์ และคณะ*

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

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

กิจกรรม วิจัยชีวโมเลกุล (Molecular biology) ในการตรวจสอบพืชและจุลินทรีย์

กิจกรรมย่อย การศึกษาความปลอดภัยทางชีวภาพมะละกอดัดแปรพันธุกรรม

การทดลอง - ผลการบริโภคมะละกอดัดแปรพันธุกรรมต่อเลือดของหนูนอร์เวย์.....1604
09-01-49-02-03-02-09-52

➢ *พวงทอง บุญทรง และคณะ*

กิจกรรมย่อย วิจัยและพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบศัตรูพืชเพื่อเฝ้าระวังและควบคุมคุณภาพสินค้าเกษตร

การทดลอง - การผลิตแอนติซีรัมของไวรัส *Pineapple mealybug* 1614
wilt-associated virus-2 สาเหตุโรคเหี่ยวสับปะรด
โดยใช้ระบบเซลล์แบคทีเรีย
09-01-49-02-03-04-10-51

➢ *วันเพ็ญ ศรีทองชัย และคณะ*

- การพัฒนาเทคนิคพีซีอาร์ในการตรวจเชื้อแบคทีเรีย.....1636
acidovorax avenae subsp. *catleyae*
สาเหตุโรคใบจุดแบคทีเรียกล้วยไม้
09-01-49-02-03-04-15-52

➢ *ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และคณะ*

กิจกรรม วิจัยชีวโมเลกุลในการปรับปรุงพันธุ์พืช

กิจกรรมย่อย การปรับปรุงพันธุ์พืชโดยใช้เทคโนโลยีพันธุวิศวกรรม

การทดลอง - ศึกษาโมเลกุลเครื่องหมายตรวจวัดหาความต้านทาน.....1650
ของพริกต่อโรคลำต้นไหม้ที่เกิดจากเชื้อรา *Phythoptera capsici*
(การทดลองเพิ่มเติม ปี พ.ศ.2553)
09-01-49-02-02-04-11-53

➢ *ศรีสุข พูนผลกุล และคณะ*

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาการอนุรักษ์ทรัพยากรพันธุกรรม

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเพื่อการอนุรักษ์ทรัพยากรพันธุกรรมพืช 09-02-49-01

กิจกรรม สำรวจ รวบรวมและศึกษาเชื้อพันธุกรรมพืช

กิจกรรมย่อย การสำรวจ รวบรวมและศึกษาชนิดวัชพืชในพืชเศรษฐกิจ

การทดลอง - สำรวจและรวบรวมวัชพืชในพืชผักภาคตะวันออกเฉียงเหนือ.....1655
และภาคกลาง
09-02-49-01-01-13-03-51

➢ *ศิริพร ซึงสนธิพร และคณะ*

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาพืชสมุนไพรอื่นที่มีศักยภาพในการนำไปใช้ประโยชน์

กิจกรรมย่อย ศึกษา รวบรวม และพัฒนาวัชพืชสมุนไพร และไม้น้ำ

การทดลอง - ศึกษารวบรวมสายพันธุ์วัชพืชสมุนไพรและไม้น้ำ.....1685
01-12-51-02-03-06-01-51

➢ *ศิริพร ซึงสนธิพร และคณะ*

โครงการวิจัย ศึกษาและสำรวจเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์และเห็ด 09-02-49-01

กิจกรรม สำรวจ รวบรวม จำแนก และหาเทคโนโลยีการเก็บรักษาจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ทางการเกษตร

กิจกรรมย่อย สำรวจ รวบรวม จำแนก และหาเทคโนโลยีการเก็บรักษาจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ทางการเกษตร

การทดลอง - สำรวจ รวบรวมจุลินทรีย์ผลิตสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

• จุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช.....1699
09-02-49-01-02-01-01-49

➢ *ชนินทร ดวงสะอาด และคณะ*

- การศึกษาชนิดราไมคอร์ไรซ่ากล้วยไม้ใกล้สูญพันธุ์.....1710
และการใช้ประโยชน์
09-02-49-01-02-01-01-49

➢ *พรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ*

- ศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาเชื้อแบคทีเรีย.....1715
Erwinia carotovora
09-02-49-02-01-07-01-51

➢ *ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ*

- การอนุรักษ์จุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช:.....1725
ศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาเชื้อรา *Colletotrichum* spp.
09-02-49-02-01-07-02-51
➢ *ธารทิพย ภาสบุตร และคณะ*
- ศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง.....1739
09-02-49-02-01-08-01-51
➢ *นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด*

กิจกรรม สำรวจ รวบรวม จำแนก และหาเทคโนโลยีการเก็บรักษาจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช

กิจกรรมย่อย สำรวจ รวบรวม จำแนก และหาเทคโนโลยีการเก็บรักษาจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช

การทดลอง - สำรวจ รวบรวม และจำแนกราสกุล Cercosporoid.....1746
fungi และ Teleomorph
09-02-49-01-02-01-24-51
➢ *พรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ*
- สำรวจ รวบรวม และจำแนกรา Fusaruim สาเหตุโรคพืช.....1762
09-02-49-01-02-01-25-51
➢ *อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และคณะ*
- สำรวจ รวบรวม และจำแนกเชื้อราสกุล *Curvularia* spp. 1782
สาเหตุโรคพืช
09-02-49-01-02-01-26-51
➢ *พีระวรรณ พัฒนวิภาส และคณะ*
- สำรวจ รวบรวม และจำแนกรา Phythium สาเหตุโรคพืช.....1794
09-02-49-01-02-01-27-51
➢ *อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ และพีระวรรณ พัฒนวิภาส*
- สำรวจ รวบรวม และจำแนกเชื้อราแป้งสาเหตุโรคพืช.....1808
09-02-49-01-02-01-28-51
➢ *ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี และคณะ*
- สำรวจ รวบรวม จำแนก และศึกษาพืชอาศัยของรา.....1816
Sclerotium spp. สาเหตุโรคพืช
09-02-49-01-02-01-29-51
➢ *สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และคณะ*

- สำรวจ รวบรวม และจำแนกราสกุล Macrophomina.....1827
สาเหตุโรคพืชเศรษฐกิจ
09-02-49-01-02-01-30-51
➢ *พจนา ตระกูลสุขรัตน์ และคณะ*
- สำรวจ รวบรวม และจำแนกแบคทีเรีย *Xanthomonas*.....1832
campestris สาเหตุโรคเน่าดำของพืชตระกูลกะหล่ำและผักกาด
09-02-49-01-02-01-31-51
➢ *ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และคณะ*
- การสำรวจ และรวบรวมเชื้อไวรอยด์ของพืชตระกูลส้ม.....1854
09-02-49-01-02-01-32-51
➢ *ดารุณี ปุญญพิทักษ์ และคณะ*
- สำรวจ และจำแนกเชื้อโรคกรีนนิ่งในประเทศไทยด้วยเทคนิค.....1858
ทางอณูชีววิทยา
09-02-49-01-02-01-33-51
➢ *ดารุณี ปุญญพิทักษ์ และคณะ*
- ฐานข้อมูลเชื้อราสาเหตุโรคพืชใน Culture Collection.....1863
09-02-49-01-02-01-34-51
➢ *ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี และคณะ*

กิจกรรม สำรวจ รวบรวม จำแนก และหาเทคโนโลยีการเก็บรักษาจุลินทรีย์ที่ผลิตสารชีวภัณฑ์ และมีศักยภาพในการป้องกันกำจัดโรค ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ

กิจกรรมย่อย สำรวจ รวบรวม จำแนก และหาเทคโนโลยีการเก็บรักษาจุลินทรีย์ที่ผลิตสารชีวภัณฑ์ และมีศักยภาพในการป้องกันกำจัดโรค ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ

การทดลอง - สำรวจรวบรวมและศึกษาสายพันธุ์ไส้เดือนฝอย.....1872
ควบคุมแมลงศัตรูพืช
09-02-49-01-02-01-15-49
➢ *นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล*
- สำรวจรวบรวมและศึกษาสายพันธุ์แบคทีเรีย *Bacillus* sp.
ควบคุมจุลินทรีย์โรคพืช
09-02-49-01-02-01-16-49
• ศึกษาสายพันธุ์แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* ที่มีศักยภาพ.....1885
ในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชเศรษฐกิจ
➢ *บุษราคัม อุดมศักดิ์ และคณะ*

• การคัดเลือก และทดสอบประสิทธิภาพเชื้อ.....1907
Bacillus spp. ในการควบคุมโรคใบไหม้หน้าวัว
สาเหตุจากแบคทีเรีย
➢ *ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และคณะ*
- การสำรวจ รวบรวม เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* 1922
ควบคุมแมลงศัตรูพืช
09-02-49-01-02-01-17-49
➢ *อิศเรส เทียนทัด และคณะ*
- การสำรวจ รวบรวม ตรวจจำแนกสายพันธุ์ปรสิตโปรโตซัว.....1938
Sacrocystis singaporensis
09-02-49-01-02-01-18-49
➢ *ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ และคณะ*

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

กิจกรรม สำรวจ รวบรวม จำแนกชนิดแมลง ไร สัตว์ศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติ

กิจกรรมย่อย สำรวจ รวบรวม จำแนกชนิดแมลง ไร สัตว์ศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติ

การทดลอง - อนุกรมวิธานแมลงศัตรูที่พบในสบู่ดำ.....1947
09-02-49-01-02-01-35-51
➢ *ศิริณี พูนไชยศรี และคณะ*
- อนุกรมวิธานของแมลงศัตรูที่พบในเบญจมาศ.....1953
09-02-49-01-02-01-36-51
➢ *ชลิดา อุณหวุฒิ และคณะ*
- อนุกรมวิธานแมลงศัตรูที่พบในไม้ดอกสกุล Curcuma.....1963
(ปทุมมา และกระเจียว)
09-02-49-01-02-01-37-51
➢ *สุนัดดา เชาวลิต และคณะ*
- อนุกรมวิธานเพลี้ยแป้งสกุล Pseudococcus 1976
09-02-49-01-02-01-38-51
➢ *ชลิดา อุณหวุฒิ และคณะ*
- อนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนวงศ์ย่อย Aphidinae 1990
09-02-49-01-02-01-39-51
➢ *ลักขณา บำรุงศรี และคณะ*

- อนุกรมวิธานของแมลงวันผลไม้สกุล Bactrocera.....2009
09-02-49-01-02-01-40-51
➢ *ยุวรินทร์ บุญทบ และคณะ*
- การศึกษาชนิดแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์.....2026
09-02-49-01-02-01-41-51
➢ *ศิริณี พูนไชยศรี และคณะ*
- อนุกรมวิธานไรศัตรูในโรงเก็บของประเทศไทย.....2047
09-02-49-01-02-01-43-51
➢ *พลอยชมพู กรวิภาสเรือง และคณะ*
- การศึกษาอนุกรมวิธานไรแมงมุมในสกุล Oligonychus.....2085
09-02-49-01-02-01-44-51
➢ *พลอยชมพู กรวิภาสเรือง และคณะ*
- ชีววิทยาหอยเจดีย์ใหญ่ 2105
09-02-49-01-02-01-45-51
➢ *ปิยาณี หนูกาฬ และคณะ*
- ความหลากชนิดของหอยทากและทากในแหล่งสงวน.....2112
ชีวมณฑลสะแกราช
09-02-49-01-02-01-46-51
➢ *ชมพูนุท จรรยาเพศ และคณะ*
- สำรวจและศึกษาชนิดสัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนูในระบบนิเวศ.....2126
ปาล์มปลูกใหม่
09-02-49-01-02-01-47-51
➢ *ปิยาณี หนูกาฬ และคณะ*
- สำรวจ และศึกษาชนิดหนูศัตรูพืชในระบบนิเวศปาล์มปลูกใหม่.....2132
09-02-49-01-02-01-48-51
➢ *กรแก้ว เสือสะอาด และคณะ*
- อนุกรมวิธานด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง; *Sternochelus* spp. 2145
09-02-49-01-02-01-50-51
➢ *ศิริณี พูนไชยศรี และคณะ*

กิจกรรม เทคโนโลยีการเก็บรักษาแมลง ไร สัตว์ศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติ

กิจกรรมย่อย การเก็บรักษาตัวอย่างแมลง ไร สัตว์ ศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติในพิพิธภัณฑ์

การทดลอง - การเก็บรักษาตัวอย่างแมลง ไร สัตว์ศัตรูพืชและ
ศัตรูธรรมชาติในพิพิธภัณฑ์
09-02-49-02-03-02-01-49

• การเก็บรักษาตัวอย่างแมลงในพิพิธภัณฑ์.....2158

➢ *ศิริณี พูนไชยศรี และคณะ*

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนากลุ่มพืชสมุนไพร

โครงการวิจัย ศึกษาการผลิตกวาวเครือ 01-12-49-05

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีกระบวนการผลิตการเก็บเกี่ยวและแปรรูปกวาวเครือ

กิจกรรมย่อย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการเขตกรรมเพื่อเพิ่มคุณภาพและสาร สำคัญกวาวเครือ

การทดลอง - ศึกษาวัสดุคลุมดินที่มีผลต่อการควบคุมวัชพืชในกวาวเครือขาว.....2182
01-12-49-05-03-01-01-52

➢ *เพ็ญศรี นันทสมสราญ และจรัญ ดิษฐไชยวงศ์*

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนากลุ่มพืชผัก และเห็ด

โครงการวิจัย ศึกษาเทคโนโลยีการผลิตพริก 01-16-49-01

กิจกรรม เทคโนโลยีการผลิตพริก

กิจกรรมย่อย การจัดการศัตรูพริก

การทดลอง - การบริหารจัดการโรคใบหงิกเหลืองของพริก.....2192
01-16-49-01-01-01-01-50

➢ *วันเพ็ญ ศรีทองชัย และคณะ*

- การควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรียโดยชีววิธี.....2205
01-16-49-01-01-01-06-52

➢ *บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ และคณะ*

- ศึกษากลไกความต้านทานของพริกต่อโรคลำต้นไหม้ที่เกิดจาก.....2218
เชื้อรา *Phytopthora capsici*
01-16-49-01-01-01-07-52

➢ *ศรีสุข พูนผลกุล และศิริพงษ์ คุ้มภัย*

โครงการวิจัย ศึกษาเทคโนโลยีการผลิตกระเจี๊ยบเขียว 01-16-49-02

กิจกรรม เทคโนโลยีการผลิตกระเจี๊ยบเขียว

กิจกรรมย่อย การป้องกันกำจัดศัตรูกระเจี๊ยบเขียวในการผลิตเพื่อผลผลิตที่ปลอดภัยจากสารพิษ

การทดลอง - ความสัมพันธ์ของไวรัสสาเหตุโรคเส้นใบเหลืองกับพันธุ์.....2225
กระเจี๊ยบเขียวในแต่ละแหล่งปลูก
01-16-49-02-02-02-05-51

- *วันเพ็ญ ศรีทองชัย และอำนวย อรรถลังรอง*

โครงการวิจัย ศึกษาเทคโนโลยีการผลิตเห็ด 01-16-49-03

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์เห็ด

กิจกรรมย่อย การปรับปรุงพันธุ์เห็ดที่มีศักยภาพ

การทดลอง - ทดสอบสายพันธุ์เห็ด *Oudemansiella* spp. ที่มีประสิทธิภาพ.....2236
ในการผลิตสารยับยั้งจุลินทรีย์เชื้อสาเหตุโรคพืช
01-16-49-03-04-01-07-53

- *พจนา ตระกูลสุขรัตน์ และคณะ*

กิจกรรม การพัฒนาเทคโนโลยีการอารักขาเห็ด

กิจกรรมย่อย การศึกษาชีววิทยาและการป้องกันกำจัดไร *Dolichocybe indica* Mahunka ในเห็ดยานางิ

การทดลอง - การศึกษาชีววิทยาและการป้องกันกำจัดไรลูกโป่ง.....2243
Dolichocybe indica Mahunka ในเห็ดโดยการใช้สารฆ่าไร
01-16-49-03-06-01-01-49

- *พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ และคณะ*

กิจกรรมย่อย การป้องกันกำจัดไรดีดในเห็ด

การทดลอง - การแก้ปัญหาไรดีดในพื้นที่เพาะเห็ดนางรมฮังการี.....2256
ภาคกลางของประเทศไทย
01-16-49-03-06-03-03-51

- *เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ และคณะ*

กิจกรรมย่อย การป้องกันกำจัดแมลงหางดีดในเห็ด

การทดลอง - การศึกษาชีววิทยา นิเวศวิทยา และการป้องกันกำจัดแมลง.....2262
หางดีดในเห็ด
01-16-49-03-06-01-02-50

➢ *อุราพร หนูนารถ และคณะ*

กิจกรรมย่อย เชื้อราสกุล Hypomyces สาเหตุโรคใยแมงมุมบนดอกเห็ดเป๋าฮื้อ และการป้องกันกำจัด

การทดลอง - การป้องกันกำจัดเชื้อราสกุล *Hypomyces* 2265
สาเหตุโรคใยแมงมุมบนดอกเห็ดเป๋าฮื้อ ; *Pleurotus cystidiosus*
01-16-49-03-06-07-01-51

➢ *อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และคณะ*

กิจกรรมย่อย สาเหตุและการแพร่กระจายของราเมือกที่ทำความเสียหายในการเพาะเห็ดถุงของประเทศไทย

การทดลอง - สาเหตุและการแพร่กระจายของราเมือกที่ทำความเสียหาย.....2274
ในการเพาะเห็ดถุงของประเทศไทย
01-16-49-03-06-08-01-51

➢ *อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และคณะ*

กิจกรรมย่อย ชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่เข้าทำลายเห็ดที่ผลิตเพื่อการค้าและการป้องกันกำจัด

การทดลอง - การป้องกันกำจัดโรคเน่าสีน้ำตาลของเห็ดนางรม.....2288
ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย กลุ่ม Pseudomonas
01-16-49-03-06-03-01-51

➢ *สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และคณะ*

กิจกรรมย่อย การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูเห็ด

การทดลอง - การศึกษาชีววิทยา และนิเวศวิทยา และเขตการ.....2298
แพร่ระบาดของหนอนแมลงวันเชียริดแมลงศัตรูเห็ดที่สำคัญ
01-16-49-03-06-03-10-52

➢ *สัญญาณี ศรีคชา และคณะ*

- การศึกษาวิธีการป้องกันกำจัดของแมลงศัตรูเห็ด.....2305
01-16-49-03-06-03-10-52

➢ *อุราพร หนูนารถ และคณะ*

- เทคนิคการพ่นสารป้องกันกำจัดแมลง และไรศัตรูเห็ด.....2310
01-16-49-03-06-03-10-52
➢ *พฤทธิชาติ ปุณวัฒโท และคณะ*

โครงการวิจัย ศึกษาเทคโนโลยีการผลิตมันฝรั่ง 01-16-49-05

กิจกรรม เทคโนโลยีการผลิตมันฝรั่ง

กิจกรรมย่อย การจัดการศัตรูมันฝรั่ง

การทดลอง - ประสิทธิภาพของสาร abamectin ในการควบคุมไส้เดือนฝอย.....2331
รากปมในมันฝรั่ง
01-16-49-05-01-03-02-50
➢ *ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ*
- การใช้เชื้อราปฏิปักษ์ *Paecilomyces lilacinus*.....2344
ควบคุมไส้เดือนฝอยศัตรูมันฝรั่ง
01-16-49-05-01-03-03-51
➢ *มนตรี เอี่ยมวิมังสา และคณะ*
- การสำรวจและจำแนกโรคไวรัสของมันฝรั่งที่เกิดจากเชื้อ.....2353
PVS, PVX และ PLRV
01-16-49-05-01-03-07-52
➢ *สิทธิศักดิ์ แสไพศาล และคณะ*
- การป้องกัน และควบคุมแมลงพาหะของเชื้อไวรัสในมันฝรั่ง.....2359
01-16-49-05-01-03-08-52
➢ *สิทธิศักดิ์ แสไพศาล และคณะ*

โครงการวิจัย ศึกษาเทคโนโลยีการผลิตพืชที่มีศักยภาพ 01-16-52-01

กิจกรรม เทคโนโลยีการผลิตมันเทศ

กิจกรรมย่อย การอารักขามันเทศ

การทดลอง - ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอก.....2365
ในมันเทศ
01-16-52-01-01-02-03-52
➢ *เสริมศิริ คงแสงดาว และคณะ*

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนากลุ่มไม้ดอกไม้ประดับ

โครงการวิจัย การปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้ 01-15-49-01

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้พันธุ์การค้า

กิจกรรมย่อย การปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวาย

การทดลอง - วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้สกุลหวายคุณภาพดี

• การจัดการโรคเกสรดำในกล้วยไม้สกุลหวายโดยสารเคมี.....2373

01-15-49-01-01-01-03-50

➢ *ทัศนาพร ทัศคร และคณะ*

โครงการวิจัย การปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้พันธุ์การค้า

กิจกรรมย่อย การปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้ประเภทแวนด้า

การทดลอง - วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้ประเภทแวนด้าคุณภาพดี

01-15-49-01-01-02-03-49

• การควบคุมโรคใบจุดเหลืองของกล้วยไม้สกุลแวนด้า.....2390

โดยชีววิธี

➢ *ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และคณะ*

• การทดสอบปฏิกิริยากล้วยไม้ลูกผสมแวนด้า :.....2403

พันธุ์การค้าต่อโรคเน่าดำที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ

Phytophthora palmivora (Butl.)Butl.

➢ *ทัศนาพร ทัศคร และคณะ*

กิจกรรมย่อย การปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้การค้าสกุลอื่น

การทดลอง - การศึกษาโรคกล้วยไม้ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย.....2413

01-15-49-01-01-03-03-51

➢ *ปิยะรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และคณะ*

กิจกรรม การศึกษาศักยภาพกล้วยไม้ไทยในท้องถิ่นต่างๆ เพื่อพัฒนาเป็นสินค้าออกใหม่

กิจกรรมย่อย การปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้สกุลสปาโตกลอททิส และสกุลแกมมาโตฟิลลัม

การทดลอง - วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้สกุลสปาโตกลอททิส และ

สกุลแกมมาโตฟิลลัมคุณภาพดี

01-15-49-01-02-03-03-49

• ศึกษาโรคและการจัดการโรคกล้วยไม้.....2438

สกุลสปาโตกลอททิสและสกุลแกมมาโตฟิลลัม

➢ *สุพัตรา อินทวิมลศรี*

โครงการวิจัย การปรับปรุงพันธุ์หน้าวัว 01-15-49-02

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์หน้าวัว

กิจกรรมย่อย ปฏิกิริยาของพันธุ์หน้าวัวลูกผสมต่อโรคเน่าดำ

การทดลอง - ปฏิกิริยาของพันธุ์หน้าวัวลูกผสมต่อโรคเน่าดำ.....2445

01-15-49-02-01-06-01-49

- *อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ และคณะ*

โครงการวิจัย การปรับปรุงพันธุ์ปทุมมา/กระเจียว 01-15-49-03

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์ปทุมมา/กระเจียว

กิจกรรมย่อย การควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียของปทุมมาโดยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

การทดลอง - ทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมา.....2461

โดยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

01-15-49-03-01-02-02-50

- *ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ*

<u>โครงการวิจัยเพิ่มเติม ปี พ.ศ. 2553</u>

โครงการวิจัย วิจัยเพื่อแก้ไขปัญหาการส่งออกกล้วยไม้

กิจกรรม การเพิ่มประสิทธิภาพผลผลิต

กิจกรรมย่อย วิจัยและพัฒนาการป้องกันกำจัด และควบคุมศัตรูกล้วยไม้

การทดลอง - การใช้ไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. ควบคุมหอยทาก.....2481

ซัคซิเนีย; *Succinea chrysis* ในสวนกล้วยไม้

01-15-52-01-01-02-03-52

- *ปราสาททอง พรหมเกิด และคณะ*

- ทดสอบและเปรียบเทียบประสิทธิภาพสารสกัดจากใบมะขาม.....2491

ใบว่านหางจระเข้ ฝักจามจุรี กับหอยซัคซิเนียและหอยเลขหนึ่ง

01-15-52-01-01-02-04-52

- *ดาราพร รินทะรักษ์ และคณะ*

- ชีววิทยาทากเล็บมือนาง;.....2502

Parmarion siamensis (Cockerell)

01-15-52-01-01-02-05-52

- *ปิยาณี หนูกาฬ และคณะ*

- ฤดูกาลระบาดของไรแมงมุมเทียมกล้วยไม้;.....2510
Tenuipalpus pacificus และวิธีการป้องกันกำจัดที่เหมาะสม
01-15-52-01-01-02-06-52
➢ *มานิตา คงชื่นสิน และคณะ*
- วิจัยและพัฒนาการผลิตกล้วยไม้ตัดดอกสกุลหวาย.....2526
ระบบเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมเพื่อการส่งออก
01-15-52-01-01-04-01-52
➢ *ทวีศักดิ์ ชโยภาส และคณะ*

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนากลุ่มไม้ผลเศรษฐกิจอื่น ๆ

โครงการวิจัย ศึกษาเทคโนโลยีการผลิตแก้วมังกร 01-13-52-03

กิจกรรม ศึกษาเทคโนโลยีการผลิตแก้วมังกรในและนอกฤดู

กิจกรรมย่อย ศึกษาเทคโนโลยีการผลิตแก้วมังกรในและนอกฤดู

การทดลอง - ศึกษาการจัดการอารักขาพืชที่เหมาะสมในการผลิตแก้วมังกร.....2539
01-13-52-03-01-01-02-52
➢ *พรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ*

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาส้มโอ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตส้มโอ 01-10-49-02

กิจกรรม การอารักขาส้มโอ

กิจกรรมย่อย การจัดการแมลงศัตรูสำคัญในส้มโอ

การทดลอง - ศึกษาชนิดการเข้าทำลายและการป้องกันกำจัดแมลงวัน.....2554
ผลไม้ในส้มโอ
01-10-49-02-03-01-03-52
➢ *บุษบง มนัสมั่นคง และคณะ*
- ศึกษาประสิทธิภาพการห่อผลส้มโอร่วมกับการใช้สารฆ่าแมลง.....2568
ในการป้องกันการเข้าทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอ
01-10-49-02-03-01-04-52
➢ *ศรีจำนรรค์ ศรีจันทรา และคณะ*

กิจกรรมย่อย การจัดการโรคในส้มโอ

การทดลอง - การใช้พืชสมุนไพรเพื่อควบคุมโรคแคงเกอร์ของส้มโอ.....2581
01-10-49-02-03-02-05-49
➢ *นลินี ศิวากรณ์ และคณะ*

- ศึกษาการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอ.....2592
โดยการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์
01-10-49-02-03-02-09-51
➢ *นลินี ศิวากรณ์ และคณะ*

- การใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคแคงเกอร์ของส้มโอ.....2614
01-10-49-02-03-02-01-49
➢ *นลินี ศิวากรณ์ และคณะ*

กิจกรรมย่อย การแก้ไขปัญหาลักษณะและอาการผิดปกติของผลส้มโอ

การทดลอง - สาเหตุการเกิดและการป้องกันแก้ไขอาการจุดดาวกระจาย.....2630
บนผลส้มโอ
01-10-49-02-03-03-01-51
➢ *บุษบง มนัสมั่นคง และคณะ*

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาทุเรียน

โครงการวิจัย เทคโนโลยีการผลิตทุเรียนให้มีคุณภาพ 01-09-49-02

กิจกรรม วิจัยเทคโนโลยีการผลิตทุเรียน

กิจกรรมย่อย การป้องกันศัตรูทุเรียนแบบผสมผสานเพื่อผลิตทุเรียนคุณภาพ

การทดลอง - ศึกษาการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียน.....2637
โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์
01-09-49-02-01-02-01-51
➢ *นลินี ศิวากรณ์ และคณะ*

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาสับปะรด

โครงการวิจัย ศึกษาระบบการผลิตสับปะรด 01-08-49-01

กิจกรรม ศึกษาระบบการผลิตสับปะรดเพื่อแก้ปัญหาโรคเหี่ยวของสับปะรด

กิจกรรมย่อย ศึกษาการป้องกันกำจัดศัตรูพืชเพื่อแก้ปัญหาโรคเหี่ยวของสับปะรด

การทดลอง - การถ่ายทอดโรคเหี่ยวสับปะรดโดยเพลี้ยแป้ง.....2655
01-08-49-01-02-01-03-51
➢ *วันเพ็ญ ศรีทองชัย และคณะ*

- การคัดเลือกและขยายหน่อพันธุ์สับปะรดปลอดจากไวรัส.....2664
สาเหตุโรคเหี่ยว
01-08-49-01-02-01-04-51
➢ *วันเพ็ญ ศรีทองชัย และคณะ*

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนากลุ่มพืชไร่เศรษฐกิจอื่น ๆ

โครงการวิจัย การปรับปรุงพันธุ์ข้าวฟ่างหวาน 01-17-49-06

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์ข้าวฟ่างหวาน

กิจกรรมย่อย การประเมินสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อโรคลำต้นเน่าที่เกิดจากเชื้อรา

การทดลอง - ปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อโรค.....2676
ช่อดอกไหม้และยอดบิดที่มีสาเหตุจากเชื้อรา*Fusarium moniliforme*
01-17-49-06-01-02-06-50

➢ *อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และคณะ*

- ปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อโรค.....2683
ลำต้นเน่าดำที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Macrophomina phaseolina*
01-17-49-06-01-02-03-50

➢ *พจนา ตระกูลสุขรัตน์ และคณะ*

- ปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อโรค.....2690
แอนแทรคโนสที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum sublineolum*
01-17-49-06-01-02-04-50

➢ *พจนา ตระกูลสุขรัตน์ และคณะ*

โครงการวิจัย การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียว 01-17-49-07

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวผิวมัน

กิจกรรมย่อย การปรับปรุงพันธุ์

การทดลอง - การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวให้ต้านทานโรคไวรัสใบด่างเหลือง

• การคัดเลือกพันธุ์ถั่วเขียวให้ต้านทานโรค.....2696
ไวรัสใบด่างเหลืองในเรือนทดลอง
01-17-49-07-01-01-05-51

➢ *กาญจนา วาระวิชานี และคณะ*

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาถั่วเหลือง

โครงการวิจัย ศึกษาเทคโนโลยีการผลิตถั่วเหลือง 01-06-49-02

กิจกรรม ถั่วเหลือง

กิจกรรมย่อย เทคโนโลยีการอารักขาถั่วเหลือง

การทดลอง - ผลของสารกำจัดวัชพืชและเวลาการใช้ต่อการควบคุม.....2708
วัชพืชในการผลิตถั่วเหลือง
01-06-49-02-01-03-10-52

- *คมสัน นครศรี และคณะ*

<u>โครงการวิจัยเพิ่มเติม ปี พ.ศ. 2553</u>

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาการคุ้มครองพันธุ์พืช

โครงการวิจัย ศึกษาและพัฒนาระบบการอนุรักษ์และการใช้ประโยชน์พืชอย่างยั่งยืนของชุมชน และแนวทาง การให้ความคุ้มครองพันธุ์พืชพื้นเมืองตาม พ.ร.บ.คุ้มครองพันธุ์พืช พ.ศ. 2542

กิจกรรม การศึกษา และพัฒนาระบบการอนุรักษ์และการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืนของชุมชน

กิจกรรมย่อย การศึกษา และพัฒนาระบบการอนุรักษ์และการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืนของชุมชน

การทดลอง - การพัฒนาระบบการจัดการวัชพืชเพื่อการอนุรักษ์และ.....2719
ใช้ประโยชน์พันธุ์พืชอย่างยั่งยืนของชุมชนในเขตพื้นที่ภาคเหนือ
และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
09-03-52-01-01-01-05-52

- *จรรยา มณีโชติ และคณะ*

- ศึกษาและพัฒนาระบบการจัดการวัชพืชเพื่อการอนุรักษ์.....2730
และใช้ประโยชน์พันธุ์พืชอย่างยั่งยืนของชุมชนในเขตพื้นที่
ภาคกลางและภาคใต้
09-03-52-01-01-01-06-52

- *จรรยา มณีโชติ และคณะ*

<u>โครงการวิจัยเร่งด่วน ปี พ.ศ. 2553</u>

การทดลอง - การป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอย *Radopholus similis* 2744
ในไม้ดอกไม้ประดับเพื่อการส่งออก

- *นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และคณะ*

<u>โครงการพิเศษ ปี พ.ศ. 2553</u>

โครงการวิจัย การคัดเลือกพันธุ์พริกขี้หนูผลสดที่ตอบสนองต่อการปลูกในระบบเกษตรอินทรีย์

กิจกรรม การคัดเลือกพันธุ์พริกขี้หนูผลสดที่ตอบสนองต่อการปลูกในระบบเกษตรอินทรีย์

การทดลอง - การคัดเลือกพันธุ์พริกขี้หนูผลสดที่ตอบสนองต่อการปลูก.....2756
ในระบบเกษตรอินทรีย์

➢ *สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ*

<u>การทดลองที่สิ้นสุดปี พ.ศ. 2549</u>

แผนงานวิจัย การศึกษาและพัฒนาการอารักขาพืช

โครงการ การจัดการศัตรูพืชสำคัญทางเศรษฐกิจ

กิจกรรม การจัดการวัชพืชในนาข้าว

กิจกรรมย่อย การจัดการวัชพืชในนาข้าวชลประทาน/ข้าวเมล็ดแดง

การทดลอง - การพัฒนาวิธีการแบบผสมผสานเพื่อกำจัดข้าววัชพืชในนาข้าว.....2768
ชลประทานแบบเกษตรกรมีส่วนร่วม

➢ *จรรยา มณีโชติ และคณะ*

แผนงานวิจัย การศึกษาและพัฒนาภูมิสารสนเทศการเกษตร

โครงการ วิจัยและพัฒนาระบบการเตือนภัยของโรคและแมลงศัตรูพืช

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาระบบการเตือนภัยของโรคและแมลงศัตรูพืช

กิจกรรมย่อย ศึกษาและวิจัยระบบเครือข่ายการพยากรณ์และการเตือนภัยด้านการเกษตร

การทดลอง -การใช้ระบบสนเทศทางภูมิศาสตร์เพื่อสำรวจการระบาดของ.....2797
ข้าววัชพืชในนาข้าวเขตภาคกลาง ภาคเหนือตอนล่างและภาค
ตะวันออกเฉียงเหนือ

➢ *จรรยา มณีโชติ และคณะ*

การทดลองที่สิ้นสุดปี พ.ศ. 2551

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาส้มโอ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตส้มโอ

กิจกรรม การอารักขาส้มโอ

กิจกรรมย่อย การจัดการโรคในส้มโอ

การทดลอง - ศึกษาสาเหตุและเทคโนโลยีการจัดการโรคผลเน่าของส้มโอ.....2818
01-10-49-02

- *สุพัตรา อินทวิมลศรี*

การทดลองที่สิ้นสุดปี พ.ศ. 2552

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

โครงการวิจัย วิจัยชีวโมเลกุลในการสร้างเอกลักษณ์พันธุกรรมพืชและจุลินทรีย์ การปรับปรุงพันธุ์และการตรวจสอบพืชและจุลินทรีย์

กิจกรรม วิจัยชีวโมเลกุลในการตรวจสอบ

กิจกรรมย่อย วิจัยและพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบศัตรูพืชเพื่อเฝ้าระวังการควบคุมคุณภาพสินค้าเกษตร

การทดลอง - การตรวจวินิจฉัยโรคใบด่างของกล้วยไม้.....2825
ที่เกิดจากเชื้อไวรัสกลุ่มPotyvirus
09-01-49-02-03-04-12-51

- *สิทธิศักดิ์ แสไพศาล และคณะ*

- การใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลเพื่อตรวจสอบการปนเปื้อนของ.....2833
ข้าววัชพืชในเมล็ดพันธุ์ข้าว
09-01-49-02-04-01-01-51

- *จรรยา มณีโชติ และคณะ*

ผลการบริโภคมะละกอดัดแปรพันธุกรรมต่อเลือดของหนูนอร์เวย์ ; *Rattus norvegicus*

Efficacy of Feeding Transgenic Papaya on Blood of *Rattus norvegicus*

[1]น.ส.พวงทอง บุญทรง [1]นาย ปราสาททอง พรหมเกิด [2]นางวิไล ปราสาทศรี
[1] น.ส.ปิยาณี หนูกาฬ
[1)] กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักษ์ขาพืช
[2)] สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 3 กรมวิชาการเกษตร

บทคัดย่อ

ผลการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของหนูนอร์เวย์ที่ปลอดเชื้อ;*Rattus norvagicus* สายพันธุ์ Wistar ที่กินมะละกอพันธุ์แขกนวล และแขกดำ ทั้งดิบและสุก ที่ดัดแปรพันธุกรรมและไม่ดัดแปรพันธุกรรม และกรรมวิธีที่ให้อาหารหนูโดยเลี้ยงหนูตั้งแต่อายุ 4 สัปดาห์ ที่ห้องปฏิบัติการควบคุมอุณหภูมิของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร จนหนูมีอายุ 11 สัปดาห์จึงฆ่าหนูแล้วเก็บเนื้อเยื่อ กระเพาะอาหาร ลำไส้ ตับ ไต อัณฑะ ท่อเก็บสะสมอสุจิส่วนปลาย (cauda epididymis) รังไข่ มาศึกษาทางมิญชวิทยาด้วยการคงสภาพในฟอร์มาลีน 10% นาน 1วัน ล้างชิ้นเนื้อเยื่อด้วยน้ำ ประปาที่ไหล 1 ชั่วโมง จึงเก็บรักษาในแอลกอฮอล์ 70% แล้วนำมาทำสไลด์ถาวรที่ย้อมสีฮีมาท็อกไซลีนและสีอีโอซีน เมื่อตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่า เซลล์และเนื้อเยื่อของ กระเพาะอาหาร ลำไส้ ตับ ไต อัณฑะ ท่อเก็บสะสมอสุจิส่วนปลาย และ รังไข่ ของหนู ที่กินมะละกอพันธุ์แขกนวล และแขกดำ ทั้งดิบและสุก ที่ดัดแปรพันธุกรรมและไม่ดัดแปรพันธุกรรม มีลักษณะปกติคือ เซลล์มีนิวเคลียสติดสีม่วงแดง ไซโตพลาสซึมติดสีชมพูเหมือนกับกรรมวิธีที่หนูกินอาหารหนู

รหัสการทดลอง 09-01-49-02-03-02-09-52

คำนำ

มะละกอ *(Carica papaya* L.) เป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนของทวีปอเมริกา คาดว่ามีการนำมะละกอมาปลูกใน ประเทศไทย หลังปี พ.ศ.2169 ปัจจุบันมีการปลูกและบริโภคทั่วทุกภาคของประเทศ โดยมะละกอดิบใช้ประกอบอาหารหลายชนิดโดยเฉพาะทำ “ส้มตำ” มะละกอสุกเป็นผลไม้ที่มีคุณค่าทางอาหารคือมีวิตามินเอ วิตามินซี และโปตัสเซี่ยมสูง (Morton,1987) นอกจากนี้ยังมีการแปรรูปมะละกอเป็นรูปผลไม้กระป๋องและผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ส่งไปขายยังต่างประเทศ เช่น ญี่ปุ่น อเมริกา ยุโรป และตะวันออกกลาง โดยเฉพาะประเทศจีนมีความต้องการมะละกอสุกและมะละกอแปรรูปจากไทยเพิ่มมากขึ้นทุกปี อย่างไรก็ตาม การส่งออกมะละกอของไทยยังน้อยมาก เพราะผลผลิตกว่า 90% ใช้บริโภคภายในประเทศ (นิรนาม, 2545)

ปัญหาสำคัญของการปลูกมะละกอคือโรคจุดวงแหวนที่มีสาเหตุจากเชื้อ Papaya Ringspot Virus (PRSV) พบระบาดทั่วโลก.Jensen (1949) รายงานการระบาดของโรคนี้ครั้งแรกที่ฮาวายปี พ.ศ. 2488 ประเทศไทยมีการระบาดของโรคจุดวงแหวนครั้งแรกในปี 2518 ที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (ถวิล,2518) ปัจจุบันโรคนี้ระบาดทุกจังหวัดในภูมิภาคนี้ และมีความรุนแรง 100% โรคนี้มีเพลี้ยอ่อนหลายชนิดเป็นพาหะ (วิไล และคณะ,2546) กรมวิชาการเกษตรได้ประสบความสำเร็จ ในการสร้างมะละกอดัดแปรพันธุกรรม ที่มีศักยภาพต้านทาน PRSV โดยนักวิชาการ 2 คน คือ ดร.นงลักษณ์ ศรินทุ และ ดร.ศุจิรัตน์ สงวนรังศิริกุล ซึ่งได้เดินทางไปปฏิบัติงานที่มหาวิทยาลัยคอร์แนลในปี 2539 พร้อมกับนำเมล็ดพันธุ์มะละกอสายพันธุ์ไทยและเชื้อ PRSV สายพันธุ์จากจังหวัดขอนแก่นเพื่อสร้างมะละกอดัดแปรพันธุกรรม โดยใช้วิธีการและเทคโนโลยีของ Maureen Fitch และคณะ (1992)และ Gonsalves (1998) จนถึงปี 2540 ก็ประสบความสำเร็จ นำต้นมะละกอดัดแปรพันธุกรรมรุ่น R0 ที่มีศักยภาพต้านทาน PRSV จำนวน 25 ต้น และเนื้อเยื่ออีกจำนวนหนึ่งกลับมาดำเนินงานวิจัยต่อที่สถานีทดลองพืชสวนขอนแก่น(นงลักษณ์และคณะ,2540) เพื่อทำการปลูกและคัดเลือกต้นและสายพันธุ์ที่มีความต้านทานสูงและคุณภาพดีตั้งแต่รุ่นR1,R2 จนถึง R3 ในปี 2546 จึงคัดเลือกได้มะละกอดัดแปรพันธุกรรมที่มีความต้านทานและคุณภาพดีเป็นพันธุ์แขกนวล รุ่น R3 ซึ่งเหมาะสำหรับทำส้มตำ คือสายพันธุ์ 319-1KN-181 มีความต้านทานโรคไวรัสจุดวงแหวน 97 % และเป็นพันธุ์แขกดำรุ่น R3 ซึ่งเหมาะสำหรับกินสุกและส่งโรงงาน จำนวน 1 สายพันธุ์ คือสายพันธุ์ 300 KD-9 ที่มีความต้านทานโรคไวรัสจุดวงแหวน 100 % (วิไล และคณะ,2545)และกรมวิชาการเกษตรได้มีการศึกษาผลการบริโภคมะละกอดัดแปรพันธุกรรมสองสายพันธุ์นี้ต่อการเจริญเติบโตของหนูนอร์เวย์พบว่าไม่มีความแตกต่างกับหนูที่บริโภคมะละกอธรรมดา (พวงทอง และคณะ 2551) นอกจากนี้มีการศึกษาปริมาณการผลิตสารพิษตามธรรมชาติ benzyl isothiocyanate (BITC)ซึ่งพบได้ในน้ำยางมะละกอดิบ เนื้อของผล เนื้อเยื่อที่ได้รับบาดแผล เมล็ดและรากมะละกอ ในเนื้อมะละกอขณะผลอ่อนจะมีสาร BITC มากกว่าในเนื้อผลแก่ ส่วนในเมล็ดเมื่ออายุมากขึ้นจะมีสาร BITC สูงขึ้น BITC หรือ benzyl mustard oil มีลักษณะเป็นของเหลวสีเหลือง มีน้ำหนักโมเลกุล 149.22 มีจุดเดือดที่ 243 องศา

เซลเซียส ไม่ละลายในน้ำ ละลายได้ดีใน ethyl alcohol เมื่อละลายใน alcoholสามารถดูดแสงที่ช่วงคลื่น247.5นาโนเมตร ได้ดีที่สุด(PollockและStevens,1965;Chan,Jr. และคณะ, 1978;Tang และ Takenaka,1983;Tang,1971)

เนื่องจากพืชดัดแปรพันธุกรรมของทุกประเทศถูกควบคุมโดยข้อกำหนดของแต่ละประเทศและสากล ที่จะต้องทำการประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพและด้านอาหารของสายพันธุ์ที่คัดเลือก ทั้งนี้ต้องมีการทดสอบความปลอดภัยทางด้านอาหารภายใต้ข้อกำหนดของคณะกรรมการความปลอดภัยทางชีวภาพด้านการเกษตรของกรมวิชาการเกษตร และภายใต้คำแนะนำของคณะกรรมการเพื่อความปลอดภัยทางชีวภาพด้านอาหารซึ่งกำหนดตามมาตรฐานสากล (นิรนาม ,2547) การทดสอบนี้เป็นส่วนหนึ่งของการประเมินความปลอดภัยด้านอาหารของมะละกอดัดแปรพันธุกรรม 2 สายพันธุ์คือแขกนวล R_3 319-KN-181 และแขกดำ R_3 300KD-9 ของกรมวิชาการเกษตร เพื่อทราบผลต่อเซลล์และเนื้อเยื่อของอวัยวะระบบทางเดินอาหาร ระบบสืบพันธุ์ ตับ และไตของหนูนอร์เวย์ ; *Rattus norvegicus* ในห้องปฏิบัติการ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

สัตว์ทดลอง

- หนูนอร์เวย์ (*Rattus norvegicus*) สายพันธุ์ Wistarที่ปลอดเชื้ออายุ 4สัปดาห์

อาหารเลี้ยงหนู

อุปกรณ์และเครื่องมือ

- มะละกอพันธุ์แขกนวลดัดแปรพันธุกรรม R 3 319-KN-181 และแขกดำดัดแปรพันธุกรรมR 3 300 KD จากสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่3 จ.ขอนแก่น และมะละกอพันธุ์แขกนวล และแขกดำธรรมดา(ที่ไม่ดัดแปรพันธุกรรม)ทั้งผลดิบและผลสุกและอาหารหนู
- กรงเลี้ยงหนู อุปกรณ์ผ่าตัดหนู
- อุปกรณ์ทางมิญชวิทยา กล้องจุลทรรศน์

สารเคมี

- สีฮีมาท็อกไซลิน และสีอีโอซิน
- ไซลีน ฟอร์มาลีน แอลกอฮอล์ 70%,100%

แผนการทดลอง

แผนการทดลอง แบบ RCB 5 กรรมวิธี 10 ซ้ำ คือตัวผู้ 5 ตัวและตัวเมีย 5 ตัว

กรรมวิธีที่ 1 หนูกินอาหารเลี้ยงหนูตามปกติอย่างเดียว

กรรมวิธีที่ 2 หนูกินมะละกอดิบธรรมดา(ที่ไม่ดัดแปรพันธุกรรม)แลอาหารเลี้ยงหนู

กรรมวิธีที่ 3 หนูกินมะละกอสุกธรรมดา(ที่ไม่ดัดแปรพันธุกรรม)และอาหารเลี้ยงหนู

กรรมวิธีที่ 4 หนูกินมะละกอดิบ(ดัดแปรพันธุกรรม)และอาหารเลี้ยงหนู

กรรมวิธีที่ 5 หนูกินมะละกอสุก(ดัดแปรพันธุกรรม)และอาหารเลี้ยงหนู

วิธีการ ปี 2553 ศึกษาผลการบริโภคมะละกอดัดแปรพันธุกรรมต่อเนื้อเยื่อหนู

การศึกษาเนื้อเยื่อ

นำหนูนอร์เวย์ที่ปลอดเชื้ออายุ 4 สัปดาห์ มาเลี้ยงที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสัตววิทยาการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช โดยชั่งน้ำหนักหนูทุกตัวแล้วแยกเลี้ยงกรงละ 1 ตัว ตามแผนการทดลองของแต่ละกรรมวิธีให้น้ำและอาหารทุกวัน ด้วยการชั่งน้ำหนักอาหารก่อนให้และอาหารที่เหลือของแต่ละวัน ทำเช่นนี้ทุกวัน ทำการชั่งน้ำหนักหนูทุก 7 วัน จนหนูมีอายุ 11สัปดาห์ นำหนูเพศผู้และเพศเมีย มาผ่าตัดเอา ตับ ไต กระเพาะอาหาร และลำไส้ ในหนูเพศผู้ ตัดลูกอัณฑะ(testis) และ ท่อเก็บน้ำเชื้ออสุจิ(cauda epididymis) ในหนูเพศเมียตัด รังไข่ นำอวัยวะที่ตัดออกมาทำความสะอาดด้วยน้ำเกลือ 0.8% แล้วคงสภาพในฟอร์มาลิน10% นาน 1 คืน นำมาล้างน้ำประปาที่ไหลนาน1 ชั่วโมงเก็บรักษาเนื้อเยื่อเหล่านั้นในแอลกอฮอล์ 70% เพื่อสำหรับเตรียมทำสไลด์เนื้อเยื่อถาวรต่อไป

ระยะเวลาเริ่มต้น ตุลาคม 2552 **สิ้นสุด** กันยายน 2553 **รวม** 1 ปี

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของหนูนอร์เวย์ที่ปลอดเชื้อ;*Rattus norvagicus* สายพันธุ์ Wistar ที่กินมะละกอพันธุ์แขกนวล และแขกดำ ทั้งดิบและสุก ที่ดัดแปรพันธุกรรมและไม่ดัดแปรพันธุกรรม และกรรมวิธีที่ให้อาหารหนู จนหนูมีอายุ 11 สัปดาห์จึงฆ่าหนูแล้วเก็บเนื้อเยื่อ กระเพาะอาหาร ลำไส้ ตับ ไต อัณฑะ ท่อเก็บสะสมอสุจิส่วนปลาย(cauda epididymis)รังไข่ มาศึกษาทางมิญชวิทยา พบว่า

หนูนอร์เวย์ที่กินมะละกอแขกนวลดิบและสุก ทั้งที่ดัดแปรพันธุกรรมและไม่ดัดแปรพันธุกรรม และกรรมวิธีที่ให้อาหารหนูพบว่าเซลล์และเนื้อเยื่อของอวัยวะต่างๆเหล่านั้นเป็นปกติ คือ

กระเพาะอาหาร (Stomach) เซลล์ในชั้นมิวโคซ่า(Tunica mucosa) ได้แก่ เซลล์มิวคัดบุอยู่ที่gastric pit มีลักษณะCuboidal cells มีนิวเคลียสกลมติดสีม่วงแดงส่วนไซโตพลาสซึมติดสีชมพู และชั้นกล้ามเนื้อ(Tunica muscularis)มีเซลล์ชั้นกล้ามเนื้อหนานิวเคลียสรีติดสีม่วงแดงส่วนไซโตพลาสซึมติดสีชมพู

ลำไส้เล็ก(Small intestine)ชั้นมิวโคซ่าจะมีVilli ยื่นเข้าในหลอดลำไส้เพื่อเพิ่มพื้นที่ดูดอาหาร เซลล์บุผิวเป็นSimple columnar epithelium นิวเคลียสรูปไข่อยู่ที่ฐานของเซลล์ติดสีม่วงแดง ไซโตพลาสซึมติดสีชมพู และชั้นกล้ามเนื้อ(Tunica muscularis)มีเซลล์ชั้นกล้ามเนื้อหนานิวเคลียสรีติดสีม่วงแดงส่วนไซโตพลาสซึมติดสีชมพู

อวัยวะตับ(Liver)พบว่าเซลล์ตับ (Hepatocyte) มีนิวเคลียสกลมติดสีม่วงแดง ส่วนไซโตพลาสซึมติดสีชมพู

อวัยวะไต(Kidney)เซลล์ในหน่วยกรองของเสียของไต(Glomerulus)เมื่อตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ จะพบหลอดเลือดฝอย(Capillaries)ขดตัวไปมาอยู่ในBowman capsule เซลล์มีนิวเคลียสกลมติดสีม่วงแดงส่วนไซโตพลาสซึม ติดสีชมพูและพบส่วนที่เป็นท่อในหน่วยไตซึ่งเซลล์มีนิวเคลียสกลมติดสีม่วงแดงส่วนไซโตพลาสซึม ติดสีชมพู

อัณฑะ(Testis)พบว่ามีลักษณะเป็นท่อ เรียกว่าท่อผลิตอสุจิ(Seminiferous tubules) ภายในท่อพบเซลล์สืบพันธุ์ชนิดต่างๆได้แก่ Spermatogonium cells , Spermatocyte cells , Spermatid cells และ spermatozoa cells โดยเซลล์เหล่านี้ มีนิวเคลียสกลม ติดสีม่วงแดง ส่วนไซโตพลาสซึม ติดสีชมพู และพบ Leydig cells เป็นเซลล์รูปสามเหลี่ยมอยู่เป็นกลุ่มระหว่างท่อผลิตอสุจินิวเคลียสกลมติดสีม่วงแดงส่วนไซโตพลาสซึม ติดสีชมพู ทำหน้าที่ผลิตฮอร์โมนเพศชาย (Testosterone)

ท่อเก็บสะสมอสุจิ(Caudal epididymis) เซลล์เยื่อบุผิวท่อเป็นPseudostratified columnar epithelium มีนิวเคลียสกลมติดสีม่วงแดงส่วนไซโตพลาสซึม ติดสีชมพู ภายในท่อพบตัวอสุจิปริมาณมาก

รังไข่ (Ovary)จะพบเซลล์หลายชนิดได้แก่Oogonium cell, Follicle cell และกลุ่มTheca cells ที่อยู่ใน Corpus albican ซึ่งเป็นรอยผลเป็นหลังจากฟอลลิเคิลนั้นตกไข่ไปแล้ว Theca cells จะมีนิวเคลียสกลมติดสีม่วงแดงส่วนไซโตพลาสซึม ติดสีชมพู (ภาพที่ 1)

หนูนอร์เวย์ ที่กินมะละกอแขกดำ ดิบและสุก ทั้งที่ดัดแปรพันธุกรรมและไม่ดัดแปรพันธุกรรม และกรรมวิธีที่ให้อาหารหนูพบว่าเซลล์และเนื้อเยื่อของอวัยวะต่างๆเหล่านั้นเป็นปกติ คือ

กระเพาะอาหาร (Stomach) เซลล์ในชั้นมิวโคซ่า(Tunica mucosa) ได้แก่ เซลล์มิวคัดบุอยู่ที่gastric pit มีลักษณะCuboidal cells มีนิวเคลียสกลม ติดสีม่วงแดง ส่วนไซโตพลาสซึมติดสีชมพู และชั้นกล้ามเนื้อ(Tunica muscularis)มีเซลล์ชั้นกล้ามเนื้อหนานิวเคลียสรีติดสีม่วงแดงส่วนไซโตพลาสซึมติดสีชมพู

ลำไส้เล็ก(Small intestine)ชั้นมิวโคซ่าจะมี Villi ยื่นเข้าในหลอดลำไส้เพื่อเพิ่มพื้นที่ดูดอาหาร เซลล์บุผิวเป็นSimple columnar epithelium นิวเคลียสรูปไข่อยู่ที่ฐานของเซลล์ติดสีม่วงแดง ไซโตพลาสซึมติดสีชมพูและชั้นกล้ามเนื้อ(Tunica muscularis)มีเซลล์ชั้นกล้ามเนื้อหนานิวเคลียสรีติดสีม่วงแดงส่วนไซโตพลาสซึมติดสีชมพู

อวัยวะตับ (Liver)พบว่าเซลล์ตับ (Hepatocyte)มีนิวเคลียสกลม ติดสีม่วงแดง ส่วนไซโตพลาสซึมติดสีชมพู

อวัยวะไต(Kidney) เซลล์ในหน่วยกรองของเสียของไต (Glomerulus) เมื่อตรวจดูด้วยกล้อง

จุล ทรรศน์จะพบหลอดเลือดฝอย(Capillaries)ขดตัวไปมาอยู่ในBowman capsule เซลล์มีนิวเคลียสกลมติดสีม่วงแดงส่วนไซโตพลาสซึม ติดสีชมพู และพบส่วนที่เป็นท่อในหน่วยไตซึ่งเซลล์มีนิวเคลียสกลมติดสีม่วงแดงส่วนไซโตพลาสซึม ติดสีชมพู

อัณฑะ(Testis)พบว่ามีลักษณะเป็นท่อ เรียกว่าท่อผลิตอสุจิ(Seminiferous tubules) ภายในท่อพบเซลล์สืบพันธุ์ชนิดต่างๆได้แก่ Spermatogonium cells , Spermatocyte cells , Spermatid cellsและspermatozoa cells เซลล์เหล่านี้มีนิวเคลียสกลมติดสีม่วงแดงส่วนไซโตพลาสซึม ติดสีชมพู และพบ Leydig cells เป็นเซลล์รูปสามเหลี่ยมอยู่เป็นกลุ่มระหว่างท่อผลิตอสุจินิวเคลียสกลมติดสีม่วงแดงส่วนไซโตพลาสซึม ติดสีชมพู ทำหน้าที่ผลิตฮอร์โมนเพศชาย (Testosterone)

ท่อเก็บสะสมอสุจิ(Caudal epididymis) เซลล์เยื่อบุผิวท่อเป็นPseudostratified columnar epithelium มีนิวเคลียสกลมติดสีม่วงแดงส่วนไซโตพลาสซึม ติดสีชมพู ภายในท่อพบตัวอสุจิปริมาณมาก

รังไข่(Ovary) จะพบเซลล์หลายชนิดได้แก่ Oogonium cell,Follicle cell และกลุ่มTheca cellsที่อยู่ใน Corpus albican ซึ่งเป็นรอยแผลเป็นหลังจาก ฟอลลิเคิล นั้นตกไข่ไปแล้ว Theca cells จะมีนิวเคลียสกลมติดสีม่วงแดงส่วนไซโตพลาสซึม ติดสีชมพู (ภาพที่ 2)

จากผลการทดลองหลังจากที่หนูกินมะละกอทั้งพันธุ์แขกนวลและแขกดำที่ดิบและสุก ทั้งที่ดัดแปรพันธุกรรมและไม่ดัดแปรพันธุกรรม เปรียบเทียบกับหนูที่กินอาหารเลี้ยงหนู ตั้งแต่อายุ 4 สัปดาห์ จนมีอายุ 11 สัปดาห์ กินมะละกอนานถึง7 สัปดาห์ ซึ่งหนูเติบโตเป็นตัวเต็มวัยมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ตามปกติไม่แตกต่างกันและเซลล์และเนื้อเยื่อของอวัยวะกระเพาะอาหาร ลำไส้เล็ก ตับ ไต อัณฑะ ท่อเก็บสะสมอสุจิและรังไข่ มีเซลล์และเนื้อเยื่อปกติเหมือนกันทุกกรรมวิธี สอดคล้องกับการศึกษาของพวงทองและคณะ2551ที่ศึกษา ผลการบริโภคมะละกอดัดแปรพันธุกรรมสองสายพันธุ์นี้ต่อการเจริญเติบโตของหนูนอร์เวย์พบว่าไม่มีความแตกต่างกับหนูที่บริโภคมะละกอธรรมดา

สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองหลังจากที่หนูกินมะละกอทั้งพันธุ์แขกนวลและแขกดำ ที่ดิบและสุก ทั้งที่ดัดแปรพันธุกรรมและไม่ดัดแปรพันธุกรรม เปรียบเทียบกับหนูที่กินอาหารเลี้ยงหนูพบว่าเซลล์และเนื้อเยื่อของอวัยวะกระเพาะอาหาร ลำไส้เล็ก ตับ ไต อัณฑะ ท่อเก็บสะสมอสุจิ และรังไข่ มีเซลล์และเนื้อเยื่อปกติเหมือนกันทุกกรรมวิธี นั่นแสดงว่ามะละกอดัดแปรพันธุกรรมทั้งสองสายพันธุ์ ทั้งดิบและสุกไม่มีผลต่อเซลล์และเนื้อเยื่อของหนูจึงทำให้หนูเจริญเติบโตและสืบพันธุ์ได้อย่างปกติ

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

เพื่อเป็นข้อมูลประกอบการประเมินความปลอดภัยด้านอาหารของมะละกอดัดแปรพันธุกรรม2 สายพันธุ์คือแขกนวล R_3 319-KN-181 และแขกดำ R_3 300KD-9 ของกรมวิชาการเกษตร เพื่อ deregulate มะละกอดัดแปรพันธุกรรม ดังกล่าวและแจกจ่ายให้เกษตรกรนำไปปลูกเพื่อแก้ปัญหาโรคไวรัสจุดวงแหวนของมะละกอต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ถวิล ศรีสมชัย. 2518. การศึกษาโรคใบด่างมะละกอ.หน้า. 228-232.ใน:รายงานประจำปี2518. สำนักงานภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จ.ขอนแก่น.

นิรนาม.2540-45. รายการสถิติการปลูกรวมทุกพืช.กองแผนงาน กรมส่งเสริมการเกษตร

นิรนาม.2547.การวิจัยและพัฒนามะละกอดัดแปรพันธุกรรมในประเทศไทย. ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ เอกสารประกอบการประชุมวิชาการ BIOSAFETY FORUM เรื่อง การวิจัยพัฒนาและทดสอบความปลอดภัยมะละกอดัดแปลงพันธุกรรมในประเทศไทย 23 สิงหาคม 2547 ณ อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย จ.ปทุมธานี 4 หน้า

นงลักษณ์ ศรินทุ วิไล ปราสาทศรี ศุจิรัตน์ สงวนรังศิริกุล Paula Tennant และ Dennis Gonsalves. 2540. การสร้างพันธุ์มะละกอต้านทานไวรัสโรคจุดวงแหวนโดยวิธีพันวิศวกรรม.การประชุมสัมมนาทางวิชาการเรื่องมะละกอ.2-4กรกฎาคม2540. โรงแรมเจริญธานีปริ๊นเซส จ.ขอนแก่น

พวงทอง บุญทรง ปราสาททอง พรหมเกิด ปิยาณี หนูกาฬ วิไล ปราสาทศรี เมธินี ศรีวิวัฒกุล . การศึกษาความปลอดภัยจากการบริโภคมะละกอดัดแปรพันธุกรรมของหนูนอร์เวย์ ; *Rattus norvagicus* สายพันธุ์ Wistar รายงานผลการวิจัย ปี 2551 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร 12 หน้า

วิไล ปราสาทศรี นงลักษณ์ ศรินทุ ศุจิรัตน์ สงวนศิริกุล สุวิทย์ ชัยเกียรติยศ รัชนี ศิริยาน และ Dennis Gonsalves.2545.การทดสอบและการคัดเลือกมะละกอตัดต่อสารพันธุกรรม รุ่น R2 และ R3. การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติครั้งที่2 28-30 พฤษภาคม 2545 โรงแรมเจริญธานีปริ๊นเซส จ.ขอนแก่น หน้า 10 (บทคัดย่อ)

วิไล ปราสาทศรี. 2546. โรคจุดวงแหวนมะละกอและการป้องกันกำจัด.เอกสารทางวิชาการสถานีทดลองพืชสวนขอนแก่น ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร 43 หน้า

Brugger,R.L. 1982. Preference of *Bandicota bengalensis* foroil. Page 32-35. *In* :Vertebrate Damage Control Research in Agriculture.1982. Annual Report. Denver Wildlife Research Center.U.S.A.

Chakraborty,R.and S. Chakraborty.1990.Food habit and feeding behaviou of the large bandicoot at, *Bandicota indica* (Bechstein).Rodent Newsletter 14:5-6.

Chan, H.t., Jr., R.A. Heu, C.S. Tang,E.N. Okaxaki and S. M. Ishizaki.1978. Composition of papaya seeds. J. Food Sci. 43:255-288.

Fitch,M,.R.Manshardt,d.Gonsaves,J.Slinghtom and J.Sanford.1992.Virus resistant papaya derived from tissues bombarded with the coat protein gene of papaya ringspot virus.Bio /Technology 10:1466-1472.

Gonsalves.D.1998. Control of papaya ringspot virus in papaya:A case study.Annual Review of Phytopathology 36:415-437.

Jensen.D.D. 1949. Papaya virus disease with special reference to papaya ringspot. Phytopathology 39:191-211.

Katoch,K.1981. Study of food preference of *Rattus rattus* . Rodent Newsletter.5(4):27

Morton.J.1987.Papaya.Pages 336-346.*In*:Fruits of warm climates.Miami.Florida.

Pollock,J.R.A. and R. Stevens. 1965. Dictionary of Organic Compound Vol.1: A:Cholp. Eyre & Spottiswoode (Publishers),Ltd., London. 588 p.

Purseglove,J.W. 1974. Tropical Crops Dicotyledons Volumes1 and 2 Combined. Longman Group Ltd., London. 719 p.

Sultiman,S.M.,S.A.Shumake and W.B.Jackson. 1984. Food preference in the Nile rat, *Arvicanter niloticus.* Tropical Pest Management.20(2) :151-158.

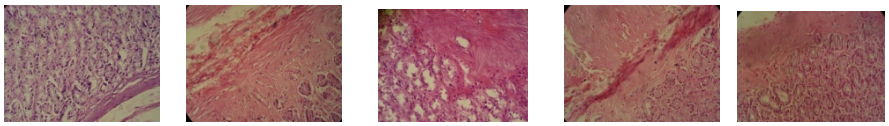
Tang C.S. 1971. Benzyl isothiocyanate of papaya fruit. Phytochemistry 10:117-120.

Tang C.S and T. Takenaka. 1983. Quantitation of a bioactive metabolite in undisturbed rhizosphere-benzyl isothiocyanate from *Carica papaya* L. J. Chem. Ecol. 9: 1247-1253.

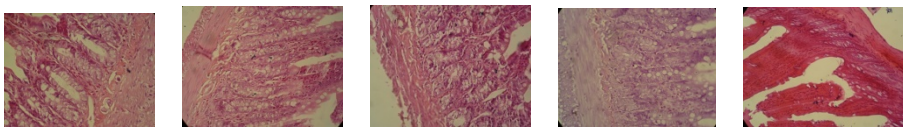
ภาพที่ 1 เซลล์และเนื้อเยื่อกระเพาะอาหาร ลำไส้เล็ก ตับ ไต อัณฑะ ท่อเก็บสะสมอสุจิ และรังไข่ ของหนูกินมะละกอ ทั้งพันธุ์แขกนวล ที่ดิบและสุก ทั้งที่ดัดแปรพันธุกรรมและไม่ดัดแปรพันธุกรรม เปรียบเทียบกับหนูที่กิน อาหารเลี้ยงหนู (40x)

กินอาหารหนู กินมะละกอดิบไม่ กินมะละกอสุกไม่ กินมะละกอดิบ กินมะละกอสุก
ดัดแปรพันธุกรรม ดัดแปรพันธุกรรม ดัดแปรพันธุกรรม ดัดแปรพันธุกรรม

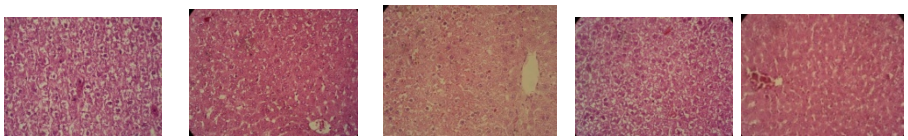
กระเพาะอาหาร



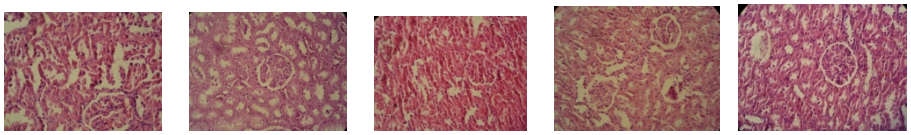
ลำไส้เล็ก



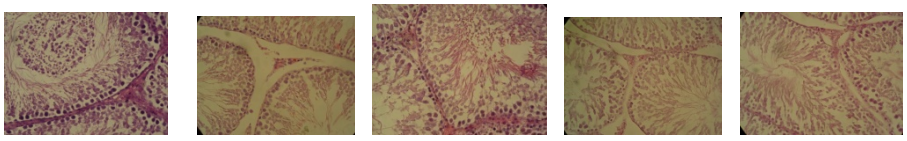
ตับ



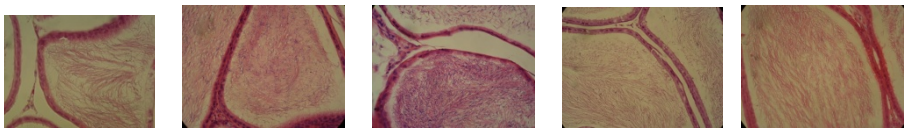
ไต



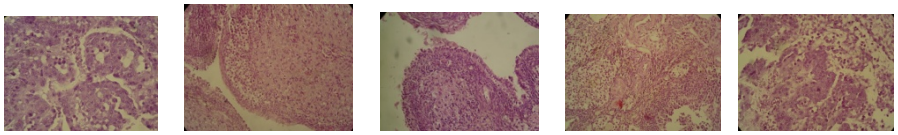
อัณฑะ



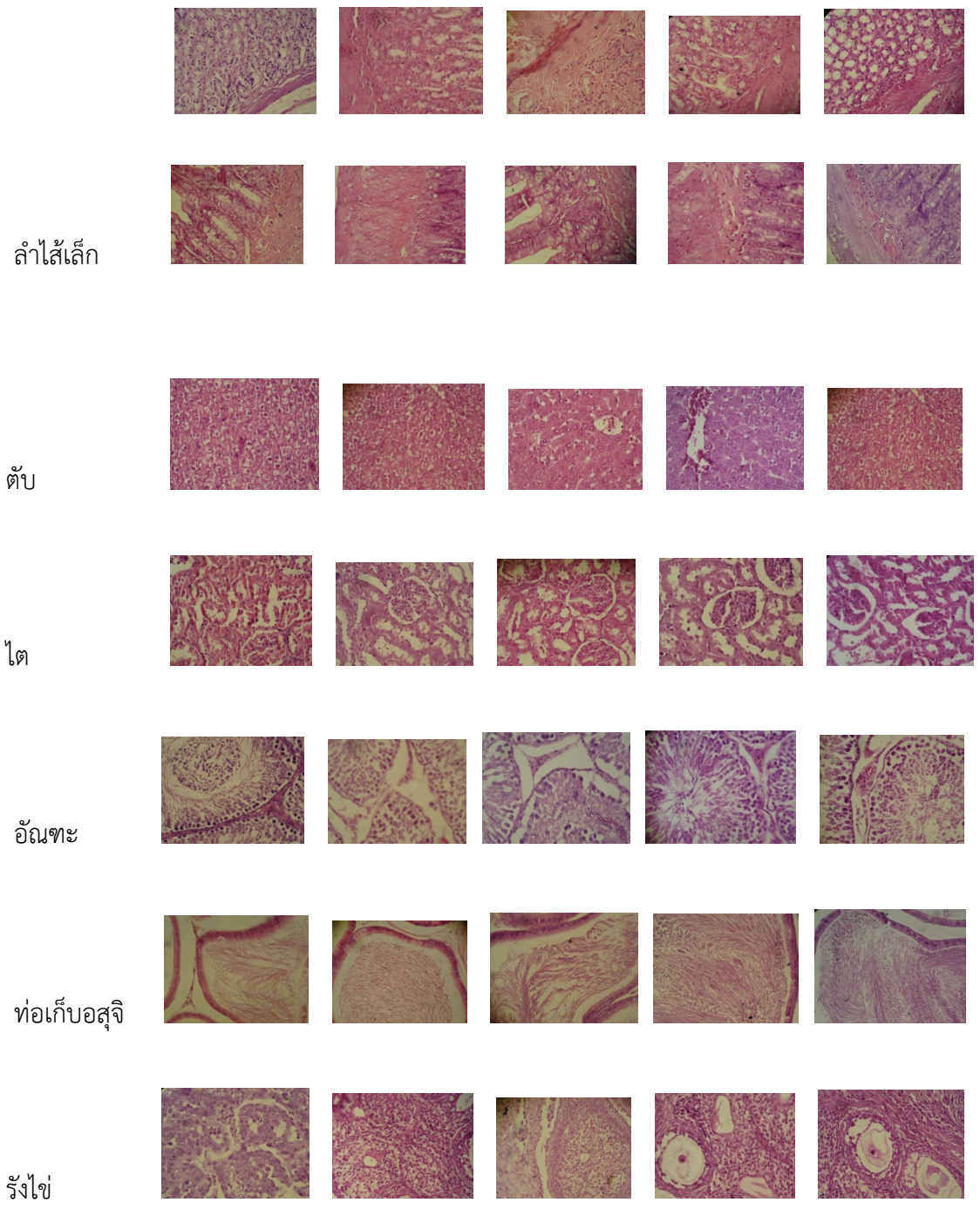
ท่อเก็บอสุจิ



รังไข่



ภาพที่ 2 เซลล์และเนื้อเยื่อกระเพาะอาหาร ลำไส้เล็ก ตับ ไต อัณฑะ ท่อเก็บสะสมอสุจิ และรังไข่ ของหนูกิน มะละกอ ทั้งพันธุ์แขกดำ ที่ดิบและสุก ทั้งที่ดัดแปรพันธุกรรมและไม่ดัดแปรพันธุกรรม เปรียบเทียบกับหนูที่กินอาหาร เลี้ยงหนู (40x)



การผลิตแอนติซีรัมของไวรัส *Pineapple mealybug wilt-associated virus*-2 สาเหตุโรคเหี่ยวสับปะรดโดยใช้ระบบเซลล์แบคทีเรีย

Antiserum production of *Pineapple mealybug wilt-associated virus*-2 causing pineapple wilt disease by bacterial cell system

วันเพ็ญ ศรีทองชัย ศรีเมฆ ชาวโพงพาง เยาวภา ตันติวานิช

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

นำใบสับปะรดที่เป็นโรคเหี่ยวมาแยกสกัดอาร์เอ็นเอ โดยใช้ชุดสกัดอาร์เอ็นเอสำเร็จรูป (RNeasy Kit ของ QIAGEN) แล้วนำไปเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค RT-PCR โดยใช้ไพรเมอร์จากส่วนของยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคของเชื้อไวรัส PMWaV-2 ได้แก่ Lumi_PMWaV2F (5' CACCGCTCAGAATTACGTAGCCGTAGTAGA 3') และ Lumi_PMWaV2R (5' CCCTGAAAC AGCTCCCTG GTTCAGCT 3') สังเคราะห์ ได้ชิ้นของดีเอ็นเอ ขนาด 909 คู่เบส จากนั้นนำไปโคลนเข้าสู่ cloning vector (pCR®8/GW/TOPO® , Invitrogen) และคัดเลือกเฉพาะโคลนที่มีชิ้นดีเอ็นเอที่ใส่เข้าไปใน vector นำมาทำให้บริสุทธิ์โดยวิธี Miniprep และมีลำดับนิวคลีโอไทด์ 909 คู่เบส หลังจากนั้น subclone ยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคของไวรัส PMWaV-2 เข้าสู่ protein expression vector (pET160/GW/D-TOPO® , Invitrogen) ซึ่งมีขนาด 5.8 กิโลเบส และ transform เข้า *E. coli* Top 10 ตรวจพบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์ 1041 คู่เบส คัดเลือกโคลนที่สามารถสังเคราะห์โปรตีนได้ในเซลล์ของ *E. coli* BL 21 (DES 3) ในอาหาร 2XYT ที่เติมสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร- และที่เติมสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร และใช้สาร Isopropyl-β-D thiogalactopyranoside (IPTG) ในการชักนำให้เกิดการสังเคราะห์โปรตีน พบว่าระยะเวลาที่สามารถสังเคราะห์โปรตีนได้สูงสุด คือ 24 ชั่วโมง โดยให้โปรตีนที่มีขนาดประมาณ 38 กิโลดาลตัน จากนั้นนำไปผ่าน Ni-NTA column แล้วนำโปรตีน 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ไปฉีดเข้าใต้ผิวหนัง บริเวณคอของกระต่าย โดยผสมกับ Freund's adjuvant ทุก 2 สัปดาห์ รวม 5-6 ครั้ง และเจาะเลือด 6 ครั้ง ผลการตรวจสอบคุณภาพของแอนติซีรัมที่ได้ ด้วยวิธี indirect ELISA โดยเจือจางตั้งแต่ 1:10 ถึง 1:1,000,000 พบว่า แอนติซีรัมจากการเจาะเลือดครั้งที่ 4-6 มีประสิทธิภาพสูงสุด สามารถทำปฏิกิริยาได้จนถึง 1:100,000 จากนั้นทำการทดสอบประสิทธิภาพของแอนติซีรัมกับตัวอย่างสับปะรดที่แสดงอาการเหี่ยว โดยเปรียบเทียบชนิดของ plate พบว่า Polysorp plate ของ Nunc ให้ปฏิกิริยาดีที่สุด แต่ให้ปฏิกิริยาค่อนข้างต่ำ ทำให้อ่านผลยาก แอนติซีรัมที่ผลิตได้อาจเหมาะนำไปใช้ในการตรวจหาไวรัสโดยวิธี Immunosorbent electron microscopy มากกว่าวิธี ELISA

รหัสการทดลอง 09 01 49 02 03 04 10 51

คำนำ

สับปะรด [*Ananas comosus* (L.) Merr.] อยู่ในวงศ์ Bromeliaceae เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย สามารถปลูกและเก็บผลผลิตได้ตลอดปี เพื่อใช้บริโภคสดภายในประเทศและแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ มีมูลค่าส่งออกประมาณปีละ13,000-15,000 ล้านบาท โดยประเทศไทยครองความเป็นผู้นำในการผลิตและส่งออกสับปะรดเป็นอันดับหนึ่งของโลก เป็นเวลานานกว่า 10 ปี จนถึงปัจจุบัน โดยมีตลาดผู้นำเข้าที่สำคัญ ได้แก่ สหรัฐอเมริกา สหภาพยุโรป ญี่ปุ่น และสาธารณรัฐประชาชนจีน (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2547)

ศัตรูพืชเป็นอุปสรรคสำคัญในการปลูกสับปะรด ทำให้ผลผลิตและคุณภาพสับปะรดเสียหายอย่างรุนแรง จนบางครั้งไม่สามารถเก็บผลผลิตได้ ศัตรูสำคัญที่สุดที่กำลังเป็นปัญหาสำคัญต่อการปลูกสับปะรดของไทยในปัจจุบัน ได้แก่ โรคเหี่ยวสับปะรด (Pineapple wilt disease หรือ Mealybug wilt of pineapple) พบระบาดเป็นครั้งแรกในรัฐฮาวาย ประเทศสหรัฐอเมริกา เมื่อต้นปี พ.ศ. 2443 และปัจจุบันโรคนี้แพร่ระบาดทั่วไปในประเทศที่มีการปลูกสับปะรดเป็นการค้า เช่น ออสเตรเลีย ไทย และคิวบา เป็นต้น สำหรับประเทศไทยมีรายงานว่าพบการระบาดของโรคเหี่ยวในแหล่งปลูกสับปะรดของจังหวัดชลบุรีตั้งแต่ปี พ.ศ. 2532 และทำความเสียหายให้แก่ผลผลิตอย่างสูง ต่อมาในปี พ.ศ. 2546 โรคนี้ระบาดรุนแรงในแปลงปลูกสับปะรดของภาคตะวันตกบริเวณจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ และเพชรบุรี ซึ่งเป็นแหล่งปลูกสำคัญของประเทศ โดยมีพื้นที่ปลูกสับปะรดเป็นอันดับ 1 และ 3 ของประเทศ คือ 492,058 และ 56,192 ไร่ ตามลำดับ จากพื้นที่ปลูกทั้งประเทศ 962,693 ไร่ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2546; กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2547) นอกจากนี้เริ่มพบการเข้าทำลายของโรคนี้ในเขตจังหวัดชลบุรี ระยอง และตราด ซึ่งเป็นแหล่งปลูกสับปะรดที่สำคัญเพื่อส่งโรงงานแปรรูปของภาคตะวันออก พันธุ์ที่พบว่ามีการระบาดของโรคเหี่ยว คือพันธุ์ปัตตาเวีย หรือรู้จักแพร่หลายในนามสับปะรดศรีราชา ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มพันธุ์ Smooth Cayenne เป็นพันธุ์ที่ปลูกมากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 70 ของผลผลิตรวมของสับปะรด เพราะนอกจากนิยมปลูกเพื่ออุตสาหกรรมแปรรูปแล้ว ยังเป็นพันธุ์ที่นิยมใช้บริโภคผลสดอีกด้วย (วันเพ็ญ, 2546)

โรคนี้เกิดจากไวรัส *Pineapple mealybug wilt-associated virus* (PMWaVs ได้แก่ PMWaV-1 และ PMWaV-2) ซึ่งมีอนุภาคแบบท่อนยาวคด (flexuous rod) ขนาดประมาณ 1,200 X 12 นาโนเมตร กรดนิวคลีอิคเป็นแบบอาร์เอ็นเอสายเดี่ยว (single-stranded RNA, ssRNA) และมีน้ำหนักโมเลกุล 8.35 x 10^6 ดาลตัน (dalton) จัดอยู่ในสกุล คลอสเตอโรไวรัส (*Closterovirus*) วงศ์ คลอสเตอโรวิริดี (*Closteroviridae*) กระจายอยู่หนาแน่นเฉพาะภายในเซลล์ท่ออาหารของพืช (Beardsley, 1993)

ลักษณะอาการของโรค ใบเริ่มแสดงอาการอ่อนนิ่ม มีสีเขียวอ่อนหรือสีเหลือง ปลายใบแห้งตายเป็นสีน้ำตาลหรือสีแดงลามเข้าสู่โคนใบ (die back) ใบลู่ลงและแผ่แบนไม่ตั้งขึ้นเหมือนใบปกติ ต่อมาต้นเหี่ยวและแห้งตายในที่สุด รากมีขนาดสั้นและแตกแขนงน้อยมาก ทำให้ถอนต้นขึ้นมาได้ง่าย

ซึ่งตรงข้ามกับต้นปกติที่มีรากจำนวนมากยึดเกาะดินแน่น ทำให้ถอนต้นขึ้นมาได้ยาก ผลมีขนาดเล็กมากจนไม่สามารถเก็บเกี่ยวได้ (Dilokkunanant *et al*., 1996) ในธรรมชาติพืชอาศัยที่สำคัญและอ่อนแอต่อไวรัส คือ สับปะรด และโรคนี้สามารถถ่ายทอดโดยมีเพลี้ยแป้ง [pink pineapple mealybug, *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell) และ gray pineapple mealybug, *D. neobrevipes* (Beardsley)] เป็นพาหะ (German *et al*, 1992)

วิธีการที่สามารถใช้จำแนกไวรัส PMWaV-1 และ PMWaV-2 คือ วิธีอิมมูโนวิทยา (Immunology) โดยใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดี ที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อไวรัส PMWaV-1 และ PMWaV-2 (Sether & Hu, 2002) และวิธี RT-PCR โดยใช้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงกับไวรัสแต่ละชนิด (Beardsley, 1993; Hu *et al*., 1996) ซึ่งให้ผลที่แม่นยำ และรวดเร็ว แต่ต้องอาศัยความชำนาญเฉพาะด้านรวมทั้งต้องเสียค่าใช้จ่ายสูงในการตรวจสอบหน่อพันธุ์สับปะรดเป็นจำนวนมาก และในฮาวายมีรายงานว่า สับปะรดจะแสดงอาการเหี่ยว เมื่อได้รับเชื้อไวรัส PMWaV-2 และไม่แสดงอาการของโรคถ้าได้รับเชื้อ PMWaV-1 เพียงชนิดเดียว แต่ถ้าได้รับเชื้อทั้งสองชนิดสับปะรดจะแสดงอาการเหี่ยวอย่างรุนแรง ฉะนั้นควรมีการผลิตแอนติซีรัมของ PMWaV-2 เพื่อใช้ในการคัดเลือกหน่อพันธุ์ปลอดโรคเพื่อนำไปปลูกในปริมาณมาก เพราะเป็นวิธีที่ง่าย ค่าใช้จ่ายไม่สูง และสามารถตรวจตัวอย่างได้ครั้งละเป็นจำนวนมาก แต่เนื่องจากปริมาณของคลอสเตอโรไวรัสในพืชมีน้อย ทำให้ประสิทธิภาพของแอนติซีรัมที่ผลิตได้ยังไม่ดีที่สุด ในปัจจุบันอาศัยเทคโนโลยีชีวภาพทำให้สามารถผลิตโปรตีนต่างๆในเซลล์แบคทีเรียในปริมาณมากได้ และมีความบริสุทธิ์สูง จึงเป็นการเพิ่มปริมาณแอนติเจนเพื่อนำไปผลิตแอนติซีรัมในสัตว์ทดลองต่อไป

Druka และคณะ (1996) รายงานการผลิตแอนติซีรัมจากชิ้นของ coat protein ยีน จากสายพันธุ์ข้าวของประเทศฟิลิปปินส์ โดยนำมาโคลนเข้า vector แล้วนำไปเชื่อมกับ MBP fusion proteins จากนั้นนำไปฉีดกระตุ้นกระต่ายให้สร้างแอนติบอดี แอนติซีรัมที่ผลิตได้สามารถตรวจวินิจฉัยไวรัสใบสีส้มรูปทรงกลมได้โดยวิธี ELISA, Western blotting และ IEM ต่อมา Cerovska และคณะ (2003) ได้ทำการผลิตโพลีคลอนอลแอนติบอดีจากยีนโปรตีนห่อหุ้มไวรัส (ยีน CP) ของเชื้อ *Potato mop-top virus* (PMTV) โดยโคลนชิ้นของยีน CP เข้าสู่ expression vector แล้วเพิ่มปริมาณโปรตีนในเซลล์แบคทีเรีย *E. coli* จากนั้นนำมาแยกให้บริสุทธิ์และฉีดเข้าสัตว์ทดลองเพื่อผลิตแอนติซีรัม จากการทดสอบพบว่าแอนติซีรัมที่ได้สามารถใช้ตรวจหาไวรัส PMTVได้ผลดีโดยใช้เทคนิค ELISA หรือ Osmar และคณะ (2004) ได้นำยีน CP ของเชื้อ *Apple stem grooving virus* (ASGV) มาเพิ่มปริมาณโดยเทคนิค RT-PCR นำไปโคลนใน vector ตรวจหาลำดับเบส และ โคลนเข้าสู่ expression vector แล้วเพิ่มปริมาณโปรตีนในเซลล์แบคทีเรีย *E. coli* จากนั้นนำมาแยกให้บริสุทธิ์และฉีดเข้าสัตว์ทดลองเพื่อผลิตแอนติซีรัม จากการทดสอบพบว่าแอนติซีรัมที่ได้สามารถใช้ตรวจหาไวรัส ASGV ได้ผลดีโดยใช้เทคนิค ELISA นอกจากนี้ ลำพึง และคณะ (2547) ได้ทำการสังเคราะห์โปรตีนห่อหุ้มอนุภาคเชื้อไวรัสเส้นใบเหลืองกระเจี๊ยบเขียวในระบบเซลล์แบคทีเรีย และแยกโปรตีนออกจากเซลล์แบคทีเรีย และ

นำไปฉีดกระตุ้นกระต่ายทดลองเพื่อผลิตแอนติซีรัมที่มีประสิทธิภาพสูงในการตรวจเชื้อไวรัสสาเหตุโรค ฉะนั้นควรพัฒนาวิธีการผลิตแอนติซีรัมของ PMWaV-2 โดยอาศัยเทคโนโลยีชีวภาพ ได้แก่ การโคลนยีน และนำมาเพิ่มปริมาณโปรตีนของเชื้อในเซลล์แบคทีเรีย ก่อนนำไปฉีดเข้ากระต่าย เพื่อให้ได้แอนติซีรัมที่มีประสิทธิภาพสูงสำหรับใช้ในการคัดเลือกหน่อพันธุ์ปลอดโรคเพื่อนำไปปลูกในปริมาณมาก

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ต้นสับปะรดที่เป็นโรคเหี่ยวที่เกิดจากไวรัส PMWaV-2
2. ไพรเมอร์
3. พลาสมิดพาหะ (cloning และ expression vectors)
4. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในขั้นตอนของการโคลนยีน
5. กระต่าย อุปกรณ์และสารเคมีในการผลิตแอนติซีรัม
6. อุปกรณ์และสารเคมีในการตรวจสอบเชื้อ โดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา

วิธีการ

1. การโคลนยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคไวรัส (coat protein gene, CP)

1.1 การออกแบบไพรเมอร์

ออกแบบไพรเมอร์ จำนวน 1 คู่ จากส่วนของยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาค(cp gene) ของเชื้อไวรัสสาเหตุของโรคเหี่ยวสับปะรด ซึ่งมีความจำเพาะเจาะจงกับ PMWaV-2 ได้แก่

Lumi_PMWaV2F 5' CACCGCTCAGAATTACGTAGCCGTAGTAGA 3'

Lumi_PMWaV2R 5' CCCTGAAACAGCTCCCTGGTTCAGCT 3'

เพื่อนำไปใช้ในการเพิ่มปริมาณของชิ้นดีเอ็นเอ ในกระบวนการ cloning เข้าสู่ vector

1.2 การแยกสกัดอาร์เอ็นเอของเชื้อ

โดยใช้ชุดสกัดอาร์เอ็นเอสำเร็จรูป (RNeasy Kit ของ QIAGEN) มีขั้นตอนดังนี้

1. ชั่งใบสับปะรดที่มีอาการของโรค ประมาณ 0.1 กรัม บดในโกร่งที่เย็นโดยการเติมไนโตรเจนเหลวให้เป็นผงละเอียด ใช้ช้อนสเตนเลสที่ผ่านเผาด้วยเปลวไฟ ตักผงละเอียดที่บดไว้ ใส่หลอด microcentrifuge ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

2. เติม buffer RLT ที่เติม beta mercaptoethanol (10 ไมโครลิตร/1 มิลลิลิตร RLT) 450 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยและนำหลอดไปแช่ที่ 56 °ซ นาน 1-3 นาที จากนั้นดูดส่วนผสมทั้งหมดใส่ใน QIAshredder spin column (สีม่วง) นำ column ซ้อนบนหลอดขนาด 2

มิลลิลิตร หมุนเหวี่ยงตะกอนที่ความเร็ว 12,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 2 นาที น้ำไสจะผ่าน column ลงในหลอดที่รองรับขนาด 2 มิลลิลิตร ส่วนเศษชิ้นส่วนพืชติดอยู่ด้านบนcolumn

3. เติม absolute ethanol ในหลอดที่รองรับน้ำใส ปริมาตร 0.5 เท่า (225 ไมโครลิตร) ผสมให้เข้ากันโดยใช้ micropipette ดูดขึ้นลง

4. ดูดส่วนผสมทั้งหมดใส่ลงใน RNeasy mini column (สีชมพู) และวางซ้อนบนหลอดขนาด 2 มิลลิลิตร และนำไปหมุนเหวี่ยงตะกอนที่ 12,00 รอบ/นาที นาน 15 วินาที

5. เททิ้งส่วนที่ผ่าน column แล้วเติมสารละลาย RW1 ลงใน column ปริมาตร 700 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงที่ 12,00 รอบ/นาที 15 วินาที

6. เททิ้งส่วนที่ผ่าน column แล้วล้าง column ด้วย RPE 500 ไมโครลิตร โดยการหมุนเหวี่ยง 12,000 รอบ/นาที 15 วินาที

7. ย้าย column ซ้อนบนหลอด microcentrifuge ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติมน้ำ (RNase-free water) 50 ไมโครลิตร ใน column เพื่อชะล้าง RNAจาก column รอประมาณ 1 นาที ก่อนนำไปหมุนเหวี่ยงที่ 12,000 รอบ/นาที นาน 1 นาที อาร์เอ็นเอ ที่ได้ละลายในน้ำผ่าน column และถูกเก็บไว้ในหลอดรองรับ จากนั้นนำไปเก็บไว้ที่ -80 °ซ

1.3 การเพิ่มปริมาณอาร์เอ็นเอด้วยเทคนิค RT-PCR และการโคลนยีน

นำอาร์เอ็นเอของเชื้อที่ได้จากการแยกสกัด มาทำปฏิกิริยา RT-PCR โดยใช้ชุด OneStep RT-PCR Kit (QIAGEN) เพิ่มปริมาณของชิ้น cDNA โดยใช้ไพรเมอร์

Lumi_PMWaV2F 5' CACCGCTCAGAATTACGTAGCCGTAGTAGA 3'

Lumi_PMWaV2R 5' CCCTGAAACAGCTCCCTGGTTCAGCT 3'

โดยใช้ปฏิกิริยาดังนี้

RNase free water	15.0	ไมโครลิตร
5x QIAGEN OneStep RT-PCR Buffer	5.0	ไมโครลิตร
dNTPs (10 mM)	1.0	ไมโครลิตร
Lumi_PMWaV2F (20 uM)	0.5	ไมโครลิตร
Lumi_PMWaV2R (20 uM)	0.5	ไมโครลิตร
QIAGEN OneStep RT-PCR enz. Mix	1.0	ไมโครลิตร
RNA template	2.0	ไมโครลิตร
รวม	**25.0**	ไมโครลิตร

นำหลอดที่ผสมปฏิกิริยามาใส่ในเครื่อง Thermal cycler เพื่อสังเคราะห์ cDNA ตาม program ดังนี้

50 ° ซ 30 นาที
94° ซ 15 นาที (activated hot start *Taq* DNA pol, deactivated reverse)
Denature 94 ° ซ 45 วินาที
Annealing 58 ° ซ 45 วินาที } 30 รอบ
Extension 72 ° ซ 45 วินาที
Final extension 72° ซ 5 นาที

ตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยา PCR ด้วย 1 % agarose gel electrophoresis ที่กระแสไฟฟ้า 100 โวล์ท ใน TAE บัฟเฟอร์ เป็นเวลา 30 นาที

1.4 การต่อเชื่อม (ligation) PCR product เข้าสู่ พลาสมิดพาหะ (plasmid vector)

นำ PCR product 2 ไมโครลิตร ผสมกับ โคลนนิ่งเวคเตอร์ pCR®8/GW/TOPO® (Invitrogen) 1 ไมโครลิตร และ salt solution 1 ไมโครลิตร จากนั้นเติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว / ไมโครลิตร ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 5 นาที จากนั้นดูดมา 3 ไมโครลิตรใส่ในหลอดของ One Shot® cell แช่ในน้ำแข็ง นาน 30 นาที แล้วทำการ heat shock cell โดยการแช่หลอดในน้ำที่มีอุณหภูมิ 42°C นาน 30 วินาที ก่อนย้ายไปแช่บนน้ำแข็งทันที เติมอาหาร SOC ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ก่อนนำไปเขย่าที่ 37°C นาน 30 นาที ดูดมา 50 ไมโครลิตร และเทแผ่ลงบนอาหารแข็ง 2XYT Agar (ที่มี ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร) บ่มที่ 37 ° ซ ข้ามคืน

1.5 การสกัดโคลนของพลาสมิด และการเพิ่มจำนวนยีนโดยเทคนิค PCR

คัดเลือกเฉพาะโคโลนีสีขาวบนอาหารแข็ง 2XYT โดยใช้ไม้จิ้มฟันที่ปราศจากเชื้อ แล้วนำมาเลี้ยงในอาหารเหลว 2XYT (มี ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร ผสมอยู่) เขย่าด้วยความเร็ว 170 รอบต่อนาที ที่ 37°ซ ข้ามคืน นำเชื้อที่อยู่ในอาหารเหลว 1 มิลลิลิตร มาหมุนเหวี่ยงที่ 12,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที เก็บตะกอนที่ได้มาละลายใน Solution I (25 mM Tris HCl pH 8.0, 50 mM glucose และ 10 mM EDTA) 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วเติม Solution II (0.2 N NaOH, 1% SDS) 200 ไมโครลิตร เขย่าหลอดก่อนที่จะเติม Solution III (3 M potassium acetate pH 5.2) 150 ไมโครลิตร และ chloroform : isoamyl alcohol (24 :1) 150 ไมโครลิตร เขย่าและแช่บนน้ำแข็ง 10 นาที แล้วนำไปหมุนเหวี่ยง ที่ 10,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที นำส่วนของน้ำใสมา

เติมด้วย หนึ่งเท่าโดยปริมาตรของ isopropanol และนำไปหมุนเหวี่ยง ที่ 10,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ล้างตะกอนที่ได้ด้วย 70% ethanol และหมุนเหวี่ยงอีกครั้งที่ความเร็วรอบและเวลาเท่าเดิม แล้วละลายตะกอนพลาสมิดด้วยน้ำ (มี RNase 2 % ผสมอยู่) 50 ไมโครลิตร ตั้งไว้ที่ 37 °ซ นาน 30 นาที

นำพลาสมิดที่สกัดได้ส่งตรวจเพื่อหาลำดับนิวคลีโอไทด์ จากนั้นทำการเพิ่มจำนวนยีนด้วยเทคนิค PCR ใช้ไพรเมอร์ Lumi_PMWaV2F และ Lumi_PMWaV2R และใช้ Deep Vent DNA Polymerase (Proof reading) แทน *Taq* Polymerase เพื่อให้ได้ PCR Product ที่เป็น blunt ends โดยใช้ปฏิกิริยาดังนี้

dNTPs (10 mM)	1.0	ไมโครลิตร
Lumi_PMWaV2F (20 uM)	1.0	ไมโครลิตร
Lumi_PMWaV2R (20 uM)	1.0	ไมโครลิตร
Deep Vent DNA Polymerase	1.0	ไมโครลิตร
Buffer	1.0	ไมโครลิตร
template	1.0	ไมโครลิตร
dH_2O	19.0	ไมโครลิตร
รวม	**25.0**	ไมโครลิตร

นำหลอดที่ผสมปฏิกิริยามาใส่ในเครื่อง Thermal cycler เพื่อสังเคราะห์ DNA ตาม program ดังนี้

94° ซ	5	นาที	
Denature 94° ซ	1	นาที	30 รอบ
Annealing 58 ° ซ	1	นาที	
Extension 72 ° ซ	1	นาที	
Final extension 72° ซ	5	นาที	

ตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยา PCR ด้วย 1 % agarose gel electrophoresis ที่กระแสไฟฟ้า 100 โวล์ท ใน TAE บัฟเฟอร์ เป็นเวลา 30 นาที

1.6 การ subclone เข้าสู่ protein expression vector

นำ PCR product ที่ได้จากข้อ1.5 นำมาเชื่อมต่อ (ligation) เข้าสู่ expression vector pET160/GW/D-TOPO® (Invitrogen) และถ่ายเข้าสู่ (transformation)เข้า *E. coli* Top 10 โดยใช้ $CaCl_2$ ที่ 42°C นาน 90 วินาที และแช่บนน้ำแข็งทันที นาน 3 นาที จากนั้นทำการคัดเลือก

โคลนบนอาหาร 2XYT ที่มี ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร ผสมอยู่ (ขั้นตอนเหมือนข้อ 1.5) ตรวจสอบโคลนด้วยเทคนิค PCR และส่งหาลำดับนิวคลีโอไทด์ เพื่อตรวจสอบความถูกต้อง จากนั้น transform เข้า competent cell ของ *E. coli* BL21 (DES 3) โดยใช้ $CaCl_2$ ที่ 42°C นาน 90 วินาที และแช่บนน้ำแข็งทันที นาน 3 นาที คัดเลือกโคโลนีของพลาสมิดบนอาหาร 2XYT ที่เติมสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร เพื่อนำไปสังเคราะห์โปรตีนในขั้นตอนต่อไป

2. การวิเคราะห์ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการชักนำการสังเคราะห์ recombinant proteinในเซลล์แบคทีเรีย

เลี้ยงแบคทีเรีย *E. coli* BL21 (DES 3) ที่มีพลาสมิดสายผสม pET160/GW/D-TOPO® - *cp* ในอาหารเหลว 2XYT 100 มิลลิลิตร ที่เติมสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร เขย่า 170 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 °ซ เป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง เพื่อใช้เป็น starter จากนั้นแบ่งใส่ในอาหารเหลว 2XYT ที่เติมสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร ในอัตราส่วนของเชื้อ 10 % ของอาหาร เขย่าต่ออีก 2 ชั่วโมง จากนั้นเติม Isopropyl-β-D thiogalactopyranoside (IPTG) ในอาหารเลี้ยงเชื้อให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 1 มิลลิโมลาร์ เลี้ยงเชื้อต่อโดยการเขย่าบนเครื่อง shaker และเก็บตัวอย่างเซลล์หลังการเติม IPTG ที่ 2 4 6 และ 24 ชั่วโมง ครั้งละ 1 มิลลิลิตร นำมาปั่นตกตะกอน ที่ 10,000 รอบ/นาที นาน 2 นาที ละลายตะกอนเซลล์ด้วยน้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 50 ไมโครลิตร และเก็บไว้ที่ -20 °ซ จากนั้นแล้วเติม 2xSDS-PAGE sample buffer (0.125 Tris-HCl pH 6.8, 20% glycerol, 4% SDS, 0.02% bromophenol blue R250, 5% β-Mercaptoethanol) 50 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน และนำไปต้มในน้ำเดือด นาน 10 นาที แล้วนำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์โปรตีนด้วยเทคนิค SDS-PAGE (Laemmli, 1970)

3. การแยกโปรตีนของเชื้อให้บริสุทธิ์ด้วย Ni-NTA column

นำแบคทีเรีย *E. coli* BL21 (DES 3) ที่มีพลาสมิดสายผสม pET160/GW/D-TOPO® - *cp* หลังจากลี้ยงในอาหารเหลว 2XYT ที่เวลาอันเหมาะสมในการชักนำให้เกิดการสังเคราะห์โปรตีน มาปั่นตกตะกอนที่ 8,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที (4°ซ) นำตะกอนมาผสมกับน้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว (ตะกอน 1 กรัม/น้ำ 10 มิลลิลิตร) จากนั้นเติม lysozyme เพียงเล็กน้อยประมาณเท่าหัวไม้ขีดไฟ (ต่ออาหารเหลว 1 ลิตร) และกวนให้เข้ากันจนเหนียว เก็บที่ -20 °ซ ข้ามคืน จากนั้นนำมาเติมด้วย lysis buffer (Buffer B : 50 mM $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$, 10 mM Tris-HCl (MW.=121.1) และ 8 M Urea, pH 8.0) ในอัตรา 50 มิลลิลิตร/อาหารเหลว 1 ลิตร และนำมาทำให้เซลล์แตกด้วยเครื่อง sonicator แบบ probe (power 45-50, cycle 50%) ครั้งละ 5 นาที จนกว่าเซลล์จะหายหนืดและใส แล้วนำไปปั่นที่ 10,000 รอบ/นาที นาน 10 นาที (4 °ซ) เก็บน้ำใสไปแยกโปรตีนให้บริสุทธิ์ด้วย Ni-NTA column (อัตรา 2 มิลลิลิตร/อาหารเหลว 1 ลิตร) เริ่มจากการล้าง column หลังแพ็คแล้ว ด้วย

buffer B จากนั้นเทส่วนน้ำใสให้ผ่าน column และล้าง column ด้วย buffer C (pH 6.3) และ buffer D (pH 5.9) ก่อนที่จะใส่ buffer E (pH 3.9) เพื่อแยกโปรตีนออกจากเจลใน column เก็บเป็น fraction หลอดละ 500 ไมโครลิตร เพื่อนำไปตรวจสอบขนาดของโปรตีนว่าอยู่ใน fraction ใด โดยเทคนิค SDS-PAGE และคำนวนปริมาณโปรตีนที่ผ่าน column โดยใช้สูตรของ Bradford's

4. การผลิตแอนติซีรัมในสัตว์ทดลอง

ผสมโปรตีนของเชื้อที่บริสุทธิ์ (1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)กับ complete Freund's adjuvant ในอัตรา 1:1 ให้เข้ากันเป็น emulsion สำหรับการฉีดกระต่ายครั้งแรก และใช้ incomplete Freund's adjuvant ในอัตรา 1:1 สำหรับการฉีดครั้งต่อๆไปอีก 4 ครั้ง การฉีดทุกครั้งเป็นการฉีดเข้าใต้ผิวหนัง (subcutaneous) บริเวณคอ ประมาณ 4-5 จุดต่อการฉีดแต่ละครั้ง ทำการฉีดทุก 2 สัปดาห์ เริ่มทำการเจาะเลือดที่เส้นเลือดบริเวณใบหู หลังจากการฉีดครั้งที่ 2 และดำเนินการเจาะเลือดทุก 1สัปดาห์ อีก 5 ครั้ง นำเลือดที่เจาะได้มาตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 ชั่วโมง ก่อนนำไปเก็บที่ 4 °C อีก 24 ชั่วโมง ริน ส่วนน้ำใสมาหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 8000 g นาน 10 นาที เก็บน้ำใสที่เป็นส่วนของแอนติบอดีไว้ที่ -80 °ซ จากนั้นทำการทดสอบและหาค่าไตเตอร์ของแอนติซีรัม โดยวิธี Indirect ELISA เริ่มจากการหยอดแอนติเจน (recombinant protein 1 นาโนกรัม/ไมโครลิตร) หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37 °ซ นาน 1 ชั่วโมง แล้วล้างด้วย PBS-T buffer (PBS + 0.05% Tween 20) 3 ครั้ง แล้วนำมาเติมด้วย Blocking buffer (1% BSA ใน PBS-T) หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37 °ซ นาน 1 ชั่วโมง แล้วล้างอีก 3 ครั้ง ใส่แอนติบอดีที่ได้จากการเจาะเลือดกระต่าย 6 ครั้ง โดยทำการเจือจางจาก 1: 10 ถึง 1:1,000,000 หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37 °ซ นาน 1 ชั่วโมง ล้างเพลทอีก 3 ครั้งก่อนนำมาหยอดด้วย Goat anti-rabbit IgG ที่ติดฉลากด้วย alkaline phosphatase เจือจาง 1:2000 หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37°ซ นาน 1 ชั่วโมง ล้างเพลทอีก 3 ครั้งก่อนนำมาซับสเตรท p-nitrophenyl phosphstase หลุมละ 100 ไมโครลิตร อ่านผลด้วยเครื่องอ่าน ELISA ทีค่าความดูดกลืนแสง 405 นาโนเมตร

5. การทดสอบประสิทธิภาพของแอนติซีรัมที่ผลิตได้

การตรวจสอบโรคเหี่ยวของสับปะรด โดยวิธี Indirect ELISA เริ่มจากนำโคนใบที่มีสีขาวของสับปะรดที่เป็นโรคและใบปกติ มาบดใน coating buffer ในอัตรา 1 กรัม : 5, 10 , 15 มิลลิลิตร หยอดน้ำคั้นพืชลงในหลุมของไมโครเพลท (microplate) 100 ไมโครลิตร/หลุม บ่มที่ 37 °ซ นาน 1-2 ชั่วโมง แล้วนำไมโครเพลทมาล้างด้วย phosphate buffer saline ที่มี tween 20 ผสมอยู่ (PBS-Tween 20) 3 ครั้งๆละ 3 นาที หยอดแอนติซีรัมจากการเลือดครั้งที่ 5 ที่เจือจางใน conjugate buffer 1: 500 และ 1 : 1,000 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร/หลุม บ่มที่ 37 °ซ นาน 1 ชั่วโมง ล้างไมโครเพลทด้วย

PBS-Tween 20 จำนวน 3 ครั้งๆละ 3 นาที แล้วหยอด Goat-Anti Rabbit อัตรา 1: 2,000 ใน conjugate buffer 100 ไมโครลิตร/หลุม บ่มที่ 37 °ซ นาน 1 ชั่วโมง นำเพลทมาล้างอีก 3 ครั้งใน PBS-Tween 20 แล้วหยอด p-nitrophenyl phosphatase substrate (5 มิลลิกรัม/ substrate buffer 10 มิลลิลิตร) หลุมละ 100 ไมโครลิตร และอ่านผลด้วยเครื่องอ่านอิไลซา (ELISA Reader) โดยมีการเปรียบเทียบชนิดของเพลท 2 ชนิด ได้แก่ polysorp microplate ของ Nunc และ ELI/RIA Plate ขอ งCostar

เวลาและสถานที่ ระยะเวลา ตุลาคม 2551 - กันยายน 2553
สถานที่ กลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การโคลนยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคไวรัส (coat protein gene, CP)

ปริมาณอาร์เอ็นเอของใบสับปะรดที่เป็นโรคเหี่ยวที่เกิดจากไวรัส PMWaV-2 ที่ได้จากการสกัด และเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค RT-PCR ใช้ไพรเมอร์ Lumi_PMWaV2F และ Lumi_PMWaV2R จากการตรวจวิเคราะห์ขนาดของดีเอ็นเอ ด้วย agarose gel electrophoresis พบ แถบดีเอ็นเอขนาด 909 คู่เบส (bp) (ภาพที่ 1)

การตรวจสอบโคลนต่างๆของพลาสมิด pCR®8/GW/TOPO® หลังต่อเชื่อมกับ PCR product (909 คู่เบส) โดยการตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นดีเอ็นเอของเชื้อไวรัส ด้วยเครื่อง Sequencer พบว่าเป็นลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคของไวรัส PMWaV-2 (ภาพที่ 2)

หลังจาก subclone ยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคของไวรัส PMWaV-2 ขนาด 909 คู่เบส เข้าสู่ expression vector pET160/GW/D-TOPO® (Invitrogen) ซึ่งเป็น protein expression vector (ขนาด 5.8 กิโลเบส) (ภาพที่ 3) และ transform เข้า *E. coli* Top 10 พบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์ 1041 คู่เบส ซึ่งประกอบด้วยยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคไวรัส PMWaV-2 ขนาด 909 คู่เบส + Lumio tag 132 คู่เบส (ภาพที่ 4) ขณะนี้กำลังดำเนินการคัดเลือกโคลนที่สามารถสังเคราะห์โปรตีนได้ในเซลล์ของ *E. coli* BL 21 (DES 3) ในอาหาร 2XYT ที่เติมสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร- และที่เติมสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร และใช้สาร Isopropyl-β-D thiogalactopyranoside (IPTG) ในการชักนำให้เกิดการสังเคราะห์โปรตีน

2. การวิเคราะห์ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการชักนำการสังเคราะห์ recombinant proteinในเซลล์แบคทีเรีย

หลังจากการเติมสาร IPTG เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดการแสดงออกของยีน จากนั้นทำการเก็บเซลล์ที่ 2 4 6 8 และ 24 ชั่วโมง เมื่อนำมาตรวจหาระยะเวลาที่เริ่มมีการสังเคราะห์โปรตีนตั้งแต่ 4 ชั่วโมง และพบมากที่สุดเมื่อปล่อยให้เกิดการชักนำข้ามคืน โดยใช้เทคนิค SDS-PAGE พบ band ที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 38 กิโลดาลตัน (ภาพที่ 5)

3. การแยกโปรตีนของเชื้อให้บริสุทธิ์ด้วย Ni-NTA column

จากการตรวจปริมาณโปรตีนทีหลังการแยกให้บริสุทธิ์ด้วย Ni-NTA column ด้วยเทคนิค SDS-PAGE ปรากฏว่า เริ่มพบ band ขนาด 38 กิโลดาลตันทุก fraction และ พบว่า โปรตีนสามารถผ่าน column Ni-NTP ได้น้อยมาก จึงได้นำโคลนมา purify และส่งไปตรวจสอบลำดับเบสอีกครั้งหนึ่ง ผลการตรวจสอบลำดับเบสของโคลนที่สังเคราะห์โปรตีนได้ พบว่าลำดับเบสถูกต้อง ขณะนี้กำลังทำการปรับ pH ของบัฟเฟอร์ชนิดต่างๆที่ใช้ในการแยกโปรตีนให้บริสุทธิ์ด้วย Ni-NTA เพื่อไม่ให้โปรตีนถูกชะล้างไปในขั้นตอนของการล้าง column

จากการตรวจปริมาณโปรตีนทีหลังการแยกให้บริสุทธิ์ด้วย Ni-NTA column ด้วยเทคนิค SDS-PAGE ปรากฏว่า เริ่มพบ band ขนาด 41 กิโลดาลตันตั้งแต่ fraction ที่ 3-13 (F3-F13) แต่มีปริมาณโปรตีนสูงตั้งแต่ F7-F10จึงเก็บน้ำใสของ F4-F11 มารวมกัน และจากการคำนวนหาปริมาณโปรตีนที่สังเคราะห์ได้ พบว่ามีปริมาณ 4 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งนำไปผสมกับ Freund’s adjuvant ครั้งละ 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

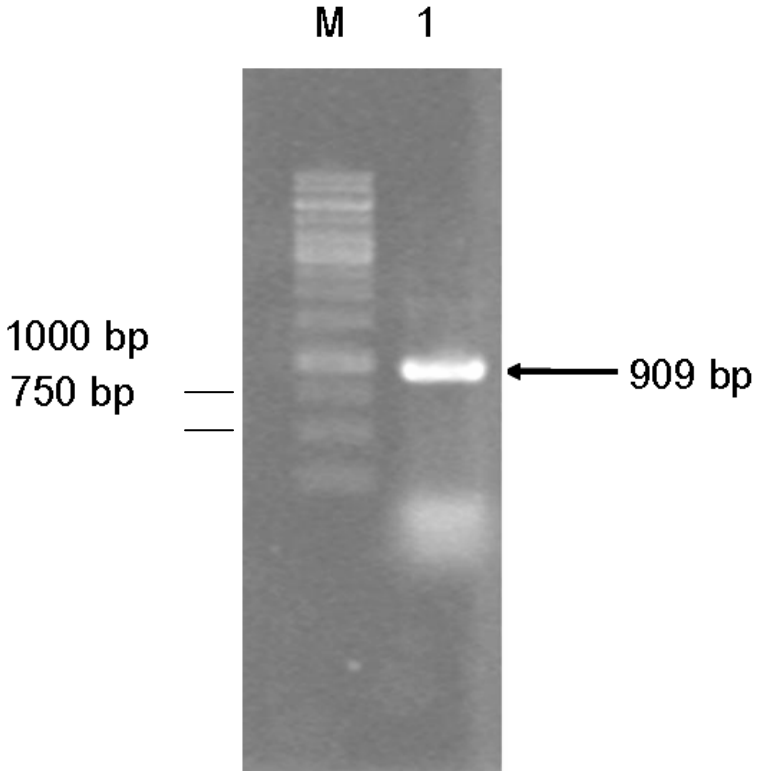
4. การผลิตแอนติซีรัมในสัตว์ทดลอง

ดำเนินการฉีดกระต่าย จำนวน 5-6 ครั้ง และเจาะเลือดครั้งละประมาณ 30-40 มิลลิลิตร เพื่อนำไปปั่น และเก็บน้ำใส ได้แอนติบอดีครั้งละ 10-15 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่ -80 °ซ ผลการตรวจสอบคุณภาพของแอนติซีรัมที่ได้จากการเจาะเลือด จำนวน 6 ครั้ง โดยวิธี indirect ELISA โดยทำการเจือจางแอนติซีรัมจาก 1:10 ถึง 1:1,000,000 พบว่า แอนติซีรัมจากการเจาะเลือดครั้งที่ 4-6 มีประสิทธิภาพสูงสุด สามารถทำปฏิกิริยาได้จนถึง 1:100,000 (ภาพที่ 7)

5. การทดสอบประสิทธิภาพของแอนติซีรัมที่ผลิตได้

จากการทดสอบประสิทธิภาพของแอนติซีรัมกับตัวอย่างสับปะรดที่แสดงอาการเหี่ยว โดยเปรียบเทียบชนิดของ plate พบว่า Polysorp ของ Nunc ให้ปฏิกิริยาดีกว่า ELI/RIA Plate ของ Costar ซึ่งให้ปฏิกิริยาเป็นสีเหลืองทุกหลุม ทำให้ไม่สามารถอ่านผลความแตกต่างระหว่างสับปะรดเป็นโรคและสับปะรดปกติได้ จากการตรวจสอบประสิทธิภาพในการตรวจสอบโรคเหี่ยวของสับปะรด พบว่า เกิดปฏิกิริยาเกิดค่อนข้างต่ำ ทำให้อ่านค่า absorbance ของต้นเป็นโรคได้ต่ำใกล้เคียงกับค่าที่อ่านได้จากต้บปกติ แต่สามารถนำแอนติซีรัมที่ผลิตได้ไปใช้ตรวจหาอนุภาคไวรัส โดยวิธี

Immunosorbent electron microscopy (IEM) โดยนำแอนติซีรัมมาทำปฏิกิริยากับน้ำคั้นพืชเป็นโรคบนกริด แล้วนำไปตรวจหาอนุภาคไวรัสด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission electron microscope)



ภาพที่ 1. การเพิ่มปริมาณยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคไวรัส โดยใช้ไพรเมอร์ Lumi_PMWaV2F และ Lumi_PMWaV2R วิเคราะห์ขนาดดีเอ็นเอด้วย agarose gel electrophoresis

M = ดีเอ็นเอมาตรฐาน (1 kb Ladder, Fermentas)

1 = ดีเอ็นเอของยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคไวรัส จากสับปะรดที่เป็นโรคเหี่ยว

ภาพที่ 2. ลำดับนิวคลีโอไทด์และลำดับกรดอะมิโนของยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคไวรัส (909 bp) ที่เชื่อมต่อเข้าสู่พลาสมิด pCR®8/GW/TOPO®

```
      M  A  Q  N  Y  V  A  V  V  E  G  T  I  L  E  S  L  T  A  P
1     ATGGCTCAGA ATTACGTAGC CGTAGTAGAA GGCACTATTC TCGAAAGTTT GACGGCTCCA
      TACCGAGTCT TAATGCATCG GCATCATCTT CCGTGATAAG AGCTTTCAAA CTGCCGAGGT
      P  K  R  F  R  V  A  T  S  D  V  G  K  Y  Y  D  S  S  K  Y
61    CCTAAACGAT TTAGAGTGGC GACGTCTGAT GTGGGGAAAT ATTACGATAG TAGCAAATAC
      GGATTTGCTA AATCTCACCG CTGCAGACTA CACCCCTTTA TAATGCTATC ATCGTTTATG
      R  S  V  T  G  V  A  T  A  E  R  D  R  L  P  A  I  E  E  T
121   CGCTCTGTAA CGGGCGTAGC TACAGCCGAG AGGGATCGGT TACCAGCGAT AGAGGAAACT
      GCGAGACATT GCCCGCATCG ATGTCGGCTC TCCCTAGCCA ATGGTCGCTA TCTCCTTTGA
      E  L  L  A  T  I  P  T  E  A  S  T  D  K  G  V  I  P  E  T
181   GAACTATTGG CAACAATCCC AACGGAAGCT TCAACAGATA AGGGTGTTAT TCCCGAGACT
      CTTGATAACC GTTGTTAGGG TTGCCTTCGA AGTTGTCTAT TCCCACAATA AGGGCTCTGA
      V  K  R  S  S  N  K  P  E  I  V  D  D  V  S  T  L  L  L  N
241   GTTAAGAGGT CGAGTAATAA ACCAGAAATA GTAGATGATG TATCAACGTT GCTGTTAAAT
      CAATTCTCCA GCTCATTATT TGGTCTTTAT CATCTACTAC ATAGTTGCAA CGACAATTTA
      P  R  K  N  V  V  L  N  I  G  S  V  K  T  V  P  K  V  V  N
301   CCTAGAAAGA ACGTTGTACT AAATATTGGA TCGGTTAAAA CCGTGCCAAA GGTAGTTAAT
      GGATCTTTCT TGCAACATGA TTTATAACCT AGCCAATTTT GGCACGGTTT CCATCAATTA
      Q  P  G  L  I  S  R  E  I  A  I  R  I  G  E  A  L  K  E  H
361   CAGCCGGGTT TGATATCCCG GGAGATTGCT ATCCGTATAG GAGAGGCTCT GAAGGAACAT
      GTCGGCCCAA ACTATAGGGC CCTCTAACGA TAGGCATATC CTCTCCGAGA CTTCCTTGTA
      C  K  Q  V  M  G  S  D  S  S  T  D  L  A  T  Y  F  I  H  L
421   TGCAAACAAG TTATGGGTTC GGATAGTAGT ACGGACTTAG CTACATACTT TATACATTTG
      ACGTTTGTTC AATACCCAAG CCTATCATCA TGCCTGAATC GATGTATGAA ATATGTAAAC
      I  Q  L  A  I  T  F  S  T  S  K  N  S  E  Y  K  E  F  D  Y
481   ATTCAACTCG CTATTACGTT CTCTACATCC AAAAATAGCG AATACAAAGA GTTTGACTAT
      TAAGTTGAGC GATAATGCAA GAGATGTAGG TTTTTATCGC TTATGTTTCT CAAACTGATA
      I  E  T  E  T  Q  K  K  I  Y  I  K  D  V  S  E  V  V  E  R
541   ATAGAAACAG AGACGCAAAA GAAAATATAC ATCAAGGACG TGAGTGAGGT GGTTGAGAGA
      TATCTTTGTC TCTGCGTTTT CTTTTATATG TAGTTCCTGC ACTCACTCCA CCAACTCTCT
      A  A  M  N  S  G  Y  E  N  P  F  R  Q  Y  M  R  Y  F  T  S
601   GCGGCGATGA ATTCGGGGTA CGAAAACCCG TTTAGGCAAT ATATGCGTTA TTTTACAAGC
      CGCCGCTACT TAAGCCCCAT GCTTTTGGGC AAATCCGTTA TATACGCAAT AAAATGTTCG
```

S S I T L T L N G K I T P N E R T M A H

661 TCGAGTATAA CACTAACTTT AAATGGTAAA ATAACACCTA ACGAGAGAAC TATGGCTCAT

AGCTCATATT GTGATTGAAA TTTACCATTT TATTGTGGAT TGCTCTCTTG ATACCGAGTA

H G V P K Q F F A Y T Y D F I D P D Y S

721 CACGGAGTAC CCAAGCAGTT CTTTGCATAT ACTTACGATT TTATTGACCC CGACTATAGC

GTGCCTCATG GGTTCGTCAA GAAACGTATA TGAATGCTAA AATAACTGGG GCTGATATCG

L M N H S A I N A Y N L T R I Q A F K N

781 CTCATGAATC ATTCGGCGAT TAATGCTTAC AACTTAACGA GGATTCAAGC ATTTAAGAAT

GAGTACTTAG TAAGCCGCTA ATTACGAATG TTGAATTGCT CCTAAGTTCG TAAATTCTTA

K I A S V N N T M H N T Y Q L N Q G A V

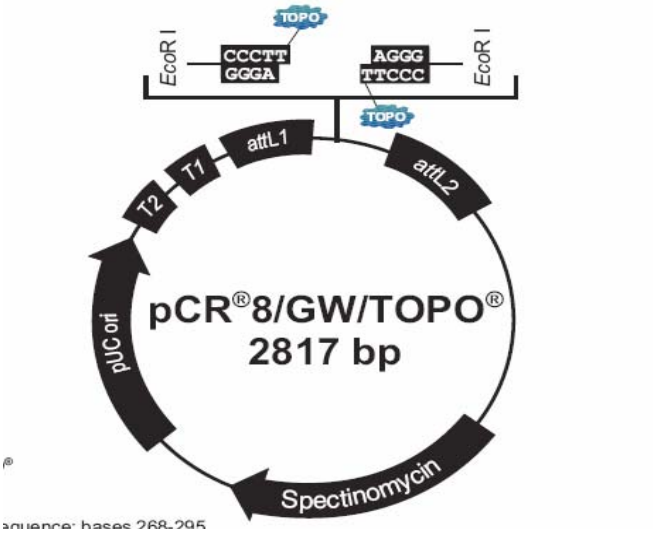
841 AAGATAGCTT CAGTGAACAA TACTATGCAT AACACATACC AGCTGAACCA GGGAGCTGTT

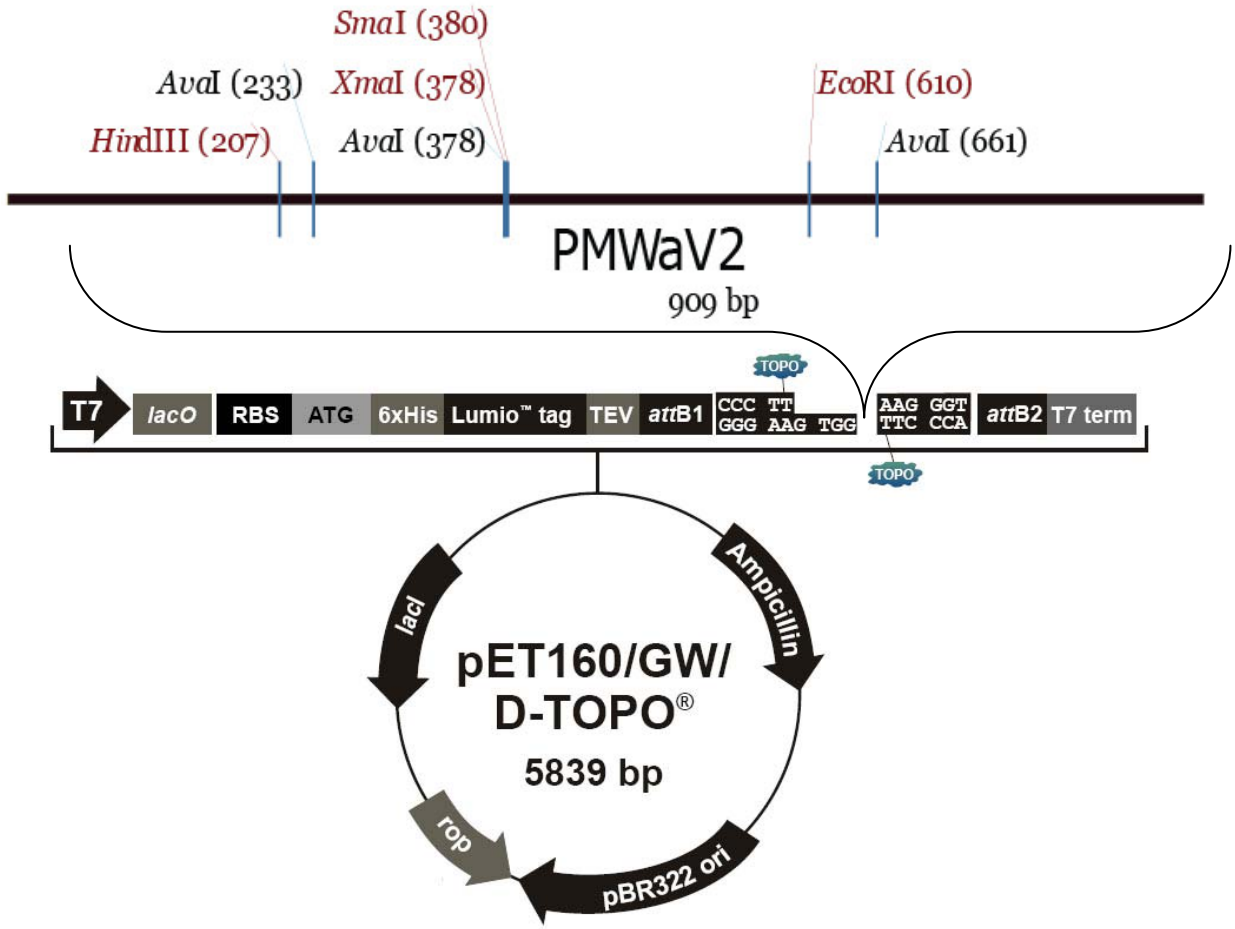
TTCTATCGAA GTCACTTGTT ATGATACGTA TTGTGTATGG TCGACTTGGT CCCTCGACAA

S G *

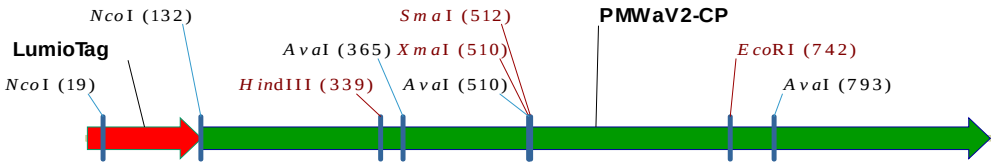
901 TCAGGGTAG

AGTCCCATC





ภาพที่ 3. subcloning ยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคไวรัส ขนาด 909 คู่เบส เข้าสู่ expression vector pET160/GW/D-TOPO® (Invitrogen)



PWMaV2AF283103+132

1041 bp

NcoI

~~~~~~~~

M H H H H H H G A G G C C P G C C G G G

1 ATGCATCATC ACCATCACCA TGGTGCTGGT GGCTGTTGTC CTGGCTGTTG CGGTGGCGGC

TACGTAGTAG TGGTAGTGGT ACCACGACCA CCGACAACAG GACCGACAAC GCCACCGCCG

E N L Y F Q G I I T S L Y K K A G S A A

61 GAAAACCTGT ATTTTCAGGG AATTATCACA AGTTTGTACA AAAAAGCAGG CTCCGCGGCC

CTTTTGGACA TAAAAGTCCC TTAATAGTGT TCAAACATGT TTTTTCGTCC GAGGCGCCGG

NcoI

~~~~~~

A P F T M A Q N Y V A V V E G T I L E S

121 GCCCCCTTCA CCATGGCTCA GAATTACGTA GCCGTAGTAG AAGGCACTAT TCTCGAAAGT

CGGGGGAAGT GGTACCGAGT CTTAATGCAT CGGCATCATC TTCCGTGATA AGAGCTTTCA

L T A P P K R F R V A T S D V G K Y Y D

181 TTGACGGCTC CACCTAAACG ATTTAGAGTG GCGACGTCTG ATGTGGGGAA ATATTACGAT

AACTGCCGAG GTGGATTTGC TAAATCTCAC CGCTGCAGAC TACACCCCTT TATAATGCTA

S S K Y R S V T G V A T A E R D R L P A

241 AGTAGCAAAT ACCGCTCTGT AACGGGCGTA GCTACAGCCG AGAGGGATCG GTTACCAGCG

TCATCGTTTA TGGCGAGACA TTGCCCGCAT CGATGTCGGC TCTCCCTAGC CAATGGTCGC

HindIII

~~~~~~~~

I E E T E L L A T I P T E A S T D K G V

301 ATAGAGGAAA CTGAACTATT GGCAACAATC CCAACGGAAG CTTCAACAGA TAAGGGTGTT

TATCTCCTTT GACTTGATAA CCGTTGTTAG GGTTGCCTTC GAAGTTGTCT ATTCCCACAA

AvaI

~~~~~~

I P E T V K R S S N K P E I V D D V S T

361 ATTCCCGAGA CTGTTAAGAG GTCGAGTAAT AAACCAGAAA TAGTAGATGA TGTATCAACG

TAAGGGCTCT GACAATTCTC CAGCTCATTA TTTGGTCTTT ATCATCTACT ACATAGTTGC

L L L N P R K N V V L N I G S V K T V P

421 TTGCTGTTAA ATCCTAGAAA GAACGTTGTA CTAAATATTG GATCGGTTAA AACCGTGCCA

AACGACAATT TAGGATCTTT CTTGCAACAT GATTTATAAC CTAGCCAATT TTGGCACGGT

SmaI

~~~~~~~~

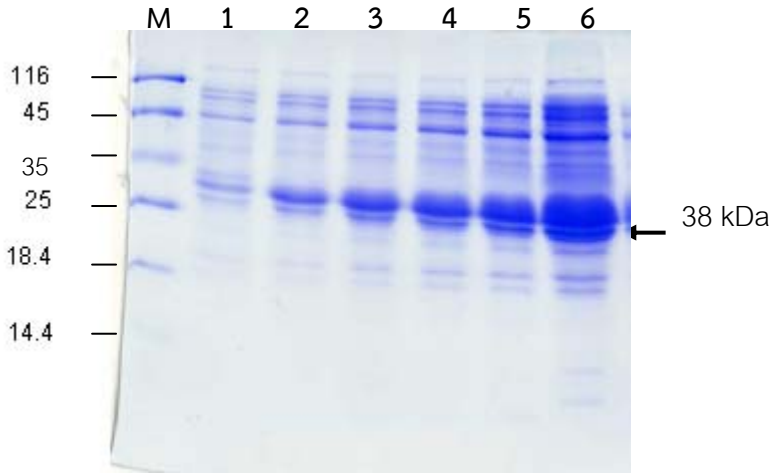
XmaI

~~~~~~~~

AvaI

```
                                ~~~~~~~~
                  K  V  V  N  Q  P  G  L  I  S  R  E  I  A  I  R  I  G  E  A
481   AAGGTAGTTA ATCAGCCGGG TTTGATATCC CGGGAGATTG CTATCCGTAT AGGAGAGGCT
      TTCCATCAAT TAGTCGGCCC AAACTATAGG GCCCTCTAAC GATAGGCATA TCCTCTCCGA
                  L  K  E  H  C  K  Q  V  M  G  S  D  S  S  T  D  L  A  T  Y
541   CTGAAGGAAC ATTGCAAACA AGTTATGGGT TCGGATAGTA GTACGGACTT AGCTACATAC
      GACTTCCTTG TAACGTTTGT TCAATACCCA AGCCTATCAT CATGCCTGAA TCGATGTATG
                  F  I  H  L  I  Q  L  A  I  T  F  S  T  S  K  N  S  E  Y  K
601   TTTATACATT TGATTCAACT CGCTATTACG TTCTCTACAT CCAAAAATAG CGAATACAAA
      AAATATGTAA ACTAAGTTGA GCGATAATGC AAGAGATGTA GGTTTTTATC GCTTATGTTT
                  E  F  D  Y  I  E  T  E  T  Q  K  K  I  Y  I  K  D  V  S  E
661   GAGTTTGACT ATATAGAAAC AGAGACGCAA AAGAAAATAT ACATCAAGGA CGTGAGTGAG
      CTCAAACTGA TATATCTTTG TCTCTGCGTT TTCTTTTATA TGTAGTTCCT GCACTCACTC
                           EcoRI
                           ~~~~~~~
                  V  V  E  R  A  A  M  N  S  G  Y  E  N  P  F  R  Q  Y  M  R
721   GTGGTTGAGA GAGCGGCGAT GAATTCGGGG TACGAAAACC CGTTTAGGCA ATATATGCGT
      CACCAACTCT CTCGCCGCTA CTTAAGCCCC ATGCTTTTGG GCAAATCCGT TATATACGCA
                        AvaI
                        ~~~~~~~
                  Y  F  T  S  S  S  I  T  L  T  L  N  G  K  I  T  P  N  E  R
781   TATTTTACAA GCTCGAGTAT AACACTAACT TTAAATGGTA AAATAACACC TAACGAGAGA
      ATAAAATGTT CGAGCTCATA TTGTGATTGA AATTTACCAT TTTATTGTGG ATTGCTCTCT
                  T  M  A  H  H  G  V  P  K  Q  F  F  A  Y  T  Y  D  F  I  D
841   ACTATGGCTC ATCACGGAGT ACCCAAGCAG TTCTTTGCAT ATACTTACGA TTTTATTGAC
      TGATACCGAG TAGTGCCTCA TGGGTTCGTC AAGAAACGTA TATGAATGCT AAAATAACTG
                  P  D  Y  S  L  M  N  H  S  A  I  N  A  Y  N  L  T  R  I  Q
901   CCCGACTATA GCCTCATGAA TCATTCGGCG ATTAATGCTT ACAACTTAAC GAGGATTCAA
      GGGCTGATAT CGGAGTACTT AGTAAGCCGC TAATTACGAA TGTTGAATTG CTCCTAAGTT
                  A  F  K  N  K  I  A  S  V  N  N  T  M  H  N  T  Y  Q  L  N
961   GCATTTAAGA ATAAGATAGC TTCAGTGAAC AATACTATGC ATAACACATA CCAGCTGAAC
      CGTAAATTCT TATTCTATCG AAGTCACTTG TTATGATACG TATTGTGTAT GGTCGACTTG
                  Q  G  A  V  S  G  *
1021  CAGGGAGCTG TTTCAGGGTA G
      GTCCCTCGAC AAAGTCCCAT C
```

ภาพที่ 4. ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคไวรัส (909 bp) + Lumio tag 132 bp

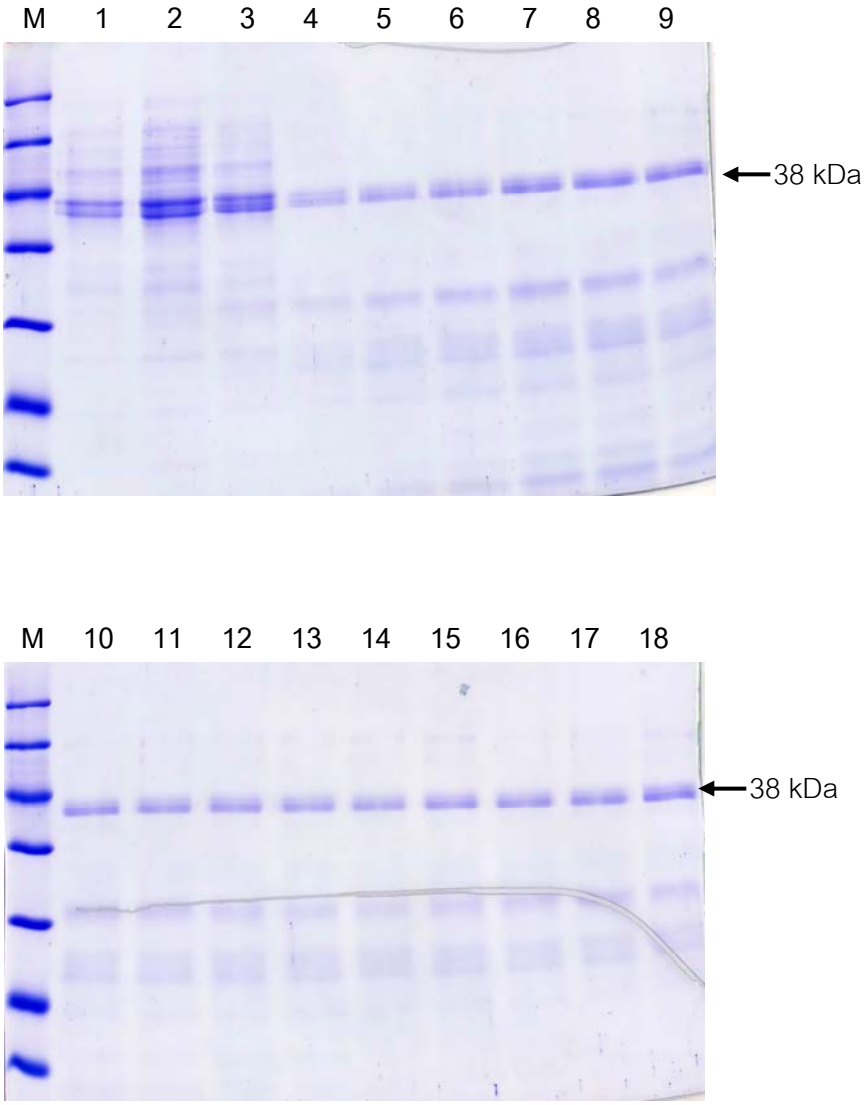


ภาพที่ 5 ผลการชักนำให้สร้างโปรตีนในพลาสมิดสายผสม pET 160/GW/D-TOPO®-*cp* ด้วยสาร IPTG ที่ระยะเวลาต่างๆกัน ด้วยเทคนิค SDS-PAGE

M : โปรตีนมาตรฐาน (Fermentas)

1 : โปรตีนที่แยกได้ก่อนการชักนำด้วย IPTG

2-5 : โปรตีนที่แยกได้หลังการชักนำ 2 4 6 8 และ 24 ชั่วโมง

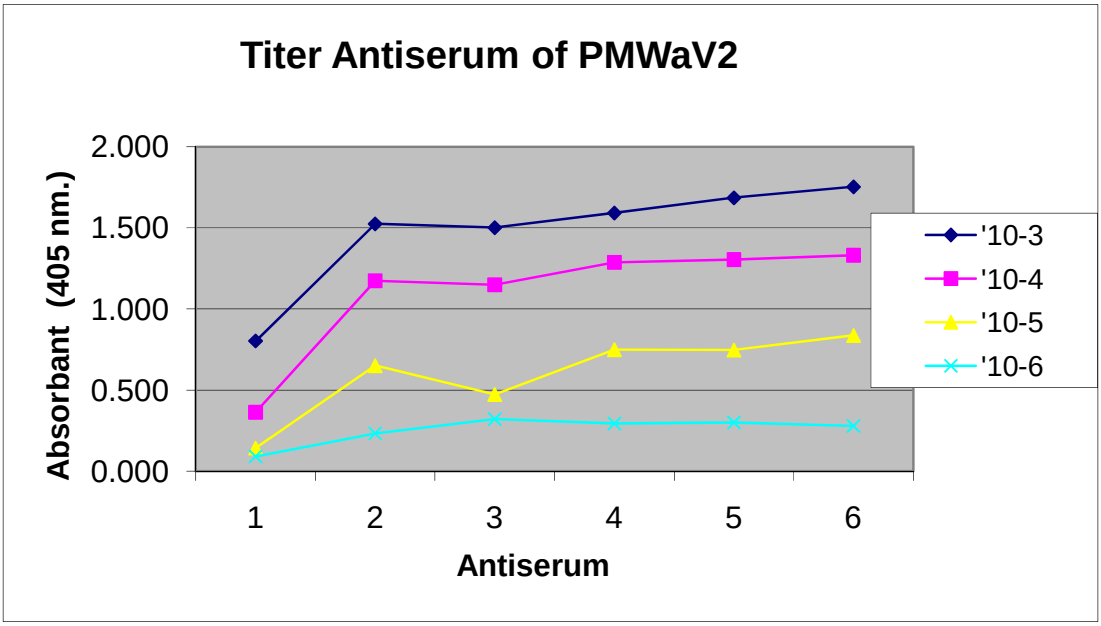


ภาพที่ 6 ปริมาณโปรตีนที่สังเคราะห์ได้หลังจากผ่าน Ni-NTA column ด้วยเทคนิค SDS-PAGE

M : โปรตีนมาตรฐาน (Fermentas)

1-5 : โปรตีนที่แยกได้หลังจากล้าง column ด้วย washing buffer

6-18 : โปรตีนที่แยกได้ในแต่ละ fraction ตั้งแต่ 1-18 หลังการใช้ eluting buffer



ภาพที่ 7 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของแอนติซีรัมที่ผลิตได้ จากการเจาะเลือด 6 ครั้ง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

นำใบสับปะรดที่เป็นโรคเหี่ยวมาแยกสกัดอาร์เอ็นเอ โดยใช้ชุดสกัดอาร์เอ็นเอสำเร็จรูป (RNeasy Kit ของ QIAGEN) แล้วนำไปเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค RT-PCR โดยใช้ไพรเมอร์จากส่วนของยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคของเชื้อไวรัส PMWaV-2 ได้แก่Lumi_PMWaV2F (5' CACCGCTCA GAATTACGTAGCCGTAGTAGA 3') และ Lumi_PMWaV2R (5' CCCTGAAACAGCTCCCTG GTTCAGCT 3') สังเคราะห์ ได้ชิ้นของดีเอ็นเอ ขนาด 909 คู่เบส จากนั้นนำไปโคลนเข้าสู่ cloning vector (pCR®8/GW/TOPO® , Invitrogen) และคัดเลือกเฉพาะโคลนที่มีชิ้นดีเอ็นเอที่ใส่เข้าไปใน vector นำมาทำให้บริสุทธิ์โดยวิธี Miniprep แล้วส่งไปตรวจสอบลำดับเบส พบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์ 909 คู่เบส หลังจากนั้น subclone ยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคของไวรัส PMWaV-2 เข้าสู่ protein expression vector (pET160/GW/D-TOPO® , Invitrogen) ซึ่งมีขนาด 5.8 กิโลเบส และ transform เข้า *E. coli* Top 10 ตรวจพบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์ 1041 คู่เบส ซึ่งประกอบด้วยยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคไวรัส PMWaV-2 ขนาด 909 คู่เบส + Lumio tag 132 คู่เบส ขณะนี้กำลังดำเนินการคัดเลือกโคลนที่สามารถสังเคราะห์โปรตีนได้ในเซลล์ของ *E. coli* BL 21 (DES 3) ในอาหาร 2XYT ที่เติมสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร และใช้สาร Isopropyl-β-D thiogalactopyranoside (IPTG) ในการชักนำให้เกิดการสังเคราะห์โปรตีน พบว่าระยะเวลาที่สามารถสังเคราะห์โปรตีนได้สูงสุด คือ 24 ชั่วโมง โดยให้โปรตีนที่มีขนาดประมาณ 38 กิโลดาลตัน จากการตรวจปริมาณโปรตีนที่หลังการแยกให้บริสุทธิ์ด้วย Ni-NTA column ด้วยเทคนิค SDS-PAGE ปรากฏ

ว่า เริ่มพบ band ขนาด 38 กิโลดาลตันทุก fraction (fraction 1-18) แล้วนำโปรตีน 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ไปฉีดเข้าใต้ผิวหนัง บริเวณคอของกระต่าย โดยผสมกับ Freund's adjuvant ทุก 2 สัปดาห์ รวม 5-6 ครั้ง และเจาะเลือดเพื่อแยกแอนติบอดีออกมาจากเม็ดเลือดแดง ทดสอบไตเตอร์ของแอนติบอดีจากการเจาะเลือดแต่ละครั้ง พบว่า แอนติซีรัมที่เจาะครั้งที่ 4 - 6 มีไตเตอร์สูงสุด สามารถทำปฏิกิริยากับ recombinant protein ที่ใช้ฉีดสัตว์ทดลองได้จนถึง 1:100,000 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของแอนติซีรัมกับตัวอย่างใบสับปะรดโรคเหี่ยว พบว่า เกิดปฏิกิริยาเกิดค่อนข้างต่ำ ทำให้อ่านค่า absorbance ของต้นเป็นโรคได้ต่ำใกล้เคียงกับค่าที่อ่านได้จากต้นปกติ แต่สามารถนำแอนติซีรัมที่ผลิตได้ไปใช้ตรวจหาอนุภาคไวรัส โดยวิธี Immunosorbent electron microscopy (IEM) โดยนำแอนติซีรัมมาทำปฏิกิริยากับน้ำคั้นพืชเป็นโรคบนกริด แล้วนำไปตรวจหาอนุภาคไวรัสด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission electron microscope)

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2547. ยุทธศาสตร์สับปะรด Pineapple National Strategy 2547-2551. 51 หน้า.

ลำพึง เรียงวงษ์ สุภาภรณ์ เอี่ยมเข่ง และ อรวรรณ ชัชวาลการพาณิชย์. 2547. การสังเคราะห์โปรตีนห่อหุ้มอนุภาคเชื้อไวรัสเส้นใบเหลืองกระเจี๊ยบเขียวในระบบเซลล์แบคทีเรีย. รายงานการประชุมทางวิชาการ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42. 3-6 กุมภาพันธ์ 2547. หน้า 110-117.

วันเพ็ญ ศรีทองชัย. 2546. โรคเหี่ยว : ภัยคุกคามต่อการปลูกสับปะรดของไทย. วารสารโรคพืช (17) 1-2 : 48-53.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2546. สถิติการเกษตรของประเทศไทยปีเพาะปลูก 2544/2545. เอกสารสถิติการเกษตร เลขที่ 3/2545 กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 51 หน้า.

Beardsley, J.W. 1993. The pineapple mealybug complex; taxonomy, distribution and host relationships. *Acta Hort*. (ISHS) 334:383-386.

Cerovska, N., T. Moravec, P. Rosecka, P. Dedic and M. Filigarova. 2003. Production of polyclonal antibodies to a recombinant coat protein of *Potato mop-top virus. Journal of Phytopathology* 151 (4) : 195-200.

Dilokkunanant, U., S. Kladpan, R. Prateepasen and U. Suwanwong. 1996. Pineapple wilt disease in Thailand. *Thai. J. Agric*. 29: 337-348.

Druka, A., T. Burns, S. Zhang and R. Hull. 1996. Immunological characterization of rice tungro spherical virus coat proteins and differentiation of isolates from the Philippines and India. *J. Gen. Virology.* 77: 1975-1983.

German, T.L., D.E. Ullman and U.B. Gunashinghe. 1992. Mealybug Wilt of Pineapple. Chapter 7 *In* Advance in Disease Vector Besearch vol. 9. pp. 241-258 ed. by K.F. Harris. Springer-Verlag New York.

Hu, J.S., D.M. Sether and D.E. Ullman. 1996. Detection of pineapple closterovirus in pineapple plants and mealybugs using monoclonal antibodies. *Plant Pathology* . 45: 829-836.

Nickel Osmar, Maria, L.P.N. Targon, Thor V.M. Fajardo, Marcos A. Machado and A. Trivilin. 2004. Polyclonal antibodies to the coat protein of *Apple stem grooving virus* expressed in *Escherichia coli* : production and use in immunodiagnosis. *Fitopatologia Brasileira* 29 (5) : 558-562.

Sether, D.M. and J.S Hu. 2002. Closterovirus infection and mealybug exposure are necessary for the development of mealybug wilt of pineapple disease. *Phytopathology*. 92: 928-935.

ปฏิกิริยาพีซีอาร์ในการตรวจเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* สาเหตุโรคใบจุดแบคทีเรียกล้วยไม้

PCR detection for *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae*, the causal agent of bacterial spot on orchids

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์[1] วงศ์ บุญสืบสกุล[1] และขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์[2]

[1]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, [2]สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

บทคัดย่อ

ทดสอบปฏิกิริยาพีซีอาร์ในการตรวจเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* สาเหตุโรคใบจุดแบคทีเรียกล้วยไม้ ด้วยไพรเมอร์จำเพาะต่อแบคทีเรีย *A. avenae* จำนวน 6 คู่ ได้แก่ RST49/RST51, BX-L1F/BX-S-R2, AacF2/AacR2, AacF3/AacR2, WFB1/WFB2, Oaf1/Oar1 และ Oaf1/Oar2 พบว่าคู่ไพรเมอร์ที่สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอในการตรวจเชื้อได้คือ WFB1/WFB2 ขนาดแถบดีเอ็นเอ 350 bp ไพรเมอร์ Oaf1/Oar1 ได้แถบดีเอ็นเอขนาด 550 bp และคู่ไพรเมอร์ Oaf1/Oar2 ได้แถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 150 bp ทดสอบความจำเพาะต่อแบคทีเรียสาเหตุโรคกล้วยไม้ชนิดอื่น พบว่าทั้ง 3 คู่ไพรเมอร์ สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอจากแบคทีเรีย *Erwinia chrysanthemi* และ *Burkholderia gladioli* แต่ไม่สังเคราะห์แถบดีเอ็นเอจากแบคทีเรียสกุล *Bacillus* หรือแบคทีเรียซาโปรไฟท์อื่นที่แยกจากกล้วยไม้ ปฏิกิริยาความไวในการตรวจเชื้อด้วยคู่ไพรเมอร์ Oaf1/Oar1 สามารถตรวจเชื้อได้ที่ความเข้มข้นดีเอ็นเอต่ำสุด 10 พิโคโมล และตรวจในระดับเซลล์แบคทีเรียได้ต่ำสุดที่ 10^5 cfu/ml ทดสอบการตรวจเชื้อจากตัวอย่างพืชที่แสดงอาการโรค พบว่าปฏิกิริยาพีซีอาร์ไม่สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้

รหัสโครงการวิจัย 09 01 49 02

คำนำ

โรคพืชนับเป็นปัญหาที่สำคัญอย่างหนึ่งในการผลิตกล้วยไม้ โดยเฉพาะแบคทีเรียที่นับเป็นปัญหามากขึ้นในการผลิตกล้วยไม้ที่มีคุณภาพ แบคทีเรียเป็นเชื้อสาเหตุโรคที่เกิดการแพร่ระบาดได้รวดเร็วและรุนแรง ยังไม่มีสารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรค โรคใบจุดแบคทีเรียกล้วยไม้เกิดจาก *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* พบการแพร่ระบาดมากบนกล้วยไม้สกุลแวนดา แอสโคเซนดา ช้าง อะแรนเธอร่า และฟาแลนอปซิส อาการเริ่มแรกที่พบบนใบกล้วยไม้ลักษณะเป็นจุดสีเขียวอมเหลือง ต่อมาแผลขยายใหญ่เป็นสีน้ำตาลถึงดำ กลางแผลเนื้อเยื่อยุบตัวเป็นแอ่ง มีวงสีเหลือง (halo) ล้อมรอบ อาการบนกล้วยไม้ฟาแลนอปซิส แผลจุดค่อนข้างดำไม่กลม ส่วนใหญ่แผลยุบตัวรูปหลายลักษณะ อาจพบเส้นสีขาวบริเวณกลางแผลที่เป็นสีดำ มีวงสีเหลืองล้อมรอบ จากรายงานการเกิดโรคในต่างประเทศ 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*) Abdullah and Kadzimin (1993) ทั้งนี้โรคใบจุดแบคทีเรียเป็นปัญหาที่สำคัญในการผลิตกล้วยไม้ชนิดหนึ่ง โดยเฉพาะกล้วยไม้สกุลแวนดา สกุลช้าง และฟาแลนอปซิส ที่มีการจำหน่ายต้นในประเทศและส่งออกต่างประเทศ ซึ่งมีราคาจำหน่ายค่อนข้างสูง การพัฒนาเทคนิคพีซีอาร์เพื่อการตรวจเชื้อและจำแนกแบคทีเรียสาเหตุโรคกล้วยไม้ จะช่วยให้สามารถตรวจวินิจฉัยโรค และสาเหตุของการเกิดโรคได้รวดเร็ว เพื่อการป้องกันกำจัด และเพื่อการตรวจรับรองการนำเข้าหรือส่งออกในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การแยกเชื้อและการเก็บรักษาเชื้อ

เก็บตัวอย่างโรคใบจุดแบคทีเรียกล้วยไม้จากแหล่งปลูกต่าง ๆ ทำการแยกเชื้อจากส่วนที่เป็นโรค โดยตัดเนื้อเยื่อพืชส่วนที่เกิดโรคเป็นชิ้นเล็ก ๆ ล้างด้วยน้ำกรองฆ่าเชื้อ 1-2 ครั้ง จากนั้นหยดน้ำกรองฆ่าเชื้อบนชิ้นส่วนพืช บดด้วยแท่งแก้วลนไฟฆ่าเชื้อ จนเซลล์พืชแตก ทิ้งไว้ 3-5 นาที ใช้ลูปลนไฟฆ่าเชื้อแตะไปลากบนอาหาร Nutrient Glucose Agar (NGAบ่มจานเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 48-72 ชั่วโมง เลือกโคโลนีที่มีมีลักษณะโคโลนีกลมสีขาวใส ขอบเรียบ ขนาดประมาณ 0.5-1 มิลลิเมตร นำมาทำให้บริสุทธิ์บนอาหาร NGA ทดสอบคุณสมบัติการก่อให้เกิดโรค แล้วเก็บเชื้อบริสุทธิ์แต่ละไอโซเลทในหลอดอาหารเอียง น้ำนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิห้อง

เพื่อใช้ในการศึกษาระยะสั้น และเก็บในกลีเซอรอล 50 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส สำหรับการศึกษาระยะยาว

2. การสกัดดีเอ็นเอ

การสกัดดีเอ็นเอ เลี้ยงแบคทีเรียบริสุทธิ์แต่ละไอโซเลท (ตารางที่ 1) บนอาหาร NGA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เลือกโคโลนีเดี่ยวที่บริสุทธิ์ ปลูกเชื้อลงในอาหารเหลว NB บ่มเชื้อบนเครื่องเขย่า อุณหภูมิห้อง ความเร็วรอบ 100 rpm เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ใช้ไปเปตดูดเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปริมาตร 2 มิลลิลิตร นำไปปั่นตกตะกอนเก็บเซลล์แบคทีเรีย และนำไปสกัดดีเอ็นเอด้วยชุดสกัด GeneAid DNA extraction ตามกรรมวิธีของชุดสกัด จากนั้นตกตะกอนดีเอ็นเอของแบคทีเรีย ด้วย TE buffer (10 mM Tris- HCL, pH 8.0, 1 mM EDTA) ปริมาตร 30-50 µl ตรวจสอบคุณภาพและวัดปริมาณดีเอ็นเอบนอะกาโรส 0.8% ด้วยวิธี electrophoresis และวัดปริมาณและคุณภาพด้วยสเปกโตโฟเรซิส เก็บสารละลายดีเอ็นเอ ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เจือจางความเข้มข้นดีเอ็นเอด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เพื่อใช้ในปฏิกิริยาการทดสอบการตรวจเชื้อด้วยคู่ไพรเมอร์แต่ละชนิด

3. ทดสอบปฏิกิริยาพีซีอาร์ในการตรวจเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae*

ทดสอบปฏิกิริยาพีซีอาร์ ในการสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอ ด้วยไพรเมอร์ 6 คู่ โดยสังเคราะห์ไพรเมอร์จากบริษัท QIAGEN Operon (QIAGEN, Cologne, Germany) และได้รับการอนุเคราะห์ไพรเมอร์ Aacf2/ Aacr2 จาก Dr.Norman Schaad ซึ่งแต่ละชนิดไพรเมอร์มีลำดับเบส ดังนี้

ไพรเมอร์	ลำดับเบส	Annealing temp. (°C)	ขนาด (bp)	อ้างอิง
RST49	5'-GATGGCCGTGCCCTTCTTCATCCTCG-3'	53	390	Minsavage et al. 1995
RST51	5'-CATGGCCACGATGAGGATCG-3'			
WFB1	5'-GACCAGCCACACTGGGAC-3'	55	350	Walcott et al. 2000
WFB2	5'-CTGCCGTACTCCAGCGAT-3'			
BX-L1	5'-CAGCTGGGAGCGATCTTCAT-3'	68	279	Bahar et al. 2008
BX-S-R2	5'-GCGTCAGGAGGGTGAGTAGCA			
Oaf1	5'-GTCGGTGCTAACGACATGG-3'			Song et al. 2002
Oar1	5'-AGACATCTCCGCTTTCTTTCAA-3'	55	550	
Oaf2	5'-TCCTCGCATCTTATGTTCGGAA-3'	55	150	
Aacf2	5'-GGAAGAAATTCGGTGCTACCC-3'	60	450	Song et al. 2002
Aacr2	5'-TCGTCATTACTGAATTTCAACA-3'			

เตรียมตัวอย่างเพื่อทดสอบปฏิกิริยาพีซีอาร์ ในการสังเคราะห์เพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอ โดยปริมาตรรวมของปฏิกิริยา 25 ไมโครลิตร ประกอบด้วย

สารประกอบในปฏิกิริยาพีซีอาร์	ปริมาตร (ไมโครลิตร)
5x Green GoTaq Flexi buffer	4
25 mM $MgCl_2$	1.6
2.5 mM dNTPs	1.2
25 pM ไพรเมอร์ ชนิดที่1	1
25 pM ไพรเมอร์ ชนิดที่ 2	1
Taq DNA polymerase 5 U/ ul	0.25
ดีเอ็นเอต้นแบบ	1
น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ	10

สังเคราะห์แถบดีเอ็นเอ ด้วยเครื่องควบคุมอุณหภูมิ PE 2400 thermal cycler และ PE9700 thermal cycler (Applied Biosystems, Foster City, CA) โดยใช้อุณหภูมิและเวลา ในการทำปฏิกิริยา ดังนี้ 1.เริ่มต้นแยกสายดีเอ็นเอแม่แบบ (initial denaturation) 94°C 2 นาที 2.แยกสายดีเอ็นเอแม่แบบ (denaturation) 94 °C 30 วินาที 3.ไพรเมอร์จับดีเอ็นเอแม่แบบ (annealing) (ตารางด้านบน ตามชนิดไพรเมอร์) 45 วินาที- 1 นาที 4.สังเคราะห์สายดีเอ็นเอ (extension) 30 วินาที – 1 นาที 5.สังเคราะห์สายดีเอ็นเอรอบสุดท้าย (final extension) 72 °C 7 นาที ทุกคู่ไพรเมอร์ทำปฏิกิริยาซ้ำในขั้นตอนที่ 2-4 เป็นวงจรลูกโซ่ 30- 35 รอบ และหยุดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ตรวจวิเคราะห์ขนาดของสาย ดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้ โดยนำดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยาพีซีอาร์ 10 ไมโครลิตร แยกขนาดของสายดีเอ็นเอ ในอะกาโรส เจล เจลอิเลคโตรโฟริซิส ใช้ 2% อะกาโรส เจล ผสมเอธิเดียมโบรไมด์ ใน 0.5X TBE บัฟเฟอร์ ใช้กระแสไฟฟ้าที่ค่าความต่างศักดิ์ 100 โวลต์ นาน 85 นาที ตรวจดูแถบดีเอ็นเอและถ่ายภาพ ด้วย Gel Document

4. ทดสอบปฏิกิริยาความจำเพาะ (specificity) และความไว (sensitivity) ในการตรวจเชื้อ *A. avenae* subsp. *cattleyae*

ทดสอบปฏิกิริยาความจำเพาะในการตรวจเชื้อ โดยเลือกคู่ไพรเมอร์ที่สามารถตรวจแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *cattleyae* จำนวน 3 คู่ ทำปฏิกิริยาในการสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างดีเอ็นเอต้นแบบของแบคทีเรียสาเหตุโรคเน่าเละ คือ *E. carotovora* subsp. *carotovora*, *E. chrysanthemi* แบคทีเรียสาเหตุโรคเน่ากล้วยไม้ *Burkholderia gladioli* แบคทีเรียซาโปรไฟท์ที่แยกจากใบกล้วยไม้ แบคทีเรียสกุล *Bacillus* และแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* โดยใช้กรรมวิธีเช่นเดียวกับข้อ 3

ทดสอบความไวของปฏิกิริยาในการตรวจระดับดีเอ็นเอ โดยใช้ดีเอ็นเอต้นแบบของเชื้อ *A. avenae* subsp. *cattleyae* จำนวน 2 สายพันธุ์ คือ P285 และ P391 ทำการเจือจางดีเอ็นเอให้มีความเข้มข้น 10 ระดับ ตั้งแต่ 50 นาโนกรัม ถึง 1 เฟมโตกรัม ใช้ดีเอ็นเอดังกล่าวเป็นต้นแบบ ในการทดสอบปฏิกิริยาพีซีอาร์ เช่นเดียวกับวิธีในข้อ 3 โดยใช้ตัวอย่างละ 2ไมโครลิตร และทดสอบความไวของปฏิกิริยาในการตรวจเชื้อในระดับเซลล์ โดยเตรียมเชื้อบริสุทธิ์ จำนวน 2 สายพันธุ์ บนอาหาร NGA บ่มไว้ที่ 30 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เขี่ยเชื้อ 1 ลูปเต็มละลายในน้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อในหลอดทดลอง 9 มิลลิลิตร นำมาเจือจาง ครั้งละ 10 เท่า ให้มีปริมาณความเข้มข้นของเชื้อตั้งแต่ 10 ถึง 10^8 colony forming unit/ milliliter (cfu/ml) นำมาทดสอบปฏิกิริยา PCR โดยใช้ตัวอย่างละ 2 ไมโครลิตร ใช้น้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อเป็นตัวเปรียบเทียบ ใช้อุณหภูมิและเวลาในการสังเคราะห์เช่นเดียวกับข้างต้น โดยเพิ่มเวลาสำหรับแยกสายดีเอ็นเอแม่แบบเริ่มต้น นาน 5 นาที และเวลาในการลอกสายดีเอ็นเอ เพิ่มเป็น 1 นาที ตรวจวิเคราะห์ขนาดของสายดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณ ด้วยเทคนิคอิเลคโตรโฟริซิส บน 2% อะกาโรส เช่นเดียวกับวิธีการข้างต้น

5. ทดสอบปฏิกิริยาพีซีอาร์ในการตรวจเชื้อจากตัวอย่างพืช

เตรียมตัวอย่างพืชทดสอบ โดยตัดเนื้อเยื่อพืชบริเวณที่เกิดอาการแผลจุดเชื่อมต่อกับบริเวณเนื้อเยื่อปกติ ขนาด ประมาณ 0.2x0.2 มิลลิเมตร หยดน้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใช้ใบมีดผ่าตัดลนไฟฆ่าเชื้อตัดเนื้อเยื่อเป็นชิ้นเล็ก ๆ เพื่อให้แบคทีเรียที่อยู่บริเวณท่อลำเลียงพืชหลุดออกมาอยู่ในน้ำ แช่ทิ้งไว้นาน 5 นาที ใช้ไปเปตดูดเซลล์แขวนลอยเชื้อในน้ำบดตัวอย่าง ทดสอบปฏิกิริยาพีซีอาร์ในการตรวจเชื้อด้วยไพรเมอร์ เช่นเดียวกับวิธีในข้อ 3

ระยะเวลาดำเนินการ 2 ปี ตั้งแต่ ตุลาคม 2551 – กันยายน 2553

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
อาคารปฏิบัติการ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การแยกเชื้อและการเก็บรักษาเชื้อ

ลักษณะอาการการเกิดโรคในระยะเริ่มแรก พบแผลจุดเล็กสีครีมอมเหลืองหรือแผลจุดสีเขียวอ่อน กลางแผลมีลักษณะเนื้อเยื่อที่ยุบตัวเป็นแอ่ง ขอบแผลสีเข้ม และวงนอกสุดล้อมรอบด้วย halo สีเหลืองหรือเขียวอ่อน ขนาดประมาณ 1 มิลลิเมตร โดยมากพบบริเวณใบยอด หรือใบอ่อน ต่อมาอาการพัฒนา มีลักษณะแผลค่อนข้างกลม กลางแผลสีน้ำตาลอ่อนหรือเข้ม ขอบแผลเป็นวงสีน้ำตาลเข้ม กลางแผลมีลักษณะเนื้อเยื่อที่แห้งยุบตัวเป็นแอ่ง ล้อมรอบด้วย halo สีเหลือง ขนาดแผลเฉลี่ย 3-5 มิลลิเมตร (ภาพที่ 1)

จากการแยกเชื้อบนอาหาร NGA แบคทีเรียเจริญหลังบ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง ประมาณ 36-48 ชั่วโมง มีลักษณะโคโลนีกลมสีขาวใส ขอบเรียบ ขนาดประมาณ 0.5-1 มิลลิเมตร เมื่อเก็บเชื้อแบคทีเรียไว้เป็นเวลานานกว่า 5-7 วัน จะพบบริเวณขอบของโคโลนีมีคราบสีขาวใสขอบไม่เรียบบาง ๆ รอบโคโลนี (ภาพที่ 1) ซึ่งจากการทดสอบแยกเชื้อ ทดสอบการเกิดโรคโดยการปลูกเชื้อ และศึกษาการจำแนกเชื้อได้เป็นแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *cattleyae* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคที่จัดอยู่ในกลุ่มทนร้อน (heat lover bacteria) ซึ่งมีการระบาดและรายงานในประเทศออสเตรเลีย จากรายงานของ Stovold et al. (2001)

การเก็บเชื้อเพื่อการศึกษา เลือกเก็บ 2 วิธี คือเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียแต่ละไอโซเลท อายุ 24 ชั่วโมง เก็บลงในน้ำ ในหลอด eppendrof tube 1.5-2 ml จำนวน 2 ซ้ำ เก็บที่อุณหภูมิห้อง และเก็บเชื้อบนอาหารเอียง เลี้ยงให้เจริญ 24 ชั่วโมง แล้วเทปิดทับด้วยพาราฟินเหลว เก็บในตู้เก็บเชื้ออุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

2. การสกัดดีเอ็นเอ

แยกสกัดดีเอ็นเอแบคทีเรียสาเหตุโรคกล้วยไม้ ได้แก่ *A. avanae* subsp. *cattleyae* สาเหตุโรคใบจุดกล้วยไม้ จำนวน 11 ไอโซเลท จากกล้วยไม้สกุลการ้า 6 ชนิด แบคทีเรีย *Burkholderia gladioli* สาเหตุโรคเน่า จำนวน 3 ไอโซเลท แบคทีเรียสาเหตุโรคเน่าเละ *E. carotovora* subsp. *carotovora* และ *E. chrysanthemi* จำนวน 6 ไอโซเลท แบคทีเรียที่ไม่เป็นสาเหตุโรคกล้วยไม้ ได้แก่ *Xanthomonas campestris* สาเหตุโรคใบจุดและเน่าดำคะน้า จำนวน 2 ไอโซเลท แบคทีเรียสาเหตุโรคกล้วยไม้สกุลม็อคคาร่า (unknown species) จำนวน 3 ไอโซเลท และแบคทีเรียสกุล *Bacillus* spp. แยกจากใบหน้าวัวและกล้วยไม้ ที่ใช้ในการทดสอบควบคุมโรคใบจุดแบคทีเรียกล้วยไม้ จำนวน 3 ไอโซเลท (ตารางที่ 1)

3. ทดสอบปฏิกิริยาพีซีอาร์ในการตรวจเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae*

ปฏิกิริยาพีซีอาร์การตรวจเชื้อโดยคู่ไพรเมอร์ RST49 และ RST51 (Minsavage et al. 1995) เป็นไพรเมอร์จำเพาะต่อ *A. avenae* พบการสังเคราะห์เพิ่มปริมาณแถบดีเอ็นเอ จากดีเอ็นเอต้นแบบของเชื้อ *A. avenae* subsp. *citrulli* ได้เพียง 1 จาก 8 ไอโซเลท โดยมีแถบจาง ๆ และสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้จากแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *citrulli* ขนาดประมาณ 390 bp ไม่สังเคราะห์แถบดีเอ็นเอจากแบคทีเรีย *B. gladioli* และ *E. catotovora* subsp. *carotovora* (ตารางที่ 1)

ปฏิกิริยาพีซีอาร์การตรวจเชื้อโดยคู่ไพรเมอร์ BX-L1F/BX-S-R2 เป็นไพรเมอร์จำเพาะต่อ *A. avenae* subsp. *citrulli* ออกแบบจากแถบดีเอ็นเอที่ได้จากลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วย Box-PCR (Bahar et al. 2008) สังเคราะห์เพิ่มปริมาณแถบดีเอ็นเอ จากดีเอ็นเอต้นแบบของเชื้อ *A. avenae*

subsp. *citrulli* ได้เพียง 3 จาก 4 ไอโซเลท ขนาดประมาณ 270 bp ซึ่งตรวจพบแถบดีเอ็นเอมากกว่าหนึ่งแถบ ปฏิกิริยาพีซีอาร์โดยคู่ไพรเมอร์ Aacf2/Aacr2 สังเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้จากดีเอ็นเอต้นแบบเชื้อ *A.avenae* subsp. *cattleyae* เพียงตัวอย่างเดียว (ตารางที่ 1)

ปฏิกิริยาการตรวจเชื้อโดยไพรเมอร์ WFB1/WFB2, Oaf1/Oar1 และ Oaf1/Oar2 สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอของแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *cattleyae* ได้แถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 350, 550 และ 150 bp ตามลำดับ โดยพบปฏิกิริยาการสังเคราะห์แถดีเอ็นเอข้ามต่อเชื้อสาเหตุโรคพืชชนิดอื่นคือ *Burkholderia gladioli E. chrysanthemi* และ*E. carotovora* subsp. *carotovora* ยกเว้น Oaf1/Oar1 ไม่สังเคราะห์แถบดีเอ็นเอจาก *E. carotovora* subsp. *carotovora* คู่ไพรเมอร์ WFB1/WFB2 พบปฏิกิริยาการเกิดแถบดีเอ็นเอสองแถบ และสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอจากแบคทีเรีย *X. campestris* ทั้งนี้อาจเนื่องจากคู่ไพรเมอร์ออกแบบจากบริเวณ 16s rDNA ซึ่งมีลำดับเบสใกล้เคียงกันมา (ตารางที่ 1)

จากรายงานของ Song et al. (2004) ซึ่งออกแบบไพรเมอร์ Aaaf3/Aaar2 จากลำดับเบสบริเวณ 16s-23s rDNA ซึ่งให้ผลทดสอบจำเพาะต่อแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *avenae* สาเหตุโรคข้าวเท่านั้น ไม่สังเคราะห์แบคทีเรียชนิดเดียวกันที่เป็นสาเหตุโรคของข้าวโพดและพืชอาศัยชนิดอื่น และไม่สังเคราะห์แถบดีเอ็นเอจากแบคทีเรียสาเหตุโรคกล้วยไม้ *A. avenae* subsp. *cattleyae* ทั้งนี้คู่ไพรเมอร์ Oaf1/Oar1 (Song et al. 1997) ได้ออกแบบมาจำเพาะต่อแบคทีเรีย *A. avenae* ทั้งนี้ในการทดลองครั้งนี้พบการสังเคราะห์ดีเอ็นเอจาก *A. a. cattleyae* และ *A. a. citrulli* สาเหตุโรคผลเน่าเมลอน นอกจากนั้นยังพบการสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอจากแบคทีเรียสาเหตุโรคกล้วยไม้ชนิดอื่น โดยมีขนาดแถบดีเอ็นเอเท่ากัน

4. ทดสอบปฏิกิริยาความจำเพาะ (specificity) และความไว (sensitivity) ในการตรวจเชื้อ *A. avenae* subsp. *cattleyae*

ในการตรวจเชื้อสาเหตุโรคด้วยเทคนิคพีซีอาร์ พบว่าคู่ไพรเมอร์จำนวน 6 คู่ ได้แก่ RST49/RST50, BX-L1F/BX-S-R2, Aacf2/Aacr2, WFB1/WFB2, Oaf1/Oar1 และ Oaf1/Oar2 ยังไม่มีประสิทธิภาพในการตรวจเชื้อได้ คู่ไพรเมอร์ RST49/RST50, BX-L1F/BX-S-R2, Aacf2/Aacr2 ไม่สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอจากแบคทีเรียเป้าหมายได้ทุกไอโซเลท และมีความไม่สม่ำเสมอในกรตรวจเชื้อเกิดแถบดีเอ็นเอหลายแถบ หรือเกิดแถบจาง ทำให้ไม่สามารถระบุได้ สำหรับคู่ไพรเมอร์ WFB1/WFB2, Oaf1/Oar1 และ Oaf1/Oar2 สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอจากเชื้อสาเหตุโรคเป้าหมายได้ แต่เกิดปฏิกิริยาข้ามกับแบคทีเรียสาเหตุโรคกล้วยไม้ชนิดอื่น คือ *B. gladioli* , *E. carotovora* subsp. *carotovora* และ *E. chrysanthemi* โดยไพรเมอร์ WFB1/WFB2 สังเคราะห์แถบดีเอ็นเอจากแบคทีเรีย *X. campestris* ทั้งนี้อาจเนื่องจากคู่ไพรเมอร์ออกแบบจากลำดับเบสบริเวณ 16s DNA ซึ่งมีความคล้ายคลึงกับในกลุ่มของแบคทีเรีย ทั้งนี้ไม่เกิดปฏิกิริยากับแบคทีเรียซาโปรไฟท์ และแบคทีเรียสกุล *Bacillus* ที่ทดสอบ ปฏิกิริยาความไวใน

การตรวจเชื้อด้วยคู่ไพรเมอร์ Oaf1/Oar1 สามารถตรวจเชื้อได้ที่ความเข้มข้นดีเอ็นเอต่ำสุด 10 พิโคโมล และตรวจในระดับเซลล์แบคทีเรียได้ต่ำสุดที่ 10^5 cfu/ml

ทั้งนี้ในรายงานของ Song et al. ได้ทดสอบปฏิกิริยาพีซีอาร์โดยไพรเมอร์ Oaf1/Oar1 ซึ่งออกแบบสำหรับการตรวจเชื้อ *A. avenae* subsp. *avenae* จากเมล็ดข้าว ซึ่งในการทดสอบพบว่าไม่สังเคราะห์แถบดีเอ็นเอจากเชื้อ *A. avanae* subsp. *cattleyae* 2 สายพันธุ์ที่ทำการทดสอบ แต่ในการทดลองครั้งนี้พบว่าคู่ไพรเมอร์ดังกล่าวสามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้

5. ทดสอบปฏิกิริยาพีซีอาร์ในการตรวจเชื้อจากตัวอย่างพืช (อาการโรคใบจุดแบคทีเรียกล้วยไม้)

ทดสอบการตรวจเชื้อจากตัวอย่างใบพืช พบว่าปฏิกิริยาพีซีอาร์ไม่สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้ อาจเนื่องจากปฏิกิริยายับยั้งจากสารบางชนิด เช่นเดียวกับรายงานของ Song et al. 2004 ที่พบว่าเทคนิคพีซีอาร์มีประโยชน์ในการตรวจเชื้อบริสุทธิ์ แต่มีข้อจำกัดในการตรวจเชื้อจากเมล็ด ตัวอย่างพืช หรือตัวอย่างดิน เนื่องจากสารยับยั้งปฏิกิริยาหลายชนิดจากพืช และแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ ในการแก้ปัญหาสารยับยั้งปฏิกิริยา Song et al. แนะนำว่าควรใช้เทคนิค BIO-PCR มาช่วย โดยการเลี้ยงในอาหารจำเพาะ ซึ่งจะช่วยเพิ่มความไวในการตรวจเชื้อ และลดการเกิดปฏิกิริยายับยั้งได้ด้วย

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

1. *A. avenae* subsp. *cattleyae* เป็นสาเหตุโรคใบจุดแบคทีเรีย พบการเข้าทำลายในกล้วยไม้สกุลการค้าหลายชนิด ที่สำคัญได้แก่ แวนดา แอสโคเซนดา ช้าง แคทลียา ฟาแลนอปซิส ควรมีการตรวจสอบและหาวิธีการป้องกันกำจัดที่เหมาะสม เพื่อป้องกันผลกระทบการส่งออก และธุรกิจการค้ากล้วยไม้ของประเทศไทยในอนาคต

2. การทดสอบปฏิกิริยาพีซีอาร์โดยคู่ไพรเมอร์ทั้ง 6 ชนิด ที่จำเพาะต่อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* พบว่าปฏิกิริยาพีซีอาร์โดยคู่ไพรเมอร์ Oaf1/Oar1 ให้ผลดีที่สุดสามารถใช้ในการตรวจเชื้อแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *cattleyae* ได้แถบดีเอ็นเอขนาด 550 pb มีความไวในการตรวจเชื้อระดับเซลล์แขวนลอยเชื้อและดีเอ็นเอที่ 10^5 cfu//ml และ 10 พิโคกรัม ตามลำดับ โดยปฏิกิริยาพีซีอาร์ในการสังเคราะห์ให้ผลเช่นเดียวกับคู่ไพรเมอร์ Oaf1/Oar2 ซึ่งได้แถบดีเอ็นเอขนาด 150 bp ทั้งนี้พบปฏิกิริยาการสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอข้ามในแบคทีเรียสาเหตุโรคกล้วยไม้ชนิดอื่น คือ *E. chrysanthemi* และ *B. gladioli* เช่นเดียวกับคู่ไพรเมอร์ WFB1/WFB2 สังเคราะห์แถบดีเอ็นเอขนาด 350 bp จากแบคทีเรียสาเหตุโรคกล้วยไม้ทั้งสองชนิด และ *X. campestris*

3. คู่ไพรเมอร์ทั้งสามชนิด สามารถใช้ตรวจสอบได้เพียงระดับเชื้อบริสุทธิ์ ยังไม่สามารถตรวจเชื้อจากตัวอย่างพืช ตัวอย่างน้อได้ เนื่องจากการตรวจเชื้อจากตัวอย่างพืช พบการสังเคราะห์

ข้ามในแบคทีเรียสาเหตุโรคชนิดอื่น ในการทำงานวิจัย อาจต้องมีการเลี้ยงเชื้อบนอาหารสังเคราะห์ร่วมด้วย เพื่อการยืนยัน

เอกสารอ้างอิง

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และจงวัฒนา พุ่มหิรัญ. 2552. การศึกษาโรคใบจุดแบคทีเรียของกล้วยไม้สกุลแวนดา. เรื่องเต็ม เอกสารประกอบการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 15-17 มีนาคม 2552. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

Bahar, O., Efrat, M., Hadar, E., Dutta, B., Walcott, R.R. and Burdman, S. 2008. New subspecies-specific polymerase chain reaction-based assay for the detection of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. Plant Pathology 57:754-763.

Jones, J.B., Gitaitis, R.D. and Schaad, N.W. 2001. *Acidovorax and Xylophilus.* In: Schaad, N.W., Jones, J.B. and Chun W. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. 3rd edition, APS Press,121-138.

Miller, J. W. 1990. Bacterial brown spot of orchid caused by *Pseudomonas cattleyae*. Plant Pathology Circular no. 330.

Minsavage, G.V., Hoover, R.J.,. Kucharek, T.A, and Stall, R.E.. 1995. Detection of the watermelon fruit blotch pathogen on seeds with the polymerase chain reaction. Phytopathology 85:1162 (Abstr.)

Schaad, N.W., Postnikova, E., Sechler, A., Claflin, L.E., Vidaver, A.K., Jones, J.B., Agarkova, I., Ignatov, A., Dickstein, E. and Ramundo, B.A. 2008. Reclassification of subspecies of *Acidovorax avenae* as *A. avenae*(Manns 1905) emend., *A. cattleyae* (Pavarino, 1911) comb.nov., *A. citrulli* (Schaad et al., 1978) comb. nov., and proposal of *A. oryzae* sp. nov. Systemic and applied microbiology. 31:434-446.

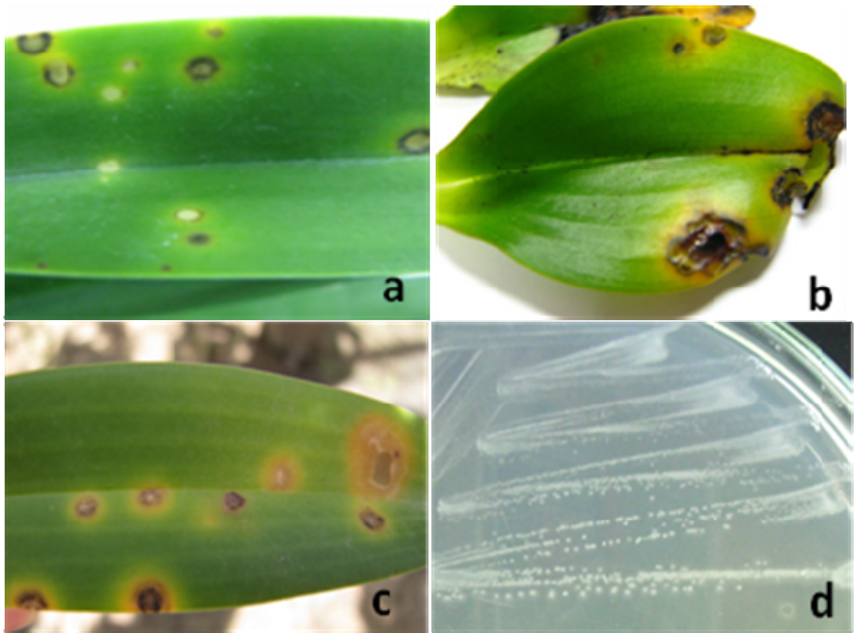
Song, W.Y., Kim, H.M., Hwang, C.Y. and Schaad, N.W. 2004. Detection of *Acidovorax avenae* ssp. *avenae* in rice seeds using BIO-PCR. J. Phytopathology 152:667-676.

Song, W.Y., Sechler, A.J., Hatziloukas, E., Kim, H.M. and Schaad, N.W. 2003. Use of PCR for rapid identification of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. In: Iacobellis NS, Collmer A, Hutcheson SW et al., eds. Pseudomonas syringae and Related Pathogens. Dordrecht, the Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 531-544.

Stovold, G. E., Bradley J. and Fahy, P.C.. 2001. *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* (*Pseudomonas cattleyae*) causing leafspot and death of *Phalaenopsis* orchids in New South Wales. Australasian Plant Pathology. (30):73-74.

Walcott, R.R., Castro, A.C., Fessehaie, A. and Ling, K. 2006. Progress towards a commercial PCR-based seed assay for *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. Seed Sci.& Technol. 34:101-116.

Walcott, R.R. and Gitaitis, R.D. 2000. Detection of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* in watermelon seed using immunomagnetic separation and the polymerase chain reaction. Plant Dis. 84:470-474.



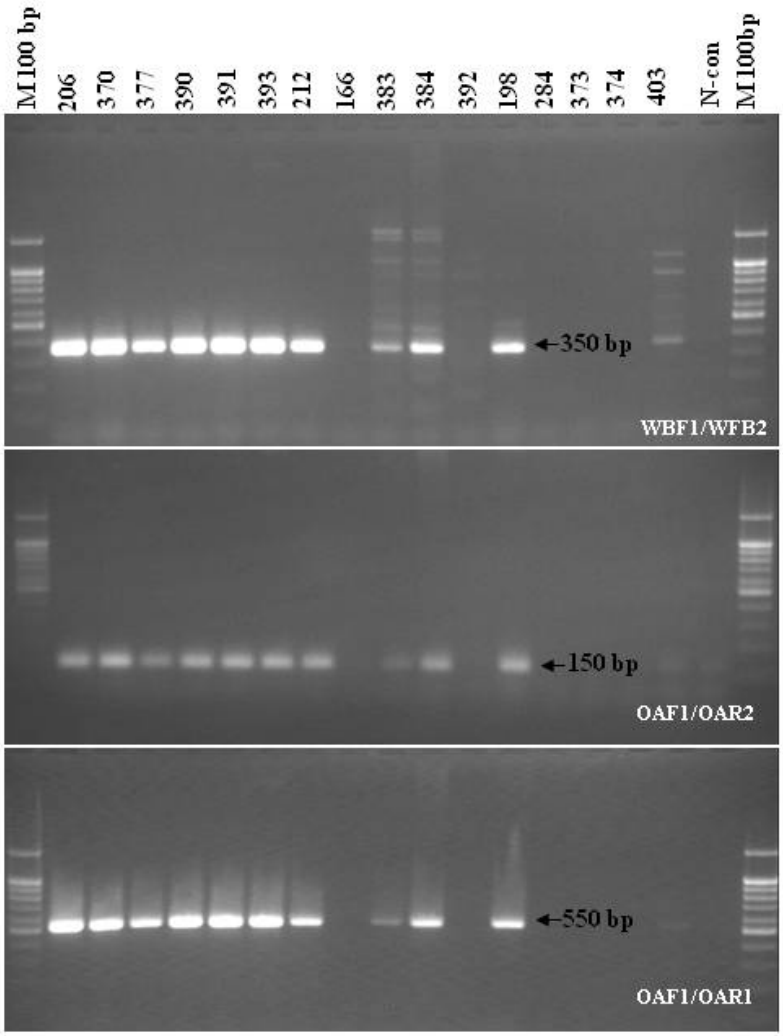
ภาพที่ 1 แสดงอาการโรคใบจุดแบคทีเรียบนกล้วยไม้สกุลการค้า (a) แวนดา, (b) ฟาแลนอปซิส, (c) ช้าง, (d) แบคทีเรีย *A. avenae* subsp.*cattleyae* บนอาหาร NGA

ตารางที่ 1 ไอโซเลทแหล่งที่มาของเชื้อแบคทีเรียและผลทดสอบปฏิกิริยาพีซีอาร์ด้วยไพรเมอร์ 6 คู่

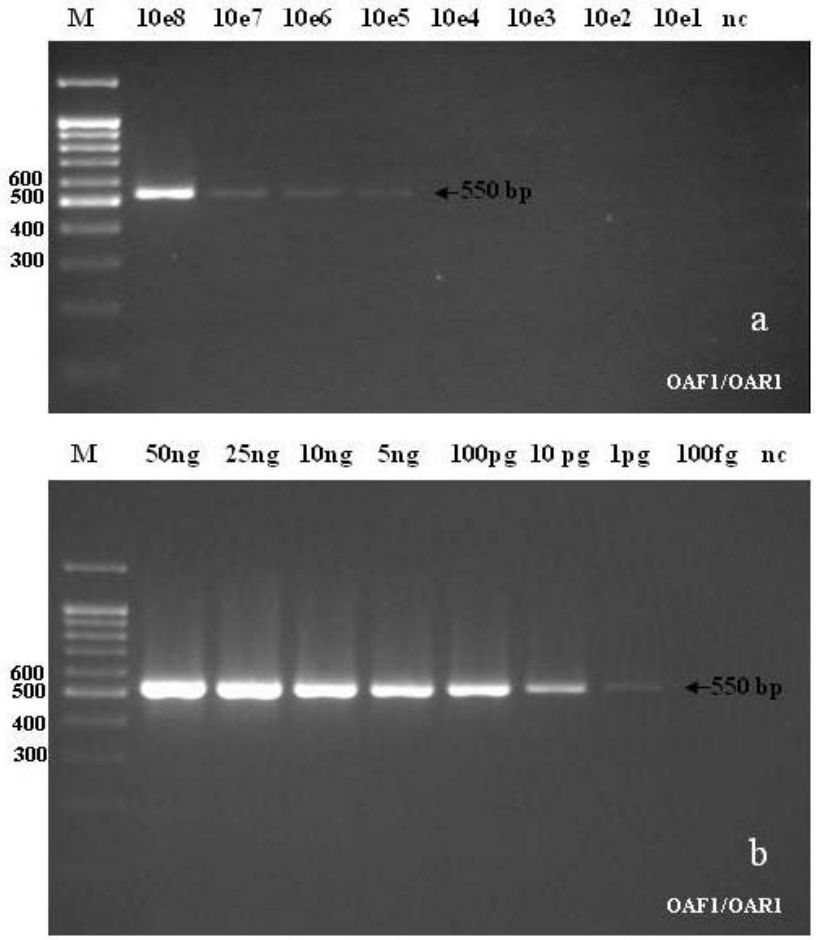
ไอโซเลท	พืชอาศัย	แหล่งปลูก	ผลของปฏิกิริยาพีซีอาร์โดยคู่ไพรเมอร์					
			1	2	3	4	5	6
A. avenae subsp. *cattleyae*								
P206	แวนดา	อ. ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี	+	+ mb	-	+db	+fb	+
P236	แอสโคเซนดา	อ.เมือง จ.ปราจีนบุรี	Nd	nd	nd	nd	nd	+
P244	ช้างแดง	อ.บ้านโป่ง จ.ราชบุรี	Nd	nd	nd	nd	nd	+
P285	แวนดา	อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี	Nd	nd	nd	nd	nd	+
P356	ฟาแลนอปซิส	อ. สวนผึ้ง จ.ราชบุรี	-	nd	nd	+	+	+
P357	กล้วยไม้ช้าง	อ. สวนผึ้ง จ.ราชบุรี	-	nd	nd	nd	nd	
P370	แวนดา	อ. สวนผึ้ง จ.ราชบุรี	-	-	nd	+	+	+
P377	แคทลียา	อ. โพธาราม จ.ราชบุรี	-	+mb	+	+	+	+
P390	ช้างแดง	อ.โกรกพระ จ.นครสวรรค์	-	nd	nd	+	+	+
P391	แวนดา	อ.โกรกพระ จ.นครสวรรค์	-	+mb	nd	nd	nd	+
P393	ฟาแลนอปซิส	อ. โกรกพระ จ. นครสวรรค์	-	nd	nd	+	+	+
A. avenae subsp. *citrulli*								
P091	เมลอน	อ.อรัญประเทศ จ.สระแก้ว	Nd	nd	nd	nd	nd	-
P092	เมลอน	อ.อรัญประเทศ จ.สระแก้ว	Nd	nd	nd	nd	nd	+fb
P212	เมลอน	อ.อรัญประเทศ จ.สระแก้ว	+	-	-	+db	+,-	-
P405	เมลอน	อ.อรัญประเทศ จ.สระแก้ว	Nd	nd	nd	nd	nd	-
P561	เมลอน	อ.อรัญประเทศ จ.สระแก้ว	Nd	nd	nd	nd	nd	+fb
B. gladioli								
P198	ช้างเขาแกะ	อ.สามพราน จ.นครปฐม	-	nd	nd	+db	-	-
P284	แวนดา	อ. บ้านโป่ง จ. ราชบุรี	Nd	nd	nd	+db	-	-
P403	แวนดา	อ.คลองขลุง จ.กำแพงเพชร				+,db	+	+
E. carotovora subsp. *carotovora*								
P166	ออนซิเดียม	เขตบางเขน กทม.	-	nd	nd	+db	-	+
E. chrysanthemi								
P248	แวนดา	อ.บ้านโป่ง จ.ราชบุรี	Nd	nd	nd	+db	-	-
P375	หวาย	อ.โพธาราม จ.ราชบุรี	Nd	-	nd	nd	nd	nd
P383	ออนซิเดียม	อ.กระทุ่มแบน จ.สมุทรสาคร	Nd	nd	Nd	+db	+fb	+fb
P384	หวาย	อ.กระทุ่มแบน จ.สมุทรสาคร	Nd	nd	nd	+db	-	-
P392	แวนดา	อ.โกรกพระ จ.นครสวรรค์	Nd	nd	nd	+fb,-	+fb	+fb
Xanthomonas campestris คะน้า								
P380, P381		อ.หนองเสือ จ.ปทุมธานี	Nd	nd	nd	+db	-	-
Unknown isolate มันคาร่า								
M1, M2, M3		อ.นครชัยศรี จ.นครปฐม	Nd	nd	nd	nd	-	-
NA18, KA33, KA35		*Bacillus* spp. หน้าวัว, กล้วยไม้	Nd	nd	nd	nd	-	-

หมายเหตุ: ไพรเมอร์1, RST49/RST51; 2,BX-L1F/BX-S-R2; 3,Aacf2/Aacr2; 4,WFB1/WFB2; 5, Oaf1/Oar1; 6, Oaf1/Oar2

+, positive; - negative; nd, not determind; mb, multiple band; fb, faint band; db, double band



ภาพที่ 2 เปรียบเทียบความจำเพาะ (specificity) ในการสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอของคู่ไพรเมอร์ WFB1/WFB2 สังเคราะห์แถบดีเอ็นเอขนาด 350 bp คู่ไพรเมอร์ OAF1/OAR2 สังเคราะห์แถบดีเอ็นเอขนาด 150 bp และคู่ไพรเมอร์ OAF1/OAR1 สังเคราะห์แถบดีเอ็นเอขนาด 550 bp; เลนที่ 1 และ 19, 100 bp ladder; เลนที่ 2-7, *A. avenae* subsp. *cattleyae*; เลนที่ 8, *A. avenae* subsp. *citrulli*; เลนที่ 9, *E. carotovora* subsp. *carotovora*; เลนที่ 10-12, *E. chrysanthimi*; เลนที่ 13-17, *B. gladioli*; เลนที่ 18, control (water)



ภาพที่ 3 แสดงความไว (sensitivity) ในการตรวจเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* ไอโซเลท P285 ด้วยคู่ไพรเมอร์ OAF1/OAR1 ขนาด 550 bp ในระดับเซลล์แขวนลอย เชื้อพบการสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่ความเข้มข้นเชื้อ 10^5 cfu/ml (a) และระดับดีเอ็นเอพบการสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่ความเข้มข้นดีเอ็นเอต่ำสุดคือ 10 pg (b)

โมเลกุลเครื่องหมายตรวจหาความต้านทานของพริกต่อโรคลำต้นไหม้ที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora capsici*

Development of Molecular Markers to Identify Resistance Gene of Chilli pepper to *Phytophthora capsici*

ศรีสุข พูนผลกุล[1] ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์

ขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์[2]

[1] กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2]กลุ่มวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

บทคัดย่อ

เชื้อรา *Phytophthora capcisi*, สาเหตุโรคลำต้นไหม้ของพริกสามารถติดมากับเมล็ดพันธุ์และผลพริกระบาดไปยังแหล่งปลูกอื่นๆ ได้ การคัดเลือกโมเลกุลเครื่องหมายเพื่อตรวจหาลักษณะความต้านทานที่ถ่ายทอดจากพันธุ์ต้านทานโรคโดยใช้สัดส่วนพริกลูกผสมที่ให้ผลต้านทานและอ่อนแอเป็นเครื่องบ่งชี้ Microsatellite primers UBC 836 แสดงสัดส่วนแถบดีเอ็นเอเป็น 10 ต่อ 2 ให้ผลตรงกันกับพริกลูกผสมชั่วที่ 2 ที่เกิดจาก พริกพันธุ์ PI2301234 เมื่อใช้เป็นพันธุ์พ่อต้านทาน และ พริกพันธุ์ พิจิตร 01 เป็นพันธุ์แม่อ่อนแอเมื่อแสดงปฏิกิริยาต่อการเกิดโรคลำต้นไหม้เมื่อปลูกเชื้อราสาเหตุสายพันธุ์เพชรบูรณ์ ผลการศึกษาพบว่า Microsatellite primers UBC 836 สามารถใช้ตรวจสอบลักษณะต้านทานและอ่อนแอของพริกลูกผสมได้ แต่การศึกษาหาดีเอ็นเอตัวตรวจจะทำให้การติดตามลักษณะถ่ายทอดนี้ได้แม่นยำยิ่งขึ้น

คำนำ

ประเทศไทยทีพื้นที่เพาะปลูกพริกทั่วประเทศโดยเฉลี่ย 383,000 ไร่ ต่อปี ได้ผลผลิตรวมประมาณ 356,000 ตัน ผลผลิตส่วนใหญ่นำไปใช้ในประเทศในรูปของการบริโภคผลสด ผลแห้ง พริกป่น ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร นอกจากนี้ยังส่งพริกเป็นสินค้าออกทำรายได้ให้แก่ประเทศ โดยมีการส่งออกในรูปพริกสดและพริกแห้ง (ผลแห้งและพริกป่น) ปีละประมาณ 10,300 และ 680 ตัน คิดเป็นมูลค่าประมาณ 77 และ 40 ล้านบาท ตามลำดับ

เชื้อรา *Phytophthora capcisi,* สาเหตุโรคลำต้นไหม้ของพริกทำความเสียหายต่อการปลูกพริกทั่วโลก เชื้อราสาเหตุมีพืชอาศัยกว้าง ได้แก่ มะเขือเทศ ลิลลี่ คาร์เนชั่น รักเร่ มะคาเดเมีย ยางพารา โกโก้ พืชตระกูลแตง พืชตระกูลส้ม มันสำปะหลัง ยาสูบ พริกไทย สาเก และพืชตระกูลมะเขือ (CABI, 2003) รายงานการพบโรคลำต้นไหม้ของพริกครั้งแรกในประเทศไทยเมื่อ ปี พ.ศ. 2548 พบการเกิดโรคในแปลงปลูกพริกที่จังหวัดเชียงใหม่ เพชรบูรณ์ เชียงราย และสกลนคร (ศรีสุข, 2548) โดยพบความเสียหายตั้งแต่ 10 - 80 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นกับสภาพแวดล้อม วิธีการปลูก และพันธุ์พริก ด้วย

รหัสการทดลอง 09 01 49 02 02 04 08 52

เหตุนี้โรคลำต้นไหม้ของพริกจึงมีความสำคัญมากขึ้นเป็นลำดับ เชื้อราสาเหตุสามารถติดมากับเมล็ดพันธุ์และผลพริกระบาดไปยังแหล่งปลูกอื่นๆ ได้ อย่างไรก็ตามพบเชื้อรานี้ในแหล่งปลูกจำกัด อีกทั้งยังเป็นศัตรูพืชกักกัน ดังนั้นการตรวจเชื้อสาเหตุได้อย่างรวดเร็วและแม่นยำจะเป็นประโยชน์ในการวินิจฉัยและติดตามการนำเข้ามายังประเทศไทยและการระบาดไปยังแหล่งปลูกใหม่ นอกจากนี้ยังใช้ประโยชน์ในการสำรวจแปลงปลูกพริกในประเทศไทยเพื่อศึกษาสถานภาพการมีอยู่และความเสียหายที่เกิดจากเชื้อราจะเป็นประโยชน์ในการกำหนดพื้นที่การระบาด การป้องกันการระบาดไปยังแหล่งอื่นตลอดจนสนับสนุนงานการเฝ้าระวังศัตรูพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ

การป้องกันกำจัดด้วยการใช้สารเคมี metalaxyl หรือ chlorothalonil พ่นบนใบและลำต้นจะป้องกันโรคได้ วิธีการทางเขตกรรม เช่น การตากดินก่อนการปลูกพืช Yucel (1995) พบว่าอุณหภูมิดินสูงถึง 47 องศาเซลเซียสจะกำจัดเชื้อราสาเหตุของโรค ในขณะที่ Rista *et al. (*1995) พบว่าการให้น้ำต้นพริกที่ปลูกในโรงเรือนด้วยวิธีการต่างๆ 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)

PCR เป็นเทคนิคที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณชิ้น DNA ชิ้นสั้นๆ (ที่เฉพาะเจาะจงกับ Primer) ที่อยู่ในสารละลายร่วมกับ DNA อื่นๆ หลายชนิด โดยไม่จำเป็นต้องทำให้ชิ้น DNA ดังกล่าวบริสุทธิ์ก่อน DNA ชิ้นสั้นๆ ที่สังเคราะห์ได้นั้น สามารถนำไปวิเคราะห์หาลำดับเบส หรือขยายต่อได้ (สุรินทร์, 2543) ปัจจุบันได้มีการนำเทคนิค PCR มาใช้ในการจำแนกเชื้อและตรวจวินิจฉัยโรคในพืชกันอย่างกว้างขวาง เพราะเป็นเทคนิคง่ายๆ มีความเฉพาะเจาะจง ถูกต้อง แม่นยำสูง และรวดเร็ว เพียงมีดีเอ็นเอติดตาม หรือ species-specific primer ของเชื้อสาเหตุ ก็สามารถตรวจสอบเชื้อสาเหตุของโรคในส่วนของพืชได้ โดยไม่จำเป็นต้องทำให้เชื้อบริสุทธิ์ และไม่จำเป็นต้องเลี้ยงเชื้อบนอาหาร (สุรินทร์, 2543; Robb *et al*., 1994; Stammler and Seemuller ,1994;) ทำให้สามารถตรวจสอบเชื้อราได้ก่อนเกิดการระบาดของโรค

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. พริกพันธุ์พ่อ PI2301234 และพันธุ์แม่ 7 พันธุ์ได้แก่ พันธุ์ พิจิตร 01 (พันธุ์อ่อนแอ) พิจิตร05 พิจิตร 06 พิจิตร 15-1-1-1 พิจิตร18 –1 – 1 – 1 พิจิตร 27-1-2-1 และ PBC 743
2. อุปกรณ์ในเรือนทดลอง
3. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพ
4. สารเคมี primers เอนไซม์ และ วัสดุในงานโมเลกุลเครื่องหมาย

วิธีการ

การเตรียมพ่อ แม่ และลูกผสม

เตรียมลูกผสมพันธุ์พริก โดยใช้ ปลูกพริกพันธุ์พ่อ (ต้านทาน) ได้แก่ PI2301234 และพันธุ์แม่ 7 พันธุ์ได้แก่ พันธุ์ พิจิตร 01 (พันธุ์อ่อนแอ) พิจิตร 05 พิจิตร 06 พิจิตร 15-1-1-1 พิจิตร 18–1–1–1 พิจิตร 27-1-2-1 และ PBC 743 ผสมพันธุ์พริกเพื่อสร้าง ลูกผสมชั่วที่ 1 และลูกผสมชั่วที่ 2 ใช้ในการเปรียบเทียบการเป็นโรคระดับต่างๆ ร่วมกับ พันธุ์พ่อ –พันธุ์แม่ รวมทั้งสิ้นประมาณ 100 ต้น ต่อคู่ผสม

แยกเชื้อบริสุทธิ์จากตัวอย่างต้นพริกแสดงอาการของโรคที่เก็บมาจากอำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ และเลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคลำต้นไหม้ เตรียมเลี้ยงเชื้อราเพื่อผลิต zoospores และคำนวณให้ได้ zoospores ที่ความเข้มข้น 20,000 ต่อมิลลิลิตร ปลูกเชื้อสาเหตุบนพืชทดสอบโดยการราดโคนต้นด้วยปริมาตร 5 มิลลิลิตรต่อต้น ตรวจสอบปฏิกิริยาของพันธุ์พริกที่มีต่อเชื้อราสาเหตุ บันทึกข้อมูลการเกิดโรค

การคำนวณลักษณะถ่ายทอดความต้านทานด้วยกฎของเมนเดลเพื่อใช้เป็นฐานข้อมูลสำหรับเปรียบเทียบกับแถบดีเอ็นเอที่สร้างขึ้นจากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วย Microsatellite primers ในขั้นตอนต่อไป

การหาโมเลกุลเครื่องหมายตรวจหาพริกที่มียีนต้านทาน

เก็บใบพริก พันธุ์พ่อ แม่ ลูกผสมชั่วที่ 1 และลูกผสมชั่วที่ 2 ต้นละ 3 ใบ สกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีการของ Murray *et.al.* (1980)

การคัดเลือก primers ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ โดยการใช้ Microsatellite primers จำนวน 100 สาย และ RAPD primers จำนวน 160 สาย และใช้เทคนิค gel electrophoresis นำดีเอ็นเอที่เก็บรักษาไว้มาวัดความเข้มข้นด้วยเครื่องอ่านความเข้มข้นของดีเอ็นเอ ปรับความเข้มข้นดีเอ็นเอต้นแบบที่ 25 นาโนกรัม เพื่อใช้ในการสังเคราะห์สายดีเอ็นเอ การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องสังเคราะห์ดีเอ็นเอ (thermal cycler, Perkin-Elmer 9700) โดยใช้ Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) primer ชนิด 1o bases จำนวน 16o สาย (UBC primers ชุด 1 และ Operon primers) และ microsattlelite primer จำนวน 100 สาย (UBC primers ชุด 9) โปรแกรมสังเคราะห์ดีเอ็นเอใช้ที่อุณหภูมิของการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ ที่ 94 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที ที่ 35 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที และ ที่ 72 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที จำนวน 40 รอบ ต่อจากนั้นเพิ่มสายดีเอ็นเอต่อที่ 72 องศาเซลเซียส นาน 7 นาที เก็บผลผลิตดีเอ็นเอที่ได้ที่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำผลผลิตดีเอ็นเอที่ได้จากการสังเคราะห์ไปตรวจผลด้วยเทคนิค agarose gel electrophoresis ซึ่งมีความเข้มข้นของ agarose ที่ 1 เปอร์เซ็นต์ ในสารละลาย ethidium bromide ถ่ายภาพด้วยเครื่องถ่ายภาพ (Gel Documentation) เปรียบเทียบแถบที่เกิดบนแผ่นวุ้นกับลักษณะอาการต้านทาน / อ่อนแอที่แสดงปฏิกิริยาต่อเชื้อราสาเหตุ

คัดเลือกแถบที่ให้ผลสอดคล้องกับฐานข้อมูลตามกฎของเมนเดลว่าแสดงค่าตรงกับความต้านทานและอ่อนแอของต้นพริกที่ได้รับการปลูกเชื้อในขั้นตอนที่ 1 ตัดชิ้นวุ้น สกัดดีเอ็นเอ นำดีเอ็นเอไปหาลำดับเบสโดยเทคนิคโคลนนิ่งในพลาสมิดเพื่อออกแบบดีเอ็นเอสายสั้นๆ สำหรับใช้เป็นโมเลกุลเครื่องหมายเพื่อคัดเลือกต้นพริกที่มียีนต้านทานโรค

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2552 - กันยายน 2553 กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กลุ่มวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

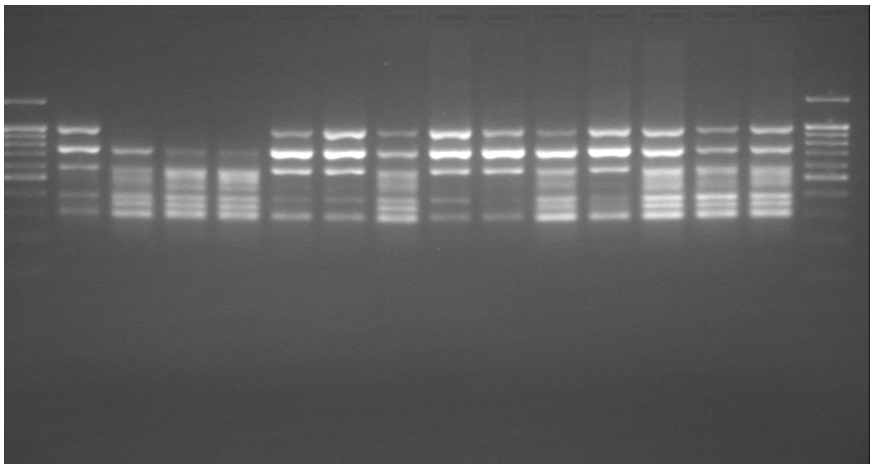
ผลการคำนวณลักษณะถ่ายทอดความต้านทานด้วยกฎของเมนเดลพบว่าลูกผสมชั่วที่ 2 ที่เกิดจาก พริกพันธุ์ PI2301234 เมื่อใช้เป็นพันธุ์พ่อต้านทาน และ พริกพันธุ์ พิจิตร 01 เป็นพันธุ์แม่อ่อนแอ ให้พริกลูกผสมต้านทานต่อลูกผสมอ่อนแอเป็น 10 ต่อ 2 เมื่อนำดีเอ็นเอมาทดสอบด้วย Microsatellite primers จำนวน 260 สายพบว่า หมายเลข Microsatellite primers UBC 836 แสดงสัดส่วนแถบดีเอ็นเอเป็น 10 ต่อ 2 ให้ผลตรงกันกับพริกลูกผสมชั่วที่ 2 ที่แสดงปฏิกิริยาต่อการเกิดโรคลำต้นไหม้ (ภาพที่ 1)

สรุปผลการวิจัยและคำแนะนำ

Microsatellite primers สามารถใช้เป็นโมเลกุลเครื่องหมายได้แต่ยังไม่แม่นยำ จะต้องเลือกแถบดีเอ็นเอที่แสดงความจำเพาะกับลักษณะต้านทานโรคไปหาลำดับเบสและออกแบบดีเอ็นเอตัวตรวจจึงจะให้ผลการตรวจสอบและติดตามลักษณะความต้านทานโรคลำต้นไหม้ที่แม่นยำได้

ภาพที่ 1 ผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของพริกพันธุ์พ่อ (1) แม่ (2) และลูกผสม (3-14) เมื่อใช้ Microsatellite primers UBC 836,

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 M



R s s s R R R R R R R R R R

R : S = 10 : 2

เอกสารอ้างอิง

สุรินทร์ ปิยะโชคคณากุล. 2543. พันธุศาสตร์เบื้องต้น. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์กรุงเทพ.

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

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

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

Robb, J. ; X.Hu; H. Platt and R. Nazar. 1994. PCR – based assays for the detection and quantification of *Verticillium* species in potato, p. 83-90. *In* : Schots, A.; F.M. Dewey and R.Oliver. Modern assays for plant pathogenic fungi : identification, detection and quantification, CAB International. Oxford. Stammler, G. and E. Seemuller, 1994. Detection of *Phytophthora fragariae* var. *rubi* in infected raspberry root by PCR, p. 135-139. *In* :

Schots, A.; F.M. Dewey and R.Oliver. Modern assays for plant pathogenic fungi : identification, detection and quantification, CAB International. Oxford.

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.

สำรวจและรวบรวมวัชพืชในพืชผัก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคกลาง
Survey of Weeds in Vegetable in Northeast and Central Region

ศิริพร ซึงสนธิพร[1] มัตติกา ทองรส[2] ธัญชนก จงรักไทย[1]
[1]กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสุรินทร์ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 4

บทคัดย่อ

การสำรวจวัชพืชในแปลงพืชผัก ในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคกลาง มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความหลากหลายของวัชพืชที่เป็นปัจจุบัน ตั้งแต่ตุลาคม 2550 – กันยายน 2553 โดยสำรวจในพื้นที่ภาคกลาง 11 จังหวัด และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 7 จังหวัด จำนวนทั้งสิ้น 194 แปลงของผัก 43 ชนิด พบวัชพืชทั้งสิ้น 240 ชนิด ใน 164 สกุล ของ 59 วงศ์ วงศ์ที่พบชนิดและความถี่รวมระดับวงศ์มากที่สุดคือ Poaceae หรือวงศ์หญ้า รองลงมาได้แก่ Asteraceae (Compositae) หรือวงศ์ทานตะวัน ส่วนชนิดที่พบบ่อยที่สุดคือ ผักโขม *Amaranthus viridis* L. รองลงไปได้แก่ หญ้าข้าวนก *Echinochloa crus-galli* (L.) Pal. กะเม็ง *Eclipta prostrata* (L.) L. นอกจากนี้พบวัชพืชที่ยังไม่รายงานในประเทศไทย 7 ชนิด ได้แก่ พืชสกุลปอกระเจา *Corchorus* sp. ไม้น้ำวงศ์มณเทียรทอง *Microcarpea minima* วัชพืชวงศ์กันเกรา *Spigelia anthelmia* L. วงศกะเพรา *Basilicum polystachyon* (L.) Moench วงศ์ทานตะวัน *Eleutheranthera ruderalis* (Swartz) Sch.-Bip. และอีกหนึ่งชนิดที่ไม่สามารถระบุสกุลได้ และวงศ์เข็ม *Spermacoce exilis* (L.O.Williams) C.Adams ex W.C.Burger & C.M.Taylor

บทนำ

กิจกรรมและวิธีปฏิบัติในการทำการเกษตร เช่น การใช้ที่ดิน การใช้สารเคมีกำจัดวัชพืช ประกอบกับการคมนาคมที่สะดวกรวดเร็ว ทำให้มีการชักนำพืชจากแหล่งหนึ่งไปสู่อีกแหล่งในเวลาอันสั้น เหล่านี้มีผลทำให้ความหลากหลายของพืชในพื้นที่นั้นๆ เปลี่ยนแปลงไปอย่างรวดเร็ว บางชนิดอาจหายไปจากนิเวศน์นั้น ชนิดพืชเด่นในพื้นที่นั้นอาจเปลี่ยนไป บางชนิดเป็นพืชต่างถิ่นที่ถูกชักนำเข้ามา แต่สามารถปรับตัวเข้ากับสิ่งแวดล้อมได้ดี จนพัฒนากลายเป็นวัชพืช ขณะเดียวกันพืชดั้งเดิมในท้องถิ่นนั้นอาจยังไม่มีการจดบันทึก เนื่องจากการศึกษาด้านความหลากหลายมักทำในพื้นที่ที่ไม่ถูกรบกวนโดยกิจกรรมของมนุษย์ หรือมักทำเป็นกลุ่มเฉพาะ เช่น พืชในวงศ์หรือสกุลที่สนใจ หรือกลุ่มพืชที่ใช้ประโยชน์ในด้านใดด้านหนึ่ง เช่น พืชสมุนไพร พืชผักพื้นเมือง พืชที่ใช้เป็นสีย้อม เป็นต้น นอกจากนี้การศึกษาเกี่ยวกับวัชพืชในอดีต มักมุ่งเน้นการควบคุม เพื่อเพิ่มผลผลิตและลดต้นทุน ความหลากหลายของวัชพืชในพื้นที่การเกษตรจึงถูกละเลย ไม่มีเป็นปัจจุบัน

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-01-13-03-51

ผัก มักเป็นพืชอายุสั้น ให้ผลตอบแทนสูง มีความต้องการทั้งเพื่อการบริโภคภายในประเทศ ส่งออกและแปรรูป มีมูลค่านับหมื่นล้านบาท การผลิตสามารถแบ่งออกได้เป็นสามกลุ่มตามวัตถุประสงค์ คือ ผักสด แปรรูป และเมล็ดพันธุ์ผัก การผลิตมีตั้งแต่เป็นสวนครัวหลังบ้าน จนถึงแปลงขนาดใหญ่เพื่อส่งโรงงานแปรรูป แต่ส่วนใหญ่เป็นการผลิตแบบรายย่อย ซึ่งผักที่ใช้บริโภคเป็นประจำหรือที่รู้จักกันดีในประเทศไทย มีประมาณ 72 ชนิด จัดอยู่ใน 15 วงศ์ ได้แก่ Amaryllidaceae 6 ชนิด ได้แก่ กุยช่าย กระเทียม กระเทียมต้น หอมแดง หอมหัวใหญ่ หอมแบ่ง Apiaceae หรือ Umbelliferae 6 ชนิด (ผักชีจีน ผักชีลาว ผักชีฝรั่ง คื่นช่าย บัวบก แครอท) Araceae (เผือก) Asteraceae หรือ Compositae (ผักกาดหอม ตั้งโอ๋) Brassicaceae หรือ Cruciferae 11 ชนิด (กะหล่ำ คะน้า ผักกวางตุ้ง และผักกาดต่างๆ) Chenopodiaceae (ปวยเล้ง) Convolvulaceae (ผักบุ้ง มันเทศ) Cucurbitaceae 13 ชนิด (แตงโม แตงกวา แตงเทศหรือแคนตาลูป ฟักเขียวหรือแฟง ฟักทอง ตำลึง น้ำเต้า มะระและมะระขี้นก แตงไทย บวบเหลี่ยม บวบงู บวบหอม และฟักแม้ว) Fabaceae / Leguminosae 8 ชนิด (ถั่วฝักยาว ถั่วลันเตากินฝัก ถั่วแขก ถั่วพู ชะอม ผักกระเฉด มันแกว ถั่วเหลืองฝักสด) Labiatae 4 ชนิด (กะเพรา โหระพา แมงลัก สะระแหน่) Liliaceae (หน่อไม้ฝรั่ง) Malvaceae (กระเจี๊ยบเขียว) Poaceae หรือ Graminae 5 ชนิด (ตะไคร้ ข้าวโพดหวาน ข้าวโพดข้าวเหนียว ข้าวโพดฝักอ่อน หน่อไม้ไผ่ตง) Solanaceae 7 ชนิด (พริกขี้หนู พริกยักษ์ พริกหยวก/พริกขี้ฟ้า มะเขือเปราะ มะเขือยาว มะเขือพวง และมันฝรั่ง) และ Zingiberaceae 4 ชนิด (ขิง ข่า ขมิ้น กระชาย) เมล็ดพันธุ์ที่ใช้มีทั้งที่ผลิตในประเทศและนำเข้าจากต่างประเทศ (กมล และคณะ, 2544) ซึ่งยังมิได้รวมถึงผักพื้นบ้านหลายชนิด เช่น ผักแว่น ผักแขยง ผักพาย ผักหวานบ้าน ผักเสี้ยน เป็นต้น

การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทราบความหลากหลายของวัชพืชในพื้นที่การเกษตร เพื่อให้ได้ข้อมูลที่เป็นปัจจุบัน และรวบรวมหลักฐานตัวอย่างพืชที่พบในประเทศไทย เพื่อเป็นฐานข้อมูลสำหรับการสืบค้นในอนาคตต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- การสำรวจได้แก่ แผนที่ สมุดบันทึก กรรไกร ถุงพลาสติก ปากกาเขียนพลาสติก หรือกระดาษป้ายชื่อ และกล้องถ่ายภาพ

- การจัดทำตัวอย่างแห้ง ได้แก่ แผงอัดพรรณไม้สำหรับจัดทำตัวอย่างแห้ง กระดาษฟูก กระดาษซับ ฟองน้ำสำหรับรองตัวอย่าง กระดาษติดตัวอย่างพรรณไม้พร้อมปก พร้อมกระดาษป้ายชื่อ

- สารเคมีสำหรับกันเชื้อราและแมลง ได้แก่ เมทานอล (Methanol) คลอโรฟอร์ม และเมอคิวรี่คลอไรด์ พร้อมเครื่องแก้วต่างๆ ที่จำเป็น

- การตรวจสอบชนิดพืช ได้แก่ แว่นขยายขนาด 10 เท่า กล้อง กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำแบบใช้แสง เข็มเขี่ย ปากคีบ หนังสือคู่มือการจำแนกพรรณไม้ต่างๆ

วิธีการ

สำรวจเฉพาะแปลงผักที่ปลูกเพื่อจำหน่ายเป็นผักสด ในพื้นที่ที่สามารถเข้าถึงโดยรถยนต์ หรืออยู่ในระยะที่สามารถเดินเข้าถึงได้ การสำรวจโดยเดินตามแนวตั้งฉากกับด้านยาวของแปลงอย่างน้อย 3 แนว หากเป็นแปลงขนาดใหญ่เดินตามแนวทแยงมุม จดบันทึกวัชพืชทุกชนิดที่พบ จนกว่าจะไม่พบชนิดใหม่เพิ่มเติม สำหรับวัชพืชที่ไม่สามารถระบุชนิดได้นำตัวอย่างสดมาศึกษารายละเอียดเพิ่มเติม ที่กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร

ทำการสำรวจแปลงผักทุกชนิดที่พบ ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคกลาง ตั้งแต่ กุมภาพันธ์ 2551 – กันยายน 2553

การวิเคราะห์ข้อมูล คำนวณหาความถี่สัมพัทธ์ของวัชพืชแต่ละชนิด จากสูตรดังนี้

ความถี่สัมพัทธ์ของพืช ก. = จำนวนครั้งที่พบพืช กx100 / จำนวนครั้งที่พบพืชทุกชนิดรวมกัน

การตรวจสอบชนิดพืชโดยการเทียบกับตัวอย่างพันธุ์ไม้ในพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพ อาคารพิพิธภัณฑ์พืชสิรินธร กรมวิชาการเกษตร หรือหอพรรณไม้ กรมอุทยาน พรรณพืชและสัตว์ป่า และ/หรือ ตรวจสอบกับเอกสารเกี่ยวกับวัชพืช และพืชพรรณต่างๆ เช่น Flora of Thailand, Weeds of Rice in Indonesia, Common Weeds of Malaysia, Major Weed of Thailand, Weeds in Highland of Northern Thailand, Major Weeds of the Philippines, Common Weeds in Vietnam, Weeds of Soybean Fields in Thailand, Wild Flowers of Japan, Chinese Colored Weed Illustrated Book, Weed Flora of Japan – Illustrated by Colour, Weeds in Australia, Western Weeds, Weeds เป็นต้น

ผลและวิจารณ์ผล

การสำรวจวัชพืชในแปลงผัก ระยะเวลา 3 ปี คือตั้งแต่ กุมภาพันธ์ 2551 – กันยายน 2553 (ตารางผนวกที่ 1) สามารถสำรวจแปลงผักได้ทั้งสิ้น 194 แปลง โดยมีรายละเอียด ดังนี้

ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 86 แปลง ใน 7 จังหวัด ได้แก่

* จังหวัดชัยภูมิ ใน อ.เกษตรสมบูรณ์ อ.ภูเขียว อ.ภักดีชุมพล จำนวน 8 แปลง
* จังหวัดนครพนม ใน อ.ธาตุพนม จำนวน 11 แปลง
* จังหวัดนครราชสีมา ใน อ.หนองบุญมาก อ.ด่านขุนทด จำนวน 3 แปลง
* จังหวัดมุกดาหาร ใน อ.หว้านใหญ่ จำนวน 4 แปลง
* จังหวัดศรีสะเกษ ใน อ.กันทรารักษณ์ อ.ขุขันธ์ อ.วังหิน จำนวน 8 แปลง
* จังหวัดสุรินทร์ ใน อ.สังขะ อ.พนมดงรัก อ.ปราสาท จำนวน20 แปลง
* จังหวัดอุบลราชธานี ใน อ.พิบูลมังสาหาร อ.ตาลสุม อ.วารินชำราบ จำนวน 30 แปลง

ภาคกลาง จำนวน 108 แปลงใน 11 จังหวัด ได้แก่

* จังหวัดกาญจนบุรี ใน อ.ด่านมะขามเตี้ย อ.เมือง อ.ไทรโยค อ.ทองผาภูมิ รวม 31 แปลง
* จังหวัดนครปฐม ใน อ.สามพราน จำนวน 2 แปลง
* จังหวัดนนทบุรี ใน อ.บางบัวทอง อ.ไทรน้อย จำนวน 16 แปลง
* จังหวัดปทุมธานี ใน อ.ลาดหลุมแก้ว อ. อ.สามโคก จำนวน 5 แปลง
* จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ใน อ.เมือง จำนวน 2 แปลง
* จังหวัดปราจีนบุรี ใน อ.บ้านสร้าง จำนวน 1 แปลง
* จังหวัดพระนครศรีอยุธยา ใน อ.มหาราช จำนวน 4 แปลง
* จังหวัดเพชรบุรี ใน อ.เมือง อ.ท่ายาง จำนวน 26 แปลง
* จังหวัดราชบุรี ใน อ.ปากท่อ อ.สวนผึ้ง จำนวน 9 แปลง
* จังหวัดลพบุรี ใน อ.ท่าวุ้น อ.เมือง จำนวน 9 แปลง
* จังหวัดสระบุรี ใน อ.พระพุทธบาท อ.วิหารแดง จำนวน 5 แปลง

พืชผักที่ทำการสำรวจทั้งหมด 43 ชนิด (ตารางผนวกที่ 2) ซึ่งมีทั้งที่เป็นผักที่รู้จักทั่วไป เช่น กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก ผักกาดขาว ผักกวางตุ้ง คะน้า บางชนิดเป็นผักพื้นเมืองในบางสถานะภาพเป็นวัชพืช แต่มีการปลูกเพื่อเป็นการค้า เช่น ผักตำลึง บัวบก ผักแขยง ผักเสี้ยน และพบผักพื้นเมืองชนิดหนึ่งที่ปลูกเฉพาะถิ่น คือ ผักพาย *Butomopsis latifolia* (D.Don) Kunth เป็นสินค้าหลักของตำบลโคกกก ลาง อ.พนมดงรัก จ.สุรินทร์ สภาพแปลงแตกต่างกันตามชนิดผักที่ปลูก เช่น ปลูกในน้ำหรือมีน้ำท่วมขัง ได้แก่ ผักบุ้งแกง กะเฉด ผักพาย ผักแขยง ปลูกในที่ดอน ไม่ต้องมีน้ำท่วมขัง เช่น กะหล่ำ ผักกาด คะน้า พริก แมงลัก โหระพา ปลูกในที่ดอน แต่น้องมีค้าง เช่น แตงกวา มะระจีน ถั่วพู ถั่วฝักยาว ตำลึง นอกจากนี้เกษตรกรในแต่ละพื้นที่ยังมีการปฏิบัติที่แตกต่างกัน เช่น เกษตรกรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ บางแห่งปลูกผักหลังจากเก็บเกี่ยวข้าวแล้ว หรือเป็นพื้นที่นามาก่อน แต่การปลูกผักในจังหวัดปทุมธานีและนนทบุรี สภาพแปลงเป็นร่องสวน เกษตรกรมีอาชีพปลูกผักเพียงอย่างเดียว มีการดูแลแปลงอย่างต่อเนื่อง ชนิดและปริมาณวัชพืชที่พบแตกต่างกันไป นอกจากนี้ระยะเวลาการสำรวจยังมีผลต่อชนิดวัชพืชด้วย เช่นหากเป็นแปลงที่เริ่มปลูกจะพบวัชพืชน้อยทั้งชนิดและปริมาณ แปลงที่เริ่มหรือเก็บเกี่ยวแล้วอาจพบวัชพืชมากทั้งชนิดและปริมาณ

วัชพืชที่พบทั้งสิ้น 240 ชนิด ใน 164 สกุล โดยกระจายอยู่ใน 59 วงศ์ ความถี่หรือจำนวนครั้งที่พบพืชทุกชนิดรวมกันเท่ากับ 2550 ครั้ง วงศ์ที่พบสูงสุดทั้งความหลากหลายมากและความถี่สัมพัทธ์ คือ วงศ์หญ้า Poaceae หรือ Graminae พบทั้งสิ้น 35 ชนิด ใน 23 วงศ์ จำนวน 463 ครั้ง หรือคิดเป็นความถี่สัมพัทธ์ 18.16 หรือร้อยละ 18.16 ของจำนวนที่ครั้งที่พบทั้งหมด รองลงไปได้แก่ วงศ์ทานตะวัน Asteraceae จำนวน 26 ชนิด ใน 22 สกุล ความถี่สัมพัทธ์ 12.31 วงศ์บานไม่รู้โรย Amaranthaceae พบ 11 ชนิด ใน 5 สกุล ความถี่สัมพัทธ์ 8.23 วงศ์กก Cyperaceae พบทั้งสิ้น 16 ชนิด ใน 4 สกุล ความถี่สัมพัทธ์ 7.69 วงศ์ปอผี Fabaceae พบ 19 ชนิด ใน 13 สกุล ความถี่สัมพัทธ์ 6.63 และวงศ์

เปล้า Euphorbiaceae พบ 10 ชนิด ใน 4 สกุล ความถี่สัมพัทธ์ 6.24 นอกนั้นมีความถี่สัมพัทธ์น้อยกว่า 5 (ตารางผนวกที่ 3)

ชนิดวัชพืชที่พบในการสำรวจนี้ ส่วนใหญ่เป็นวัชพืชที่พบทั่วไป (common weed) ในการสำรวจครั้งนี้มิได้มีการบันทึกความหนาแน่น เนื่องจากวัชพืชจะแตกต่างจากศัตรูพืชชนิดอื่น วัชพืชไม่สามารถเคลื่อนย้ายตัวเองได้ แต่เกิดจากเมล็ดวัชพืชที่อยู่ในดิน ซึ่งขึ้นอยู่กับประวัติการใช้ที่ดิน และการปฏิบัติของเกษตรกร เกษตรกรอาจมีการกำจัดวัชพืชโดยใช้สารกำจัดวัชพืชตั้งแต่ขั้นตอนการเตรียมแปลง หรือมีการถอนวัชพืชอ่อนหลังจากหว่านเมล็ดผัก และหากเป็นแปลงที่อยู่ระหว่างการเก็บเกี่ยว หรือเก็บเกี่ยวแล้วก็อาจพบวัชพืชได้มาก ซึ่งแม้แต่ในพื้นที่เดียวกัน การกระจายตัวของวัชพืชชนิดเดียวกัน ก็จะไม่สม่ำเสมอ เช่น บริเวณต้นแปลงที่ใกล้ทางเดินอาจพบวัชพืชน้อย แต่พื้นที่ที่อยู่ห่างออกไป อาจพบวัชพืชหลากหลายมากขึ้นทั้งชนิดและปริมาณเป็นต้น ดังนั้นการสำรวจครั้งนี้ ซึ่งมีจุดประสงค์เพื่อการศึกษาความหลากหลายของวัชพืชเป็นหลัก จึงไม่มีการบันทึกความหนาแน่น แต่บันทึกทุกชนิดที่พบ ไม่ว่าจะมีปริมาณความหนาแน่นเท่าใดก็ตาม

วัชพืชที่พบหรือมีความถี่สูงสุด (4.47 – 1.06) หรือมีค่าความถี่สัมพัทธ์มากกว่า 1 มี 24 ชนิด โดยมีค่าความถี่สัมพัทธ์สูงสุด 4.47 และต่ำสุด 1.06 เรียงจากมากไปน้อยดังนี้ (ตารางผนวกที่ 4) ผักโขม *Amaranthus viridis* L.

หญ้าข้าวนก *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv. กะเม็ง *Eclipta prostrata* (L.) L. หญ้าเกล็ดหอย *Desmodium triflorum* (L.) DC. หญ้านวลจันทร์ *Polytrias indica* (Houtt.) Veldkamp หญ้าแห้วหมู *Cyperus rotundus* L. หญ้าเกล็ดปลา *Phyla nodiflora* Schumach ex Thonn. หญ้ายาง *Euphorbia heterophylla* L. หมอน้อย *Vernonia cinerea* L. แพงพวย *Ludwigia adscendens* (G.Don) Exell ผักเสี้ยน *Cleome gynandra* DC. ผักปลาบนา *Cyanotis axillaris* (L.) Pers. กกช่อดอกขน *Cyperus pilosus* Vahl ผักเบี้ยใหญ่ *Portulaca oleracea* L. พังแหร *Trema* sp. แหน *Lemna minor* (L.) Nees หญ้าดอกขาว *Leptochloa chinensis* (Retz.) Ohwi หญ้าตีนติด *Brachiaria reptans*(L.) C.A.Gardner & C.E.Hubb. สาบแร้งสาบกา *Ageratum conyzoides* L. น้ำนมราชสีห์ *Euphorbia bifida* L. โหมแจ่วนา *Hedyotis diffusa* L. สาบเสือ *Chromolaena odoratum* (L.) R.M.King & H.Rob. หญ้ารังนก *Chloris barbata* Sw. ผักปลาบ *Commelina diffusa* (Retz.) Walker ซึ่งพบถึง 44.78% ของจำนวนครั้งที่พบทั้งหมด มีบางชนิดที่เป็นวัชพืชร้ายแรง (noxious weed) หรือวัชพืชร้ายแรงของโลก (World's Worst Weed, Holm *et al.*, 1977) เช่น หญ้าข้าวนก หญ้าแห้วหมู ผักเบี้ยใหญ่ หญ้ายาง กะเม็ง หญ้าดอกขาว สาบแร้งสาบกา สาบเสือ และผักปลาบ วัชพืชในกลุ่มนี้มีไม่ได้เป็นวัชพืชเด่นในแปลงผักแต่อย่างใด ยกเว้นผักเบี้ยใหญ่ เป็นวัชพืชที่ก่อให้เกิดความเสียหายมากในคะน้า ที่อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี

ผักเสี้ยน (*C. gynandra*) เป็นผักพื้นเมืองชนิดหนึ่ง ในการสำรวจพบเป็นทั้งพืชปลูกและวัชพืช การที่เป็นพืชผักพื้นเมืองด้วย เกษตรไม่กำจัดออก จึงทำให้มีความถี่สูง แต่มีปริมาณไม่มากนักในแต่ละแห่ง

การที่พบแหน ในแปลงผัก เนื่องจากแปลงผักที่เป็นพืชน้ำ เช่น ผักบุ้ง (สำหรับแกง) ผักกะเฉด เป็นพืชที่ปลูกในน้ำ และแปลงผักในพื้นที่จังหวัดนนทบุรีและปทุมธานี ลักษณะเป็นร่องสวน มีน้ำขังในพื้นที่ ซึ่งแหนเป็นไม้น้ำที่พบกระจายทั่วไป และเกษตรบางรายกล่าวว่าผักกะเฉดจะเจริญไม่ดีหากไม่มีแหน นอกจากนี้ในแปลงพริกบางแห่งในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มีน้ำท่วมขัง และพบแหนเช่นกัน จึงพบแหนมากครั้งของการสำรวจทั้งหมด

พังแหร เป็นไม้ยืนต้น พบความถี่สูง เนื่องจากในหลายจังหวัด แปลงผักหลายแห่งมีต้นไม้ใหญ่ล้อมรอบ หรือเป็นไม้เดิมในบริเวณดังกล่าว เกษตรกรจึงไม่ตัดออก อย่างไรก็ตามพืชชนิดนี้ พบทั้งในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคกลาง

สำหรับหมอน้อย เป็นวัชพืชที่เมล็ดขนาดเล็ก มีขนช่วยในการแพร่กระจายโดยลม จึงทำให้พบวัชพืชชนิดนี้ได้ทั่วไป รวมถึงในแปลงผักด้วย แต่ไม่ได้มีรายงานการเป็นวัชพืชร้ายแรงแต่อย่างใด

ส่วนวัชพืชชนิดอื่นๆ ที่มีความถี่สูง เป็นวัชพืชที่กระจายทั่วไป หลายชนิดมีขนาดต้นเล็ก มีความหนาแน่นต่ำ ไม่ก่อให้เกิดผลกระทบต่อผลผลิตมากนัก เช่น โหมแจ่วนา เป็นวัชพืชที่มีขนาดเล็กที่พบทั่วไปทั้งในและนอกพื้นที่การเกษตร ไม่มีรายงานการเป็นวัชพืชร้ายแรงที่ใด หรือที่มีความหนาแน่นสูง เช่นหญ้าเกล็ดหอย (*D. triflorum* (L.) DC.) ในหลายพื้นที่พบขึ้นเป็นกลุ่มใหญ่ แต่มีความสูงน้อยกว่าพืชผัก และมักอยู่ตามขอบแปลง

การพบข้าวในแปลงพืชผัก เนื่องจากในบางแห่งมีการใช้ฟางข้าวเป็นวัสดุคลุมดิน เมล็ดข้าวที่ติดมากับ ฟางข้าว เมื่อได้รับความชื้นจึงงอก และกลายเป็นวัชพืชในพืชผัก เกษตรกรต้องเก็บออก และเช่นเดียวกับพริก ซึ่งมีทั้งที่เป็นพืชปลูก และกลายเป็นวัชพืช แต่มีปริมาณน้อย

ส่วนวัชพืชที่มีค่าความถี่สัมพัทธ์ต่ำกว่า 1 มีทั้งสิ้น 216 ชนิด มีค่าความถี่สัมพัทธ์รวมกันเท่ากับ 55.216 โดยมี 1 ชนิดคือเถาคัน มีความถี่สัมพัทธ์เท่ากับ 0.0983 หรือเท่ากับพบ 25 ครั้งจากจำนวนที่พบพืชทุกชนิดรวมกันเท่ากับ 2550 ครั้ง หรือน้อยกว่า 25 แปลงในการสำรวจ 194 แปลง ในจำนวนนี้มีถึง 36 ชนิดที่พบเพียงครั้งเดียว (ความถี่สัมพัทธ์ = 0.0392) วัชพืชที่มีค่าความถี่สัมพัทธ์สูงแสดงว่าพืชเหล่านั้นมีการกระจายตัวมาก จึงพบได้บ่อย แต่เนื่องจากในพื้นที่การเกษตร เกษตรมีการฉีดพ่นสารกำจัดวัชพืชก่อนปลูกผัก หรือหลังจากปลูกผักแล้วยังมีการกำจัดวัชพืช ด้วยมืออีก ซึ่งการกำจัดด้วยมือที่มีประสิทธิภาพดี ก็จะพบวัชพืชน้อยทั้งชนิดและปริมาณ นอกจากนี้ระยะเวลาที่เข้าสำรวจ หรืออายุของแปลง เพราะหากสำรวจในช่วงที่เก็บเกี่ยวแล้วจะพบวัชพืชมาก หรือในพืชบางชนิด เช่น ดอกคะน้า หรือกะหล่ำดอก เมื่อเริ่มออกดอกแล้ว เกษตรจะไม่กำจัดวัชพืชเลย โดยให้เหตุผลว่า หากเข้าไปกระทบกระเทือนระบบรากของพืช จะทำให้การเกิดดอกไม่ค่อยเกิดปัญหา ดังนั้น

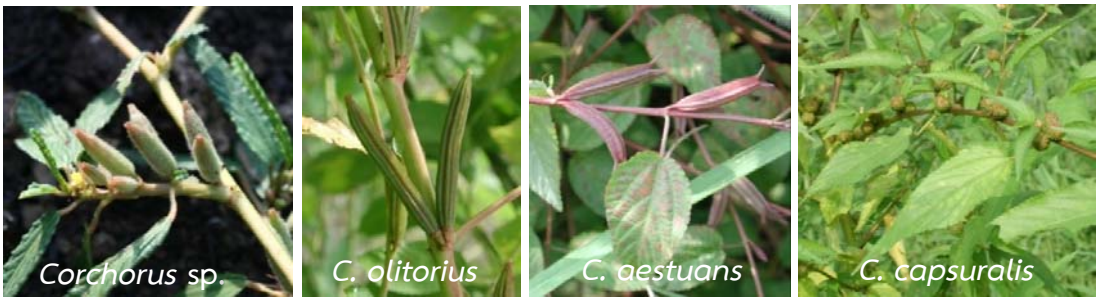
จึงเป็นการระบุได้ยากว่าพืชใดจะเป็นพืชที่มีการระบาดรุนแรง แต่มีแนวโน้มว่าพืชที่พบน้อยอาจเป็นวัชพืชที่ไม่ค่อยมีการกระจายตัว หรือเกษตรกรทำการกำจัดหมดเมื่อพบพืชชนิดนั้น

ในวัชพืชที่พบทั้งหมด 240 ชนิด มี 15 ชนิดที่ระบุได้เพียงระดับสกุล ไม่สามารถระบุชนิดได้ ได้แก่ กะเม็ง *Eclipta* sp. หญ้าหางหมา *Setaria* sp. พังแหร *Trema* sp. ผักโขมหิน *Boerhavia* sp. หนวดปลาดุก *Fimbristylis* sp. ตดหมูตดหมา *Paederia* sp. เงี่ยงน้ำ *Lindernia* sp. บุก *Amophophalus* sp. สะอึก *Merremia* sp. ขี้เหล็ก *Cassia* sp. หญ้าหวาย *Eragrostis* sp. ผักไผ่ *Polygonum* sp. ปอกระเจา*Corchorus* sp. คราดหัวแหวน *Spilanthes* sp. กก *Cyperus* sp. และมีหนึ่งชนิดที่ระบุได้เพียงระดับวงศ์ ไม่สามารถระบุสกุลและชนิดได้ คืออยู่ในวงศ์ทานตะวัน คือ หญ้าหน้าแมว วัชพืชที่กล่าวมาทั้งหมด ส่วนใหญ่อยู่ระหว่างการตรวจสอบชนิด แต่มี 3 ชนิดที่ยังไม่พบรายงานในประเทศไทย ได้แก่

- *Boerhavia sp.* เป็นวัชพืชในกลุ่มผักโขมหิน ที่พบกระจายทั่วไปในภาคกลาง ส่วนมากพบในพืชไร่และนอกพื้นที่การเกษตร แต่มีลักษณะแตกต่างจากพืชในสกุลนี้อย่างชัดเจน (ศิริพร, 2552) แต่ยังไม่สามารถระบุชนิดได้เช่นกัน

- ***Corchorus* sp.** พบในแปลงพริกและผักบุ้ง ที่จังหวัดชัยภูมิ ลำต้นสีแดง แตกแขนงมาก สูงประมาณ 30 ซม. ทรงต้นคล้ายปิรามิด ใบเดี่ยว ออกสลับ ก้านใบยาว ขอบใบหยัก เส้นกลางใบชัดเจน กว้างประมาณ 1-1.5 ซม. ยาว 3-4 ซม. ดอกออกตามซอกใบ กลีบดอกสีเหลือง เกสรเพศผู้ 5 อัน ฝักยาว-กลม มีขนอ่อนปกคลุมตลอด ยาว 1.5-2 ซม. (ภาพที่ 1) ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด เมื่อเทียบกับปออีก 3 ชนิดที่เป็นวัชพืช มีขนาดเล็กกว่ามาก และลักษณะฝักแตกต่างกันอย่างชัดเจน (ภาพที่ 2)

ภาพที่ 1 ลักษณะต้น ใบ ดอก และผลของ *Corchorus* sp.



ภาพที่ 2 ลักษณะผลของ Corchorus sp. เทียบกับ ปอฝักกลม (*C. olitorius*) ปอวัชพืช (*C. aestuans*) และ ปอกระเจา (*C. capsuralis*)

- **หญ้าหน้าแมว** เป็นวัชพืชประเภทใบกว้าง พบในแปลงผักคะน้า อ.บ้านหมอ และ อ.พระพุทธบาท จังหวัดสระบุรี วัชพืชประเภทใบกว้าง สูงประมาณ 30-60 ซม.ลำต้นแตกแขนงจำนวนมาก ใบเดี่ยว ออกสลับ ขอบใบเป็นคลื่น ปลายใบมน ฐานใบสอบ ดอกออกที่ปลาย และซอกใบ ดอกเป็นดอกช่อ สีชมพู-ม่วง (ภาพที่ 3) ซึ่งขณะนี้อยู่ระหว่างการตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์

ภาพที่ 3 ลักษณะต้น ใบ และช่อดอกหญ้าหน้าแมว

นอกจากนี้ยังมีวัชพืชอีก 4 ชนิด ที่ไม่พบเอกสารรายงานในประเทศไทย ได้แก่

***Basilicum polystachyon* (L.) Moench** เป็นวัชพืชประเภทใบกว้าง อยู่ในวงศ์กะเพรา พบในแปลงผักหลายถั่วฝักยาว และมะระจีน ใน อ.ปากท่อ จ.ราชบุรี ลักษณะคล้ายกะเพรา (ภาพที่ 4) วัชพืชชนิดนี้มีรายงานเป็นวัชพืชในนาข้าวของอินโดเนเซีย (Soerjani, *et al*, 1987)

ภาพที่ 4 ลักษณะใบและช่อดอกของ *B. polystachyon* (L.) Moench

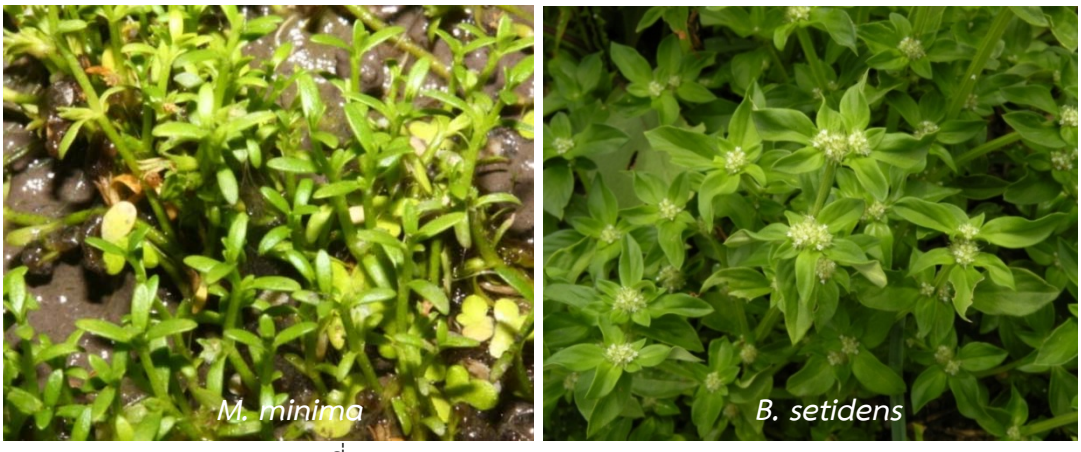
***Eleutheranthera ruderalis* (Swartz) Sch.-Bip.** เป็นวัชพืชประเภทใบกว้าง อยู่ในวงศ์ทานตะวัน หรือ Asteraceae (ภาพที่ 5) พบกระจายทั่วไปทั้งในพื้นที่การเกษตร และนอกพื้นที่การเกษตร ในการสำรวจนี้พบในหลายจังหวัด เช่น พระนครศรีอยุธยา กาญจนบุรี เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ อุบลราชธานี หรือแม้แต่กรุงเทพมหานคร วัชพืชชนิดนี้หากดูผิวเผิน อาจคล้ายกับผักแครด *Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn. จึงสับสนในการระบุชื่อพืชชนิดนี้ (Harada *et al*., 1996)

ภาพที่ 5 ลักษณะใบและช่อดอกของ *E. ruderalis* (Swartz) Sch.Bip.

Microcarpea minima เป็นวัชพืชประเภทใบกว้าง จัดอยู่ในวงศ์ Scrophulariaceae ที่มีขนาดเล็กมาก (ภาพที่ 6) ความสูงของต้นขึ้นกับระดับความสูงของน้ำ ใบเรียว ยาวประมาณ 3-5 มม. กว้างประมาณ 1 มม. ดอกสีขาว เกิดตามซอกใบ ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด พบระบาดในแปลงผักพาย ที่

บ้านสระแต้ว ต.โคกกกลาง อ.พนมดงรัก จ.สุรินทร์ เกษตรกรแจ้งว่าเป็นปัญหาต่อการปลูกผักพายมากที่สุด พืชชนิดนี้บางแห่งใช้เป็นไม้น้ำในตู้ปลา พบในญี่ปุ่น (Satake *et al*., 1981)

***Borreria setidens* Ridl**. วัชพืชประเภทใบกว้าง ในวงศ์ Rubiaceae (ภาพที่ 6) พบในแปลงผัก อำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี ไม่พบเอกสารเกี่ยวกับพืชชนิดนี้ในประเทศไทย แต่พบมีรายงานในเวียดนาม (Suk Jin Koo, *et al*., 2005)



ภาพที่ 6 *M. minima* และ *B. setidens* Ridl.

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษานี้ทำให้พบว่ามีวัชพืช หลายชนิดที่ยังไม่มีรายงาน และยังไม่มีการการศึกษาถึงวิธีการป้องกันกำจัด ทั้งที่พบว่ามีการกระจายตัวค่อนข้างมาก (จากค่าความถี่สัมพัทธ์) บางชนิดยังมีการกระจายตัวในพื้นที่แคบ เพิ่งพบเพียงจุดเดียว เช่น *Spigelia anthelmia* L. หรือ *Corchorus* sp. ดังนั้นข้อมูลเหล่านี้ จึงสามารถใช้ปรับปรุงฐานข้อมูลศัตรูพืช (วัชพืช) ให้มีความถูกต้องและเป็นปัจจุบันมากขึ้น พร้อมทั้งสามารถตรวจสอบได้จากตัวอย่างแห้ง ซึ่งนำมาเก็บไว้ที่กลุ่มวิจัยวัชพืช และยังสามารถใช้ข้อมูลเหล่านี้ เพื่อเป็นแนวทางในการศึกษา เลือกชนิดวัชพืช เพื่อการป้องกัน – กำจัดก่อนที่จะระบาดจนกลายเป็นปัญหาได้

เอกสารอ้างอิง

กมล เลิศรัตน์ อรสา ดิสถาพร สุชีลา เตชะวงศ์เสถียร และวีระ ภาคอุทัย. 2544. รายงานการประมวลองค์ความรู้เรื่อง ผักในประเทศไทย: สถานภาพของการผลิต การตลาด และการวิจัย. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) กรุงเทพฯ 190 หน้า.

Harada, J., Shibayama, H., and Morita, H. 1996. *Weeds in the Tropics.* Association for International Cooperation of Agriculture & Forestry, Japan. Sanbi Printing. 1996. 304p.

Holm, L., Plucknett, D.L., Pancho, J.V.and Herberger, J.P. *The World's Worst Weeds ; Distribution and Biology.* The East-West Center by the University press of Hawaii, Honolulu. 1977. 609p.

Satake, Y., Ohwi, J., Kitamura, S., Watari, S. and Tominari, T. 1985. Wild Flowers of Japan. . Heibonsha. Japan.

Soerjani M., A.J.G.H.Kostermans and G. Tjitrosoepomo. 1987. Weeds of Rice in Indonesia. Balai Pustaka. Jakarta. 716p.

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 ช่วงระยะเวลา พื้นที่ และชนิดผักที่ทำการสำรวจ

วันที่	**พื้นที่สำรวจ**	**ชนิดพืชผัก**
11 มี.ค. 2551	อ.ไทรน้อย จ.นนทบุรี	กระเจี๊ยบ กะเพรา ผักกาดหอม ผักบุ้งแกง ผักบุ้งจีน มะระจีน
12 มี.ค. 2551	อ.บางบัวทอง จ.นนทบุรี	กวางตุ้ง คะน้า ผักกาดหัว ผักชี คื่นช่าย แมงลัก โหระพา กะเพรา
12 มี.ค. 2551	อ.ลาดหลุมแก้ว จ.ปทุมธานี	ผักกาดหอม ฟัก
13 มี.ค. 2551	อ.พระพุทธบาท จ.สระบุรี	คะน้า มะเขือเปราะ กะเพราแดง พริก ตะไคร้ แมงลัก (ผักปลอดสารพิษ)
22-25 เม.ย. 2551	อ.สังขละ อ.เมือง อ.ไทรโยค อ.ทองผาภูมิ อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี	ถั่วฝักยาว คะน้า แตงไทยอ่อน มะเขือยาว มะระจีน ผักกาดเขียว โหระพา
8 ก.ค. 2551	อ.พิบูลมังสาหาร จ.อุบลราชธานี	ถั่วฝักยาว น้ำเต้า บวบหอม ผักบุ้ง ผักหวาน พริกขี้หนู มะเขือม่วง แมงลัก โหระพา
10 ก.ค. 2551	อ.หว้านใหญ่ จ.มุกดาหาร	ผักกวางตุ้ง
10 ก.ค. 2551	อ.ธาตุพนม จ.นครพนม	ผักกวางตุ้ง ผักกาดเขียว ผักกาดหอมผักคะน้า ผักชี ผักชีลาว ผักชีหอม ผักบุ้ง ผักบุ้งจีน พริกยำ หอมแบ่ง โหระพา
1 ต.ค. 2551	อ.ปากท่อ จ.ราชบุรี	กระเจี๊ยบเขียว ถั่วฝักยาว บวบงู มะเขือเจ้าพระยา มะระจีน
2 ต.ค. 2551	อ.ด่านมะขามเตี้ย จ.กาญจนบุรี	กวางตุ้ง กะหล่ำปลีหน่อไม้ฝรั่ง คะน้า คื่นช่าย ถั่วแขก ถั่วพู ผักกาดขาว ผักชี กู่ช่าย พริกขี้หนู สะระแหน่ หอมแบ่ง
2 ต.ค. 2551	อ.สวนผึ้ง จ.ราชบุรี	แตงกวา ถั่วแขก
22 ต.ค. 2551	อ.บ้านสร้าง จ.ปราจีนบุรี	แฟง-ฟัก
14 ม.ค. 2552	อ.เมือง จ.เพชรบุรี	ฟักทอง บวบเหลี่ยม
11-12 ก.พ. 2552	อ.ท่าวุ้ง อ.เมือง จ.ลพบุรี	ชะอม กะเพราแดง ตำลึง
11 มี.ค. 2552	อ.สังขละ จ.สุรินทร์	กะหล่ำดอก คะน้า คื่นช่าย ถั่วฝักยาว ผักกาดขวา ผักชี ผักเสี้ยน พริก
11 มี.ค. 2552	อ.วังหิน จ.ศรีสะเกษ	พริก
12 มี.ค. 2552	อ.ตาลสุม อ.วารินชำราบ จ.อุบลราชธานี	คื่นช่าย แตงร้าน ถั่วผักยาว บัวบก ผักแขยง ผักชีลาว พริก

วันที่	พื้นที่สำรวจ	ชนิดพืชผัก
13 มี.ค. 2552	อ.กันทรารักษณ์ จ.ศรีสะเกษ	แตงร้าน
2 เม.ย. 2552	อ.มหาราช จ.พระนครศรีอยุธยา	กระเจี๊ยบเขียว ถั่วฝักยาว พริกขี้ฟ้า
1 มิ.ย. 2552	อ.ท่ายาง จ.เพชรบุรี	กวางตุ้ง กะหล่ำดอก กระเจี๊ยบเขียว ผักชี
10 มิ.ย. 2552	อ.สามโคก จ.ปทุมธานี	กะเพรา ผักกะเฉด แมงลัก
10 มิ.ย. 2552	อ.วิหารแดง จ.สระบุรี	ชะอม แตงกวา ถั่วฝักยาว ผักติ้ว มะระจีน
17 ส.ค. 2552	อ.หนองบุญมาก จ.นครราชสีมา	แตงร้าน
18 ส.ค. 2552	อ.พนมดงรัก จ.สุรินทร์	ผักพาย
19 ส.ค. 2552	อ.ด่านขุนทด จ.นครราชสีมา	พริกขี้หนู
24 ก.ย. 2552	อ.ท่ายาง จ.เพชรบุรี	กะหล่ำดอก ถั่วฝักยาว มะเขือเปราะ บวบหอม ผักชี
24 ก.ย. 2552	อ.เมือง จ.ประจวบคีรีขันธ์	แตง พริกขี้หนู
29 พ.ย. 2552	อ.ปราสาท จ.สุรินทร์	ผักกาดขาว คะน้า กวางตุ้ง ผักกาดหอม ผักชีฝรั่ง แมงลัก
30 พ.ย. 2552	อ.ด่านขุนทด จ.นครราชสีมา	แตง
4 มี.ค. 2553	อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี	ผักชี คื่นช่าย กวางตุ้ง เผือก พริกขี้ฟ้า
1 ก.ค. 2553	อ.สามพราน จ.นครปฐม	น้ำเต้า บวบหอม
28 ก.ค. 2553	อ.ภักดีชุมพล จ.ชัยภูมิ	แตงกวา
29 ก.ค. 2553	อ.เกษตรสมบูรณ์ จ.ชัยภูมิ	ผักบุ้ง พริก มะเขือเทศ
30 ก.ค. 2553	อ.ภูเขียว จ.ชัยภูมิ	ถั่วฝักยาว มะเขือเปราะ

ตารางผนวกที่ 2. จำนวนแปลงของพืชผักแต่ละชนิดที่สำรวจในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคกลาง

	พืชผัก	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	ภาคกลาง	รวม
1	กระเจี๊ยบ		4	4
2	กวางตุ้ง	2	6	8
3	กะเฉด		1	1
4	กะเพรา		3	3
5	กะหล่ำดอก	6	13	19
6	กะหล่ำปลี		2	2
7	กาดขาว	4	2	6
8	กาดหอม	2	1	3
9	กาดหัว		1	1
10	คะน้า	6	10	16
11	คื่นช่าย	2	1	3
12	ชะอม		7	7
13	ตำลึง		2	2

	พืชผัก	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	ภาคกลาง	รวม
14	แตงกวา/แตงร้าน	9	4	13
15	ถั่วแขก		3	3
16	ถั่วฝักยาว	4	7	11
17	ถั่วพู		1	1
18	น้ำเต้า	1	1	2
19	บวบงู		1	1
20	บวบหอม	1	2	3
21	บวบเหลี่ยม		1	1
22	บัวบก	4		4
23	ผักแขยง	3		3
24	ผักชี	3	6	9
25	ผักชีฝรั่ง	1		1
26	ผักชีลาว	2		2
27	ผักติ้ว		1	1
28	ผักบุ้ง	5	3	8
29	ผักพาย	5		5
30	ผักเสี้ยน	2		2
31	ผักหวาน	1		1
32	เผือก		2	2
33	พริก	13	6	19
34	ฟักทอง		1	1
35	ฟัก-แฟง		2	2
36	มะเขือ	1	2	3
37	มะเขือเทศ	1		1
38	มะเขือยาว	1	3	4
39	มะระจีน		4	4
40	แมงลัก	2	2	4
41	สะระแหน่		1	1
42	หอมแบ่ง	1	2	3
43	โหระพา	2	2	4
	รวม	**84**	**110**	**194**

ตารางผนวกที่ 3 จำนวนสกุล และชนิด และความถี่สัมพันธ์รวมของแต่ละวงศ์ของวัชพืชที่สำรวจพบ

Family	Number of genus	Number of species	Relative frequency
Poaceae วงศ์หญ้า	23	35	18.1569
Asteraceae วงศ์ทานตะวัน	22	26	12.3137
Amaranthaceae วงศ์บานไม่รู้โรย	5	11	8.2353
Cyperaceae วงศ์กก	4	16	7.6863
Fabaceae วงศ์ปอผี	13	19	6.6275
Euphorbiaceae วงศ์เปล้า	4	10	6.2353
Commelinaceae วงศ์ผักปลาบ	3	4	3.2157
Rubiaceae วงศ์เข็ม	7	12	3.1765
Capparaceae วงศ์กุ่ม	1	3	3.0196
Convolvulaceae วงศ์ผักบุ้ง	4	10	2.7059
Onagraceae วงศ์พญารากดำ	2	2	2.2353
Scrophulariaceae วงศ์มณเฑียรทอง	5	9	2.1176
Verbenaceae วงศ์ไม้สัก	2	2	2.0784
Malvaceae วงศ์ชบา	5	6	2.0000
Portulacaeae วงศ์ผักเบี้ย	2	3	1.6863
Lemnaceae วงศ์แหน	2	2	1.6471
Ulmaceae วงศ์พังแหร	1	1	1.4902
Cucurbitaceae วงศ์ฟักแฟง	3	3	1.3333
Tiliaceae วงศ์ตะขบฝรั่ง	2	5	1.0588
Vitaceae วงศ์องุ่น	1	1	0.9804
Molluginaceae วงศ์สีเสียด	2	4	0.9412
Zygophyllaceae วงศ์โคกกระสุน	1	1	0.9020
Nyctaginaceae วงศ์บานเย็น	1	3	0.8627
Lythraceae วงศ์ตะแบก	2	2	0.7843
Salviniaceae วงศ์จอกหูหนู	1	1	0.6667
Marsileaceae วงศ์ผักแว่น	1	1	0.6275
Acanthaceae วงศ์เหงือกปลาหมอ	3	3	0.5882
Moraceae วงศ์มะเดื่อ	1	1	0.5882
Labiatae วงศ์กะเพรา	2	4	0.5490

Family	Number of genus	Number of species	Relative frequency
Pieraceae วงศ์ผักกระสัง	1	1	0.5490
Equisetaceae วงศ์หญ้าถอดปล้อง	1	1	0.4706
Boraginaceae วงศ์หญ้างวงช้าง	2	2	0.4314
Oxalidaceae วงศ์กระทืบยอด	1	1	0.3137
Polygonaceae วงศ์ผักไผ่	2	3	0.3137
Solanaceae วงศ์มะเขือ	3	3	0.3137
Apocynaceae วงศ์ตีนเป็ด	1	1	0.2745
Dennstaedtiaceae วงศ์กูกเกียะ	1	1	0.2745
Hypericaceae วงศ์กะเพรา	1	1	0.2745
Nymphaeaceae วงศ์บัว	2	2	0.2745
Sterculiaceae วงศ์ไม้สำโรง	2	2	0.2745
Araceae วงศ์บุก	3	3	0.1961
Sphenocleaceae วงศ์ผักปอด	1	1	0.1961
Caryophyllaceae วงศ์คาร์เนชั่น	2	2	0.1569
Costaceae วงศ์เอื้องหมายนา	1	1	0.1569
Passifloraceae วงศ์กระทกรก	1	1	0.1569
Aizoaceae วงศ์ผักเบี้ยทะเล	1	1	0.1176
Pontederiaceae วงศ์ผักตบ	1	1	0.1176
Azollaceae วงศ์แหนแดง	1	1	0.0784
Basellaceae วงศ์ผักปลัง	1	1	0.0784
Parkeriaceae วงศ์เฟิร์นก้านดำ	1	1	0.0784
Urticaceae วงศ์กะลังตังช้าง	1	1	0.0784
Apiaceae วงศ์ผักชี	1	1	0.0392
Brassicaceae วงศ์ผักกาด	1	1	0.0392
Hydrophyllaceae วงศ์บัวทอง	1	1	0.0392
Limnocharitaceae วงศ์บอนจีน	1	1	0.0392
Loganiaceae วงศ์กันเกรา	1	1	0.0392
Nephrolepidaceae วงศ์เฟิร์นใบมะขาม	1	1	0.0392
Sapindaceae วงศ์คอแลน	1	1	0.0392
Xyridaceae วงศ์กระถินทุ่ง	1	1	0.0392
รวม 59 วงศ์	164 สกุล	240 ชนิด	100.00

ตารางผนวกที่ 4 ชนิดวัชพืชและความถี่ที่พบในแปลงผักภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคกลาง

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อไทย	วงศ์	ความถี่สัมพัทธ์	%แปลงที่พบ
Amaranthus viridis L.	ผักขมหัด ผักหม ผักขม ผักโขม	Amaranthaceae	4.4671	58.763
Echinochloa crus-galli (L.) Pal.	หญ้าปล้องละมาน หญ้าข้าวนก หญ้าข้าวนกสีชมพู หญ้าลิเก	Poaceae	3.1348	41.237
Eclipta prostrata (L.) L.	กะเม็ง กะเม็งตัวเมีย คัดเม็ง บังกีเช้า หญ้าสับ ฮ่อมเกี่ยว	Asteraceae	3.0956	40.722
Desmodium triflorum (L.) DC.	หญ้าเกล็ดหอย	Fabaceae	2.9389	38.660
Polytrias indica (Houtt.) Veldkamp	หญ้านวลจันทร์	Poaceae	2.2727	29.897
Cyperus rotundus L.	หญ้าแห้วหมู หญ้าขนหมู หญ้ามะนิ่งหมู	Cyperaceae	2.0376	26.804
Phyla nodiflora (L.) Greene	หญ้าเกล็ดปลา	Verbenaceae	1.9984	26.289
Euphorbia heterophylla L.	หญ้ายาง ใบต่างดอก ลูกเขยตายแม่ยายทำศพ	Euphorbiaceae	1.9592	25.773
Vernonia cinerea (L.) Less.	หมอน้อย ก้านธูป เซียวซัวเฮา ถั่วแฮะดิน ฝรั่งโคก เสือสามขา หญ้าดอกขาว หญ้าละออง หญ้าสามวัน	Asteraceae	1.9201	25.258
Ludwigia adscendens (L.) H. Hara	แพงพวย ผักปอดน้ำ ผักพังพวย	Onagraceae	1.8809	24.742
Cleome gynandra L.	ผักเสี้ยน	Capparaceae	1.6850	22.165
Cyanotis axillaris Roem. & Schult.	ผักปลาบนา กินกุ้งหลวง ผักปลาบ หญ้าพอผดเหล็ก	Commelinaceae	1.6850	22.165
Cyperus pilosus Vahl	กกช่อดอกขน	Cyperaceae	1.5282	20.103
Portulaca oleracea L.	ผักเบี้ยใหญ่ ผักตาโค้ง ผักเบี้ยดอกเหลือง ผักอีหลู	Portulacaeae	1.4890	19.588
Trema sp.	พังแหร	Ulmaceae	1.4890	19.588
Lemna minor L.	แหน	Lemnaceae	1.4498	19.072
Leptochloa chinensis (L.) Nees	หญ้าดอกขาว หญ้าเม็ดงา หญ้ายอนหู หญ้ายางคง	Poaceae	1.4498	19.072
Brachiaria reptans(L.) C.A.Gardner & C.E.Hubb.	หญ้าต้นติด หญ้าผักไก หญ้าตีนติด	Poaceae	1.3715	18.041
Ageratum conyzoides L.	สาบแร้งสาบกา ตับเสือเล็ก เทียมแม่ฮาง หญ้าสาบแฮ้ง หญ้าสาบแร้ง	Asteraceae	1.2539	16.495
Euphorbia bifida Hook. & Arn.	น้ำนมราชสีห์	Euphorbiaceae	1.1755	15.464
Hedyotis diffusa Willd.	โหมแจ่วนา	Rubiaceae	1.1755	15.464
Chromolaena odoratum (L.) R.M.King & H.Rob.	สาบเสือ ยี่สุ่นเถื่อน ซิโพกวย ไช้ปู่กอ เซโพกวย บ่อโส่ เพาะจีแค บ้านร้าง ผักคราด เบญจมาศ ฝรั่งรุกที่	Asteraceae	1.1364	14.948
Chloris barbata Sw.	หญ้ารังนก	Poaceae	1.0972	14.433
Commelina diffusa Burm.f.	ผักปลาบ	Commelinaceae	1.0580	13.918
Columellia trifolia Merr.	เถาคันแดง กิ่งปาน	Vitaceae	0.9804	12.887
Euphorbia serpens Kunth	น้ำนมราชสีห์เล็ก	Euphorbiaceae	0.9013	11.856
Tribulus terrestris L.	หนามกระสุน โคกกระสุน	Zygophyllaceae	0.9013	11.856

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อไทย	วงศ์	ความถี่สัมพัทธ์	%แปลงที่พบ
Alternanthera sessilis (L.) DC.	ผักเป็ดไทย ผักเป็ด ผักเป็ดขาว เปรี้ยวแดง	Amaranthaceae	0.8621	11.34
Cleome viscosa L.	ผักเสี้ยนผี ผักส้มเสี้ยนผี	Capparaceae	0.8621	11.34
Gymnopetalum integrifolium (Roxb.) Kurz	ขี้กาแดง ขี้กาขาว แตงโมป่า มะกาดิน ขี้กาดิน แตงผี	Cucurbitaceae	0.8621	11.34
Cyperus imbricatus Retz.	กก กกสามเหลี่ยม กกสามเหลี่ยมเล็ก	Cyperaceae	0.8621	11.34
Digitaria adscendens Henry	หญ้าตีนนก	Poaceae	0.8229	10.825
Tridax procumbens L.	ตีนตุ๊กแก	Asteraceae	0.7837	10.309
Aeschynomene americana L.	โสนเขา โสนดอน โสนบก	Fabaceae	0.7837	10.309
Malachra capitata (L.) L.		Malvaceae	0.7837	10.309
Operculina turpethum (L.) Silva Manso	จิงจ้อเหลี่ยม จิงจ้อแดง	Convolvulaceae	0.7445	9.7938
Fimbristylis miliacea (L.) Vahl	หญ้ารัดเขียด หญ้าหนวดปลาดุก หนวดแมว	Cyperaceae	0.7445	9.7938
Phyllanthus virgatus G. Forst	ขางอำไพ แพงคำห้อย ลูกใต้ใบ	Euphorbiaceae	0.7445	9.7938
Mimosa diplotricha C. Wright ex Sauvalle	ไมยราบขาว ไมยราบหนาม ไมยราบเลื้อย	Fabaceae	0.7053	9.2784
Mazus pumilus (Buem.f.) Steenis		Scrophulariaceae	0.7053	9.2784
Salvinia cucullata Roxb. Ex Bory	จอกหูหนู	Salviniaceae	0.6661	8.7629
Gomphrena celosioides Mart.	บานไม่รู้โรยป่า	Amaranthaceae	0.6270	8.2474
**Eleutheranthera ruderalis* (Swartz) Sch.-Bip.	-	Asteraceae	0.6270	8.2474
Marsilea crenata C. Presl	ผักแว่น ผักลิ้นปี่ หนูเต๊าะ	Marsileaceae	0.6270	8.2474
Digitaria sanguinalis (L.) Scop	หญ้าตีนนก	Poaceae	0.6270	8.2474
Echinochloa colona (L.) Link	หญ้าข้าวนก หญ้ากับแก หญ้านกเขา หญ้าปล้องนก หญ้าปล้อง หญ้านกสีชมพู หญ้าต้นแก	Poaceae	0.6270	8.2474
Mitracarpus villosus (Cham. & Schltr.) A. DC.	หญ้าจุกขาว	Rubiaceae	0.6270	8.2474
Amaranthus spinosus L.	ผักขมหนาม แม่ล้อดู่ หมั่งลั้งดุ่ ปะตี กะเหม่อลอมี ผักโหมหนาม ผักโขมหนาม	Amaranthaceae	0.5878	7.732
Mikania micrantha H.B.K.	ขี้ไก่ย่าน	Asteraceae	0.5878	7.732
Ipomoea aquatic Forssk.	ผักบุ้ง กำจร ผักทอดยาว โหนเตาะ	Convolvulaceae	0.5878	7.732
Streblus ilicifolius (Vidal) Corner	ข่อย	Moraceae	0.5878	7.732
Rottboellia exaltata L.f.	หญ้าโปร่งคาย หญ้ากอ หญ้าโขย่ง	Poaceae	0.5878	7.732
Alternanthera paronichyoides	ผักเป็ด	Amaranthaceae	0.5486	7.2165

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อไทย	วงศ์	ความถี่สัมพัทธ์	%แปลงที่พบ
St.Hil.				
Amaranthus lividus L.	ผักขม กะเหม่อลอเดอ ผักโหม ผักโหมเกลี้ยง	Amaranthaceae	0.5486	7.2165
Conyza sumatrensis L.	จ้อล่อ	Asteraceae	0.5486	7.2165
Cyperus cyperoides (L.) Kuntze	หญ้ารังกา กกหางกระรอก กกสามเหลี่ยม	Cyperaceae	0.5486	7.2165
Euphorbia hirta L.	น้ำนมราชสีห์ นมราชสีห์ ผักโขมแดง หญ้าน้ำหมึก หญ้าหลังอึ่ง	Euphorbiaceae	0.5486	7.2165
Boerhavia erecta L.	ผักขมหิน หญ้าหนวดแมว ผักโขมหิน	Nyctaginaceae	0.5486	7.2165
Peperomia pellucida (L.) Humb., Bonpl. & Kunth	ผักกระสัง	Pieraceae	0.5486	7.2165
Brachiaria ruziziensis R.Germsin & C.M.Evrard	หญ้ารูซี่	Poaceae	0.5486	7.2165
Eleusine indica (L.) Gaertn.	หญ้าตีนกา เยอคุม หญ้าปากควาย หญ้าตีนนก หญ้าปากคอก หญ้าผากควาย	Poaceae	0.5486	7.2165
Xanthium strumarium L.	กระชับ ขี้ครอก เกี๋ยงนา มะขะนัดน้ำ ขี้อ้น ขี้อ้นดอน ขี้อ้นน้ำ หญ้าผมยุ่ง	Asteraceae	0.5094	6.701
Glinus oppositifolius (L.) A.DC.	ผักขวง สะเดาดิน ผักขี้ขวง	Molluginaceae	0.5094	6.701
Corchorus aestuans L.	กระเจานา ขัดมอญตัวผู้ ปอวัชพืช	Tiliaceae	0.5094	6.701
Cleome rutidosperma DC.	ผักเสี้ยนขน ผักเสี้ยนผี	Capparaceae	0.4702	6.1856
Equisetum debile Roxb. ex Vaucher	หญ้าถอดปล้อง	Equisetaceae	0.4702	6.1856
Panicum cambogiense Balansa	หญ้ากุศลรา หญ้าดอกขาว	Poaceae	0.4702	6.1856
Scoparia dulcis L.	กระต่ายจามใหญ่ กัญชาป่า มะไฟเดือนห้า ขัดมอนเทศ ขัดมอนเล็ก หนวดแมว ข้างไลดุ ตานซาน เทียนนา ปีกแมงวัน หญ้าจ้าดตุ๊ด หญ้าหัวแมงฮุน หญ้าพ่ำสามวัน หูปลาช่อนตัวผู้	Scrophulariaceae	0.4702	6.1856
Commelina benghalensis L.	ฝักปลาบ	Commelinaceae	0.4310	5.6701
Evolvulus nummularius (L.) L.	ใบต่างเหรียญ	Convolvulaceae	0.4310	5.6701
Indigofera hirsuta L.	คราม ขน	Fabaceae	0.4310	5.6701
Rotala indica (Willd.) Koehne	ห้วยชินสี	Lythraceae	0.4310	5.6701
Dactyloctenium aegyptium (L.) P.Beauv.	หญ้าปากควาย หญ้าปากกล้วย	Poaceae	0.4310	5.6701
Leptochloa panicea (Retz.) Ohwi	หญ้านก	Poaceae	0.4310	5.6701
Malvastrum coromandelianum Presl		Malvaceae	0.3918	5.1546
Ruellia tuberosa L.	ต้อยติ่ง อังกาบฝรั่ง	Acanthaceae	0.3527	4.6392
Eclipta sp.	กะเม็ง (ใบขน)	Asteraceae	0.3527	4.6392

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อไทย	วงศ์	ความถี่สัมพัทธ์	%แปลงที่พบ
Heliotropium indicum L.	หญ้างวงช้าง กุนอกาโม ผักแพวขาว หญ้างวงช้างน้อย	Boraginaceae	0.3527	4.6392
Actinoscirpus grossus (L.f.) Goetgh & D.A.Simpson	กก กกตะกลับ กกตาแดง กกปรือ กกสามเหลี่ยม กกคมบาง มะนิ่ว มะเนี่ยว แห้วกระดาน แห้วหิน	Cyperaceae	0.3527	4.6392
Cyperus iria L.	หญ้ารังกาขาว กกหัวแดง หญ้าหัวแดง หญ้ากกทราย หญ้ากกเล็ก ฮังกาขาว	Cyperaceae	0.3527	4.6392
Ammannia baccifera L.	มะไฟนกคุ่ม มะไฟนา สะเดานา หญ้ารักนา แก้วรักนา	Lythraceae	0.3527	4.6392
Ludwigia hyssopifolia (G.Don) Exell	เทียนนา ผักกาดรอ	Onagraceae	0.3527	4.6392
Brachiaria mutica (Forssk.) Stapf	หญ้าขน	Poaceae	0.3527	4.6392
Chloris pycnothrix Trin.	-	Poaceae	0.3527	4.6392
Cynodon dactylon (L.) Pers.	หญ้าแพรก หนอเก่เด หญ้าแผด	Poaceae	0.3527	4.6392
Paspalum scrobiculatum L.	หญ้านมหนอน หญ้าเห็บ	Poaceae	0.3527	4.6392
Setaria sp.	หญ้าหางหมา	Poaceae	0.3527	4.6392
Corchorus olitorius L.	ปอฝักกลม	Tiliaceae	0.3527	4.6392
Cyperus compactus Retz.	หญ้าใบคม	Cyperaceae	0.3135	4.1237
Phyllanthus amarus Schumach & Thonn.	ลูกใต้ใบ มะขามป้อมดิน หญ้าใต้ใบขาว	Euphorbiaceae	0.3135	4.1237
Phaseolus lathyroides L.f.	ถั่วผี	Fabaceae	0.3135	4.1237
Oxalis latifolia H.B.K.	-	Oxalidaceae	0.3135	4.1237
Ichnocarpus frutescens (L.) W.T. Aiton.	เครือปราสง	Apocynaceae	0.2743	3.6082
Praxelis clematidea R.M. King & H. Rob.	หญ้าสาบ หญ้าสาบดอกม่วง	Asteraceae	0.2743	3.6082
Coccinia grandis (L.) Voigt	ผักตำลึง แคเด๊าะ ผักแคบ	Cucurbitaceae	0.2743	3.6082
Pteridium aquilinum (L.) Kuhn	โชนใหญ่ กูดเกี๊ยะ โชน หญ้ารังไก่ ลือซัน ลือแซบือซา	Dennstaedtiaceae	0.2743	3.6082
Leucaena leucocephala (Lam.) de Wit	กระถิน กระถินไทย กระถินบ้าน กระถินยักษ์ กะเส็ดโคก กะเส็ดบก ตอเบา สะตอเทศ สะตอเบา ผักก้านถิน ผักหนองบก	Fabaceae	0.2743	3.6082
Hypericum japonica Poit.	ละอองทอง	Hypericaceae	0.2743	3.6082
Abutilon hirtum (Lam.) Sweet	ครอบจักรวาล ครอบ สารข้าวเปลือก ครอบศรี ตบตาบ มะก่องข้าว แอบข้าว	Malvaceae	0.2743	3.6082
Sida cordifolia L.	หญ้าขัดใบป้อม ตานทราย	Malvaceae	0.2743	3.6082
Glinus lotoides (L.) A.DC.	เบี้ยเขียว	Molluginaceae	0.2743	3.6082
Acrachne racemosa (Heyne ex Roth) Ohwi	หญ้าตีนกา หญ้ายอนหู หญ้าตีนมือตุ๊ดตู่ หญ้าตีนมือกัก	Poaceae	0.2743	3.6082
Cenchrus echinata L.	หญ้าบุ้ง	Poaceae	0.2743	3.6082
Hedyotis corymbosa (L.) Lam	หญ้าลิ้นงู	Rubiaceae	0.2743	3.6082

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อไทย	วงศ์	ความถี่สัมพัทธ์	%แปลงที่พบ
Merremia hederacea (Burm.f.) Hallier f.	เถาสะอึก ฉะอึก มะอึก	Convolvulaceae	0.2351	3.0928
Acalypha indica L.	ตำแยแมว ตำแยตัวผู้ หานแมว	Euphorbiaceae	0.2351	3.0928
Alysicarpus vaginalis (L.) DC.	ถั่วลิสงนา	Fabaceae	0.2351	3.0928
Boerhavia sp.	โขมหินเลื้อย	Nyctaginaceae	0.2351	3.0928
Nymphoides indicum (L.) Kuntze	ตับเต่าใหญ่ บัวบา บา ผักเต่าใหญ่ อีบา ผักเต่า ผักนองม้า อีแปะภู	Nymphaeaceae	0.2351	3.0928
Melochia corchorifolia L.	เซ่งใบมน	Sterculiaceae	0.2351	3.0928
Dicliptera chinensis Nees	ผักโขมลาย	Acanthaceae	0.1959	2.5773
Ipomoea triloba L.	หญ้าดอกขน	Convolvulaceae	0.1959	2.5773
Momordica charantia L.	มะระขี้นก มะระ ผักเหย ผักไห มะร้อยรู มะห่อย มะไห่ สุพะซู	Cucurbitaceae	0.1959	2.5773
Cyperus difformis L.	กกขนาก กกกระหนาก	Cyperaceae	0.1959	2.5773
Cyperus distans L.f.	ดอกฝอย สีน้ำตาล	Cyperaceae	0.1959	2.5773
Fimbristylis sp.		Cyperaceae	0.1959	2.5773
Phyllanthus urinaria L.	หญ้าใต้ใบ ไฟเดือนห้า มะขามป้อมดิน หมากไข่หลัง	Euphorbiaceae	0.1959	2.5773
Hyptis capitata Jacq.		Labiatae	0.1959	2.5773
Spirodela polyrrhiza (L.) Schleid.	แหนดอกใหญ่	Lemnaceae	0.1959	2.5773
Digitaria ciliaris (Retz.) Koel.	หญ้าปล้องข้าวนก หญ้าตีนนก	Poaceae	0.1959	2.5773
Polygonum nepalense Meissn.		Polygonaceae	0.1959	2.5773
Spermacoce latifolia Aubl.	กระดุมใบใหญ่ หญ้าเขมรใหญ่	Rubiaceae	0.1959	2.5773
**Microcarpea minima* (K.D. Konig) Merr.		Scrophulariaceae	0.1959	2.5773
Sphenoclea zeylanica Gaertn.	ผักปอด ผักกุ่มป่า ผักปุ่มป่า ผักปุ่มปลา ผักปอดนา	Sphenocleaceae	0.1959	2.5773
Achyranthes aspera L.	พันงู ควยงู หญ้าตีนงูขาว หญ้าพันงูขาว	Amaranthaceae	0.1567	2.0619
Digera muricata (L.) Mart.	หญ้าอีหนาว	Amaranthaceae	0.1567	2.0619
Eupatorium adenophorum Spreng.	สาบหมา	Asteraceae	0.1567	2.0619
Spilanthes acmella (L.) Murr.	ผักแครดหัวแหวนเล็ก	Asteraceae	0.1567	2.0619
Synedrella nodiflora (L.) Gaertn.	ผักแครด สับกา หญ้าขี้หมา	Asteraceae	0.1567	2.0619
Ipomoea obscura (L.) Ker Gawl.	สะอึก โตวะ	Convolvulaceae	0.1567	2.0619
Merremia emarginata (Burm.f.) Hallier f.	สะอึกเกล็ดหอย ฉะอึก	Convolvulaceae	0.1567	2.0619
Costus speciosus (Koen.) Sm	เอื้องหมายนา	Costaceae	0.1567	2.0619
Sesbania javanica Miq.	โสนกินดอก ผักฮองแฮง สีปรีหลา โสนหิน	Fabaceae	0.1567	2.0619

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อไทย	วงศ์	ความถี่สัมพัทธ์	%แปลงที่พบ
Hyptis suaveolens (L.) Poit.	แมงลักคา การา แมงลักป่า	Labiatae	0.1567	2.0619
Sida acuta Burm.f.	หญ้าขัดใบยาว นาคุ้ยหมี่ เน่าะคุ้ยเหม่ เน่าะเค้ะ หน่อคี้ยแหม่ ยุงกวาด ยุงปัด หญ้าขัดมอน หญ้าข้อ	Malvaceae	0.1567	2.0619
Passiflora foetida L.	กะทกรก รก กระโปรงทอง เครือขนตาช้าง ตำลึงฝรั่ง เถาเงาะ เถาสิงโต ผักขี้หิด ผักแคบฝรั่ง เยี่ยววัว ละพุบาบี หญ้าถลกบาต หญ้ารกช้าง ตำลึงทอง	Passifloraceae	0.1567	2.0619
Axonopus compressus (Sw.) Beauv.	หญ้าปากควาย หญ้ามาเลเซีย	Poaceae	0.1567	2.0619
Imperata cylindrica (L.) P. Beauv.	หญ้าคา เก้อฮี ลาลาง ลาแล	Poaceae	0.1567	2.0619
Borreria laevicaulis (Miq.) Ridl	หญ้าลูกข้าว	Rubiaceae	0.1567	2.0619
Paederia linearis Hook.f.	ตดหมูตดหมา	Rubiaceae	0.1567	2.0619
**Spermacoce exilis* (L.O.Williams) C.Adams		Rubiaceae	0.1567	2.0619
Spermacoce laevis Roxb.	หญ้าเขมร หญ้าเขมรเล็ก กระดุมใบใหญ่ กระดุมใบเล็ก	Rubiaceae	0.1567	2.0619
Lindernia ciliata (Colsm.) Pennell	ผักหอมฮ่อป่า เงี่ยงปลา ผักกูดภู ผักอีแฮ ผักกะร่อน หญ้าเงี่ยงป่า	Scrophulariaceae	0.1567	2.0619
		Scrophulariaceae	0.1567	2.0619
Solanum trilobatum L.	มะแว้งเครือ	Solanaceae	0.1567	2.0619
Trianthema portulacastrum L.	ผักเบี้ยหิน ผักโขมหิน	Aizoaceae	0.1176	1.5464
Alternanthera pungens Kunth	โคกกระสุนเล็ก	Amaranthaceae	0.1176	1.5464
Crassocephalum crepidioides (Benth.) S. Moore	ผักกาดช้าง ขี้งัว ผักกาดขมุ ผักเผ็ดช้าง ผักกาดง่อง ผักเป็ดน้ำ หญ้าคออ่อน ผักเผ็ดแม้ว หญ้าต้นงอ ผักขี้โว ผักห่าน หญ้าดอกขาว หญ้าดอกคำ ลำพาสี	Asteraceae	0.1176	1.5464
Sphaeranthus africanus L.	หญ้าค้อนกลอง การบรู ผักคราดหัวแหวน ระงับ สาบแร้ง สุแบ	Asteraceae	0.1176	1.5464
Drymaria diandra Blume	เกล็ดหอย เกล็ดปลา ผักแว่นโคก ผักแว่นดอย หญ้าตานทราย หญ้าตานหอย หนู่เต๊าะโพ	Caryophyllaceae	0.1176	1.5464
Fuirena ciliaris (L.) Roxb.	ก้ามกุ้ง หญ้าคมบางกลม	Cyperaceae	0.1176	1.5464
Aeschynomene aspera L.	โสนคางคก โสนหางไก่ใหญ่	Fabaceae	0.1176	1.5464
Mimosa pudica L.	หญ้าปันยอด กระทืบยอด หนามหญ้าราบ กะหงับ ก้านของนาหมื่อม้ะ ไมยราบ ระงับ หงับพระพาย หญ้าจิยอบ	Fabaceae	0.1176	1.5464
Sesbania sesban (L.) Merr.	โสนต้นเขียวดอกเล็ก	Fabaceae	0.1176	1.5464
**Basilicum polystachyon* (L.) Moench	-	Labiatae	0.1176	1.5464
Mollugo pentaphylla L.	หญ้าไข่เหา สร้อยนกเขา หญ้าตีนนก หญ้านกเขา	Molluginaceae	0.1176	1.5464
Cynodon nlemfuensis	หญ้าหวาย	Poaceae	0.1176	1.5464

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อไทย	วงศ์	ความถี่สัมพัทธ์	%แปลงที่พบ
Vanderyst				
Digitaria sp.	หญ้าตีนนก	Poaceae	0.1176	1.5464
Leersia hexandra Sw.	หญ้าไทร หญ้าคมบาง หญ้าทราย หญ้าไซ	Poaceae	0.1176	1.5464
Paspalum conjugatum Berg	หญ้านมหนอน หญ้าเห็บ	Poaceae	0.1176	1.5464
Monochoria vaginalis (Burm.f.) C. Presl ex Kunth	ผักเขียด ขาเขียด นิลบล ผักเป็ด ผักเผ็ด ผักริ้น ผักหิน ผักฮี้น ผักฮี้นน้ำ	Pontederiaceae	0.1176	1.5464
Portulaca quadrifida L.	ผักเบี้ยหนู บานเที่ยง ผักเบี้ยเล็ก	Portulacaeae	0.1176	1.5464
Paederia sp.	ตดหมูตดหมา	Rubiaceae	0.1176	1.5464
Lindenbergia phillippensis (Cham.) Benth.	หญ้าน้ำดับไฟ	Scrophulariaceae	0.1176	1.5464
Lindernia crustacean (L.) F. Muell.	หญ้ากาบหอยตัวเมีย ตะขาบไต่ดิน โตะตีแก่กัง หญ้ามันลิง อูบีกะลิง	Scrophulariaceae	0.1176	1.5464
Lindernia sp. (L.) H.Hara		Scrophulariaceae	0.1176	1.5464
Alternanthera philoxeroides (Mart.) Griseb.	ผักเป็ดน้ำ ผักเป็ด	Amaranthaceae	0.0784	1.0309
Amaranthus hybridus L.	ผักขมดอกเขียว	Amaranthaceae	0.0784	1.0309
Amorphophallus sp.	บุก	Araceae	0.0784	1.0309
Typhonium trilobatum (L.) Schott	อุตพิด มะโหรา	Araceae	0.0784	1.0309
Bidens pilosa L. var pilosa	ปืนนกไส้ กี่นกไส้ หญ้าก้นจ้ำขาว ก้นจ้ำ	Asteraceae	0.0784	1.0309
Bidens pilosa var. radiata Sch. Bip.	ก้นจ้ำขาวดอกใหญ่ เชียงรายเดซี่ ดาวกระจายใต้หวัน	Asteraceae	0.0784	1.0309
Emilia sonchifolia (L.) DC.	หูปลาช่อน	Asteraceae	0.0784	1.0309
Galinsoga parviflora Cav.	ทหารกล้า	Asteraceae	0.0784	1.0309
Siegesbeckia orientalis L.	สะพ้านก๊น ก้นจ้ำน้อย หญ้าผมยุ่ง หญ้าเยี่ยวหมู	Asteraceae	0.0784	1.0309
Azolla pinnata R.Br.	แหนแดง	Azollaceae	0.0784	1.0309
Basella alba L.	ปลังแดง	Basellaceae	0.0784	1.0309
Coldenia procumbens L.	ดอกขาว ใบหยัก	Boraginaceae	0.0784	1.0309
Ipomoea pes-tigridis (L.) R.Br.	ขยุ้มตีนหมา	Convolvulaceae	0.0784	1.0309
Merremia sp.		Convolvulaceae	0.0784	1.0309
Cyperus brevifolius (Rottb.) Hassk	กกตุ้มหู	Cyperaceae	0.0784	1.0309
Cyperus haspan L.	กกนา กกแดง	Cyperaceae	0.0784	1.0309
Chrozophora rottleri (Geiseler) A.Juss. ex Spreng.	มะพร้าวห้าว	Euphorbiaceae	0.0784	1.0309
Phyllanthus reticulatus Poir.	กระออง ก้างปลาขาว ก้างปลาแดง ข่าคล่อง ต่าคะโค่คีย สะ	Euphorbiaceae	0.0784	1.0309

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อไทย	วงศ์	ความถี่สัมพัทธ์	%แปลงที่พบ
	แบรที หมัดคำ หมาเยี่ยว อำอ้าย ก้างปลาเครือ			
Aeschynomene indica L.	โสนหางไก่ โสนหางไก่เล็ก โสนหิน	Fabaceae	0.0784	1.0309
Cassia sp.		Fabaceae	0.0784	1.0309
Centrosema pubescens Benth.	อัญชันป่า ถั่วลาย ถั่วสะแดด	Fabaceae	0.0784	1.0309
Hyptis brevipes Poit.	ฉัตรพระอินทร์	Labiatae	0.0784	1.0309
Boerhavia diffusa L.	ผักขมหิน นังกู่แช ผักปังแป ผักเบี้ยหิน ผักขมฟ้า ผักปิ่งดิน ผักโขมหิน ผักปังดิน	Nyctaginaceae	0.0784	1.0309
Ceratopteris thalictroides (L.) Brongn.	ผักกูดน้ำ	Parkeriaceae	0.0784	1.0309
Eragrostis sp.		Poaceae	0.0784	1.0309
Ischaemum barbatum Retz.	หญ้าหวาย หญ้ายอนหู หญ้าหางค่าง หญ้าแดง หญ้าหวายแดง หญ้ากระดูกไก่ หญ้าก้านธูป	Poaceae	0.0784	1.0309
Panicum repens Burm.f.	หญ้าซันกาด แขมมัน หญ้าอ้อน้อย หญ้าซันอากาศ	Poaceae	0.0784	1.0309
Pennisetum polystachyon (L.) Korth.	หญ้าขจรจบ หญ้าขจรจบดอกเล็ก หญ้าคอมมูนิสต์ หญ้าพม่า	Poaceae	0.0784	1.0309
Polygonum sp.		Polygonaceae	0.0784	1.0309
Talinum sp.	โสมรากดำ	Portulacaeae	0.0784	1.0309
Hedyotis pterita Blume	พงพดเขา	Rubiaceae	0.0784	1.0309
Torenia fournieri Lind ex E.Fourn.	แววมยุรา	Scrophulariaceae	0.0784	1.0309
Capsicum frutescens L.	พริกขี้หนู	Solanaceae	0.0784	1.0309
Physalis minima L.	หญ้าต้อมต้อก เตงหลั่งเช้า โทงเทง ปุงปิง หญ้าถงแถง	Solanaceae	0.0784	1.0309
Corchorus capsularis L.	ปอกระเจา ปอเส้ง เส้ง	Tiliaceae	0.0784	1.0309
**Corchorus sp.*		Tiliaceae	0.0784	1.0309
Laportea bulbifera (Siebol & Zucc.) Wedd.	ตำแย ลังตังช้าง	Urticaceae	0.0784	1.0309
Lantana camara (Siebol & Zucc.) Wedd.	ผกากรอง ก้ามกุ้ง เบญจมาศป่า ขะจาย ตาปู ขี้กา คำขี้ไก่ ดอกไม้จีน เบ็งละมาศ สาบแร้ง ไม้จีน ยี่สุ่น สามสิบหญ้าสาบแร้ง	Verbenaceae	0.0784	1.0309
Asystasia gangetica (L.) T.Anderson	บาหยา	Acanthaceae	0.0392	0.5155
Centella asiatica (L.) Urb.	บัวบก	Apiaceae	0.0392	0.5155
Pistia stratiotes L.	จอก กากอก ผักกอก	Araceae	0.0392	0.5155
Gnaphalium purpureum L.	-	Asteraceae	0.0392	0.5155
Laggera pterodonta (DC.) Sch. Bip. ex Sweet	หนาดดอย หนาดเหลี่ยม	Asteraceae	0.0392	0.5155
Spilanthes sp.		Asteraceae	0.0392	0.5155

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อไทย	วงศ์	ความถี่สัมพัทธ์	%แปลงที่พบ
Thysanolaena maxima Kuntze	ตองกง	Asteraceae	0.0392	0.5155
*	หญ้าหน้าแมว	Asteraceae	0.0392	0.5155
Rorippa indica (L.) Hiern	ผักกาดน้ำดอกเหลือง	Brassicaceae	0.0392	0.5155
Stellaria aquatic (L.) Scop.	-	Caryophyllaceae	0.0392	0.5155
Floscopa scandens Lour.	ผักปลาบช้าง	Commelinaceae	0.0392	0.5155
Ipomoea maxima L.	สะอึกดอกขาว จิ้งโจ้	Convolvulaceae	0.0392	0.5155
Cyperus sp.	กก	Cyperaceae	0.0392	0.5155
Fimbristylis dichotoma (L.) Vahl	หญ้านิ้วหนูขนนุ่ม	Cyperaceae	0.0392	0.5155
Arachis pintoi cv. Amarillo	ถั่วปินโต ลิสงเถา ถั่วอมาริลโล	Fabaceae	0.0392	0.5155
Crotalaria juncea L.	ปอเทือง	Fabaceae	0.0392	0.5155
Phaseolus atropurpureus Moc. et Sesse ex DC.	ถั่วผีเลื้อย	Fabaceae	0.0392	0.5155
Senna tora (L.) Roxb.	ชุมเห็ดไทย กิเกีย หน่อปะหน่าเหน่อ ชุมเห็ดควาย ชุดเห็ดเล็ก พรมดาน ลับมือน้อย หญ้าลืมลืน ผักเค็ด	Fabaceae	0.0392	0.5155
Hydrolea zeylanica (L.) Vahl	ปอผี สะเดาหิน ทับทิมนา ทับทิมคลี ดีปลาไหล	Hydrophyllaceae	0.0392	0.5155
Limnocharis flava (L.) Buchenau	ตาลปัตรฤาษี บอนจีน นางกวัก บัวลอย	Limnocharitaceae	0.0392	0.5155
**Spigelia anthelmia* L.		Loganiaceae	0.0392	0.5155
Abelmoschus moschatus Medik.	ชะมดต้น ฝ้ายผี เทียนชะมด ปอฝ้าย	Malvaceae	0.0392	0.5155
Glinus unknown Mart.	ดอกขาวใบละเอียด - อุบล	Molluginaceae	0.0392	0.5155
Nephrolepis hirsutula (G. Forest.) C. Presl	เฟิร์นใบมะขามเล็ก	Nephrolepidaceae	0.0392	0.5155
Nymphaea lotus L.	จงกลนี บัวกินสาย บัวขม บัวแดง สายบัว บัวขี้แพะ บัวจงกลนี สัตตบรรณ สัตตบุษย์ ปริก ป้าน ป้านแดง	Nymphaeaceae	0.0392	0.5155
Chrysopogon aciculatus (Retz.) Trin.	หญ้าเจ้าชู้ หญ้ากล่อน หญ้าขี้ครอก หญ้านกคุ่ม หญ้าก่อน หญ้ากะเตรย หญ้าขี้เตรย	Poaceae	0.0392	0.5155
Oryza sativa L.	ข้าว	Poaceae	0.0392	0.5155
Setaria verticillata (L.) P.Beavu.	หญ้าหางกระรอก Poaceae เป็นพวง	Poaceae	0.0392	0.5155
Rumex crispus L.	ผักกาดส้ม พะปลอ	Polygonaceae	0.0392	0.5155
Dentella repnes (L.) J.R. & G.Forst		Rubiaceae	0.0392	0.5155
Richardia brasiliensis Gomes	หญ้าท่าพระ น้ำนม	Rubiaceae	0.0392	0.5155
Cardiospermum halicacabum L.	โคกกระออม	Sapindaceae	0.0392	0.5155
Waltheria americana L.	หญ้าหัวนกเค้า ตานทราย	Sterculiaceae	0.0392	0.5155

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อไทย	วงศ์	ความถี่สัมพัทธ์	%แปลงที่พบ
Muntingia calabura L.	ตะขบฝรั่ง	Tiliaceae	0.0392	0.5155
Xyris indica L.	กระถินนา กระถินทุ่ง	Xyridaceae	0.0392	0.5155
รวม	240 ชนิด		100.00	1314.43

* ชนิดที่ยังไม่พบเอกสารรายงานในประเทศไทย

เอกสารที่ใช้ในการตรวจสอบชนิดวัชพืช

ก่องกานดา ชยามฤต และนันท์นภัส ภัทรหิรัญไตรสิน. 2551. ลักษณะประจำวงศ์พรรณไม้ 3. กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. กรุงเทพฯ 90 หน้า.

ก่องกานดา ชยามฤต. 2548. ลักษณะประจำวงศ์พรรณไม้. กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. กรุงเทพฯ 113 หน้า.

ก่องกานดา ชยามฤต. 2549. ลักษณะประจำวงศ์พรรณไม้ 2. กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช. อรุณการพิมพ์. กรุงเทพฯ 88 หน้า.

คริสเตียน พุฟ, ก่องกานดา ชยามฤต และวรดลย์ แจ่มจำรูญ. 2548. พืชวงศ์เข็มของประเทศไทย คู่มือภาพสกุลที่พบในประเทศและสกุลที่นำเข้ามาปลูก พร้อมคำบรรยายประกอบ. สำนักหอพรรณไม้ กรมอุทยานแห่งชาติสัตว์ป่าและพันธุ์พืช. บริษัทประชาชน จำกัด. 245 หน้า.

ทักษิณ อาชวาคม สมัย เวครบุรี ลัวใส สมสูง และฤทัยวรรณ รินไทสง. 2551. พืชกินได้ในป่าสะแกราช เล่ม 1. หจก. พิมพ์พินิจ การพิมพ์. 207 หน้า.

ทักษิณ อาชวาคม สมัย เวครบุรี ลัวใส สมสูง และฤทัยวรรณ รินไทสง. 2552. พืชกินได้ในป่าสะแกราช เล่ม 2. หจก. พิมพ์พินิจ การพิมพ์. 1987 หน้า.

ปัญญา ติดมา. 2552. พรรณไม้ ภูฝอยลม. สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช. ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย 112 หน้า.

ไพฑูรย์ กิตติพงษ์. 2530. ไมยราบยักษ์และการควบคุม. งานวิทยาการวัชพืช กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร 45หน้า.

ภาควิชาเภสัชพฤกษศาสตร์. 2539. สมุนไพรสวนสิรีรุกขชาติ. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. อมรินทร์พริ้นติ้ง แอนด์ พับลิชชิ่ง. 257 หน้า.

มูลนิธิมหาวิทยาลัยมหิดล. 2543. สารานุกรมสมุนไพร เล่มที่ 4: กกยาอีสาน. อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด (มหาชน). 266หน้า.

เมธินี ดาฤมาศสวัสดิ์ 2549. พรรณไม้ห้วยทราย จังหวัดเพชรบุรี. สำนักหอพรรณไม้. สำนักหอพรรณไม้ กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช. ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย 221 หน้า.

ยุทธนา ธนาสินทรัพย์. 2541. พรรณไม้ป่าเมืองไทย. สทรีท พริ้นติ้ง จำกัด. กรุงเทพฯ128 หน้า

ราชบัณฑิตยสถาน. 2547. อนุกรมวิธานพืช อักษร ข. หจก.อรุณการพิมพ์. กรุงเทพฯ. 263หน้า.

ราชบัณฑิตยสถาน. 2547. อนุกรมวิธานพืช อักษร ก. (พิมพ์ครั้งที่ 2) หจก.อรุณการพิมพ์. กรุงเทพฯ. 524 หน้า.

วงศ์สถิตย์ ฉั่วกุล, พร้อมจิต ศรลัมพ์, และสมภพ ประธานธุรารักษ์. 2543. สารานุกรมสมุนไพร เล่ม2 สยามไภษัชยพฤกษ์. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. อมรินทร์พริ้นติ้ง แอนด์ พับลิชชิ่ง. 255 หน้า.

วงศ์สถิตย์ ฉั่วกุล, พร้อมจิต ศรลัมพ์, วิชิต เปานิล และ รุ่งระวี เต็มศิริฤกษ์กุล. 2539. สมุนไพรพื้นบ้านล้านนา. ภาควิชาเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์ พับลิชชิ่ง.264 หน้า.

วีระชัย ณ นคร (บรรณาธิการ). 2539. สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ เล่ม 3. องค์การสวนพฤกษศาสตร์ สำนักนายกรัฐมนตรี. โอ เอส พริ้นติ้งเฮ้าส์. กรุงเทพฯ หน้า.

วีระชัย ณ นคร (บรรณาธิการ). 2545. พรรณไม้น้ำบึงบอระเพ็ด. องค์การสวนพฤกษศาสตร์ สำนักนายกรัฐมนตรี. โอ เอส พริ้นติ้งเฮ้าส์. กรุงเทพฯ 132 หน้า.

วีระชัย ณ นคร (บรรณาธิการ). 2537. สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ เล่ม 1. องค์การสวนพฤกษศาสตร์ สำนักนายกรัฐมนตรี. โอ เอส พริ้นติ้งเฮ้าส์. กรุงเทพฯ 115 หน้า.

วีระชัย ณ นคร (บรรณาธิการ). 2538. สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ เล่ม 2. องค์การสวนพฤกษศาสตร์ สำนักนายกรัฐมนตรี. โอ เอส พริ้นติ้งเฮ้าส์. กรุงเทพฯ. 153 หน้า.

วีระชัย ณ นคร (บรรณาธิการ). 2544. สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ เล่ม 4. องค์การสวนพฤกษศาสตร์ สำนักนายกรัฐมนตรี. โอ เอส พริ้นติ้งเฮ้าส์. กรุงเทพฯ 154 หน้า.

วีระชัย ณ นคร (บรรณาธิการ). 2544. สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ เล่ม 5 พิมพ์ครั้งที่2. องค์การสวนพฤกษศาสตร์ สำนักนายกรัฐมนตรี. โอ เอส พริ้นติ้งเฮ้าส์. กรุงเทพฯ 205 หน้า.

สมจิตร พงศ์พงัน และสุภาพ ภู่ประเสริฐ. 2534. พืชกินได้และพืชมีพิษในป่าเมืองไทย. สมาคมวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทยในพระบรมราชูปถัมภ์. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. กทม. 176หน้า.

สมาคมวิทยาการวัชพืชแห่งประเทศไทย. คู่มือการควบคุมวัชพืช นาข้าว ข้าวโพด ถั่วเหลืองและถั่วเขียว อ้อย สับปะรด พืชผัก ปาล์มน้ำมัน ยางพารา สวนผลไม้. เจริญรัฐการพิมพ์ กทม. 83 หน้า.

สมาคมวิทยาการวัชพืชแห่งประเทศไทย. 2545. วัชพืชสามัญภาคกลาง. ฟันนี่พับบลิชชิ่ง. 135 หน้า.

สุชาดา ศรีเพ็ญ, คุณหญิง. 2542. พรรณไม้น้ำในประเทศไทย. อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง. 312 หน้า.

สุรชัย มัจฉาชีพ. 2538. วัชพืชในประเทศไทย. สำนักพิมพ์แพร่พิทยา. 200 หน้า.

อุไร จิรมงคลการ. 2547. ผักพื้นบ้าน 1. อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด (มหาชน). กรุงเทพฯ 223 หน้า

อุไร จิรมงคลการ. 2547. ผักพื้นบ้าน 2. อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด (มหาชน). กรุงเทพฯ 223 หน้า

Auld, B.A. and Medd, R.W. 2002. Weeds An Illustrated botanical guide to the weeds of Australia. Inkata Press. Australia. 255p.

C. Erichsen-Brown. 1979. Medicinal and other Uses of North American Plants : a Historical Survey with Special Reference to the Eastern Indian Tribes. Dover Publication, Inc. New York 512p.

Cheung Siu-cheong and Li Ning-hon. 1985. Chinese Medicinal herbs of Hong Kong. Vol.4. Chinese Medical Research Institute. Hong Kong. 220p.

Cheung Siu-cheong and Li Ning-hon. 1986. Chinese Medicinal herbs of Hong Kong. Vol.5. Chinese Medical Research Institute. Hong Kong. 286p.

Cheung Siu-Cheong. and Li Ning-hon. 1980. Chinese Medicinal herbs of Hong Kong. Vol.1. Chinese Medical Research Institute. Hong Kong. 216p.

Cheung Siu-Cheong. and Li Ning-hon. 1984. Chinese Medicinal herbs of Hong Kong. Vol.2. Chinese Medical Research Institute. Hong Kong. 219p.

D.E. Barnes and L.G. Chan. 1990. Common Weeds of Malaysia and their Control. Percetakan Seasons Sdn. 349p.

Ditomaso, J.M. and E.A. Healy. 2003. Aquatic and riparian Weeds of the West. University of California. 442p.

Ermert, S. and L. Clapp. 2001. Gardener's Companion to Weeds. 2nd ed. Kyodo Printing, Singapore. 240p.

Foo Tok Shiew and Tan Bee Hong. 2002. A Guide to the Wildflowers of Singapore. Singapore Science Centre. Singapore. 160p.

Harada, J., Y. Paisooksantivatana, and S. Zungsontiporn. 1987. Project Manual no.3 Weeds in the Highlands of Northern Thailand: illustrated by color. National Weed Science Research Institute Project. Japan International Cooperation Agency and Department of Agriculture, Ministry of Agriculture and Cooperatives. Thailand. Mass Medias. 1987. 126p.

Harada, J., H. Shibayama, and H. Morita. 1996. *Weeds in the Tropics.* Association for International Cooperation of Agriculture & Forestry, Japan. Sanbi Printing. 304p.

Haslam, S.M. River plants: 1978. The macrophytic vegetation of watercourses. Cambridge University Press. London. 396p.

Hobbs, R.J. and Humphries, S.E. 1995. An Integrated Approach to the Ecology and Management of Plant Invasions. Conservation Biology: 9-4 p761-770.

Holm, L., J.V. Pancho , J.P. Herberger. and D.L. Plucknett. 1979. *A Geographical Atlas of World Weeds.* John Wiley & Sons, New York. 391p.

Holm, L., D.L. Plucknett, J.V. Pancho,.and J.P. Herberger, J.P. 1977. *The World's Worst Weeds ; Distribution and Biology.* The East-West Center by the University press of Hawaii, Honolulu. 609p.

Hussey, B.M.J., G.J. Keighery, J. Dodd, S.G. Lloyd, and P.D. Cousens. 2007. Western Weeds 2nd ed. A guide to the weeds of Western Australia. Scott Print, perth. 294p.

Lamp, C. and F. Collet. 2002. Field Guide to Weeds in Australia 3rd ed. Inkata Press. Sydney.

M. Numata and N. yoshizawa. 1975. Weed flora of Japan Illustrated by Colour. Zenkoku Noson Kyoiku Kyokai. Japan. 416p.

Maxwell, J.F.. 2006. Vascular Flora of Ko Hong Hill, songkla Province, Thailand. Thai Studies inBiodiversity No.6. Urai Graphics, Nontaburi. Thailand. 472pp.

Na Songkhla, B. and C. Khumwasi. 1993. The Study on Ten Genera of Convolvulaceae in Thailand. Thai Forest Bulletin (Botany) 20:1-92.

Noda, K., M. Teerawatsakul, C. Prakongvongs, and L. Chaiwiratnukul, L. 1994. *Project Manual no.1 Major Weeds in Thailand: illustrated by color. 3rd edition.* National Weed Science Research Institute Project. Japan International Cooperation Agency and Department of Agriculture, Ministry of Agriculture and Cooperatives. Thailand. Mass Medias. 164p.

Santisuk, T. (ed.). 2003. Thai Forest Bulletin (Botany) no.31.

Santisuk, T. (ed.). 2004. Thai Forest Bulletin (Botany) no.32.

Santisuk, T. (ed.). 2005. Thai Forest Bulletin (Botany) no.33.

Santisuk, T. (ed.). 2006. Thai Forest Bulletin (Botany) no.34.

Santisuk, T. (ed.). 2007. Thai Forest Bulletin (Botany) no.35.

Santisuk, T. (ed.). 2008. Thai Forest Bulletin (Botany) no.36.

Santisuk, T. (ed.). 2009. Thai Forest Bulletin (Botany) no.37.

Santisuk, T. (ed.). 2009. Thai Forest Bulletin (Botany, special Issue : papers from the 14th Flora of Thailand meeting. 18-21 August, 2008, Copenhagen, Denmark.

Santisuk, T. and K. K. Larsen. 1999. Flora of Thailand. Vol. 7 Part 1. The Forest Herbarium, Royal Forest Department. Bangkok.

Santisuk, T. and K. K. Larsen. 2000. Flora of Thailand. Vol. 9 Part 2. The Forest Herbarium, Royal Forest Department. Bangkok.

Santisuk, T. and K. K. Larsen. 2001. Flora of Thailand. Vol. 7 Part 3. The Forest Herbarium, Royal Forest Department. Bangkok.

Santisuk, T. and K. K. Larsen. 2005. Flora of Thailand. Vol. 9 Part 1. The Forest Herbarium, National Park, Wildlife and Plant Conservation Department. Bangkok.

Santisuk, T. and K. K. Larsen. 2007. Flora of Thailand. Vol. 8 Part 2. The Forest Herbarium, National Park, Wildlife and Plant Conservation Department. Bangkok.

Santisuk, T. and K. K. Larsen. 2008. Flora of Thailand. Vol. 9 Part 4. The Forest Herbarium, National Park, Wildlife and Plant Conservation Department. Bangkok.

Santisuk, T. and K. Larsen. 2002. Flora of Thailand. Vol. 7 Part 4. The Forest Herbarium, Royal Forest Department. Bangkok.

Santisuk, T. and K. Larsen. 2008. Flora of Thailand. Vol. 9 Part 2. The Forest Herbarium, National Park, Wildlife and Plant Conservation Department. Bangkok.

Santisuk, T. and K. Larsen. 2008. Flora of Thailand. Vol. 9 Part 3. The Forest Herbarium, National Park, Wildlife and Plant Conservation Department. Bangkok.

Santisuk, T. and K. Larsen. 2009. Flora of Thailand. Vol. 10 Part 1. The Forest Herbarium, National Park, Wildlife and Plant Conservation Department. Bangkok.

Satake, Y., Ohwi, J., Kitamura, S., Watari, S. and Tominari, T. 1985. Wild Flowers of Japan. . Heibonsha. Japan.

Shuji Uyemura, T. Katsuyama, N. Shimizu, M. Mizuta, H. Morita, S. Hirota and N. Ikehara. 2010. Plant invader 500 species, 2nd ed. Zenkoku Noson Kyoiku Kyokai. Japan. 580p.

Simpson, D.A. and Koyama, T. 1998. Cyperaceae. Flora o Thailand Vol. 6(4): pp.247-485.

Smithinand, T and K. Larsen. 1984. Flora of Thailand. Vol. 2 Part 1. The Forest Herbarium, Royal Forest Department. Bangkok.

Smithinand, T and K. Larsen. 1985. Flora of Thailand. Vol. 2 Part 2. The Forest Herbarium, Royal Forest Department. Bangkok.

Smithinand, T and K. Larsen. 1987. Flora of Thailand. Vol. 5 Part 1. The Forest Herbarium, Royal Forest Department. Bangkok.

Smithinand, T and K. Larsen. 1990. Flora of Thailand. Vol. 5 Part 2. The Forest Herbarium, Royal Forest Department. Bangkok.

Smithinand, T and K. Larsen. 1991. Flora of Thailand. Vol. 5 Part 3. The Forest Herbarium, Royal Forest Department. Bangkok.

Smithinand, T and K. Larsen. 1992. Flora of Thailand. Vol. 5 Part 4. The Forest Herbarium, Royal Forest Department. Bangkok.

Smithinand, T and K. Larsen. 1993. Flora of Thailand. Vol. 6 Part 1. The Forest Herbarium, Royal Forest Department. Bangkok.

Smithinand, T and K. Larsen. 1996. Flora of Thailand. Vol. 5 Part 2. The Forest Herbarium, Royal Forest Department. Bangkok.

Smithinand, T and K. Larsen. 1997. Flora of Thailand. Vol. 5 Part 3. The Forest Herbarium, Royal Forest Department. Bangkok.

Soerjani M., A.J.G.H.Kostermans and G. Tjitrosoepomo. 1987. Weeds of Rice in Indonesia. Balai Pustaka. Jakarta. 716p.

Suk Jin Koo, yong Woong Kwon and Duang Van Chin. 2005. Common Weeds in Vietnam. Saigon Plant Protection Stated Limited Company. Vietnam.488p.

Tavatchai Radanachaless and J.F. Maxwell. 1994. Weeds of Soybean fields in Thailand. Multiple Cropping Center. Chiangmai. 408p.

Yasaka Hayashi, T. Hirano, C. Azegami, C. Hishiyama and N. Nishida. 1989. Wild Flowers of Japan; Plains, seaside and Hills. Yama-kei Publisher Co.Ltd. Japan.

Zhang, Z.P. and S. Hirota. (Eds) 2000. Chinese Colored Weed Illustrated Book. Institute for the Control of Agrochemicals, Ministry of Agriculture, P.R.China, and the Japan Association For Advancement of Phyto-Regulators.

ศึกษารวบรวมสายพันธุ์วัชพืชสมุนไพรและไม้น้ำ
Collection of Some Medicinal Herb and Aquatic Plant.

ศิรพร ซึงสนธิพร[1] มัตติกา ทองรส[2] ธัญชนก จงรักไทย[1]
[1]กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสุรินทร์ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 4

บทคัดย่อ

การสำรวจ รวบรวม พืชสมุนไพรและไม้น้ำ 5 สกุล พร้อมทั้งเปรียบเทียบกับวัชพืชที่อยู่ในสกุลเดียวกัน ที่มีลักษณะใกล้เคียงกัน เพื่อให้ทราบชนิดที่แท้จริง เกิดความถูกต้องในการนำมาใช้ในด้านสมุนไพร สำหรับชนิดที่หายากหรือไม่ค่อยพบ รวบรวมเมล็ดพันธุ์ เพื่อการขยายพันธุ์ต่อไป พบพืชในสกุลก้นจ้ำ 2 ชนิด 3 พันธุ์ ผักเสี้ยน 4 ชนิด หญ้างวงช้าง 3 ชนิด เอื้องเพชรม้า 4 ชนิด และผักคางไก่ 3 ชนิด และหญ้ากองลอย ซึ่งมีบางชนิดไม่มีการใช้ประโยชน์ทางสมุนไพรในประเทศไทย แต่มีการใช้ในต่างประเทศ โดยเฉพาะบางชนิด ที่มีพบในพื้นที่จำกัดในประเทศไทย

คำนำ

วัชพืช เป็นพืชที่ขึ้นในที่ที่ไม่ต้องการ หรือยังหาประโยชน์ไม่พบ (Muenscher, 1980) ซึ่งพืชหลายชนิดที่เป็นวัชพืชในแหล่งพื้นที่เกษตร เช่น ตาลปัตรฤาษี (*Limnocharis flava* (L.) Buchen.) หญ้าคออ่อน (*Crassocephum crepidiodes* (Benth) s. Moore.) ตับเต่านา (*Hydrocharis morsus* Kanac L.) แพงพวยน้ำ (*Ludwigia adscendens* (L.) H.Hara) ผักโขมหนาม (*Amaranthus spinosus* L.) หญ้างวงช้าง ผักเสี้ยนป่า ผักส้าน (*Cleome chelidonii* L.f.) ผักเสี้ยน ผักส้มเสี้ยน ผักเสี้ยนขาว (*Cleome gynandra* L.) ผักเสี้ยนขน ผักเสี้ยนผี (*Cleome rutidosperma* DC.) ผักเสี้ยนผี ผักส้มเสี้ยนผี (*Cleome viscosa* L.) แต่พืชเหล่านี้บางชนิดเป็นผักพื้นบ้านในภาคต่างๆ ของประเทศไทย. (สถาบันการแพทย์แผนไทย, 2541, สถาบันการแพทย์แผนไทย, 2542ก, ข, ค) นอกจากนี้หลายชนิดยังใช้เป็นพืชสมุนไพร (วิทย์, 2539; คณะเภสัชศาสตร์, 2538; AICAF, 1996)

ขณะเดียวกันก็มีวัชพืชหลายชนิดที่ต่างประเทศใช้เป็นสมุนไพร แต่ในประเทศไทย ยังไม่มีการใช้ประโยชน์ดังกล่าว เช่น ก้นจ้ำขาวดอกใหญ่ *Bidens pilosa* L. var. *radiata* ก้นจ้ำขาวดอกใหญ่ หญ้ากองลอย (*Alisma plantago-aquatica* L.) เป็นต้น

ความก้าวหน้าของเทคโนโลยีการสื่อสาร ที่ทำให้ประชาชนสามารถเข้าถึงแหล่งข้อมูลต่างๆ ได้สะดวกรวดเร็ว โดยระบบเครือข่าย หรือทางเอกสารสิ่งตีพิมพ์ ซึ่งจะทำให้ข้อมูลต่างๆ กระจายออกไปได้กว้างขวาง และรวดเร็ว จึงต้องมีความระมัดระวัง ไม่เผยแพร่ข้อมูลที่ผิดพลาด โดยเฉพาะชนิดของ

รหัสการทดลอง 01 12-51-02-03-6-01-51

สมุนไพร เพราะหากมีการรับข้อมูลที่ผิดพลาด ทำให้ไม่ได้สรรพคุณตามที่ระบุ ก็จะทำให้เสื่อมศรัทธา หรืออาจได้รับผลเสียอื่นตามมา

ดังนั้นการศึกษานี้ จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาถึงพืชบางสกุลที่มีการใช้เป็นสมุนไพร และมีบางชนิดในสกุลเดียวกันเป็นวัชพืช เพื่อแยกแยะให้เห็นความแตกต่าง และรวบรวมชนิดที่มีคุณสมบัติเป็นพืชสมุนไพร เพื่อเป็นตัวอย่างสดและแห้งเพื่อประโยชน์ในการสืบค้น พร้อมทั้งรวบรวมเมล็ดชนิดที่หายากไว้เพื่อการขยายพันธุ์ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- การสำรวจได้แก่ แผนที่ สมุดบันทึก กรรไกร ถุงพลาสติก ปากกาเขียนพลาสติก หรือกระดาษป้ายชื่อ และกล้องถ่ายภาพ

- การจัดทำตัวอย่างแห้ง ได้แก่ แผงอัดพรรณไม้สำหรับจัดทำตัวอย่างแห้ง กระดาษฟูก กระดาษซับ ฟองน้ำสำหรับรองตัวอย่าง กระดาษติดตัวอย่างพรรณไม้พร้อมปก พร้อมกระดาษป้ายชื่อ

- สารเคมีสำหรับกันเชื้อราและแมลง ได้แก่ เมทานอล (Methanol) คลอโรฟอร์ม และเมอคิวรี่ คลอไรด์ พร้อมเครื่องแก้วต่างๆ ที่จำเป็น

- การตรวจสอบชนิดพืช ได้แก่ แว่นขยายขนาด 10 เท่า กล้อง กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำแบบใช้แสง เข็มเขี่ย ปากคีบ หนังสือคู่มือการจำแนกพรรณไม้ต่างๆ

วิธีการ

สำรวจในพื้นที่ที่สามารถเข้าถึงโดยรถยนต์ หรืออยู่ในระยะที่สามารถเดินเข้าถึงได้ เมื่อพบพืชเป้าหมายใน 5 สกุล ได้แก่ สกุลก้นจ้ำ : *Bidens* สกุลผักเสี้ยน : *Cleome* สกุลหญ้างวงช้าง : *Heliotropium* สกุลเอื้องเพชรม้า : *Polygonum* และสกุลผักคางไก่ : *Sagittaria* รวบรวมตัวอย่างสดนำมาปลูกขยายพันธุ์ และศึกษารายละเอียดเพิ่มเติม ที่กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร

การตรวจสอบชนิดพืชโดยการเทียบกับตัวอย่างพันธุ์ไม้ในพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพ อาคารพิพิธภัณฑ์พืชสิรินธร กรมวิชาการเกษตร หอพรรณไม้ กรมอุทยาน พรรณพืชและสัตว์ป่า และตรวจสอบกับเอกสารเกี่ยวกับวัชพืช พืชสมุนไพร หรือจากฐานข้อมูลขององค์กรต่างๆ ที่สามารถเข้าถึงด้วยระบบเครือข่าย

ทำการสำรวจและรวบรวมตัวอย่างพืช ในพื้นที่ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคกลาง ตั้งแต่ ตุลาคม 2550 – กันยายน 2553

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การสำรวจ รวบรวมพืชทั้ง 5 สกุล ได้ทั้งสิ้น ชนิด และพืชน้ำสกุลที่ใกล้เคียงกันอีก 1 ชนิด เมื่อนำมาปลูกและศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับสมุนไพร ได้ผลดังนี้

1. **พืชสกุลก้นจ้ำ *Bidens*** ส่วนพฤกษศาสตร์ป่าไม้ (2544) ระบุชนิดที่พบในประเทศไทยมี 3 ชนิด ได้แก่ ดาวกระจาย (*Bidens bipinnata* L) ก้นจ้ำขาวหรือปืนนกไส้ (*Bidens pilosa* L.) และก้นจ้ำ (*Bidens biternata* (Lour.) Merr. & Sherff) แต่ในการรวบรวมนี้พบเพียง 2 ชนิด คือ

- **ก้นจ้ำ (*B. biternata* (Lour.) Merr. & Sherff)** เป็นพืชล้มลุกอายุปีเดียว ลำต้นตั้งตรง แตกกิ่งประปราย ใบประกอบแบบมีใบย่อยจำนวนคี่ ตั้งแต่ 5 ใบขึ้นไป ใบย่อยรูปไข่หรือไข่แกมขอบขนาน ฐานใบรูปลิ่ม กลีบดอกวงนอกรูปลิ้น สีขาวหรือเหลือง จำนวน 2-5 ดอก จำนวนดอกย่อยในช่อดอกมีจำนวนน้อย 10-30 ดอก ผล/เมล็ดเรียบ ไม่มีหนาม (ภาพที่ 1) พบขึ้นชายป่า หรือป่าละเมา ในจังหวัดกาญจนบุรี Harada *et al*.(1987) ระบุว่าสามารถมากในภาคเหนือและตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ตั้งแต่ระดับน้ำทะเลถึงพื้นที่สูงกว่า 1,500 เมตร ประโยชน์ในทางสมุนไพรคือ ใบและต้นนำมาต้มกับน้ำ แล้วรินเอาเฉพาะน้ำดื่มจะใช้แก้อาการท้องร่วง และยังใช้แก้พิษแมลงสัตว์กัดต่อย งูกัด รักษาบาดแผล (วิทย์, 2539)

- **ก้นจ้ำขาว (*B. pilosa* L.)** ซึ่งแยกย่อยลงไปถึง 3 พันธุ์ (Variety) คือ

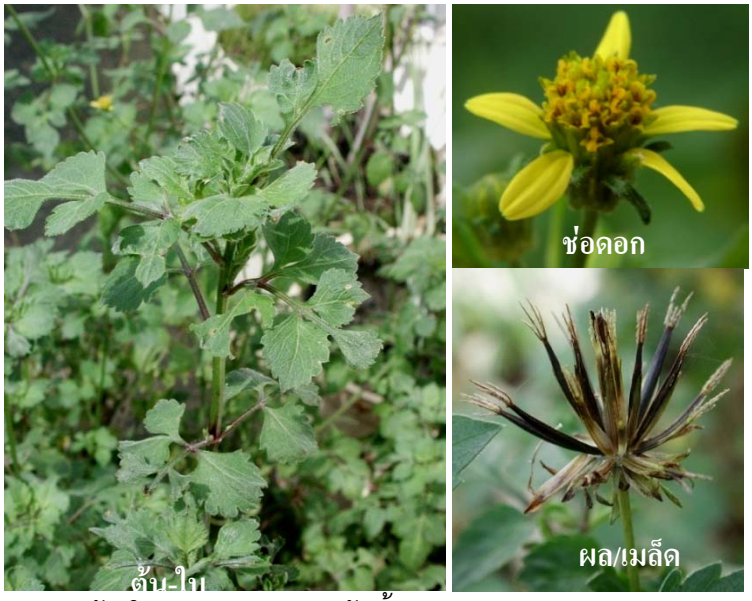
- ***B. pilosa* L. var. *minor*** ไม้ล้มลุกฤดูเดียว ลำต้นตั้งตรง แตกกิ่งก้านมาก ใบประกอบแบบขนนก เรียงตรงข้าม ใบย่อยรูปไข่แกมขอบขนาน กว้าง ใบย่อยด้านล่างรูปไข่ ด้านบนรูปใบหอก ดอกอัดกันแน่นเป็นกระจุก มีก้านดอกยาว ดอกกลางกระจุกสีน้ำตาล หรือเหลือง ดอกรอบนอกสีขาว ผล/เมล็ด แคบยาว มีหนาวยาว 2-4 ดันตรงปลายผล ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด มีสรรพคุณทางสมุนไพรคือ ใช้ราก ต้มน้ำดื่ม แก้หวัด ทั้งต้น ผสม สมุนไพรตำรับที่ 6 ต้มน้ำดื่ม แก้ไอมีน้ำมูกข้น (วงศ์สถิต และคณะ, 2539)

- ***B. pilosa* L. var. *pilosa*** ลักษณะใกล้เคียงกับ var. minor แต่ไม่มีกลีบดอกวงศ์นอก ไม่พบเอกสารที่กล่าวถึงสรรพคุณทางสมุนไพรของพันธุ์นี้แต่อย่างใด

- ***B. pilosa L.* var. *radiata* Sch.Bip.** หรือ *Bidens alba* (L.) DC มีชื่อไทยหลายชื่อ เช่น ก้นจ้ำขาวดอกใหญ่ ดาวกระจายไต้หวัน เชียงรายเดซี่ เป็นพืชอายุฤดูเดียวหรือหลายฤดู ต้นตรง อาจสูง 1-1.5 เมตร แตกแขนงมาก ใบเป็นใบประกอบ 3-9 ใบย่อย ขอบใบหยัก ออกตรงข้าม ดอกเกิดที่ปลายกิ่ง เป็นช่อดอก (head) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2-4 ซม. ดอกวงนอก (ray flower) จำนวน 5-10 ดอก มีกลีบดอกสีขาวประมาณ 1 ซม ดอกกลาง (disc flower) สีเหลือง เมล็ดสีดำเรียวยาว มีรยางค์แข็ง คล้ายตะขอที่ปลาย 2-6 อัน ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดหรือตัดกิ่งปักชำ เป็นพืชต่างถิ่น ที่มีการนำเมล็ดเข้ามาปลูกเพื่อเป็นแหล่งอาหารให้ผึ้ง โดยเกษตรกรชาวไต้หวัน เมื่อประมาณปี 2541-2542 ปัจจุบันระบาดไปทั่วประเทศ เนื่องจากดอกมีขนาดใหญ่ สะดุดตา ขยายพันธุ์ง่าย ให้ดอก

ตลอดปี ใบสดมีฤทธิ์ในการยับยั้งการงอกของไมยราบยักษ์สูงกว่า 2 พันธุ์ข้างต้น (ศิริพร และคณะ, 2546)

ก้นจ้ำขาวดอกใหญ่ มีฤทธิ์ต้านอักเสบและลดอาการแพ้ (Horiuchi and Seyama, 2006 และ 2008) มีการปลูกและผลิตเป็นชาสมุนไพร จำหน่ายอย่างแพร่หลาย และสามารถสั่งซื้อผ่านเว็บได้ด้วยในญี่ปุ่น http://item.rakuten.co.jp/ryutan/b043/ และ http://aquatheraphy.com/cha/kanpoutya.htm



ภาพที่ 1 ลักษณะต้น-ใบ ช่อดอกและผล ก้นจ้ำ *B. biternata* (Lour.) Merr. & Sherff

B. pilosa L. var. *minor* *B. pilosa* L. var.*pilosa* *B. pilosa L.* var. *radiata* Sch.Bip.

ภาพที่ 2 ลักษณะต้น-ใบ-ช่อดอก และผล/เมล็ด ของก้นจ้ำขาว 3 พันธุ์

2. **พืชสกุลผักเสี้ยน** เป็นพืชใบเลี้ยงคู่ จัดอยู่ในวงศ์ Capparaceae ในประเทศไทยมีทั้งสิ้น 5 ชนิด ปลูกเป็นไม้ประดับ 1 ชนิด ที่พบขึ้นตามธรรมชาติ 4 ชนิด มีทั้งที่เป็นวัชพืช และผักพื้นเมือง ซึ่งแต่ละชนิดมีลักษณะแตกต่างกัน (ภาพที่ 3) ได้แก่

ผักเสี้ยนป่า ผักส้าน *Cleome chelidonii* L.f. เป็นไม้ล้มลุก อายุฤดูเดียว ลำต้นตั้งตรง ใบประกอบมี 3 ใบย่อย ใบที่โคนต้นมี 5-7 ใบย่อย ก้านใบยาว ดอกออกเป็นช่อออกที่ปลายกิ่ง หรือออกเดี่ยวๆ ตามซอกใบ กลีบดอกใหญ่รูปไข่กลับ สีชมพู เกสรเพศผู้จำนวนมาก ผลเป็นแคปซูล แก่แล้วแตก เมล็ดเมื่อแก่มีสีดำ ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด พบขึ้นเป็นวัชพืชในนาข้าวหลังเก็บเกี่ยวที่จังหวัดสระบุรี มีการกล่าวถึงสรรพคุณทางยา แต่ภาพที่แสดงประกอบกับเป็น ผักเสี้ยนขน *C. rutidosperma* DC. และมีการศึกษาเกี่ยวกับผลของสารจากพืชชนิดนี้ต่อแมลง แต่อาจเป็นการใช้ชื่อที่ผิด เนื่องจากพืชชนิดนี้พบน้อยมาก และมีความสับสนกับผักเสี้ยนขน

ผักเสี้ยน ผักส้มเสี้ยน ผักเสี้ยนขาว *Cleome gynandra* L. เป็นพืชล้มลุก อายุฤดูเดียว ลำต้นตั้งตรง แตกแขนง มีต่อมขนปกคลุมทั่วไป ใบประกอบมี 3-5 ใบย่อย ก้านใบยาว ใบย่อยรูปไข่กลับหรือรูปใบหอกกลับ ใบประดับจำนวนมากคล้ายใบ มีก้านสั้นๆ ดอกเดี่ยว เกิดที่ปลายกิ่ง ก้านดอกยาว กลีบดอกสีขาว 4 กลีบ เกสรเพศผู้ 6 อัน ติดบนก้านชูเกสรร่วม ก้านเกสรสีม่วง ก้านเกสรเพศเมียสั้น

ยอดเกสรเป็นตุ่ม ติดทน กลีบเลี้ยง 4 ติดทน ผลแบบแคปซูล สีเขียว เมื่อแก่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ข้างในมีเมล็ดสีดำจำนวนมาก ขยายพันธุ์โดยเมล็ด พบเป็นวัชพืชทั่วไป บางแห่งปลูกเป็นผักพื้นเมือง มีสารไฮโดรไซยาไนด์ (Hydrocyanide) จึงต้องต้มหรือดองเพื่อขจัดสารพิษ มีสรรพคุณแก้ปวดเมื่อย ขับพยาธิ (วิทย์, 2539)

ผักเสี้ยนขน ผักเสี้ยนผี *Cleome rutidosperma* DC. เป็นไม้ล้มลุกอายุปีเดียว ใบประกอบ 3 ใบย่อย ก้านใบยาว ใบย่อยรูปใบหอกกลับหรือคล้ายสี่เหลี่ยมข้าวหลามตัดแกมรูปไข่ ปลายแหลมหรือแหลมยาว โคนเรียวสอบ ขอบใบจักฟันเลื่อยละเอียด ช่อดอกออกที่ปลายกิ่งหรือตามซอกใบ กลีบดอกสีม่วง-ขาว 4 กลีบ เกสรเพศผู้ 6 อัน ก้านเกสรสีขาวอมม่วง อับเรณูสีเทา รูปขอบขนาน ผลแบบแคปซูล เมล็ดมี 4-25 เมล็ด ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด ไม่พบข้อมูลการใช้เป็นสมุนไพร

ผักเสี้ยนผี ผักส้มเสี้ยนผี *Cleome viscosa* L. ไม้ล้มลุกอายุฤดูเดียว มีต่อมขนเหนียวปกคลุมหนาแน่นทั่วไป ใบประกอบมี 3-5 ใบย่อย ก้านใบยาว ใบย่อยรูปรี รูปขอบขนาน หรือรูปไข่กลับ ปลายแหลมหรือมน ใบประดับคล้ายใบ มี 3 ใบย่อย มีก้านสั้นๆ ร่วงง่าย ช่อดอกออกที่ปลายกิ่งหรือตามซอกใบ ก้านดอกยาว กลีบดอกสีเหลือง 4 กลีบ สีเหลือง เกสรเพศผู้จำนวนมาก ขนาดไม่เท่ากัน อับเรณูสีเทาอมเขียว ก้านเกสรเพศเมียสั้น ยอดเกสรเป็นตุ่ม ผลแบบแคปซูล เป็นริ้วชัดเจน เมล็ดจำนวนมาก เมื่อแก่มีสีน้ำตาล-ดำ ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด ใช้แก้ลม ปวดท้อง พิษฝี แก้ไข้ ช่วยขับหนอง (วงศ์สถิต และคณะ, 2539).

ผักเสี้ยน ผักส้มเสี้ยน *Cleome gynandra* L.

ผักเสี้ยนป่า ผักส้าน *Cleome chelidonii* L.f.

ผักเสี้ยนขาว ผักเสี้ยนขน ผักเสี้ยนผี

Cleome rutidosperma DC.

ผักเสี้ยนผี ผักส้มเสี้ยนผี

Cleome viscosa L.

ภาพที่ 3 ลักษณะต้น และดอกของผักเสี้ยนชนิดต่างๆ

3. พืชสกุลหญ้างวงช้าง (Heliotropium) พบทั้งหมด 3 ชนิด โดยมีรายงานการเป็นสมุนไพรในประเทศเพียงชนิดเดียว คือ

หญ้างวงช้าง กุนอกาโม ผักแพวขาว หญ้างวงช้างน้อย *Heliotropium indicum* L. ไม้ล้มลุกฤดูเดียว ลำต้นตรง สูง 20-60 ซม. ใบเดี่ยว เรียงสลับ รูปไข่ รูปสามเหลี่ยมหรือรูปใบหอก กว้าง 3-4 ซม. ยาว 7-10 ซม. ผิวใบมีขนทั้งสองด้าน ดอกช่อออกที่ปลายกิ่ง กลีบดอกสีม่วงอ่อน ตรงกลางสีเหลืองส้ม ผลแห้ง ไม่แตก มี 4 พู สรรพคุณใช้ตำพอกแก้พิษฝี หรือผสมกับพืชสมุนไพรอื่น แก้ปวดตามข้อ เช่น ข้อเข่า ข้อไหล่ (วงศ์สถิต และคณะ, 2543) แก้โรคลักปิดลักเปิด แก้ไอ ขับปัสสาวะ แก้หืด แก้ไข้ แก้ขัดเบา ดับพิษร้อน ลดบวม ปอดอักเสบ หนองในช่องปอด เจ็บคอ นิ่วในกระเพาะอาหาร โรคชักในเด็ก ปากเปื่อย แผลบวมมีหนอง แก้ตาฟาง (ฐานข้อมูลสมุนไพร)

พืชสกุลหญ้างวงช้าง ที่พบอีก 2 ชนิด มีลักษณะแตกต่างจากหญ้างวงช้างอย่างชัดเจน สามารถสังเกตได้จากลักษณะต้นและสีดอก (ภาพที่ 4) คือ

หนวดปลาหมึก หญ้านกยูง *Heliotropium strigosum* Willd เป็นวัชพืชอายุฤดูเดียว ใบและลำต้นมีขนสีขาว ใบเดี่ยวออกตรงข้าม ก้านใบสั้นมากหรือไม่มี ดอกสีขาว ออกเป็นช่อกระจุกหรือช่อวงแถวคู่ ออกที่ปลายยอด เกสรเพศผู้ 4 อัน ผลแห้งแล้วแตก มี 4 เมล็ดอยู่ด้านใน ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด พบขึ้นกระจายทั่วไป โดย ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เมื่อเทียบกับพืชอื่นแล้ว มีลำต้น กิ่งก้านสาขา เล็กมาก จึงไม่เด่นชัด เมื่อขึ้นปะปนกับพืชอื่น

***Heliotropium ovalifolium* Forssk.** เป็นล้มลุก อายุฤดูเดียว ลำต้นแตกแขนงมาก และมักแผ่ออกไป มีขนสีขาวปกคลุมตลอดต้น ใบสีเขียวเข้ม-นวล ดอกสีขาว มีขนาดเล็กกว่าหญ้างวงช้างมาก เป็นพืชที่เพิ่งพบใหม่ โดยขึ้นเดี่ยวๆ ปะปนกับพืชอื่น ในนาข้าวหลังเก็บเกี่ยว หรือในที่ว่างข้างทาง ในจังหวัดเพชรบูรณ์ และยังไม่มีรายงานการพบจากที่อื่นอย่างใด จากศึกษาของ Kulkarni-Almeidaa *et al*. (2008) พบว่าในพืชนี้มีสาร 4,7,8-trimethoxy-naphthalene-2-carboxylic acid and 6-hydroxy-5,7-dimethoxy-naphthalene-2-carbaldehyde ซึ่งไม่มีพิษต่อมนุษย์ และมีศักยภาพในการรักษาโรคปวดเมื่อยตามข้อ และอื่นๆ

ภาพที่ 4 ลักษณะพืชสกุลหญ้างวงช้าง 3 ชนิด *H. indicum*, *H. strigosum* และ *H. ovalifolium*

4. **พืชสกุลเอื้องเพชรม้า (Polygonum)** เป็นพืชใบเลี้ยงคู่ อยู่ในวงศ์ Polygonaceae ซึ่งพืชในสกุลนี้หลายชนิดย้ายไปอยู่สกุล Persicaria โดยชื่อเดิมเป็นชื่อพ้อง ในการสำรวจ รวบรวมนี้ได้ 4 ชนิด (ภาพที่ 5) ซึ่งมี 2ชนิดที่มีการใช้ประโยชน์เป็นสมุนไพรในประเทศไทย ส่วนอีก 2 ชนิดมีรายงานสรรพคุณทางสมุนไพร ได้แก่

สร้อยทับทิม ผักไผ่น้ำ *Polygonum barbatum* L. หรือ ***Persicaria barbata*** เป็นไม้ล้มลุก ลำต้นตั้งตรง สูง 40-80 ซม. ลำต้นมีขน ใบเดี่ยว เรียงสลับ รูปขอบขนานหรือรูปใบหอก กว้าง 1.5-3 ซม. ยาว 8-15 ซม. ผิวใบมีขนปกคลุมทั้งสองด้าน หูใบหุ้มรอบลำต้น มีขน ดอกช่อ ออกที่ซอกใบและปลายกิ่ง ดอกย่อยจำนวนมาก กลีบดอกสีม่วงแกมชมพู ผลแห้ง ไม่แตก ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด สรรพคุณ รักษาเกลื้อน เรื้อน และอาการคัน ชาวเขาเผ่าแม้วใช้ ใบ ตำคั้นน้ำดื่ม แก้ไข้มาลาเรีย (วงศ์สถิต และคณะ, 2539)

พญาดง ผักบังใบ ผักไผ่น้ำ เอื้องเพ็ดม้า *Polygonum chinensis* L. หรือ ***Persicaria chinensis* (L.) H.Gross S** เป็นไม้ล้มลุก เลื้อยพาดพันต้นไม้อื่น ใบเดี่ยว เรียงสลับ รูปไข่แกมขอบขนาน ผิวใบเรียบหรือมีขน หูใบเป็นปลอกหุ้มลำต้น ดอกช่อ ออกที่ซอกใบ ดอกย่อยจำนวนมาก กลีบดอกสีขาว สรรพคุณ แก้โรคหนองใน รักษาแผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก แก้นิ่ว แก้ปวดท้องไส้ติ่งที่มีอาการไม่มาก ชาวเขาเผ่าอีก้อแม้ว มูเซอใช้ ถ่ายพยาธิ แก้โรคผิวหนัง ผื่นคัน หูด ฆ่าเชื้อโรค รักษาแผลสด แผลเปื่อย ฝี หนอง แผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก ห้ามเลือด (วงศ์สถิต และคณะ, 2539)

พืชสกุลนี้ที่พบเป็นวัชพืช ในบางพื้นที่เท่านั้นของภาคเหนือ ที่มีแต่มีรายงานสรรพคุณทางสมุนไพร ในต่างประเทศ ไม่มีรายงานการใช้ในประเทศไทย ได้แก่

***Polygonum nepalense* Meissn**. หรือ **P*ersicaria nepalense* (Meissn.) Miyabe.** เป็นพืชล้มลุกขนาดเล็ก ลำต้นเลื้อยหรือเอนนอน แตกกิ่งจากโคนต้น ใบเดี่ยว รูปสี่เหลี่ยมข้าวหลามตัดแกมสามเหลี่ยม ปลายใบแหลมหรือป้าน มีขนประปราย ก้านใบเป็นปีกตลอด 2 ข้าง มีหูใบกลม 2 ขางที่โคนก้าน ดอกสีขาวหรือชมพู เกาะเป็นกลุ่ม 1-2 กลุ่ม ผลทรงสามเหลี่ยม เจริญได้ดีในที่ชื้น เป็นวัชพืชในปลงผักบนพื้นที่สูง ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด พบในภาคเหนือของประเทศไทย ที่ระดับสูงประมาณ 1,000-2,000 เมตรเหนือระดับน้ำทะเล (Harada *et al*., 1987) มีรายงานการใช้ลดไข้และรักษาแผลสด (Plant for a future, 2011)

***Polygonum perfoliatum* L.** หรือ ***Persicaria perfoliata* (L.) H. Gross** ส้มคมเคียง เป็นพืชล้มลุก ลำต้นเอนหรือเลื้อยพัน มีหนามทั่วไป แผ่นใบรูปสามเหลี่ยม ฐานเว้ากว้าง สีขาวนวล ใต้ใบมีหนามปกคลุม ใบยาวเท่ากับความกว้าง ก้านใบยาว มีหนามทั่วไป ช่อดอกเป็นแท่ง 1-2 แท่ง สีขาวอมเขียวหรือชมพู ผลค่อนข้างกลม ผิวมัน พบตามที่แดดจัด (Harada *et al*., 1987) ผลเมื่อแก่เปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด ในปัจจุบันพบพืชชนิดนี้เป็นวัชพืชในแปลงถั่วเหลืองที่อำเภอแม่สะเรียง จังหวัดแม่ฮ่องสอน เท่านั้น มีสรรพคุณใช้ขับปัสสาวะและลดไข้ กระตุ้นการหมุนเวียนของเลือด รักษาโรคบิด ลำไส้เล็กอักเสบ ผีและหนอง งูพิษกัด ปัสสาวะเป็นเลือด ปัสสาวะขุ่น และบาดแผล และใบใช้รักษาโรคปวดหลัง (Plant for a future, 2011)

สร้อยทับทิม *Polygonum barbatum* L. | พญาดง *Polygonum chinensis* L. | *Polygonum nepalense* Meissn. | ส้มคมเคียง *Polygonum perfoliatum* L.

ภาพที่ 5 เปรียบเทียบลักษณะวัชพืชสกุลผักไผ่น้ำที่มีคุณสมบัติทางสมุนไพร

พืชสกุลเต่าเกียด *Sagittaria* เป็นไม้น้ำ ในวงศ์ Alismataceae มีการใช้เป็นไม้ประดับ เนื่องจากใบสวยงาม คือรูปร่างใบเหมือนหัวลูกศร จึงมีชื่อภาษาอังกฤษว่า arrow head ซึ่งเกือบทั้งหมดเป็นพืชนำเข้ามาจากต่างประเทศ สามารถหาซื้อทั่วไป และบางชนิดมีศักยภาพเป็นวัชพืช พบมีสองชนิด ได้แก่

เต่าเกียด ขาเขียด นางกวัก หูกวาง ผักคางไก่ ผักตีนกา *Sagittaria sagittifolia* L. *leucopetala* (Miq.) Hartog เป็นพืชล้มลุก อายุปีเดียวหรือหลายปี หากมีความชื้นพอ ขึ้นเป็นกอ ก้านใบยาวเป็นรูปสามเหลี่ยม ลักษณะเหมือนหัวลูกศร หรือหอก ปลายใบแหลม ฐานใบเว้าลึก 2 ข้างของก้านใบ ก้านช่อดอกยาว กลีบดอกสีขาว ดอกแยกเพศ ดอกเพศเมียอยู่ด้านล่าง ดอกเพศผู้เกสรเพศผู้สีเหลืองมีจำนวนมาก (ภาพที่ 6) ผลเป็นผลรวมรูปร่างกลม เมล็ดสีน้ำตาลอ่อน เป็นวัชพืชในนาข้าวและแหล่งน้ำ (สุชาดา, 2545) แต่ในปัจจุบันพบในนาข้าวที่ไม่มีการใช้สารกำจัดวัชพืช เช่น นาข้าวในพื้นที่เกษตรที่สูง หรือแหล่งน้ำบางแห่งในอำเภอเวียงแหง จังหวัดเชียงใหม่ ต้นอ่อนเป็นผัก (ประวิทย์) มีสรรพคุณต้านโรคลักปิดลักเปิด ขับปัสสาวะ ใบมีสรรพคุณรักษาโรคผิวหนังหลายชนิด หัวทำให้หยุดการสร้างนม และอาจกระตุ้นทำให้เกิดการคลอดก่อนกำหนด นอกจากนี้ยังพบมีการใช้พืชนี้ในตำรายาจีนด้วย

เต่าเกียด ผักคางไก่ *Sagittaria guayanensis* Humb., Bonpl. & Kunth เป็นไม้น้ำ อายุฤดูเดียว ใบรูปหอก ค่อนข้างกว้าง ก้านใบอ่อน แผ่นใบลอยบนผิวน้ำ คล้ายบัว ดอกแยกเพศ สีขาว ออกเป็นกระจุก ลอยเหนือผิวน้ำ (ภาพที่ 6) ไม่พบรายงานการใช้เป็นสมุนไพร แต่มีจำหน่ายเป็นผักพื้นเมืองในจังหวัดปราจีนบุรี

นอกจากนี้ยังมีพืชในสกุลนี้อีกชนิดหนึ่ง ในพื้นที่นาข้าว หรือในแหล่งน้ำตื้นๆ ที่น้ำสะอาด ไม่มีการใช้สารเคมี ลักษณะคล้าย S. *sagittifolia* L. แต่ใบกว้างกว่า (ภาพที่ 6) และไม่พบการสร้างดอกในธรรมชาติ ขยายพันธุ์โดยการสร้างเมล็ดโดยไม่มีการสร้างดอก พบเป็นวัชพืชในนาข้าวของชนเผ่าทาง

ภาคเหนือบางแห่ง และแหล่งน้ำที่สะอาดพื้นที่ที่สูงกว่า 800 เมตร เหนือระดับน้ำทะเล นอกจากนี้ยังพบที่จังหวัดเลย ซึ่งปลูกเป็นผักและเรียกว่าผักก้าม

ภาพที่ 6 ลักษณะต้น ใบ ของ *S. sagittifolia* S. *guayanensis* และ *Sagittaria* และช่อดอกของ S. *sagittifolia*

นอกเหนือจากนี้ ยังพบพืชในวงศ์ Alismataceae อีกชนิดเรียกว่า หญ้ากองลอย *Alisma plantago-aquatica* L. พบเป็นวัชพืชในนาข้าวในจังหวัดเชียงใหม่และแม่ฮ่องสอน และเชียงใหม่เท่านั้น ไม่พบรายงานการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย แต่มีการใช้ในต่างประเทศ (Bown, 2002)

ภาพที่ 7 ลักษณะต้นและดอกของหญ้ากองลอย

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

พืชสมุนไพรและไม้น้ำ 5 สกุล นี้ มีทั้งที่ใช้เป็นสมุนไพรในประเทศไทยแล้ว เช่น ก้นจ้ำผักเสี้ยน แต่มีพืชหลายชนิดที่มีลักษณะใกล้เคียงกัน จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องตรวจสอบชนิดให้ถูกต้อง เพื่อให้ได้ตัวยา หรือสมุนไพรที่ถูกต้อง การใช้ผิดชนิดนอกจากจะทำให้การรักษาด้วยสมุนไพรไม่ได้ผลแล้วยังจะทำให้เสื่อมศรัทธาในการใช้ด้วย ส่วนพืชที่มีในประเทศไทย มีข้อมูลการใช้เป็นสมุนไพรในต่างประเทศ แต่ประเทศไทยยังไม่มีการนำมาใช้ประโยชน์ ควรมีการศึกษาเพิ่มเติม เพื่อการนำมาใช้ประโยชน์ในอนาคต เช่น หญ้ากองลอย เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

ฐานข้อมูลสมุนไพร. หญ้างวงช้าง http://thaiherb.most.go.th/?q=node/139 (11/1/2554)

ประวิทย์ สุรนีรนาถ. พรรณไม้น้ำประเทศไทย http://www.ku.ac.th/AgrInfo/thaifish/aqplant/aqpindex.html (10/1/2011)

พงษ์ศักดิ์ พลเสนา. 2550. พืชสมุนไพรในสวนป่าสมุนไพรเขาหินซ้อน ฉบับสมบูรณ์. หจก.เจตนารมณ์ภัณฑ์, ปราจีนบุรี. 301 หน้า.

ภาควิชาเภสัชพฤกษศาสตร์. *สมุนไพรสวนสิรีรุกขชาติ*. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. อมรินทร์พริ้นติ้ง แอนด์ พับลิชชิ่ง. 2539. 257 หน้า.

วงศ์สถิตย์ ฉั่วกุล, พร้อมจิต ศรลัมพ์, และสมภพ ประธานธุรารักษ์. 2543. สารานุกรมสมุนไพร เล่ม2 สยามไภษัชยพฤกษ์. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. อมรินทร์พริ้นติ้ง แอนด์ พับลิชชิ่ง. 255 หน้า.

วงศ์สถิตย์ ฉั่วกุล, พร้อมจิต ศรลัมพ์, วิชิต เปานิล และ รุ่งระวี เต็มศิริฤกษ์กุล. *สมุนไพรพื้นบ้านล้านนา*. ภาควิชาเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. อมรินทร์พริ้นติ้ง แอนด์ พับลิชชิ่ง. 2539. 264 หน้า.

วิทย์ เทียงบูรณธรรม. 2539. *พจนานุกรมสมุนไพรไทย* พิมพ์ครั้งที่ 4. ประชุมทองการพิมพ์. 880น.

ศิริพร ซึงสนธิพร วินัย สมประสงค์ และปราโมทย์ ไตรบุญ 2546. ก้นจ้ำขาวดอกใหญ่ ..วัชพืชชนิดใหม่ของไทย. *ใน* เอกสารการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 6 “หนึ่งทศวรรษแห่งการอารักขาพืชในประเทศ” 24-27 พฤศจิกายน 2546. ขอนแก่น หน้า478-489.

สุชาดา ศรีเพ็ญ, คุณหญิง. 2545. พรรณไม้น้ำในประเทศไทย. อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง. 2542. 312 หน้า.

Deni Bown. 2002. Encyclopedia of herbs and their Uses. The Royal horticultural Society. DK .London. 448p.

Kulkarni-Almeidaa, A., A. Sutharb, H. Goswamia, R. Vishwakarmac, V. S. Chauhanb, A. Balakrishnana, and S. Sharma. 2008. Novel leads from *Heliotropium ovalifolium*, 4,7,8-trimethoxy-naphthalene-2-carboxylic acid and 6-hydroxy-5,7-dimethoxy-naphthalene-2-carbaldehyde show specific IL-6 inhibitory activity in THP-1 cells and primary human monocytes. Phytomedicine. 15 (12) 1079-1086. http://www.phytomedicinejournal.com/article/S0944-7113(08)00084-6/abstract (10/1/2011)

M. Horiuchi and Y. Seyama. 2006. Antiinflammatory and Antiallergic activity of of *Bidens pilosa* L. var. radiate Scherff. J. of Health Sci. 52(6) 711-717.

M. Horiuchi and Y. Seyama. 2008. Improvement of the anti-inflammatory and Antiallergic activity of *Bidens pilosa* L. var. radiate Scherff treated with enzymes (Cellulosine). J. of Health Sci. 54(3) 294-301.

Plant for a Future. Polygonum nepalense http://www.naturalmedicinalherbs.net/herbs/p/polygonum-nepalense.php (10/1/2011)

Plant for a Future. Sagittaria sagittifolia http://www.naturalmedicinalherbs.net/herbs/s/sagittaria-sagittifolia=arrow-head.php

Plant for Future. Polygonum barbatum - L.Joint Weed
http://digedibles.com/database/plants.php?Polygonum+barbatum (10 Jan. 2011)
Plant for Future. http://digedibles.com/database/plants.php?Polygonum+nepalense

จุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

Enhance plant growth by using endophytic fungi

ชนินทร ดวงสอาด พรพิมล อธิปัญญาคม สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการแยกเชื้อราเอ็นโดไฟท์จากต้นคะน้าปกติที่ไม่มีการเข้าทำลายของโรคและแมลง โดยนำส่วนของใบและลำต้นมาฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยวิธี triple surface sterilization ได้เชื้อราที่สามารถจัดกลุ่มเป็น 4 taxa คือ *Alternaria* spp., *Nigrospora* sp., *Pestalotiopsis* sp. และ Mycelia Sterilia และคัดเลือกเชื้อราเอ็นโดไฟท์ที่มีอัตราการเจริญเร็วที่สุดจำนวน 5 ไอโซเลท มาทำการทดสอบผลต่อความงอกของเมล็ดคะน้า พบว่าเชื้อราเอ็นโดไฟท์ 4 ไอโซเลท ยกเว้น *Alternaria*1 มีเปอร์เซ็นต์ความงอกไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และผลต่อการเจริญเติบโตของคะน้าในระยะต้นกล้า เมื่อวัดผลจากน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นกล้าพบว่า ต้นกล้าที่ปลูกด้วยเชื้อราเอ็นโดไฟท์ *Nigrospora sacchari* มีน้ำหนักมากที่สุด แต่ทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งไม่ได้ปลูกด้วยเชื้อราเอ็นโดไฟท์

เมื่อแยกเชื้อราเอ็นโดไฟท์จากพืชสมุนไพรได้แก่ หญ้าหนวดแมว ตะไคร้ กะเพรา และฟ้าทะลายโจร ได้เชื้อราที่สามารถจัดกลุ่มเป็น 5 taxa ได้แก่ *Nigrospora* sp., Hyphomycetes, Coelomycetes, *Drechslera* sp. และ Mycelia Sterilia คัดเลือกเชื้อราเอ็นโดไฟท์ที่มีอัตราการเจริญเร็วที่สุดจำนวน 6 ไอโซเลท มาทำการทดสอบผลต่อความงอกของเมล็ดคะน้าพบว่ามีเพียงเชื้อราเอ็นโดไฟท์ Mycelia Sterilia1 ที่มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์ความงอกเพิ่มขึ้น คือ 76.00 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์ความงอก 75.20 เปอร์เซ็นต์ และผลต่อการเจริญเติบโตของคะน้าในระยะต้นกล้า เมื่อวัดผลจากน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นกล้าพบว่า ต้นกล้าที่ปลูกด้วยเชื้อราเอ็นโดไฟท์ Mycelia sterilia 1,2,3 และ *Drechslera halodes* มีน้ำหนักมากที่สุด แต่ทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-01-49

คำนำ

เชื้อเอ็นโดไฟท์ (endophyte) หมายถึง เชื้อจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในพืช โดยไม่ทำให้พืชเกิดโรคและมีความสัมพันธ์กันแบบ mutualistic symbiosis เชื้อเอ็นโดไฟท์บางชนิดสร้างสารประกอบบางอย่างหรือปฏิกิริยาเคมีต่างๆ ระหว่างเชื้อรากับพืชอาศัย ทำให้เยื้อเยื่อลดความดึงดูดต่อพวก herbivores และบางสายพันธุ์กระตุ้นให้พืชเกิดความต้านทาน ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ในทางกลับกัน เชื้อเอ็นโดไฟท์ได้รับประโยชน์จากพืชโดยอาศัยสารอาหารต่างๆจากพืช และดำรงชีวิตอยู่ภายในต้นพืช นอกจากนี้แล้วยังพบว่า เชื้อเอ็นโดไฟท์บางสายพันธุ์สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชได้ และสามารถใช้เป็น biological control agents โดยเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช หรือกระตุ้นให้เกิดความต้านทานของโรคแบบ systemic ได้ (Chanway, 1998)

Bacon (1977) พบว่า เชื้อราเอ็นโดไฟท์ส่วนใหญ่สามารถใช้ส่วนประกอบของเซลล์พืชได้ มีการสร้างเอนไซม์และสร้างองค์ประกอบที่ช่วยเร่งการเจริญเติบโตของพืช และสร้างสารที่สามารถใช้ประโยชน์ในทางเภสัชกรรมหรือทางเกษตรกรรมได้ และมีการศึกษาพบว่าต้นกล้ากะหล่ำปลีที่คลุกเมล็ดด้วยเชื้อรา *Heteroconium chaetospira* ที่ได้จากรากกะหล่ำ มีการเจริญเติบโตที่สมบูรณ์ พืชมีความแข็งแรง โดยเชื้อราเอนโดไฟท์ *H. chaetospira* สามารถ กระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นกล้ากะหล่ำ (Narisawaและคณะ,1998) และจากรายงานการศึกษาของ Megan และ Linda (2008) พบว่าเชื้อราเอ็นโดไฟท์ *Fusarium* บางชนิด *Nigrospora oryzae*, *Acremonium zeae* และ *Periconia macrospinosa* สามารถกระตุ้นให้ข้าวโพดสร้างสารทุติยภูมิ ที่มีผลทำให้ข้าวโพดมีความต้านทานโรค

ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้ จึงทำการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราเอ็นโดไฟท์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช โดยแยกเชื้อราเอ็นโดไฟท์จากคะน้าและพืชสมุนไพร และนำมาทดสอบประสิทธิ ภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของคะน้าในระยะกล้า

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างได้แก่ พลั่วมือ ถุงพลาสติก
2. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อ หม้อนึ่งความดัน ตู้อบฆ่าเชื้อ
3. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดทดลอง ขวดดูแรน บิกเกอร์ สไลด์และแผ่นแก้วปิดสไลด์ กระบอกตวง แท่งแก้ว ตะเกียงแอลกอฮอล์
4. เข็มเขี่ยปลายแหลม ห่วงถ่ายเชื้อ ปากคีบ ใบมีดผ่าตัด มีด
5. ผ้าขาวบาง กระดาษซับนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว (อาจใช้กระดาษทิชชูหรือกระดาษกรอง)
6. แผ่นพลาสติกสำหรับรองตัดส่วนต่างๆของพืช
7. กล้องจุลทรรศน์แบบ compound และ sterio
8. อาหารแยกและเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ water agar (WA) และ potato dextrose agar (PDA)
9. สารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ ได้แก่ สารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ และเอธิลแอลกอฮอล์ 75%
10. วัสดุปลูก และกระถางพลาสติก
11. เมล็ดพันธุ์คะน้า
12. ต้นคะน้าปกติที่ไม่มีโรคและแมลงเข้าทำลาย
13. ต้นพืชสมุนไพร ได้แก่ หญ้าหนวดแมว ตะไคร้ กะเพรา และฟ้าทะลายโจร

วิธีการ

1. การแยกและจำแนกกลุ่มเชื้อราเอ็นโดไฟท์

1.1 การเก็บตัวอย่างพืช

เก็บตัวอย่างคะน้าและต้นพืชสมุนไพร ได้แก่ หญ้าหนวดแมว ตะไคร้ กะเพรา และฟ้าทะลายโจร โดยเก็บต้นที่ปกติที่ไม่มีการเข้าทำลายของแมลงและไม่มีอาการของโรค ห่อด้วยกระดาษใส่ถุงพลาสติก และบันทึกรายละเอียด ชนิดพืช แหล่งที่เก็บ วันที่เก็บ ผู้เก็บ

1.2 การทดสอบการฆ่าเชื้อที่ผิวก่อนนำมาแยกเชื้อราเอ็น โดไฟท์

ทดสอบการฆ่าเชื้อที่ผิวส่วนต่างๆ ของต้นพืชที่ต้องการแยกเชื้อราเอ็นโดไฟท์ ด้วยโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ เพื่อไม่ให้เชื้อราที่แยกได้เป็นเชื้อที่เจริญหรือติดบริเวณผิวของส่วนต่างๆเช่น ผิวใบ ซึ่งต้องทดสอบก่อนนำมาแยกเชื้อราเอ็นโดไฟท์ที่เจริญออกมาจากเนื้อเยื่อพืช เพื่อหาระยะเวลา

ความเข้มข้นที่เหมาะสมในการแช่ชิ้นส่วนใบและลำต้นของต้นพืชที่ต้องทำการแยกเชื้อราเอ็นโดไฟท์ในไฮเปอร์คลอไรด์ความเข้มข้นต่างๆกัน มีขั้นตอนดังนี้

1. นำตัวอย่างต้นพืชที่ไม่เป็นโรคมาล้างน้ำให้สะอาด

2. ตัดต้นพืชแต่ละส่วนที่จะทำการแยกให้ได้ความยาวประมาณ 1 ซม.

3. นำผ้าขาวบางมาห่อชิ้นส่วนของพืชที่ตัดได้ จากนั้นนำมาแช่ในแอลกอฮอล์ 75% เป็นเวลา 15 วินาที

4. นำผ้าขาวบางที่ห่อชิ้นส่วนของพืชทั้งหมด แช่ในโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ความเข้มข้นต่างๆคือ 0, 1, 3 และ 5% ในเวลานานต่างๆกันคือ 1, 3 และ 5 นาที ซับให้แห้งด้วยกระดาษซับที่ฆ่าเชื้อแล้ว

5. นำผ้าขาวบางที่ห่อชิ้นส่วนของพืชทั้งหมดแช่ในแอลกอฮอล์ 75% เป็นเวลา 15 วินาที ซับให้แห้งด้วยกระดาษซับที่ฆ่าเชื้อแล้ว

6. นำชิ้นส่วนของพืชวางบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (Potato Dextrose Agar) โดยแต่ละจานอาหารวาง 5 ตำแหน่ง บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง

7. ตรวจดูเชื้อราที่เจริญออกมาจากแต่ละชิ้นส่วนของพืช วิเคราะห์ผลของการเจริญของเชื้อราที่เวลาและความเข้มข้นของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ต่างๆกัน

1.3 การแยกเชื้อราเอ็นโดไฟท์

นำตัวอย่างพืชผ่านขั้นตอนการฆ่าเชื้อที่ผิวตามข้อ 1.2 ตามความเข้มข้นที่ผ่านการทดสอบ ตรวจดูเชื้อราที่เจริญออกมาจากเนื้อเยื่อของแต่ละชิ้นพืช แยกเชื้อราที่ได้ไปทำเป็นเชื้อบริสุทธิ์บนอาหาร PDA และเก็บใน PDA slant เพื่อจำแนกชนิดของเชื้อราต่อไป

1.4 การตรวจสอบและจำแนกกลุ่มของเชื้อราเอ็นโดไฟท์

ตรวจลักษณะทางสัณฐานวิทยา สังเกตลักษณะการเจริญของเชื้อราบนอาหารที่เพาะเลี้ยง ตรวจลักษณะรูปร่าง ขนาดและโครงสร้างที่เชื้อราสร้างขึ้น ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เปรียบเทียบลักษณะต่างๆของเชื้อราเอ็นโดไฟท์ เพื่อจำแนกกลุ่มของเชื้อรา

1.5 การทดสอบการเจริญของเชื้อราเอ็นโดไฟท์

นำเชื้อราเอ็นโดไฟท์ ที่แยกได้จากพืชมาทดสอบประสิทธิภาพในการเจริญ โดยนำเชื้อราเอ็นโดไฟท์ที่มีอัตราการเจริญเร็วที่สุด เพื่อใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพต่อการเจริญของคะน้าในระยะกล้าต่อไป

2. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราเอ็นโดไฟท์ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชในระยะกล้า

2.1 เตรียม suspension ของเชื้อราเอ็นโดไฟท์

2.2 ทำการฆ่าเชื้อที่ผิวเมล็ดคะน้า โดยแช่ในโซเดียมไฮเปอร์คลอไรท์ 1% นาน 1 นาที แล้วจึงล้างออกด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 3-4 ครั้ง จากนั้นนำเมล็ดคะน้าที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ผิวแล้วมาแช่ลงใน suspension ของเชื้อราเอ็นโดไฟท์ โดยทำการแช่ทิ้งไว้ก่อนปลูก 24 ชั่วโมง

2.3 ทดสอบผลของเชื้อราเอ็นโดไฟท์ต่อการงอกของเมล็ดคะน้า นำเมล็ดคะน้าที่ปลูกด้วยเชื้อราเอ็นโดไฟท์ มาวางเพาะบนกระดาษชื้นในจานอาหาร โดยทำการทดสอบ 4 ซ้ำๆละ 100 เมล็ด หลังจากนั้น 5-7 วัน ทำการวัดผลโดยตรวจจากเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดคะน้า เพื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งไม่ได้ปลูกด้วยเชื้อราเอ็นโดไฟท์ จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาทำการวิเคราะห์ผลทางสถิติ

2.4 ทดสอบผลของเชื้อราเอ็นโดไฟท์ต่อการเจริญของกล้าคะน้า นำเมล็ดคะน้าที่ปลูกด้วยเชื้อราเอ็นโดไฟท์ ปลูกลงในกระบะบรรจุวัสดุเพาะ วางแผนการทดลองแบบ RCB โดยทำการทดลองกรรมวิธีละ 8 ซ้ำ ประเมินผลโดยเปรียบเทียบลักษณะการเจริญ น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง นำข้อมูลที่ได้มาทำการวิเคราะห์ผลทางสถิติ

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา 2 ปี เริ่มต้น เดือนตุลาคม 2551
สิ้นสุด เดือนกันยายน 2553

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช
โรงเรือนทดลองกลุ่มวิจัยโรคพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การแยกและจำแนกกลุ่มเชื้อราเอ็นโดไฟท์

เก็บตัวอย่างคะน้าและต้นพืชสมุนไพรที่ไม่แสดงอาการของโรค โดยตัวอย่างคะน้าเก็บจาก 2 พื้นที่ คือ จังหวัดกาญจนบุรี และจังหวัดนครปฐม แยกเชื้อราเอ็นโดไฟท์จากใบและลำต้นของ

ตัวอย่างคะน้าจากจังหวัดกาญจนบุรีและจังหวัดนครปฐม แยกได้ 23 และ 47 ไอโซเลท ตามลำดับ รวม 70 ไอโซเลท เชื้อราที่แยกได้สามารถจัดกลุ่มของเชื้อราได้เป็น 4 taxa คือ *Alternaria* spp., *Nigrospora* sp., *Pestalotiopsis* sp. และ Mycelia Sterilia คัดเลือกเชื้อราเอ็นโดไฟท์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราเอ็นโดไฟท์จำนวน 5 ไอโซเลท ได้แก่ *Nigrospora*1, *Nigrospora*2, *Nigrospora*3, *Alternaria*1 และ *Alternaria*2

เก็บตัวอย่างต้นพืชสมุนไพร ได้แก่ หญ้าหนวดแมว ตะไคร้ กะเพรา และฟ้าทะลายโจร จาก บ่อปลา ต.หนองปากโลง อ.เมือง จ.นครปฐม แยกเชื้อราเอ็นโดไฟท์จากใบและลำต้น ได้รวม 42 ไอโซเลท เชื้อราที่แยกได้สามารถจัดกลุ่มของเชื้อราได้เป็น 5 taxa ได้แก่ *Nigrospora* sp., Hyphomycetes, Coelomycetes, *Drechslera* sp. และ Mycelia Sterilia

2. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราเอ็นโดไฟท์ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชในระยะกล้า

จากการคัดเลือกเชื้อราเอ็นโดไฟท์ที่แยกได้จากต้นคะน้าที่มีอัตราการเจริญเร็วที่สุดจำนวน 5 ไอโซเลทได้แก่ *Nigrospora* sp. 3 ไอโซเลท (*Nigrospora*1, *Nigrospora*2 และ *Nigrospora*3) และ *Alternaria* sp. 2 ไอโซเลท (*Alternaria*1 และ *Alternaria*2) มาทำการทดสอบผลของเชื้อราเอ็นโดไฟท์ต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดคะน้า พบว่าเชื้อราเอ็นโดไฟท์ 4 ไอโซเลท ยกเว้น *Alternaria*1 มีเปอร์เซ็นต์ความงอกของต้นกล้าคะน้าไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ตารางที่ 1)

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราเอ็นโดไฟท์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของคะน้าในระยะต้นกล้าเมื่อวัดผลจากน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นกล้าพบว่า ต้นกล้าที่ปลูกด้วยเชื้อราเอ็นโดไฟท์ *Nigrospora*1 มีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งมากที่สุด เมื่อจำแนกชนิดของเชื้อราเอ็นโดไฟท์พบว่าคือ *Nigrospora sacchari* แต่ทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งไม่ได้ปลูกด้วยเชื้อราเอ็นโดไฟท์ (ตารางที่ 2 และ 3)

จากการคัดเลือกเชื้อราเอ็นโดไฟท์ที่แยกได้จากต้นพืชสมุนไพรที่มีอัตราการเจริญเร็วที่สุดจำนวน 6 ไอโซเลท ได้แก่ Mycelia Sterilia 5 ไอโซเลท และ *Drechslera halodes* 1 ไอโซเลท มาทำการทดสอบผลของเชื้อราเอ็นโดไฟท์ต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดคะน้า พบว่ามีเพียงเชื้อราเอ็นโดไฟท์ Mycelia Sterilia1 ที่มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์ความงอกเพิ่มขึ้น คือ 76.00 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์ความงอก 75.20 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4) และผล

ต่อการเจริญเติบโตของคะน้าในระยะต้นกล้า เมื่อวัดผลจากน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นกล้า พบว่า ต้นกล้าที่ปลูกด้วยเชื้อราเอ็นโดไฟท์ Mycelia sterilia 1,2,3 และ *Drechslera halodes* มีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นกล้ามากที่สุด แต่ทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ตารางที่ 5 และ6)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

แยกเชื้อราเอ็นโดไฟท์จากต้นคะน้าปกติที่ไม่มีการเข้าทำลายของโรคและแมลง ได้เชื้อราที่สามารถจัดกลุ่มเป็น 4 taxa คือ *Alternaria* spp., *Nigrospora* sp., *Pestalotiopsis* sp. และ Mycelia Sterilia และคัดเลือกเชื้อราเอ็นโดไฟท์ที่มีอัตราการเจริญเร็วที่สุดจำนวน 5 ไอโซเลท มาทำการทดสอบผลต่อความงอกของเมล็ดคะน้า พบว่าเชื้อราเอ็นโดไฟท์ 4 ไอโซเลท ยกเว้น *Alternaria*1 มีเปอร์เซ็นต์ความงอกไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และผลต่อการเจริญเติบโตของคะน้าในระยะต้นกล้า เมื่อวัดผลจากน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นกล้าพบว่า ต้นกล้าที่ปลูกด้วยเชื้อราเอ็นโดไฟท์ *Nigrospora sacchari* มีน้ำหนักมากที่สุด แต่ทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งไม่ได้ปลูกด้วยเชื้อราเอ็นโดไฟท์

แยกเชื้อราเอ็นโดไฟท์จากพืชสมุนไพรได้แก่ หญ้าหนวดแมว ตะไคร้ กะเพรา และฟ้าทะลายโจร ได้เชื้อราที่สามารถจัดกลุ่มเป็น 5 taxa ได้แก่ *Nigrospora* sp., Hyphomycetes, Coelomycetes, *Drechslera* sp. และ Mycelia Sterilia คัดเลือกเชื้อราเอ็นโดไฟท์ที่มีอัตราการเจริญเร็วที่สุดจำนวน 6 ไอโซเลท มาทำการทดสอบผลต่อความงอกของเมล็ดคะน้าพบว่ามีเพียงเชื้อราเอ็นโดไฟท์ Mycelia Sterilia1 ที่มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์ความงอกเพิ่มขึ้น คือ 76.00 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์ความงอก 75.20 เปอร์เซ็นต์ และผลต่อการเจริญเติบโตของคะน้าในระยะต้นกล้า เมื่อวัดผลจากน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นกล้าพบว่า ต้นกล้าที่ปลูกด้วยเชื้อราเอ็นโดไฟท์ Mycelia sterilia 1,2,3 และ *Drechslera halodes* มีน้ำหนักมากที่สุด แต่ทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

เชื้อราเอ็นโดไฟท์ที่ทดสอบแล้วว่ามีผลในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช แม้จากผลการทดลองจะพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุม แต่ควรมีการทดสอบซ้ำ เพื่อยืนยันผล และอาจนำเชื้อราเอ็นโดไฟท์ไอโซเลทอื่นๆ แม้มีอัตราการเจริญไม่เร็วเท่าเชื้อราเอ็นโดไฟท์ที่นำมาทดสอบก็อาจให้ผลในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชเช่นกัน

เอกสารอ้างอิง

Bacon, C.W., Porter, J.K., Robbins, J.D. and Luttrell, E.S. 1977. *Epichloe typhina* from toxic tall fescue grasses. Applied and Environmental Microbiology 34: 576-581.

Chanway, C.P. 1998. Bacterial endophytes: ecology and practical implication. Sydowia 50: 149-170.

Megan Saunders and Linda, M. Kohn. 2008. Host-synthesized secondary compounds influence the in vitro interactions between fungal endophytes of maize. Applied and Environmental Microbiology 74(1): 136-142.

Narisawa, K., Tokumasu, S. and Hashiba, T. 1998. Suppression of clubroot formation in Chinese cabbage by the root endophytic fungus, *Heteroconium chaetospira*. Plant Pathology 47: 206-210.

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดคะน้าที่ปลูกด้วยเชื้อราเอ็นโดไฟท์ชนิดต่างๆ ที่แยกได้จากต้นคะน้า

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์ความงอก[1]
ปลูกด้วย *Nigrospora*1	74.50 ab[2]
ปลูกด้วย *Nigrospora*2	74.00 a
ปลูกด้วย *Nigrospora*3	75.00 ab
ปลูกด้วย *Alternaria*1	74.30 ab
ปลูกด้วย *Alternaria*2	75.30 ab
ชุดควบคุม	75.80 b
CV (%)	1.4 %

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำๆ ละ 100 เมล็ด

[2] ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan Multiple Range Test ที่ความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 2เปรียบเทียบผลของเชื้อราเอ็นโดไฟท์ที่แยกได้จากต้นคะน้าต่อน้ำหนักสดของกล้าคะน้า

กรรมวิธี	น้ำหนักสด (กรัม)[1]
ปลูกด้วย *Nigrospora*1	2.64 a[2]
ปลูกด้วย *Nigrospora*2	2.21 a
ปลูกด้วย *Nigrospora*3	2.37 a
ปลูกด้วย *Alternaria*1	2.20 a
ปลูกด้วย *Alternaria*2	2.02 a
ชุดควบคุม	2.19 a
CV (%)	28.9 %

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 8 ซ้ำๆ ละ 2 ต้น

[2] ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan Multiple Range Test ที่ความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 3เปรียบเทียบผลของเชื้อราเอ็นโดไฟท์ที่แยกได้จากต้นคะน้าต่อน้ำหนักแห้งของกล้าคะน้า

กรรมวิธี	น้ำหนักแห้ง (กรัม)[1]
ปลูกด้วย *Nigrospora*1	0.43 a[2]
ปลูกด้วย *Nigrospora*2	0.34 a
ปลูกด้วย *Nigrospora*3	0.38 a
ปลูกด้วย *Alternaria*1	0.33 a
ปลูกด้วย *Alternaria*2	0.34 a
ชุดควบคุม	0.39 a
CV (%)	25.4 %

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 8 ซ้ำๆ ละ 2 ต้น

[2] ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan Multiple Range Test ที่ความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 4เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดคะน้าที่ปลูกด้วยเชื้อราเอ็นโดไฟท์ชนิดต่างๆ ที่แยกได้จากต้นพืชสมุนไพร

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์ความงอก[1]
ปลูกด้วย Mycelia Sterilia1	76.00 c[2]
ปลูกด้วย Mycelia Sterilia2	70.00 c
ปลูกด้วย Mycelia Sterilia3	72.00 c
ปลูกด้วย Mycelia Sterilia4	55.20 b
ปลูกด้วย Mycelia Sterilia5	37.60 a
ปลูกด้วย *Drechslera halodes*	74.40 c
ชุดควบคุม	75.20 c
CV (%)	15.5 %

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำๆ ละ 100 เมล็ด [2] ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan Multiple Range Test ที่ความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 5เปรียบเทียบผลของเชื้อราเอ็นโดไฟท์ที่แยกได้จากต้นพืชสมุนไพรต่อน้ำหนักสดของกล้าคะน้า

กรรมวิธี	น้ำหนักสด (กรัม)[1]
ปลูกด้วย Mycelia Sterilia1	6.82 d[2]
ปลูกด้วย Mycelia Sterilia2	10.55 e
ปลูกด้วย Mycelia Sterilia3	5.68 cd
ปลูกด้วย Mycelia Sterilia4	2.91 ab
ปลูกด้วย Mycelia Sterilia5	0.63 a
ปลูกด้วย *Drechslera halodes*	5.86 cd
ชุดควบคุม	3.90 bc
CV (%)	35.2 %

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 8 ซ้ำๆ ละ 4 ต้น [2] ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan Multiple Range Test ที่ความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 6เปรียบเทียบผลของเชื้อราเอ็นโดไฟท์ที่แยกได้จากต้นพืชสมุนไพรต่อน้ำหนักแห้งของกล้าคะน้า

กรรมวิธี	น้ำหนักแห้ง (กรัม)[1]
ปลูกด้วย Mycelia Sterilia1	0.71 c[2]
ปลูกด้วย Mycelia Sterilia2	0.64 bc
ปลูกด้วย Mycelia Sterilia3	0.61 abc
ปลูกด้วย Mycelia Sterilia4	0.44 ab
ปลูกด้วย Mycelia Sterilia5	0.40 a
ปลูกด้วย *Drechslera halodes*	0.69 c
ชุดควบคุม	0.56 abc
CV (%)	28.0 %

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 8 ซ้ำๆ ละ 4 ต้น

[2] ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan Multiple Range Test ที่ความเชื่อมั่น 95%

การศึกษาชนิดราไมคอร์ไรซ่ากล้วยไม้ใกล้สูญพันธุ์และการใช้ประโยชน์

Study on orchid mycorrhizae of endangered orchid species and utilization

พรพิมล อธิปัญญาคม สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ ชนินทร ดวงสอาด
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

สำรวจและเก็บรวบรวมกล้วยไม้จากจังหวัดกระบี่ ตาก อุบลราชธานี และกรุงเทพ ฯ ระหว่างเดือนตุลาคม 2552 – เดือนกันยายน 2553 จากกล้วยไม้ดิน 11 ชนิด และกล้วยไม้เกาะอาศัย ได้แก่ เอื้องปากนกแก้ว (*Dendrobium cruentum*) ซึ่งเป็นกล้วยไม้ที่มีรายงานว่าเป็นกล้วยไม้ใกล้สูญพันธุ์ แยกราไมคอร์ไรซาจากรากกล้วยไม้ บนอาหารวุ้นสังเคราะห์สูตร NDY (1/6) ผสมสารปฏิชีวนะ steptomycin และ tetracycline บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ ได้ราไมคอร์ไรซา จำนวน 51 isolates นอกนั้นเกิดการปนเปื้อนจากแบคทีเรีย 50 เปอร์เซ็นต์ จำแนกชนิดของราไมคอร์ไรซาจำนวนโดยศึกษารูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาของราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยศึกษาลักษณะและวัดขนาดของเส้นใย ลักษณะเส้นใยตั้งฉาก ลักษณะรูปร่าง ขนาดของ monilioid cell และจำนวนนิวเคลียสต่อเซลล์ พบว่าราทั้ง 51 isolates เป็น Bi nucleate ทั้งหมด และจำแนกได้ 2 ชนิด ได้แก่ *Rhizoctonia repens* และ *Rhizoctonia goodyerae-repentis*

คำนำ

ไมคอร์ไรซากล้วยไม้ (orchid mycorrhizae) เป็นราชนิดหนึ่งที่เจริญอยู่ร่วมกับรากกล้วยไม้ โดยมีความสัมพันธ์แบบเกื้อกูลเอื้อประโยชน์ซึ่งกันและกัน (symbiosis) โดยราสร้างเส้นใยเข้าไปในรากกล้วยไม้ เจริญอยู่ในเซลล์ชั้นคอร์เท็กซ์ สร้างโครงสร้างภายในเซลล์เรียกว่า peloton ราชนิดนี้ไม่ได้เข้าทำลายรากพืช แต่จะให้ธาตุอาหารแก่พืช เช่นธาตุคาร์บอน ซึ่งเป็นแหล่งให้พลังงานที่สำคัญกับพืชและช่วยส่งเสริมให้เมล็ดกล้วยไม้งอก (Hadley, 1982; Harley and Smith, 1983) ในทางตรงกันข้ามราสกุลนี้เป็นสาเหตุของโรคพืชหลายชนิดได้แก่ โรคใบติดของทุเรียนสาเหตุเกิดจาก *Rhizoctonia solani* โรคกาบใบแห้งของข้าว สาเหตุเกิดจาก *R. solani* เป็นต้น (Sneh *et al*., 1991) แต่สำหรับความสัมพันธ์กับพืชตระกูลกล้วยไม้แล้ว ราชนิดนี้มีความสัมพันธ์แบบเกื้อกูลเอื้อประโยชน์ซึ่งกันและกันระหว่างกล้วยไม้กับรา ในด้านช่วยส่งเสริมการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ เนื่องจากเมล็ดกล้วยไม้มีขนาดเล็กมาก มีอาหารสะสมในเมล็ดน้อยมากทำให้ไม่มีอาหารไปเลี้ยงในขณะที่กล้วยไม้งอก ดังนั้นเมล็ดกล้วยไม้บางชนิดจึงงอกยากหรือไม่งอกเลย แต่อย่างไรก็ตามในสภาพธรรมชาติพบว่ามีราไมคอร์ไรซาเจริญอยู่ในรากกล้วยไม้แบบ เกื้อกูลเอื้อประโยชน์ซึ่งกันและกัน และส่วนใหญ่เป็นราในสกุล *Rhizoctonia* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีความสัมพันธ์กับการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ช่วยให้เมล็ดกล้วยไม้สามารถงอกได้ โดยให้ธาตุอาหารและกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นกล้า (Clements, 1988)

กล้วยไม้เป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย เนื่องจากในแต่ละปีเรามีการส่งออกกล้วยไม้เป็นจำนวนมาก และในธรรมชาติมีจำนวนกล้วยไม้ทั้งหมดมากกว่า 25,000 ชนิด นอกจากนั้นยังมีสายพันธุ์ที่ถูกสร้างโดยมนุษย์อีกไม่น้อยกว่า 30,000 ชนิด มีผู้ผลิตกล้วยไม้เป็นการค้าทั้งภายในประเทศและต่างประเทศ ทำให้ผู้ประกอบการสามารถผลิตกล้วยไม้ได้เป็นจำนวนมาก และสามารถผสมพันธุ์กล้วยไม้พันธุ์ใหม่ที่มีความสวยงามมากขึ้น อย่างไรก็ตามในสภาพธรรมชาติได้มีการลักลอบนำกล้วยไม้ออกจากป่าเพื่อนำมาขายโดยไม่คำนึงถึงสมดุลทางธรรมชาติ ซึ่งทำให้กล้วยไม้ในป่าลดลงเป็นจำนวนมาก บางพันธุ์ใกล้สูญพันธุ์ บางพันธุ์สูญพันธุ์ไป และบางพันธุ์ขยายพันธ์ยาก และเนื่องจากเมล็ดกล้วยไม้มีขนาดเล็กมาก จึงเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เมล็ดกล้วยไม้งอกยาก ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญต่อการขยายพันธุ์กล้วยไม้ แต่โดยธรรมชาติมีเชื้อราชนิดหนึ่งเจริญอยู่ร่วมกับรากกล้วยไม้เรียกว่าราไมคอร์ไรซากล้วยไม้ ซึ่งราจะช่วยให้เมล็ดกล้วยไม้งอกโดยให้ ธาตุอาหาร น้ำตาล และคาร์โบไฮเดรตแก่เมล็ดกล้วยไม้เพื่อการเจริญเติบโตเป็นต้นอ่อน

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างราก ได้แก่ พลั่ว กรรไกรตัดแต่งกิ่ง และภาชนะเก็บราก
2. สารเคมีได้แก่ สารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ : สารละลายคลอร็อกซ์ แอธิลแอลกอฮอล์ 75%

3. อาหารวุ้นสังเคราะห์

4. อุปกรณ์เครื่องแก้ว และอุปกรณ์ในการแยกเชื้อ

5. กล้องจุลทรรศน์แบบ compound และ stereo พร้อมอุปกรณ์ถ่ายภาพ

วิธีการ

1. เก็บตัวอย่างรากกล้วยไม้

เก็บรากกล้วยไม้ดินที่ปลูกในกระถาง และปลูกในดิน จากแหล่งต่าง ๆ ในภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคใต้ โดยตัดรากห่อกระดาษ ใส่ถุงพลาสติค และบันทึกรายละเอียดชนิดกล้วยไม้ แหล่งที่เก็บ และวันที่เก็บ เก็บบรรจุรากกล้วยไม้ห่อตัวอย่างลงในกล่องเก็บความเย็น เพื่อนำมาทำการแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ

2. การแยกราจากเส้นใยที่เจริญอยู่ในชั้นคอร์เท็กซ์ของรากกล้วยไม้

แยกราไมคอร์ไรซาจากรากกล้วยไม้ โดยทำความสะอาดรากกล้วยไม้ แช่ชิ้นส่วนรากในสารละลายคลอร็อกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที ล้างด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง และนำชิ้นส่วนรากมาตัดเป็นชิ้นบาง ๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo ในตู้ปลอดเชื้อ แยกเส้นใยราที่เจริญอยู่รวมกันในชั้นคอร์เท็กซ์ของรากกล้วยไม้ มาวางบนอาหารวุ้นสังเคราะห์สูตร NDY (1/6) ผสมสารปฏิชีวนะ steptomycin และ tetracycline บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ เป็นเวลา 3-10 วัน ใช้เข็มปลายแหลมตัดปลายเส้นใยมาวางบนอาหาร PDA บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ

3. การจำแนกราไมคอร์ไรซา

3.1 ลักษณะของราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ สีของโคโลนีด้านบนและด้านล่างอาหารเลี้ยงเชื้อ รวมทั้งการสร้างเม็ด sclerotium

3.2 ศึกษารูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาของราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo และ light microscope โดยศึกษาลักษณะและวัดขนาดของเส้นใย ลักษณะเส้นใยตั้งฉาก ลักษณะรูปร่างและขนาดของ monilioid cell ของราที่เจริญบนอาหาร และ การสร้าง sclerotiumถ่ายภาพราจากกล้องจุลทรรศน์แบบ compound เปรียบเทียบลักษณะของราดังกล่าวกับคู่มือการจัดจำแนกชนิดรา (Moore, 1987; Sneh *et al.,* 1991; Roberts, 1999)

3.3 ศึกษาจำนวนนิวเคลียสต่อหนึ่งเซลล์โดยการย้อมสีด้วย Safranin O (Bandoni, 1979)

เวลาและสถานที่

เวลา: ตุลาคม 2552 – กันยายน 2553

สถานที่: - แหล่งพืชธรรมชาติ

- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. เก็บตัวอย่างรากกล้วยไม้

จากสำรวจและเก็บรวบรวมกล้วยไม้จากจังหวัดกระบี่ ตาก อุบลราชธานี และกรุงเทพ ฯ ระหว่างเดือนตุลาคม 2552 – เดือนกันยายน 2553 จากกล้วยไม้ดิน 11 ชนิด และกล้วยไม้เกาะอาศัย ได้แก่ เอื้องปากนกแก้ว (*Dendrobium cruentum*) ซึ่งเป็นกล้วยไม้ที่มีรายงานว่าเป็นกล้วยไม้ใกล้สูญพันธุ์

2. การแยกราจากเส้นใยที่เจริญอยู่ในชั้นคอร์เท็กซ์ของรากกล้วยไม้

แยกราไมคอร์ไรซาจากราก บนอาหารวุ้นสังเคราะห์สูตร NDY (1/6) ผสมสารปฏิชีวนะ steptomycin และ tetracycline บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ เป็นเวลา 3-10 วัน ใช้เข็มปลายแหลมตัดปลายเส้นใยมาวางบนอาหาร PDA ได้ราไมคอร์ไรซา จำนวน 51 isolates นอกนั้นเกิดการปนเปื้อนจากแบคทีเรีย 50 เปอร์เซ็นต์

2. การจำแ นกราไมคอร์ไรซา

จำแนกชนิดของราไมคอร์ไรซาจำนวน 51 isolates โดยศึกษารูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาของราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo และ light microscope โดยศึกษาลักษณะและวัดขนาดของเส้นใย ลักษณะเส้นใยตั้งฉาก ลักษณะรูปร่างและขนาดของ monilioid cell เปรียบเทียบลักษณะของรา ดังกล่าวกับคู่มือการจัดจำแนกชนิดรา (Moore, 1987; Sneh *et al.,* 1991; Roberts, 1999) จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าราทั้ง 51 isolates เป็น Bi nucleate ทั้งหมด และจำแนกราได้ 2 ชนิด ได้แก่ *Rhizoctonia repens* และ *Rhizoctonia goodyerae-repentis*

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจและเก็บรวบรวมกล้วยไม้ในจังหวัดกระบี่ ตาก อุบลราชธานี และกรุงเทพ ฯ ระหว่างเดือนตุลาคม 2552 – เดือนกันยายน 2553 จากกล้วยไม้ดิน 11 ชนิด และกล้วยไม้เกาะอาศัย ได้แก่ เอื้องปากนกแก้ว (*Dendrobium cruentum*) ได้ราไมคอร์ไรซา จำนวน 51 isolates นอกนั้นเกิดการปนเปื้อนจากแบคทีเรีย 50 เปอร์เซ็นต์ จำแนกชนิดของราไมคอร์ไรซาได้รา 2 ชนิด ได้แก่ *Rhizoctonia repens* และ *Rhizoctonia goodyerae-repentis*

เอกสารอ้างอิง

Bandoni, R.J. 1979. Safranin as a rapid nuclear strain for fungi. Mycologia 71: 873-847.

Clements, M.A. 1988. Orchid mycorrhizal associations. Lindleyana 3 : 73-86.

Hadley, G. 1970. Non-specificity of symbiotic infection in orchid mycorrhiza. New Phytol. 69 ; 1015

Hadley, G. 1982. Orchid mycorrhiza, (pp. 81-118) *In* J. Arditti, ed. Orchid Biology : Reviews and Prespective, II. Cornell University Press, Ithaca, New York.

Harley, J.L. and S.E. Smith. 1983. Mycorrhizal Symbiosis. London. Academic Press. 483 pp..

Moore, R. T. 1987. The genera of *Rhizoctonia* – like fungi : *Ascorhizoctonia*, C*eratorhiza* gen. Nov., *Epulorhiza* gen. Nov., *Moniliopsis* and *Rhizoctonia*. Mycotaxon 29 : 91-99.

Sneh, B.,L. Burpee and A. Ogoshi. 1991. Identification of *Rhizoctonia* Species. APS Press. 133 pp.

ศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาเชื้อแบคทีเรีย *Erwinia carotovora*

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล ดารุณี ปุญญพิทักษ์ สุรีย์พร บัวอาจ

1/ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

นำเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Erwinia carotovora* จำนวน 10 ไอโซเลท ที่มีลักษณะโคโลนีกลมตรงกลางนูนขึ้นเล็กน้อยคล้ายไข่ดาว สีขาวขุ่น มีคุณสมบัติทางชีวเคมีตาม Bergey's manual of Determinative Bacteriology (1974) มาทดสอบวิธีการเก็บรักษาวิธีต่างๆ จำนวน 8 วิธี โดยมีวางแผนการทดลองแบบ CRD มี 8 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ ทำการตรวจสอบความอยู่รอดของเชื้อแบคทีเรียและความบริสุทธิ์ ทุก 3 เดือน บันทึกลักษณะโคโลนี ความมีชีวิตของเชื้อแบคทีเรีย และอัตราการเจริญเติบโตในแต่ละกรรมวิธี ผลการทดลองพบว่า เชื้อแบคทีเรีย *E. carotovora* จำนวน 10 ไอโซเลท เก็บไว้ด้วยวิธีต่างๆ ทั้ง 8 วิธีเป็นเวลา 36 เดือนยังคงมีชีวิตอยู่ ทั้ง 10 ไอโซเลทที่มีลักษณะโคโลนีและคุณสมบัติทางชีวเคมีตรงตามเดิมทุกประการ

รหัสโครงการ..... 09-02-49-02-01-07-01-51

คำนำ

วิธีการเก็บรักษาเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชมีหลายวิธีการ ได้แก่ การเก็บรักษาไว้ภายใต้น้ำมัน (Zensen et al. 1944, และ Graham, 1952) วิธีเก็บไว้ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ซึ่งมีรายงานว่าสามารถเก็บไว้ได้นาน 2-3 ปี (Devay et al. 1963, Kelman and Person, 1961) เก็บด้วยวิธี 15 % glycerol ใน Deep freezing (Quadling, 1960, Sleemsman and Leben, 1978) วิธีการนี้ส่วนใหญ่ใช้ในเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช Quadling (1960) ได้รายงานสามารถเก็บรักษาเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *phascoli* และ *Erwinia* spp และ *Pseudomonas* spp. ไว้ได้นาน 18 เดือนที่อุณหภูมิ –20°C Sleesman and Leben (1978) รายงานการเก็บรักษาเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชได้ 2 ถึง 3 ปีที่อุณหภูมิ –70°C และวิธี Lyophilization เป็นวิธีการเก็บรักษาเชื้อที่ใช้ในการเก็บระยะยาว (long-term preservation) (Dhimgra and Simclair, 1985) ได้มีรายงานวิธีการ Lyophilization สามารถเก็บรักษาเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชได้เป็นระยะเวลามากกว่า 10 ปี (Proom and Hemmon, 1949, Stark and Herrington, 1931)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1.อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อชนิดปลอดเชื้อ ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ตู้เย็นสำหรับเก็บตัวอย่าง หม้อนึ่งความดันไอ เครื่องเขย่าชนิดควบคุมอุณหภูมิ เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ตู้อบ (oven) อุปกรณ์การแยกเชื้อแบคทีเรีย

2. เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่นๆที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องชั่ง, pH meter เป็นต้น

3.สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

วิธีการ

ทดสอบวิธีการเก็บรักษาเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Erwinia carotovora* วิธีต่างๆ จำนวน 8 วิธี ทำการวางแผนการทดลองแบบ CRD มี 8 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 เก็บไว้ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิห้อง

กรรมวิธีที่ 2 เก็บไว้ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ10 °C

กรรมวิธีที่ 3 เก็บภายใต้น้ำมัน ที่อุณหภูมิห้อง

กรรมวิธีที่ 4 เก็บภายใต้น้ำมัน ที่อุณหภูมิ10 °C

กรรมวิธีที่ 5 เก็บภายใต้เหยือกแข็ง – 20 °C โดยเติมสาร glycerol จำนวน 10 %

กรรมวิธีที่ 6 เก็บภายใต้เหยือกแข็ง – 20 °C โดยเติมสาร glycerol จำนวน 50 %

กรรมวิธีที่ 7 เก็บภายใต้เหยือกแข็ง – 80 °C โดยเติมสาร glycerol จำนวน 10 %

กรรมวิธีที่ 8 เก็บภายใต้เหยือกแข็ง – 80 °C โดยเติมสาร glycerol จำนวน 50 %

ขั้นตอนและวิธีการวิจัย ดำเนินการตามขั้นตอนต่อไปนี้

1. ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสายพันธุ์เชื้อ *Erwinia carotovora* จำนวน 10 สายพันธุ์ ที่แยกได้จากพืชตระกูลกระหล่ำ และตระกูลผักกาด

2. เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดในอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato semisynthetic agar (PSA) ให้ได้โคโลนีเดี่ยวอายุ 48 ชั่วโมง

3. เก็บรักษาด้วยวิธีการต่างๆตามกรรมวิธีทดลอง

4. ตรวจสอบความอยู่รอดของเชื้อแบคทีเรียที่ทดสอบในทุกๆกรรมวิธี ทุก 3 เดือน โดยในกรรมวิธีที่เก็บภายใต้เหยือกแข็งเมื่อนำออกมาต้องแช่ในน้ำแข็งไว้ตลอดเพื่อให้อุณหภูมิไม่เปลี่ยนแปลงฉับพลัน ค่อยๆเย็นลง

5. บันทึกลักษณะโคโลนี ความมีชีวิตของเชื้อแบคทีเรีย และอัตราการเจริญเติบโตในแต่ละกรรมวิธี

เวลาและสถานที่

ต.ค.50 – ก.ย.53 ที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

นำเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Erwinia carotovora* จำนวน 10 ไอโซเลท (ตารางที่ 1) ที่มีลักษณะโคโลนีกลม ตรงกลางนูนขึ้นเล็กน้อยคล้ายไข่ดาว สีขาวขุ่น มีคุณสมบัติทางชีวเคมีตาม Bergey's manual of Determinative Bacteriology (1974) (ตารางที่ 2 และ 3) มาทดสอบวิธีการเก็บรักษาวิธีต่างๆ จำนวน 8 วิธี โดยมีวางแผนการทดลองแบบ CRD มี 8 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ ทำการตรวจสอบความอยู่รอดของเชื้อแบคทีเรียและความบริสุทธิ์ ทุก 3 เดือน บันทึกลักษณะโคโลนี ความมีชีวิตของเชื้อแบคทีเรีย และอัตราการเจริญเติบโตในแต่ละกรรมวิธี ผลการทดลองพบว่า เชื้อแบคทีเรีย *E. carotovora* จำนวน 10 ไอโซเลท เก็บไว้ด้วยวิธีต่างๆ ทั้ง 8 วิธีเป็นเวลา 36 เดือนยังคงมีชีวิตอยู่ทั้ง 10 ไอโซเลทที่มีลักษณะโคโลนีและคุณสมบัติทางชีวเคมีตรงตามเดิมทุกประการ (ตารางที่ 3, 4 และ 5)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Erwinia carotovora* จำนวน 10 ไอโซเลท เมื่อนำมาศึกษาวิธีการเก็บรักษาวิธีต่างๆ จำนวน 8 วิธี พบว่า เก็บไว้ด้วยวิธีต่างๆ ทั้ง 8 วิธีเป็นเวลา 36 เดือนยังคงมีชีวิตอยู่ ทั้ง 10 ไอโซเลทที่มีลักษณะโคโลนีและคุณสมบัติทางชีวเคมีตรงตามเดิมทุกประการ

เอกสารอ้างอิง

Correll, J.C., J.E. Puhalla, and R.W. Schneider. 1986. Identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *apii* on the Basis of Colony Size, Virulence, and Vegetative Compatibility. Phytopathology. 76 (4) : 396-400.

Goldie-Smith, E.K.1956. Maintenance of stock Cultures of aquatic fungi. Journal of the Elisha Mitchell Scientific Society.72:158-166.

Manoch, L., and S. Piriyaprin. 1993. Isolating fungi from soil and other organic materials. pp. 69-89. *In* Application of Soil Microorganism in Planting Stock Production. Training Course Proceeding No. 3. Muak-Lek, Saraburi, Thailand.

Marx, D.H. and W.J. Daniel. 1976. Maintaining cultures of Ectomycorrhizal and plant pathogenic fungi in sterile cold water storage. Can. J. Microbiol. 22:338 – 341.

Smith, S. and Agies H.S. Onions. 1983. The Preservation and Maintenance of Living Fungi. Commonwealth Mycological Institute,. Furry Lane Kew, Richmond, Serrey, England. 51 p. No. 54, 53-57.

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.

Tolley P.W., 1993. Simple Liquid Nitrogen Storage Method update for *Phytophthora* species. *Phytophthora* New letler19 (13).

Zentmyer, G.A. 1980. *Phytophthora cinnamomi* and Disease It cause, Monograph No.10, The American *Phytopathological* Socicty, Minnesota. 96 p.

ตารางที่ 1 เชื้อแบคทีเรีย *Erwinia carotovora* ที่ใช้ศึกษาในครั้งนี้

ชนิด/สายพันธุ์	พืชอาศัย	แหล่งที่มา
1. 258	กวางตุ้ง	กรุงเทพฯ
2. 263	หัวไชเท้า	เชียงราย
3. 598	กะหล่ำดอก	เชียงใหม่
4. 599	กะหล่ำดอก	เชียงใหม่
5. 600	กะหล่ำสีม่วง	เชียงใหม่
6. 601	บลอคโคลี่	เชียงใหม่
7. 603	กะหล่ำดอก	เชียงใหม่
8. 1180	กะหล่ำปลี	.กาญจนบุรี
9. 1418	ผักกาดขาวปลี	ตาก
10. 1690	กวางตุ้ง	ชลบุรี

ตารางที่ 2 Cultural, Physiological and biochemical characteristics of *Erwinia carotovora*

Test	*Erwinia carotovora* isolates									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Motility	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Anaerobic growth	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pink diffusible pigment	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Blue pigment	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Yellow pigment	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mucoid growth	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth at 36°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H_2S from cysteine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Reducing substance from sucrose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acetoin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Urease	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pectate degradation	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gluconate oxidation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gas from D-glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Casein hydrolysis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth in KCN broth	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gelatin liquefaction	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Phenylalanine deaminase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
indole	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nitrate reduction	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Growth in 5% NaCl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Deoxyribonuclease	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Phosphatease	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lecithinase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sensitivity to erythromycin (15ug/disk)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

ตารางที่ 3 Utilization of some organic compounds as a source of carbon and energy of *Erwinia carotovora*

organic compounds	*Erwinia carotovora* isolates									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Citrate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Formate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tartrate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Malonate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

ตารางที่ 4 ผลการตรวจสอบความอยู่รอดของเชื้อแบคทีเรีย ลักษณะโคโลนี และคุณสมบัติทางชีวเคมี ของแบคทีเรีย *Erwinia carotovora*ในแต่ละกรรมวิธี เป็นเวลา 12 เดือน

กรรมวิธี[1/]	3 เดือน																													
	การมีชีวิต[2/]										ลักษณะโคโลนี [3/]										Biochemical characteristics[4/]									
	ไอโซเลท[5/]										ไอโซเลท										ไอโซเลท									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

1/กรรมวิธีที่ 1 เก็บไว้ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิห้อง กรรมวิธีที่ 2 เก็บไว้ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ10 °C กรรมวิธีที่ 3 เก็บภายใต้น้ำมัน ที่อุณหภูมิห้อง

กรรมวิธีที่ 4 เก็บภายใต้น้ำมัน ที่อุณหภูมิ10 °C กรรมวิธีที่ 5 เก็บภายใต้เหยือกแข็ง – 20 °C โดยเติมสาร glycerol จำนวน 10 % กรรมวิธีที่ 6 เก็บภายใต้เหยือกแข็ง – 20 °C โดยเติมสาร glycerol จำนวน 50 %

กรรมวิธีที่ 7 เก็บภายใต้เหยือกแข็ง – 80 °C โดยเติมสาร glycerol จำนวน 10 % กรรมวิธีที่ 8 เก็บภายใต้เหยือกแข็ง – 80 °C โดยเติมสาร glycerol จำนวน 50 %

2/ การมีชีวิตของ *Erwinia carotovora :* + มีชีวิต; - ไม่มีชีวิต

3/ ลักษณะโคโลนีช S เหมือนเดิม (ลักษณะโคโลนีกลม ตรงกลางนูนขึ้นเล็กน้อยคล้ายไข่ดาว สีขาวขุ่น) ; NS ไม่เหมือนเดิม (เปลียนแปลงไปจากเดิม)

4/ Biochemical characteristics: S เหมือนเดิม (ลักษณะโคโลนีกลม ตรงกลางนูนขึ้นเล็กน้อยคล้ายไข่ดาว สีขาวขุ่น) ; NS ไม่เหมือนเดิม (เปลียนแปลงไปจากเดิม)

5/ ไอโซเลท ของ *Erwinia carotovora* :ตามตารางที่ 1

ตารางที่ 5 ผลการตรวจสอบความอยู่รอดของเชื้อแบคทีเรีย ลักษณะโคโลนี และคุณสมบัติทางชีวเคมี ของแบคทีเรีย *Erwinia carotovora*ในแต่ละกรรมวิธี เป็นเวลา 24 เดือน

กรรมวิธี[1/]	24 เดือน																													
	การมีชีวิต[2/]										ลักษณะโคโลนี [3/]										Biochemical characteristics[4/]									
	ไอโซเลท[5/]										ไอโซเลท										ไอโซเลท									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

1/กรรมวิธีที่ 1 เก็บไว้ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิห้อง กรรมวิธีที่ 2 เก็บไว้ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ10 °C กรรมวิธีที่ 3 เก็บภายใต้น้ำมัน ที่อุณหภูมิห้อง

กรรมวิธีที่ 4 เก็บภายใต้น้ำมัน ที่อุณหภูมิ10 °C กรรมวิธีที่ 5 เก็บภายใต้เหยือกแข็ง – 20 °C โดยเติมสาร glycerol จำนวน 10 % กรรมวิธีที่ 6 เก็บภายใต้เหยือกแข็ง – 20 °C โดยเติมสาร glycerol จำนวน 50 %

กรรมวิธีที่ 7 เก็บภายใต้เหยือกแข็ง – 80 °C โดยเติมสาร glycerol จำนวน 10 % กรรมวิธีที่ 8 เก็บภายใต้เหยือกแข็ง – 80 °C โดยเติมสาร glycerol จำนวน 50 %

2/ การมีชีวิตของ *Erwinia carotovora :* + มีชีวิต; - ไม่มีชีวิต

3/ ลักษณะโคโลนีซ S เหมือนเดิม (ลักษณะโคโลนีกลม ตรงกลางนูนขึ้นเล็กน้อยคล้ายไข่ดาว สีขาวขุ่น) ; NS ไม่เหมือนเดิม (เปลียนแปลงไปจากเดิม)

4/ Biochemical characteristics: S เหมือนเดิม (ลักษณะโคโลนีกลม ตรงกลางนูนขึ้นเล็กน้อยคล้ายไข่ดาว สีขาวขุ่น) ; NS ไม่เหมือนเดิม (เปลียนแปลงไปจากเดิม)

5/ ไอโซเลท ของ *Erwinia carotovora* :ตามตารางที่ 1

ตารางที่ 6 ผลการตรวจสอบความอยู่รอดของเชื้อแบคทีเรีย ลักษณะโคโลนี และคุณสมบัติทางชีวเคมี ของแบคทีเรีย *Erwinia carotovora*ในแต่ละกรรมวิธี เป็นเวลา 36 เดือน

กรรมวิธี[1/]	36 เดือน																													
	การมีชีวิต[2/]										ลักษณะโคโลนี [3/]										Biochemical characteristics[4/]									
	ไอโซเลท[5/]										ไอโซเลท										ไอโซเลท									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

1/กรรมวิธีที่ 1 เก็บไว้ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิห้อง กรรมวิธีที่ 2 เก็บไว้ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ10 °C กรรมวิธีที่ 3 เก็บภายใต้น้ำมัน ที่อุณหภูมิห้อง

กรรมวิธีที่ 4 เก็บภายใต้น้ำมัน ที่อุณหภูมิ10 °C กรรมวิธีที่ 5 เก็บภายใต้เหยือกแข็ง – 20 °C โดยเติมสาร glycerol จำนวน 10 % กรรมวิธีที่ 6 เก็บภายใต้เหยือกแข็ง – 20 °C โดยเติมสาร glycerol จำนวน 50 %

กรรมวิธีที่ 7 เก็บภายใต้เหยือกแข็ง – 80 °C โดยเติมสาร glycerol จำนวน 10 % กรรมวิธีที่ 8 เก็บภายใต้เหยือกแข็ง – 80 °C โดยเติมสาร glycerol จำนวน 50 %

2/ การมีชีวิตของ *Erwinia carotovora :* + มีชีวิต; - ไม่มีชีวิต

3/ ลักษณะโคโลนีซ S เหมือนเดิม (ลักษณะโคโลนีกลม ตรงกลางนูนขึ้นเล็กน้อยคล้ายไข่ดาว สีขาวขุ่น) ; NS ไม่เหมือนเดิม (เปลียนแปลงไปจากเดิม)

4/ Biochemical characteristics: S เหมือนเดิม (ลักษณะโคโลนีกลม ตรงกลางนูนขึ้นเล็กน้อยคล้ายไข่ดาว สีขาวขุ่น) ; NS ไม่เหมือนเดิม (เปลียนแปลงไปจากเดิม)

5/ ไอโซเลท ของ *Erwinia carotovora* :ตามตารางที่ 1

การอนุรักษ์จุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช: ศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาเชื้อรา *Colletotrichum* spp.

Conservation of Plant Pathogens Microorganisms: Preservation Technique for *Colletotrichum* spp.

ธารทิพย ภาสบุตร อภิรัชต์ สมฤทธิ์ ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี พรพิมล อธิปัญญาคม
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษารา *Colletotrichum* spp. โดยทำการเก็บรักษารา *Colletotrichum* spp. ที่เป็นสาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก ได้แก่รา *C. gloeosporioides* 5 ไอโซเลท และรา *C. capsici* 5 ไอโซเลท ด้วยวิธีการเก็บรักษา 6 วิธี คือ การเก็บรักษาในสภาพแห้งบนกระดาษกรอง การเก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ การเก็บรักษาในสภาพแห้งบนซิลิกาเจล การเก็บรักษาในน้ำมันพาราฟิน การเก็บรักษาในกลีเซอรอล 10 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส และการเก็บรักษาในสภาพแห้งสุญญากาศ เมื่อครบระยะการเก็บรักษาเป็นเวลา 2 4 6 และ 8 เดือน นำราที่เก็บรักษาไว้มาตรวจความมีชีวิต การปนเปื้อน การสร้างโคนิเดียและความสามารถในการทำให้พืชเกิดโรค พบว่า วิธีการเก็บรักษาในสภาพแห้งบนกระดาษกรองและการเก็บรักษาใน กลีเซอรอล 10 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เป็นวิธีการเก็บรักษาที่ดีที่สุดสำหรับรา *C. gloeosporioides* และรา *C. capsici* 10 ไอโซเลทที่นำมาเก็บรักษา ราสามารถคงความมีชีวิตอยู่ได้ สร้างโคนิเดียได้ดี พบการปนเปื้อนน้อยที่สุด และจากการทดสอบความสามารถในการทำให้พืชเกิดโรค พบว่ารา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* ทุกไอโซเลทที่นำมาปลูกเชื้อยังสามารถทำให้พืชเกิดโรคได้ รองลงมาคือ การเก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ การเก็บรักษาในสภาพแห้งสุญญากาศ การเก็บรักษาในน้ำมันพาราฟินและการเก็บรักษาในสภาพแห้งบนซิลิกาเจล ตามลำดับ

รหัสการทดลอง 09-02-49-02-01-07-02-51

คำนำ

ราสกุล *Colletotrichum* จัดเป็นราสาเหตุโรคพืชที่มีความสำคัญ เพราะสามารถก่อให้เกิดโรคแอนแทรคโนส (anthracnose) กับพืชหลายชนิด สามารถเข้าทำลายได้เกือบทุกส่วนของพืช ตั้งแต่ต้นกล้า ใบ ก้านใบ ลำต้น ดอก ผล และมีพืชอาศัยกว้าง (วิรัช และคณะ, ๒๕๒๘) ราสกุล *Colletotrichum* มีหลายชนิด (species) ที่สำคัญได้แก่ *Colletotrichum gloeosporioides* และ *C. capsici* ราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสหรือโรคกุ้งแห้งของพริก พริกเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ทำรายได้ให้เกษตรกรผู้ปลูกอย่างมากและมีการส่งออกไปขายยังต่างประเทศ แต่ในการปลูกพริกเกษตรกรมักประสบปัญหาการระบาดของโรค ทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้นเนื่องจากต้องเสียค่าใช้จ่ายในการป้องกันกำจัดโรคเป็นจำนวนมาก

การศึกษาวิธีการเก็บรักษาเชื้อราสาเหตุโรคพืชหรือราที่มีประโยชน์ทางการเกษตร เพื่อให้ทราบวิธีการเก็บรักษาที่เหมาะสม วัตถุประสงค์ก็เพื่อเก็บรักษาให้รามีชีวิตรอดอยู่ได้เป็นระยะเวลายาวนาน สามารถนำกลับมาใช้ได้ตลอดระยะเวลาที่ทำการศึกษาวิจัย โดยยังคงความบริสุทธิ์ปราศจากการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ชนิดอื่น เพื่อที่จะทำการศึกษาเชื้อราเหล่านั้นเพิ่มเติมได้โดยไม่ต้องออกไปเก็บตัวอย่างและแยกเชื้อใหม่อยู่เสมอ วิธีการเก็บรักษาเชื้อรามีหลายวิธีขึ้นอยู่กับชนิดของรา แต่มีหลักการสำคัญคือ การหยุดหรือลดการเจริญเติบโตของเชื้อโดยควบคุมปัจจัยที่จำเป็นในการเจริญเช่น การจำกัดอากาศ อุณหภูมิ สารอาหารและน้ำ การเก็บรักษาแต่ละวิธีต้องทำให้เชื้อยังมีชีวิตรอดอยู่มากที่สุด คงลักษณะเดิมมากที่สุด และไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางพันธุกรรม การเก็บรักษาเชื้อราที่นิยมได้แก่ การเก็บโดยเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ การเก็บภายใต้น้ำมันแร่หรือน้ำมันพาราฟิน การเก็บในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ การเก็บในสภาพแห้งเช่น เก็บในดิน เก็บในซิลิกาเจล เก็บบนกระดาษกรองนึ่งฆ่าเชื้อ การเก็บในสภาพเย็นยิ่งยวด และการเก็บในสภาพแห้งสุญญากาศ เป็นต้น (Smith and Onion, 1994)

ดังนั้นการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาราในสกุล *Colletotrichum* เช่น *Colletotrichum gloeosporioides* และ *C. capsici* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก ให้มีชีวิตรอดอยู่ได้เป็นระยะเวลายาวนานโดยยังคงความบริสุทธิ์ปราศจากการปนเปื้อนจึงเป็นสิ่งจำเป็น วัตถุประสงค์เพื่อให้สามารถนำกลับมาศึกษาวิจัยใหม่ได้ เช่น การนำมาศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของรา ศึกษาความสามารถในการก่อโรคและความรุนแรงของโรค รวมทั้งการนำมาทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช เป็นต้น นอกจากนี้การศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาราในครั้งนี้ยังทำให้ได้สายพันธุ์รา เก็บไว้ในหน่วยเก็บรักษาจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช เพื่อประโยชน์ในการเป็นแหล่งให้บริการสายพันธุ์ราแก่ นิสิตนักศึกษา 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. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง กล้องถ่ายภาพและอุปกรณ์ต่างๆ ในห้องปฏิบัติการ
4. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส
5. ตู้แช่แข็ง -80 องศาเซลเซียส
6. ซิลิกาเจล (silica gel เกรด 40 ขนาด 6-12 mesh)
7. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส
8. ตู้แช่แข็ง -80 องศาเซลเซียส
9. เครื่อง Freeze Dryer

วิธีการ

1. **การเก็บตัวอย่างพืชที่เป็นโรค**

เก็บรวบรวมตัวอย่างพืชที่เป็นโรคแอนแทรคโนสจากแหล่งปลูกในประเทศไทย บันทึกข้อมูลของสถานที่ที่เก็บตัวอย่าง และศึกษาลักษณะอาการของโรค

2. **การแยกรา *Colletotrichum* spp. ออกจากพืชที่เป็นโรค**

2.1 วิธีการเพาะเชื้อในที่ชื้น (Moist chamber method)

นำชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรควางบนกระดาษกรองที่ชุ่มน้ำในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 วัน จากนั้นนำมาตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ เมื่อราสร้างกลุ่มโคนิเดียแล้ว เขี่ยกลุ่มโคนิเดียจากชิ้นส่วนพืชนำไปแยกเชื้อให้บริสุทธิ์โดยการทำสปอร์เดี่ยว

2.2 วิธีการตัดเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Tissue transplanting method)

ตัดชิ้นส่วนพืชระหว่างส่วนที่เป็นโรคและส่วนปกติให้มี ขนาด 3 x 3 มิลลิเมตร ฆ่าเชื้อบริเวณผิวของชิ้นส่วนพืชด้วยคลอรอกซ์ (Clorox) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 นาที วางชิ้นส่วนพืชลงบนอาหาร WA ในจานเลี้ยงเชื้อ จากนั้นนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อไปไว้ใต้แสงฟลูออเรสเซนต์และแสง NUV (Near Ultraviolet) ที่ตั้งเวลาเปิดแสง 12 ชั่วโมงสลับกับปิดแสง 12 ชั่วโมง ในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน เมื่อเส้นใยเจริญออกมาตัดปลายเส้นใยย้ายไปเลี้ยงในจานอาหาร PDA แล้วนำไปไว้ใต้แสงฟลูออเรสเซนต์และแสง NUV ที่ตั้งเวลาเปิดแสง 12 ชั่วโมงสลับกับปิดแสง ชั่วโมง ในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเช่นเดียวกัน เป็นเวลา 7 วันหรือจนกระทั่ง

ราสร้างกลุ่มโคนิเดีย จากนั้นนำมาเขี่ยกลุ่มโคนิเดียออกจากอาหารเพื่อนำไปทำให้บริสุทธิ์อีกครั้งโดยการทำสปอร์เดี่ยว

3. การเลี้ยงราให้บริสุทธิ์โดยการทำสปอร์เดี่ยว (Single spore technique)

เขี่ยกลุ่มโคนิเดียของรา ลงในหลอดแก้วที่มีน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 10 มิลลิลิตร เขย่าให้โคนิเดียกระจายตัวในน้ำ ตรวจสอบความหนาแน่นของสปอร์ที่เหมาะสมโดยใช้ห่วงลวด (loop) ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วแตะโคนิเดียแขวนลอยมาวางบนแผ่นแก้วสไลด์ ตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (100X) ให้มีจำนวนโคนิเดีย 10 โคนิเดียต่อพื้นที่การมองเห็น (10 โคนิเดียต่อ low-power 100 X microscope field) หลังจากนั้นใช้ห่วงลวดที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วจุ่มลงในโคนิเดียแขวนลอยที่ทำไว้ นำมาลากเส้นลงบนผิวหน้าอาหาร WA บ่มจานอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ตรวจการงอกของโคนิเดียภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ โดยตรวจดูจากด้านใต้จานอาหาร เมื่อพบว่าโคนิเดียมีเส้นใยงอกออกมาและอยู่ห่างจากโคนิเดียอื่นๆ ใช้ปากกาเขียนแก้วทำจุดเครื่องหมายไว้ที่จานอาหาร จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเล็กที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วเจาะชิ้นวุ้นตรงตำแหน่งที่ทำเครื่องหมายไว้ ใช้เข็มเขี่ยที่ฆ่าเชื้อแล้วเขี่ยย้ายชิ้นวุ้นไปเลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มไว้ใต้แสงฟลูออเรสเซนต์และแสง NUV ที่ตั้งเวลาเปิดแสง 12 ชั่วโมงสลับกับปิดแสง 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

4. การเก็บรักษารา *Colletotrichum gloeosporioides* และ *C. capsici*

การเก็บรักษาในสภาพแห้งบนกระดาษกรองนึ่งฆ่าเชื้อ

เตรียมกระดาษกรองนึ่งฆ่าเชื้อ โดยตัดกระดาษกรอง เบอร์ 1 ให้เป็นชิ้นเล็กๆ ขนาด 2 x 0.5 เซ็นติเมตร ใส่กระดาษที่ตัดแล้วลงในจานแก้ว (Petri dish) หุ้มด้วยกระดาษอลูมิเนียมฟอยล์ จากนั้นเตรียม micro tubes โดยนำ micro tubes ใส่ในบิกเกอร์ที่รองด้วยกระดาษทิชชู ปิดด้วยกระดาษอลูมิเนียมฟอยล์ ห่อด้วยถุงพลาสติกอีกชั้น นำกระดาษกรอง และ micro tubes ที่เตรียมไว้ไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดัน ที่ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที

เลี้ยงรา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* ที่ต้องการเก็บรักษาบนอาหาร PDA เมื่อราอายุ 7 วัน ใช้เข็มเขี่ยที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว เขี่ยชิ้นวุ้นที่มีราเจริญอยู่ไปวางตรงกลางจานอาหาร PCA จากนั้นใช้ปากคีบ (forceps) ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วชิ้นคีบกระดาษกรองวางรอบๆชิ้นวุ้นที่มีเชื้อเจริญอยู่ 8-10 ชิ้น นำจานอาหารเลี้ยงเชื้อนี้ไปไว้ใต้แสง ฟลูออเรสเซนต์และหลอด NUV ที่ตั้งเวลาเปิดแสง 12 ชั่วโมงสลับกับปิดแสง 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วันหรือจนพบว่าราสร้างเส้นใยคลุมชิ้นกระดาษกรองและมีการสร้างกลุ่มโคนิเดียบนกระดาษกรอง ใช้ ปากคีบที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วลอกเฉพาะชิ้นกระดาษกรองที่มีราปกคลุมไปวางในจานแก้วเปล่าที่อบฆ่าเชื้อแล้ว ปิดฝาจานแก้วนำไปวางไว้ในโถดูดความชื้น (desiccators) ปล่อยให้กระดาษกรองแห้งเป็นเวลาประมาณ 2 วัน เมื่อ

กระดาษกรองแห้งสนิทแล้วใช้ปากคีบที่ฆ่าเชื้อแล้วคีบกระดาษกรองใส่ลงในหลอด micro tubes นำไปเก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียสและที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

ตรวจสอบการมีชีวิตและการสร้างโคนิเดียหลังทำการเก็บรักษา ทุก 2 4 6 และ 8 เดือน โดยใช้ปากคีบที่ฆ่าเชื้อแล้วคีบกระดาษกรองย้ายจากหลอด micro tubes ที่เก็บรักษาไว้ไปเลี้ยงบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ

การเก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

เตรียมน้ำกลั่นใส่ขวดแก้วมีฝาปิด (vial) ให้ได้ปริมาตร 1/3 ของขวด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เสร็จแล้วเอาออกจากหม้อนึ่งวางทิ้งไว้ 1 วัน แล้วนำมา นึ่งซ้ำอีก 1 ครั้ง นำราที่เลี้ยงไว้มาเจาะเป็นชิ้นด้วย cork borer No.2 ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นย้ายชิ้นวุ้นที่เจาะแล้วใส่ ลงในขวดแก้วที่เตรียมไว้ ปิดฝา แล้วนำไปเก็บรักษาไว้ในที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

ตรวจสอบการมีชีวิตและการสร้างโคนิเดียทุก 3 เดือนหลังทำการเก็บรักษา โดยนำชิ้นวุ้นออกจากน้ำกลั่นมาวางบนกระดาษกรองที่นึ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นนำชิ้นวุ้นไปวางบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ ตรวจดูการเจริญของรา

การเก็บรักษาในสภาพแห้งบนซิลิกาเจล

นำเม็ดซิลิกาเจลใส่ขวดฝาเกลียวประมาณ 1/3 ของขวด นำเข้าตู้อบความร้อน (oven) ที่อุณหภูมิ 70 องศา-เซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง

ละลาย skim milk 7 กรัมในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ใส่ในขวดแก้วฝาเกลียวขวดละ 5 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที จากนั้นนำมาแชในน้ำเย็นทันทีวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 คืน แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้ออุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส นาน 10 นาทีซ้ำอีกครั้ง ใช้ปิเปตนึ่งฆ่าเชื้อดูดสารละลายนม 3-5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดอาหารเอียงที่เลี้ยงรา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* ใช้เข็มเขี่ยทำให้โคนิเดียหลุดกระจายออกมาอยู่ใน skim milk อย่างสม่ำเสมอ เอียงและเขย่าขวดให้เม็ดซิลิกาเจลกระจาย จากนั้นดูดสารแขวนลอยโคนิเดีย 0.2 มิลลิลิตร ใส่ในขวดซิลิกาเจลเขย่าขวดทันที เพื่อให้สารแขวนลอยโคนิเดียกระจายทั่วเม็ดซิลิกาเจลวางขวดใน ice bath ทันทีเป็นเวลา 30 นาทีเพื่อป้องกันความร้อนที่จะเกิดขึ้นในระหว่างที่เม็ด ซิลิกาเจลดูดซับสารแขวนลอยโคนิเดียเข้าไป เก็บขวดเม็ดซิลิกาเจลที่ปิดฝาแน่นหนาแล้วไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

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

การเก็บรักษาในน้ำมันพาราฟิน (Under mineral oil)

เตรียมหลอดอาหารวุ้นเอียง PCA โดยเทอาหารที่ต้องการลงในหลอดแก้ว (tube) นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว 121 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที นำไปวางเอียงระหว่างที่รอให้อาหารเย็น อาหารวุ้นที่อยู่ในหลอดแก้วจะแข็งอยู่ในลักษณะเอียง จากนั้นย้ายรามาวางบนผิวหน้าอาหารที่เอียงไว้ แล้วนำหลอดไปวางไว้ใต้แสงฟลูออเรสเซนต์และแสง NUV ที่ตั้งเวลาเปิดแสง 12 ชั่วโมง สลับกับมืด 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน หรือจนพบว่าราสร้างกลุ่มโคนิเดีย เทน้ำมันพาราฟินที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที 2 ครั้ง ลงในหลอดอาหาร โดยให้ระดับน้ำมันสูงกว่าผิวหน้าของเชื้อ 1 เซนติเมตร ใช้เทปพลาสติกหุ้มสำลีที่ปิดปากหลอด แล้วนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

ตรวจสอบการมีชีวิตและการสร้างโคนิเดียทุก 3 เดือนหลังทำการเก็บรักษา โดยตัดชิ้นวุ้นออกมาวางบนกระดาษกรองนึ่งฆ่าเชื้อ เพื่อซับน้ำมันพาราฟิน จากนั้นนำชิ้นวุ้นไปวางบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ ตรวจดูการเจริญของรา

การเก็บรักษาในกลีเซอรอล 10 เปอร์เซ็นต์ สภาพเย็นยิ่งยวดที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

เตรียมกลีเซอรอล 10 เปอร์เซ็นต์ ใส่ขวดแก้วขวดละ 4 มิลลิลิตร ปิดฝา แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง ที่ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ใช้เข็มเขี่ยที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วตัดปลายเส้นใยของรา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* บริสุทธิ์อายุ 7 วัน ที่เจริญอยู่บนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ วางลงในจานอาหาร PCA จากนั้นนำไปไว้ใต้แสงฟลูออเรสเซนต์และแสง NUV ที่ตั้งเวลาเปิดแสง 12 ชั่วโมง สลับกับมืด 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน หรือจนพบว่าราสร้างกลุ่มโคนิเดีย นำราที่เลี้ยงไว้มาเจาะเป็นชิ้นด้วย cork borer No.2 ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นย้ายชิ้นวุ้นที่เจาะแล้วใส่ลงใน cryotube เทกลี-เซอรอล 10 เปอร์เซ็นต์ที่เตรียมไว้ลงใน cryotube จนท่วมชิ้นวุ้น นำไปเก็บรักษาไว้ในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

ตรวจสอบการมีชีวิตและการสร้างโคนิเดียหลังทำการเก็บรักษา ทุก 2 4 6 และ8 เดือน โดยนำหลอด cryotube ที่เก็บรักษาไว้ออกจากตู้แช่แข็ง ใช้ปากคีบจับหลอดแช่ในน้ำอุ่น 37 องศาเซลเซียส แกว่งให้น้ำแข็งในหลอดละลายอย่างรวดเร็ว ใช้สำลีจุ่มแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เช็ดหลอดเปิดฝาหลอด 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 แล้ว

ห่อด้วยกระดาษฟอยล์ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดัน ที่ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

เตรียม Suspending medium

Suspending medium หมายถึง ของเหลวที่ใช้ผสมกับเซลล์หรือโคนิเดียของจุลินทรีย์ ก่อนนำไปเข้ากระบวนการทำให้แห้งในสภาพสุญญากาศ มีคุณสมบัติที่ช่วยป้องกันไม่ให้เซลล์หรือ โคนิเดียแตกสลาย และของเหลวนั้นสามารถละลายกลับคืนสู่สภาพเดิมได้ง่าย ในการศึกษาครั้งนี้ใช้ 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 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 โดยใช้ตะไบเลื่อยกรีดรอบๆ หลอด ampoule ให้เป็นรอย ใช้สำลีชุบแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์เช็ดตรงรอยกรีด ใช้ผ้าขาวบางหุ้มสำลีที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วหุ้มตรงรอยกรีด แล้วหักปลายหลอด จากนั้นเติมอาหารเลี้ยงเชื้อแบบเหลว (PDB) ลงในหลอด หลอดละ 0.5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 3 นาที ใช้ปิเปตดูดสารละลายเชื้อขึ้นลง ให้อาหารและเชื้อผสมกันดี แล้วย้ายไปเลี้ยงบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ

ระยะเวลาดำเนินการ

ระยะเวลา เริ่มต้น เดือน ตุลาคม พ.ศ. 2550
สิ้นสุด เดือน กันยายน พ.ศ. 2553

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การแยกรา *Colletotrichum* spp. จากพืชที่เป็นโรคและการเลี้ยงราให้บริสุทธิ์โดยการทำสปอร์เดี่ยว

การทดลองครั้งนี้เลือกเก็บเฉพาะพริกที่เป็นโรคแอนแทรคโนส เนื่องจากโรคแอนแทรคโนสพริกเป็นโรคที่มีความสำคัญที่มีผลต่อการส่งออกพริกไปยังต่างประเทศ และยังต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมอีกมากเกี่ยวกับการป้องกันกำจัดราสาเหตุโรค

ผลการแยกเชื้อได้รา *Colletotrichum* spp. บริสุทธิ์เพื่อใช้ศึกษาเทคนิคการเก็บรักษา 10 ไอโซเลท เป็นรา *C. gloeosporioides* 5 ไอโซเลท *C. capsici* 5 ไอโซเลท จำแนกชนิดโดยการศึกษาลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อและลักษณะทางสัณฐานวิทยา ตามเอกสารและวิธีการของ Sutton (1980) และ วิรัช (2528)

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

ทำการเก็บรักษารา *C. gloeosporioides* 5 ไอโซเลท และ *C. capsici* 5 ไอโซเลท ด้วยวิธีการเก็บรักษา 6 วิธี คือ การเก็บรักษาในสภาพแห้งบนกระดาษกรอง การเก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ การเก็บรักษาในสภาพแห้งบนซิลิกาเจล การเก็บรักษาในน้ำมันพาราฟิน การเก็บรักษาในกลีเซอรอล 10 เปอร์เซ็นต์ สภาพเย็นยิ่งยวดที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส การเก็บรักษาในสภาพแห้งสุญญากาศ จากนั้นตรวจความมีชีวิตและการสร้างโคนิเดีย (วัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีจาก 10 ซ้ำ) หลังทำการเก็บรักษาทุก 2 4 6 และ 8 เดือน ผลที่ได้เป็นดังนี้

การเก็บรักษาในสภาพแห้งบนกระดาษกรอง

ผลการตรวจความมีชีวิตและการสร้างโคนิเดีย ของรา *C. gloeosporioides* และรา *C. capsici* หลังจากเก็บรักษาไว้ในสภาพแห้งบนกระดาษกรองที่อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 2 เดือน โดยนำมาเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นระยะเวลา 7 วัน แล้วตรวจวัดการเจริญของเส้นใย พบว่ามีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 8.40 7.04 6.74 7.32 7.09 7.56 9.00 6.29 5.21 และ 9.00 เซ็นติเมตร ตามลำดับ หลังจากเก็บรักษาไว้เป็นระยะเวลา 4 เดือน ตรวจวัดการเจริญของเส้นใย พบว่ามีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 7.24 7.59 5.43 7.55 5.00 7.39 9.00 4.66 5.00 และ 9.00 เซ็นติเมตร ตามลำดับ หลังจากเก็บรักษาไว้เป็นระยะเวลา 6 เดือน ตรวจวัดการเจริญของเส้นใย พบว่ามีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 9.00 9.00 7.67 9.00 8.80 9.00 8.38 7.19 7.01 และ 9.00 เซ็นติเมตร ตามลำดับ หลังจากเก็บรักษาไว้เป็นระยะเวลา 8 เดือน ตรวจวัดการเจริญของเส้นใยพบมีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 6.24 7.30 3.77 6.70 6.29 7.14 9.00 3.70 และ 3.74 เซ็นติเมตร ตามลำดับ พบการสร้างกลุ่มโคนิเดียบนอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 -10 วัน พบรา 1 ไอโซเลทที่วัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีไม่ได้เนื่องจากพบการปนเปื้อนของแบคทีเรีย

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

การเก็บรักษาในสภาพแห้งบนกระดาษกรองเป็นหนึ่งในหลายวิธีที่ใช้เก็บรักษาราสาเหตุโรคพืช เป็นวิธีที่ง่าย ขั้นตอนวิธีการทำไม่ยุ่งยาก มีค่าใช้จ่ายน้อยและสะดวกต่อการนำกลับมา ใช้งาน จากการศึกษาในครั้งนี้ รา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* ที่เก็บรักษาไว้เป็นระยะเวลา 8 เดือน ยังคงความมีชีวิต สามารถสร้างโคนิเดียได้และพบการปนเปื้อนน้อย การเก็บรักษาในสภาพแห้งบนกระดาษกรอง แต่ละขั้นตอนในการปฏิบัติงานต้องทำอย่างรวดเร็วในสภาพปลอดเชื้อ (aseptic condition) และกระดาษกรองที่มีราเจริญอยู่ต้องแห้งสนิท ก่อนนำไปเก็บรักษา เพราะจะมีผลต่อการมีชีวิตและการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์อื่น 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)

การเก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

ผลการตรวจความมีชีวิตและการสร้างโคนิเดียของรา *C. gloeosporioides* และรา *C. capsici* เมื่อนำออกมาเลี้ยงบนอาหาร PDA หลังการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 2 เดือน พบว่าเมื่อเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 7 วัน รา *C. gloeosporioides* และรา *C. capsici* เส้นใยเจริญได้ดี มีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 9.12 8.84 7.21 7.24 7.84 6.49 9.06 9.20 และ 9.20 เซนติเมตร ตามลำดับ พบการสร้างกลุ่มโคนิเดียบนอาหารเมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 - 10 วัน หลังการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4 เดือน รา *C. gloeosporioides* และรา *C. capsici* จำนวน 8 ไอ- โซเลท เส้นใยเจริญได้ดี เมื่อเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นระยะเวลา 7 วัน มีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 9.20 5.81 9.20 6.91 5.24 6.95 7.51 และ 6.05 ตามลำดับ พบการสร้างกลุ่มโคนิเดียบนอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 -10 วัน มีรา *C. gloeosporioides* 2 ไอโซเลท วัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีไม่ได้เนื่องจากพบการปนเปื้อนของแบคทีเรีย หลังการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 6 เดือน รา *C. gloeosporioides* และรา *C. capsici* จำนวน 8 ไอโซเลท เส้นใยเจริญได้ดี เมื่อเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 7 วัน มีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 8.57 9.20 4.18 5.42 5.85 9.20 8.28 และ 9.20 ตามลำดับ พบการสร้างกลุ่มโคนิเดียเมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 8 - 10 วัน มีรา *C. gloeosporioides* 1 ไอโซเลท วัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีไม่ได้เนื่องจากพบการปนเปื้อนของแบคทีเรีย หลังการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 8 เดือน รา *C. gloeosporioides* และรา *C. capsici* จำนวน 8 ไอโซเลท เส้นใยเจริญได้ดี เมื่อเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 7 วัน มีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 8.57 8.20

5.18 5.42 5.85 8.20 8.28 และ 7.50 ตามลำดับ พบการสร้างกลุ่มโคนิเดียเมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 8 - 10 วัน มีรา *C. gloeosporioides* 2 ไอโซเลท วัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีไม่ได้เนื่องจากพบการปนเปื้อนของแบคทีเรีย

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

การเก็บรักษารา *C. gloeosporioides* และรา *C. capsici* ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ พบว่าเป็นวิธีที่ง่ายและสะดวก ต้นทุนต่ำ แต่ต้องมีการดูแลเติมน้ำอย่างสม่ำเสมอเนื่องจากมีการระเหยของน้ำ การระเหยของน้ำทำให้เส้นใยบางส่วนแห้งและไม่เจริญ เมื่อย้ายไปเลี้ยงบนอาหารวุ้นพบการปนเปื้อนของแบคทีเรียและราอื่นบ้างแต่แยกเชื้อให้บริสุทธิ์ได้ การเก็บรักษาราในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อส่วนใหญ่เป็นวิธีที่ใช้เก็บรารักษาสกุล *Phytophthora* และ *Pythium* (พัฒนา, 2547) และใช้เก็บรักษาเชื้อพันธุ์เห็ดสกุลนางรมและเห็ดหูหนู ซึ่งพบว่าสามารถเก็บรักษาเชื้อเห็ดได้เป็นเวลา 24 เดือน (สุวลักษณ์และประไพศรี, 2545)

การเก็บรักษาในสภาพแห้งบนซิลิกาเจล

ผลการตรวจความมีชีวิตและการสร้างโคนิเดียของรา *C. gloeosporioides* และรา *C. capsici* หลังจากเก็บรักษาในสภาพแห้งบนซิลิกาเจลเป็นระยะเวลา 2 เดือน โดยการวัดการเจริญของเส้นใยเมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่า รา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* จำนวน 6 ไอโซเลท มีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 7.13 5.47 9.00 4.25 5.02 และ 9.00 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนรา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* จำนวน 4 ไอโซเลท วัดเส้นผ่านศูนย์กลางไม่ได้เนื่องจากเชื้อไม่เจริญ การวัดการเจริญของเส้นใยหลังการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4 เดือน พบว่า รา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* จำนวน 2 ไอโซเลท มีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 2.48 และ 4.48 เซ็นติเมตร ตามลำดับ รา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* จำนวน 8 ไอโซเลท วัดเส้นผ่านศูนย์กลางไม่ได้เนื่องจากเชื้อไม่เจริญ การวัดการเจริญของเส้นใยรา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* หลังการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 6 เดือน พบว่า รา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* จำนวน 3 ไอโซเลท มีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 4.78 7.40 และ 8.78 เซ็นติเมตร ตามลำดับ รา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* จำนวน 7 ไอโซเลท วัดเส้นผ่านศูนย์กลางไม่ได้เนื่องจากเชื้อไม่เจริญ

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

จากการเก็บรักษารา ในสภาพแห้งบนซิลิกาเจลในการทดลองครั้งนี้ พบว่าหลังจากเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 2 4 6 และ 8 เดือน รา *C. gloeosporioides* และ รา *C. capsici* คงความมีชีวิตอยู่น้อย ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากปริมาณสปอร์ของราที่นำมาเก็บรักษาน้อยเกินไป สารแขวนลอยโคนิเดียกระจายไม่ทั่วเม็ดซิลิกาเจล วางขวดใน ice bath ช้าเกินไป และเก็บรักษาไว้ในที่ที่อุณหภูมิไม่

เหมาะสม ซึ่งแตกต่างจากรายงานของ Smith และ Onions (1983) ที่รายงานไว้ว่า วิธีการเก็บรักษาจุลินทรีย์ในสภาพแห้งบนซิลิกาเจล สามารถเก็บรักษาราที่สร้างสปอร์ให้คงความมีชีวิตอยู่ได้นาน 8-11 ปี ขั้นตอนการทำง่าย มีค่าใช้จ่ายน้อย สะดวกในการนำกลับมาใช้และไม่ต้องใช้วัสดุอุปกรณ์ที่มีราคาแพง

การเก็บรักษาในน้ำมันพาราฟิน

ผลการตรวจการเจริญของเส้นใยและการสร้างกลุ่มโคนิเดียของรา *C. gloeosporioides* และรา *C. capsici* เมื่อนำออกมาเลี้ยงบนอาหาร PDA หลังการเก็บรักษาในน้ำมันพาราฟินเป็นระยะเวลา 2 เดือน พบว่าเส้นใยเจริญได้ดีเมื่อ เลี้ยงเป็นระยะเวลา 7 วัน มีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 7.98 7.07 8.65 6.13 5.91 5.68 9.11 7.57 8.67 และ 7.15 เซ็นติเมตร ตามลำดับ พบการสร้างกลุ่มโคนิเดียบนอาหารเมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 -10 วัน หลังการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4 เดือน พบว่าราจำนวน 9 ไอโซเลท เส้นใยเจริญได้ดีเมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 7 วัน มีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี เฉลี่ย 9.20 8.28 8.57 9.20 8.75 9.20 8.28 และ 8.65 เซ็นติเมตร ตามลำดับ พบการสร้างกลุ่มโคนิเดียบนอาหารเมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 -10 วัน พบรา *C. gloeosporioides* 1 ไอโซเลท ที่วัดเส้นผ่านศูนย์กลางไม่ได้เพราะเชื้อไม่เจริญ หลังการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 6 เดือน พบว่า มีราจำนวน 5 ไอโซเลทที่เส้นใยเจริญดี เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 7 วัน มีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 9.20 8.28 9.20 8.28 และ 8.26 เซ็นติเมตร ตามลำดับ พบการสร้างกลุ่มโคนิเดียบนอาหารเมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 -10 วัน รา *C. gloeosporioides* จำนวน 3 ไอโซเลท รา *C. capsici* 2 ไอโซเลท วัดเส้นผ่านศูนย์กลางไม่ได้เพราะเชื้อไม่เจริญ หลังการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 8 เดือน พบว่ามีราจำนวน 3 ไอโซเลท เมื่อนำออกมาเลี้ยงบนอาหาร PDA เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 7 วัน มีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 6.36 6.34 4.34 เซ็นติเมตร ตามลำดับ ไม่พบการสร้างกลุ่มโคนิเดียบนอาหารเมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 -10 วัน รา *C. gloeosporioides* จำนวน 3 ไอโซเลท รา *C. capsici* จำนวน 4 ไอโซเลท ที่วัดเส้นผ่าศูนย์กลางไม่ได้เพราะเชื้อไม่เจริญ

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

วิธีการเก็บรักษาในน้ำมันพาราฟินเป็นวิธีที่เหมาะสมในสภาพอากาศร้อนชื้น เพราะน้ำมันพาราฟินช่วยป้องกันไม่ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแห้ง ป้องกันการเข้าทำลายของไร อุปกรณ์หรือสารเคมีที่ใช้ราคาไม่แพง และสามารถปฏิบัติงานได้ง่าย แต่การเก็บรักษาวิธีนี้ใช้ได้ดีกับการเก็บเชื้อราจำนวนน้อยๆ เพราะ แต่จากการศึกษาครั้งนี้เมื่อนำรา *C. gloeosporioides* และรา *C. capsici* ที่เก็บรักษาในน้ำมันพาราฟินออกมาเลี้ยงบนอาหาร PDA พบว่ามีการปนเปื้อนแบคทีเรียและราชนิดอื่น ซึ่งการปนเปื้อนที่เกิดขึ้นอาจเป็นเพราะความผิดพลาดระหว่างทำการย้ายชิ้นวุ้นเพราะต้องย้ายชิ้นวุ้นที่อยู่ในน้ำมันพาราฟินมาวางบนกระดาษกรองนึ่งฆ่าเชื้อเพื่อซับน้ำมันให้แห้งก่อนนำไปวางบนอาหาร PDA ถ้าตู้เขี่ยเชื้อหรือกระดาษกรองไม่สะอาดพอก็อาจก่อให้เกิดการปนเปื้อนได้

การเก็บรักษาในกลีเซอรอล 10 เปอร์เซ็นต์ สภาพเย็นยิ่งยวดที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

ผลการตรวจความมีชีวิตและการสร้างโคนิเดีย ของรา *C. gloeosporioides* และรา *C. capsici* 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 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)

จากการปลูกเชื้อลงบนพริกเพื่อดูความสามารถในการทำให้พืชเกิดโรค พบว่ารา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* ทุกไอโซเลทที่นำมาปลูกเชื้อสามารถทำให้พริกเป็นโรคได้

การเก็บรักษาในสภาพแห้งสุญญากาศหรือการทำให้แห้งแบบเยือกแข็ง

ผลการตรวจความมีชีวิตและการสร้างโคนิเดีย ของรา *C. gloeosporioides* และรา *C. capsici* หมายเลข หลังจากเก็บรักษาไว้ในสภาพแห้งสุญญากาศเป็นระยะเวลา 2 เดือน โดยนำมาเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นระยะเวลา 7 วัน แล้วตรวจวัดการเจริญของเส้นใย พบว่ารา *C. gloeosporioides* 5 ไอโซเลทและรา *C. capsici* 1 ไอโซเลท มีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 8.70 6.83 4.25 6.66 6.45 และ9.00 เซ็นติเมตร ตามลำดับ พบรา *C. capsici* 4 ไอโซเลท ไม่สามารถวัดเส้นผ่านศูนย์กลางได้เนื่องจากเชื้อไม่เจริญ หลังการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4 เดือน พบรา *C. gloeosporioides* 4 ไอโซเลทและ *C. capsici* 1 ไอโซเลท มีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 7.88 5.47 5.51 5.12 และ 9.00 เซ็นติเมตร ตามลำดับ พบรา *C. capsici* 4 ไอโซเลท *C. gloeosporioides* 1 ไอโซเลท วัดเส้นผ่านศูนย์กลางไม่ได้เนื่องจากเชื้อไม่เจริญ หลังการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 6 เดือน พบว่ารา *C. gloeosporioides* 5 ไอโซเลท *C. capsici* 1 ไอโซเลท มีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 6.09 3.95 9.00 3.53 3.75 และ 9.00 เซ็นติเมตร ตามลำดับ พบรา *C. capsici* 4 ไอโซเลท วัดเส้นผ่านศูนย์กลางไม่ได้เนื่องจากเชื้อไม่เจริญ หลังการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 8 เดือน รา *C. gloeosporioides* 4 ไอโซเลท รา *C. capsici* 1 ไอโซเลท มีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 9.00 9.00 6.58 6.73 และ 9.00 เซ็นติเมตร ตามลำดับ พบรา *C. gloeosporioides* 1 ไอโซ

เลท *C. capsici* 4 ไอโซเลท วัดเส้นผ่านศูนย์กลางไม่ได้เนื่องจากเชื้อ ไม่เจริญ ราที่เจริญบนอาหาร PDA ทุกไอโซเลทเริ่มพบการสร้างกลุ่มโคนิเดียบนอาหารเมื่อเลี้ยงบนอาหารเป็นระยะเวลา 8 -10 วัน

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

การเก็บรักษาราในสภาพแห้งสุญญากาศหรือการทำให้แห้งแบบเยือกแข็ง เป็นการทำให้น้ำระเหยไปจากสารแขวนลอยโคนิเดียของราที่เยือกแข็งแล้วในสภาพสุญญากาศ น้ำในเซลล์จะถูกดึงออกโดยการระเหิด โคนิเดียของราจะยังมีชีวิตอยู่ในสภาพแห้งและแข็ง การเก็บรักษาราวิธีนี้มีต้นทุนวัสดุอุปกรณ์สูง ขั้นตอนยุ่งยากซับซ้อนและต้องการผู้ปฏิบัติงานที่มีความชำนาญ แต่ข้อดีของวิธีนี้ก็คือ ไม่ต้องพะวงเรื่องการเปลี่ยนอาหาร เหมาะสำหรับการเก็บรักษาเชื้อจำนวนมาก ประหยัดเนื้อที่ในการเก็บ สามารถเก็บรักษาจุลินทรีย์ให้มีชีวิตรอดอยู่ได้นาน มีการปนเปื้อนน้อย เหมาะสมกับจุลินทรีย์หลายชนิดเช่น รา แบคทีเรีย และยีสต์ (Malik, 1992) โดยเฉพาะราที่สร้างสปอร์จำนวนมาก เช่น *Aspergillus* spp. *Penicillium* spp. *Trichoderma* spp. *Colletotrichum* spp. *Fusarium* spp. (พัฒนา, 2547) แต่จากการศึกษาครั้งนี้ เมื่อนำรา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* ที่เก็บรักษาไว้ในสภาพแห้งสุญญากาศเป็นเวลา 2 4 6 และ 8 เดือนออกมาเลี้ยงบนอาหาร PDA พบว่ามีบางไอโซเลทที่ไม่สามารถคงความมีชีวิตอยู่ได้ ทั้งนี้อาจเนื่องจากรา *C. capsici* มีผนังเซลล์บางกว่ารา *C. gloeosporioides* จึงไม่สามารถทนต่อกระบวนการทำให้แห้งแบบเยือกแข็งได้ หรือหลอด ampoule ที่ใช้เก็บรักษาเชื้อราไม่อยู่ในสภาพสุญญากาศขณะทำการเก็บรักษา อาจเนื่องจากมีรอยรั่วเกิดขึ้นขณะลนปิดหลอด ampoule ทำให้หลอดและไม่ได้นำหลอด ampoule ไปทดสอบความเป็นสุญญากาศภายในหลอดโดยใช้ High Frequency Spark Tester ก่อนทำการเก็บรักษา

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษารา *Colletotrichum* spp. โดยทำการเก็บรักษารา *Colletotrichum gloeosporioides* และรา *C. capsici* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก รวมทั้งหมด 10 ไอโซเลท ด้วยวิธีการต่างๆ 6 วิธีคือ การเก็บรักษาในสภาพแห้งบนกระดาษกรอง การเก็บรักษาในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ การเก็บรักษาในสภาพแห้งบนซิลิกาเจล การเก็บรักษาในน้ำมันพาราฟิน การเก็บรักษาในกลีเซอรอล 10 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส และการเก็บรักษาในสภาพแห้งสุญญากาศ เมื่อครบระยะการเก็บรักษาเป็นเวลา 2 4 6 และ 8 เดือน นำราที่เก็บรักษาไว้มาตรวจความมีชีวิต การปนเปื้อน การสร้างโคนิเดียและความสามารถในการทำให้พืชเกิดโรค พบว่า วิธีการเก็บรักษาในสภาพแห้งบนกระดาษกรองและการเก็บรักษาในกลีเซอรอล 10 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เป็นวิธีการเก็บรักษาที่ดีที่สุดสำหรับรา *C. gloeosporioides* และรา *C. capsici* 10 ไอโซเลทที่นำมาเก็บรักษา ราสามารถคงความมีชีวิตอยู่ได้ สร้างโคนิเดียได้ดี พบการปนเปื้อนน้อยที่สุด และจากการทดสอบความสามารถในการทำให้พืชเกิดโรคพบว่ารา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* ทุกไอโซเลทที่นำมาปลูกเชื้อยังสามารถทำให้พืชเกิดโรคได้ รองลงมาคือ การเก็บรักษาในน้ำ

กลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ การเก็บรักษาในสภาพแห้งสุญญากาศ การเก็บรักษาในน้ำมันพาราฟินและการเก็บรักษาในสภาพแห้งบนซิลิกาเจล ตามลำดับ ซึ่งในการเก็บรักษาราสาเหตุโรคพืชไม่มีวิธีใดวิธีเดียวที่เหมาะสมกับราสาเหตุโรคพืชทุกชนิด ในการเก็บรักษาจึงควรคำนึงถึงชนิดของราที่จะเก็บ วัตถุประสงค์ในการเก็บ ความพร้อมของเครื่องมือและอุปกรณ์รวมทั้งบุคลากรที่มีความชำนาญ และสิ่งสำคัญ คืองบประมาณที่ใช้ในการเก็บรักษา

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

จากการทดลองสามารถนำวิธีการไปปรับใช้เพื่อทำการเก็บรักษาสายพันธุ์ราสาเหตุโรคพืชสกุลอื่น สำหรับเก็บไว้ในหน่วยเก็บรักษาจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช เพื่อประโยชน์ในการเป็นแหล่งเก็บรักษาและให้บริการสายพันธุ์ราแก่ นิสิต นักศึกษา หน่วยวิจัยของส่วนราชการอื่นๆ รวมทั้งบริษัทเอกชน

เอกสารอ้างอิง

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

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

สุวลักษณ์ ชัยชูโชติ และประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน. 2545. การเก็บรักษาเชื้อพันธุ์เห็ดสกุลนางรมและเห็ดหูหนู. *ใน* เอกสารสรุปผลการดำเนินงาน ประชุมวิชาการกองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร ปี 2545 วันที่ 16-18 กันยายน 2545 ณ โรงแรมภูพิมานรีสอร์ท จังหวัดนครราชสีมา. หน้า 8 - 9.

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, Cambridge University Press, UK. pp. 75-99.

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.

ศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง

Studies on Preservation Technique of Entomopathogenic Nematodes

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การเก็บรักษาไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. KPs No.2 และ *Heterorhabditis* sp. PRh isolate ให้คงความมีชีวิตและคงศักยภาพในการกำจัดแมลง ในสารอุ้มความชื้นชนิดต่างๆ โดย *Steinernema* sp. KPs No.2 เก็บรักษาในขี้เลื่อย ขี้เลื่อยปนดินทราย ขี้เลื่อยปนโพลิเมอร์ ดินพีท ก้อนฟองน้ำตัด โพลิเมอร์ และน้ำกลั่น จำนวน 5 ล้านตัวต่อถุง นำมาตรวจนับเปอร์เซ็นต์การตายของไส้เดือนฝอยหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (27+2°ซ) ทุกๆ 1 เดือน พบว่า การเก็บรักษาในสารโพลิเมอร์ สามารถรักษาสภาพของไส้เดือนฝอยได้นานกว่าสารอุ้มความชื้นชนิดอื่นๆ โดยมีระยะการเก็บนาน 3 เดือน พบเปอร์เซ็นต์การตายเพียง 11 % รองลงมาคือ ขี้เลื่อยปนโพลิเมอร์ พบการตาย 15 % ที่ระยะเวลา 3 เดือน แต่การเก็บรักษาไส้เดือนฝอยในก้อนฟองน้ำพบว่ามีเปอร์เซ็นต์การตายของไส้เดือนฝอยเพิ่มขึ้นตั้งแต่เดือนที่ 1 2 และ 3 หรือเท่ากับ 18 46 และ 74 % ตามลำดับ เมื่อทำการทดสอบศักยภาพของไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. KPs No.2 ที่เก็บรักษาในสารโพลิเมอร์เป็นระยะเวลา 3 4 และ 5 เดือน ในการกำจัดแมลงทดสอบ (หนอนกินไขผึ้ง) พบว่ามีศักยภาพในการฆ่าหนอนทดสอบตายเท่ากับ 95 80 และ 60 % ตามลำดับ สำหรับการเก็บรักษาไส้เดือนฝอย *Heterorhabditis* sp. PRh ในวัสดุเก็บรักษา 5 ชนิด คือ โพลิเมอร์ ขี้เลื่อย ก้อนฟองน้ำ ดินทราย และน้ำกลั่น จำนวน 1 ล้านตัวต่อภาชนะๆ ละ 10 ซ้ำ และตรวจนับเปอร์เซ็นต์การตายทุก 1 เดือน พบว่าเดือนที่ 1 มีเปอร์เซ็นต์การตายของไส้เดือนฝอยเท่ากับ 14 22 46 48 และ 16 เปอร์เซ็นต์ เดือนที่ 2 เท่ากับ 17 25 50 56 และ 21 เปอร์เซ็นต์ และเดือนที่ 3 เท่ากับ 34 48 62 84 และ 57 เปอร์เซ็นต์ ของการเก็บรักษาในโพลิเมอร์ ขี้เลื่อย ก้อนฟองน้ำ ดินทราย และน้ำกลั่น ตามลำดับ เมื่อนำไส้เดือนฝอยที่เก็บรักษาในวัสดุเก็บรักษาชนิดต่างๆ เป็นเวลา 3 เดือน มาทดสอบศักยภาพในการฆ่าหนอนทดสอบ (*Galleria mellonella*) พบว่า ไส้เดือนฝอยมีศักยภาพในการฆ่าหนอนทดสอบตายเท่ากับ 90 75 40 5 และ 65 % ตามลำดับ

รหัสการทดลอง 09-02-49-01

คำนำ

ไส้เดือนฝอยในวงศ์ Steinernematidae เรียกชื่อสามัญ (common name) ว่า steinernematid ค้นพบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1923 โดย Steiner ในประเทศเยอรมัน ได้มีการศึกษาและพัฒนาไส้เดือนฝอยชนิดนี้เป็นเวลามากกว่า 80 ปี ซึ่งพบว่าไส้เดือนฝอยมีแบคทีเรียแกรมลบในวงศ์ 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 เรียกการผสมพันธุ์แบบนี้ว่า 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 และเคลื่อนตัวออกจากซากของแมลงเพื่อรอแมลงเหยื่อตัวใหม่ต่อไป (Akhurst and Boemare, 1990)

ความสัมพันธ์ร่วมกันระหว่างไส้เดือนฝอยและแบคทีเรีย(nematode-bacterium complex) ได้รับความสนใจจากนักวิทยาศาสตร์ ที่จะพัฒนาศัตรูธรรมชาติของแมลงชนิดนี้มาใช้ประโยชน์โดยเฉพาะใช้กำจัดแมลงระยะตัวหนอนที่เป็นศัตรูสำคัญในพืช จึงมีการศึกษาและพัฒนาไส้เดือนฝอยในกลุ่มนี้ตั้งแต่เริ่มค้นพบครั้งแรกจนถึงปัจจุบัน มีการพัฒนาการเพาะเลี้ยงขยายปริมาณไส้เดือนฝอยในอาหารเทียมชนิดต่างๆ (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 EPA ถึงความปลอดภัยต่อพืช สัตว์เลือดอุ่นและมนุษย์ รวมทั้งปลอดภัยต่อสภาพแวดล้อม (Gaugler and Kaya, 1990) ไส้เดือนฝอยจึงได้รับความสนใจอย่างกว้างขวางทั่วโลก ที่จะพัฒนาให้นำมาใช้ประโยชน์เช่นเดียวกับแบคทีเรีย Bt (*Bacillus thuringiensis*) และไวรัส NPV (nuclear polyhedrosis virus) ซึ่งเป็นจุลินทรีย์กำจัดแมลงศัตรูสำคัญต่างๆ โดยเฉพาะแมลงศัตรูพืชในพื้นที่

ทำการเกษตร เป็นการป้องกันกำจัดโดยชีววิธี (biological control agent) เพื่อช่วยลดการใช้สารเคมีกำจัดแมลง ซึ่งเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตทุกชนิดและสภาพแวดล้อม

นอกจากนั้น นักวิจัยยังให้ความสำคัญในการค้นหาชนิดและสายพันธุ์ใหม่ๆ ในเขตต่างๆ 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 นอกจากนั้นยังมีรายงานในประเทศออสเตรเลียและนิวซีแลนด์ ส่วนในทวีปเอเชียมีการสำรวจและศึกษาการแพร่กระจายของไส้เดือนฝอย รายงานใน 9 ประเทศ คือ ญี่ปุ่น จีน อินเดีย ศรีลังกา เกาหลี โอมาน มาเลเซีย เวียตนาม และไทย ในทวีปแอฟริกาได้รายงานการสำรวจค้นพบในประเทศเคนยาในปัจจุบันไส้เดือนฝอยมีบทบาทสำคัญในการนำมาใช้กำจัดแมลงหลายชนิด 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 spp.จำแนกได้ 26 ชนิดคือ *S. kraussei* Steiner, 1923 syn. *Aplectana kraussei* Steiner, 1923; *S. glaseri* Steiner, 1929; *S. feltiae* Filipjev, 1934; *S. affinie* Bovien, 1937; *S. carpocapsae* Weiser, 1955; *S. arenarium* (anomalae) Kozodoi, 1984; *S. intermedium* Poinar, 1985; *S. rarum* De Doucet, 1986; *S. kushidai* Mamiya, 1988; *S. ritteri* Doucet & Doucet, 1990; *S. scapterisci* Nguyen &

Smart, 1990; *S. caudatum* Xu et al., 1991; *S. neocurtillae* Nguyen & Smart, 1992 b; *S. longicaudum* Shen, 1992; *S. cubanum* Mracek *et al*., 1994; *S. puertoricense* Roman & Figueroa, 1994; *S. riobrave* Cabanillas *et al.,* 1994; *S. bicornutum* Tallosi *et al.,* 1995; *S. oregonense* Liu & Berry, 1996; *S. monticolum* Stock *et al*., 1997; *S. karii* Waturu *et al*., 1997; *S. abbasi* Elawad *et al*., 1997; *S. ceratophorum* Jian *et al*., 1997; *S. siamkayai* Stock *et al.,* 1998; *S. tami* Luc *et al*., 2000 และ *S. thailandense* Tangchitsomkid, 2001 (นุชนารถ, 2544)

ในสกุล *Heterorhabditis* spp. จำแนกได้ 8 ชนิด คือ *H. bacteriophora* Poinar, 1976, *H. zealandica* Wouts, 1979; *H. megidis* Poinar *et al*., 1987; *H. indica* Poinar *et al*., 1992; *H. argentinensis* Stock, 1993; *H. hawaiiensis* Gardner *et al*., 1994; *H. brevicaudis* Liu, 1994; และ *H. marelata* Liu and Berry, 1996 (นุชนารถ, 2544)

การค้นหาไส้เดือนฝอยที่มีประโยชน์จากธรรมชาติ เพื่อนำขึ้นมาพัฒนาและนำกลับไปใช้ควบคุมศัตรูพืช ได้เพิ่มความสำคัญและมีการศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องในหลายๆ ด้าน โดยเฉพาะงานวิจัยขั้นพื้นฐาน ซึ่งดำเนินงานโดยนักวิจัยในแต่ละสาขาเพื่อค้นหาจุดสำคัญของการนำมาใช้ให้มีประสิทธิภาพสูงสุด เพื่อนำสายพันธุ์พื้นเมืองมาใช้ควบคุมศัตรูพืชในท้องถิ่นที่มีสภาพแวดล้อมเดิม จึงเป็นงานวิจัยที่ได้รับความสนใจจากนักวิจัยทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทยได้เริ่มมีการสำรวจเก็บรวบรวมไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงเป็นครั้งแรกในปี พ.ศ. 2539 สามารถแยกได้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงจำนวน 9 ไอโซเลท จัดอยู่ใน family Steinernematidae จำนวน 8 ไอโซเลท โดยกำหนดรหัสตามจังหวัดที่พบคือ จังหวัดกาญจนบุรี (KB) พิจิตร (PC) อยุธยา (AY) กาฬสินธุ์ (KS) มหาสารคาม (MK) ขอนแก่น (KK) หนองคาย (NK) และสระแก้ว (SK) และ family Heterorhabditidae จำนวน 1 ไอโซเลท คือ ร้อยเอ็ด (RE) นำมาเก็บรวบรวมเป็น culture collection ณ กลุ่มงานไส้เดือนฝอย กรมวิชาการเกษตร (นุชนารถ, 2543)

ไส้เดือนฝอย order Rhabditida (family Steinernematidae และ Heterorhabditidae) จัดเป็นศัตรูธรรมชาติของแมลง ที่ได้รับความสนใจในการพัฒนานำไปใช้ประโยชน์โดยเฉพาะใช้ในการกำจัดแมลงศัตรูพืชทางการเกษตรเพื่อลดหรือทดแทนสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ซึ่งในปัจจุบันขยายผลเป็นผลิตภัณฑ์จำหน่ายเป็นการค้าแพร่หลายทั่วโลก ดังนั้น การอนุรักษ์เก็บรักษาและคัดเลือกไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ใหม่ๆ เพื่อนำไปสู่การวิจัยและพัฒนาเป็นสารชีวภัณฑ์กำจัดแมลงศัตรูพืช จึงเป็นงานวิจัยที่สามารถนำไปสู่ผู้ใช้ประโยชน์จากผลงานได้อย่างเป็นรูปธรรม งานวิจัยมุ่งเน้นการเก็บรักษาไส้เดือนฝอยแต่ละไอโซเลทให้มีชีวิตและคงศักยภาพในการเป็น bio-agent กำจัดศัตรูพืช เพื่อการนำไปใช้ประโยชน์ทางการเกษตรต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. KPs No.2 แยกได้จากดินในพื้นที่ จ.กำแพงเพชร และไส้เดือนฝอย *Heterorhabditis* sp. PRh แยกได้จากดินในพื้นที่ จ.เพชรบุรี

2. หนอนกินรังผึ้งที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

3. สารอุ้มความชื้น ได้แก่ ฟองน้ำ โพลิเมอร์ ขี้เลื่อย ดินทราย ดินพีท และน้ำกลั่น

4. วัสดุ-อุปกรณ์สำหรับห้องปฏิบัติการไส้เดือนฝอย

วิธีการ

1. ทำการเก็บไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. KPs No.2 ในสารอุ้มความชื้นชนิดต่างๆ คือ ขี้เลื่อย ขี้เลื่อยปนดินทราย ขี้เลื่อยปนโพลิเมอร์ ดินพีท ก้อนฟองน้ำตัดขนาด 1x1x1 ซม. โพลิเมอร์ และน้ำกลั่น จำนวน 5 ล้านตัวต่อถุง ชนิดละ 15 ซ้ำ นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง (27+2°ซ) จากนั้นทำการตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอยทุกๆ 1 เดือน เดือนละ 3 ซ้ำ เป็นเวลา 5 เดือน คำนวณเปอร์เซ็นต์การตายของไส้เดือนฝอย และไส้เดือนฝอยที่มีชีวิตนำมาทดสอบศักยภาพในการฆ่าแมลงทดสอบ (หนอนกินรังผึ้ง) คำนวณเปอร์เซ็นต์การตายของแมลงทดสอบ

2. ทำการเก็บรักษาไส้เดือนฝอย *Heterorhabditis* sp. PRh ในวัสดุเก็บรักษา 5 ชนิด คือ โพลิเมอร์ ขี้เลื่อย ก้อนฟองน้ำ ดินทราย และน้ำกลั่น จำนวน 1 ล้านตัวต่อภาชนะๆ ละ 10 ซ้ำ และตรวจนับเปอร์เซ็นต์การตายทุก 1 เดือน คำนวณเปอร์เซ็นต์การตายของไส้เดือนฝอย และไส้เดือนฝอยที่มีชีวิตนำมาทดสอบศักยภาพในการฆ่าแมลงทดสอบ (หนอนกินรังผึ้ง) คำนวณเปอร์เซ็นต์การตายของแมลงทดสอบ

เวลาสถานที่

เริ่มต้นเดือนตุลาคม 2549 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2553

สถานที่ดำเนินการ

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กทม.

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การเก็บรักษาไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. KPs No.2

ผลการเก็บรักษาไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. KPs No.2 ในสารอุ้มความชื้นชนิดต่างๆ คือ ขี้เลื่อย ขี้เลื่อยปนดินทราย ขี้เลื่อยปนโพลิเมอร์ ดินพีท ก้อนฟองน้ำตัด โพลิเมอร์ และน้ำกลั่น จำนวน 5 ล้านตัวต่อถุง นำมาตรวจนับเปอร์เซ็นต์การตายของไส้เดือนฝอยหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (27+2°ซ) ทุกๆ 1 เดือน พบว่าการเก็บรักษาไส้เดือนฝอยในสารโพลิเมอร์ และขี้เลื่อยผสมสารโพลิเมอร์ สามารถคงความมีชีวิตของไส้เดือนฝอยได้นานที่สุด โดยการเก็บเป็นระยะเวลา 3

เดือน มีเปอร์เซ็นต์การตายของไส้เดือนฝอยเท่ากับ 11 และ 15 % ตามลำดับ และเมื่อเก็บที่ระยะเวลา 4 เดือน ไส้เดือนฝอยที่เก็บในสารโพลิเมอร์ยังคงรอดชีวิตเท่ากับ 70 % เปรียบเทียบกับการเก็บรักษาในก้อนฟองน้ำสังเคราะห์ และขี้เลื่อยปนดินทราย พบว่าไส้เดือนฝอยมีการตายเท่ากับ 46 และ 32 % ตามลำดับ ในเวลาการเก็บเพียง 2 เดือน และเก็บระยะเวลานาน 3 เดือน ตายมากกว่า 50 % ของสารทั้งสองชนิด สำหรับการเก็บรักษาในดินพีทพบว่า เก็บได้นาน 3 เดือน มีเปอร์เซ็นต์การตายของไส้เดือนฝอยเท่ากับ 22 % แต่อย่างไรก็ตาม การนำดินพีทมาใช้เป็นวัสดุหรือสารเก็บรักษาไส้เดือนฝอย ควรต้องนึ่งฆ่าเชื้อก่อนเพื่อควบคุมจุลินทรีย์หรือไส้เดือนฝอยชนิดอื่นๆ ปนเปื้อนได้ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การตายของไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. KPs No.2 ที่เก็บรักษาในสารอุ้มความชื้นชนิดต่างๆ ในแต่ละเดือน รวม 5 เดือน

ชนิดสารอุ้มความชื้น	% การตายของไส้เดือนฝอยในช่วงระยะเวลาการเก็บ (เดือน)				
	1	2	3	4	5
1. ขี้เลื่อย	12	22	42	76	100
2. ขี้เลื่อยปนทราย	16	32	56	80	100
3. ขี้เลื่อยปนโพลิเมอร์	5	7	15	36	52
4. ดินพีท	6	10	22	48	78
5. ก้อนฟองน้ำตัด	18	46	74	100	-
6. โพลิเมอร์	2	5	11	30	47
7. น้ำกลั่น	1	8	35	55	62

ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ

เมื่อทำการทดสอบศักยภาพของไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. KPs No.2 ที่เก็บรักษาในสารโพลิเมอร์เป็นระยะเวลา 3 4 และ 5 เดือน ในการกำจัดแมลงทดสอบ (หนอนกินไขผึ้ง) พบว่ามีศักยภาพในการฆ่าหนอนทดสอบตายเท่ากับ 95 80 และ 60 % ตามลำดับ

2. การเก็บรักษาไส้เดือนฝอย *Heterorhabditis* sp. PRh

ผลการเก็บรักษาไส้เดือนฝอย *Heterorhabditis* sp. PRh ในวัสดุเก็บรักษา 5 ชนิด คือ โพลิเมอร์ ขี้เลื่อย ก้อนฟองน้ำ ดินทราย และน้ำกลั่น จำนวน 1 ล้านตัวต่อภาชนะๆ ละ 10 ซ้ำ และตรวจนับเปอร์เซ็นต์การตายทุก 1 เดือน พบว่าเดือนที่ 1 มีเปอร์เซ็นต์การตายของไส้เดือนฝอยเท่ากับ 14 22 46 48 และ 16 เปอร์เซ็นต์ เดือนที่ 2 เท่ากับ 17 25 50 56 และ 21 เปอร์เซ็นต์ และ

เดือนที่ 3 เท่ากับ 34 48 62 84 และ 57 เปอร์เซ็นต์ ของการเก็บรักษาในโพลิเมอร์ ขี้เลื่อย ก้อนฟองน้ำ ดินทราย และน้ำกลั่น ตามลำดับ

เมื่อนำไส้เดือนฝอยที่เก็บรักษาในวัสดุเก็บรักษาชนิดต่างๆ เป็นเวลา 3 เดือน มาทดสอบศักยภาพในการฆ่าหนอนทดสอบ (*Galleria mellonella*) พบว่าไส้เดือนฝอยมีศักยภาพในการฆ่าหนอนทดสอบตายเท่ากับ 90 75 40 5 และ 65 % ตามลำดับ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การเก็บรักษาไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. KPs No.2 และ *Heterorhabditis* sp. PRh ให้คงความมีชีวิตและคงศักยภาพในการกำจัดแมลงดีที่สุดคือ การเก็บรักษาในสารโพลิเมอร์ สามารถรักษาสภาพของไส้เดือนฝอยได้นานกว่าสารอุ้มความชื้นชนิดอื่นๆ โดยมีระยะการเก็บนาน 3 เดือน มีเปอร์เซ็นต์การตายเท่ากับ 11 และ 34 % ตามลำดับ

เมื่อทำการทดสอบศักยภาพในการกำจัดแมลงของไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. KPs No.2 ที่เก็บรักษาในสารโพลิเมอร์เป็นระยะเวลา 3 4 และ 5 เดือน พบว่ามีศักยภาพในการฆ่าหนอนกินไขผึ้งตาย เท่ากับ 95 80 และ 60 % ตามลำดับ และ *Heterorhabditis* sp. PRh ที่เก็บรักษาในสารโพลิเมอร์เป็นเวลา 3 เดือน พบว่ามีศักยภาพในการฆ่าหนอนกินไขผึ้งตาย เท่ากับ 90 %

เอกสารอ้างอิง

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. 2543. ไส้เดือนฝอยที่มีประโยชน์ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช, น. 223-246. ใน พัฒนาการเกษตรไทยยุคเทคโนโลยีชีวภาพ, สำนักวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยี ชีวภาพ. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

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

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.

สำรวจรวบรวมและจำแนกราสกุล *Cercosporoid* fungi และ teleomorph

Surveying, Collecting, and Identification of *Cercosporoid* fungi and their teleomorph

พรพิมล อธิปัญญาคม สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และ ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช

[1]**กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

[2]**สำนักผู้เชี่ยวชาญ**

บทคัดย่อ

การสำรวจและเก็บตัวอย่างราสาเหตุโรคพืชสาเหตุเกิดจาก *Cercosporoid* fungi จำนวน 62 ตัวอย่าง จากพืช 30 ชนิด ในแหล่งต่าง ๆ ของประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2550-กันยายน 2551 แล้วนำไปศึกษาเพื่อจำแนกชนิดของเชื้อโดยตรง (Direct observation) การแยกเชื้อจากเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรค (Tissue transplanting) การจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุโดยการศึกษาลักษณะต่าง ๆ ของราบนเนื้อเยื่อพืช ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อ พบว่าจำแนกได้รา 5 สกุล (genera) 31 ชนิด (species) ได้แก่ *Asperisporium caricae*, *Cercospora apii. C. beticola, C. capsici*, *C. citrullina, C. coffeicola*, *C. hydrangea*, *C. lactucae-sativae*, *C. morina, C. subsessilis*, *C. zinnia*, *Corynespora cassiicola*, *Passalora bougainvillea*, *P. henningsii*, *P. arachidicola*, *P. personata*, *Pseudocercospora abelmoschi, Ps. dendrobii*, *Ps. jathrophae, Ps. jujubae*, *Ps. kaki*, *Ps. musae* (teleomorph: *Mycosphaerella musicola*) และ และราที่ไม่สามารถจำแนกชนิดได้ ชนิด (undidentified species) ได้แก่*Mycosphaerella* 5 ชนิด พบบนใบจุดของบวบ รงทอง ลิ้นจี่ ลิ้นมังกร และเล็บครุฑ *Cercospora sp.* บนใบจุดนางแย้ม และ *Cladosporium* 2 ชนิด พบบนใบจุดแคนตาลูปและขาไก่ ตัวอย่างแห้งโรคพืชเก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์โรคพืชที่กลุ่มวิจัยโรคพืช

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-24-51

คำนำ

รา *Cercosporoid* fungi เป็นกลุ่มราที่ใหญ่ที่สุดใน Hyphomycetes ซึ่งราในกลุ่มนี้จะมีรา *Mycosphaerella* Johanson เป็น teleomorphs จัดอยู่ใน Order Dothideales, Family Mycosphaerellaceae (Crous *et al*., 2000) รา *Mycosphaerella* เป็นกลุ่มราที่ใหญ่ที่สุดใน Ascomycetes มีมากกว่า 2,000 ชนิด และมี anamorphic ประมาณ 23 genera กลุ่มที่ใหญ่ที่สุดของ anamorphic genera ของรา *Mycosphaerella* ได้แก่ *Cercospora* มีประมาณ 700 ชนิด, *Pseudocercospora* มีประมาณ 1,300 ชนิด, *Passalora* มีประมาณ 550 ชนิด

ราในกลุ่มนี้เป็นสาเหตุโรคพืชที่สำคัญหลายชนิด ส่วนใหญ่ รา *Cercosporoid* fungi มักเป็นสาเหตุของโรคใบจุด ทำให้เกิดแผลทุกส่วนของพืช ได้แก่ ดอก ผล bracts เมล็ด และ pedicle รา *Mycosphaerella musicola, M. fijensis* เป็นสาเหตุโรค Sigatoka ของกล้วย *M. graminicola* เป็นสาเหตุของโรค Septoria leaf blotch ของธัญญพืช *M. fragariae* เป็นสาเหตุโรคใบจุดสตรอเบอรี *M. citri* เป็นสาเหตุโรค greasy spot ของส้ม *M. pini* เป็นสาเหตุโรค needle blight ของสน

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ กระดาษ ถุงพลาสติค ปากกาเคมี ดินสอ กรรไกรตัดกิ่ง และ GPS

2. อุปกรณ์จัดเก็บตัวอย่างแห้ง ได้แก่ แผ่นไม้อัดทับตัวอย่าง กระดาษ

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

4. สารเคมีสำหรับ mount slide ได้แก่ lactophenol , lactic acid, shear’s sulution

5. สารเคมีได้แก่ สารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ : สารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ แอธิลแอลกอฮอล์ 75%

6 อาหารวุ้นสังเคราะห์ corn meal agar (CMA), potato dextrose agar (PDA)

7. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ ขวดดูแรน บีกเกอร์ เป็นต้น

8. วัสดุอุปกรณ์อื่นๆ ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อ หม้อนึ่งความดัน ตู้อบฆ่าเชื้อเครื่องแก้ว เป็นต้น

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

วิธีการ

1. สำรวจรวบรวมตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากรา *Cercosporoid* fungi และ teleomorph

สำรวจเก็บตัวอย่างโรคพืชจากส่วนของใบ ดอก ผล กิ่ง ลำต้น และรากของพืช จากแหล่งต่าง ๆ ของประเทศไทย บันทึกรายละเอียด ชนิดพืช แหล่งที่เก็บ วันที่เก็บ และลักษณะอาการของโรค ห่อตัวอย่างพืชด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ ใส่ในถุงพลาสติก บรรจุห่อตัวอย่างลงในกล่องเก็บความเย็น เพื่อนำมาทำศึกษาชนิดและแยกเชื้อสาเหตุในห้องปฏิบัติการ และจัดเก็บตัวอย่างแห้งของพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2. การศึกษารา *Cercosporoid* fungi และ teleomorph จากส่วนที่เป็นโรค

2.1 การศึกษาราจากเนื้อเยื่อพืชโดยตรง (Direct observation)

ศึกษาลักษณะอาการของราสาเหตุโรคและสังเกตลักษณะของโครงสร้างที่ให้กำเนิดสปอร์ของราที่เกิดบนใบ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo บันทึกลักษณะต่าง ๆ ใช้เข็มปลายแหลมเขี่ยส่วนของรา ได้แก่ สปอร์ หรือส่วนขยายพันธุ์ของรา มาวางบนสไลด์ หรือใช้ใบมีดตัดขวางชิ้นส่วนพืชให้บาง ๆ หยดน้ำหรือสีย้อม และปิดทับด้วยแผ่น cover slip และตรวจดูลักษณะต่าง ๆ ของราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound

ถ้าไม่พบสปอร์ของราบนชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรคหลังจากตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และเมื่อเขี่ยเชื้อดูแล้ว ไม่พบราบนชิ้นส่วนพืชให้ทำ moist chamber โดยนำตัวอย่างพืชมาบ่มไว้ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว วางชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรคไว้บนกระดาษกรองที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว และหยดน้ำนึ่งที่ฆ่าเชื้อแล้วบนกระดาษกรองเพื่อให้ความชื้น บ่มไว้อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ นาน 3-7 วัน ใช้เข็มปลายแหลมเขี่ยราที่เจริญอยู่บนชิ้นส่วนพืชมาตรวจดูใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound บันทึกลักษณะต่าง ๆ วัดขนาดส่วนต่าง ๆ ของราและถ่ายภาพจากกล้องจุลทรรศน์

2.2 การศึกษาเชื้อสาเหตุโดยวิธีแยกเชื้อจากเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรค (Tissue transplanting)

ตัดตัวอย่างพืชที่เป็นโรคบริเวณที่เป็นรอยต่อของส่วนที่เป็นโรคและส่วนปกติขนาดประมาณ 2x2 มิลลิเมตร ทำการฆ่าเชื้อที่ผิวพืช โดยแช่ชิ้นส่วนพืชลงในสารละลายคลอร็อกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที ซับให้แห้งด้วยกระดาษกรองที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วจนแห้งสนิท นำชิ้นส่วนพืชมาวางบนอาหาร half strength Potato Dextrose Agar (1/2 PDA) และ Malt Extract Agar (MEA) ต้องทำภายใต้ aseptic condition บ่มไว้ในอุณหภูมิห้องปฏิบัติการ เป็นเวลา 1-3 วัน ตรวจดูเส้นใยราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo ตัดปลายเส้นใย (hyphal tip) ของราที่เจริญออกมาจากชิ้นส่วนพืช วางลงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ จนเชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และนำไปศึกษารายละเอียดของราเพื่อการจำแนกชนิดของราต่อไป เก็บรักษาสายพันธุ์ราไว้ในอุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส

2.3 การจำแนกชนิดรา *Cercosporoid* fungi และ teleomorph

1 ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อได้แก่ ลักษณะของเส้นใย ขนาด สี ลักษณะของสปอร์ สี ขนาด ชนิดของโครงสร้างที่ให้กำเนิดสปอร์

2 นำลักษณะสัณฐานที่ได้จากการศึกษาของราดังกล่าวเปรียบเทียบกับคู่มือการจัดจำแนกชนิดรา *Cercosporoid* fungi และ teleomorph ได้แก่ Chupp (1954); Sivanesan (1984); Crous (1998); Hsieh and Goh (1990); Ellis (1971, 1993); Hanlin (1992, 1998); Guo and Hsieh (1995); Hyde *et al.* (2000); Shin and Kim (2001) และ Crous and Braun (2003)

เวลาและสถานที่

เวลา

เริ่มต้น – สิ้นสุด	ตุลาคม 2550 – กันยายน 2553
สถานที่	- แหล่งพืชธรรมชาติ
	- แปลงปลูกพืชของเกษตรกร
	- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ผลสำรวจรวบรวมตัวอย่างราสาเหตุโรคพืชที่เกิดจากรา *Cercosporoid* fungi และ teleomorph

ผลการสำรวจรวบรวมและเก็บตัวอย่างสาเหตุโรคพืชที่เกิดจากรา *Cercosporoid* fungi และ teleomorph ได้ตัวอย่างโรคพืชทั้งหมด 62 ตัวอย่าง จากพืชทั้งหมด 30 ชนิด ในจังหวัดกาญจนบุรี กรุงเทพฯ ขอนแก่น จันทบุรี ชัยนาท ชลบุรี เชียงใหม่ เชียงราย นครปฐม นครนายก นครราชสีมา นครสวรรค์ ตาก ตราด ปราจีนบุรี พะเยา พิจิตร เพชรบูรณ์ เพชรบุรี ระยอง ราชบุรี ลำปาง ศรีสะเกษ สงขลา และสระบุรี ตัวอย่างโรคพืชที่รวบรวมได้ทั้งหมดนำมาศึกษาในห้องปฏิบัติการโดยการศึกษาราจากเนื้อเยื่อพืชโดยตรง การทำ moist chamber และโดยวิธีการแยกราจากเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรค รายละเอียดชนิดพืชที่เก็บตัวอย่างโรค รายละเอียดชนิดพืชที่เก็บตัวอย่างโรค และจำแนกราแสดงอยู่ในตารางที่ 1

2. การศึกษารา *Cercosporoid* fungi และ teleomorph จากส่วนที่เป็นโรค

จำแนกได้รา 5 สกุล (genera) 31 ชนิด (species) ได้แก่ *Asperisporium caricae* (ใบจุดมะละกอ), *Cercospora apii* (ใบจุดคื่นฉ่าย และ ใบจุดพริก) . *C. beticola* (ใบจุดผัก swiss chard) *C. citrullina* (ตำลึง), *C. coffeicola* (ใบจุดกาแฟ), *C. hydrangea* (ใบจุดไฮเดรนเยีย), *C. lactucae-sativae* (ใบจุดผักสลัด), *C. morina* (ใบจุดหม่อน), *C. subsessilis* (ใบจุดสะเดา), *C.*

zinnia (ใบจุดบานชื่น), *Corynespora cassiicola* (ใบจุดมะละกอและแคนตาลูป), *Passalora bougainvillea* (ใบจุดเฟื่องฟ้า), *P. henningsii* (ใบจุดมันสำปะหลัง), *P. arachidicola* (ใบจุดถั่วลิสง), *P. personata* (ใบจุดถั่วลิสง), *Pseudocercospora abelmoschi* (ใบจุดกระเจี๊ยบเขียว), *Ps. dendrobii* (ใบจุดกล้วยไม้), *Ps. Jujubae* (ใบจุดพุทรา), *Ps. Kaki* (ใบจุดพลับ), *Ps. musae* (teleomorph: *Mycosphaerella musicola*) (ใบจุดกล้วย), (ใบจุดทองพันชั่ง) และราที่ไม่สามารถจำแนกชนิดได้ ชนิด (undidentified species) ได้แก่*Mycosphaerella* 5 ชนิด พบบนใบจุดของบวบ รงทอง ลิ้นจี่ ลิ้นมังกร และเล็บครุฑ *Cercospora sp.* บนใบจุดนางแย้ม และ *Cladosporium* 2 ชนิด พบบนใบจุดแคนตาลูปและขาไก่ และราที่ไม่สามารถจำแนกชนิดได้ ชนิด (undidentified species) ได้แก่*Mycosphaerella* 5 ชนิด พบบนใบจุดของบวบ รงทอง ลิ้นจี่ ลิ้นมังกร และเล็บครุฑ *Cercospora sp.* บนใบจุดนางแย้ม และ *Cladosporium* 2 ชนิด พบบนใบจุดแคนตาลูปและขาไก่ ตัวอย่างแห้งโรคพืชเก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์โรคพืชที่กลุ่มวิจัยโรคพืช

มีรายละเอียด ดังนี้

***Asperisporium caricae* (Speg.) Maubl.**

= *Cercospora caricae*

= *Fusicladium caricae*

= *Scolecotrichum caricae*

= *Epiclinium cumminsii*

= *Pucciniopsis caricae*

Teleomorph -

ลักษณะอาการ: อาการใบจุดพบทั้งบนใบและใต้ใบ แผลจุดสีดำ จุดกลมจนถึงจุดเหลี่ยม ขอบแผลมีสีเหลือง ขนาด 1-5 มิลลิเมตร ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีขาวหม่น ปกคลุมด้วยกลุ่มสปอร์สีดำบนด้านใต้ใบ แผลกระจายไปทั่วใบลัทำให้ใบร่วงในที่สุด

ลักษณะเชื้อ: ราสร้าง conidiophores สีเขียวมะกอกแกมน้ำตาล ขนาด 52 x 6-9 ไมครอน อยู่รวมกันภายใน stroma ลักษณะตรง ไม่แตกกิ่งหรือมีการแตกกิ่งบ้าง ส่วยปลายของ conidiophores ที่เกิด conidia มี scars conidia เกิดเดี่ยว ๆ รูปร่าง ellipsoidal, pyriformor และ clavate ขนาด 16-32 x 5-11 ไมครอน เมื่อแก่มีเซลล์เดียว ไม่มีสีจนถึงสีน้ำตาลอ่อน ผนังขรุขระแบบ verrucose และ hilum หนาและมีสีเข้ม

รา *A. caricae* เป็นสาเหตุโรคจุดดำ (Black spot) ของมะละกอ พบระบาดที่แหล่งปลูกมะละกอที่จังหวัดขอนแก่น (ตารางที่ 1)

***Cercospora apii* Fresenius**

= *Cercospora penicillata* var. *apii* Fuckel

Teleomorph -

ลักษณะอาการ: ใบเป็นแผลจุดค่อนข้างกลมจนถึงรูปร่างไม่แน่นอน ขนาด 0.2 – 0.6 เซนติเมตร เริ่มแรกแผลเป็นสีน้ำตาลอ่อนบนใบต่อมาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม ตรงกลางแผลเนื้อเยื่อแห้ง ขอบแผลมีสีเข้มกว่า มักมีสปอร์ของรา สีเข้ม เจริญขึ้นมา ไม่มี stroma

ลักษณะเชื้อ: conidiophores เจริญอยู่รวมกัน สีน้ำตาลแกมเขียวมะกอกปานกลางจนถึงสีเข้ม ความยาวไม่แน่นอน มักพบไม่ค่อยมีการแตกกิ่ง โค้งงอ ขนาด 20-300 x 4-6.5 ไมครอน มีผนังกั้นเซลล์หลายเซลล์ ส่วนปลายที่เกิดสปอร์มี scars หนาและเห็นชัดเจน conidia ไม่มีสี รูปร่าง acicular ยาว ตรง และโค้ง ลักษณะตัดตรงที่ฐานและมี hilum หนา ขนาด 25-300 x 3-6 ไมครอน

รา *C. apii* เป็นสาเหตุโรคใบจุด ของคื่นฉ่าย และ พริก พบระบาดที่แหล่งปลูกคื่นฉ่าย ที่จังหวัดกาญจนบุรี และ นครราชสีมา และ พริก ที่จังหวัดนครราชสีมา(ตารางที่ 1)

Cercospora beticola

C. beticola (ใบจุดผัก swiss chard)

Cercospora capsici **É.J. Marchal & Steyaert**

= *Cladosporium capsici*

= *Cercospora capsicicola*

= *Phaeoramularia capsicicola*

Teleomorph -

ลักษณะอาการ: เกิดทั้งบนใบ ผล ก้าน ใบเป็นแผลจุดกลม ขนาด 3-10 มิลลิเมตร หรือยาวตามก้าน ขอบแผลสีน้ำตาลอ่อนหรือขาว มักพบราสร้างสปอร์สีดำ เจริญขึ้นมา ตรงกลางแผลมีสีแทนจนถึงสีขาว มีลักษณะเรียงกันเป็นวง มักมีสปอร์ของรา สีเข้ม เจริญขึ้นมา ถ้ามีอาการรุนแรงมากจุดแผลจะขยายเชื่อมติดกันทำให้ใบร่วง มักพบแผลเป็นรู

ลักษณะเชื้อ: conidiophores สีน้ำตาลแกมเขียวมะกอกเข้ม ส่วนปลายจะเรียวขึ้นและสีอ่อนกว่า มีหลายเซลล์ ส่วนใหญ่ conidiophores จะไม่แตกกิ่ง ตรง โค้ง หรือ ความยาวไม่แน่นอน มักพบไม่ค่อยมีการแตกกิ่ง โค้งงอ ส่วนปลายตัด ขนาด 3.5-5 x 20-150 ไมครอน ส่วนฐานกว้าง conidia ไม่มีสี รูปร่าง acicular ตรง จนถึงโค้งเล็กน้อย มีหลายเซลล์ ส่วนฐานปลายตัด ขนาด 2.5-4 x 30-200 ไมครอน

รา *C. capsici* เป็นสาเหตุโรคใบจุด หรือโรคใบจุดตากบ ของพริก พบระบาดที่แหล่งปลูกพริกที่จังหวัดกาญจนบุรี และ เชียงใหม่ (ตารางที่ 1)

Cercospora citrullina **Cooke**

Cercospora cucurbitae

Cercospora sechii

Cercospora trichosanthis

Cercospora momordicae

Cercospora luffae

Cercospora chardoniana

Cercospora momordicae

Teleomorph -

ลักษณะอาการ: ใบเป็นแผลจุดกลมจนถึงรูปร่างไม่แน่นอน ขนาด 0.5 – 7 มิลลิเมตร เริ่มแรกแผลเป็นสีน้ำตาลอ่อนหรือสีแทนจนถึงสีขาว ขอบแผลมีสีม่วงจนถึงสีน้ำตาล มักมีสปอร์ของรา สีเข้ม เจริญขึ้นมาบนใบ ไม่มี stroma บางครั้งก็พบ stroma ขนาดเล็ก สีน้ำตาล

ลักษณะเชื้อ: conidiophores เกิดเดี่ยว ๆ หรือ conidiophores เจริญอยู่รวมกัน ประมาณ 2-30 ส่วนใหญ่ 2-5 สีน้ำตาลอ่อน ส่วนที่แก่ที่สุดจะมีสีน้ำตาลปานกลาง หรือส่วนที่อ่อนจะมีสีอ่อนอยู่ที่ส่วนปลาย conidiophores ตรง โค้งเล็กน้อง
ขนาด 4-5.5 x 50-300 ไมครอน มีผนังกั้นเซลล์หลายเซลล์ conidia ไม่มีสี รูปร่าง acicular ลักษณะตัดตรงที่ฐานล่าวยปลายแหลมมี hilum หนา ขนาด 2-4 x 50-220 ไมครอน

รา *C. citrullina* เป็นสาเหตุโรคใบจุด ของตำลึง พบจังหวัดกาญจนบุรี ปทุมธานี สงขลา พิจิตร และเชียงใหม่ (ตารางที่ 1)

***Cercospora coffeae* Zimm.**

= *Ramularia goeldiana*

= *Cercospora herrerana*

Teleomorph: *Mycosphaerella coffeicola* (Cooke) J.A. Stev. & Wellman

ลักษณะอาการ: ใบเป็นแผลจุดค่อนข้างกลม กว้าง 3-10 มิลลิเมตร ตรงกลางแผลมีสีแทน เทา หรือขาว ขอบแผลสีน้ำตาลแดลจนถึงสีดำ บางครั้งแผลเรียงกันเป็นวง พบบนใบด้านใต้ใบ ไม่มี stromata หรือถ้ามีจะกว้างประมาณ 50 ไมครอน รูปร่างกลม สีน้ำตาลเข้ม

ลักษณะเชื้อ: conidiophores เจริญอยู่รวมกัน ประมาณ 3-30 สีเขียวมะกอกปานกลาง จนถึงสีน้ำตาล ส่วนปลายของ conidiophore มีสีอ่อน บางครั้งพบมีการแตกกิ่ง ขนาด 20-200 x 4-6 ไมครอน มีหลายเซลล์ ลักษณะตัดตรงที่ส่วนปลาย
conidia ไม่มีสี รูปร่าง acicular จนถึง obclvate ตรงจนถึงโค้งงอเล็กน้อย มีหลายเซลล์ ส่วนปลายแหลม ส่วนฐานลักษณะปลายตัดหรือค่อนข้างปลายตัด ขนาด 40-150 x 2-4 ไมครอน

รา *C. coffeae* เป็นสาเหตุโรคใบจุด ของกาแฟ ที่จังหวัดเพชรบูรณ์ (ตารางที่ 1)

Cercospora hydrangeae Ellis & Everh

= *Cercosporina hydrangeicola*

= *Cercospora hydrangeana*

= *Cercospora arborescentis*

Teleomorp -

ลักษณะอาการ: ใบเป็นแผลจุดกลม จนถึงสี่เหลี่ยม สีน้ำตาล จนถึงสีเทา ขอบแผลมีสีน้ำตาลแดงจนถึงสีดำ stromata

ลักษณะเชื้อ: conidiophores เจริญอยู่รวมกัน ประมาณมากกว่า 30 สีอ่อนจนถึงสีน้ำตาล มีหลายเซลล์ ไม่แตกกิ่ง ขนาด 10-100 x 4-6ไมครอน conidia ไม่มีสี รูปร่าง acicular ตรงจนถึงโค้งงอเล็กน้อย มีหลายเซลล์ ส่วนปลายแหลม ส่วนฐานปลายตัด ขนาด 40-100 x 3-4 ไมครอน

รา *C. hydrangea* เป็นสาเหตุโรคใบจุด ของไฮเดรนเยีย ที่จังหวัดเพชรบูรณ์ เชียงราย เชียงใหม่ (ตารางที่ 1)

Cercospora lactucae-sativae Sawada

= *Cercospora ixeridis-chinensis*

= *Cercospora lactucae*

= *Cercospora lactucae*

= *Cercospora lactucae-indicae*

= *Cercospora longispora*

= *Cercospora longissima*

Teleomorph -

ลักษณะอาการ: เกิดแผลจุดกระจายทั่วใบ ลักษณะกลมหรือค่อนข้างกลม แผลมีลักษณะเป็นวงค่อนข้างกลม เรียง
ซ้อนกันเป็นชั้น ๆ แผลมีขนาดเล็กและใหญ่ ขนาดแผล 1-10 มิลลิเมตร เริ่มแรกแผลจุดมีลักษณะฉ่ำน้ำ สีน้ำตาลอ่อน ตรงกลางมีสีเทา ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเทา

ลักษณะเชื้อ: ราสร้าง conidia เดี่ยว ๆ บน conidiophores รูปร่างคล้ายเข็มถึงรูปร่างคล้ายกระสวย หรือรูปร่างคล้ายกระบองปลายกว้าง โค้งตรงกลาง ส่วนปลายแหลม ไม่มีสี ขนาด 28 – 300 x 3.5 – 5.5 ไมครอน มี 5-19 เซลล์ บริเวณเส้นแบ่งกั้นเซลล์ไม่มีรอยคอด ส่วนฐานของ conidia มีลักษณะปลายตัด และมี hilum ยื่นออกมาที่ฐานชัดเจน หนา สีเข้ม

รา *C. lactucae-sativae* เป็นสาเหตุโรคใบจุด ของผักสลัดที่จังหวัดเชียงใหม่ (ตารางที่ 1)

Cercospora morina Chupp

Teleomorph -

รา *C. morina* เป็นสาเหตุโรคใบจุด ของหม่อนที่จังหวัดเชียงใหม่ และศรีสะเกษ (ตารางที่ 1)

Cercospora subsessilis **Syd. & P. Syd.**

= *Cercospora subsessilis var. azadirachtae*

= *Cercoseptoria domingensis*

= *Pseudocercosporella indica*

= *Pseudocercospora meliae*

= *Pseudocercosporella meliae*

Teleomorph -

รา *C. subsessilis* เป็นสาเหตุโรคใบจุด ของสะเดา ที่จังหวัดชัยนาท (ตารางที่ 1)

Cercospora zinniae **Ellis & G. Martin**

= *Cercospora atricincta*

= *Cercosporina zinniae*

Teleomorph -

รา *C. zinniae* เป็นสาเหตุโรคใบจุด ของบานชื่น ที่จังหวัดเพชรบุรี (ตารางที่ 1)

Corynespora cassiicola **(Berk. & M.A. Curtis) C.T. Wei**

= *Corynespora mazei*

= *Cercospora melonis*

= *Corynespora melonis*

= *Helminthosporium papayae*

= *Helminthosporium vignae*

= *Cercospora vignicola*

= *Helminthosporium vignicola*

= *Corynespora vignicola*

= *Corynespora warpuriae*

= *Helminthosporium warpuriae*

Teleomorph -

รา *C. cassiicola* เป็นสาเหตุโรคใบจุด ของมะละกอ ที่จังหวัดเชียงรายและปราจีนบุรี และเป็นสาเหตุโรคใบจุดของแคนตาลูป ที่จังหวัดนครสวรรค์ (ตารางที่ 1)

Passalora arachidicola **(Hori) U. Braun**

= *Cercospora arachidis var. macrospora*

Teleomorph *Mycosphaerella arachidis* Deighton

รา *P. arachidicola* เป็นสาเหตุโรคใบจุด ของถั่วลิสง ที่จังหวัดเพชรบุรี (ตารางที่ 1)

Passalora bougainvilleae **(Munt.-Cvetk.) R.F. Castañeda & U. Braun**

Teleomorph -

รา *P. bougainvilleae* เป็นสาเหตุโรคใบจุด ของเฟื่องฟ้า ที่จังหวัดเพชรบูรณ์ เชียงราย เชียงใหม่ ลำปาง ศรีสะเกษ ชลบุรี สระบุรี และนครราชสีมา (ตารางที่ 1)

Passalora henningsii **(Allesch.) R.F. Castañeda & U. Braun**

= *Cercospora cassavae*

= *Cercospora cearae*

= *Cercospora manihotis*

= *Helminthosporium manihotis*

= *Septogloeum manihotis*

Teleomorph *Mycosphaerella henningsii* Sivan.

รา *P. henningsii* เป็นสาเหตุโรคใบจุด ของมันสำปะหลัง ที่จังหวัดตราด และ ระยอง (ตารางที่ 1)

Passalora personata **(Berk. & M.A. Curtis) Poonam Srivast**

= *Septogloeum arachidis*

= *Cercospora arachidis*

Teleomorph -

รา *P. personata* เป็นสาเหตุโรคใบจุด ของถั่วลิสง ที่จังหวัดเชียงใหม่ (ตารางที่ 1)

Pseudocercospora abelmoschi (Ellis & Everh.) Deighton

= *Cercospora abelmoschi*

= *Cercospora hibisci*

= *Cercospora hibisci-manihotis*

= *Cercospora hibisci-cannabini*

Teleomorph -

รา *Ps. abelmoschi* เป็นสาเหตุโรคใบจุด ของกระเจี๊ยบเขียว ที่จังหวัดกาญจนบุรี นครราชสีมา และเชียงราย (ตารางที่ 1)

***Pseudocercospora dendrobii* Goh & W.H. Hsieh**

Teleomorph -

รา *Ps. dendrobii* เป็นสาเหตุโรคใบจุด ของกล้วยไม้ ที่จังหวัดนครปฐม นครราชสีมา นครปฐม กรุงเทพฯ (ตารางที่ 1)

***Pseudocercospora jathrophae* (G.F. Atk.) A.K. Das & Chattopadh**

= *Cercospora jathrophae*

Teleomorph -

รา *Ps. jathrophae* เป็นสาเหตุโรคใบจุด ของสบู่ดำ ที่จังหวัดนครราชสีมา (ตารางที่ 1)

***Pseudocercospora jujubae* (Chowdhury) A.Z.M.N.A.Khan & S. Shamsi**

= *Cercospora jujubae* Chowdhury

ราไม่สร้าง stromata บนใบพืช conidiophore ลักษณะแตกเป็นกอ สีน้ำตาลอมเขียวอ่อน ๆ ขนาด 400-250 x 4-8 ไมครอน conidia สีน้ำตาลอมเขียวอ่อน ๆ ขนาด 30-55 x 7-13 ไมครอน เกิดอยู่บน conidiophores มี 2-5 septate แต่ส่วนใหญ่พบ 3 septate รูปร่าง รูปรี ส่วนโคนกว้างกว่าส่วนปลายที่เรียวแหลม (obclavate) หรือ รูปคล้ายกระสวย (fusoid) ตรงหรือโค้งเล็กน้อย

มีรายงานพบโรคนี้ระบาดในประเทศพม่า อินเดีย ลาว มอริเทียส ฟิลิปปินส์ ไต้หวัน และอเมริกา พบบนใบพุทรา (*Zizyphus mauritina*) (Ellis, 1993; Hsieh and Goh, 1990; Guo and Hsieh, 1995)

Chowdlhury (1946) รายงานพบรา *Cercospora jujubae* บนพุทราจีน (*Ziziphus jujube*) ในประเทศอินเดีย แต่ต่อมาในปี 1983 A.Z.M.N.A. Khan และ S. Samsi เปลี่ยนชื่อเชื้อสาเหตุเป็นรา *Pseudocercospora* (Guo and Hsieh, 1995)

Gupta และ Madaan (1977) รายงานพบรา *Isariopsis indica* var. *zizyphi* P.C. Gupta & R.L. Madaan บนใบพุทราที่เป็นโรคใบจุดในประเทศอินเดียและพบว่าราชนิดนี้มีลักษณะคล้ายกับ

Cercospora jujubae และเชื่อว่ารา *Isariopsis indica* var. *zizyphi* มีชื่อพ้องกับรา *Pseudocercospora jujubae*

ลักษณะของราที่เจริญบนใบคล้ายกับราดำแต่ไม่ใช่ราดำเป็นราในกลุ่ม *Cercosporoid* fungi ราสร้างเส้นใยและสปอร์สีน้ำตาลดำ เป็นกลุ่มหนาแน่น บนผิวใบด้านล่างทำให้ใบด้านบนตรงบริเวณที่ราเจริญอยู่มีสีเหลือง อาการใบจุดนี้ไม่แสดงอาการใบจุดบนใบพืช ลักษณะอาการของโรคเหมือนกับ Chowdlhury (1946) ไว้

รา *Ps. jujubae* เป็นสาเหตุโรคใบจุด ของพุทรา ที่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย นครราชสีมา สระบุรี นครปฐม ราชบุรี และกาญจนบุรี (ตารางที่ 1)

Pseudocercospora kaki **Goh & W.H. Hsieh**

= *Cercospora kaki*

Teleomorph -

รา *Ps. kaki* เป็นสาเหตุโรคใบจุด ของพลับ ที่จังหวัดเพชรบูรณ์ (ตารางที่ 1)

Pseudocercospora musae **(Zimm.) Deighton**

= *Cercospora musae*

Teleomorph *Mycosphaerella musicola* R. Leach ex J.L. Mulder

รา *Ps. musae* เป็นสาเหตุโรคใบจุด ของกล้วย ที่จังหวัดเชียงใหม่ และพบรา *Mycosphaerella musicola* บนใบกล้วยด้วย (ตารางที่ 1)

Pseudocercospora**Deighton**

= *Cercospora rhinacanthi*

Teleomorph -

รา *Ps. rhinacanthi* เป็นสาเหตุโรคใบจุด ของทองพันชั่ง ที่จังหวัดนครราชสีมา (ตารางที่ 1)

นอกจากนั้นยังพบราที่ไม่สามารถจำแนกชนิดได้ (undidentified species) ได้แก่ *Mycosphaerella* 5 ชนิด พบบนใบจุดของบวบ รงทอง ลิ้นจี่ ลิ้นมังกร และเล็บครุฑ *Cercospora sp.* บนใบจุดนางแย้ม และ *Cladosporium* 2 ชนิด พบบนใบจุดแคนตาลูปและขาไก่ และราที่ไม่สามารถจำแนกชนิดได้ ชนิด (undidentified species) ได้แก่*Mycosphaerella* 5 ชนิด พบบนใบจุดของบวบ รงทอง ลิ้นจี่ ลิ้นมังกร และเล็บครุฑ *Cercospora sp.* บนใบจุดนางแย้ม และ *Cladosporium* 2 ชนิด พบบนใบจุดแคนตาลูปและขาไก่ ตัวอย่างแห้งโรคพืชเก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์โรคพืชที่กลุ่มวิจัยโรคพืช

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การสำรวจและเก็บตัวอย่างราสาเหตุโรคพืชสาเหตุเกิดจาก *Cercosporoid* fungi จำนวน 62 ตัวอย่าง จากพืช 30 ชนิด ในแหล่งต่าง ๆ ของประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2550-กันยายน 2551 จำแนกได้รา 5 สกุล (genera) 31 ชนิด (species) ได้แก่ *Asperisporium caricae*, *Cercospora apii. C. beticola, C. capsici, C. citrullina, C. coffeicola*, *C. hydrangea*, *C. lactucae-sativae*, *C. morina, C. subsessilis*, *C. zinnia*, *Corynespora cassiicola*, *Passalora bougainvillea*, *P. henningsii*, *P. arachidicola*, *P. personata*, *Pseudocercospora abelmoschi, Ps. dendrobii*, *Ps. jathrophae, Ps. jujubae*, *Ps. kaki*, *Ps. musae* (teleomorph: *Mycosphaerella musicola*) และ และราที่ไม่สามารถจำแนกชนิดได้ ชนิด (undidentified species) ได้แก่*Mycosphaerella* 5 ชนิด พบบนใบจุดของบวบ รงทอง ลิ้นจี่ ลิ้นมังกร และเล็บครุฑ *Cercospora sp.* บนใบจุดนางแย้ม และ *Cladosporium* 2 ชนิด พบบนใบจุดแคนตาลูปและขาไก่ ตัวอย่างแห้งโรคพืชเก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์โรคพืชที่กลุ่มวิจัยโรคพืช

เอกสารอ้างอิง

พัฒนา สนธิรัตน ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน, ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์, วิรัช ชูบำรุง และอุบล คือประโคน. 2523. รา *Cercospora* สาเหตุโรคพืชในประเทศไทย. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรมวิชากรเกษตร. 51 หน้า.

Chowdhury, S. 1946. Some fungi from Assam II. Ind. J. Agric. Sci. 16:520-527.

Chupp. C. 1954. A monograph of the fungus genus *Cercospora*. Ithaca, New York.

Crous, P.W. 1998. Mycosphaerella spp. And Their Anamorphs Associated with Leaf Spot Diseases of Eucalyptus. APS Press, The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, 170 pp.

Crous, P.W.and U. Braun. 2003. *Mycosphaerella* and its anamorph: 1. Name published in *Cercospora* and *Passalora*. Centraabureau voor Schimmelculture, Utrect, 571pp.

Ellis, M.B. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, UK. 608 pp.

Ellis, M.B. 1993. More Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, UK. 507 pp.

Guo, Y.I and W. H Hsieh. 1995. The Genus *Pseudocercospora* in China. International Academic Publishers, Rebublic of China. 388 pp.

Gupta, P.C. and R.L. Madaan. 1977. Diseases of fruits from Haryana. A new leaf spot disease of *ZiZyphus mauritiana* Lamk.

Curr. Sci. 46: 237-238.

Hanlin, R.T. 1992. Illustrated Genera of Ascomycetes. APS Press, The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, 263 pp.

Hanlin, R.T. 1998. Illustrated Genera of Ascomycetes Volume II. APS Press, The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, 258 pp.

Hsieh, W.H and T.K. Goh. 1990. *Cercospora* and Similar Fungi from Taiwan. Maw Chang Book, Co., Taipei. 376 pp.

Hyde, K.D., J.E. Taylor and J. Fröhlich. 2000. Genera of Ascomycetes from Palms. Fungal Diversity Press, Hong Kong, 247 pp.

Shin, H.D and J.D. Kim. 2001. *Cercospora* and Allied Genera from Korea. National Institute of Agricultural Science and Technology, Suwon, Korea. 302 pp.

Sivanesan, A. 1984. The Bitunicate Ascomycetes and Their Anamorphs. Germany Braunschweig, J. Cramer, 710 pp.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 รายชื่อรา *Cercosporoid* fungi และteleomorph บนพืชอาศัยต่าง ๆ ระหว่างปี 2550-2553

รา	พืชอาศัย	แหล่งที่เก็บ
Asperisporium caricae	มะละกอ	ขอนแก่น
	คื่นฉ่าย	นครราชสีมา กาญจนบุรี
	พริก	นครราชสีมา
Cercospora beticola	Swiss chard	เชียงใหม่
Cercospora capsici	พริก	เชียงใหม่ กาญจนบุรี
Cercospora citrullina	ตำลึง	ปทุมธานี สงขลา พิจิตร เชียงใหม่
Cercospora coffeicola	กาแฟ	เพชรบูรณ์
Cercospora hydrangea	ไฮเดรนเยีย	เพชรบูรณ์ เชียงราย เชียงใหม่
Cercospora lactucae-sativae	ผักสลัด	เชียงใหม่
Cercospora morina	หม่อน	เชียงใหม่ ศรีสะเกษ
Cercospora subsessilis	สะเดา	ชัยนาท
Cercospora zinniae	บานชื่น	เพชรบุรี
Corynespora cassiicola	มะละกอ	เชียงราย (2 ตัวอย่าง) ปราจีนบุรี
	แคนตาลูป	นครสวรรค์
Passalora bougainvillae	เฟื่องฟ้า	เพชรบูรณ์ เชียงราย เชียงใหม่ ลำปาง ศรีสะเกษ ชลบุรี สระบุรี นครราชสีมา
Passalora henningsii	มันสำปะหลัง	ตราด ระยอง
Passalora arachidicola	ถั่วลิสง	เพชรบุรี
Passalora personata	ถั่วลิสง	เชียงใหม่
Pseudocercospora abelmoschi	กระเจี๊ยบเขียว	กาญจนบุรี นครราชสีมา เชียงราย

Pseudocercospora dendrobii	กล้วยไม้	นครปฐม นครราชสีมา นครปฐม กรุงเทพฯ
รา	**พืชอาศัย**	**แหล่งที่เก็บ**
Pseudocercospora jathrophae	สบู่ดำ	นครราชสีมา
Pseudocercospora jujubae	พุทรา	เชียงใหม่ เชียงราย นครราชสีมา สระบุรี นครปฐม ราชบุรี กาญจนบุรี
Pseudocercospora kaki	พลับ	เพชรบูรณ์
Pseudocercospora musae (teleomorph: *Mycosphaerella musicola*)	กล้วย	เชียงใหม่
	ทองพันชั่ง	นครราชสีมา
Mycoshaerella sp. 1	ลิ้นจี่	เชียงราย
Mycoshaerella sp. 2	บวบ	เชียงใหม่
Mycoshaerella sp. 3	เล็บครุฑ	เชียงราย กรุงเทพ ฯ
Mycoshaerella sp. 4	ลิ้นมังกร	ตาก
Mycoshaerella sp. 5	รงทอง	จันทบุรี
Cercospora sp.	นางแย้ม	นครนายก
Cladosporium sp.	ขาไก่	เพชรบุรี
Cladosporium sp.	แคนตาลูป	พะเยา

สำรวจ รวบรวม และจำแนกรา *Fusarium* สาเหตุโรคพืช

Surveying, Collecting and Identification of Plant Pathogenic *Fusarium*

อภิรัชต์ สมฤทธิ์

ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี ธารทิพย ภาสบุตร สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

กรมวิชาการเกษตร

บทคัดย่อ

การรวบรวมและเก็บตัวอย่างพืชเป็นโรคที่คาดว่ามีสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium* ในพื้นที่เพาะปลูกพืชของเกษตรกรตามภาคต่าง ๆ ของประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2550 – กันยายน 2553เมื่อนำตัวอย่างพืชเป็นโรคมาแยกเชื้อราบริสุทธิ์บนอาหาร WA สามารถจำแนกได้เป็นเชื้อรา *Fusarium* จำนวน 104 ไอโซเลท จากแปลงปลูกพืช 21 จังหวัด ได้แก่ กรุงเทพมหานคร กาญจนบุรี เชียงราย เชียงใหม่ ตาก นครปฐม นครสวรรค์ นครราชสีมา แพร่ ปทุมธานี ปราจีนบุรี แม่ฮ่องสอน เลย สกลนครสระแก้ว สระบุรี สุพรรณบุรี สุราษฎร์ธานี สุรินทร์ หนองคาย และอุบลราชธานี เชื้อรา *Fusarium* ทั้งหมดแยกได้จากพืช 22 ชนิด และเมื่อจำแนกชนิด (species) ของเชื้อราบริสุทธิ์ทั้งหมด โดยอาศัยลักษณะของสัณฐานวิทยา และลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหาร PDA (potato dextrose agar) และ CLA (corn leaf agar) แล้วจำแนกตามวิธีการของ Nelson และคณะ (1983) สามารถจำแนกได้เป็นเชื้อรา *Fusarium* 6 ชนิด (species) ได้แก่ *F. equiseti* จากโรคเหี่ยวของแอสเตอร์, *F. moniliforme* จากโรคลำต้นเน่า หรือโรคเส้นใบแดงของข้าวโพด และโรคลำต้นเน่าแดงของข้าวฟ่าง, *F. oxysporum* จากโรคตายพรายของกล้วยน้ำว้า โรคเหี่ยวของขิง เซเลอรี่ ถั่วลันเตา เบญจมาศ ปอเทือง ผักหวานบ้าน พริกชี้ฟ้า พริกหยวก มะเขือเปราะ มะเขือเทศ ยาสูบ และหอมใหญ่ โรคขั้วและผลเน่าของแตงแคนตาลูป โรคต้นเน่าของกล้วยไม้สกุลแคทรียา และโรคใบไหม้ของกล้วยไม้สกุลคาลิบโซ่ และกล้วยไม้สกุลแดงกิตติ, *F. proliferatum* จากโรคใบไหม้ของกล้วยไม้สกุลหวาย และกล้วยไม้เอื้องใบมัน โรคดอกขีดและไหม้สีน้ำตาลของกล้วยไม้สกุลหวาย และโรคโรคถอดฝักดาบของข้าว, *F. semitectum* จากโรคเมล็ดด่างและโรคใบจุดสีน้ำตาลของข้าว โรคเหี่ยวและผลเน่าของแตงไทย และโรคผลเน่าของแตงแคนตาลูป และ *F. solani* จากโรคเหี่ยวของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี โรคโคนใบไหม้ดำของกล้วยไม้สกุลแวนด้า โรคโรคใบจุดและใบไหม้กล้วยไม้สกุลเอื้องพร้าว โรคลำต้นแตกของแตงโม โรคลำต้นเน่าและผลเน่าของแตงแคนตาลูป และ โรคเหี่ยวและลำต้นเน่าสีน้ำตาลของเบญจมาศ การทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรค พบว่า เชื้อรา *Fusarium* บริสุทธิ์แต่ละไอโซเลทที่แยกได้ สามารถก่อให้เกิดโรคกับชนิด

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-25-51

ของพืชที่เป็นพืชอาศัยได้ การเก็บรักษาเชื้อราสกุล *Fusarium* ตลอดระยะเวลาที่ทำการวิจัย พบว่า วิธีการเก็บแบบแห้งแข็งสูญญากาศ (Lyophiliztion) เป็นวิธีการเก็บรักษาที่ดีที่สุด ส่วนวิธีการเก็บในกลีเซอรีน 10% ที่อุณหภูมิ – 80°ซ. เป็นวิธีการเก็บรักษาที่ดีรองลงมา ซึ่งดีกว่าวิธีการเก็บแบบแห้งบนกระดาษกรอง ที่อุณหภูมิ 8-10 °ซ. และเก็บแห้งในดินสวน ที่อุณหภูมิ 8-10 °ซ.

คำนำ

Fusarium Fries เป็นราจัดอยู่ใน subdivision Deuteromycotina, form–class Hyphomycetes, form–order Tuberculariales, form-family Tuberculariaceae *Fusarium* เป็นรา อาศัยในดิน พบได้ทั่วไปทุกแห่ง เชื้อรา *Fusarium* สาเหตุโรคพืชเป็นพวกที่เข้าทำลายและทำให้เกิดโรคทางระบบท่อลำเลียงของพืช ทำให้เกิดโรคเน่าในหัว เหง้า และรากพืช และเป็นสาเหตุโรคพืชที่สำคัญ ซึ่งระบาดทำความเสียหายแก่ พืชไร่ พืชหัว พืชผัก ไม้ดอกไม้ประดับ และไม้ผลทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว โรคสำคัญในต่างประเทศที่เกิดจากรา *Fusarium* และทำความเสียหายมาก ได้แก่ โรคเหี่ยวในกล้วย (Panama wilt) โรคเหี่ยวของมะเขือเทศ พริก ปอ (flax) ฝ้าย ถั่วลิสง ถั่วเหลือง ถั่วลันเตา หัวหอม มันฝรั่ง กล้วย ส้ม และแอปเปิล ในประเทศไทยพบราสกุลนี้หลายชนิดกระจัดกระจายอยู่ทั้งในดินและพืช มากกว่าราชนิดอื่นโดยเป็นสาเหตุของโรคในพืชที่สำคัญหลายชนิด ได้แก่ ธัญพืชเมืองหนาว ฝ้าย ถั่วลิสง หัวหอม กะหล่ำปลี แตงโม มะเขือเทศ พริก ถั่วฝักยาว และ มันฝรั่ง แต่โรคที่พบว่า เชื้อรา *Fusarium* ทำความเสียหายให้กับพืชในประเทศไทยมากที่สุดคือโรคเหี่ยว (Fusarium wilt disease) กับพืชล้มลุก และพืชผักหลาย ๆ ชนิด และโรคผลเน่า (Fusarium fruit rot) ที่ทำมีการระบาดทำความเสียหายให้กับผลผลิตพืชเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะกับพืชตระกูลแตง ที่มีการขยายพื้นที่ปลูกเพื่อจำหน่ายในประเทศ และส่งออกจำหน่ายยังต่างประเทศ ในต่างประเทศมีรายงานการเข้าทำลายของเชื้อ *Fusarium* ในพืชตระกูลแตงหลายชนิดด้วยกัน เช่น *F. oxysporum* สาเหตุโรค fusarium wilt นอกจากนั้นยังมีเชื้อ *Fusarium* สาเหตุโรคผลเน่า คือ เชื้อรา *F. graminum* Corda, *F. graminearum* Schwabe, *F. acuminatum* Ellis & Everh. sensu Gordon, *F. avenaceum* (Fr.:Fr.) Sacc., *F. culmorum* (W. G. Sm.) Sacc., *F. moniliforme* J. Sheld. แม้ที่ผ่านมาได้มีรายงานการศึกษาโรคที่เกิดจากเชื้อ *Fusarium* ในประเทศไทยบ้างแล้ว แต่ก็เป็นข้อมูลที่สามารถอธิบายได้เพียงบางส่วนหรือช่วงระยะเวลาหนึ่งเท่านั้น ซึ่งในปัจจุบันประเทศไทยได้มีการปลูกพืชพันธุ์ที่คล้ายคลึงกับพันธุ์ที่ผลิตในต่างประเทศหรือนำเข้าพันธุ์พืชมาจากต่างประเทศมาปลูกเป็นการค้า ซึ่งพืชเหล่านี้มีรายงานการพบโรคเหี่ยวและโรคผลเน่าจากเชื้อราสกุล *Fusarium* อยู่เสมอ ดังนั้นจึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจอย่างยิ่งในการวางแผนการศึกษาเพื่อรวบรวมข้อมูลว่าปัจจุบันประเทศไทย มีเชื้อรา *Fusarium* ชนิด (species) ใหม่เกิดขึ้นเป็นสาเหตุของโรคเหี่ยวและผลเน่าเกิดขึ้นหรือไม่ เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมตั้งอยู่ในเขตร้อนชื้น ทำให้จุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชมีการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมเพื่อปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนไป และความเสียหายของผลผลิตเนื่องจากจุลินทรีย์โรคพืชจึงเกิดเป็นประจำทุกปี ซึ่งผลจากการศึกษาจะทำให้เข้าใจ แหล่งที่มา การผันแปรและการพัฒนาของเชื้อ *Fusarium* ในการทำให้เกิดโรค นอกจากนั้น

จากการศึกษายังทำให้ทราบพื้นที่การเกิดโรค แหล่งแพร่กระจาย และได้ culture ของ isolate ต่างๆ ที่จัดจำแนกชื่อชนิดแล้วพร้อมข้อมูลเก็บรักษาไว้ใน culture collection ของกรมวิชาการเกษตร เพื่อใช้เป็นเครื่องมือในการศึกษาวิจัยทางด้านต่างๆ เช่น เปรียบเทียบลักษณะที่อาจผันแปรที่เกิดขึ้นของเชื้อในช่วงปีที่ต่างกัน หรือใช้ศึกษาทางด้านอณูชีววิทยา เปรียบเทียบการจัดจำแนกทาง DNA กับการจำแนกทางสัณฐานวิทยาเพื่อยืนยันชื่อที่ถูกต้องของเชื้อบางชนิด (species) หรือศึกษาการสร้างสารพิษ รวมถึงการมีประโยชน์อื่นเป็นต้น

วิธีดำเนินการทดลอง

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างพืชที่เป็นโรคที่เกิดจาก *Fusarium* จากแหล่งปลูกพืชต่างๆ ในประเทศไทย
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ WA (Water Agar), PDA (Potato Dextrose Agar), CLA (Corn Leaf Agar) และ KCL
3. กล้องถ่ายภาพ กล้องจุลทรรศน์พร้อมอุปกรณ์ถ่ายภาพ
4. อุปกรณ์ต่างๆ ในห้องปฏิบัติการ
5. วัสดุอุปกรณ์สำหรับปลูกต้นไม้ในโรงเรือนทดลอง เช่น กระถางปลูกต้นไม้ขนาดความจุ 10 ลิตร ดิน พลั่ว บัวรดน้ำ ฯลฯ
6. เมล็ดพันธุ์ หรือต้นกล้าพืช สำหรับทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคของ *Fusarium* แต่ละไอโซเลท

วิธีการ

กรรมวิธีและวิธีการทดลอง :

1. การเก็บตัวอย่างพืชที่เป็นโรค

ทำการเก็บรวบรวมตัวอย่างพืชที่แสดงอาการเหี่ยว และ ผลเน่า จากแหล่งปลูกพืชต่างๆ ทั่วทุกภาคของประเทศไทย บันทึกข้อมูลในแปลงปลูก บันทึกและถ่ายภาพลักษณะอาการของโรค

2. การแยกเชื้อ *Fusarium* จากพืชที่เป็นโรค

2.1 วิธีการวางเนื้อเยื่อพืชเป็นโรคในกล่องชื้น (moist chamber method) โดยนำชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรควางลงบนกระดาษกรองในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อเชื้อราสร้างสปอร์ จึงแยกสปอร์จากผิวชิ้นส่วนพืช

2.2 วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรคบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (tissue transplanting method) โดยตัดชิ้นส่วนพืชระหว่างส่วนเป็นโรคและส่วนปกติ หรือบริเวณท่อน้ำท่ออาหารของลำต้นและส่วนโคนของพืชที่แสดงอาการโรคเหี่ยว หรือ บริเวณผลที่มีอาการเน่า ให้มีขนาดประมาณ 5 x 5 มิลลิเมตร ฆ่าเชื้อบริเวณผิวของชิ้นส่วนพืชด้วยคลอร็อกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ (chlorox 10%) นาน 3-4 นาที แล้วแต่ขนาด

ของชิ้นส่วนพืช ย้ายลงวางบนอาหาร WA บ่มเชื้อ 24-36 ชั่วโมง ที่ 28 °ซ. เมื่อเส้นใยเจริญออกมา จึงแยกเส้นใยเชื้อลงเลี้ยงบนอาหาร PDA

3. การศึกษาและการจำแนกชนิด

3.1 ทำเชื้อบริสุทธิ์โดยการใช้ single–spore technique

เขี่ยกลุ่มสปอร์ลงใน vial ที่มีน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ทำสปอร์แขวนลอยให้มีปริมาณสปอร์ประมาณ 10 สปอร์ ต่อ 1 ลูป (loop; ห่วงลวด) ภายใต้เลนส์ objective กำลังขยายต่ำ ใช้ลูปที่ปลอดเชื้อแตะสปอร์แขวนลอย แล้วขีด (streak) ลงบนผิวหน้าของอาหาร WA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง จากนั้นใช้เข็มเขี่ยตักสปอร์เดี่ยวที่งอก มาเลี้ยงบนอาหาร PDA

3.2 การจำแนกชนิด : ทำการศึกษาลักษณะของสัณฐานวิทยา ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ และจำแนกตามวิธีการของ Nelson และคณะ (1983) ตามขั้นตอนต่อไปนี้

- ศึกษาลักษณะการเจริญของโคโลนีเชื้อรา *Fusarium* และศึกษาการสร้าง pigment, sclerotium และ sporodochium บนอาหาร PDA
- บันทึกลักษณะและวัดขนาดของ conidium, conidiophore บนอาหาร CLA อายุ 10-14 วัน ที่อุณหภูมิ 26-28 °ซ. ภายใต้แสง NUV (near ultraviolet)
- บันทึกการสร้าง และลักษณะของ chlamydospore บนอาหาร KCl อายุ 30 วัน ที่อุณหภูมิ 26-28 °ซ. ภายใต้แสง NUV (near ultraviolet)
- ทำ slide culture เพื่อศึกษาลักษณะของ sporogenous cell, phialide, microconidium, macroconidium

3.3 การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกข้อมูลในแปลงปลูก ระดับความเสียหายของโรค บันทึกและถ่ายภาพลักษณะอาการของโรค
2. บันทึกลักษณะโคโลนีที่เจริญของเชื้อบริสุทธิ์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA
3. บันทึกลักษณะสัณฐานและขนาดของเชื้อ ได้แก่ sporogenous cell, phialide, microconidium, macroconidium
4. บันทึกชนิด (species) ของเชื้อ *Fusarium* ที่พบบนพืชและสถานที่พบโรค

4. การทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรค

1. เตรียมต้นพืชสำหรับทดสอบ : โดยเตรียมดินร่วน ใส่กระถางปลูกต้นไม้ขนาดความจุ 10 ลิตร นำเมล็ดพันธุ์หรือต้นกล้าพืช มาปลูกในกระถางที่บรรจุดินแล้ว วางกระถางปลูกพืชไว้ในโรงเรือน ที่แสงแดดส่องถึง ดูแลรดน้ำและให้ปุ๋ย

2. เตรียม inoculum: เลี้ยงเชื้อรา *Fusarium* ที่ต้องการทดสอบ บนอาหาร PDA ประมาณ 7 วัน จากนั้นถ่ายเชื้อลงในอาหารเมล็ดข้าวฟ่างที่นึ่งฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้ว บ่มเชื้อเป็นเวลา 14 วัน จากนั้น ชั่งเมล็ดข้าวฟ่างที่มีเชื้อราเจริญอยู่จำนวน 30 กรัม แบ่งเป็น 3 ส่วน ๆ ละ 10 กรัม ฝังไว้ที่โคนต้นพืชที่ต้องการทดสอบ สำหรับเชื้อ *Fusarium* ทีทำให้เกิดอาการโรคทางดอก ผล และใบ ก็นำเมล็ดข้าวฟ่างที่มีเชื้อราเจริญอยู่ มาทำสปอร์แขวนลอยในน้ำ ปรับให้มีความหนาแน่นของสปอร์เท่ากับ $1.0x10^5$ สปอร์ต่อ 1 มิลลิลิตร นำสปอร์แขวนลอยพ่น บริเวณส่วนที่พบการเกิดโรค ตรวจสอบการเกิดโรคและลักษณะอาการที่เกิดขึ้น หลังจากปลูกเชื้อแล้ว 1 สัปดาห์

3. ดำเนินการตามวิธีการ Koch's postulate: นำเนื้อเยื่อพืชที่พบโรค มาแยกเชื้อ และจำแนกชนิดตามวิธีการที่ได้ดำเนินการมาในหัวข้อ การศึกษาและการจำแนกชนิด เมื่อได้เชื้อรา Fusarium ชนิดเดียวกับที่ใช้ปลูกเชื้อแล้ว ก็นำมาปลูกเชื้อซ้ำอีกครั้งในพืชชนิดเดิม ตรวจสอบการเกิดโรคและลักษณะอาการที่เกิดขึ้น

4. บันทึก และสรุปผลที่ได้

เวลา เดือน ตุลาคม 2550 – เดือน กันยายน 2553

สถานที่ 1. กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

2. แปลงปลูกพืชของเกษตรกร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การรวบรวมและเก็บตัวอย่างพืชเป็นโรคที่คาดว่ามีสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium* ในพื้นที่เพาะปลูกพืชของเกษตรกรตามภาคต่าง ๆ ของประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2550 – กันยายน 2553เมื่อนำตัวอย่างพืชเป็นโรคมาแยกเชื้อราบริสุทธิ์บนอาหาร WA สามารถจำแนกได้เป็นเชื้อรา *Fusarium* จำนวน 104 ไอโซเลท และเมื่อจำแนกชนิด (species) ของเชื้อราบริสุทธิ์ทั้งหมด โดยอาศัยลักษณะของสัณฐานวิทยาลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA, CLA และ KCL และจำแนกตามวิธีการของ Nelson และคณะ (1983) สามารถจำแนกได้เชื้อรา *Fusarium* 6 ชนิด (species) ได้แก่ *F. equiseti, F. moniliforme*, *F. oxysporum*, *F. proliferatum*, *F. semitectum* และ *F. solani* ซึ่งเชื้อรา *Fusarium* ทั้งหมดแยกได้จากพืช 22 ชนิดที่ปลูกในพื้นที่ 21 จังหวัด ได้แก่ *F. equiseti* จากโรคเหี่ยวของแอสเตอร์, *F. moniliforme* จากโรคลำต้นเน่า หรือโรคเส้นใบแดงของข้าวโพด และโรคลำต้นเน่าแดงของข้าวฟ่าง, *F. oxysporum* จากโรคตายพรายของกล้วยน้ำว้า โรคเหี่ยวของขิง เซเลอรี่ ถั่วลันเตา เบญจมาศ ปอเทือง ผักหวานบ้าน พริกชี้ฟ้า พริกหยวก มะเขือเปราะ มะเขือเทศ ยาสูบ และหอมใหญ่ โรคขั้วและผลเน่าของแตงแคนตาลูป โรคต้นเน่าของกล้วยไม้สกุลแคทรียา และโรคใบไหม้ของกล้วยไม้สกุลคาลิบโซ่ และกล้วยไม้สกุลแดงกิตติ, *F. proliferatum* จากโรคใบไหม้ของกล้วยไม้สกุลหวาย และกล้วยไม้เอื้องใบมัน โรคดอกขีดและไหม้สีน้ำตาลของกล้วยไม้สกุลหวาย และโรคโรคถอดฝักดาบของข้าว, *F. semitectum* จากโรคเมล็ดด่างและโรคใบจุดสีน้ำตาลของข้าว โรค

เหี่ยวและผลเน่าของแตงไทย และโรคผลเน่าของแตงแคนตาลูป และ *F. solani* จากโรคเหี่ยวของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี โรคโคนใบไหม้ดำของกล้วยไม้สกุลแวนด้า โรคโรคใบจุดและใบไหม้กล้วยไม้สกุลเอื้องพร้าว โรคลำต้นแตกของแตงโม โรคลำต้นเน่าและผลเน่าของแตงแคนตาลูป และ โรคเหี่ยวและลำต้นเน่าสีน้ำตาลของเบญจมาศ โดยอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium* ในพืชแต่ละชนิดมีลักษณะอาการ และสถานที่พบโรคแตกต่างกันไป ดังแสดงในตารางที่ 1

สำหรับรายละเอียดของเชื้อรา *Fusairum* จำนวน 6 ชนิดมีดังนี้

1. ***Fusarium equiseti*** **(Corda) Sacc.**

ชื่อพ้อง : *F. equiseti* (Corda) Sacc. pro parte
F. scirpi Lambotte & Fautr. var. *compactum* Wollenw
F. scirpi Lambotte & Fautr. var. *filiferum* (Preuss) Wollenw.
F. roseum Lk, ememd. Snyd. & Hans. 'Equiseti' pro parte
F. roseum Lk. ememd. Snyd. & Hans. 'Gibbosum' pro parte
F. roseum Lk. ememd. Snyd. & Hans. var. *gibbosum* (Wollenw.) Messianen & Cassini pro parte

ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA : เชื้อราสร้างเส้นใยเจริญเร็ว โคโลนีสีขาว ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีครีม ครีมอมส้มอ่อน จนถึงน้ำตาลอ่อน ใต้โคโลนีมีสีครีมปนน้ำตาล เมื่อโคโลนีมีอายุมากสร้างสปอโรโดเชียม (sporodochium) สีส้ม ไมโค

ลักษณะสัณฐานวิทยาบนอาหาร CLA: เชื้อราไม่ค่อยสร้าง microconidium หากสร้างมีรูปไข่ เซลล์เดียว macroconidium รูปร่างคล้ายเคียว ส่วนปลายเรียวยาวและโค้ง เซลล์ที่ฐานมีลักษณะ คล้ายเท้า (foot-shaped) ชัดเจน มี 3-5 ผนังกั้น (septate) ไฟอะไลด์ (phialide) เป็นแบบ monophialide มีทั้งแบบแตกกิ่งก้าน และไม่แตกกิ่งก้าน (branched and unbranched monophialide) เชื้อราชนิดนี้สร้างสปอร์ผนังหนา หรือ chlamydospore จำนวนมาก มีทั้งเกิดเดี่ยว ๆ หรือต่อกันเป็นลูกโซ่ หรือ รวมกันเป็นกลุ่ม มีทั้งแบบผนังเรียบและผนังขรุขระ

เชื้อรานี้พบมากในเขตอบอุ่น และเขตกึ่งร้อน มีพืชอาศัยหลายชนิด เป็นสาเหตุของโรครากและลำต้นเน่าของพวกธัญพืช แต่ไม่รุนแรง พบบนเมล็ดของข้าวฟ่าง ข้าวโพด ข้าวสาลี *Albemochus esculentus, Capsicum annum, Dennisetum glaucum และ Phaseolus aureus* (Neergaard, 1977) ในประเทศไทยมีรายงานว่า เชื้อรานี้เป็นสาเหตุของโรคโคนเน่าแห้งของข้าวสาลี และข้าวบาร์เลย์ (พัฒนาและคณะ, 2531) และแยกได้จากแคนตาลูปที่แสดงอาการเหี่ยว จากต้นหน่อไม้ฝรั่งที่แสดงอาการไหม้และใบจุดของหญ้าคา (ปิยะวดี, 2533) และในดินเกษตรกรรม (พัฒนาและคณะ, 2528)

2. ***F. moniliforme*** **Sheldon**

ชื่อพ้อง : *F. verticillioides* (Sacc.) Nirenberg

F. fujikuroi Nirenberg

F. moniliforme var. *subglutinans* Wr. & Reink

F. moniliforme Sheldon emend. Snyd. & Hans. pro parte

ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA : เชื้อราสร้างเส้นใยฟู สีขาว เจริญอย่างรวดเร็ว เมื่อมีอายุมากขึ้นเส้นใยมีสีชมพู ชมพูแซมด้วยสีม่วง จนถึงสีชมพูอมม่วง ขนาดความยาวของโคโลนีในหลอดอาหารโดยเฉลี่ยวัดได้ 7.8 เซนติเมตร เมื่ออายุ 12 วัน สร้าง sporodochium สีส้มบนผิวหน้าอาหาร โคโลนีด้านใต้วุ้นอาหารมีสีม่วง หรือม่วงคราม พบการสร้างเม็ด sclerotium สีเขียวอมน้ำเงิน กระจายในวุ้นอาหาร

ลักษณะสัณฐานวิทยาบนอาหาร CLA: เชื้อราสร้าง microconidium จำนวนมาก โดยสร้างเป็นกลุ่ม (false head) และสร้างต่อกันเป็นลูกโซ่ยาวบน microconidiophore แบบ monophialide microconidia รูปไข่ (oval) ถึงรูปกระบอง (club-shaped) มี 1 เซลล์ ไม่มีสี ขนาด 2-3 x 6-9 ไมครอน macroconidium สร้างบน conidiophore แบบ monophialide ที่แตกกิ่งก้านและรวมกันเป็นกลุ่ม (mass) บน sporodochium ที่มีสีส้ม และมีรูปร่างแบบ cushion-shaped macroconidium รูปร่าง fusiform โค้งเล็กน้อยจนถึงเกือบตรง ช่วงกลางสปอร์ค่อนข้างแคบยาว และผนังทั้งสองด้านขนานกัน เซลล์ที่ฐานลักษณะคล้ายเท้า (foot-shaped) ไม่มีสี มี septum 3-6 ขนาด 20-24 x 3.5-4 ไมครอน เชื้อรานี้ไม่สร้าง chlamydospore

F. moniliforme สร้าง microconidium ได้ดี และสร้างจำนวนมากบนอาหารเลี้ยงเชื้อ แต่บาง isolate สร้าง macroconidium จำนวนน้อย ลักษณะสำคัญที่ใช้จำแนกคือ conidiophore เป็นแบบ monophialide ไม่มีการสร้าง polyphialide และมีการสร้าง microconidium ทั้งแบบเป็นกลุ่ม (false head) และแบบต่อกันเป็นลูกโซ่ ที่มีความยาวมาก บางครั้งมีจำนวนถึง 50 conidium ต่อ 1 ลูกโซ่ (Nelson *et al*., 1983) พัฒนาและคณะ (2543) ได้ศึกษาโรคถอดฝักดาบของข้าวในประเทศไทยระหว่างปี พ.ศ.2537-2538 และอภิรัชต์และคณะ (2545) ได้ศึกษารวบรวมเชื้อรา *Fusarium* สาเหตุโรคถอดฝักดาบของข้าว พบว่า ไอโซเลทต่างๆ ที่แยกได้จากอาการโรคถอดฝักดาบ ในท้องที่ภาคเหนือและภาคกลาง มี microconidiophore ลักษณะเป็น mono- และ polyphialide ซึ่งเป็นลักษณะของ *F. proliferatum* ในประเทศมาเลเซียมีรายงานพบราทั้ง 2 ชนิดนี้ เป็นสาเหตุโรคถอดฝักดาบของข้าว (Salleh, 1988)

3. *F. oxysporum* Schlecht ex Fries, emend. Snyder & Hansen

ชื่อพ้อง : *F. oxysporum* Schlecht. Emend. Snyd. & Hans. pro parte

F. redolens Wollenw.

F. oxysporum Schlecht. Emend. Snyd. & Hans. var. *redolens* (Wollenw.) Gordon

F. oxysporum Schlecht.

F. oxysporum Schlecht. var. *redolens* (Wollenw.) Gordon

ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA : เชื้อราสร้างเส้นใยฟู ละเอียด สีขาว สีขาวแซมม่วง สีชมพูม่วง สีม่วงอ่อน จนถึงสีม่วงเข้ม เจริญอย่างรวดเร็ว สร้าง sporodochium สีส้มจำนวนมาก โคโลนีด้านใต้ผิวอาหารมีสีม่วงอ่อน ม่วงเข้ม หรือน้ำเงินเข้ม และสร้างเม็ด sclerotium สีน้ำเงิน

ลักษณะสัณฐานวิทยาบนอาหาร CLA : เชื้อราสร้าง microconidium จำนวนมากเกาะเป็นกลุ่มแบบ false head บน monophialide ซึ่งเกิดจากด้านข้างของเส้นใย phialide รูปร่างคล้ายขวดหรือพินโบว์ลิ่ง ไม่มีสี มีขนาดสั้นกว่า phialide ของ *F. moniliforme* และ *F. solani* microconidia รูปไข่ ยาวรีสั้นป้อม จนถึงรูปทรงกระบอก ไม่มีสี มี 1-2 เซลล์ ส่วนใหญ่มี 1 เซลล์ macroconidia รูปร่างโค้งแบบ fusoid-subculate เซลล์ที่ฐานมีลักษณะคล้ายเท้า (foot-shaped) เซลล์ที่ปลายเรียวแหลม หรือทู่มน ผนังบาง ไม่มีสี มี septum 3-5 ขนาด 24-26 x 3-4.5 ไมครอน เกิดบน conidiophore ที่แตกกิ่งก้านมากหรือเกิดบน sporodochium ที่มีลักษณะเป็นก้อน (tubercularia-like) เชื้อราชนิดนี้สร้าง chlamydospore รูปไข่ หรือทรงกลม ผนังเรียบหรือผนังขรุขระ เกิดที่บริเวณส่วนปลายเส้นใย (terminal) และส่วนกลางเส้นใย (intercalary) มักเกิดเดี่ยว แต่บางครั้งเกิดเป็นคู่หรือเป็นลูกโซ่

เชื้อราชนิดนี้ทำให้เกิดโรคเหี่ยว (vascular wilt) กับพืชหลายชนิด เป็นราที่มีพืชอาศัยกว้างมาก ทำความเสียหายกับพืชมากที่สุด และมีความสามารถทำให้เกิดโรคเฉพาะกับพืช โดยลักษณะของสัณฐานวิทยาคล้ายคลึงกัน ดังนั้น นักอนุกรมวิธานราที่ได้ศึกษา และจัดระบบการจำแนก จึงได้ให้ชื่อเป็น form-species เฉพาะพืชอาศัยแต่ละชนิด เช่น โรคเหี่ยวของแตงเกิดจาก *F. oxysporum* f. sp. *melonis*, โรคเหี่ยวของฝ้ายเกิดจาก *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* และ โรคต้นเหี่ยวของถั่วเหลืองเกิดจาก *F. oxysporum* f. sp. *glycines* ซึ่งขนาดและรูปร่างของ macroconidia มีความผันแปรบ้างในระหว่าง form-species (Booth, 1971)

4. *F. proliferatum* (Matsushima) Nirenberg

ชื่อพ้อง : *F. moniliforme* Sheldon pro parte

F. moniliforme Sheldon emend. Snyd. & Hans. pro parte

ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA : เส้นใยฟู หนาแน่น ขณะยังอ่อนมีสีขาว เมื่อมีอายุมากขึ้น มีสีชมพูส้ม สีส้มชมพู จนถึงสีชมพูม่วง โคโลนีเจริญอย่างรวดเร็ว ขนาดความยาวของโคโลนีในหลอดอาหาร มากกว่า 7 เซนติเมตร เมื่ออายุ 12 วัน sporodochium มีสีส้ม ถึงสีส้มเข้ม โคโลนีด้านใต้อาหารวุ้นมีสีส้มอ่อน สีม่วงแดง จนถึงสีม่วงคราม บาง isolate สร้างเม็ด sclerotium สีน้ำเงิน

ลักษณะสัณฐานวิทยาบนอาหาร CLA : ลักษณะโดยทั่วไปคล้าย *F. moniliforme* และ *F. subglutinans* ซึ่ง microconidium เกิดบน microconidiophore ทั้งแบบเป็นกลุ่ม (false head) และต่อเนื่องเป็นลูกโซ่ (chain) แต่จำนวน conidium ในแต่ละลูกโซ่น้อยกว่า *F. moniliforme* พบสร้าง phialide ทั้งแบบ mono- และ polyphialide เช่นเดียวกับ *F. subglutinans* และไม่สร้าง chlamydospore

Nelson, *et al*. (1983) จัด *Fusarium* ใน section Liseola จำนวน 4 ชนิด คือ *F. moniliforme, F. proliferatum, F. subglutinans* และ *F. anthophilum* มีลักษณะโดยทั่วไปใกล้เคียงกันมาก จะแตกต่างกันในบางลักษณะอย่างใดอย่างหนึ่งเท่านั้น ดังนั้นการศึกษาเพื่อจำแนกชนิด ต้องใช้ความละเอียดถี่ถ้วน และดำเนินการตามขั้นตอนของ Nelson, *et al*. (1983) (หากใช้ระบบการจัดจำแนกของ

Nelson) และควรศึกษาจำนวนหลายๆ isolate เพื่อเปรียบเทียบกัน ในต่างประเทศมีรายงานพบเชื้อรานี้บนพืชตระกูลกล้วยไม้สกุล *Dendrobium* (http://www.extento.hawaii.edu/kbase/crop/type/f-prolif.htm.) และอภิรัชต์และคณะ (2545) ได้ศึกษารวบรวมเชื้อรา *Fusarium* สาเหตุโรคถอดฝักดาบของข้าว พบว่าเกิดจากเชื้อรา *F. proliferatum* เนื่องจากเชื้อรานี้สร้างก้านชูโคนีเดียแบบ polyphialide

5. *F. semitectum* Berk. & Rav.

ชื่อพ้อง : *F. roseum* Lk. emend. Snyd. & Hans. pro parte

F. roseum Lk. emend. Snyd. & Hans. var. *arthrosporioides* (Sherb.) Messiaen & Cassini pro parte

ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA : เส้นใยฟูหนา ขณะยังอ่อนมีสีขาวนวล เมื่ออายุมากขึ้นมีสีน้ำตาลอ่อน จนถึงสีน้ำตาลเหลือง เจริญอย่างรวดเร็ว ขนาดความยาวของโคโลนีบนหลอดอาหารมากกว่า 7 เซนติเมตร เมื่ออายุ 12 วัน สร้าง sporodochium สีส้มอ่อนบนผิวหน้าอาหาร โคโลนีด้านใต้อาหารวุ้น มีสีน้ำตาลอ่อนจนถึงสีน้ำตาลเข้ม

ลักษณะสัณฐานวิทยาบนอาหาร CLA : ไม่ค่อยพบสร้าง microconidium ส่วน macroconidium มี 2 ลักษณะ ลักษณะแรกรูปร่างคล้ายกระสวย (spindle-shaped) ตรงหรือโค้งเล็กน้อย เซลล์ที่ฐานมี papilla เป็นตุ่มเล็กๆ ไม่มีรูปร่างคล้ายเท้า (foot-shaped) ส่วนปลายเรียวแหลม ไม่มีสี มี septum 3-5 ขนาด 17-28 x 2.5-4 ไมครอน เกิดบน conidiophore แบบ mono- และ polyphialide ที่แตกกิ่งก้านหรือไม่แตกกิ่งก้าน และชูลอยในอากาศอยู่กับกลุ่มเส้นใย ลักษณะที่สอง รูปร่าง fusoid-shaped โค้ง เซลล์ที่ฐานมีลักษณะคล้ายเท้า (foot-shaped) ปลายเรียวแหลมถึงทู่มน ไม่มีสี มี septum 3-5 ขนาด 17-28 x 2.5-4 ไมครอน ลักษณะคล้าย *F. oxysporum* มาก เกิดบน conidiophore แบบ mono- และ polyphialide ที่แตกกิ่งก้านมาก และอยู่เป็น mass ที่เรียกว่า sporodochium เชื้อราชนิดนี้สร้าง chlamydospore รูปกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5-10 ไมครอน เกิดเดี่ยวหรือต่อเป็นลูกโซ่ ที่ส่วนกลางเส้นใย

โดยปกติ เชื้อราชนิดนี้เป็นพวก saprophyte หรือ secondary invader กับพืช มักพบเสมอบนเมล็ดพืชหลังการเก็บเกี่ยว ทำความเสียหายกับเมล็ด ทำให้เมล็ดมีคุณภาพต่ำ สูญเสียความงอก และเชื้อรายังสามารถติดไปกับเมล็ดได้ (seed-borne) (Neergaard, 1977)

6. *F. solani* (Mart.) Appel & Wollenw. Emend. Snyd. & Hans

ชื่อพ้อง : *F. javanicum* Koorders

F. coeruleum (Libert) Sacc.

F. solani (Mart.) Sacc.

F. eumartii Capenter

F. illudens Booth

F. ventricosum Appel. & Wollenw.

F. solani (Mart.) Sacc. var. *coeruleum* (Sacc.) Booth

F. tumidum Sherb.

F. solani (Mart.) Sacc. var. *coeruleum* (Sacc.) Bilai

F. solani (Mart.) Sacc. var. *ventricosum* (Appel & Wollenw.) Joffe

ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA : เส้นใยฟู ขณะยังอ่อนมีสีขาวนวล เมื่ออายุมากขึ้นมีสีครีม หรือสีครีมแซมด้วยสีน้ำเงิน เจริญอย่างรวดเร็ว ขนาดความยาวของโคโลนีในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ 7 เซนติเมตร เมื่ออายุได้ 12 วัน sporodochium บนผิวอาหารมีลักษณะเป็นเลื่อมมัน สีครีม บางครั้งเส้นใยยุบตัวลง เห็นแต่เฉพาะ sporochium จำนวนมาก บาง isolate มีสีน้ำเงินแกมเขียว โคโลนีด้านใต้วุ้นอาหารมีสีครีม สีน้ำเงินแกมเขียว หรือสีคราม อาจสร้างหรือไม่สร้างเม็ด sclerotium

ลักษณะสัณฐานวิทยาบนอาหาร CLA : microconidium เกิดเป็นกลุ่มแบบเป็นกลุ่ม (false head) บน conidiophore แบบ monophialide ซึ่งอาจแตกกิ่งก้านหรือไม่แตกกิ่งก้าน microconidium รูปไข่ รูปไต มี 1-2 เซลล์ ไม่มีสี ขนาด 8-16 x 2-4 ไมครอน macroconidia ไม่มีสี รูปทรงกระบอก ลักษณะอ้วน (stout) บริเวณกลาง conidium ค่อนข้างตรง และผนัง 2 ด้านขนานกันจนเกือบตลอด โค้งเข้าเล็กน้อยตรงส่วนหัวและส่วนท้าย เซลล์ปลายสุดโค้งมน เซลล์ที่ฐานมีลักษณะคล้ายท้า (foot-shaped) ขนาดสั้น หรือเป็น notch มี septum 3-5 ขนาด 35-55 x 4.5-6 ไมครอน macroconidiophore อาจแตกกิ่งก้านหรือไม่แตกกิ่งก้านเป็นแบบ monophialide เชื้อราชนิดนี้สร้าง chlamydospore สีน้ำตาล รูปไข่หรือทรงกลม ผนังเรียบหรือขรุขระ เกิดเดี่ยว เป็นคู่ หรือต่อกันเป็นลูกโซ่ ที่บริเวณส่วนปลายหรือส่วนกลางเส้นใย chlamydospore มีขนาด 10-17 x 9-12 ไมครอน

False head ของกลุ่ม microconidium มีขนาดค่อนข้างใหญ่ เมื่อเทียบกับ false head ของ *F. oxysporum* และ *F. moniliforme* ส่วน monophialide ที่สร้าง microconidium มีความยาวเป็น 2 และ 3 เท่าของ monophialide ของ *F. moniliforme* และ *F. oxysporum* ตามลำดับ

โรคเรื่องตายของถั่วเหลืองในประเทศไทย นลินีและคณะ (2545) ได้ศึกษาตัวอย่างถั่วเหลืองที่เป็นโรคนี้จำนวนมากจากหลายแหล่งปลูกของประเทศ และรายงานว่าทุก isolate ที่ทำการศึกษามีลักษณะและขนาดใกล้เคียงกับ *F. solani* form B (FSB) ซึ่งเปรียบเทียบกับรายงานจากต่างประเทศที่จำแนก strain ของ *F. solani* สาเหตุโรคเรื่องตายของถั่วเหลืองเป็น 2 strains คือ *F. solani* form A (FSA) และ *F. solani* form B (FSB)

<u>การทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรค</u>

ผลการทดสอบการก่อให้เกิดโรคของเชื้อรา *Fusarium* spp. ไอโซเลทต่าง ๆ กับพืชชนิดอาศัย เช่น พริก มะเขือเทศ ข้าวโพด ผลแตงแคนตาลูป ผลแตงโม และ ผักหวานบ้าน เป็นต้น พบว่า เชื้อรา *Fusarium* spp. บริสุทธิ์ที่แยกได้จากพืชที่เป็นโรค เมื่อนำไปปลูกเชื้อกับต้นพืชอาศัยที่นำมาทดสอบ สามารถทำให้พืชอาศัยเกิดโรคได้ โดยมีลักษณะอาการคล้ายคลึงกับที่พบในแปลงปลูกพืช เมื่อนำมาเนื้อเยื่อส่วนที่เป็น

โรคมาแยกเชื้อ พบว่าได้เชื้อรา *Fusarium* ที่มีลักษณะสัณฐานวิทยาคล้ายคลึงกับเชื้อที่แยกได้ในครั้งแรก และเชื้อราบริสุทธิ์ที่นำมาทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคบนต้นพืชทดสอบ จากผลที่ได้ดังกล่าวนี้ ทำให้สามารถชี้ชัดได้ว่า เชื้อรา *Fusarium* spp. บริสุทธิ์ ไอโซเลทต่าง ๆ ที่แยกได้นั้น เป็นสาเหตุหรือเป็นตัวการในการทำให้พืชที่เก็บรวบรวมได้จากแปลงปลูกเกิดโรคในลักษณะต่าง ๆ ตามที่ได้รายงานไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ชนิด (species) ของเชื้อรา *Fusarium* ชนิดพืชที่พบเชื้อ ลักษณะอาการ และ สถานที่พบเชื้อรา *Fusarium* ระหว่างการสำรวจ เก็บตัวอย่าง และจำแนกชนิดเชื้อรา *Fusarium* สาเหตุโรคพืช ตั้งแต่ เดือนตุลาคม 2550 – กันยายน 2553

ชนิด *Fusarium*	ชนิดพืชที่พบเชื้อ	จำนวนไอโซเลท	ชื่อโรค	ลักษณะอาการ	สถานที่พบ
F. equiseti	แอสเตอร์	1	โรคเหี่ยว	ใบและลำต้นเหี่ยวและแห้ง บริเวณรากมีแผลสีน้ำตาลดำ	อ.แม่ริม จ.เชียงใหม่ (1 ไอโซเลท)
F. moniliforme	ข้าวโพด	4	โรคลำต้นเน่า หรือ โรคเส้นใบแดง	ใบของต้นเป็นโรคเหี่ยวสลด เส้นใบมีสีแดงลำต้นแห้งตาย หรือแตก เนื้อเยื่อภายในลำต้นมีแผลสีชมพูอมม่วง	อ.พุทธบาท จ.สระบุรี (3 ไอโซเลท) อ.อู่ทอง จ.สุพรรณบุรี (1 ไอโซเลท)
	ข้าวฟ่าง	5	โรคลำต้นเน่าแดง	ใบและยอดของต้นเป็นโรคบิดงอ ยอดไม่แตกใบเป็นปกติ ต้นแคระแกรน เนื้อเยื่อภายในลำต้นมีแผลสีแดงเข้ม	อ.อู่ทอง จ.สุพรรณบุรี (3 ไอโซเลท) อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา (1 ไอโซเลท) อ.พุทธบาท จ.สระบุรี (1 ไอโซเลท)
F. oxysporum	กล้วยน้ำว้า	12	โรคตายพราย (*F. oxysporum* f. sp. *cubense*)	ใบด้านนอกของลำต้นจำนวน 3-4 ใบ หักพับ และเปลี่ยนเป็นสีเหลือง เนื้อเยื่อท่อลำเลียงภายในลำต้นเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล	อ.เชียงคาน จ.เลย (1 ไอโซเลท), อ.แม่ริม จ.เชียงใหม่ (1 ไอโซเลท) อ.ฝาง จ.เชียงใหม่ (1 ไอโซเลท) อ.ท่าฉาง จ.สุราษฎร์ธานี (1 ไอโซเลท) อ.หนองเสือ จ.ปทุมธานี (2 ไอโซเลท) อ.สังคม จ.หนองคาย (2 ไอโซเลท) อ.แม่สอด จ.ตาก (4 ไอโซเลท)

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ชนิด *Fusarium*	ชนิดพืชที่พบเชื้อ	จำนวนไอโซเลท	ชื่อโรค	ลักษณะอาการ	สถานที่พบ
F. oxysporum	ขิง	1	โรคเหี่ยว (*F. oxysporum* f. sp. *zingiberi*)	ใบเหลือง ต้นเหี่ยว แคระแกรน แง้งขิงมีแผลเน่าสีน้ำตาล ปกคลุมด้วยเส้นใยเชื้อราสีขาว	อ.ภูเรือ จ.เลย
	ถั่วลันเตา	2	โรคเหี่ยว	ต้นเหี่ยว ใบเหลือง จน เหลืองแห้งตายไปทั้งต้น เนื้อเยื่อภายในโคนต้นมีแผลสีน้ำตาล	อ.สะเมิง จ.เชียงใหม่
	แคนตาลูป	1	ขั้วและผลเน่า	ต้นเหี่ยว ใบสลด ขั้วผลมีแผลไหม้แห้งเป็นสีน้ำตาล รอยแผลลุกลามจากขั้วเข้าสู่เนื้อผล	อ.แม่ริม จ.เชียงใหม่
	พริกหยวก	1	โรคเหี่ยว	ต้นเหี่ยวฟุบทั้งต้น ใบสลด จน เหลืองแห้งตายไปทั้งต้น เนื้อเยื่อภายในโคนต้นมีแผลสีน้ำตาล	อ.เชียงแสน จ.เชียงราย
	พริกชี้ฟ้า	9	โรคเหี่ยว	ต้นเหี่ยวฟุบทั้งต้น ใบสลด จน เหลืองแห้งตายไปทั้งต้น เนื้อเยื่อภายในโคนต้นมีแผลสีน้ำตาล	อ.ปางมะผ้า จ.แม่ฮ่องสอน (1 ไอโซเลท) อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ (5 ไอโซเลท) อ.ฝาง จ.เชียงใหม่ (3 ไอโซเลท)
	ผักหวานบ้าน	5	โรคเหี่ยว	ใบเหี่ยวและสลดจากใบล่าง จนเหลืองแห้งตายไปทั้งต้น เนื้อเยื่อภายในโคนต้นมีแผลสีน้ำตาล	อ.เมือง จ.อุบลราชธานี (5 ไอโซเลท)

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ชนิด *Fusarium*	ชนิดพืชที่พบเชื้อ	จำนวนไอโซเลท	ชื่อโรค	ลักษณะอาการ	สถานที่พบ
	เบญจมาศ	12	โรคเหี่ยว	ใบเหี่ยวและสลดจากใบล่าง จนเหลืองแห้งตายไปทั้งต้น เนื้อเยื่อภายในโคนต้นมีแผลสีน้ำตาล	อ.แม่ริม จ.เชียงใหม่ (2 ไอโซเลท) อ.แม่วาง จ.เชียงใหม่ (4 ไอโซเลท) อ.จอมทอง จ.เชียงใหม่ (1 ไอโซเลท) อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา (5 ไอโซเลท)
	เซเลอรี่	1	โรคเหี่ยว	ใบเหี่ยวและสลดจากใบล่าง จนเหลืองแห้งตายไปทั้งต้น เนื้อเยื่อภายในโคนต้นมีแผลสีน้ำตาล	อ.จอมทอง จ.เชียงใหม่ (1 ไอโซเลท)
	ปอเทือง	1	โรคเหี่ยว	ต้นเหี่ยวฟุบทั้งต้น ใบสลด จน เหลืองแห้งตายไปทั้งต้น เนื้อเยื่อภายในโคนต้นมีแผลสีน้ำตาล	อ.ปางมะผ้า จ.แม่ฮ่องสอน
	มะเขือเปราะ	1	โรคเหี่ยว	ต้นเหี่ยวฟุบทั้งต้น ใบสลด จน เหลืองแห้งตายไปทั้งต้น เนื้อเยื่อภายในโคนต้นมีแผลสีน้ำตาล	อ.ปางมะผ้า จ.แม่ฮ่องสอน
	มะเขือเทศ	2	โรคเหี่ยว	ต้นเหี่ยวฟุบทั้งต้น ใบสลด จน เหลืองแห้งตายไปทั้งต้น เนื้อเยื่อภายในโคนต้นมีแผลสีน้ำตาล	อ.ศรีเชียงใหม่ จ.หนองคาย (1 ไอโซเลท) อ.เมือง จ.สกลนคร (1 ไอโซเลท)
	ยาสูบ	1	โรคเหี่ยว	ต้นเหี่ยวฟุบทั้งต้น ใบสลด จน เหลืองแห้งตายไปทั้งต้น เนื้อเยื่อภายในโคนต้นมีแผลสีน้ำตาล	อ.แม่ลาว จ.เชียงราย
	หอมใหญ่	1	โรคเหี่ยว	ใบสลด จนเหลืองแห้งตายไปทั้งต้น เนื้อเยื่อที่โคนต้นมีแผลเน่า มีเส้นใยของสีขาวปกคลุม	อ.สันป่าตอง จ.เชียงใหม่

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ชนิด *Fusarium*	ชนิดพืชที่พบเชื้อ	จำนวนไอโซเลท	ชื่อโรค	ลักษณะอาการ	สถานที่พบ
	กล้วยไม้สกุลคาลิบโซ่	1	โรคใบไหม้	ใบมีจุดแผลไหม้สีดำ และแผลยุบตัว	อ.เมือง จ.ปราจีนบุรี
	กล้วยไม้สกุลแคทรียา	1	โรคต้นเน่า	ใบและลำต้นเหี่ยวและแห้ง บริเวณรากมีแผลสีน้ำตาลดำ	อ.เมือง จ.ปราจีนบุรี
	กล้วยไม้สกุลแดงกิตติ	1	โรคใบไหม้	ใบมีจุดแผลไหม้สีดำ และแผลยุบตัว	อ.เมือง จ.ปราจีนบุรี
F. proliferatum	กล้วยไม้สกุลหวาย	7	โรคใบไหม้	ใบมีจุดแผลไหม้สีดำ และแผลยุบตัว	อ.เมือง จ.ปราจีนบุรี (3 ไอโซเลท) อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา (1 ไอโซเลท) อ.นครชัยศรี จ.นครปฐม (3 ไอโซเลท)
	กล้วยไม้พันธุ์เอื้องใบมัน	1	โรคใบไหม้	ใบมีจุดแผลไหม้สีดำ และแผลยุบตัว	อ.เมือง จ.กาญจนบุรี (1 ไอโซเลท)
	กล้วยไม้สกุลหวาย	2	ดอกขีดสีน้ำตาล และไหม้	ใบมีจุดแผลไหม้สีดำ และแผลยุบตัว	อ.เมือง จ.ปราจีนบุรี (2 ไอโซเลท)
	ข้าว	16	โรคถอดฝักดาบ หรือ โรคหลาว	ต้นข้าวผอมมีสีเขียวอ่อน ลำต้นย่างปล้อง สูงกว่าปกติ โคนต้นและรากมีแผลเน่าสีน้ำตาลดำ เมื่อดึงมักขาดง่าย บางครั้งพบเส้นใยสีชมพูบริเวณโคนหรือข้อที่ย่างปล้องขึ้นมา	อ.แม่สรวย จ.เชียงราย (2 ไอโซเลท) อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ (2 ไอโซเลท) อ.พร้าว จ.เชียงใหม่ (3 ไอโซเลท) อ.เมือง จ.แพร่ (1 ไอโซเลท) อ.บุณฑริก จ.อุบลราชธานี (2 ไอโซเลท) อ.เดชอุดม จ.อุบลราชธานี (2 ไอโซเลท) อ.เมือง จ.สุรินทร์ (3 ไอโซเลท) อ.กระสัง จ.สุรินทร์ (1 ไอโซเลท)

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ชนิด *Fusarium*	ชนิดพืชที่พบเชื้อ	จำนวนไอโซเลท	ชื่อโรค	ลักษณะอาการ	สถานที่พบ
F. semitectum	ข้าว	4	โรคเมล็ดด่าง	เมล็ดข้าวและรวงข้าวมีแผลเป็นจุดสีเทาปนชมพู เมล็ดข้าวลีบแห้ง	อ.ปางมะผ้า จ.แม่ฮ่องสอน (1 ไอโซเลท) อ.สามชุก จ.สุพรรณบุรี (2 ไอโซเลท) อ.ศรีประจันต์ จ.สุพรรณบุรี (1 ไอโซเลท)
	ข้าว	1	โรคใบจุดสีน้ำตาล	ต้นกล้าข้าวสูงประมาณ 15 เซนติเมตร มีใบเป็นแผลจุดสีน้ำตาลขนาดประมาณ 1-3 มิลลิเมตร กระจายทั่วใบ	อ.สามชุก จ.สุพรรณบุรี
	แตงไทย	1	โรคเหี่ยวและผลเน่า	ต้นและใบเหี่ยวฟุบ บริเวณโคนและรากมีแผลสีน้ำตาลถึงน้ำตาลแดง ผลมีแผลเน่ายุบตัว และมีเส้นใยสีขาวปกคลุม	อ.คลองสามวา จ.กรุงเทพมหานคร
	แตงแคนตาลูป	1	โรคผลเน่า	ผลมีแผลเน่ายุบตัว และมีเส้นใยสีขาวปกคลุม	จ.สระแก้ว
F. solani	กล้วยไม้สกุลรองเท้านารี	1	โรคเหี่ยว	ใบและลำต้นเหี่ยวและแห้ง บริเวณรากมีแผลสีน้ำตาลดำ	อ.เมือง จ.ปราจีนบุรี
	กล้วยไม้สกุลแวนด้า	1	โรคโคนใบไหม้ดำ	โคนใบมีจุดแผลไหม้สีดำ ต้นเหี่ยว	อ.เมือง จ.ปราจีนบุรี
	กล้วยไม้สกุลเอื้องพร้าว	1	โรคใบจุดและใบไหม้	ใบจุดแผลสีน้ำตาลดำ กระจัดกระจายทั่วใบ	อ.เมือง จ.ปราจีนบุรี
	แตงโม	1	โรคลำต้นแตก	ต้นและใบเหี่ยวฟุบ บริเวณต้นที่เลื้อยมีแผลแตกสีน้ำตาลเป็นแผลทางยาว	อ. พนมทวน จ.กาญจนบุรี (1 ไอโซเลท)

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ชนิด *Fusarium*	ชนิดพืชที่พบเชื้อ	จำนวนไอโซเลท	ชื่อโรค	ลักษณะอาการ	สถานที่พบ
	แตงแคนตาลูป	3	โรคลำต้นเน่าและผลเน่า	ต้นและใบเหี่ยวฟุบ บริเวณโคนและรากมีแผลสีน้ำตาลถึงน้ำตาลแดง ผลและขั้วผลมีแผลเน่ายุบตัว และมีเส้นใยสีขาวปกคลุม	อ.พยุหะคีรี จ.นครสวรรค์ (1 ไอโซเลท) จ.สระแก้ว (2 ไอโซเลท)
	เบญจมาศ	1	โรคเหี่ยวและลำต้นเน่าสีน้ำตาล	ใบเหี่ยวและสลดจากใบล่าง จนเหลืองแห้งตายไปทั้งต้น เนื้อเยื่อภายในโคนต้นมีแผลสีน้ำตาล	อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา (1 ไอโซเลท)
รวม		**104 ไอโซเลท 6 ชนิด (species)**			

สรุปผลการทดลอง

การรวบรวมและเก็บตัวอย่างพืชเป็นโรคที่คาดว่ามีสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium* ในพื้นที่เพาะปลูกพืชของเกษตรกรตามจังหวัดต่าง ๆ ของประเทศไทย 21 จังหวัด ระหว่างเดือนตุลาคม 2550 – กันยายน 2553 สามารถจำแนกได้เป็นเชื้อรา *Fusarium* จำนวน 104 ไอโซเลท และเมื่อจำแนกชนิด (species) ของเชื้อราบริสุทธิ์ทั้งหมด ตามวิธีการของ Nelson และคณะ (1983) สามารถจำแนกได้เชื้อรา *Fusarium* 6 ชนิด (species) ได้แก่ *F. equiseti, F. moniliforme*, *F. oxysporum*, *F. proliferatum*, *F. semitectum* และ *F. solani* ซึ่งเชื้อรา *Fusarium* ทั้งหมดแยกได้จากพืช 22 ชนิด ได้แก่ *F. equiseti* จากโรคเหี่ยวของแอสเตอร์*, F. moniliforme* จากโรคลำต้นเน่า หรือโรคเส้นใบแดงของข้าวโพด และโรคลำต้นเน่าแดงของข้าวฟ่าง, *F. oxysporum* จากโรคตายพรายของกล้วยน้ำว้า โรคเหี่ยวของขิง เซเลอรี่ ถั่วลันเตา เบญจมาศ ปอเทือง ผักหวานบ้าน พริกชี้ฟ้า พริกหยวก มะเขือเปราะ มะเขือเทศ ยาสูบ และหอมใหญ่ โรคขั้วและผลเน่าของแตงแคนตาลูป โรคต้นเน่าของกล้วยไม้สกุลแคทรียา และโรคใบไหม้ของกล้วยไม้สกุลคาลิบโซ่ และกล้วยไม้สกุลแดงกิตติ, *F. proliferatum* จากโรคใบไหม้ของกล้วยไม้สกุลหวาย และกล้วยไม้เอื้องใบมัน โรคดอกขีดและไหม้สีน้ำตาลของกล้วยไม้สกุลหวาย และโรคโรคถอดฝักดาบของข้าว, *F. semitectum* จากโรคเมล็ดด่างและโรคใบจุดสีน้ำตาลของข้าว โรคเหี่ยวและผลเน่าของแตงไทย และโรคผลเน่าของแตงแคนตาลูป และ *F. solani* จากโรคเหี่ยวของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี โรคโคนใบไหม้ดำของกล้วยไม้สกุลแวนด้า โรคโรคใบจุดและใบไหม้กล้วยไม้สกุลเอื้องพร้าว โรคลำต้นแตกของแตงโม โรคลำต้นเน่าและผลเน่าของแตงแคนตาลูป และ โรคเหี่ยวและลำต้นเน่าสีน้ำตาลของเบญจมาศ การทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรค พบว่าเชื้อรา *Fusarium* บริสุทธิ์แต่ละไอโซเลทที่แยกได้ สามารถก่อให้เกิดโรคกับชนิดของพืชที่เป็นพืชอาศัยได้

ผลจากการศึกษาที่ได้ทำให้เข้าใจ แหล่งที่มา พื้นที่การเกิดโรค แหล่งแพร่กระจาย และได้ culture ของ isolate ต่างๆ ที่จัดจำแนกชื่อชนิดแล้วพร้อมข้อมูลเก็บรักษาไว้ใน culture collection ของกรมวิชาการเกษตร เพื่อใช้เป็นเครื่องมือในการศึกษาวิจัยทางด้านต่างๆ เช่น เปรียบเทียบลักษณะที่อาจผันแปรที่เกิดขึ้นของเชื้อในช่วงปีที่ต่างกัน หรือใช้ศึกษาทางด้านอณูชีววิทยา เปรียบเทียบการจัดจำแนกทาง DNA กับการจำแนกทางสัณฐานวิทยาเพื่อยืนยันชื่อที่ถูกต้องของเชื้อบางชนิด (species) หรือศึกษาการสร้างสารพิษ หรือสารที่มีประโยชน์ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

พัฒนา สนธิรัตน, พากเพียร อรัญนารถ และศุภนิตย์ หิรัญประดิษฐ์. 2543. ลักษณะของ *Fusarium proliferatum* (Mutsushima) Nirenberg สาเหตุโรคถอดฝักดาบของข้าว, หน้า 55. *ใน* การประชุมวิชาการกองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร ปี 2543, 8-10 มีนาคม 2543, อ.ชะอำ จ. เพชรบุรี. (บทคัดย่อและสรุปผลการดำเนินงาน)

พัฒนา สนธิรัตน, ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน, ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์, วิรัช ชูบำรุง และอุบล คือประโคน. 2537. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, กรมวิชาการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ. 285 หน้า.

อภิรัชต์ สมฤทธิ์, พัฒนา สนธิรัตน, นิยม ไข่มุกข์ และธารทิพย ภาสบุตร. 2545. รวบรวมและจำแนกชนิดเชื้อราสกุล *Fusarium* สาเหตุโรคชนิดต่างๆ ของพืชเศรษฐกิจ. รายงานผลงานวิจัยประจำปีกลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ.

Ainsworth, G. C. 1973. Introduction and keys to higher taxa, pp.1-7. *In* The fungi Vol.IV B. Eds., G.C. Ainsworth, F.K. Sparrow, and A.S. Sussman. Academic Press, New York.

Barron, G.L. 1977. The Genera of Hyphomycetes from Soil. 3rd ed. Noble offset printers, Inc., New York. 364 p.

Booth, C. 1971. The Genus Fusarium. C.M.I., Kew, Surrey, England. 237 p.

Brayford, L. R. 1985. The genus Fusarium. C.M.I. International course on the identification of fungi and bacteria of agriculture importance. 4 p.

Domsch, K.H., W. Gams, and T.H. Anderson. 1980. Compendium of Soil Fungi. Academic Press, London. 859 p.

Http://www.extento.hawaii.edu/kbase/crop/type/f-prolif.htm.

Neergaard, P. 1977. Seed Pathology, Vol.1. The Macmillan Press Ltd., London & Basingstoke. 839 p.

Nelson, P. E., T. A. Toussoun, and W. H. O. Marasas. 1983. Fusarium Species: An Illustrated Manual for Identification. The Pennsylvania State University Press, University Park and London. 193 p.

Ou, S. H. 1984. Rice Diseases. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 270 p.

Salleh, B. 1988. Distribution, Biology and Control of 'Bakanae' Disease in the Malaysian Peninsula. The Sixth International Fusarium Workshop. (Abstr. of Papers.)

Ventura, J. A. 1988. Present status of Panama disease (Fusarium wilt) in Espirita Santo State Brazil. The Sixth International Fusarium Workshop, August 30-31, 1988., Tsukuba Science City, Japan. 40 p. (Abstr. of Papers)

Zillinsky, F. J. 1983. Common Disease of Small Grain Cereals, A Guide to Identification. CIMMY T, Mexico. 141 p.

ภาคผนวก

อาหารเลี้ยงเชื้อราที่ใช้ในการทดลอง

1. Potato Dextrose Agar (PDA)

มันฝรั่ง (Potato)	200	กรัม
น้ำตาล Dextrose	20	กรัม
วุ้นผง (Agar)	15	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

2. Potato Dextrose Agar (PDA) ที่เตรียมขึ้นตามวิธีการของ Nelson และคณะ (1983)

มันฝรั่ง (Potato)	250	กรัม
น้ำตาล Dextrose	20	กรัม
วุ้นผง (Agar)	20	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

3. Water Agar 1.5% (WA)

วุ้นผง (Agar)	15	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

4. Corn Leaf Agar (CLA)

วุ้นผง (Agar)	15	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ใบข้าวโพดขนาด 0.5 x 0.5 เซนติเมตร ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว

เตรียมโดยวางใบข้าวโพดที่ฆ่าเชื้อแล้ว ที่อุณหภูมิ 121 $^{\circ}$ซ. ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ WA 1.5% แล้วเก็บจานอาหารไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3-4 วัน เมื่อไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อรา จึงใช้เลี้ยงเชื้อราได้

สำรวจ รวบรวม และจำแนกเชื้อราสกุล *Curvularia* spp.

Survey Collect and Identification of *Curvularia* spp.

พีระวรรณ พัฒนวิภาส[1] ทัศนาพร ทัศคร[1] ธารทิพย ภาสบุตร[1]

[1] กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

สำรวจและเก็บตัวอย่างพืชที่มีลักษณะอาการไหม้และจุดจากแหล่งปลูกในประเทศไทยตรวจลักษณะอาการของโรคในแปลงปลูก นำตัวอย่างพืชที่เป็นโรคมาจำแนกเชื้อในห้องปฏิบัติการ ถ่ายรูปตัวอย่างโรคแล้วจัดทำ permanent slide เพื่อการวินิจฉัยโรค สามารถจำแนกเป็นเชื้อราสกุล *Curvularia* ทั้งสิ้น 45 ไอโซเลท ดังนี้ โรคพืชที่มีสาเหตุจากเชื้อ *Curvularia lunata* ได้แก่ โรคใบจุดข้าวโพดมี โรคเมล็ดด่างข้าว โรคใบจุด โรคใบไหม้เยอบีร่า โรคเมล็ดเน่าดำข้าวฟ่าง โรคใบไหม้สบู่ดำ โรคใบไหม้วัชพืชหญ้ายาง มีสาเหตุจากเชื้อ *Curvularia eragrostidis* ได้แก่โรคใบไหม้ปาล์มน้ำมัน โรคดอกสนิมหรือโรคจุดสนิมบนดอกกล้วยไม้สกุลหวาย มีสาเหตุจากเชื้อ *Curvularia tuberculata* ได้แก่ โรคจุดบนกล้วยไม้สกุลออยซิเดียม มีสาเหตุจากเชื้อ *Curvularia prasadii* ได้แก่ โรคใบจุดแกลดดิโอลัส มีสาเหตุจากเชื้อ *Curvularia pallescens* ได้แก่ โรคใบไหม้ลิ้นมังกร มีสาเหตุจากเชื้อ *Curvularia* sp. ได้แก่ ใบจุดบานชื่น และ ฝักจุดกระเจี๊ยบแดง

รหัสการทดลอง 09 02 49 01

คำนำ

เชื้อราสกุล *Curvularia* จัดอยู่ใน From-class Hyphomycetes Form –order Hyphomycetales From-family Dematiaceae โดยเชื้อราจะสร้าง conidium ที่มี 3-5 เซลล์ รูปร่างโค้ง เซลล์ตรงกลางมีสีเข้มกว่าเซลล์หัวท้าย เกิดบนก้าน conidiophore สีเข้มไม่แตกกิ่งก้าน แต่อาจมีการ proliferation ออกทางด้านข้างใกล้ส่วนปลาย ทำให้สร้างสปอร์เพิ่มขึ้นได้อีก และก้าน conidiophore มีลักษณะเป็นข้อหัก (geniculate) (วิจัย, 2551) เชื้อราสกุล *Curvularia* เป็นสาเหตุโรคที่สำคัญของพืชไร่และพืชสวนหลายชนิด มีรายงานโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อรา *Curvularia lunata* บนข้าวโพดโดยใบข้าวโพดจะมีอาการจุดเล็กๆขนาดเท่าหัวเข็มหมุดสีเขียวอ่อนต่อมาตรงกลางจุดจะแห้งมีสีเทาหรือน้ำตาลอ่อน (ขจรศักดิ์,2509) แตงฝรั่ง แตงเทศ(ปราณีตและคณะ, 2532) แกลดิโอลัส(ประสาทพร, 2521) พบจุดสีน้ำตาลเข้มบนใบ กรรณิการ์และคณะรายงานว่าพบโรคผลเน่าบนลิ้นจี่โดยลิ้นจี่ที่พบมีจุดสีน้ำตาลเข้มบนผลลิ้นจี่ทำให้ผลผลิตลิ้นจี่เน่าเสียเร็ว และเชื้อรา *Curvularia lunata* เป็นสาเหตุของโรคผลเน่าดำบนมะละกอ นอกจากนี้เชื้อรา *Curvularia lunata* เป็นสาเหตุโรคเมล็ดเน่าดำบนข้าวฟ่าง(Chandrasrikul, 1962) เชื้อรา *Curvularia eragrostidis* สาเหตุโรคดอกสนิมหรือโรคจุดสนิมบนกล้วยไม้(ศิริลักษณ์และคณะ, 2521) โดยทำให้ดอกกล้วยไม้เป็นจุดสีเหลืองอมน้ำตาลต่อมาจุดขยายใหญ่ขึ้นเปลี่ยนเป็นสีเข้มคล้ายสีสนิม และเป็นสาเหตุโรคใบไหม้บนปาล์มน้ำมัน(ปรานีและคณะ, 2522) เชื้อรา *Curvularia* spp. สาเหตุของโรคฝักจุดหรือฝักลาย(Pot spot) บนกระเจี๊ยบเขียว(นิยมรัฐและลักษณา, 2533) โรคใบจุดบนต้นกล้าของมะพร้าว(ศรีสุรางค์ และคณะ, 2526) โรคใบจุดบนยางพารา(พงษ์เทพ, 2531) การเกิดโรคของพืชที่มีรายงานไว้แต่เดิมอาจเกิดการเปลี่ยนแปลง เนื่องจากสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม หรือจากการเขตกรรม เนื่องจากเกษตรกรมีการดูแลรักษาที่ดีขึ้นกว่าเดิม หรืออาจเป็นเพราะความต้านทานของพืชเอง ที่ทำให้เชื้อลดความรุนแรงลงหรือหมดไป ในทางตรงข้ามความรุนแรงของโรคอาจมีมากขึ้น หรือมีการแพร่ระบาดของโรคเพิ่มมากขึ้น อีกทั้งในปัจจุบันการปลูกพืชมีการเปลี่ยนแปลงสถานที่และชนิดพืช มีการนำพืชจากต่างประเทศเข้ามาปลูก ดังนั้นการสำรวจ รวบรวมเชื้อรา *Curvularia* spp. จึงมีความจำเป็นเพื่อให้ทราบถึงการแพร่ระบาดของเชื้อรา *Curvularia* spp. ในประเทศไทยสำหรับเป็นข้อมูลพื้นฐานต่อการนำไปศึกษาด้านอื่นต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างโรคพืช ได้แก่ กรรไกรตัดแต่งกิ่ง ถุงพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่าง กระดาษหนังสือพิมพ์ ปากกาเคมี หนังยาง กรอบไม้อัดตัวอย่างแห้งโรคพืช
2. สารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ แอธิลแอลกอฮอล์ 75%
3. อาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA), water agar (WA)

4. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ ขวดดูแรน บีกเกอร์ กระบอกตวง ใบมีดผ่าตัด เข็มเขี่ยปลายแหลม สไลด์ cover slip

5. ตู้ปลอดเชื้อ หม้อนึ่งความดัน ตู้อบความร้อน เครื่องชั่ง

6. กล้องจุลทรรศน์

วิธีการ

1. สำรวจ รวบรวมตัวอย่างโรคของพืชผัก ไม้ผล พืชไร่ และวัชพืช ที่มีลักษณะอาการไหม้หรือจุดจากแหล่งปลูกทั่วประเทศ

สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างโรคของพืชผักไม้ผล พืชไร่ และวัชพืช จากแหล่งปลูกที่สำคัญทั่วประเทศ ได้แก่ แหล่งปลูกในภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันตก และภาคใต้ ระหว่างเดือน ตุลาคม 2550 ถึง กันยายน 2553 ตรวจลักษณะอาการของโรคในแปลงปลูก ถ่ายภาพตัวอย่างโรค บันทึกรายละเอียด ชนิดพืช แหล่งที่เก็บ วันที่เก็บ และลักษณะอาการของโรค ห่อตัวอย่างพืชด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ ใส่ในถุงพลาสติก บรรจุห่อตัวอย่างลงในกล่องเก็บความเย็น เพื่อนำมาศึกษาชนิดและแยกเชื้อสาเหตุในห้องปฏิบัติการโรคพืช กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรุงเทพฯ

2. การศึกษาลักษณะอาการของโรคบนพืชต่างๆ

2.1 การศึกษาราโดยตรงจากเนื้อเยื่อพืช (Direct observation)

ศึกษาลักษณะอาการของโรคบนพืชไม้ผล พืชผัก พืชไร่ และวัชพืช ในสภาพธรรมชาติ และสังเกตลักษณะของ ราที่เกิดบนพืช ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo บันทึกลักษณะต่าง ๆ ใช้เข็มปลายแหลมเขี่ย สปอร์ หรือส่วนขยายพันธุ์ของรา มาวางบนสไลด์ หรือใช้ใบมีดตัดขวางชิ้นส่วนพืชให้บาง ๆ หยดน้ำ และปิดทับด้วย cover slip และตรวจดูลักษณะต่าง ๆ ของราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound

2.2 การแยกเชื้อราโดยวิธี Tissue transplant

นำตัวอย่างพืชที่มีลักษณะอาการไหม้หรือจุดมาแยกเชื้อบริสุทธิ์ด้วยวิธี tissue transplant โดยตัดชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคขนาด 3x5 มม. ฆ่าเชื้อภายนอกด้วยโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ 10% เป็นเวลา 2-4 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้ออีก 2 ครั้ง วางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ในสภาพปลอดเชื้อ บ่มเชื้อไว้นาน 2-3 วัน ทำ hyphal tip isolation นำเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เพื่อจำแนกเชื้อต่อไป

3. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาของเชื้อรา *Curvularia*

ศึกษาลักษณะและสีของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาของเชื้อ ***Curvularia*** สาเหตุโรคพืช โดยจัดทำ permanent slide เพื่อการวินิจฉัยสาเหตุโรค แล้วถ่ายภาพเชื้อราสาเหตุโรคใต้กล้องจุลทรรศน์

4. การจำแนกชนิด เชื้อรา *Curvularia*

นำลักษณะของราดังกล่าวเปรียบเทียบผลการศึกษา ลักษณะของก้านสปอร์ และ สปอร์ กับคู่มือการจำแนกเชื้อรา class Hyphomycetes ของ Ellis M.B. (1971)

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2550 – กันยายน 2553

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

แปลงปลูกพืชของเกษตรกร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสำรวจรวบรวมตัวอย่างโรคพืชจากแหล่งปลูกต่างๆ

ผลการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างโรคพืชที่มีลักษณะอาการไหม้หรือจุดของพืชผัก ไม้ดอกไม้ประดับ ไม้ผล พืชไร่ และวัชพืช ได้รวบรวมตัวอย่างพืชที่แสดงลักษณะอาการไหม้หรือจุดจากแหล่งปลูกพืชในภาคเหนือ 17 ตัวอย่าง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ -4 ตัวอย่าง ภาคกลาง 17 ตัวอย่าง ภาคตะวันตก จำนวน 2 ตัวอย่าง ภาคตะวันออก จำนวน 3 ตัวอย่าง ภาคใต้ จำนวน 2 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 45 ตัวอย่าง จากแหล่งปลูกจังหวัดต่างๆ ได้แก่ เชียงใหม่ ตาก พิษณุโลก อุตรดิตถ์ สระบุรี กาญจนบุรี สุพรรณบุรี กรุงเทพมหานคร นครปฐม สระแก้ว กระบี่ ปราจีนบุรี เชียงราย ปทุมธานี ลำปางชัยนาท และนครราชสีมา โดยแบ่งเป็นไม้ดอกไม้ประดับ จำนวน 19 ตัวอย่าง พืชไร่และวัชพืช จำนวน 26 ตัวอย่าง(ตารางที่ 1)

2. การจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ

ผลการศึกษาลักษณะอาการที่ปรากฏบนพืชแต่ละชนิดและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราสาเหตุในห้องปฏิบัติการจากตัวอย่างพืชต่างๆ ที่แสดงอาการโรค โดยเปรียบเทียบกับเอกสารการจัดจำแนกเชื้อรา class Hyphomycetes ของ Ellis M.B. (1971) สามารถจัดจำแนกชนิดของเชื้อรา *Curvularia* ได้ 45 ไอโซเลท เป็น 6 ชนิด คือ

1. เชื้อ *Curvularia lunata* (Wakker) Boedijn

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อมีสีดำอมเขียว สปอร์สีน้ำตาลอ่อน รูปร่างตรงหรือโค้ง ปลายเรียว มี 3 septate โดยเซลล์ที่สามมีขนาดใหญ่สุดและมีสีเข้มกว่าหัวท้าย มีฐานสปอร์ชัดเจน

1.1 โรคใบจุดข้าวโพด

ลักษณะอาการ

อาการของโรคส่วนใหญ่จะแสดงให้เห็นบนใบ แต่บางครั้งอาจพบบนกาบใบ และฝักด้วย ระยะแรกเกิดเป็นจุดเล็กๆ สีเขียวอ่อน ต่อมาตรงกลางจุดจะแห้งมีสีเทาหรือสีน้ำตาลอ่อน ล้อมรอบด้วยวงแหวนสีน้ำตาลแดงในที่สุดจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำไหม้และมีวงแหวนสีเหลืองล้อมรอบอีกชั้นหนึ่ง จุดใหญ่เต็มที่จะมีเส้นผ่านศูนย์กลาง

1.2 โรคเมล็ดเน่าดำข้าวฟ่าง

ลักษณะอาการ

เมื่อเมล็ดข้าวฟ่างเริ่มแก่ และในอากาศมีความชื้นสูง เชื้อราจะสร้างสปอร์ขึ้นปกคลุมเมล็ดข้าวฟ่าง ทำให้เห็นเมล็ดข้าวฟ่างมีผงสีเทาหรือดำขึ้นปกคลุม ซึ่งเชื้อราชนิดนี้มีผลต่อคุณภาพของเมล็ดข้าวฟ่าง เนื่องจากประเทศไทยมีอากาศร้อนชื้นเชื้อราหลายชนิดเป็นสาเหตุของโรคเมล็ดเน่าดำข้าวฟ่าง ซึ่งเชื้อราจะเข้าทำลายในฤดูฝนเมื่อเมล็ดใกล้แก่เชื้อราจะสร้างสปอร์ปกคลุมเมล็ดทำให้เกิดเป็นสีดำ สีชมพู สีส้ม ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อราที่เข้าทำลาย สำหรับโรคเมล็ดเน่าดำข้าวฟ่างที่มีสาเหตุจากเชื้อรา*Curvularia lunata* จะมีผงสีเทาหรือดำขึ้นปกคลุม (นิรนาม, 2549)

1.3. โรคใบไหม้สบู่ดำ

ลักษณะอาการ

จุดสีน้ำตาลเข้มบนใบสบู่ดำ ต่อมาจุดจะขยายเป็นแผลสีน้ำตาลเข้มขนาดแผลไม่แน่นอนบนใบสบู่ดำ ในสภาพแวดล้อมที่มีความชื้นสูงแผลจะขยายรวมกันทำให้ใบไหม้แห้ง

1.4. โรคใบจุดหน้าวัว

ลักษณะอาการ

แผลกลมสีน้ำตาลเข้มขอบแผลสีเหลือง กลางแผลมีสีเทา ขนาดแผล 3-5 มิลลิเมตร บนใบหน้าวัว เมื่อมีความชื้นสูงแผลจะขยายใหญ่ขึ้น

1.5. โรคใบไหม้เยอบีร่า

ลักษณะอาการ

ใบของเยอบีร่ามีแผลค่อนข้างกลมสีน้ำตาลขอบสีน้ำตาลเข้ม เมื่อมีความชื้นสูงแผลจะมีขนาดใหญ่ขึ้น ในพันธุ์ที่อ่อนแอและสภาพแวดล้อมเหมาะสมพบหลายแผลในหนึ่งใบและแผลสามารถขยายรวมกันทำให้ใบไหม้แห้งได้

1.6 โรคใบไหม้วัชพืชหญ้ายาง

ลักษณะอาการ

พบแผลไหม้ขนาดของแผลไม่แน่นอนสีน้ำตาลอ่อนขอบสีน้ำตาลเข้มบนใบวัชพืช

2. เชื้อ ***Curvularia prasadii*** **R. L. & B. L. Mathur**

สปอร์ตรงหรือโค้งเล็กน้อย คล้ายกระบอง มี 3-4 septate สปอร์บางอันมีสีน้ำตาลหรือน้ำตาลเข้มทุกเซลล์ บางสปอร์เซลล์แรกมีสีอ่อน หรือบางสปอร์เซลล์แรกและเซลล์ท้ายมีสีอ่อนกว่าเซลล์ตรงกลาง

2.1 โรคใบจุดแกลดดิโอลัส

ลักษณะอาการ

จุดสีน้ำตาลแดงบนใบแกลดดิโอลัส ขนาดของแผลไม่เท่ากัน ต่อมาจุดขยายใหญ่ขึ้นทำให้เกิดแผลไหม้แห้งสีน้ำตาล

3. เชื้อ ***Curvularia pallescens*** **Boedijn**

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อมีสีน้ำตาลหรือน้ำตาลอมเทา สปอร์ตรงหรือโค้งเล็กน้อย สปอร์สีน้ำตาลอ่อน มี 3 septate ผนังกั้นเซลล์ที่อยู่ตรงกลาง มักจะไม่อยู่กึ่งกลาง

3.1 โรคใบไหม้ลิ้นมังกร

ลักษณะอาการ

พบแผลรูปไข่ขนาดเล็กบนใบของลิ้นมังกร ภายในแผลมีสีซีดคล้ายฟางข้าว ขอบแผลสีน้ำตาลเข้ม

4. เชื้อ ***Curvularia eragrostidis*** **(P. Henn) J.A. Meyer**

สปอร์รูปไข่ ผิวเรียบ สีน้ำตาลเข้ม ไม่มีติ่งยื่นออกมา มี3 septate สปอร์มีรูปร่างเป็นแบบสมมาตร ก้านชูสปอร์สีน้ำตาล ตรงหรือโค้ง ส่วนปลายมักบิดงอ

4.1 โรคดอกสนิมหรือโรคจุดสนิมบนกล้วยไม้สกุลหวาย

ลักษณะอาการ

ดอกกล้วยไม้เป็นจุดสีเหลืองอมน้ำตาลต่อมาจุดขยายใหญ่ขึ้นเปลี่ยนเป็นสีเข้มคล้ายสีสนิม พบระบาดรุนแรงในกล้วยไม้สกุลหวาย ทัศนาพรและ สุรภี(2548)รายงานว่าเชื้อรา *C. eragrostidis* เป็นสาเหตุโรคดอกสนิมหรือจุดสนิม เป็นโรคที่จักกันดีในหมู่ผู้ปลูกเลี้ยงกล้วยไม้เพื่อตัดดอกขายต่างประเทศ บางครั้งอาจแสดงอาการระหว่างการขนส่ง เป็นมากกับกล้วยไม้สกุลหวายโดยเฉพาะหวายมาดาม หวายขาว หวายชมพูและหวายซีซาร์ ลักษณะอาการ ปรากฏบนกลีบดอกกล้วยไม้ โดยเริ่มแรกเป็นจุดขนาดเล็กสีน้ำตาลเหลือง เมื่อจุดเหล่านี้ขยายโตขึ้นจะเข้มเป็นสีสนิม มีลักษณะค่อนข้างกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.1–0.3 มิลลิเมตร ลักษณะดังกล่าวจะปรากฏชัดเจนบนดอกหวายมาดาม แต่อาการบนหวายขาวจะเป็นแผลสีน้ำตาลไม่เป็นแผลสีสนิมชัดเจนอย่างบนหวายมาดาม โรคนี้ระบาดได้ดีในช่วงฤดูฝนโดยเฉพาะถ้ามีฝนตกติดต่อกันเป็นเวลานานๆ หรือมีน้ำค้างลงจัด โดยจะระบาดติดต่อกันรวดเร็วทั่วทั้งรังกล้วยไม้และบริเวณใกล้เคียง

4.2 โรคใบไหม้ปาล์มน้ำมัน

ลักษณะอาการ

โรคนี้พบระบาดรุนแรงในระยะต้นกล้า ลักษณะอาการเริ่มต้นพบแผลบนใบของปาล์มน้ำมันมีลักษณะบุ๋มตรงกลางมีสีน้ำตาล รอบแผลมีวงสีเหลืองล้อมรอบ แผลรูปร่างกลมรี เมื่อเกิดระบาดรุนแรง แผลขยายตัวรวมกันทำให้ใบไหม้แห้งม้วนงอ และเปราะฉีกขาดง่าย การเจริญเติบโตของต้นกล้าชะงักไม่เหมาะในการนำไปปลูก ในกรณีที่โรครุนแรงทำให้ต้นกล้าถึงตายได้

5. เชื้อ ***Curvularia tuberculata*** **Jain**

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อมีสีดำ หรือ น้ำตาลอมเทา สปอร์มีรูปร่างตรง รูปไข่ หรือคล้ายกระบอง ผนังสปอร์หยาบ สปอร์ มี3-5 septate

5.1 โรคดอกจุดบนกล้วยไม้สกุลออยซิเดียม

ลักษณะอาการ

ดอกกล้วยไม้มีอาการจุดกลมขนาดเล็กสีน้ำตาลเข้มหรือดำบนกลีบดอก เมื่อมีความชื้นสูงจุดกลมจะขยายใหญ่ขึ้นทำให้เกิดแผลไหม้บนกลีบดอก

6. เชื้อ *Curvularia* sp.

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อมี น้ำตาลอมดำ สปอร์มีรูปร่างโค้งสองข้างไม่เท่ากัน เซลล์ที่สามมีขนาดใหญ่กว่าเซลล์อื่นๆ

6.1 โรคจุดฝักกระเจี๊ยบแดง

ลักษณะอาการ

อาการเริ่มแรกพบแผลกลมนุ่มสีดำบนฝักกระเจี๊ยบต่อมาแผลเปลี่ยนเป็นสีเทาขอบแผลสีดำ นอกจากนี้สามารถพบแผลได้ทั้งกลีบเลี้ยง และก้านฝัก

6.2 ใบจุดบานชื่น

ลักษณะอาการ

แผลค่อนข้างกลมสีเทาขอบแผลสีน้ำตาลบนใบบานชื่น ในฤดูที่มีความชื้นสูงสามรถพบแผลได้หลายแผลในหนึ่งใบเมื่อแผลขยายรวมกันทำให้ใบไหม้แห้งได้

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

สำรวจและเก็บตัวอย่างพืชที่มีลักษณะอาการไหม้และจุดจากแหล่งปลูกในประเทศไทยศึกษาลักษณะอาการของโรคบนพืชต่างๆในแปลงปลูก นำตัวอย่างพืชที่เป็นโรคมาจำแนกเชื้อบริสุทธิ์ด้วยวิธี tissue transplant ในห้องปฏิบัติการ ถ่ายรูปตัวอย่างโรคแล้วจัดทำ permanent slide เพื่อการวินิจฉัยโรค สามารถจำแนกเป็นเชื้อราสกุล *Curvularia* ทั้งสิ้น 45 ไอโซเลท 6 สกุล โรคพืชที่มีสาเหตุจากเชื้อ *Curvularia lunata* ได้แก่ โรคใบจุดข้าวโพดมี จำนวน 17 isolate โรคเมล็ดด่างข้าว จำนวน 2 isolate โรคใบจุดหน้าวัว จำนวน 2 isolate โรคใบไหม้เยอบีร่า จำนวน 3 isolate โรคเมล็ดเน่าดำข้าวฟ่าง จำนวน 1 isolate โรคใบไหม้สบู่ดำ จำนวน 2 isolate โรคใบไหม้วัชพืชหญ้ายาง จำนวน 2 isolate มีสาเหตุจากเชื้อ *Curvularia eragrostidis* **ได้แก่**โรคใบไหม้ปาล์มน้ำมัน จำนวน 2 isolate โรคดอกสนิมหรือโรคจุดสนิมบนดอกกล้วยไม้สกุลหวาย จำนวน 6 isolate มีสาเหตุจากเชื้อ *Curvularia tuberculata* ได้แก่ โรคจุดบนกล้วยไม้สกุลออยซิเดียม มีสาเหตุจากเชื้อ *Curvularia prasadii* ได้แก่ โรคใบจุดแกลดดิโอลัส จำนวน 2 isolate มีสาเหตุจากเชื้อ *Curvularia pallescens* ได้แก่ โรคใบไหม้ลิ้นมังกร จำนวน 1 isolate มีสาเหตุจากเชื้อ *Curvularia* sp. ได้แก่ ใบจุดบานชื่น จำนวน 3 isolate และ ฝักจุดกระเจี๊ยบแดง จำนวน 1 isolate **จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าเชื้อรา** *Curvularia* spp. เป็นสาเหตุของโรคพืชได้อย่างกว้างขวางทั้งพืชไร่ พืชสวน และวัชพืช นอกจากนี้ยังพบว่าเป็นสาเหตุของโรคพืชที่ยังไม่เคยมีรายงานมาก่อน เช่น **โรคจุดบน**กล้วยไม้สกุลออยซิเดียม มีสาเหตุจากเชื้อ *Curvularia tuberculata* โรคใบไหม้วัชพืชหญ้ายาง โรคใบจุดหน้าวัว โรคใบไหม้เยอบีร่า มีสาเหตุจากเชื้อ *Curvularia lunata* โรคใบไหม้ลิ้นมังกร มีสาเหตุจากเชื้อ *Curvularia pallescens*

เอกสารอ้างอิง

กรรณิการ์ เพี้ยนภักตร์ อุบล คือประโคน และวิรัช ชูบำรุง. 2531. โรคผลไม้ส่งออกที่เกิดโรคจากเชื้อราชนิดต่างๆ ก่อนเก็บเกี่ยว. น. 96-105. *ใน* รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2531. กลุ่มงานวิทยาไมโค. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. กรมวิชาการเกษตร.

ทัศนาพร ทัศคร และ สุรภี กีรติยอังกูร. 2548. โรคดอกสนิม ดอกจุดสนิมกล้วยไม้. *ใน* โรคไม้ดอก. กลุ่มวิจัยโรคพืช. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร. น. 6-7

นิรนาม. 2549. คู่มือเกษตรกรการปลูกข้าวฟ่างสีแดง. ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์. กรมวิชาการเกษตร. 28 น. นิยมรัฐ ไตรศรี และ ลักษณา วรรณภีร์. 2533. โรคที่สำคัญของกระเจี๊ยบเขียวเพื่อการส่งออก, น. 53-56. *ใน* เอกสารประกอบการสัมนาสนทนาปัญหาโรคพืช. สมาคมนักโรคพืชแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ.

ประสาทพร สมิตะมาน. 2521. โรคของซ่อนกลิ่นฝรั่งที่พบในจังหวัดเชียงใหม่. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 11 (1) : 41-49.

ปราณี ลิ่มศรีวิไล ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช และ ปรีชา สุรินทร์. 2522. การสำรวจโรคของปาล์มน้ำมันระหว่างปี 2519-2521, น. 382-389. ใน รายงานประจำปี 2522. กองวิจัยโรคพืช. กรมวิชาการเกษตร.

ปราณีต ศิริวัลลภ ทศพล วิสุทธารมณ์ ปัญญา ชยามานนท์ อนันต์ สุนทรเกษมสุข ลักษณา วรรณภีร์ และ ชำนาญ ทองกลัด. 2532. ศึกษาประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืชบางชนิดเพื่อป้องกันกำจัดโรคใบแห้งของแตงเทศ, น. 91-93. *ใน* รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2532. กลุ่มงานวิจัยโรคพืชผักไม้ประดับ. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. กรมวิชาการเกษตร.

พงษ์เทพ ขจรไชยกูล. 2531. โรคยางพาราที่สำคัญทางเศรษฐกิจในปัจจุบันและอนาคต. *ใน* การประชุมการจัดทำแนวทางในการวิจัยพัฒนาและถ่ายทอดเทคโนโลยีการยางในทศวรรษหน้า. สถาบันวิจัยยาง 22-25 สิหาคม 2531. (เอกสารโรเนียว).

วิจัย รักวิทยาศาสตร์. 2551. ราวิทยาเบื้องต้น. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. 351 หน้า.

สิริลักษณ์ โล่ห์สวัสดิ์, จุมพล สาระนาค และ อนงค์ จันทร์ศรีกุล. 2521. โรคดอกสนิมของกล้วยไม้สกุลหวาย, น. 83-94. *ใน* รายงานประจำปี 2521. กองวิจัยโรคพืช. กรมวิชาการเกษตร.

ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช ปราณี ลิ่มศรีวิไล วิทยา เปรมปรีดิ์ และ ปรีชา สุรินทร์. 2526. การศึกษาโรคของต้นกล้ามะพร้าวพันธุ์ลูกผสมสวี 1, น. 1189-1192. ใน รายงานผลการทดลอง พ.ศ. 2526 เล่มที่ 3. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. กรมวิชาการเกษตร.

Chandrasrikul, A. 1962. preliminary host list of plant diseases in Thailand. Tech.

Bull. No. 9, Dept. of Agr., Bangkok. 14 p.

Ellis, M.B. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England. 608 p.

Table 1 Survey Collect and Identification of *Curvularia* spp.

ไอโซเลท	พืช	เชื้อสาเหตุ	การทำลาย	แหล่งที่พบ
1	ข้าวโพด	*Curvularia lunata*	ใบ	บ้านแก่งเสี้ยน อ. เมือง จ. กาญจนบุรี
2	ข้าวโพด	*Curvularia lunata*	ใบ	ต. ปากช่อง อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา
3	ข้าวโพด	*Curvularia lunata*	ใบ	ต. ซับม่วง อ. ปากช่อง. นครราชสีมา
4	ข้าวโพด	*Curvularia lunata*	ใบ	ต. พญาเย็น อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา
5	ข้าวโพด	*Curvularia lunata*	ใบ	ต. พญาเย็น อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา
6	ข้าวโพด	*Curvularia lunata*	ใบ	อ. เมือง จ. พิษณุโลก
7	ข้าวโพด	*Curvularia lunata*	ใบ	อ. มวกเหล็ก จ. สระบุรี
8	ข้าวโพด	*Curvularia lunata*	ใบ	อ. พระพุทธบาท จ. สระบุรี
9	ข้าวโพด	*Curvularia lunata*	ใบ	อ. น้ำปาด จ. อุตรดิตถ์
10	ข้าวโพด	*Curvularia lunata*	ใบ	อ. เมือง จ. เชียงใหม่
11	ข้าวโพด	*Curvularia lunata*	ใบ	อ. สันทราย จ. เชียงใหม่
12	ข้าวโพด	*Curvularia lunata*	ใบ	อ. แม่แจ่ม จ. เชียงใหม่
13	ข้าวโพด	*Curvularia lunata*	ใบ	อ. แม่ระมาด จ. ตาก
14	ข้าวโพด	*Curvularia lunata*	ใบ	อ. แม่สอด จ. ตาก
15	ข้าวโพด	*Curvularia lunata*	ใบ	กิ่งอ.วังม่วง จ. สระบุรี
16	ข้าวโพด	*Curvularia lunata*	ใบ	อ. แม่ลาว จ.เชียงราย
17	ข้าวโพด	*Curvularia lunata*	ใบ	อ. อรัญประเทศ จ. สระแก้ว
18	ข้าว	*Curvularia lunata*	เมล็ด	อ. เมือง จ. ปทุมธานี
19	ข้าว	*Curvularia lunata*	เมล็ด	อ. เมือง จ. เชียงราย
20	สบู่ดำ	*Curvularia lunata*	ใบ	อ. แม่ระมาด จ. ตาก
21	สบู่ดำ	*Curvularia lunata*	ใบ	จ. กรุงเทพมหานคร
22	ข้าวฟ่าง	*Curvularia lunata*	เมล็ด	อ. อู่ทอง จ. สุพรรณบุรี
23	หน้าวัว	*Curvularia lunata*	ใบ	จ. ปราจีนบุรี

Table 1 (cont.)

ไอโซเลท	พืช	เชื้อสาเหตุ	การทำลาย	แหล่งที่พบ
24	หน้าวัว	*Curvularia lunata*	ใบ	อ. เมือง จ. ลำปาง
25	เยอบีร่า	*Curvularia lunata*	ใบ	อ. เมือง จ. ลำปาง
26	เยอบีร่า	*Curvularia lunata*	ใบ	อ. เมือง จ. ปทุมธานี
27	เยอบีร่า	*Curvularia lunata*	ใบ	อ. สรรบุรี จ. ชัยนาท
28	วัชพืช หญ้ายาง	*Curvularia lunata*	ใบ	อ. สรรบุรี จ. ชัยนาท
29	วัชพืช หญ้ายาง	*Curvularia lunata*	ใบ	อ. ตากฟ้า จ. นครสวรรค์
30	ปาล์ม น้ำมัน	*Curvularia eragrostidis*	ใบ	จ. กระบี่
31	ปาล์ม น้ำมัน	*Curvularia eragrostidis*	ใบ	จ. สุราษฎร์ธานี
32	กล้วยไม้ สกุลหวาย	*Curvularia eragrostidis s*	ดอก	อ. สามพราน จ. นครปฐม
33	กล้วยไม้ สกุลหวาย	*Curvularia eragrostidis s*	ดอก	จ, สุพรรณบุรี
34	กล้วยไม้ สกุลหวาย	*Curvularia eragrostidis s*	ดอก	จ. ปราจีนบุรี
35	กล้วยไม้ สกุลหวาย	*Curvularia eragrostidis s*	ดอก	อ. ท่าม่วง จ. กาญจนบุรี
36	กล้วยไม้ สกุลหวาย	*Curvularia eragrostidis s*	ดอก	อ. เมือง จ. อุดรธานี

Table 1 (cont.)

ไอโซเลท	พืช	เชื้อสาเหตุ	การทำลาย	แหล่งที่พบ
37	กล้วยไม้สกุลหวายแคระ	*Curvularia eragrostidis s*	ดอก	จ. กรุงเทพมหานคร
38	กล้วยไม้สกุลออยซิเดียม	*Curvularia tuberculata*	ดอก	จ. กรุงเทพมหานคร
39	แกลดดิโอลัส	*Curvularia prasadii*	ใบ	จ. ตาก
40	แกลดดิโอลัส	*Curvularia prasadii*	ใบ	อ. เมือง จ. เชียงราย
41	ลิ้นมังกร	*Curvularia pallescens*	ใบ	จ. ตาก
42	บานชื่น	*Curvularia* sp.	ใบ	อ. โคกตูม จ. ลพบุรี
43	บานชื่น	*Curvularia* sp.	ใบ	อ. เมือง จ. พระนครศรีอยุธยา
44	บานชื่น	*Curvularia* sp.	ใบ	อ. แม่ลาว จ. เชียงราย
45	กระเจี๊ยบแดง	*Curvularia* sp.	ฝัก	อ. เมือง จ.สุพรรณบุรี

สำรวจ รวบรวม และจำแนกรา *Pythium* สาเหตุโรคพืช

Surveying, Collection and identification of *Pythium*

อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ และพีระวรรณ วัฒนวิภาส
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

บทคัดย่อ

ได้สำรวจ รวบรวมและเก็บตัวอย่างโรคพืชที่มีสาเหตุจาก รา *Pythium* spp. จากแหล่งปลูกพืชทั่วประเทศ ตัวอย่างดินจากแปลงพืชในแหล่งปลูกต่าง ๆ รวม 10 จังหวัด คือ จังหวัดเชียงใหม่ ลำปาง เลย เพชรบูรณ์ สกลนคร ปราจีนบุรี ประจวบคีรีขันธ์ กรุงเทพฯ สมุทรปราการ และนครปฐม และตัวอย่างเมล็ดพันธุ์พืช จำนวน 13 ชนิดพืช ระหว่างเดือนตุลาคม 2549 - กันยายน 2553 ได้รายละเอียดข้อมูลการแพร่ระบาดของโรค ลักษณะอาการโรคเน่าบนพืช 31 ตัวอย่าง 18 ชนิดพืช ได้แก่ กะหล่ำปลีสีม่วง มะเขือเทศ ผักไร้ดิน (ผักไฮโดรโปนิค) ผักชี ผักกะเฉด มะละกอ เบญจมาศ สตรอแบรี่ ผักสลัดแก้ว ผักกาดหอม ต้นขวด ต้นฤาษีสีแดง ต้นฤาษีสองสี ต้นฤาษีผสม (ดอกม่วง) กฤษณา บัวประดับ กล้วยไม้ดิน (ซิมบิเดียม) และกล้ายาสูบ เมื่อแยกเชื้อบริสุทธิ์ได้รา *Pythium* spp. สาเหตุโรคเน่าจากพืชและจากดิน จำนวน 42 ไอโซเลท จำแนกเป็นรา *Pythium* 15 ชนิด แต่ตรวจไม่พบ รา Pythium จากตัวอย่างเมล็ดพันธุ์พืชทุกชนิด

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

รา *Pythium* spp. อยู่ในชั้น (Class) Oomycetes ลำดับ (Order) Peronosporales วงศ์ (Family) Pythiaceae พบทั่วไปในดิน ในน้ำ พวกอยู่ในน้ำเป็นปรสิตกับพวกสาหร่าย เป็นพวกอาศัยเจริญอยู่บนซากแมลงในน้ำต่าง ๆ และพืชที่เน่าตาย ส่วนมากราสกุลนี้เป็นปรสิตบน เมล็ด ราก และส่วนใบ กิ่ง ก้านพืชหลายชนิด เป็นสาเหตุของโรคเน่าคอดิน หรือเน่าระดับดิน (damping-off) ของต้นกล้าพืชสำคัญหลายชนิด เข้าทำลายต้นกล้าพืช หรือเมล็ดพันธุ์ในดินก่อนงอก โดยปกติจะเข้าทำลายพวกเมล็ดที่กำลังงอก หรือต้นกล้าพืช และสามารถแยกได้จากส่วนต่าง ๆ ของพืชที่มีอายุที่ผ่านการเจริญจากระยะต้นกล้ามาแล้ว พบราพวกนี้เข้าทำลายต้นกล้าพืชในประเทศเขตร้อนต่างๆ เช่น ไทย อินเดีย อินโดนีเซีย มาเลเซีย ออสเตรเลีย ศรีลังกา ไนจีเรียและเขตกึ่งร้อน เช่น อิสราเอล อาฟริกาใต้ บางรัฐของสหรัฐอเมริกา ลิเบีย เป็นต้น ราทำลายต้นกล้าพืชในเรือนเพาะชำ แปลงตกกล้าพืชมากมายหลายชนิดทั้งใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่ เช่น มะละกอ ถั่วลิสง ฝ้าย แตงโม มะม่วง กล้วยไม้ หญ้าชนิดต่าง ๆ ข้าว ถั่ว ขิง ยาสูบ มะเขือเทศ พริก ราเข้าทำลายเมล็ดก่อนเมล็ดพืชงอก เมล็ดมีลักษณะอาการเน่าทั้งที่ยังไม่งอก หรืองอกอยู่ในดิน ซึ่งทำให้สังเกตได้ยาก แต่หากเมล็ดงอกโผล่จากดินแล้วเจริญเป็นต้นกล้าพืช ราเข้าทำลายที่ระดับดิน โคนต้นกล้าเกิดอาการฉ่ำน้ำ ทำต้นกล้าล้มพับอยู่เหนือดิน ใบเลี้ยงยังคงเขียว ไม่มีอาการเหี่ยว หากสภาพแวดล้อมเหมาะสมกับการเจริญของรา ความชื้นสูง ทำให้ต้นกล้าเน่าเป็นหย่อมๆ ในแปลงกล้า หรือในกระบะเพาะกล้า

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

ในการศึกษาครั้งนี้ได้สำรวจ รวบรวมและศึกษารายละเอียดต่าง ๆ ของรา *Pythium* spp. บริสุทธิ์ที่แยกได้ แล้วจำแนกชนิด เพื่ออนุรักษ์รา ในสกุล *Pythium* พร้อมรายละเอียดข้อมูล เก็บรักษาไว้ใน culture collection ที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร สำหรับเป็นแหล่งข้อมูลการแพร่กระจายของโรคเน่าคอดิน หรือโรคกล้าเน่า หรือโรคพืชที่เกิดจากรา *Pythium* spp สาเหตุโรคพืชในประเทศไทย และเพื่อให้ได้เชื้อรา *Pythium* spp. บริสุทธิ์ ที่มีรายละเอียดข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยา และ สรีรวิทยา นอกจากนี้ จากการตรวจเอกสารพบการรายงานโรคพืชสำคัญหลายชนิด ที่มีสาเหตุจากรา *Pythium* spp. โดยไม่ได้จำแนกชนิดเชื้อ ดังนั้นจึงเพื่อเป็นการจัดจำแนกชนิดรา *Pythium* spp เก็บไว้ใน culture collection และเพื่อความถูกต้องในการจัดทำข้อมูลบัญชี

รายชื่อศัตรูพืชในประเทศไทย สำหรับหน่วยงานภาครัฐและเอกชน สามารถนำข้อมูลต่างๆ ไปใช้ในการศึกษาอีกประการหนึ่งด้วย

วิธีดำเนินการ

1. การสำรวจ รวบรวมและเก็บตัวอย่างโรคและการแยกเชื้อบริสุทธิ์

1.1 การสำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจาก รา *Pythium* spp.

ได้สำรวจและรวบรวมตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจาก รา *Pythium* spp. จากแหล่งปลูกพืชต่าง ๆ ทั่วประเทศ ระหว่างเดือนตุลาคม 2549 - กันยายน 2553

1.2 การศึกษาลักษณะอาการโรคพืชที่เกิดจาก รา *Pythium* spp.

ได้ศึกษาและบันทึกรายละเอียดลักษณะอาการของโรคในแปลงปลูก สภาพแวดล้อมของการเกิดโรคและการปฏิบัติดูแลของเกษตรกร ถ่ายรูปตัวอย่างโรคพืช

1.3 การแยกเชื้อบริสุทธิ์ รา *Pythium* spp. สาเหตุโรคพืช

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

1.4 การแยกเชื้อบริสุทธิ์ รา *Pythium* spp. ที่อยู่ในดินแปลงปลูกพืช

ได้เก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกพืช แปลงเพาะกล้าพืช ไม้ดอก ไม้ประดับ และพืชไร่จากแหล่งปลูก นำตัวอย่างดินมาละลายน้ำ แล้วใช้เมล็ดแตงกวาแขวนลอยในสารละลายดินดังกล่าว นาน 36-48 ชั่วโมง นำเมล็ดแตงกว่านั้น มาแยกเชื้อบริสุทธิ์ โดยวางบนอาหาร PDA + BRNAP เพาะเชื้อในอุณหภูมิห้อง (25 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง ปฏิบัติเช่นเดียวกับ ข้อ 1.3

2. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของรา *Pythium*

ได้นำเชื้อบริสุทธิ์แต่ละไอโซเลทมาศึกษารายละเอียดลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยา ดังนี้

2.1 การศึกษาลักษณะการเจริญของเส้นใย (โคโลนี) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

ได้เลี้ยงราสาเหตุโรค ในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ CA จำนวน 15 มิลลิลิตร เพื่อศึกษาลักษณะการเจริญของเส้นใย ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว ตัดเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีของราซึ่งเลี้ยงบนอาหาร CA นาน 3 วัน วางให้ด้านที่มีเส้นใยของเชื้อคว่ำลงบนอาหารบริเวณกลางจานเลี้ยงเชื้อ นำไปไว้ในตู้บ่มมืดที่มีอุณหภูมิห้อง จนเชื้อเจริญเติบโตเต็มจานเลี้ยงเชื้อ ศึกษาบันทึกลักษณะการเจริญที่ผิวหน้าอาหารและความหนาแน่นของเส้นใย

2.2 การศึกษา ลักษณะ รูปร่างและขนาดสปอร์

ได้เลี้ยงราสาเหตุโรค 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.

ได้เปรียบเทียบผลการศึกษา ลักษณะการเจริญเส้นใย ลักษณะรูปร่างและขนาดของสปอร์ชนิดต่างๆ (sporangium, chlamydospores, oogonia, antheridia และ oospores) ของรา *Pythium* สาเหตุโรคกล้าเน่า และราในดิน กับคู่มือการจำแนกชนิด *Pythium* ของ PLAATS-NITERINK (1983) และ เอกสารวิชาการของ Robertson (1980)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสำรวจ รวบรวมตัวอย่างโรคและการแยกเชื้อบริสุทธิ์

1.1 การสำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจาก รา *Pythium* spp.

ผลการสำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจาก รา *Pythium* spp. ในพื้นที่ปลูกพืชในแหล่งปลูกภาคต่าง ๆ ของประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2549 - กันยายน 2553 พบว่า

ภาคเหนือ จังหวัดเชียงใหม่ พบโรคกล้าเน่าของกะหล่ำปลีสีม่วง มะเขือเทศ เบญจมาศ และยาสูบ ชนิดละ 1 ตัวอย่าง โรคต้นเน่ารากเน่าสตรอแบรี่ 2 ตัวอย่าง โรคโคนเน่ารากเน่าผักสลัดแก้ว โรครากเน่าต้นเน่าต้นขวด โรคต้นเน่าต้นฤาษีสีแดง ต้นฤาษีสองสี ต้นฤาษีผสม (ดอกม่วง) ต้นไม้เท้าฤาษี โรครากเน่าสนมังกร และโรคใบเน่าบัวประดับ ชนิดละ 1 ตัวอย่าง จังหวัดลำปาง พบโรคใบเน่าบัวประดับ 1 ตัวอย่าง รวม 15 ตัวอย่าง (ตารางที่ 1)

ภาคตะวันออกเฉียงเหนือพบโรคลำต้นหรือโรคกล้าเน่าของแตงกวาที่จังหวัดเลย 1 ตัวอย่าง และโรคหัวเน่า (กล้าเน่า) ของหัวไชเท้า (ผักกาดหัว, ผักกาดหวาน) ที่เพชรบูรณ์ 1 ตัวอย่าง และโรคต้นเน่าของไม้กฤษณา 2 ตัวอย่าง ที่จังหวัดสกลนคร รวม 4 ตัวอย่าง (ตารางที่ 1)

ภาคตะวันออก พบโรคใบเน่าบัวประดับ และโรคต้นเน่ารากเน่ากล้วยไม้ดิน (ซิมบิเดียม) ชนิดละ 2 ตัวอย่าง ที่จังหวัดปราจีนบุรี รวม 2 ตัวอย่าง (ตารางที่ 1)

ภาคใต้ พบโรคใบเน่าบัวประดับ 1 ตัวอย่าง ที่จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ รวม 1 ตัวอย่าง (ตารางที่ 1)

ภาคกลาง พบโรคเน่าคอดินหรือโรคกล้าเน่ามะเขือเทศ ที่กรุงเทพฯ 1 ตัวอย่าง โรคต้นเน่าผักกาดหอม 1 ตัวอย่าง ผักไร้ดิน (ผักไฮโดรโปรนิค) 2 ตัวอย่าง โรครากและลำต้นเน่าผักชี 1 ตัวอย่าง และ โรคต้นเน่าของผักกระเฉดที่กรุงเทพฯ 2 ตัวอย่าง สมุทรปราการ 1 ตัวอย่าง และโรคกล้าเน่าลำต้นเน่าของมะละกอ ที่นครปฐม 1 ตัวอย่าง รวม 9 ตัวอย่าง (ตารางที่ 1)

รวมได้ตัวอย่างโรคกล้าเน่า ต้นเน่าของพืชชนิดต่าง ๆ ทั้งหมด 31 ตัวอย่าง (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 รา *Pythium* spp. สาเหตุโรคพืชจากตัวอย่างโรคพืชในพื้นที่เพาะปลูกของประเทศไทย (ปี พ.ศ. 2549-2553)

ที่	แหล่งปลูก	พืช	ส่วนของพืช	ไอโซเลทเชื้อ
	เชียงใหม่ CM = Chiang Mai			
1.	29-1 หมู่ 2 บ้านโป่งแยงนอก ต.โป่งแยง อ.แม่ริม จ.เชียงใหม่	กะหล่ำปลีสีม่วง	กล้าเน่า	50 Py กะหล่ำม่วง CM 1 S-
2.	29-1 หมู่ 2 บ้านโป่งแยงนอก ต.โป่งแยง อ.แม่ริม จ.เชียงใหม่	มะเขือเทศ	กล้าเน่า	50[1]-Py[2]-To[3]-CM[4] 1[5] S[6]
3.	ต.สะเมิงใต้ อ.สะเมิง	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
6.	ต.โป่งแยง อ.แม่ริม จ.เชียงใหม่	ผักสลัดแก้ว	โคนเน่า/รากเน่า	50-Py- ผักสลัดแก้ว-CM 1 S
7.	สวนเฉลิมพระเกียรติฯ ราชพฤกษ์ 2549 อ.แม่เหี๊ยะ	ต้นขวด	รากเน่าต้นเน่า	50-Py- Bt-CM 1 S
8.	สวนเฉลิมพระเกียรติ ฯ ราชพฤกษ์ 2549	ฤาษีสีแดง	ต้นเน่า	51 Py ฤาษี CM 1 S
9.	สวนเฉลิมพระเกียรติ ฯ ราชพฤกษ์ 2549	ฤาษีสองสี	ต้นเน่า	51 Py ฤาษี CM 2 S
10.	สวนพฤษศาสตร์สิริกิต เชียงใหม่	ฤาษีผสม (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	รากเน่าต้นเหี่ยว	51 Py สนมังกร CM 1 R
13.	ใกล้โรงแรมเชียงใหม่ฮิลล์ อ.เมือง เชียงใหม่	บัวประดับ	ใบเน่า	51 - Py ใบบัวประดับ CM 1 L
14.	อ.เมือง เชียงใหม่	กล้ายาสูบ	กล้าเน่า	53 - Py ยาสูบ CM 1S

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ที่	แหล่งปลูก	พืช	ส่วนของพืช	ไอโซเลทเชื้อ
	ลำปาง Lpa = LamPang			
15.	ร้านก๋วยเตี๋ยว อ.ห้างฉัตร ลำปาง	บัวประดับ	ใบเน่า	52-Py บัวประดับ Lpa 1 L
	เลย Lo = Loei			
16.	ไร่ TSA ผลิตเมล็ดพันธุ์ อ.ภูเรือ	แตงกวา	ลำต้น/กล้าเน่า	49-Py-Cu-Lo 1 S
	เพชรบูรณ์ Ph B = Phetchabun			
17.	บ้านมุกโค ต.หนองแม่นา อ.เขาค้อ	หัวไชเท้า		50-Py-หัวไชเท้า-PhB 1 R-(กล้าเน่า/หัวเน่า)
	สกลนคร Sa N = Sakonnakhon			
18.	อ.เมือง สกลนคร	กฤษณา	โคนต้นเน่า	51 Py กฤษณา Sa N 1 S
19.	บ้านเลขที่ 293 หมู่ 1 บ้านวาริชภูมิ ต.วาริชภูมิ อ.วาริชภูมิ	กฤษณา	รากเน่าโคนเน่า	51 Py กฤษณา Sa N 2 S
	ปราจีนบุรี PB = Prachin Buri			
20.	รังกล้วยไม้บริษัท PSP อ.เมือง	บัวประดับ	ใบเน่า	51 Py ใบบัวประดับ PB 1 L
21.	รังกล้วยไม้บริษัท PSP อ.เมือง	กล้วยไม้ดิน	ต้นเน่า-รากเน่า	52 Py รากซิมบิเดียม PB 1 R
	ประจวบคีรี ขันธ์ Pr K = Prachuap khirikhan			
22.	คอนโดริมหาดหัวหิน	บัวประดับ	ใบเน่า	52 Py ใบบัวประดับ - Pr K 1 L
	กรุงเทพ ฯ BK = Bangkok			
23.	เรือนทดลองกลุ่มวิจัยโรคพืช สอพ.	มะเขือเทศ	กล้าเน่า	49-Py-To-BK 1 S
24.	คลินิกพืช กรุงเทพฯ	ผักกาดหอม	ต้นเน่า	50-Py- ผักกาดหอม -BK 1 S
25.	ถนนเอกชัย-บางบอน อ.บางขุนเทียน กรุงเทพฯ	ผักไร้ดิน (ไฮโดรโปนิค)	รากเน่า/ต้นเน่า ลำ	51 Py Hp BK 2 S
26.	คลินิกพืช กรุงเทพฯ	ผักชี	รากเน่า/ต้นเน่า ลำ	51 Py ผักชี 1 S

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ที่	แหล่งปลูก	พืช	ส่วนของพืช	ไอโซเลทเชื้อ
27.	กรุงเทพ	ผักกะเฉด	ต้นเน่า/ ใบเน่า	49-Py- ผักกะเฉด -BK 1 S
28.	คลินิคพืช กรุงเทพ	ผักกะเฉด	ต้นเน่า/ ใบเน่า	49-Py- ผักกะเฉด -BK 3 S
29.	บริษัท GP Technology Co.Ltd. 50 สุวินทวงศ์ ต.แสนแสบ อ.มีนบุรี กรุงเทพฯ	ผักสลัดไร้ดิน (Hp = Hydroponic)	น้ำในโรงเพาะกล้า	51-Py-Hp BK 1 W
	สมุทรปราการ SP = Samut PraGan			
30.	นายสมศักดิ์ สะเสือ 16/2 ม.3 ต.หนองปรือ อ.บางพลี	ผักกะเฉด	ต้นเน่า/ใบเน่า	49-Py- ผักกะเฉด -SP 2 S
	นครปฐม Na P = Nakhonpathom			
31.	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

50[1]-Py[2]-To[3]-CM[4] 1[5] S[6] = รา *Pythium* spp. สาเหตุโรคที่แยกได้จากตัวอย่างโรคโคนเน่ามะเขือเทศ จังหวัดเชียงใหม่ ไอโซเลทที่ 1 เก็บตัวอย่างในปี พ.ศ.2550

พืช Bt=Bottle tree = ต้นขวด Cu = Cucumber = แตงกวา

St = Strawberry = สตรอแบรี่ To = Tomato = มะเขือเทศ

ส่วนของพืช แยกได้เชื้อจาก

S = Stem ลำต้น R = Root ราก W = Water น้ำ

จังหวัด

CM = Chiang Mai เชียงใหม่ PB = Prachin Buri ปราจีนบุรี

Lpa = LamPang ลำปาง Pr K = Prachuap khirikhan ประจวบคีรี ขันธ์

Lo = Loei เลย BK = Bangkok กรุงเทพ ฯ

Ph B = Phetchabun เพชรบูรณ์ SP = Samut PraGan สมุทรปราการ

Sa N = Sakonnakhon สกลนคร Na P = Nakhonpathom นครปฐม

1.2 การศึกษาลักษณะอาการโรคพืชที่เกิดจาก รา *Pythium* spp.

ผลการศึกษาลักษณะอาการโรคพืชที่เกิดจาก รา *Pythium* spp. พบว่ารา *Pythium* spp. เข้าทำลายต้นกล้าพืชที่ระดับดิน โคนต้นกล้าเกิดอาการฉ่ำน้ำ ทำให้ต้นกล้าล้มพับอยู่เหนือดิน ใบเลี้ยงยังคงเขียว ไม่มีอาการเหี่ยว หากสภาพแวดล้อมเหมาะสมกับการเจริญของรา ความชื้นสูง ทำให้ต้นกล้าเน่าเป็นหย่อม ๆ ในแปลงเพาะกล้า หรือในกระบะเพาะกล้าในเรือนเพาะชำ การศึกษาครั้งนี้พบต้นกล้ามะเขือเทศในเรือนเพาะชำเน่า ซึ่งตรงกับการรายงานของจุมพลและอรพรรณ (ไม่ระบุปีที่ตีพิมพ์) ในคู่มือนักวิชาการภาคสนาม โรคพืชผัก และตรงกับรายงานของพัฒนาและคณะ (2542) ว่า โรคกล้าเน่าตาย หรือโรคเน่าคอดิน (damping off) ของมะเขือเทศ เกิดจาก รา *Pythium* sp. เช่นเดียวกับนิยม รัฐ (2542) รายงานโรคผลเน่า (Fruit rot) ของมะเขือเทศ มีลักษณะช้ำเหมือนน้ำร้อนลวก แล้วเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มหรือดำ เมื่อโรคระบาดมากขึ้น ผลที่เป็นโรคจะเน่าเละ ที่บริเวณเนื้อเยื่อที่ติดดินมักมีเส้นใยของราสีขาว ฟู และค่อนข้างเหนียวเกิดขึ้น และได้รายงานโรคผลเน่าดำของมะเขือ มีลักษณะอาการผลเน่าสีน้ำตาลเข้ม โดยเริ่มเป็นบริเวณเล็ก ๆ แล้วลุกลามขยายออกไปอย่างรวดเร็วจนทำให้ผลเน่าดำเกือบทั้งผล ผลที่เน่าดำนี้มักหลุดร่วงจากลำต้น โรคดังกล่าว มีสาเหตุจาก รา *Pythium* sp. ซึ่ง อมรรัตน์ (2552) รายงานโรคเน่าคอดินของมะเขือเทศ เกิดจากรา *Pythium* ราสามารถเข้าทำลายเมล็ดมะเขือเทศได้ทั้งก่อนเมล็ดพืชงอก ทำให้เมล็ดเน่าอยู่ในดิน และทำลายหลังงอกเป็นต้นกล้าแล้ว ทำให้ต้นกล้าเน่า (อมรรัตน์, 2552) 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) และพบ โรคกล้าเน่าของยาสูบ 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) รายงานโรคต้นเน่าป่านศรนารายณ์ ทำให้เกิดอาการเน่าเละเป็นสีน้ำตาล อาการเริ่มที่โคนใบ แล้วเน่าเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ แล้วใบหักพับลง ลุกลามไปยังโคนใบอื่นๆ กลางลำต้นเน่าเละ และต้นล้มไปในที่สุด มีสาเหตุจาก รา *P. aphanidermatum* และได้พบโรคเน่าคอดินหรือโรคกล้าเน่ามะละกอ เช่นเดียวกับ สุชาติ (2541) ที่รายงานโรครากเน่าและโคนเน่าของมะละกอ ว่าเกิดจากรา *P. aphanidermatum* ซึ่งเช่นเดียวกับพิศาล (2542) รายงานโรคพืชที่สำคัญในพื้นที่ปลูกภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ โรคโคนเน่า (stem rot) ของมะละกอ จากรา *P. aphanidermatum* ทำให้โคนต้นเน่าสีน้ำตาลดำและบางครั้งมีเส้นใยสีขาว

เกิดขึ้น นอกจากนี้ พิศาล (2542) รายงานการเกิดโรคโคนเน่าของกล้วย ว่าเกิดจากรา *P. aphanidermatum* และโรคยอดเน่า (heart rot) ของสับปะรด มีสาเหตุจากรา *Pythium* sp. (พิศาล, 2552) และ 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 การแยกเชื้อบริสุทธิ์ รา *Pythium* spp. สาเหตุโรคพืช

ผลการศึกษาตัวอย่างโรคพืช โดยวิธี tissue transplanting แล้วแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อวินิจฉัยสาเหตุโรค พบว่า ตัวอย่างโรคพืชที่นำมาศึกษาทั้ง 31 ตัวอย่าง มีสาเหตุจาก รา *Pythium* spp. แยกราได้จำนวน 31 ไอโซเลท (ตารางที่ 1)

1.4 การแยกเชื้อบริสุทธิ์ รา *Pythium* spp. ที่อยู่ในดินแปลงปลูกพืช

ผลการเก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกพืช แปลงเพาะกล้าพืช ไม้ดอก ไม้ประดับ และพืชไร่จากแหล่งปลูก ปีพ.ศ. 2549-2553 ได้ตัวอย่างดินคะน้า จากจังหวัดปทุมธานี 2 ตัวอย่าง จังหวัดสุพรรณบุรี เชียงราย และเชียงใหม่ จังหวัดละ 1 ตัวอย่าง ตัวอย่างดินปลูกกวางตุ้งจากจังหวัดเชียงรายและเชียงใหม่ จังหวัดละ 1 ตัวอย่าง ดินปลูกสตรอแบรี่จากจังหวัดเชียงใหม่ 1 ตัวอย่าง ดินปลูกส้มจากจังหวัดเชียงใหม่ 1 ตัวอย่าง ดินปลูกกฤษณาจากสกลนคร ดินปลูกกะหล่ำปลี จากจังหวัดตาก 1 ตัวอย่าง รวมได้ตัวอย่างดิน 11 ตัวอย่าง แยกได้ รา *Pythium* spp. จากดินปลูกพืช ทุกตัวอย่าง ได้รา *Pythium* spp. จำนวน 11 ไอโซเลท (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 รา *Pythium* spp. แยกจากดินปลูกพืชของประเทศไทย (ปีพ.ศ. 2549-2553)

ที่	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

2. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของรา *Pythium*

2.1 การศึกษาลักษณะการเจริญของเส้นใย (โคโลนี) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

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

2.2 การศึกษา ลักษณะ รูปร่างและขนาดสปอร์

รา *Pythium* มีเส้นใยที่ไม่มีผนังกั้น สร้างสปอร์ที่เกิดจากการผสมพันธุ์ทางเพศ (sexual spores) มีผนังหนาและสปอร์ที่เกิดแบบไม่ผสมพันธุ์ทางเพศ (asexual spores) เป็นสปอร์รูปร่างต่างๆ กัน อาจมีรูปร่างกลม หรือเป็นเส้นยาว หรือ ลักษณะเป็นรอยหยัก งอ ขดไปมา (lobe) คล้ายง่ามนิ้ว โดยมี ผนังกั้นเส้นใย (septum) ระหว่าง สปอร์แรงเจียม กับเส้นใย (เส้นใยไม่มีผนังกั้น) 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. การจำแนกชนิดรา *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 และยาสูบ สาเหตุโรคกล้าเน่าลำต้นเน่ามะละกอ และพบในดินคะน้าทุกตัวอย่างจากสุพรรณบุรี ปทุมธานี เชียงใหม่และเชียงราย ส่วนดินกวางตุ้งจากเชียงใหม่และเชียงราย พบรา *P. ultimum*

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลการสำรวจ รวบรวม ตัวอย่างโรคพืช จากแหล่งปลูกต่าง ๆ 10 จังหวัด คือ เชียงใหม่ ลำปาง เลย เพชรบูรณ์ สกลนคร ปราจีนบุรี ประจวบคีรีขันธ์ กรุงเทพฯ สมุทรปราการ และนครปฐม ได้รายละเอียดข้อมูลการแพร่ระบาดของโรค ลักษณะอาการโรคเน่าบนพืช นำมาแยกเชื้อบริสุทธิ์ได้ รา *Pythium* spp. สาเหตุโรคพืช ทั้งหมด 31 ไอโซเลท จำนวน 18 ชนิดพืช ได้แก่ กะหล่ำปลีสีม่วง มะเขือเทศ ผักไร้ดิน (ผักไฮโดรโปนิค) ผักชี ผักกะเฉด มะละกอ เบญจมาศ สตรอแบรี่ ผักสลัดแก้ว ผักกาดหอม ต้นขวด ต้นฤาษีสีแดง ต้นฤาษีสองสี ต้นฤาษีผสม (ดอกม่วง) กฤษณา บัวประดับ กล้วยไม้ดิน (ซิมบิเดียม) และยาสูบ ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์พืชซึ่งตรวจไม่พบ รา *Pythium* ทุกชนิดพืช ผลการเก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกพืช ได้ดินปผลูกคะน้า กวางตุ้งและสตรอแบรี่ รวมได้ตัวอย่างดิน 11 ตัวอย่าง แยกได้ รา *Pythium* spp. จากดินปลูกพืช ทุกตัวอย่าง รวม ได้ รา *Pythium* spp. บริสุทธิ์ ทั้งหมด จำนวน 42 ไอโซเลท จำแนกได้รา *Pythium* 15 ชนิด

รา *Pythium* เป็นพวก water mold หรือ ราน้ำ อาศัยบนเศษซากพืช อินทรีย์วัตถุในดิน เกิดและอาศัยอยู่ในดิน (soil borne) ราเข้าทำลายเมล็ดก่อนเมล็ดพืชงอก เมล็ดมีลักษณะอาการเน่าทั้งที่ยังไม่งอก หรืองอกอยู่ในดิน (ทวี, 2549) ดังนั้นในการป้องกันกำจัดโรคนี้ คือ ไม่ให้ผิวดินบนแปลงปลูกชื้นแฉะ ควรให้น้ำแต่พอดีเพื่อลดความชื้น ไม่เพาะกล้าแน่นเกินไป แปลงเพาะกล้าควรมีการระบายน้ำได้ดี ไม่ขังแฉะ ในการศึกษาครั้งนี้ จากตัวอย่างดินในแปลงปลูกคะน้า กวางตุ้ง และสตรอแบรี่ แยกได้รา *Pythium* spp.บริสุทธิ์ทุกตัวอย่าง ดังนั้นการปลูกพืชในดินจึงควรใช้เมล็ดพันธุ์พืชที่คลุกเมล็ดด้วยสารเคมีเมทาแลกซิล ควบคุมราที่อาจติดมากับเมล็ด และป้องกันการเข้าทำลายจากราที่อยู่ในดิน (ทวี, 2549)

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 ภูไพบูลย์ เสียงแจ๋ว พิริยพฤนต์ นงลักษณ์ ศรินทุและสมภาค สิทธิพงศ์. 2522. การศึกษาสาเหตุโรคต้นเน่าของป่านศรนารายณ์. หน้า 441-445. *ใน* รายงานประจำปี 2522. กองวิจัยโรคพืช. กรมวิชาการเกษตร.

อมรรัตน์ ภูไพบูลย์. 2552. มะเขือเทศ : โรคกล้าเน่า-เน่าคอดิน หรือเน่าระดับดิน.หน้า 27 – 28. *ใน* คู่มือโรคผัก.เอกสารวิชาการ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช 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 2553 จากการเก็บตัวอย่างราแป้งของพืชชนิดต่างๆ จำนวน 51 ไอโซเลท สามารถจำแนกราแป้งได้ 14 ชนิด คือ ราแป้งสตรอเบอรี่ จำแนกได้เป็น *Oidium* subgen. *Fibroidium* sp. ราแป้งตำลึง จำแนกได้เป็น *Oidium* subgenus *reticuloidium* sp. ราแป้งพริก จำแนกได้เป็น *Oidiopsis taurica* ราแป้งมะขาม จำแนกได้เป็น *Oidium* subgen. *Pseudoidium* sp. ราแป้งมะม่วง จำแนกได้เป็น *Oidium* subgen *Pseudoidium mangiferae* ราแป้งกุหลาบ จำแนกได้เป็น *Oidium* subgen *Fibroidium pannosa* ราแป้งทานตะวัน จำแนกได้เป็น *Oidium* subgen. *Recticuloidium* sp. ราแป้งหม่อนจำแนกได้เป็น *Ovulariopsis* sp. ราแป้งเงาะ จำแนกได้เป็น *Oidium* subgen. *Pseudoidium* sp. ราแป้งมะเขือ จำแนกได้เป็น *Oidium* subgenus *Fibroidium* sp. ราแป้งของน้ำนมราชสีห์ จำแนกได้เป็น *Oidium* subgen. *Fibroidium* sp. ราแป้งหญ้าละออง จำแนกได้เป็น *Oidium* subgen. *Fibroidium* sp. ราแป้งแค จำแนกได้เป็น *Oidium* subgen. *Pseudoidium* sp. ราแป้งองุ่น จำแนกได้เป็น *Oidium* subgen. *Pseudoidium* sp.

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-28-51

คำนำ

ราแป้ง จัดเป็นเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคกับพืชเศรษฐกิจหลายชนิด เตือนใจ และคณะ (2545) รายงานว่าเชื้อราแป้ง ทำให้เกิดโรคกับไม้ผลหลายชนิด คือ มะม่วง ทุเรียน โดยราแป้งมะม่วง เกิดจากเชื้อรา *Oidium mangiferae* ราแป้งทุเรียน เกิดจากเชื้อรา *Oidium* sp. ลักษณ์ และคณะ (2544) รายงานว่าราแป้งของยางพารา เกิดจากเชื้อ *Oidium heveae* เข้าทำลายใบยาง โดยระยะที่เหมาะสมคือใบยางอ่อนอายุ 4-10 วัน นุชนารถ (2546) รายงานว่าโรคราแป้งสามารถเกิดกับพืชผักหลายชนิด ได้แก่ พืชตระกูลมะเขือ ตระกูลแตง ตระกูลถั่ว แครอท โดยเริ่มแรกจะเกิดเป็นผงสีขาวบนใบเป็นกลุ่มเล็กๆ ต่อมากลุ่มเส้นใยและสปอร์ที่แผลจะกระจายกว้างออกไปตามผิวใบ ใบพืชเริ่มเหลือง สปอร์ปกคลุมทั่วใบ เมื่ออาการมากขึ้นใบจะเหลืองและแห้งตาย วุฒิศักดิ์ และคณะ (2548) รายงานว่าราแป้งกุหลาบเกิดจากเชื้อรา *Oidium* sp. โดยระยะแรกผิวด้านบนของใบเป็นจุดสีแดง ต่อมาพบเส้นใยและสปอร์เป็นผงสีขาวคล้ายแป้งเกิดเป็นหย่อมๆ และขยายวงออกไป อาการรุนแรงจะพบบนก้านใบ กิ่ง ดอก ก้านดอก ใบอ่อน กลีบดอก และลำต้นทำให้ใบบิด เบี้ยวใบเหลืองและร่วง 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 เพื่อนำเข้าพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืชสำหรับใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์อย่างยั่งยืน และการศึกษาและวิจัยอื่นอีกหลายด้านต่อไป ซึ่งนับวันบทบาทของจุลินทรีย์จะมีความสำคัญต่อการพัฒนาประเทศ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

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

วิธีการ

วิธีการดำเนินการวิจัย

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

การเก็บข้อมูล

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

เวลาและสถานที่

แหล่งปลูกพืชในประเทศไทย และห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ตุลาคม 2550 - กันยายน 2553 รวม 3 ปี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการเก็บตัวอย่างราแป้งของพืชชนิดต่างๆ ระหว่างตุลาคม 2550-กันยายน 2553 จำนวน 42 ไอโซเลท ได้แก่ ตำลึง 6 ไอโซเลท จากกรุงเทพฯ เชียงใหม่ เชียงราย สตรอเบอรี่ 2 ไอโซเลท จากจังหวัดเชียงใหม่ ถั่วฝักยาว กระถินณรงค์ ผักชีลาว อย่างละ 1 ไอโซเลท จากจังหวัดเชียงราย แค 3 ไอ

โซเลท จากจังหวัดเชียงใหม่ โทงเทง 1 ไอโซเลท จากจังหวัดลำปาง ถั่วเขียว พริก อย่างละ 1 ไอโซเลท จากจังหวัดเพชรบูรณ์ ถั่วลันเตา 1 ไอโซเลท จากจังหวัดเลย มะม่วง 1 ไอโซเลท จากจังหวัดพิษณุโลก เมลอน 1 ไอโซเลท จากจังหวัดสระแก้ว เงาะที่เป็นโรคราแป้งบริเวณช่อดอกและใบ 2 ไอโซเลท จากจังหวัดนครศรีธรรมราช เงาะที่เป็นโรคเฉพาะที่ผล 6 ไอโซเลท จากจังหวัดจันทบุรี ตราด มะขาม 7 ไอโซเลท จากจังหวัดเพชรบุรี สระบุรี เชียงใหม่ กรุงเทพฯ ราชพฤกษ์ 1 ไอโซเลท จากกรุงเทพฯ องุ่น 2 ไอโซเลท จากจังหวัดนครราชสีมา เชียงใหม่ เทียน 2 ไอโซเลท จากสระบุรี จันทบุรี สาบแร้งสาบกา 1 ไอโซเลท จากจันทบุรี เสี้ยนผรั่ง 3 ไอโซเลท จาก เชียงใหม่ เชียงราย ราแป้งกุหลาบ 2 ไอโซเลท จาก เชียงใหม่ น้ำนมราชสีห์ 1 ไอโซเลท หญ้าละออง 1 ไอโซเลท ทานตะวัน 1 ไอโซเลท จากจังหวัดเชียงใหม่ หม่อน 1 ไอโซเลท จากกรุงเทพฯ มะเขือเทศ จำนวน 1 ไอโซเลท จากเชียงใหม่

จากการจัดจำแนกสามารถจำแนกชนิดราแป้งบนพืชต่างๆ ได้ดังนี้

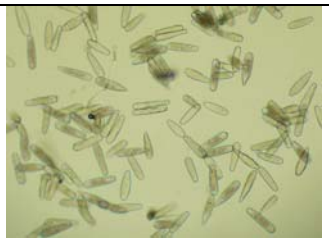
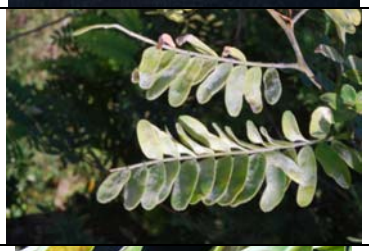
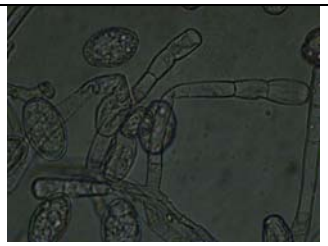
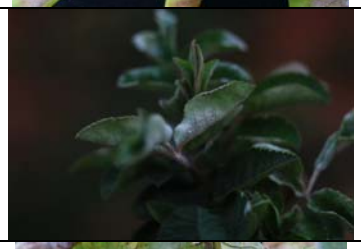
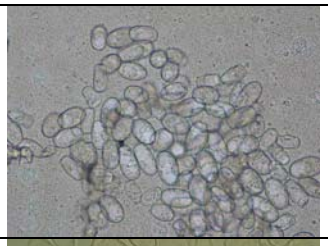
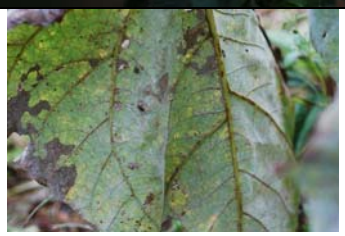
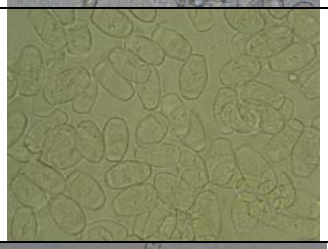
1. ราแป้งสตรอเบอรี่ เป็นเชื้อรา Genus Oidium conidia เป็นแบบ chain-type ผลิต conia ได้หลายอันต่อวัน ใน Conidia มี Fibrisin body เมื่อวัดขนาดส่วนต่างๆ สามารถจำแนกได้เป็น *Oidium* subgen. *Fibroidium* sp.
2. ราแป้งตำลึง เป็นเชื้อรา Genus Oidium แต่ไม่พบ Fibrosin body สามารถจำแนกได้เป็น *Oidium* subgenus *reticuloidium* sp.
3. ราแป้งพริก Conidiophores ประกอบด้วยหลายเซลล์ จำนวนเซลล์ไม่แน่นอน สร้าง conidia 1 conidiaลักษณะ cylindric จำแนกได้เป็น *Oidiopsis taurica* ซึ่งตรงกับที่ต่างประเทศรายงานไว้ว่า perfect stage คือ *Leveillula taurica* แต่จากการเก็บตัวอย่างยังไม่พบ perfect stage
4. ราแป้งมะขาม เป็นเชื้อรา Genus Oidium conidia เป็นแบบ pseudoidium-type ผลิต conia 1 conidium ต่อวันจำแนกได้เป็น *Oidium* subgen. *Pseudoidium* sp.
5. ราแป้งมะม่วง เป็นเชื้อรา Genus Oidium conidia เป็นแบบ pseudoidium-type ผลิต conia 1 conidium ต่อวันจำแนกได้เป็น *Oidium* subgen *Pseudoidium mangiferae*
6. ราแป้งกุหลาบ เป็นเชื้อรา Genus Oidium conidia เป็นแบบ chain-type ผลิต conia ได้หลายอันต่อวัน ใน Conidia มี Fibrisin body จำแนกได้เป็น *Oidium* subgen *Fibroidium pannosa*
7. ราแป้งทานตะวัน เป็นเชื้อรา Genus Oidium แต่ไม่พบ Fibrosin body จำแนกได้เป็น *Oidium* subgen. *Recticuloidium* sp. ตรงกับ Perfect stage คือ *Glolovinomyces* sp.
8. ราแป้งหม่อนจำแนกได้เป็น *Ovulariopsis* sp.

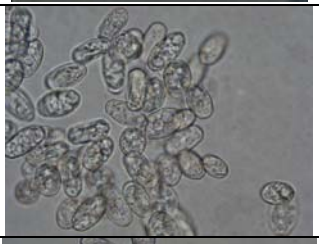
9. ราแป้งเงาะ เป็นเชื้อรา Genus Oidium conidia เป็นแบบ pseudoidium-type ผลิต conia 1 conidium ต่อวัน จำแนกได้เป็น *Oidium* subgen. *Pseudoidium* sp.เชื้อราแป้งของเงาะในเขตภาคตะวันออกจะแสดงอาการเฉพาะที่ผล ไม่ค่อยแสดงอาการที่ใบในขณะที่ทางภาคใต้จะพบอาการทั้งที่ผลและใบ
10. ราแป้งมะเขือ เป็นเชื้อรา Genus Oidium conidia เป็นแบบ chain-type ที่มี Fibrisin body ใน Conidia จำแนกเบื้องต้นได้เป็น *Oidium* subgenus *Fibroidium* sp.
11. ราแป้งของน้ำนมราชสีห์ เป็นเชื้อรา Genus Oidium conidia เป็นแบบ chain-type ที่มี Fibrisin body ใน Conidia จำแนกได้เป็น *Oidium* subgen. *Fibroidium* sp.
12. ราแป้งหญ้าละออง เป็นเชื้อรา Genus Oidium conidia เป็นแบบ chain-type ที่มี Fibrisin body ใน Conidia จากการศึกษาจำแนกได้เป็น *Oidium* subgen. *Fibroidium* sp.
13. ราแป้งแค เป็นเชื้อรา Genus Oidium conidia เป็นแบบ pseudoidium-type ผลิต conia 1 conidium ต่อวัน สามารถจำแนกได้เป็น *Oidium* subgen. *Pseudoidium* sp.
14. ราแป้งองุ่น เป็นเชื้อรา Genus Oidium conidia เป็นแบบ pseudoidium-type ผลิต conia 1 conidium ต่อวัน สามารถจำแนกได้เป็น *Oidium* subgen. *Pseudoidium* sp.

ในส่วนของพืชอื่นๆ นั้น บางชนิดตัวอย่างมีปริมาณเชื้อน้อย บางชนิดตัวอย่างูกสารเคมีป้องกันกำจัดโรค ที่เกษตรกรใช้ ทำให้ไม่สามารถจัดจำแนกได้

ภาพราแป้งพืชชนิดต่างๆ

พืช	ภาพอาการ	ภาพเชื้อ
สตรอเบอรี่		
ตำลึง		

พืช	ภาพอาการ	ภาพเชื้อ
พริก		
มะขาม		
มะม่วง		
กุหลาบ		
ทานตะวัน		
หม่อน		
เงาะ		

พืช	ภาพอาการ	ภาพเชื้อ
มะเขือ		
น้ำนมราชสีห์		
หญ้าละออง		
แค		
องุ่น		

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการเก็บตัวอย่างราแป้งของพืชชนิดต่างๆ จำนวน 51 ไอโซเลท สามารถจำแนกราแป้งได้ 14 ชนิด คือ ราแป้งสตรอเบอรี่ จำแนกได้เป็น *Oidium* subgen. *Fibroidium* sp. ราแป้งตำลึง จำแนกได้เป็น *Oidium* subgenus *reticuloidium* sp. ราแป้งพริก จำแนกได้เป็น *Oidiopsis taurica* ราแป้งมะขาม จำแนกได้เป็น *Oidium* subgen. *Pseudoidium* sp. ราแป้งมะม่วง จำแนกได้เป็น *Oidium* subgen *Pseudoidium mangiferae* ราแป้งกุหลาบ จำแนกได้เป็น *Oidium* subgen *Fibroidium pannosa* ราแป้งทานตะวัน จำแนกได้เป็น *Oidium* subgen.

Recticuloidium sp. ราแป้งหม่อนจำแนกได้เป็น *Ovulariopsis* sp. ราแป้งเงาะ จำแนกได้เป็น *Oidium* subgen. *Pseudoidium* sp. ราแป้งมะเขือ จำแนกได้เป็น *Oidium* subgenus *Fibroidium* sp. ราแป้งของน้ำนมราชสีห์ จำแนกได้เป็น *Oidium* subgen. *Fibroidium* sp. ราแป้งหญ้าละออง จำแนกได้เป็น *Oidium* subgen. *Fibroidium* sp. ราแป้งแค จำแนกได้เป็น *Oidium* subgen. *Pseudoidium* sp. ราแป้งองุ่น จำแนกได้เป็น *Oidium* subgen. *Pseudoidium* 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.*

นางสาวสุณีรัตน์ สีมะเดื่อ
นางสาวพรพิมล อธิปัญญาคม นายอภิรัชต์ สมฤทธิ์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการสำรวจ และเก็บตัวอย่างโรคพืช ในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2550 ถึง กันยายน 2553 จากแปลงปลูกพืช ในพื้นที่ 30 จังหวัด ได้แก่ จังหวัด เชียงราย เชียงใหม่ ลำปาง พะเยา ลำพูน แม่ฮ่องสอน ตาก พิจิตร อุตรดิตถ์ เพชรบูรณ์ อุบลราชธานี หนองคาย ขอนแก่น นครราชสีมา เลย ลพบุรี สระบุรี พระนครศรีอยุธยา สุพรรณบุรี กรุงเทพมหานคร นนทบุรี นครปฐม กาญจนบุรี ราชบุรี เพชรบุรี สมุทรสาคร จันทบุรี สงขลา พัทลุง และสตูล ได้ตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium* sp. ทั้งหมดจำนวน 61 ตัวอย่าง จากพืช 21 ชนิด ได้แก่ โรคโคนเน่าของพริก จำนวน 9 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าและผลเน่าของมะเขือเทศ จำนวน 5 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าของกระชายดำ จำนวน 2 ตัวอย่าง โรคลำต้นเน่าของถั่วเหลือง จำนวน 2 ตัวอย่าง โรคลำต้นเน่าของถั่วลิสง จำนวน 9 ตัวอย่าง โรคลำต้นเน่าของข้าวโพด จำนวน 1 ตัวอย่าง โรคเน่าแห้งของกล้วยไม้ Ascocenda จำนวน 2 ตัวอย่าง กล้วยไม้ Mokara จำนวน 6 ตัวอย่าง กล้วยไม้ช้าง จำนวน 2 ตัวอย่าง กล้วยไม้ Vanda จำนวน 5 ตัวอย่าง กล้วยไม้รองเท้านารี จำนวน 1 ตัวอย่าง และ กล้วยไม้เอื้องดินใบหมาก จำนวน 5 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าของเฟิร์นฮาวาย จำนวน 2 ตัวอย่าง โรคลำต้นเน่าของทานตะวัน จำนวน 1 ตัวอย่าง โรคลำต้นเน่าของกวนอีม จำนวน 1 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าของเศรษฐีเรือนนอก จำนวน 1 ตัวอย่าง และโรคโคนเน่าของพลับพลึง จำนวน 1 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าของแอสเตอร์ จำนวน 1 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าของแก้วหน้าม้า จำนวน 2 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าของบัวสวรรค์ จำนวน 2 ตัวอย่าง และพบเส้นใย และ sclerotia ของเชื้อราที่ใบแห้ง บริเวณโคนต้นพญาสัตบรรณ จำนวน 1 ตัวอย่าง จากการจำแนกชนิด พบว่าทุกตัวอย่าง เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* และเก็บเชื้อบริสุทธิ์ จำนวน 61 ไอโซเลท ไว้ในศูนย์รวบรวมเชื้อราสาเหตุโรคพืชของกลุ่มวิจัยโรคพืช จัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืช เก็บในพิพิธภัณฑ์โรคพืช จำนวน 61 ตัวอย่าง และทดสอบพืชอาศัย พบว่าเชื้อรา *S. rolfsii* ทำให้พืชทดสอบ จำนวน 30 ชนิด เป็นโรค

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) และเบญจมาศ (Chrysanthemum) เป็นต้น Aycock, (1966) รายงานถึงความเสียหายของผลผลิตถั่วลิสงที่ปลูกในพื้นที่ราบทางตอนใต้ของรัฐ North Carolina ประเทศสหรัฐอเมริกา ในปี ค.ศ. 1959 ว่ามีความเสียหาย 1-60 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นมูลค่า10-20 ล้าน ดอลลาร์

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* ยังมีไม่มากนัก และไม่มีการเก็บรักษาตัวอย่างแห้งเข้าสู่พิพิธภัณฑ์ รวมทั้งการเก็บข้อมูลตัวอย่างแห้งยังไม่เป็นระบบสากล ดังนั้นจึงควรที่จะศึกษาเพื่อให้ทราบชนิด (species) ของราสกุล *Sclerotium* สาเหตุโรคพืช พืชอาศัย และแหล่งแพร่ระบาด รวมทั้งจัดทำตัวอย่างแห้งโรคของพืชชนิดต่างๆที่เกิดจากราสกุล *Sclerotium* เพื่อเก็บรวบรวมในพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช ซึ่งข้อมูลจากการศึกษา สามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อการศึกษาด้านอารักขาพืช และเป็นประโยชน์สำหรับการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช และการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชในขบวนการนำเข้า ส่งออกพืชผลเกษตร

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างโรคพืชที่คาดว่าเกิดจากเชื้อรา *Sclerotium* sp.จากแหล่งปลูกพืชของประเทศไทย ระหว่างพฤศจิกายน 2550 ถึง กันยายน 2553

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 Shear's solution และ oil immersion

6. อาหารเลี้ยงเชื้อรา ได้แก่ Potato Dextrose Agar (PDA)

7. กล้องจุลทรรศน์ พร้อมกล้องถ่ายภาพ และฟิล์ม

8. เอกสารสำหรับใช้ในการจัดจำแนกชนิดเชื้อรา *Sclerotium* spp.

วิธีการ

1. สำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างโรคพืช

สำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างพืชที่แสดงอาการของโรคซึ่งคาดว่าเกิดจากเชื้อรา *Sclerotium* spp.จากแหล่งปลูกพืชในประเทศไทย ระหว่างพฤศจิกายน 2550 ถึง กันยายน 2553 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 27 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 ล้างในน้ำนึ่งฆ่า

เชื้อแล้ว 3 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อ แล้วนำไปวางบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ จากนั้นนำเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้เลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ศึกษาต่อไป

2.2 พิสูจน์โรคตามวิธีการ Koch's postulate

นำเชื้อรา *Sclerotium* spp.บริสุทธิ์ที่แยกได้ มาเลี้ยงบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 27 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 27 องศาเซลเซียส นาน 1 วัน ตรวจดูลักษณะโคโลนีของเชื้อ จากนั้นเขี่ยเส้นใย หรือโครงสร้างต่างๆ ลงบนแผ่นกระจกสไลด์ แล้วหยด Shear's solution 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

<u>จัดจำแนกชนิดเชื้อรา *Sclerotium* spp.สาเหตุโรคพืช</u>

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

3. เก็บรักษาสายพันธุ์เชื้อรา

เชื้อราที่แยกได้เก็บรักษาไว้ 3 วิธี คือเลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ใส่ในดินที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส และอีกส่วนหนึ่งเก็บเป็นตัวอย่างแห้งโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช

4. จัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืช

ตัวอย่างโรคพืชที่เก็บมาได้ ส่วนหนึ่งนำมาจัดทำตัวอย่างแห้ง โดยตัดส่วนของพืชบริเวณที่แสดงอาการโรค วางบนกระดาษฟางในกล่องพลาสติก พร้อมแนบกระดาษบันทึกข้อมูลพืช วางผึ่งลม

ไม่ให้ถูกแดด จนกระทั่งตัวอย่างพืชแห้ง จึงนำมาเก็บในถุงกระดาษสำหรับเก็บตัวอย่างแห้ง พร้อมลงรายละเอียดข้อมูลตัวอย่างตามระบบสากล (Anonymous, 2005) ได้แก่ ชื่อพืช ลักษณะอาการโรค สถานที่เก็บ ชนิดของราสาเหตุโรคพืช วันที่เก็บ ชื่อผู้เก็บ และชื่อผู้จัดจำแนกชนิดรา เป็นต้น แล้วส่งเก็บในพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

5. ศึกษาพืชอาศัยของรา *Sclerotium* spp.

5.1 เตรียมพืชทดสอบ

ปลูกพืชทดสอบชนิดต่างๆในกระถาง ในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง รดน้ำตามปกติ พืชที่ใช้ทดสอบ จำนวน 30 ชนิด ได้แก่ พืชผักและสมุนไพร 12 ชนิด คือ มะเขือเทศ พริก กระเจี๊ยบเขียว แมงลัก โหรพา คะน้า กวางตุ้ง ผักบุ้ง มะเขือยาว ผักชีไทย กระชายดำ และขิง ไม้ดอกและไม้ประดับ 12 ชนิด ได้แก่ กล้วยไม้แวนด้า กล้วยไม้แอสโคเซนด้า กล้วยไม้มอคคาร่า กล้วยไม้ช้าง กล้วยไม้รองเท้านารี กล้วยไม้ดิน บานชื่น ดาวเรือง แอสเตอร์ ทานตะวัน กวนอีม และเศรษฐีเรือนนอก และพืชไร่ 6 ชนิด ได้แก่ ถั่วแดง ถั่วเหลือง ถั่วดำ ถั่วเขียว ถั่วลิสง และข้าวโพด

5.2 เตรียมเชื้อรา *S. rolfsii*

นำเชื้อรา *S. rolfsii* มาเลี้ยงขยายบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

5.3 ทดสอบพืชอาศัย

ตัดอาหารวุ้นบริเวณส่วนปลายเส้นใยของเชื้อราที่ได้จากข้อ 5.2 ด้วย cork boror ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร นำไปปลูกเชื้อบนพืชทดสอบ โดยวางชิ้นอาหารวุ้นที่มีเส้นใยของเชื้อรา *S. rolfsii* จำนวน 2 ชิ้นบนดินบริเวณโคนต้นพืชทดสอบ สำหรับกรรมวิธีเปรียบเทียบใช้ชิ้นอาหารวุ้น PDA ที่ปราศจากเชื้อสาเหตุโรค และบันทึกผลการเกิดโรค

เวลาและสถานที่

เวลา **เริ่มต้น** ตุลาคม 2550 **สิ้นสุด** กันยายน 2553

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และแปลงปลูกพืชของเกษตรกร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างโรคพืช

จากการสำรวจ และเก็บตัวอย่างโรคพืช ในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2550 ถึง กันยายน 2553 จากแปลงปลูกพืช ในพื้นที่ 30 จังหวัด ได้แก่ จังหวัด เชียงราย เชียงใหม่ ลำปาง พะเยา ลำพูน แม่ฮ่องสอน ตาก พิจิตร อุตรดิตถ์ เพชรบูรณ์ อุบลราชธานี หนองคาย ขอนแก่น นครราชสีมา เลย ลพบุรี สระบุรี พระนครศรีอยุธยา สุพรรณบุรี กรุงเทพมหานคร นนทบุรี นครปฐม กาญจนบุรี ราชบุรี เพชรบุรี สมุทรสาคร จันทบุรี สงขลา พัทลุง และสตูล ได้ตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium* sp. ทั้งหมดจำนวน 61 ตัวอย่าง จากพืช 21 ชนิด ได้แก่ โรคโคนเน่าของพริก จำนวน 9 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าและผลเน่าของมะเขือเทศ จำนวน 5 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าของกระชายดำ จำนวน 2 ตัวอย่าง โรคลำต้นเน่าของถั่วเหลือง จำนวน 2 ตัวอย่าง โรคลำต้นเน่าของถั่วลิสง จำนวน 9 ตัวอย่าง โรคลำต้นเน่าของข้าวโพด จำนวน 1 ตัวอย่าง โรคเน่าแห้งของกล้วยไม้ Ascocenda จำนวน 2 ตัวอย่าง กล้วยไม้ Mokara จำนวน 6 ตัวอย่าง กล้วยไม้ช้าง จำนวน 2 ตัวอย่าง กล้วยไม้ Vanda จำนวน 5 ตัวอย่าง กล้วยไม้รองเท้านารี จำนวน 1 ตัวอย่าง และ กล้วยไม้เอื้องดินใบหมาก จำนวน 5 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าของเฟิร์นฮาวาย จำนวน 2 ตัวอย่าง โรคลำต้นเน่าของทานตะวัน จำนวน 1 ตัวอย่าง โรคลำต้นเน่าของกวนอีม จำนวน 1 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าของเศรษฐีเรือนนอก จำนวน 1 ตัวอย่าง และโรคโคนเน่าของพลับพลึง จำนวน 1 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าของแอสเตอร์ จำนวน 1 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าของแก้วหน้าม้า จำนวน 2 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าของบัวสวรรค์ จำนวน 2 ตัวอย่าง และพบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ขนาดเล็ก สีขาวถึงสีน้ำตาลเข้มของเชื้อราที่ใบแห้ง บริเวณโคนต้นพญาสัตบรรณ จำนวน 1 ตัวอย่าง (ตารางที่1)

2. ศึกษา และจำแนกชนิดของรา *Sclerotium* spp.

2.1 แยกเชื้อรา และเก็บเชื้อบริสุทธิ์

แยกเชื้อรา *Sclerotium* sp.บริสุทธิ์ ได้ทั้งหมด 61 ไอโซเลท จากนั้นนำเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้เลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษาต่อไป

2.2 พิสูจน์โรคตามวิธีการ Koch's postulate

นำเชื้อรา *Sclerotium* sp.บริสุทธิ์ที่แยกได้ มาเลี้ยงบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส นาน 2 วัน แล้วนำไปปลูกเชื้อบนพืชชนิดเดิม พบว่าพืชแสดงอาการโรค และเมื่อนำส่วนของพืชที่เป็นโรคมาแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อยืนยันเชื้อสาเหตุตามวิธีการ Koch's postulate พบว่าเชื้อรา *Sclerotium* sp ทั้ง 61 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 เมื่อเส้นใยเจริญเต็ม

ผิวหน้าอาหาร 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 61 ไอโซเลท เปรียบเทียบลักษณะของรา *Sclerotium* sp. ที่ศึกษากับคู่มือการจัดจำแนกรา *Sclerotium* spp. จำแนกชนิดได้เป็นเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* Sacc. (ตารางที่ 1)

3. เก็บรักษาสายพันธุ์เชื้อรา

เชื้อรา *S. rolfsii* ที่แยกได้ทั้ง 61 ไอโซเลท เก็บเข้าศูนย์รวบรวมเชื้อราสาเหตุโรคพืช ของกลุ่มวิจัยโรคพืช โดยเก็บไว้ 3 วิธี คือ เลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ใส่ในดินที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส และอีกส่วนหนึ่งเก็บเป็นตัวอย่างแห้งโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช

4. จัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืช

ได้จัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืชที่เกิดจากรา *S. rolfsii* ส่งเข้าพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช จำนวน 61 ตัวอย่าง

5. ศึกษาพืชอาศัยของรา *Sclerotium* spp.

จากการทดสอบพืชอาศัย จำนวน 30 ชนิด คือ พืชกลุ่มผักและสมุนไพร 12 ชนิด ได้แก่ มะเขือเทศ พริก กระเจี๊ยบเขียว แมงลัก โหรพา คะน้า กวางตุ้ง ผักบุ้ง มะเขือยาว ผักชีไทย กระชายดำ และขิง กลุ่มไม้ดอกและไม้ประดับ 12 ชนิด ได้แก่ กล้วยไม้แวนด้า กล้วยไม้แอสโคเซนด้า กล้วยไม้มอคคาร่า กล้วยไม้ช้าง กล้วยไม้รองเท้านารี กล้วยไม้ดิน บานชื่น ดาวเรือง แอสเตอร์ ทานตะวัน กวนอีม และเศรษฐีเรือนนอก และกลุ่มพืชไร่ 6 ชนิด ได้แก่ ถั่วแดง ถั่วเหลือง ถั่วดำ ถั่วเขียว ถั่วลิสง และข้าวโพด พบว่ารา *S. rolfsii* ทำให้พืชทดสอบทั้งหมดเป็นโรค

สรุปผลการทดลอง

จากการสำรวจ และเก็บตัวอย่างโรคพืช ในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2550 ถึง กันยายน 2553 จากแปลงปลูกของเกษตรกร ในพื้นที่ 30 จังหวัด ได้ตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium* sp. ทั้งหมด จำนวน 61 ตัวอย่าง จากพืช 21 ชนิด จำแนกชนิดโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานของเชื้อรา พบว่าทุกตัวอย่าง เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* และได้เก็บเชื้อบริสุทธิ์ จำนวน 61 ไอโซเลท ไว้ในศูนย์รวบรวมเชื้อราสาเหตุโรคพืชของกลุ่มวิจัยโรคพืช รวมทั้งจัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืชพร้อมลงรายละเอียดข้อมูลตัวอย่าง เก็บในพิพิธภัณฑ์โรคพืช จำนวน 61 ตัวอย่าง และจากการทดสอบพืชอาศัย พบว่าเชื้อรา *S. rolfsii* ทำให้พืชทดสอบ จำนวน 30 ชนิด เป็นโรค

เอกสารอ้างอิง

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

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

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

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

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

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 ชนิดพืช เชื้อสาเหตุ ลักษณะอาการ แหล่งที่พบ และจำนวนตัวอย่างโรคพืชที่ได้จากการสำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium* sp. ในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2550 ถึง กันยายน 2553

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

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ลำดับที่	พืช	เชื้อสาเหตุ	ลักษณะอาการ	แหล่งที่พบ	จำนวน
2	มะเขือเทศ	*S. rolfsii*	ต้นเหี่ยว ที่โคนต้นพบเส้นใยสีขาว และเม็ด sclerotia ของเชื้อรา	จ.พระนครศรีอยุธยา อ.แม่แจ่ม จ.เชียงใหม่ อ.ศรีเชียงใหม่ จ.หนองคาย อ.มวกเหล็ก จ.สระบุรี	1 1 2 1
3	กระชายดำ	*S. rolfsii*	โคนเน่า ที่โคนต้นพบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา	อ.มะนัง จ.สตูล	2
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 อ.เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์ อ.บางเลน จ.นครปฐม	2 2 2 3
6	ข้าวโพด	*S. rolfsii*	ต้นเหี่ยว โคนต้น และราก พบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา	อ. แม่สอด จ.ตาก	1
7	กล้วยไม้ Ascocenda	*S. rolfsii*	ใบเหลือง ร่วง โคนต้นเน่า และรากแห้ง พบเส้นใยหยาบสีขาว และ sclerotia ขนาดเล็ก สีขาว ถึงสีน้ำตาลเข้มของเชื้อราที่ใบลำต้นและราก	เขตบางแค กรุงเทพมหานคร	2

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ลำดับที่	พืช	เชื้อสาเหตุ	ลักษณะอาการ	แหล่งที่พบ	จำนวน
8	กล้วยไม้ Mokara	*S. rolfsii*	ใบ โคนต้น และรากแห้ง บริเวณโคนต้น โคนใบ และรากพบเส้นใยหยาบสีขาว และ sclerotia ขนาดเล็ก สีขาว ถึงสีน้ำตาลเข้ม	อ.กระทุ่มแบน จ.สมุทรสาคร อ. นครชัยศรี จ. นครปฐม	3 3
9	กล้วยไม้ช้าง	*S. rolfsii*	ใบเหลือง ร่วง โคนต้นเน่า และรากแห้ง พบเส้นใยหยาบสีขาว และ sclerotia ขนาดเล็ก สีขาว ถึงสีน้ำตาลเข้มของ เชื้อราที่ใบลำต้นและราก	อ.พุทธมลฑล จ.นครปฐม	2
10	กล้วยไม้ Vanda	*S. rolfsii*	ใบเหลือง ร่วง โคนต้นเน่า และรากแห้ง พบเส้นใยหยาบสีขาว และ sclerotia ขนาดเล็ก สีขาว ถึงสีน้ำตาลเข้มของเชื้อราที่ ใบ ลำต้น และราก	อ.บ้านโป่ง จ.ราชบุรี อ.สวนผึ้ง จ.ราชบุรี อ.ปากเกร็ด จ.นนทบุรี	1 2 2
11	กล้วยไม้รองเท้านารี		ใบเหลือง และโคนต้นเน่า พบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อราบนแผล	อ.แม่สอด จ.ตาก	1
12	กล้วยไม้ดิน	*S. rolfsii*	ใบ โคนต้น และรากแห้ง บริเวณโคนต้น โคนใบ และรากพบเส้นใยหยาบสีขาว และ sclerotia ขนาดเล็ก สีขาว ถึงสีน้ำตาลเข้มของเชื้อรา	อ. กระทุ่ม จ.สมุทรสาคร อ.ขลุง จ. จันทบุรี	3 2
13	เฟิร์นฮาวาย	*S. rolfsii*	เหี่ยว ต้นแห้ง ที่โคนต้น และรากพบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา	อ.เมือง จ.กาญจนบุรี	2

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ลำดับที่	พืช	เชื้อสาเหตุ	ลักษณะอาการ	แหล่งที่พบ	จำนวน
14	ทานตะวัน	*S. rolfsii*	ต้นเหี่ยว ที่โคนต้นพบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา	เทคโนโลยีราชมงคลจันทบุรี	1
15	กวนอีมเขียว	*S. rolfsii*	ใบและกาบใบแห้ง พบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา	ต.โป่งผา อ.แม่สาย จ.เชียงราย.	1
16	เศรษฐีเรือนนอก	*S. rolfsii*	โคนต้นเน่า ใบเหลือง แห้ง ที่โคนต้นพบเส้นใยสีขาวและsclerotia ของเชื้อรา	อ.เมือง จ.นนทบุรี	1
17	พลับพลึง	*S. rolfsii*	โคนต้นเน่า ใบเหลือง แห้ง ที่โคนต้นพบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา	จ.อุบลราชธานี	1
18	แอสเตอร์		ต้นเหี่ยว พบเส้นใยของเชื้อราสีขาวที่บริเวณรากและโคนต้น	อ.ฝาง จ.เชียงใหม่	1
19	แก้วหน้าม้า		ใบเหลือง ร่วง และโคนต้นเน่า ที่โคนต้นพบเส้นใยสีขาว และsclerotia ของเชื้อรา	เขตบึงกุ่ม กทม.	2
20	บัวสวรรค์		ใบเหลือง ร่วง และโคนต้นเน่า ที่โคนต้นพบเส้นใยสีขาว และsclerotia ของเชื้อรา	เขตบึงกุ่ม กทม.	2
21	พญาสัตบรรณ		พบเส้นใยของเชื้อราสีขาว และ sclerotia ขนาดเล็กสีขาว ถึงสีน้ำตาลเข้มของเชื้อราที่ใบแห้ง บริเวณโคน	เขตจตุจักร กทม.	1

สำรวจ รวบรวม และจำแนกราสกุล *Macrophomina* สาเหตุโรคพืชเศรษฐกิจ

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

พจนา ตระกูลสุขรัตน์[1/] เพลินพิศ สงสังข์[2/] อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์[1/]
และพรพิมล อธิปัญญาคม[1/]
[1/] กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/] กลุ่มวิชาการ สถาบันวิจัยพืชไร่

บทคัดย่อ

สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างพืชเป็นโรคที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Macrophomina* spp.ในแปลงปลูกพืชเศรษฐกิจในพื้นที่เขตจังหวัดภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน และภาคเหนือ ในระหว่างเดือนมกราคม 2551–สิงหาคม 2553 ได้ตัวอย่างพืชเป็นโรค 8 ชนิดจำนวน 25 ตัวอย่าง นำมาแยกเชื้อสาเหตุโรคด้วยวิธี Tissue transplanting technique และเลี้ยงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) เพื่อศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ผลการทดลองสามารถจำแนกเชื้อสาเหตุโรคได้เป็นเชื้อรา *Macrophomina phaseolina* จำนวน 25 ไอโซเลท โดยเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของ sclerotia และ pycnidia บนพืชมีขนาดใกล้เคียงกันคือ 111.13 (±30.71) และ 125.42 (±38.95) ไมครอนตามลำดับ เส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย sclerotia บนอาหารเลี้ยงเชื้อคือ 98.52 (±33.24) ไมครอน conidia มีขนาดเฉลี่ย 5.28 (±1.44) x 14.14 (±3.40) ไมครอน ถูกสร้างอยู่ใน pycnidia เท่านั้นไม่ถูกสร้างบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

รหัสการทดลอง 09 02 49 01 02 01 30 51

คำนำ

โรคลำต้นเน่าดำหรือ Charcoal rot หรือ Ashy stem rot เป็นสาเหตุโรคทางลำต้นที่สำคัญโรคหนึ่ง เชื้อราสาเหตุอยู่ในสกุล *Macrophomina* spp. คือ *Macrophomina phaseolina* (Dhingra and Sinclair, 1972) มีพืชอาศัยมากกว่า 500 ชนิด (Mehan and McDonald, 1997) ทั้งพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่ โดยเฉพาะอย่างยิ่งพืชในกลุ่มพืชไร่เศรษฐกิจ เช่น ข้าวฟ่าง (Frederiksen, 1986) ทานตะวัน (Suriachandrasel Van *et al*., 2005) ข้าวโพด (Short *et al.*, 1980) ถั่วเขียว งา (Farr *et al*., 1989) และเป็นสาเหตุสำคัญของโรคในถั่วเหลือง (Smith and Wyllie, 1999) นอกจากนี้ยังพบการระบาดในพืชชนิดอื่นๆ อีกหลายชนิด อาทิเช่น สตรอเบอร์รี่ (Mertely *et al*., 2005) มันฝรั่ง หอม และเบญจมาศ (Farr *et al*., 1989) เป็นต้น ในประเทศไทยมีรายงานการระบาดของโรคกับข้าวโพด ถั่วเหลือง และข้าวฟ่าง (พัฒนา และคณะ, 2542) การเกิดโรคของพืชที่มีรายงานไว้แต่เดิมอาจเกิดการเปลี่ยนแปลง เนื่องจากหลายสาเหตุอาทิเช่นสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม การปฏิบัติของเกษตรกร หรือจากความต้านทานของพืชเอง ความเสียหายของพืชที่เกิดจากการทำลายของเชื้อราชนิดนี้อยู่ที่ระบบท่อลำเลียงโดยเนื้อเยื่อในกลุ่มท่อน้ำท่ออาหารจะถูกทำลายและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลไหม้ถึงดำอยู่ภายในลำต้นพืช โรคจะระบาดมากขึ้นเมื่อมีการปลูกพืชชนิดเดิมซ้ำในพื้นที่ที่มีประวัติการระบาดของโรค เนื่องจาก *M. phaseolina* สามารถอยู่ข้างฤดูได้ในรูป sclerotia ในเศษซากพืชในดิน (Short *et al*., 1980) และลำต้นพืชจากปีที่ผ่านมา ทำให้ความรุนแรงของโรคเพิ่มมากขึ้น (Summer *et al*., 1995) ปัจจัยด้านสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเกิดโรคคือสภาพแวดล้อมที่ร้อนและแห้ง (Cook *et al*., 1973)

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจ รวบรวมพืชอาศัยที่เป็นพืชเศรษฐกิจของเชื้อราสาเหตุ *M. phaseolina* สาเหตุโรคลำต้นเน่าดำและพื้นที่ที่มีการแพร่ระบาดของโรคในประเทศไทยสำหรับเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาการป้องกันกำจัดโรคอย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

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 2553 บันทึกลักษณะอาการที่พบในแปลง และนำตัวอย่างมาแยกหาเชื้อราสาเหตุโรคโดยใช้วิธี Tissue transplanting technique โดยตัดลำต้นพืชและตัดเนื้อเยื่อท่อน้ำท่ออาหารบริเวณที่พบเม็ด sclerotia สีดำให้มีความยาวประมาณ 1.0 เซนติเมตร นำมาฆ่าเชื้อด้วยการแช่ในคลอร็อกซ์ (clorox) 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 3-5 นาทีและ ล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้งเพื่อล้างคลอร็อกซ์ที่ยังตกค้างอยู่ที่ผิวพืชออก แยกเม็ด sclerotia เดี่ยวเหล่านั้นวางบนอาหาร water agar (WA) บ่มเชื้อไว้ 3-4 วันที่อุณหภูมิห้อง ($25\pm2^{\circ}$C) จนเชื้อราสร้างเส้นใย ใช้เข็มเขี่ยปลาย

แหลมตัดชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยเชื้อราเจริญ 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 พบตัวอย่างพืชเป็นโรคลำต้นเน่าดำทั้งหมด 25 ตัวอย่างจากพืชอาศัย 8 ชนิด คือ กระเจี๊ยบแดง 1 ตัวอย่าง แกลดิโอลัส 1 ตัวอย่าง ข้าวฟ่างหวาน 3 ตัวอย่าง ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 1 ตัวอย่าง งา 2 ตัวอย่าง ถั่วเขียว 8 ตัวอย่าง ถั่วเหลือง 4 ตัวอย่าง ทานตะวัน 4 ตัวอย่าง และหมากเหลืองหรือหมากประดับ 1 ตัวอย่าง พบการระบาดของโรคในช่วงเดือนกรกฎาคม-กันยายนที่มีฝนทิ้งช่วง สภาพพื้นที่แปลงที่พบการระบาดเป็นแปลงที่ดินค่อนข้างแห้ง มีการให้น้ำพืชแต่ไม่เพียงพอหรือลดการให้น้ำก่อนการเก็บเกี่ยว อุณหภูมิค่อนข้างสูง มีการปลูกพืชซึ่งเป็นพืชอาศัยของเชื้อสาเหตุโรคก่อนหน้าหรือในบริเวณใกล้เคียงและเป็นแปลงที่มีรายงานว่าเคยมีการระบาดของโรคมาก่อน ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้พบโรคระบาดเนื่องจากเชื้อราชนิดนี้สามารถอยู่ข้ามฤดูในดินได้ในรูป sclerotia ในเศษซากพืชในดิน (Short *et al.*, 1980)

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 PDA และตรงกับงานวิจัยของ Ma *et al*. (2010) ที่ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ 7 ชนิดเลี้ยงเชื้อรา *M. phaseolina* ผลการทดลองไม่พบการสร้าง pycnidia และ conidia บนอาหาร PDA

2. ตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ

ผลการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *M. phaseolina* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าผงสีดำขนาดเล็กบนพืชคือ sclerotia และ pycnidia โดย sclerotia พบเป็นกลุ่มเส้นใยที่มาเกาะรวมตัวกันจนเห็นเป็นก้อน มีลักษณะค่อนข้างกลม ผนังหนา สีน้ำตาลเข้มถึงสีน้ำตาลดำ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของ sclerotia จากเชื้อรา *M. phaseolina* จำนวน 25 ไอโซเลท ที่เก็บรวบรวมได้คือ 111.13 (±30.71) ไมครอนเป็นขนาดที่ใกล้เคียงกับ Sutton (1980) รายงานไว้คือ 50-300 ไมครอน sclerotia

pycnidia มีสีน้ำตาลเข้มถึงสีน้ำตาลดำ และมีลักษณะค่อนข้างกลมคล้าย sclerotia ต่างกันตรงที่ pycnidia มีช่องเปิดเรียกว่า ostioles ปรากฏออกมาจากผิวเล็กน้อย และมีขนาดใหญ่กว่า sclerotia ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของ pycnidia จากเชื้อรา *M. phaseolina* 25 ไอโซเลทที่เก็บรวบรวมได้คือ 125.42 (± 38.95) ไมครอนมีขนาดเล็กกว่าขนาดที่ Watanabe (2002) รายงานไว้คือ 130-230 ไมครอน

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อมีสีดำ เส้นใยใสไม่มีสี มีผนังกั้น พบ sclerotia สีน้ำตาลดำจำนวนมากถูกสร้างอยู่ระหว่างเส้นใย ลักษณะค่อนข้างกลมถึงยาวรี (ellipsoid to oboviod) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของ sclerotia บนอาหารจากเชื้อรา *M. phaseolina* 25 ไอโซเลทที่เก็บรวบรวมได้คือ 98.52 (±33.24) ไมครอนมีขนาดใกล้เคียงกับ sclerotia ที่เชื้อราสร้างบนพืชและเป็นขนาดที่ตรงกับช่วงขนาดที่ Watanabe (2002) รายงานไว้คือ 60-120 ไมครอน

conidia เป็นเซลเดี่ยว (1–celled conidia) ใสไม่มีสี ถูกสร้างอยู่เฉพาะใน pycnidia ไม่สร้างบนอาหาร PDA ขนาดเฉลี่ยรวมของ conidia จากเชื้อรา *M. phaseolina* 25 ไอโซเลทที่เก็บรวบรวมได้คือ 5.28 (±1.44) x 14.14 (±3.40) ไมครอน เป็นขนาดที่ตรงกับช่วงขนาดที่ Watanabe (2002) รายงานไว้คือ 6-11.5 x 14-35 ไมครอน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลการสำรวจและรวมรวมตัวอย่างพืชเป็นโรคลำต้นเน่าดำหรือ Charcoal rot ที่มีเชื้อราในสกุล *Macrophomina* เป็นเชื้อสาเหตุ ในพื้นที่ปลูกพืชทั่วประเทศระหว่างเดือนเดือนมกราคม 2551 – สิงหาคม2553 ได้ตัวอย่างพืชเป็นโรคทั้งสิ้น 25 ตัวอย่าง จำแนกตามชนิดพืชอาศัยได้ 8 ชนิด คือ กระเจี๊ยบแดง 1 ตัวอย่าง แกลดิโอลัส 1 ตัวอย่าง ข้าวฟ่างหวาน 3 ตัวอย่าง ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 1 ตัวอย่าง งา 2 ตัวอย่าง ถั่วเขียว 8 ตัวอย่าง ถั่วเหลือง 4 ตัวอย่าง ทานตะวัน 4 ตัวอย่าง และหมากเหลืองหรือหมากประดับ 1 ตัวอย่าง และจำแนกราสาเหตุโรคได้เป็น *Macrophomina phaseolina* โคโลนีเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อมีสีเทาดำ เส้นใยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ใสไม่มีสี พบการสร้าง pycnidia และ sclerotia บนเนื้อเยื่อพืช และสร้าง conidia อยู่ภายใน pycnidia บนอาหาร PDA พบเฉพาะการสร้าง sclerotia ไม่พบการสร้าง conidia

เอกสารอ้างอิง

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

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

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

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

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

Ma, J., C.B. Hill and G.L. Hartman. 2010. Production of *Macrophomina phaseolina* conidia by multiple soybean isolates in culture. Plant Diseases 94:1088-1092.

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.

Smith, G.S. and T.D. Whyllie. 1999. Charcoal rot. Pages 29-31 *In* Compendium of Soybean Disease. 4th ed. G.L. Hartman, J.B. Sinclair and J.C. Rupe. (eds.) American Phytopathological Society. St. Paul, MN. USA. 128 p.

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 Species. 2nd ed. CRC Press. Boca Raton, Florida, USA. 486 pp.

สำรวจรวบรวม และจำแนกแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* สาเหตุโรคเน่าดำของพืชตระกูลกะหล่ำและผักกาด

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล
เพลินพิศ สงสังข์ วงศ์ บุญสืบสกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

สำรวจการเกิดโรคใบเน่าดำในพืชตระกูลกะหล่ำและผักกาด ระหว่างเดือนตุลาคม 2550 ถึงเดือนกันยายน 2553 พบการเกิดโรคจากเชื้อแบคทีเรีย 2 แบบ คือ อาการแผลไหม้รูปตัววีจากขอบใบและแผลไหม้เป็นสีน้ำตาลจากกลางใบลามมาที่ขอบใบเป็นอาการขอบโรคเน่าดำหรือขอบใบทอง และพบการเกิดโรคอาการใหม่คือแผลจุดดำขนาด 1-3 มิลลิเมตร สีน้ำตาลเข้มถึงดำ มีวงสีเหลืองล้อมรอบ แผลแห้งลุกลามติดกันพบลักษณะแผลจุดเป็นสะเก็ดนูนดำ ทั้งสองอาการพบระบาดและรุนแรงในช่วงฤดูฝน พืชอาศัยที่พบอาการโรคเน่าดำหรือขอบใบทอง ได้แก่ กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก บร็อคโคลี่ คะน้า และผักกาดขาว พืชอาศัยที่พบอาการใบจุด คือ คะน้า และกะหล่ำดอก จากการแยกเชื้อบนอาหารสังเคราะห์ ได้แบคทีเรียลักษณะโคโลนีสีเหลืองอ่อนถึงเหลืองเข้ม รูปร่างกลมนูนเยิ้ม ผิวมันขอบเรียบบนอาหาร NGA และ YDC ซึ่งเป็นลักษณะของแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* ทำให้เกิดปฏิกิริยาการตายเฉียบพลันบนใบยาสูบ เป็นแบคทีเรียแกรมลบ สร้างเมือกเยิ้ม ย่อยเจลาติน ย่อยแป้ง ไอโซเลท P233 (แผลไหม้)ให้ผลออกซิเดสลบ แคตตาเลสบวก (weak positive) และ P254 (แผลจุด) ออกซิเดสและแคตตาเลสบวก ทั้งสองไอโซเลทไม่สร้างกรดจากน้ำตาลกลูโคส ซูโครส และแลคโตส ไม่สร้างก๊าซไดไฮโดรเจนซัลไฟล์จากเฟอรัสซัลเฟต ผลทดสอบแหล่งคาร์บอน (Biolog test) จำแนกเชื้อได้เพียงระดับสปีชีส์ คือ *X. campestris* ทดสอบการเกิดโรคและประเมินความรุนแรงของแบคทีเรีย จำนวน 22 ไอโซเลท บนพืชอาศัย 5 ชนิด ได้แก่ คะน้า กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก บร็อคโคลี่ และ ผักกาดขาว พบการเกิดโรคอาการใบจุดและใบไหม้บนพืชอาศัย แสดงอาการและความรุนแรงแตกต่างกันไปแต่ละไอโซเลท ยกเว้นผักกาดขาวที่ไม่พบอาการใบจุด

วิเคราะห์ลำดับเบสบริเวณ 16s rDNA ของแบคทีเรียไอโซเลท 380 และ 381 ที่แยกจากอาการใบจุดและใบไหม้ ตามลำดับ เปรียบเทียบกับฐานข้อมูล GeneBank พบว่ามีความคล้ายกับแบคทีเรีย *X. campestris* pv. *campestris* 99 เปอร์เซ็นต์ ความผันแปรของลักษณะทางพันธุกรรมของแบคทีเรียด้วยไพรเมอร์ Box และ Eric พบว่ารูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอไม่มีความสัมพันธ์กับพืชอาศัย แหล่งปลูกพืช หรือลักษณะอาการ แบคทีเรียสาเหตุโรค *X. campestris* pv. *campestris* สามารถเข้าทำลายพืชทำให้เกิดอาการใบไหม้และใบจุด

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-31-51

คำนำ

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

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

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การสำรวจ รวมรวม จำแนกอาการโรคใบไหม้และใบจุด และการแยกเชื้อเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์

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

<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)

3. จำแนกเชื้อโดยคุณสมบัติการใช้คาร์บอนของแบคทีเรีย

<u>ทดสอบการใช้คาร์บอน</u> 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 หาความสัมพันธ์ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดด้วยวิธีทางสถิติแบบ Principal Component Analysis

4. พิสูจน์การก่อให้เกิดโรค และประเมินความรุนแรงของสายพันธุ์เชื้อ

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค บนอาหาร NGA บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 24 ชั่วโมง นำมาเตรียมเซลล์แขวนลอยเชื้อ ปรับให้มีความเข้มข้นเชื้อประมาณ 2 x 10^8 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร ปลูกเชื้อบนต้นผักคะน้า กะหล่ำปลี ผักกาดขาว บร็อคโคลี่ ที่เพาะและย้ายกล้าลงกระถาง มีใบประมาณ 3-4 ใบ ปลูกเชื้อด้วยการพ่นเซลล์แขวนลอยเชื้อผสมผงคาร์บอแรนดัม 5 กระถางต่อซ้ำ และใช้น้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อเป็นการทดลองควบคุม จากนั้นเก็บต้นพืชทดลองที่ปลูกเชื้อในถุงพลาสติกพ่นน้ำให้ความชื้น 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

5. จำแนกแบคทีเรียโดยการวิเคราะห์ลำดับเบสบริเวณ 16s rDNA

เลี้ยงแบคทีเรีย ไอโซเลท 380 และ 381 เป็นตัวแทนสาเหตุโรคที่แสดงอาการใบจุด และใบไหม้ คะน้า บนอาหาร NGA บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง เลือกโคโลนีเดี่ยว ปลูกเชื้อลงในอาหารเหลว NB บ่มเชื้อบนเครื่องเขย่า อุณหภูมิห้อง ความเร็วรอบ 100 rpm เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดูดแบคทีเรีย 2 มิลลิลิตร ปั่นตกตะกอนเก็บเซลล์แบคทีเรีย นำไปสกัดดีเอ็นเอด้วยชุดสกัด GeneAid DNA extraction ละลายตะกอนดีเอ็นเอ และเจือจาง 50 นาโนกรัม ใช้เป็นต้นแบบสังเคราะห์เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ 16 srDNA ด้วยไพรเมอร์ 27f และ 1488r จากนั้น purified PCR product ด้วย GeneJet™ PCR Purification Kit (Fermentus) และส่งวิเคราะห์ลำดับเบสเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลลำดับเบสใน GeneBank และจำแนกชนิดแบคทีเรีย

6. ศึกษาลักษณะความผันแปรทางพันธุกรรมด้วย Box และ Eric PCR

สกัดดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรียจำนวน 23 ไอโซเลท ทำการสังเคราะห์ไพรเมอร์ Box ที่ออกแบบจากส่วน interspersed repetitive Box sequence และไพรเมอร์ ERIC ที่ออกแบบจากส่วน enterobacteria repetitive intergenic consensus (Louws และคณะ, 1994) ซึ่งมีลำดับเบสดังนี้

BOX	(BOXA1R)	5’-CTACGGCAAGGCGACGCTGACG-3’
ERIC	(ERIC1R)	5’-ATGTAAGCTCCTGGGGATTCAC-3’
	(ERIC2)	5’-AAGTAAGTGACTGGGGTGAGCG-3’

ทำปฏิกิริยาพีซีอาร์เพิ่มปริมาณสายดีเอ็นเอโดยใช้ปริมาตรรวมของปฏิกิริยา 25 ไมโครลิตร สังเคราะห์แถบดีเอ็นเอด้วย เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม PE9700 ตรวจวิเคราะห์ขนาดของสายดีเอนเอที่เพิ่มปริมาณได้ โดยนำดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยาพีซีอาร์ 10 ไมโครลิตร แยกขนาดของแถบดีเอ็นเอ บนอะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟริซิส ใช้ 1.5% อะกาโรส ใน 1X TBE บัฟเฟอร์ ใช้กระแสไฟฟ้าที่ค่าความต่างศักดิ์ 70 โวลต์ นาน 4 ชั่วโมง ย้อมด้วยเอทธิเดียมโบรไมด์ 5 นาที ตรวจดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงยูวี และถ่ายภาพ ด้วย ultraviolet transiluminator

บันทึกข้อมูลโดย การตรวจสอบแถบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อแต่ละสายพันธุ์ ที่มีขนาดอยู่ให้คะแนนแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏ เป็น 1 และไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอ เป็น 0 นำผลมาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป Numerical Taxonomy and Multivariation Analysis System (NYSYS, version 2.01d) (Rohlf, 1994) วิเคราะห์ dendrogram จัดกลุ่มเชื้อ เปรียบเทียบความสัมพันธ์และความหลากหลายทางพันธุกรรม ระหว่างสายพันธุ์ และสปีชีส์ แหล่งที่มาของเชื้อ ความรุนแรงในการก่อให้เกิดโรค

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การสำรวจ รวมรวม และจำแนกอาการโรค

สำรวจการเกิดโรคในแปลงปลูกกะหล่ำปลี ผักกาดเขียวปลี บร็อคโคลี่ กะหล่ำดอก และกวางตุ้ง ในพื้นที่ จ. กาญจนบุรี จ. ราชบุรี จ. เพชรบุรี อ.เขาค้อ และอ.หล่มสัก จ.เพชรบูรณ์ จ. เพชรบูรณ์ และ จ.เชียงใหม่ แยกเก็บเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค รวม 47 ไอโซเลท (ตารางที่ 1) 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 กวางตุ้ง และกะหล่ำดอก ซึ่งจากการรายงานของ Zhao et al. (2000) พบว่าอาการโรคใบจุดแบคทีเรียเกิดมากในผักคะน้า ผักโขม มัสตาร์ด และเทอนิป ซึ่งมีอาการแผลจุดเหลี่ยม มีวงสีเหลืองล้อมรอบ ทั้งนี้มีรายงานการเกิดโรคบนพืชตระกูลกะหล่ำและผักกาดที่เกิด จากเชื้อสกุล *Xanthomonas campestris* pathovars ต่าง ๆ หลายชนิด ไม่เคยมีรายงานการเกิดโรคในประเทศไทย คือ *X. campestris* pv. *armoraciae*, *X.campestris* pv. *raphani*

2. ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการทดสอบคุณสมบัติชีวเคมีบางประการของแบคทีเรีย

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

ผลการทดสอบคุณสมบัติชีวเคมี เกิดปฏิกิริยาการตายเฉียบพลันบนใบยาสูบ จากการทดสอบคุณสมบัติชีวเคมี พบว่าแบคทีเรียสามารถสร้างเมือก ย่อยเจลาติน ย่อยแป้ง ไอโซเลท P233 (แผลไหม้)ให้ผลออกซิเดสลบ แคตตาเลสบวก (weak positive) และ P254 (แผลจุด)ออกซิเดสและแคตตาเลสบวก ทั้งสองไอโซเลทไม่สร้างกรดจากน้ำตาลกลูโคส ซูโครส และแลคโตส ไม่สร้างก๊าซไดไฮโดรเจนซัลไฟล์จากเฟอรัสซัลเฟต แบคทีเรียสามารถย่อยเจลาตินและย่อยแป้ง ไม่รีดิวซ์ไนเตรท สามารถสร้างกรดจากน้ำตาลอะราบิโนส กาแลคโตส ทรีฮาโลส ฟรุคโตส มอลโตส ไซโลส ไรโบส ราฟฟิโนส และแมนโนส โดยเชื้อทุกสายพันธุ์ไม่สร้างกรดจากน้ำตาลแมนนิทอล

(ตารางที่ 2) ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวตรงกับคุณลักษณะทางชีวเคมีของเชื้อ *X. campestris* (Krieg และ Holt, 1984) สำหรับคุณสมบัติการสร้างกรดจากน้ำตาลชนิดต่างๆ พบว่า 11-89 % ของเชื้อ *X. campestris* ให้ปฏิกิริยาเป็นบวก ความผันแปรดังกล่าวอาจเนื่องจากคุณสมบัติการเข้าทำลายพืชอาศัยที่ต่างกันซึ่งมีการจัดจำแนกเป็น parthovar ซึ่งมีมากกว่า 30 parthovars ทั่วโลก (Schaad และคณะ, 2001) โดยพบในประเทศไทยมากกว่า 10 parthovars (วิชัย, 2531) โดยคุณสมบัติทางชีวเคมีอย่างเดียวไม่สามารถจำแนกความแตกต่างระหว่าง parthovars ของเชื้อ *X. campestris* ได้

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

3. จำแนกเชื้อโดยคุณสมบัติการใช้คาร์บอนของแบคทีเรีย

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

แบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุด (อาการแผลจุด แผลสะเก็ดดำ) ไอโซเลท P254 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 และสำหรับแบคทีแและจากการจำแนกเชื้อเพิ่มเติมพบว่าแบคทีเรียไอโซเลท P029 สาเหตุโรคใบจุดคะน้า เป็น *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 ทั้งนี้ผลการจำแนกดังกล่าวจะต้องตรวจสอบด้วยการวิเคราะห์ลำดับเบส 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

5. จำแนกแบคทีเรียโดยการวิเคราะห์ลำดับเบสบริเวณ 16s rDNA

วิเคราะห์ลำดับเบสบริเวณ 16s rDNA ของแบคทีเรียไอโซเลท 380 และ 381 ที่แยกจากอาการใบจุดและใบไหม้ ตามลำดับ เปรียบเทียบกับฐานข้อมูล GeneBank พบว่าลำดับเบสของแบคทีเรียไอโซเลท 380 มีความคล้ายกับลำดับเบสของแบคทีเรีย *X. campestris* strain TA, partial sequence (accession no. EU814440.1) และ str. ATCC33913 (accession no. AE008922.1), complete genome 99 เปอร์เซ็นต์ ลำดับเบสแบคทีเรียไอโซเลท 381 มีความคล้ายกับลำดับเบสของแบคทีเรีย *X.* campestris pv. *campestris* str. ATCC33913 (accession no. AE008922.1), complete genome และ strain B100 (accession no. AM920689.1) โดยลำดับเบสบริเวณ 16s rDNA ของแบคทีเรียไอโซเลท 381 ซึ่งแยกจากตัวอย่างอาการใบไหม้ (typical symptom) สามารถจำแนกได้เป็น *X. campestris* pv. *campestris* ส่วนแบคทีเรียไอโซเลท 380 แยกจากอาการใบจุดจำแนกได้เป็น *X. campestris* pv. *campestris* เช่นกันโดยอาจมีความผันแปรของลำดับเบสส่วนที่ต่างกันบ้างเล็กน้อย ซึ่งสอดคล้องกับผลการปลูกเชื้อทดสอบบนพืชอาศัย แบคทีเรียไอโซเลทที่แยกได้จากอาการใบไหม้ สามารถก่อให้เกิดอาการใบจุดและใบไหม้เช่นเดียวกับไอโซเลทที่แยกจากใบจุด สามารถก่อให้เกิดอาการใบไหม้ได้ด้วย

6. ศึกษาลักษณะความผันแปรทางพันธุกรรมด้วย Box และ Eric PCR

รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ด้วยไพรเมอร์ Box และ Eric (ภาพที่ 3) ของแบคทีเรียสาเหตุโรคเน่าดำ แยกจากพืชอาศัยที่แสดงอาการขอบใบไหม้รูปตัววี และอาการใบจุด บางไอโซเลทมีรูปแบบลายพิมพ์เหมือนกัน แสดงให้เห็นว่าไอโซเลทที่แยกจากแผลจุดและแผลไหม้ไม่มีความแตกต่างกัน ทั้งนี้ยืนยันผลด้วยการปลูกเชื้อซึ่งพบว่าไอโซเลทที่แยกจากแผลขอบใบไหม้ สามารถทำให้พืชแสดงอาการใบจุด ในขณะเดียวกันไอโซเลทที่แยกจากแผลจุด เมื่อปลูกเชื้อบนพืชอาศัยสามารถก่อให้เกิดโรคอาการขอบใบไหม้ได้เช่นกัน จากรูปแบบ phylogenetic tree พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มเชื้อเป็น cluster และ group แต่การวิเคราะห์ความผันแปรของลักษณะทางพันธุกรรมของแบคทีเรียด้วยไพรเมอร์ Box และ Eric รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอไม่มีความสัมพันธ์กับพืชอาศัยแหล่งปลูกพืช หรือลักษณะอาการ (ขอบใบไหม้, V; ใบจุด, S) (ภาพที่ 4-5) แบคทีเรียสาเหตุโรค *X. campestris* สามารถเข้าทำลายพืชทำให้เกิดอาการใบไหม้และใบจุด

สรุปผลการทดลอง

1.โรคของพืชตระกูลกะหล่ำและผักกาดจากเชื้อ *Xanthomonas campestris* จำแนกตามลักษณะอาการได้ 2 รูปแบบ คือ อาการแผลไหม้ (รูปตัววี และแผลไหม้จากกลางใบ) ซึ่งเป็นอาการของโรคเน่าดำ หรือโรคขอบใบทอง พืชอาศัยที่พบการเกิดโรคขอบใบทอง ได้แก่ กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก บร็อคโคลี่ ผักกาดขาว และคะน้า และ อาการแผลจุด ลักษณะแผลจุดเล็กขนาด 1-3

มิลลิเมตร สีน้ำตาลเข้มถึงดำ มีวงสีเหลืองล้อมรอบ แผลแห้งลุกลามติดกันพบลักษณะแผลจุดเป็นสะเก็ดนูนดำ พืชอาศัยที่พบอาการแผลจุด คือ คะน้า และกะหล่ำดอก

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

3. การจำแนกชนิดแบคทีเรียสาเหตุโรค *X. campestris* ไอโซเลทตัวแทนเชื้อที่แยกจากใบจุด และใบไหม้ จัดเป็น non-enteric oxidase negative ผลทดสอบการใช้แหล่งคาร์บอน (Biolog test) จำแนกได้ระดับสปีชีส์ คือ *X. campestris* pv. *campestris*

4. แบคทีเรียสาเหตุโรคเน่าดำ ลักษณะอาการขอบใบไหม้รูปตัววี อาการแผลไหม้กลางใบและอาการแผลจุด เปรียบเทียบผลของชีวเคมีเชื้อ การเกิดโรค ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ และการวิเคราะห์ลำดับเบส ไม่มีความแตกต่างกัน

เอกสารอ้างอิง

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

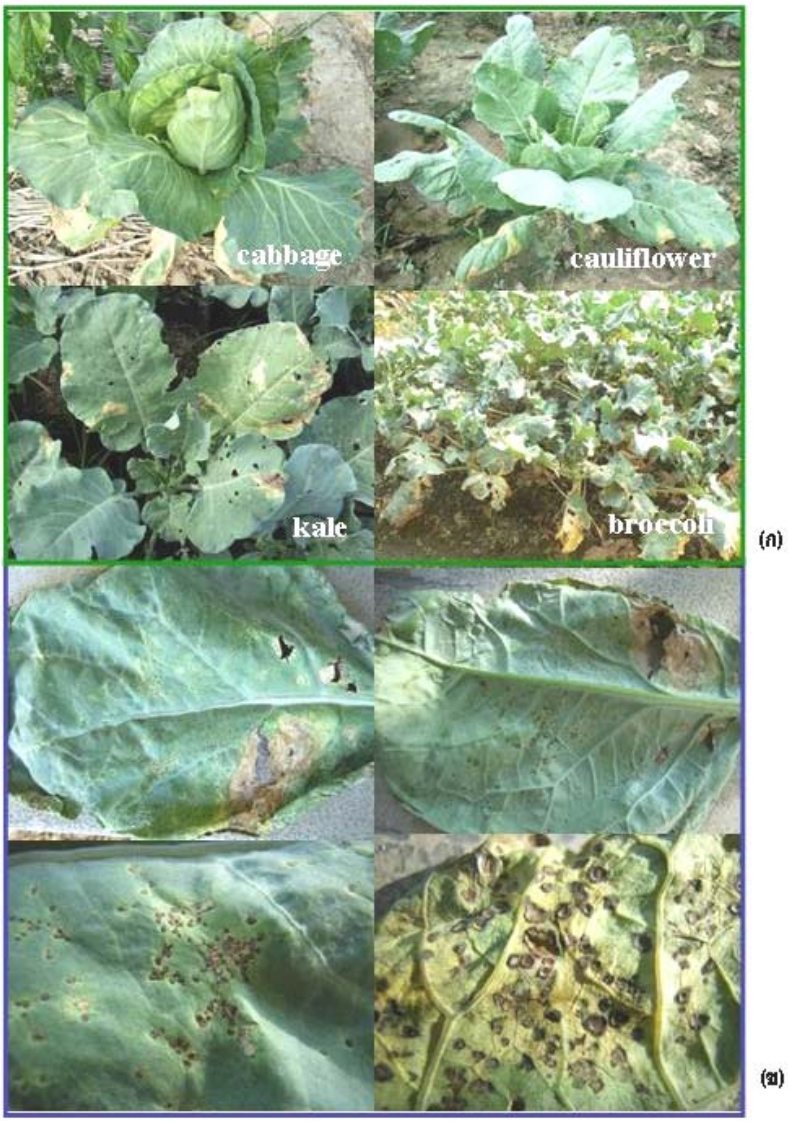
ศศิธร วุฒิวณิชย์. 2545. โรคของผักและการควบคุมโรค. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. จตุจักรกรุงเทพฯ.173 น.

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.

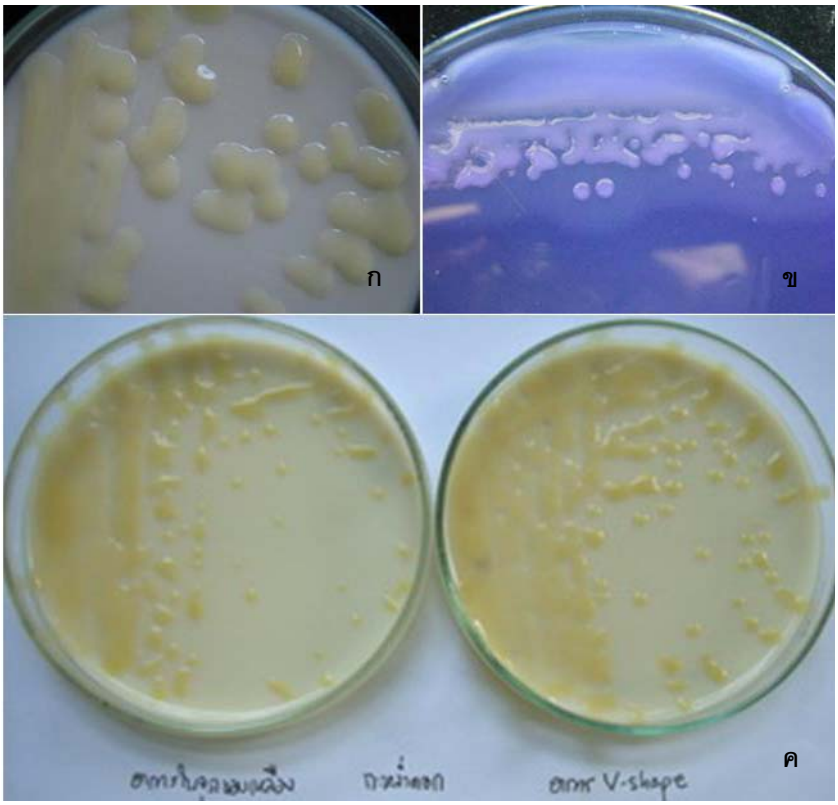
Tamura, K., Takikawa, Y., Tsuyumu, S., and Goto, M. 1994. Bacterial spot of crucifers caused by *Xanthomonas campestris* pv.*raphani*. Ann. Phytopath. Soc. Japan 60:281-287.

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 เกิดบริเวณใสรอบโคโลนี

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
PA 371	คะน้า	ใบจุดขอบเหลือง	อ.หนองเสือ จ.ปทุมธานี
PA 372	คะน้า	ใบจุดช้ำ	อ.หนองเสือ จ.ปทุมธานี
PA 379	กวางตุ้ง	ใบไหม้ v-shape	อ.หนองเสือ จ.ปทุมธานี
PA 380	คะน้า	ใบจุด	อ.หนองเสือ จ.ปทุมธานี
PA 381	คะน้า	ใบไหม้ v-shape	อ.หนองเสือ จ.ปทุมธานี

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบคุณสมบัติชีวเคมีของแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris*

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 ไอโซเลทจากคะน้าอาการเน่าดำขอบใบไหม้รูปตัววี 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	-	+	-	-
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	+	+	+	+
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	-	-	-	-
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 2.4

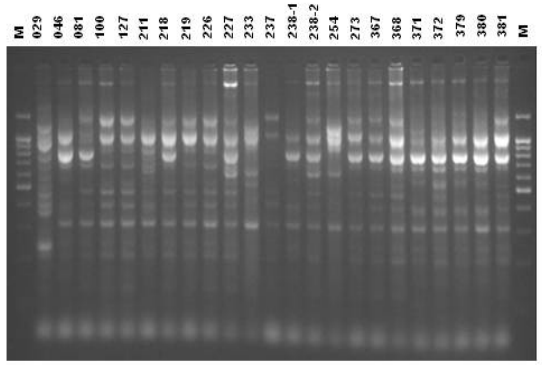
ตารางที่ 4 การประเมินการเกิดโรคของเชื้อ *Xanthomonas* sp. บนต้นคะน้า (ปี 2551)

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

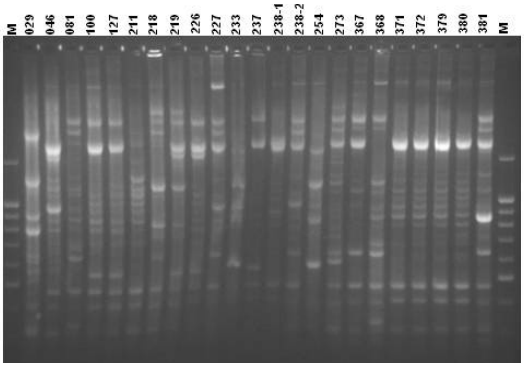
ตารางที่ 5 ผลการประเมินความรุนแรงการเกิดโรคจากแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* บนพืชคะน้า กะหล่ำปลี ผักกาดขาว บร็อคโคลี่ และกะหล่ำดอก (ปี 2552)

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
PA233	0.9	0.7	ND	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PA23	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

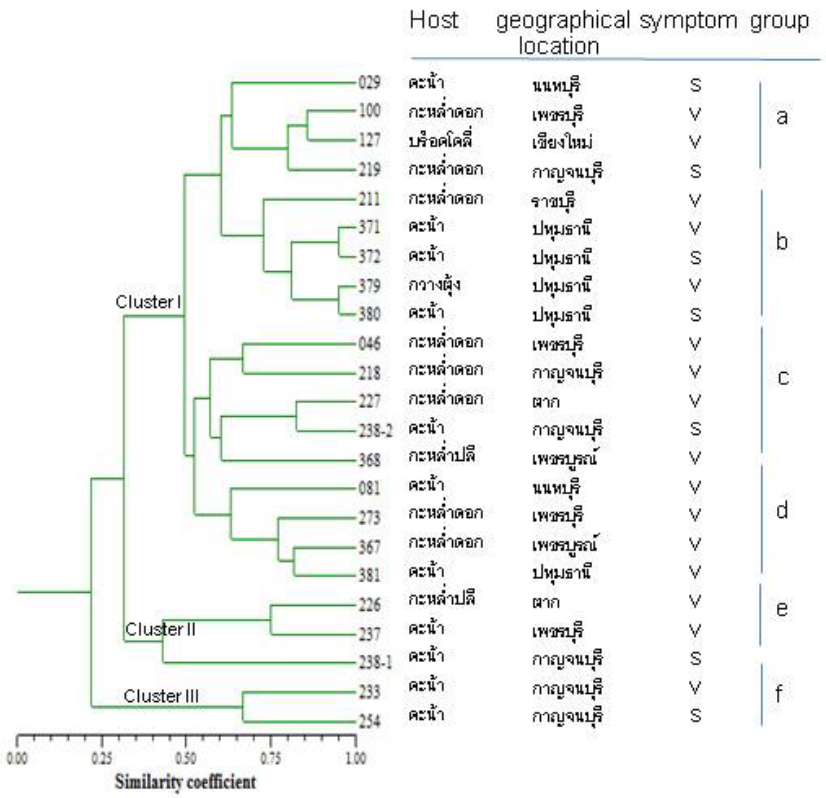


(A)

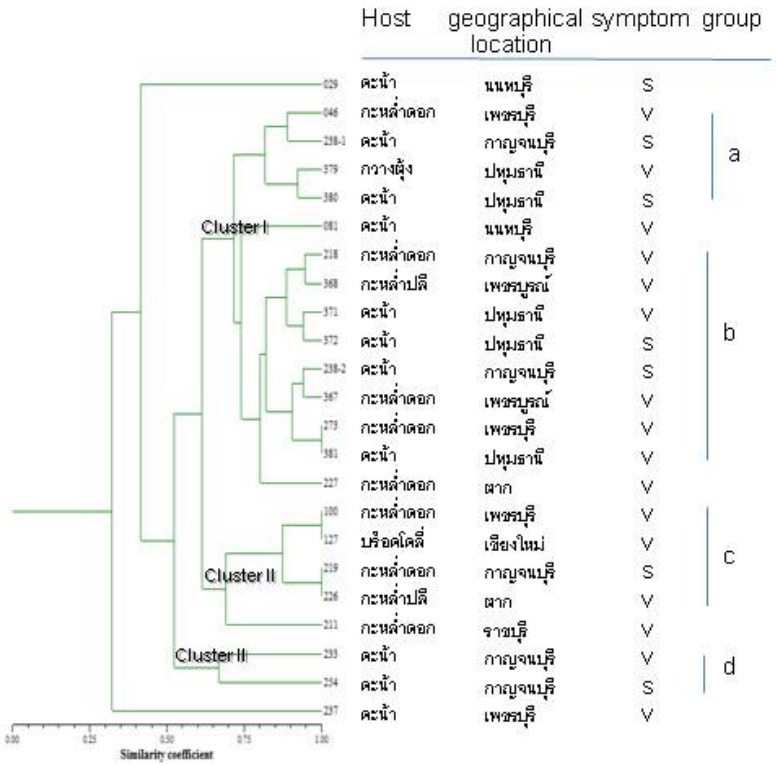


(B)

ภาพที่ 3 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* จำนวน 23 ไอโซเลท ด้วยไพรเมอร์ Box (A) และไพรเมอร์ Eric (B) เลนแรกและสุดท้ายเป็นดีเอ็นเอ 100 bp ladder



ภาพที่ 4 แสดง Phylogenetic tree ด้วย Box-PCR แบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* จำนวน 23 ไอโซเลท จากพืชอาศัย คะน้า กะหล่ำดอก บร็อคโคลี่ กวางตุ้ง กะหล่ำปลี อาการขอบใบไหม้รูปตัววี (V) และอาการใบจุด (S) วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NTsys (2.01)



ภาพที่ 5 แสดง Phylogenetic tree ด้วย Eric-PCR แบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* จำนวน 23 ไอโซเลท จากพืชอาศัย คะน้า กะหล่ำดอก บร็อคโคลี่ กวางตุ้ง กะหล่ำปลี อาการขอบใบไหม้รูปตัววี (V) และอาการใบจุด (S) วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NTsys (2.01)

การสำรวจ และรวบรวมเชื้อไวรอยด์ของพืชตระกูลส้ม

Surveying and identification of Viroid in Citrus group

นางสาวดารุณี ปุญญพิทักษ์ นางสาวเยาวภา ตันติวานิช นางสาวบูรณี 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 จากนั้นคัดเลือกตัวอย่างพืชตระกูลส้ม จำนวน 3 ตัวอย่าง ที่ตรวจพบเชื้อไวรอยด์มาโคลนนิ่งเพื่อนำไปวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ และหาความสัมพันธ์ของเชื้อไวรอยด์ของพืชตระกูลส้มด้วยโปรแกรม Clustalw ผลปรากฏว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ไม่มีความสัมพันธ์กับเชื้อไวรอยด์ของส้มที่มีอยู่ใน Genbank ซึ่งแสดงว่าไม่พบเชื้อไวรอยด์ในพืชตระกูลส้มในประเทศไทย

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 แมลงที่สำคัญ ได้แก่ 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 ต้นตอมีอาการเปลือกแตก รอยต่อระหว่างยอดพันธุ์กับต้นตอไม่สามารถเชื่อมต่อกันได้ (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 เข้าทำลายและทำการออกแบบไพร์เที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อเชื้อไวรอยด์ที่เข้าทำลายพืชตระกูลส้ม

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 โวลล์ นาน 30 นาที นำมาย้อมด้วย 0.1% ethidium bromide 5 นาที แล้วตรวจดูแถบดีเอ็นเอด้วยเครื่อง Gel Documentation UV-transilluminator

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

7. วิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ และ หาความสัมพันธ์ของเชื้อโรคกรีนิ่งในพืชตระกูลส้ม

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 จำนวนตัวอย่าง 8 คู่ ผลปรากฏว่าตรวจพบเชื้อไวรอยด์ จำนวน 20 ตัวอย่าง จากนั้นคัดเลือกตัวอย่างพืชตระกูลส้มที่ตรวจพบเชื้อไวรอยด์ มาโคลนนิ่งด้วย pGEM-T easy vector จำนวน 3 ตัวอย่าง เพื่อนำไปวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ และหาความสัมพันธ์ของเชื้อไวรอยด์ของพืชตระกูลส้มด้วยโปรแกรม Clustalw

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจ และรวบรวมเชื้อไวรอยด์ของพืชตระกูลส้ม โดยการสำรวจและเก็บตัวอย่างพืชตระกูลส้มที่แสดงอาการคล้ายโรคที่เกิดจากเชื้อไวรอยด์ จากจังหวัดต่างๆ ในภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันตก และ ภาคใต้ สามารถเก็บตัวอย่างได้ จำนวน 93 ตัวอย่าง และเมื่อนำมาตรวจสอบหาเชื้อไวรอยด์ด้วยไพร์เมอร์จำนวน 8 คู่ ผลปรากฏว่ายังตรวจพบเชื้อไวรอยด์จำนวน 20 ตัวอย่าง จากนั้นคัดเลือกตัวอย่างพืชตระกูลส้ม จำนวน 3 ตัวอย่าง ที่ตรวจพบเชื้อไวรอยด์มาโคลนนิ่งด้วย pGEM-T easy vector เพื่อนำไปวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์และหาความสัมพันธ์ของเชื้อไวรอยด์ของพืชตระกูลส้มด้วยโปรแกรม Clustalw ผลปรากฏว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ไม่มีความสัมพันธ์กับเชื้อไวรอยด์ของส้มที่มีอยู่ใน Genbank ซึ่งแสดงว่าไม่พบเชื้อไวรอยด์ในพืชตระกูลส้มในประเทศไทย

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

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

นางสาวดารุณี ปุญญพิทักษ์ นางสาวเยาวภา ตันติวานิช
นางสาวบูรณี พั่ววงษ์แพทย์ นางณัฏฐิมา 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 จำนวน 12 ตัวอย่าง เพื่อเป็นตัวแทนของพืชตระกูลส้มมาทำการโคลนนิ่ง และวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และหาความสัมพันธ์ของเชื้อโรคกรีนนิ่งของพืชตระกูลส้มด้วยโปรแกรม Clustalw ตัวอย่างส้มเขียวหวาน ส้มโชกุน ส้มโอ และตระกูลมะนาวทั้งหมดอยู่ในกลุ่ม *Candidatus* Liberibacter asiaticus

---

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) เชื้อสาเหตุของโรเกิดจากเชื้อแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในท่ออาหาร ซึ่งมีแมลงเพลี้ยไก่แจ้ส้มเป็นพาหะนำโรค เป็นโรคที่มีความสำคัญของพืชตระกูลส้ม เช่น ส้มเขียวหวาน ส้มสายน้ำผึ้ง ส้มโอ ส้มเช้ง ส้มตรา มะนาว และ มะกรูด ต้นส้มที่ได้รับเชื้อแสดงอาการใบเล็กเหลือง ชี้ตั้ง คล้ายกับอาการขาดธาตุอาหาร ผลผลิตลดลงไม่มีคุณภาพ และมักจะร่วงก่อนอายุการ เก็บเกี่ยว ต้นส้มจะแสดงอาการทรงกับทรุดอยู่ หลายปีสุดท้ายก็จะตายไปในที่สุด (ไมตรี 2534, 2544) เนื่องจากอาการของโรคคล้ายอาการ ขาดธาตุอาหารทำให้การวินิจฉัยโรคด้วยสายตาไม่สามารถยืนยันการเป็นโรคได้ ดังนั้นการนำเทคนิคทางด้านอนูชีววิทยาโดยเฉพาะ PCR นอกจากจะใช้ในการตรวจสอบโรคแล้วยังสามารถใช้ในการจำแนกชนิดของเชื้อโรคกรีนนิ่งโดยเฉพาะ primer ส่วน 16S rDNA และ 16S/23S intergenic region (Jagoueix *et al*,1994) ปัจจุบันพบว่า 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. สำรวจและเก็บตัวอย่างพืชตระกูลส้มชนิดต่าง เช่น ส้มเขียวหวาน ส้มโชกุน ส้มโอ ส้มเช้ง ส้มจุก ส้มมือ มะนาว มะนาวสี มะนาวตาฮิติ และมะกรูด ที่แสดงอาการโรคกรีนนิ่งจากจังหวัดเชียงราย 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 $^{\circ}$C นาน 15-30 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ที่อุณหภูมิ 4 $^{\circ}$C เก็บตะกอนที่ได้ คือ ตะกอนดีเอ็นเอ ทำการล้างตะกอน ดีเอ็นเอด้วยแอลกอฮอล์ 70 % นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที นาน 3 นาที เทสารละลายแอลกอฮอล์ทิ้งนำไป ทำให้แห้งและละลายตะกอนดีเอ็นเอ ด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อจำนวน 30 ไมโครลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 $^{\circ}$C

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

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

6. วิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ และหาความสัมพันธ์ของเชื้อโรคกรีนนิ่งในพืชตระกูลส้ม

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา ตุลาคม 2550 – กันยายน 2553

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

สวนส้มของเกษตรกร จากจังหวัดต่างๆใน ภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉลียงเหนือ ภาคตะวันตก และภาคใต้

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

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 และหาความสัมพันธ์ของเชื้อโรคกรีนนิ่งของพืชตระกูลส้มด้วยโปรแกรม Clustalw

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจและจำแนกเชื้อโรคกรีนนิ่งของพืชตระกูลส้ม โดยการสำรวจและเก็บตัวอย่างพืชตระกูลส้มที่แสดงอาการโรคกรีนนิ่ง จากจังหวัดต่างๆ ในภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันตก และภาคใต้ จำนวน 98 ตัวอย่าง ตรวจพบเชื้อโรคกรีนนิ่ง จำนวน 62 ตัวอย่าง จากนั้นคัดเลือกตัวอย่างส้มเขียวหวาน ส้มโชกุน ส้มโอ และตระกูลมะนาว ที่ตรวจพบเชื้อโรคกรีนนิ่ง จำนวน 12 ตัวอย่าง เพื่อเป็นตัวแทนของพืชตระกูลส้มมาทำการโคลนนิ่ง และวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และหาความสัมพันธ์ของเชื้อโรคกรีนนิ่งของพืชตระกูลส้มด้วยโปรแกรม Clustalw ตัวอย่างส้มเขียวหวาน ส้มโชกุน ส้มโอ และตระกูลมะนาว ทั้งหมดอยู่ในกลุ่ม *Candidatus* Liberibacter asiaticus

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 ระหว่างตุลาคม 2552-กันยายน 2553 ทำการปรับปรุงแก้ไขการเชื่อมโยงระหว่างตาราง การเพิ่มลดข้อมูล แก้ไขข้อมูล การแสดงผล จนสามารถใช้งานได้สมบูรณ์ และทำการป้อนข้อมูลเพิ่มขึ้น รวมข้อมูลที่มีอยู่ในปัจจุบันกว่า 600 ไอโซเลท

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-34-51

คำนำ

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

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

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

http://www.nstda.or.th/grants/ (2547) รัฐบาลเห็นว่าประเทศไทยสมควรมีแหล่งข้อมูลที่รวบรวมผลงานวิจัยของประเทศ เพื่อเผยแพร่แก่ประชาชนรวมทั้งให้บริการสืบค้นทางอินเทอร์เน็ต สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ ร่วมกับ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย สถาบันวิจัยระบบสาธารณสุข และสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ จึงจัดทำโครงการนำร่อง ระบบฐานข้อมูลงานวิจัยของแต่ละสถาบัน ซึ่งเผยแพร่แล้วทางอินเทอร์เน็ต ให้สามารถบริการสืบค้นฐานข้อมูลต่างระบบได้จากจุดเดียว โดยเริ่มบริการโครงการนำร่องสำหรับการสืบค้นฐานข้อมูลงานวิจัยของประเทศไทยทางอินเทอร์เน็ต ตั้งแต่ กันยายน 2544

ดังนั้นจึงควรที่จะได้มีการจัดทำฐานข้อมูลเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช และฐานข้อมูลตัวอย่างแห้งโรคพืช เพื่อจัดเก็บข้อมูลเป็นระบบ สะดวกในการสืบค้น การใช้งานที่ง่ายและประหยัดเวลา และง่ายต่อการปรับปรุงข้อมูล อันจะเป็นประโยชน์ต่อผู้ใช้งาน เช่น นักวิชาการ นิสิต นักศึกษา เกษตรกร และผู้สนใจทั่วไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

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

วิธีการ

วิธีการดำเนินการวิจัย

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

การเก็บข้อมูล

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

1. Table เชื้อรา
   เป็นส่วนที่จัดเก็บชื่อเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่เก็บใน CultureCollection
2. Table พืช
   จัดเก็บข้อมูลชื่อพืชที่เก็บตัวอย่างมาแล้วสามารถจำแนกเชื้อราสาเหตุนั้นๆ
3. Table สถานที่เก็บเชื้อ
   เก็บข้อมูลสถานที่เก็บตัวอย่างพืชที่แสดงอาการของโรคและจำแนกชนิดเชื้อราสาเหตุชนิดนั้นๆ
4. Table วิธีการเก็บเชื้อ
   เก็บข้อมูลวิธีการเก็บเชื้อราสาเหตุชนิดนั้นๆ ในแต่ละวิธี

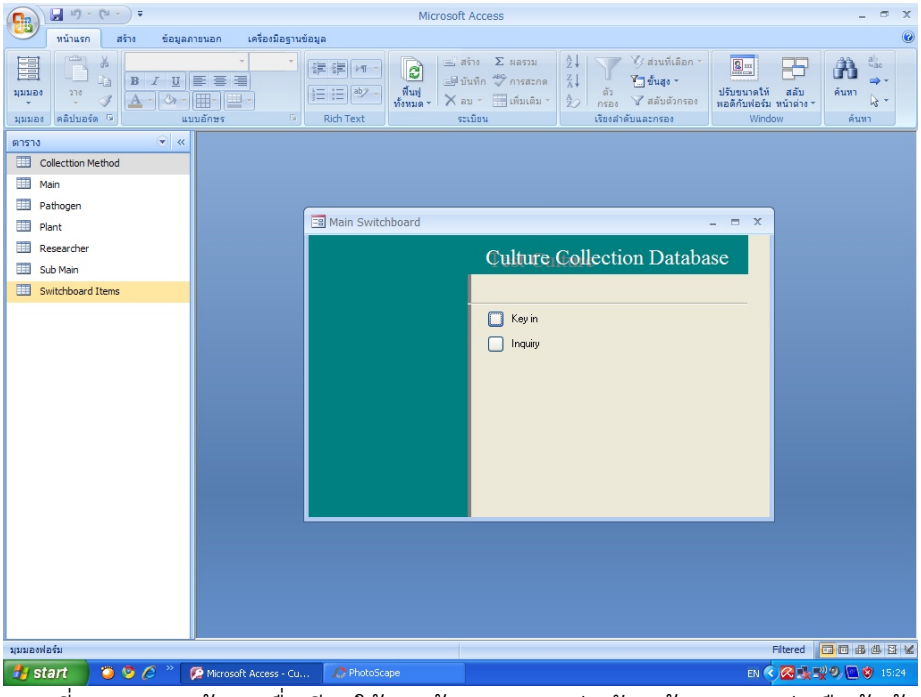
การออกแบบ Table ที่จะเก็บข้อมูลต่างๆ ต้องคำนึงถึงว่าแต่ละ Table ควรมี Field ใดบ้าง เช่น Table พืช มีชื่อพืชภาษาไทย อังกฤษ Table เชื้อรา มีชื่อ Genus Species ชื่อโรค รหัสเชื้อ Table วิธีการเก็บเชื้อ มีชื่อวิธีการต่างๆ รหัสวิธีการ เป็นต้น

จากนั้นทำการสร้างแบบฟอร์มป้อนข้อมูลในตารางต่างๆ แล้วสร้างการเชื่อมโยงความสัมพันธ์ระหว่าง Table ต่างๆ ที่ได้ออกแบบเบื้องต้นไว้ เมื่อเสร็จสิ้นการออกแบบการสร้าง ทำการทดสอบการแสดงผลของข้อมูลแต่ละ Table ทดสอบการเชื่อมโยงความสัมพันธ์ ในช่วงแรกจากการทดสอบการเชื่อมโยงความสัมพันธ์ระหว่าง Table ต่างๆ ที่ได้ออกแบบเบื้องต้นไว้ พบว่าสามารถทำงานได้ในระดับหนึ่ง และทดสอบการแสดงผลของข้อมูลแต่ละ Table พบว่ายังมีปัญหาในการแสดงผลให้เข้าใจได้ง่าย ซึ่งได้ทำการปรับปรุง โดยปรับปรุงในส่วน table ของการป้อนข้อมูล เพื่อให้สามารถป้อนข้อมูลได้ง่าย และไม่สับสนในการเพิ่มเติมข้อมูล และการแก้ไขข้อมูลให้เป็นปัจจุบัน ปรับปรุงในส่วนของการ sort ข้อมูล โดยไม่ต้องคำนึงถึงลำดับ แต่เมื่อรายงานผลการคัดเลือกข้อมูลเวลาสืบค้นจะทำการเรียงลำดับให้ ทำการป้อนข้อมูลในตารางชื่อพืช ส่วนของชื่อพืชอาศัยของเชื้อราที่เก็บรักษา พบว่ามีปัญหาในส่วนของชื่อที่อาจซ้ำกัน ซึ่งได้ทำการแก้ไขการออกแบบให้สามารถซ้ำกันได้ในชื่อสามัญภาษาอังกฤษ แต่ภาษาไทยไม่ให้ซ้ำกัน เพื่อสะดวกต่อการป้อนข้อมูล การสืบค้นข้อมูล จากนั้นได้ทดลองป้อนข้อมูลในส่วนของเชื้อราที่เก็บรักษาใน Culture Collection ทำการปรับปรุงแก้ไขในส่วนของตารางเก็บข้อมูลพืชอาศัย ปรับปรุงแก้ไขตารางการเก็บรักษาเชื้อรา ให้สามารถเข้าใจได้ง่ายขึ้นในส่วนของตัวย่อวิธีการเก็บรักษา และปรับปรุงฟอร์มการสืบค้นข้อมูลเพิ่มเติมส่วนสืบค้นเชื้อรา ได้ทดลองป้อนข้อมูลในส่วนต่างๆที่แก้ไข แล้วทำการทดสอบการสืบค้นข้อมูล จนได้ผลดี จึงได้ทำการป้อนข้อมูลเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่เก็บอยู่ใน Culture Collection จนถึงปัจจุบันมีข้อมูลเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่เก็บอยู่ใน Culture

Collection มากกว่า 600 ไอโซเลท และสามารถทำการปรับปรุงเพิ่มเติมข้อมูล แก้ไขข้อมูล ตลอดจนทำการสืบค้นข้อมูลได้สะดวก

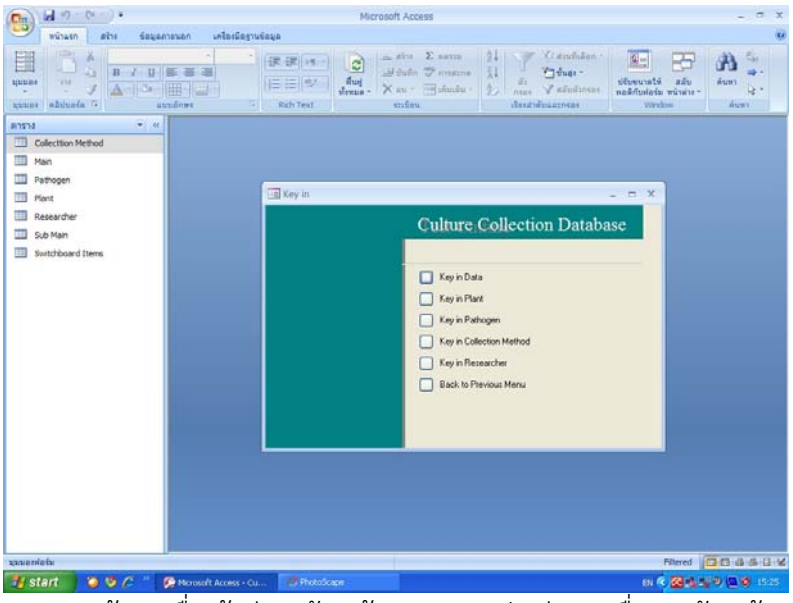
ขั้นตอนการเรียกใช้งานฐานข้อมูล

1. เมื่อเรียกใช้งานฐานข้อมูล Culture Collection หน้าจอเมื่อเข้าสู่ฐานข้อมูลจะพบปุ่มป้อนข้อมูล และปุ่มสืบค้นข้อมูล



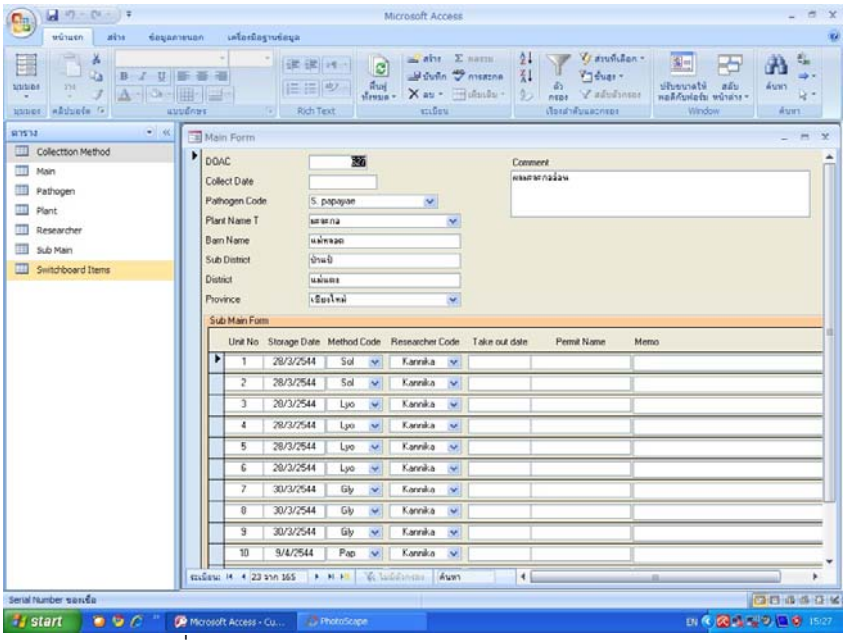
ภาพที่ 1 แสดงหน้าจอเมื่อเรียกใช้ฐานข้อมูล จะพบปุ่มป้อนข้อมูล และปุ่มสืบค้นข้อมูล

2. เมื่อเลือกการป้อนข้อมูล จะเข้าสู่หน้าจอให้เลือกที่จะป้อนข้อมูลในส่วนต่างๆ เช่น ข้อมูลพืช ข้อมูลเชื้อ ข้อมูลวิธีการเก็บรักษาเชื้อ ฯ



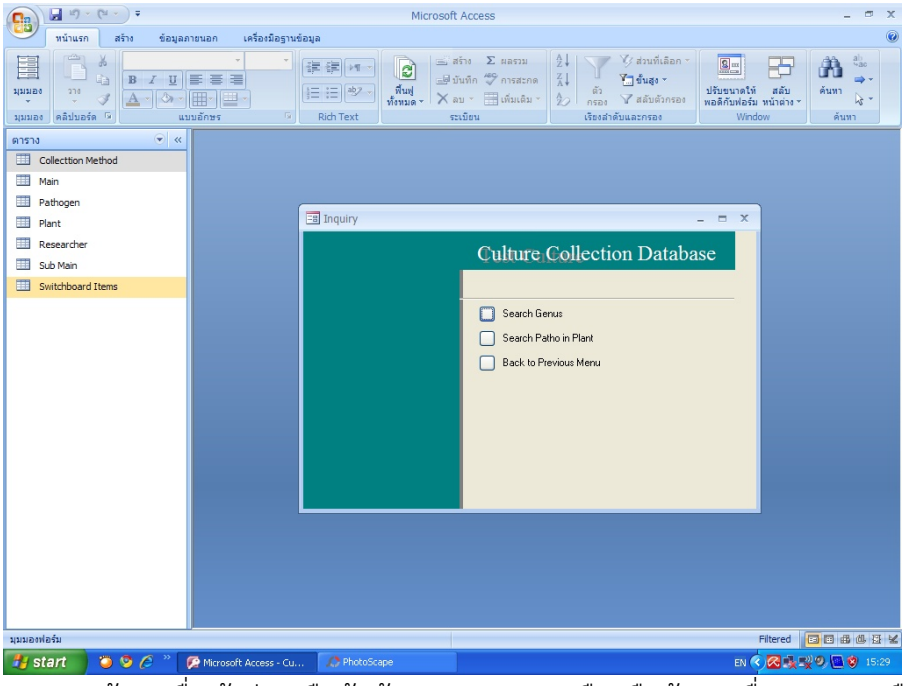
ภาพที่ 2 แสดงหน้าจอเมื่อเข้าสู่การป้อนข้อมูล จะพบปุ่มต่างๆ เพื่อการป้อนข้อมูลด้านต่างๆ

3. เมื่อเข้าสู่การป้อนข้อมูลที่ต้องการป้อน จะเข้าสู่หน้าจอเพื่อการป้อนข้อมูลที่ต้องการ สามารถป้อนข้อมูลได้ทันที และหน้าจอการป้อนข้อมูลนี้สามารถปรับแก้ไขข้อมูลได้เช่นเดียวกันในกรณีที่ต้องการแก้ไขข้อมูล



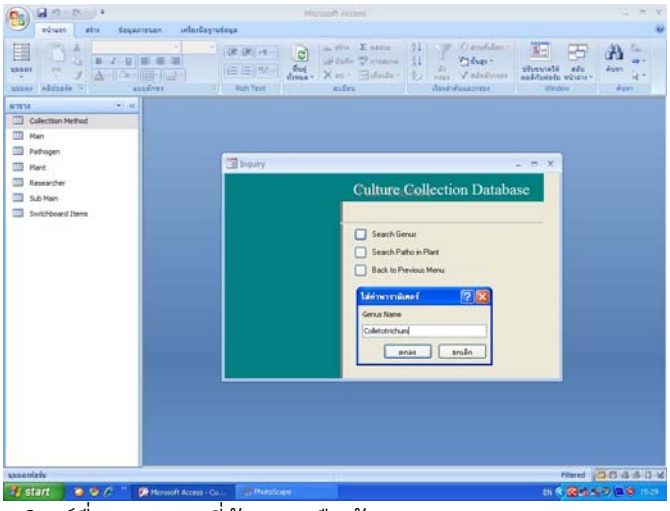
ภาพที่ 3 แสดงหน้าจอเมื่อเข้าสู่การป้อนข้อมูล จะสามารถป้อนและแก้ไขข้อมูลได้ทันที

4. ในกรณีที่เมื่อเข้าหน้าจอแรกแล้วต้องการสืบค้นข้อมูล ให้คลิกปุ่มสืบค้นข้อมูล จะเข้าสู่หน้าจอให้เลือกวิธีสืบค้น เช่น สืบค้นจากชื่อ Genus หรือสืบค้นจากชื่อพืช เป็นต้น

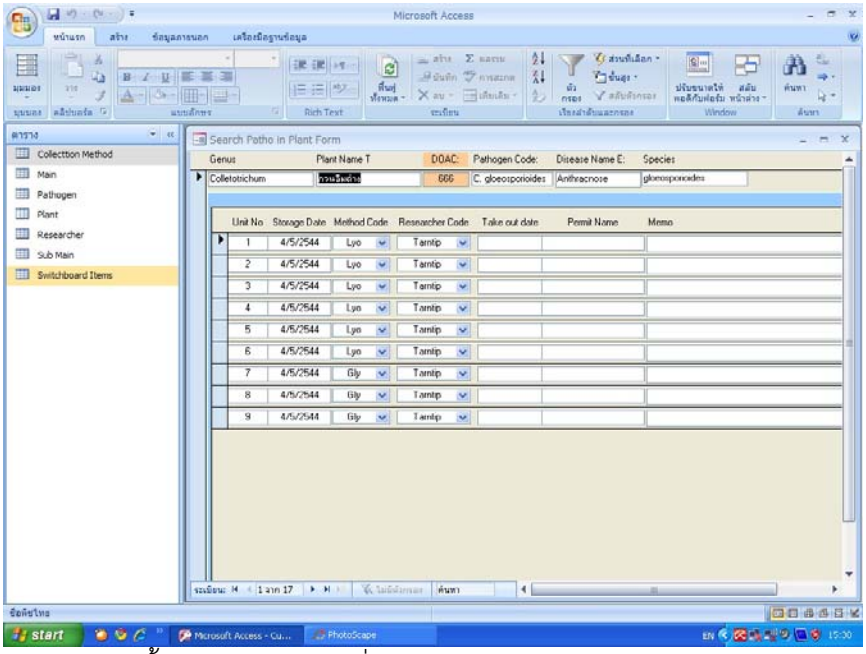


ภาพที่ 4 แสดงหน้าจอเมื่อเข้าสู่การสืบค้นข้อมูล จะสามารถเลือกสืบค้นจากชื่อ Genus หรือค้นจากชื่อพืชได้

5. เมื่อป้อนชื่อ Genus เชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ต้องการสืบค้น แล้วทำการสืบค้น จะแสดงผลให้ทราบได้ว่าใน Culture Collection มีเชื้อราดังกล่าวเก็บไว้หรือไม่ กี่ตัวอย่าง อะไรบ้าง

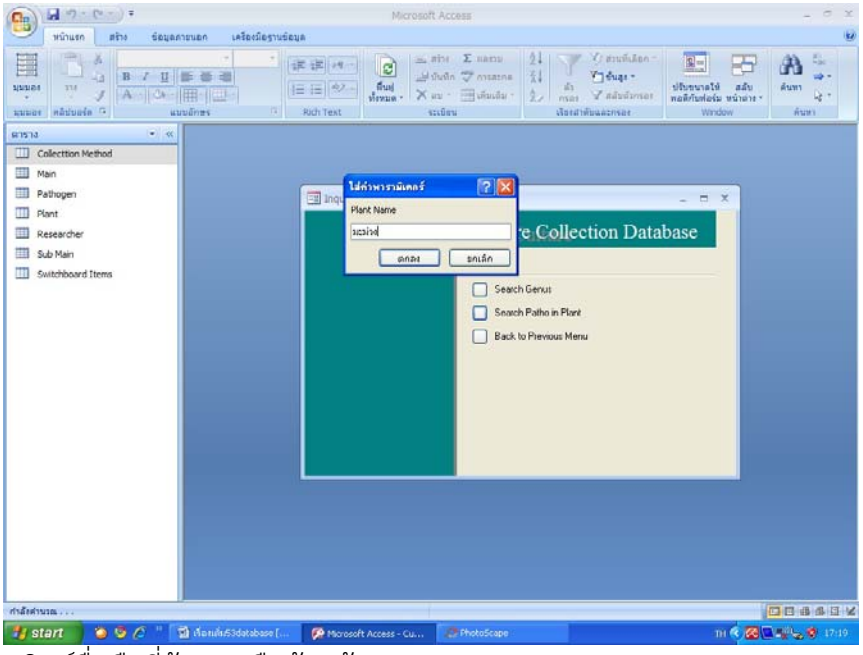


ภาพที่ 5 พิมพ์ชื่อ Genus ที่ต้องการสืบค้น กด enter

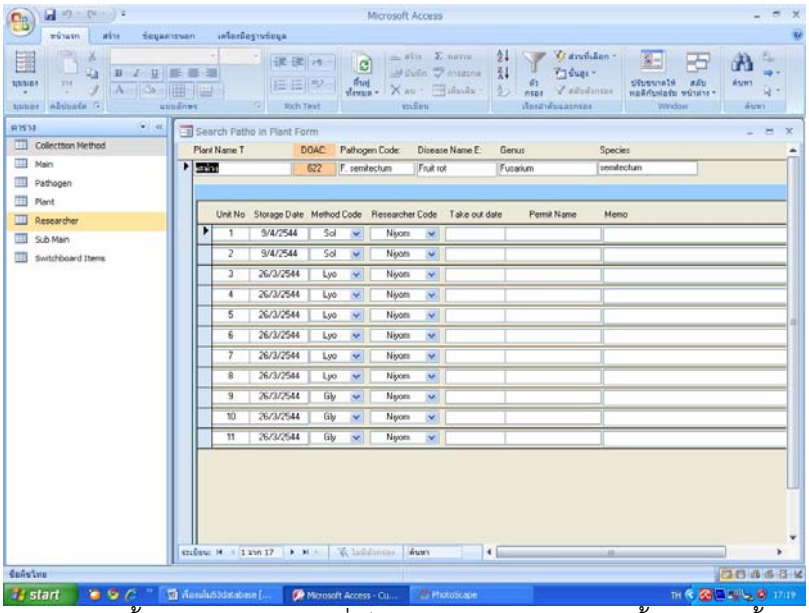


ภาพที่ 6 แสดงข้อมูลเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่สืบค้นดังกล่าว

6. ในการณีที่ต้องการสืบค้นจากชื่อพืช สามารถทำได้โดยเลือก Search Patho in Plant แล้วใส่ชื่อพืชลงไป เมื่อกด enter จะได้ข้อมูลเชื้อราสาเหตุโรคพืชชนิดต่างๆ ที่ก่อให้เกิดโรคเฉพาะกับพืชที่สืบค้นนั้น



ภาพที่ 7 พิมพ์ชื่อพืชที่ต้องการสืบค้นแล้วกด enter



ภาพที่ 8 แสดงข้อมูลเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่เป็นโรคเฉพาะกับพืชชนิดนั้นๆ ว่ามีเชื้อใดบ้าง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ได้ฐานข้อมูลเชื้อราสาเหตุโรคพืชใน Culture Collection ที่มีข้อมูลมากกว่า 600 ไอโซเลท ตามข้อมูลที่จดบันทึกไว้ เช่น ชื่อเชื้อ ชื่อพืช วิธีการเก็บรักษาเชื้อนั้นๆ เป็นต้น พร้อมสำหรับการเพิ่มเติมข้อมูล ปรับเปลี่ยน แก้ไข และพร้อมสำหรับการสืบค้นข้อมูล

เอกสารอ้างอิง

กิตติ ภักดีวัฒนะกุล และ จำลอง ครูอุตสาหะ. 2545. คัมภีร์ระบบฐานข้อมูล. บริษัท เคทีพี คอมพ์แอนด์ 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.

สำรวจรวบรวมและศึกษาสายพันธุ์ไส้เดือนฝอยควบคุมแมลงศัตรูพืช

Survey, Culture Collection and Identification of Entomopathogenic Nematodes

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และ 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+2oซ) 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 % ในขณะที่ไม่ฝังท่อนพันธุ์เสียหายจากการทำลายของปลวกสูงถึง 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) ไส้เดือนฝอยมีรูปร่างลำตัวกลมยาวคล้ายเส้นด้าย (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 เรียกการผสมพันธุ์แบบนี้ว่า amphimictic ไส้เดือนฝอยเจริญเติบโตอยู่ภายในแมลงที่ตายแล้วประมาณ 2-3 ชั่วอายุ (generation) ขึ้นอยู่กับขนาดของแมลง เมื่อแมลงเริ่มแห้งเป็นซาก (cadaver) ไส้เดือนฝอยตัวอ่อน

ระยะที่สาม (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 จึงมีการศึกษาและพัฒนาไส้เดือนฝอยในกลุ่มนี้ตั้งแต่เริ่มค้นพบครั้งแรกจนถึงปัจจุบัน มีการพัฒนาการเพาะเลี้ยงขยายปริมาณไส้เดือนฝอยในอาหารเทียม (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 นอกจากนั้นยังมีรายงานในประเทศออสเตรเลียและนิวซีแลนด์ ส่วนในทวีปเอเชียมีการสำรวจและศึกษาการแพร่กระจายของไส้เดือนฝอย รายงานใน 9 ประเทศ คือ ญี่ปุ่น จีน อินเดีย ศรีลังกา เกาหลี โอมาน มาเลเซีย เวียตนาม และไทย ในทวีปแอฟริกาได้รายงานการสำรวจค้นพบในประเทศเคนยา

ในปัจจุบันไส้เดือนฝอยมีบทบาทสำคัญในการนำมาใช้กำจัดแมลงหลายชนิด โดยเฉพาะแมลงศัตรูสำคัญในพืชเศรษฐกิจ ได้แก่ กลุ่มหนอนผีเสื้อในอันดับ (order) Lepidoptera เช่น หนอนกระทู้

ผัก (common leafworm, *Spodoptera litura*) หนอนกระทู้หอม (beet armyworm, *S. exigua*) และหนอน เจาะสมอฝ้าย (American bollworm, *Heliothis armigera*) กลุ่มหนอนด้วง ในอันดับ Coleptera เช่น ด้วงหมัดกระโดด (flea betle, *Phyllotreta sinuata*) หนอนด้วง Japanese beetle และด้วงงวงองุ่น (vine weevil, *Otiorhynchus sulcatus*) เป็นต้น ได้มีการ คัดเลือกชนิดและสายพันธุ์ไส้เดือนฝอย steinernematid นำมาผลิตเป็นการค้า 6 ชนิด คือ *S. carpocapsae, S. glaseri, S. feltiae, S. riobrave, S. scapterisci* และ *S. kushidai* ผลิตเป็น ผลิตภัณฑ์จำหน่ายทั่วโลกมากกว่า 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* ควบคุม หนอนด้วง Japanese beetle และบริษัท Ciba-Geigy ผลิตไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* (S25) และ *S. feltiae* (S27) ควบคุมด้วงงวงองุ่นสีดำ (black vine weevil)

ปัจจุบันไส้เดือนฝอยในสกุล *Steinernema* จำแนกได้ 37 ชนิด และสกุล *Heterorhabditis* จำแนกได้ 8 ชนิด นอกจากนั้นในปี 1994 Nguyen & Smart ได้ค้นพบไส้เดือนฝอยสกุลใหม่ คือ *Neosteinernema* และจำแนกเป็น *N. longicurvicauda* Nguyen & Smart, 1994

การค้นหาจุลินทรีย์และศัตรูธรรมชาติที่มีประโยชน์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติ เพื่อนำขึ้นมาพัฒนา และนำกลับไปใช้ควบคุมศัตรูพืช ได้เพิ่มความสำคัญและมีการศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องในหลายๆ ด้าน โดย เฉพาะงานวิจัยขั้นพื้นฐาน ซึ่งดำเนินงานโดยนักวิจัยในแต่ละสาขาเพื่อค้นหาจุดสำคัญของการ นำมาใช้ให้มีประสิทธิภาพสูงสุด จุลินทรีย์หรือศัตรูธรรมชาติแต่ละชนิดมีข้อจำกัดในการนำไปใช้ แตกต่างกันไป เช่น ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ไม่สามารถมีชีวิตอยู่ได้ในดินร่วนปนทราย ที่ อุณหภูมิสูงกว่า 35 องศาเซลเซียส (Kaya, 1977) เป็นต้น ข้อจำกัดดังกล่าวจึงต้องมีการค้นคว้าวิจัย ข้อมูลพื้นฐานทั้งด้านชีววิทยา นิเวศวิทยา และพฤติกรรมการดำรงชีวิต ซึ่งข้อมูลทางวิชาการเหล่านี้มี ความสำคัญยิ่งต่อการพัฒนา bio-agent ที่พบตามธรรมชาติให้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่าง แท้จริง การพยายามค้นหาสายพันธุ์ใหม่ในเขตต่างๆ ซึ่งมีความแตกต่างของสภาพแวดล้อม อุณหภูมิ ความชื้น ความเข้มของแสงอุลตราไวโอเลต แมลงอาศัย ชนิดและคุณสมบัติของดิน เพื่อนำสาย พันธุ์พื้นเมืองมาใช้ควบคุมศัตรูพืชในท้องถิ่นที่มีสภาพแวดล้อมเดิม จึงเป็นงานวิจัยที่ได้รับความสนใจ จากนักวิจัยทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทยได้เริ่มมีการสำรวจเก็บรวบรวมไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเป็น ครั้งแรกในปี พ.ศ. 2539 สามารถแยกได้ไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงจำนวน 9 ไอโซเลท จัดอยู่ใน family Steinernematidae จำนวน 8 ไอโซเลท โดยกำหนดรหัสตามจังหวัดที่พบคือ จังหวัด กาญจนบุรี (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 กองโรคพืช และจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร (นุชนารถ และคณะ, 2543)

การสำรวจ เก็บรวบรวม และคัดเลือกไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ใหม่ๆ เพื่อนำไปสู่การวิจัยและพัฒนาเป็นสารชีวภัณฑ์กำจัดแมลงศัตรูพืช จึงเป็นงานวิจัยที่สามารถนำไปสู่ผู้ใช้ประโยชน์จากผลงานได้อย่างเป็นรูปธรรม โดยไส้เดือนฝอยที่ค้นพบจากความหลากหลายทางชีวภาพในระบบนิเวศที่แตกต่างและกระจัดกระจายตามถิ่นที่อยู่อาศัย (Habitat) โดยเฉพาะในเขตพื้นที่ป่าของประเทศไทยที่ตั้งอยู่ในเขตร้อนชื้นและยังไม่เคยมีการสำรวจนั้น มีความแตกต่างของชนิดและสายพันธุ์ ทั้งทางชีววิทยา นิเวศวิทยา พฤติกรรมและศักยภาพในการกำจัดแมลงตามสภาพถิ่นที่อยู่อาศัย และการกระจายตัวทางภูมิศาสตร์ (Geographical distribution) ไส้เดือนฝอยที่แยกได้จากเขตหนาว-อบอุ่นจะไม่ทนทานต่ออุณหภูมิสูง 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

4. 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 + 100 ตัว วางขวดในแนวนอน นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 27+2 ๐ซ 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 ตามเทคนิคของนุชนารถ (2550) ทำการเตรียมอาหารตามสูตรกำหนด จากนั้นนำอาหารมาคลุกกับก้อนฟองน้ำตัดขนาด 1x1 ซม. อัตราอาหาร : ฟองน้ำ (500 กรัม : 30 กรัม) บรรจุในถังขนาด 10 ลิตร อบนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งที่ใช้ความร้อนจากแก๊ส เป็นเวลา 2 ชม. 30 นาที เมื่ออาหารเย็นทำการใส่ไส้เดือนฝอยของแต่ละไอโซเลท จำนวน 500,000+50,000 ตัว/ถังเพาะ ไอโซเลทละ 5 ถังเพาะ นำไปตั้งวางเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง (27+2 oซ) 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 *Odontotermes* sp.

การเตรียมไส้เดือนฝอยในรูปแบบสถานีเหยื่อล่อ

1) ใช้กระปุกพลาสติกสีขาวทึบเป็นรูปทรงกระบอกด้านบนมีฝาปิด-เปิดแบบหมุนเกลียวเป็น สถานีเหยื่อล่อ 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

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/ร่อง ทดลองพร้อมติดตั้งแท่งสถานีเหยื่อล่อโดยทำการฝังดินตามกรรมวิธีกำหนด เป็นเวลา 1 เดือน

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

เวลาสถานที่

เริ่มต้นเดือนตุลาคม 2549 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2553

สถานที่ดำเนินการ

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 + 2 oซ 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 แต่การพ่นไส้เดือนฝอยบนตัวหนอนด้วงพบว่าไส้เดือนฝอยไม่สามารถเข้าสู่รูเปิดทางผิวของหนอนด้วงได้ หนอนด้วงจึงไม่ตาย อย่างไรก็ตามในทางปฏิบัติโดยวิธีใช้เข็มฉีดไส้เดือนฝอยเข้าทางลำตัวหนอนด้วง 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 ซึ่งแตกต่างทางสถิติ

อย่างมีนัยสำคัญกับการฝังทุกระยะห่าง โดยการฝังที่ระยะห่าง 1.0 และ 1.5 เมตร รอบพื้นที่ทดสอบพบท่อนพันธุ์มันสำปะหลังเสียหายเท่ากับ 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 รวมทั้งมีความชื้นจากสารโพลิเมอร์ ดึงดูดให้ปลวกเข้ามาภายในสถานีเหยื่อล่อ 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 แต่ปลวกคือปัญหาที่ทำให้ท่อนพันธุ์เสียหายในช่วงแรกของการปลูก เกษตรกรบางรายเสียหายทั้งหมด บางรายต้องเสียเวลาปลูกซ่อมทดแทนท่อนพันธุ์ที่ตาย โดยการทดสอบในครั้งนี้เกษตรกรได้มีส่วนร่วมในการตรวจผล และผลการทดสอบดังกล่าวประสบผลสำเร็จในระดับที่น่าพอใจ เกษตรกรในพื้นที่ จ.กาญจนบุรี ให้การยอมรับ แต่อย่างไรก็ตาม ยังต้องมีการปรับใช้ให้เหมาะสมกับต้นทุนการผลิตมันสำปะหลัง และต้นทุนของสถานีเหยื่อล่อ ซึ่งค่อนข้างมีราคาสูง เมื่อนำไปใช้ในสภาพไร่มันฯ ขนาดใหญ่ โดยต้องคำนวณพื้นที่เพื่อฝังระยะห่าง 1.5 เมตร ฝังเฉพาะร่องมันที่ติดป่าละเมาะหรือแหล่งอาศัยของปลวก นอกจากนั้น ต้องปรับโครงสร้างของสถานีเหยื่อล่อให้มีราคาถูกหรือเกษตรกรสามารถทำได้เอง เช่น ใช้กระบอกไม้ไผ่เป็นโครงสร้าง ด้านบนเปิดและคลุมด้วยตาข่ายเพื่อเป็นช่องทางให้ปลวกเข้ามากินขี้เลื่อยผสมไส้เดือนฝอย สำหรับไส้เดือนฝอยซึ่งเป็นชีวินทรีย์ฆ่าปลวก เกษตรกรสามารถเพาะเลี้ยงเชื้อสดใช้เองได้ตามวิธีการของนุชนารถ (2552)

ตารางที่ 1 จำนวนท่อนพันธุ์มันสำปะหลังที่ถูกปลวกเข้าทำลายและแห้งตาย ของร่องปลูก 2 แถว กลาง 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 oซ) 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 เทียบได้กับการขยาย

ไส้เดือนฝอยในหนอนกินไขผึ้ง 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, สำนักวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยี ชีวภาพ. 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.

ศึกษาสายพันธุ์แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชเศรษฐกิจ

Study on Potential of *Bacillus* Genus for Controlling Fungi Causal Agent of Economic Plant Disease

บุษราคัม อุดมศักดิ์ และ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ในปีที่ 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 โดยสามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวในแตงกวาและมะเขือเทศ ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ควบคุมโรคแอนแทรคโนสพริก โรคหอมเลื้อยในหอมหัวใหญ่ และโรคไหม้พริก ได้ 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 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่นำมาทดสอบทั้ง 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* สาเหตุโรคลำต้นเน่าถั่วลิสง

รหัสการทดลอง 09-02-49-01

ปีที่ 4 (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

ปีที่ 5 (ต.ค. 2553 – ก.ย. 2553) ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* sp. ในการยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica* สาเหตุโรคเน่าดำกล้วยไม้ และหน้าวัว ผลการทดลอง พบว่า ในกล้วยไม้มี *Bacillus* sp. 75 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *P. parasitica* ได้ โดยไอโซเลท 19W13 8W14 3G14 20W33 29W3 และ 2G7 มีประสิทธิภาพสูงสุด สำหรับในหน้าวัว พบว่า มี 1 ไอโซเลทที่สามารถยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica* ได้แก่ 17W14

คำนำ

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

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

พากเพียรและคณะ (2538) พบว่า การใช้เชื้อ *Bacillus* 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 ปุ๋ยคอก และวัสดุปลูกต่างๆ มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคพืชเศรษฐกิจสำคัญ ที่เกิดจากเชื้อราที่ยังเป็นปัญหาของเกษตรกรต่อการผลิตพืช 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 กระถางปลูก พันธุ์พืช ได้แก่ พริก หอมใหญ่ มะม่วง คะน้า

วิธีการ

1. ทดสอบศักยภาพของ *Bacillus* sp. ในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่สำคัญ ในห้องปฏิบัติการ

ปีที่ 1-2 (ต.ค. 2548 – ก.ย. 2550)

ทดสอบศักยภาพของ *Bacillus* sp. ในการยับยั้งเชื้อรา ดังนี้

1.1 เชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก จำนวน 64 ไอโซเลท

1.2 เชื้อรา *F.oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวมะเขือเทศ จำนวน 79 ไอโซเลท

1.3 เชื้อรา *F.solani* สาเหตุโรคเหี่ยวแตงกวา จำนวน 73 ไอโซเลท

1.4 เชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคหอมเลื้อยในหอมหัวใหญ่ จำนวน 78 ไอโซเลท

1.5 เชื้อรา *P. capsici* สาเหตุโรคไหม้ของพริก จำนวน 64 ไอโซเลท

ปีที่ 3 (ต.ค. 2550 – ก.ย. 2551)

1.6 เชื้อรา *A. brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดคะน้า (ชุดที 1) จำนวน 65 ไอโซเลท

1.7 เชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนส มะม่วง จำนวน 59 ไอโซเลท

1.8 เชื้อรา *Sclerotium rolfsii* สาเหตุโรคลำต้นเน่าถั่วลิสง จำนวน 68 ไอโซเลท

ปีที่ 4 (ต.ค. 2551 – ก.ย. 2552)

1. 9 เชื้อรา *P. palmivora* สาเหตุโรคเน่าดำกล้วยไม้สกุลแวนด้า จำนวน 135 ไอโซเลท

2.0 เชื้อรา *Alternaria brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดคะน้า ชุดที่ 2 จำนวน 70 ไอโซเลท

2.1 เชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนส มะม่วง ชุดที่ 1 จำนวน 60 ไอโซเลท และชุดที่ 2 จำนวน 70 ไอโซเลท

ปีที่ 5 (ต.ค. 2552 – ก.ย. 2553)

2.2 เชื้อรา *P. parasitica* สาเหตุโรคเน่าดำกล้วยไม้ จำนวน 92 ไอโซเลท

2.3 เชื้อรา *P. parasitica* สาเหตุโรคเน่าดำหน้าวัว จำนวน 59 ไอโซเลท

ทดสอบโดยวิธี dual plate technique ปฏิบัติดังนี้

1. เลี้ยงเชื้อราทดสอบบนอาหาร PDA และเลี้ยง *Bacillus* sp. แต่ละไอโซเลทลงบนอาหาร PSA จนกระทั่งเส้นใยหรือโคโลนีเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อ

2.ใช้ cock borrer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 ซ.ม. เจาะเส้นใยของเชื้อราทดสอบบริเวณขอบโคโลนี วางลงบนกึ่งกลางของจานเลี้ยงเชื้อ จากนั้นใช้ Loop ขนาดมาตรฐานแตะเบา ๆที่ *Bacillus* sp. ทดสอบ นำมาขีดเป็นเส้นตรง ยาว 2 ซ.ม ขนานกับโคโลนีของเชื้อรา 4 ด้าน ระยะห่างจากโคโลนีเชื้อราประมาณ 1 นิ้ว

3. ตรวจผลโดยวัดความกว้างของ Inhibition zone และ ขนาดของโคโลนีของเส้นใยของเชื้อราที่ถูกยับยั้ง

4.คัดเลือก 5-6 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูงสุดไปทดสอบในระดับโรงเรือนหรือบนพืช ต่อไป

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

ปีที่ 1-3 (ต.ค. 2548 – ก.ย. 2551)

2.1 ทดสอบศักยภาพของ *Bacillus* sp. ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลพริก

2.1.1 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

2.1.2 นำมาทำเป็น cell suspension โดยใส่น้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 20 มล.ต่อ 1 จานเลี้ยงเชื้อ ขูดเอาเซลแบคทีเรียบนผิวหน้าอาหารออก ซึ่งจะได้ cell suspension ที่มีความเข้มข้นประมาณ 10^7 โคโลนี/มล.

2.1.3 นำผลพริกมาล้างด้วยน้ำเปล่า ผึ่งให้แห้ง เช็ดผิวเพื่อฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์ 70 % ผึ่งให้แห้ง

2.1.4 นำผลพริกแช่ลงใน cell suspension ของ *Bacillus* sp. เป็นเวลา 30 นาที นำไปบ่มในกล่องพลาสติกเพื่อให้ความชื้นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.1.5 ใช้ cock borrer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 ซ.ม.เจาะเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนอาหารวุ้นPDA วางลงบนผลพริกซึ่งทำแผลไว้ ทิ้งไว้ 24 ช.ม. จึงนำชิ้นส่วนของอาหารวุ้นออก

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

- การเตรียมC^+ ปฏิบัติเช่นเดียวกับ1-5 แต่ชุบผลพริกด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแทน cell suspension ของ *Bacillus sp.* แล้วจึงวางด้วยเชื้อ *C. gloeosporioides*
- การเตรียม C^- ปฏิบัติเช่นเดียวกับ 1-5 แต่วางด้วยชิ้นวุ้น PDA ที่ไม่มีเชื้อรา

2.1.7 ตรวจผลโดยวัดขนาดของแผลบนผลพริกเปรียบเทียบกับชุด control ที่เวลา 7 วัน หลังทดสอบ

2.2 ทดสอบศักยภาพ *Bacillus* sp. ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสสาเหตุโรคหอมเลื้อยของ
หอมหัวใหญ่ ในโรงเรือนทดลอง

โดยวิธีฉีดพ่น

2.2.1 <u>การเตรียมพืชทดสอบ</u> : นำหอมหัวใหญ่มาเช็ดด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ 10 % วางในตะกร้า วัน จนกระทั่งหอมหัวใหญ่มีรากงอกประมาณ 1-2 ซ.ม.จากนั้นย้ายปลูกลงในกระถาง จนกระทั่งอายุได้ 30 วัน จึงนำมาใช้ทดสอบ

2.2.2 <u>การเตรียม cell suspension ของเชื้อรา *C. gloeosporioides*</u> : เลี้ยงเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนอาหาร PDA 7 วัน ล้างสปอร์ด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ ให้มีความเข้มข้นประมาณ 10^4 สปอร์/มล. นำ cell suspension ของเชื้อราที่ได้พ่นลงบนต้นหอมใหญ่ คลุมด้วยถุงพลาสติกใสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.2.3 <u>การเตรียม cell suspension ของ *Bacillus* sp.</u> : นำ Bacillus ไอโซเลท 22W10 20W8 17G18 20W12 และ 20W1 เลี้ยงในอาหาร PSA เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาทำเป็น cell suspension ให้มีความเข้มข้นประมาณ 10^7 โคโลนี/มิลลิลิตร นำมาพ่นลงบนหอมหัวใหญ่ (จากข้อ 3)

มีกรรมวิธีเปรียบเทียบดังนี้

- การเตรียมC^+ พ่นด้วย cell suspension เชื้อรา *C. gloeosporioides* หลังจากครบ 24 ชั่วโมงแล้วฉีดพ่นด้วยน้ำเปล่า
- การเตรียม C^- พ่นด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้ออย่างเดียว

ตรวจผลโดยให้คะแนนความรุนแรงของโรคดังนี้

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

2.3 ทดสอบศักยภาพ *Bacillus* sp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของ มะเขือเทศ ในโรงเรือนทดลอง

ทดสอบโดยวิธี soil infestration ปฏิบัติการทดลองดังนี้

1. การเตรียมดินผสม

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

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

1.3 เมื่อเชื้อราเจริญเต็มถุงข้าวฟ่างแล้ว นำไปคลุกกับดินอบฆ่าเชื้อ อัตรา 1:10 (ข้าวฟ่าง 1 กรัมผสมดิน 10 กรัม) บ่มเชื้อไว้ 24 ช.ม. นำดินผสมที่ได้ใส่ในกระถางดินเผา กระถางละ 300 กรัม

2. ราดดินด้วย cell suspension ของ *Bacillus* sp. 5ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท 2G4 22W10 20W12 17G18 และ 20W4 ความเข้มข้นประมาณ 10^7 โคโลนี/มล.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 ทดสอบศักยภาพของ *Bacillus* sp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของ แตงกวา ในโรงเรือนทดลอง

ทดสอบโดยวิธี soil infestration

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

2. ราดดินด้วย cell suspension ของ *Bacillus* sp. ทดสอบ 5 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท 17G18 22W10 20W12 20W16 และ17G15 ความเข้มข้นประมาณ 10^7 โคโลนีต่อมล.โดยราดในอัตรา 100 มล.ต่อกระถาง

3. หยอดเมล็ดแตงกว่าที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย 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 ทดสอบศักยภาพของ *Bacillus* sp. ในการควบคุมโรคไหม้ของพริกในโรงเรือนทดลอง

โดยวิธี Soil Infestration

1. การเตรียมดินผสม

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

1.2 ใช้ cock borrer เจาะเส้นใยเชื้อบนอาหารวุ้น ใส่ลงในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 10 ชิ้นต่อน้ำ 10 มล. นำไปวางในตู้เย็น เป็นเวลา 1 ชม.นำออกจากตู้เย็นมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25$\pm$ 1 องศาเซลเซียส) เพื่อกระตุ้นให้เชื้อปล่อย zoospore

1.3 นำ zoospore suspension ของเชื้อที่มีความเข้มข้น 10^6 สปอร์ต่อมล.ราดบนดินฆ่าเชื้ออัตรา 35 มล.ต่อกระถาง (ดิน 300 กรัมต่อกระถาง) ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง

2. ราดดินด้วย cell suspension ของ *Bacillus sp.* ทดสอบ 5 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท 20W16 20W8 20W1 17G18 และ 20W12 ความเข้มข้นประมาณ 10^7 โคโลนี/มล. โดยราดในอัตรา 100 มล.ต่อกระถาง ปลูกต้นกล้าพริกที่มีอายุประมาณ 3 สัปดาห์ ลงในดินที่เตรียมไว้ ทำการทดลอง 4 ซ้ำ จำนวนมะเขือเทศ 60 ต้นต่อ 1 ซ้ำโดยมีกรรมวิธีเปรียบเทียบ (control + และ control -) เป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ การเตรียมกรรมวิธีเปรียบเทียบ (control +) ปฏิบัติเช่นเดียวกับการทดลองที่ 4 โดยราดดินด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแทน cell suspension ของ *Bacillus* sp. ทดสอบ สำหรับ control – เตรียมโดยการปลูกพริกทดสอบลงในดินอบฆ่าเชื้อ

3. ตรวจผลโดยนับจำนวนต้นที่แสดงอาการไหม้ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของการเกิดโรค

ปีที่ 4 (ต.ค. 2551 – ก.ย. 2552)

1. ทดสอบศักยภาพ *Bacillus* sp. ในการควบคุมโรคใบจุดคะน้า สาเหตุจากเชื้อรา *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. ทดสอบศักยภาพของ *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. ทดสอบศักยภาพของ *Bacillus* sp. ในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่สำคัญ ในห้องปฏิบัติการ

1.1 ทดสอบศักยภาพของ *Bacillus* sp. ในการยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก

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

1.2 ทดสอบศักยภาพของ *Bacillus* sp. ในการยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวมะเขือเทศ

ผลการทดสอบพบว่า *Bacillus* sp. 10 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพสูงสุด ได้แก่ 2G4 22W10 20W12 17G18 20W4 20W16 20W5 20W10 17G15 และ20W8 โดยมีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone เท่ากับ 0.55 -1.07 ซม. โดย 5ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่มีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone สูงสุด ได้แก่ ไอโซเลท 2G4 22W10 20W12 17G18 และ

20W4 โดยมีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone เท่ากับ 1.07 0.96 0.87 0.81 และ 0.80 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

1.3 ทดสอบศักยภาพของ *Bacillus* sp. ในการยับยั้งเชื้อรา *F. solani* สาเหตุโรคเหี่ยวแตงกวา

ผลการทดสอบพบว่า *Bacillus* sp. 10 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพสูงสุด ได้แก่ 17G18 22W10 20W12 20W16 17G15 20W5 20W4 2G4 19W42 และ 20W8 โดยมีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone เท่ากับ 0.65-1.17 ซม. โดย 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 ซม.ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

1.4 ทดสอบศักยภาพของ *Bacillus* sp. ในการยับยั้ง เชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคหอมเลื้อยในหอมหัวใหญ่

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

1.5 ทดสอบศักยภาพของ *Bacillus* sp. ในการยับยั้งเชื้อรา *P. capsici* สาเหตุโรคไหม้ของพริก

ผลการทดสอบ พบว่า *Bacillus* sp. 10 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพสูงสุด ได้แก่ 20W16 20W8 20W1 17G18 20W12 20W17 20W24 17G14 20W18 และ20W4โดยมีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone เท่ากับ 0.72-0.99 ซม. 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 ซม. (ตารางที่ 5)

1.6 ทดสอบศักยภาพของ *Bacillus* sp. ในการยับยั้งเชื้อรา *A. brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดคะน้า ชุดที่ 1

ผลการทดสอบ พบว่า *Bacillus* sp. 10 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพสูงสุด ได้แก่ 20W4 20W1 20W5 20W12 17G18 20W16 20W10 20W2(1) 17G14 และ20W17 โดยมีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone เท่ากับ 1.09-1.68 ซม. โดย 5 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้สูงสุด ได้แก่ 20W4 20W1 20W5 20W12 และ17G18 โดยมีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone เท่ากับ 1.68 1.60 1.58 1.46 และ 1.36 ซม. ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

1.7 ทดสอบศักยภาพของ *Bacillus* sp. ในการยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสมะม่วง

ผลการทดสอบ พบว่า *Bacillus* sp. 10 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดได้แก่ 20W1 20W16 20W5 20W17 20W18 20W12 17G14 17G18 1G7 และ20W4 โดยมีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone เท่ากับ 0.69-1.17 ซม. 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 ซม. ตามลำดับ (ตารางที่ 7)

1.8 ทดสอบศักยภาพของ *Bacillus* sp. ในการยับยั้งเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* สาเหตุโรคลำต้นเน่าถั่วลิสง

ผลการทดสอบ พบว่า *Bacillus* sp. 10 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพสูงสุด 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 ซม. ตามลำดับ (ตารางที่ 8)

2. ทดสอบศักยภาพของ *Bacillus* sp. ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลพริก

ผลการทดลอง พบว่า มี *Bacillus* sp. 13 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลพริก โดยมีขนาดของพื้นที่แผลของโรคเท่ากับ 0.9-0.034 ตร.ซม. ซึ่งมีขนาดต่ำกว่ากรรมวิธีเปรียบเทียบ โดยพบว่า ไอโซเลท 20W16 22 W8 และ 1G8 สามารถควบคุมการเกิดโรคบนผลพริกได้สูงสุด โดยมีขนาดของพื้นที่แผลของโรคเท่ากับ 0.034 0.09 และ 0.179 ตร.ซม. ตามลำดับ ซึ่งเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าจะมองเห็นเป็นเพียงจุดเล็กๆเท่านั้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่า 3 ไอโซเลทดังกล่าวสามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลพริกได้เกือบ 100 % เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีเปรียบเทียบซึ่งปรากฏพื้นที่แผลของโรคถึง 1.35 ตร.ซม. (ตารางที่ 9)

3. ทดสอบศักยภาพของ *Bacillus* sp. ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสสาเหตุโรคหอมเลื้อย ของหอมหัวใหญ่ ในโรงเรือนทดลอง

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

4. ทดสอบศักยภาพของ *Bacillus* sp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ ในโรงเรือนทดลอง

ผลการทดลอง พบว่า หลังการทดสอบ 35 วัน *Bacillus* sp. ทั้ง 5 ไอโซเลท สามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวได้ 100 % โดยมะเขือเทศไม่แสดงอาการของโรคเหี่ยวเลย เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (ตารางที่ 11)

5. ทดสอบศักยภาพของ *Bacillus* sp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของแตงกวา ในโรงเรือนทดลอง

ผลการทดลอง พบว่า *Bacillus* sp. ไอโซเลท 17G18 สามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวของแตงกวา 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีเปรียบเทียบ (control +) ซึ่งแตงกวาเป็นโรค 100 เปอร์เซ็นต์ โดยไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพรองลงมาได้แก่ ไอโซเลท 20W12 และ17G15 ซึ่งแตงกวาแสดงอาการของโรคเหี่ยวเพียง 8.3 และ 12.5 % ตามลำดับ (ตารางที่ 12)

6. ทดสอบศักยภาพของ *Bacillus* sp. ในการควบคุมโรคไหม้ของพริกในโรงเรือนทดลอง

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

ปีที่ 4 (ต.ค. 2551 – ก.ย. 2552)

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

ผลการทดสอบ พบว่า *Bacillus* sp. มี *Bacillus* sp. 14 ไอโซเลทที่สามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *P. palmivora* โดย 10 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูงสุด ได้แก่ 2G19 19W42 1G8 (2) 3G23 2G23 20W26 17G11 3W14 22W11 และ20W33 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. ทดสอบศักยภาพของ *Bacillus* sp. ในการยับยั้งเชื้อรา *A. brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดคะน้า ในห้องปฏิบัติการ ชุดที่ 2

ผลการทดลองพบว่า มี *Bacillus* sp. 48 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *A. brassicicola* โดย 10 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพสูงสุด 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. ทดสอบศักยภาพของ *Bacillus* sp. ในการควบคุมใบจุดคะน้า สาเหตุจากเชื้อรา *A. brassicicola* ในระดับโรงเรือน

ผลการทดสอบ พบว่า การพ่น *Bacillus* sp. ก่อนพ่นเชื้อรา Ab ทุกไอโซเลทสามารถลดการเกิดโรคได้เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม 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. ทดสอบศักยภาพของ *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. ทดสอบศักยภาพของ *Bacillus* sp. ในการควบคุมเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนส บนผลมะม่วง

ผลการทดสอบ พบว่า การจุ่มผลมะม่วงด้วย cell suspension ของ *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)

ปีที่ 5 (ต.ค. 2553 – ก.ย. 2553)

1. ทดสอบศักยภาพของ *Bacillus* ในการยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica* สาเหตุโรคเน่าดำกล้วยไม้

ผลการทดลอง พบว่า มี *Bacillus* sp. 75 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *P. parasitica* โดย 5 อันดับที่มีประสิทธิภาพสูงสุดได้แก่ 19W13 8W14 20W33 3G14 และ 29W3 โดยมีค่าเฉลี่ยความกว้างของ Inhibition zone เท่ากับ 1.06 1.01 0.77 0.77 และ 0.73 ซม. ตามลำดับ (ตารางที่ 19)

2. ทดสอบศักยภาพของ *Bacillus* ในการยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica* สาเหตุโรคเน่าดำหน้าวัว

ผลการทดลอง พบว่า มี *Bacillus* sp. 1 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *P. parasitica* สาเหตุโรคเน่าดำของหน้าวัว ได้แก่ 17W 14 โดยมีค่าเฉลี่ยความกว้างของ Inhibition zone เท่ากับ 0.40 ซม.

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

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

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

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

การทดสอบประสิทธิภาพของ *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

แบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเชื้อรา *P. palmivora* สาเหตุโรคเน่าดำกล้วยไม้สกุลแวนด้า ในระดับห้องปฏิบัติการได้แก่ 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 *Bacillus* sp. จำนวน 5 ไอโซเลท พบว่า ไอโซเลท 20W18 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมการเกิดโรคบนผลมะม่วง รองลงมาได้แก่ ไอโซเลท 20W5 20W17 20W16 และ 20W17 ตามลำดับ

การทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* sp. ในการยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica* สาเหตุโรคเน่าดำกล้วยไม้ พบว่ามี *Bacillus* sp. ไอโซเลท 19W13 8W14 20W33 3G14 และ 29W3 มีประสิทธิภาพสูงสุด ส่วนในหน้าวัวพบเพียงไอโซเลทเดียว ได้แก่ 17W14 ที่สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุได้

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณอภิรัชต์ สมฤทธิ์ ดร.ศิริพงษ์ คุ้มภัย ดร.ศรีสุข พูนผลกุล ดร.ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ คุณสุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และคุณอมรรัตน์ ภูไพบูลย์ ที่ให้ความอนุเคราะห์เชื้อราโรคพืชและแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่นำมาใช้ในการทดลองนี้

เอกสารอ้างอิง

นิรนาม 2542. ผลการดำเนินงานโครงการพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพเพื่อปรับปรุงพันธุ์และขยายพันธุ์. หน้า 40-46 *ใน*มิติใหม่กองโรคพืชและจุลชีววิทยา 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 *ใน*บทคัดย่อ 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 (ต.ค. 2548 – ก.ย. 2551)

ตารางที่ 1 *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 *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 *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 *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 *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 *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 *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 *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* ซึ่งควบคุมด้วย *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*_ซึ่งควบคุมด้วย*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* ซึ่งควบคุมด้วย *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* ซึ่งควบคุมด้วย *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 *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 *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) ซึ่งควบคุมด้วย *Bacillus* sp. 6 ไอโซเลท ที่ 21 วัน หลังการทดสอบในโรงเรือนทดลอง

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 *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* บนผลมะม่วงที่ถูกยับยั้งโดย *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

ตารางที่ 19 *Bacillus* sp. 10 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Phytopthora parasitica* สาเหตุโรคเน่าดำกล้วยไม้ในห้องปฏิบัติการ

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยความกว้างของ Inhibition zone (เซนติเมตร)
19W13	1.06
8W14	1.01
20W33	0.77
3G14	0.77
29W3	0.73
2G7	0.72
22W11	0.71
26W2	0.70
13W26	0.70
SA9	0.70

การคัดเลือก และทดสอบประสิทธิภาพเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคใบไหม้หน้าวัว สาเหตุจากแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae*

Selection and efficacy test of *Bacillus* spp. for controlling anthulium blight caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *Dieffenbachiae*

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ รุ่งนภา คงสุวรรณ์ เพลินพิศ สงสังข์
ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และ วงศ์ บุญสืบสกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

บทคัดย่อ

คัดเลือกแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่แยกเก็บจากหน้าวัว (epiphyte และ endophyte) และแบคทีเรียจาก culture collection เลือกแบคทีเรียไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae* ด้วยเทคนิค paper disc diffusion บนอาหาร Nutrient Glucose Agar เกิดเป็นวงใส (clear zone) ขนาดกว้างและคงสภาพการยับยั้งเป็นเวลากว่า 7 วัน นำมาทดสอบการควบคุมโรคในสภาพโรงเรือนปลูกพืชทดลอง ปี 2551 ใช้หน้าวัวพันธุ์อ่อนแอ 2 พันธุ์ คือ โรเซตตา และทรอปิคอล โดยพ่นเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่คัดเลือกได้และแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ชีวภัณฑ์การค้า เปรียบเทียบกับพ่นน้ำเปล่า ทุก 7 วัน เป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่ากรรมวิธีที่พ่นด้วยเซลล์แขวนลอยเชื้อ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ 1G7 และ 1G7+KA2 ให้ผลในการควบคุมโรคดีกว่าการทดลองเปรียบเทียบ แต่เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคยังค่อนข้างสูง ปี 2552 คัดเลือกและทดสอบการควบคุมโรคบนหน้าวัวพันธุ์โรซ่า พบว่ากรรมวิธีการพ่นเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปฏิปักษ์ ไอโซเลท 1G7+KA2+20W1 ให้ผลในการควบคุมโรคดีกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ รองลงมาคือ 20W1 การทดลองปี 2553 เลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท 20W1 และ KA2 มาพัฒนาผลิตภัณฑ์เป็นผงอัดเม็ดฟู่ ทดสอบการควบคุมโรคบนหน้าวัวพันธุ์โรซ่า โดยพ่นเซลล์แขวนลอยเชื้อเปรียบเทียบกับชีวภัณฑ์ พบว่ากรรมวิธีพ่นเซลล์แขวนลอยเชื้อไอโซเลท 20W1 รองมาคือ KA2 และการพ่นชีวภัณฑ์ไอโซเลท 20W1+KA2 ควบคุมโรคได้ดีกว่ากรรมวิธีอื่นและกรรมวิธีเปรียบเทียบ แต่ทุกกรรมวิธีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคค่อนข้างสูง ทั้งนี้อาจเนื่องจากสภาพแวดล้อมที่ร้อนชื้นกว่าสภาพแปลงเกษตรกร การพัฒนาวิธีการเตรียมแบคทีเรียปฏิปักษ์เป็นชีวภัณฑ์รูปผงอัดเม็ดฟู่

รหัสการทดลอง 09-02-49-01

โดยผสมเซลล์แบคทีเรียปฏิปักษ์ ใส่สารเพิ่มปริมาณ สารก่อฟองฟู่ และสารกันติด แล้วอัดเป็นเม็ด น้ำหนักเม็ดละประมาณ 4 กรัม ชีวภัณฑ์ผงอัดเม็ดฟู่สามารถแตกตัวในน้ำได้ดีภายใน 1 นาที มีอัตราการอยู่รอดของเชื้อสูง ใช้งานง่ายสะดวก สามารถพัฒนาชีวภัณฑ์สำหรับเกษตรกรเพื่อควบคุมโรคในแปลงได้ โดยไม่ต้องเตรียมเชื้อสดทุกครั้ง

คำนำ

โรคใบไหม้หน้าวัว เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* ส่วนมากพบการเข้าทำลายที่ใบอ่อนถึงใบกลางของต้นหน้าวัว ทำให้เกิดอาการแผลจุดช้ำฉ่ำน้ำ โดยเฉพาะบริเวณใกล้ขอบใบ ที่มีต่อมคายน้ำ (hydrathode) และบริเวณปากใบ (stomata) ซึ่งเป็นจุดที่แบคทีเรียสาเหตุโรคเข้าทำลายได้ง่าย ทั้งนี้อาการแผลจุดช้ำฉ่ำน้ำสังเกตเห็นได้ชัดเจนจากด้านใต้ใบหน้าวัว เนื้อเยื่อใบบริเวณที่ถูกเชื้อแบคทีเรียเข้าทำลายจะเป็นสีเหลือง จุดช้ำฉ่ำน้ำลุกลามเชื่อมต่อกันทำให้เกิดอาการแผลไหม้จากบริเวณขอบใบ บางครั้งอาจพบอาการไหม้จากบริเวณกลางใบ เชื้อแบคทีเรียที่เข้าทำลายพืชเจริญเพิ่มปริมาณเคลื่อนที่ไปยังบริเวณท่อลำเลียงของก้านใบพืชและลำต้น แบคทีเรียเข้าทำลายเซลล์พืชและอุดตันขัดขวางการเคลื่อนย้ายอาหารและน้ำ ทำให้ต้นหน้าวัวเหี่ยวแสดงอาการขาดน้ำ ใบแก่ของหน้าวัวที่อยู่ด้านล่างเนื้อใบจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ขณะที่เส้นใบยังเขียว ลำต้นหลักของหน้าวัวที่ถูกเชื้อแบคทีเรียเข้าทำลายจะเน่าช้ำเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม ทำให้บริเวณจุดเจริญเสียไป ใบหลุดร่วงจากต้นหน้าวัว เมื่อพืชไม่สามารถลำเลียงน้ำและอาหารไปเลี้ยงลำต้นได้ ต้นหน้าวัวจะแสดงอาการเหี่ยวหรือเน่าตายในที่สุด หากจานรองดอกของหน้าวัวที่มีรูปทรงคล้ายหัวใจถูกเชื้อแบคทีเรียเข้าทำลาย เรียกว่าอาการดอกไหม้ นอกจากนี้อาจพบการเข้าทำลายของแบคทีเรียทางปากใบ ทำให้เกิดอาการเป็นจุดช้ำฉ่ำน้ำรอบแผลเป็นสีน้ำตาล (ปิยรัตน์, 2548; ปิยรัตน์ และคณะ, 2550)

เนื่องจากยังไม่มีสารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรค แนวทางการควบคุมโรคด้วยเชื้อปฏิปักษ์ได้มีการศึกษาโดยเสมอใจ และคณะ (2548) ศึกษาการควบคุมโรคไหม้ของหน้าวัวด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์โดยชีววิธีในพื้นที่ปลูกภาคใต้ โดยรวบรวมเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากวัสดุปลูก ใบพืชที่เป็นโรค และใบพืชปกติ ด้วยวิธี dilution plate บนอาหาร King's B และ Nutrient agar เก็บเชื้อแบคทีเรียได้ จำนวน 1,387 ไอโซเลท ทดสอบปฏิกิริยายับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae* คัดเลือกได้แบคทีเรียปฏิปักษ์ 18 ไอโซเลท จำแนกเป็นเชื้อ *Bacillus subtilis* เมื่อทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคโดยใช้กลุ่มเชื้อ 3 ไอโซเลท โดยกลุ่มเชื้อ B1128, B1317 และ B1348 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคได้ดีที่สุด โดยจะดำเนินการทดสอบในโรงเรือนต่อไป นอกจากนี้ Fernandez *et al.* (1989) แยกเชื้อจากเนื้อเยื่อด้านในของก้านใบหน้าวัวนำมาทดสอบพบว่า สามารถควบคุมโรคใบไหม้ได้ ต่อมารายงานของ Fernandez *et al.* (1990, 1991) พบว่าการควบคุมโรคใบไหม้หน้าวัวยังมีความผันแปรของประสิทธิภาพในการควบคุม ซึ่งต้องมีการวิจัยเพื่อปรับใช้ต่อไป

Fukui *et al.* (1999) แยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อเชื้อ *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae* จากน้ำเลี้ยงที่อยู่บริเวณท่อลำเลียง และจากน้ำที่พืชคายออกมาจากต่อมคายน้ำ พบว่ากลุ่มเชื้อแบคทีเรียที่แยกจากน้ำที่พืชคายออกมาจากต่อมคายน้ำ มีประสิทธิภาพในการควบคุมอาการโรคที่เกิดทางใบได้ จากการติดตามการเข้าทำลายพืชด้วยสายพันธุ์ bioluminescent พบว่าหลังพ่นเซลล์แขวนลอยของกลุ่มเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สามารถลดความรุนแรง ของการเข้าทำลายจากเชื้อบริเวณต่อมคายน้ำของพืชได้ และเมื่อพ่นเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์บนบาดแผลสามารถยับยั้งการเข้าทำลายพืชทางบาดแผลได้ แต่เมื่อทดสอบการใช้เชื้อแต่ละชนิดเดี่ยว ๆ ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *X. axonopodis* pv.*dieffenbachiae* ได้ Alvarez and Mizumoto (2001) จำแนกชนิดของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคไหม้หน้าวัว ที่แยกได้จากผิวใบพืช ประกอบด้วย *Sphingomonas chlorophenolica, Microbacterium testaceum, Brevundimonas veslcularis* และ *Herbaspirillum rubrisulbalbicans* ซึ่งจุลินทรีย์ทั้ง 4 ชนิด สามารถมีชีวิตรอดเจริญบนผิวใบพืชได้นานถึงสองเดือน ช่วยปกป้องพืชจากการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรค จากการพ่นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทุกสัปดาห์ พบว่าสามารถควบคุมโรคได้ 75 เปอร์เซ็นต์ Fujii *et al.* (2002) ทดสอบการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคร่วมกับการใช้พันธุ์พืชต้านทานจากการดัดแปลงพันธุกรรม พบว่าต้นหน้าวัวที่ดัดแปลงพันธุกรรมมีการปลดปล่อยสารเคมีเป็นโปรตีนที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย แต่ไม่มีผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้ง 4 ชนิด โดยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ช่วยให้ต้นหน้าวัวมีระบบรากและลำต้นที่สมบูรณ์แข็งแรง ออกดอกเร็ว ต้นโตสูง จำนวนใบและขนาดของใบใหญ่ขึ้น จากรายงานการศึกษาต่างๆของการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์นั้นสามารถนำมาเป็นแนวทางในการคัดเลือกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ควบคุมโรคใบไหม้หน้าวัวที่ดีมีประสิทธิภาพ ซึ่งในอนาคตจะได้พัฒนารูปแบบ ผลิตเป็นชีวภัณฑ์ที่ใช้สะดวกและปลอดภัยให้เกษตรกรใช้ต่อไป

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (แบคทีเรียปฏิปักษ์) ที่เก็บไว้ใน culture collections และแยกเก็บจากหน้าวัวและไม้ดอกไม้ประดับ ทั้งบริเวณผิวใบ (epiphyte) หรือแบคทีเรียที่เจริญในท่อลำเลียงพืชเป็น endophyte ทดสอบการควบคุมโรคในสภาพโรงเรือน และทดลองพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์สำหรับควบคุมโรคใบไหม้ของหน้าวัวในรูปแบบผงอัดเม็ดที่ละลายน้ำได้

วิธีดำเนินการและอุปกรณ์

1. การเลี้ยงและแยกแบคทีเรียปฏิปักษ์

การแยกแบคทีเรียปฏิปักษ์จากบริเวณผิวใบ (epiphyte) และท่อลำเลียงพืช (endophyte) โดยเก็บตัวอย่างพืชที่สมบูรณ์ไม่เป็นโรค ดังนี้ การแยกเชื้อจากบริเวณผิวใบ ตัดใบพืชใส่ในขวดน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ แช่ทิ้งไว้และเขย่าเป็นระยะ 30 นาที ทำการเจือจาง และเกลี่ยบนอาหาร NGA บ่มจานเลี้ยงเชื้อไว้ 24-48 ชั่วโมง แยกเก็บเชื้อที่โคโลนีสีขาวขุ่น ผิวด้าน ขอบหยัก นำไปเลี้ยงให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ ให้รหัสเชื้อและเก็บลงน้ำและบนอาหารเอียงเททับด้วยพาราฟิน เพื่อใช้ทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรค การแยกเชื้อจากท่อลำเลียง เลือกเก็บเชื้อที่เจริญอยู่ในท่อลำเลียงบริเวณเส้นใบ ก้านใบ หรือลำ

ต้น โดยล้างบริเวณผิวพืชด้วยคลอร็อก 10 เปอร์เซ็นต์ ล้างด้วยน้ำเปล่าตาม 2 ครั้ง นำตัวอย่างมาบดในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ และแช่ทิ้งไว้ 3-5 นาที นำไปเจือจาง และเกลี่ยบนอาหาร เช่นเดียวกับกรรมวิธีด้านบน จากการทดลองแยกเก็บเชื้อได้จากบริเวณผิวใบ และในท่อลำเลียงน้ำอาหารบริเวณก้านใบของหน้าวัว และกล้วยไม้ จำนวน 44 ไอโซเลท

เลี้ยงแบคทีเรียที่เก็บรวมรวบไว้ใน culture collection ของกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชแต่ละไอโซเลท โดยนำมาลากบนอาหาร Nutrient Glucose Agar ใช้ลูปแตะมาเลี้ยงต่อบนอาหารซ้ำให้ได้แบคทีเรียบริสุทธิ์ นำไปทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Xanthomonas axopodis* pv. *dieffenbachiae* สาเหตุโรคใบไหม้หน้าวัว ด้วยวิธี paper disc diffusion

ทดสอบการเจริญของแบคทีเรียบนอาหาร 3 ชนิด ได้แก่ NGA, NA (ไม่ใส่ กลูโคส) และ PSA ที่มีส่วนประกอบของน้ำต้มมันฝรั่ง เพื่อเลือกอาหารที่เหมาะสมสำหรับใช้เตรียมเชื้อทดสอบการควบคุมโรค และการพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์

2. คัดเลือกแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae*

คัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์แต่ละไอโซเลทที่เก็บรวมรวมจากข้อ 1 ด้วยวิธี paper disc diffusion โดยเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae* (Xad.) ทดสอบ 3 ไอโซเลท และแบคทีเรียปฏิปักษ์แต่ละไอโซเลท บนอาหาร NGA อายุ 24 ชั่วโมง นำแบคทีเรีย Xad. มาเตรียมเป็นเซลล์แขวนลอยเชื้อ โดยใช้เซลล์แบคทีเรีย 9 ลูปเต็มละลายในน้ำ 10 มล. จากนั้นใช้ไปเปตดูดเซลล์แขวนลอยเชื้อปริมาตร 5 มิลลิลิตร เติมลงในอาหารเหลว NGBที่หลอมและทิ้งให้อุ่นอุณหภูมิ ประมาณ 45 องศาเซลเซียส ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วเททับบนจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร NGA เทรองพื้นไว้บาง ๆ ทิ้งไว้ให้ผิวหน้าอาหารแห้ง (ประมาณ 2-3 ชั่วโมง) จากนั้นเตรียมเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ โดยขูดเชื้อแต่ละไอโซเลท 1 ลูปเต็มละลายในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นทดสอบโดยหยดเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์แต่ละไอโซเลทชิ้นละ 7 ไมโครลิตร (เปียกชุ่มแต่ไม่เยิ้ม) ลงบนกระดาษตาปลา (เตรียมจากกระดาษกรอง whatman no. 1 ที่วางซ้อนกัน 2 ชั้น แล้วตัดด้วยที่เจาะกระดาษ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อก่อนนำมาทดสอบ) จากนั้นใช้ปากคีบที่ลนไฟฆ่าเชื้อหยิบกระดาษที่หยดเซลล์แบคทีเรียทดสอบแต่ละไอโซเลทวางบนผิวหน้าอาหารผสมเชื้อ จำนวน 4 จุดต่อจานเลี้ยงเชื้อ ตรงกลางวางกระดาษที่หยดน้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อเพื่อเป็นการทดลองควบคุม (ภาพที่ 1) เก็บจานเลี้ยงเชื้อใส่ในถุงพลาสติก บ่มในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ตรวจผลหลังการทดสอบ 24, 48, 72 ชั่วโมง และ 7 วัน โดยวัดความกว้างเส้นรัศมีบริเวณส่วนใส (clear zone)

3. ทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคใบไหม้หน้าวัวในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง

ทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคใบไหม้หน้าวัว โดยเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียสาเหตุโรคที่คัดเลือกได้จากข้อที่ 2 ดังนี้

<u>เตรียมโรงเรือน</u> โรงเรือนทดสอบเป็นชั้นเหล็กยกสูงจากพื้นดินพื้นเป็นกระเบื้อง สูงกว่าพื้นประมาณ 60 เซ็นติเมตร ทำการกั้นแบ่งออกเป็นห้องด้วยพลาสติกใส สำหรับแต่ละกรรมวิธี และซ้ำแต่ละห้องมีขนาดประมาณ 10x15 นิ้ว ด้านข้างกั้นด้วยพลาสติกสูงประมาณ 2 ฟุต ป้องกันการกระเด็นของสารขณะพ่น ด้านบนมีพลาสติกที่สามารถขึงปิดเพื่อรักษาความชื้นหลังการปลูกเชื้อหรือขณะพ่นสารแต่ละกรรมวิธี โดยปกติจะเปิดออกเพื่อให้มีสภาพคล้ายกับโรงเรือนปลูกหน้าวัวทั่วไป

<u>เตรียมต้นหน้าวัว</u> ซื้อต้นหน้าวัวอายุประมาณ 4 เดือน มีใบประมาณ 6-8 ใบ ปลูกในกระถางดำขนาด 4 นิ้ว วัสดุปลูกเป็นกาบมะพร้าว นำมาเลี้ยงปรับสภาพการเจริญในโรงเรือนปลูกพืชทดลองที่มีตาข่ายดำพรางแสงด้านบนประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ รดน้ำและให้ปุ๋ยเม็ดละลายช้าออสโมโคส

<u>เตรียมแบคทีเรียปฏิปักษ์</u> โดยเลี้ยงแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลทที่คัดเลือกได้จากห้องปฏิบัติการในข้อ 2 บนอาหาร NGA บ่มเชื้อในตู้บ่มอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำมาเตรียมเป็นเซลล์แขวนลอยเชื้อด้วยน้ำกรอง ปรับความเข้มข้นมีความขุ่นประมาณ 0.2 OD ที่ A600 ซึ่งมีปริมาณเชื้อประมาณ 2x 10^8 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร นำเซลล์แขวนลอยเชื้อมาเจือจางและเกลี่ยบนอาหารเพื่อตรวจนับปริมาณเชื้อ เตรียมเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ใหม่ทุกครั้ง และพ่นแบคทีเรียปฏิปักษ์ทดสอบทุก 7 วัน เป็นเวลา 2 เดือน

<u>การพ่นแบคทีเรียปฏิปักษ์</u> เตรียมเชื้อตามกรรมวิธีต่าง ๆ ตามที่กำหนด ใส่ในกระบอกพ่นฝอยขนาด 0.5 ลิตร พ่นเป็นละอองฝอยทั่วต้นด้านบนใบและด้านใต้ใบ

ปี 2551 ทดสอบการควบคุมโรคในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง ระหว่างช่วงเวลาเดือนกรกฎาคมถึงกันยายน โดยใช้หน้าวัวพันธุ์อ่อนแอ 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์โรเซตตา และพันธุ์ทรอปิคอล วางแผนการทดลองแบบ CRD เป็น 10 กรรมวิธี ซ้ำละ 5 ต้น ทดสอบ *Bacillus* sp. แบบใช้ไอโซเลทเดี่ยว และแบบผสม โดยเลือกไอโซเลทจาก culture collection ผสมกับ *Bacillus* sp. ที่แยกจากใบหน้าวัว เปรียบเทียบกับการใช้ *Bacillus* sp. การค้า 1 ชนิด และการทดลองเปรียบเทียบไม่พ่นสาร ดังนี้

ในการทดลองเริ่มด้วยการพ่นแบคทีเรียปฏิปักษ์ 1 ครั้ง เพื่อเป็นการป้องกัน 24 ชั่วโมงต่อมาพ่นด้วยเซลล์แขวนลอยเชื้อสาเหตุโรค *X .axonopodis* pv. *dieffenbachiae* ที่เตรียมโดยเลี้ยงโคโลนีเดี่ยวของเชื้อ บนอาหาร NGA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาเตรียมเซลล์แขวนลอยเชื้อ ปรับความเข้มข้นให้มีเชื้อประมาณ 10^8 cfu/ml พ่นให้ทั่วใบหน้าวัวทุกต้นที่ทดสอบ หลังจากนั้นทำการทดสอบโดยพ่นแบคทีเรียปฏิปักษ์ ทุก ๆ 7 วัน ตรวจผลการเกิดโรค หากยังไม่พบการเกิดโรค ทำการปลูกเชื้อซ้ำ และพ่นเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ตามกรรมวิธีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1-8 เซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท 20W1, 1G7, 772(KA2), 20W4, 2G24, 20W1+KA2, 1G7+KA2 และ 2G24+KA2 ตามลำดับ

กรรมวิธีที่ 9 ชีวภัณฑ์ *Bacillus* spp. (Rotor®)

กรรมวิธีที่ 10 การทดลองเปรียบเทียบ น้ำเปล่า

ปี 2552 ทดสอบการควบคุมโรคในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง ระหว่างช่วงเวลาเดือนพฤษภาคม ถึงกรกฎาคม โดยใช้หน้าวัวพันธุ์โรซา วางแผนการทดลองแบบ RCB 10 กรรมวิธี จำนวน 3 ซ้ำ ๆ ละ 5 ต้น ประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1- 8 เซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท 1G7, 20W1, KA2, 1G7+KA2, 1G7+KA2+20W1, KA2+KA14+KA16, KA2+KA16 และ KA2+KA14 ตามลำดับ

กรรมวิธีที่ 9 สารเคมีกลุ่มสารประกอบคอปเปอร์ (บอร์โดมิกซ์เจอร์)

กรรมวิธีที่ 10 การทดลองเปรียบเทียบ น้ำเปล่า

ปี 2553 ทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคใบไหม้หน้าวัวในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง ระหว่างช่วงเวลาเดือนกรกฎาคมถึงกันยายน โดยการพัฒนาชีวภัณฑ์ผงอัดเม็ดฟู่ทดสอบเปรียบเทียบกับการใช้เซลล์แขวนลอยเชื้อที่เตรียมใหม่ทุกครั้ง ทดลองกับหน้าวัวพันธุ์โรซา วางแผนการทดลองแบบ RCB 7 กรรมวิธี จำนวน 3 ซ้ำ ๆ ละ 9 ต้น ประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1-3ชีวภัณฑ์ผงอัดเม็ดฟู่เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท 20W1, KA2 และ 20W1+ KA2 ตามลำดับ

กรรมวิธีที่ 4-6 เซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท 20W1, KA2 และ 20W1+ KA2 ตามลำดับ

กรรมวิธีที่ 7 การทดลองเปรียบเทียบ น้ำเปล่า

4. การพัฒนาชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp.

<u>การเตรียมแบคทีเรียปฏิปักษ์</u> เลี้ยงแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท 20W1 และ KA2 บนอาหาร NGA บ่มจานเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นใช้ลูปขูดเอาเฉพาะเซลล์ของแบคทีเรียที่เจริญบนผิวหน้าอาหาร เพื่อนำมาเตรียมเป็นชีวภัณฑ์

<u>ทดสอบสารประกอบชีวภัณฑ์เม็ดฟองฟู่</u> ทดสอบโดยการปรับสูตรของส่วนประกอบชีวภัณฑ์ที่ประกอบด้วยส่วนประกอบหลักคือ เซลล์ของแบคทีเรีย สารเพิ่มปริมาณ สารก่อฟองฟู่ สารหล่อลื่น และสารกันติด

<u>ทดสอบประสิทธิภาพการละลาย</u> โดยสุ่มชีวภัณฑ์ผงอัดเม็ดฟู่ จำนวน 3 เม็ด นำมาทดสอบการละลายในบิกเกอร์แก้วที่ใส่น้ำ 50 มิลลิลิตร จับเวลาในการละลาย สังเกตความใสของเซลล์แขวนลอยเชื้อที่ได้

<u>ทดสอบความมีชีวิตรอดของเชื้อ</u> นำตัวอย่างสารละลายชีวภัณฑ์ผงอัดเม็ดฟู่ มาทำการเจือจางไปเปตเชื้อ 100 ไมโครลิตร นำมาเกลี่ยบนอาหาร NGA จำนวน 3 ซ้ำ บ่มเชื้อในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 30

องศาเซลเซียส ตรวจนับปริมาณเชื้อหลังการบ่มเชื้อ เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง สุ่มตรวจนับปริมาณเชื้อจากชีวภัณฑ์ผงอัดเม็ดฟู่ทุกสัปดาห์ เป็นเวลา 2 เดือน

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2550 สิ้นสุด กันยายน 2553

สถานที่ดำเนินการ ห้องปฏิบัติการ และโรงเรือนปลูกพืชทดลอง กลุ่มวิจัยโรคพืช สอพ.

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การเลี้ยงและแยกแบคทีเรียปฏิปักษ์

แยกแบคทีเรียปฏิปักษ์จากผิวใบ จากท่อลำเลียงของหน้าวัว และกล้วยไม้ เนื่องจากเป็นพืชที่เพาะเลี้ยงในโรงเรือนภายใต้การพรางแสง มีอุณหภูมิและความชื้นคล้ายคลึงกัน ซึ่งจะช่วยในเรื่องของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สามารถปรับตัวและคงสภาพเจริญได้ดีได้เมื่อนำไปใช้ควบคุมโรค จากการทดลองแยกเก็บแบคทีเรียได้รวม 41 ไอโซเลท เป็นไอโซเลทจากหน้าวัว 31 ไอโซเลท โดยส่วนใหญ่แยกเก็บได้จากผิวใบ และ 10 ไอโซเลทแยกจากกล้วยไม้

เลี้ยงแบคทีเรียปฏิปักษ์ สกุล *Bacillus* จาก culture collection จำนวน 68 ไอโซเลท บนอาหาร NGA

เปรียบเทียบการเจริญของแบคทีเรียสกุล *Bacillus* บนอาหาร NGA, NA และ PSA พบว่าการเจริญบนอาหาร NGA มีการเจริญของแบคทีเรียที่ดีสม่ำเสมอกว่าบนอาหาร NA และบนอาหาร PSA แบคทีเรียที่ได้โคโลนีค่อนข้างเยิ้ม อาจเนื่องจากมีสารอาหารสมบูรณ์มากกว่าอาหารชนิดอื่น ๆ ในการทดลองครั้งนี้จึงเลือกเลี้ยงแบคทีเรียบนอาหาร NGA ตลอดการทดลอง

2. คัดเลือกแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae*

คัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์สกุล *Bacillus* spp. รวม 112 ไอโซเลท เป็นแบคทีเรียจาก culture collection จำนวน 70 ไอโซเลท และแบคทีเรียที่แยกเชื้อเก็บจากหน้าวัวและกล้วยไม้ในงานทดลองนี้ จำนวน 42 ไอโซเลท ในปีแรกทดสอบคัดเลือกกับเชื้อ *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae* ไอโซเลท P104 คัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการสร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียสาเหตุโรคได้ดี มีค่าเฉลี่ยวงรัศมีขนาด 5-9 มิลลิเมตร ได้แก่ ไอโลท 20W1, 1G7, KA2, 20W4, 2G24 (ตารางที่ 1, ภาพที่ 2) โดยสามารถควบคุมการเจริญของเชื้อได้นานกว่า 7 วัน โดยแบคทีเรียสาเหตุโรคไม่เจริญเข้ามาในบริเวณวงใสของบริเวณยับยั้ง ในปีต่อมาทดสอบคัดเลือกเพิ่มเติมโดยเลือกใช้ไอโซเลทที่ดีในปีแรก เปรียบเทียบกับแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลทที่เก็บรวบรวมเชื้อเพิ่มใหม่ คัดเลือกได้แบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญจองเชื้อสาเหตุโรค จำนวน 10 ไอโซเลท มีค่าเฉลี่ยรัศมีส่วนใส 5.0-9.5 มิลลิเมตร (ตารางที่ 1) จากนั้นทำการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคไอโซเลทที่แยกจากหน้าวัวในแหล่งปลูกต่างกัน ได้แก่ ไอโซเลท P061, P139 และ P256 จากผลการทดลองพบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียสาเหตุโรคได้ โดยมีรัศมีวงใสของการยับยั้งแตกต่างกันไป ดังนั้นในการทดลองควบคุมโรคใน

โรงเรือนจึงเลือกทดสอบแบคทีเรียปฏิปักษ์แบบไอโซเลทเดี่ยว และแบบใช้เชื้อผสมกันหลายไอโซเลท เพื่อให้มีประสิทธิภาพการควบคุมโรคกว้างหลายไอโซเลท โดยทดสอบการเข้ากันได้หรือการยับยั้งปฏิกิริยากันของแบคทีเรียปฏิปักษ์ ด้วยการนำเชื้อมาขีดตัดกันบนอาหารผสมเชื้อสาเหตุโรค แล้วบ่มจานเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ตรวจดูการเข้ากันได้ของเชื้อและปฏิกิริยาการสร้างบริเวณส่วนใสยับยั้งเชื้อสาเหตุโรค จากผลการทดสอบพบว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่เลือกนำมาผสมกันนั้นสามารถเจริญร่วมกันได้ โดยไม่มีปฏิกิริยายับยั้งการเจริญต่อกัน จึงนำไปทดสอบในสภาพโรงเรือนต่อไป

3. ทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคใบไหม้หน้าวัว ในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง

ปี 2551 ทดสอบการควบคุมโรคในโรงเรือนปลูกพืชทดลองโดยใช้หน้าวัวพันธุ์อ่อนแอ 2 พันธุ์ พบว่าการทดลองที่พ่นด้วย *Bacillus* sp. ทุก 7 วัน จำนวน 5 ครั้ง ตรวจผลหลังการพ่นแล้วจำนวน 3 ครั้ง และตรวจผลทุกสัปดาห์เป็นจำนวน 4 ครั้ง พบว่าการตรวจผล 2 ครั้งหลังหยุดพ่นแบคทีเรียปฏิปักษ์การเกิดโรครุนแรงขึ้น โดยสายพันธุ์ 1G7 ให้ผลในการควบคุมโรคได้ต่ำสุด 27% รองลงมาคือ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ 20W4, 2G24 และ20W1 ความรุนแรงในการเกิดโรคใกล้เคียงกัน คือ 31% โดยการทดลองเปรียบเทียบมีความรุนแรงในการเกิดโรคในระดับ 38% (ภาพที่ 4) จากการตรวจนับจำนวนต้นที่แข็งแรงมีการเจริญเติบโตดี พบว่ากรรมวิธีพ่นแบคทีเรีย 20W1 มีต้นเจริญสมบูรณ์ใกล้เคียงกับกรรมวิธีพ่นบาซิลลัสการค้า และมากกว่าการทดลองเปรียบเทียบถึง 60 เปอร์เซ็นต์

ปี 2552 ทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคใบไหม้หน้าวัว โดยพ่นติดต่อกันทุก 7 วันพบว่ากรรมวิธีการพ่นแบคทีเรียปฏิปักษ์ 1G7+KA2+20W1 ให้ผลการควบคุมโรคดีที่กว่ากรรมวิธีอื่น ๆ รองลงมาคือ 20W1 สำหรับการพ่นสารเคมีให้ประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้ดี แต่พบอาการเป็นพิษต่อพืชทำให้ใบยอดหงิกกระด้าง และอาจทำให้เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคดื้อต่อสารเคมี

ปี 2553 ทดสอบซ้ำโดยใช้เซลล์แขวนลอยเชื้อและชีวภัณฑ์ที่พัฒนาในรูปผงอัดเม็ดฟู่ เลือกใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท 20W1 และ KA2 ที่พัฒนาผลิตภัณฑ์เป็นผงอัดเม็ดฟู่เปรียบเทียบกับการพ่นเซลล์แขวนลอยเชื้ออายุ 48 ชั่วโมง จากการทดลองพบว่ากรรมวิธีพ่นเซลล์แขวนลอยเชื้อ KA2 รองมาคือ 20W1 และการพ่นชีวภัณฑ์ 20W1+KA2 ควบคุมโรคได้ดีกว่ากรรมวิธีอื่นและกรรมวิธีเปรียบเทียบ (ภาพที่ 5) แต่อย่างไรก็ดีพบว่าประสิทธิภาพในการควบคุมโรคค่อนข้างต่ำ เนื่องจากยังพบการเกิดโรคใกล้เคียงกับการทดลองเปรียบเทียบ และบางกรรมวิธีพบการเกิดโรคสูงกว่ากรรมวิธีเปรียบเทียบ ทั้งนี้แนวทางการควบคุมโรคโดยชีววิธีเป็นวิธีที่ดี แต่อาจต้องใช้ระยะเวลาในการหาปริมาณเชื้อ ปริมาณน้ำในการพ่นที่เหมาะสม ตลอดจนช่วงเวลาหรือระยะเวลาในการพ่นชีวภัณฑ์ควบคุมโรค ดังกล่าว ทั้งนี้อาจเนื่องจากการทดลองนี้ทดสอบในโรงเรือนที่หลังคาเป็นตาข่ายพรางแสงไม่สามารถกันฝนได้ และมักพบปัญหาฝนตกหลังการพ่นเชื้อปฏิปักษ์ ทำให้น้ำฝนชะเชื้อปฏิปักษ์ที่พ่นไว้บนใบหน้าวัวออกไป ประกอบกับสภาพอากาศช่วงเดือนสิงหาคมและกันยายนที่ทำการทดลองนี้ร้อนและมีความชื้นในอากาศค่อนข้างสูง เหมาะแก่การเกิดโรคทำให้การพัฒนาของโรคเป็นไปอย่างรวดเร็ว และการบันทึกข้อมูลคิดจากเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคจากพื้นที่ใบหน้าวัวที่แสดงอาการโรค

หน้าวัวบางต้นที่ใบมีอาการของโรคมาก ก้านใบเน่าช้ำเป็นสีน้ำตาล จนหลุดร่วงไป และบางต้นก็มีใบใหม่ขึ้นมา ทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคที่ตรวจวัดจากอาการบนใบที่อยู่บนต้นมีความผันแปรไปในบางสัปดาห์

จากการทดลองควบคุมโรคใบไหม้หน้าวัวในสภาพโรงเรือน ได้ทดสอบตรวจดูความสามารถในการเจริญบนใบหน้าวัว ตรวจนับปริมาณเชื้อที่เจริญบนผิวใบหน้าวัวที่ทดลองในแต่ละกรรมวิธี โดยสุ่มตัดใบนำมาแช่ในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อบนเครื่องเขย่า 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที นำมาเจือจางและเกลี่ยบนอาหาร NGA พบว่าหลังการพ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 5 ครั้ง สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์บนใบโดยสุ่มได้ในปริมาณค่อนข้างสูงโดยเฉลี่ยประมาณ 10^7 หน่วยโคโลนีต่อน้ำหนักใบพืช 1 กรัม โดยในกรรมวิธีที่พ่นสารเคมี ตรวจไม่พบแบคทีเรียบนใบหน้าวัวที่นำมาแยกตรวจเชื้อ

3. การพัฒนาชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp.

ผลการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์บนอาหาร NA NGA และ PSA พบว่าเชื้อที่เจริญบน NA จะมีผิวหน้าที่แห้งกว่าบน NGA และ PSA เชื้อที่เจริญบน PSA จะมีลักษณะค่อนข้างเยิ้ม เนื่องจากอาหารมีความสมบูรณ์มาก และเชื้อที่มีอายุ มากจะมีการสร้างสปอร์มากกว่าเชื้ออายุน้อย อาหารที่เหมาะสำหรับเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ให้ได้ปริมาณมากและมีการสร้างสปอร์ที่ดีได้แก่ NGA

การผลิตชีวภัณฑ์เม็ดฟองฟู่ของแบคทีเรียปฏิปักษ์ ดัดแปลงวิธีมาจากชีวภัณฑ์บาซิลลัสที่ใช้กำจัดน้ำเสียในโรงงานอุตสาหกรรม โดยใช้อัตราส่วนของสารสำคัญ คือเซลล์แบคทีเรีย 3.75 เปอร์เซ็นต์ สารเพิ่มปริมาณ ใช้แป้งมัน สารก่อฟองฟู่ ได้แก่ กรดซิตริก 33.5 เปอร์เซ็นต์ กรดฟูมาริก 7.5 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไบคาร์บอเนต 55.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และใช้แป้งทัลคัม เป็นสารกันติด โดยใช้แมกนีเซียมซัลเฟต และ CMC ในการเตรียมเซลล์แบคทีเรีย คลุกส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากันทั่วเป็นเนื้อเดียวกัน นำไปอัดเม็ดด้วยแม่พิมพ์ให้ได้ผงอัดเม็ดฟู่ น้ำหนักเม็ดละประมาณ 4 กรัม จัดวางในถาด นำไปอบให้แห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 6) ทิ้งไว้ข้ามคืน แพคเก็บไว้ในถุงพลาสติกที่แห้งปิดซองเพื่อป้องกันอากาศและความชื้น

ทดสอบประสิทธิภาพของผงอัดเม็ดฟู่ โดยสุ่มทดสอบการละลาย พบว่าเมื่อใส่ลงไปในน้ำ ชีวภัณฑ์เม็ดฟู่จะละลายแตกตัวได้หมดภายใน 30 วินาที ถึง 1 นาที ให้สารแขวนลอยสีขาวถึงเทาอ่อน ซึ่งนำไปเจือจางสำหรับพ่นควบคุมโรคได้ ทั้งนี้พบว่าความคงตัวในรูปเม็ดและความสามารถในการแตกตัวของเม็ดฟองฟู่ จะลดลงเมื่อเก็บไว้เป็นเวลานาน หรือเปิดปิดถุงบ่อย ๆ เนื่องจากส่วนประกอบที่ใช้ในสูตรชีวภัณฑ์สามารถดูดความชื้นได้ ทำให้เม็ดฟองฟู่ไม่จับกันเป็นเม็ดและสูญเสียความสามารถในการแตกตัวเมื่อเก็บไว้นานๆ ทั้งนี้อาจพัฒนารูปแบบการเก็บเหมือนกับชีวภัณฑ์กำจัดน้ำเสีย โดยแพคในฟลอย์ที่ซิลปิดแบบสุญญากาศ และแกะออกมาใช้หมดไปทีละเม็ด จะแก้ปัญหาความชื้นได้

เมื่อนำชีวภัณฑ์ผงอัดเม็ดฟู่มาทดสอบการมีชีวิตของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในเม็ดฟองฟู่ ทุกสัปดาห์ เป็นเวลา 2 เดือน ตรวจพบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สามารถมีชีวิตรอดสูงถึง 10^9 cfu/ml ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนดสำหรับชีวภัณฑ์เพื่อการค้า

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

คัดเลือกได้แบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียสาเหตุโรคใบไหม้หน้าวัว *X. axonopodisi* pv.*dieffenbachiae* จำนวน 10 ไอโซเลท ได้แก่ KA2 แยกเก็บจากใบน้าวัว ไอโซเลท 20W1 และ 1G7 เป็นแบคทีเรียจาก culture collection พบการเกิดบริเวณยับยั้งเป็นบริเวณวงใส (clear zone) รัศมีการยับยั้งเป็นบริเวณกว้าง 8.5-9.5 มิลลิเมตร ปี 2551 ทดสอบการควบคุมโรค โดยใช้หน้าวัวพันธุ์อ่อนแอ 2 พันธุ์ คือ โรเซตตา และทรอปิคอล พบว่ากรรมวิธีที่พ่นด้วย *Bacillus* sp. สายพันธุ์ 1G7 และ 1G7+KA2 ให้ผลในการควบคุมโรคได้ดีกว่ากรรมวิธีอื่น การทดลองปี 2552 บนหน้าวัวพันธุ์โรซ่า พบว่ากรรมวิธีการพ่นแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท 1G7+KA2+20W1 ให้ผลในการควบคุมโรคดีที่สุด รองลงมาคือ 20W1 ผลการทดลองปี 2553 แบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท 20W1 และ KA2 ที่พัฒนาผลิตภัณฑ์เป็นผงอัดเม็ดฟู่เปรียบเทียบกับการพ่นเซลล์แขวนลอยเชื้ออายุ 48 ชั่วโมง พบว่ากรรมวิธีพ่นเซลล์แขวนลอยเชื้อ 20W1 รองมาคือ KA2 และการพ่นชีวภัณฑ์ 20W1+KA2 ควบคุมโรคได้ดีกว่ากรรมวิธีอื่นและกรรมวิธีเปรียบเทียบ การพัฒนาวิธีการเตรียมแบคทีเรียปฏิปักษ์เป็นชีวภัณฑ์รูปผงอัดเม็ดฟู่ โดยผสมเซลล์แบคทีเรียปฏิปักษ์ ใส่สารเพิ่มปริมาณ สารก่อฟองฟู่ และสารกันติดแล้วอัดเป็นเม็ดสี่เหลี่ยม น้ำหนักเม็ดละประมาณ 4 กรัม โดยชีวภัณฑ์ผงอัดเม็ดฟู่ที่ได้สามารถแตกตัวในน้ำได้ดีภายใน 1 นาที มีอัตราการอยู่รอดของเชื้อสูง ใช้งานง่ายสะดวก สามารถนำไปพัฒนาชีวภัณฑ์สำหรับเกษตรกรทดสอบการควบคุมโรคในแปลงได้ โดยไม่ต้องเตรียมเชื้อสดทุกครั้ง

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบไหม้ของหน้าวัวในโรงเรือนไปทดสอบต่อในสภาพแปลงปลูกของเกษตรกร และปรับการใช้ให้เหมาะสม
2. ปรับปรุงรูปแบบชีวภัณฑ์ผงอัดเม็ดฟู่ วิธีการเก็บรักษาป้องกันความชื้นให้มีความคงตัว และนำไปให้เกษตรกรทดลองใช้ควบคุมโรค

เอกสารอ้างอิง

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์. 2548. โรคใบไหม้!! ปัญหาใหญ่ของหน้าวัว. ข่าวอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร 1(7):2.

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และ วงศ์ บุญสืบสกุล. 2550. สำรวจ รวบรวม จำแนก และประเมินความรุนแรงของแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* สาเหตุโรคใบไหม้หน้าวัว. ผลงานวิจัยเรื่องเต็มการประชุม สัมมนาวิชาการ อารักขาพืชเพื่อการผลิตสู้วิกฤตโลกร้อน. 21-23 สิงหาคม 2550.

เสมอใจ ชื่นจิตต์ วสันต์ เพชรรัตน์ และพรศิลป์ จันทวีเมือง. 2548. การประเมินการควบคุมโรคใบไหม้ของหน้าวัวด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์. รายงานก้าวหน้า การประเมินผลศัตรูธรรมชาติของแมลงศัตรูพืช และวัชพืชทางการเกษตรและสาธารณสุขที่สำคัญในประเทศไทย.
สืบค้นจาก http://conf.agi.nu.ac.th/nhc7/upload/abstract/abstract%20หน้าวัว1.doc [พฤศจิกายน 2551]

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

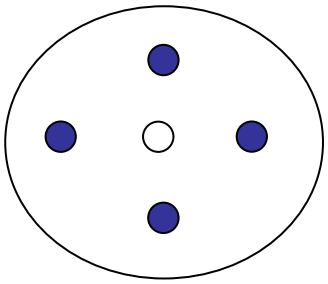
Fernandez, J. A., M. J. Tanabe, P. Moriyasu and B. Duffy. 1989. Biological control. Pages 27-29 in: Proc. Anthurium Blight Conf., 2nd. J.A. Fernandez and T. Nishijima, eds. Hawaii Inst. Trop. Agric. Human Res., University of Hawaii, Honolulu.

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

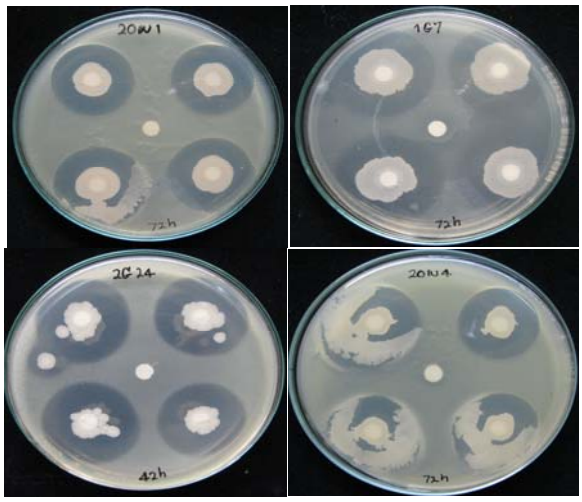
Fernandez, J. A., M. J. Tanabe, W. J. Wolff and P. Moriyasu. 1991. Biological control. Pages 28-30 in: Proc. Anthurium Blight Conf., 4th. A. M. Alvarez, D. C. Deardorff, and K. B. Wadsworth, eds. Hawaii Inst. Trop. Agric. Human Res., University of Hawaii, Honolulu.

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

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

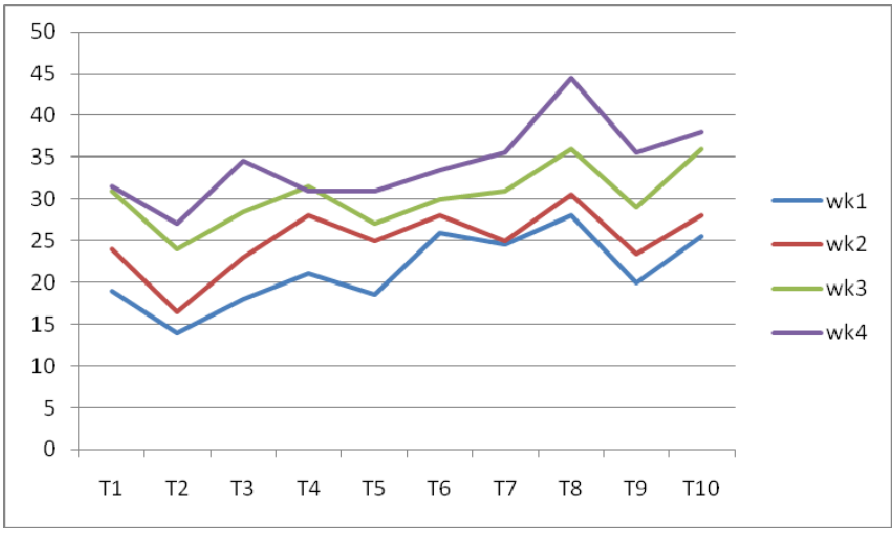


ภาพที่ 1 แสดงผังการวางกระดาษ เพื่อคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ กระดาษขาวตรงกลางหยดน้ำ และกระดาษสีน้ำเงินทั้งสี่จุดเป็นแบคทีเรียปฏิปักษ์

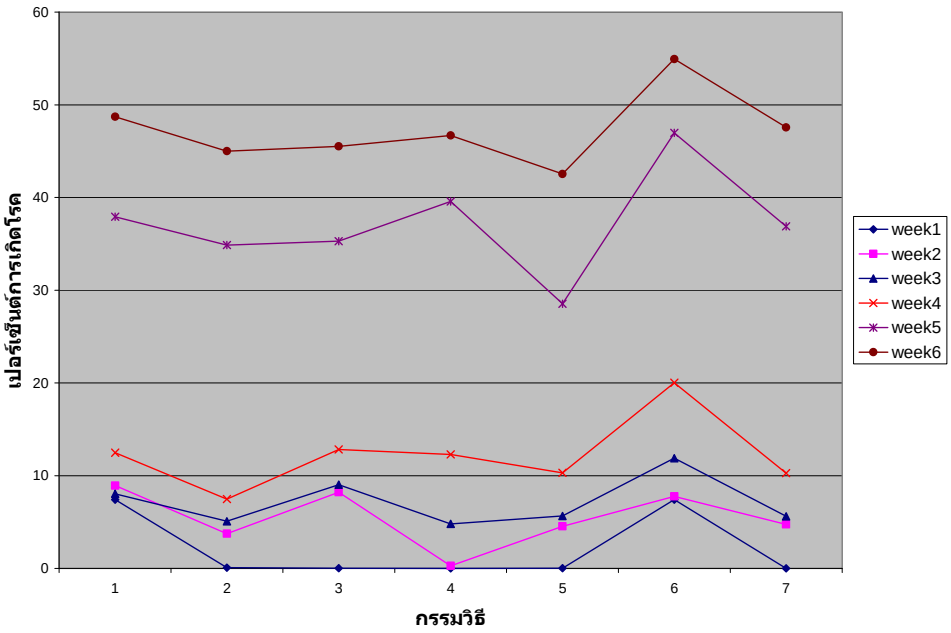


ภาพที่ 2 แสดงบริเวณวงใส (clear zone) จากการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* ด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์

ภาพที่ 3 แสดงผลการควบคุมโรคใบไหม้หน้าวัว ด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. ในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง (ปี 2551) : (ก) การทดลองเปรียบเทียบ (ข) แบคทีเรียปฏิปักษ์ ไอโซเลท 1G7 (ค) แบคทีเรียปฏิปักษ์ ไอโซเลท 20W4 (ง) แบคทีเรียปฏิปักษ์ ไอโซเลท 20W1



ภาพที่ 4 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของต้นหน้าวัวหลังจากพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในแต่ละสัปดาห์ (ปี 2551) ; T1,ไอโซเลท 20W1; T2, ไอโซเลท 1G7; T3, ไอโซเลท KA2 ; T4, ไอโซเลท 20W4 T5, ไอโซเลท 2G24 ; T6, ไอโซเลท 20W1 +KA2; T7, แบคทีเรียไอโซเลท 1G7+KA2 T8, ไอโซเลท 2G24 +KA2; T9, Rotor® ; T10, การทดลองเปรียบเทียบ น้ำเปล่า



ภาพที่ 5 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของต้นหน้าวัวหลังจากพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในแต่ละสัปดาห์ (ปี 2553) : (1) ชีวภัณฑ์ผงอัดเม็ดฟู่ไอโซเลท 20W1 (2) ชีวภัณฑ์ผงอัดเม็ดฟู่ไอโซเลท KA2 (3) ชีวภัณฑ์ผงอัดเม็ดฟู่ไอโซเลท 20W1+ KA2 (4) เซลล์แขวนลอยเชื้อไอโซเลท 20W1 (5) เซลล์แขวนลอยเชื้อไอโซเลท KA2 (6) เซลล์แขวนลอยเชื้อไอโซเลท 20W1+KA (7) การทดลองเปรียบเทียบน้ำเปล่า

ภาพที่ 6 แสดงการผสมแบคทีเรียปฏิปักษ์และสารเคมี ผงเชื้อที่ได้ก่อนอัดเม็ด และผงอัดเม็ดฟู่แบคทีเรียปฏิปักษ์

<u>ตารางที่ 1</u> แสดงค่าเฉลี่ยรัศมีส่วนใสบริเวณที่แบคทีเรียปฏิปักษ์ยับยั้งการเจริญเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* สาเหตุโรคใบไหม้หน้าวัว
ไอโซเลท 256 ด้วยวิธี paper disc diffusion ที่มีประสิทธิภาพสูงสุด จำนวน 10 ไอโซเลท

ลำดับที่	ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยรัศมีส่วนใส (มิลลิเมตร)	แหล่งที่มาของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์
1	KA2	9.5	ใบหน้าวัว
2	20W1	8.5	Culture collection
3	1G7	8.5	Culture collection
4	KA16	8.0	ก้านใบหน้าวัว
5	20W4	7.5	Culture collection
6	2G24	7.5	Culture collection
7	PA12	6.5	ใบกล้วยไม้
8	KA31	5.5	ใบหน้าวัว
9	SA8	5.5	ใบหน้าวัว
10	KA14	5.0	เส้นใบหน้าวัว

ค่าเฉลี่ยรัศมีส่วนใส คำนวณจากการทดสอบ 8 ซ้ำ

สำรวจและรวบรวมเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ควบคุมแมลงศัตรูพืช

Survey, Collection and Identification of *Bacillus thuringiensis*

อิศเรส เทียนทัด ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ อัจฉรา ตันติโชดก
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ทำการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างดินจากจังหวัดต่างๆ ทั่วประเทศไทย โดยเก็บตัวอย่างดินในภาคตะวันออกเฉียงเหนือจากจังหวัดนครราชสีมา ชัยภูมิ ขอนแก่น อุดรธานี หนองคาย หนองบัวลำภู สระแก้วและสระบุรี จำนวน 523 ตัวอย่าง ได้เชื้อ Bt isolate จำนวน 664 isolates ภาคตะวันตกจากจังหวัดกาญจนบุรี เพชรบุรีและราชบุรี จำนวน 71 ตัวอย่าง ได้เชื้อ Bt isolate จำนวน 114 isolates ภาคกลางจากจังหวัดนครปฐม อุทัยธานี สุพรรณบุรี ลพบุรีและนครนายก จำนวน 117 ตัวอย่าง ได้เชื้อ Bt isolate จำนวน 75 isolates ภาคใต้จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี ชุมพร ระนอง พังงาและภูเก็ต จำนวน 51 ตัวอย่าง ได้เชื้อ Bt isolate จำนวน 39 isolates ภาคเหนือจากจังหวัดเชียงใหม่ เพชรบูรณ์และตาก จำนวน 164 ตัวอย่าง ได้เชื้อ Bt isolate จำนวน 252 isolates รวมได้ตัวอย่างดินทั้งหมด 926 ตัวอย่าง พบเชื้อ Bt isolate ทั้งหมด 1,144 isolates จากนั้นนำเชื้อ Bt isolate ที่แยกได้จากตัวอย่างดินทั้งหมดมาทำการทดสอบประสิทธิภาพ (insecticidal activity) กับหนอนกระทู้หอมและหนอนกระทู้ผัก พบ Bt isolate ที่สามารถทำให้หนอนกระทู้หอมตายได้ 80 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป มีจำนวน 49 isolates โดยเป็นเชื้อ Bt isolate ที่ได้จากจังหวัดเชียงใหม่จำนวน 4 isolates จากจังหวัดหนองคาย 1 isolate จากจังหวัดนครนายก 4 isolates จากจังหวัดนครราชสีมา 15 isolates จากจังหวัดสระแก้ว 4 isolates จากจังหวัดสระบุรี 4 จากจังหวัดตาก 5 isolates และจากจังหวัดอุดรธานี จำนวน 7 isolates และจากเชื้อ Bt isolate จำนวน 1,144 isolates เมื่อนำมาทดสอบกับหนอนกระทู้ผัก พบ Bt isolate ที่สามารถทำให้หนอนกระทู้ผักตายได้ 80 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป มีจำนวน 104 isolates โดยเป็นเชื้อ Bt isolate ที่ได้จากจังหวัดชุมพร 2 isolates จากจังหวัดชัยภูมิ 2 isolates จากจังหวัดขอนแก่น 5 isolates จากจังหวัดลพบุรี 1 isolate จากจังหวัดหนองคาย 9 isolates จากจังหวัดนครราชสีมา 31 isolates จากจังหวัดเพชรบุรี 29 isolates จากจังหวัดภูเก็ต 2 isolates จากจังหวัดราชบุรี 3 isolates จากจังหวัดสระแก้ว 2 isolates จากจังหวัดสระบุรี 2 isolates จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี 2 isolates และจากจังหวัดอุดรธานี 14 isolates

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 ปริมาณพิษตกค้างบนผลิตภัณฑ์มักพบว่าสูงเกินค่าความปลอดภัยอยู่เสมอเป็นผลให้ผลิตภัณฑ์ไม่ได้คุณภาพตามที่ต้องการ ทำให้ไม่สามารถส่งออกไปจำหน่ายต่างประเทศได้ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ได้ดำเนินการที่จะลดปัญหาดังกล่าวโดยการห้ามการจำหน่ายสารฆ่าแมลงที่มีฤทธิ์รุนแรงและมีฤทธิ์ตกค้างนาน ให้มีการตรวจสอบและออกใบรับรองพืช 12 ชนิด ที่พบว่ามีพิษตกค้างสูงก่อนที่จะส่งออกไปต่างประเทศ เพื่อลดปัญหาดังกล่าวการค้นคว้าวิจัยและพัฒนาเพื่อนำเชื้อจุลินทรีย์มาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชทดแทนสารเคมีกำจัดแมลง จึงเป็นสิ่งที่จำเป็น เพื่อให้เกษตรกรได้มีทางเลือกนำไปใช้ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช เชื้อ *Bacillus thuringiensis* เป็นจุลินทรีย์ที่พบในประเทศไทย มีความเฉพาะเจาะจงสูงต่อแมลงเป้าหมาย ปลอดภัยต่อมนุษย์ สัตว์ แมลงศัตรูธรรมชาติและแมลงที่มีประโยชน์และต่อสิ่งแวดล้อม ได้ผ่านการทดสอบจาก US Environmental Protection Agency ประเทศสหรัฐอเมริกาและเป็นที่ยอมรับและนำไปใช้ในประเทศที่พัฒนาแล้ว การนำเชื้อ *Bacillus thuringiensis* จะช่วยแก้ปัญหาผลกระทบของสารเคมีกำจัดแมลงต่อประชาชน ทำให้เกษตรกรสามารถนำไปใช้เพื่อผลิตพืชที่ได้คุณภาพผลผลิตไม่ลดลงและต้นทุนการผลิตไม่เพิ่มขึ้น

ในปัจจุบันจากการค้นคว้าวิจัยแบคทีเรียสกุล *Bacillus* พบว่าสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชได้ดีที่สุด และพัฒนาผลิตภัณฑ์ให้อยู่ในรูปของจุลินทรีย์ที่ควบคุมแมลงศัตรูพืช (microbial insecticide) ได้ เช่น เชื้อ *Bacillus sphaericus* สร้างสารพิษที่ผนังเซลล์ซึ่งเป็นพิษกับลูกน้ำยุงวงศ์ Culicidae เชื้อ *Bacillus popiliae* ทำให้เกิดโรคกับ Japanese beetle grub โดยเชื้อทำให้ตัวอ่อนของด้วงเป็นโรค มีลำตัวสีขาวขุ่นและตายในลักษณะที่เรียกว่า milky disease เชื้อ *Bacillu moritai* ทำให้เกิดโรคกับแมลงในอันดับ Diptera เช่น แมลงวันบ้าน เชื้อ *Bacillus thuringiensis* ที่ใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจหลายชนิด เช่น หนอนใยผัก หนอนกระทู้หอม เป็นต้น เชื้อแบคทีเรียในสกุล *Bacillus* จัดเป็นเชื้อจุลินทรีย์โรคแมลงที่มีการค้นคว้ามากที่สุด และมีการผลิตนำไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชหลายชนิดทั่วโลก คือ *Bacillus thuringiensis* เนื่องจากเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่มีการค้นพบและได้แสดงศักยภาพในการควบคุมแมลงศัตรูพืชมานานแล้ว มีคุณลักษณะครบถ้วนทุกประการเหมาะกับการเป็น microbial insecticide เชื้อแบคทีเรีย *B. thuringiensis* หรือเชื้อ Bt เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ในกลุ่ม endospore forming rods and cocci อยู่ในสกุล *Bacillus* วงศ์ Bacillaceae (ดวงพร, 2537) เซลล์มีรูปร่างแบบแท่ง ยาว 3-5 ไมครอน (Bajwa and Kogan, 2005) ถ้านำมาเลี้ยงบนจานเพาะเชื้อ ลักษณะโคโลนี (colony) มีสีขาวขุ่น

ขนาดของโคโลนีค่อนข้างใหญ่ (5-10 มิลลิเมตร) ผิวหน้าไม่เรียบและไม่เป็นมัน (อัจฉรา, 2544) เชื้อ Bt พบได้ทั่วไปในสภาพธรรมชาติ เช่น ในดิน ซึ่งตามปกติอยู่ในรูปของสปอร์ ถ้ามีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมจะเจริญเติบโตต่อไปอยู่ในระยะ vegetative นอกจากนี้ยังสามารถพบเชื้อได้บนพืช ในน้ำ ในมูลสัตว์ (Porcar and Caballero, 2000) รวมทั้งในแมลงที่ตายแล้วหรือใกล้ตายอีกด้วย (Travers *et al*., 1987) แต่จากการศึกษาของ Theunis *et al*. (1998) พบว่า จะพบเชื้อ Bt พบอยู่ในดินมากที่สุด โดยเฉพาะในเนื้อดินที่มีอินทรีย์วัตถุสูง นอกจากดินที่เก็บรวบรวมจากแหล่งต่าง ๆ มักมีจำนวน Bt isolates แตกต่างกันอาศัยร่วมกันอย่างหลากหลาย ซึ่งดินในทวีปเอเชียจะมีจำนวน Bt isolates มากกว่าดินในทวีปอื่น ๆ (Martin and Travers, 1989) Bt จัดเป็นจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพสูง สามารถใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ และแมลงสาธารณสุขบางชนิด ในอันดับ Lepidoptera เช่น หนอนกระทู้หอม หนอนใยผัก หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนกินใบปาล์ม เป็นต้น อันดับ Coleoptera เช่น ด้วงหมัดผัก และ อันดับ Diptera เช่น ยุง เป็นต้น (อัจฉรา, 2544) จากความรู้และข้อมูลพื้นฐานดังกล่าวทำให้นักวิจัยจากหลายประเทศทำการศึกษารวบรวมเชื้อ Bt จากแหล่งต่าง ๆ เพื่อให้ได้ Bt สายพันธุ์ใหม่ที่มีความสามารถในการผลิตผลึกโปรตีนได้หลายชนิด และมีประสิทธิภาพในการฆ่าแมลงได้หลากหลายไปพร้อมกัน ดังเช่นจากการศึกษาของ Lee *et al*. (2001) พบว่า Bt ที่แยกออกจากดินในประเทศสาธารณรัฐเกาหลีบาง isolate มีการสร้างผลึกโปรตีนขึ้นหลายชนิด มีความเป็นพิษสูง ต่อหนอนกระทู้หอมและรวมทั้งลูกน้ำยุง *Culex pipiens* ด้วย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ถุงพลาสติกเก็บตัวอย่าง
2. ตู้เขี่ยเชื้อ
3. อาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient broth และ nutrient agar
4. หนอนกระทู้หอม
5. หนอนกระทู้ผัก

วิธีการ

1. การเก็บตัวอย่างดินและการแยกเชื้อออกจากตัวอย่างดิน

1.1 การสำรวจและเก็บตัวอย่าง

ทำการสำรวจสุ่มเก็บตัวอย่างดินด้วยวิธี simple random sampling จากพื้นที่ที่ไม่ได้ทำการเกษตรในแหล่งต่าง ๆ ตามธรรมชาติของประเทศไทย โดยทำการเก็บตัวอย่างดินด้วยวิธีของ Attathom *et al*. (1996) โดยเก็บดินที่ความลึก 3-5 เซนติเมตรจากผิวหน้าดิน และบรรจุในถุงพลาสติกที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว บันทึกวันและสถานที่เก็บตัวอย่าง จากนั้นนำตัวอย่างดินมาเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำดินเพื่อไปศึกษาในขั้นตอนต่อไป

1.2. การแยกเชื้อออกจากตัวอย่างดิน

ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียออกจากเชื้ออื่นที่ปะปนอยู่ในดิน โดยนำตัวอย่างดินจำนวน 1 กรัม ผสมน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 9 มิลลิลิตร ภายในหลอดทดลองที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว (sterile distilled water) ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง mixer นาน 5 นาที เพื่อให้เชื้อจุลินทรีย์กระจายตัวและแยกชั้นออกจากดิน จากนั้นตั้งทิ้งไว้ 20 นาที เพื่อให้ดินตกตะกอน แล้วเทน้ำใสที่อยู่ส่วนบนใส่ในหลอดทดลองหลอดใหม่ นำไปแช่ในอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ก็จะได้สารละลายดิน นำสารละลายดินมาเจือจางลง 10 เท่า (serial dilution) ด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วในอัตราส่วน 9:1 โดยใช้น้ำกลั่นจำนวน 1.8 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายดินจำนวน 0.2 มิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางให้ได้ความเข้มข้นจนได้สารละลายดินที่ความเข้มข้น 10^{-3}, 10^{-4} และ 10^{-5} ตามลำดับ สำหรับทำการ spread plate เพื่อแยกเชื้อต่อไป เตรียมอาหารวุ้นสำหรับการ spread plate โดยใช้ nutrient agar อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 1,000 มิลลิลิตร นำมาฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน15ปอนด์ต่อตารางนิ้วนาน 15นาที แล้วเทใส่ในจานแก้ว (petri dish) อาหารเลี้ยงเชื้อ เก็บไว้ใน incubator ปล่อยให้ผิวหน้าอาหารแห้งจึงจะนำไปใช้ จากนั้นนำสารละลายดินที่ระดับความเข้มข้น 10^{-3}, 10^{-4} และ 10^{-5} มาทำการ spread plate โดยหยดสารละลายดินจำนวน 100 ไมโครลิตร ลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ เกลี่ยด้วยแท่งแก้ว และนำไปบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการเลือกเก็บกลุ่มเชื้อ (colony) ที่มีลักษณะขาวขุ่น ขนาดใหญ่ ผิวหน้าโคโลนีด้านไม่เป็นมันวาว และมีขอบไม่เรียบ ซึ่งเป็นลักษณะของโคโลนีเชื้อ Bt บันทึกผลจำนวนเชื้อ Bt isolate ที่ได้ในแต่ละตัวอย่างดินที่เก็บมา จากนั้นนำกลุ่มเชื้อที่แน่ใจว่าเป็นเชื้อ Bt เขี่ยลงในหลอดอาหารเอียง (slant agar) และนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เพื่อเตรียมทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและทดสอบประสิทธิภาพต่อไป

2. การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อ Bt isolate

ใช้วิธีการทดสอบประสิทธิภาพ (insecticidal activity) เพื่อทำการคัดเลือกเชื้อ Bt isolate ที่สามารถฆ่าหนอนได้ โดยทำการทดสอบด้วยวิธีการ diet plug method โดยทำการทดสอบ isolate ละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 10 ตัว โดยเลี้ยงเชื้อ Bt isolate บนอาหารแข็งเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้ว ทำการผสมเชื้อ Bt isolate ปริมาณ 4 loopfull ต่อน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ทำการเจาะอาหารเทียมเลี้ยงแมลงด้วยที่เจาะจุกคอร์กเบอร์ 1 ให้มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3.5 มิลลิเมตร สูง 3 มิลลิเมตร วางบนจานอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นหยดสารละลายเชื้อ Bt ที่เตรียมไว้ลงบนก้อนอาหารเทียม ก้อนละ 5 ไมโครลิตร และตั้งทิ้งไว้ให้แห้ง คัดเลือกหนอนวัย 2 ที่มีขนาดใกล้เคียงกัน และปล่อยให้อดอาหารประมาณ 1 ชั่วโมง เพื่อเตรียมไว้สำหรับทำการทดสอบ หลังจากนั้นนำอาหารเทียมที่หยดเชื้อแล้วใส่ในหลอดพลาสติกขนาด 3 มิลลิลิตร พร้อมทั้งเขี่ยหนอนทดลอง ลงในหลอด หลอดละ 1 ตัว จากนั้นบันทึกผลการตายทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 7 วัน

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การเก็บตัวอย่างดินและการแยกเชื้อออกจากตัวอย่างดิน

ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างดินจากแหล่งต่างๆ ทั่วประเทศ โดยเก็บอยู่ในถุงพลาสติกเก็บตัวอย่าง (ภาพ 1) จากนั้นทำการแยกเชื้อ Bt ออกจากตัวอย่างดินด้วยวิธี spread plate คัดเลือกโคโลนีที่ขึ้นบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีลักษณะขนาดใหญ่ ผิวหน้าโคโลนีด้านไม่เป็นมันวาว และมีขอบไม่เรียบ ซึ่งเป็นลักษณะของเชื้อ Bt (ภาพ 2) จากนั้นนำ โคโลนีที่คัดเลือกได้มาตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาด้วยของเชื้อด้วยการตรวจสอบใต้กล้องจุลทรรศน์ ซึ่งถ้าเป็นเชื้อ Bt จะพบเซลล์ที่มีรูปร่างเป็นท่อนตรง มีผลึกโปรตีน และสปอร์อยู่ภายในเซลล์ (ภาพ 3) จากนั้นนำโคโลนีของเชื้อ Bt ที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี streak plate เก็บส่วนหนึ่งไว้ใน slant agar เพื่อใช้สำหรับศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและทดสอบประสิทธิภาพในการฆ่าหนอน จากตาราง 1 ได้ทำการเก็บตัวอย่างดินในภาคตะวันออกเฉียงเหนือจำนวน 8 จังหวัด ได้ตัวอย่างดินทั้งหมด 523 ตัวอย่าง เมื่อนำมาแยกเชื้อ Bt ได้ 664 isolates ซึ่งสามารถแยกเชื้อ Bt ออกตัวอย่างดินได้ 7 จังหวัดคือ นครราชสีมา ชัยภูมิ อุดรธานี ขอนแก่นหนองคาย สระแก้วและสระบุรี โดยที่จังหวัดหนองบัวลำภูไม่พบเชื้อ Bt อยู่ในตัวอย่างดินที่เก็บ จากตาราง 2 ได้ทำการเก็บตัวอย่างดินในภาคตะวันตกจำนวน 3 จังหวัด ได้ตัวอย่างดินทั้งหมด 71 ตัวอย่าง เมื่อนำมาแยกเชื้อ Bt ได้ 114 isolates ซึ่งสามารถแยกเชื้อ Bt ได้ทุกจังหวัดคือ กาญจนบุรี เพชรบุรีและราชบุรี ในตาราง 3 ได้ทำการเก็บตัวอย่างดินในภาคกลาง จำนวน 5 จังหวัด ได้ตัวอย่างดินทั้งหมด 117 ตัวอย่าง เมื่อนำมาแยกเชื้อ Bt ได้ 75 isolates ซึ่งสามารถแยกเชื้อ Bt ได้ 2 จังหวัดคือ ลพบุรีและนครนายก ส่วนอีก 3 จังหวัดไม่พบเชื้อ Bt อยู่ในตัวอย่างดินคือ นครปฐม อุทัยธานีและสุพรรณบุรี จากตาราง 4 ได้ทำการเก็บตัวอย่างดินในภาคใต้ จำนวน 5 จังหวัด ได้ตัวอย่างดินทั้งหมด 51 ตัวอย่าง เมื่อนำมาแยกเชื้อ Bt ได้ 39 isolates ซึ่งสามารถแยกเชื้อ Bt ได้ 4 จังหวัดคือ สุราษฎร์ธานี ชุมพร พังงาและภูเก็ต โดยที่จังหวัดระนองไม่พบเชื้อ Bt อยู่ในตัวอย่างดิน และได้ทำการเก็บตัวอย่างดินในภาคเหนือจำนวน 3 จังหวัด คือ เชียงใหม่ เพชรบูรณ์และตาก ได้ตัวอย่างดินทั้งหมด 164 ตัวอย่าง เมื่อนำมาแยกเชื้อ Bt ได้ 252 isolates ซึ่งสามารถแยกเชื้อ Bt ได้ 2 จังหวัดคือ เชียงใหม่และตาก ส่วนจังหวัดเพชรบูรณ์ไม่พบเชื้อ Bt อยู่ในตัวอย่างดิน (ตาราง 5) และจากการเก็บตัวอย่างดินในจังหวัดต่างๆ ทั่วประเทศ จำนวน 926 ตัวอย่าง ได้เชื้อ Bt isolate ทั้งหมด 1,144 isolates เมื่อนำจำนวน Bt isolate และจำนวนตัวอย่างดินมาหาอัตราส่วนกัน พบว่าตัวอย่างดินที่เก็บมาจากจังหวัดอุดรธานีมีอัตราส่วนจำนวน Bt isolate ต่อจำนวนตัวอย่างดินมากที่สุด มีอัตราส่วนเท่ากับ 4.18 ซึ่งแสดงว่าในตัวอย่างดิน 1 ตัวอย่างจะพบเชื้อ Bt 4.18 isolates และจังหวัดที่มีอัตราส่วนจำนวน Bt isolate ต่อจำนวนตัวอย่างดิน มากกว่า 2 คือจังหวัดนครราชสีมา เพชรบุรี ภูเก็ตและหนองคาย ซึ่งมีอัตราส่วนเท่ากับ 3.17, 2.97, 2.75 และ 2.00 ตามลำดับ (ตาราง 6)

จากตัวอย่างดินที่เก็บมาจากในจังหวัดต่าง ๆ พบว่า ดินที่มีลักษณะร่วนซุย ในเนื้อดินมีอินทรีย์วัตถุอยู่สูง จะสามารถทำการแยกเชื้อ Bt ออกมาได้มาก ส่วนดินเหนียวหรือดินปนทรายจะพบ

เชื้อ Bt อยู่น้อยมากหรือไม่พบเลย และลักษณะดินที่ไม่สามารถแยกเชื้อ Bt ออกมาได้ เป็นดินลูกรัง หรือดินที่มีหินปะปนอยู่มากและเนื้อดินแห้งมีความชื้นอยู่ในเนื้อดินต่ำมาก ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของเพ็ญลักษณ์ และคณะ (2546) และ Theunis *et al*. (1998) ซึ่งพบว่า สามารถแยกเชื้อ Bt ได้มาจากดินที่มีความอุดมสมบูรณ์สูง ในทำนองเดียวกัน Martin and Travers (1989) ได้รายงานว่า สภาพพื้นที่ที่มีลักษณะเป็นหาดทราย ทะเลทราย หรือดินที่อยู่ในชั้นดินลึก ๆ พบ Bt ได้น้อยมาก

2. การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อ Bt isolate

จากการทดสอบประสิทธิภาพ (insecticidal activity) โดยทำการทดสอบด้วยวิธีการ diet plug method ทำการทดสอบกับหนอนกระทู้หอมและหนอนกระทู้ผักวัย 2 พบว่าจากการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อ Bt isolate ที่ได้จำนวน 1,144 isolates พบ Bt isolate ที่สามารถทำให้หนอนกระทู้หอมตายได้ 80 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป มีจำนวน 49 isolates โดยเป็นเชื้อ Bt isolate ที่ได้จากจังหวัดเชียงใหม่จำนวน 4 isolates จากจังหวัดหนองคาย 1 isolate จากจังหวัดนครนายก 4 isolates จากจังหวัดนครราชสีมา 15 isolates จากจังหวัดสระแก้ว 4 isolates จากจังหวัดสระบุรี 4 จากจังหวัดตาก 5 isolates และจากจังหวัดอุดรธานี จำนวน 7 isolates (ตาราง 7) และจากเชื้อ Bt isolate จำนวน 1,144 isolatesเมื่อนำมาทดสอบกับหนอนกระทู้ผัก พบ Bt isolate ที่สามารถทำให้หนอนกระทู้ผักตายได้ 80 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป มีจำนวน 104 isolates โดยเป็นเชื้อ Bt isolate ที่ได้จากจังหวัดชุมพร 2 isolates จากจังหวัดชัยภูมิ 2 isolates จากจังหวัดขอนแก่น 5 isolates จากจังหวัดลพบุรี 1 isolate จากจังหวัดหนองคาย 9 isolates จากจังหวัดนครราชสีมา 31 isolates จากจังหวัดเพชรบุรี 29 isolates จากจังหวัดภูเก็ต 2 isolates จากจังหวัดราชบุรี 3 isolates จากจังหวัดสระแก้ว 2 isolates จากจังหวัดสระบุรี 2 isolates จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี 2 isolates และจากจังหวัดอุดรธานี 14 isolates (ตาราง 8)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างดินจากจังหวัดต่างๆ ทั่วประเทศไทย โดยเก็บตัวอย่างดินในภาคตะวันออกเฉียงเหนือจากจังหวัดนครราชสีมา ชัยภูมิ ขอนแก่น อุดรธานี หนองคาย หนองบัวลำภู สระแก้วและสระบุรี จำนวน 523 ตัวอย่าง ได้เชื้อ Bt isolate จำนวน 664 isolates ภาคตะวันตกจากจังหวัดกาญจนบุรี เพชรบุรีและราชบุรี จำนวน 71 ตัวอย่าง ได้เชื้อ Bt isolate จำนวน 114 isolates ภาคกลางจากจังหวัดนครปฐม อุทัยธานี สุพรรณบุรี ลพบุรีและนครนายก จำนวน 117 ตัวอย่าง ได้เชื้อ Bt isolate จำนวน 75 isolates ภาคใต้จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี ชุมพร ระนอง พังงาและภูเก็ต จำนวน 51 ตัวอย่าง ได้เชื้อ Bt isolate จำนวน 39 isolates ภาคเหนือจากจังหวัดเชียงใหม่ เพชรบูรณ์และตาก จำนวน 164 ตัวอย่าง ได้เชื้อ Bt isolate จำนวน 252 isolates รวมได้ตัวอย่างดินทั้งหมด 926 ตัวอย่าง พบเชื้อ Bt isolate ทั้งหมด 1,144 isolates จากนั้นนำเชื้อ Bt isolate ที่แยกได้จากตัวอย่างดินทั้งหมดมาทำการทดสอบประสิทธิภาพ (insecticidal activity) กับหนอนกระทู้หอมและหนอนกระทู้ผัก พบ Bt isolate ที่สามารถทำให้หนอนกระทู้หอมตายได้ 80 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป มีจำนวน 49 isolates และเมื่อนำมาทดสอบกับหนอนกระทู้ผัก พบ Bt isolate ที่สามารถทำให้หนอนกระทู้ผักตายได้ 80 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป มีจำนวน 104 isolates

เอกสารอ้างอิง

ดวงพร คันธโชติ. 2537. อนุกรมวิธานของแบคทีเรียและปฏิบัติการ. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ. 202 หน้า.

เพ็ญลักษณ์ ชูดี, อัจฉรา ตันติโชดก และอุทัย เกตุนุติ. 2546. การจำแนกเชื้อ *Bacillus thuringiensis* จากดินในประเทศไทย. ว. กีฏ. สัตว. 25(4): 258-270.

อัจฉรา ตันติโชดก. 2544. บีที: การควบคุมแมลงศัตรูพืช. หน้า 183-208. *ใน*: การควบคุมแมลง ศัตรูพืชโดยชีววิธีเพื่อการเกษตรยั่งยืน. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด, กรุงเทพฯ.

Attathom, T., P. Isanont, R. Siriyan and W. Chongrattanameteekul. 1996. Isolation, PCR identification and insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* strains in Thailand. pp. 82-102. *In*: Proceedings of the Second Pacific RIM Conference on Biotechnology of *Bacillus thuringiensis* and its impact to the environment. November 4-8, 1996. Chiang Mai, Thailand.

Bajwa, I. W. and M. Kogan. 2005. *Bacillus thuringiensis*-based biological control of insect pests. (Online). Available: http://www.ippc.crst.edu/dir/microbial/bt (February 17, 2005).

Lee, I. H., Y. H. Je, J. H. Chang, J. Y. Roh, H. W. Oh, S. G. Lee, S. C. Shin and K. S. Boo. 2001. Isolation and characterization of a *Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki* strain toxic to *Spodoptera exigua* and *Culex pipiens*. Curr. Microbiol. 43(4): 284-287.

Porcar, M. and P. Caballero. 2000. Molecular and insecticidal characterization of a *Bacillus thuringiensis* strain isolated during a natural epizootic. J. Appl. Microbiol. 89(2): 309-316.

Martin, P. A. W. and R. S. Travers. 1989. Worldwide abundance and distribution of *Bacillus thuringiensis* isolates. Appl. Environ. Microbiol. 55(10): 2437-2442.

Theunis, W., R. M. Aguda, W. T. Cruz, C. Decock, M. Peferoen, B. Lambert, D. G. Bottrell, F. L. Gould, J. A. Litsinger and M. B. Cohen. 1998. *Bacillus thuringiensis* isolates from the Philippins: habitat distribution, delta-endotoxin diversity, and toxicity to rice stem borers (Lepidoptera: Pyralidae). Bull. Entomol. Res. 88(3): 335-342.

Travers, R. S., P. A. W. Martin and C. F. Reichelderfer. 1987. Selective process for efficient isolation of soil *Bacillus* spp. Appl. Environ. Microbiol. 53(6): 1263-1266.

ตาราง 1 แสดงสถานที่เก็บตัวอย่างดิน จำนวนตัวอย่างดินและจำนวน Bt isolateที่ได้ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

จังหวัด	อำเภอ/สถานที่	จำนวนตัวอย่าง	จำนวน Bt isolate
นครราชสีมา	สีคิ้ว	1	8
	ด่านขุนทด	3	23
	อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่	12	148
	สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช	113	233
	ชุมพวง	1	0
ชัยภูมิ	คอนสวรรค์	3	2
	คอนสาร	9	0
	เมือง	82	20
อุดรธานี	กุมภวาปี	2	14
	เมือง	9	32
ขอนแก่น	น้ำพอง	2	11
	เขาสวนกวาง	2	4
	บ้านไผ่	2	2
	พล	2	4
	เมือง	6	3
หนองคาย	สระใคร	2	2
	ท่าบ่อ	4	6
	ศรีเชียงใหม่	2	8
หนองบัวลำภู	โนนสัง	29	0
สระแก้ว	อุทยานแห่งชาติปางสีดา	96	52
สระบุรี	อุทยานแห่งชาติพระพุทธฉาย	64	45
	มวกเหล็ก	54	36
	พัฒนานิคม	22	11
รวม		523	664

ตาราง 2 แสดงสถานที่เก็บตัวอย่างดิน จำนวนตัวอย่างดินและจำนวน Bt isolateที่ได้ในภาคตะวันตก

จังหวัด	อำเภอ/สถานที่	จำนวนตัวอย่าง	จำนวน Bt isolate
กาญจนบุรี	ศรีสวัสดิ์	11	3
	หนองปรือ	4	0
	เลาขวัญ	2	0
เพชรบุรี	อุทยานแห่งชาติแก่งกระจาน	26	89
ราชบุรี	สวนผึ้ง	24	22
รวม		71	114

ตาราง 3 แสดงสถานที่เก็บตัวอย่างดิน จำนวนตัวอย่างดินและจำนวน Bt isolate ที่ได้ในภาคกลาง

จังหวัด	อำเภอ/สถานที่	จำนวนตัวอย่าง	จำนวน Bt isolate
นครปฐม	กำแพงแสน	5	0
อุทัยธานี	อุทยานแห่งชาติห้วยขาแข้ง	32	0
สุพรรณบุรี	อู่ทอง	2	0
ลพบุรี	สวนรุกขชาติน้ำตกวังก้านเหลือง	39	22
นครนายก	เมือง	39	53
รวม		117	75

ตาราง 4 แสดงสถานที่เก็บตัวอย่างดิน จำนวนตัวอย่างดินและจำนวน Bt isolate ที่ได้ในภาคใต้

จังหวัด	อำเภอ/สถานที่	จำนวนตัวอย่าง	จำนวน Bt isolate
สุราษฎร์ธานี	สวนป่ารัชชประภา	14	11
	อุทยานแห่งชาติเขาสก	14	2
	พนม	5	4
ชุมพร	พะโต๊ะ	6	6
ระนอง	สุขสำราญ	4	0
พังงา	ตะกั่วป่า	4	5
ภูเก็ต	ถลาง	4	11
รวม		51	39

ตาราง 5 แสดงสถานที่เก็บตัวอย่างดิน จำนวนตัวอย่างดินและจำนวน Bt isolate ที่ได้ในภาคเหนือ

จังหวัด	อำเภอ/สถานที่	จำนวนตัวอย่าง	จำนวน Bt isolate
เชียงใหม่	เมือง	21	59
	จอมทอง	15	54
	เชียงดาว	9	0
	แม่แตง	12	0
	ฝาง	12	16
	แม่อาย	12	5
	พร้าว	15	4
	สันทราย	18	64
	หางดง	15	6
	ไชยปราการ	9	0
เพชรบูรณ์	เขาค้อ	7	0
ตาก	พบพระ	19	34
รวม		164	252

ตาราง 6 จำนวน Bt isolate ที่แยกได้จากตัวอย่างดินในจังหวัดต่าง ๆ

จังหวัด	จำนวนตัวอย่าง	จำนวน Bt isolate	จำนวน Bt isolate/ตัวอย่างดิน
นครราชสีมา	130	412	3.17
ชัยภูมิ	94	22	0.23
อุดรธานี	11	46	4.18
ขอนแก่น	14	24	1.71
หนองคาย	8	16	2.00
หนองบัวลำภู	29	0	0
สระแก้ว	96	52	0.54
สระบุรี	140	92	0.65
กาญจนบุรี	17	3	0.17
เพชรบุรี	30	89	2.97
ราชบุรี	24	22	0.92
นครปฐม	5	0	0
อุทัยธานี	32	0	0
สุพรรณบุรี	2	0	0
ลพบุรี	39	22	0.56
นครนายก	39	53	1.36
สุราษฎร์ธานี	33	17	0.51
ชุมพร	6	6	1.00
ระนอง	4	0	0
พังงา	4	5	1.25
ภูเก็ต	4	11	2.75
เชียงใหม่	138	218	1.56
เพชรบูรณ์	7	0	0
ตาก	19	34	1.79
รวม	926	1,144	เฉลี่ย= 1.23

ตาราง 7 แสดง Bt isolate ที่ทำให้หนอนกระทู้หอมตายมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์

ลำดับ	Bt isolate	เปอร์เซ็นต์การตาย	ลำดับ	Bt isolate	เปอร์เซ็นต์การตาย
1	DAcm-m2(6)	95.00	30	DAsk 79-1(3)	94.72
2	DAcm-me3(1)	85.70	31	DAsk 80-1(1)	94.72
3	DAcm-ss1(3)	83.32	32	DAsk 80-1(3)	84.21
4	DAcm-ss6(5)	93.10	33	DAsk 83-2(2)	85.71
5	DAnk 26-1	86.20	34	DAsrb 198-2(2)	93.73
6	DAnkn 35-2(9)	80.76	35	DAsrb 198-2(3)	93.73
7	DAnkn 35-2(10)	88.46	36	DAsrb 334-1(3)	94.72
8	DAnkn 36-2(3)	100	37	DAsrb 356-2(4)	100
9	DAnkn 55-1(34)	100	38	DAtak 167-1	81.25
10	DAnkr 2-2	82.14	39	DAtak 170-2(3)	80.94
11	DAnkr 187-1	90.00	40	DAtak 170-2(4)	90.47
12	DAnkr 190-9	83.32	41	DAtak 170-2(5)	100
13	DAnkr 190-13	94.42	42	DAtak 171-2(1)	90.47
14	DAnkr 190-14	100	43	DAud 12-1	85.70
15	DAnkr 190-15	86.66	44	DAud 14-7	93.10
16	DAnkr 191-6	85.00	45	DAud 14-14	93.10
17	DAnkr 191-7	93.33	46	DAud 14-15	86.20
18	DAnkr 191-8	81.00	47	DAud 14-17	96.54
19	DAnkr 192-4	89.99	48	DAud 21-2	82.75
20	DAnkr 192-8	100	49	DAud 23-4	86.20
21	DAnkr 194-1	100			
22	DAnkr 194-3	94.42			
23	DAnkr 247-13	89.28			
24	DAnkr 281-9	85.17			
25	DAphet 110-1	100			
26	DAphet 122-1	89.65			
27	DAphet 152-1	83.32			
28	DAphet 226-1	83.32			
29	DAphet 227-2	86.66			

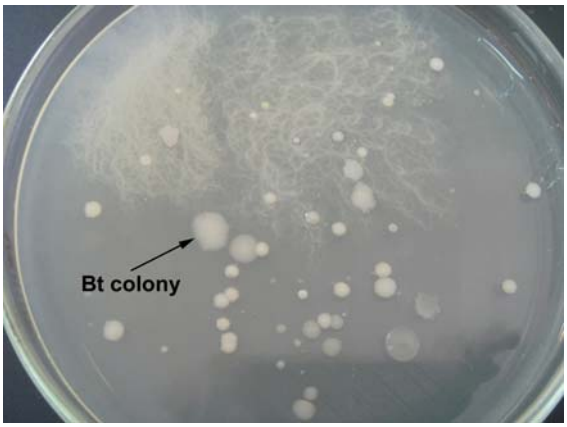
ตาราง 8 แสดง Bt isolate ที่ทำให้หนอนกระทู้ผักตายมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์

ลำดับ	Bt isolate	เปอร์เซ็นต์การตาย	ลำดับ	Bt isolate	เปอร์เซ็นต์การตาย
1	DAcp 168-1	80.76	30	DAnkr 190-8	89.66
2	DAcp 168-6	88.46	31	DAnkr 190-15	96.55
3	DAcyp 7-1	100	32	DAnkr 191-3	83.33
4	DAcyp 296	93.33	33	DAnkr 191-6	96.66
5	Dakk 10-1	83.33	34	DAnkr 191-7	89.65
6	Dakk 11-10	90.00	35	DAnkr 193-2	82.47
7	DAkk 32-1	100	36	DAnkr 193-4	89.66
8	DAkk 32-3	100	37	DAnkr 193-7	90.00
9	DAkk 34-2	100	38	DAnkr 193-8	82.75
10	DAlop 413	100	39	DAnkr 194-1	89.65
11	DAnk 20-2	96.66	40	DAnkr 194-2	86.66
12	DAnk 26-1	100	41	DAnkr 194-3	96.54
13	DAnk 26-2	100	42	DAnkr 194-6	100
14	DAnk 27-1	100	43	DAnkr 194-8	96.54
15	DAnk 27-2	100	44	DAnkr 194-12	96.54
16	DAnk 28-1	96.66	45	DAnkr 281-2	86.20
17	DAnk 29-1	100	46	DAnkr 281-4	96.54
18	DAnk 30-2	90.00	47	DAnkr 281-5	93.10
19	DAnk 30-6	100	48	DAnkr 281-6	89.65
20	DAnkr 2-1	92.33	49	DAnkr 281-8	96.54
21	DAnkr 2-15	86.66	50	DAnkr 281-9	89.65
22	DAnkr 3-1	100	51	DAphet 110-1	96.66
23	DAnkr 3-2	86.66	52	DAphet 112-4	90.00
24	DAnkr 4-1	80.25	53	DAphet 121-1	90.00
25	DAnkr 104-1	96.14	54	DAphet 122-2	100
26	DAnkr 104-2	100	55	DAphet 226-1	93.10
27	DAnkr 104-4	92.36	56	DAphet 227-1	96.54
28	DAnkr 187-1	88.46	57	DAphet 227-2	89.65
29	DAnkr 190-7	93.33	58	DAphet 227-4	81.47

ตาราง 8 (ต่อ)

ลำดับ	Bt isolate	เปอร์เซ็นต์การตาย
59	DAphet 227-5	92.58
60	DAphet 227-6	81.47
61	DAphet 227-7	81.47
62	DAphet 227-8	92.22
63	DAphet 227-9	81.47
64	DAphet 227-10	81.47
65	DAphet 227-11	81.47
66	DAphet 227-16	85.17
67	DAphet 228-5	81.00
68	DAphet 228-6	85.17
69	DAphet 228-9	86.66
70	DAphet 229-1	83.33
71	DAphet 229-12	85.17
72	DAphet 229-13	85.17
73	DAphet 229-18	88.88
74	DAphet 229-23	96.66
75	DAphet 229-24	81.00
76	DAphet 230-1	86.66
77	DAphet 232-2	93.33
78	DAphet 232-5	96.66
79	DAphet 233-1	88.86
80	DAphu 180-1	92.30
81	DAphu 180-8	84.60
82	DArcb 320-3	96.66
83	DArcb 320-14	96.66
84	DArcb 320-20	86.66
85	DAsk 76	100
86	DAsk 78	100
87	DAsrb 199	100
88	DAsrb 410	100
89	DAsur 182-3	84.60
90	DAsur 182-4	84.60
91	DAud 12-2	83.33
92	DAud 14-4	93.33
93.	DAud 14-5	96.66
94	DAud 14-14	93.10
95	DAud 21-1	96.66
96	DAud 21-2	96.66
97	DAud 23-1	100
98	DAud 23-2	82.76
99	DAud 23-3	96.66
100	DAud 23-4	100
101	DAud 23-5	96.66
102	DAud 23-6	100
103	DAud 23-7	100
104	DAud 24-1	100

ภาพ 1 ถุงพลาสติกเก็บตัวอย่างดิน



ภาพ 2 โคโลนีของ เชื้อ Bt ที่แยกได้จากตัวอย่างดิน

ภาพ 3 ลักษณะของ เชื้อ Bt ที่มีรูปร่างเป็นท่อนตรง มีสปอร์และผลึกโปรตีนอยู่ภายในเซลล์

การสำรวจ รวบรวม ตรวจจำแนกสายพันธุ์ปรสิตโปรโตซัว *Sarcocystis singaporensis*

Survey, Collection and Identification of *Sarcocystis singaporensis* variety

ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ ดาราพร รินทะรักษ์ กรแก้ว เสือสะอาด ปราสาททอง พรหมเกิด
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

.....

บทคัดย่อ

สายพันธุ์ปรสิตโปรโตซัว *Sarcocystis singaporensis* และชนิดอื่น ๆ ได้ทำการสำรวจในหนูชนิดต่าง ๆ ในแหล่งทำการเกษตร เขตป่า และแหล่งรกร้างอื่นๆในธรรมชาติ จังหวัดนครราชสีมา จังหวัดสุราษฎร์ธานี จังหวัดกาญจนบุรี และจังหวัดกระบี่ ระหว่างเดือนตุลาคม 2549 ถึงเดือนกันยายน 2553 โดยมีวัตถุประสงค์ เพื่อให้ได้ปรสิตโปรโตซัวสายพันธุ์ *Sarcocystis singaporensis* ที่มีความรุนแรงในการก่อเกิดโรคสูง และปรสิตโปรโตซัวที่ทำให้เกิดโรคในหนูหริ่ง(*Mus* spp.) โดยการทำการดักจับหนูทุกชนิดที่ได้ และนำมาทำการตรวจสอบซีสต์ในกล้ามเนื้อลำตัวเบื้องต้น ในห้องปฏิบัติการภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงกำลังขยายสูง และเนื้อเยื่อที่พบซีสต์ของโปรโตซัวบางชิ้น นำไปผ่านกระบวนการศึกษาเนื้อเยื่อ เพื่อใช้ตรวจส่องโปรโตซัวผ่านกล้อง Transmission electron microscope (TEM) เพื่อการจำแนกชนิด ลำตัวหนูที่ติดเชื้อส่วนใหญ่ นำไปให้งูเป็นอาหาร และนำสปอร์โรซีสต์ที่ขับถ่ายออกมาพร้อมมูล ที่ผ่านการทำความสะอาดแล้ว มาทดสอบความรุนแรงของการก่อเกิดโรคในหนูท้องขาวบ้าน

ผลการสำรวจและการศึกษา พบว่า ปรสิตโปรโตซัว, *Sarcocystis singaporensis* สายพันธุ์ที่ได้จากหนพุกใหญ่และหนูท้องขาว ที่ดักจับได้จากแปลงปาล์มน้ำมันที่ อ.กาญจนดิษฐ์ จ.สุราษฎร์ธานี มีความรุนแรงในการก่อเกิดโรคในหนูสูงที่สุด(หนูป่วยตาย 100%) และสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์สามารถเก็บรักษาในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4°C-10°C อย่างน้อย 1 ปี ส่วนในหนูหริ่ง ตรวจไม่พบซีสต์ตามกล้ามเนื้อลำตัว

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 ปริมาณสปอร์โรซีสต์ที่ได้

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-18-49

จากงูที่กินหนูป่ามาเลย์ติดเชื้อ $2x10^5$ 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 จึงอาจทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัดหนูลดลง ได้ นอกจากนี้การสำรวจชนิด รวบรวม และคัดเลือกปรสิตโปรโตซัวที่มีประโยชน์ทั้งในหนูและสัตว์อาศัยสุดท้ายมากขึ้น อาจทำให้ได้ปรสิตโปรโตซัวที่นำมาใช้กำจัดหนูได้ทุกชนิด หรือกำจัดหนูหริ่ง(*Mus* pp.)ซึ่งเป็นศัตรูสำคัญทั่วโลกในการผลิตเมล็ดธัญพืชและพืชไร่หลายชนิด

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

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

วิธีการ

เก็บตัวอย่างหนูจากพื้นที่ต่างๆ มาตรวจหาปรสิตโปรโตซัวในทุกส่วนของอวัยวะ เช่น กล้ามเนื้อลำตัวบริเวณอก บริเวณท้อง ต้นขาหลัง และแผ่นกระบังลม นำตัวอย่างสดเหล่านี้มาตรวจหาซีสต์ภายในกล้ามเนื้อ ภายใต้กล้องจุทรรศน์แบบใช้แสงกำลังขยายสูง ชิ้นเนื้อบางส่วนที่พบซีสต์ของ *S. singaporensis* นำมาตัดเฉพาะส่วนที่มีซีสต์ขนาดประมาณ 1-2 มิลลิเมตร แช่ดองในสารผสมของ glutaaldyhide 5% และเก็บรักษาในตู้เย็น เพื่อเตรียมให้ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยผ่านกระบวนการการศึกษาเนื้อเยื่อเพื่อการส่องดูซีสต์ผ่านกล้อง TEM เพื่อจำแนกชนิด จากนั้นนำลำตัวหนูส่วนใหญ่ที่พบซีสต์ ไปเป็นอาหารงูเหลือม หรืองูชนิดอื่นๆ นำมูลงูที่มีสปอร์โรซีสต์ปะปนออกมา และผ่านกระบวนการทำความสะอาดและปั่นตกตะกอนแล้ว นำมาทดสอบความรุนแรงของ

การก่อเกิดโรคในหนูท้องขาวทั้งเพศผู้และเพศเมียจำนวน 10 ตัว โดยใช้ feeding tube ให้สารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ที่อัตรา 200,000 ซีสต์/หนู 1 ตัว จากนั้นเก็บรักษาเชื้อโปรโตซัวที่มีศักยภาพในการทำให้หนูป่วยตาย 100% ในสารละลาย PBS เปรียบเทียบกับน้ำสะอาดปกติ เป็นเวลาอย่างน้อย 1 ปีในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 10°C เพื่อใช้เป็น stock เชื้อโปรโตซัวสำหรับผลิตสารชีวินทรีย์กำจัดหนู

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกสายพันธุ์และลักษณะของโปรโตซัวสกุล *Sarcocystis singaporensis* และสกุลอื่นๆ ที่ตรวจพบในหนูชนิดต่าง ๆ และแหล่งที่พบ
2. บันทึกปริมาณซาร์โคซีสต์ที่พบในกล้ามเนื้อหนูทดลอง
3. บันทึกความรุนแรง/ประสิทธิภาพของโปรโตซัวระยะสปอร์โรซีสต์ต่อหนูทดลองที่เก็บรักษาในระยะเวลาต่าง ๆ กัน
4. บันทึกระยะเวลาการเก็บรักษา และ pathogenic virurence ในหนูของต้นเชื้อโปรโตซัว

ระยะเวลาและสถานที่ดำเนินการ

ดำเนินการศึกษาตั้งเดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนกันยายน 2553 ในห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร และดักจับหนูศัตรูจากแหล่งทำการเกษตร เช่น นาข้าว สวนปาล์มน้ำมัน สวนสัตว์เขตชายป่า ฯลฯ และ ภายในบริเวณมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และตลาดเทศบาล

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากภาพกราฟที่ 1 และ 2 สามารถตรวจพบซีสต์ของโปรโตซัวสกุล Sarcocystis ในกล้ามเนื้อของหนูพุกใหญ่ 19 ตัวจาก 66 ตัว และเป็นหนูที่ดักได้แปลงปาล์มน้ำมันที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี 21 ตัว และที่จังหวัดกระบี่ 1 ตัว โดยซีสต์เหล่านี้มีทั้งลักษณะคล้ายเมล็ดข้าวสารหัก รูปกระสวยหรือเส้นดายสีขาวขุ่นฝังตัวในกล้ามเนื้อลำตัว และกระบังลม เท่ากับ 28.79% ส่วนใหญ่พบในกล้ามเนื้อบริเวณท้อง และขาหลัง หนูท้องขาว(*R.rattus*) 17 ตัวจาก 43 ตัวจากแหล่งปลูกปาล์มน้ำมันที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี ตรวจพบซีสต์เป็นจำนวนมากในกล้ามเนื้อตลอดทั้งลำตัว รวมทั้งกล้ามเนื้อบริเวณกระโหลก และ subcutanous muscle อีกด้วย คิดเป็น 39.53% เช่นเดียวกันกับหนูป่ามาเลย์ก็ตรวจพบซีสต์ 11 ตัวจาก 20 ตัว จากแหล่งปลูกปาล์มน้ำมันที่จังหวัดชุมพร และตรวจพบซีสต์ส่วนมากในกล้ามเนื้อบริเวณท้อง และขาหลัง ฯลฯ เช่นกัน ส่วนหนูหริ่ง(*Mus* spp.) จำนวน 40 ตัว ที่ได้จากนาข้าวและแปลงน้ำมันปลูกใหม่ ตรวจไม่พบซีสต์ของโปรโตซัวสกุล Sarcocystis ในกล้ามเนื้อลำตัวแต่อย่างใด

Sarcocystis spp. ที่พบในหนูทั้ง 8 ชนิด มี 3 ชนิด ดังตารางที่ 1 และแบ่งเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มแรกเป็นโปรโตซัวที่มีผนังบางเรียบ อาจจะมีเส้นขนอยู่ประปายตามผนังภายนอกของซีสต์ ได้แก่ *S..zamani* และกลุ่มที่สองเป็นโปรโตซัวที่มีผนังหนาคือ จะมี villai ลักษณะต่าง ๆ กันยื่นออกมาจาก

ผนังลำตัวของซีสต์ แคบบ้าง กว้างบ้าง ได้แก่ *S..singaporensis* และ *S..*spp.(Dubey และคณะ, 1989) ดังข้างล่างนี้คือ

1. Sarcocysts ของ *S..singaporensis* มีลักษณะคล้ายกระสวย สีขาวขุ่น มี septum แบ่งเป็นห้อง ๆ ผนังหนามี villai คล้ายขวดคอแคบที่วางค่ำเมื่อมองผ่านกล้อง TEM แต่ถ้ามองผ่านกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงจะเห็นคล้ายมีช่องว่างรอบซีสต์ระหว่างผนังและ villai (ภาพที่ 3) ที่พบในหนูพุกใหญ่มีขนาดยาวตั้งแต่ 1000 – 1900 μm กว้างตั้งแต่ 70 - 190 μm เฉลี่ย 1410 x 166 μm ในหนูพุกเล็กมีขนาดยาวตั้งแต่ 1020 – 1520 μm กว้างตั้งแต่ 70 - 190 μm เฉลี่ย 1230 x 157 μm และซีสต์ที่พบในหนูท้องขาวมีขนาดยาวตั้งแต่ 1112 – 1410 μm กว้างตั้งแต่ 140 - 190 μm เฉลี่ย 1290.4 x 131 μm ส่วน *R. Mueller* ซีสต์มีขนาดยาวตั้งแต่ 900-1050 μm กว้างตั้งแต่ 100 - 130 μm เฉลี่ย 963 x 87 μm สำหรับซีสต์ที่พบในหนู *R.sabanus* มีขนาดใหญ่กว่าซีสต์ของหนูชนิดอื่นๆ ยาวตั้งแต่ 1800 – 2400 μm กว้างตั้งแต่ 180 – 210 μm เฉลี่ย 2100 x 196 μm และหนูป่ามาเลย์ ซีสต์มีขนาดยาวตั้งแต่ 1000-1240 μm กว้างตั้งแต่ 90-130 μm เฉลี่ย 1087 x 105.6 μm ปกติแล้วพบบ่อยในหนูสกุลพุก(*Bandicota* spp.) และหนูสกุลท้องขาว(*Rattus* spp.)

2. Sarcocysts ของ *S..zamani* มีขนาดใหญ่เป็นแท่งอ้วนสั้น ลักษณะคล้ายเมล็ดข้าวสารหัก สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ขนาดเฉลี่ย 2655.0±769.6x214.5±94.1 μm ผนังบางเรียบไม่มี villai และ septum ขนาด bradyzoite ของโปรโตซัวชนิดนี้ เฉลี่ย 9.1±0.5x1.7±0.1 μm พบในหนูพุกใหญ่ หนูป่ามาเลย์ และหนูจี๊ด ในการสำรวจครั้งนี้

3. Sarcocysts ที่ตรวจพบรูปร่างคล้ายกระสวยใหญ่บ้างเล็กบ้าง และมี villai ยื่นออกมา สั้นบ้างยาวบ้าง แต่ไม่สามารถจะจำแนกชนิดออกมาได้ จัดอยู่ในกลุ่ม *Sarcocystis* spp. และพบในหนูทุกชนิด

Sarcocystis spp. ที่ตรวจพบ ในหนูส่วนใหญ่พบเพียงชนิดเดียว แต่หนูบางตัวตรวจพบซีสต์อยู่รวมกันตั้งแต่ 2-3 ชนิดในกล้ามเนื้อ Beaver และ Maleckar (1986) รายงานว่า ในมูลงูเหลือมมีสปอร์โรซีสต์ของโปรโตซัว 3 ชนิดคือ *S..singaporensis*, *S..zamani* และ *S..villivillosi* ดังนั้นเป็นไปได้ว่าจะปรากฏซีสต์ของปรสิตเหล่านี้ทั้ง 3 ชนิดในกล้ามเนื้อลำตัวของหนู 1 ตัว

Lai (1977) รายงานว่า ประมาณ 59.8% ของหนูศัตรูพืชผลทางการเกษตรในประเทศมาเลเซียตรวจพบ *Sarcocystis* spp. 5 แบบด้วยกัน ซึ่งในที่นี้ คือ *S..singaporensis* เป็นโปรโตซัวแบบที่ 1 ที่พบบ่อยในกล้ามเนื้อของหนูทั้ง 4 ชนิด ในประเทศอินโดนีเซีย หนูศัตรูในบ้านเรือนและพื้นที่ทำการเกษตรตรวจพบซีสต์ของโปรโตซัวสกุล Sarcocystis ในหนู 16 ตัวจาก 40 ตัว และเป็นซีสต์ของ *S..singaporensis* 13 ตัว นอกนั้นเป็น *S..sulawesiensis* (Donoghue et al, 1987) ส่วนยุวลักษณ์และคณะ(2538) รายงานว่า 30% ของหนูสกุลท้องขาว พบซีสต์ของ *S..singaporensis*

การศึกษาความรุนแรงของการก่อเกิดโรคของสปอร์โรซีสต์ที่ได้จากมูลงูเหลือม 6 ตัว ที่ซึ่งแต่ละคัวจะได้รับหนูแต่ละชนิดจำนวน 6 ชนิด ที่ตรวจพบซีสต์ของโปรโตซัว *S..singaporensis* เพียงชนิดเดียวเท่านั้นโดยทำการทดสอบกับหนูท้องขาวบ้านจำนวน 10 ตัว/สารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ของแต่ละงูเหลือมได้แสดงผลการศึกษาไว้ในตารางที่ 2 ซึ่งสปอร์โรซีสต์ของหนูพุกใหญ่ และหนูท้องขาวจากสวนปาล์มน้ำมันในจังหวัดสุราษฎร์ธานี มีความรุนแรงในการก่อเกิดโรคในหนูสูง ซึ่งทำให้หนูป่วยตายทั้งหมด ซึ่งสปอร์โร-ซีสต์ที่ได้จากหนูทั้งสองชนิด ทำการเก็บรักษาเป็นสารละลายเกลือ PBS ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4°C-10°C เป็นเวลา 1 ปี (เดือนพฤษภาคม 2552) และทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อโปรโตซัวระยะสปอร์โรซีสต์ในหนูท้องในเดือนมิถุนายน 2553 ปรากฏว่า เชื้อโปรโตซัวดังกล่าวยังคงทำให้หนูท้องขาวป่วยและตายภายใน 10-17 วัน ภายหลังได้รับเชื้อโปรโตซัวทั้งสองหลอดทั้งหมด 20 ตัว (100%)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

S..singaporensis ของหนูแต่ละชนิด นั้น พบว่า ซีสต์ที่พบในกล้ามเนื้อลำตัวของหนูหวาย(*R. sabanus*) มีขนาดใหญ่ที่สุด ซีสต์ที่พบในกล้ามเนื้อลำตัวของหนูควาย(*R. Muelller*) มีขนาดเล็กที่สุด ซึ่งสปอร์โรซีสต์ที่ได้จากงูเหลือมของหนูทั้งชนิดนี้ ประสิทธิภาพในการทำให้หนูป่วยตายได้เพียง 60% และ 70% แต่สปอร์โรซีสต์ของงูเหลือมที่ได้กินหนูพุกใหญ่และหนูท้องนั้นมีประสิทธิภาพสูงสุด ทำให้หนูป่วยตาย 100% และสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ของทั้งสายพันธุ์นี้ยังคงมีศักยภาพสูงมากในการทำให้หนูป่วยตาย ซึ่งสามารถเก็บรักษาในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4°C-10°C อย่างน้อย 1 ปี นั่นคือ การให้ได้เชื้อโปรโตซัวชนิดนี้ที่มีศักยภาพสูงในการทำให้หนูป่วยตาย ต้องมีการเก็บตัวอย่างหนูท้องขาวติดเชื้อโปรโตซัวชนิดนี้จากธรรมชาติมาให้งูเหลือมอกินเป็นอาหารอย่างน้อยปีละ 1 ครั้ง และงูเหลือมสามารถผลิตสปอร์โรซีสต์ของ*S..singaporensis* สายพันธุ์ที่มีศักยภาพสูง และสามารถเก็บรักษาหัวเชื้อโปรโตซัวได้นาน 1 ปี เพื่อใช้ผลิตเหยื่อโปรโตกำจัดหนูต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณข้าราชการและพนักงานข้าราชการที่ช่วยเหลือในการดักจับหนูและเก็บข้อมูลในการศึกษาครั้งให้สำเร็จไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ, วิยะดา สีหบุตร และเสริมศักดิ์ หงส์นาค 2538. การศึกษาโปรโตซัวที่เป็นปรสิตในหนูป่ามาเลย์และหนูท้องขาวบ้าน. รายงานการผลการวิจัยปี 2538 กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตรกองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 10 หน้า.

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

Lai, P.F. 1977. *Sarcocystis* in Malaysian field rats. Southeast Asian Journal Tropical Medicine and Public Health. 8:417-419.

Lakagul, B. and J.A. Mc Neely. 1977. Mannal of Thailand. Khurusapha Ladprao Press, 758 pp.

O'Donoghue, P.Z., CH.S. Watts, and B.R.Dixon. 1987. Ultrastructure of *Sarcocystis* spp. (Protozoa:APICOMPLEXA) in Rodents from North Sulawesi and West Java, Indonesia. Journal of Wildlife Disease, 23(2):255-232.

.....

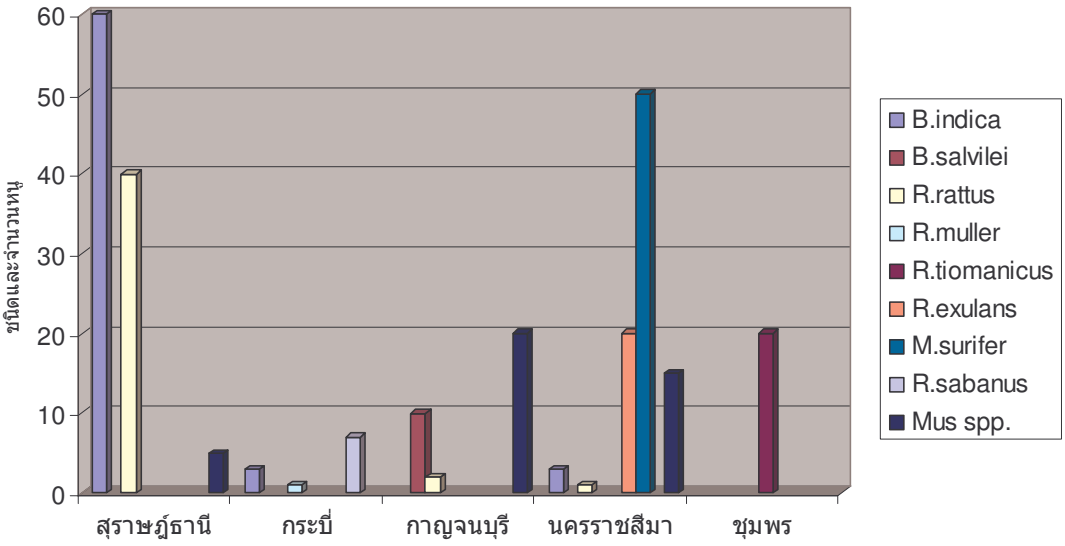


Fig. 1 Show The amount of investigated rats and species which are trapped from rice field, oil palm plantation, the Nakorn Ratchasrimazoo, Sakaerat research Station and Chicken Farm of Kasetsart University during the year 2006 to 2010.

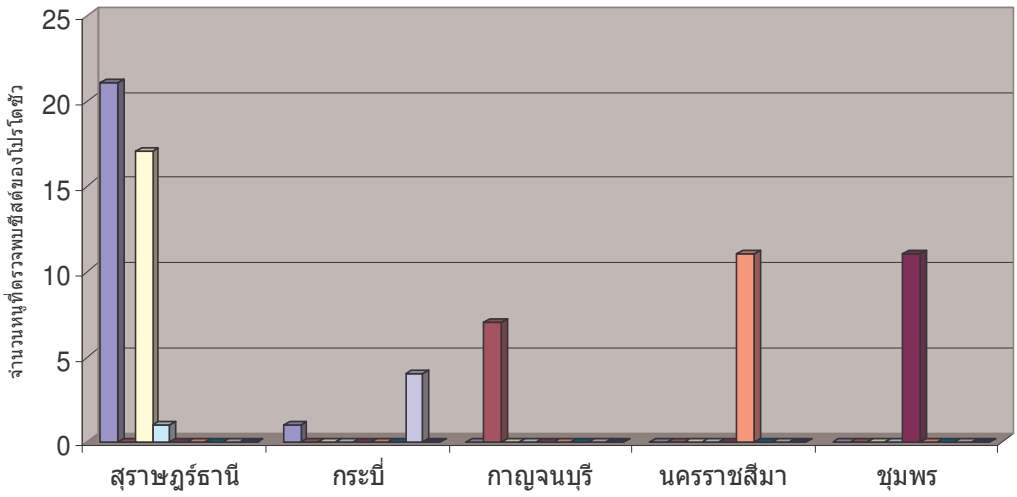


Fig. 2 Show Rat species and Numbers which found Cysts of *Sarcocystis* spp. in Body muscle.

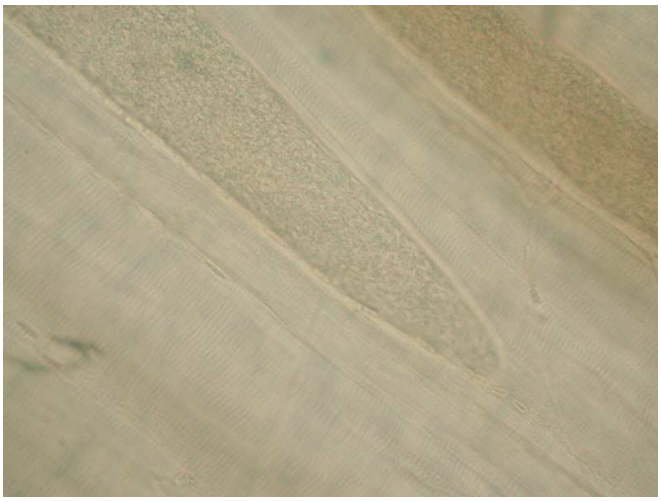
Table 1 Prevalence of *Sarcocystis* spp. in rats species in the investigated provinces during 2006 to 2010 in Thailand.

Rat species	Ss.	Sz.	Spp.	Mix
*B.indica**	7	5	-	7
B.salvilei	4	-	1	2
*R.rattus**	6	-	4	7
R.tiomanicus	3	1	1	6
R.exulans	0	1	1	9
R.mueller	1	-	-	-
R.sabanus	3	-	-	1
Maxymus surifer	0	0	2	-
Mus spp.	0	0	0	0
Total	24	7	9	31

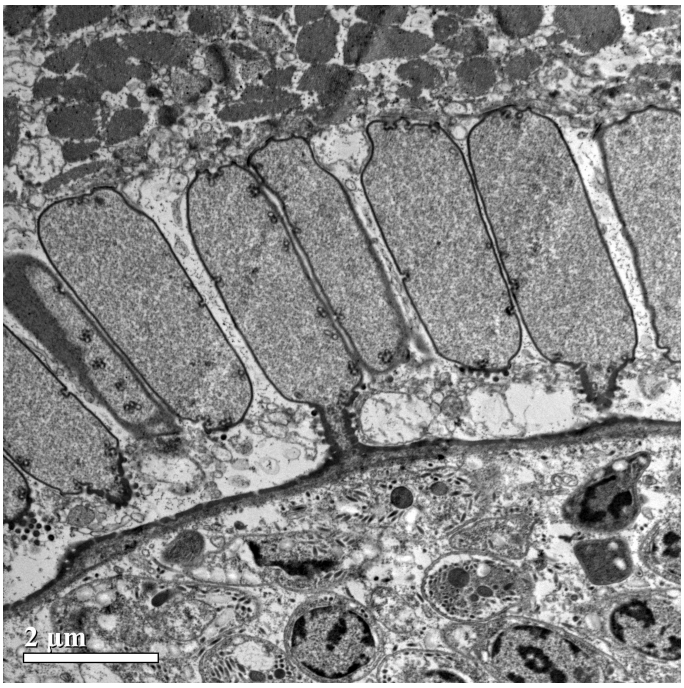
Ss. = *S..singaporensis*, Sz. = *S..zamani*, Spp. = *S.*sp. Mix = more than 1 species of Sarcocystis (Ss+Sz, Ss+Spp, Ss+Sz+Spp. * infected rats from oil palm plantation in Surat Thani.

Table 2 Pathogenic effect of sporocysts suspension of *S..singaporensis* on *Rattus rattus* in laboratory of Agricultural Zoology Section in Bangkok during 2007 and 2009.

Sporocysts suspension from snake no.	Infected Rat Species as food	Sporocysts dose	No.of Infected rats	No of dead rats	% mortality of rats
1	*B.indica*	$2x10^5$	10	10	100
2	*B.salvilei*	$2x10^5$	10	9	90
3	*R.rattus*	$2x10^5$	10	10	100
4	*R.tiomanicus*	$2x10^5$	10	8	80
5	*R.sabanus*	$2x10^5$	10	6	60
6	*R.mueller*	$2x10^5$	10	7	70



A.



B.

Fig. 3 Sarcocystis of *S. singaporensis* that found in the body muscle of trapped *Rattus rattus* from Oil palm plantation in Surat Thani province,
A = fresh specimen(400x),
B = TEM specimen(10,000x)

อนุกรมวิธานแมลงศัตรูที่พบในสบู่ดำ

Taxonomy of Insect Pests Found on Physic nut

ศิริณี พูนไชยศรี

ชลิดา อุณหวุฒิ ลักขณา บำรุงศรี

ยุวรินทร์ บุญทบ สุนัดดา เชาวลิต

ณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักพืช

บทคัดย่อ

สบู่ดำ (physic nut, purging nut); *Jatropha curcas* Linnaeus เป็นพืชที่มีศักยภาพในการผลิตเพื่อใช้เป็นพลังงานทดแทน แมลงศัตรูสบู่ดำเป็นปัจจัยหลักที่ทำให้ผลผลิตของสบู่ดำลดลง ในเบื้องต้นจึงต้องศึกษาวิจัยถึงชนิดของแมลงศัตรูที่เข้าทำลายสบู่ดำ โดยการสำรวจรวบรวมแมลงศัตรูที่พบในแหล่งปลูกสบู่ดำ และในพื้นที่ที่พบต้นสบู่ดำ ที่จังหวัดสระบุรี นครราชสีมา เชียงใหม่ กาญจนบุรี ระยอง ลำพูน น่าน สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พัทลุง ตรัง สงขลา ระหว่างเดือนตุลาคม 2551 ถึงเดือนกันยายน 2553 นำตัวอย่างแมลงศัตรูไปศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานเพื่อตรวจวิเคราะห์ชนิด ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช พบแมลงศัตรูสบู่ดำทั้งหมด 5 ชนิด ในอันดับ Hemiptera 2 ชนิด ในวงศ์ Scutelleridae ได้แก่มวนสบู่ดำ (physic nut bug); *Chrysocoria grandi* Thuberg และ *Chrysocoris nobilis* Fabricius อันดับ Homoptera ในวงศ์ Pseudococcidae 1 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยแป้งลาย (striped mealybug); *Ferrisia virgata* (Cockerell) และแมลงศัตรูในอันดับ Thysanoptera วงศ์ Thripidae 2 ชนิด คือ เพลี้ยไฟโกโก้ (cocoa thrips); *Selenothrips rubrocinctus* (Giard) และเพลี้ยไฟฝ้าย (cotton thrips); *Thrips palmi* Karny

คำนำ

วิกฤตการณ์น้ำมันเชื้อเพลิงที่มีราคาสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง ทำให้รัฐบาลมีนโยบายส่งเสริมการปลูกพืชที่มีศักยภาพในการผลิตเพื่อใช้เป็นพลังงานทดแทน สบู่ดำ physic nut, purging nut : *Jatropha curcas* Linnaeus วงศ์ Euphorbiaceae เป็นพืชชนิดหนึ่งที่เมล็ดมีปริมาณน้ำมันถึงร้อยละ 30 – 35 ของน้ำหนักเมล็ด น้ำมันที่ได้ใช้ได้ดีกับเครื่องยนต์ดีเซลโดยไม่ต้องผสมกับน้ำมันเครื่องชนิดอื่น ดังนั้นในปี 2549 – 2555 รัฐบาลจึงเริ่มโครงการส่งเสริมการปลูกสบู่ดำ ในช่วงปีแรกๆได้ผลผลิตเพียง 300 – 500 กิโลกรัม/ไร่/ปี ซึ่งไม่เพียงพอเพื่อผลิตทดแทนพลังงานระดับอุตสาหกรรมที่ต้องการผลผลิตถึง 1,500 กิโลกรัม/ไร่/ปี ในการผลิตสบู่ดำเพื่อให้ได้ผลผลิตตามที่ต้องการ นอกจากจะต้องเร่งพัฒนาเรื่องพันธุ์และการปลูกเป็นสำคัญแล้ว แมลงศัตรูสบู่ดำก็เป็นปัจจัย

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-35-51

หลักที่เข้าทำลายทำให้ผลผลิตของสบู่ดำลดลง สำหรับการศึกษาเกี่ยวกับแมลงศัตรูสบู่ดำ เตือนจิตต์และคณะ(2525) ได้รายงานถึงกลุ่มแมลงศัตรูสบู่ดำ ซึ่งมีทั้งประเภทปากกัดและปากดูด แต่ไม่มีรายงานการศึกษาถึงชนิด (species) ในด้านอนุกรมวิธาน ดังนั้นการศึกษาอนุกรมวิธานแมลงที่เข้าทำลายสบู่ดำในครั้งนี้ ข้อมูลที่ได้จะเป็นประโยชน์อย่างมาก ในการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการจัดการแมลงศัตรูสบู่ดำที่ถูกต้องและเหมาะสมต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1) ตัวอย่างแมลงทั้งตัวอ่อน และตัวเต็มวัยที่รวบรวมได้จากแปลงปลูกสบู่ดำ

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

3) อุปกรณ์ที่ใช้จัดรูปร่างแมลง ได้แก่ เข็มไร้สนิม เข็มหมุดหัวกลม ไม้จัดรูปร่างแมลง ปากคีบ โหลชี้น ตู้อบแมลง ฯลฯ

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

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

6) อุปกรณ์วาดภาพ ได้แก่ ปากกา rotting และกระดาษไขเขียนแบบ

7) เอกสารประกอบการจำแนกชนิดแมลงอันดับต่างๆ

วิธีดำเนินการ

1) สืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับชนิดของแมลงศัตรูสบู่ดำจากเอกสารวิชาการที่เกี่ยวข้อง

2) สำรวจ รวบรวมตัวอย่างแมลงศัตรูสบู่ดำจากแปลงปลูกทั่วทุกภาคของประเทศไทย โดยใช้สวิงโฉบ / เคาะหรือเขย่ากิ่ง ต้น หรือดอก เพื่อให้แมลงศัตรูตกลงบนอุปกรณ์ที่รองรับ หรือตัดใบ / กิ่ง / ยอดของสบู่ดำที่มีแมลงศัตรูเกาะอาศัยด้วยกรรไกรตัดกิ่ง ใช้พู่กันเขี่ยแมลงศัตรูที่พบใส่ขวดที่บรรจุน้ำยาดอง หรือนำตัวอย่างแมลงศัตรูพร้อมส่วนของสบู่ดำใส่ถุงพลาสติก กล่องพลาสติก หรือถุงกระดาษ เก็บตัวอย่างดังกล่าวในกล่องรักษาความเย็น ภายในบรรจุน้ำแข็งแห้งเพื่อรักษาตัวอย่างให้สดอยู่เสมอ หากตัวอย่างที่รวบรวมได้อยู่ในระยะตัวอ่อน เช่น เพลี้ยไฟ เพลี้ยแป้ง เพลี้ยหอย เพลี้ยอ่อน หนอนผีเสื้อ หนอนแมลงวันผลไม้ ฯลฯ ต้องนำตัวอย่างไปเลี้ยงในห้องปฏิบัติการจนเป็นตัวเต็มวัย

3) บันทึกรายละเอียดของแมลงศัตรู ได้แก่ ส่วนของสบู่ดำที่พบแมลงศัตรู ลักษณะการทำลาย วัน / เดือน / ปี สถานที่ และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง รวมทั้งบันทึกโดยการถ่ายภาพ นำตัวอย่างที่

บันทึกรายละเอียดไปจัดเตรียมตัวอย่างแมลง เพื่อวิเคราะห์ชนิดโดยการจัดรูปร่าง หรือทำสไลด์ถาวร และอบให้แห้ง

4) นำตัวอย่างไปตรวจวิเคราะห์ชนิด โดยตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานใต้กล้องจุลทรรศน์ ประกอบกับเอกสารของศิริณี(2544) และองุ่น(2544) รวมทั้งศึกษาจากตัวอย่างที่เก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง

5) จัดทำป้ายและบันทึกข้อมูลรายละเอียดบนป้ายบันทึกกำกับตัวอย่างแมลง ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ พืชอาหาร วัน / เดือน / ปี สถานที่และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง รวมทั้งวัน / เดือน / ปี และชื่อผู้วิเคราะห์ชนิด นำตัวอย่างแมลงศัตรูพืชที่ได้ศึกษาวิจัยทั้งหมด เก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากลของพิพิธภัณฑ์ เพื่อใช้ในการตรวจสอบ สืบค้นและอ้างอิง

เวลาสถานที่

เริ่มต้น เดือนตุลาคม 2551 **สิ้นสุด** เดือนกันยายน 2553

สถานที่ : 1. แหล่งปลูกสบู่ต่างๆ ใน เขตภาคกลาง ภาคเหนือ ภาคใต้ ภาคตะวันตก ภาคตะวันออก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

พบแมลงศัตรูสบู่ดำ 5 ชนิด ได้แก่ มวนสบู่ดำ: physic nut bug; *Chrysocoris grandis* Thuberg และมวนสบู่ดำสีน้ำเงิน: blue physic nut bug; *Chrysocoris nobilis* Fabricius วงศ์ Scutelleridae อันดับ Hemiptera เข้าทำลายโดยตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบ ช่อดอกและผล เพลี้ยแป้งลาย: striped mealybug; *Ferrisia virgata* (Cockerell) วงศ์ Pseudococcidae อันดับ Homoptera ทำลายสบู่ดำโดยตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบและยอดอ่อน นอกจากนี้เพลี้ยไฟ 2 ชนิด ได้แก่เพลี้ยไฟโกโก้: cocoa thrips: *Selenothrips rubrocinctus* Giard และเพลี้ยไฟฝ้าย: cotton thrips; *Thrips palmi* Karny วงศ์ Thripidae อันดับ Thysanoptera เข้าทำลายใบโดยตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบ แมลงศัตรูทั้ง 5 ชนิด พบในแปลงปลูกสบู่ดำทุกภาคของประเทศไทย

รายละเอียดแมลงแมลงศัตรูสบู่ดำ

***Chrysoeoris graudis* Thunberg (ภาพที่ 1)**

อันดับ Coleoptera

วงศ์ Scutelleridae

ชื่อสามัญ มวนสบู่ดำ : Physic nut bug

ลักษณะสำคัญ

ขนาดลำตัวยาว 2.2 - 3.0 มิลลิเมตร หัว อก หนวด ปาก ขา สีดำ แต่ด้านบนของหัว อกปล้องเล็ก และส่วนของ scutellum ที่ปกคลุมลำตัว สีเหลืองหรือสีเหลืองอมส้ม บริเวณส่วนกลางของ scutellum มีจุดแต้ม 1 จุด และใต้จุดแต้มนี้ มีจุดสีดำบริเวณด้านข้าง ข้างละ 1 จุด ส่วนหัวด้านล่างทุกปล้องมีแถบสีดำด้านข้าง แต่แถบนี้ไม่จรดกับแต่ละปล้อง ยกเว้นปล้องที่ 1, 2, 3 และปล้องที่ 7

***Chrysocoris nobilis* Fabricius (ภาพที่ 2)**

อันดับ Coleoptera

วงศ์ Scutelleridae

ชื่อสามัญ มวนสบู่ดำสีน้ำเงิน : Blue physic nut bug

ลักษณะสำคัญ

ขนาดลำตัวยาว 2.1 - 3.2 มิลลิเมตร หัว อกปล้องแรกและส่วนของ scutellum สีเขียวปนน้ำเงินเป็นมันวาว ส่วนหัวและอกปล้องแรกมองดูคล้ายรูปสามเหลี่ยม บริเวณส่วนนี้มีจุดประสีดำด้านข้าง ข้างละ 2 จุด บริเวณ scutellum มี 10 จุด กระจายอยู่ทั่วไปบริเวณปลายสุดของ scutellum มีรอยแต้มลักษณะคล้ายปื้นสีดำ

***Ferrisia virgata* (Cockerell) (ภาพที่ 3)**

อันดับ Hemiptera

วงศ์ Pseudococcidae

ชื่อสามัญ เพลี้ยแป้งลาย : Striped mealy bug

ลักษณะสำคัญ

ตัวเต็มวัยเพศเมียมีขนาดลำตัวยาว 4.2 - 5.0 มิลลิเมตร รูปร่างลักษณะค่อนข้างยาว ลำตัวปกคลุมด้วยไขแป้งบางๆสีขาว มีแถบสีดำ 1 คู่ พาดตามยาวเกือบถึงกึ่งกลางลำตัว ด้ายท้ายของลำตัวมีเส้นแป้งยาวสีขาว 1 คู่ ซึ่งมีความยาวครึ่งหนึ่งของความยาวลำตัว หนวดมีจำนวนปล้อง 8 ปล้อง ขายาวเรียว

***Selenothrips rubrocinctus* (Giard) (ภาพที่ 4)**

อันดับ Thysanoptera

วงศ์ Thripidae

ชื่อสามัญ เพลี้ยไฟโกโก้ : Cocoa thrips

ลักษณะสำคัญ

ขนาดลำตัวยาว 0.8 - 1.1 มิลลิเมตร สีน้ำตาลเข้มเกือบดำ หนวดมีจำนวนปล้องหนวด 8 ปล้อง อวัยวะรับความรู้สึกดี ปล้องหนวดปล้องที่ 3 และ 4 เป็นรูปส้อม อกทุกปล้องสีน้ำตาลเข้มเกือบดำ ขนบริเวณปีกคู่หน้ามีสีเข้มและเรียงตัวกันเป็นเส้นปีกชัดเจนท้องสีเดียวกับอก

Thrips palmi Karny **(ภาพที่ 5)**

อันดับ Thysanoptera

วงศ์ Thripidae

ชื่อสามัญ เพลี้ยไฟฝ้าย : Cotton thrips

ลักษณะสำคัญ

ขนาดลำตัวยาว 0.07 - 0.09 เซนติเมตร สีเหลือง หนวดมี 7 ปล้อง สีเหลือง ขาทุกคู่สีเดียวกับลำตัว ปีกสีเหลือง ขนบริเวณปีกคู่หน้าเรียงกันเป็นเส้นปีกแบบไม่สมบรูณ์

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาอนุกรมวิธานของแมลงศัตรูสบู่ดำ ระหว่างเดือนตุลาคม 2551 ถึงเดือนกันยายน 2552 ในแปลงปลูกสบู่ดำ จังหวัดสระบุรี นครราชสีมา เชียงใหม่ กาญจนบุรี ระยอง ลำพูน น่าน สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พัทลุง ตรัง สงขลา พบแมลงศัตรูสบู่ดำทั้งหมด 5 ชนิด ในอันดับ Hemiptera 2 ชนิด ในวงศ์ Scutelleridae ได้แก่มวนสบู่ดำ (physic nut bug); *Chrysocoria grandi* Thuberg และ *Chrysocoris nobilis* Fabricius อันดับ Homoptera ในวงศ์ Pseudococcidae 1 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยแป้งลาย (striped mealybug); *Ferrisia virgata* (Cockerell) และแมลงศัตรูในอันดับ Thysanoptera วงศ์ Thripidae 2 ชนิด คือ เพลี้ยไฟโกโก้ (cocoa thrips); *Selenothrips rubrocinctus* (Giard) และเพลี้ยไฟฝ้าย (cotton thrips); *Thrips palmi* Karny แมลงศัตรูทั้ง 5 ชนิด เข้าทำลายสบู่ดำในแหล่งปลูกทุกภาคของประเทศไทย

เอกสารอ้างอิง

เตือนจิตต์ สัตยาวิรุทธ์, 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.

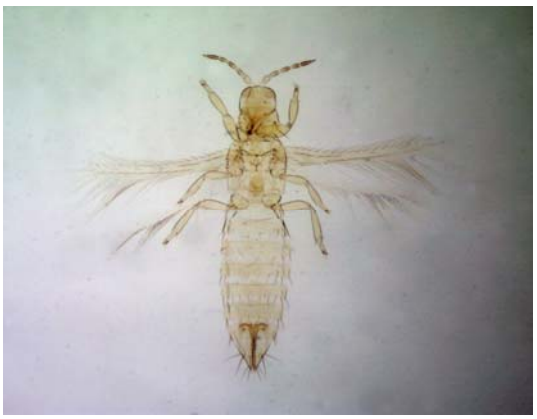
องุ่น ลิ่ววานิช. 2544. ผีเสื้อและหนอน . กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 230 หน้า.

ภาพท 1 *Chrysocoria grandi* Thuberg
มวนสบู่ดำ (Physic nut bug)

ภาพที่ 2 *Chrysocoris nobilis* Fabricius
มวนสบู่ดำสีน้ำเงิน (Blue physic nut bug)

ภาพที่ 3 *Ferrisia virgata* (Cockerell)
เพลี้ยแป้งลาย (Striped mealybug)

ภาพที่ 4 *Selenothrips rubrocinctus* (Giard)
เพลี้ยไฟโกโก้ (Cocoa thrips)



ภาพที่ 5 *Thrips palmi* Karny
เพลี้ยไฟฝ้าย (Cotton thrips)

อนุกรมวิธานแมลงศัตรูที่พบในเบญจมาศ
Taxonomy of Insect Pests Found on Chrysanthemum

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

บทคัดย่อ

การศึกษาอนุกรมวิธานแมลงศัตรูที่พบในเบญจมาศ ระหว่างเดือนตุลาคม 2551 ถึงเดือนกันยายน 2553 โดยการสำรวจ รวบรวมตัวอย่างแมลงศัตรูจากแหล่งปลูกเบญจมาศในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ นำตัวอย่างแมลงที่รวบรวมได้ไปศึกษาลักษณะสำคัญทางอนุกรมวิธานเพื่อตรวจจำแนกชนิด ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช พบแมลงศัตรูเบญจมาศ 3 อันดับ 3 วงศ์ 9 ชนิด ได้แก่ อันดับ Thysanoptera พบเพลี้ยไฟในวงศ์ Thripidae 5 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยไฟดอกไม้ตะวันตก: western flower thrips; *Frankliniella occidentalis* Pergande เพลี้ยไฟดอกไม้: common blossom thrips; *Frankliniella schultzei* Trybom เพลี้ยไฟดอกไม้ฮาวาย: hawaiian flower thrips; *Thrips hawaiiensis* (Morgan) เพลี้ยไฟฝ้าย: cotton thrips; *Thrips palmi* Karny เพลี้ยไฟขอบปล้องหยัก: composite thrips; *Microcephalothrips abdominalis* Crawford อันดับ Hemiptera พบเพลี้ยอ่อนในวงศ์ Aphididae 1 ชนิด คือ เพลี้ยอ่อนฝ้าย: cotton aphid; *Aphis gossypii* Glover; และอันดับ Lepidoptera พบหนอนผีเสื้อในวงศ์ Noctuidae 3 ชนิด ได้แก่ ผีเสื้อหนอนกระทู้ผัก: common cutworm; *Spodoptera litura* (Fabricius) ผีเสื้อหนอนกระทู้หอม: beet armyworm; *Spodoptera exigua* (Hübner) ผีเสื้อหนอนเจาะสมอฝ้าย: cotton bollworm; *Helicoverpa armigera* (Hübner)

คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม จึงมีความหลากหลายของพืชพรรณไม้ทางการเกษตรมีทั้งธัญพืช พืชน้ำมัน พืชอุตสาหกรรม ไม้ผล พืชผัก ไม้ดอกไม้ประดับฯลฯ เบญจมาศ: Chrysanthemum; *Dendranthema grandiflora* (Ramat) เป็นไม้ดอกไม้ประดับชนิดหนึ่งที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายเนื่องจากมีหลายพันธุ์ให้เลือก ดอกมีรูปร่างสวยงาม หลากสีสันสดใส จึงมีการปลูกเบญจมาศเป็นไม้ประดับตาม อาคารบ้านเรือน สวนสาธารณะ นอกจากนี้ยังตัดดอกนำไปประดับภายในอาคารบ้านเรือน รวมทั้งใช้ประโยชน์ในงานพิธีต่างๆ ปัจจุบันพื้นที่ปลูกเบญจมาศเป็น

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-36-51

การค้าได้ขยายอาณาบริเวณเพิ่มมากขึ้น เพื่อให้ได้ผลผลิตเพียงพอแก่ความต้องการของผู้บริโภคภายในประเทศ และเพิ่มขีดความสามารถในการแข่งขันในตลาดต่างประเทศ ซึ่งการผลิตเบญจมาศให้มีคุณภาพดีเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งภายในและต่างประเทศนั้น เกษตรกรต้องประสบอุปสรรคหลายประการ ประการหนึ่งก็คือ แมลงศัตรูพืช พิสมัย (2538) รายงานว่าพบแมลงศัตรูทำลายเบญจมาศมี 7 ชนิด ได้แก่ แมลงจำพวกเพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน และหนอนกัดกินใบ และศิริณี (2544) รายงานว่าพบเพลี้ยไฟ *Frankliniella occidentalis* Pergande ดูดน้ำเลี้ยงจากเซลล์กลีบดอกเบญจมาศทำให้เกิดรอยแผลลักษณะเป็นขีดๆ ตามความยาวของกลีบดอก และยังพบเข้าทำลายไม้ดอกทุกชนิดที่ปลูกบนดอยอินทนนท์ เกิดการระบาดอย่างรุนแรงมาตั้งแต่ปี พ.ศ.2540

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1) ตัวอย่างแมลงทั้งตัวอ่อน และตัวเต็มวัยที่รวบรวมได้จากแปลงปลูกเบญจมาศ

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

3) อุปกรณ์ที่ใช้จัดรูปร่างแมลง ได้แก่ เข็มไร้สนิม เข็มหมุดหัวกลม ไม้จัดรูปร่างแมลง ปากคีบ โหลชื้น ตู้อบแมลง ฯลฯ

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

5) กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และ compound microscope กล้องถ่ายภาพ

6) เอกสารประกอบการจำแนกชนิดแมลงอันดับต่างๆ

วิธีการ

1) สำรวจรวบรวมตัวอย่างแมลงศัตรูที่พบในแปลงปลูกเบญจมาศในภาคกลาง ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งมีวิธีเก็บรวบรวมแตกต่างกันในแต่ละชนิด เช่น

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

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

2) นำตัวอย่างทั้งหมดที่รวบรวมได้กลับไปยังห้องปฏิบัติการ

- ตัวอย่างหนอนหรือตัวอ่อนแมลง นำไปเลี้ยงเพื่อศึกษาพฤติกรรมและการเจริญเติบโต ตัวเต็มวัยนำไปจัดรูปร่าง และอบให้แห้ง

- เพลี้ยไฟ เพลี้ยหอย เพลี้ยแป้ง เพลี้ยอ่อน นำไปทำสไลด์ถาวรตามวิธีการของแต่ละชนิด ส่วนแมลงที่ยังมีชีวิตนำไปเลี้ยงเพื่อศึกษาการเจริญเติบโต และพฤติกรรมต่างๆ

3) นำแมลงที่จัดรูปร่าง และอบแห้ง หรือทำสไลด์เรียบร้อยแล้วไปตรวจวิเคราะห์ชนิดตามหลักการของอนุกรมวิธานของแมลง

4) บันทึกรายละเอียดของแมลงบนแผ่นป้ายบันทึกกำกับตัวอย่าง

5) นำตัวอย่างแมลงเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์แมลง

เวลาสถานที่

เริ่มต้น เดือนตุลาคม 2551 **สิ้นสุด** เดือนกันยายน 2553

สถานที่ 1. แปลงปลูกเบญจมาศภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาอนุกรมวิธานแมลงศัตรูที่พบในพบเบญจมาศ ผลการตรวจวิเคราะห์ชนิด พบแมลงศัตรูเบญจมาศ 3 อันดับ 3 วงศ์ รวม 9 ชนิด ได้แก่ อันดับ Thysanoptera พบเพลี้ยไฟในวงศ์ Thripidae 5 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยไฟดอกไม้ตะวันตก: western flower thrips; *Frankliniella occidentalis* Pergande เพลี้ยไฟดอกไม้: common blossom thrips; *Frankliniella schultzei* Trybom เพลี้ยไฟดอกไม้ฮาวาย: hawaiian flower thrips; *Thrips hawaiiensis* (Morgan) เพลี้ยไฟฝ้าย: cotton thrips; *Thrips palmi* Karny เพลี้ยไฟขอบปล้องหยัก: composite thrips; *Microcephalothrips abdominalis* Crawford และอันดับ Hemiptera พบเพลี้ยอ่อนในวงศ์ Aphididae 1 ชนิด คือ เพลี้ยอ่อนฝ้าย: cotton aphid; *Aphid gossypii* Glover และอันดับ Noctuidae พบหนอนผีเสื้อในวงศ์ Lepidoptera จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ ผีเสื้อหนอนกระทู้ผัก: common cutworm; *Spodoptera litura* (Fabricius) ผีเสื้อหนอนกระทู้หอม: beet armyworm; *Spodoptera exigua* (Hübner) ผีเสื้อหนอนเจาะสมอฝ้าย: cotton bollworm; *Helicoverpa armigera* (Hübner) โดยมีรายละเอียดแมลงศัตรูที่พบ ดังนี้

***Frankliniella occidentalis* Pergande** (ภาพที่ 1)

อันดับ Thysanoptera

วงศ์ Thripidae

ชื่อสามัญ เพลี้ยไฟดอกไม้ตะวันตก: western flower thrips

ลักษณะสำคัญ เป็นเพลี้ยไฟที่มีขนาดลำตัวยาว 0.08 - 1.00 เซนติเมตร สีเหลือง/น้ำตาลปนเหลือง อกปล้องแรกมีขนขนาดใหญ่จำนวน 5 คู่ บริเวณด้านบนของส่วนท้องมีรอยปื้นสีดำ

พืชอาหาร : เบญจมาศ ศิริณี(2544) รายงานว่าพบเพลี้ยไฟชนิดนี้ในไม้ดอกเมืองหนาว และถั่วลันเตา

การแพร่กระจาย : จังหวัดเชียงใหม่

ลักษณะการทำลาย : ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบอ่อนและดอก

Frankliniella schultzei **Trybom** (ภาพที่ 2)

อันดับ Thysanoptera

วงศ์ Thripidae

ชื่อสามัญ เพลี้ยไฟดอกไม้: common blossom thrips

ลักษณะสำคัญ

เป็นเพลี้ยไฟที่มีขนาดลำตัวยาว 0.07 - 0.09 เซนติเมตร สีเหลืองใสหรือสีน้ำตาล ส่วนหัวค่อนข้างกว้าง หนวดมี 8 ปล้อง ปล้องที่ 1 - 2 เหลืองใส ปล้องที่ 3 - 5 สีน้ำตาล ปล้องที่ 6 - 8 สีน้ำตาลเข้ม อกปล้องแรกมีขนขนาดใหญ่ จำนวน 5 คู่ ขาทุกคู่มีสีเดียวกับลำตัว ขนบริเวณปีกคู่หน้าเรียงกันเป็นเส้น ปีกแบบสมบรูณ์ ส่วนท้องสีเหลืองใส

พืชอาหาร : เบญจมาศ ศิริณี(2544) รายงานว่าพบเพลี้ยไฟชนิดนี้ในข้าวฟ่าง ถั่วลิสง ฝ้าย พริก หอมใหญ่ พืชตระกูลแตง ถั่วลันเตาและดอกไม้หลายชนิด

การแพร่กระจาย : จังหวัดนครราชสีมา จังหวัดเชียงใหม่ จังหวัดน่าน

ลักษณะการทำลาย : ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบอ่อนและดอก

Thrips hawaiiensis **(Morgan)** (ภาพที่ 3)

อันดับ Thysanoptera

วงศ์ Thripidae

ชื่อสามัญ เพลี้ยไฟดอกไม้ฮาวาย: hawaiian flower thrips

ลักษณะสำคัญ

เป็นเพลี้ยไฟที่มีขนาดลำตัวยาว 0.07 - 0.09 เซนติเมตร สีน้ำตาลเข้มปนส้ม หนวดมี 7 - 8 ปล้อง สีน้ำตาลเข้ม ปล้องที่ 3 สีน้ำตาลอ่อน อกทุกปล้องมีสีส้มสด ขาทุกคู่สีส้ม ปีกคู่หน้าสีน้ำตาลปนเหลือง บริเวณโคนปีกมีสีจางกว่าปลายปีก ขนบริเวณปีกคู่หน้าเรียงกันเป็นเส้นปีกแบบไม่สมบรูณ์ ปล้องท้องสีน้ำตาลเข้มทุกปล้อง

พืชอาหาร : เบญจมาศ ศิริณี(2544) รายงานว่าพบเพลี้ยไฟชนิดนี้ในข้าวโพด มะเขือ หน่อไม้ฝรั่ง พริก กวางตุ้ง สะเดา กระถิน กระเจี๊ยบเขียว กุหลาบ ดาวเรือง เข็มขาว บานชื่น ดาวกระจาย พุทธรักษา ลำโพง กุหลาบ บัวพุด มะม่วง ส้มโอ เนคทาลีน กล้วย ทานตะวัน แก้วมังกร

การแพร่กระจาย : จังหวัดเชียงใหม่ จังหวัดนครราชสีมา

ลักษณะการทำลาย : ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบอ่อนและดอก

Thrips palmi **Karny** (ภาพที่ 4)

อันดับ Thysanoptera

วงศ์ Thripidae

ชื่อสามัญ เพลี้ยไฟฝ้าย: cotton thrips

ลักษณะสำคัญ

เป็นเพลี้ยไฟที่มีขนาดลำตัวยาว 0.07 - 0.09 เซนติเมตร สีเหลือง หนวดมี 7 ปล้อง สีเหลือง ขาทุกคู่สีเดียวกับลำตัว ปีกสีเหลือง ขนบริเวณปีกคู่หน้าเรียงกันเป็นเส้นปีกแบบไม่สมบรูณ์

พืชอาหาร : เบญจมาศ ศิริณี(2544) รายงานว่าพบเพลี้ยไฟชนิดนี้ในถั่วลิสง ถั่วเหลือง มันฝรั่ง ข้าวโพด งา ทานตะวัน ฝ้าย มะขามเทศ ตำลึง บวบ มะระ มะระขี้นก ผักบุ้งจีน พริก กะเพรา กวางตุ้ง ฟัก ฟักทอง มะรุม แตงกวา ถั่วแปปผี ถั่วฝักยาว หอมใหญ่ หน่อไม้ฝรั่ง โหระพา ผักชี กระเจี๊ยบเขียว มะเขือชนิดต่างๆ มะเขือเทศ สะเดา แตงไทย พืชตระกูลกะหล่ำ ลำโพง กล้วยไม้ กุหลาบ จำปา บัว เบญจมาศ ดาวเรือง กระท้อน ฝรั่ง พุทรา มะม่วง มะละกอ ทุเรียน องุ่น ลิ้นจี่ กล้วย ส้มเขียวหวาน ส้มโอ มังคุด แตงโม ท้อ แคนตาลูป แก้วมังกร มะม่วงหิมพานต์ ยาสูบ หม่อน หญ้าข้าวนก พญายอ วัชพืช

การแพร่กระจาย : จังหวัดนครราชสีมา จังหวัดเชียงใหม่ จังหวัดน่าน

ลักษณะการทำลาย : ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบอ่อนและดอก

Microcephalothrips abdominalis **Crawford** (ภาพที่ 5)

อันดับ Thysanoptera

วงศ์ Thripidae

ชื่อสามัญ เพลี้ยไฟขอบปล้องหยัก: composite thrips

ลักษณะสำคัญ

เป็นเพลี้ยไฟที่มีขนาดลำตัวยาว 0.08 - 1.00 เซนติเมตร สีน้ำตาล ส่วนหัวแคบกว่าส่วนอก ขอบปลายปล้องท้องทุกปล้องมีลักษณะคล้ายฟันเลื่อย

พืชอาหาร : เบญจมาศ ศิริณี(2544) รายงานว่าพบเพลี้ยไฟชนิดนี้ในกุหลาบ บาร์เลย์ เบญจมาศ ดาวเรือง ดาวเรืองแอฟริกัน ถั่วลิสง ทานตะวัน ทุเรียน ผักชี ผักชีฝรั่ง พริก พิทูเนีย มังคุด เยอบีร่า หน่อไม้ฝรั่ง

การแพร่กระจาย : จังหวัดนครราชสีมา จังหวัดเชียงใหม่ จังหวัดน่าน

ลักษณะการทำลาย : ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบอ่อนและดอก

Aphis gossypii **Glover** (ภาพที่ 6)

อันดับ Hemiptera

วงศ์ Aphididae

ชื่อสามัญ เพลี้ยอ่อนฝ้าย: cotton aphid

ลักษณะสำคัญ

เป็นเพลี้ยอ่อนขนาดเล็ก ลำตัวยาว 0.09 - 0.18 เซนติเมตร ตัวอ่อนสีเหลืองจางหรือสีขาว ตัวเต็มวัยสีเขียวอมเหลืองจนถึงสีเขียวเข้ม ขาสีเหลือง หนวดมี 6 ปล้อง หนวดปล้องที่ 1, 2 และปล้องสุดท้ายสีน้ำตาลอ่อน

พืชอาหาร : เบญจมาศ ศิริณี(2544) รายงานว่าพบเพลี้ยไฟชนิดนี้ในพืชตระกูลกะหล่ำ พืชตระกูลแตง มะเขือเปราะ มะเขือพวง ผักบุ้งจีน ฟักทอง ตำลึง น้ำเต้า พริกขี้หนู พริกหยวก ฝ้าย

การแพร่กระจาย : จังหวัดนครราชสีมา จังหวัดเชียงใหม่ จังหวัดน่าน

ลักษณะการทำลาย : ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบอ่อนและดอก

ผีเสื้อหนอนกระทู้ผัก (common cutworm) (ภาพที่ 7)

Spodoptera litura (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae)

Prodenia litura Fabricius

Mamestra albisparsa Walker

Prodenia ciligera Gueéne

Prodenia declinata Walker

Noctua elata Fabricius

Prodenia evanescens Butler

Prodenia glaucistriga Walker

Noctua histrionica Fabricius

Prodenia subterminalis Walker

Prodenia tasmanica Gueéne

Noctua litura Fabricius

Prodenia testaceoides Walker

Prodenia littoralis Fabricius

Spodoptera littoralis

ลักษณะทั่วไป

ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดกลาง ขนาดลำตัวเมื่อกางปีกกว้าง 3.0 - 3.5 เซนติเมตร ส่วนหัวและลำตัวปกคลุมด้วยขนสีน้ำตาล ปีกคู่หน้าสีน้ำตาลเข้ม-เทา มีเส้นสีเหลืองพาดเป็นลวดลายทั่วทั้งปีก เส้นพาดเฉียงกลางปีกมีขนาดใหญ่ที่สุด ปีกคู่หลังสีขาวใส การทำลายเกิดขึ้นระยะหนอน หนอนวัยสุดท้าย มีขนาดยาว 3.0 - 4.0 เซนติเมตร สีน้ำตาล-เทา มีแถบรูปสามเหลี่ยม

ด้านบนและด้านข้างทุกปล้องของลำตัว บริเวณท้องปล้องแรกและปล้องสุดท้ายแถบสามเหลี่ยมมีขนาดใหญ่กว่าปล้องอื่นๆ เส้นสีเหลืองพาดด้านหลังตามยาวลำตัว 3 เส้น ด้านข้าง 1 เส้น

การแพร่กระจาย : จังหวัดนครราชสีมา จังหวัดเชียงใหม่

ลักษณะการทำลาย : ตัวหนอนกัดกินใบ ดอก

ผีเสื้อหนอนกระทู้หอม (beet armyworm) (ภาพที่ 8)

Spodoptera exigua (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae)

Laphygma exigua Hübner

Susunai exigua (Hübner)

Laphygma flavimaculata

Caradrina exigua Hübner

Noctua exigua Hübner

Spodoptera flavimaculata (Harvey)

ลักษณะทั่วไป

ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดกลาง ขนาดลำตัวเมื่อกางปีกกว้าง 2.0 - 2.5 เซนติเมตร หัวและลำตัวปกคลุมด้วยขนสีน้ำตาลปนเทา ปีกคู่หน้าสีเทา มีจุดสีน้ำตาลอ่อนกลางปีกคู่หน้าข้างละ 2 จุด ปีกคู่หลังสีขาวใส การทำลายเกิดขึ้นระยะหนอน หนอนวัยสุดท้าย มีขนาดยาว 2.5 - 2.8 เซนติเมตร ลำตัวอ้วน ผนังลำตัวเรียบสีเขียว เทาหรือน้ำตาลอ่อน ด้านข้างลำตัวมีแถบสีขาวพาดตามยาวลำตัวข้างละแถบ จากอกถึงท้องปล้องสุดท้าย

การแพร่กระจาย : จังหวัดนครราชสีมา จังหวัดเชียงใหม่

ลักษณะการทำลาย : ตัวหนอนกัดกินใบ ดอก

ผีเสื้อหนอนเจาะสมอฝ้าย (cotton bollworm) (ภาพที่ 9)

Helicoverpa armigera (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae)

Heliothis armigera Hübner

Chloridea armigera Hübner

Chloridea obsoleta

Heliothis obsoleta Auct.

Helicoverpa obsoleta Auct.

Heliothis fusca Cockerell

Heliothis rama Bhattacherjee & Gupta

Noctua armigera Hübner

ลักษณะทั่วไป

ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดกลาง ขนาดลำตัวเมื่อกางปีกกว้าง 3.5 - 4.0 เซนติเมตร ส่วนหัวและลำตัวปกคลุมด้วยขนสีน้ำตาลหนาแน่น ปีกคู่หน้าสีน้ำตาล ขอบด้านนอกของปีกมีจุดสีดำ 7 ถึง 8 จุด เรียงเป็นเส้นตามขวางปีก ถัดมามีแถบกว้างสีน้ำตาลเข้ม และบริเวณกลางปีกมีจุดสีดำขนาดใหญ่ 1 จุด จุดขนาดเล็ก 1 จุด ปีกคู่หลังสีเหลืองอ่อน ขอบด้านนอกของปีกสีน้ำตาลเข้มถึงดำ การทำลายเกิดขึ้นระยะหนอน หนอนวัยสุดท้ายมีขนาดยาว 3.0-4.0 เซนติเมตร ลำตัวสีน้ำตาล-เทา หัว อก และขา ลำตัวเทา มีแถบสีน้ำตาลกลางหลัง 1 แถบ และแถบสีเหลืองด้านข้าง 2 แถบ มีขนขนาดเล็กสีขาวกระจายทั่วตัว

การแพร่กระจาย : จังหวัดนครราชสีมา

ลักษณะการทำลาย : ตัวหนอนกัดกินใบ ดอก

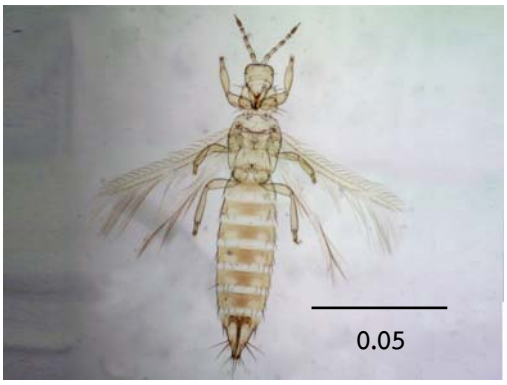
สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาอนุกรมวิธานของแมลงศัตรูเบญจมาศระหว่างเดือนตุลาคม 2551 ถึงเดือนกันยายน 2553 ในแปลงปลูก เบญจมาศภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบแมลงศัตรูเบญจมาศ 3 อันดับ 3 วงศ์ รวม 9 ชนิด ได้แก่ อันดับ Thysanoptera พบเพลี้ยไฟในวงศ์ Thripidae 5 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยไฟดอกไม้ตะวันตก: western flower thrips; *Frankliniella occidentalis* Pergande เพลี้ยไฟดอกไม้: common blossom thrips; *Frankliniella schultzei* Trybom เพลี้ยไฟดอกไม้ฮาวาย: hawaiian flower thrips; *Thrips hawaiiensis* (Morgan) เพลี้ยไฟฝ้าย: cotton thrips; *Thrips palmi* Karny เพลี้ยไฟขอบปล้องหยัก: composite thrips; *Microcephalothrips abdominalis* Crawford อันดับ Hemiptera พบเพลี้ยอ่อน 1 ชนิด คือ เพลี้ยอ่อนฝ้าย *Aphis gossypii* Glover อันดับ Lepdoptera พบหนอนผีเสื้อ 3 ชนิด ได้แก่ ผีเสื้อหนอนกระทู้ผัก: common cutworm; *Spodoptera litura* (Fabricius) ผีเสื้อหนอนกระทู้หอม: beet armyworm; *Spodoptera exigua* (Hübner) และผีเสื้อหนอนเจาะสมอฝ้าย: cotton bollworm; *Helicoverpa armigera* (Hübner) เพลี้ยไฟและเพลี้ยอ่อนที่พบเข้าทำลายเบญจมาศโดยดูดกินน้ำเลี้ยงจากเซลล์ดอกเบญจมาศที่สำคัญในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ สำหรับหนอนผีเสื้อกัดกินใบและดอกเบญจมาศในแหล่งปลูกเบญจมาศ

เอกสารอ้างอิง

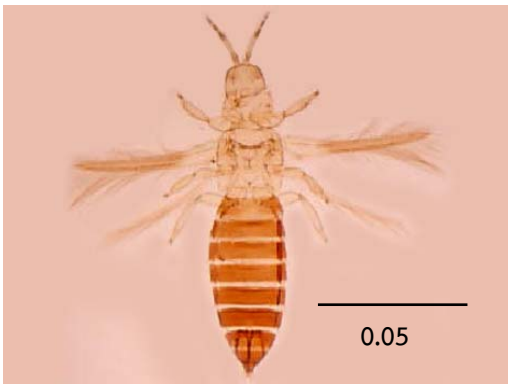
พิสมัย ชวลิตวงษ์พร. 2538. แมลงศัตรูไม้ดอกไม้ประดับของประเทศไทย. เอกสารวิชาการประจำปี 2538. กรมวิชาการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพมหานคร. 148 หน้า.

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

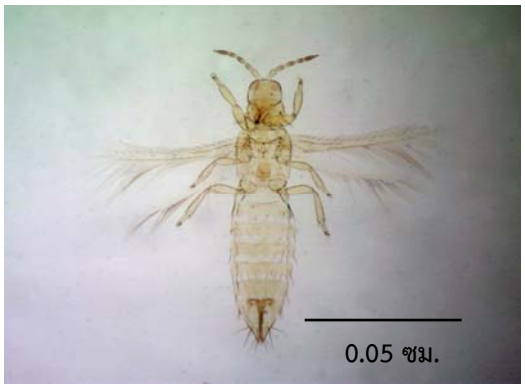


ภาพที่ 1 *Frankliniella occidentalis* Pergande
เพลี้ยไฟดอกไม้ตะวันตก (Western Flower Thrips)

ภาพที่ 2 *Frankliniella schultzei* Trybom
เพลี้ยไฟดอกไม้ (Common Blossom Thrips)

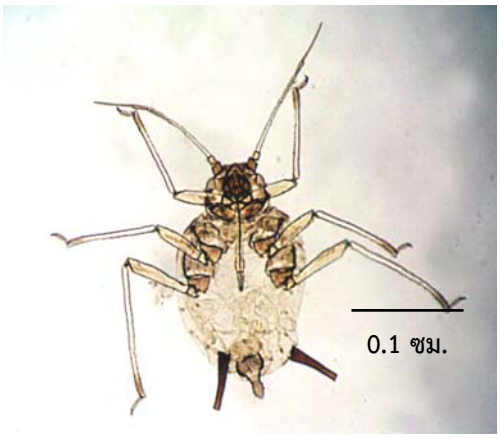


ภาพที่ 3 *Thrips hawaiiensis* (Morgan)
เพลี้ยไฟดอกไม้ฮาวาย (Hawaiian Flower Thrips)



ภาพที่ 4 *Thrips palmi* Karny
เพลี้ยไฟฝ้าย (Cotton Thrips)

ภาพที่ 5 *Microcephalothrips abdominalis* Crawford
เพลี้ยไฟขอบปล้องหยัก (Composite Thrips)



ภาพที่ 6 *Aphis gossypii* Glover
เพลี้ยอ่อนฝ้าย (Cotton Aphid)

ภาพที่ 7 *Spodoptera litura* (Fabricius)
(Lepidoptera: Noctuidae)

ภาพที่ 8 *Spodoptera exigua* (Hübner)
(Lepidoptera: Noctuidae)

ภาพที่ 9 *Helicoverpa armigera* (Hübner)
(Lepidoptera: Noctuidae

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 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาอนุกรมวิธานแมลงศัตรูที่พบในไม้ดอกสกุล *Curcuma* (ปทุมมาและกระเจียว) ให้ทราบถึงชนิด ลักษณะการทำลาย และเขตการแพร่กระจายของแมลงศัตรูพืช เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานประกอบการจัดทำรายชื่อชนิดแมลงศัตรูพืช รองรับปัญหาด้านการนำเข้า-ส่งออกพืชชนิดนี้ ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2550 ถึงเดือนกันยายน 2553 ในแหล่งปลูกปทุมมาและกระเจียว ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือ นำตัวอย่างที่สำรวจได้มาจำแนกชนิด ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จากการศึกษาครั้งนี้พบแมลงศัตรูทั้งหมด 15 ชนิด แบ่งเป็น อันดับ Coleoptera 7 ชนิด ได้แก่ *Araecerus fasciculatus* (De Geer), *Aulacophora frontalis* Baly, *A. indica* (Gmelin), *Monolepta signata* (Olivier), *Phyllotreta chotanica* Duvivier, *Phyllotreta* sp., *Lepropus lateralis* (Fabricius), อันดับ Thysanoptera 1 ชนิด ได้แก่ *Thrips palmi* Karny อันดับ Lepidoptera 3 ชนิด ได้แก่ *Creatonotos transiens* Walker, *Spodoptera litura* (Fabricius), *Mythimna separata* Walker อันดับ Hemiptera 3 ชนิด ได้แก่ *Leptocorisa oratorius* (Fabricius), *Cletus trigonus* (Thunberg), *Riptortus linearis* (Linnaeus) และอันดับ Orthoptera 1 ชนิด ได้แก่ *Oxya yezoensis* Shiroki ตัวอย่างแมลงศัตรูทั้งหมดนำเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร

คำนำ

ปทุมมาเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่มีลำต้นสะสมอาหารอยู่ใต้ดินแบบเหง้า จัดเป็นพืชในวงศ์ Zingiberaceae ซึ่งเป็นวงศ์เดียวกับขิงและข่า อยู่ในสกุล *Curcuma* จะพบเห็นปทุมมาได้แทบทุกภาคของประเทศ โดยเฉพาะในเขตภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (สมานและคณะ,2541) ไม้ในสกุลนี้แบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ **กลุ่มปทุมมา** พบได้ทั่วไปในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ปทุมมาจะแทงช่อดอกออกมาจากส่วนกลางของลำต้นเทียม ก้าน ช่อดอกยาวตรง และ**กลุ่มกระเจียว** พบได้ทั่วทุกภาคของประเทศไทย ช่อดอกจะเป็นทรงกระบอก อาจแทงช่อดอกขึ้นมาจากเหง้าโดยตรงหรือออกจากทางด้านข้างของลำต้นเทียม (สุรวิท,2540)

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-37-51

ปทุมมาเป็นพืชที่มีศักยภาพในการส่งออก ทำรายได้ให้ประเทศปีละหลายสิบล้านบาท ความสวยงามแปลกตาของรูปทรงดอก สีสันอันสดใส ประกอบกับอายุการใช้งาน นานกว่าไม้ดอกหลายชนิด เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีส่วนสำคัญทำให้ปทุมมาได้รับความสนใจ การส่งออกส่งได้ 2 รูปแบบ คือในรูปแบบของหัวพันธุ์และไม้ตัดดอก การส่งออกปทุมมามีปัญหาเรื่องโรคติดไปกับหัวพันธุ์ ศัตรูที่พบในแปลงปลูกมีรายงานพบโรคหลายชนิด (วิภาดาและคณะ,2543) ส่วนข้อมูลด้านแมลงศัตรูยังไม่มีรายงานและศึกษามาก่อน จึงควรที่จะศึกษาวิจัยเพื่อเตรียมข้อมูลสำหรับรองรับปัญหาด้านการส่งออกพืชชนิดนี้ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1) ตัวอย่างแมลงทั้งตัวอ่อน และตัวเต็มวัยที่รวบรวมได้จากแปลงปลูกปทุมมาและกระเจียว

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

3) อุปกรณ์ที่ใช้จัดรูปร่างแมลง ได้แก่ เข็มไร้สนิม เข็มหมุดหัวกลม ไม้จัดรูปร่างแมลง ปากคีบ โหลชื้น ตู้อบแมลง ฯลฯ

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

5) กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และ compound microscope กล้องถ่ายภาพ

6) เอกสารประกอบการจำแนกชนิดแมลงอันดับต่างๆ

วิธีการ

1) สำรวจรวบรวมตัวอย่างแมลงศัตรูที่พบในแปลงปลูกปทุมมาและกระเจียวในภาคกลาง ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งมีวิธีเก็บรวบรวมแตกต่างกันในแต่ละชนิด เช่น

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

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

2) นำตัวอย่างทั้งหมดที่รวบรวมได้กลับไปยังห้องปฏิบัติการ

- ตัวอย่างหนอนหรือตัวอ่อนแมลง นำไปเลี้ยงเพื่อศึกษาพฤติกรรมและการเจริญเติบโต ตัวเต็มวัย นำไปจัดรูปร่าง และอบให้แห้ง

- เพลี้ยไฟ เพลี้ยหอย เพลี้ยแป้ง เพลี้ยอ่อน นำไปทำสไลด์ถาวรตามวิธีการของแต่ละชนิด ส่วนแมลงที่ยังมีชีวิตนำไปเลี้ยงเพื่อศึกษาการเจริญเติบโต และพฤติกรรมต่างๆ

3) นำแมลงที่จัดรูปร่าง และอบแห้ง หรือทำสไลด์เรียบร้อยแล้วไปตรวจวิเคราะห์ชนิดตามหลักการของอนุกรมวิธานของแมลง

4) บันทึกรายละเอียดของแมลงบนแผ่นป้ายบันทึกกำกับตัวอย่าง

6) นำตัวอย่างแมลงเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์แมลง

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น เดือนตุลาคม 2550 **สิ้นสุด** เดือนกันยายน 2553

สถานที่ : 1) แหล่งปลูกปทุมมาและกระเจียว ในเขตภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ

2) ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาอนุกรมวิธานแมลงศัตรูที่พบในไม้ดอกสกุล *Curcuma* (ปทุมมาและกระเจียว) ผลการตรวจวิเคราะห์ตามหลักอนุกรมวิธาน โดยใช้แนวทางการวินิจฉัยซึ่งปรับปรุงมาจาก สุธรรม (2510); Borror (2005); Pinratana (1999); Inoue (1982) และ Zimmerman (1994) สามารถวิเคราะห์ชนิดแมลงศัตรูปทุมมาและกระเจียว ได้ 5 อันดับ 9 วงศ์ 15 ชนิด โดยมีรายละเอียด ดังนี้

ด้วงกาแฟ (coffee-bean weevil)

***Araecerus fasciculatus* (De Geer) (Coleoptera: Anthribidae)**

Curculio fasciculatus De Geer

Araecerus coffeae (Fabricius)

Anthribus coffeae Fabriciuis

Amblycerus japonicus Thunbe

ลักษณะทั่วไป (ภาพที่ 1 ก)

ตัวเต็มวัย สีน้ำตาลอมเทา ขนาดลำตัว 3.0 - 5.0 มิลลิเมตร ลักษณะคล้ายด้วงถั่วเขียว หนวดและขายาว หนวดแบบกระบอง ปลายหนวดสามปล้องสุดท้ายมีขนาดใหญ่กว่าปล้องอื่นๆ ปีกคู่หน้าสีน้ำตาลเข้ม มีขนสีขาวสลับสีน้ำตาลเข้มปกคลุม มองเห็นคล้ายเป็นจุดสีน้ำตาลเข้มสลับสีขาว ปีกสั้นกว่าลำตัวเล็กน้อย

การแพร่กระจาย : จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย

ลักษณะการทำลาย : ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยกัดกินรากและหัว

ด้วงเต่าแตงดำ (black pumpkin beetle)

***Aulacophora frontalis* Baly (Coleoptera: Chrysomelidae)**

Ceratia frontalis

ลักษณะทั่วไป (ภาพที่ 1 ข)

ตัวเต็มวัย ขนาดลำตัวยาว 6.0 - 7.0 มิลลิเมตร ส่วนหัวและอกปล้องแรกสีเหลืองเข้ม หนวดเรียวยาวสีเหลือง อกแคบกว่าปีกโคนปีกและมีรอยบุ๋มเป็นลอนกลางปล้องอก ปีกคู่หน้าสีดำเป็นมัน ไม่มีร่องหรือลวดลาย ขายาวสีเหลืองเข้ม

การแพร่กระจาย : ตาก ชัยภูมิ เลย เพชรบูรณ์

ลักษณะการทำลาย : ตัวเต็มวัยกัดกินใบ ดอก

ด้วงเต่าแตงแดง (red pumpkin beetle)

***Aulacophora indica* (Gmelin) (Coleoptera: Chrysomelidae)**

Aulacophora similis (Olivier)

Rhaphidopalpa similis (Olivier)

Orthaulaca similis (Olivier)

Ceratia similis

Crioceris testacea Fabricius

Galeruca similis Olivier

Raphidopalpa femoralis Motschulsky

ลักษณะทั่วไป (ภาพที่ 1 ค)

ตัวเต็มวัย ขนาดลำตัวยาว 6.0 - 7.0 มิลลิเมตร ส่วนหัวและอกปล้องแรกสีเหลืองเข้ม หนวดเรียวยาวสีเหลือง อกแคบกว่าปีกโคนปีกและมีรอยบุ๋มเป็นลอนกลางปล้องอก ปีกคู่หน้าสีเหลืองเข้มเป็นมัน ไม่มีร่องหรือลวดลาย ขายาวสีเหลืองเข้ม

การแพร่กระจาย : ตาก ชัยภูมิ เลย เพชรบูรณ์

ลักษณะการทำลาย : ตัวเต็มวัยกัดกินใบ ดอก

ด้วงเต่าแตงจุดขาว (leaf eating beetle)

***Monolepta signata* (Olivier) (Coleoptera: Chrysomelidae)**

ลักษณะทั่วไป (ภาพที่ 1 ง)

ตัวเต็มวัย ขนาดลำตัวยาว 4.5 - 5.0 มิลลิเมตร ส่วนหัวและอกปล้องแรกสีเหลืองเข้ม หนวดเรียวยาวโคนหนวด 3 ปล้องแรกสีเหลืองปล้องถัดไปสีน้ำตาลเข้มจนถึงปล้องสุดท้าย ปีกคู่หน้าสีน้ำตาลอ่อน มีจุดกว้างสีขาวนวลบริเวณโคนปีก 2 จุดและปลายปีก 2 จุด ขายาวสีเหลืองเข้ม

การแพร่กระจาย : ตาก ชัยภูมิ เลย

ลักษณะการทำลาย : ตัวเต็มวัยกัดกินใบ ดอก

ด้วงหมัดกระโดดสีน้ำเงิน (deep blue flea-beetle)

***Phyllotreta chotanica* Duvivier (Coleoptera: Chrysomelidae)**

ลักษณะทั่วไป (ภาพที่ 1 จ)

ตัวเต็มวัยสีดำ ขนาดลำตัวยาว 1.0 - 1.5 มิลลิเมตร หนวดยาวไปถึงกึ่งกลางปีก อกมีความกว้างมากกว่าความยาว โคนฐานปีกคู่หน้ากวางกว่าอกปล้องแรก มีร่องหลุม (puncture) ขนาดเล็กมองเห็นเป็นจุดกลมๆ ทั่วทั้งตัว ขาคู่ที่ 3 ส่วนโคนขา (femur) ขยายใหญ่

การแพร่กระจาย : เลย เพชรบูรณ์

ลักษณะการทำลาย : ตัวเต็มวัยกัดกินใบ

ด้วงหมัดผัก (flea beetle)

***Phyllotreta* sp. (Coleoptera: Chrysomelidae)**

ลักษณะทั่วไป (ภาพที่ 1 ฉ)

ตัวเต็มวัย ขนาดลำตัวยาว 3.5 - 4.0 มิลลิเมตร หัวสีดำ หนวดเรียวยาวโคนหนวด 3 ปล้องแรกสีเหลืองปล้องถัดไปสีน้ำตาลเข้มถึงปล้องสุดท้าย อกปล้องแรกสีเหลือง ปีกคู่หน้าสีดำ กลางปีกสีน้ำตาลอ่อน บริเวณประกบกันของปีกสีดำ ขาคู่ที่ 1 และ 2 เรียวยาวสีเหลือง ขาคู่ที่ 3 ส่วนโคนขา (femur) ขยายใหญ่สีน้ำตาลเข้ม แข้งขา (tibia) และปลายขา (tarsus) สีเหลือง

การแพร่กระจาย : เลย เพชรบูรณ์

ลักษณะการทำลาย : ตัวเต็มวัยกัดกินใบ ดอก

ด้วงงวง (green weevil)

***Lepropus lateralis* (Fabricius) (Coleoptera: Curculionidae)**

Astycus lateralis (Fabricius)

ลักษณะทั่วไป (ภาพที่ 2 ก)

ตัวเต็มวัย ขนาดลำตัวยาว 1.2 - 1.4 เซนติเมตร สีน้ำตาลเข้ม ปากยื่นไปด้านหน้า (prognathous) หนวดพับแบบหักข้อศอก (geniculate) สามปล้องสุดท้ายขยายใหญ่ หัว อก และปีกคู่หน้าลักษณะเป็นร่องหลุม (puncture) ขนาดเล็ก และมีเกล็ดสีเขียวแวววาวคล้ายเพชรฝังอยู่ ทำให้มองเห็นลำตัวเป็นสีเขียวสะท้อนแสง โคนขาทั้งสามคู่ขยายใหญ่

การแพร่กระจาย : เลย เพชรบูรณ์

ลักษณะการทำลาย : ตัวเต็มวัยกัดกินใบ ดอก

เพลี้ยไฟฝ้าย (Oriental thrips)

***Thrips palmi* Karny (Thysanoptera: Thripidae)**

Chloethrips aureus Ananthrakrishnan & Jagadish

Thrips gossypicola (Priesner)

Thrips gracilis Ananthrakrishnan & Jagadish

Thrips leucadophilus Priesner

Thrips nilgiriensis Ramakrishna

Thrips clarus Moulton

ลักษณะทั่วไป (ภาพที่ 2 ข)

ตัวอ่อนวัยแรกมีลักษณะขาวใส ผอมเรียว ขนาดลำตัวยาว 0.2 - 0.3 มิลลิเมตร ปลายท้องค่อนข้างแหลม ตารวมสีขาวใส หนวด 7 ปล้อง ตัวอ่อนระยะที่ 2 - 3 ลำตัวสีเหลืองเข้ม ลำตัวมีขนาด 0.4 - 0.7 มิลลิเมตร ตารวมสีเทาดำ ตาเดี่ยวสีแดง ตุ่มปีกบริเวณอกปล้องที่ 2 และ 3 เริ่มเจริญ ตัวเต็มวัยมีสีเหลืองเข้ม ขนาดลำตัวยาว 0.8 - 1.0 มิลลิเมตร หนวดสีเหลือง มี 7 ปล้อง ตารวมสีเทาดำ ตาเดี่ยว 3 ตา สีแดง ปล้องท้องมี 10 ปล้อง ปีกยาวปกคลุมมิดส่วนท้อง

การแพร่กระจาย : ชัยภูมิ

ลักษณะการทำลาย : ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยง ยอดอ่อน ใบ ดอก

หนอนผีเสื้อขนฟู (hairy caterpillar)

***Creatonotos transiens* Walker (Lepidoptera: Arctiidae)**

ลักษณะทั่วไป (ภาพที่ 2ค,ง)

ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดกลาง ขนาดลำตัวเมื่อกางปีกกว้าง 4.2 - 4.7 เซนติเมตร หัวและอก ปกคลุมด้วยขนสีขาว ปีกทั้งสองคู่สีเทาอ่อน ปีกคู่หน้ามีจุดสีดำขนาดเล็ก 4 จุด ท้องปกคลุมด้วยขนสีเหลืองมีจุดสีดำกลางหลังและด้านข้างลำตัว การทำลายเกิดขึ้นระยะหนอน หนอนโตเต็มที่ยาว 4 - 5 เซนติเมตร ลำตัวสีดำ มีขนสีน้ำตาลปกคลุมทั่วตัว และหนาแน่นเป็นกระจุกบริเวณด้านหลังของแต่ละปล้อง มีแถบสีขาวคาดขวางลำตัวมองเห็นรอยแบ่งแต่ละปล้องชัดเจน

การแพร่กระจาย : ชัยภูมิ

ลักษณะการทำลาย : ตัวหนอนกัดกินใบ ดอก

ผีเสื้อหนอนกระทู้ผัก (common cutworm)

***Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae)**

Prodenia litura Fabricius

Mamestra albisparsa Walker

Prodenia ciligera Gueéne

Prodenia declinata Walker

Noctua elata Fabricius

Prodenia evanescens Butler

Prodenia glaucistriga Walker

Noctua histrionica Fabricius

Prodenia subterminalis Walker

Prodenia tasmanica Gueéne

Noctua litura Fabricius

Prodenia testaceoides Walker

Prodenia littoralis Fabricius

Spodoptera littoralis

ลักษณะทั่วไป (ภาพที่ 2 ฉ)

ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดกลาง ขนาดลำตัวเมื่อกางปีกกว้าง 3.0 - 3.5 เซนติเมตร ปกคลุมด้วยขนสีน้ำตาล ปีกคู่หน้าสีน้ำตาลเข้มเทา มีเส้นสีเหลืองพาดเป็นลวดลายทั่วทั้งปีก เส้นพาดเฉียงกลางปีกมีขนาดใหญ่ที่สุด ปีกคู่หลังสีขาวใส (ภาพที่ 2 จ) การทำลายเกิดขึ้นระยะหนอน หนอนวัยสุดท้าย มีขนาดยาว 3.0 - 4.0 เซนติเมตร สีน้ำตาลเทา มีแถบรูปสามเหลี่ยมด้านบนและด้านข้างทุกปล้องของลำตัว บริเวณท้องปล้องแรกและปล้องสุดท้ายแถบสามเหลี่ยมมีขนาดใหญ่กว่าปล้องอื่นๆ เส้นสีเหลืองพาดด้านหลังตามยาวลำตัว 3 เส้น และเส้นสีเหลืองด้านข้าง 2 เส้น

การแพร่กระจาย : ตาก เพชรบูรณ์

ลักษณะการทำลาย : ตัวหนอนกัดกินใบ ดอก

ผีเสื้อหนอนกระทู้ควายพระอินทร์ (rice armyworm)

***Mythimna separata* Walker (Lepidoptera: Noctuidae)**

Pseudaletia separata Walker

Leucania separata Walker

Cirphis separata

Leucania consimilis Moore

Cirphis unipuncta Haworth

ลักษณะทั่วไป (ภาพที่ 3 ก,ข)

ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดกลาง ขนาดลำตัวเมื่อกางปีกกว้าง 3.5 - 4.0 เซนติเมตร ปกคลุมด้วยขนสีน้ำตาลเข้ม สลับสีน้ำตาลอ่อน ทำให้มองดูคล้ายมีจุดขนาดเล็กกระจายทั่วปีก มีแถบสีน้ำตาลเข้มที่มุมปลายปีก ปีกคู่หลังโคนปีกสีน้ำตาลอ่อน ปลายปีกสีน้ำตาลเข้ม การทำลายเกิดขึ้นระยะหนอน หนอนวัยสุดท้าย มีขนาดยาว 3.5 - 4.0 เซนติเมตร ลำตัวสีเขียวอ่อน มีเส้นสีเหลืองสลับสีเทาพาดตามความยาวลำตัว บริเวณรอยต่อระหว่างปล้องคาดด้วยเส้นสีเหลือง ขนสีขาวขนาดเล็กกระจายทั่วตัว

การแพร่กระจาย : ตาก เพชรบูรณ์

ลักษณะการทำลาย : ตัวหนอนกัดกินใบ ดอก

แมลงสิง (Slender rice bug)

***Leptocorisa oratorius* (Fabricius) (Hemiptera: Coreidae)**

Leptocorisa oratoria

Gerris oratorius Fabricius

Leptocorisa bengalensis Westwood, 1842

Leptocorisa maculiventris Dallas, 1852

Rhabdocoris arctuata Kolenati, 1845

Myodochus trinotata Herrich Schaffer, 1848

ลักษณะทั่วไป (ภาพที่ 3 ค)

ตัวเต็มวัย ขนาดลำตัวยาว 1.8 - 1.9 เซนติเมตร หัวงุ้มไปข้างหลัง (opisthognathous) มีตาเดี่ยว 2 ตาเห็นได้ชัดเจน หนวดยาว 4 ปล้อง ปากแบบเจาะดูดพับอยู่ด้านล่างลำตัว ลำตัวเรียวยาว สีเขียว ขอบด้านนอกของอกปล้องแรก และปีกคู่หน้าสีน้ำตาล ขาเรียวยาว โคนขา (femur) สีเขียว แข้งขา (tibia) และปลายขา (tarsus) สีน้ำตาล มีจุดดำขนาดเล็กที่ด้านข้างของปล้องท้อง

การแพร่กระจาย : ชัยภูมิ ตาก เชียงราย เพชรบูรณ์

ลักษณะการทำลาย : ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดน้ำเลี้ยง ใบ ดอก

มวนข้าว (rice bug)

***Cletus trigonus* (Thunberg) (Hemiptera: Coreidae)**

ลักษณะทั่วไป (ภาพที่ 3 ง)

ตัวเต็มวัยสีเขียวอ่อน ขนาดลำตัวยาว 0.8 - 0.9 เซนติเมตร หัวงุ้มไปข้างหลัง มีตาเดี่ยว 2 ตาเห็นได้ชัดเจน หนวดยาว 4 ปล้อง กลางอกปล้องแรกขยายกว้างออกส่วนปลายคล้ายหนามแหลม โคนปีกคู่หน้าสีน้ำตาล ปลายปีกสีเขียวใส มีจุดสีขาวขนาดเล็กที่ส่วนปลายของแผ่นสามเหลี่ยม (scutellum) 1 จุด และที่ กลางปีก 2 จัด ด้านข้างของลำตัวและปล้องท้องมีจุดสีดำปล้องละ 1 จุด

การแพร่กระจาย : ชัยภูมิ ตาก เพชรบูรณ์

ลักษณะการทำลาย : ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดน้ำเลี้ยง ใบ ดอก

มวนถั่วเหลือง (soybean pod bug)

***Riptortus linearis* (Linnaeus) (Hemiptera: Coreidae)**

ลักษณะทั่วไป (ภาพที่ 3 จ)

ตัวเต็มวัยสีน้ำตาลเข้ม ขนาดลำตัวยาว 1.5 - 1.6 เซนติเมตร หัวงุ้มไปข้างหลัง มีตาเดี่ยว 2 ตาเห็นได้ชัดเจน หนวดยาว 4 ปล้อง หนวดปล้องแรกยาวกว่าหัว ด้านของลำตัวมีแถบสีเหลืองจากหัวถึงท้องปล้องสุดท้าย โคนขา(femur) ของขาคู่หลังขยายใหญ่

การแพร่กระจาย : ชัยภูมิ ตาก

ลักษณะการทำลาย : ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดน้ำเลี้ยง ใบ ดอก

ตั๊กแตนข้าวเล็ก (small rice grasshopper)

***Oxya yezoensis* Shiraki (Orthoptera: Acrididae)**

***Oxya japonica* (Thunberg)**

ลักษณะทั่วไป (ภาพที่ 3 ฉ)

ตัวเต็มวัยเป็นตั๊กแตนขนาดเล็ก ยาว 2.5 - 3.0 เซนติเมตร ลำตัวสีเขียว มีแถบสีน้ำตาลด้านข้างลำตัวพาดจากหัวถึงปลายปีกคู่หน้า ขาคู่หน้าและคู่กลางสีเขียว โคนขา (femur) ของขาคู่หลังขยายใหญ่ แข้งขา (tibia) และปลายขา (tarsus) สีน้ำตาล-แดง เพศผู้และเพศเมียมีลักษณะใกล้เคียงกันมาก เพศเมียมีขนาดใหญ่กว่าเพศผู้

การแพร่กระจาย : เพชรบูรณ์

ลักษณะการทำลาย : ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยกัดกิน ใบ ดอก

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการศึกษาอนุกรมวิธานแมลงศัตรูที่พบในไม้ดอกสกุล *Curcuma* (ปทุมมาและกระเจียว) พบแมลงศัตรูทั้งหมด 15 ชนิด แบ่งเป็น อันดับ Coleoptera 7 ชนิด ได้แก่ *Araecerus fasciculatus* (De Geer) ด้วงชนิดนี้ทำลายส่วนหัวพันธุ์ สร้างความเสียหายต่อเกษตรกรผู้ผลิตหัวพันธุ์จำหน่าย อีก 6 ชนิด ได้แก่ *Aulacophora frontalis* Baly, *A. indica* (Gmelin), *Monolepta signata* (Olivier), *Phyllotreta chotanica* Duvivier, *Phyllotreta* sp., *Lepropus lateralis* (Fabricius) อันดับ Lepidoptera 3 ชนิด ได้แก่ *Creatonotos transiens* Walker, *Spodoptera litura* (Fabricius), *Mythimna separata* Walker ทั้ง 3 ชนิดทำลายระยะหนอน อันดับ Orthoptera 1 ชนิด ได้แก่ *Oxya yezoensis* Shiraki ทำลายทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัย แมลงทั้ง 3 อันดับนี้ กัดกินใบ ดอก หรือยอดอ่อน ทำให้ผลผลิตลดลงไม่สารถตัดดอกจำหน่ายได้ อันดับ Hemiptera 3 ชนิด ได้แก่ *Leptocorisa oratorius* (Fabricius), *Cletus trigonus* (Thunberg) *Riptortus linearis* (Fabricius) และอันดับ Thysanoptera 1 ชนิด ได้แก่ *Thrips palmi* Karny แมลงทั้ง 2 อันดับดูดกินน้ำเลี้ยงทำให้เกิดรอยแผลเนื่องจากการดูดน้ำเลี้ยง ผลผลิตไม่ได้คุณภาพตามความต้องการ ตัวอย่างที่ได้จากการสำรวจ เก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร เพื่อตรวจสอบความถูกต้อง พร้อมจัดทำฐาน ข้อมูลนำไปใช้อ้างอิงทางวิชาการสำหรับงานอนุกรมวิธานและงานกีฏวิทยาด้านอื่นๆ นอกจากนี้ยังเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการจัดทำบัญชีรายชื่อแมลงศัตรูปทุมมาเพื่อประกอบในงานสำคัญด้านการส่งออกและนำเข้าสินค้าเกษตร

เอกสารอ้างอิง

วิภาดา ทองภักษิณ ปาริชาติ นุกูลการ วัชรี โอฬากนก. 2543. การผลิตปทุมมาอย่างถูกต้องและเหมาะสม. โรงพิมพ์สหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. 79 หน้า

สมาน ภัคดี อเนก บางข่า บัณฑิต จันทร์งาม เสรี ทองศักดิ์ มนตรี ทศานนท์ นาตยา ดำอำไพ และอนุ สุวรรณโฉม. 2541. รายงายประจำปี 2541 ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย. สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร. 62 หน้า

สุรวิช วรรณไกรดรจน์. 2540. ปทุมมาและกระเจียว (Curcuma) ไม้ดอกไม้ประดับ. สำนักพิมพ์บ้านและสวน. กรุงเทพฯ. 128 หน้า

Borror, D.J. and D.M. Delong. 2005. Introduction to the Study of Insects. The United States of America. 864 p.

Inoue,H., S.Sugi, H.Kuroko, S.Moriuti and A.Kawabe. 1982. Moth of Japan. The Kyodo Printing Co. Ltd. Tokyo. 552 p.

Piratana A. & J.M. Maes. 1999. Lucanidae of Thailand. Brothers of St. Gabriel in Thailand. 103 p.

Zimmerman, E.C. 1994. Australian Weevils (Coleoptera: Curculionidae). Brown Prior Anderson.

ก

ข

ค

ง

จ

ฉ

ภาพที่ 1 แมลงศัตรูที่พบในไม้ดอกสกุล *Curcuma* (ปทุมมาและกระเจียว)

ก. *Araecerus fasciculatus* (De Geer) (Coleoptera: Anthribidae)

ข. *Aulacophora frontalis* Baly (Coleoptera: Chrysomelidae)

ค. *Aulacophora indica* (Gmelin) (Coleoptera: Chrysomelidae)

ง. *Monolepta signata* Olivier (Coleoptera: Chrysomelidae)

จ. *Phyllotreta chotanica* Duvivier (Coleoptera: Chrysomelidae)

ฉ. *Phyllotreta* sp. (Coleoptera: Chrysomelidae)

ก

ข

ค

ง

จ

ฉ

ภาพที่ 2 แมลงศัตรูที่พบในไม้ดอกสกุล *Curcuma* (ปทุมมาและกระเจียว)

ก. *Anomala grandis* Hope (Coleoptera: Scarabaeidae)

ข. *Thrips palmi* Karny (Thysanoptera: Thripidae)

ค. *Creatonotos transiens* Walker (Lepidoptera: Arctiidae) (ตัวหนอน)

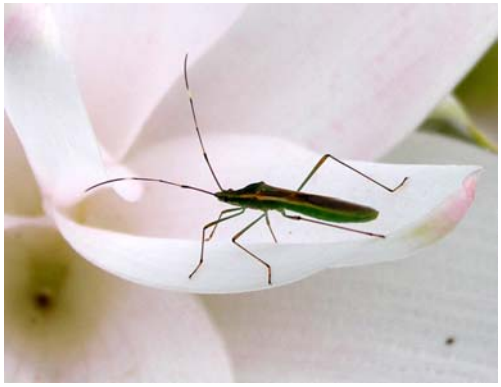
ง. *Creatonotos transiens* Walker (Lepidoptera: Arctiidae) (ตัวเต็มวัย)

จ. *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae) (ตัวหนอน)

ฉ. *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae) (ตัวเต็มวัย)

ก

ข



ค

ง

จ

ฉ

ภาพที่ 3 แมลงศัตรูที่พบในไม้ดอกสกุล *Curcuma* (ปทุมมาและกระเจียว)

ก. *Mythimna separata* Walker (Lepidoptera: Noctuidae) (ตัวหนอน)

ข. *Mythimna separata* Walker (Lepidoptera: Noctuidae) (ตัวเต็มวัย)

ค. *Leptocorisa oratorius (Fabricius)* (Hemiptera: Coreidae)

ง. *Cletus trigonus* Thunb (Hemiptera: Coreidae)

จ. *Riptortus linearis* (Fabricius) (Hemiptera: Coreidae)

ฉ. *Oxya yezoensis* Shiraki (Orthoptera: Acrididae)

อนุกรมวิธานเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus*

Taxonomy of Mealybug in Genus *Pseudococcus*

ชลิดา อุณหวุฒิ ชมัยพร บัวมาศ ศิริณี พูนไชยศรี ลักขณา บำรุงศรี
ยุวรินทร์ บุญทบ สุนัดดา เชาวลิต ณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาอนุกรมวิธานเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* ระหว่างเดือนตุลาคม 2551 ถึงเดือนกันยายน 2553 โดยเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยแป้งจากแหล่งปลูกพืชต่างๆ ทั่วทุกภาคของประเทศ นำตัวอย่างที่รวบรวมได้ไปทำสไลด์ถาวร และตรวจวิเคราะห์ชนิด ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช พบเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* จำนวน 2 ชนิด คือ เพลี้ยแป้งมังคุด; *Pseudococcus cryptus* Hempel บนมังคุด มะม่วงและมะขาม และเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีเทา; *Pseudococcus jackbeardsleyi* Gimpel and Miller บนมันสำปะหลัง มะม่วง ฝรั่ง มะเขือ ชะพลู ลีลาวดี โป๊ยเซียน สาวน้อยประแป้ง และวัชพืชหลายชนิด นอกจากนี้ยังพบแมลงศัตรูธรรมชาติ 2 ชนิด คือ ด้วงเต่า *Crytolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera : Coccinellidae) เป็นแมลงห้ำของเพลี้ยแป้งมังคุด และแมลงช้างปีกใส *Plesiochrysa ramburi* (Schneider) (Neuroptera : Chrysopidae) เป็นแมลงห้ำของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีเทา

คำนำ

เพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* เป็นแมลงปากดูดที่มีความสำคัญสกุลหนึ่งในวงศ์ Pseudococcidae ทำความเสียหายให้กับพืชได้หลายชนิดทั้งพืชสวนและพืชไร่ 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 มะม่วง และฝักมะขาม (บุปผาและชลิดา,2543) และผลมังคุด (ชลิดาและคณะ,2546) อย่างไรก็ตามข้อมูลรายละเอียดต่างๆของเพลี้ยแป้งสกุลนี้มี

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-38-51

น้อย ดังนั้นการศึกษาอนุกรมวิธานเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งเพื่อทราบชนิดและชื่อวิทยาศาสตร์ พืชอาหาร ลักษณะการทำลาย และเขตแพร่กระจายของเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* แต่ละชนิด สำหรับเป็นข้อมูลประกอบการพิจารณาแนวทางการป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งดังกล่าวและเก็บรักษาตัวอย่างไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* ที่รวบรวมได้
2. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างเพลี้ยแป้ง ได้แก่ alcohol ขวดดองตัวอย่างแมลง พู่กัน กรรไกรตัดแต่งกิ่ง และถุงพลาสติก ถุงกระดาษ และกล่องรักษาความเย็น
3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวร ได้แก่ แผ่นสไลด์แก้ว แผ่นแก้วปิดสไลด์ สารเคมีต่างๆ เช่น แอลกอฮอล์ ไซลีน โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ แอซิดฟุชซิน โคลฟอออย และคานาดาบัลซัม ตู้อบ กล้องถ่ายภาพ
4. กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และ compound microscope ที่ติด camera lucida เป็นอุปกรณ์เสริมช่วยในการวาดภาพเพลี้ยแป้ง อุปกรณ์กล้องถ่ายภาพ
5. อุปกรณ์วาดภาพ ได้แก่ ปากกา Rotring และกระดาษไขเขียนแบบ
6. เอกสารประกอบการจำแนกชนิดเพลี้ยแป้ง

วิธีการ

1. สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* จากแหล่งปลูกพืชต่างๆ ทั่วทุกภาคของประเทศ โดยตัดส่วนของพืชที่มีเพลี้ยแป้งอาศัยอยู่ด้วยกรรไกรตัดแต่งกิ่ง ใส่ในถุงกระดาษหรือถุงพลาสติกเก็บรักษาตัวอย่างในกล่องรักษาความเย็น บันทึกรายละเอียด เช่น วัน เดือน ปี สถานที่ และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง ชนิดของพืชและส่วนของพืชที่ถูกทำลาย รวมทั้งถ่ายภาพลักษณะอาการของพืชที่ถูกทำลายในสภาพธรรมชาติ จากนั้นนำตัวอย่างเพลี้ยแป้งที่รวบรวมได้กลับไปยังห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา เพื่อจำแนกชนิด และศึกษาแมลงศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้งแต่ละชนิด

2. นำตัวอย่างเพลี้ยแป้งจากข้อ 1 มาตรวจลักษณะภายนอกของเพลี้ยแป้งและแมลงศัตรูธรรมชาติภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope แล้วบันทึกรายละเอียดต่างๆ เช่น รูปร่าง ลักษณะ ขนาด และสี เป็นต้น ใช้พู่กันเขี่ยเพลี้ยแป้งเพศเมียใส่ขวดดองบรรจุแอลกอฮอล์ 70%

3. นำตัวอย่างเพลี้ยแป้งเพศเมียจากขวดดองตัวอย่างแมลง (ข้อ 2) มาทำสไลด์ถาวร โดยดัดแปลงวิธีการของ Williams and Watson (1988) ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

3.1 ใช้เข็มเจาะที่ตรงกลางส่วนอกด้านบนของเพลี้ยแป้ง แล้วนำไปใส่ในหลอดทดลองที่บรรจุด้วยสารละลาย potassium hydroxide 10% จากนั้นนำหลอดทดลองดังกล่าวใส่ในบีคเกอร์ขนาด 500 มิลลิเมตร ที่บรรจุน้ำและตั้งอยู่บนเตาไฟฟ้า ต้มประมาณ 15 นาที นับตั้งแต่น้ำในบีคเกอร์

เดือด ระวังไม่ให้สารละลาย potassium hydroxide ที่อยู่ในหลอดทดลองเดือด เพราะจะทำให้ตัวอย่างเสียหาย

3.2 นำตัวอย่างเพลี้ยแป้งที่ต้มแล้วมาแช่ในน้ำกลั่น กดเบาๆบนลำตัวด้วยเข็มดัดปลายให้โค้ง เพื่อทำให้ไข่หรือตัวอ่อนและของเหลวที่อยู่ในลำตัวหลุดออกมาทางรอยที่เจาะไว้ แต่ถ้ายังมีก้อนไขมันตกค้างอยู่ในลำตัว ต้องกำจัดออกไปโดยนำไปแช่ในแอลกอฮอล์ 95% นานประมาณ 2 - 3 นาที แล้วย้ายไปแช่ใน carbol xylene ประมาณ 10 นาที จนกระทั่งตัวอย่างเพลี้ยแป้งใสดีแล้วจึงนำไปแช่ในแอลกอฮอล์ 95% อีกครั้ง เพื่อล้าง carbol xylene จากนั้นย้ายตัวอย่างเพลี้ยแป้งไปแช่ใน acid alcohol (สารละลายของ glacial acetic acid กับ alcohol 50% อัตราส่วน 1 : 4) ประมาณ 2 - 3 นาที

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

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

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

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

5. วาดรูปแสดงลักษณะทางอนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้งแต่ละชนิด โดยใช้ camera lucida ติดกับกล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope โดยวาดรูปเพลี้ยแป้งทางด้านบนครึ่งหนึ่ง และด้านล่างครึ่งหนึ่งให้อยู่ในรูปเดียวกันบนกระดาษไข่เขียนแบบ แล้วจึงทำแนวทางวินิจฉัย (key) ชนิดของเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* ที่รวบรวมได้ พร้อมภาพประกอบ

6. บันทึกชื่อชนิดของเพลี้ยแป้งในสกุล *Pseudococcus* ที่สำรวจพบ พืชอาศัย เขตการแพร่กระจาย และแมลงศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้งแต่ละชนิด และจัดเก็บตัวอย่างเพลี้ยแป้งและแมลงศัตรูธรรมชาติที่ศึกษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง

เวลาสถานที่

เริ่มต้น เดือนตุลาคม 2551 **สิ้นสุด** เดือนกันยายน 2553

สถานที่ : 1) แหล่งปลูกพืชต่าง ๆ ทั่วทุกภาคของประเทศ

2) ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* ในแหล่งปลูกพืชต่างๆ ทั่วทุกภาคของประเทศ ระหว่างเดือนตุลาคม 2551 ถึงเดือนกันยายน 2553 พบแต่เพลี้ยแป้งเพศเมีย ในการตรวจจำแนกชนิด จึงใช้ลักษณะทางอนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้งเพศเมีย ซึ่งมีรูปร่างลักษณะทั่วไป ดังภาพที่ 1 สำหรับเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* มีลักษณะที่สำคัญที่ใช้ในการจำแนกดังนี้

Genus *Pseudococcus* Westwood

Pseudococcus Westwood, 1840 : 118

รูปร่างลักษณะ

ตัวเต็มวัยเพศเมียมีรูปร่างรูปไข่ หนวดมี 8 ปล้อง ขาเจริญดีที่บริเวณผิวหน้าเล็บ(claw) มีลักษณะเรียบ มีรูซึ่งมีลักษณะโปร่งใส (translucent pores) บนขาคู่หลัง กลุ่มอวัยวะผลิตเส้นแป้งด้านข้างลำตัว(cerarii) มีจำนวน 12 - 17 คู่ โดยที่ไม่มีกลุ่มอวัยวะผลิตเส้นแป้งด้านข้างลำตัวคู่ที่ 2 บริเวณส่วนหัว(preocular cerarii) แต่ละคู่ประกอบด้วยขนปลายแหลมคล้ายรูปกรวย(conical setae) จำนวน 2 เส้น หรือมากกว่า ล้อมรอบด้วยกลุ่มของรูเปิดรูปสามเหลี่ยม(trilocular pores) และขนเส้นเล็กๆ บางๆ(auxiliary setae) คู่ที่อยู่ส่วนหัวและบางคู่ที่ส่วนอกมีขนปลายแหลมคล้ายรูปกรวย จำนวน 3 เส้น

ด้านบน(dorsum) ของลำตัว มีช่องเปิดที่มีลักษณะคล้ายรอยแตกตามขวางของลำตัว (ostiole) จำนวน 2 คู่ อยู่ทางส่วนหน้า(anterior) ของลำตัว 1 คู่ และส่วนหลัง(posterior) อีก 1 คู่ และมีท่อชนิดที่บริเวณรอบปากท่อเป็นขอบแข็ง(oral rim tubular duct) แต่บางชนิดท่อลักษณะดังกล่าวเห็นไม่ชัดเจน นอกจากนี้ท่อชนิดที่ปากท่อเป็นแผ่นแข็ง(oral collar tubular duct) ที่ปรากฏด้านล่าง(venter) ของลำตัวมีขนาดต่างๆ กัน

ผลการตรวจจำแนกชนิดของเพลี้ยแป้งตามหลักอนุกรมวิธาน พบเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* จำนวน 2 ชนิด คือ เพลี้ยแป้งมังคุด; *Pseudococcus cryptus* Hempel และเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีเทา; *Pseudococcus jackbeardsleyi* Gimpel and Miller ซึ่งได้จัดทำแนวทางการวินิจฉัย(key) และรายละเอียดของเพลี้ยแป้งทั้งสองชนิด ดังต่อไปนี้

แนวทางวินิจฉัยชนิดของเพลี้ยแป้ง สกุล *Pseudococcus*

- กลุ่มอวัยวะผลิตเส้นแป้งด้านข้างลำตัว บนปล้องท้องปล้องสุดท้าย(anal lobe cerarius) ตั้งอยู่บนแผ่นแข็ง ซึ่งมีขนาดใหญ่กว่าวงแหวนที่ล้อมรอบช่วงเปิดของอวัยวะขับถ่าย(anal ring) ขนที่ผนังลำตัวด้านบนมีลักษณะเป็นเส้นบางๆค่อนข้างยาว ตาไม่มีรูกลมเล็ก (discoidae pore) บริเวณรอบ

ตา มีรูโปร่งใส(translucent pore) บนปล้องฐานขา (coxa)ของขาคู่หลัง..... *cryptus* Hempel

- กลุ่มอวัยวะผลิตเส้นแป้งด้านข้างลำตัว บนปล้องท้องปล้องสุดท้าย ตั้งอยู่บนแผ่นแข็ง ซึ่งมีขนาดเล็กกว่าวงแหวนที่ล้อมรอบช่องเปิดของอวัยวะขับถ่าย ขนที่ผนังลำตัวด้านบนมีลักษณะเป็นเส้นแข็งและสั้น ตามีรูกลมเล็ก 6 รู บริเวณรอบตาไม่มีรูโปร่งใสบนปล้องฐานขาของขาคู่หลัง..... .....*jackbeardsleyi Gimpel* and Miller

รายละเอียดของเพลี้ยแป้งแต่ละชนิด

Pseudococcus cryptus Hempel **(ภาพที่ 2)**

Pseudococcus citriculus Green 1922 ; Zimmerman, 1948 : 210

ชื่อสามัญ เพลี้ยแป้งมังคุด cryptic mealybug

รูปร่างลักษณะ

ลักษณะในธรรมชาติ (ภาพที่ 2ก) ตัวเต็มวัยเพศเมีย รูปร่างคล้ายรูปไข่ค่อนข้างกว้าง ผนังลำตัวปกคลุมด้วยไขแป้งสีขาวด้านข้างลำตัวมีเส้นแป้งจำนวนมากล้อมรอบ เส้นแป้งที่อยู่ทางด้านหน้าจะสั้นกว่าทางด้านหลังของลำคัว โดยความยาวของเส้นแป้งจะเพิ่มขึ้นตามลำดับ และเส้นแป้งที่อยู่ท้ายสุดจะยาวที่สุด

ลักษณะบนแผ่นสไลด์แก้ว (ภาพที่ 2ข) ตัวเต็มวัยเพศเมีย ลำตัวรูปไข่ค่อนข้างกว้าง ส่วนที่กว้างที่สุดคือส่วนอกปล้องที่ 3 ลำตัวยาวประมาณ 2.8 - 3.0 มิลลิเมตร กว้างประมาณ 1.7 - 2.0 มิลลิเมตร มีจำนวนปล้องหนวด 8 ปล้อง ขาเจริญดี ผิวหน้าเล็บเรียบ มีรูโปร่งใสบนปล้องฐานขา (coxa) ต้นขา(femur) และหน้าแข้ง(tibia) ของขาคู่หลัง กลุ่มอวัยวะผลิตเส้นแป้งด้านข้างลำตัว มีจำนวน 17 คู่ คู่ที่ส่วนหัวจะประกอบด้วยขนปลายแหลมคล้ายรูปกรวย จำนวน 3 เส้น ขนเส้นเล็กๆ บางๆ มีขนาดยาวกว่าขนปลายแหลมคล้ายรูปกรวย และรูเปิดรูปสามเหลี่ยม ส่วนคู่ที่อยู่ถัดลงมาจะมีขนปลายแหลมคล้ายรูปกรวยจำนวน 2 เส้น สำหรับคู่สุดท้าย(anal lobe cerarius) มีขนปลายแหลมคล้ายรูปกรวยขนาดใหญ่กว่าคู่อื่นๆ จำนวน 2 เส้น ล้อมรอบด้วยกลุ่มของรูเปิดรูปสามเหลี่ยมและขนเส้นเล็กๆ บางๆ ทั้งหมดนี้อยู่บนแผ่นแข็ง(sclerotized area) ซึ่งมีขนาดใหญ่กว่าวงแหวนที่ล้อมรอบช่องเปิดของวัยวะขับถ่ายเล็กน้อย ช่องเปิดที่มีลักษณะคล้ายรอยแตกตามขวางของลำตัวมีจำนวน 2 คู่ อยู่ทางส่วนหน้าของลำคัว 1 คู่ และส่วนหลังอีก 1 คู่ แผ่นแข็งที่มีลักษณะเป็นวง(circulus) ซึ่งอยู่ด้านล่างของลำตัวระหว่างปล้องท้องที่ 3 และ 4 มีด้านกว้าง กว้างกว่าด้านยาว

ผนังลำตัวด้านบน มีขนเส้นบางๆ ค่อนข้างยาว รูเปิดรูปสามเหลี่ยม และรูกลมเล็กๆ พบกระจายอยู่ทั่วไป ท่อชนิดที่บริเวณรอบปากท่อเป็นขอบแข็ง แต่ละท่อมีขนาดใหญ่กว่ารูเปิดรูปสาม-เหลี่ยม 2 เท่า และมีรูกลมเล็กๆ 1 - 2 รูอยู่ติดกับท่อดังกล่าว สำหรับท่อชนิดที่ปากท่อเป็นแผ่นแข็งมีขนาดเท่ากับหรือกว้างกว่ารูเปิดรูปสามเหลี่ยม วงแหวนที่ล้อมรอบช่องเปิดของอวัยวะขับถ่าย จะประกอบด้วยขน จำนวน 6 เส้น

ผนังลำตัวด้านล่าง มีขนเส้นบางๆ คล้ายแส้ มีความยาวเท่ากับขนบนผนังลำตัวด้านบน มีรูเปิดรูปวงกลม(multilocular disc pores) บนปล้องท้องปล้องท้ายๆ ขึ้นมาถึงปล้องที่ 4 โดยเรียงตัวเป็น

แถว 1 แถวอยู่ทางส่วนหลังของแต่ละปล้องท้องและพบจำนวนน้อยที่ส่วนอก รูเปิดรูปสามเหลี่ยมกระจายอยู่ทั่วไป ท่อชนิดที่บริเวณรอบปากท่อเป็นขอบแข็งจะมีที่ส่วนอก ที่ส่วนท้องบนปล้องท้องที่ 1 - 2 มักพบอยู่บริเวณขอบของผนังลำตัว นอกจากนี้พบท่อชนิดที่ปากท่อเป็นแผ่นแข็ง มีขนาดแตกต่างกัน 3 ขนาด

พืชอาศัย

เพลี้ยแป้งมังคุดดูดน้ำเลี้ยงและผลมังคุดบริเวณขั้วผล บนใบมะม่วงส่วนใหญ่พบอยู่ทางด้านหลังใบและพบบนฝักมะขาม บุปผาและชลิดา(2543) รายงานว่าพบเพลี้ยแป้งชนิดนี้บนใบมะพร้าว นอกจากนี้ Ben-Dov (1994) รายงานว่า *P. cryptus* ระบาดในประเทศอิสราเอล ตั้งแต่ปี ค.ศ.1956 ทำลายฝรั่ง อโวกาโด และไม้ดอกต่างๆ

เขตการแพร่กระจาย

ภาคกลาง จังหวัดกรุงเทพมหานคร สระบุรี

ภาคตะวันออก จังหวัดฉะเชิงเทรา จันทบุรี ระยอง

ภาคใต้ จังหวัดชุมพร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช

ชลิดาและคณะ(2546) รายงานว่าพบเพลี้ยแป้งมังคุด มีเขตการแพร่กระจายทางภาคใต้ที่จังหวัดชุมพรและสุราษฎร์ธานี และภาคตะวันตกที่จังหวัดกาญจนบุรี

Pseudococcus jackbeardsleyi **Gimpel and Miller (ภาพที่ 3)**

Pseudococcus jackbeardsleyi **Williams, 2004 : 896**

ชื่อสามัญ เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีเทา; Jack Beardsley mealybug

รูปร่างลักษณะ

ลักษณะในธรรมชาติ (ภาพที่ 3ก) ตัวเต็มวัยเพศเมีย รูปร่างกลมรีคล้ายรูปไข่ ผนังลำตัวปกคลุมด้วยไขแป้งสีขาว ด้านข้างลำตัวมีเส้นแป้งสั้นๆ ล้อมรอบ เส้นแป้งที่อยู่ทางด้านท้ายของลำตัวจะยาวกว่าด้านข้างของลำตัว

ลักษณะบนแผ่นสไลด์แก้ว (ภาพที่ 3ข) ตัวเต็มวัยเพศเมีย ลำตัวรูปไข่ ลำตัวยาวประมาณ 3.0 - 3.2 มิลลิเมตร กว้างประมาณ 1.6 - 1.8 มิลลิเมตร หนวดมี 8 ปล้อง ตามีรูกลมเล็กจำนวน 6 รู บริเวณรอบตา ขาค่อนข้างยาวเรียว ผิวหน้าเล็บเรียบ มีรูโปร่งใสบนต้นขาและหน้าแข้งของขาคู่หลัง กลุ่มอวัยวะผลิตเส้นแป้งด้านข้างลำตัว มีจำนวน 17 คู่ คู่ที่ส่วนหัวจะประกอบด้วยขนปลายแหลมคล้ายรูปกรวย จำนวน 3 เส้น ขนเส้นเล็กๆ บางๆ มีขนาดยาวกว่าขนปลายแหลมคล้ายรูปกรวย และรูเปิดรูปสามเหลี่ยม ส่วนคู่ที่อยู่ถัดลงมาจะมีขนปลายแหลมคล้ายรูปกรวยจำนวน 2 เส้น สำหรับคู่สุดท้ายจะมีขนปลายแหลมคล้ายรูปกรวยขนาดใหญ่กว่าคู่อื่นๆ จำนวน 2 เส้น ล้อมรอบด้วยกลุ่มของรูเปิดรูปสามเหลี่ยมและขนเส้นเล็กๆบางๆทั้งหมดนี้อยู่บนแผ่นแข็งซึ่งมีขนาดเล็กกว่าวงแหวนที่ล้อมรอบช่องเปิดของอวัยวะขับถ่าย ช่องเปิดที่มีลักษณะคล้ายรอยแตกตามขวางของลำตัวมีจำนวน 2 คู่ อยู่

ทางส่วนหน้าของลำตัว 1 คู่ และส่วนหลังอีก 1 คู่ แผ่นแข็งที่มีลักษณะเป็นวงซึ่งอยู่ด้านล่างของลำตัวระหว่างปล้องท้องที่ 3 และ 4 มีด้านกว้างเท่ากับด้านยาว

ผนังลำตัวด้านบน มีขนเส้นแข็งและสั้น รูเปิดรูปสามเหลี่ยมกระจายอยู่ทั่วไป ท่อชนิดที่บริเวณรอบปากท่อเป็นขอบแข็ง แต่ละท่อมักจะพบขนเส้นสั้นๆ จำนวน 1 - 2 เส้นและรูกลมเล็กๆ จำนวน 1 - 2 รูอยู่ใกล้กับขอบท่อดังกล่าว ท่อชนิดนี้พบที่ส่วนหัว ส่วนอกและส่วนท้อง สำหรับท่อชนิดที่ปากท่อเป็นแผ่นแข็งมีขนาดเท่ากับรูเปิดรูปสามเหลี่ยม มักพบอยู่ระหว่างกลุ่มอวัยวะผลิตเส้นแบ่งด้านข้างลำตัว 2 คู่สุดท้าย วงแหวนที่ล้อมรอบช่องเปิดของอวัยวะขับถ่ายจะประกอบด้วยขนจำนวน 6 เส้น

ผนังลำตัวด้านล่าง มีขนเส้นบางๆ ค่อนข้างยาว รูเปิดรูปวงกลมพบบนปล้องท้องปล้องท้ายๆ ขึ้นมาถึงปล้องที่ 4 โดยเรียงตัวเป็นแถว 1 - 2 แถวอยู่ทางส่วนหลังของแต่ละปล้องท้อง รูเปิดรูปสามเหลี่ยมกระจายอยู่ทั่วไป ท่อชนิดที่บริเวณรอบปากท่อเป็นขอบแข็งจะมีที่ส่วนอก ที่ส่วนท้องบนปล้องท้องที่ 1 - 2 นอกจากนี้พบท่อชนิดที่ปากท่อเป็นแผ่นแข็ง มีขนาดแตกต่างกัน 3 ขนาด

พืชอาศัย

เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีเทาระบาดรุนแรงทำความเสียหายให้กับมันสำปะหลังเกือบทุกแหล่งปลูก ตั้งแต่ปี พ.ศ.2551 เป็นต้นมา โดยดูดน้ำเลี้ยงบริเวณใบ กิ่ง และลำต้นมันสำปะหลัง นอกจากนี้พบบนใบและผลมะม่วง ใบฝรั่ง มะเขือ ชะพลู ลีลาวดี โป๊ยเซียน สาวน้อยประแป้ง และวัชพืชหลายชนิดในแปลงปลูกมันสำปะหลัง

เขตการแพร่กระจาย

ภาคกลาง จังหวัดกรุงเทพมหานคร กำแพงเพชร นครนายก นครปฐม ปทุมธานี ลพบุรี สระบุรีสุโขทัย สุพรรณบุรี

ภาคเหนือ จังหวัดเชียงใหม่

ภาคตะวันออก จังหวัดฉะเชิงเทรา ชลบุรี ระยอง สระแก้ว

ภาคตะวันตก จังหวัดกาญจนบุรี ราชบุรี

ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จังหวัดกาฬสินธุ์ ขอนแก่น ชัยภูมิ นครราชสีมา บุรีรัมย์ มหาสารคาม มุกดาหาร สกลนคร หนองคาย

การสำรวจและเก็บตัวอย่างแมลงศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้ง พบแมลงศัตรูธรรมชาติ 2 ชนิด ดังนี้

1. ด้วงเต่า *Crytolaemus montrouzieri* Mulsant อยู่ในวงศ์ Coccinellidae อันดับ Coleoptera เป็นแมลงห้ำของเพลี้ยแป้งโดยอาศัยปะปนอยู่ในกลุ่มของเพลี้ยแป้งมังคุด **ตัวหนอน**ปุยสีขาวคล้ายแป้งปกคลุมลำตัว จึงดูกลมกลืนไปกับเพลี้ยแป้ง สำหรับ**ตัวเต็มวัย**มีรูปร่างรูปไข่ลำตัวยาว 4.2 - 4.6 มิลลิเมตร กว้าง 2.8 - 3.0 มิลลิเมตร หัวและอกปล้องแรกมีสีส้ม ส่วนอกปล้อง 2 และ 3 และปีกมีสีดำ ทั้งตัวหนอนและตัวเต็มวัยของด้วงเต่ากินเพลี้ยแป้งเป็นอาหาร

2. แมลงช้างปีกใส *Pleslochrysa ramburi* (Schneider) อยู่ในวงศ์ Chrysopidae อันดับ Neuroptera โดยที่ตัวอ่อนเป็นตัวห้ำที่มีบทบาทในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช รวมถึง

เพลี้ยแป้งด้วย **ตัวอ่อน**มีลักษณะลำตัวกลมสีน้ำตาลอ่อน แบนกลม เห็นชัดเจนในระยะที่ 3 โดยรอบลำตัวมีปุ่มขน ปากมีกรามโค้งยาวยื่นไปด้านหน้าคล้ายเคียว ใช้ดูดกินเหยื่อ หลังจากกินเพลี้ยแป้งแล้วจะนำผงแป้งมาพอกไว้บนลำตัวจนดูคล้ายเพลี้ยแป้งมาก ตัวอ่อนวัย 3 มีความยาวลำตัวเฉลี่ย 7.23 มิลลิเมตร ความกว้างเฉลี่ย 3.40 มิลลิเมตร

ตัวเต็มวัยมีปีก 2 คู่ เป็นปีกแบบบางอ่อน(membrane) เนื้อปีกใส มีเส้นปีกจำนวนมาก หนวดเรียวยาวสีน้ำตาลอ่อน ตาใสสีเหลืองทอง ลำตัวสีเขียวอ่อน เพศผู้มีสีลำตัวจางกว่าเล็กน้อย และตัวเล็กกว่าเพศเมีย ความกว้างลำตัวเพศเมีย เฉลี่ย 2.25 มิลลิเมตร ความยาวลำตัว เฉลี่ย 10.53 มิลลิเมตร ความกว้างลำตัวเพศผู้เฉลี่ย 1.55 มิลลิเมตร ความยาวลำตัว เฉลี่ย 10.01 มิลลิเมตร ตัวเต็มวัยมีกลิ่นเฉพาะตัวค่อนข้างแรง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาอนุกรมวิธานเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* ระหว่างเดือนตุลาคม 2551 ถึงเดือนกันยายน 2553 พบเพลี้ยแป้งสกุลนี้ 2 ชนิด คือ เพลี้ยแป้งมังคุด; *Pseudococcus cryptus* Hempel และเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีเทา; *Pseudococcus jackbeardsleyi* Gimpel and Miller ซึ่งเพลี้ยแป้งทั้งสองชนิดสามารถจำแนกชนิดได้ โดยดูจากกลุ่มอวัยวะผลิตเส้นแป้งด้านข้างลำตัวคู่สุดท้ายที่อยู่ปลายส่วนท้องซึ่งตั้งอยู่บนแผ่นแข็งที่มีขนาดต่างกัน รูกลมเล็กบริเวณรอบตา รูโปร่งใสที่ปรากฏบนขาคู่หลังและลักษณะของเส้นขนด้านบนของลำตัว

เพลี้ยแป้งมังคุด เป็นศัตรูมังคุด มะม่วง และมะขาม มีเขตการแพร่กระจายทางภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคใต้ โดยพบในเขตจังหวัดกรุงเทพมหานคร สระบุรี ฉะเชิงเทรา จันทบุรี ระยอง ชุมพร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช สำหรับเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีเทา เป็นศัตรูสำคัญของมันสำปะหลัง มะม่วง ฝรั่ง มะเขือ ชะพลู ลีลาวดี โป๊ยเซียน สาวน้อยประแป้ง และวัชพืชหลายชนิด มีเขตแพร่กระจายทางภาคกลาง ภาคเหนือ ภาคตะวันออก ภาคตะวันตก และภาคตะวันออก-เฉียงเหนือ โดยพบในเขตจังหวัดกรุงเทพมหานคร กำแพงเพชร นครนายก นครปฐม ปทุมธานี ลพบุรี สระบุรี สุโขทัย สุพรรณบุรี ฉะเชิงเทรา ชลบุรี จันทบุรี ระยอง สระแก้ว กาญจนบุรี ราชบุรี เชียงใหม่ กาฬสินธุ์ ขอนแก่น ชัยภูมิ นครราชสีมา บุรีรัมย์ มหาสารคาม มุกดาหาร สกลนคร หนองคาย นอกจากนี้พบด้วงเต่าในวงศ์ Coccinelildae จำนวน 1 ชนิด คือ *Crytolaemus montrouzieri* Mulsant เป็นแมลงห้ำของเพลี้ยแป้งมังคุด และแมลงช้างปีกใสในวงศ์ Chrysopidae จำนวน 1 ชนิด คือ *Plesiochrysa ramburi* (Schneider) เป็นแมลงห้ำของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีเทา

เนื่องจากแมลงห้ำชนิดนี้มีขนาดเล็กและอาศัยปะปนอยู่ในกลุ่มของเพลี้ยแป้ง อีกทั้งตัวหนอนมีลักษณะที่คล้าย คลึงกับเพลี้ยแป้ง ดังนั้นในการตัดสินใจป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้ง จำเป็นต้องสังเกตกลุ่มของเพลี้ยแป้งเหล่านั้นว่ามีด้วงเต่าและแมลงช้างปีกใสอาศัยปะปนอยู่ด้วยหรือไม่ ถ้ามีควรเลือกสารป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งที่มีผลกระทบน้อยที่สุด หรือหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมี ทั้งนี้เพื่ออนุรักษ์แมลงห้ำให้คงอยู่เพื่อสร้างความสมดุลในธรรมชาติต่อไป

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.

Ben-Dov, Y. 1994. *Pseudococcus cryptus* Hempel in lsrael. Review of Agriculture Entomology 82 (1) 1197.

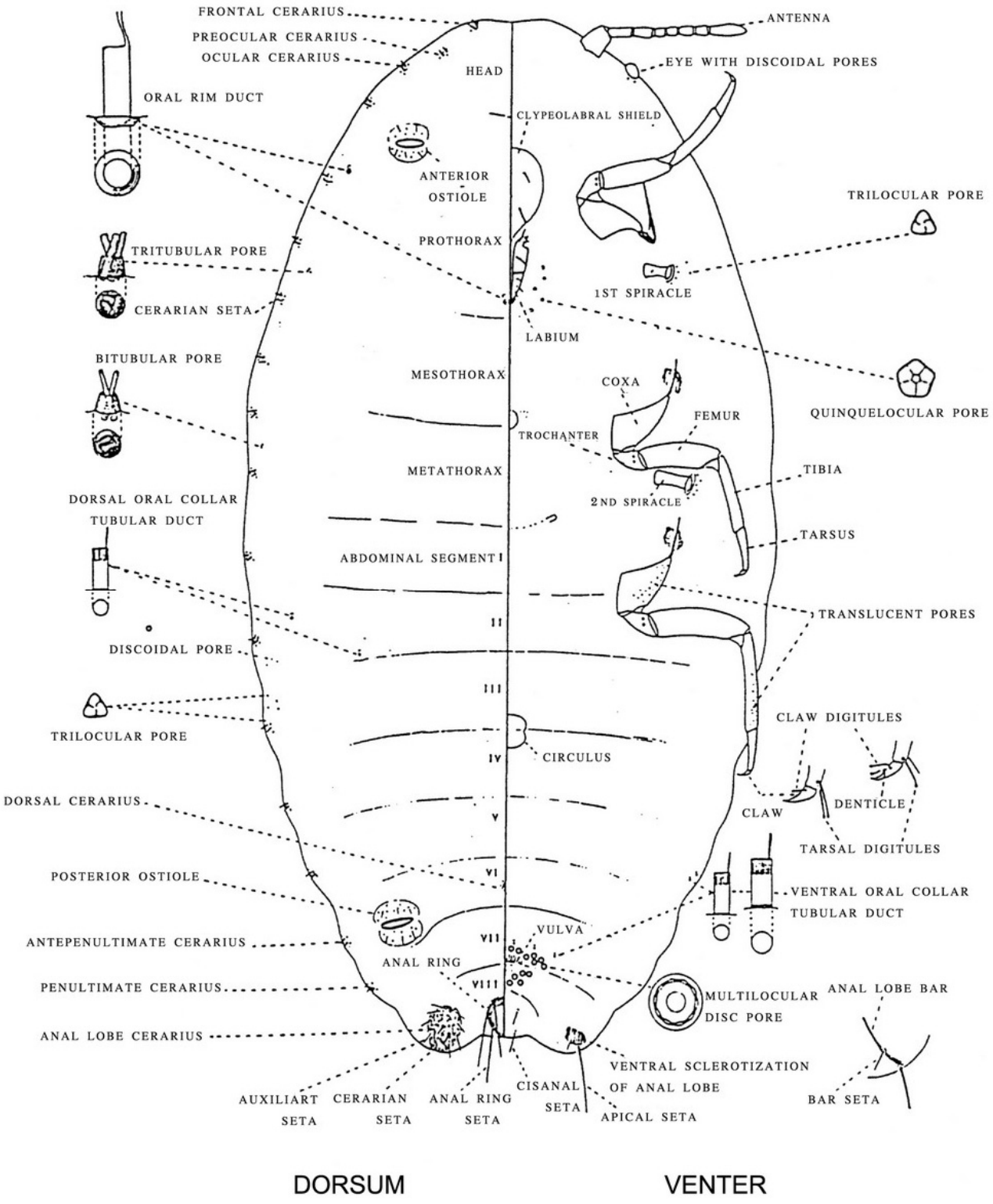
Gimpel, W.F. and d. R. Miller. 1996. Systemetic analysis of the mealybugs in the *Cseudococcus maritimus* Complex. (Homoptera : Pseudococcidae) Contributions on Entomology International 2 : 1 – 163.

Westwood, J.O. 1840. Synopsis of the genera of British Insects. 158 p.

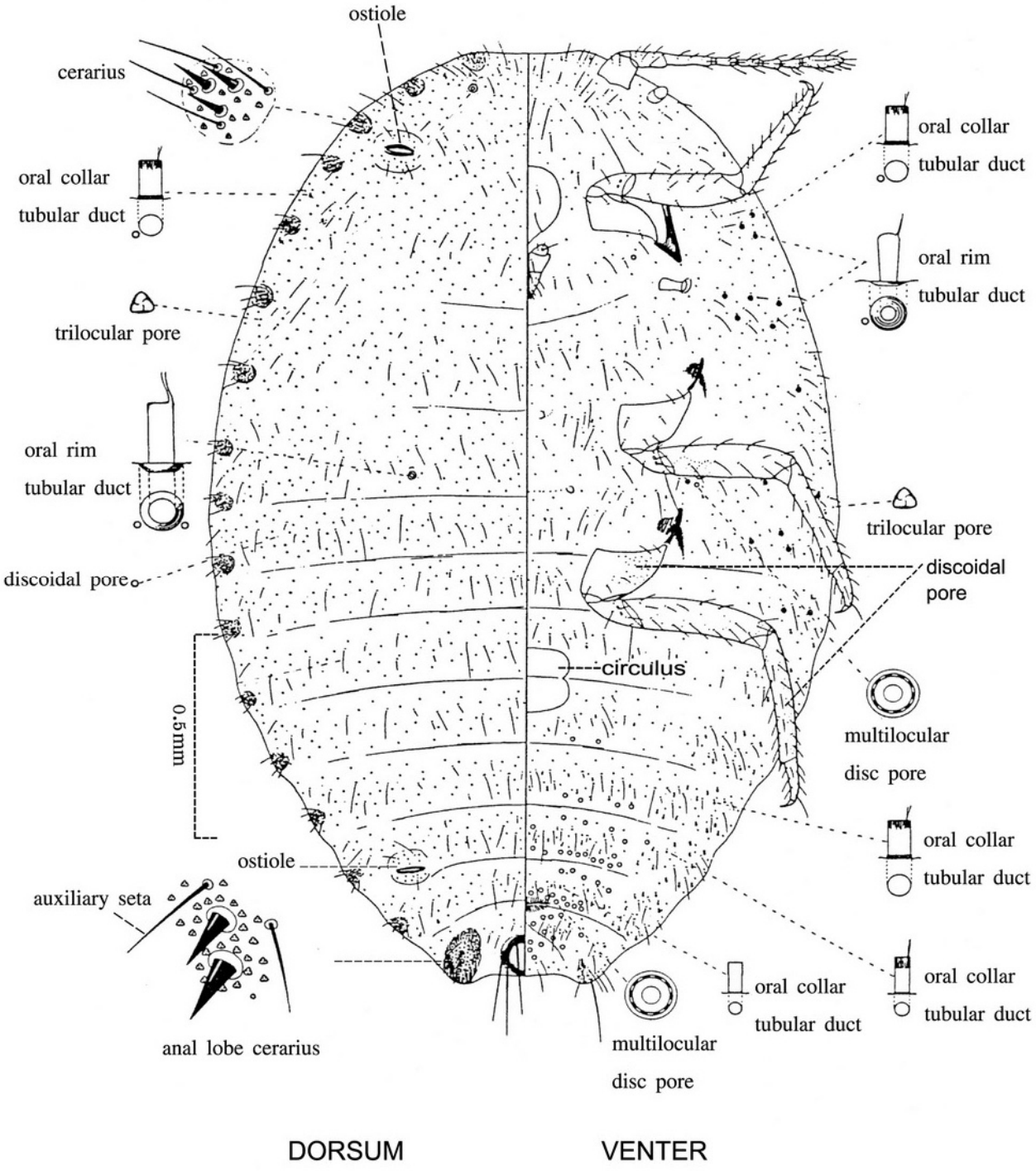
Williams, D.J. and G.W. Watson. 1988. The Scale Insects of the Tropical South Pacific Region Part 2. the Mealybugs (Pseudococcidae). CAB International Institute of Entomology, Wallingford. 260 pp.

Williams, D.J. 2004. Mealybugs of southern Asia. United Selangor Press Sdn. Bhd., Kuala Lumpur. 896 pp.

Zimmerman, E.C. 1948. Homoptera : Sternorrhyncha. Insects of Hawaii 5 : 132 – 464.



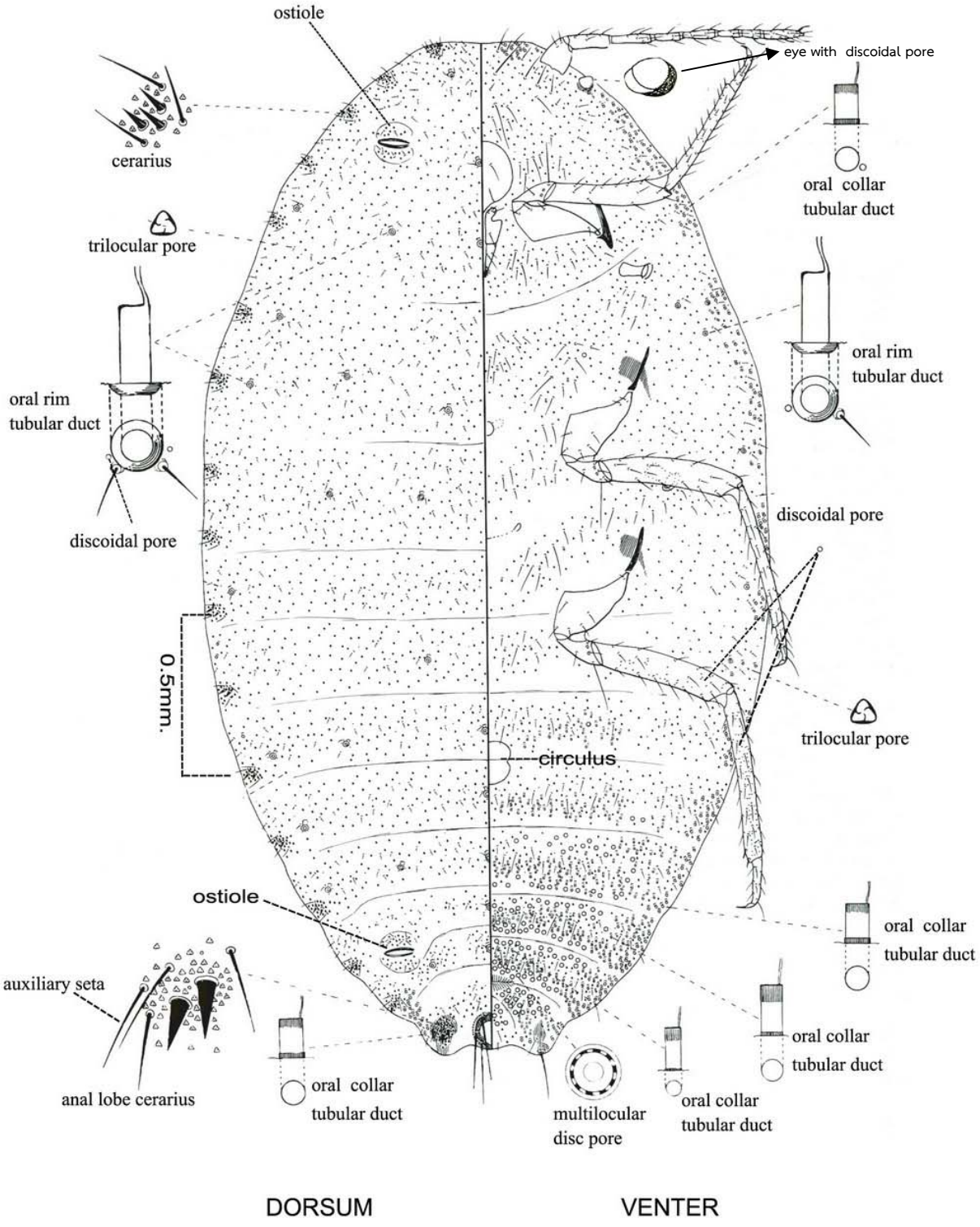
ภาพที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเพลี้ยแป้งตัวเต็มวัยเพศเมีย (Williams and Watson, 1988)



ภาพที่ 2 เพลี้ยแป้ง *Pseudococcus cyptus* Hempel, ตัวเต็มวัยเพศเมีย

ภาพที่ 2 ก เพลี้ยแป้ง *Pseudococcus cyptus* Hempel ในธรรมชาติ

ภาพที่ 2 ข เพลี้ยแป้ง *Pseudococcus cyptus* Hempel บนแผ่นสไลด์แก้ว



ภาพที่ 3 เพลี้ยแป้ง *Pseudococcus jackbeardsleyi* Hempel & Miller, ตัวเต็มวัยเพศเมีย

ภาพที่ 3 ก เพลี้ยแป้ง *Pseudococcus jackbeardsleyi* Hempel & Miller ในธรรมชาติ

ภาพที่ 3 ข เพลี้ยแป้ง *Pseudococcus jackbeardsleyi* Hempel & Miller บนแผ่นสไลด์แก้ว

อนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนวงศ์ย่อย Aphidinae
Taxonomy of Aphids Subfamily Aphidinae

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

บทคัดย่อ

เพลี้ยอ่อนเป็นแมลงขนาดเล็ก เป็นศัตรูสำคัญของพืชเศรษฐกิจหลายชนิดโดยเฉพาะเพลี้ยอ่อนที่อยู่ในวงศ์ย่อย Aphidinae เช่น เพลี้ยอ่อนฝ้ายเป็นศัตรูสำคัญของพืชไร่ พืชผัก ไม้ดอกไม้ประดับหลายชนิด การศึกษาด้านอนุกรมวิธานเพื่อทราบข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาด้านอื่นต่อไป รวมทั้งใช้เป็นข้อมูลประกอบการทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชเพื่อการส่งออกสินค้าเกษตร จากการสำรวจรวบรวมเพลี้ยอ่อนจากแหล่งปลูกพืชต่างๆ ระหว่างเดือนตุลาคม 2550 ถึงเดือนกันยายน 2553 เพื่อทราบสกุล ชนิด พืชอาศัย และเขตการแพร่กระจาย ของเพลี้ยอ่อนในวงศ์ย่อย Aphidinae ในประเทศไทย พบเพลี้ยอ่อนวงศ์ย่อย Aphidinae 7 สกุล 12 ชนิด คือ *Aphis gossypii* Glover, *Aphis nerii* Boyer de Fonscolombe, *Aphis craccivora* Koch, *Aphis spiraecola* Patch, *Aphis glycines* Matsumura, *Toxoptera odinae* (van de Goot), *Melanaphis sacchari* (Zehntner), *Rhopalosiphum maidis* (Fitch), *Rhopalosiphum nymphaeae* (Linnaeus), *Macrosiphum rosae* (Linnaeus), *Myzus persicae* (Sulzer) และ *Lipaphis erysimi* (Kaltenbach)

คำนำ

เพลี้ยอ่อน (Aphid) เป็นแมลงปากดูดขนาดเล็ก ในอันดับ Homoptera วงศ์ Aphididae แมลงวงศ์นี้มีลักษณะพิเศษคือสามารถขยายพันธุ์ได้ทั้งแบบใช้เพศ และแบบไม่ใช้เพศ ในเขตร้อนที่มีช่วงแสงยาว เพลี้ยอ่อนจะขยายพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ ตัวเต็มวัยสามารถออกลูกได้โดยไม่ต้องผสมพันธุ์ ไข่จะเจริญอยู่ในท้องของตัวเต็มวัยและออกลูกเป็นเพศเมียทั้งหมด (Thelytokous) แต่ในเขตหนาวที่มีช่วงแสงสั้น เพลี้ยอ่อนจะขยายพันธุ์ได้ทั้งแบบไม่ใช้เพศและแบบใช้เพศ มีทั้งเพศผู้เพศเมียและออกลูกเป็นไข่ (Capinera, 2004) ทำให้เพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็ว นอกจากนี้ยังมีมดบางชนิดซึ่งกินมูลน้ำหวานที่เพลี้ยอ่อนขับถ่ายออกอาศัยร่วมอยู่ด้วยจึงเป็นตัวช่วยกระจายเพลี้ยอ่อนจากส่วนหนึ่งไปยังอีกส่วนหนึ่งของพืช หรือจากพืชต้นหนึ่งไปยังพืชอีกต้นหนึ่ง เพลี้ยอ่อนทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยทำลายพืชโดยดูดน้ำเลี้ยงอยู่ใต้ใบพืช ส่วนอ่อน ๆ ของพืช เช่น ยอดอ่อน ดอกอ่อนและผลอ่อน ทำให้บริเวณที่ถูกทำลายมีลักษณะผิดปกติ เช่น ใบย่น ผลบิดเบี้ยว ใบและผลที่ถูกทำลายจะแห้งและร่วงไปในที่สุด

ทะเบียนวิจัยเลขที่ 09-02-49-01-02-01-39-51

ถ้าพืชถูกทำลายรุนแรงจะทำให้ชะงักการ เจริญเติบโต หรือบางครั้งทำให้ต้นตายได้ นอกจากนี้เพลี้ยอ่อน ยังขับถ่ายของเหลวมีลักษณะเป็นน้ำเหนียว ๆ เรียกว่า มูลน้ำหวาน (honeydew) ซึ่งเป็นอาหารของราดำ ทำให้ราดำ เจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วปกคลุมใบและผล ใบจึงไม่สามารถสร้างอาหารโดยวิธีสังเคราะห์แสงได้อย่างเต็มที่ สำหรับผลจะสกปรกเนื่องจากมูลน้ำหวานและราดำ ทำให้ไม่เป็นที่ต้องการของตลาดทั้งภายในและต่างประเทศ เพลี้ยอ่อนนอกจากจะดูดกินน้ำเลี้ยงจากพืชแล้วยังเป็นพาหะถ่ายทอดเชื้อไวรัสสาเหตุโรคพืชหลายชนิด เช่น เพลี้ยอ่อนฝ้าย *Aphis gossypii* Glover เป็นพาหะนำเชื้อไวรัสสาเหตุโรคใบด่างของพืชตระกูลแตง เพลี้ยอ่อนถั่วเหลือง *Aphis glycines* Matsumura เป็นพาหะนำเชื้อไวรัสสาเหตุโรคใบด่างและต้นเตี้ยแคระของถั่วเหลือง (เครือพันธุ์ และวันเพ็ญ, 2545) และเพลี้ยอ่อนส้ม *Toxoptera citricida* (Kirkaldy) เป็นพาหะนำเชื้อไวรัสสาเหตุโรค Citrus Tristeza Virus (CTV) ทำให้ส้มเกิดโรคทริสติซา (Blackman and Eastop, 2000) โดยเพลี้ยอ่อนที่ดูดกินน้ำเลี้ยงต้นพืชที่เป็นโรค เชื้อไวรัสจากต้นพืชจะเข้าไปอยู่ในตัวเพลี้ยอ่อน เมื่อเพลี้ยอ่อนไปดูดกินพืชต้นอื่นเชื้อไวรัสจะถูกถ่ายไปกับน้ำลายทำให้พืชต้นนั้นเป็นโรคด้วย

เพลี้ยอ่อนวงศ์ Aphididae แบ่งออกเป็น 8 วงศ์ย่อย คือ Lachninae, Eriosomatinae, Hormaphidinae, Calaphidinae, Greenideinae, Anoeciinae, Chaitophorinae และ Aphidinae เพลี้ยอ่อนที่เป็นศัตรูพืชส่วนใหญ่อยู่ในวงศ์ย่อย Aphidinae (Capinera, 2004) ดังนั้นการศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนวงศ์ย่อย Aphidinae เพื่อทราบสกุล ชนิด พืชอาศัยและเขตการแพร่กระจายของเพลี้ยอ่อนวงศ์ย่อยนี้ สำหรับเป็นข้อมูลในการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชและเป็นข้อมูลในการป้องกันกำจัดต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างเพลี้ยอ่อนที่รวบรวมได้
2. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ ขวดดองแมลง น้ำยาดอง พู่กัน ถุงพลาสติค กล่องพลาสติกขนาดต่าง ๆ กล่องรักษาความเย็น
3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวร ได้แก่ สารเคมีต่าง ๆ เช่น สารละลายโปแตสเซี่ยม-ไฮดรอกไซด์ (potassium hydroxide) แอลกอฮอล์ 95% กรดแกลเชียลอะซิติก (glacial acetic acid) ไซลีน (xylene) โคลฟออย (clove oil) และแคนาดาบัลซัม (Canada balsam) น้ำกลั่น บีคเกอร์ เตาไฟฟ้า (hot plate) แผ่นสไลด์แก้ว แผ่นแก้วปิดสไลด์ ตู้อบ กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และ compound microscope อุปกรณ์ถ่ายภาพ
4. เอกสารประกอบการจำแนกชนิดเพลี้ยอ่อน

วิธีการ

สำรวจ รวบรวมตัวอย่างเพลี้ยอ่อนจากแปลงปลูกพืชทั่วทุกภาคของประเทศไทย โดยใช้พู่กันเขี่ยตัวอย่างเพลี้ยอ่อนบางส่วนใส่ขวดดองที่บรรจุน้ำยาสำหรับดองเพลี้ยอ่อน หรือตัดใบ/ยอด/ส่วนของพืชที่มีเพลี้ยอ่อนเกาะอาศัยอยู่ด้วยกรรไกรตัดกิ่ง นำตัวอย่างเพลี้ยอ่อนพร้อมพืชใส่ถุงพลาสติก

กล่องพลาสติก หรือถุงกระดาษ บันทึกรายละเอียด ได้แก่ ส่วนของพืชที่พบ วัน/เดือน/ปี สถานที่ และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง เก็บตัวอย่างดังกล่าวในกล่องรักษาความเย็น ภายในบรรจุน้ำแข็งแห้งเพื่อรักษาตัวอย่างให้สดอยู่เสมอ รวมทั้งการบันทึกภาพในสภาพธรรมชาติ จากนั้นนำตัวอย่างเพลี้ยอ่อนที่รวบรวมได้กลับไปยังห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา เพื่อเลี้ยงให้เป็นตัวเต็มวัยและจำแนกชนิดเบื้องต้นใต้กล้องจุลทรรศน์ บันทึกรายละเอียดต่างๆ เช่น รูปร่าง ขนาด และสี เป็นต้น

นำตัวอย่างเพลี้ยอ่อนที่บันทึกรายละเอียดแล้วไปจัดเตรียมตัวอย่าง เพื่อวิเคราะห์ชนิดโดยการทำสไลด์ถาวร

การทำสไลด์ถาวร ตามวิธีการของ Blackman and Eastop (2000) ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

1. นำตัวอย่างเพลี้ยอ่อนออกจากขวดดอง ใช้เข็มเจาะที่ตรงกลางส่วนอกด้านบน และรีดเอาของเหลวภายในตัวออก ระวังอย่าให้ส่วนของปากเสียหาย นำเพลี้ยอ่อนที่เจาะแล้วใส่ในหลอดแก้วที่มีแอลกอฮอล์ 95% นำไปต้มโดยวิธี water bath นาน 1-2 นาที
2. ดูดแอลกอฮอล์ออก เติมสารละลายโปแตสเซี่ยมไฮดรอกไซด์ 10% แช่ทิ้งไว้ 3-5 นาที
3. ดูดสารละลายโปแตสเซี่ยมไฮดรอกไซด์ออก ล้างด้วยน้ำกลั่น เปลี่ยนน้ำกลั่น 5-6 ครั้ง แล้วแช่ทิ้งไว้ในน้ำกลั่นอีก 5-6 นาที
4. ดูดน้ำกลั่นออก เติมกรดแกลเชียลอะซิติก แช่ทิ้งไว้ 2-3 นาที แล้วดูดออก ทำซ้ำอีก 1 ครั้ง
5. ดูดกรดแกลเชียลอะซิติกออก เติมโคลฟออย แช่ทิ้งไว้ 10-20 นาที หรือจนกว่าตัวอย่างเพลี้ยอ่อนใส

การเมาท์สไลด์

หยดแคนาดาบัลซัมเพียงเล็กน้อยลงบนแผ่นแก้วปิดสไลด์ เขี่ยเพลี้ยอ่อนลงในหยดแคนาดาบัลซัม ให้เพลี้ยอ่อนหงายท้องขึ้น จัดหนวด ขา siphunculi และ cauda ให้อยู่ในตำแหน่งสวยงาม จากนั้นหยดไซลีนลงบนกึ่งกลางแผ่นสไลด์ที่สะอาด ค่อยๆ คว่ำแผ่นสไลด์ลงบนแผ่นแก้วปิดสไลด์ช้าๆ พลิกแผ่นสไลด์กลับขึ้นให้ด้านบนแผ่นแก้วปิดสไลด์อยู่ด้านบน นำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 7–15 วัน

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

บันทึกภาพเพลี้ยอ่อนแต่ละชนิด ชื่อสกุล และชนิดของเพลี้ยอ่อน พืชอาศัย เก็บตัวอย่างในพิพิธภัณฑ์

เวลาสถานที่

เวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2550 **สิ้นสุด** กันยายน 2553

สถานที่ 1. แหล่งปลูกพืชต่าง ๆ

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลการทดลองและวิจารณ์

พบเพลี้ยอ่อนวงศ์ย่อย Aphidinae 7 สกุล 12 ชนิด คือ *Aphis gossypii* Glover, *Aphis nerii* Boyer de Fonscolombe, *Aphis craccivora* Koch, *Aphis spiraecola* Patch, *Aphis glycines* Matsumura, *Toxoptera odinae* (van de Goot), *Melanaphis sacchari* (Zehntner), *Rhopalosiphum maidis* (Fitch), *Rhopalosiphum nymphaeae* (Linnaeus), *Macrosiphum rosae* (Linnaeus), *Myzus persicae* (Sulzer) และ *Lipaphis erysimi* (Kaltenbach)

ลักษณะทางอนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนวงศ์ย่อย Aphidinae มีดังนี้

เพลี้ยอ่อนเป็นแมลงขนาดเล็ก ลำตัวอ่อนนุ่ม มีทั้งมีปีกและไม่มีปีก ความยาวจากส่วนหัวถึงปลายท้องไม่รวมส่วนของ cauda ยาว 1.5-3.5 มม. รูปร่างเป็นรูปไข่ คล้ายผลลูกแพรหรือผลฝรั่ง ส่วนหัว อก และท้องไม่สามารถแยกออกจากกันอย่างชัดเจน ส่วนท้องจะกว้างกว่าส่วนหัวมาก มีสีสันแตกต่างกันแล้วแต่ชนิด วัยของเพลี้ยอ่อน พืชอาหาร อุณหภูมิ มีตั้งแต่สีเหลืองจาง เหลืองสด สีเขียว เขียวอมเหลือง เขียวเข้มจนถึงดำ สีน้ำตาลแดง สีชมพูจาง และสีดำ บางชนิดมีไขหรือผงแป้งสีขาวปกคลุมบริเวณส่วนท้อง รูปร่างของเพลี้ยอ่อนแบ่งออกเป็น 3 ส่วน เหมือนแมลงทั่วๆ ไป (รูปที่ 1) มีส่วนสำคัญดังนี้

หัว (Head) มีขนาดเล็กกว่าส่วนท้องจะเชื่อมติดกับอกปล้องแรก ร่องหนวดไม่พัฒนา หรือพัฒนาน้อย

ตา เป็นแบบตารวม (compound eye) มีจำนวนเซลล์ตามากมาย (multifaceted) เพลี้ยอ่อนที่มีปีกมีตาเดี่ยว (ocelli) 3 ตา อยู่ระหว่างหนวดและตารวมทั้ง 2 ข้าง

หนวด ยาวมี 6 ปล้อง ปล้องที่ 1 และ 2 คือ scape และ pedicel ปล้องที่เหลือเป็น flagellum หนวดปล้องสุดท้ายจะแบ่งเป็น 2 ส่วน คือส่วนโคนและส่วนปลาย ส่วนโคนซึ่งเป็นส่วนฐานจะกว้าง ส่วนปลายทีเรียวยาวเรียกว่า processus terminalis ยาวกว่าส่วนฐานมาก

ปาก เป็นแบบเจาะดูดอยู่ด้านใต้ส่วนหัวเรียกว่า rostrum มี 5 ปล้อง ปล้องแรกจะสั้นอยู่ระหว่างโคนขา (coxa) ของขาคู่หน้า ปล้องที่ 2 จะยาวที่สุด ปล้องที่ 3 สั้นและกว้างกว่าปล้องอื่นๆ ปล้องที่ 4 และ 5 มักเชื่อมติดกันมองเห็นเหมือนเป็นปล้องเดียว (รูปที่ 5) ภายใน rostrum จะเป็นท่อ 2 ท่อซึ่งเกิดจากการพัฒนาของส่วนปาก ท่อใหญ่ใช้สำหรับดูดน้ำเลี้ยงจากพืช อีกท่อจะมีขนาดเล็กกว่าเพลี้ยอ่อนจะปล่อยน้ำลายเข้าสู่ต้นพืชทางท่อนี้

อก (Thorax) มี 3 ปล้อง คืออกปล้องแรก (prothorax) อกปล้องกลาง (mesothorax) และอกปล้องสุดท้าย (metathorax)

ขา มี 3 คู่ อยู่ที่อกแต่ละปล้อง ประกอบด้วย โคนขา (coxa) ข้อขา (trochanter) ต้นขา (femur) น่องขา (tibia) และปลายขา (tarsi) ซึ่งมี 2 ปล้อง และมีเล็บอยู่ที่ปลายสุด

ปีก มี 2 คู่ อยู่ที่อกปล้องกลาง และอกปล้องสุดท้าย ปีกคู่หน้าจะกว้างและยาวกว่าปีกคู่หลัง

ท้อง (Abdomen) มี 9 ปล้อง แต่จะเห็นเพียง 8 ปล้อง

รูหายใจ (spiracle) อยู่บริเวณข้างของลำตัวที่ปล้องท้องด้านล่างปล้องที่ 1 – 7 ปล้องละคู่

Abdominal tubercles อยู่ที่ปล้องที่ 1 และ 7

Siphunculi หรือ **Cornicle** มีรูปทรงเป็นท่ออยู่ที่ปลายท้องด้านบนบริเวณปล้องที่ 5 หรือ 6 มีขนาดแตกต่างกัน บางชนิดสั้น บางชนิดเป็นท่อยาว บางชนิดมีลักษณะเป็นรู เพลี้ยอ่อนจะปล่อยของเหลวเหนียวออกมาทาง siphunli เมื่อเวลาตกใจหรือเพื่อป้องกันตัวจากศัตรูพวกตัวห้ำ ของเหลวจะติดตามหนวดหรือปากของตัวห้ำทำให้ไม่สามารถเข้าทำลายเพลี้ยอ่อนได้ นอกจากจะปล่อยของเหลวดังกล่าวแล้วเพลี้ยอ่อนสำลี *Ceratovacuna lanigera* Zehntner ยังปล่อยสัญญานฟีโรโมน (Alarm pheromone) ซึ่งเป็นของเหลวอีกชนิดหนึ่งออกมาพร้อมๆกันด้วย (Joshi and Viraktamath, 2004)

Cauda หรือหาง รูปร่างคล้ายลิ้นหรือนิ้วมือ บางชนิดมีรูปร่างเป็นทรงสามเหลี่ยม

แนวทางการวินิจฉัยเพลี้ยอ่อนวงศ์ย่อย Aphidinae

1. - Antennal tubercles well-developed..... 2
   Antennal tubercles low or undeveloped, not higher than medial part of frons 3
2. - Inner faces of antennal tubercles convergent or paralled. Siphunculi without a subapical zone of polygonal reticulation.....*Myzus persicae*
   - Inner faces of antennal tubercles divergent. Siphunculi with a subapical zone of polygonal reticulation.....*Macrosiphum rosae*
3. - Siphunculi shorter than cauda..... 4
   - Siphunculi as long as or longer than cauda..... 5
4. - Caudal tongue shaped. Siphunculi darker than cauda.....
   .....*Melanaphis sacchari*
   - Caudal tongue shaped. Siphunculi paler than cauda. Hind tibia with row of peg-like projection.....*Toxoptera odinae*

5. - Siphunculi as long as cauda.....6
   - Siphunculi longer than cauda.....7
6. - Body ovate. Antennal segment III 1.2-1.7 times longer than siphunculi.....
   .....*Lipaphis erysimi*
   - Body rather elongation.....*Rhopalosiphum maidis*
7. - Siphunculi with a distal swollen portion.....*Rhopalosiphum nymphaeae*
   - Siphunculi without a distal swollen portion.....9
8. - Dorsal of abdomen with an extensive solid black sclerite.....*Aphis craccivora*
   - Dorsal of abdomen without an extensive solid black sclerite.....10
   - Siphunculi and cauda very pale pale.....11
9. - Cauda paler than siphunculi nd usually with 4-7 hairs.....*Aphis gossypii*
   - Cauda and siphunculi dark.....12
10. - Rostrum reached beyond hind coxae.....*Aphis nerii*
    - Rostrum reached to middle coxae.....*Aphis spiraecola*

รายละเอียดและลักษณะที่สำคัญเพลี้ยอ่อนวงศ์ย่อย Aphidinae

***Aphis gossypii* Glover, 1877** (ภาพที่ 3)

ชื่อสามัญ เพลี้ยอ่อนฝ้าย Cotton aphid, Melon aphid

รูปร่างลักษณะ

ลักษณะในธรรมชาติ พวกไม่มีปีก

เป็นเพลี้ยอ่อนขนาดเล็กถึงขนาดกลาง อยู่รวมกันเป็นกลุ่ม สีเหลืองอ่อน สีเหลืองอมเขียว จนถึงสีเขียวเข้มและสีดำ หัว มีขนาดเล็ก vertex โค้ง antennal tubercle ไม่เจริญ ตาสีน้ำตาลดำ หนวดปล้องแรก (scape) สีเหลืองอมน้ำตาล หนวดปล้องที่ 2 (pedicel) สีจางลง หนวดปล่องที่ 3, 4, 5 และ 6 มีสีเหลืองแกมขาว หนวดปล้องที่ 6 มี processus terminalis ยาวกว่าส่วนฐานน้อยกว่า 3.5 เท่า ลำตัวเป็นรูปไข่ เรียวไปทางด้านหัว สีเหลืองแกมเขียว ขาสีขาวอมเหลือง ตอนปลายของต้นขา (femur) ที่ต่อกับหน้าแข้ง (tibia) สีเข้มขึ้น ปลายหน้าแข้งที่ต่อกับเท้า (tarsus) และเท้าสีน้ำตาลเข้มหรือดำ เท้าปล้องแรกและเล็บ (claw) สีดำ siphunculi ยาวกว่า cauda สีน้ำตาลเข้มเกือบดำ cauda สีอ่อน มีขน 4-7 เส้น

ลักษณะบนแผ่นสไลด์แก้ว ลำตัวยาว 1.116-1.377 (1.218) มิลลิเมตร กว้าง 0.698-1.022 (0.855) มิลลิเมตร หนวดมี 6 ปล้อง หนวดปล้องที่ 3 ยาว 0.121-0.207 (0.162) มิลลิเมตร ปล้องที่ 4 ยาว 0.083-0.143 (0.120) มิลลิเมตร ปล้องที่ 5 ยาว 0.097-0.157 (0.131) มิลลิเมตร ปล้องที่ 6 ยาว 0.045-0.061 (0.053)+0.098-0.189 (0.151) มิลลิเมตร rostrum ยาวถึงโคนขาคู่หลัง siphunculi ยาว 0.134-0.314 (0.248) มิลลิเมตร cauda ยาว 0.175-0.269 (0.23) มิลลิเมตร มีขน 5-7 เส้น

พืชอาหาร ฝ้าย กระเจี๊ยบผักชี มะเขือ ตำลึง เผือก ยี่หร่า ฝักเขียว มะระ แมงลัก กะเพรา เฟื่องฟ้า เบญจมาศ พุด กุหลาบ ฝรั่ง บอน พืชตระกูลแตง สาบเสือ ฝรั่ง บัวอะเมซอน

การแพร่กระจาย นนทบุรี เชียงใหม่ เพชรบุรี ตาก นครราชสีมา อุบลราชธานี สุรินทร์ ปทุมธานี

***Aphis nerii* Boyer, 1841** (ภาพที่ 4)

ชื่อสามัญ เพลี้ยอ่อนรัก Oleander aphid

รูปร่างลักษณะ

ลักษณะในธรรมชาติ พวกไม่มีปีก

อยู่รวมกันเป็นกลุ่ม สีเหลืองส้ม ส่วนของ siphunculi และหางสีน้ำตาลเข้มจนเกือบดำ หัว มีขนาดเล็ก vertex โค้ง antennal tubercle ไม่เจริญ ตาสีดำ หนวดปล้องแรก (scape) และปล่องที่ 2 (pedicel) สีเทาดำ หนวดปล้องที่ 3, 4, 5 และ 6 สีเข้มกว่า หนวดปล้องที่ 6 มี processus terminalis ยาวกว่าส่วนฐาน 3.5 เท่า ลำตัวเป็นรูปไข่ เรียวไปทางด้านหัว สีเหลือง ขาสีน้ำตาลเข้มเกือบดำ ยกเว้นปล้องฐานขา (coxa) มีสีเหลือง เท้า (tarsus) และเล็บ (claw) สีดำ siphunculi ยาวกว่า cauda สีน้ำตาลเข้มเกือบดำ cauda สีน้ำตาลเข้มมีขนมากกว่า 7 เส้นแต่ไม่เกิน 20 เส้น

ลักษณะบนแผ่นสไลด์แก้ว ลำตัวยาว 1.435-2.165 (1.778) มิลลิเมตร กว้าง 0.862-1.372 (1.114) มิลลิเมตร หนวดมี 6 ปล้อง หนวดปล้องที่ 3 ยาว 0.273-0.558 (0.403) มิลลิเมตร ปล้องที่ 4 ยาว 0.192-0.383 (0.387) มิลลิเมตร ปล้องที่ 5 ยาว 0.164-0.279 (0.221) มิลลิเมตร ปล้องที่ 6 ยาว 0.055-0.079 (0.066)+0.268-0.311 (0.298) มิลลิเมตร rostrum ยาวถึงโคนขาคู่หลัง siphunculi ยาว 0.413-0.633 (0.519) มิลลิเมตร cauda ยาว 0.301-0.429 (0.356) มิลลิเมตร มีขน 5-7 เส้น

พืชอาหาร รัก ชวนชม เดฟ

การแพร่กระจาย ปทุมธานี ศรีสะเกษ กำแพงเพชร

***Aphis craccivora* Koch, 1854** (ภาพที่ 5)

ชื่อสามัญ เพลี้ยอ่อนถั่ว Cowpea aphid, Groundnut aphid

รูปร่างลักษณะ

ลักษณะในธรรมชาติ พวกไม่มีปีก

อยู่รวมกันเป็นกลุ่ม สีน้ำตาลดำหรือดำ เป็นมันเงา ตัวอ่อนมีไขบางๆ สีน้ำตาลอ่อนปกคลุมลำตัว ส่วนของ siphunculi และหางสีดำ หัวมีขนาดเล็ก vertex โค้ง antennal tubercle ไม่เจริญ ตาสีดำ หนวดยาว 2 ส่วน 3 ของลำตัว หนวดปล้องที่ 1, 2 (scape และ pedicel) และส่วนปลายของปล้องที่ 5 สีดำ หนวดปล้องที่ 3, 4 และโคนหนวดปล้องที่ 5 สีขาว ลำตัวเป็นรูปไข่ เรียวไปทางด้านหัว สีน้ำตาลดำ บริเวณท้องมีแถบสีดำพาดตามขวางลำตัว ขา สีขาว ยกเว้น coax, trochanter ปลาย femur และ tibia สีน้ำตาลเข้ม siphunculi ยาวกว่า cauda cauda สีดำ มีขน 4-7 เส้น

ลักษณะบนแผ่นสไลด์แก้ว ลำตัวยาว 1.240-1.828 (1.552) มิลลิเมตร กว้าง 0.808-1.326 (1.113) มิลลิเมตร หนวดมี 6 ปล้อง หนวดปล้องที่ 3 ยาว 0.252-0.366 (0.319) มิลลิเมตร ปล้องที่ 4

ยาว 0.165-0.292 (0.246) มิลลิเมตร ปล้องที่ 5 ยาว 0.160-0.260 (0.225) มิลลิเมตร ปล้องที่ 6 ยาว 0.061-0.090 (0.076)+0.138-0.228 (0.198) มิลลิเมตร rostrum ยาวถึงโคนขาคู่หลัง siphunculi ยาว 0.409-0.496 (0.445) มิลลิเมตร cauda ยาว 0.275-0.402 (0.365) มิลลิเมตร มีขน 5-7 เส้น

พืชอาหาร ถั่วฝักยาว ถั่วพู ถั่วลันเตา แค ขี้เหล็ก ราชพฤกษ์ ผักชี

การแพร่กระจาย ระยอง เชียงใหม่ ลพบุรี ลำปาง เพชรบุรี กาญจนบุรี

***Aphis spiraecola* Patch, 1914** (ภาพที่ 6)

ชื่อสามัญ เพลี้ยอ่อนแอปเปิ้ล Apple aphid, Spiraea aphid

รูปร่างลักษณะ

ลักษณะในธรรมชาติ พวกไม่มีปีก

อยู่รวมเป็นกลุ่ม สีเหลืองอมเขียว siphunculi และหางสีน้ำตาลดำ หัวสีดำ มีขนาดเล็ก vertex โค้ง antennal tubercle ไม่เจริญ ตาสีดำ หนวดสีอ่อนส่วนปลายหนวดปล้องที่ 5 และหนวดปล้องที่ 6 สีน้ำตาลเข้มลำตัวเป็นรูปไข่ เรียวไปทางด้านหัว ขา สีขาวส่วนปลายของ femur และ tibia สีน้ำตาลดำ

siphunculi ยาวกว่า cauda สีน้ำตาลเข้มเกือบดำ cauda มีขน 6-12 เส้น

ลักษณะบนแผ่นสไลด์แก้ว ลำตัวยาว 1.322-1.656 (1.516) มิลลิเมตร กว้าง 0.966-1.132 (1.040) มิลลิเมตร หนวดมี 6 ปล้อง หนวดปล้องที่ 3 ยาว 0.196-0.316 (0.274) มิลลิเมตร ปล้องที่ 4 ยาว 0.142-0.243 (0.198) มิลลิเมตร ปล้องที่ 5 ยาว 0.121-0.185 (0.165) มิลลิเมตร ปล้องที่ 6 ยาว 0.055-0.0780 (0.068)+0.120-0.197 (0.174) มิลลิเมตร rostrum ยาวถึงโคนขาคู่กลาง siphunculi ยาว 0.323-0.499 (0.423) มิลลิเมตร cauda ยาว 0.278-0.371 (0.334) มิลลิเมตร มีขนมากกว่า 10 เส้น

พืชอาหาร แอปเปิ้ล

การแพร่กระจาย เพชรบูรณ์ เลย

***Aphis glycines* Matsumura, 1917** (ภาพที่ 7)

ชื่อสามัญ เพลี้ยอ่อนถั่วเหลือง Soybean aphid

รูปร่างลักษณะ

ลักษณะในธรรมชาติ พวกไม่มีปีก

เป็นเพลี้ยอ่อนขนาดเล็กอยู่รวมเป็นกลุ่ม สีเหลืองอ่อน ส่วนของหนวด ขา siphunculi และหางสีจางใส หัวมีขนาดเล็ก vertex โค้ง abdominal tubercle ไม่เจริญ ตาสีดำ หนวดสีเหมือนลำตัว หนวดยาว 1.3 เท่าของลำตัว ลำตัวรูปไข่ เรียวไปทางด้านหัว ขาสีเหมือนลำตัว siphunculi สีดำ cauda สีเหลืองอ่อนเหมือนลำตัว มีขน 8-10 เส้น

ลักษณะบนแผ่นสไลด์แก้ว ลำตัวยาว 0.848-1.011 (0.910) มิลลิเมตร กว้าง 0.536-0.611 (0.568) มิลลิเมตร หนวดมี 6 ปล้อง หนวดปล้องที่ 3 ยาว 0.134-0.192 (0.168) มิลลิเมตร ปล้องที่ 4 ยาว 0.102-0.150 (0.122) มิลลิเมตร ปล้องที่ 5 ยาว 0.076-0.123 (0.1065) มิลลิเมตร ปล้องที่ 6

ยาว 0.031-0.091 (0.073)+0.140-0.222 (0.191) มิลลิเมตร rostrum ยาวถึงโคนขาคู่หลัง siphunculi ยาว 0.154-0.192 (0.170) มิลลิเมตร cauda ยาว 0.124-0.201 (0.165) มิลลิเมตร มีขน 5-7 เส้น

พืชอาหาร ถั่วเหลือง

การแพร่กระจาย เชียงใหม่

***Rhopalosiphum nymphaeae* (Linnaeus), 1761** (ภาพที่ 8)

ชื่อสามัญ เพลี้ยอ่อนบัว Water lilly aphid

รูปร่างลักษณะ

ลักษณะในธรรมชาติ พวกไม่มีปีก

ลำตัวอ้วนป้อม สีน้ำตาลแดงจนถึงน้ำตาลเข้ม ส่วนโคนของ siphunculi สีจางใส ส่วนปลายสีน้ำตาลเข้ม หัว มีขนาดเล็ก vertex โค้ง antennal tubercle ไม่เจริญ ตาสีน้ำตาลเข้ม หนวดสีเทา ลำตัวเป็นรูปไข่ เรียวไปทางด้านหัว ขา สีเทา ส่วนโคนของ femur สีน้ำตาลอ่อน เล็บสีดำsiphunculi ยาวกว่า cauda siphunculi สีน้ำตาลอ่อน ส่วนปลายป่องออกสีน้ำตาลเข้ม cauda สีน้ำตาลเข้มเกือบดำ

ลักษณะบนแผ่นสไลด์แก้ว ลำตัวยาว 1.742-2.165 (2.004) มิลลิเมตร กว้าง 1.200-1.542 (1.361) มิลลิเมตร หนวดมี 6 ปล้อง หนวดปล้องที่ 3 ยาว 0.248-0.376 (0.320) มิลลิเมตร ปล้องที่ 4 ยาว 0.183-0.254 (0.244) มิลลิเมตร ปล้องที่ 5 ยาว 0.0.137-0.255 (0.218) มิลลิเมตร ปล้องที่ 6 ยาว 0.058-0.091 (0.080)+0.216-0.344 (0.304) มิลลิเมตร rostrum ยาวถึงโคนขาคู่หลัง siphunculi ยาว 0.343-0.480 (0.417) มิลลิเมตร cauda ยาว 0.237-0.303 (0.347) มิลลิเมตร มีขน 4 เส้น

พืชอาหาร บัวกระถาง

การแพร่กระจาย กรุงเทพฯ นนทบุรี อุบลราชธานี

***Rhopalosiphum maidis* (Fitch), 1856** (ภาพที่ 9)

ชื่อสามัญ เพลี้ยอ่อนข้าวโพด Corn leaf aphid

รูปร่างลักษณะ

ลักษณะในธรรมชาติ พวกไม่มีปีก

รูปร่างค่อนข้างยาว อยู่รวมกันเป็นกลุ่ม ลำตัวสีเขียวอมเหลือง สีเขียว สีเขียวเข้ม หรือสีเขียวปนน้ำเงิน มีไขบางๆปกคลุมลำตัว ส่วน siphunculi และหางมีสีดำ หัว มีขนาดเล็ก vertex โค้ง antennal tubercle ไม่เจริญส่วนหัวสีเข้มกว่าลำตัว ตาสีดำ หนวดสั้นสีเข้ม ยกเว้นหนวดปล้องที่ 3 สีอ่อน ลำตัวค่อนข้างยาว ขา สีดำ ยกเว้นบริเวณโคนขา siphunculi เป็นท่อสั้นสีดำ cauda สีดำ

ลักษณะบนแผ่นสไลด์แก้ว ลำตัวยาว 1.662-1.801 (1.724) มิลลิเมตร กว้าง 0.767-0.985 (0.901) มิลลิเมตร หนวดมี 6 ปล้อง หนวดปล้องที่ 3 ยาว 0.148-0.211 (0.173) มิลลิเมตร ปล้องที่ 4 ยาว 0.086-0.129 (0.103) มิลลิเมตร ปล้องที่ 5 ยาว 0.090-0.111 (0.098) มิลลิเมตร ปล้องที่ 6 ยาว

0.049-0.062 (0.054)+0.105-0.151 (0.115) มิลลิเมตร rostrum ยาวถึงโคนขาคู่หลัง siphunculi ยาว 0.175-0.193 (0.184) มิลลิเมตร cauda ยาว 0.213-0.255 (0.232) มิลลิเมตร มีขน 4-6 เส้น

พืชอาหาร ข้าวโพด

การแพร่กระจาย ประจวบคีรีขันธ์ กำแพงเพชร กาญจนบุรี เลย

***Toxoptera odinae* (van der Goot), 1971** (ภาพที่ 10)

ชื่อสามัญ เพลี้ยอ่อนมะม่วง Mango aphid

รูปร่างลักษณะ

ลักษณะในธรรมชาติ พวกไม่มีปีก

ลำตัวอ้วนป้อม มีขนาดเล็กถึงกลาง สีน้ำตาลแดงสีน้ำตาลแดง หัว มีขนาดเล็ก vertex โค้ง antennal tubercle ไม่เจริญ หนวดยาวสีจางใส ลำตัว อ้วนป้อม ขาสีจางใส หางและ siphunculi สีดำ siphunculi สั้นกว่าส่วนหาง

ลักษณะบนแผ่นสไลด์แก้ว ลำตัวยาว 1.700-1.955 (1.841) มิลลิเมตร กว้าง 1.109-1.168 (1.219) มิลลิเมตร หนวดมี 6 ปล้อง หนวดปล้องที่ 3 ยาว 0.251-0.351 (0.315) มิลลิเมตร ปล้องที่ 4 ยาว 0.197-0.244 (0.217) มิลลิเมตร ปล้องที่ 5 ยาว 0.200-0.219 (0.208) มิลลิเมตร ปล้องที่ 6 ยาว 0.055-0.069 (0.061)+0.195-0.216 (0.207) มิลลิเมตร rostrum ยาวถึงโคนขาคู่หลัง siphunculi ยาว 0.081-0.124 (0.106) มิลลิเมตร cauda ยาว 0.365-0.380 (0.368) มิลลิเมตร มีขน 12 เส้น

พืชอาหาร มะม่วง

การแพร่กระจาย เชียงใหม่ อุบลราชธานี เพชรบุรี

***Melanaphis sacchari* (Zehntner), 1897** (ภาพที่ 11)

ชื่อสามัญ เพลี้ยอ่อนอ้อย Sugarcane aphid

รูปร่างลักษณะ

ลักษณะในธรรมชาติ พวกไม่มีปีก

เป็นเพลี้ยอ่อนขนาดเล็ก มีหลายสีขึ้นกับพืชอาหารและสิ่งแวดล้อม อาจมีสีเหลืองใส สีเหลืองอ่อน สีน้ำตาลอมเหลือง สีน้ำตาลเข้ม สีม่วงเข้ม หรือสีชมพู หัว มีขนาดเล็ก vertex โค้ง antennal tubercle ไม่เจริญส่วน หนวดมี 6 ปล้อง บ้างครั้งมี 5 ปล้อง หนวดยาวมากกว่าครึ่งหนึ่งของลำตัว ลำตัว รูปไข่เรียวไปทางด้านหัว ตัวที่โตเต็มที่มีแถบสีน้ำตาลกระจายอยู่บริเวณด้านบนของส่วนท้อง siphunculi สั้น สีน้ำตาล cauda สีเหลืองใส

ลักษณะบนแผ่นสไลด์แก้ว ลำตัวยาว 0.879-1.342 (1.065) มิลลิเมตร กว้าง 0.587-0.914 (0.733) มิลลิเมตร หนวดมี 6 ปล้อง หนวดปล้องที่ 3 ยาว 0.030-0.187 (0.122) มิลลิเมตร ปล้องที่ 4 ยาว 0.084-0.197 (0.132) มิลลิเมตร ปล้องที่ 5 ยาว 0.189-0.158 (0.118) มิลลิเมตร ปล้องที่ 6 ยาว 0.044-0.062 (0.053)+0194-0.224 (0.212) มิลลิเมตร rostrum ยาวถึงโคนขาคู่หลัง siphunculi ยาว 0.064-0.105 (0.080) มิลลิเมตร cauda ยาว 0.095-0.234 (0.161) มิลลิเมตร มีขน 6-8 เส้น

พืชอาหาร อ้อย

การแพร่กระจาย กาญจนบุรี ระยอง ชลบุรี ประจวบคีรีขันธ์ เชียงใหม่ กรุงเทพฯ

***Macrosiphum rosae* Linnaeus, 1758** (ภาพที่ 12)

ชื่อสามัญ เพลี้ยอ่อนกุหลาบ Rose aphid

รูปร่างลักษณะ

ลักษณะในธรรมชาติ พวกไม่มีปีก

เป็นเพลี้ยอ่อนขนาดใหญ่ อยู่รวมกันเป็นกลุ่ม สีเขียวใสจนถึงเขียวเข้ม สีชมพูหรือสีน้ำตาลแดง ขาและหนวดยาว สีจางใส หัว มีขนาดเล็ก antennal tubercle เจริญดีจนเห็นส่วนหน้าของหัวเป็นรูปตัววี หนวดยาวกว่าลำตัว หนวดสีเหลืองและดำ ลำตัว รูปร่างยาวคล้ายลูกรับบี้ เป็นมันเงา บางครั้งบริเวณด้านบนของส่วนท้องมีจุดสีดำเล็กๆ ขายาว siphunculi สีดำยาวกว่า cauda cauda ยาวรูปร่างคล้ายนิ้ว สีเหลืองใส

ลักษณะบนแผ่นสไลด์แก้ว ลำตัวยาว 2.065-2.808 (2.412) มิลลิเมตร กว้าง 0.968-1.363 (1.135) มิลลิเมตร หนวดมี 6 ปล้อง หนวดปล้องที่ 3 ยาว 0.841-1.015 (0.903) มิลลิเมตร ปล้องที่ 4 ยาว 0.618-0.702 (0.662) มิลลิเมตร ปล้องที่ 5 ยาว 0.515-0.558 (0.536) มิลลิเมตร ปล้องที่ 6 ยาว 0.096-0.102 (0.100)+0.544-0.618 (0.575) มิลลิเมตร rostrum ยาวถึงโคนขาคู่หลัง siphunculi ยาว 0.933-1.237 (1.084) มิลลิเมตร cauda ยาว 0.486-0.563 (0.523) มิลลิเมตร มีขน 12 เส้น

พืชอาหาร กุหลาบ

การแพร่กระจาย เชียงใหม่

***Myzus persicae* Sulzer, 1776** (ภาพที่ 13)

ชื่อสามัญ เพลี้ยอ่อนยาสูบ เพลี้ยอ่อนลูกท้อ Green peach aphid, Peach-potato aphid

รูปร่างลักษณะ

ลักษณะในธรรมชาติ พวกไม่มีปีก

เป็นเพลี้ยอ่อนขนาดกลาง มีสีสันแตกต่างกัน ตั้งแต่สีเขียว สีเหลืองอ่อน สีชมพู สีแดง และสีดำ ขา หนวด siphunculi และหางสีจางใส หัว มีขนาดเล็ก antennal tubercle เจริญดี จนเห็นส่วนหน้าของหัวเป็นรูปตัวยู ตาสีน้ำตาล หนวดยาวกว่าลำตัวสีเหลืองใส ลำตัว เรียวยาวคล้ายลูกรับบี้ ขาสีจางใส siphunculi สีขาวใสเหมือน cauda

ลักษณะบนแผ่นสไลด์แก้ว ลำตัวยาว 1.599-1.907 (1.791) มิลลิเมตร กว้าง 1.088-1.1.188 (1.128) มิลลิเมตร หนวดมี 6 ปล้อง หนวดปล้องที่ 3 ยาว 0.393-0.472 (0.411) มิลลิเมตร ปล้องที่ 4 ยาว 0.287-0.359 (0.328) มิลลิเมตร ปล้องที่ 5 ยาว 0.200-0.303 (0.251) มิลลิเมตร ปล้องที่ 6 ยาว 0.075-0.092 (0.083)+0.263-0.330 (0.289) มิลลิเมตร rostrum ยาวถึงโคนขาคู่หลัง siphunculi ยาว 0.470-0.533 (0.499) มิลลิเมตร cauda ยาว 0.317-0.352 (0.333) มิลลิเมตร มีขน 5-7 เส้น

พืชอาหาร บล็อกโคลี่ กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก คะน้า ผักกาด ยาสูบ

การแพร่กระจาย เชียงใหม่ เชียงราย แพร่ เพชรบูรณ์ เพชรบุรี กรุงเทพฯ นครราชสีมา

Lipaphis erysimi **Kaltenbach, 1843** (ภาพที่ 14)

ชื่อสามัญ เพลี้ยอ่อนผัก Mustard aphid

รูปร่างลักษณะ

ลักษณะในธรรมชาติ พวกไม่มีปีก

เป็นเพลี้ยอ่อนขนาดกลาง สีเขียวอมเหลือง สีเขียวเทาหรือสีเขียวมะกอก มีไขสีขาวปกคลุมลำตัว ส่วนของ siphunculi สั้น หัว มีขนาดเล็ก vertex โค้ง antennal tubercle ไม่เจริญ หนวดสีดำยกเว้นบริเวณส่วนโคน ลำตัว รูปไข่เรียวยาวไปทางด้านหัว บริเวณท้องปล้องที่ 1-4 มีแถบสีดำเรียงกันปล้องละ 2 แถบ ปล้องที่ 5-7 มีแถบยาวพาดตามขวางของลำตัว siphunculi ยาวกว่า cauda

ลักษณะบนแผ่นสไลด์แก้ว ลำตัวยาว 1.594-1.927 (1.737) มิลลิเมตร กว้าง 1.028-1.309 (1.158) มิลลิเมตร หนวดมี 6 ปล้อง หนวดปล้องที่ 3 ยาว 0.295-0.341 (0.323) มิลลิเมตร ปล้องที่ 4 ยาว 0.147-0.168 (0.158) มิลลิเมตร ปล้องที่ 5 ยาว 0.133-0.171 (0.147) มิลลิเมตร ปล้องที่ 6 ยาว 0.068-0.080 (0.073)+0.162-0.274 (0.198) มิลลิเมตร rostrum ยาวถึงโคนขาคู่หลัง siphunculi ยาว 0.200-0.226 (0.209) มิลลิเมตร cauda ยาว 0.140-0.260 (0.218) มิลลิเมตร มีขน 4-6 เส้น

พืชอาหาร กะหล่ำปลีม่วง

การแพร่กระจาย เชียงใหม่ แพร่ ลำปาง ฉะเชิงเทรา

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การศึกษาอนุกรมวิธานเพลี้ยอ่อนวงศ์ย่อย Aphidinae เพื่อได้ทราบข้อมูลพื้นฐานเพื่อใช้ในการศึกษาด้านอื่นต่อไป โดยการสำรวจรวบรวมเพลี้ยอ่อนจากแหล่งปลูกพืชต่างๆ ระหว่างเดือนตุลาคม 2550 ถึงเดือนกันยายน 2553 เพื่อทราบสกุล ชนิด พืชอาศัย และเขตการแพร่กระจาย ของเพลี้ยอ่อนในวงศ์ย่อย Aphidinae ในประเทศไทย โดยใช้ลักษณะทางอนุกรมวิธานที่สำคัญ เช่น ลักษณะของ siphunculi และส่วนหาง ความยาวของส่วนปาก ในการวิเคราะห์ชนิด พบเพลี้ยอ่อนวงศ์ย่อย Aphidinae 7 สกุล 12 ชนิด คือ *Aphis gossypii* Glover, *Aphis nerii* Boyer de Fonscolombe, *Aphis craccivora* Koch, *Aphis spiraecola* Patch, *Aphis glycines* Matsumura, *Toxoptera odinae* (van de Goot), *Melanaphis sacchari* (Zehntner), *Rhopalosiphum maidis* (Fitch), *Rhopalosiphum nymphaeae* (Linnaeus), *Macrosiphum rosae* (Linnaeus), *Myzus persicae* (Sulzer) และ *Lipaphis erysimi* (Kaltenbach)

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 Ltd. Chichester, England. 466 pp.

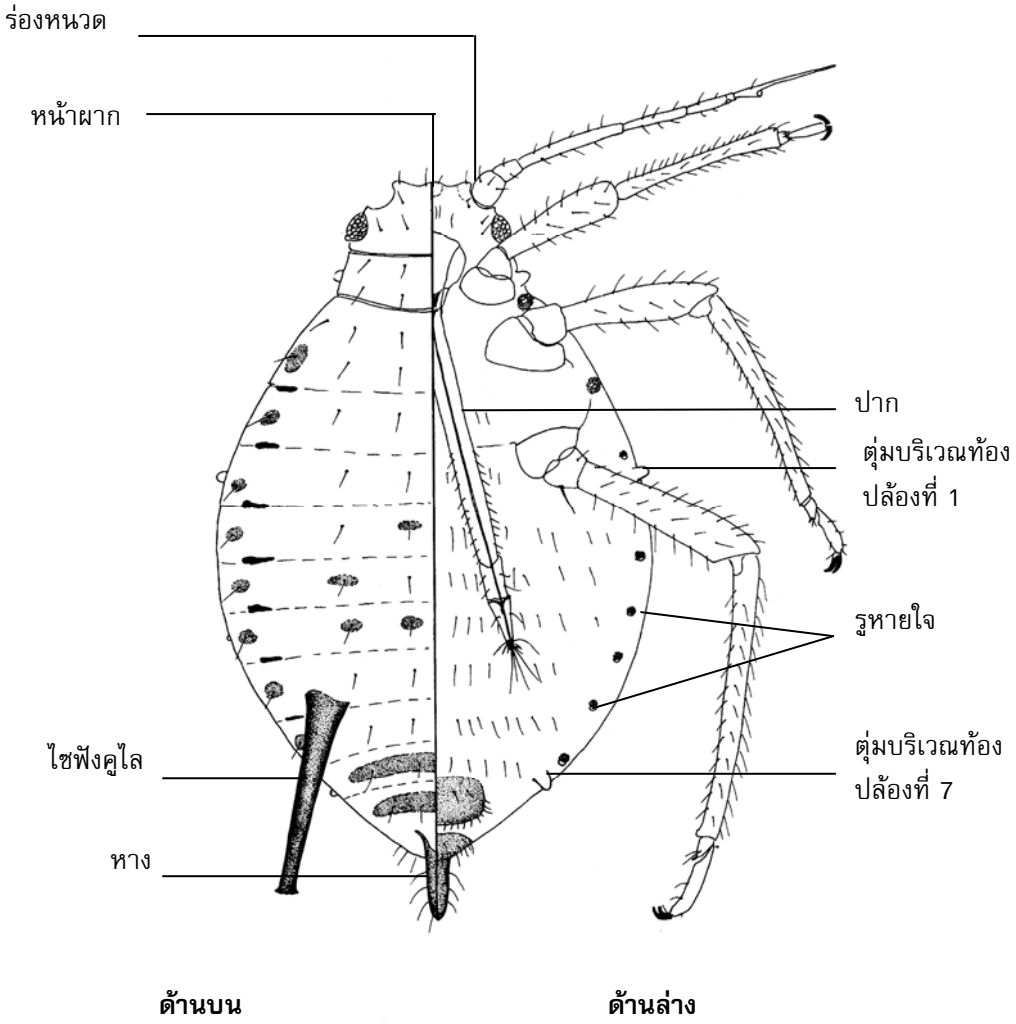
Blackman, R. L. and V. F. Eastop. 2006. Aphids on the World's Herbaceous Plants and Shurbs, Volumn 1 Host Lists and Key. John Wiley & Sons Ltd. Chichester, England. 1024 pp.

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

Joshi, S. and C. A. Viraktamath. 2004. The Sugarcane Woolly Aphid, *Ceratovacuna lanigera* Zchntner (Hemiptera:Aphididae): Its Biology, Pest Status and Control. Incurrent Science. 87(3): 307-316.

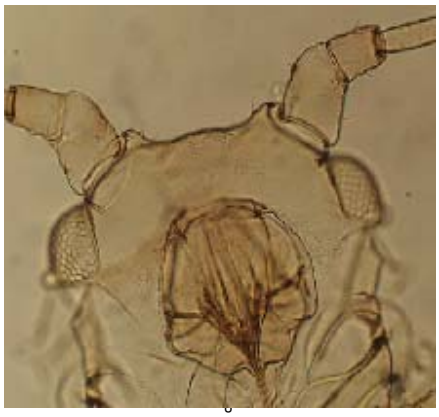
Abstract

Aphids is small insect pest and normally found to severely damage to several economic crops, particulary sub-family Aphidinae .Cottons aphid is very important key pest of field crops, vegetable crops and ornamental plants. The objective of Taxonomy study is to know about the basic or fundamental information for further more using such as a pest list of perishable to exportation.However, the genera and spicies , host plant and their distribution in Thailand are needed to know well too.The study was conducted in October 2007 to September 2010 by collecting aphids from all part of Thailand, damaged plants were recorded.The study result revealed that there were 7 genera, 12 spicies namely; *Aphis gossypii* Glover, *Aphis nerii* Boyer de Fonscolombe, *Aphis craccivora* Koch, *Aphis spiraecola* Patch, *Aphis glycines* Matsumura, *Toxoptera odinae* (van de Goot), *Melanaphis sacchari* (Zehntner), *Rhopalosiphum maidis* (Fitch), *Rhopalosiphum nymphaeae* (Linnaeus), *Macrosiphum rosae* (Linnaeus), *Myzus persicae* (Sulzer) and *Lipaphis erysimi* (Kaltenbach)



ภาพที่ 1 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเพลี้ยอ่อน
(Blackman and Eastop, 2006)

ก



ข

ค

ง

จ

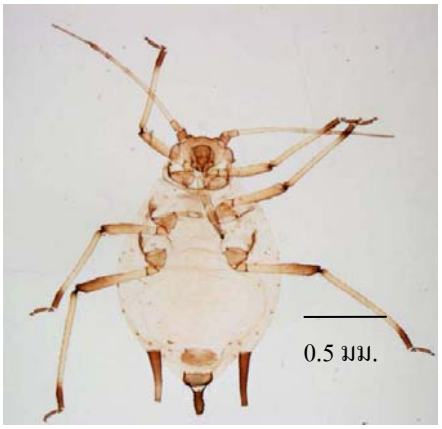
ฉ

ภาพที่ 2 ก. ร่องหนวด (Antennal tubercal) เจริญดี ข. ร่องหนวด (Antennal tubercal) ไม่เจริญ
ค. siphunculi เป็นท่อเรียว ง. Siphunculi เป็นท่อแต่ส่วนปลายป่องออก
จ. หนามบริเวณ tibia ขาคู่หลังของ *T. odinae* ฉ. ส่วนปลายของ siphunculi เป็นร่างแห (*M. rosae*)

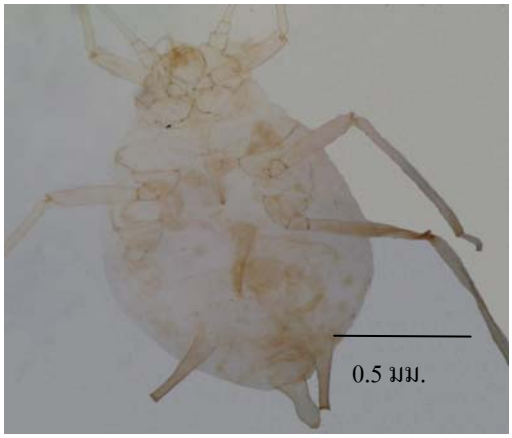
ภาพที่ 3 *Aphis gossypii* Glover

ภาพที่ 4 *Aphis nerii* Boyer de Fonscolombe

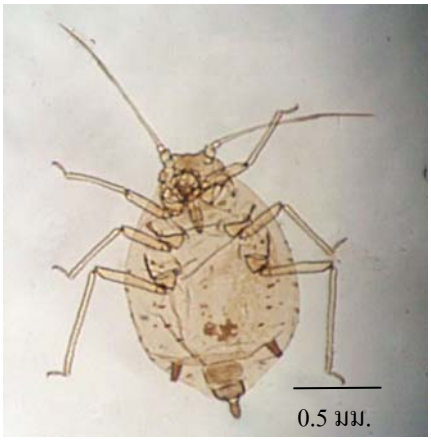
ภาพที่ 5 *Aphis craccivora* Koch



ภาพที่ 6 *Aphis spiraecola* Patch

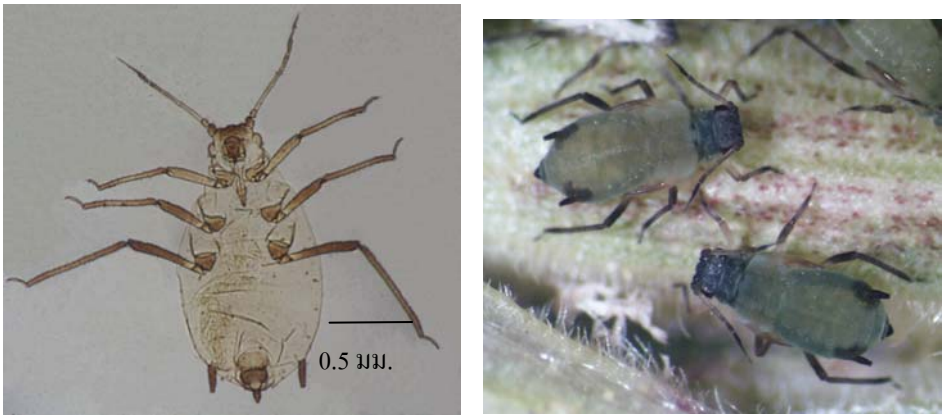


ภาพที่ 7 *Aphis glycines* Matsumura



ภาพที่ 8 *Melanaphis sacchari* (Zehntner)

ภาพที่ 9 *Toxoptera odinae* (van der Goot)

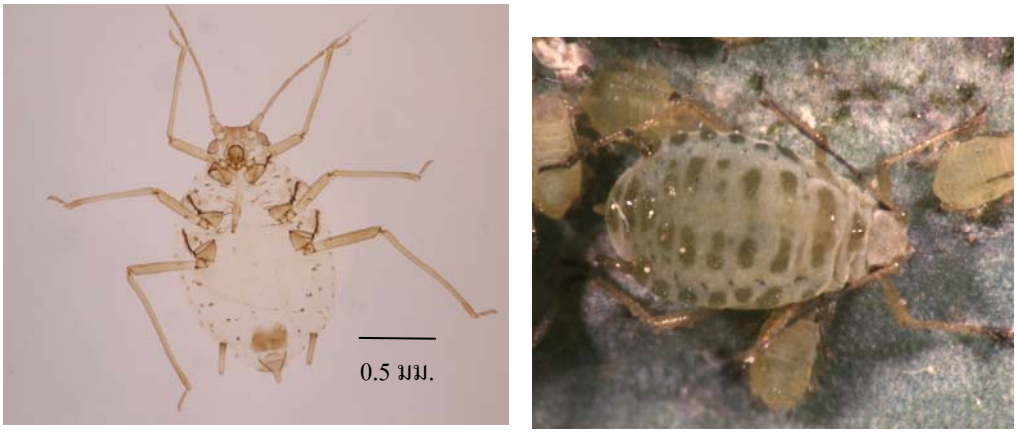


ภาพที่ 10 *Rhopalosiphum maidis* (Fitch)

ภาพที่ 11 *Rhopalosiphum nymphaeae* (Linnaeus)

ภาพที่ 12 *Macrosiphum rosae* (Linnaeus)

ภาพที่ 13 *Myzus persicae* (Sulzer)



ภาพที่ 14 *Lipaphis erysimi* Kaltenbach

2009

อนุกรมวิธานแมลงวันผลไม้สกุล *Bactrocera*

Taxonomy of Fruit flies in Genus *Bactrocera*

ยุวรินทร์ บุญทบ

ศิริณี พูนไชยศรี ชลิดา อุณหวุฒิ

ลักขณา บำรุงศรี สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาอนุกรมวิธานของแมลงวันผลไม้สกุล *Bactrocera* ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนกันยายน 2553 ในภาคต่างๆ ของประเทศไทย โดยเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงวันผลไม้จากผลไม้และพืชผัก รวมทั้งการติดกับดักแบบ Steiner จากแหล่งปลูกพืชต่างๆ (เงาะ แก้วมังกร มะม่วง ลำไย ลิ้นจี่ เป็นต้น) ซึ่งใช้สารล่อ 3 ชนิด ได้แก่ methyl eugenol, cue lure และ capi lure นำตัวอย่างที่รวบรวมได้กลับมายังห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เพื่อจัดรูปร่างและตรวจวิเคราะห์จำแนกชนิดตามหลักอนุกรมวิธาน จากการตรวจวิเคราะห์จำแนกชนิดพบแมลงวันผลไม้ชนิดต่างๆ จำนวน 15 ชนิด ดังนี้ *Bactrocera hochii* (Zia), *B. apicalis* (de Meijere), *B. diversa* (Coquillett), *B. isolata* Hardy, *B. tau* (Walker), *B. cucurbitae* (Coquillett), *B. umbrosa* (Fabricius), *B. zonata* (Saunders), *B. latifrons* (Hendel), *B. nigrotibilis* (Perkins), *B. correcta* (Bezzi), *B. tuberculata* (Bezzi), *B. dorsalis* (Hendel), *B . papayae* Drew & Hancock และ *B. carambolae* Drew & Hancock

คำนำ

แมลงวันผลไม้หรือแมลงวันทอง (fruit flies) เป็นแมลงศัตรูที่มีความสำคัญมากสำหรับผลไม้และผักในเขตร้อน (tropical) และเขตร้อนชื้น (subtropical) ตัวเต็มวัยจะเข้าทำลายผลไม้โดยการวางไข่ กับผลไม้ที่มีเปลือกบาง หรืออ่อนนุ่ม จากนั้นตัวหนอนจะเจริญเติบโตอยู่ภายในผลทำให้ผลไม้เน่าเสียก่อนการเก็บเกี่ยวตัวหนอนของแมลงวันผลไม้บางชนิดสามารถเจริญเติบโตบนดอกไม้ บางชนิดสามารถเข้าชอนใบ เนื้อเยื่อหรือรากพืช (White and Elson-Harris,1992) และสร้างปมได้อีกด้วย (Ibrahim and Ibrahim,1990) จากการศึกษาพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ มนตรี (2544) รายงานว่าพบแมลงวันผลไม้เข้าทำลายพืช 359 ชนิด โดยเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ 106 ชนิด และเป็นพืชที่ไม่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ 253 ชนิด ดังนั้นจึงพบว่าแมลงวันผลไม้สามารถขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณ จากพืชอาศัยชนิดต่างๆ ได้ตลอดทั้งปี จึงทำให้การป้องกันกำจัดทำได้ยาก ก่อให้เกิดปัญหาต่อพืชผัก โดยเฉพาะผลไม้ที่เป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เช่นมะม่วง มังคุด ฝรั่ง และชมพู่ อีกทั้งแมลงวันผลไม้หลายชนิดเป็นแมลงศัตรูกักกัน หากไม่ได้มีการศึกษาด้านอนุกรมวิธานจะ

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-40-51

ทำให้มีปัญหาในการจำแนกชนิด ซึ่งมีผลต่อการนำเข้าและส่งออกผักและผลไม้ ดังนั้นการตรวจวิเคราะห์ได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ จึงจะแก้ไขปัญหาเหล่านี้ได้ ดังนั้นการศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธาน พืชอาหารและเขตการแพร่กระจายของแมลงวันผลไม้ เป็นงานวิจัยที่มีความสำคัญอย่างยิ่ง ที่จะนำไปสู่การจำแนกและวิเคราะห์ชนิดของแมลงวันผลไม้ได้อย่างถูกต้อง และข้อมูลพื้นฐานในการนำไปใช้ในการควบคุม กำจัด และป้องกันได้อย่างมีประสิทธิภาพ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้เก็บตัวอย่างแมลง ได้แก่ กับดักแมลงวันผลไม้แบบ Steiner ปากคีบ พู่กัน กล่องพลาสติก กล่องรักษาความเย็น ขวดดองแมลง สารเคมี เช่น alcohol 70-80% และสารล่อแมลงวันผลไม้ ได้แก่ cue lure, methyl eugenol และ 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 แผ่นบันทึกข้อมูล

4. เอกสารประกอบการจำแนกชนิดแมลง

วิธีการ

1. สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงวันผลไม้ในแปลงเพาะปลูกและในสภาพธรรมชาติ โดยเก็บผลไม้ที่มีร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้ และใช้กับดักล่อแมลงวันผลไม้แบบ Steiner ซึ่งประกอบด้วยสารล่อแมลงวันผลไม้ 3 ประเภท ได้แก่ cue lure, methyl eugenol และ lati lureไปวางบริเวณสวนผลไม้ต่างๆ

2. นำผลไม้ที่มีร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้ ใส่กล่องเลี้ยงแมลง เพื่อเลี้ยงให้ตัวหนอนที่อยู่ภายในเจริญเติบโต และฟักออกเป็นตัวเต็มวัย เพื่อใช้ในการจำแนกชนิดแมลงวันผลไม้ ฆ่าตัวเต็มวัยด้วยเอทิลอะซีเตด หรือเก็บแมลงใส่หลอดแก้วแล้วนำมาแช่ในช่องน้ำแข็ง 4 – 5 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้จากการเลี้ยงและจากกับดักมาจัดรูปร่างโดยใช้เข็มขนาดเล็ก (micropin) แทงบริเวณด้านข้างของส่วนอกใต้ปีกให้ไปทางด้านหน้าของลำตัว แล้วจึงเสียบ micropin กับโฟมหรือค็อกขนาดเล็กที่มีเข็มปักแมลงเสียบอยู่

3. นำตัวอย่างแมลงวันผลไม้จากข้อ 2 มาตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิดจากลักษณะภายนอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo microscope บันทึกรายละเอียดต่างๆ เช่น รูปร่าง ลักษณะ ขนาด และสี เป็นต้น ตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานด้วยการใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยชนิดของแมลงวันผลไม้ ของ Handbook on Identification of Fruit Flies in the Tropics (Ibrahim

and Ibrahim, 1990) และ The *Bactrocera dorsalis* complex of fruit flies in Asia (Drew and Hancock, 1994) ประกอบการเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์

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

5. จัดเก็บตัวอย่างที่ได้ศึกษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากลของการเก็บรักษาตัวอย่างแมลง (แมลงวันผลไม้ทุกชนิดที่รายงานไว้ต้องเก็บรักษาตัวอย่างจริงไว้เพื่อการตรวจสอบ สืบค้น และอ้างอิงในภายหลัง)

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มต้น เดือนตุลาคม 2548 **สิ้นสุด** เดือนกันยายน 2553

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

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงวันผลไม้ ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนกันยายน 2553 ทำการศึกษาโดยเก็บรวบรวมแมลงวันผลไม้จากผักและผลไม้ รวมทั้งจากการใช้กับดักล่อแมลง-วันผลไม้แบบ Steiner ซึ่งประกอบด้วยสารล่อแมลงวันผลไม้เพศผู้ 3 ประเภท ได้แก่ cue lure, methyl eugenol และ lati lure จากแหล่งปลูกพืช และในสภาพป่าธรรมชาติต่างๆ ในจังหวัดนครปฐม จังหวัดปทุมธานี จังหวัดกาญจนบุรี จังหวัดระนอง จังหวัดจันทบุรี จังหวัดอุบลราชธานี จังหวัดศรีษะเกษ จังหวัดกาฬสินธุ์ จังหวัดลำพูน จังหวัดเชียงใหม่ จังหวัดตรัง และจังหวัดสุราษฎร์ธานี จากการตรวจวิเคราะห์และวาดภาพประกอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบแมลงวันผลไม้จำนวน 15 ชนิด ดังนี้ *Bactrocera hochii* (Zia), *B. apicalis* (de Meijere), *B. diversa* (Coquillett), *B. isolata* Hardy, *B. tau* (Walker), *B. cucurbitae* (Coquillett), *B. umbrosa* (Fabricius), *B. zonata* (Saunders), *B. latifrons* (Hendel), *B. nigrotibilis* (Perkins), *B. correcta* (Bezzi), *B. tuberculata* (Bezzi), *B. dorsalis* (Hendel), *B . papayae* Drew & Hancock และ *B. carambolae* Drew & Hancock (ภาพที่ 2) แมลงวันผลไม้ทั้งหมด สามารถจำแนกได้โดยดูจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา ของส่วนหัว จุดสีดำใต้หนวด จำนวนขน inferior fronto-orbital และขน superior fronto-orbital สีของหนวดปล้องต่างๆ แถบสีบริเวณเส้นปีก สีของอก บริเวณ scutum และ scutellum อีกทั้งลักษณะของแถบสีเหลืองด้านบนของส่วนอก (yellow vittae) สีของส่วนท้องและขาส่วนต่างๆ (ภาพที่ 1)

แนวทางวินิจฉัยชนิดของแมลงวันผลไม้สกุล *Bactrocera*

1. - Abdominal terga fused; abdomen strongly petiolate.....**(Genus *Dacus*)**

- Abdominal terga not fused; abdomen oval to elongate-oval in shape.....
.....2 **(Genus *Bactrocera*)**

2 - Four scutellar (sc.) setae present (ภาพที่ 1) 3

- Two scutellar (sc.) setae present 7

3 - Wing membrane with infuscation in addition to costal band and cubital streak. costal band with a rounded apical spot at apex; scutum mostly red-brown; lateral postsutural vittae reaching to *i a*. Setae (some specimens.....
.....***Bactrocera cucurbitae*** **(Coquillett)**

- Wings membrane with colourless except for costal band and cubital streak.....5

4 - Costal band only slightly enlarged at apex at widest point about 2x width of broad at apex of R_{2+3}. Fourth tergum with a large isolated yellow spot on each side. Head with 3 inferior fronto orbital bristles..... ***Bactrocera isolata*** **Hardy**

- Costal band enlarged ½ of cell R_5 . Head with 2 inferior fronto orbital bristles.....
.....***Bactrocera tau*** **(Walker)**

5 - Prescutellar (prsc.) setae absent.....6

- Prescutellar (prsc.) setae present **(**ภาพที่ 1)..... 7

6 - Anterior supra-alar (a.sa.) setae absent; large rounded spot at apex of wing, not connected to costal band, lateral postsutural vittae present .....
.....***Bactrocera apicalis*** **(de Meijere)**

- Anterior supra-alar (a.sa.) setae present ; large rounded spot at apex of wing, connected to costal band; lateral postsutural vittae absent.....
.....***Bactrocera hochii*** **(Zia)**

7 - Medial postsutural yellow vitta present 8

- Medial postsutural yellow vitta absent 9

8. - Wings colourless except for costal band and cubital streak, costal band confluent with R_{2+3} and widening slightly at apex.....***Bactrocrea diversa*** **(Coquillett)**

- Wings with infuscation around r-m and dm-cu crossviens,costal band overlapping R_{2+3} and with apical spots; scutum mostly red-brown.**.....**
.....***Bactrocera cucurbitae*** **(Coquillett)**

9. - Scutum red-brown.....***Bactrocera zonata*** **(Saunders)**

- Scutum mostly black.....10

10 - Transverse band or band across wings in addition to costal band and cubital

streak.....***Bactrocera umbrosa*** **(Fabricius)**

- Wings colourless except for costal band and cubital streak.....11

11 - Costal band continuous at least as a narrow band to wing apex.....12

- Costal band interrupted in cell R_3 beyond tip of vein R_{2+3} or lacking beyond cell sc.....13

12 - Mesonotum with long prominent postural yellow vittae, parallel sided or narrowing only slightly posteriorly face yellow. Abdominal terga III-V with a black 'T' pattern with variable lateral dark markings..... 15

- Mesonotum with short prominent postsutural yellow vittae tapered to sharp point posteriorly and ending well before postalar bristles face shining black .....***Bactrocera nigrotibialis*** **(Perkins)**

13 - Costal band expaned at apex forming a spot which extends below vein R_{4+5} in apical portion of cell R_5. Abdomen rufous, lacking distinct black marks. Frons broad measured from median ocellus to anteromedian edge, it is just slightly longer than wide. Legs yellow. Ovipositor of female trilobed at apex..... .....***Bactrocera latifrons*** **(Hendel)**

- Costal band not expanded at apex, the abdomen is mostly black or rufous..... 14

14 - Face with crossband in the furrow. Abdomen rufous except for black basal marks on terga 2 and 3 and a median black vitta from terga 3 over 5. Legs yellow..... ***Bactrocera corecta*** **(Bezzi)**

- Face with a black spot in each antennal furrow. Black body except for yellow vittae, costal band represent only by a yellow-brown mark in cell Sc .... ***Bactrocera tuberculata*** **(Bezzi)**

15 - Costal band confluent with R_{2+3} and not expanding apically (at most a very slight swelling at apex of R_{4+5}).....**.....*Bactrocera dorsalis*** **Hendel**

- Costal band overlapping R_{2+3}, of uniform width or with some apical expansion.. 16

16 - Abdominal terga III-V with a medial width to broad medial longitudinal dark band; with dark fuscous colour Beginning below apex of R_{2+3} and expanding around apex of R_{4+5} legs usually with fore femora with a dark preapical spot; abdominal terga III-V with narrow dark lateral margins, especially terga IV and V with anterolateral corners dark only.....

.....***Bactrocera carambolae*** **Drew & Handcock**

- Abdominal terga III-V with a narrow medial longitudinal dark band; Costal band usually of uniform width beyond apex of R_{2+3} (may have a slight expansion around apex of R_{4+5})..... ***Bactrocera papayae*** **Drew & Hancock**

รายละเอียดของแมลงวันผลไม้แต่ละชนิด

***Bactrocera* (*Pacifodacus*) *hochii* (Zia)** (ภาพที่ 2 ก)

Dacus (*Pacifodacus) hochii* (Zia), 1973

Bactrocera (*Pacifodacus*) *hochii* (Zia), 1989

ชื่อสามัญ -

รูปร่างลักษณะ **ขนาด**ลำตัวยาว 7.5 – 8.0 มม. ปีกยาว 7.8 – 8.2 มม. **หัว**สีเหลืองน้ำตาล frons มีขน inferior fronto-orbital 3 คู่ และขน superior fronto-orbital 1 คู่ ใต้หนวดมีแถบสีดำพาดขวาง บริเวณ vertex มีแถบสีดำคาดเหนือ frons หนวด สีน้ำตาล **อก**scutum สีน้ำตาลอมเหลือง mesonotum มีแถบตรงกลางขนาดสั้นสีเหลือง scutellum สีเหลือง ขาสีน้ำตาล **ปีก**ใส ปลายปีกมีจุดสีเข้มขยายออก ขนาดใหญ่ **ท้อง**มีลักษณะยาวรูปไข่ (petiolate) ปล้องที่ 1 – 2 มีสีเหลือง และบริเวณฐานปล้องท้องปล้องที่ 2 มีแถบสีดำ ปล้องที่ 3 มีแถบสีดำขวาง และตรงกลางมีแถบสีดำไปยังปล้องที่ 5 และมีจุดสีดำขนาดใหญ่บริเวณด้านข้างของท้องปล้องที่ 4

กับดัก กับดักที่ใช้สาร methyl eugenol

พืชอาหาร ลำไย

เขตการแพร่กระจาย จังหวัดเชียงใหม่ กรุงเทพ

***Bactrocera* (*Asiaducus*) *apicalis* de Meijere** (ภาพที่ 2 ข)

Dacus (*strumeta*) *apicalis* de Meijerei, 1911

ชื่อสามัญ **-**

รูปร่างลักษณะ **ขนาด**ลำตัวยาว 5.5 – 5.75 มม. ปีกยาว 5.0 – 5.2 มม. **หัว**สีเหลือง frons สีเหลืองออกน้ำตาลมีขน inferior fronto-orbital 1 คู่ และขน superior fronto-orbital 1 คู่ จุดดำมีลักษณะยาวรีและมีขนาดเล็ก มีสีน้ำตาลเข้ม ปลายหนวดค่อนข้างดำ **อก**scutum สีน้ำตาลเข้ม และมี postsutural yellow vittae 2 ข้าง ตรงกลางอกมีแถบสีเหลืองขนาดสั้นและปลายเรียวแหลม femur ขาคู่แรกและขาคู่กลางมีสีเหลือง ขาหลังบริเวณ femur 2/3 ส่วนเป็นสีน้ำตาลเข้ม tibia มีสีน้ำตาล **ปีก**ใส บริเวณขอบปีกจะขาดตอน บริเวณปลายปีกมีจุดขนาดใหญ่ สีน้ำตาล **ท้อง**สีน้ำตาลออกเหลืองค่อนข้างยาว ด้านข้างปล้องที่1 มีสีน้ำตาลเข้ม ปล้องที่ 3 มีแถบสีน้ำตาลทางด้านบน ปล้องที่ 4 มีสีดำพาดตามขวาง ตัวผู้ จะมี pecten บริเวณข้างของปล้องที่ 3 – 5 มีแถบสีดำพาดไปตามยาวของกลางปล้อง

กับดัก จากกับดักที่ใช้สาร cue lure

แปลงปลูกพืช มะม่วง

เขตการแพร่กระจาย จังหวัดนครราชสีมา

***Bactrocera* (*Hemigymnodacus*) *diversa* (Coquillett)** (ภาพที่ 2 ค)

Dacus diversa Coquillett, 1904

Dacus (*Hemigymnodacus*) *diversa* (Coquillet) Hardy, 1973

Asiadacus diversa Perkins, 1937

Bactrocera (*Hemigymnodacus*) *diver*sa (Coquillet) Drew, 1989

Dacus (*Gymnodacus*) *diversus* Hardy, 1954

ชื่อสามัญ -

รูปร่างลักษณะ **ขนาด**ลำตัวยาว 3.5 -4.2 มม. ปีกยาว 4.2 – 4.4 มม. **หัว**สีเหลือง frons มีขน inferior fronto – orbital 2 คู่ และ superior fronto – orbital 1 คู่ หนวดและ arista สีดำ **อก** scutum สีดำ ที่ mesonotum มี postsutural yellow vittae 3 แถบ scutellum มีสีเหลือง บริเวณ femur มีสีเหลือง tibia สีน้ำตาล **ปีก**ใส ขอบปีกมีสีเข้มขาดตอน บริเวณปลายขอบปีกมีสีเข้ม **ท้อง**สีน้ำตาลอ่อน มีรอยคาดสีเข้มขวางบริเวณปล้องท้องที่ 2 -4

กับดัก จากกับดักที่ใช้สาร methyl eugenol

แปลงปลูกพืช ลำไย และมะม่วง

เขตการแพร่กระจาย จังหวัดเชียงใหม่

***Bactrocera* (*Zeugodacus*) *isolata* Hardy** (ภาพที่ 2 ง)

Dacus (*Zeugodacus*) *isolata,* Hardy, 1973

Bactrocera (*Zeugodacus*) *isolata,* Hardy, 1973

ชื่อสามัญ -

รูปร่างลักษณะ **ขนาด**ลำตัวยาว 5.5 – 6.1 มม. ปีกยาว 4.7 – 5.4 มม. **หัว**สีเหลืองอมน้ำตาล มี inferior fronto – orbital 3 คู่ และ superior fronto – orbital 1 คู่ ใต้หนวดมีจุดสีดำรูปไข่ 2 จุด arista สีน้ำตาลเข้ม **อก**scutum สีดำ บน mesomotum มี postsutural yellow vittae 3 แถบ ปลายด้านบนของแถบตรงกลางจะเรียวยาว scutellum สีเหลือง ขาสีเหลืองน้ำตาลบริเวณ femur ของขาคู่หลังมีน้ำตาล **ปีก**ใส ขอบปีกสีทึบ ส่วนปลายปีกมีสีดำขยายใหญ่ประมาณ 2 เท่า ของแถบที่ขอบปีก **ท้อง**สีน้ำตาลมีแถบสีน้ำตาลเข้มขวางที่ฐานปล้องที่1 และ 2 ตรงกลางของปล้องที่ 2 – 5 มีแถบสีดำยาวมาด้านข้างของปล้องที่ 4 มีจุดสีเหลือง ด้านข้างปล้องที่ 5 มีแถบกว้างสีดำ

กับดัก จากกับดักที่ใช้ cue lure

แปลงปลูกพืช แตงโม ฟักเขียว

เขตการแพร่กระจาย จังหวัดนครปฐม เชียงใหม่ ตรัง กาญจนบุรี จันทบุรี ระยอง นครราชสีมา ชัยภูมิ

***Bactrocera* (*Zeugodacus*) *tau* (Walker)** (ภาพที่ 2 จ)

Dasyneura tau Walker, 1849

Dacus hagoni de Meijere, 1911

Dacus (*Zeugodacus*) *tau* (Walker), Hardy 1973

Bactrocera (*Zeugodacus*) *tau* (Walker), Drew 1989

Zeugodacus bezzianus Hering, 1941

Zeugodacus nubilis heinrichi Hering, 1941

ชื่อสามัญ -

รูปร่างลักษณะ **ขนาด**ลำตัวยาว 7.6 -8.2 มม. ปีกยาว 7.2 – 7.5 มม. **หัว**สีเหลืองอมน้ำตาล frons มีขน inferior fronto – orbital 2 คู่ และ superior fronto – orbital 1 คู่ ใต้หนวดมีจุดสีดำรูปไข่ 2 จุด arista สีน้ำตาล **อก**scutum สีเหลืองออกน้ำตาล บน mesomotum มี postsutural yellow vittae 3 แถบ อกบริเวณข้างๆ แถบเหลืองมีสีดำ scutellum สีเหลือง ขาบริเวณ femur มีสีเหลือง และบริเวณ femur ของขาของขาคู่หน้ามีขนแข็งเรียงเป็นแถว tibia มีสีน้ำตาล **ปีก**ขอบปีกด้านบนใส บริเวณปลายปีกมีสีน้ำตาลเข้มเป็นแถบยาวลงมาใต้ R_{4+5} **ท้อง**สีเหลือง บริเวณขอบมีสีดำ ปล้องท้องที่ 2 -3 มีแถบขวางสีดำ ปล้องที่ 4 – 5 มีแถบีดำทางด้านข้าง ตรงกลางปล้องที่ 3-5 มีแถบสีดำยาวลงไป

กับดัก จากกับดักที่ใช้ cue lure

แปลงปลูกพืช แตงโม ฟักเขียว แตงไทย

เขตการแพร่กระจาย จังหวัดนครปฐม เชียงใหม่ ตรัง กาญจนบุรี จันทบุรี ระยอง นครราชสีมา ชัยภูมิ

***Bactrocera* (*Zeugodacus*) *cucurbitae* (Coquillett)** (ภาพที่ 2 ฉ)

Dacus (*Strumeta*) *cucurbitae* Coquillet, 1973

Bactrocera (*Zeugodacus*) *cucurbitae* Coquillet, 1899

ชื่อสามัญ แมลงวันทองแตง : Melon Fly

รูปร่างลักษณะ **ขนาด**ลำตัวยาว 4.6 – 5.2 มม. ปีกยาว 4.8– 5.2 มม. **หัว**สีเหลืองอมน้ำตาล frons มีขน inferior fronto – orbital 3 คู่ และ superior fronto – orbital 1 คู่ ใต้หนวดมีจุดสีดำขนาดใหญ่ สีเหลือง arista สีน้ำตาลเข้ม **อก**scutum สีเหลืองออกน้ำตาล บริเวณ mesonotum มี postsutural yellow vittae 3 แถบ แถบด้านข้างปลายจะเรียว ส่วนแถบตรงกลางตอนบนจะเรียวแหลม scutellum สีเหลือง ขาสีเหลืองน้ำตาลบริเวณ tibia ของขาคู่กลางมีหนามสีดำ **ปีก**ใส ขอบปีกสีน้ำตาลเข้มจนถึงปลายปีกและสีน้ำตาลจะขยายใหญ่ไปยังปีก R_{4+5} เป็นจุดกลมใหญ่สีน้ำตาลเข้มและที่เส้น r-m และ dm- cu มีแถบขวางปีกสีเข้ม **ท้อง**สีน้ำตาลออกเหลือง ด้านข้างปล้องที่1 มีสีน้ำตาลเข้ม ปล้องที่ 2 มีแถบสีน้ำตาลทางด้านบน ปล้องที่ 3 มีสีดำพาดตามขวาง กลางปล้องที่ 3 – 5 มีแถบสีดำพาดไปตามยาวของกลางปล้อง

กับดัก จากกับดักที่ใช้ cue lure

แปลงปลูกพืช แตงโม ฟักเขียว แตงไทย

เขตการแพร่กระจาย จังหวัดกรุงเทพ นครปฐม จังหวัดเชียงใหม่ ตรัง กาญจนบุรี จันทบุรี ระยอง นครราชสีมา และชัยภูมิ

***Bactrocera* (*Bactrocera*) *umbrosa* (Fabricius)** (ภาพที่ 2 ช)

Dacus umbrosa (Fabricius)

Dacus fascipennis Wiedemann, 1819

Dacus frenchi Froggatt, 1909

Bactrocera fascipennis Doleschall, 1856

Dacus (*Bactrocera*) *umbrosa* Malloch, 1939

Strumeta umbrosa Perkins, 1939

Dacus conformis Walker, 1857

Strumeta frenchi Perkins, 1939

Dacus diffsus Walker, 1860

Dacus (*Strumeta*) *umbrosus* Hardy and Adachi, 1954

ชื่อสามัญ BreadFruit Fly

รูปร่างลักษณะ **ขนาด**ลำตัวยาว 5.8 – 6.5 มม. ปีกยาว 5.8 – 6.5 มม. **หัว**สีเหลือง frons สีเหลืองอมน้ำตาล จุดสีดำขนาดกลางใต้หนวด 2 จุด มีขน inferior fronto-orbital 2 คู่ และขน superior fronto-orbital 1 คู่ หนวดปล้องที่ 1 สีเหลืองหนวดปล้องที่ 2,3 สีน้ำตาล ปลาย arista สีน้ำตาลดำ **อก**scutum สีดำ mesonotum มีแถบข้างอกทั้งสอง สีเหลือง scutellum สีเหลือง ขาสีเหลือง **ปีก**ใส บริเวณ cell C และ bc เป็นสีน้ำตาลแดง costal เป็นแถบกว้าง และมีแถบขวางปีกสีน้ำตาล จาก costal ขยายมาจนเกือบถึง M 1+2 และมีแถบขวางปีกสีน้ำตาล จาก costal ลงมาด้านล่าง 3 แถบ และบริเวณ cubital มีสีน้ำตาลแดง **ท้อง**ปล้องแรกสีน้ำตาล ปล้องที่ 3-5 มีสีน้ำตาลอ่อน ปล้องท้องด้านบนปล้องที่ 4 และปล้องท้องปล้องที่ 5 มีแถบสีดำขนาดสั้นขวาง

กับดัก กับดักที่ใช้สาร methyl eugenol

แปลงปลูกพืช ชมพู่ ลำไย กระท้อน และมะม่วง

เขตการแพร่กระจาย จังหวัดกรุงเทพ นครปฐม เชียงใหม่ ตรัง กาญจนบุรี จันทบุรี นครราชสีมา ชัยภูมิ

***Bactrocera* (*Bactrocera*) *zonata* (Saunders)** (ภาพที่ 2 ซ)

Dasyneura zonzta Saunders, 1841

Dacus (*Strumeta*) *zonatus* (Saunders), 1973

Bactrocera maculigera Doleshall, 1859

Bactrocera (*Bactrocera*) *zonatus* (Saunders), 1989

Rivellia persicae Bigot, 1889

ชื่อสามัญ แมลงวันทองลูกพีช : Peach Fruit Fly

รูปร่างลักษณะ **ขนาด**ลำตัวยาว 5.5 – 5.8 มม. ปีกยาว 5.6 – 5.9 มม. **หัว**สีน้ำตาลแดง frons สีเหลืองน้ำตาล ใต้หนวดมีจุดสีดำขนาดใหญ่รูปไข่ 2 จุด ที่ frons หนวดมีสีเหลืองแกมน้ำตาล arista สีน้ำตาล **อก**scutum สีน้ำตาลแดง mesonotum มีแถบสีเหลืองข้างอกทั้งสอง scutellumมีสีเหลือง ขามีสีเหลือง **ปีก**ปีกใส สีบริเวณขอบปีกจะขาดตอน บริเวณปลายปีกมีแถบสีเหลืองขนาดเล็ก **ท้อง**สีน้ำตาลแดงค่อนข้างกลม

กับดัก จากกับดักที่ใช้สาร methyl eugenol

แปลงปลูกพืช ชมพู่

เขตการแพร่กระจาย นครปฐม เชียงใหม่ กาญจนบุรี

***Bactrocera* (*Bactrocera*) *latifrons* (Hendel)** (ภาพที่ 2 ฌ)

Chaetodacus latifrons Hendel, 1915

Dacus (*Strumeta*) *latifrons* Hardy & Adachi, 1954

Bactrocera (*Bactrocera*) *laitfrons* (Hendel), 1989

ชื่อสามัญ แมลงวันทองมะเขือ หรือ แมลงวันทองพริก : Solanum Fruit Fly

รูปร่างลักษณะ **ขนาด**ลำตัวยาว 4.0 – 4.3 มม. ปีกยาว 4.2 – 4.6 มม. **หัว**สีเหลือง frons กว้าง มีขน inferior fronto – orbital 2 คู่ และขน superior front – orbital 1 คู่ ใต้หนวดมีจุดกลมสีดำ 2 จุด หนวดสีเหลืองมี 3 ปล้อง บริเวณปลายหนวดมีสีเข้ม arista เป็นสีดำ **อก**scutum สีดำ อกมี postsutural yellow vittae 2 แถบ scutellum มีสีเหลือง ขาสีเหลืองเข้ม **ปีก**มี costal cell ใส ปลายปีกมีแถบ ขยายใหญ่คร่อมเส้นปีก R_{4+5} **ท้อง**มีลักษณะยาวสีน้ำตาลแดง ปล้องที่ 1 และ 2 มีสีจาง ตัวผู้มี pecten ที่ด้านข้างปล้องที่ 3

กับดัก -

แปลงปลูกพืช พริก

เขตการแพร่กระจาย จังหวัดตรัง จันทบุรี ระยอง ชัยภูมิ

***Bactrocera* (*Bactrocera*) *nigrotibialis* (Perkins)** (ภาพที่ 2 ญ)

Strumeta nigrotibialis Perkins, 1938

Dacus (*Strumeta*) *nigrotibialis* Hardy & Adachi, 1954

Bactrocera (*Bactrocera*) *nigrotibialis*, Drew 1989

ชื่อสามัญ **-**

รูปร่างลักษณะ **ขนาด**ลำตัวยาว 4.3 – 4.7 มม. ปีกยาว 4.4 – 4.8 มม. **หัว**สีน้ำตาลเข้ม frons สี เหลืองอ่อน มีขน inferior fronto-orbital 2 คู่ และขน superior fronto-orbital 1 คู่ จุดดำมีลักษณะยาวรีและมีขนาดใหญ่ หนวดมีสีน้ำตาลเข้ม arista สีดำ **อก**scutum สีดำ มีขนสั้นสีขาวกระจาย มี postsutural yellow vittae 2 ข้าง มีขนาดสั้นและปลายเรียวแหลม femur ขาคู่แรก

และขาคู่กลางมีสีดำ ขาหลังมีส่วน femur 2/3 ส่วนเป็นสีดำ tibia มีสีเข้ม **ปีก**สีน้ำตาลเข้ม ปลายปีกมีสีดำหนา **ท้อง**สีดำสนิท บริเวณขอบด้านล่างของปล้องที่ 2 สีเหลือง

กับดัก จากกับดักที่ใช้สาร methyl eugenol และ cue lure

แปลงปลูกพืช ชมพู่ ลำไย กระท้อน และมะม่วง

เขตการแพร่กระจาย จังหวัดนครปฐม กรุงเทพมหานคร ปทุมธานี เชียงใหม่ ตรัง กาญจนบุรี จันทบุรี ระยอง นครราชสีมา ชัยภูมิ

***Bactrocera* (*Bactrocera*) *correcta* (Bezzi)** (ภาพที่ 2 ฎ)

Chaetodacus correctus Bezzi, 1915

Dacus (*Strumeta*) *correctus* (Bezzi), 1973

Bactrocera (*Bactrocera*) *correcta* (Bezzi), 1989

ชื่อสามัญ แมลงวันทองฝรั่ง : Guava Fruit Fly

รูปร่างลักษณะ **ขนาด**ลำตัวยาว 4.8-5.5 มม. ปีกยาว 4.5-5.0 มม. **หัว**สีเหลือง frons สีน้ำตาล ใต้หนวดมีรอยคาดสีดำขวางที่ frons มีขน inferior fronto-orbital 2 คู่ และ superior fronto-orbital 1 คู่ หนวดปล้องที่สามมีสีเหลืองแกมน้ำตาล arista เป็นขนสีน้ำตาล **อก**scutum สีดำ อกปล้องแรกไม่มีแถบ mesonotum มีแถบสีเหลืองข้างอกทั้งสอง scutellum สีเหลือง ขามีสีเหลือง femur สีเหลืองมีขนแข็ง tibia สีเหลือง **ปีก**ใสบริเวณขอบปีก ขอบปีกจะขาดตอน บริเวณปลายปีกมีจุดเล็กๆ สีน้ำตาล **ท้อง**ปล้องที่ 1 และ 2 มีสีดำ ปล้องที่ 3 มีแถบสีดำตรงกลางยาวลงมาถึงปล้องที่ 5

กับดัก จากกับดักที่ใช้สาร methyl eugenol

แปลงปลูกพืช ชมพู่ ลำไย และมะม่วง

เขตการแพร่กระจาย จังหวัดนครปฐม เชียงใหม่ ตรัง กาญจนบุรี จันทบุรี ระยอง นครราชสีมา ชัยภูมิ

***Bactrocera* (*Bactrocera*) *tuberculata* (Bezzi)** (ภาพที่ ฏ)

Chaetodacus tuberculata Bezzi, 1916

Dacus (*Strumeta*) *tuberculata* (Bezzi), 1973

Bactrocera (*Bactrocera*) *tuberculata* (Bezzi), 1989

ชื่อสามัญ แมลงวันทองฝรั่ง : Guava Fruit Fly

รูปร่างลักษณะ **ขนาด**ลำตัวยาว 5.8-6.2 มม. ปีกยาว 5.2-5.7 มม. **หัว**สีเหลือง frons สีน้ำตาล ใต้หนวดมีจุดสีดำ ที่ frons มีขน inferior fronto-orbital 2 คู่ และ superior fronto-orbital 1 คู่ หนวดปล้องที่สามมีสีเหลืองแกมน้ำตาล arista เป็นขนสีน้ำตาล **อก**scutum สีดำ ข้างอกปล้องแรกมี postsutural wellow vittae ขามีสีเหลือง tibia มีหนาม **ปีก**ใสบริเวณ subcosta มีสีเหลืองน้ำตาล ปลายขอบปีกบริเวณ R_{4+5} มีแต้มสีน้ำตาล **ท้อง**เพศผู้ท้องปล้องที่ 1 และ 2 มีขนสีเหลือง เพศเมียปล้องที่ 2 และ 5 มีสีเหลือง

กับดัก จากกับดักที่ใช้สาร methyl eugenol

แปลงปลูกพืช ชมพู่ และมะม่วง

เขตการแพร่กระจาย จังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน

***Bactrocera (Bactrocera) dorsalis* Hendel** (ภาพที่ 2 ฐ)

Dacus dorsalis Hendel, 1912

Chetodacus ferrugineus var. *vesicolor* Bezzi, 1916

Musca ferruginea Fabricius, 1974

Strumeta dorsalis okinawana Shoraki, 1968

Bactrocera conformis Doleschall, 1859

Dacus (*Bactrocera) dorsalis* (Hendel), Hardy, 1977

Dacus ferrugineus var. *margifera* Cotes, 1983

Bactrocera (*Bactrocera*) *dorsalis* (Hendel) Drew & Hancock, 1994

ชื่อสามัญ Oriental Fruit Fly

รูปร่างลักษณะ **ขนาด**ลำตัวยาว 4.4 – 6.5 มม. ปีกยาว 5.2 – 6.5 มม. **หัว**สีเหลือง frons สี-เหลืองอมน้ำตาล มีจุดดำขนาดใหญ่ ใต้หนวด 2 จุด มีขน inferior fronto-orbital 2 คู่ และขน superior fronto-orbital 1 คู่ หนวดปล้องที่ 1 สีเหลืองหนวดปล้องที่ 2,3 สีน้ำตาล arista สีน้ำตาลเข้ม **อก**scutum สีดำ อกปล้องแรกไม่มีแถบ mesonotum มีแถบข้างอกทั้งสอง สีเหลือง scutellum สีเหลือง ขาสีเหลืองอมน้ำตาล femur และ tibia สีน้ำตาล **ปีก**ใส ขอบปีกด้านบน มีสีน้ำตาลเข้มแต่ขยายไม่เกินส้น R_{2+3} ปลายปีกมีสีเข้มขอบบางไม่ขยายออก **ท้อง**ปล้องแรกสีน้ำตาล ปล้องที่ 2 ทางด้านข้างมีสีน้ำตาลเข้ม ปล้องที่ 3 มีสีดำคาดตามขวาง และตรงกลางมีแถบคาดสีดำ

กับดัก กับดักที่ใช้สาร methyl eugenol

แปลงปลูกพืช ชมพู่ ลำไย กระท้อน และมะม่วง

เขตการแพร่กระจาย จังหวัดนครปฐม เชียงใหม่ ตรัง กาญจนบุรี จันทบุรี ระยอง นครราชสีมา ชัยภูมิ

***Bactrocera* (*Bactrocera*) *papayae* Drew &Hancock** (ภาพที่ 2 ฑ)

Bactrocera sp. Nr *B. dorslis* (*B),* White & Elson-Harris, 1992

ชื่อสามัญ Asian Papaya Fruit Fly

รูปร่างลักษณะ **ขนาด**ลำตัวยาว 4.8 – 6.5 มม. ปีกยาว 5.7 – 6.5 มม. **หัว**สีเหลือง frons สีเหลืองอมน้ำตาล ใต้หนวด มีจุดรูปไข่ 2 จุดขนาดใหญ่ มีขน inferior fronto-orbital 2 คู่ และขน superior fronto-orbital 1 คู่ หนวดปล้องที่ 1 สีเหลืองหนวดปล้องที่ 2,3 สีน้ำตาล ปลาย arista สีน้ำตาลดำ **อก**scutum สีดำ mesonotum มีแถบข้างอกทั้งสอง สีเหลือง scutellum สีเหลือง ขาสีเหลืองออกน้ำตาล fermur และ tibia สีน้ำตาล **ปีก**ใส ขอบปีกด้านบนมีสีน้ำตาลเข้มและสิ้นสุดที่

เส้น R_{2+3} จากนั้นมีแถบสีน้ำตาลขอบบางขยายออกถึง R_{4+5} **ท้อง**ปล้องแรกสีน้ำตาล ปล้องที่ 2 ทางด้านข้างมีสีน้ำตาลเข้ม ปล้องที่ 3 มีสีดำคาดตามขวาง และตรงกลางมีแถบคาดสีดำ

กับดัก กับดักที่ใช้สาร methyl eugenol

แปลงปลูกพืช ชมพู่ ลำไย กระท้อน และมะม่วง

เขตการแพร่กระจาย จังหวัดนครปฐม เชียงใหม่ ตรัง กาญจนบุรี จันทบุรี ระยอง นครราชสีมา ชัยภูมิ

***Bactrocera* (*Bactrocera*) *carambolae* Drew &Hancock** (ภาพที่ 2 ฒ)

Dacus dorsalis, Hendel, 1912

Bactrocera sp. Van Sauers-Muller, 1991

Bactrocera sp. Nr *B. dorslis* (*B),* White & Elson-Harris, 1992

ชื่อสามัญ Carambola Fruit Fly

รูปร่างลักษณะ **ขนาด** ลำตัวยาว 4.8 – 6.5 มม. ปีกยาว 5.8 – 6.5 มม. **หัว**สีเหลือง frons สีเหลืองอมน้ำตาล จุดดำใต้หนวด 2 จุดขนาดใหญ่ มีขน inferior fronto-orbital 2 คู่ และขน superior fronto-orbital 1 คู่ หนวดปล้องที่ 1 สีเหลืองหนวดปล้องที่ 2,3 สีน้ำตาล ปลาย arista สีน้ำตาลดำ **อก**cutum สีดำ อกปล้องแรกไม่มีแถบ mesonotum มีแถบข้างอกทั้งสอง สีเหลือง scutellum สีเหลือง ขาสีเหลือง และมีจุดสีดำแต้มบริเวณ femur ของขาคู่หน้า **ปีก**ใส ขอบปีกด้านบนมีสีน้ำตาลเข้มขยายถึงเส้น R_{2+3} และขยายออกบริเวณปลาย R_{4+5} **ท้อง**ปล้องท้องด้านบนปล้องที่3 - 5 มีแถบสีดำรูปตัวที ปล้องแรกสีน้ำตาล ปล้องที่ 4 - 5 ทางด้านข้างมีสีน้ำตาลเข้ม

กับดัก กับดักที่ใช้สาร methyl eugenol

แปลงปลูกพืช ชมพู่ ลำไย กระท้อน และมะม่วง

เขตการแพร่กระจาย จังหวัดนครปฐม เชียงใหม่ ตรัง กาญจนบุรี จันทบุรี ระยอง นครราชสีมา ชัยภูมิ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาอนุกรมวิธานของแมลงวันผลไม้สกุล *Bactrocera* ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนกันยายน 2553 โดยการใช้กับดักล่อแมลงวันผลไม้แบบ steiner ซึ่งประกอบด้วยสารล่อแมลงวันผลไม้ 3 ประเภท ได้แก่ cue lure, methyl eugenol และ lati lure พบแมลงวันเพศผู้เข้าติดกับดัก และสามารถจำแนกชนิดได้ 15 ชนิด *Bactrocera hochii* (Zia), *B. apicalis* (de Meijere), *B. diversa* (Coquillett), *B. isolata* Hardy, *B. tau* (Walker), *B. cucurbitae* (Coquillett), *B. umbrosa* (Fabricius), *B. zonata* (Saunders), *B. latifrons* (Hendel), *B. nigrotibilis* (Perkins), *B. correcta* (Bezzi), *B. tuberculata* (Bezzi), *B. dorsalis* (Hendel), *B. papayae* Drew & Hancock และ *B. carambolae* Drew & Hancock แมลงวันผลไม้ทั้งหมดสามารถจำแนกได้โดยดูจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา เช่น ส่วนหัว จุดสีดำใต้หนวด จำนวนขน inferior fronto-orbital และขน superior fronto-orbital สีของหนวดปล้องต่างๆ แถบสีบริเวณ

เส้นปีก สีของอก บริเวณ scutum และ scutellum อีกทั้งลักษณะของแถบสีเหลืองด้านบนของส่วนอก (yellow vittae) สีของส่วนท้องและขาส่วนต่างๆ จากการศึกษาครั้งนี้พบแมลงวันผลไม้อีกหนึ่งชนิดที่เพิ่งมีรายงานครั้งแรกในประเทศไทย แต่พบครั้งแรกในโลกที่ราชอาณาจักรภูฏาน เป็นแมลงวันผลไม้ชนิดใหม่ที่รอการตั้งชื่อวิทยาศาสตร์ เนื่องจากต้องมีการศึกษาชนิดพืชอาหาร และเขตการแพร่กระจายของแมลงวันผลไม้ในประเทศไทยซึ่งจะต้องดำเนินการต่อไป

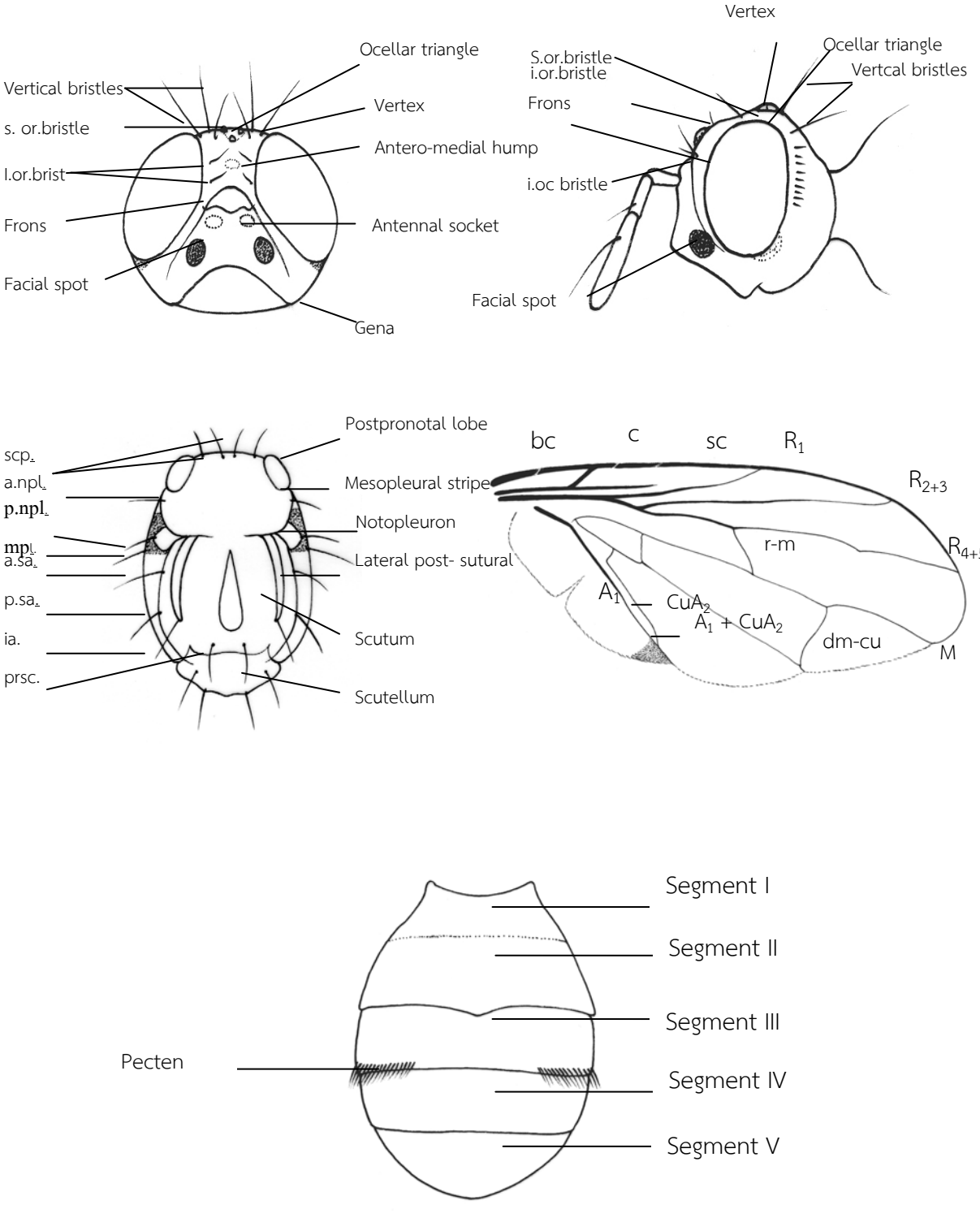
เอกสารอ้างอิง

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

Drew, R.A.I. and D.L. Hancock. 1994. The *Bactrocera dorsalis* complex of fruit flies (Diptera : Tephritidae : Dacidae) in Asia. Bulletin of Entomological Research Supplement Series. CAB International. Information Press. Eynsham, Oxford. UK. 68 p.

Ibrahim, R. and G.A. Ibrahim. 1990. Handbook on Identification of Fruit Flies in the Tropics. Universiti Pertanian Malaysia Press. Malaysia.199 p.

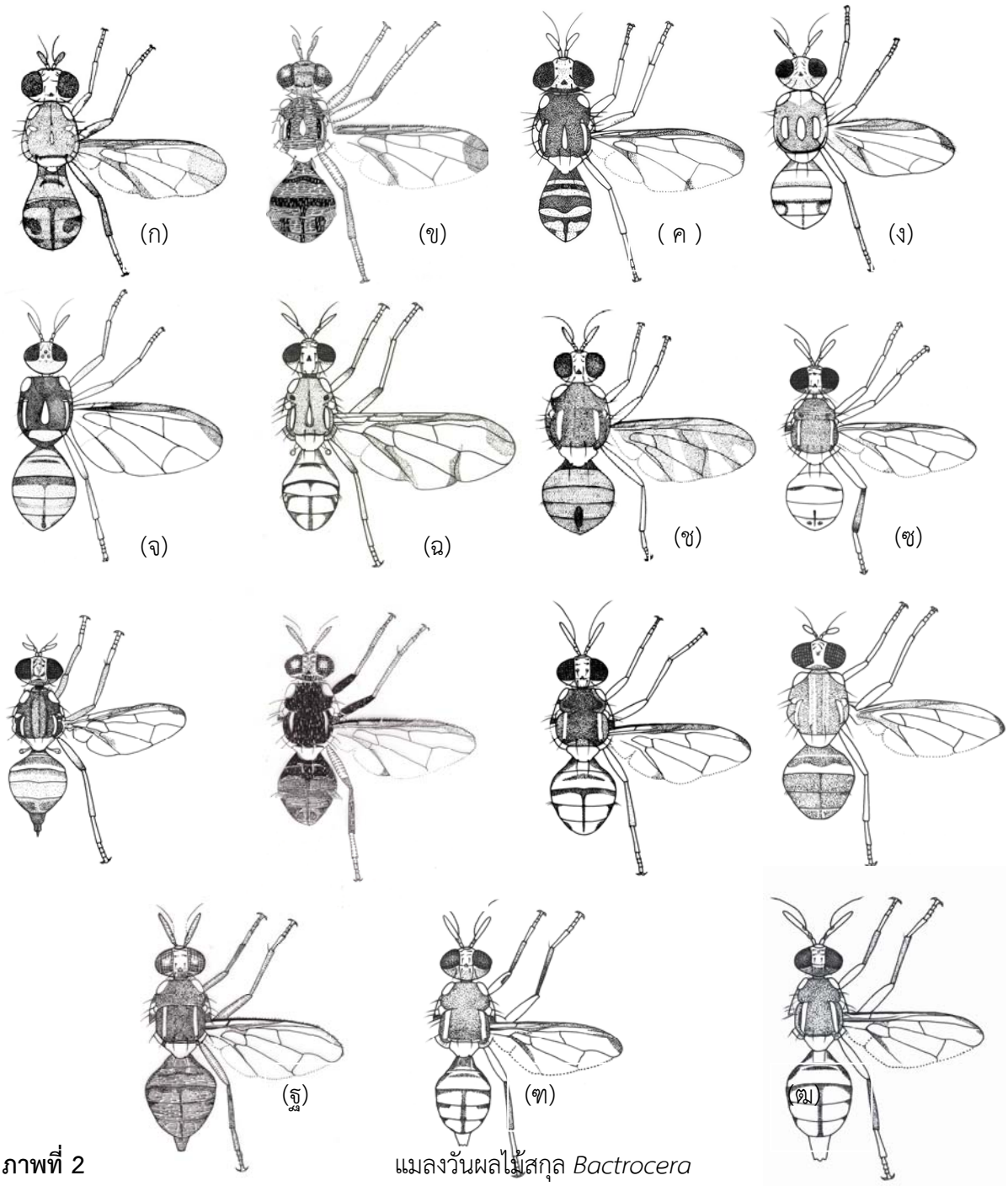
White, I. M. and M. M. Elson-Harris. 1992. Fruit Flies of Economics Significance: Their Identification an Bionomics. CAB International In Association with Aciar (Australian Centre for International Agricultural Research). Redwood Press Ltd. Melksham. UK. 601 p.



ภาพที่ 1 ลักษณะสัณฐานวิทยาของแมลงวันผลไม้สกุล *Bactrocera*

คำและความหมายเฉพาะ

ภาษาอังกฤษ	ภาษาไทย
Frons	พื้นที่ส่วนหน้าของหัว ด้านข้างเป็นตารวมและพื้นที่อยู่ระหว่างเดี่ยวที่เรียงกันเป็นสามเหลี่ยมอยู่ทางส่วนบนของหัว
Superior fronto-orbital bristles (s.or)	ขนคู่บนสุดทางด้านบนของ frons
Inferior fronto-orbital bristle (i.or)	ขนที่มี 2-3 คู่ อยู่ใต้ขน s.or
Facial spots	จุดสีเข้มที่อยู่ 2 ข้างหน้าใต้บริเวณหนวด
Scutellum	ส่วนที่เป็นสามเหลี่ยมที่แยกโดยรอยบุ๋มจากขอบด้านล่างของ mesonotum
Bristles-sc.	ขนบน scutellum มี 2 หรือ 4
Prsc-prescutellar bristles	เป็นขน 1 คู่ ทางด้านท้ายของ mesonotum แต่อยู่ทางด้านบนของ scutellum
p.s.a. (posterior supra-alar bristles)	ขน 1 คู่เหนือฐานปีกอยู่ทางด้านข้างตอนล่างของ mesonotum
a.s.a. (anterior supra- alar bristles)	ขนเหนือปีกตรงด้านข้างของ mesonotum
mpl. (mesopleural bristles)	ขนบริเวณอกด้านข้าง (mesopleuron) อยู่ใต้ notopleural callus
npl. (notopleural bristles)	ขนคู่ที่อยู่บริเวณอกด้านข้าง (notopleural area) ขน posterior notopleural จะอยู่ที่มุมสามเหลี่ยม notopleural callus และด้านบนของ notopleural bristle
scp. (scapular bristles)	ขน 4 เส้นบนขอบด้านบนของด้านอกปล้องกลาง
Mesopleural stripes	แถบสีเหลืองด้านข้างอก ปกคลุมขอบด้านข้างตอนล่างของ mesopleuron และขอบด้านบนของ pteropleuron
Lateral post-sutural vitta	แถบสีเหลืองทางด้านข้างของ mesonotum เริ่มจากด้านบนของ mesonotal suture จนถึงเหนือขน p.sa
Medial post-sutural vitta	แถบสีเหลืองตรงกลางของ mesonotum



ภาพที่ 2 แมลงวันผลไม้สกุล *Bactrocera*

(ก) *B. hochii* (Zia) (ข) *B. apicalis* de Meijere

(ค) *B. diversa* (Coquillett)

(ง) *B. isolata* Hardy (จ) *B. tau* (Walker) (ฉ) *B. cucurbitae* (Coquillent)

(ช) *B. umbrosa* (Fabricius) (ซ). *B.zonata* (Saunders)

(ฌ) *B. latifrons* (Hendel) (ญ) *B . nigrotibialis* (Perkins)

(ฎ) *B. correcta* (Bezzi) (ฏ) *B. tuberculata* (Bezzi)

(ฐ) *B .dorsalis* Hendel (ฑ) *B. carambolae* Drew & Hancock

(ฒ) *B . papayae* Drew & Hancock

2026

การศึกษาชนิดของแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์
Study on Rare and Endangered Insect Species

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

บทคัดย่อ

การสำรวจแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์จากบริเวณป่าที่ยังคงความอุดมสมบูรณ์ในประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนกันยายน 2553 การศึกษาครั้งนี้พบแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ 6 อันดับ 31 ชนิด คืออันดับ Lepidoptera 16 ชนิด ได้แก่ ผีเสื้อถุงทอง; *Troides aeacus* (C.& R.Felder) ผีเสื้อถุงทองป่าสูง; *Troides helena* Linnaeus ผีเสื้อหางติ่งปารีส; *Papilio paris paris* Linnaeus ผีเสื้อไกเซอร์สีน้ำเงิน; *Penthema darlisa* Moore ผีเสื้อหางติ่งมหาเทพ; *Papilio mahadeva* Moore ผีเสื้อปีค้างคาวพม่า; *Parides zaleucus* (Hewitson), ผีเสื้อโคคินัว; *Amathuxidia amythaon* Doubleday ผีเสื้อบารอนเขียวแดงธรรมดา; *Euthalia lubentina lubentina* (Cramer) ผีเสื้อใบไม้ใหญ่อินเดีย; *Kallima inachus* (Boisduval) ผีเสื้อจรวด; *Eudocima aurantia* (Moore) ผีเสื้อค้างคาว; *Lyssa zampa* Butler ผีเสื้อพราหมณ์; *Brahmaea wallichii wallichii* Gray ผีเสื้อยักษ์เอ็ดเวิด; *Archaeoattacus edwardsii* White ผีเสื้อตาเคียวปีกลายตรง; *Actias rhodopenuema* Rober ผีเสื้อสี่ตาปีกลายตรง (ผีเสื้อจันทรา); *Actias selene* Hübner และผีเสื้อตาเคียวปีกลายหยัก; *Actias maenas* Doubleday อันดับ Coleoptera 10 ชนิด ได้แก่ ด้วงดินปีกแผ่น; *Mormolyce phyllodes* Hagenbach ด้วงดินขอบชมพู; *Mouhotia bateii* Lewis ด้วงกว่างดาว; *Cheirotonus parryi* Gray หิ่งห้อยไดฟาเนส; *Diaphanes* sp. หิ่งห้อยยักษ์; *Lamprigera* sp. หิ่งห้อยเวสต้า; *Vesta saturnalis* Gorham แมลงทับนางพญาหัวทับทิม; *Chrysochroa bugueti rugicollis* Saunders แมลงทับนางพญาใหม่; *Megaloxantha mouhoti* (Saunders) หิ่งห้อยยักษ์เทียม; *Duliticola* sp. และด้วงคีมยีราฟ; *Prosopocoilus giraffe* Fabricius อันดับ Hemiptera 1 ชนิด ได้แก่ มวนเขา; *Amissus testaceus* Distant อันดับ Homoptera 1 ชนิดได้แก่ จักจั่นแม่ม่ายลองไน; *Tosena fasciata* (Fabricius) อันดับ Orthoptera 1 ชนิด ได้แก่ จิ้งหรีดเขา; *Paraloxoblemmus* sp. และอันดับ Hymenoptera พบ 2 ชนิด ได้แก่ ชันโรงเจ้าฟ้า; *Trigona sirindhornae* Michener & Boongird และแมลงภู่ *Xylocopa basalis* Smith

---

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-41-51

คำนำ

แมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ในความหมายของพิพิธภัณฑ์แมลง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร หมายถึง แมลงที่ได้สืบค้นจากตัวอย่างที่เก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยพิจารณาจากระยะเวลาที่จับได้ครั้งล่าสุดมานานกว่า 30 - 40 ปี ซึ่งตลอดระยะเวลาดังกล่าวสำรวจไม่พบแมลงชนิดนั้นหรือพบแต่มีจำนวนน้อยมาก (ไม่เกิน 10 ตัวอย่าง) รวมทั้งแมลงที่มีอยู่ในบัญชีรายชื่อในอนุสัญญา CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and 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 ได้ลดน้อยถอยลงอย่างรวดเร็วส่งผลกระทบต่อจำนวนสิ่งมีชีวิตทั้งพืชพันธุ์และสัตว์นานาชนิดที่พึ่งพิงอยู่ในสิ่งแวดล้อม รวมทั้ง “แมลง” สัตว์ที่มีปริมาณมากที่สุดในโลก ต่างก็ได้รับผลกระทบจากภาวะวิกฤตนี้เช่นกัน อีกทั้งแมลงยังถูกคุกคามจากการล่า-การค้า โดยเฉพาะแมลงที่มีรูปร่างแปลกตา สวยงามเป็นที่พึงประสงค์และแสวงหาเพื่อสะสมไว้เป็นสมบัติส่วนตัวหรือซื้อขายแลกเปลี่ยน จึงมีการล่าและจับกันมาก เกิดธุรกิจการค้าแมลงเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งส่งผลให้แมลงสวยงามที่เคยพบเห็นได้ง่ายๆ เปลี่ยนสถานภาพเป็นแมลง

หายากถึงหายากมาก และบางชนิดมีจำนวนน้อยอยู่แล้วในธรรมชาติ อาจสูญสิ้นเผ่าพันธุ์ ดังนั้นจึงต้องศึกษาถึงชนิดของแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ ทั้งนี้เพื่อจะได้นำข้อมูลไปใช้ในการประเมินสถาน ภาพของแมลงที่ได้ศึกษา รวมทั้งหาแนวทางเพื่อการอนุรักษ์แมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ให้สามารถดำรงอยู่ในธรรมชาติได้อย่างยั่งยืนตลอดไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างแมลงที่สวยงามและหายาก

2. อุปกรณ์เก็บและจัดรูปร่างแมลง ได้แก่ สวิง ขวดฆ่าแมลงที่บรรจุสารเอททิลอะซีเตท ขวดดองแมลง แอลกอฮอล์ 70-80% การบูร ปากคีบ ซองกระดาษสามเหลี่ยม กับดักแสงไฟ (Light trap) ถังแช่ตัวอย่างแมลง ไม้จัดรูปร่างตัวอย่างแมลง เข็มไร้สนิม ตู้อบตัวอย่างแมลง หีบไม้/ตู้เก็บตัวอย่างแมลง โหลชี้น

3. อุปกรณ์ในการตรวจวิเคราะห์ชนิดแมลง กล้องถ่ายภาพ กล้องจุลทรรศน์ชนิด Stereo microscope และชนิด Compound microscope

วิธีการ

1. รวบรวมตัวอย่างแมลงจากแหล่งที่มีลักษณะเป็นป่าและมีความอุดมสมบูรณ์ โดยวิธีการดังนี้

1.1 ใช้สวิงโฉบ เช่น แมลงจำพวกผีเสื้อ ด้วง ผึ้ง ต่อ แตน เป็นต้น นำแมลงที่จับได้ใส่ลงในขวดฆ่าแมลง

1.2 ใช้มือจับ เช่น หนอนแมลงชนิดต่างๆ ด้วงที่มีขนาดเล็ก เป็นต้น ดองในขวดดองที่บรรจุแอลกอฮอล์ 70-80%

1.3 ใช้กับดักแสงไฟ เพื่อดักจับแมลงที่ออกหากินในเวลากลางคืน ฆ่าโดยใช้ขวดฆ่าแมลง

2. ถ่ายภาพพร้อมบันทึกข้อมูลสถานที่ วัน เดือน ปี ชื่อผู้เก็บตัวอย่าง

3. นำตัวอย่างแมลงที่อยู่ในระยะหนอนหรือตัวอ่อนไปเลี้ยงจนเป็นตัวเต็มวัย ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ได้ทดลองเลี้ยงผีเสื้อถุงทองและผีเสื้อจันทรา โดยให้กระเช้าสีดาเป็นอาหารของผีเสื้อถุงทอง ส่วนผีเสื้อจันทราให้ใบเสลาเป็นอาหาร

4. ปล่อยแมลงส่วนหนึ่งที่เลี้ยงได้คืนสู่ธรรมชาติ

5. นำแมลงที่รวบรวมได้รวมทั้งแมลงที่เลี้ยงไปจัดรูปร่างและอบให้แห้งตามวิธีการของ Poonchaisri (2004) และตรวจวิเคราะห์ชนิดตามหลักการของอนุกรมวิธานของแมลงแต่ละชนิด โดยใช้เอกสารของ จารุจินต์และเกรียงไกร (2544), องุ่น (2540), องุ่น และ สุระ (2543), Holloway (2530), Wong (2539) และ Michener and Boongird (2004) ประกอบในการตรวจวิเคราะห์ชนิด

6. บันทึกรายละเอียดหลังการจำแนกชนิดบนแผ่นป้ายบันทึกกำกับตัวอย่างแมลงแต่ละตัว ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ วัน เดือน ปี สถานที่และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง พร้อมทั้งบันทึกรายละเอียดข้อมูลสำคัญของแมลงและชนิดพืชที่พบตัวอย่าง ถ่ายภาพแมลงที่ได้ศึกษา

7. นำข้อมูลและตัวอย่างแมลงที่บันทึกได้เปรียบเทียบกับข้อมูลและตัวอย่างซึ่งอยู่ในบัญชีรายชื่อแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร รวมทั้งตรวจสอบจำนวนทั้งหมดที่มีอยู่เดิมในพิพิธภัณฑ์แมลง ปีที่จับได้ครั้งสุดท้าย

8. นำตัวอย่างที่ศึกษาแล้ว เก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์แมลง โดยนำตัวอย่างแมลงจัดใส่กล่อง เก็บเรียงในลิ้นชักและเรียงตามลำดับอักษรภาษาอังกฤษ ใส่การบูรทุก 1-2 เดือน เพื่อป้องกันแมลงขนาดเล็กที่สามารถเข้าทำลายตัวอย่างแมลงทั้งในหีบไม้และลิ้นชักของแต่ละตู้

เวลาสถานที่

ระยะเวลา **เริ่มต้น** เดือนตุลาคม 2548 **สิ้นสุด** ถึงเดือนกันยายน 2553

สถานที่ 1. ป่าที่คงความอุดมสมบูรณ์ในจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย แม่ฮ่องสอน ลำปาง แพร่ น่าน ตาก ตรัง สุราษฎร์ธานี พัทลุง ชุมพร ระนอง ลพบุรี สระบุรี นครราชสีมา กาฬสินธุ์ อุดรธานี หนองคาย ชัยภูมิ เลย สุรินทร์ ศรีสะเกษ อุบลราชธานี สกลนคร มุกดาหาร เพชรบุรี กาญจนบุรี สุพรรณบุรี สระแก้ว ตราด จันทบุรี

2. ห้องปฏิบัติงานกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การสำรวจแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ จากบริเวณป่าที่ยังคงความอุดมสมบูรณ์ในประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนกันยายน 2553 นำกลับไปตรวจวิเคราะห์ชนิดตามหลักอนุกรมวิธาน รวมทั้งศึกษาจากตัวอย่างแมลงที่มีในพิพิธภัณฑ์ ที่กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร นำข้อมูลและตัวอย่างแมลงที่พบเปรียบเทียบกับข้อมูลและตัวอย่างที่มีอยู่ในบัญชีรายชื่อแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร ตลอดจนตรวจสอบจำนวนทั้งหมดที่มีอยู่เดิมในพิพิธภัณฑ์แมลง ปีที่จับได้ครั้งสุดท้าย การศึกษาครั้งนี้พบแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ 6 อันดับ 31 ชนิด ดังต่อไปนี้(ภาพที่ 1)

เดือนตุลาคม 2548 - เดือนกันยายน 2549

1. อันดับ Lepidoptera พบแมลงในอันดับนี้ 3 ชนิด ซึ่งเป็นผีเสื้อกลางวัน (Butterfly) 2 วงศ์ (Family) ได้แก่

วงศ์ Papilionidae

ผีเสื้อถุงทอง : Golden Birdwing; *Troides aeacus* (C.&R. Felder)

สถานที่พบ : อำเภอสันป่าตอง จังหวัดเชียงใหม่ สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา

ผีเสื้อหางติ่งปารีส: Paris Peacock; *Papilio paris paris* Linnaeus

สถานที่พบ : สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา

วงศ์ Nymphalidae

ผีเสื้อไกเซอร์สีน้ำเงิน: Blue Kaiser; *Penthema darlisa* Moore

สถานที่พบ : อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่

2. อันดับ Coleoptera พบแมลงในอันดับนี้ 5 ชนิด 4 วงศ์ ได้แก่

วงศ์ Carabidae

ด้วงดินปีกแผ่น : Violin Beetle; *Mormolyce phyllodes* Hagenbach

สถานที่พบ : อำเภอนาโยง จังหวัดตรัง

วงศ์ Lampyridae

หิ่งห้อยไดฟาเนส : Diaphanes Firefly; *Diaphanes* sp.

สถานที่พบ : อำเภอชัยบาดาล จังหวัดลพบุรี

หิ่งห้อยยักษ์ : หิ่งห้อยช้าง: Giant Firefly; *Lamprigera* sp.

สถานที่พบ : อำเภอเมือง จังหวัดตรัง

วงศ์ Buprestidae

แมลงทับนางพญาหัวทับทิม: Jewel Beetle; *Chrysochroa bugueti rugicollis* Saunders

สถานที่พบ : อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่

วงศ์ Lycidae

หิ่งห้อยยักษ์เทียม: Trilobite Beetle; *Duliticola* sp.

สถานที่พบ : อำเภอนาโยง จังหวัดตรัง

เดือนตุลาคม 2549 - เดือนกันยายน 2550

1. อันดับ Lepidoptera พบแมลงในอันดับนี้ 8 ชนิด 5 วงศ์ ซึ่งเป็น

1.1 ผีเสื้อกลางวัน (Butterfly) จำนวน 3 ชนิด 2 วงศ์ ได้แก่

วงศ์ Papilionidae

ผีเสื้อถุงทอง : Golden Birdwing; *Troides aeacus* (C. & R. Felder)

สถานที่พบ : อำเภอสันป่าตอง จังหวัดเชียงใหม่ อำเภอเมือง จังหวัดชัยภูมิ

ผีเสื้อหางติ่งปารีส: Paris Peacock; *Papilio paris paris* Linnaeus

สถานที่พบ : อำเภอแก่งกระจานจังหวัดเพชรบุรี สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา

วงศ์ Nymphalidae

ผีเสื้อโคคินัว : Koh-i-noor Butterfly; *Amathuxidia amythaon* Doubleday

สถานที่พบ : อำเภอแก่งกระจาน จังหวัดเพชรบุรี

1.2 ผีเสื้อกลางคืน (Moth) จำนวน 5 ชนิด 3 วงศ์ ได้แก่

วงศ์ Saturniidae

ผีเสื้อยักษ์เอ็ดเวิด: Edward Giant Moth; *Archaeoattacus edwardsii* White

สถานที่พบ : อำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี

ผีเสื้อตาเคียวปีกลายหยัก: Luna Moth; *Actias maenas* Doubleday

สถานที่พบ : อำเภอวังชิ้น จังหวัดแพร่

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

สถานที่พบ : อำเภอวังชิ้น จังหวัดแพร่

วงศ์ Brahmaeidae

ผีเสื้อพราหมณ์ : Brahma Moth; *Brahmaea wallichii wallichii* Gray

สถานที่พบ : สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา

วงศ์ Uraniidae

ผีเสื้อค้างคาว : Giant Uranid Moth; *Lyssa zampa* Butler

สถานที่พบ : อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่

2. อันดับ Coleoptera พบแมลงในอันดับนี้ 2 ชนิด 2 วงศ์ ได้แก่

วงศ์ Carabidae

ด้วงดินขอบชมพู : Pink-edge Ground Beetle; *Mouhotia batesi* Lewis

สถานที่พบ : สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา

วงศ์ Buprestidae

แมลงทับนางพญาใหม่: Jewel Beetle; *Megaloxantha mouhoti* (Saunders)

สถานที่พบ : สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา

3. อันดับ Hemiptera พบแมลงในอันดับนี้ 1 ชนิด 1 วงศ์ ได้แก่

วงศ์ Pentatomidae

มวนเขา : Horn Bug; *Amissus testaceus* Distant

สถานที่พบ : อำเภอนาโยง จังหวัดตรัง

4. อันดับ Homoptera พบแมลงในอันดับนี้ 1 ชนิด 1 วงศ์ ได้แก่

วงศ์ Cicadidae

จักจั่นแม่ม่ายลองไน: Giant Cicada; *Tosena fasciata* (Fabricius)

สถานที่พบ : อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่

เดือนตุลาคม 2550 - เดือนกันยายน 2551

1. อันดับ Lepidoptera พบแมลงในอันดับนี้ 6 ชนิด 3 วงศ์ แบ่งเป็น

1.1 ผีเสื้อกลางวัน จำนวน 3 ชนิด 1 วงศ์ ได้แก่

วงศ์ Papilionidae

ผีเสื้อถุงทอง : Golden Birdwing; *Troides aeacus* (C.&R. Felder)

สถานที่พบ : อำเภอเมือง จังหวัดชัยภูมิ อำเภอแก่งกระจาน จังหวัดเพชรบุรี

ผีเสื้อหางติ่งปารีส: Paris Peacock; *Papilio paris paris* Linnaeus

สถานที่พบ : อำเภอแก่งกระจานจังหวัดเพชรบุรี สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา

ผีเสื้อหางติ่งมหาเทพ: Burmese Raven; *Papilio mahadeva* Moore

สถานที่พบ : อำเภอแก่งกระจาน จังหวัดเพชรบุรี

1.2 ผีเสื้อกลางคืน จำนวน 2 ชนิด 2 วงศ์ ได้แก่

วงศ์ Saturniidae

ผีเสื้อตาเคียวปีกลายหยัก: Luna Moth; *Actias maenas* Doubleday

สถานที่พบ : อำเภอวังชิ้น จังหวัดแพร่

วงศ์ Uraniidae

ผีเสื้อค้างคาว : Giant Uranid Moth; *Lyssa zampa* Butler

สถานที่พบ : อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่

2. อันดับ Coleoptera พบแมลงในอันดับนี้ 3 ชนิด 3 วงศ์ ได้แก่

วงศ์ Scarabaeidae

ด้วงกว่างดาว : Parryi Beetle; *Cheirotonus parryi* Gray

สถานที่พบ : อำเภอคอนสาร จังหวัดชัยภูมิ

วงศ์ Lycidae

หิ่งห้อยยักษ์เทียม: Trilobite Beetle; *Duliticola* sp.

สถานที่พบ : อำเภอนาโยง จังหวัดตรัง

วงศ์ Lampyridae

หิ่งห้อยเวสต้า : Vesta Firefly; *Vesta asturnalis Gorhom*

สถานที่พบ : อำเภอวังชิ้น จังหวัดแพร่

3. อันดับ Orthoptera พบแมลงในอันดับนี้ 1 ชนิด 1 วงศ์ ได้แก่

วงศ์ Gryllidae

จิ้งหรีดเขา : Horn Cricket; *Paraloxoblemmus* sp.

สถานที่พบ : อำเภอสองพี่น้อง จังหวัดสุพรรณบุรี

4. อันดับ Hymenoptera พบแมลงในอันดับนี้ 1 ชนิด 1 วงศ์ ได้แก่

วงศ์ Apidae

ชันโรงเจ้าฟ้า : Princess Stingless Bee; *Trigona sirindhornae* Michener & Boongird

สถานที่พบ : อำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี

เดือนตุลาคม 2551 - เดือนกันยายน 2552 (13 ชนิด)

1. อันดับ Lepidoptera พบแมลงในกลุ่มผีเสื้อ 9 ชนิด 6 วงศ์ แบ่งเป็น

1.1 ผีเสื้อกลางวัน (butterfly) จำนวน 2 ชนิด 1 วงศ์ (family)

วงศ์ Papilionidae

ผีเสื้อหางติ่งปารีส: *Papilio paris paris* Linnaeus (Godfrey, 1927)

สถานที่พบ : อำเภอสาวไห้ จังหวัดสระบุรี

วงศ์ Nymphalidae

ผีเสื้อโคคินัว : Koh-i-noor Butterfly; *Amathuxidia amythaon* Doubleday

สถานที่พบ : อำเภอนาโยง จังหวัดตรัง

2.2 ผีเสื้อกลางคืน (moth) จำนวน 6 ชนิด 2 วงศ์ ได้แก่

วงศ์ Saturniidae

ผีเสื้อยักษ์เอ็ดเวิด: Edward Giant Moth; *Archaeoattacus edwardsii* White

สถานที่พบ : อำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี

ผีเสื้อตาเคียวปีกลายหยัก: *Actias maenas* (Pinratna and Lampe)

สถานที่พบ : อำเภอวังชิ้น จังหวัดตาก

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

สถานที่พบ : อำเภอวังชิ้น จังหวัดแพร่

วงศ์ Uraniidae

ผีเสื้อค้างคาว : *Lyssa zampa* Butler (Hampson, 1892)

สถานที่พบ : อำเภอเมือง จังหวัดกาฬสินธุ์

วงศ์ Brahmaeidae

ผีเสื้อพราหมณ์ : Brahma Moth; *Brahmaea wallichii wallichii* Gray

สถานที่พบ : อำเภอเมือง จังหวัดระนอง

วงศ์ Noctuidae

ผีเสื้อจรวด : *Eudocima aurantia* (Moore)

สถานที่พบ : อำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี

2. อันดับ Coleoptera พบแมลงในกลุ่มด้วง 3 ชนิด แบ่งเป็น

วงศ์ Carabidae

ด้วงดินปีกแผ่น : Violin Beetle; *Mormolyce phyllodes* Hagenbach

สถานที่พบ : อำเภอนาโยง จังหวัดตรัง

วงศ์ Lycidae

หิ่งห้อยเทียม : *Duliticola* sp.

สถานที่พบ : อำเภอเมือง จังหวัดตรัง

วงศ์ Lymphylidae

หิ่งห้อย : *Lamprigera* sp.

สถานที่พบ : อำเภอเมือง จังหวัดตรัง

3. อันดับ Hymenoptera

วงศ์ Apidae

แมลงภู่ : *Xylocopa basalis* Smith

สถานที่พบ : อำเภอเมือง จังหวัดศรีษะเกษ จำนวนที่สำรวจพบ 5 ตัวอย่าง

เดือนตุลาคม 2552 - เดือนกันยายน 2553 (13 ชนิด)

1. อันดับ Lepidoptera พบแมลงในกลุ่มผีเสื้อ จำนวน 9 ชนิด 5 วงศ์ แบ่งเป็น

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

วงศ์ Papilionidae

ผีเสื้อถุงทองป่าสูง: Golden Birdwing; *Troides helena* (Linnaeus)

สถานที่พบ : อำเภอเมือง จังหวัดพัทลุง

ผีเสื้อปีกค้างคาวพม่า: The Burmese Batwing; *Parides zaleucus* (Hewitson)

สถานที่พบ : อำเภอเมือง จังหวัดตาก

วงศ์ Nymphalidae

ผีเสื้อใบไม้ใหญ่อินเดีย: Orange Oakleaf; *Kallima inachus* (Boiaduval, 1846)

สถานที่พบ : อำเภอเมือง จังหวัดเลย อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์

ผีเสื้อบารอนเขียวแดงธรรมดา: The Common Gaudy Baron; *Euthalia lubentina* lubentina (Cramer)

สถานที่พบ : อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่

1.2 ผีเสื้อกลางคืน (moth) จำนวน 5 ชนิด 3 วงศ์ ได้แก่

วงศ์ Saturniidae

ผีเสื้อยักษ์เอ็ดเวิด: Edward Giant Moth; *Archaeoattacus edwardsii* White

สถานที่พบ : อำเภอนครไทย พิษณุโลก

ผีเสื้อตาเคียวปีกลายตรง *rhodopenuema* Rober

สถานที่พบ : อำเภอปัว จังหวัดน่าน

ผีเสื้อตาเคียวปีกลายหยัก: Luna Moth ; *Actias maenas* Doubleday

วงศ์ Uraniidae

ผีเสื้อค้างคาว : Giant Uranid Moth; *Lyssa zampa* Butler (Hampson, 1892)

สถานที่พบ : อำเภอนครไทย พิษณุโลก

วงศ์ Brahmaeidae

ผีเสื้อพราหมณ์ : Brahma Moth; *Brahmaea wallichii wallichii* Gray

สถานที่พบ : อำเภอนครไทย พิษณุโลก

2. อันดับ Coleoptera พบแมลงในกลุ่มด้วง จำนวน 5 ชนิด 4 วงศ์ แบ่งเป็น

วงศ์ Scarabaeidae

ด้วงกว่างดาว : Parryi Beetle; *Cheirotonus parryi* Gray

สถานที่พบ : อำเภอนครไทย พิษณุโลก

วงศ์ Lycidae

หิ่งห้อยยักษ์เทียม: Trilobite Beetle; *Duliticola* sp.

สถานที่พบ : อำเภอนาโยง จังหวัดตรัง

วงศ์ Lampyridae

หิ่งห้อยเวสต้า : Vesta Firefly; *Vesta saturnalis* Gorham

สถานที่พบ : อำเภอแม่แตง เชียงใหม่ อำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์

หิ่งห้อย : Giant Firefly; *Lamprigera* sp.

สถานที่พบ : อำเภอน้ำหนาว จังหวัดเพชรบูรณ์

วงศ์ Lucanidae

ด้วงคีมยีราฟ : Giraffe Stag Beetle ; *Prosopocoilus giraffe* Fabricius

สถานที่พบ : อำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์

การศึกษาแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ครั้งนี้ ถึงแม้จะได้ไปสำรวจยังเขตป่าไม้ที่มีความอุดมสมบูรณ์ในจังหวัดต่างๆ และพบแมลงกลุ่มนี้ทั้งหมด 31 ชนิด แต่พบว่าเป็นแมลงชนิดเดียวกับที่มีรายงานไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร เพียง 8 ชนิด ได้แก่ ผีเสื้อถุงทอง ผีเสื้อหางติ่งปารีส ผีเสื้อค้างคาว ผีเสื้อจันทรา ผีเสื้อหางยาวตาเคียวปีกลายหยัก ด้วงดินขอบชมพู ด้วงไวโอลิน และด้วงกว่างดาว ทั้งนี้อาจเป็นเพราะสภาพแวดล้อมของป่าได้เปลี่ยนแปลงไป ทั้งถูกไฟป่าเผาไหม้ทำลายทำให้พืชอาหารถูกทำลายหมดไปด้วย แมลงที่กินพืชอาหารเฉพาะเจาะจงและไม่สามารถปรับเปลี่ยนไปกินพืชอื่นได้ก็จะตายหรือสูญพันธุ์ มีรายงานว่าผีเสื้อบางชนิดอาจจะสูญพันธุ์แล้ว ได้แก่

ผีเสื้อฐานหรือผีเสื้อสมิงเชียงดาว (จารุจินต์และเกรียงไกร, 2544) นอกจากนี้ยังเกิดจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศของโลกซึ่งย่อมต้องมีผลต่อชนิดและปริมาณของแมลง

การศึกษาครั้งนี้นอกจากจะพบแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ 31 ชนิด ยังสามารถเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณได้ 2 ชนิด ได้แก่ ผีเสื้อถุงทองและผีเสื้อจันทรา เนื่องจากสามารถสืบค้นรวมทั้งพบหนอนของผีเสื้อดังกล่าวกำลังกัดกินพืชอาหาร จึงได้นำหนอนมาเลี้ยงกับพืชอาหารที่ได้พบ โดยผีเสื้อถุงทองได้นำมาเลี้ยงกับต้นกระเช้าสีดาและกระเช้าผีมด ส่วนผีเสื้อจันทราเลี้ยงด้วยใบเสลา เมื่อเลี้ยงจนเป็นตัวเต็มวัยได้แบ่งส่วนหนึ่งปล่อยคืนสู่ธรรมชาติ และสรุปวงจรชีวิตได้ดังนี้

ผีเสื้อถุงทองเพศเมียวางไข่ฟองเดี่ยวๆ ทั้งด้านใต้ใบและบนใบรวมทั้งยอดอ่อน ไข่มีลักษณะทรงกลมสีเหลืองอมส้ม วงจรชีวิตจากไข่ถึงตัวเต็มวัย 41-56 วัน โดยมีระยะไข่ 7-10 วัน จึงฟักเป็นตัวหนอน ตัวหนอนวัยแรกมีสีน้ำตาลอ่อนสลับลายสีดำมีแถบสีน้ำตาลอ่อนพาดทแยงด้านข้างของปล้องท้อง ระยะนี้ใช้เวลา 3 วัน จึงลอกคราบเข้าสู่ตัวหนอนวัย 2 และ 3 ซึ่งใช้เวลาแต่ละวัย 2-3 วัน ตัวหนอนวัย 4 จะมีขนาดใหญ่ขึ้น ใช้เวลา 4-5 วัน จึงเข้าสู่วัย 5 ระยะนี้ตัวหนอนจะกินจุ โตเร็ว ระยะนี้ใช้เวลา 4-5 วัน จากนั้นจะไม่กินอาหารเพื่อเตรียมตัวเข้าดักแด้ ดักแด้มีลักษณะเป็นรังไหมสีน้ำตาลอ่อน ระยะดักแด้ 21-30 วัน จึงออกมาเป็นตัวเต็มวัย โดยเพศผู้มีอายุ 5-7 วัน ส่วนเพศเมีย มีอายุ 8-10 วัน ลักษณะแต่ละระยะของผีเสื้อถุงทองดูจากภาพที่ 2

ผีเสื้อจันทราเพศเมียวางไข่เป็นกลุ่ม ทั้งด้านใต้ใบและบนใบรวมทั้งยอดอ่อนไข่มีลักษณะกลมสีขาวนวล วงจรชีวิตจากไข่ถึงตัวเต็มวัย 71-115 วัน โดยมีระยะไข่ 7-10 วัน จึงฟักเป็นตัวหนอน ตัวหนอนวัยแรกมีสีส้ม และมีแถบสีดำบริเวณกลางลำตัว ระยะนี้ใช้เวลา 9-13 วัน จึงลอกคราบเข้าสู่ตัวหนอนวัย 2 ซึ่งมีลำตัวสีเขียวอมเหลืองใช้เวลา 5-8 วัน จึงลอกคราบเป็นตัวหนอนวัย 3 ลำตัวสีเขียวสดและมีขนาดใหญ่ขึ้น ตัวหนอนวัยนี้ใช้เวลา 5-9 วัน จึงเข้าสู่วัย 4, 5 และ 6 ซึ่งใช้เวลาในแต่ละวัย 7-13, 8-11 และ10-21 วัน ตามลำดับ เมื่อเข้าสู่ระยะดักแด้ตัวหนอนจะหยุดกินอาหาร ดักแด้มีลักษณะเป็นรังไหมสีน้ำตาลอ่อนยึดติดแน่นกับใบไม้กิ่งไม้ ระยะดักแด้ 20-30 วัน จึงออกมาเป็นตัวเต็มวัย โดยเพศผู้มีอายุ 1-8 วัน ส่วนเพศเมีย มีอายุ 6-11 วัน ลักษณะแต่ละระยะของผีเสื้อจันทราดูจากภาพที่ 3

สิ่งที่น่าสังเกตจากการศึกษาเรื่องการเพาะเลี้ยงพบว่าแมลงเหล่านี้ส่วนมากอาศัยอยู่ในป่าลึก แต่หากรู้จักพืชอาหารก็สามารถนำมาเพาะเลี้ยงได้ง่าย โดยเฉพาะแมลงที่มีพืชอาหารหลากหลายชนิด เช่น ผีเสื้อจันทรา นอกจากจะพบว่ากินใบเสลาแล้ว ยังสามารถเพาะเลี้ยงได้ด้วย ใบอินทนิล ใบตะแบก (นิพันธุ์และลักขณา, 2527) ผีเสื้อบางชนิด เช่น ผีเสื้อถุงทอง เป็นผีเสื้อที่พบเห็นได้เสมอ แต่ก็จัดอยู่ในกลุ่มแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ เพราะเป็นผีเสื้อที่มีพืชอาหารเฉพาะเจาะจง กินเฉพาะใบกระเช้าสีดาและกระเช้าผีมดเท่านั้น และพืชทั้งสองชนิด เป็นพืชฤดูเดียว เจริญเติบโตได้ดีในฤดูฝน หลังจากนั้นกิ่งจะฟุบหมดไป เหลือหัวซึ่งเป็นลำต้นอยู่ใต้ดิน รอเวลาสภาพภูมิอากาศที่เหมาะสมจึงจะเจริญเติบโตขึ้นมาใหม่ ทำให้ช่วงนั้นพบผีเสื้อถุงทองน้อยมากเนื่องจากไม่มีอาการกิน ดังนั้นการศึกษาเฉพาะชนิดแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ ยังไม่เป็นการศึกษาที่สมบูรณ์เพียงพอ ที่จะช่วยฟื้นฟูสภาพ

แวดล้อมและจำนวนของแมลงเหล่านั้น จำเป็นต้องมีการศึกษาถึงชนิดพืชอาหารควบคู่ไปด้วย โดยเฉพาะอย่างยิ่งต้องศึกษาจนสามารถเพาะเลี้ยงได้ และปล่อยคืนสู่ธรรมชาติเป็นผลสำเร็จ

สรุปผลการทดลองและคำเสนอแนะ

การศึกษาชนิดแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึง เดือนกันยายน 2553 โดยการสำรวจและรวบรวมแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์จากป่าธรรมชาติที่มีความอุดมสมบูรณ์ นำตัวอย่างทั้งหมดที่รวบรวมได้ไปตรวจวิเคราะห์ชนิดตามหลักอนุกรมวิธาน พร้อมทั้งศึกษาจากตัวอย่างแมลงที่มีในพิพิธภัณฑ์แมลงและเอกสารที่เกี่ยวข้อง พบแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ 6 อันดับ 31 ชนิด ได้แก่ อันดับ Lepidoptera 16 ชนิด (วงศ์ Papilionidae, Nymphalidae, Saturniidae, Uraniidae และ Brahmaeidae) อันดับ Coleoptera 10 ชนิด(วงศ์ Carabidae, Scarabaeidae, Lampylidae, Buprestidae Lucanidae และ Lycidae) อันดับ Hemiptera 1 ชนิด (วงศ์ Pentatomidae) อันดับ Homoptera 1 ชนิด (วงศ์ Cicadidae) อันดับ Orthoptera 1 ชนิด (วงศ์ Gryllidae) และอันดับ Hymenoptera 2 ชนิด (วงศ์ Apidae) และพบว่าจิ้งหรีดเขา; *Paraloxoblemmus* sp. และหิ่งห้อยยักษ์เทียม; *Duliticola* sp. เป็นแมลงที่พบใหม่ของประเทศไทย นอกจากนี้ยังได้เพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณผีเสื้อถุงทองและผีเสื้อจันทราเป็นผลสำเร็จ พร้อมทั้งปล่อยคืนสู่ธรรมชาติ

การศึกษาแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ นอกจากจะมีประโยชน์อย่างมาก ต่อการประเมินสถานภาพของแมลงที่พบ และเป็นโอกาสให้ผู้วิจัยได้ค้นหาพืชอาหาร เพื่อที่จะสามารถนำมาเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณและปล่อยคืนสู่ธรรมชาติ ข้อมูลทั้งหมดที่ได้ยังเป็นประโยชน์ในการจัดทำฐานข้อมูลทรัพยากรพันธุกรรมของแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ในประเทศไทย เพื่อเป็นแหล่งสืบค้นของนักวิชาการ นักเรียน นักศึกษาและบุคคลทั่วไป อีกทั้งเป็นข้อมูลสนับสนุน / ยืนยัน / เพิ่มเติม ในการจัดทำบัญชีรายชื่อแมลงอนุรักษ์ของประเทศไทย ตามบัญชีรายชื่ออนุสัญญา CITES ดังนั้น ควรมีการศึกษาวิจัยในเรื่องนี้อย่างจริงจังและต่อเนื่องไม่มีวันสิ้นสุด หากต้องการที่จะฟื้นฟู ปรับปรุงสภาพแวดล้อมให้เหมาะสมกับแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ชนิดต่างๆ อันจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งทั้งทางตรงและทางอ้อม ในการอนุรักษ์ทรัพยากรพันธุกรรมแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ให้คงอยู่ในธรรมชาติอย่างสมดุลและยั่งยืนตลอดไป

เอกสารอ้างอิง

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

นิพันธุ์ รัตนวรพันธุ์ และ ลักขณา ปาการเสรี. 2527. ผีเสื้อแสนสวย. ชุดความรู้ไทย ลำดับที่ 3012. องค์การค้าของคุรุสภา, กรุงเทพฯ.

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

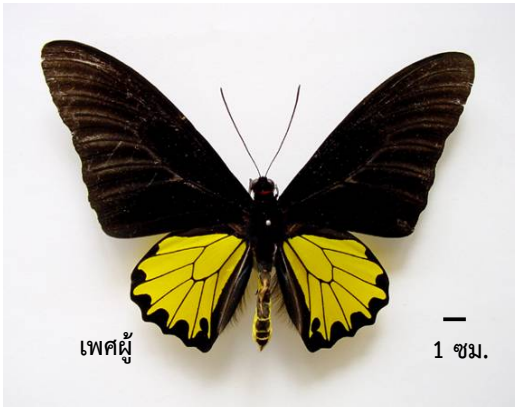
องุ่น ลิ่ววานิช และ สุระ พิมพะสาลี. 2543. แมลงอนุรักษ์. เอกสารวิชาการแผ่นพับ. พิมพ์ครั้งที่ 2. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

Hollaway, J. D. 2530. The Moth of Borneo. United Selangor Press Sdn., Bhd., Kuala Lampur, Malaysia.

Michener, C.D. and S. Boongird. 2004. A New Species of *Trigona* from Peninsular Thailand (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). *J. Kansas. Entomol.* Soc. 77(2): 143-146.

Poonchaisri, S. 2004. Preserving Insect Specimens for Research. The Agriculture Co-operative Federation of Thailand Limited, Bangkok.

Wong, A. T. C. 2539. 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.

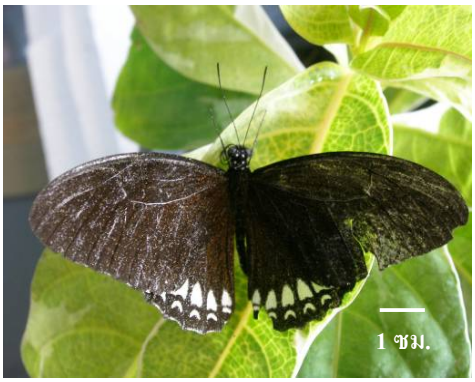


Troides aeacus (C.&R. Felder)
ผีเสื้อถุงทอง (Golden Birdwing)

Troides helena innaeus
ผีเสื้อถุงทองป่าสูง (Golden Birdwing)

Papilio paris paris Linnaeus
ผีเสื้อหางติ่งปารีส (Paris Peacock)

Penthema darlisa Moore
ผีเสื้อไกเซอร์สีน้ำเงิน (Blue Kaiser)



Papilio mahadeva Moore
ผีเสื้อหางติ่งมหาเทพ (Burmese Raven)

ภาพที่ 1 ชนิดแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์

Parides zaleucus (Hewitson)
ผีเสื้อปีกค้างคาวพม่า (Burmese Batwing)

Amathuxidia amythaon Doubleday
ผีเสื้อโคคินัว (Koh-i-noor)

Euthalia lubentina (Cramer)
ผีเสื้อบอรอนเขียวแดงธรรมดา (Gaudy Baron)

Kallima inachus Boisduval
ผีเสื้อใบไม้ใหญ่อินเดีย (Orange Oakleaf)

E

a

Eudocima aurantia (Moore)
ผีเสื้อมวนหวานใบไม้ (Fruit sucking moth)

ภาพที่ 1 (ต่อ)

Lyssa zampa Butler

ผีเสื้อค้างคาว (Giant Uranid Moth)

Brahmaea wallichii wallichii Gray

ผีเสื้อพราหมณ์ (Brahma Moth)

Archaeoattacus edwardsii White

ผีเสื้อยักษ์เอ็ดเวิด (Edwards Giant Moth)

Actias rhodopneuma Rober

ผีเสื้อตาเคียวปีกลายตรง (Luna Moth)

Actias selene Hübner

ผีเสื้อจันทรา (Luna Moth)

ภาพที่ 1 (ต่อ)

Actias maenas Doubleday

ผีเสื้อตาเคียวปีกลายหยัก (Luna Moth)

Momorlyce phyllodes Hagenbach

ด้วงดินปีกแผ่น (Violin Beetle)

Mouhotia batesi Lewis

ด้วงดินขอบชมพู (Pink-edge Ground) Beetle

Cheirotonus parryi Gray

ด้วงกว่างดาว (Parryi Beetle)

Diaphanes sp.

หิ่งห้อยไดฟาเนส (Diaphanes Firefly)

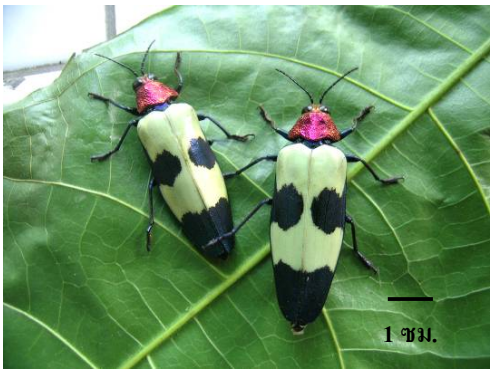
ภาพที่ 1 (ต่อ)

Lamprigera sp.

หิ่งห้อยยักษ์ (Giant Firefly)

Vesta saturnalis Gorham

หิ่งห้อยเวสต้า (Vesta Firefly)



Chrysochroa bugueti rugicollis Saunders

แมลงทับนางพญาหัวทับทิม (Jewel Beetle)

Megaloxantha mouhoti (Saunders)

แมลงทับนางพญาใหม่ (Jewel Beetle)

Duliticola sp.

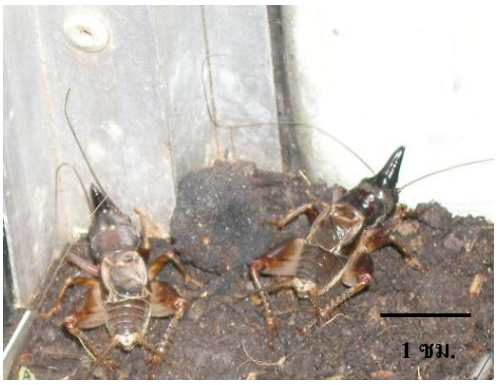
หิ่งห้อยยักษ์เทียม (Trilobite Beetle)

ภาพที่ 1 (ต่อ)

Prosopocoilus (Cladognathus) giraffa Oliver
ด้วงคีมยีราฟ (Giraffe Stag Beetle)

Amissus testaceus Distant
มวนเขา (Horn Bug)

Tosena fasciata (Fabricius)
จักจั่นแม่ม่ายลองไน (Giant Cicada)



Paraloxoblemmus sp.
จิ้งหรีดเขา (Horn Cricket)

Trigona sirindhornae Michener & Boongrid
ชันโรงเจ้าฟ้า (Princess Stingless Bee)

Xylocopa basalis Smith
แมลงภู่ (Carpenter bee)

ภาพที่ 1 (ต่อ)

ก

ข

ค

ง

จ

ฉ

ช

ซ

ภาพที่ 2 ลักษณะแต่ละระยะของผีเสื้อถุงทอง

ก. ไข่ ข. ตัวหนอนระยะที่ 1

ค. ตัวหนอนระยะที่ 2 ง. ตัวหนอนระยะที่ 3

จ. ตัวหนอนระยะที่ 4 ฉ. ดักแด้

ช. ตัวเต็มวัยเพศเมีย ซ. ตัวเต็มวัยเพศผู้

ก

ข

ค

ง

จ

ฉ

ช

ซ

ภาพที่ 3 ลักษณะแต่ละระยะของผีเสื้อจันทรา

ก. ไข่ ข. ตัวหนอนระยะที่ 1

ค. ตัวหนอนระยะที่ 1 และ 2 ง. ตัวหนอนระยะที่ 2

จ. ตัวหนอนระยะที่ 3 ฉ. ดักแด้

ช. ตัวเต็มวัยเพศเมีย ซ. ตัวเต็มวัยเพศผู้

อนุกรมวิธานไรศัตรูในโรงเก็บของประเทศไทย
Taxonomic study on Storage mite pest in Thailand

พลอยชมพู กรวิภาสเรือง มานิตา คงชื่นสิน
และ เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการเก็บตัวอย่างไรศัตรูในโรงเก็บได้แก่ รำข้าวและข้าวสารตามซอกมุมและพื้นของโรงสีข้าว อาหารสัตว์จากโรงงานอาหารสัตว์ และในผลิตผลทางการเกษตรได้แก่ หางปลาอินทรีย์ ปลากรอบตัวเล็ก ปลาเค็มแห้ง ปลาหมึกแห้งและกระเทียม ตั้งแต่เดือน กันยายน 2547 ถึงเดือน มีนาคม 2553 บนพื้นที่ 38 จังหวัด โดยใช้ลักษณะทางอนุกรมวิธานที่สำคัญเช่นลักษณะของ pedipalps การมีหรือไม่มีเส้นแบ่งขวางลำตัวระหว่าง propodosoma และ hysterosoma ลักษณะลายที่พบบนผิวลำตัว ลักษณะเล็บ ความยาวของขนบนลำตัวด้านสันหลัง ตำแหน่งของขน ve (vertical setae) ความยาวของขน sci และ sce ลักษณะของขน supracoxal setae ที่ตั้งอยู่เหนือปล้อง coxa ของขาคู่ที่ 1 ลักษณะของหนามที่ปลายขาและลักษณะอื่น ๆ อีกหลายลักษณะ พบไรรวม 38 ชนิด 12 วงศ์ เป็นไรศัตรูในโรงเก็บและผลิตผลทางการเกษตรรวมทั้งสิ้น 23 ชนิด 4 วงศ์ ได้แก่ วงศ์ Eriophyidae 1 ชนิด วงศ์ Acaridae 15 ชนิด Histiostomidae 1 ชนิด และวงศ์ Glycyphagidae 6 ชนิด ส่วนที่เหลืออีก 13 ชนิด 8 วงศ์ เป็นไรศัตรูธรรมชาติ โดยพบว่าไรศัตรูในโรงเก็บชนิดที่มีความสำคัญได้แก่ *Aceria tulipae* (Keifer) พบในหัวหอมและกระเทียมทั้งในสภาพไร่และหลังการเก็บเกี่ยว ไร *Tyrophagus communis* Fan&Zhang *Tyrophagus javensis* (Oudemans) *Tyrophagus robertsonae* Lynch พบในหัวหอม กระเทียมและเมล็ดธัญพืช ไร *Lardoglyphus konoi* (Sasa and Asanuma) พบในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลตากแห้งเช่น ปลาหมึกแห้ง ปลาแห้ง ฯ นอกจากนี้ ไร *Suidasia pontifica* Oudemans พบระบาดเสมอในโรงงานอาหารสัตว์และผลิตภัณฑ์อาหารทะเลตากแห้ง

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-43-51

คำนำ

ผลผลิตทางการเกษตรหลายชนิดในระหว่างการรอการจำหน่ายหรือส่งออก มีการเก็บรักษาไว้ในยุ้งฉางของเกษตรกร บ้านเรือนหรือในโกดัง โรงสีต่าง ๆ มักประสบปัญหาในการเก็บรักษาเนื่องจากมี แมลง ไร แบคทีเรีย เชื้อรา นกและหนู เข้าทำลาย (กรมวิชาการเกษตรม 25478) โดยเฉพาะไรศัตรูในโรงเก็บนับเป็นศัตรูที่มีความสำคัญ เนื่องจากมีขนาดเล็ก ยากแก่การสังเกตเห็นด้วยตาเปล่า แพร่ระบาดและขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็ว ซึ่งไรศัตรูในโรงเก็บในต่างประเทศได้มีผู้ทำการศึกษาและวิจัยเกี่ยวกับไรในโรงเก็บไว้อย่างกว้างขวาง เช่น Zachvatkin (1936, 1941) ได้ทำการศึกษาและวิจัยไรศัตรูในโรงเก็บในประเทศสหภาพโซเวียต ส่วน Hughes (1976) ได้สำรวจและเก็บรวบรวมไรที่พบบนผลผลิตในโรงเก็บจำพวกแป้ง อาหารสัตว์ ธัญพืช ไว้ 54 ชนิด ในผลไม้แห้งขนม 3 ชนิด ในเนื้อแห้ง ปลาแห้ง อาหารปลา กระดูกสัตว์ และเขาสัตว์ 4 ชนิด ในเนยแข็ง มะพร้าวแห้ง เมล็ดฝ้ายและถั่วลิสง 17 ชนิด ส่วนไรศัตรูพืชจากผลผลิตทางการเกษตรได้แก่กระเทียมที่นำเข้าจากประเทศจีนเข้าในประเทศนิวซีแลนด์ มีรายงานพบไรหลายชนิดได้แก่ *Rhizoglyphus setosus* Manson, *Rhizoglyphus echinopus* (Fumouze and Robin), *Rhizoglyphus robini* Claparède, *Tyrophagus longior* (Gervais), *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) และ *Tetranychus urticae* Koch (Pearson , 2006) สำหรับในประเทศไทยยังมีการศึกษาและวิจัยเกี่ยวกับไรศัตรูในโรงเก็บไว้น้อยมาก โดยการศึกษาอนุกรมวิธานไรศัตรูในผลผลิตทางเกษตรในประเทศไทยทั้งในสภาพไร่และสภาพการเก็บรักษาไว้หลังการเก็บเกี่ยว Suthasanee *et al* (1980) ได้จำแนกไรศัตรูกระเทียมที่พบในประเทศไทยไว้ 5 ชนิด คือ *Aceria tulipae* (Keifer), *Rhizoglyphus* sp., *Suidasia* sp., *Tyrophagus* sp. และ *Caloglyphus* sp. นอกจากนี้วัฒนา และคณะ (2546) รายงานการพบไรศัตรูผลผลิตทางการเกษตรของประเทศไทย ตั้งแต่ตุลาคม 2543-กันยายน 2546 ไว้ 10 ชนิดด้วยกัน ได้แก่ *Lardoglyphus konoi* (Sasa and Asanuma), *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank), *Sancasania berlesei* (Michael), *Sancasania* sp. , *Suidasia pontifica* Oudemans, *Rhizoglyphus echinopus* (Fumouze and Robin), *Aleuroglyphus* sp., *Austroglycyphagus geniculatus* (Vizhum), *Histiostoma* sp.และ *Aceria tulipae* (Keifer)

นอกจากเข้าทำลายผลผลิตที่เก็บในโรงเก็บทำให้เมล็ดพันธุ์หลายชนิดสูญเสียความงอกแล้ว ไรยังเป็นตัวแพร่เชื้อราและแบคทีเรียสร้างความเสียหายให้กับผลผลิตในโรงเก็บเป็นวงกว้าง โดยเฉพาะมีผลกระทบกับผลผลิตในโรงเก็บที่รอจำหน่ายไปยังต่างประเทศ ซึ่งเป็นปัญหาในการส่งออกสินค้าเกษตร ทำให้มีการกีดกันทางการค้า ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการสำรวจและจำแนกชนิดไรศัตรูในโรงเก็บที่พบในประเทศไทยนับว่ามีความสำคัญและจำเป็นอย่างยิ่ง ซึ่งจะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่ช่วยในการป้องกันกำจัดไรทำให้ทราบวิธีการเก็บรักษาผลผลิตในโรงเก็บอย่างถูกวิธี เพื่อช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตผลทางการเกษตร

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการเก็บตัวอย่างไรเพื่อนำกลับมายังห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ถุงกระดาษหรือกล่องพลาสติกใสสำหรับใส่ตัวอย่างพืชที่ถูกไรทำลาย แว่นขยาย (กำลังขยาย 20x) กล้องสำหรับถ่ายภาพลักษณะการทำลายของไรบนส่วนต่าง ๆ ของพืช

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

3. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการตรวจจำแนกชนิดของไร ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์ ชนิด compound microscope และ key สำหรับใช้ในการจำแนกชนิดของไรศัตรูพืชและไรศัตรูธรรมชาติ

4. อุปกรณ์สำหรับการจัดทำรายงานผลการวิจัย ได้แก่ computer พร้อมแผ่นแม่เหล็กจัดเก็บข้อมูล หมึกพิมพ์สำหรับใช้กับเครื่อง computer

วิธีการ

1. การเก็บตัวอย่างไรศัตรูในโรงเก็บ

1.1 เก็บตัวอย่างไรศัตรูพืชในโรงเก็บต่าง ๆ ทั่วทุกภาคของประเทศไทยโดยเริ่มจากภาคกลางเป็นอันดับแรก นำตัวอย่างไรศัตรูในโรงเก็บที่รวบรวมได้ใส่ถุงกระดาษและห่อด้วยถุงพลาสติกอีกชั้นหนึ่งแล้วรัดปากถุงด้วยยางบันทึกข้อมูลจากตัวอย่างไรที่เก็บได้ เช่นชื่อพืช ชื่อผู้เก็บ สถานที่ วันที่เก็บ จากนั้นนำตัวอย่างไปแช่ในกล่องน้ำแข็งเพื่อรักษาไม่ให้ตัวอย่างเสื่อมสภาพเร็ว หรือเก็บโดยเขี่ยไรที่พบในโรงเก็บใส่แอลกอฮอล์ 70 % หากตัวอย่างไรที่ได้สามารถเก็บรักษานานเช่น หอมและกระเทียมไม่ต้องแช่ในกล่องน้ำแข็งให้นำตัวอย่างใส่ถุงกระดาษพับปากถุง แล้วนำตัวอย่างที่ได้ทั้งหมดกลับมาทำสไลด์ต่อที่ห้องปฏิบัติการ

1.2. นำตัวอย่างมาทำสไลด์ถาวรด้วยน้ำยา Hoyer's solution ด้วยการหยดน้ำยา Hoyer's solution ลงบนสไลด์ ใช้พู่กันเขี่ยตัวไรลงวางลงบนน้ำยา จากนั้นกดตัวไรให้จมลงในน้ำยา จัดตัวไรให้อยู่ในสภาพที่เห็นส่วนต่าง ๆ ได้อย่างชัดเจน ด้วยเข็มเขี่ยขนาดเล็ก ปิดตัวอย่างด้วย แผ่นแก้วปิดสไลด์ (coverglass) นำสไลด์ไปอังบนตะเกียงแอลกอฮอล์พอร้อน เพื่อให้อวัยวะส่วนต่าง ๆ ของไรยืดออกเต็มที่ และเพื่อไล่ฟองอากาศ เขียนหมายเลขรหัสของตัวอย่างที่ทำเสร็จเรียบร้อยลงบนสไลด์ บันทึกรายละเอียดที่สำคัญของตัวไรลงบนสมุดบันทึก จากนั้นนำตัวอย่างที่ทำเสร็จแล้วเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 5-7 วัน จากนั้นนำสไลด์ที่ได้มาทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 1 สัปดาห์ จึงผนึกขอบสไลด์ด้วยน้ำยาทาเล็บ

1.3. นำสไลด์ถาวรที่เสร็จเรียบร้อยแล้วมาจำแนกชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope ปิดป้ายบันทึกรายละเอียดเกี่ยวกับสถานที่ วันที่ที่เก็บตัวอย่าง ชื่อผู้เก็บและชื่อพืชไว้ด้านซ้ายของแผ่นสไลด์ ส่วน ชื่อวิทยาศาสตร์ไรที่จำแนกได้ไว้ด้านขวาของสไลด์

2. การศึกษาลักษณะอนุกรมวิธานของไรศัตรูในโรงเก็บ

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

2.2 นำสไลด์เก็บในกล่องเก็บสไลด์และเรียงในพิพิธภัณฑ์ตามระบบสากลต่อไป

เวลาและสถานที่

ทำการศึกษาระหว่างเดือน กันยายน 2547 – มีนาคม 2553 โดยการสำรวจและเก็บตัวอย่างบนพื้นที่ 38 จังหวัดได้แก่ กรุงเทพฯ สมุทรปราการ สมุทรสงคราม สมุทรสาคร ปทุมธานี นครนายก นนทบุรี นครปฐม ราชบุรี สุพรรณบุรี สิงห์บุรี สระบุรี เพชรบูรณ์ อ่างทอง ตาก นครสวรรค์ ชัยนาท กำแพงเพชร กาญจนบุรี เพชรบุรี ปราจีนบุรี ฉะเชิงเทรา ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร สุราษฎร์ธานี พังงา กระบี่ ระนอง พัทลุง สงขลา ตรัง เชียงใหม่ นครราชสีมา สุรินทร์ สระแก้ว ศรีสะเกษ อุบลราชธานี บุรีรัมย์

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การเก็บตัวอย่างไรศัตรูในโรงเก็บ

จากการเก็บตัวอย่างไรศัตรูในโรงเก็บ ได้แก่ รำข้าวและข้าวสารตามซอกมุมของโรงสีข้าว อาหารสัตว์จากโรงงานอาหารสัตว์ และในผลิตผลทางการเกษตรได้แก่หางปลาอินทรีย์ ปลา กรอบ ตัวเล็ก ปลาเค็มแห้ง ปลาหมึกแห้งและกระเทียม ฯลฯ ตั้งแต่เดือนกันยายน 2547 ถึงเดือน มีนาคม 2553 บนพื้นที่ 38 จังหวัด รวมทั้งสิ้น 35 ชนิด 12 วงศ์ เป็นไรศัตรูในโรงเก็บและผลิตผลทางการเกษตรรวมทั้งสิ้น 23 ชนิด 4 วงศ์ ได้แก่ วงศ์ Eriophyidae 1 ชนิด วงศ์ Acaridae 15 ชนิด Histiostomidae 1 ชนิด และวงศ์ Glycyphagidae 6 ชนิด ดังตารางที่ 1 ส่วนที่เหลืออีก 13 ชนิด 8 วงศ์ เป็นไรศัตรูธรรมชาติดังตารางที่ 2 โดยพบว่าไรศัตรูในโรงเก็บชนิดที่มีความสำคัญได้แก่ *Aceria tulipae* (Keifer) เป็นชนิดที่มีความสำคัญในหัวหอมและกระเทียมทั้งในสภาพไร่และหลังการเก็บเกี่ยว ไร *Tyrophagus communis* Fan&Zhang *Tyrophagus javensis* (Oudemans) *Tyrophagus robertsonae* Lynch เป็นชนิดที่มีความสำคัญในหัวหอม กระเทียมและเมล็ดธัญพืช ไร *Lardoglyphus konoi* (Sasa and Asanuma) เป็นไรที่มีความสำคัญในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลตากแห้งเช่น ปลาหมึกแห้ง ปลาแห้ง ฯ นอกจากนี้ ไร *Suidasia pontifica* Oudemans เป็นชนิดที่มีความสำคัญพบระบาดเสมอในโรงงานอาหารสัตว์ และผลิตภัณฑ์อาหารทะเลตากแห้ง พบระบาดในโรงงานอาหารสัตว์ โรงสีต่าง ๆ โดยเฉพาะในสภาพอากาศที่มีความชื้นสูง นอกจากนี้ไร *Aleuroglyphus ovatus* (Troupeau) ยังพบระบาดเป็นครั้งคราวในโรงงานอาหารสัตว์ หากมีอุณหภูมิและความชื้นที่เหมาะสม

ตารางที่1. ไรศัตรูในโรงเก็บที่สำรวจพบในประเทศไทย (กันยายน 2547-มีนาคม 2553)

ชื่อวิทยาศาสตร์	ผลิตผลทางการเกษตร	ส่วนที่ถูก	Location

	ที่พบ	ทำลาย	
วงศ์ Eriophyidae *Aceria tulipae* (Keifer)	กระเทียม กระเทียม	ส่วนหัว ส่วนหัว	จ. อุบลราชธานี อ. เมือง จ. นครปฐม, อ. เมือง จ. นครนายก, อ. เมือง จ. อุบลราชธานี, อ. เมือง จ .เพชรบูรณ์, อ. ประโคนชัย จ. บุรีรัมย์, อ. คุระบุรี จ.พังงา, อ.ละอุ่น จ. ระนอง, อ. เมือง จ. อ่างทอง, อ.ท่าตะโก จ. ชุมพร, อ. สันทราย จ.เชียงใหม่
	หอมแดง	ส่วนหัว	อ.กันทรารมย์ อ. กันทรลักษ์ อ.เมือง จ. ศรีสะเกษ
วงศ์ Acaridae	กระเทียม	ส่วนหัว	อ.เมือง จ. นครปฐม, อ.สามโก้ จ. อ่างทอง,จ. ศรีสะเกษ, จ.สุรินทร์
	หอมแดง	ส่วนหัว	อ.เมือง จ. เพชรบูรณ์, จ. นครปฐม, จ. เชียงใหม่
	ปลาหมึกแห้ง	-	ประจวบคีรีขันธ์
	ปลาแห้ง	-	นครนายก
Aleuroglyphus ovatus (Troupeau)	อาหารสัตว์	-	จ. สมุทรปราการ
Lardoglyphus konoi (Sasa and Asanuma)	ปลาแห้ง, กุ้งแห้ง ปลาหมึกแห้ง, หอย อบแห้ง, หอยแมลงภู่	-	จ. สมุทรสงคราม,อ. กระทุ่มแบน จ. สมุทรสาคร, อ. เมือง จ. ปราจีนบุรี, อ. เมือง จ. กาญจนบุรี, อ. เมือง จ. สิงห์บุรี, อ. สามชุก จ. สุพรรณบุรี, จ. ตาก, จ. สระบุรี, จ. บุรีรัมย์, อ. ละอุ่น จ. ระนอง, อ. คุระบุรี จ. พังงา, อ.เมือง จ. พัทลุง, อ. สันทราย อ. แม่ริม จ. เชียงใหม่ ,จ. พังงา
Lardoglyphus sp.	หอมแดง	ส่วนหัว	อ. เมือง จ. สิงห์บุรี
	เมล็ดข้าวโพด	-	อ. ปากช่อง, จ. นครราชสีมา
	ปลาแห้ง, กุ้งแห้ง ปลาหมึกแห้ง,หอย อบแห้ง,		อ. แม่สอด จ. ตาก, อ. สามชุก จ. สุพรรณบุรี
	เครื่องต้มจืด(ฟองเต้าหู้, เห็ดหูหนู, ดอกไม้จีน)	-	อ.เมือง จ. สิงห์บุรี
	ปมรากถั่ว	-	อ.ปากช่อง, จ.นครราชสีมา

ชื่อวิทยาศาสตร์	ผลิตผลทางการเกษตรที่พบ	ส่วนที่ถูกทำลาย	Location
Tyrophagus communis Fan&Zhang	กระเทียม	ส่วนหัว	อ. สามชุก จ. สุพรรณบุรี, อ.เมือง จ. เพชรบูรณ์, อ. เมือง จ. ศรีสะเกษ, อ. เวียงสร จ. สุราษฎร์ธานี, อ. ละอุ่น จ. ระนอง, อ.ท่าตะโก จ. ชุมพร, อ.พนมสารคราม จ. ฉะเชิงเทรา, อ.เมือง จ.อ่างทอง, จ. ตาก
	หอมแดง-หอมแขก	ส่วนหัว	อ.กันทรารมย์ อ.เมือง จ. ศรีสะเกษ, อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา, อ.เมือง จ. เพชรบุรี,อ.เมือง, อ. สามโก้, จ.อ่างทอง, อ.เมือง จ. กาญจนบุรี, อ.บางเลน จ. นครปฐม, อ. เมือง จ. นนทบุรี,อ.พนมสารคราม จ. ชุมพร, จ. ฉะเชิงเทรา, อ. ดำเนินสะดวก จ. ราชบุรี, , อ. สันทราย จ.เชียงใหม่, จ. ปราจีนบุรี, จ. สระบุรี, จ. ขอนแก่น
	หอมใหญ่	ส่วนหัว	อ. คุระบุรี จ. พังงา, อ. เมือง จ.อุบลราชธานี, อ. เมือง จ. ตรัง
	เมล็ดข้าวโพด	ส่วนเมล็ด	อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา
	เมล็ดฝ้าย	ส่วนเมล็ด	อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา
	ปลาแห้ง	-	จ. กำแพงเพชร, อ.แม่สอด จ. ตาก, อ.เมือง จ.นครนายก, อ.สามชุก จ. สุพรรณบุรี
	พริกแห้ง	ภายในฝักพริกแห้ง	อ. แม่สอด จ.ตาก, อ.เมือง จ. สุรินทร์
	ปมรากถั่ว	บริเวณราก	อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา
Tyrophagus javensis (Oudemans)	กระเทียม	ส่วนหัว	อ.เมือง จ. เพชรบูรณ์
Tyrophagus robertsonae Lynch	ถั่วลิสง	ภายในซีกของถั่ว	อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา
	เมล็ดทานตะวัน	ส่วนเมล็ด	อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา
Tyrophagus sp.	กระเทียม	ส่วนหัว	อ. ดำเนินสะดวก จ. ราชบุรี อ. เมือง จ. นครปฐม
	หอมแดง	ส่วนหัว	อ.ท่าตะโก จ. ชุมพร

ชื่อวิทยาศาสตร์	**ผลิตผลทางการเกษตรที่พบ**	**ส่วนที่ถูกทำลาย**	**Location**
Tyrophagus sp.	แผ่นกรองอากาศ	-	จ. ปทุมธานี
	พริกแห้ง	ภายในฝักพริกแห้ง	จ. นครปฐม
	เมล็ดข้าวโพด	ส่วนเมล็ด	อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา
Sancasania berlesei (Michael)	กระเทียม	ส่วนหัว	อ. เมือง จ. นครปฐม, อ. ละอุ่น จ. ระนอง, อ. ท่าตะโก จ. ชุมพร, อ. เมือง จ. สิงห์บุรี, อ.สามชุก อ. อู่ทอง จ. สุพรรณบุรี
	หอมแดง	ส่วนหัว	อ. เมือง จ. นครสวรรค์, อ. เมือง จ. ศรีสะเกษ, จ. กำแพงเพชร, อ. เมือง จ. ตาก, อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา, อ.เมือง จ. เพชรบุรี,อ.เมือง จ. กาญจนบุรี จ. สุพรรณบุรี
	หอมแดง	ส่วนหัว	อ.ดำเนินสะดวก จ. ราชบุรี, จ. นนทบุรี, อ.อุทุมพรพิสัย จ. อุบลราชธานี, อ.คลองท่อม จ. กระบี่, อ.เวียงสระ จ.สุราษฎร์ธานี, อ.คุระบุรี จ. พังงา, อ.สะเดา จ. สงขลา, ชุมพร, อ.เมือง จ. อ่างทอง, จ. สระแก้ว
	หอมใหญ่	ส่วนหัว	อ. เวียงสระ จ.สุราษฎร์ธานี
Sancasania oudemansi (Zachvatkin)	กระเทียม	ส่วนหัว	อ.เมือง จ. สุรินทร์, อ.คลองท่อม จ. กระบี่
	หอมแดง	ส่วนหัว	อ.กันทรารมย์ อ.เมือง จ. ศรีสะเกษ, อ.เมือง จ. สุรินทร์, , อ. แม่ส่อด จ.ตาก, อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา, อ.เมือง อุบลราชธานี, อ.เวียงสระ จ.สุราษฎร์ธานี, อ.เมือง อ. สามโก้ จ. อ่างทอง, อ. เมือง จ. สิงห์บุรี, อ.เมือง จ. กาญจนบุรี อ. สันทราย จ. เชียงใหม่
	หอมใหญ่	ส่วนหัว	อ.เมือง จ. อุบลราชธานี, อ. สะเดา จ. สงขลา, อ.เมือง จ. ตรัง
	พริกแห้ง	ภายในเมล็ด	จ.สุรินทร์
Sancasania sp.	กระเทียม	ส่วนหัว	อ.คลองท่อม กระบี่

ชื่อวิทยาศาสตร์	**ผลิตผลทางการเกษตรที่พบ**	**ส่วนที่ถูกทำลาย**	**Location**
Sancasania sp.	หอมแดง	ส่วนหัว	อ. กันทรารมย์ จ. ศรีสะเกษ, อ. ประโคนชัย, จ. บุรีรัมย์, อ.สิเกาจ. ตรัง, อ.เมือง จ.อ่างทอง อ. ดำเนินสะดวก จ. ราชบุรี
	หูมนุษย์	-	จ. ศรีสะเกษ
Suidasia pontifica Oudemans	กระเทียม	ส่วนหัว	อ.ประโคนชัย จ. บุรีรัมย์ อ.ท่าตะโก จ. ชุมพร
	อาหารสัตว์	-	จ. สมุทรปราการ,
	ปลาแห้ง, กุ้งแห้ง ปลาหมึกแห้ง, หอยอบแห้ง,	-	จ. กรุงเทพฯ
	หอยแมลงภู่		จ. กรุงเทพฯ
	น้ำพริกป่น		ภูเก็ต
	พริกแห้ง	ในเมล็ด	จ. สุราษฎร์ธานี, อ.ดำเนินสะดวก จ. ราชบุรี
	ห้องปฏิบัติการ		จ. กรุงเทพฯ
	ข้าวสารบนพื้นโรงสี	พื้นโรงสี	อ.เมือง จ. กาญจนบุรี
Suidasia sp.	รำหยาบ	-	จ. นนทบุรี
	ข้าวสาร	-	จ. กรุงเทพฯ, จ. สมุทรปราการ
Suidasia nesbitti Hughes	ข้าวสาร	-	จ. กรุงเทพฯ, จ. สมุทรปราการ, จ. บุรีรัมย์
Rhizoglyphus setosus Manson	หอมแดง	ส่วนหัว	จ. บุรีรัมย์, อ.กันทรารมย์ จ. ศรีสะเกษ
วงศ์ Histiostomidae	หอมแดง-หอมแขก	ส่วนหัว	อ. กันทรารมย์ จ. ศรีสะเกษ, อ.สามโก้ อ.เมือง จ. อ่างทอง,อ. เมือง จ. สิงห์บุรี,อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา, อ.สิเกา จ.ตรัง, อ.ท่าตะโก จ. ชุมพร
วงศ์ Glycyphagidae	ข้าวสาร	-	อ.ลาดหลุมแก้ว จ. ปทุมธานี
	เมล็ดทานตะวัน, เมล็ดข้าวโพด,งาขาว	-	อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา
Austroglycyphagus geniculatus (Vitzthum)	กระเทียม	ส่วนหัว	อ.เมือง จ. นครปฐม, อ.ประโคนชัย จ. บุรีรัมย์
	เห็ดหูหนูแห้ง	-	อ.เมือง จ.ประจวบคีรีขันธ์
Blomia freemani Hughes	ข้าวเปลือก	-	จ. บุรีรัมย์

ชื่อวิทยาศาสตร์	ผลิตผลทางการเกษตรที่พบ	ส่วนที่ถูกทำลาย	Location
	เศษข้าวสารบนพื้นโรงสี เศษข้าวเปลือกบนพื้นโรงสี	-	จ.สมุทรปราการ อ.เมือง จ.ชัยนาท, จ. บุรีรัมย์
Glycyphagus sp.	ปมรากถั่ว	-	อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา
Lepidoglyphus destructor (Schrank)	งาขาว	-	อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา
	เมล็ดฝ้าย	-	อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา
Lepidoglyphus sp.	เมล็ดข้าวโพด,เมล็ดทานตะวัน		อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา

ตารางที่ 2. ไรตัวห้ำที่พบร่วมกับไรในโรงเก็บของประเทศไทย

ชื่อวงศ์ หรือ ชื่อวิทยาศาสตร์ของไรตัวห้ำ	พบร่วมกับไรศัตรูในโรงเก็บชื่อ	พบที่	สถานที่พบ
วงศ์ Ascidae	*Tyrophagus* sp.	แผ่นกรองอากาศ	จ. ปทุมธานี
	Suidasia sp.	รำหยาบ	จ. นนทบุรี
	-	เห็ดหูหนู	จ. ตาก
	-	เมล็ดข้าวโพดหวาน	อ.โคกตูม จ.ลพบุรี
	-	เมล็ดมะม่วงหิมพานต์	จ.อุบลราชธานี
	-	ถั่วลิสง	จ.อุบลราชธานี
	Glycyphagidae, *Lepidoglyphus destructor* (Schrank)	งาขาว	อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา
	Tyrophagus robertsonae Lynch, Glycyphagidae, *Lepidoglyphus* sp.	เมล็ดทานตะวัน	อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา
	Blomia freeman Hughes	เศษข้าวสารพื้นโรงสี	จ. สมุทครปราการ
	Glycyphagidae Histiomaeidae	ข้าวสาร	อ.ลาดหลุมแก้ว จ.ปทุมธานี,
	Suidasia sp.	ข้าวสาร	กรุงเทพฯ,
	Acaridae	ปลาแห้ง, กุ้งแห้ง หอยอบแห้ง, ปลาหมึกแห้ง หอยแมลงภู่	กรุงเทพฯ,อ.เมือง จ. ประจวบคีรีขันธ์

ชื่อวิทยาศาสตร์ของไรตัวห้ำ	พบร่วมกับไร ศัตรูในโรงเก็บชื่อ	พบที่	สถานที่พบ
วงศ์ Ascidae	*Suidasia pontifica* Oudemans	อาหารสัตว์	กรุงเทพ
	Tyrophagus communis Fan&Zhang, *Aceria tulipae* (Keifer), *Tyrophagus javensis* (Oudemans)	กระเทียม	อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์
	Sancasania sp.	กระเทียม	อ. คลองท่อม จ. กระบี่
	-	กระเทียม	อ. เมือง จ. อ่างทอง
	Sancasania berlesei (Michael)	หอมแดง	อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์
	Tyrophagus communis Fan&Zhang,	หอมแดง	อ.กันทรารมย์ย์ จ. ศรีสะเกษ
	Tyrophagus communis Fan&Zhang,	หอมแขก,หอมแดง	จ. สระบุรี
	Sancasania berlesei (Michael)	หอมแดง	จ. สระแก้ว
	-	รำใหม่	จ.นนทบุรี
	-	เมล็ทานตะวัน	อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา
	-	หอมแขก	จ. ประจวบคีรีขันธ์
	Sancasania oudemansi (Zachvatkin),	หอมแดง	อ.เมือง จ. สิงห์บุรี
	Tyrophagus communis Fan&Zhang, *Sancasania oudemansi* (Zachvatkin), Histiostomidae	หอมแดง	อ.เมือง จ.อ่างทอง
	Sancasania berlesei (Michael)	หอมแดง	อ.เวียงสระ จ.สุราษฎร์ธานี จ.สระแก้ว
	Sancasania berlesei (Michael)	หอมแดง,หอมแขก	อ.คลองท่อม จ. กระบี่
	Sancasania berlesei (Michael)	หอมแดง	จ. กำแพงเพชร
	Sancasania berlesei (Michael), *Tyrophagus communis* Fan&Zhang, *Tyrophagus* sp., Histiostomidae	หอมแดง	จ. ชุมพร
	Tyrophagus communis Fan&Zhang, *Sancasania oudemansi* (Zachvatkin)	หอมใหญ่	อ.เมือง จ. อุบลราชธานี

ชื่อวิทยาศาสตร์ของไรตัวห้ำ	พบร่วมกับไร ศัตรูในโรงเก็บชื่อ	พบที่	สถานที่พบ
	Tyrophagus communis Fan&Zhang, *Sancasania oudemansi* (Zachvatkin)	หอมใหญ่	อ.เมือง จ.ตรัง
Criniacus sp.	*Tyrophagus communis* Fan&Zhang	หอมแดง	จ.ปราจีนบุรี
วงศ์ Ameroseiidae	*Sancasania berlesei* (Michael)	หอมแดง	อ.เวียงสระ จ. สุราษฎร์ธานี
วงศ์ Bdellidae	-	ปลาหมึกแห้ง	อ.เมือง จ. ประจวบคีรีขันธ์
	Aceria tulipae(Keifer), *Suidasia pontifica* Oudemans, *Austroglycyphagus geniculatus* (Vitzthum)	กระเทียม	อ.ประโคนชัย จ. บุรีรัมย์
วงศ์ Cheyletidae	-	กลอย,ข้าว	จ. สมุทรสงคราม
	-	รำข้าว	จ. ปทุมธานี
	Suidasia nesbitti Hughes	เศษข้าวสารบนพื้นโรงสี	จ. สมุทรปราการ
	-	รำหยาบ,กุ้งแห้ง	จ. บุรีรัมย์
	-	งาขาว	อ.เมือง จ. อุบลราชธานี
	-	ถั่วลิสง	จ. สมุทรสงคราม
	-	เมล็ดข้าวโพดหวาน	อ.วิเชียรบุรี จ. เพชรบูรณ์
	Suidasia sp.	ข้าวสาร	จ. สมุทรปราการ จ. กรุงเทพฯ
	Lardoglyphus konoi (Sasa and Asanuma)	ปลาแห้ง, กุ้งแห้ง ปลาหมึกแห้ง, หอย อบแห้ง, หอยแมลงภู่	จ.บุรีรัมย์, จ. สมุทรสงคราม
	Suidasia pontifica Oudemans,	พริกแห้ง	สุราษฎร์ธานี
	Tyrophagus communis Fan&Zhang	หอมแดง	อ.พนมสารคราม จ. ฉะเชิงเทรา
	-	ปลาหมึกแห้ง,หอมแขก	จ. ประจวบคีรีขันธ์
	-	หอมแดง	อ.สามโก้ จ.อ่างทอง

ชื่อวิทยาศาสตร์ของไรตัวห้ำ	พบร่วมกับไรศัตรูในโรงเก็บชื่อ	พบที่	สถานที่พบ
วงศ์ Cheyletidae	*Tyrophagus communis* Fan&Zhang, *Sancasania oudemansi* (Zachvatkin)	หอมใหญ่	อ.เมือง จ.ตรัง,
	Tyrophagus communis Fan&Zhang	หอมใหญ่	อ.คุระบุรี จ. พังงา
	-	กระเทียม	อ. คุระบุรี จ. พังงา, อ.สะเดา จ. สงขลา, อ.เมือง จ. อ่างทอง จ.สิงห์บุรี
	-	รำหยาบ	จ. บุรีรัมย์
	-	รำเก่า	จ. นนทบุรี
	Aceria tulipae(Keifer),	กระเทียม	อ.สันทราย จ.เชียงใหม่
	Tyrophagus communis Fan&Zhang, *Suidasia pontifica* Oudemans, *Aceria tulipae*(Keifer),	กระเทียม	อ.ท่าตะโก จ. ชุมพร
	Tyrophagus communis Fan&Zhang	กระเทียม	อ.เวียงสระ จ. สุราษฎร์ธานี
Cheletomorpha sp.	*Lepidoglyphus* sp. *Tyrophagus communis* Fan&Zhang,	เมล็ดข้าวโพดหวาน	อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา
	Lepidoglyphus sp. *Glycyphagus* sp., *Tyrophagus communis* Fan&Zhang,	ปมรากถั่ว	อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา
	Lepidoglyphus destructor (Schrank)	เมล็ดฝ้ายเก่า	อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา
Cheletomorpha lepidopterorum (Shaw)	-	เมล็ดข้าวโพดหวาน	อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา
Cheletonella sp.	-	ถั่วลิสง	จ. ปราจีนบุรี
Cheyletus malaccensis Oudemans	-	งาขาว	อ.เมือง จ. อุบลราชธานี
	-	ข้าวสาร	จ. สมุทรปราการ

ชื่อวิทยาศาสตร์ของไรตัวห้ำ	พบร่วมกับไร ศัตรูในโรงเก็บชื่อ	พบที่	สถานที่พบ
Cheyletus sp.	-	งาดำ	จ.อุบลราชธานี
	Glychyphagidae Histiomaeidae	ข้าวสาร	อ.ลาดหลุมแก้ว จ.ปทุมธานี, อ.เมือง จ. กาญจนบุรี, จ. สมุทรปราการ
	Suidasia sp. , *Blomia freemani* Hughes	ข้าวสาร	จ.สมุทรปราการ
	Suidasia nesbitti Hughes	เศษข้าวสาร	จ.สมุทรปราการ
	Suidasia pontifica Oudemans	เศษข้าวสารบนพื้น	จ. กรุงเทพฯ
	Blomia freemani Hughes	เศษข้าวเปลือกบนพื้นโรงสี	อ.เมือง จ. ชัยนาท
	Lardoglyphus sp.	ปลาแห้ง,	อ.สามชุก จ.สุพรรณบุรี
	Suidasia pontifica	กุ้งแห้ง	จ. กรุงเทพฯ
	Tyrophagus communis Fan&Zhang	หอมแดง	อ.บางเลน จ. นครปฐ, จ. ฉะเชิงเทรา
	-	หอมแดง	อ.เมือง จ. กาญจนบุรี
	Sancasania berlesei (Michael) *Aceria tulipae*(Keifer),	กระเทียม	อ.เมือง จ. นครปฐม,อ.อู่ทอง จ. สุพรรณบุรี
		ข้าวเก่า	จ. นนทบุรี
		ข้าวสาร,เมล็ด,ทานตะวัน	จ. กาญจนบุรี
	Austroglycyphagus geniculatus (Vitzthum)	กระเทียม	อ.เมือง จ. นครปฐม
	Sancasania berlesei (Michael)	กระเทียม	อ.อู่ทอง จ.สุพรรณบุรี
วงศ์ Cunaxidae	Eriophyidae	กระเทียม	อ.เมือง จ.อุบลราชธานี
วงศ์ Laelapidae	-	รังนก	จ. กรุงเทพฯ
วงศ์ Phytoseiidae *Amblyseius cucumeris* (Oudemans)	*Suidasia pontifica* Oudemans	อาหารสัตว์	จ. สมุทรปราการ
วงศ์ Smarididae		แกลบ	อ.เมือง จ. ชัยนาท

2. การศึกษาลักษณะอนุกรมวิธานของไรศัตรูในโรงเก็บ

จากการศึกษาอนุกรมวิธานโดยใช้ลักษณะทางอนุกรมวิธานที่สำคัญเช่น ลักษณะของ pedipalps การมีหรือไม่มีเส้นแบ่งขวางลำตัวระหว่าง propodosoma และ hysterosoma, ลักษณะลายที่พบบนผิวลำตัว ลักษณะเล็บ ความยาวของขนบนลำตัวด้านสันหลัง ตำแหน่งของขน ve (vertical setae) ความยาวของขน sci และ sce ลักษณะของขน supracoxal setae ที่ตั้งอยู่เหนือปล้อง coxa ของขาคู่ที่ 1 และ ลักษณะของหนามที่ปลายขา ฯลฯ ทำให้สามารถจำแนกชนิดไรได้รวมทั้งสิ้น 38 ชนิด 12 วงศ์ เป็นไรศัตรูในโรงเก็บและผลิตผลทางการเกษตรรวมทั้งสิ้น 23 ชนิด 4 วงศ์ ได้แก่ วงศ์ Eriophyidae 1 ชนิด วงศ์ Acaridae 15 ชนิด Histiostomidae 1 ชนิด และวงศ์ Glycyphagidae 6 ชนิด ส่วนที่เหลืออีก 13 ชนิด 8 วงศ์ เป็นไรศัตรูธรรมชาติ ซึ่ง Key ที่ใช้ในการจำแนกมีดังนี้

Key to the store product mite

1a. With 1-4 pairs of dorsolateral or ventrolateral stigmata posterior to coxae II; coxae of legs free, usually movable; tarsi of legs II-IV with peripodomeric fissure associated with slit organs; tarsus of leg I with dense dorsal cluster of solenidiform setae subdistally (these may be further elaborated into receptor organ complexes).....**Suborder Parasitiformes**

1b. Without visible stigmata posterior to coxae II; coxae of legs integrated with venter of podosoma and often forming coxisterna; tarsi of legs II-IV without peripodomeric fissure and slit organs; tarsus of leg I with sparse pairings of dorsal setae distally and subdistally.....**Superorder Acariformes (2)**

2a. Prodorsum without specialized sensory organs other than setiform setae; genital aperture exposed or partially covered by paragenital flaps, inversely V, U, or Y shaped, with usually 2 pairs of genital papillae in the adult or these variously reduced or modified; anal aperture without conspicuous paired plates; adult idiosoma usually weakly sclerotized; with epimeral plates undeveloped or weakly formed between base of the legs; leg pretarsus with an empodial claw and fleshy pulvillus, or pretarsus suckerlike and true paired claw absent ; pretarsi II-IV often modified or absent in parasitic forms; palpi with only 2 segments, rarely

3; adult males with a sclerotized aedeagus, and often with a pair of conpulatory adanal sucker.....**Suborder Oribatida , Cohort Astigmatina(3)**

2b. Tracheal system with 1 pair of stigmata opening between bases of chelicerae or on anterior prodorsum usually present (secondarily absent in Eriophyoidea, Stigmaeidae, some Dolichocyboidea); prodorsum usually with 4 or fewer pairs of setae of hypertrichous, sometimes including 1-2 pairs of bothridial sensilla; chelicerae rarely chelate (e.g., Labidostomatidae, Rhagidiidae, some Bdellidae), usually with fixed digit sheathlike or completely regressed; coxal fields contiguous or II-III separated.....**Suborder Prostigmata**

Body worm like with 2 pairs of legs.....**Family Eriophyidae**

Dorsal plate with setae point posteriorly.....***Aceria***

Feather claw with 7-8 ray; median line on rear third of dorsal plate; Dorsal and ventral annuli 85-90, microtubercles rounded.....***Aceria tulipae* (Fig. 1)**

3a. Pedipalps with a flattened distal segment. One digit of the chelicera usually with a serrated edge, Ventral surface of idiosoma with four prominent chitinous rings.....**.Family Histiostomidae**

3b. Pedipalps without a conspicuously flattened distal segment chelicerae chelate. Ventral surface of idiosoma without prominent chitinous rings, with at least one pair of vertical setae in both sexes.....**(4)**

4a. With a dorsal transverse groove dividing the propodosoma from the hystorosoma. Claw attached to the end of the tarsus by paired sclerites surrounded by a short, cushion-like pretarsus If the pretarsus is elongated, then the claw is bifid in the female.....**Family Acaridae**

4b. Without a dorsal transverse groove dividing the prodosoma from the hysterosoma. Claw attached to the end of the pretarsus and sometimes joined to the end of the tarsus by two thin tendons, genital opening of female with genital plates not so strongly defined or, if so, then the opening is between coxae I and II, Male without anal sucker....**Family Glycyphagidae** (14)

5a. Dorsal idiosoma patterned.....***Suidasia*** (6)

5b. Dorsal idiosoma unpatterned.....(7)

6a. Female with *hi* (apical dorsolateral seta of hysterosoma) shorter than *he* (humeral seta) and with anal region subcircular; male without anal sucker.....

.....***Suidasia nesbitti***(Fig. 10)

6b. Female with *hi* as long as or longer than *he* and with anal region circular; male

with anal sucker.....***Suidasia pontifica***(Fig. 9)

7a. External vertical setae *ve* arising near the anterior angles of the dorsal propodosamal shield at the same level as *vi*, or slightly posterior.....(8)

7b. Seta *ve* rudimentary or absent or when present, arising near the middle of the lateral edge of the propodosamal shield.....(12)

8a. Female with bifid claws on all the legs; male always heteromorphic with the third leg ending in to conspicuous process.....***Lardoglyphus*** Setae d_4 almost equal in the length to d_3; leg I and II of male with undivided claws.....***Lardoglyphus konoi*** (Fig. 3)

8b. Female without bifid claws; homomorphic males usally found; although heteromorphic ones also occur.....(9)

9a. Internal scapular setae *sci* longer than the external scapular setae *sce*; chelicerae and legs pooly tenned; setae d_1 and la about equal in length; shorter than d_3 and d_4 ; five ventral terminal spines at the end of the tarsi; of which the three central one are thickened.....***Thyrophagus*** (10)

9b. Setae *sci* shorter than *sce*; chelicerae and legs reddish- brown in colour..... .....***Aleuroglyphus ovatus*** (Fig. 2)

10a. Reproductive apparatus very small, spermathecal duct slender and short base of spermathecal *sac* just larger than circumference of spermathecal duct.....(11)

10b. Reproductive apparatus considerable; spermathecal duct moderate or large base of spermathecal *sae* medium length or longer, transversally expanded, obviously larger than spermathecal duct; Adanal setae ad_1 shorter than or about as long as ad_2; coxal plate II a broad triangle(5B), posterior margin nearly straight .....***Tyrophagus communis*** (Fig. 5)

11a. Seta *r* of tarsus IV spiniform anterolateral corners of prodosal shield without pigmented areas the eyespots (6E).....***Tyrophagus javensis*** (Fig. 6)

11b. Seata *r* of tarsus IV setiform; prodosal shield bearing a pair of faint eyespots(4E).....***Tyrophagus robertsonae*** (Fig. 4)

12a. On tarsi I and II, *ba* is enlarged to form a stout conical spine and is situated close to *omega*$_1$ *(*11F).....***Rhizoglyphus***

Setae *sci* not close to *sce*; ratio sci-sci; sci-sce<2 μm, sclerites of oviducts close or moderately separate, distance between them less than 45 μm setae *ad*$_1$ and *ad*$_2$ longer than three time of length of *ps*$_3$ and *ad*$_3$; *ps*$_1$ about 1.5 time as long as *ps*$_3$ .....***Rhizoglyphus setosus*** (Fig. 11)

12b. On tarsi I and II, *ba* is a slender seta; a complete set of setae is present on the dorsal and lateral surface of the idiosoma.....***Sancasania* (13)**

13a. Supracoxal seta (*ps*) conspicuous gradually expanding towards the base and with distinct pectinate margins (8A); male with seta*f* on tarsus I conspicuously expandied (8C,D); *sae* more than twice as long as *d*$_1$..... .....***Sancasania oudemansi*** (Fig. 8)

13b. Spracoxal seta (*ps*) only very slightly expanded and almost smooth (7A), sometimes inconspicuous supracoxal seta well-developed; more than half the length of *d*$_1$ in the female *d*$_4$ are shorter than *d*$_3$ setae with leaflike ands present on tarsi I and II; male with sucker in distal half of tarsus and *pa*$_2$ are 3 to 5 time longer than *pa*$_1$.....***Sancasania berlesei*** (Fig. 7)

14a. With setae *vi* and *ve* arising close together (13A) .....***Blomia freeman*** (Fig. 13)

14b. With *ve* well-separated from *vi*.....(15)

15a. With a subtarsal scale and without a crista metopica.....(16)

15b. Without a subtarsal scale, usually with a crista metopica.....***Glycyphagus* sp.**

16a. on genu I, solenidion *sigma*$_2$ more than three times longer than *sigma*$_1$; setae *la*, *ra* , *ba* on tarsus I arise in the distal third of the tarsus.....***Lepidoglyphus***

Sigma on genu II not thickened in either *sex*. In the female the posterior pair of genital setae arises behind the posterior edge of the genital opening ....***Lepidoglyphus destructor*** (Fig. 14)

16b. On genu I *sigma*$_1$ and *sigma*$_2$ are almost the same length; *la*, *ra* and *ba* on tarsus I arise from the basal half of the segment.....

.....*Austroglycyphagus geniculatus* (Fig. 12)

1.*Aceria tulipae* (Keifer)

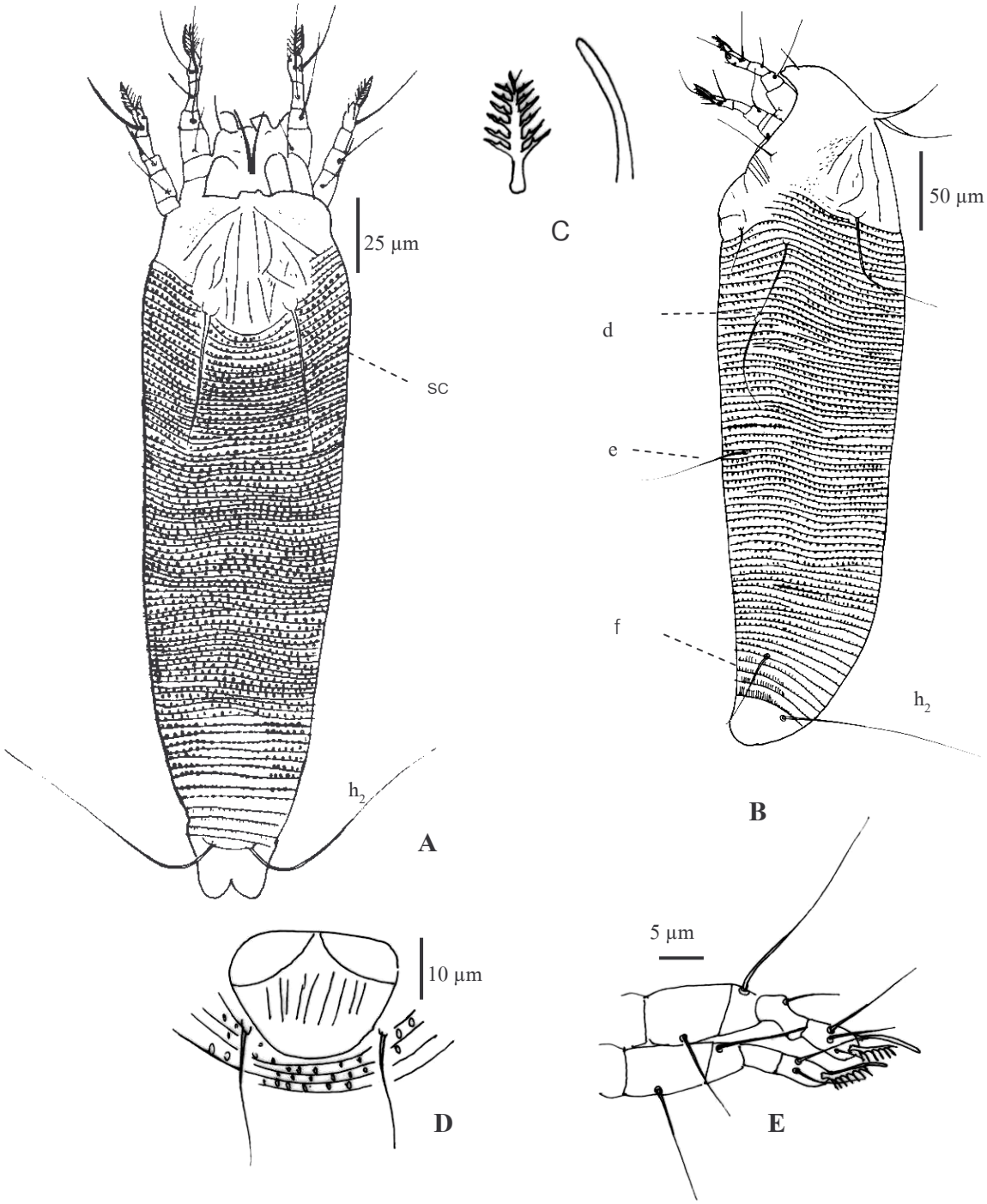


Fig. 1. *Aceria tulipae* (Keifer) (female): A. Dorsal view; B. Lateral view; C. Feather claw and solenidion; D. Genitalia; E. Leg I and II

เพศเมีย เป็นไรที่มีขนาดเล็กมากมีขนาดความยาวของลำตัวเฉลี่ย 251 µm ขนาดความกว้างเฉลี่ย 65 µm ไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าต้องใช้กล้องที่มีกำลังขยายสูงจึงจะสามารถมองเห็นได้ มีรูปร่างลักษณะตัวหนอน หรือคล้ายกับกล้วยหอม มีขา 2 คู่ โดยขาทั้ง 2 คู่จะอยู่ทางด้านหน้าของลำตัว

ลำตัวมีสีขาวนวลหรือสีครีม บนแผ่นปิดด้านสันหลังจะมีเส้นทึบอยู่ตรงกลาง ค่อนมาทางด้านล่างใกล้กับฐานของ Shield มีความยาวประมาณ ¼ ของ shield (median line); บริเวณด้านข้างของเส้น median line มีเส้นทึบยาวลงมาตลอด shield (admedian line) แล้วค่อย ๆ เบนออกเล็กน้อยจากเส้น median line; ถัดจากเส้น admedian line มาจะมีเส้น submedian line ข้างละเส้น; ไม่มีขน vi และ ve; มีขน sc ยาวและชี้ไปทางส่วนท้ายของลำตัว; ด้านล่างของลำตัวจะเห็นแผ่นปิดอวัยวะเพศเมีย (female coverflap) เป็นสันนูนมี 11-12 เส้น (Fig.1.D) ที่ปลายขาจะมีเล็บ (feather claw) ในเพศเมียมี 7 แขนง (Fig. 1.C.)

เพศผู้ มีขนาดความยาวลำตัวเฉลี่ย 224 µm ขนาดความกว้างลำตัวเฉลี่ย 60 µm มีเล็บ (feather claw) 6 แขนง และขนาดลำตัวของเพศผู้จะสั้นกว่าเพศเมีย

2. *Aleuroglyphus ovatus* (Troupeau)

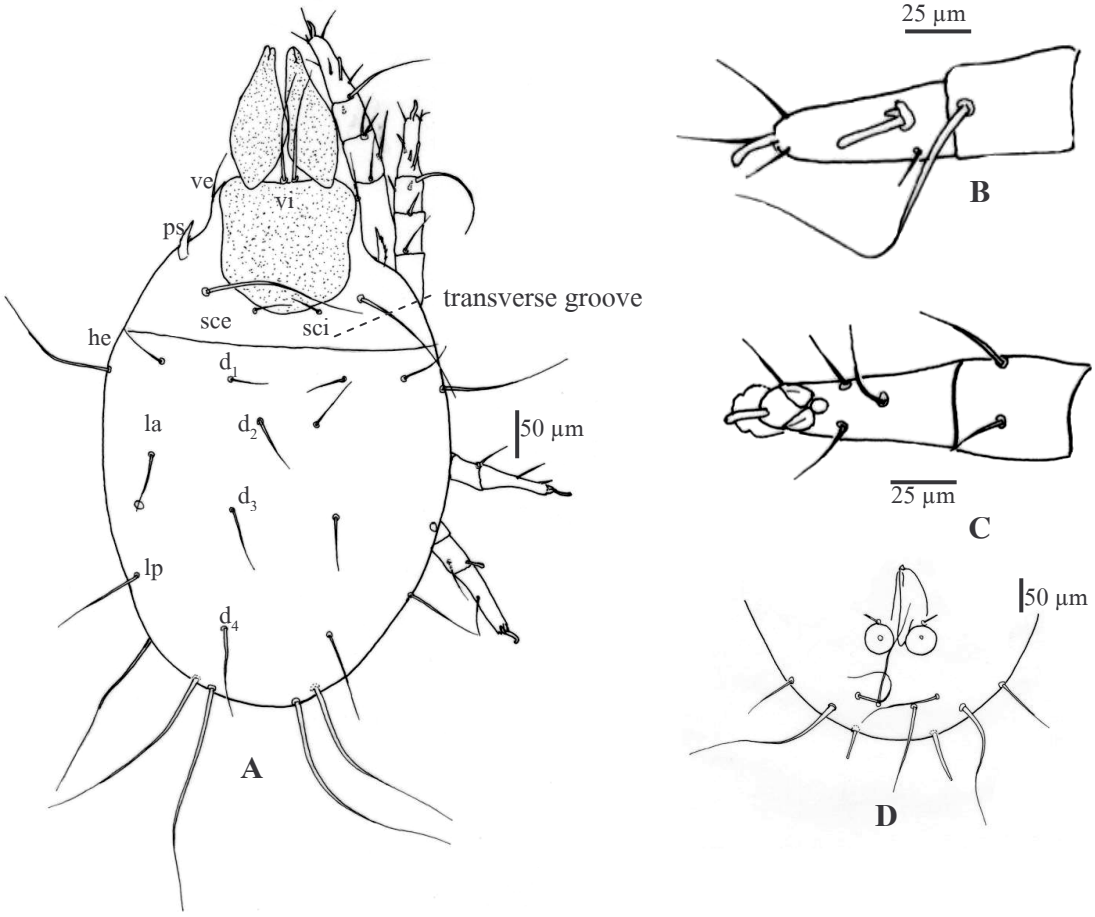


Fig. 2. *Aleuroglycphus ovatus* (Troupeau)(female): A. Dorsal view; B. dorsal view of right leg I ; C. ventral view of right leg I; D. anal region of male.

เพศเมีย ลำตัวเป็นรูปไข่มีสีขาวหรือสีครีม มีขนาดความยาวของ idiosoma โดยเฉลี่ย 487 µm ความกว้างของลำตัวประมาณ 322 µm มี chelicerae และขาสีน้ำตาลแดงเห็นได้อย่างชัดเจน; แผ่น

แข็งด้านสันหลัง (prodosal shield) เป็นแผ่นแข็งมีสีน้ำตาลเข้ม; ขน ve ค่อนข้างยาวตั้งอยู่ระดับเดียวกับขน vi ; ขน sci สั้นกว่าเส้นขน sce; มีเล็บเดี่ยวงองุ้มที่บริเวณปลายขาทุกคู่ (bifid claws); มีเส้นขวางลำตัว transverse groove บริเวณด้านสันหลังระหว่างฐานขาคู่ที่ 2 (Fig. 2 A); ขน Supracoxal seta (ps) ที่อยู่เหนือ coxa ของขาคู่ที่ 1 มีลักษณะแตกแขนงหนามแหลม ปลายเรียวแหลมโคน; ขน d_1- d_3, la และ hi สั้นขนาดใกล้เคียงกับความยาวของขน sci ขน d_4 และ lp ยาวกว่าขนอื่น ๆ ไม่มาก

เพศผู้ มีขนาดเล็กกว่าเพศเมียมีขนาดความยาวของ idiosoma โดยเฉลี่ย 385 µm ขนาดความกว้างประมาณ 270 µm; มี anal sucker ตั้งอยู่ด้านหน้า 2 ข้าง ของช่องเปิดของอวัยวะขับถ่าย

3. *Lardoglyphus konoi* (Sasa and Asanuma)

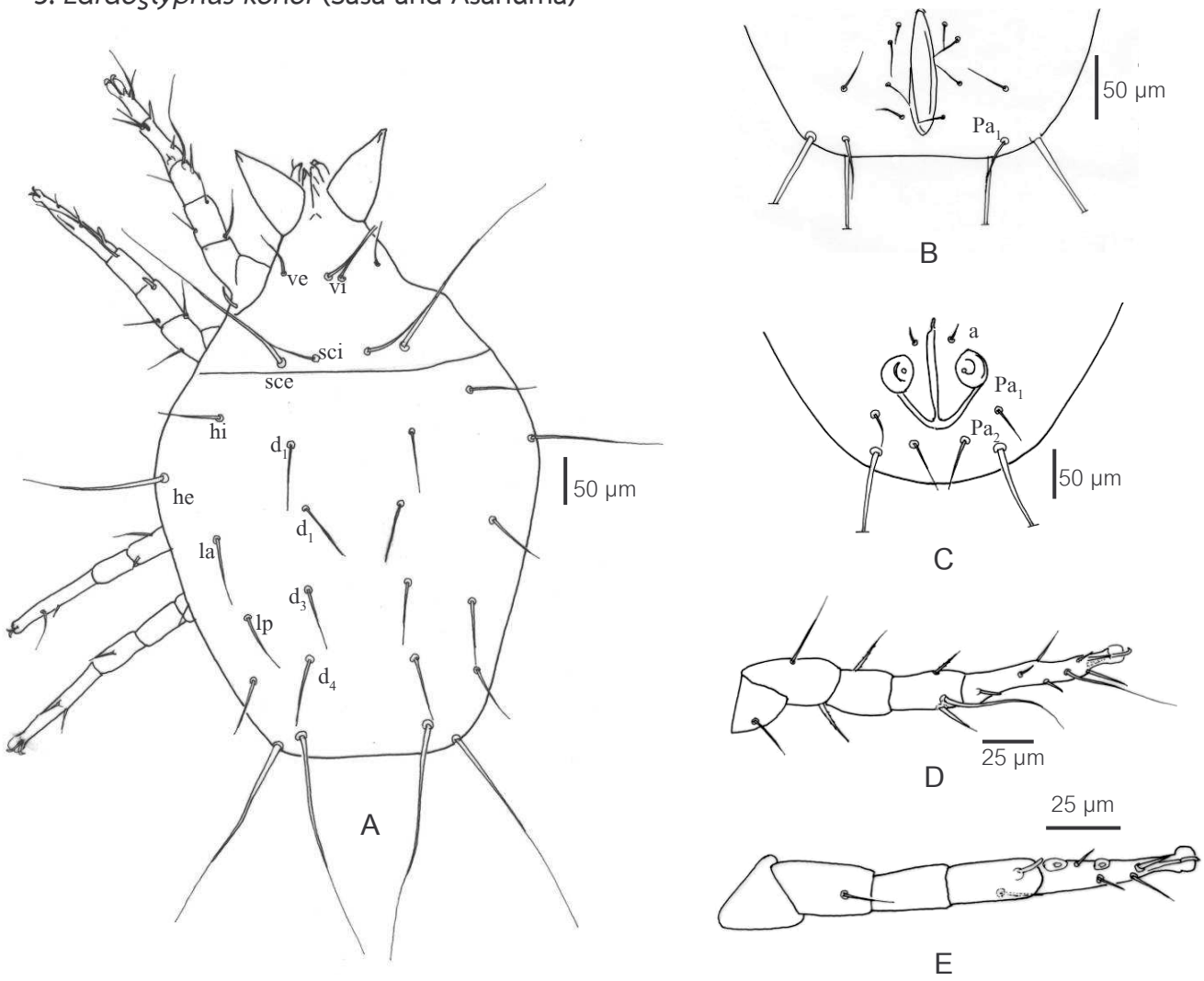


Fig. 3. *Lardoglyphus konoi* (Sasa and Asanuma)(female): A. Dorsal view of idiosoma; B. Anal region; C. Anal region of male; D. Dorsal view of right leg I of male; E. Ventral view of right leg IV of male.

เพศเมีย มีลักษณะลำตัวภายนอกขณะมีชีวิตเมื่อมองภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จะมีลำตัวเป็นรูปไข่ มองเห็นส่วนท้ายของลำตัวเว้าเข้าเล็กน้อย ลำตัวมีสีขาวใสเป็นมันวาว สีขาวหรือสีครีม ขนาดวามยาวของ idiosoma เฉลี่ย 482 μm ความกว้างเฉลี่ย 340 μm; มี ve ค่อนข้างยาวตั้งอยู่ระดับเดียวกับขน vi ที่บริเวณด้านหน้าสุดของแผ่นปิดด้านสันหลัง; มีเล็บแตกออกเป็น 2 แฉกงองุ้มที่บริเวณปลายขาทุกคู่ (bifid claws) มีขนด้านสันหลัง d_3 ขนาดความยาวใกล้เคียงกับความยาวของขน d_4 ; ขน sae และขน pa_1 ค่อนข้างสั้น; ขน sci สั้นกว่าขน sce

เพศผู้ มีขนาดเล็กกว่าเพศเมียความยาวลำตัวส่วน idiosoma เฉลี่ย 408 μm ความกว้างลำตัวเฉลี่ย 285 μm ลำตัว; anal sucker ตั้งอยู่ด้านหน้า 2 ข้าง ของช่องเปิดของอวัยวะขับถ่าย (Fig. 3C); มีขาคู่ที่ 1, 2และ 3 เป็นตะขอเดี่ยวงองุ้มไม่ได้แยกออกเป็น 2 แฉกเช่นเดียวกับเพศเมีย ขาคู่ที่3 มีลักษณะเป็นหนามแหลมแยกออกเป็น 2 ง่าม

4. ***Tyrophagus robertsonae*** Lynch

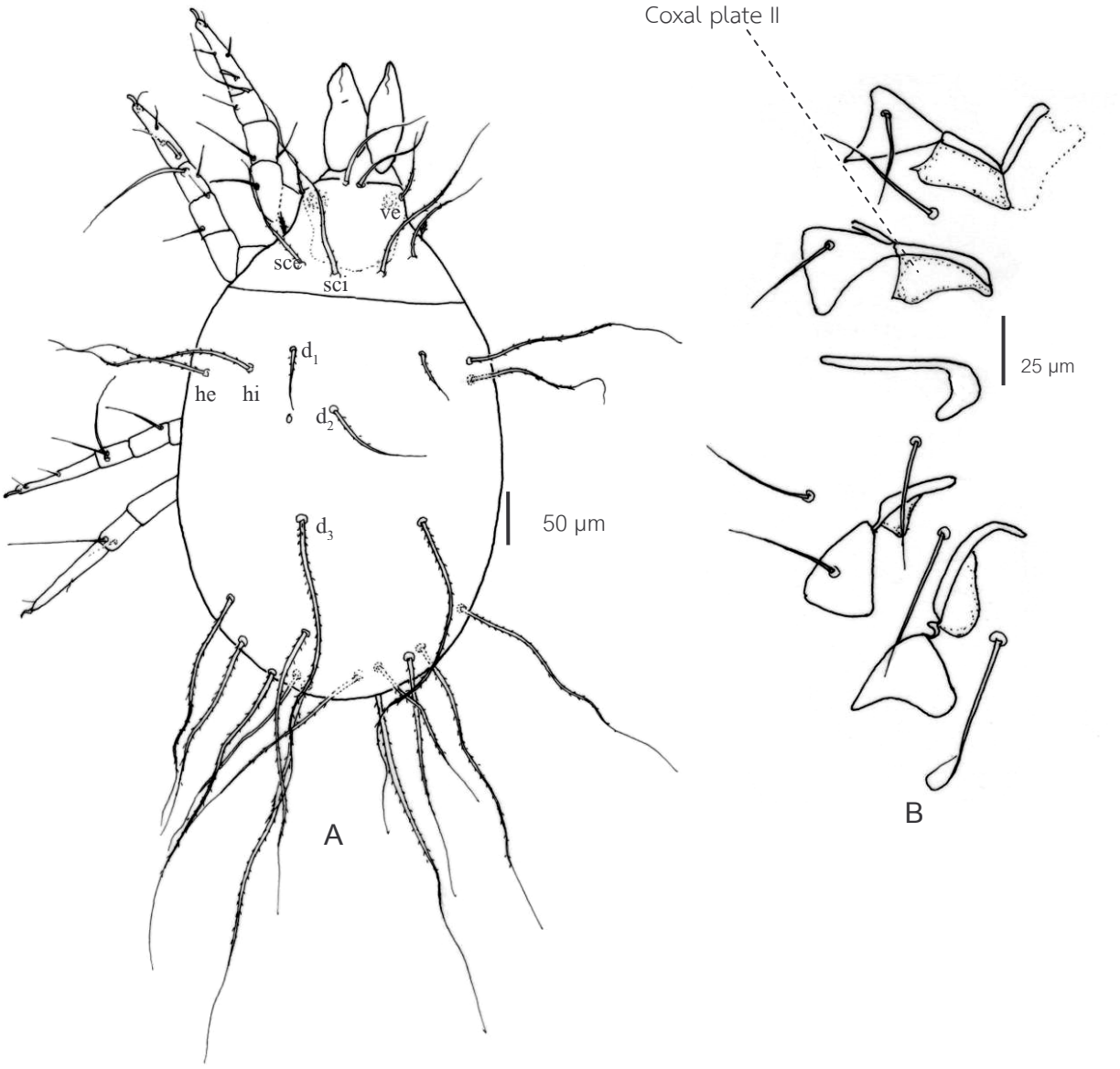


Fig. 4. *Tyrophagus robertsonae* Lynch (female): A. Dorsal view of idiosoma; B. coxae I-IV.

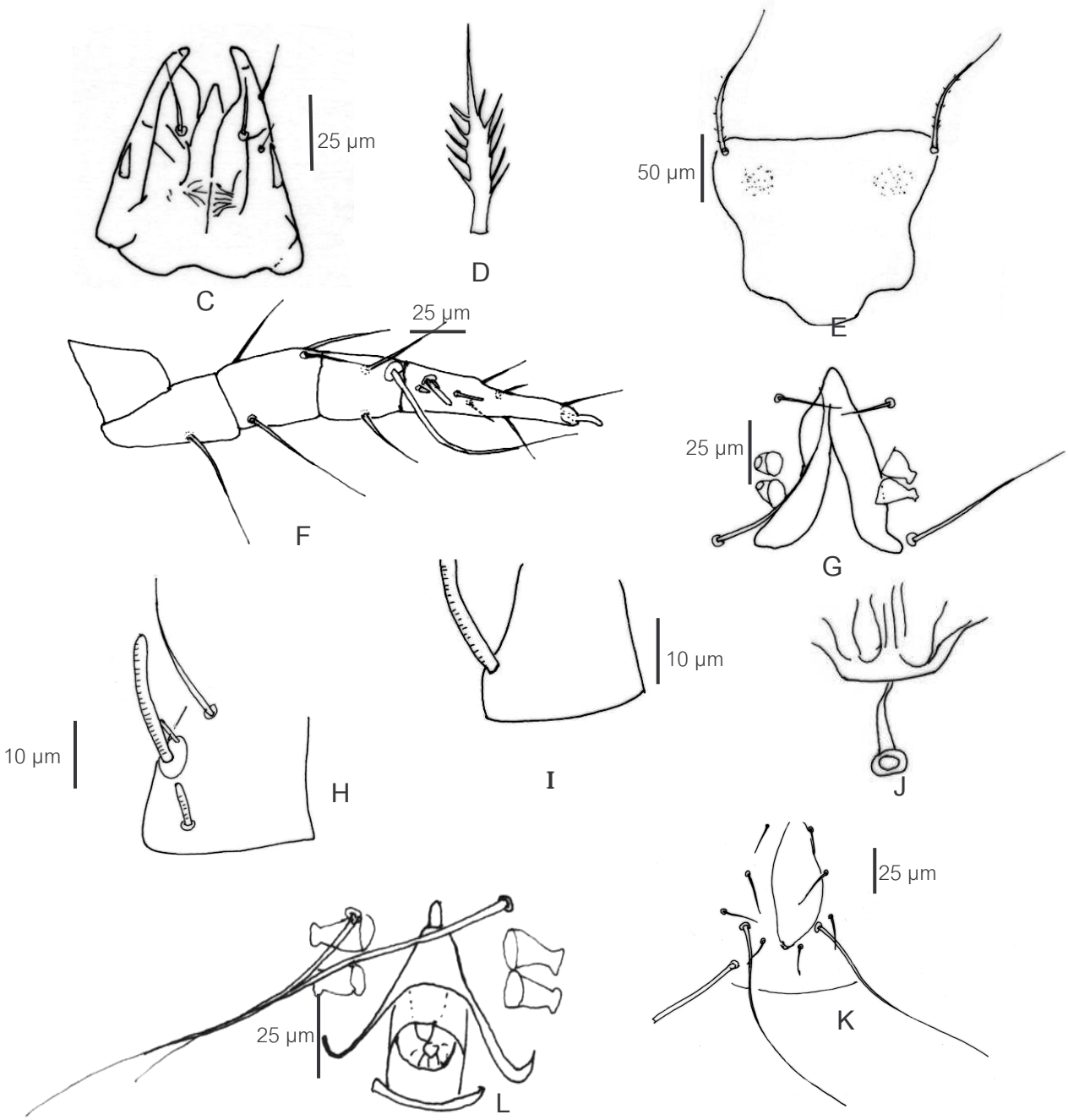


Fig. 4. (Continued) *Tyrophagus robertsonae* Lynch (female): C. ventral view of subcapitulum; D. supracoxal seta; E. prodorsal shield ; F. Leg I; G. Genital opening;

H. solenidia and famulus of tarsus I; I. soenidion of tasus II; J. spermatheca ; K. anus; L. ventral view of aedeagus.

เพศเมีย มีขนาดความยาว idiosoma เฉลี่ย 462 µm ความกว้างเฉลี่ย 292 µm ลักษณะภายนอกโดยทั่วไปคล้ายกับไร *T. communis* มาก ไม่สามารถแยกออกได้ในสภาพมีชีวิต ต่อเมื่อเมาท์สไลด์ถาวรแล้ว จะพบว่าไร *T. robertsonae* มีแผ่นแข็งที่ฐานของ coxa บริเวณขาคู่ที่ 2 (coxal plate II) มีลักษณะคล้ายสามเหลี่ยมด้านกว้างปลายแหลม (Fig. 4 B) มีจุดประอยู่บริเวณด้านข้างส่วนบนทั้ง 2 ข้างของแผ่นแข็งด้านสันหลัง (prodosal shield) (Fig. 4.E) นอกจากนี้ supracoxal seta มีลักษณะที่แตกเป็นแฉก เรียวแหลมไม่ขยายใหญ่ ถุงเก็บน้ำเชื้อมีขนาดเล็กมีลักษณะเป็นท่อยาว บริเวณปลายกว้างเล็กน้อย (Fig. 4J)

เพศผู้ มีลักษณะคล้ายเพศเมียมีความยาว idiosoma เฉลี่ย 395 µm ความกว้างเฉลี่ย 251 µm มีแผ่นเข็งบริเวณฐานของ coxa ของขาคู่ที่ 2 เป็นรูปสามเหลี่ยม ลำตัวด้านท้องบริเวณระหว่างปล้อง coxa ของขาคู่ที่ 4 เป็นที่ตั้งของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (aedeagus)(Fig. 4L)

5. *Tyrophagus communis* Fan&Zhang

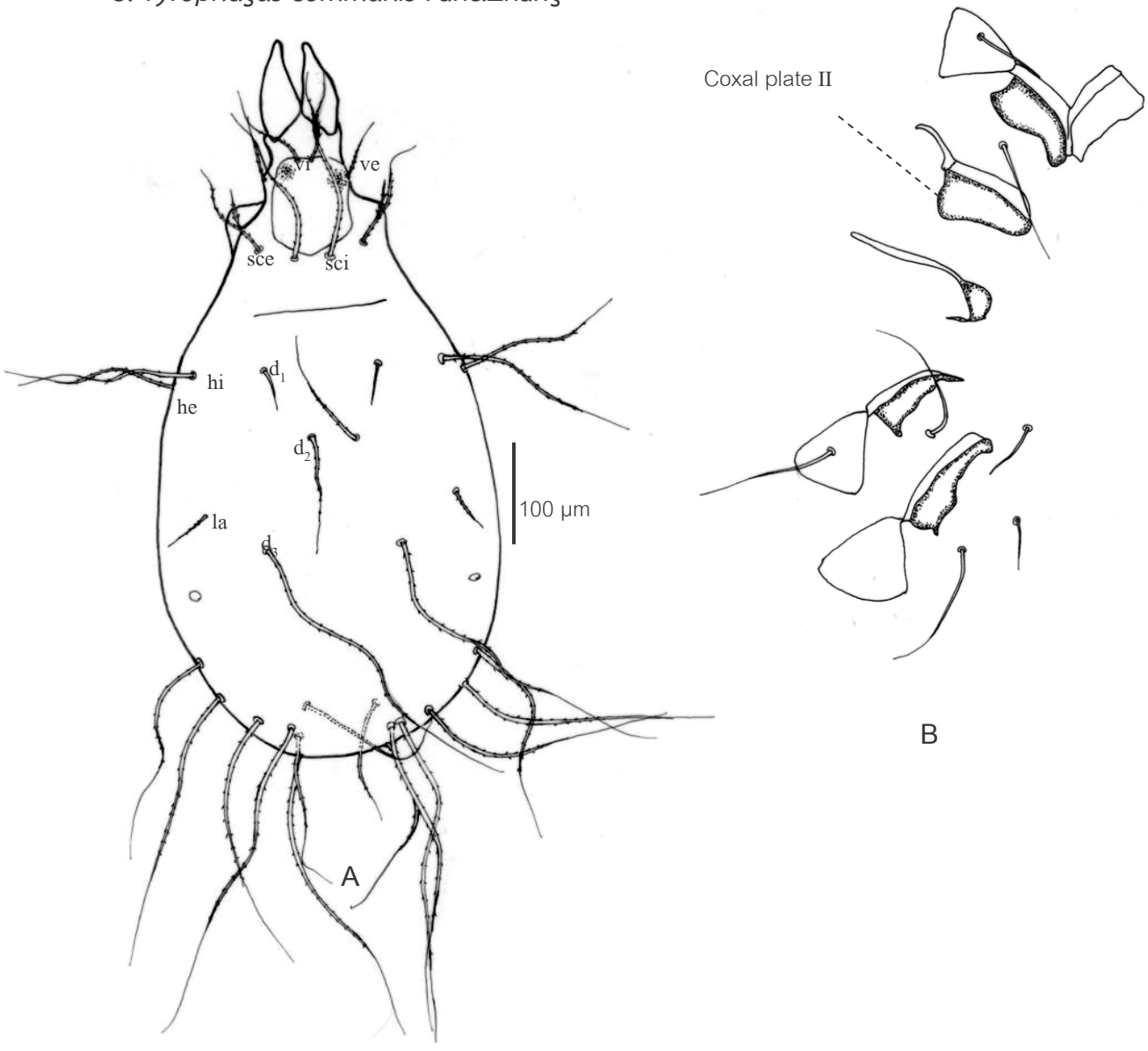


Fig. 5. *Tyrophagus communis* Fan&Zhang: A. dorsal view of female; B. coxae I-IV.

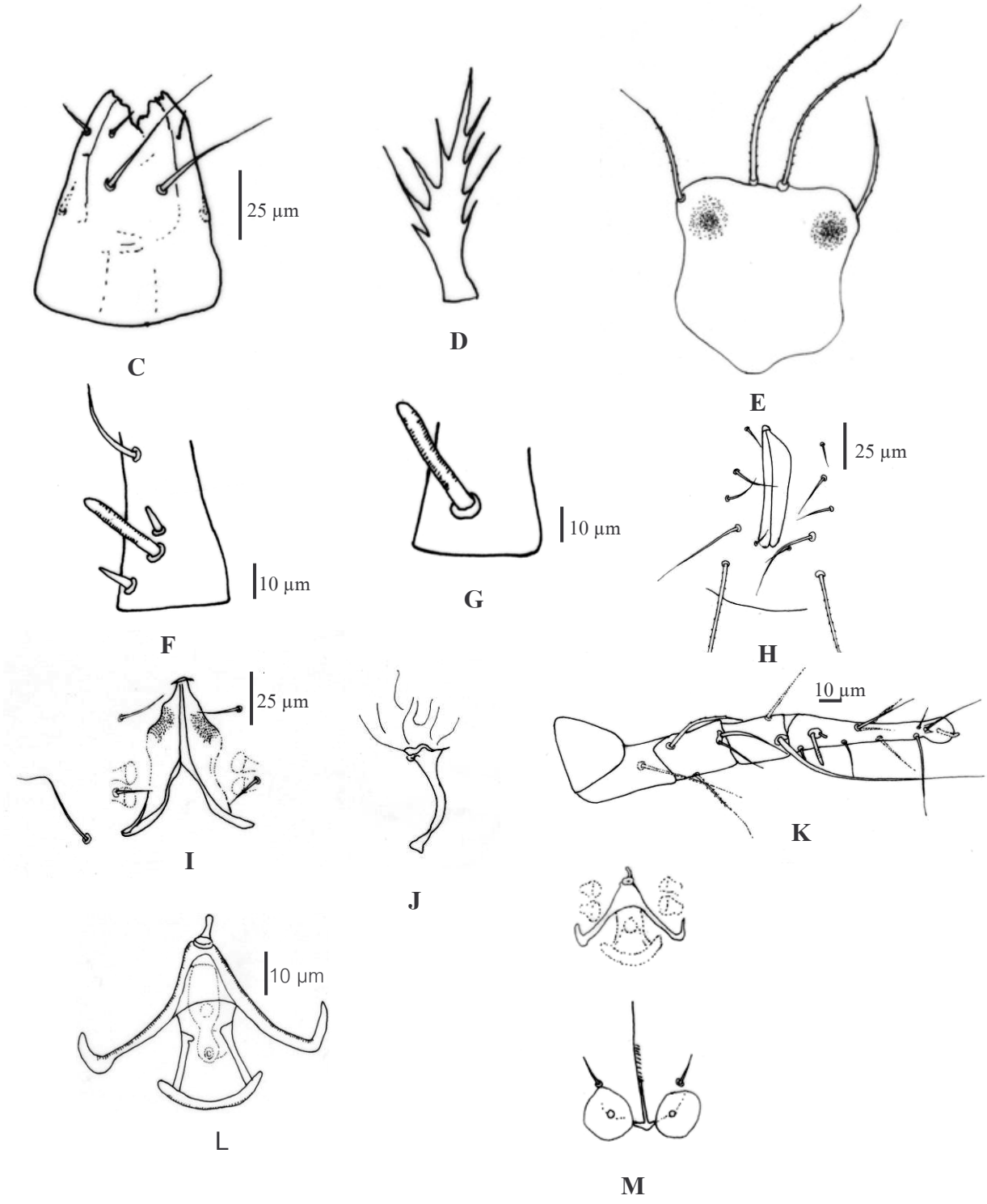
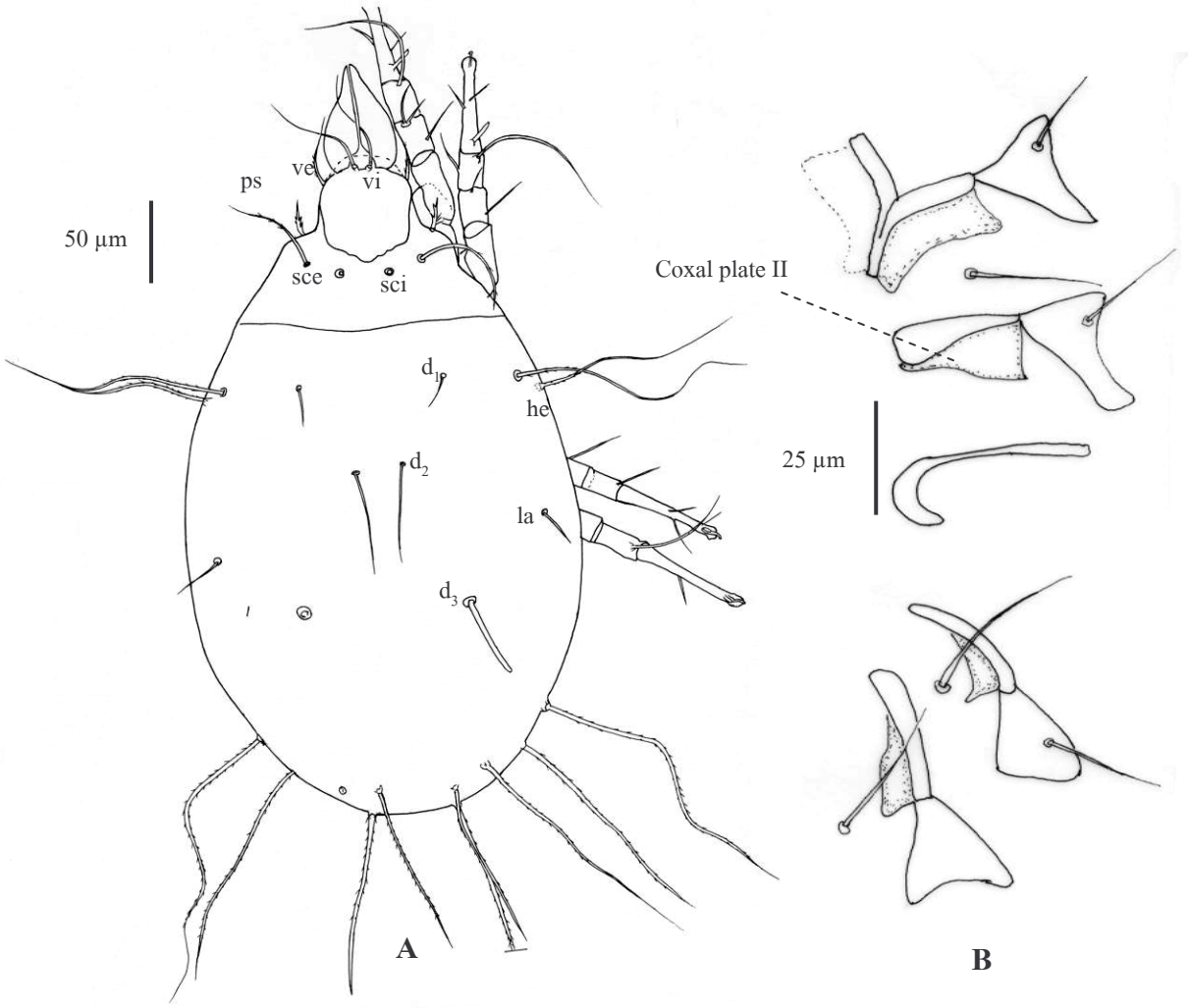


Fig. 5. (Continued) *Tyrophagus communis* Fan&Zhang (female): C. ventral view of subcapitulum D. supracoxal seta E. prodorsal shield. F. solenidion and famulus of tarsus I G. soenidion of tarsus II; H.anus; I. genital opening; J. Spermatheca; K. Leg I; L. ventral view of aedeagus ; M. aedeagus and anus

เพศเมีย ลักษณะตัวเป็นรูปไข่ มีสีขาวครีม ผิวของลำตัวมีลักษณะเรียบเป็นมันวาว(dorsal); มีขนาดความยาว idiosoma เฉลี่ย 527 µm ความกว้างเฉลี่ย 329 µm มีขนลำตัวค่อนข้างยาว โดยเฉพาะบริเวณส่วนท้ายของลำตัว ขน supracoxal seta (ps) มีลักษณะแตกแขนงออกเป็นหนามแหลม ตั้งอยู่บริเวณฐานขา coxa ของขาคู่ที่ 1 ทั้ง 2 ข้าง; แผ่นแข็งที่ฐานของ coxa ของขาคู่ที่ 2 (coxal plate II) มีลักษณะดังรูป 5B; ขน d_2 ยาวประมาณ 2-3.5 เท่าของขน d_1 มีแผ่นปิดด้านสันหลัง (prodosal shield) มีลักษณะเป็นจุดเล็ก ๆ (eyespots) อยู่ด้านบนทั้ง 2 ข้าง (Fig. 5E) บริเวณด้านล่างของลำตัว (venter) มีแผ่นแข็งเล็ก ๆ อยู่บริเวณฐาน coxa ของขาคู่ที่ 2 มีรูปร่างลักษณะอวัยวะสามเหลี่ยม ปลายมน เรียกอวัยวะนี้ว่า genital opening (Fig. 5I) ถุงเก็บน้ำเชื้อในเพศเมีย (spermatheca) มีลักษณะเป็นท่อยาวฐาน และโคนกว้าง(Fig. 5J) มีช่องเปิดของอวัยวะขับถ่ายอยู่ด้านท้องเกือบปลายสุดของลำตัว

เพศผู้ มีขนาดความยาว idiosoma เฉลี่ย 367 µm ความกว้างเฉลี่ย 253 µm รูปร่างลักษณะโดยทั่วไปคล้ายกับตัวเมีย มีขนาดความยาวของลำตัวเล็กกว่าเล็กน้อย ส่วนลำตัวด้านท้องบริเวณระหว่างปล้อง coxa ของขาคู่ที่ 4 เป็นที่ตั้งของอวัยวะเพศผู้ (aedeagus) ซึ่งประกอบไปด้วย penis เป็นตุ่มแหลม ๆ อยู่บนสุด (Fig. 5L)

6. *Tyrophagus javensis* (Oudemans)



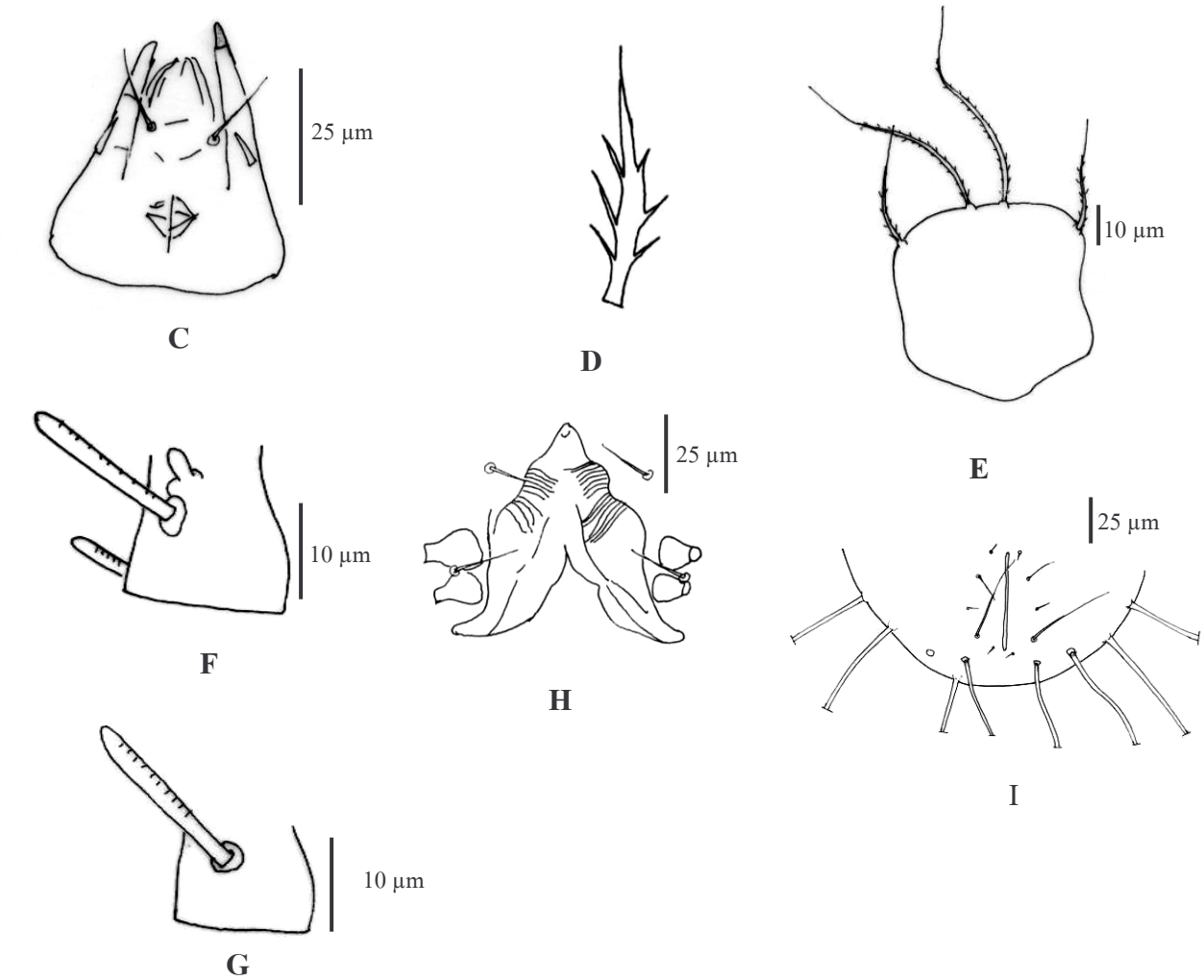


Fig. 6. (Continued) *Tyrophagus javensis* (Oudemans): C. ventral view of subcapitulum D. supracoxal seta E. prodorsal shield. F. solenidia and famulus of tarsus I G. solenidion of tasus II; I anus.

เพศเมีย ลำตัวเป็นรูปไข่ สีขาวครีม ผิวของลำตัวเรียบเป็นมันวาว; มีขนาดความยาว idiosoma ประมาณ 453 µm ความกว้างประมาณ 280 µm มีขนลำตัวค่อนข้างยาว โดยเฉพาะบริเวณส่วนท้ายของลำตัว ขน supracoxal seta (ps) มีลักษณะแตกแขนงออกเป็นหนามแหลม ไม่ขยายกว้างมาก ตั้งอยู่บริเวณฐานขา coxa ของขาคู่ที่ 1 ทั้ง 2 ข้าง ลักษณะภายนอกคล้ายไร *T. communis* ไม่สามารถแยกออกได้ เมื่อเมาท์สไลด์ถาวรจะพบว่าไร *T. javensis* มีแผ่นปิดด้านสันหลัง (prodosal shield) เรียบไม่เป็นจุด (eyespots) (Fig.6E) แผ่นแข็งที่ฐานของ coxa ของขาคู่ที่ 2 มีรูปร่างลักษณะเป็นสามเหลี่ยม (coxal plate II)(Fig. 5B)

เพศผู้ ไม่พบในตัวอย่างที่เก็บ

7. *Sancasania berlesei* (Michael)

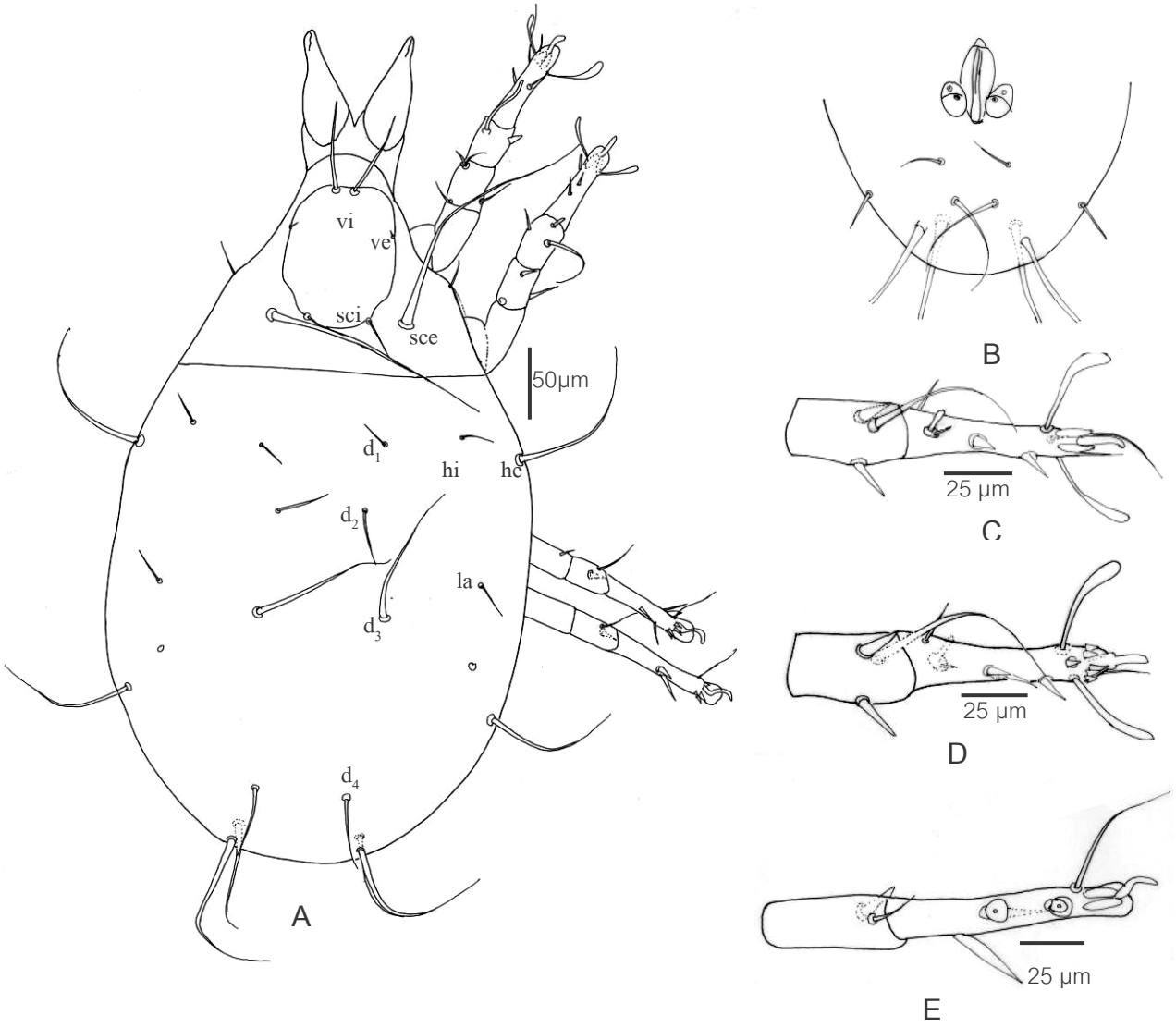


Fig. 7. *Sancasania berlesei* (Michael): A. Dorsal view of female; B. anal region of male; C. dorsal view of left leg I of male; D. ventral view of left leg I of male; E. dorsal view of left leg IV of male.

เพศเมีย มีขนาดค่อนข้างโต ขนาดความยาว idiosoma เฉลี่ย 873 µm ความกว้างเฉลี่ย 568 µm ลักษณะลำตัวเป็นรูปไข่ มีสีขาว หรือสีครีม ผิวของลำตัวเรียบเป็นมันวาว ส่วนปลายขาเรียวยาวมีสีน้ำตาล; มีขน ve ที่เล็กและสั้น อยู่ประมาณกึ่งกลางที่ขอบด้านข้างของแผ่นปิดสันหลังทั้ง 2 ข้าง (prodosal shield); ขนด้านหลังของลำตัวยาวแต่สั้นกว่าขนด้านหลังลำตัวของไรเชื้อรา *T. communis* ; ความยาวขนด้านสันหลัง d_4 มีขนาดสั้นกว่าความยาวของขน d_3; มีขน Supracoxal seta ที่อยู่เหนือปล้อง coxa ของขาคู่ที่ 1 เรียบและมีความยาวมากกว่าครึ่งหนึ่งของ

ความยาวของขน d1; บริเวณปลายขา (tarsus) มีขนที่มีลักษณะคล้ายใบไม้เป็นแผ่นบาง ๆ (Fig. 7C,D)

เพศผู้ มีลักษณะลำตัวเป็นรูปไข่ ขนาดเล็กกว่าเพศเมียขนาดความยาว idosoma เฉลี่ย 797 µm ความกว้างเฉลี่ย 477 µm มีสีขาวหรือสีครีม ลำตัวแคบกว่าเพศเมีย ส่วนท้ายของลำตัวจะเรียวเล็ก ผิวของลำตัวเรียบเป็นมันวาว ขายาวที่ปลายขา(tarsus)มีขน *ƒ* แผ่นกว้างเป็นแผ่นบางๆ

8. *Sancasania oudemansi* (Zachvatkin)

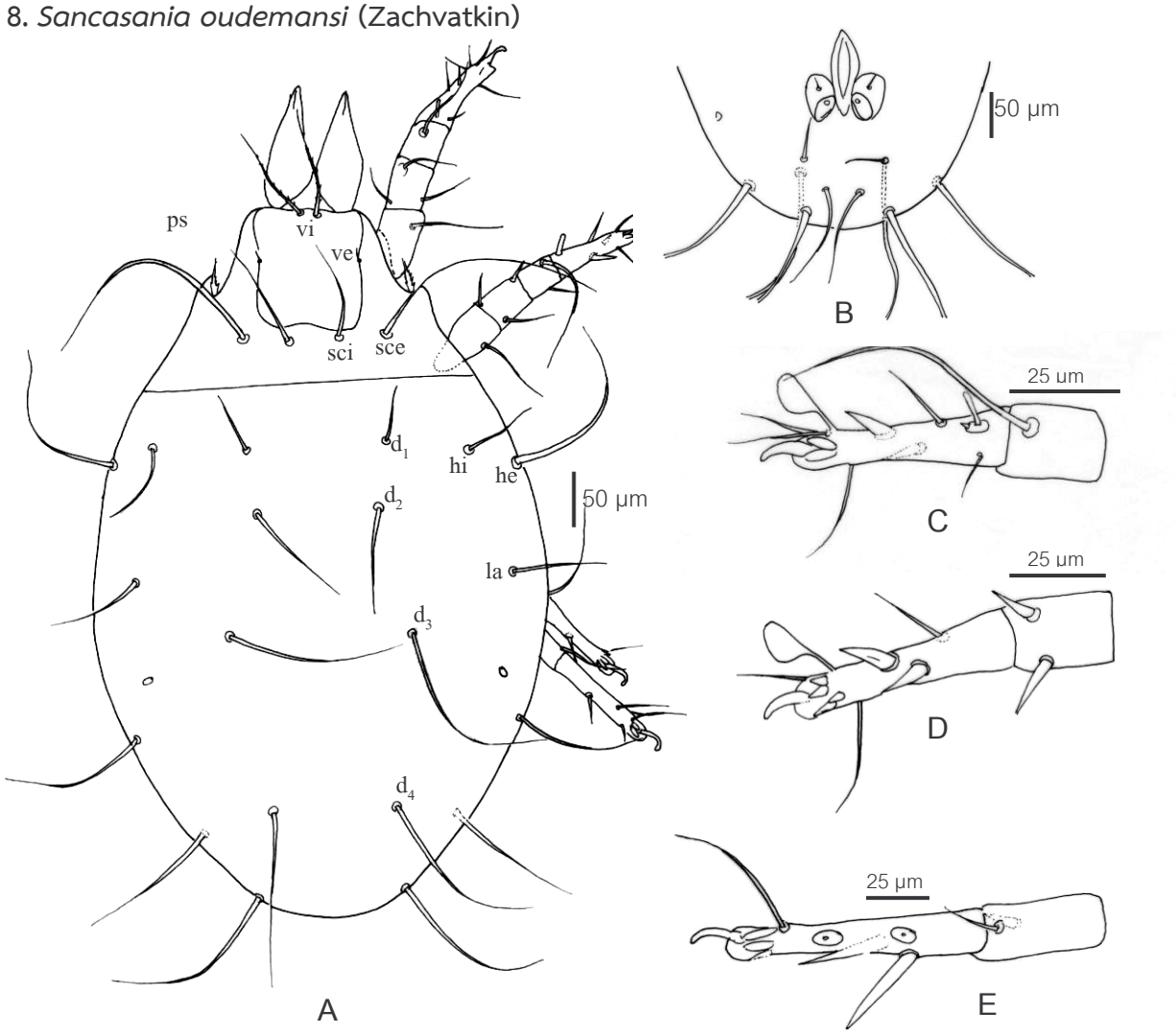


Fig. 8. *Sancasania oudemansi* (Zachvatkin) (female): A.Dorsal view ; B. anal region of male; C.dorsal view of left leg I of male; D. ventral view of left leg I of male; E. dorsal view of left leg IV of male.

เพศเมีย เป็นไรขนาดใหญ่มีความยาว idiosoma เฉลี่ย 664 µm ความกว้างเฉลี่ย 387 µm เพศเมีย มีลักษณะลำตัวเป็นรูปไข่มีสีขาวหรือสีครีม ผิวของลำตัวเรียบเป็นมันวาว ส่วนของปลายขามีสีน้ำตาล มีปลายขา (tarsus) ค่อนข้างเรียวยาว มีขนด้านสันหลังสั้น ลำตัวภายนอกคล้ายกับ *S.*

berlesei มาก ต้องนำไปทำสไลด์แล้วใช้ลักษณะทางอนุกรมวิธานในการจำแนก โดยมีขน Supracoxal seta (ps) ที่อยู่เหนือ coxa ของขาคู่ที่ 1 มีลักษณะแตกแขนงหนามแหลม ปลายเรียวแหลมโคนใหญ่

เพศผู้ มีขนาดความยาว idiosoma เฉลี่ย 489 µm ความกว้างเฉลี่ย 291 µm มีลำตัวค่อนข้างแคบกว่าในเพศเมีย ส่วนท้ายของลำตัวจะเรียวเล็ก มีสีขาวหรือสีครีม มีขายาวกว่าเพศเมียที่ปลายขา (tarsus) มีขน *f* แผ่กว้างออกเป็นแผ่นยาวๆ (Fig.8 C,D) ในบางครั้งจะพบเพศผู้มีลักษณะเปลี่ยนแปลงแบบ heteromorphic

9. *Suidasia pontifica* Oudemans

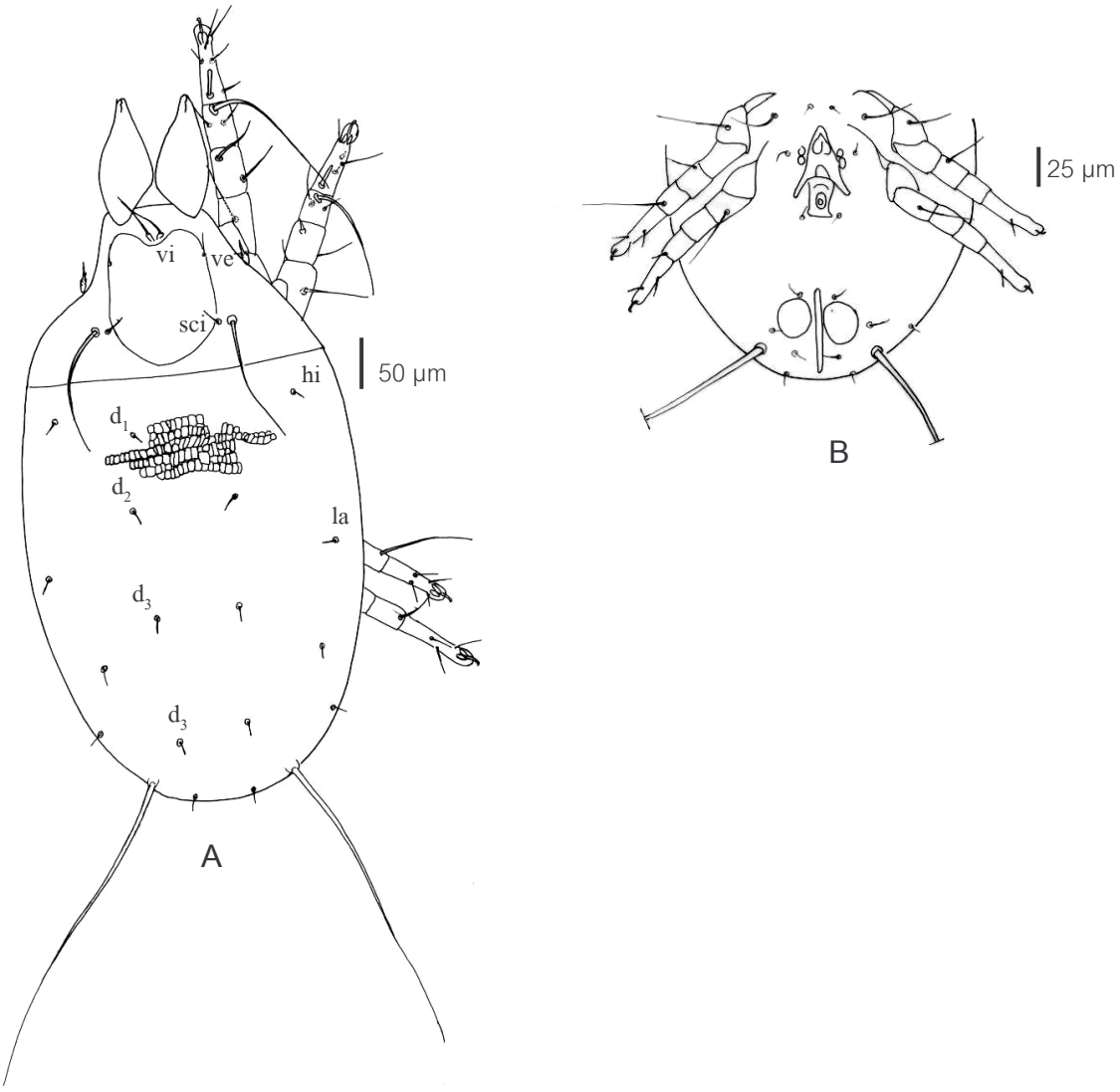


Fig. 9. *Suidasia pontifica* Oudemans; A. dorsal view of female; B. anal region of male

เพศเมีย เป็นไรที่มีขนาดค่อนข้างเล็กเมื่อเทียบกับไรศัตรูในโรงเก็บชนิดอื่นๆ ลำตัวมีลักษณะเป็นรูปไข่ มีขนาดความยาว idosoma เฉลี่ย 350 µm ความกว้างเฉลี่ย 213 µm บริเวณด้านข้างของลำตัวค่อนข้างคอดเล็กน้อย ส่วนท้ายป้าน ขนด้านสันหลังลำตัวสั้น ลำตัวมีสีขาวหรือสีครีม ขาสั้น มีสีน้ำตาล

อ่อน ผิวของลำตัวมีลักษณะเป็นรอยย่นแตกระแหงเป็นช่อง ๆ คล้ายรูปเซลล์เรียงต่อกัน ขน Supracoxal seta ตั้งอยู่เหนือปล้อง coxa ของขาคู่ที่ 1 มีลักษณะแบน แตกแขนงออกเป็นแฉกทั้ง 2 ข้างเห็นได้อย่างชัดเจน

เพศผู้ มีขนาดเล็กกว่าเพศเมียเล็กน้อยขนาดความยาว idiosoma เฉลี่ย 307 µm ความกว้างลำตัวเฉลี่ย 207 µm ลำตัวมีสีขาวหรือสีครีม รูปร่างลักษณะโดยทั่วไปคล้ายกับไรเพศเมีย แต่บริเวณส่วนท้องจะเห็นอวัยวะเพศผู้ (aedeagus) อยู่กึ่งกลางลำตัวระหว่าง coxa ของขาคู่ที่ 3 และขาคู่ที่ 4 ปลายสุดมีอวัยวะขับถ่าย บริเวณ 2 ข้างของช่องเปิดของอวัยวะขับถ่ายจะมีวงกลมเรียกว่า Sucker อยู่ข้างละวง ซึ่งล้อมรอบด้วยขนจำนวน 3 คู่ (Fig. 9B)

10. *Suidasia nesbitti* Hughes

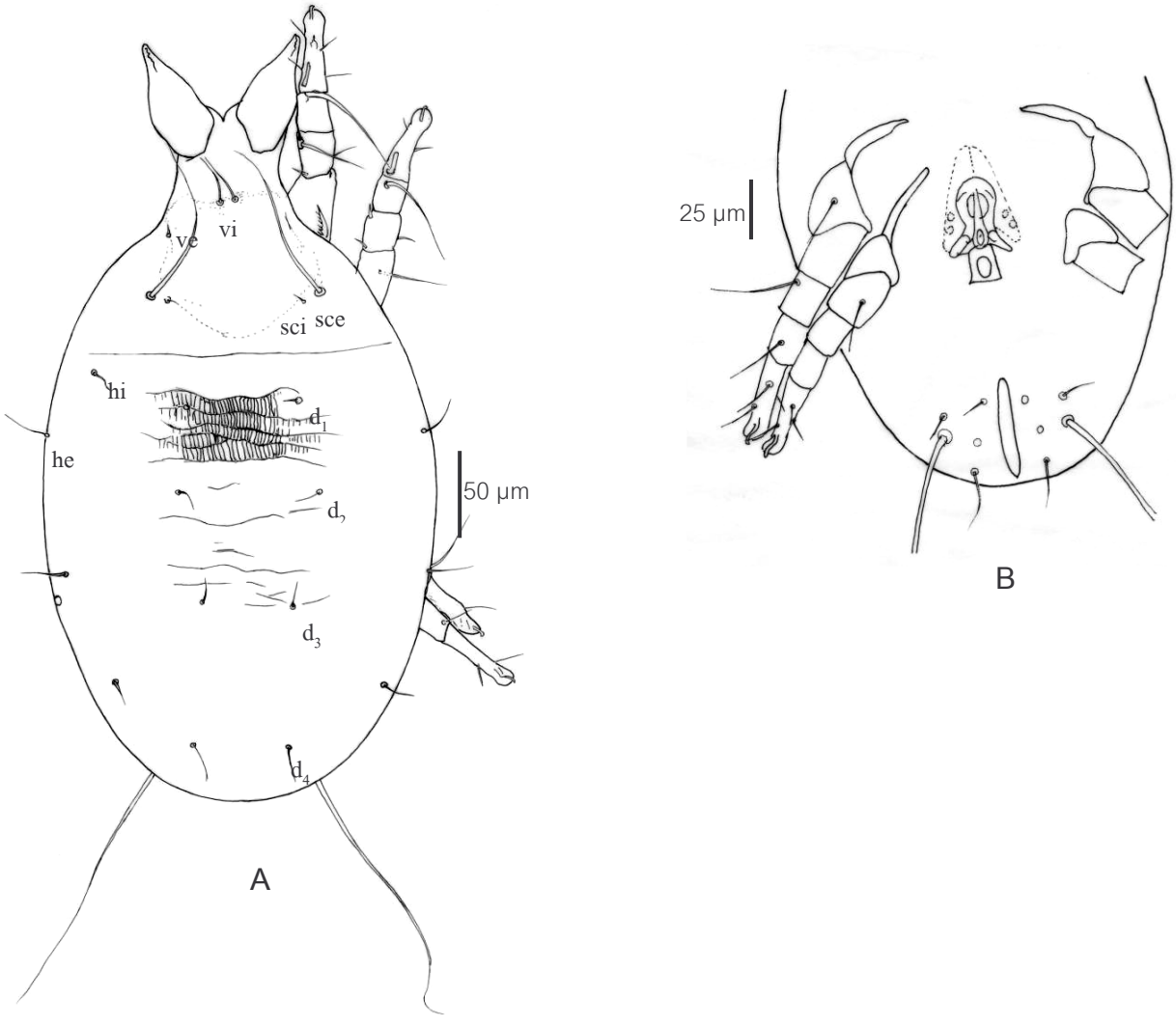


Fig. 10. *Suidasia nesbitti* Hughes (female); A. dorsal view; B. anal region of male.

เพศเมีย เป็นไรที่มีขนาดเล็กมีขนาดความยาว idiosoma เฉลี่ย 347 µm ความกว้างเฉลี่ย 207 µm ลักษณะโดยทั่วไปคล้ายกับไรผิวย่นมาก มีลำตัวเป็นรูปไข่ด้านข้างเมื่อมองขณะมีชีวิตภายใต้กล้องจุลทรรศน์จะเห็นลำตัวทั้งสองข้างคอดเล็กน้อย ขนด้านสันหลังลำตัวสั้นลำตัวมีสีขาวหรือสีครีม ผิว

ด้านหลังของลำตัวมีลักษณะเป็นรอยย่น แตกระแหงเป็นช่อง ๆ คล้ายรูปเซลล์เรียงต่อกัน แตกต่างจากไรผิวย่นคือไร *S. nesbitti* จะมีขนที่ตำแหน่ง he ยาวมากกว่าขนที่ตำแหน่ง hi อย่างชัดเจน และในเพศผู้จะไม่มี anal sucker เป็นรูปวงกลม

เพศผู้ มีความยาว idiosoma ประมาณ 287 ความกว้างประมาณ 173 µm ลักษณะโดยทั่วไปคล้ายกับไรเพศเมีย มีอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (aedeagus) อยู่กึ่งกลางลำตัว ระหว่างขน coxa ของขาคู่ที่ 3 และ 4 ไม่พบ anal sucker บริเวณช่องเปิดของอวัยวะขับถ่าย(Fig. 10 B)

11. *Rhizoglyphus setosus* Manson

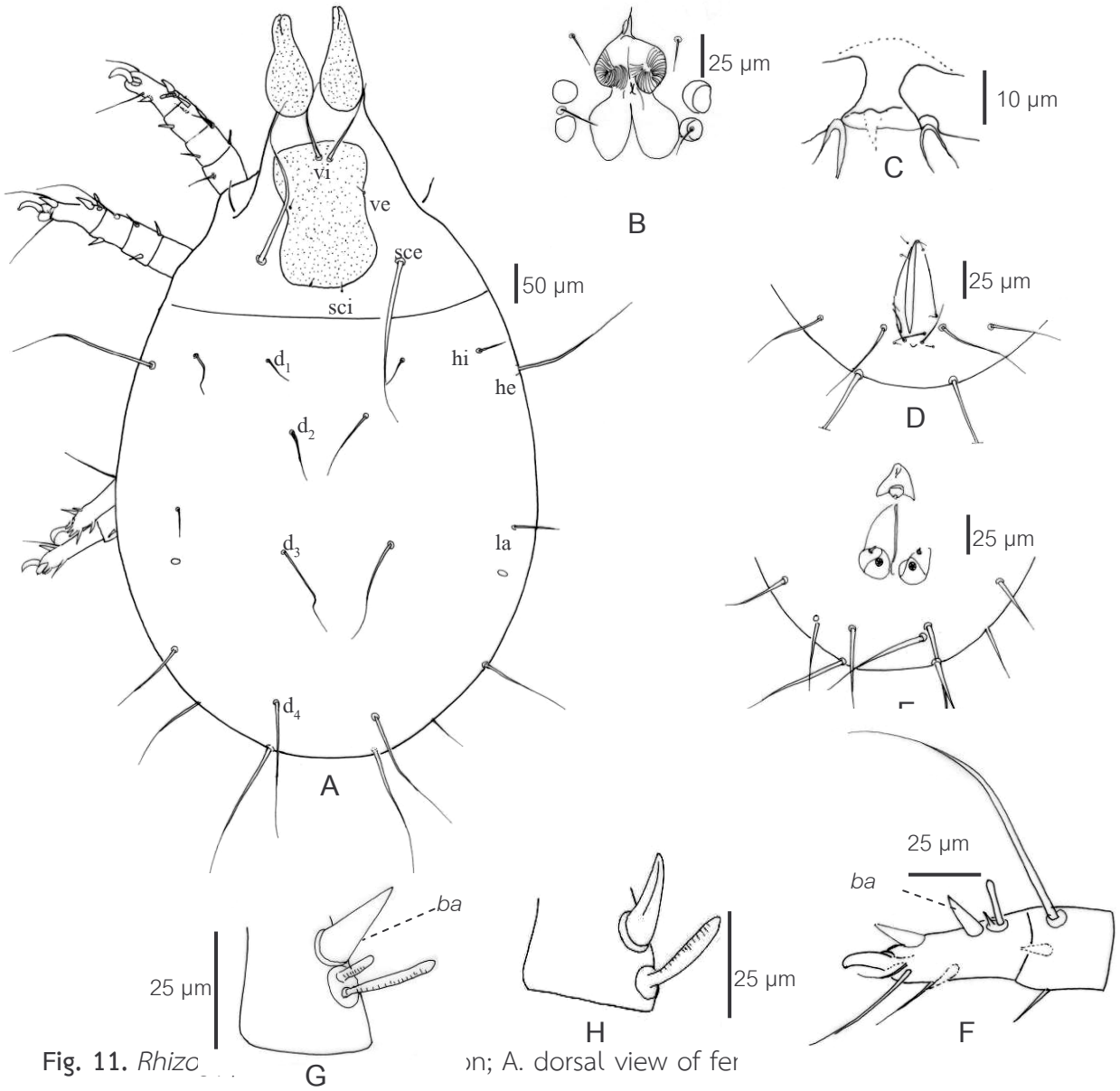
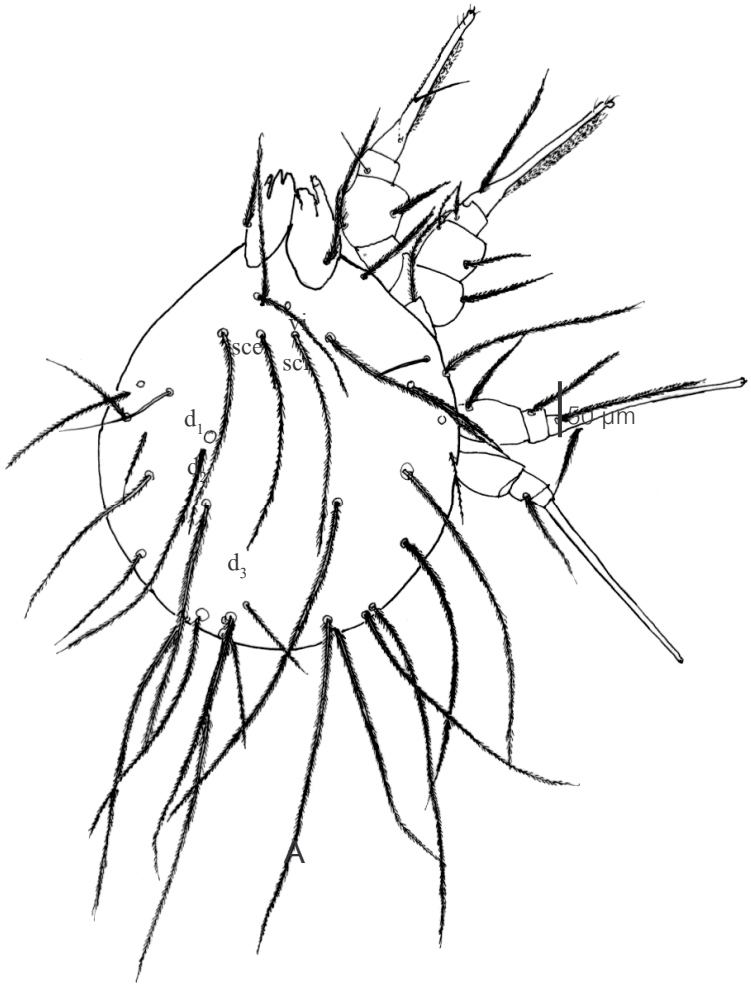


Fig. 11. *Rhizo* ɔn; A. dorsal view of fe
female; C. Copulatory opening; D. anal region of female; E. anal region of male;
F. dorsal view of tarsus I of male; G. solenidia and ba of tarsus I of female
H. solenidia and ba of tarsus II of female.

เพศเมีย ลำตัวค่อนข้างกลม มีขนาดใหญ่ความยาว idiosoma เฉลี่ย 667 µm ความกว้างเฉลี่ย 480 µm เมื่อส่องภายใต้กล้องจุลทรรน์ขณะมีชีวิตจะพบว่าผิวเรียบเป็นมันวาว มีขาสีน้ำตาลเข้ม อย่างชัดเจน ที่ปลายของ tarsus ของขาค่อนข้างสั้น ขนด้านหลังลำตัวสั้นกว่าไรในสกุล *Tyrophagus* มีขน vertical setae (ve) อยู่ต่ำลงมาบริเวณด้านข้างของแผ่นปิดด้านสันหลัง (prodosal shield) tarsus ของขาคู่ที่ 1 และ 2 มีหนามขนาดใหญ่เรียกว่า ba อยู่ใกล้กับ omega$_1$ (Fig. 11G) มีแผ่นแข็ง บริเวณท่อนำไข่ (sclerites of oviducts) ทั้ง 2 แผ่นอยู่ใกลักันมาก (Fig. 11C) บริเวณขนที่อวัยวะขับถ่าย anal มีขน ad$_1$ และ ad$_2$ ที่ยาวประมาณ 3 เท่าของความยาวของขน ps$_3$ และ ad$_3$

เพศผู้ ความกว้าง idiosoma เฉลี่ย 640 µm ความกว้างเฉลี่ย 442 µm มีลักษณะคล้ายกับไรเพศเมีย มีขนที่บริเวณอวัยวะขับถ่าย pseudanal setae (ps$_1$) มีขนาดความยาวใกล้เคียงกับ pseudanal setae (ps$_2$) มี anal discs ขนาดเล็ก (Fig. 11E)

12. *Austroglycyphagus geniculatus* (Vitzthum)



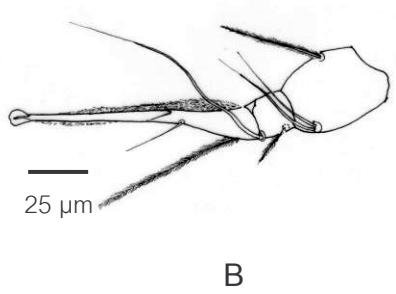


Fig. 12. *Austroglycyphagus geniculatus* (Vitzthum); A. dorsal view of female; B. dorsal view of right leg I of male.

เพศเมีย มีรูปร่างกลมขนาดความยาว idiosoma เฉลี่ย 347 µm ความกว้างเฉลี่ย 271 µm ลำตัวมีสีน้ำตาล ขนด้านสันหลังทั้งหมดมีลักษณะยาวแข็งและแตกเป็นพู่ ยกเว้นขน ที่ตำแหน่ง d_1 ซึ่งสั้นกว่าเส้นอื่นๆ และผิวเรียบไม่แตกเป็นพู่ซึ่งเป็นลักษณะเด่นที่ใช้ในการจำแนก (Fig. 12 A) ; ขามีลักษณะยาวเรียว โดยเฉพาะบริเวณปลายขา ส่วนปล้อง tibia มีลักษณะสั้นกว่าปกติ; ปลายขา tarsus มีลักษณะเป็นแผ่นบาง ๆ ที่มีขนแข็งถี่ๆ โอบรอบด้านล่าง เรียก subtarsal scale; บนปล้อง tarsus ของขาคู่ที่ 1 มีขน omega $_1$ ซึ่งมีลักษณะเป็นขนแข็งคล้ายกระบองโค้งงอและยาวผิดปกติ; ขน ba, la และ ra จะตั้งอยู่ค่อนไปทางฐานของปล้อง tarsus; ขน la แตกแขนงด้านข้าง และยาวเลยไปจนสุดของปล้อง tarsus

เพศผู้ มีขนาดความกว้าง idiosoma เฉลี่ย 348 µm ความกว้างเฉลี่ย 279 µm ขนด้านสันหลังทั้งหมดมีลักษณะยาวแข็งและแตกเป็นพู่เช่นเดียวกับเพศเมียยกเว้นขน ที่ตำแหน่ง d_1 ซึ่งสั้นกว่าเส้นอื่นๆ และผิวเรียบไม่แตกเป็นพู่

13. ***Blomia freemani*** **Hughes**

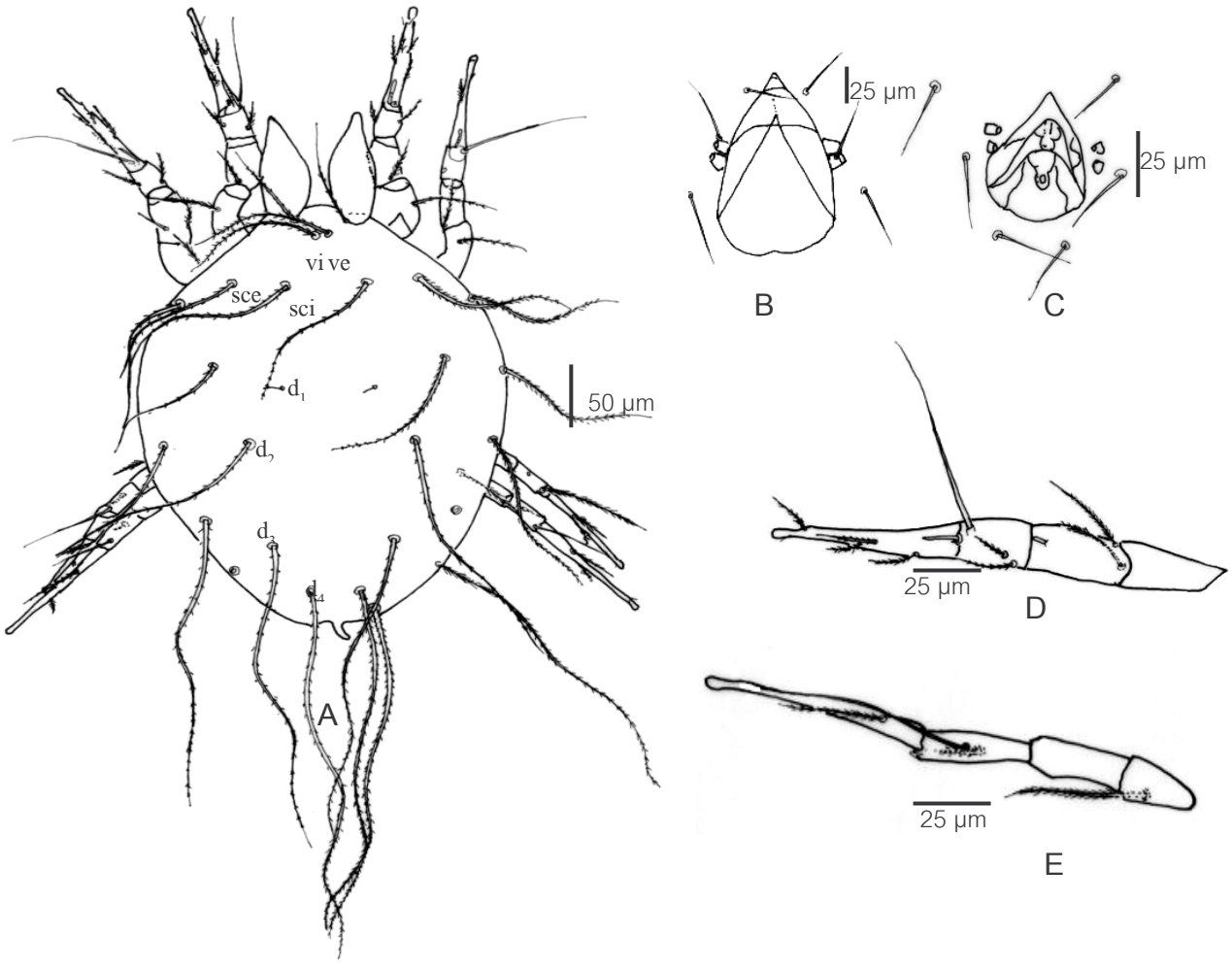


Fig. 13. *Blomia freemani* Hughes(female) ; A. Dorsal view of idiosoma; B. genital opening of ; C. aedeagus; D. dorsal view of right leg I of male; E. dorsal view of right leg IV of male.

เพศเมีย ลำตัวค่อนข้างกลม มีขนาดความยาว idiosoma เฉลี่ย 334 µm ความกว้างเฉลี่ย 260 µm ขนด้านสันหลังยาว แข็งและแตกเป็นพู่ทุกเส้นยกเว้นขนเส้น d_2 ที่สั้น เล็ก เรียบไม่แตกเป็นพู่ ไม่มี dorsal shield และ crista metopica ไม่พบร่องลึกขวางลำตัว (transverse groove) มีขน vi และ ve อยู่ชิดกันซึ่งเป็นลักษณะเด่นที่ใช้จำแนกชนิด ไม่มีเล็บ claw; มี genital opening อยู่ระหว่างฐาน coxa IV (Fig. 13 B); มีปลายขา(tarsus) เรียวยาว; tibia สั้นกว่าปกติ; ตำแหน่งการตั้งของขน sci sce และ hi เรียงกันในแนวระนาบเดียวกัน (Fig. 13A); ขน he และ d_1 มีความยาวใกล้เคียงกันและเรียงตัวอยู่ในแนวระนาบเดียวกัน

เพศผู้ มีลักษณะคล้ายกับไรเพศเมีย บริเวณด้านท้อง ระหว่างปล้อง coxa ของขาคู่ที่ 4 เป็นที่ตั้งของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (aeadeagus)

14. *Lepidoglyphus destructor* (Schrank)

Fig. 14. *Lepidoglyphus destructor* (Schrank): A. dorsal view of female; B.dorsal view of right leg I of male.

เพศเมีย มีลำตัวค่อนข้างกลม มีขนาดความยาว idiosoma ประมาณ 460 μm ความกว้างประมาณ 333 μm ขนด้านสันหลังยาวแข็.และแตกเป็นพู่ ไม่มีรองขวางลำตัว transverse groove มีขน vi และ ve อยู่ห่างกัน; ปลายขา tarsus มีลักษณะเป็นแผ่นบาง ๆ ที่มีขนแข็งถี่ๆ โอบรอบด้านล่าง เรียก subtarsal scale (Fig. 14B) ที่ปล้อง genul มีขน sigma2 ยาวมากกว่าขน $sigma_1$ ประมาณ 3 เท่า

เพศผู้ มีขนาดความยาว idiosoma ประมาณ 380 μm ความกว้างประมาณ 280 μm บริเวณด้านท้องระหว่าง coxa ของขาคู่ที่ 4 เป็นที่ตั้งของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (aeadeagus)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการจำแนกชนิดไรศัตรูในโรงเก็บและผลิตผลทางการเกษตรโดยใช้ลักษณะทางอนุกรมวิธานที่สำคัญ เช่น ลักษณะของ pedipalps การมีหรือไม่มีเส้นแบ่งขวางลำตัวระหว่าง propodosoma และ hysterosoma, ลักษณะลายที่พบบนผิวลำตัว ลักษณะเล็บ ความยาวของขนบนลำตัวด้านสันหลัง ตำแหน่งของขน ve (vertical setae) ความยาวของขน sci และ sce ลักษณะของขน supracoxal setae ที่ตั้งอยู่เหนือปล้อง coxa ของขาคู่ที่ 1 และ ลักษณะของหนามที่ปลายขา ฯลฯ ทำให้สามารถจำแนกชนิดไรได้รวมทั้งสิ้น 35 ชนิด 12 วงศ์ เป็นไรศัตรูในโรงเก็บและผลิตผลทางการเกษตรรวมทั้งสิ้น 23 ชนิด 4 วงศ์ ได้แก่ วงศ์ Eriophyidae 1 ชนิด วงศ์ Acaridae 15 ชนิด Histiostomidae 1 ชนิด และวงศ์ Glycyphagidae 6 ชนิด ส่วนที่เหลืออีก 13 ชนิด 8 วงศ์ เป็นไรศัตรูธรรมชาติ

ไรศัตรูในโรงเก็บส่เพศผู้และเพศเมียของแต่ละชนิดจะมีลักษณะที่คล้ายกันมากจนไม่สามารถแยกเพศของไรศัตรูในโรงเก็บได้ในสภาพที่มีชีวิต จึงต้องทำสไลด์ถาวรไรเพศผู้จำนวนมากเพื่อให้ได้ไรเพศผู้มาใช้ในการจำแนกชนิด อย่างไรก็ตามมีอีกวิธีหนึ่งที่พอจะแยกไรเพศผู้และเพศเมียได้แต่ต้องใช้ความชำนาญในการดูลักษณะที่สำคัญและต้องทำการสังเกตลักษณะต่าง ๆ ที่ใช้แยกเพศภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ทำได้โดยหยดน้ำยา Hoyer’s solution จากนั้นเขี่ยไรที่มีชีวิตแต่ละตัวลงบนน้ำยา ใช้เข็มเขี่ยเขี่ยตัวไรให้หงายท้องขึ้น ซึ่งวิธีการเขี่ยตัวไรลงในน้ำยานี้จะช่วยให้สังเกตอวัยวะต่าง ๆ ได้ชัดเจนขึ้น จากนั้นสังเกตอวัยวะในส่วนของ anal region (Fig. 2D, 3C, 5M,(7-10)B, 11E) หรือส่วนของ aedeagus (4-5ฎ, 13ค) หรือการสังเกตไรเพศผู้บางชนิดในระยะ heteromorphic เช่น ไรในสกุล *Rhizoglyphus, Sancasania* ขาคู่ที่ 3 ของเพศผู้จะมีขนาดใหญ่ หรือแตกเป็นแฉก ซึ่งแตกต่างจากขาคู่อื่น ๆ อย่างชัดเจน

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2548. แมลงที่พบในผลิตผลเกษตรและการป้องกันกำจัด. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ. 150 น.

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

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

Pearson, D. . Import Health Standard Commodity Sub-class: Fresh fruit/vegetables Garlic Allium sativum from the people's Republic of China [Online]. Available: http://www.Biosecurity.govt.nz/imports/plants/standards/garlic pro.pdf.[2006,February 20]

Suthasanee, B, C. Lekprayoon and W. Meckvichai. 1980. Insects and Mite found on Stored garlic in Thailand Natural History Bulletin of the Siam society. Vol 34(2): 105-113.

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

Zachvatkin, A. A. 1941. Fauna of the U.S.S.R. Arachoidea.VI, no. 1. Tyroglyphoidea Acari. [Trans by A. Ratcliffe and A.M. Hughes. 1959. A.I.B.S. (Washington, D.C.) 573

ภาคผนวก

ลักษณะทางอนุกรมวิธาน (Fig 1.)

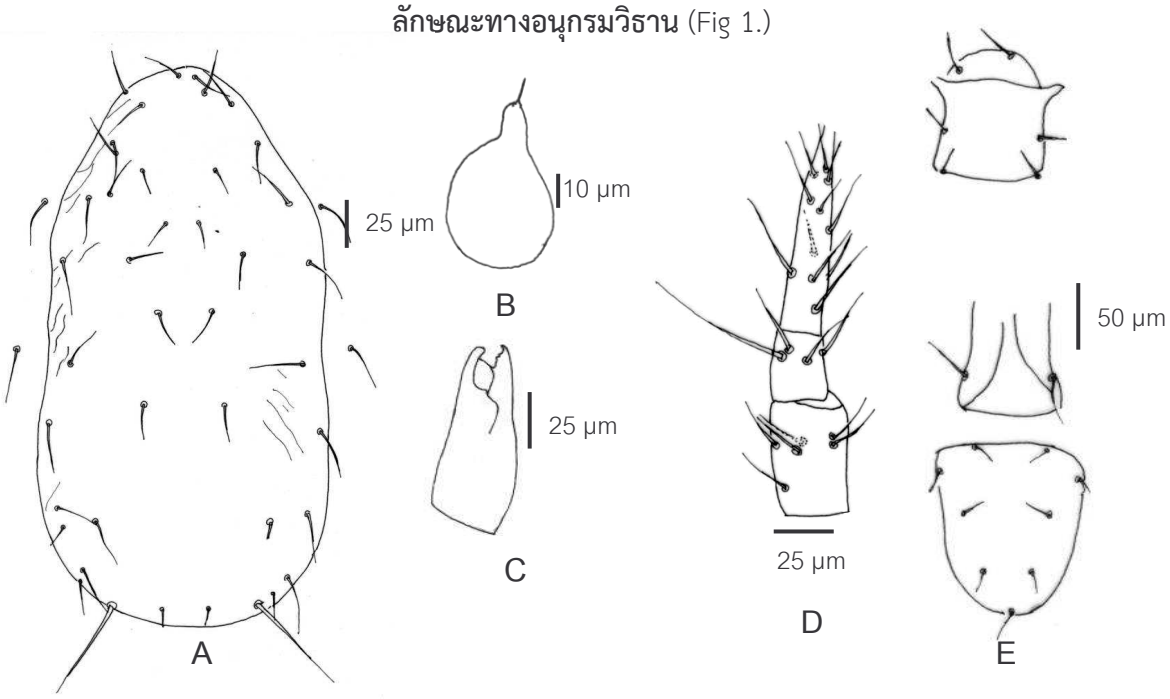


Fig 1. *Amblyseius cucumeris* (female): A. dorsal shield; B. spermatheca; C. Chelicerae ; D. venter of idiosoma; E. genu, tibia and basitarsus of leg IV**.**

ลักษณะทางอนุกรมวิธาน (Fig 2.)

Fig 2. *Cheletomorpha lepidopteron* (Shaw): dorsal shield

ลักษณะทางอนุกรมวิธาน (Fig 3.)

Fig 3. *Cheyletus malaccensis* Oudemans: dorsal shield

การศึกษาอนุกรมวิธานไรแมงมุมในสกุล *Oligonychus*

Taxonomic Study on Spider mite in Genera *Oligonychus*

พลอยชมพู กรวิภาสเรือง มานิตา คงชื่นสิน
เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างไรศัตรูพืชในสกุล *Oligonychus* ของประเทศไทย บนพืชชนิดต่าง ๆ รวม 37 ชนิด ตั้งแต่เดือน ก.ค. 2547-มี.ค. 2553 บนพื้นที่ 23 จังหวัด เพื่อนำมาศึกษาลักษณะอนุกรมวิธาน และจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ โดยใช้ลักษณะที่สำคัญในการจำแนกชนิด เช่น ลักษณะของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ ลักษณะลายบนผิวของลำตัวด้านสันหลัง ระหว่างขน e1 และ f1 ลักษณะท่อหายใจ Peritreme บริเวณปลาย palp ที่ปรากฏทั้งเพศผู้และเพศเมีย จำนวนขนและลักษณะขนที่ปรากฏบนปล้องต่าง ๆ ของขา ฯลฯ ผลจากการศึกษาลักษณะอนุกรมวิธานพบไรในสกุล *Oligonychus* ทั้งหมด 7 ชนิดได้แก่ *Oligonychus biharensis* Hirst, *O. mangiferus* (Rahman and Sapra), *O. punicae* (Hirst) , *O. modestus* (Banks), *O. velascoi* Rimando, *O. orthius* Rimando และ *Oligonychus* sp. สำหรับไรตัวห้ำที่พบร่วมกับไรศัตรูพืชในสกุล *Oligonychus* พบ 11 ชนิด ทั้งหมดเป็นไรตัวห้ำที่อยู่ในวงศ์ phytoseiidae 9 ชนิด ส่วนอีก 2 ชนิดอยู่ในวงศ์ Cunaxidae และ Stigmaeidae

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-44-51

คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม ซึ่งปัจจุบันได้ประสบปัญหากับศัตรูพืชหลายชนิด ไม่ว่าจะเป็นโรค แมลง และไร ไรจัดเป็นศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งและเนื่องจากมีขนาดเล็ก ยากแก่การมองเห็นด้วยตาเปล่า อาการที่เข้าทำลายในระยะแรกเห็นได้ไม่ชัดเจนนัก เมื่อมีการระบาดอย่างรุนแรงจึงทให้ยากแก่การกำจัด โดยเฉพาะไรในวงค์ Tetranychidae ซึ่งจัดเป็นกลุ่มไรที่มีความสำคัญระบาดทำความเสียหายกับพืชเศรษฐกิจหลายชนิด โดยไรจะเข้าทำลายพืชด้วยการดูดกินน้ำเลี้ยง จากใบ ลำต้น ผล และดอก ไรจะอยู่เป็นกลุ่ม และสร้างเส้นใยขึ้นคลุมไข่ ตัวอ่อน และตัวเต็มวัย บริเวณที่ถูกไรดูดกินจะมีลักษณะเป็นจุดประ ขาวซีด และแผ่ขยายเป็นปื้นเหลือง หรือสีขาว เมื่อระบาดรุนแรงจะทำให้ใบร่วง พืชหยุดชะงักการเจริญเติบโต และมีผลกระทบต่อผลผลิต ไรที่พบในประเทศไทยมีอยู่หลายสกุลเช่น *Eutetranychus, Eotetranychus, Schizotetranychus, Tetranychus* และ *Oligonychus* โดยเฉพาะไรในสกุล *Oligonychus* ซึ่งจัดเป็นกลุ่มไรที่มีความสำคัญ เข้าทำลายพืชปลูกได้กว้างหลากหลายชนิด เช่น Fleschner *et al*. (1956) ; Wanibushi and Saito (1983) ไรจัดเป็นศัตรูพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งเนื่องจากมีขนาดเล็ก ไรสามารถเคลื่อนย้ายและแพร่ระบาดได้อย่างรวดเร็ว เช่นโดยการเดิน อาศัยลมพัดพาไปเช่น ไรแมงมุมชนิด *Panonychus citri* McGregor, *Oligonychus punicae* (Hirst), *Oligonychus ununguis* (Jacobi) และ *Eotetranychus sexmaculatus* (Rley) ในปี 1975 Jeppson และคณะ พบไรแดงมะม่วงในอินเดีย ฮาวาย เปรู มอริเชียส และอียิปต์ ปี 2004 Cranshaw และ Sclar พบไรสองจุด twospotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch) เข้าทำลายพืชปลูกได้จำนวนมาก ประกอบด้วยพืชตระกูลผักเช่น ถั่ว มะเขือม่วง ในไม้ผลเช่น เรสเบอรี่ ลูกเกต ลูกสาลี่ และในไม้ดอก นอกจากนี้ยังพบไร *O. ununguis* ในพืชจำพวกสน และไร *Oligonychus subnudus* (McGregor) ในสับปะรด นอกจากนี้ยังมีรายงานพบไรในสกุลนี้คือ *Oligonychus perseae* Tuttle เป็นศัตรูที่สำคัญของอาโวกาโดที่ประเทศไอแลนด์ โดยพบร่วมกับ *Tetraleurodes perseae* (European and Mediterranean Plant Protection Organization, 2004) ซึ่งไร *O. perseae* เป็นไรที่มีความสำคัญโดย EPPO ได้ขึ้นบัญชีรายชื่อไร ให้เป็นศัตรูที่สำคัญของการส่งออก โดยพบไร *O. perseae* ครั้งแรกในปี 1975 ที่ประเทศแมกซิโก ในด่านกักกันพืช ที่แทกซัส ประเทศสหรัฐอเมริกา และพบต่อมาตรวจพบไรชนิดนี้ในกล้วยไม้ที่แคลิฟลอเนียในปี 1990 และ เป็นศัตรูที่สำคัญในลาตินอเมริกา

สำหรับในประเทศไทยวัฒนาและคณะ (2544) ได้รายงานพบไรในสกุล *Tetranychus* อีกหลากหลายชนิดเช่นไรสองจุด ไรแดงกระเจี๊ยบ ไรแดงหม่อน ฯลฯ และไรในสกุล *Oligonychus* เช่น ไรแดงชา *O. coffeae* ระบาดรุนแรงในสภาพอากาศแห้งแล้ง ไรแดงมะม่วง *O. mangiferus* มักพบระบาดค่อนข้างสูงประมาณเดือนธันวาคม-กุมภาพันธ์และจะลดต่ำสุดในช่วงที่มีฝนตกชุกในเดือนกรกฎาคม-กันยายน นอกจากนี้ยังพบไรในสกุล *Oligonychus* อีกหลากหลายชนิดเช่น *O. simus* เข้าทำลายข้าวฟ่างและ อ้อย ไร *O. biharensis* เข้าทำลาย ชมพู่ ส้ม ลิ้นจี่ พุทรา ฝรั่ง ฯลฯ

เนื่องจากในประเทศไทยยังไม่มีผู้รวบรวมชนิด พืชอาศัย เขตการแพร่กระจาย ของไรใน สกุล นี้อย่างแท้จริง ดังนั้นในการศึกษาอนุกรมวิธานของไรในสกุล *Oligonychus* จึงนับว่าเป็นประโยชน์ในการทราบถึงพืชอาศัยได้กว้างขึ้น และเป็นความรู้พื้นฐานในการป้องกันกำจัดต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

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

2. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการเตรียมตัวอย่างไร เพื่อการศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธาน : ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์ (stereomicroscope) , ตะเกียงแอลกอฮอล์ โคมไฟ เข็มเขี่ยปลายแหลม และปลายงอ สำลี ตู้อบ/เครื่องอุ่นสไลด์ ตั้งอุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียส แป้นหมุนสำหรับผนึกขอบสไลด์ น้ำยาผนึกขอบสไลด์

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

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

5. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการเก็บตัวอย่างไร ได้แก่ ถุงกระดาษ ถุงพลาสติกใสขนาดต่าง ๆ แอลกอฮอล์ 95% และสารเคมีสำหรับดองตัวอย่าง

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

วิธีการ

1. การเก็บตัวอย่างไรแมงมุม ในสกุล *Oligonychus*

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

1.2. โดยใช้พู่กันเขี่ยตัวอย่างไรออกจากส่วนต่าง ๆ ของพืชที่แสดงอาการ ผิดปกติ ลงในขวดดองที่บรรจุแอลกอฮอล์ 70% (ควรเติม glycerine ลงไปในขวดดอง 2-3 หยด เพื่อป้องกันไม่ให้

ตัวอย่างแข็ง) ซึ่งไรในสกุล *Oligonychus* จะใช้ไรทั้งตัวผู้และ ตัวเมียในการจำแนก บันทึกข้อมูล ชื่อผู้เก็บ สถานที่เก็บ และวันที่ที่เก็บตัวอย่างไร วิธีนี้เหมาะสำหรับการเก็บตัวอย่างไร ในท้องที่ที่ห่างไกล

1.3. การทำสไลด์ถาวรภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด Stereomicroscope หยด Hoyer's solution ลงบนสไลด์ 1 หยด ใช้พู่กันเขี่ยตัวไรลงบนหยดน้ำยาจัดตัวอย่างไรให้อยู่ในสภาพที่เห็นส่วนต่าง ๆ ได้ชัดเจน ส่วนไรตัวผู้ให้จัดท่าทางในลักษณะตะแคงข้าง เพื่อตรวจดูลักษณะของอวัยวะสืบพันธุ์ จากนั้นปิดสไลด์ด้วย แผ่นปิดสไลด์ นำสไลด์ขึ้นอังบนตะเกียงแอลกอฮอล์พอร้อนเพื่อให้อวัยวะส่วนต่าง ๆ ยืดออก และเพื่อไล่ฟองอากาศ นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ประมาณ 1 สัปดาห์ ผนึกขอบ แผ่นปิดสไลด์ ด้วยน้ำยา ทาเล็บ และปิดป้ายบันทึกข้อมูลเกี่ยวกับสถานที่เก็บ วันที่ ชื่อผู้เก็บและพืชอาศัยที่ด้านขวามือของแผ่นสไลด์

2. การศึกษาลักษณะอนุกรมวิธานของไรในสกุล *Oligonychus*

นำตัวอย่างไรที่ทำสไลด์ถาวรแล้วมาศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานภายใต้กล้อง compound microscope จำแนกชนิด จากตำราต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง วาดรูปแสดงลักษณะสำคัญที่ใช้ในการจำแนกชนิดพร้อมทั้งทำ key สำหรับใช้ในการจำแนกชนิดของไรแมงมุมในสกุล *Oligonychus* บนพืชต่าง ๆ ในประเทศไทยปิดป้ายบันทึกผลการจำแนกไว้ด้านซ้ายมือของแผ่นสไลด์ก่อนที่จะนำเข้าเก็บในพิพิธภัณฑ์ต่อไป

เวลาสถานที่

ทำการศึกษาระหว่างเดือน ก.ค. 2547-มี.ค. 2553 โดยการสำรวจและเก็บตัวอย่างบนพื้นที่ 23 จังหวัด ได้แก่ นครปฐม เพชรบุรี กรุงเทพ นนทบุรี สมุทรสงคราม สมุทรสาคร สระบุรี ลพบุรี เพชรบูรณ์ กาญจนบุรี ราชบุรี สุพรรณบุรี กำแพงเพชร ระยอง ชลบุรี ฉะเชิงเทรา กาฬสินธ์ ขอนแก่น นครราชสีมา ลำปาง เชียงใหม่ เชียงราย และ กระบี่

ผลและวิจารณ์การทดลอง

1. การเก็บตัวอย่างไรแมงมุม ในสกุล *Oligonychus*

ผลจากการสำรวจและจำแนกชนิดไรในสกุล *Oligonychus* ของประเทศไทยบนใบพืชชนิดต่าง ๆ รวมทั้งสิ้น 37 ชนิดได้แก่ ฝรั่ง น้อยหน่า พุทรา ชมพู่ ข้าว ตะแบก ฯลฯ (Table 1.) ตั้งแต่เดือน ก.ค. 2547-มี.ค. 2553 บนพื้นที่ 23 จังหวัด พบไรศัตรูพืชในสกุล *Oligonychus* ทั้งหมด 7 ชนิดได้แก่ *Oligonychus biharensis* Hirst, *O. mangiferus* (Rahman and Sapra), *O. punicae* (Hirst) ,*O. modestus* (Banks), *O. velascoi* Rimando, *O. orthius* Rimando และ *Oligonychus* sp. (Table 1.) อย่างไรก็ตามไรในสกุล *Oligonychus* ของประเทศไทย ยังมีรายงานพบอีกหลายชนิด โดย Ehara และ Wongsiri, 1975 ได้รายงานพบไรในสกุลนี้ 3 ชนิด ด้วยกันคือ *Oligonychus coffeae* (Nietner), *Oligonychus yasumatsui* Ehara & Wongsiri, *Oligonychus oryzae* (Hirst) (Table 1)

สำหรับไรศัตรูธรรมชาติ พบรวมทั้งสิ้น 9 ชนิด 3 วงศ์ได้แก่ วงศ์ Phytoseiidae 6 ชนิดคือ *Amblyseius aizawai* Ehara and Bhandhufalck, *Amblyseius cinctus* Corpuz and Rimando, *Amblyseius largoensis* (Muma), *Amblyseius longispinosus* (Evans),*Amblyseius nicholsi* Ehara & Lee, *Amblyseius syzygii* Gupta และ *Phytoseius* sp.ส่วนอีก 2 ชนิดอยู่ในวงศ์ Cunaxidae และวงศ์ Stigmaeidae.(Table 2.)

Table 1. *Oligonychus* mite pests found in Thailand. (July 2004-March 2010)

Scientific name of mite	Host plant	Location	Reference
Oligonychus biharensis (Hirst)	Guava, Sweet apple, JujubeRose apple, Manila tamarind, Cassava, Longan, Orchid tree	Nakhon Pathom	
	Manila tamarind, Rose, Jujube	Phetchaburi	
	Eriobotrga bengalensis (Roxb.) Hook.f.forma	Petchabun	
	Snowy orchis tree, Rose apple, Rose, Cassava, Orchid tree	Kanchanaburi	
	Durian, Cassava	Rayong	
	Tamarind	Chiang Rai	
	Plum, Rose apple	Chiang Mai	
	Sweet apple,Horse-tamarind	Lop Buri	
	Walsura pinnata Hassk., Snowy orchis tree, Cassava Sweet apple, Rose, Litchi, Painted spurge	Nakhon Ratchasima	
	Cassava, Sweet apple, Guava, Tamarind	Suphan Buri	
	Horse-tamarind, Rose apple, Litchi	Samut Songkram	
	Longan	Kamphaeng Phet	
	Cassava	Bangkok	
	Ground nut	Khon Khaen	

Scientific name of mite	Host plant	Location	Reference
Oligonychus coffeae (Nietner)	*Combretum quadrangulare* Kurz.	Ayutthaya	(Ehara & Wongsiri, 1975)
Oligonychus mangiferus (Rahman and Sapra)	Grape	Samut Sakhon Sara Buri , Ratchaburi,Nakhon Pathom	
	Crape myrtle	Bangkok	
	Mango	Nonthaburi , Krabi, Bangkok Suphan Buri, Chon Buri ,Nakhon Ratchasima, Ratchaburi,Nakhon Pathom	
	Weed	Ratchaburi	
	Rose apple, Mango	Kalasin	
	Rhododendron arboretum Sm.	Chiang Rai	
	Longan, Mango	Nakhon Pathom	
Oligonychus punicae (Hirst)	Indian oak	Lop Buri	
	Kiwi	Chiang Mai	
	Pomegranate	Chachoeng Sao	
Oligonychus modestus (Banks)	Rice, Finger grass,Barnyardgrass	Bangkok	
	Coconut	Chachoengsao Kanchanaburi, Nakhon Pathom	
	Coconut, grass	Nakhon Pathom	
Oligonychus velascoi Rimando	Banana	Nakhon Ratchasima	
	Corn	Phetchabun	
	Coconut, Corn	Kamphaeng Phet	
Oligonychus orthius Rimando	Banana	Kanchanaburi	
	Grass, Corn	NaKhon Ratchasima	
	Grass, Lemon grass	Khon Khaen	

Scientific name of mite	Host plant	Location	Reference
	Corn	Kalasin	
Oligonychus oryzae (Hirst)	Corn	Mae Sai, Chiang rai)	(Ehara & Wongsiri, 1975
Oligonychus yasumatsui Ehara & Wongsiri	*Pinus kesiya* Gard	Chiang Mai	(Ehara & Wongsiri, 1975)
	Pine	Doi Chiang Dao, Chiang Mai	(Ehara & Wongsiri, 1975)
Oligonychus sp.	Peach	Phetchabun	
	Cassava	Rayong	
	Tamarind	Lampang	
	Lemongrass	Khon Khaen	
	Pomegranate	Suphan Buri	
	Rose apple	Chiang Mai	

Table 2. Predatory mite associated with *Oligonychus* mite in Thailand.

Scientific name of predatory mite	Associated mite pest	Plant	Location
Family Phytoseiidae			
Amblyseius aizawai Ehara and Bhandhufalck	*Oligonychus biharensis* (Hirst)	Cassava	Nakhon Pathom
	Oligonychus orthius Rimando	Corn	Nakhon Ratchasima
Amblyseius cinctus Corpuz and Rimando	*Oligonychus biharensis* (Hirst)	Tamarind	Chiang Rai
		Rose	Petchaburi
Amblyseius largoensis (Muma)	*Oligonychus mangiferus* (Rahman and Sapra)	Rose apple	Kalasin
	Oligonychus biharensis (Hirst)	Painted spurge,	Nakhon Ratchasima
		guava, Sweet apple	Suphan buri
	Oligonychus modestus (Banks)	Coconut	Kanchanaburi
Amblyseius longispinosus (Evans)	*Oligonychus modestus* (Banks)	Barnyard, grass	Bangkok
	Oligonychus sp.	Cassava	Rayong
Amblyseius sp.	*Oligonychus biharensis* (Hirst)	Guava	Nakhon Pathom

Scientific name of predatory mite	Associated mite pest	Plant	Location
Amblyseius nicholsi Ehara & Lee	*Oligonychus biharensis* (Hirst)	Sweet apple Horse - tamarind	Lop Buri
	Oligonychus mangiferus(Rahman and Sapra)	Grape	Saraburi
Amblyseius syzygii Gupta	*Oligonychus biharensis* (Hirst)	Tamarind	Chiang Rai
Amblyseius deleoni (Muma and Denmark)	*Oligonychus mangiferus*(Rahman and Sapra)	Mango	Suphan Buri
Phytoseius sp.	*Oligonychus biharensis* (Hirst)	Jujube	Nakhon Pathom, Kamphaeng Phet
Family Cunaxidae	*Oligonychus biharensis* (Hirst)	Guava	Nakhon Pathom
Family Stigmaeidae	*Oligonychus biharensis* (Hirst)	Guava	Nakhon Pathom

2. การศึกษาลักษณะอนุกรมวิธานของไรในสกุล *Oligonychus*

จากการศึกษาลักษณะอนุกรมวิธานของไรในสกุล *Oligonychus* เพื่อนำมาจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ โดยใช้ลักษณะที่สำคัญในการจำแนกชนิด เช่น ลักษณะของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ ลักษณะลายบนผิวของลำตัวด้านสันหลัง ระหว่างขน e1 และ f1 ลักษณะท่อหายใจ Peritreme บริเวณปลาย palp ที่ปรากฏทั้งเพศผู้และเพศเมีย จำนวนขนและลักษณะขนที่ปรากฏบนปล้อง ต่าง ๆ ของขา ฯลฯ พบไรในสกุล *Oligonychus* ทั้งหมด 7 ชนิด สามารถจำแนกชนิดได้ 6 ชนิด สำหรับ key ที่ใช้ในการจำแนกและลักษณะทางอนุกรมวิธานของไรในสกุล *Oligonychus* แต่ละชนิดมีดังนี้

Key to species of *Oligonychus* in Thailand

1. Tibia I with 7 tectile setae.....2
- Tibia I with 9 tectile setae and tibia II with 7 tectile setae.....3
2. Aedeagus bent an acult angle to shaft bent portion about half as long as distal margin of shaft(Fig. 2e).....*mangiferus* (Fig. 2)
- Aedeagus bent at a slight abtuse angle, bent portion about three quarters the rather broad and ending in fenger like projection.....*punicae* (Fig. 5)
3. Peritreme restrores distally (Fig. 1b), aedeagus with terminal knob very long sickle shape(Fig. 1e).....*biharensis* (Fig. 1)
- Peritreme ending in a simple bulb (Fig. 3b, 4b, 6 b).....4

4. Aedeagus without terminal knob, the distal port not evenly sigmoid (Fig.6e) .....*velascoi* (Fig. 6)
- Aedeagus without terminal knob and not slender distal part.....*orthius* (Fig. 4)
- Aedeagus with short, large angular head with short beak.....*modestus* (Fig.3)

1. *Oligonychus biharensis* (Hirst)

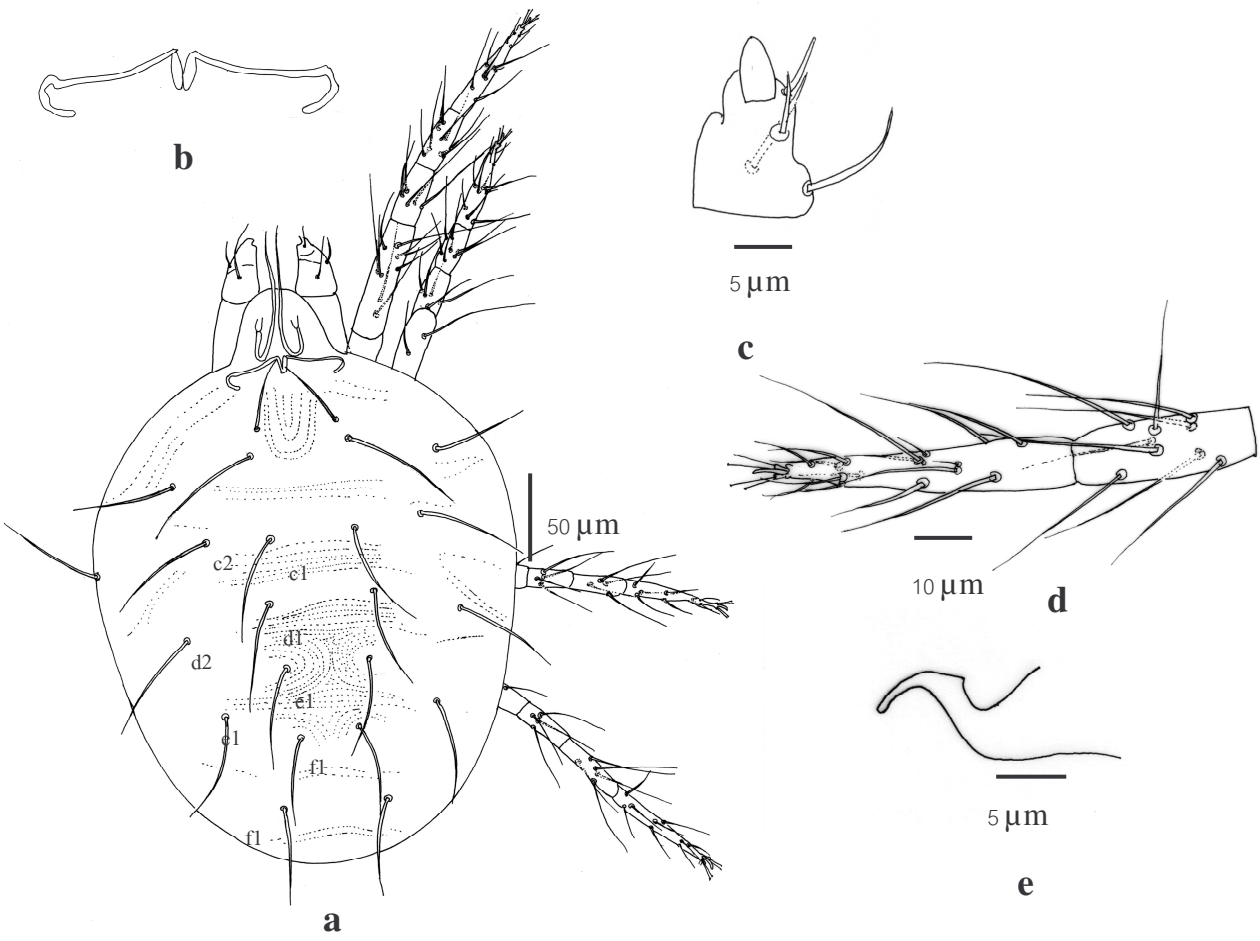


Fig 1. *Oligonychus biharensis* (Hirst) (female**):** a. dorsum; b. peritreme ; c. distal segment of palpus; d. tibia and tarsus; e. aedeagus of male.

เพศเมีย: ความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย 551 ไมครอน กว้าง 383 ไมครอน ; ลักษณะของลำตัวเป็นรูปไข่ บริเวณด้านหน้าของลำตัวกว้างกว่าด้านท้าย สีลำตัวขณะมีชีวิตมีสีแดงเข้ม หรือสีน้ำตาลขึ้นอยู่กับอาหารที่กิน ขามีสีส้มอ่อน อาศัยดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณบนใบพืช มีตา ocelli เป็นจุดสีแดงอยู่ 2 ข้าง ลำตัว ; ปล้องขาแต่ละปล้องค่อนข้างยาว empodium ที่ปลายขามีลักษณะเป็นเล็บงองุ้มด้านล่างของเล็บมีแผ่นขน (proximoventral hair) ปลายแตกออกเป็น 3 คู่ ที่ขาคู่ที่ 1 บริเวณปล้อง tibia มีขน tectile setae จำนวน 9 เส้น ขาคู่ที่ 2 บริเวณปล้อง tibia มี ขน tectile setae จำนวน

7 เส้น;ลักษณะลายหรือรอยย่น (Striae) บนผิวของลำตัวด้านสันหลัง มาจนท้ายสุดของลำตัวเรียงตัวกันเป็นแนวขวาง (transvers) ; duplex setae ที่อยู่บนปล้องของ tarsus ของขาคู่ที่ 1 อยู่ใกล้กัน **เพศผู้:** มีความยาวลำตัวประมาณ 396 ไมครอน; อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ มีลักษณะคล้ายเคียว **(**Fig. 1e)

2. *Oligonychus mangiferus* (Rahman)

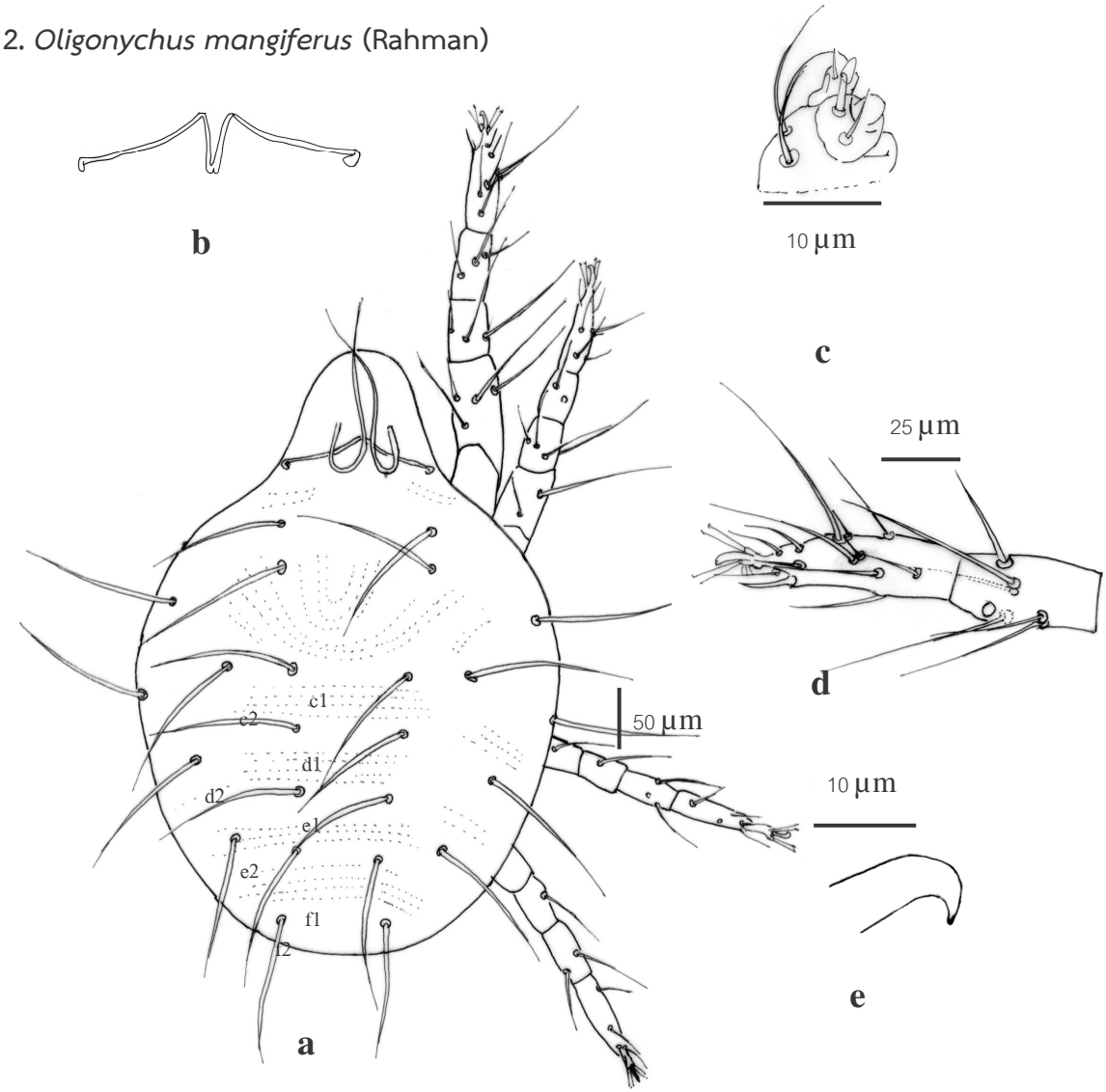


Fig 2. *Oligonychus mangiferus* (Rahman) (female**):** a. dorsum; b. peritreme; c. distal segment of palpus; d. tibia and tarsus; e. aedeagus of male.

เพศเมีย: ความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย 426 ไมครอน กว้าง 290 ไมครอน ; สีลำตัวขณะมีชีวิตมีสีแดงเข้ม บริเวณลำตัวด้านสันหลังตอนหน้า (propodosoma) และขามีสีชมพูหรือสีส้มอ่อน อาศัยดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณบนใบพืช มีตา ocelli เป็นจุดสีแดงอยู่ 2 ข้าง ลำตัว ; ปล้องขาแต่ละปล้องค่อนข้างยาว empodium ที่ปลายขามีลักษณะเป็นเล็บงองุ้ม ด้านล่างของเล็บมีแผ่นขน (proximoventral hair) ; ขาคู่ที่ 1 บริเวณปล้อง tibia มีขน tectile setae จำนวน 7 เส้น และ sensory setae 1

เส้น; ปล้อง tarsus ของขาคู่ที่ 1 มี tectile setae 3 เส้น และ sensory setae 1 เส้น อยู่เหนือ duplex setae ขึ้นมาทางโคนปล้อง

เพศผู้: มีความยาวลำตัวประมาณ 426 ไมครอน; อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ มีลักษณะคล้ายตะขอ (Fig. 2 e)

3. *Oligonychus modestus* (Banks)

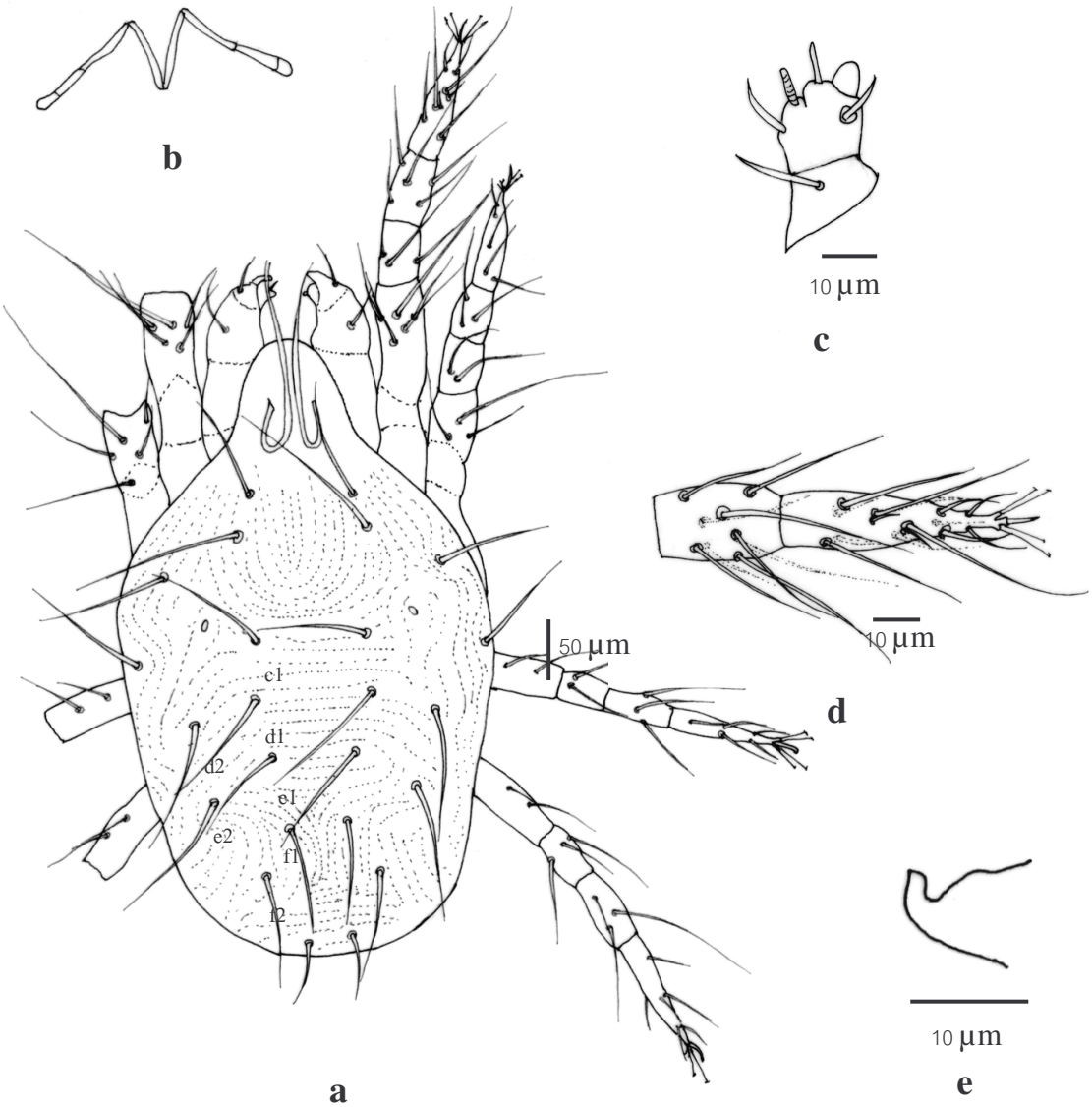


Fig 3. *Oligonychus modestus* (Banks) (female): a. dorsum; b. peritreme; c. distal segment of palpus; d. tibia and tarsus; e. aedeagus of male.

เพศเมีย: ความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย 405 ไมครอน กว้าง 240 ไมครอน ; ลักษณะของลำตัวเป็นรูปไข่ สีลำตัวขณะมีชีวิตมีสีเขียวอ่อน หรือสีเขียวอมเหลือง อาศัยดูดกินน้ำเลี้ยงพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ; บริเวณลำตัวด้านสันหลังตอนหน้า (propodosoma) มีลาย striae เรียงตัวตามยาว; Spinneret มีความยาวมากกว่าไม่ถึง 2 เท่า ของความกว้าง (Fig 3. c) ปล้องขาแต่ละปล้องมี empodium ที่ปลาย

ขามีลักษณะเป็นเล็บงองุ้ม ที่ขาคู่ที่ 1 บริเวณปล้อง tibia มีขน tectile setae จำนวน 9 เส้น (Fig 3 d) ; duplex setae ที่อยู่บนปล้องของ tarsus ของขาคู่ที่ 1 อยู่ใกล้กัน

เพศผู้: มีความยาวลำตัวประมาณ 358 ไมครอน; อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ มีลักษณะดังรูปภาพ (Fig 3e.)

4. *Oligonychus orthius* Rimando

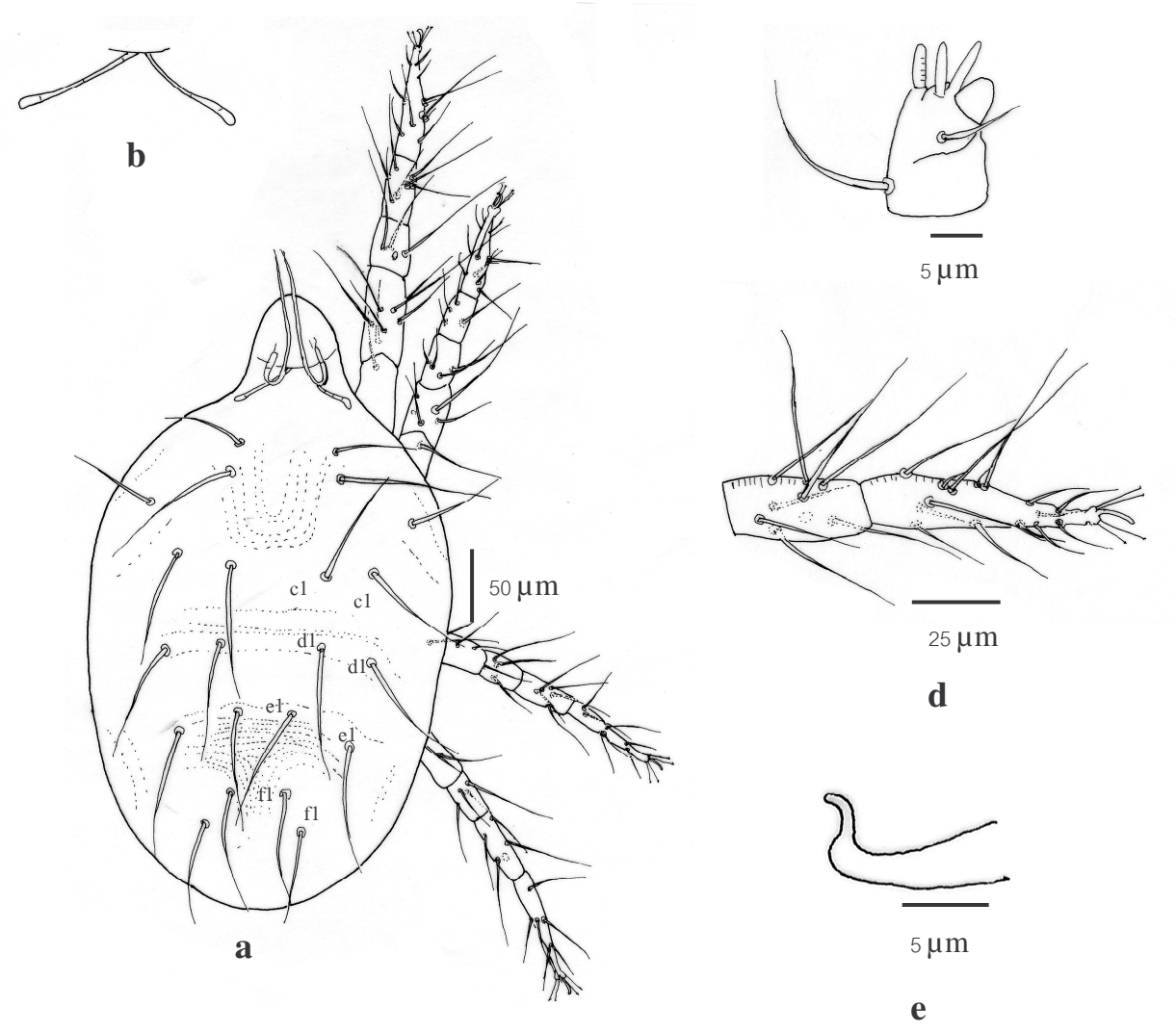


Fig 4. *Oligonychus orthius* Rimando (female): a. dorsum; b. peritreme; c. distal segment of palpus; d. tibia and tarsus; e. aedeagus of male.

เพศเมีย: ความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย 441 ไมครอน กว้าง 264 ไมครอน ; ลักษณะของลำตัวเป็นรูปไข่ บริเวณด้านหน้าของลำตัวกว้างกว่าด้านท้าย สีลำตัวขณะมีชีวิตมีสีเขียวอ่อน หรือสีเขียวอมเหลือง ; ปล้องขาแต่ละปล้องค่อนข้างยาว empodium ที่ปลายขามีลักษณะเป็นเล็บงองุ้ม; ที่ขาคู่ที่ 1 บริเวณปล้อง tibia มีขน tectile setae จำนวน 9 เส้น; ลักษณะลายหรือรอยย่น (Striae) บนผิว

ของลำตัวด้านสันหลัง ระหว่างขน ะ f1 อยู่ในลักษณะเรียงตามยาว ; Spinneret ยาวไม่ถึง 2 เท่าของความกว้าง

เพศผู้: มีความยาวลำตัวประมาณ 349 ไมครอน; อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ ส่วนปลายมีลักษณะคล้ายพวยกา (Fig 4 e.)

5. *Oligonychus punicae* (Hirst)

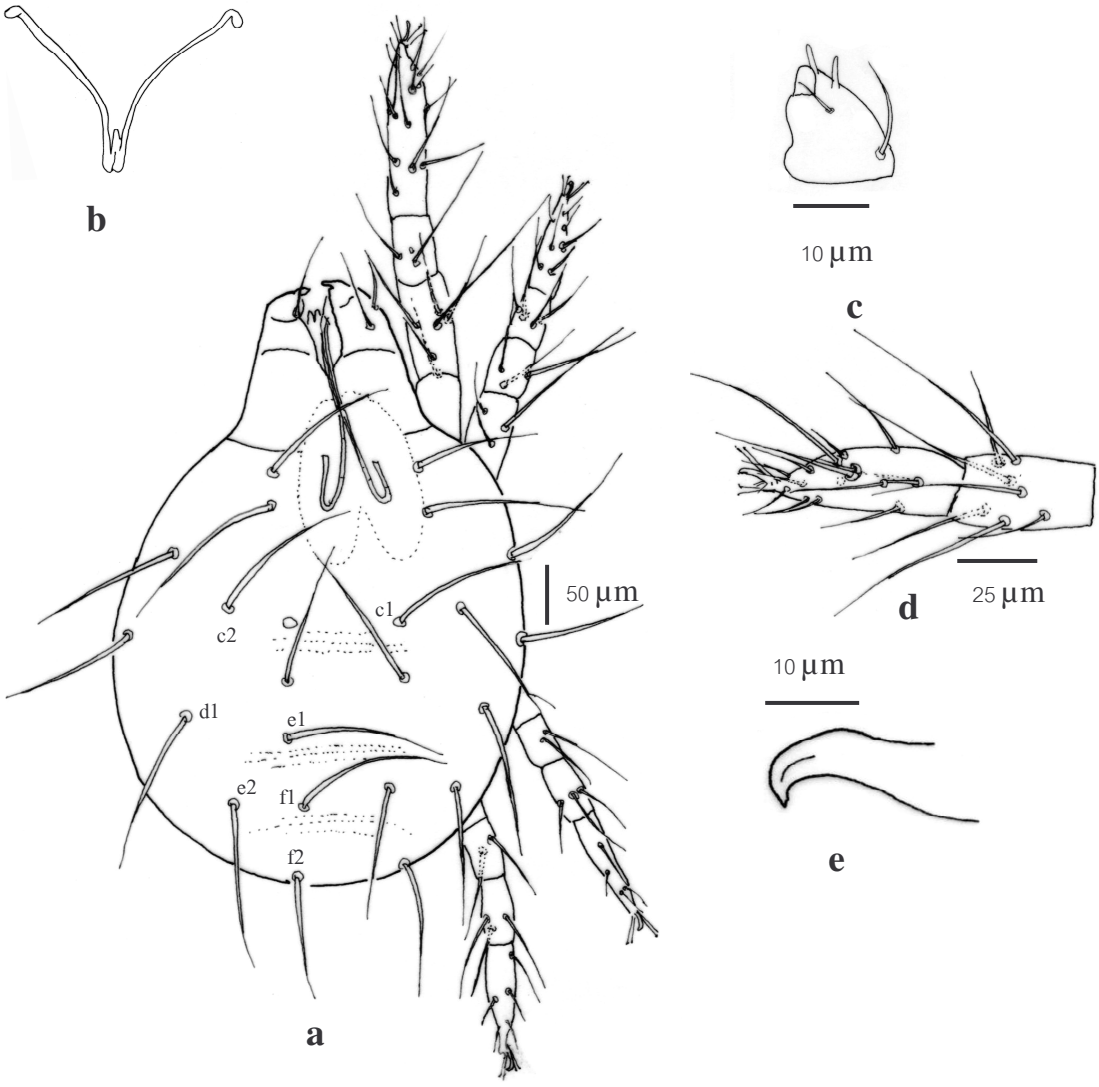


Fig 5. *Oligonychus punicae* (Hirst)(female): a. dorsum; b. peritreme; c. distal segment of palpus ; d. tibia and tarsus ; e. aedeagus of male.

เพศเมีย: ความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย 337 ไมครอน กว้าง 248 ไมครอน ; สีลำตัวขณะมีชีวิตมีสีแดงเข้ม หรือสีน้ำตาล ขึ้นอยู่กับอาหารที่กิน อาศัยดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณบนใบพืช มีตา ocelli เป็นจุดสีแดงอยู่ 2 ข้าง ลำตัว ; ปล้องขาแต่ละปล้องค่อนข้างยาว empodium ที่ปลายขามีลักษณะเป็นเล็บงองุ้ม ที่ขาคู่ที่ 1 บริเวณปล้อง tibia มีขน tectile setae จำนวน 7 เส้น duplex setae ที่อยู่

บนปล้องของ tarsus ของขาคู่ที่ 1 อยู่ใกล้กัน**;** Spinneret มีขนาดความยาวท่า ๆ ของความกว้าง; ลักษณะลายหรือรอยย่น (Striae) บนผิวของลำตัวด้านสันหลัง มาจนท้ายสุดของลำตัวเรียงตัวกันเป็นแนวขวาง (transvers)

เพศผู้: มีความยาวลำตัวประมาณ 333 ไมครอน; อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ มีลักษณะคล้ายตะขอ (Fig 5 e.)

6. ***Oligonychus velascoi*** **Rimando**

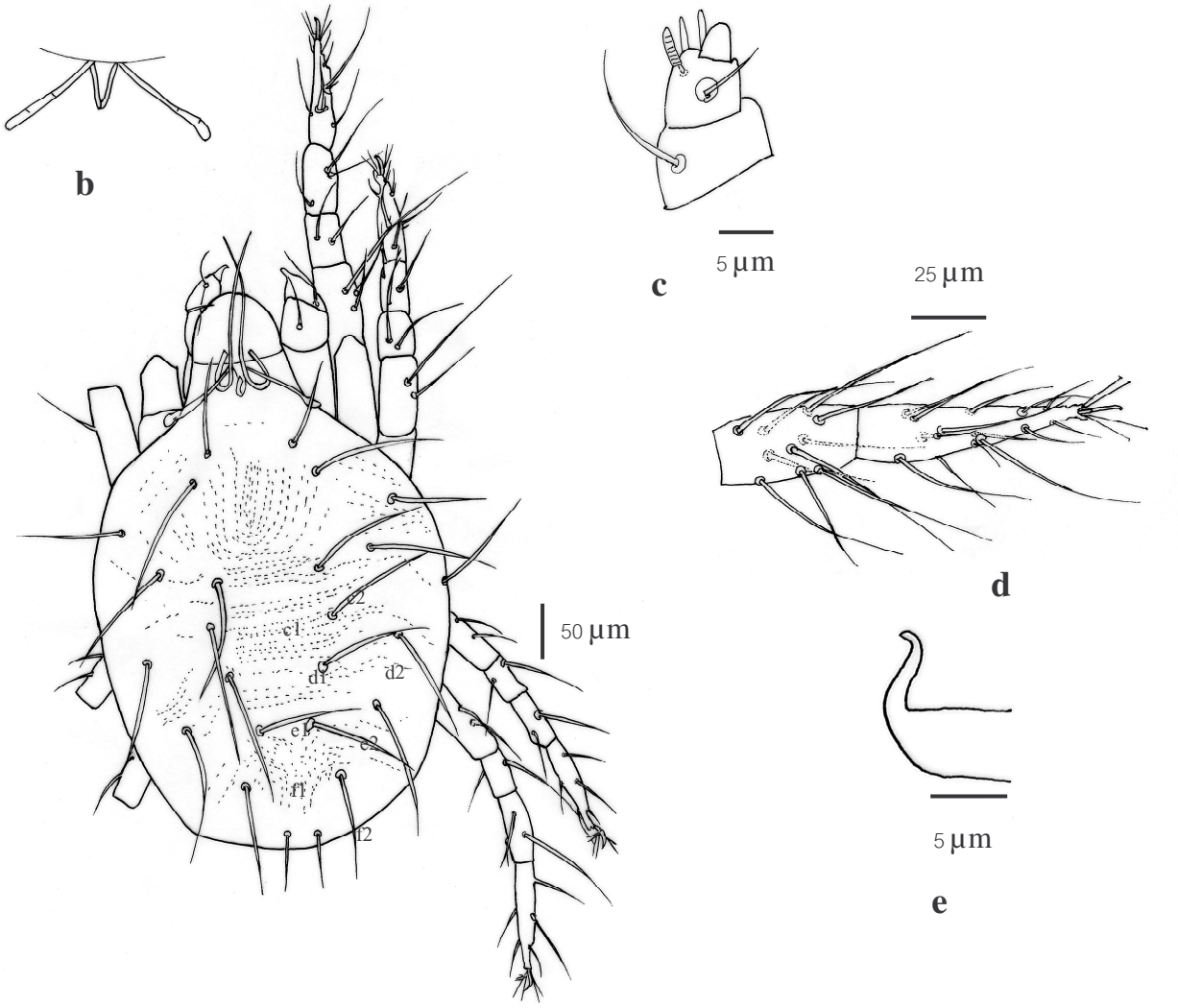


Fig 6. *Oligonychus velascoi* Rimando (female); a. dorsum; b. peritreme; c. distal segment of palpus d. tibia and tarsus; e. aedeagus of male.

เพศเมีย: ความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย 363 ไมครอน กว้าง 219 ไมครอน ; ลักษณะของลำตัวเป็นรูปไข่ สีลำตัวขณะมีชีวิตมีสีเขียว หรือสีเขียวอมเหลือง; empodium ที่ปลายขามีลักษณะเป็นเล็บงองุ้ม ที่ขาคู่ที่ 1 บริเวณปล้อง tibia มีขน tectile setae จำนวน 9 เส้น ขาคู่ที่ 2 บริเวณปล้อง tibia มี ขน tectile setae จำนวน 7 เส้น;ลักษณะลายหรือรอยย่น (Striae) บนผิวของลำตัวด้านสันหลัง

มาจนท้ายสุดของลำตัวเรียงตัวกันเป็นแนวขวาง (transvers) ; duplex setae ที่อยู่บนปล้องของ tarsus ของขาคู่ที่ 1 อยู่ใกล้กัน

เพศผู้: มีความยาวลำตัวประมาณ 333 ไมครอน; อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ ส่วนปลายมีลักษณะคล้ายพวยกาแต่มีส่วนคอที่เรียวยาวกว่า *O. orthius* (Fig 6 e.)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการจำแนกชนิดไรในสกุล *Oligonychus* โดยใช้ลักษณะที่สำคัญในการจำแนกชนิด เช่น ลักษณะของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ ลักษณะลายบนผิวของลำตัวด้านสันหลัง ระหว่างขน e1 และ f1 ลักษณะท่อหายใจ Peritreme บริเวณปลาย palp ที่ปรากฏทั้งเพศผู้และเพศเมีย จำนวนขนและลักษณะขนที่ปรากฏบนปล้องต่าง ๆ ของขา ฯลฯ พบไรในสกุล *Oligonychus* ทั้งหมด 7 ชนิด ได้แก่ *Oligonychus biharensis* Hirst, *O. mangiferus*(Rahman and Sapra), *O. punica*e (Hirst), *O. modestus* (Banks), *O. velascoi* Rimando, *O. orthius* Rimando และ *Oligonychus* sp. สำหรับไรตัวห้ำที่พบร่วมกับไรศัตรูพืชในสกุล *Oligonychus* พบ 11 ชนิด ทั้งหมดเป็นไรตัวห้ำที่อยู่ในวงศ์ phytoseiidae 9 ชนิด ส่วนอีก 2 ชนิดอยู่ในวงศ์ Cunaxidae และ Stigmaeidae ไรในสกุล Oligonychus ที่เข้าทำลายพืชใบเลี้ยงคู่ ส่วนใหญ่จะพบเข้าทำลายใบพืชบริเวณหน้าใบ ลำตัวจะมีขนาดใหญ่มีสีแดงเข้มเขียวเข้มหรือ สีน้ำตาลแดง หากพบเข้าทำลายพืชใบเลี้ยงเดี่ยวส่วนใหญ่มักเข้าทำลายพืชบริเวณใต้ใบพืช ลำตัวจะมีขนาดเล็กกว่า มีสีเขียว หรือสีเขียวอมเหลือง

เอกสารอ้างอิง

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

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

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

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

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

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

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

ภาคผนวก

ลักษณะทางอนุกรมวิธาน (Fig 1.)

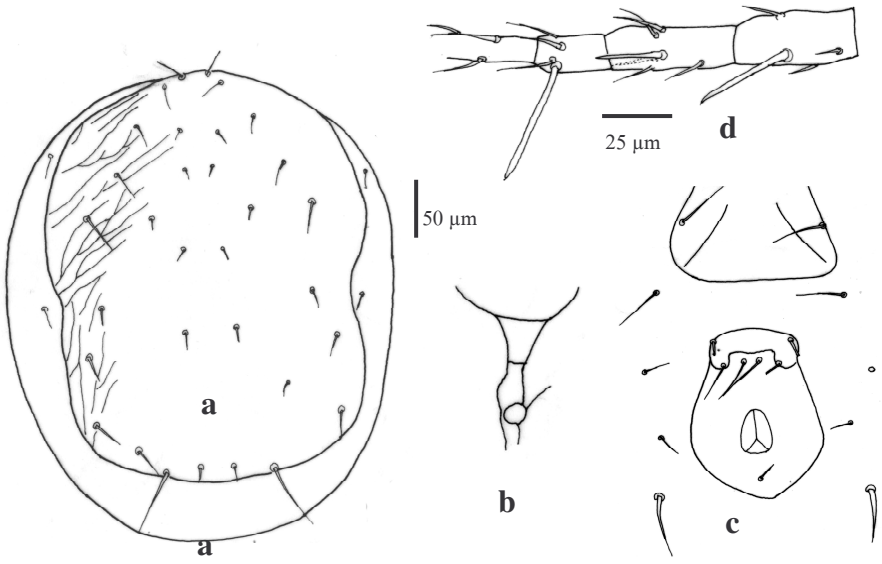


Fig 1. *Amblyseius aizawai* Ehara and Bhandhufalck (female): a. dorsal shield; b. spermatheca; c. venter of idiosoma; d. genu, tibia and basitarsus of leg IV.

ลักษณะทางอนุกรมวิธาน (Fig 2.)

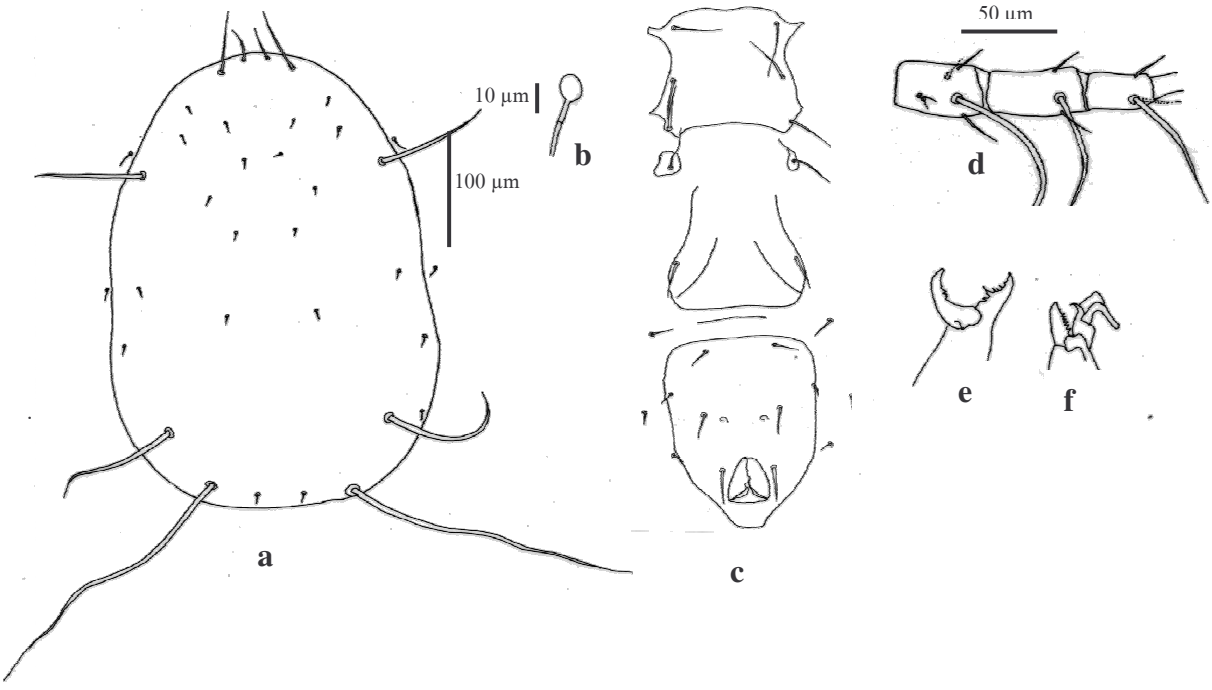


Fig 2. *Amblyseius cinctus* Corpuz &Rimando(female): a. dorsal shield; b. spermatheca; c. venter of idiosoma d. genu, tibia and basitarsus of leg IV; e. chelicerae; f. chelicerae with spermatodectyl of male.

ลักษณะทางอนุกรมวิธาน (Fig 3.)

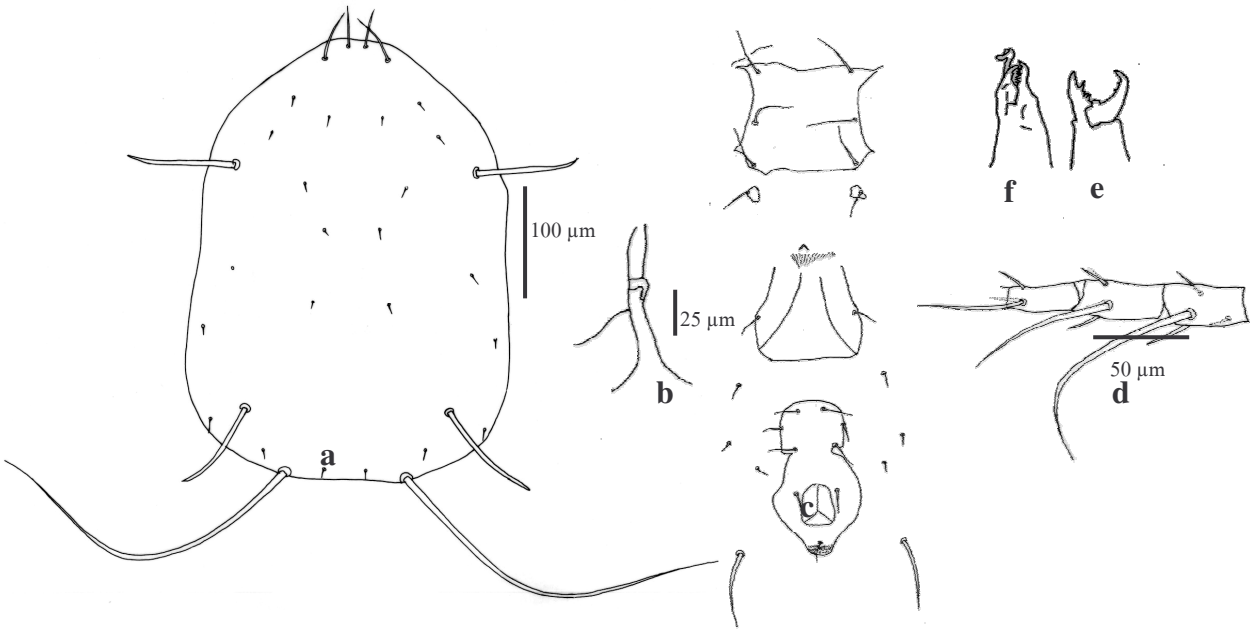


Fig 3. *Amblyseius deleoni* Muma and Denmark (female): a. dorsal shield; b. spermatheca; c. venter of idiosoma; d. genu, tibia and basitarsus of leg IV; e. chelicerae; f. chelicerae with spermatodectyl

ลักษณะทางอนุกรมวิธาน (Fig 4.)

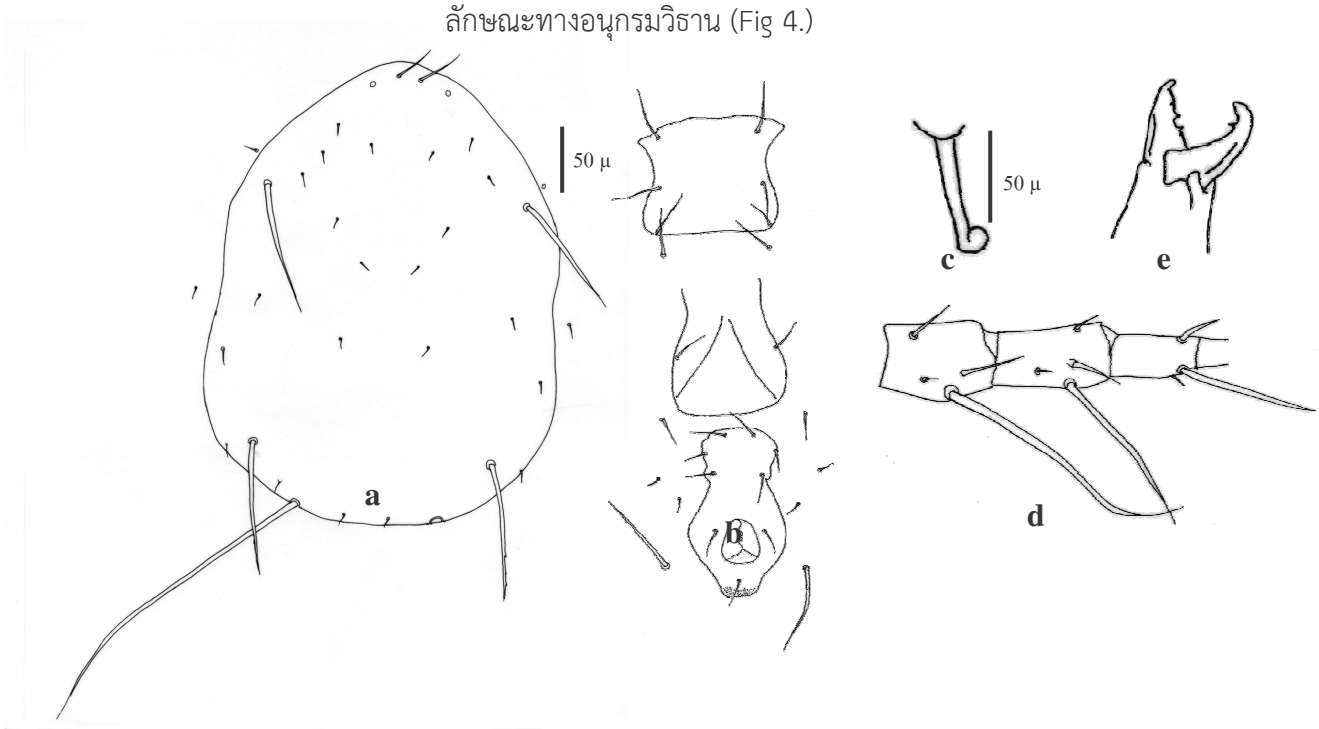


Fig 4. *Amblyseius largoensis* (Muma) (female) : a. dorsal shield; b. venter of idiosoma; c. spermatheca; d. genu, tibia and basitarsus of leg IV; e. chelicerae

ลักษณะทางอนุกรมวิธาน (Fig 5.)

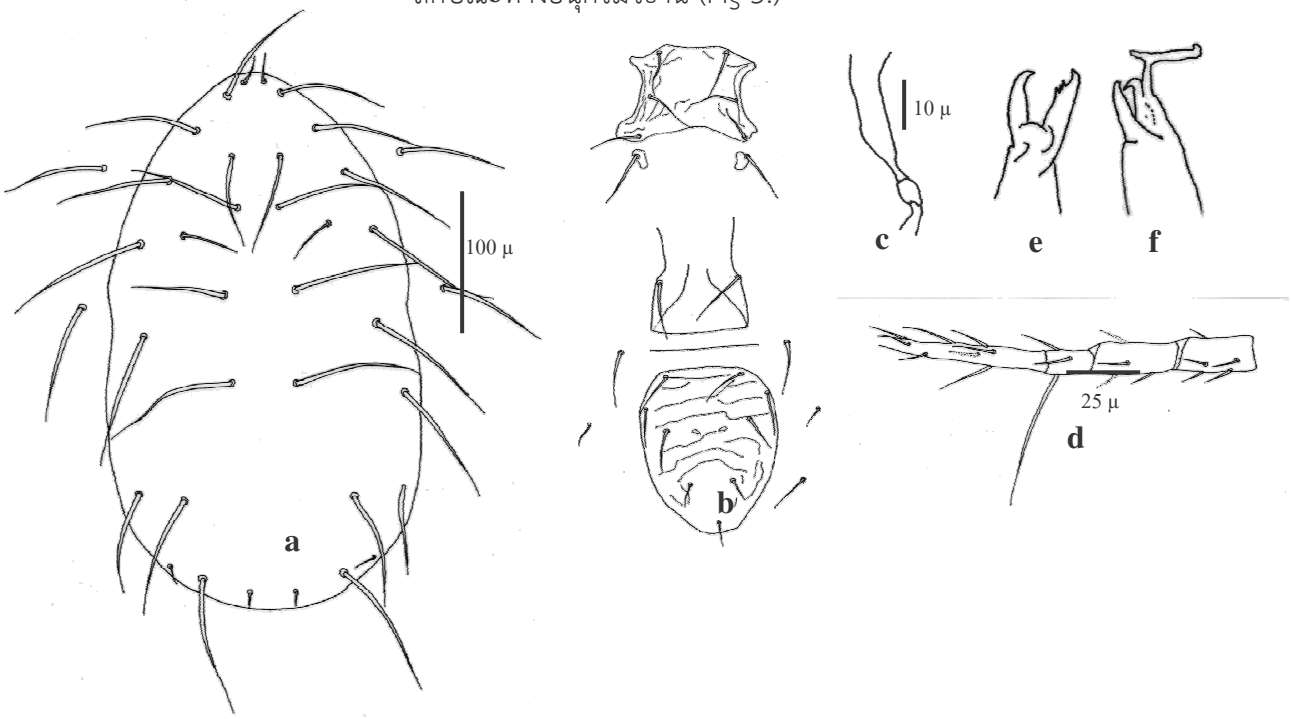


Fig 5. *Amblyseius longispinosus* (Evans) (female) : a. dorsal shield; b. venter of Idiosomac spermatheca; d. genu, tibia and basitarsus of leg IV; e. chelicerae; f. chelicerae with spermatodectyl of male.

ลักษณะทางอนุกรมวิธาน (**Fig 6.**)

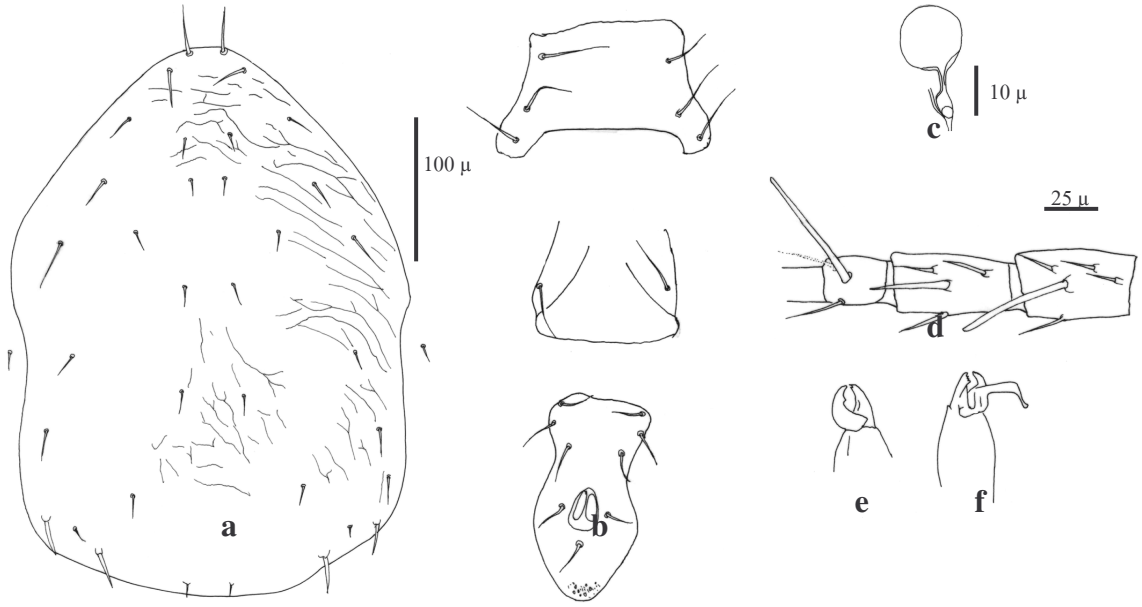


Fig 6. *Amblyseius nicholsi* Ehara and Lee(female): a. dorsal shield; b. venter of idiosoma ; c. permatheca; d. genu, tibia and basitarsus of leg IV; e. chelicerae f. chelicerae with spermatodectyl of male.

ลักษณะทางอนุกรมวิธาน (**Fig 7.**)

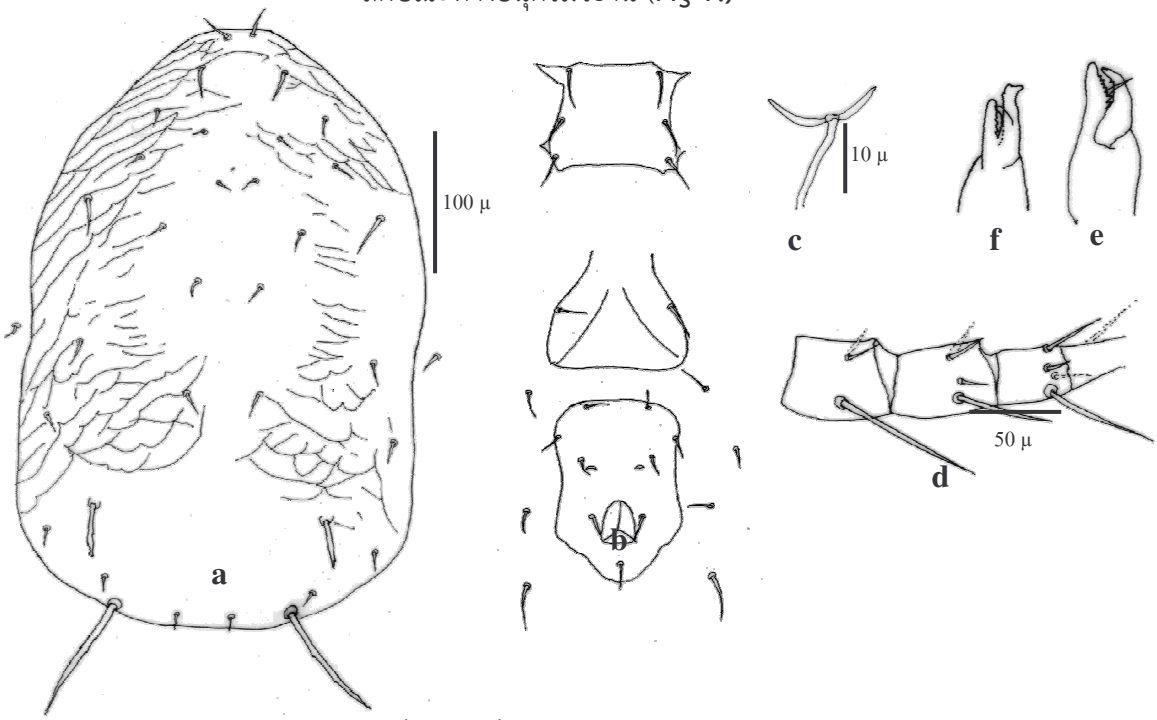


Fig 7. *Amblyseius syzygii* Gupta(female): a. dorsal shield; b. venter of idiosoma; c. spermatheca; d. genu, tibia and basitarsus of leg IV; e. chelicerae; f. chelicerae with spermatodectyl of male.

ชีววิทยาหอยเจดีย์ใหญ่

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

ปิยาณี หนูกาฬ ดาราพร รินทะรักษ์ ชมพูนุท จรรยาเพศ และปราสาททอง พรหมเกิด
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการสำรวจแปลงกล้วยไม้ของเกษตรกรที่มีการระบาดของหอยเจดีย์ใหญ่ ในภาคกลางและภาคตะวันตก จังหวัดนครปฐม สมุทรสาคร และกาญจนบุรี จึงเก็บตัวอย่างหอยเจดีย์ใหญ่จำนวน 200 ตัว มาเลี้ยงขยายพันธุ์ในห้องปฏิบัติการ เพื่อศึกษาพฤติกรรมและชีววิทยาด้านต่างๆ โดยนำหอยเจดีย์ใหญ่มาเลี้ยงในสภาพกึ่งธรรมชาติในกล่องพลาสติกใสที่รองด้วยขุยมะพร้าวผสมกาบมะพร้าวสับและดิน รดน้ำให้ชุ่มอยู่เสมอ ให้อาหารปลาและผักสด เช่น แตงกวา ผักกาดแก้ว ผักกาดขาว และผักกาดหอม เป็นอาหาร พบว่าหอยสามารถปรับตัวและกินอาหารได้ดี หอยเจดีย์ใหญ่ที่นำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการมีพฤติกรรมชอบหลบแสงอยู่ตามใต้เศษไม้ใบไม้ ใบผักอาหารและกาบมะพร้าวสับที่มีความชื้น หอยเจดีย์ใหญ่มี 2 เพศในตัวเดียวกันแต่ผสมภายในไม่ได้ ต้องมีการจับคู่เพื่อผสมพันธุ์ข้ามตัวในช่วงเวลากลางคืนที่มีความชื้นเหมาะสม เช่นหลังการให้น้ำในแปลงปลูกพืชหรือหลังฝนตก หอยที่ผสมพันธุ์แล้วจะมีไข่อยู่ในตัว 2-8 ฟอง สามารถมองเห็นชัดเจนได้ด้วยตาเปล่า หอยจะวางไข่กระจายไว้ใกล้กันตามบริเวณที่หลบแสง หรือตามซอกดินที่มีรอยแตก โดยวางไข่ทีละฟองจนหมดครอกใช้เวลา 2-3 วัน ไข่หอยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 1.70 มิลลิเมตร(n=30) มีเปลือกเป็นแคลเซียมบางๆสีขาว ในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิ 27-30 องศาเซลเซียส ไข่หอยใช้เวลาฟักเป็นตัว 2-5 วัน จึงเป็นลูกหอยขนาดเล็กมีรูปร่างเหมือนพ่อแม่แต่ลักษณะเปลือกค่อนข้างกลมมีสีเหลืองอ่อนใสมองเห็นยอดเกลียวเปลือกไม่ชัดเจน มีขนาดตัวเฉลี่ย 2.38 มิลลิเมตร(n=30) มอง เมื่อโตขึ้นยอดเกลียวเปลือกก็จะเพิ่มจำนวนและขนาดสูงขึ้น ลูกหอยเริ่มเคลื่อนไหวและกัดกินใบผักหรือพืชอาหารที่อ่อนนิ่มได้หลังจากผ่านไป 2-3 วัน อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ย 1 มิลลิเมตร ต่อเดือน ลูกหอยมีอัตราการอยู่รอดจนโตเต็มวัยร้อยละ 42.19 วงชีวิตตั้งแต่ฟักจากไข่จนเป็นตัวเต็มวัยสามารถสืบพันธุ์ได้ใช้เวลาประมาณ 6-7 เดือน หอยที่โตเต็มวัยแล้วจะมีเปลือกสีขาวใส ขนาดตัวเล็กสุดที่เริ่มจับคู่ผสมพันธุ์ คือ 9.03 มิลลิเมตร

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-45-51

Abstract

Surveyed and collected specimen of *Prosopeas walkeri* (Benson) in orchid farm in Central and Western Thailand, Nakhonpathom, Samuthsakhon and Kanchanaburi. We keep 200 snails in laboratory of The Agricultural Zoology Research Group for observation and study of their biology. From our observation, these snails usually live in dim or dark area, escape from light and hde under cover of vegetation or humid materials in plastic box. Adult snails have both of male and female sex organs, but can not self-copulation. They must copulate with each other at night and lay 2-8 eggs in 2-3 days. Average egg's diameter about 1.70 mm. (n=30). Egg shell is white and thin. There hatching time between 2-5 days at temperature 27-30 C in laboratory. The new young snail able to move and feed on soft vegetation in 2-3 days after hatched. Their growth rate is about 1 mm/month. From hatched to adult stage of these slugs in laboratory last about 6-7 months, and their survival rate about 42.19 %.

คำนำ

หอยเจดีย์ใหญ่ *Prosopeas walkeri* (Benson) จัดเป็นหอยทากบก(Land snail) ที่มีขนาดเล็กเป็นหอยฝาเดียวที่มีรูปร่างเป็นท่อม้วนเป็นเกลียวสูง(Tubular high spiral)ขนาดเล็ก ไม่มีฝาปิด เปลือกเรียบหนาแข็งสีขาวเหมือนหอยเจดีย์เล็ก หอยเจดีย์ใหญ่มีลักษณะเหมือนหอยเจดีย์เล็กมาก แต่ต่างกันที่ขนาด ทักษิณและคณะ(2532) ได้สำรวจชนิดหอยทากและทากในพืชชนิดต่างๆ พบหอยทาก 11 ชนิดที่เป็นศัตรูพืช ซึ่งมีหอยเจดีย์ใหญ่ด้วย หอยเจดีย์ใหญ่พบได้ทั้งในแปลงผัก แปลงไม้ดอก สวนกล้วยไม้ และสวนผลไม้ เป็นต้น ทำความเสียหายแก่เกษตรกรเป็นอย่างมาก โดยจะกัดกินรากและต้นอ่อนกล้วยไม้ ทำให้กล้วยไม้ไม่เจริญเติบโต หรือผลผลิตลดลง บางแปลงทำให้เกิดความเสียหายได้ถึง100% ในพื้นที่ที่มีความชุ่มชื้นสูงจะพบหอยเจดีย์ใหญ่กัดกินทำลายต้นพืช ทั้งลำต้น ใบ ดอก และราก บางครั้งระบาดจนต้องมีการทำแปลงหว่านเมล็ดพันธุ์ใหม่ ชมพูนุท(2532) รายงานว่าพบหอยเจดีย์ในแปลงผักกางมุ้งทำความเสียหายแก่เกษตรกรเป็นอย่างมากในแปลงผักที่มีความชื้นสูง เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมมีการปลูกพืชเพื่อการบริโภคภายในประเทศและเพื่อการส่งออก โดยเฉพาะกล้วยไม้ตัดดอกมีการส่งออกเป็นมูลค่านับพันล้านบาท หากพบหอยเจดีย์ใหญ่หรือไข่หอยติดไปกับพืชส่งออกอาจทำให้เกิดปัญหาการค้าระหว่างประเทศตามมาได้ ดังนั้นการศึกษาชีววิทยาของหอยเจดีย์ใหญ่จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งเพื่อใช้เป็นข้อมูลในการป้องกันกำจัดต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างหอยเจดีย์ใหญ่ สำหรับศึกษาชีววิทยา
2. ตู้กระจก กล่องพลาสติกใสสำหรับเลี้ยงขยายพันธุ์หอย
3. ขุยมะพร้าว กาบมะพร้าวสับ และดิน
4. สเปรย์ฉีดน้ำ
5. แว่นขยาย
6. forcep
7. เวอร์เนียร์ สำหรับวัดขนาด
8. อาหารสำหรับเลี้ยงหอยเช่น อาหารปลา ผักสด ดอกกล้วยไม้ เป็นต้น
9. วัสดุอื่นๆ เช่น ถุงมือแพทย์ กระดาษทิชชู พู่กัน เป็นต้น

วิธีการ

1. สำรวจและค้นหาแหล่งที่มีการระบาดของหอยเจดีย์ใหญ่จากสวนกล้วยไม้ของเกษตรกรในพื้นที่ภาคกลางและภาคตะวันตก จังหวัดนครปฐม สมุทรสาคร และกาญจนบุรี
2. เก็บรวบรวมหอยเจดีย์ใหญ่จากสวนกล้วยไม้ของเกษตรกรเพื่อนำมาศึกษาในห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร
3. นำตัวอย่างหอยเจดีย์ใหญ่มาเลี้ยงในบ่อพักที่เตรียมไว้ซึ่งเป็นตู้กระจกขนาด 25X40X26 เซนติเมตร โดยรองพื้นตู้กระจกด้วยขุยมะพร้าวผสมกาบมะพร้าวสับและดิน อัตราส่วน 1:1:1
4. สุ่มเลือกหอยที่แข็งแรงจากบ่อพักจำนวน 20 ตัว ไปเลี้ยงในกล่องพลาสติกใสที่เจาะรูระบายอากาศไว้บนฝา ภายในกล่องรองพื้นด้วยขุยมะพร้าวผสมกาบมะพร้าวสับและดินเช่นเดียวกับบ่อพัก ใส่หอยลงไปกล่องละ 2 ตัว จำนวน 10 กล่อง วางไว้ในห้องที่มีอุณภูมิ 26-30 องศาเซลเซียส ฉีดพ่นน้ำจนชุ่ม วันละ 1 ครั้งทุกวัน
5. ให้อาหารปลาและผักสดเป็นอาหาร
6. สังเกต และบันทึกข้อมูล

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกขนาดที่เริ่มจับคู่ผสมพันธุ์หอยเจดีย์ใหญ่
2. บันทึกขนาดของไข่หอย ระยะเวลาในการฟักออกจากไข่ และขนาดของลูกหอยที่เพิ่งฟักใหม่
3. บันทึกพฤติกรรมต่างๆของหอยเจดีย์ใหญ่

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2548 - กันยายน 2553 ระยะเวลา 5 ปี

- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร เกษตรกลาง บางเขน กรุงเทพฯ
- สวนกล้วยไม้ของเกษตรกรพื้นที่ภาคกลางและภาคตะวันตก จังหวัดนครปฐม สมุทรสาคร และกาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

สำรวจแปลงกล้วยไม้ของเกษตรกร ในจังหวัด นครปฐม สมุทรสาคร และกาญจนบุรี ที่มีการระบาดของหอยเจดีย์ใหญ่ จึงเก็บตัวอย่างหอยจำนวน 200 ตัวมาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ในสภาพกึ่งธรรมชาติในตู้กระจกที่รองพื้นด้วยขุยมะพร้าวผสมกาบมะพร้าวสับและดิน รดน้ำให้ชุ่มอยู่เสมอทุกวันวันละ1ครั้ง ให้อาหารปลาและผักสด เช่น แตงกวา ผักกาดแก้ว ผักกาดขาว และผักกาดหอมเป็นอาหาร พบว่าหอยสามารถปรับตัวและกินอาหารได้ดี จากนั้นจึงสุ่มเลือกหอยที่แข็งแรงนำไปเลี้ยงในกล่องพลาสติกใสกล่องละ 2 ตัว จำนวน 10 กล่อง เพื่อศึกษาพฤติกรรมและชีววิทยาด้านต่างๆ โดยรองพื้นกล่อง ให้น้ำและอาหารเช่นเดียวกัน

พฤติกรรมการผสมพันธุ์ การวางไข่ และการเจริญเติบโตของหอยเจดีย์ใหญ่

จากการสังเกตในสวนกล้วยไม้ของเกษตรกรและในห้องปฏิบัติการพบว่า หอยเจดีย์ใหญ่มีพฤติกรรมไม่ชอบแสงสว่าง ชอบหลบอยู่ใต้วัสดุปลูก กาบมะพร้าวหรือพืชอาหาร ในที่ที่มีความชื้นสูง หอยที่โตเต็มวัยแต่ละตัวจะมีอวัยวะสืบพันธุ์ได้ทั้งเพศผู้และเพศเมีย แต่ไม่สามารถผสมพันธุ์ภายในตัวเองได้ ต้องจับคู่เพื่อผสมพันธุ์ข้ามตัวในช่วงเวลากลางคืน หรือในสภาพที่มีความชื้นเหมาะสม เช่น หลังฝนตก หรือหลังการให้น้ำต้นกล้วยไม้ในแปลงปลูก หอยที่ผสมพันธุ์แล้วจะมองเห็นไข่ที่อยู่ภายในตัวได้ชัดเจน วางไข่ทีละฟองเป็นฟองเดี่ยวๆกระจายอยู่ใกล้กัน ตั้งแต่ 2-8 ฟอง(เฉลี่ย 5.96 ; n=50) โดยใช้เวลาวางไข่แต่ละครอก 2-3 วัน จำนวน ไข่ที่ออกมาใหม่ๆจะมีรูปร่างกลม เปลือกไข่มีลักษณะเป็นแคลเซี่ยมบางๆสีขาว ไข่หอยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 1.70 มิลลิเมตร(n=30) ถูกวางไว้ใต้กาบมะพร้าวหรือใต้ใบพืชเพื่อให้ไข่ได้รับความชื้นเพียงพอในการฟักตัว ในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิ 27-30 องศาเซลเซียส ไข่หอยจะฟักเป็นลูกหอยขนาดเล็กใช้เวลา 2-5 วัน มีอัตราการฟักเฉลี่ยร้อยละ 99 (n=50) ลูกหอยที่เพิ่งฟักมีลักษณะเปลือกค่อนข้างกลมมีสีเหลืองอ่อนใส มีขนาดตัวเฉลี่ย 2.38 มิลลิเมตร(n=30) มองไม่เห็นยอดเกลียวเปลือก ต้องใช้แว่นขยายจึงจะมองเห็นหนวดเส้นเล็กๆ เคลื่อนไหวอยู่ เมื่อโตขึ้นยอดเกลียวเปลือกก็จะเพิ่มจำนวนและขนาดสูงขึ้น หลังจากฟักเป็นตัวแล้ว 2-3 วัน ลูกหอยเกิดใหม่จะเริ่มเคลื่อนไหวและสามารถกัดกินใบอ่อนที่นิ่มๆของพืชอาหารที่อยู่ใกล้ๆได้ อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ย 1 มิลลิเมตรต่อเดือน จนโตเต็มวัยอัตราการเจริญเติบโตจึงลดลง อัตราการอยู่รอดของลูกหอยในช่วงเริ่มต้นทำการศึกษานั้นไม่ประสบผลสำเร็จเนื่องจากอุณหภูมิและความชื้นไม่เหมาะสมทำให้หอยตายง่าย ไข่หอยก็ไม่ฟักเป็นตัว จึงต้องเก็บตัวอย่างใหม่บ่อยๆและปรับเปลี่ยนการให้น้ำเพื่อให้ได้อุณหภูมิและความชื้นที่เหมาะสม ลูกหอยมีอัตราการอยู่รอดจนโตเต็ม

วัยร้อยละ42.19 วงชีวิตตั้งแต่ฟักจากไข่จนเป็นตัวเต็มวัยสามารถสืบพันธุ์ได้ใช้เวลาประมาณ 6-7 เดือน ขนาดตัวเล็กสุดที่เริ่มจับคู่ผสมพันธุ์ คือ 9.03 มิลลิเมตร

สรุปผลการทดลองและเสนอแนะ

หอยเจดีย์ใหญ่ *Prosopeas walkeeri* (Benson) จัดอยู่ในวงศ์ Subulinidae มีลักษณะสำคัญ คือ เป็นหอยฝาเดียวที่มีรูปร่างเป็นท่อม้วนขดเป็นเกลียวสูง(Tubular high spiral)ขนาดเล็ก ไม่มีฝาปิด เปลือกเรียบบางสีขาวใสเหมือนหอยเจดีย์เล็ก ทำให้อาจดูตัวอ่อนของหอยเจดีย์ใหญ่เป็นหอยเจดีย์เล็กได้ แต่ส่วนยอดเปลือกของหอยเจดีย์เล็กจะแหลมกว่า เมื่อเป็นตัวเต็มวัยหอยเจดีย์ใหญ่จะมีความสูงประมาณ 9-25 มิลลิเมตร แต่หอยเจดีย์เล็กมีความสูงประมาณ 8-10 มิลลิเมตรเท่านั้น จากการเลี้ยงขยายพันธุ์หอยเจดีย์ใหญ่ในห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร โดยสังเกตุพฤติกรรมต่างๆ ผลการศึกษาพบว่าหอยเจดีย์ใหญ่มีพฤติกรรมไม่ชอบแสงสว่าง ชอบหลบอยู่ใต้วัสดุปลูก ใต้กาบมะพร้าว หรือใต้ใบพืชอาหารที่มีความชื้นสูง เมื่อจะเคลื่อนที่และกินอาหาร หอยจะยื่นส่วนหัวและเท้าออกจากเปลือก การเคลื่อนที่ค่อนข้างช้าเนื่องจากมีแผ่นเท้าเล็กและมีเปลือกเป็นทรงสูง มักออกมากินอาหารและจับคู่ผสมพันธุ์ในช่วงเวลากลางคืน หลังจากนั้นหอยจะวางไข่เป็นฟองเดี่ยวๆกระจายไว้ใกล้กันตามบริเวณที่หลบแสงตั้งแต่ 2-8 ฟอง(เฉลี่ย 5.96 ; n=50) ใช้เวลาวางไข่แต่ละครอก 2-3 วัน ในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิ 27-30 องศาเซลเซียส ไข่หอยจะฟักเป็นลูกหอยขนาดเล็กใช้เวลา 2-5 วัน มีอัตราการฟักเฉลี่ยร้อยละ 99 (n=50) ลูกหอยที่เพิ่งฟักมีขนาดตัวเฉลี่ย 2.38 มิลลิเมตร(n=30) หลังจากฟักเป็นตัวแล้ว 2-3 วัน ลูกหอยเกิดใหม่จะเริ่มเคลื่อนไหวและสามารถกัดกินใบอ่อนที่นิ่มๆของพืชอาหารที่อยู่ใกล้ๆได้ อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ย 1 มิลลิเมตรต่อเดือน ลูกหอยมีอัตราการอยู่รอดจนโตเต็มวัยร้อยละ42.19 วงชีวิตตั้งแต่ฟักจากไข่จนเป็นตัวเต็มวัยสามารถสืบพันธุ์ได้ใช้เวลาประมาณ 6 -7 เดือน

หอยเจดีย์ใหญ่มีอัตราการฟักเป็นตัวและอัตราการอยู่รอดสูง ในพื้นที่ที่มีสภาพแวดล้อมเหมาะสม เช่นมีแสงสลัว และมีความชุ่มชื้นสูง หอยเจดีย์ใหญ่จะระบาดทำความเสียหายได้อย่างรุนแรง

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานทางชีววิทยาของหอยเจดีย์ใหญ่ สำหรับนำไปใช้เพื่อศึกษาการป้องกันกำจัดอย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นายสมพงษ์ ทวีสุข เจ้าของสวนกล้วยไม้ อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี และนายอนันต์สิริ เจ้าของสวนกล้วยไม้ อำเภอบ้านแพ้ว จังหวัดสมุทรสาครที่อนุญาตให้เข้าไปสำรวจการระบาดและเก็บตัวอย่างหอยเจดีย์ใหญ่นำมาศึกษาชีววิทยา

เอกสารอ้างอิง

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

ชมพูนุท จรรยาเพศ ทักษิณ อาชวาคม ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ และเกษม ทองทวี. 2537. หอยทากในประเทศไทย. *ใน* การประชุมสัมมนาทางวิชาการแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ครั้งที่ 9. 21-24 มิถุนายน 2537. โรงแรมแกรนด์จอมเทียนพาเลซ จังหวัดชลบุรี. หน้า 495-522.

ชมพูนุท จรรยาเพศ ปราสาททอง พรหมเกิด ปิยาณี หนูกาฬ และธีรเดช เจริญรักษ์. 2542.การป้องกันกำจัดหอย ทากศัตรูกล้วยไม้.*ใน* รายงานผลการวิจัย กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ. หน้า 244

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

ทักษิณ อาชวาคม ชมพูนุท จรรยาเพศ ยุวลักษ์ ขอประเสริฐ และเกษม ทองทวี. 2532. สำรวจชนิดหอยทาก ศัตรูพืช. *ใน* รายงานผลการค้นคว้าและวิจัย กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 101-114.

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

ตารางที่ 1 แสดงค่าสถิติของไข่หอยเจดีย์ใหญ่ *Prosopeas walkeeri* (Benson) ที่ศึกษาในห้องปฏิบัติการ ที่อุณหภูมิ 26-30 องศาเซลเซียส

ค่า Variable	จำนวนไข่ / ครอก (ฟอง)	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของไข่หอย(มิลลิเมตร)
ต่ำสุด	2	1.43
สูงสุด	8	2.01
เฉลี่ย	5.96	1.70
N (จำนวนตัวอย่าง)	50	50

รูปที่ 1 ร่องรอยการทำลายและลักษณะการวางไข่

ความหลากชนิดของหอยทากและทากในแหล่งสงวนชีวมณฑลสะแกราช
Biodiversity of Land Snail and Slug in Sakaerat Biosphere Reserve

ชมพูนุท จรรยาเพศ ปราสาททอง พรหมเกิด สมเกียรติ กล้าแข็ง
ดาราพร รินทะรักษ์ ปิยาณี หนูกาฬ
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

สำรวจหอยทากและทากในบริเวณป่าดิบแล้ง สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช หรือแหล่งสงวนชีวมณฑลสะแกราช ตำบลอุดมทรัพย์ อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา ระหว่างปี 2549-2553 โดยสำรวจในพื้นที่สี่แห่ง แห่งละหนึ่งตารางกิโลเมตร ในช่วงฤดูฝน สามารถเก็บรวบรวมเปลือกหอยได้ 400 ตัวอย่าง หอยที่พบจำแนกชนิดได้รวมทั้งสิ้น 31 species แยกเป็นหอยทาก (snail) 29 ชนิด และทาก (slug) 2 ชนิด รวม 17 genera 12 families ทั้งนี้หอยทากที่สำรวจพบจัดอยู่ในพวกหอยทากกินเนื้อ (carnivorous snail) 1 species และทากกินเนื้อ 1 species

คำนำ

โครงการวิจัยและพัฒนาเพื่อการอนุรักษ์ แมลง ไร สัตว์ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ เป็นโครงการวิจัยเกี่ยวกับงานด้านอนุกรมวิธาน ที่หมายรวมถึงการสำรวจ เก็บรวบรวม จำแนก ตรวจวิเคราะห์ชนิด ตลอดจนการศึกษาด้านชีววิทยา นิเวศวิทยา พืชและสัตว์อาศัย รวมทั้งการเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ เพื่อเป็นแหล่งสืบค้นอ้างอิง ลักษณะงานดังกล่าวนี้เป็นงานวิจัยพื้นฐานที่สำคัญอย่างยิ่งต่องานที่เกี่ยวข้องกับเทคโนโลยีการผลิตพืชและการอารักขาพืช โดยเฉพาะด้านการจัดการศัตรูพืช ชมพูนุท (2537) ได้สำรวจหอยทากและทากที่เป็นศัตรูพืชในประเทศไทย พบว่า ได้แก่ หอยทากยักษ์อาฟริกา Giant African Snail, *Achatina fulica* (Bowdich) หอยเจดีย์ *Prosopeas walkeri* (Benson) หอยสาริกา *Sarika* spp. หอยซัคซิเนีย Amber Snail *(Succinea* spp.) หอยดักดาน *Cryptozona siamensis* (Pfeiffer) , *Cyclotropis bedaliensis*, *Euconulus* sp. หอยเลขหนึ่ง *Ovachlamys fulgens* (Gude) ทาก *Parmarion siamensis* (Cockerell) และทากฟ้า *(Semperula siamensis*) และพบหอยทากที่ไม่ใช่ศัตรูพืชอีกเป็นจำนวนมาก ที่อาศัยอยู่ตามลำต้นหรือใบพืช ตามพื้นดินในสวนไม้ผลต่างๆ ดังนั้นจึงสมควรศึกษาสำรวจหอยทากชนิดอื่นๆในแหล่งสงวนชีวมณฑลสะแกราช (Sakaerat Biosphere Reserve) ซึ่งเป็นแหล่งสงวนชีวมณฑลของโลกโดยได้รับการรับรองจากองค์การยูเนสโก เป็นแหล่งสงวนหนึ่งในสามแห่งในประเทศไทย มีพื้นที่รวมกันประมาณห้าหมื่นไร่ และมีความหลากหลายทางชีวภาพสูง โดยมีชนิดพันธุ์พืชจำนวนมาก ทั้งมีป่า 2 ชนิด ได้แก่ ป่าดิบแล้ง ต่อกับป่าเต็งรังอย่างกลมกลืน ซึ่งนับวันก็จะถูกบุกรุกทำลายกลายเป็นชุมชน ป่าลดน้อยลง พันธุ์พืชสัตว์ก็จะค่อยสูญสิ้นไป จึงสมควรสำรวจและศึกษาชนิดพันธุ์หอยทากไว้เสียก่อน

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-46-51

สมศักดิ์ และคณะ (2552) กล่าวว่า หอยทากบกและทาก หรืออาจเรียกว่า หอยทากไม่มีเปลือก (land snails and slugs) อยู่ในไฟลัมมอลลัสกา (Phylum Mollusca) ชั้นหอยฝาเดียว (Class Gastropoda) ที่พบมาทั่วโลกมีมากกว่า 1 แสนspecies ซึ่งคิดเป็น 80% ของไฟลัมนี้ นับว่าเป็นกลุ่มสัตว์ที่มากเป็นที่สองรองจากไฟลัมอาร์โทรโปดา พวกสัตว์ขาข้อทั้งหลาย เช่น แมลง กุ้ง ปู กั้ง กิ้งกือ แมงมุม ฯลฯ ประเทศไทยมีความหลากหลายของสปีชีส์ของหอยทากจำนวนมาก เนื่องมาจากทำเลที่ตั้งทางภูมิศาสตร์ที่มีลักษณะเสมือนเป็นทางผ่าน เป็นศูนย์รวมของความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตของสามจุดที่มีความสำคัญทางด้านความหลากหลายทางชีวภาพ (biodiversity hotspots) ได้แก่ เขตอินเดีย-พม่า (Indo-Burma) เขตซุนดา (Sundaland) ลงไปทางใต้ และเขตติดต่อจีนตะวันตกถึงตะวันออก(western Chinese hotspot to the east) ในปัจจุบันกิจกรรมต่างๆของผู้คน ทำให้หลายพื้นที่ในประเทศไทยถูกทำลาย แบ่งแยกออกเป็นส่วนย่อยๆจำนวนมาก ทำให้มีผลกระทบโดยตรงต่อการแพร่กระจายไปจนถึงการสูญพันธ์ของสปีชี่ส์ได้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

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

วิธีการ

สำรวจชนิดทากและหอยทากในบริเวณป่าดิบแล้ง โดยคัดเลือกที่มีความชื้นสูงพื้นที่แห่งละ 1 ตารางกิโลเมตร จำนวน 4 พื้นที่ สำรวจโดยการเดิน บันทึกภาพและเก็บตัวอย่างหอยที่มีชีวิตเพื่อนำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ และศึกษาชีววิทยาบางประการ รวมทั้งเก็บตัวอย่างเปลือกหอยนำมาทำความสะอาดและจัดเก็บเป็นหมวดหมู่ในตู้เก็บตัวอย่างหอยทากเพื่อศึกษาและจำแนกชนิด บันทึกข้อมูลนิเวศวิทยาบริเวณแหล่งที่เก็บ และวันที่

การจำแนกชนิดหอยทากที่สำรวจและเก็บรวบรวมมา ส่วนหนึ่งทำโดยเปรียบเทียบลักษณะและขนาดเปลือกรวมทั้งรูปร่างภายนอกกับตัวอย่างที่ได้รวบรวมไว้จากท้องที่ต่างๆในประเทศ ซึ่งได้ส่งไปจำแนกที่สถาบันวิจัยและพิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยาเซ็งเค่นแบร์ก (Forschungsinstitut

und Naturmuseum Senckenberg) เมืองแฟรงเฟิร์ท สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี มาแล้ว อีกส่วนส่งไปจำแนกชนิดกับนักวิชาการด้านสังขวิทยาของประเทศไทย

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2548 - กันยายน 2553

แหล่งสงวนชีวมณฑลสะแกราช ตำบลอุดมทรัพย์ อำเภอวังน้ำเขียว นครราชสีมา

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สอพ.

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การสำรวจและศึกษาชนิดของทากและหอยทาก ระหว่างปี 2549 - 2553 เก็บตัวอย่างเปลือกหอยได้ 400 ตัวอย่าง สามารถจำแนกชนิดหอยทากที่สำรวจพบในบริเวณป่าดิบแล้ง รวมทั้งสิ้น 31 ชนิด (species) 17 สกุล (genus) 12 วงศ์ (family) แบ่งเป็น หอยทาก (snail) 29 ชนิด และทาก (slug) 2 ชนิด ดังนี้

Phylum Mollusca

Subclass Pulmonata

Order Stylommatophora

Superfamily Camaenoidea

Family Camaenidae

หอยนกขมิ้น *Amphidromus schomburgki* (Pfeiffer)

หอยนกขมิ้นลาย *Amphidromus xiangensis*

Ganesella acris (Benson)

หอยโดม *Landouria winteriana*

Landouria smiroensis

Chloritis siamensis Moelendorf

Superfamily Helicoidea

Family Bradybaenidae

Pseudobuliminus siamensis (Redfield)

Superfamily Achatinoidea

Family Subulinidae

หอยเจดีย์เล็ก *Lamellaxis gracilis* (Hutton)

Superfamily Streptaxoidea

Family Streptaxidae

หอยนักล่า *Oophana siamensis*

Superfamily Helicarionnoidea

Family Arionphantidae

หอยดักดาน	*Cryptozona simensis* (Tomlin)
	Cryptozona sp.
หอยเดื่อ	*Hemiplecta distincta* (Pfeiffer)
	Hemiplecta sakaya (de Morgan)
	Hemiplecta siamensis
หอยทากเปลือกสัน	*Quantula weinkauffiana* Crosse & Fisher
หอยสาริกา	*Sarika resplendens*
	Sarika hainesi
หอยขัดเปลือก	*Macrochlamys limbata* Moelendorf

Family Trochomorphidae

หอยจานบิน	*Trochomorpha* sp.

Family Helicarionidae

หอยหางดิ้น	*Durgella libas* (Blanford)

Family Pyramidulidae

Pyramidulus sp.

Subclass Gymnomorpha

Superorder Systellommatophora

Order Soleolifera

Family Rathouisiidae

ทากนักล่าซาราซิน	*Atopos sarasini* Collinge

Family Veronicellidae

ทากฟ้า	*Semperula siamensis* (Martens)

Subclass Prosobranchia

Order Mesogastropoda

Superfamily Cyclophoroidaea

Family Cyclophoridae

หอยหอมมลายู , Malayan Cyclophorus *Cyclophorus malayanus* (Benson)

หอยหอม	*Cyclophorus volvulus*
หอยงวงท่อ,หอยเปลือกไข่	*Rhiostoma housei* (Haines)
หอยงวงท่อน้อย	*Cyclotus setosus* (Moelendorff)
	Leptopoma aspirans (Benson)
Shining leptopoma	*Leptopoma vitriem* (Lesso)
หอยขน	*Scabrina* sp.
Family Pupinidae	
	Pupina siamensis

หอยทากเหล่านี้ สำรวจพบตามก้อนหินใกล้ลำธารหรือก้อนหินกลางลำธารที่น้ำแห้ง เช่น *Scarbrina* sp. และ *Hemiplecta sakaya* บ้างก็อยู่บนใบไม้ กิ่งไม้ หรือลำต้นสูงจากพื้นดินไม่เกินสองเมตร เช่น *Sarika* sp. *Macrochlamys* sp. *Cryptozona* sp. และตามขอนไม้ที่ผุในป่า นอกจากนี้พบตามซากใบไม้แห้งที่ชุ่มชื้นบนพื้นดิน เช่น *Cyclophorus* spp.และ *Rhiostoma* sp. สำหรับกลุ่มทาก (slug) พบตามใต้ก้อนหินและตามผิวดินเท่านั้น

ขนาดหอยทากที่พบ มีความสูงตั้งแต่ 5 – 40 มิลลิเมตร รูปทรงเปลือกต่างๆกัน ได้แก่ เปลือกทรงแบนราบ (discoildal) เปลือกทรงสามเหลี่ยมป้าน (depressed) เปลือกรูปโค้ง (dome) เปลือกรูปปิรามิด (heliciform) เปลือกรูปไข่ (pupilliform) เปลือกทรงปิรามิดทรงสูง (elongate heliciform) เปลือกรูปไข่ทรงรียาว (bulimoild, conical)

Panha (1996) กล่าวถึงหอยทากบกกลุ่ม pulmonate snail ในประเทศไทยว่ามีจำนวน 137 species 50 genera อยู่ใน 15 families กลุ่มนี้เป็นหอยทากที่มีหนวด 2 คู่ ตา 1 คู่อยู่ที่ปลายหนวดคู่หลัง บางชนิดไม่มีเปลือก เพศแยก พวกที่มีเปลือกจะไม่มีฝาปิด (operculum) มีเพศรวม ซึ่งการศึกษานี้พบเพียง 23 ชนิด อีกกลุ่มหนึ่งคือ กลุ่ม Prosobranchia กลุ่มนี้ มีหนวด 1 คู่ ตาอยู่ที่โคนหนวด เปลือกมีฝาปิด (operculum) ยึดติดแน่นกับด้านบนของส่วนท้าย (tail) และปิดสนิทเมื่อหอยหดตัวเข้าในเปลือก หอยทากกลุ่มนี้มีเพศแยก ตัวอย่างเช่นหอยหอม จากการศึกษานี้พบ 8 ชนิด

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

สำรวจและเก็บตัวอย่างพบหอยทาก 29 species และทาก 2 species การศึกษาและสำรวจนี้เป็นการศึกษาในระยะเวลา 5 ปี แต่เป็นจำนวนครั้งเพียงสิบสองครั้งเท่านั้นเนื่องจากปัญหาเรื่องงบประมาณ และออกสำรวจในพื้นที่จำนวนน้อยมากเมื่อเทียบกับผืนป่าดิบแล้งทั้งหมด เนื่องจากขาดบุคลากร

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณนายทักษิณ อาชวาคม ผู้อำนวยการสถานีวิจัย และแหล่งสงวนชีวมณฑลสะแกราช ตำบลอุดมทรัพย์ อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา ที่อนุเคราะห์เจ้าหน้าที่มาช่วยนำทางในการสำรวจทุกครั้ง รวมทั้งให้ความสะดวกในด้านยานพาหนะเดินทางภายในบริเวณสถานีวิจัย ขอขอบคุณ อาจารย์พงษ์รัตน์ ดำรงโรจน์วัฒนา และคณะ จากคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการจำแนกชนิดหอย รวมถึง ดร.สมศักดิ์ ปัญหา อาจารย์จิระศักดิ์ สุจริต จากคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัยอีกด้วย

เอกสารอ้างอิง

ชมพูนุท จรรยาเพศ ทักษิณ อาชวาคม ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ และเกษม ทองทวี. 2537. หอยทากในประเทศไทย. หน้า 495-522. ใน : รายงานการประชุมสัมมนาทางวิชาการแมลง และสัตว์ ศัตรูพืช ครั้งที่ 9 กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร 21-24 มิถุนายน 2537 ณ โรงแรมแกรนด์จอมเทียนพาเลซ ชลบุรี .

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

ชมพูนุท จรรยาเพศ . 2542. หอยทากศัตรูกล้วยไม้.5 หน้า. ใน: เอกสารประกอบการบรรยายในการประชุมกลุ่มเกษตรกรผู้ปลูกเลี้ยงกล้วยไม้จังหวัดราชบุรี. 3 มิถุนายน 2542 ณ สำนักงานเกษตรจังหวัดราชบุรี.

จิรศักดิ์ สุจริต และสมศักดิ์ ปัญหา .2551. หอยทากบกในอุทยานแห่งชาติเขานัน. จัดพิมพ์โดยโครงการ BRT.โรงพิมพ์กรุงเทพ จำกัด กรุงเทพฯ. 112 หน้า.

Abbott, R.T. 1989. Compendium of land shells. American Malacologists, Inc. VMC Graphics, Hong Kong , 240 pp.

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

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

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

Solem Alan. 1966. Some Non-Marine Mollusks from Thailand, with Notes on Classification of the Helicarionidae. Spolia Zoologica Musei Hauniensis, Copen. 24: 1-114

Cyclophorus malayanus

Pupina siamensis

Leptopoma vitrem (Lesso)

Leptopoma aspirans (Benson)

Hemiplecta weinkauffiana

Sarika resplendens

Hemiplecta sp.

Rhiostoma housii

Rhiostoma housii

Oophana siamensis

Scabrina sp.

Cryptozona siamensis

Cyclotus setosus

Ganesella acris

Amphidromus *xiangensis*

Amphidromus schomburgki

Pseudobuliminus siamensis

Durgella libas

Hemiplecta distincta

Hemiplecta sakaya

Semperula siamensis

Atopos sarasini

Atopos sarasini

สำรวจและศึกษาชนิดสัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนูในระบบนิเวศปาล์มปลูกใหม่
Survey on Natural Enemies of Rat in Young Oil Palm Plantations Ecosystem

ปิยาณี หนูกาฬ พวงทอง บุญทรง เกรียงศักดิ์ หามะฤทธิ์ กรแก้ว เสือสะอาด
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การสำรวจชนิดสัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนูในพื้นที่ปาล์มปลูกใหม่อายุ 1-3 ปี ได้ทำการสำรวจทุกภาคของประเทศไทย ในพื้นที่ภาคใต้ ภาคตะวันออก ภาคกลาง ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยการสัมภาษณ์เกษตรกร สำรวจ วางกรงดักและตาข่ายดักสัตว์ในบริเวณสวนปาล์มน้ำมันและพื้นที่โดยรอบซึ่งมีทั้งสวนปาล์ม สวนยาง สวนผลไม้ พื้นที่ปลูกพืชไร่ นาข้าว พื้นที่ว่างเปล่า และแหล่งน้ำ เป็นต้น ชนิดสัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนูที่พบในแต่ละพื้นที่โดยแบ่งตามภาค คือ ภาคใต้ พบ นกแสก*(Tyto alba)* พังพอน*(Herpestes javanicus)* งูสิง*(Ptyas korros)* และงูเห่า *(Naja naja*) ภาคตะวันออก พบ พังพอน*(Herpestes javanicus)* นกแสก*(Tyto alba)* และงูสิง*(Ptyas korros)* ภาคกลาง พบ เหยี่ยวขาว*(Elanus caeruleus*) งูสิง*(Ptyas korros)* งูเห่า *(Naja naja*) นกแสก*(Tyto alba)* พังพอน*(Herpestes javanicus)* เห*ี้*ย*(Varanus salvator)* งูแมวเซา*(Vipera russellii)* เหยี่ยวแดง*(Haliastur indus)* และเหยี่ยวรุ้ง *(Spilornis cheela)* ภาคเหนือ พบ นกแสก*(Tyto alba)* เหยี่ยวขาว*(Elanus caeruleus*) งูเห่า*(Naja naja*) งูสิง *(Ptyas korros)* พังพอน*(Herpestes javanicus)* งูเหลือม*(Phython reticulatus)* และงูทางมะพร้าว *(Coelognathus radiatus)* ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบ นกแสก*(Tyto alba)* งูสิง *(Ptyas korros)* แมวดาว*(Prionilurus bengalensis)*และอีเห็นข้างลาย*(Paradoxurus hermaphroditus)*

จากการสำรวจในพื้นที่ปาล์มปลูกใหม่ทุกภาค พบสัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนูรวม 13 ชนิด สัตว์ศัตรูธรรมชาติที่ดักมานั้น ได้นำมาสตัฟท์และจัดเก็บรวบรวมไว้ในตู้เก็บตัวอย่างสัตว์เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการสืบค้นของนักวิจัย

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-47-51

คำนำ

ในธรรมชาติมีสัตว์ที่กินหนูเป็นอาหารอยู่หลายชนิด สัตว์เหล่านี้เรียกว่าสัตว์ผู้ล่า จะทำหน้าที่ควบคุมประชากรหนูไม่ให้เพิ่มขึ้นมากเกินไป เมื่อจำนวนของสัตว์ผู้ล่ามีความสมดุลกับจำนวนหนูที่เป็นเหยื่อ กลไกการควบคุมกันเองตามธรรมชาติจะเกิดขึ้น ประชากรหนูศัตรูพืชจะไม่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว แต่ในระบบนิเวศของพื้นที่เกษตรกรรม กลไกการควบคุมกันเองตามธรรมชาติถูกรบกวน เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงสภาพที่อยู่อาศัย การรบกวนหรือล่าโดยคน รวมทั้งการได้รับผลกระทบจากการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช จำนวนของสัตว์ผู้ล่าในพื้นที่เกษตรกรรมจึงเหลืออยู่น้อย ไม่เพียงพอที่จะควบคุมหนูซึ่งมีอยู่มากกว่า และเพิ่มจำนวนได้เร็ว แต่อย่างไรก็ตาม ยังมีสัตว์ผู้ล่าอีกหลายชนิดที่อยากเข้ามาอยู่อาศัยในพื้นที่เกษตรกรรม และทำหน้าที่เป็นผู้คอยควบคุมหนูศัตรูพืชให้แก่เกษตรกร ถ้าหากได้รับความช่วยเหลือในด้านแหล่งอาศัย หลบภัยในที่ปลอดภัย สถานที่สร้างรังวางไข่ และเลี้ยงดูลูก รวมทั้งลดปัจจัยคุกคามที่เป็นอันตราย เช่น การล่าโดยคนและสัตว์เลี้ยง การใช้สารเคมีกำจัดหนูที่จะส่งผลกระทบไปถึงสัตว์ผู้ล่า สัตว์ผู้ล่าที่มีศักยภาพในการควบคุมประชากรหนูในพื้นที่เกษตรกรรม ได้แก่ นกแสก นกเค้าแมว เหยี่ยว นกกะปูด พังพอน ชะมด อีเห็น แมวดาว แมวป่า งูสิง และงูทางมะพร้าว เป็นต้น ได้มีการศึกษาบทบาทของสัตว์ศัตรูธรรมชาติในการควบคุมประชากรหนูในเกาะฮาวายโดยใช้พังพอนธรรมดา(*Herpestes javanicus*) ซึ่งพังพอนที่นำไปปล่อยสามารถกำจัดหนูจนหมด แต่เนื่องจากพื้นที่บนเกาะมีจำกัดเมื่อหนูซึ่งเป็นอาหารในธรรมชาติหมดไป พังพอนได้เข้าไปขโมยกินไก่ของเกษตรกร ทำให้เกิดปัญหาติดตามมา Lekagul(1977)ได้กล่าวว่าหากประชากรของหนูและพังพอนอยู่ในภาวะสมดุลตามธรรมชาติแล้วจะสามารถควบคุมประชากรหนูได้ดีและเกิดประโยชน์มากกว่าโทษ ส่วนในประเทศมาเลเซียเจ้าของสวนปาล์มน้ำมัน

สร้างรังให้นกแสกเข้ามาอาศัย วางไข่ และเลี้ยงดูลูก เพื่อให้นกแสกช่วยกำจัดหนูศัตรูของปาล์มน้ำมัน โดยเฉพาะหนูบ้านท้องขาวที่เป็นศัตรูที่สำคัญชนิดหนึ่งในระยะปาล์มให้ผลผลิตแล้ว นกแสก 1 ตัว สามารถกำจัดหนูได้วันละ 1-2 ตัว ถ้าเป็นช่วงที่พ่อแม่เลี้ยงลูก นกแสกจะจับหนูเพิ่มมากขึ้นอีกตามจำนวนลูกที่มันเลี้ยงอยู่ขณะนั้น(Lenton, 1980) การศึกษาในประเทศไทย สุภาพ(2525)ได้จำแนกเศษอาหารที่นกแสกสำรอกออกมาในพื้นที่จังหวัดอ่างทอง พบว่าร้อยละ95.34โดยน้ำหนักของเศษอาหารเป็นชิ้นส่วนของกระดูก กระโหลก และขนหนูชนิดต่างๆ ได้แก่ หนูนาใหญ่ร้อยละ 61.90 หนูท้องขาวร้อยละ 5.05หนูหริ่งร้อยละ 4.32หนูพุกเล็กร้อยละ 4.04และอื่นๆที่จำแนกไม่ได้อีกร้อยละ 19.04 กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร ได้เก็บข้อมูลในลักษณะเดียวกันในท้องที่จังหวัดสิงห์บุรีพบชิ้นส่วนของกระดูก กระโหลก และขนหนูหริ่งร้อยละ33.90 หนูท้องขาวร้อยละ6.70 หนูพุกเล็กร้อยละ1.70 ที่เหลือเป็นนกและค้างคาวอีกเล็กน้อย(พวงทองและคณะ,2540) บุษบง(2543)ได้ศึกษาการกินอาหารของชะมดแผงหางปล้องในสวนยางพาราจังหวัดสุราษฎร์ธานีระหว่างปี 2541-2542 จากมูลของชะมดแผงหางปล้องจำนวน 158 กอง พบว่าประกอบด้วย ผลไม้ร้อยละ 44.2 สัตว์มีกระดูกสันหลังร้อยละ27.2 สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังร้อยละ

19.8 หญ้าร้อยละ 8.0 และ อื่นๆ ร้อยละ 0.9 โดยเฉพาะ ในส่วนที่เป็นสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมร้อยละ77.02 คือ สัตว์จำพวกหนู กระรอก และอ้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. กรงดักสัตว์ ตาข่ายดักนก
2. เหยื่อดักสัตว์ เช่น ปลาสด โครงไก่ ข้าวโพดหวาน เป็นต้น
3. สวนปาล์มน้ำมันปลูกใหม่ของเกษตรกรในเขตภาคใต้ ภาคตะวันออก ภาคกลาง ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
4. เครื่องชั่งน้ำหนักสนาม ถุงผ้าดิบ สายวัด ไม้บรรทัด เวอร์เนียร์ ไฟฉาย
5. เครื่องมือผ่าตัด ขวดดองสัตว์ บีกเกอร์ petridish ฟอร์เซ็บ เชือก สำลี ลวด
6. สารเคมี เช่น alcohol , formalin , diethylether , borax เป็นต้น
7. กล้องถ่ายรูป ฟิลม์สี ฟิลม์สไลด์ กล้องจุลทรรศน์ แว่นขยาย
8. ตู้เก็บตัวอย่างสัตว์ สมุดบันทึกข้อมูล
9. อุปกรณ์อื่นๆที่จำเป็น เช่นไฟฉาย ถ่านไฟฉาย ถุงพลาสติก กระดาษทิชชู เป็นต้น

วิธีการ

สำรวจ รวบรวม เก็บตัวอย่างหนูและสัตว์ศัตรูธรรมชาติในพื้นที่ปลูกปาล์มที่เลือก โดยทำการดักสัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนูศตรูปาล์มน้ำมันในพื้นที่ปาล์มปลูกใหม่ในเขต ภาคใต้ ภาคตะวันออก ภาคกลาง ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยสุ่มวางกรงดักสัตว์ 100 กรง บริเวณโคนต้นปาล์มน้ำมัน ต้นละ 1 กรง เดือนละ1 ครั้งๆละ3 วัน ทำการตรวจกรงทุกวัน บันทึกข้อมูลระบบนิเวศของพื้นที่นั้น อายุปาล์มน้ำมันและจำนวนสัตว์ที่ดักได้ นำมาจำแนกชนิด เพศ น้ำหนัก และรายละเอียดของสัตว์ที่ดักได้ เพื่อวิเคราะห์ชื่อวิทยาศาสตร์และลักษณะความแตกต่างตามระบบอนุกรมวิธานของสัตว์ สตัฟท์และจัดเก็บตัวอย่างสัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนูพร้อมบันทึกข้อมูลเบื้องต้นไว้ในตู้เก็บตัวอย่างสัตว์ของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการสืบค้นของนักวิจัยต่อไป

การบันทึกข้อมูล(Observation or Measurements)

1. บันทึกจำนวน ชนิด เพศ น้ำหนัก ลักษณะสีขน ความยาวลำตัว ความยาวหาง ความยาวตีนหลัง ความยาวใบหู ของสัตว์ที่ดักได้
2. บันทึกลักษณะความเสียหายของปาล์มน้ำมันที่ถูกหนูทำลายในพื้นที่ทำการสำรวจ
3. บันทึกสภาพนิเวศวิทยาของพื้นที่ทำการสำรวจ

4. บันทึกลักษณะสำคัญของตัวอย่างทีเก็บรวบรวมมาศึกษาในห้องปฏิบัติการ เช่น ลักษณะกะโหลก ฟัน สีขน ความยาวอวัยวะต่างๆ สภาพนิเวศวิทยาพื้นที่ที่ดักสัตว์ศัตรูธรรมชาติได้ เพื่อจำแนกชื่อวิทยาศาสตร์ ที่ถูกต้อง

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2548 สิ้นสุด กันยายน 2553 ระยะเวลา 5 ปี

สถานที่ดำเนินการ

- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร เกษตรกลาง บางเขน จตุจักร กรุงเทพฯ
- พื้นที่ปาล์มปลูกใหม่ในภาคใต้ ภาคตะวันออก ภาคกลาง ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การสำรวจชนิดสัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนูในพื้นที่ปาล์มปลูกใหม่อายุ 1- 3 ปี ได้ทำการสำรวจทุกภาคของประเทศไทย ในพื้นที่ภาคใต้ ภาคตะวันออก ภาคกลาง ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยการสัมภาษณ์เกษตรกร สำรวจ วางกรงดักและตาข่ายดักสัตว์ในบริเวณสวนปาล์มน้ำมันและพื้นที่โดยรอบซึ่งมีทั้งสวนปาล์ม สวนยาง สวนผลไม้ พื้นที่ปลูกพืชไร่ นาข้าว พื้นที่ว่างเปล่า และแหล่งน้ำ เป็นต้น ชนิดสัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนูที่พบในแต่ละพื้นที่โดยแบ่งตามภาค

ภาคใต้ : จังหวัดชุมพรและสุราษฎร์ธานี พบ นกแสก *(Tyto alba)* พังพอน*(Herpestes javanicus)* งูสิง*(Ptyas korros)* และงูเห่า*(Naja naja*)

ภาคตะวันออก : จังหวัดชลบุรี ระยองและสระแก้ว พบ พังพอน*(Herpestes javanicus)* นกแสก*(Tyto alba)* และงูสิง*(Ptyas korros)*

ภาคกลาง : จังหวัดปทุมธานี สุพรรณบุรี กาญจนบุรี ราชบุรี และประจวบคีรีขันธ์ พบ เหยี่ยวขาว*(Elanus caeruleus*) งูสิง*(Ptyas korross)* งูเห่า*(Naja naja*) นกแสก *(Tyto alba)* พังพอน*(Herpestes javanicus)* เหี้ย*(Varanus salvator)* งูแมวเซา*(Vipera russellii)* เหยี่ยวแดง *(Haliastur indus)* และเหยี่ยวรุ้ง*(Spilornis cheela)*

ภาคเหนือ : จังหวัดพิษณุโลก พบ นกแสก*(Tyto alba)* เหยี่ยวขาว*(Elanus caeruleus*) งูเห่า*(Naja naja*) งูสิง*(Ptyas korros)* พังพอน*(Herpestes javanicus)* งูเหลือม*(Phython reticulatus)* และงูทางมะพร้าว*(Coelognathus radiatus)*

ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ :จังหวัดหนองคาย พบนกแสก*(Tyto alba)* งูสิง*(Ptyas korros)* แมวดาว*(Prionilurus bengalensis)* และอีเห็นข้างลาย*(Paradoxurus hermaphroditus)*

จากการสำรวจในพื้นที่ปาล์มปลูกใหม่ทุกภาค พบสัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนูรวม 13 ชนิดแต่ดักได้บางชนิดเท่านั้น สัตว์ศัตรูธรรมชาติที่ดักมานั้นได้นำมาสตัฟท์ พร้อมทั้งจำแนกชื่อ

วิทยาศาสตร์และรายละเอียดของสัตว์ที่ดักได้ จัดเก็บรวบรวมไว้ในตู้เก็บตัวอย่างสัตว์ของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การสำรวจชนิดสัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนูในพื้นที่ปาล์มปลูกใหม่ทุกภาคของประเทศไทย สัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนูที่สำรวจพบมี 13 ชนิด ซึ่งชนิดที่พบกระจายทั่วทุกภาคและพบเห็นได้บ่อยและสำรวจพบมากที่สุดคือ นกแสก พังพอน งูสิงและงูเห่า ตามลำดับ สัตว์ศัตรูธรรมชาติที่ดักมาเมื่อสตัฟท์แล้ว ได้จัดเก็บรวบรวมไว้ในตู้เก็บตัวอย่างสัตว์ของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตรเพื่อใช้เป็นข้อมูลฐานในการสืบค้นของนักวิจัยต่อไป

ปัญหาในการทดลอง คือ เกษตรกรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือนิยมบริโภคสัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนูทุกชนิด ส่งผลให้จำนวนประชากรของสัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนูลดลง ในอนาคตอาจขาดแคลนต้องนำสัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนูจากถิ่นอื่นมาช่วยกำจัดหนู

การนำไปใช้ประโยชน์

1. ได้เก็บรวบรวมตัวอย่างสัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนูในสภาพนิเวศปาล์มปลูกใหม่ของประเทศไทย เพื่อการศึกษาทางอนุกรมวิธานและชีววิทยาของสัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนูในสภาพนิเวศปาล์มปลูกใหม่ซึ่งเป็นข้อมูลพื้นฐานในการอนุรักษ์และนำมาใช้ประโยชน์ในการป้องกันกำจัดหนูต่อไป
2. นำตัวอย่างสัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนูที่ได้มาสตัฟท์ จำแนกชนิดและเก็บรวบรวมไว้ในห้องพิพิธภัณฑ์ของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร เพื่อเป็นตัวอย่างสำหรับการศึกษาวิจัย

คำขอบคุณ

ข้าราชการและพนักงานกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช คุณเกรียงศักดิ์ หามะฤทธิ์ ที่ช่วยเก็บข้อมูลการทดลอง ถ่ายภาพและจำแนกชนิด คุณกรแก้ว เสือสะอาด คุณทัศวรรณ พุ่มกาหลง คุณสมเกียรติ กล้าแข็ง คุณชาติศักดิ์ สังขวัฒน์ ที่ช่วยเก็บข้อมูลการทดลอง และคุณทรงทัพ แก้วตา ที่ทำหน้าที่สตัฟท์ตัวอย่างสัตว์ศัตรูธรรมชาติและจัดเก็บไว้ในห้องพิพิธภัณฑ์ จนสำเร็จลุล่วงด้วยดีทุกประการ

เอกสารอ้างอิง

Brugger,R.L.1982.Preference of *Bandicota bengalensis* for oil. Page 32-35. *In* :Vertebrate Damage Control Research in Agriculture.1982. Annual Report. Denver Wildlife Research Center.U.S.A.

Chakraborty,R.and S. Chakraborty.1990.Food habit and feeding behaviou of the large bandicoot at, *Bandicota indica* (Bechstein).Rodent Newsletter 14:5-6.

Katoch,K.1981. Study of food preference of *Rattus rattus* . Rodent Newsletter.5(4):27

Lekagul,b.and J.A.McNeely.1977.Mammals of Thailand.Kuruspha Ladprao Press,Bangkok,758pp.

Sultiman,S.M.,S.A.Shumake and W.B.Jackson.1984.Food preference in the Nile rat, *Arvicanter niloticus.* Tropical Pest Management.20(2):151-158.

สำรวจและศึกษาชนิดหนูศัตรูพืชในระบบนิเวศปาล์มปลูกใหม่
Exploration and Studies on Rat Species in Oil Palm Plantations Ecosystem

กรแก้ว เสือสะอาด พวงทอง บุญทรง เกรียงศักดิ์ หามะฤทธิ์ ทรงทัพ แก้วตา
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาชนิดหนูศัตรูปาล์มน้ำมันในระบบนิเวศต่างๆระหว่าง เดือนตุลาคม พ.ศ.2548ถึง กันยายนพ.ศ.2553 เพื่อศึกษาชนิดและการแพร่กระจายของหนูที่ทำความเสียหายแก่ปาล์มน้ำมันอายุ 1-3 ปี ครอบคลุมพื้นที่ 18 จังหวัด ในเขตภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันตก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคใต้ โดยทำการดักและรวบรวมตัวอย่างหนูและสัตว์ศัตรูพืชจากพื้นที่ปลูกปาล์มใหม่ ตัวอย่างที่รวบรวมได้ จำแนกชนิด ชื่อวิทยาศาสตร์ ที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา จากการตรวจจำแนก พบสัตว์ฟันแทะอยู่ใน Order Rodentia มี 15 ชนิด หรือ 3 วงศ์(Family)ได้แก่ Family Muridae มี 3 สกุล คือ**สกุลหนูพุก** มี 2 ชนิด ได้แก่หนูพุกใหญ่และหนูพุกเล็ก **สกุลหนูท้องขาวมี** 8 ชนิด ได้แก่ หนูท้องขาวบ้าน หนูนาใหญ่ หนูป่ามาเลย์ หนูจิ๊ด หนูหวาย หนูฟันขาวใหญ่ หนูฟันขาวเล็ก หนูฟานเหลือง **สกุลหนูหริ่ง** มี 3 ชนิดได้แก่ หนูหริ่งนาหางยาว หนูหริ่งนาหางสั้น หนูหริ่งป่าใหญ่ขนเสี้ยน นอกนั้นพบอ้นเล็กอยู่ในFamily Rhizomyidae และกระจ้อนหรือกระแตอยู่ใน Family Sciuridae ซึ่งสกุลหนูพุก หนูท้องขาวบ้านและหนูหริ่ง มีเขตการแพร่กระจายพบทั้ง 4 ภาคของประเทศไทย

-

ABSTRACT

Exploration and studies on rat species and their distribution in new oilpalm plantations ecosystem were studied during October,2006 to September, 2010. The survey and collection of rodents were done in many areas covering 18 provinces in the Central region,Eastern region, Western region, Northeastern region and Southern region ofThailand.The collected rodents were identified in the laboratory at Agricultural Zoology Section,Entomology and Zoology Research Group.The study found 15 species in 3 Families in Order Rodentia . That included *Bandicota indica*, *Bandicota savilei*, *Rattus rattus*, *Rattu exulans*,*Mus caroli*,*Mus cervicolor*, *Mus shortridgei*,*Maxomys surifer*, *Berylmys berdmorei*,*Berylmys bowersi*,*Leopoldamys sabanus*,*Rattus tiomanicus*, *Rattus*

รหัสการทดลอง 09-02-49-02-01-48-51

argentiventer in Family Muridae and *Cannomys badius* jn Family Rhizomyidae and *Menetesberdmorei* jn Family Sciuridae. among of these *Bandicota* spp., *Rattus rattus* and *Mus* spp. were found almost of 4 regions of Thailand.

คำนำ

การทำเกษตรกรรมสมัยใหม่ที่เพาะปลูกพืชเพื่อการค้า เป็นการปลูกพืชเชิงเดี่ยวทำให้ระบบนิเวศเปลี่ยนไป เกิดการระบาดของศัตรูพืชก่อให้เกิดความเสียหายแก่พืชเศรษฐกิจต่างๆโดยเฉพาะสัตว์ศัตรูพืช มีทั้งหนู นก และ หอยหลายชนิด ที่เป็นศัตรูแก่พืชเศรษฐกิจเหล่านี้ สำหรับในประเทศไทย จากการสำรวจความเสียหายของพืชต่างๆระหว่าง ปี 2530-2535 มี ข้าวบาร์เลย์ 6.5% ข้าวสาลี 6.36% อ้อย 5.3% ปาล์มน้ำมัน 6-30% มะพร้าว 8.7% มะคาเดเมียนัท2.14%และยังมีพืชอีกหลายชนิดที่ถูกหนูทำลาย(กลุ่มงานสัตววิทยา การเกษตร,2544) ปาล์มน้ำมันเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีศักยภาพสูงกว่าพืชน้ำมันอื่นๆ ทั้งด้านการผลิตและการตลาดเป็นพืชยืนต้นที่ทนทานต่อผลกระทบจากภัยธรรมชาติ ลงทุนเพียงครั้งเดียว เก็บผลผลิตได้นานถึง 20 ปี เป็นพืชที่ให้ผลผลิตตลอดปี จึงเป็นแหล่งอาหารที่สมบูรณ์ของสัตว์ป่า สวนปาล์มน้ำมันที่ติดชายป่ามักได้รับความเสียหายจากการทำลายของสัตว์ป่าหลายชนิด สัตว์ฟันแทะ(rodent)เป็นสัตว์ศัตรูที่สำคัญชนิดหนึ่ง ได้แก่ กระรอก อ้น ชนิดต่างๆ สัตว์พวกนี้หากินบนพื้นดิน(Terrestrial) ซึ่งชอบขุดรูอยู่ เช่น เม่น หนูนาชนิดต่างๆหรือหากินบนต้นไม้(arboreal) เกษตรกรมักแก้ปัญหาการทำลายของศัตรู พืชเหล่านี้ โดยการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดซึ่งมีผลกระทบต่อสภาพนิเวศการเกษตรทำให้ศัตรูธรรมชาติตายไป สภาพสมดุลทางธรรมชาติเสียไปเมื่อเปรียบเทียบกับสภาพนิเวศธรรม ชาติ ที่มักไม่เกิดปัญหาเหล่านี้ เนื่องจากมีความหลากหลายของสัตว์ศัตรูพืชและศัตรูธรรม ชาติมากมาย จึงทำให้เกิดการระบาดของสัตว์ศัตรูพืชน้อยมาก(เกรียงศักดิ์,2540; ประเสริฐ และเกรียงศักดิ์,2546; Lekunze, Ezealor และAken Ova, 2001;Duckett และKaruppiah, 1989) และเนื่องจากยุทธศาสตร์ปาล์มน้ำมัน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์มีเป้าหมายจะขยายพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันให้ได้ 10 ล้านไร่ ในปี2572 เพื่อให้เพียงพอต่อการผลิตไบโอดีเซลใช้ในประเทศ(พรรณนีย์,2548) ทำให้เกษตรกรทุกภาคสนใจที่จะเปลี่ยนจากพืชที่เคยปลูก เช่น ไม้ผล ข้าว พืชไร่บางชนิดมาปลูกปาล์มน้ำมันแต่ในสภาพแวดล้อมที่เคยปลูกพืชอาจเคยมีปัญหาศัตรูพืชมากหรือน้อยต่างกันดังนั้น การ ศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทราบ ชนิด ชื่อวิทยาศาสตร์ ลักษณะความแตกต่างพืชอาศัย นิเวศวิทยา เขตการแพร่กระจายของสัตว์ศัตรูพืช เพื่อเก็บรักษาตัวอย่างสัตว์ศัตรูพืชที่พบทั้งหมดไว้ในพิพิธภัณฑ์ของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร เพื่อใช้ในการจัดทำข้อมูลของสัตว์เหล่านี้ต่อไป โดยดำเนินการในพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันอายุ1-3ปี ในประเทศไทยเพื่อให้ทราบถึงความหลากหลายของสัตว์ศัตรูพืช สภาพการปลูกพืชชนิดต่างๆ เพื่อเป็นประโยชน์ในการหาแนวทางจัดการศัตรูพืชไม่ให้เกิดการระบาดรุนแรง ประโยชน์ในการนำไปใช้ในการบริหารศัตรูพืช โดยใช้ปัจจัยธรรมชาติควบคุมศัตรูพืชในพืชเศรษฐกิจชนิดต่างๆดังนั้นข้อมูล พื้นฐาน เช่น ข้อมูลทางด้าน

อนุกรมวิธานชนิด จำนวน เขตการแพร่กระจายของสัตว์ศัตรูพืช ความเสียหายของพืชผล ระยะเวลาการระบาด ความหลากชนิดของสัตว์เหล่านี้ในสภาพพื้นที่นั้นๆ จึงมีความสำคัญและจำเป็นต้องทำการศึกษาเพื่อประโยชน์ในการสืบค้นข้อมูล และ เป็นแนวทางในการนำไปใช้วางแผนการจัดการสัตว์ศัตรูพืชอย่างมีประสิทธิภาพ ในการจำแนกชนิด ใช้ระบบการจำแนกชนิดของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ในประเทศไทย อาศัยหลักการจำแนกชนิด ในหนังสือ Mammal of Thailand ของLekagul, B and Mc Needly ปี 1997 หรือ หนังสือ The Mammal of the Indomalayan Region ของ Corbet,G.B.andJ.E .Hill ปี1992 รวมทั้งควรใช้ประโยชน์จากศัตรูธรรมชาติเช่นนกแสก(Smal,1990) ในการควบคุมการระบาดของสัตว์ศัตรูพืชโดยไม่ใช้สารเคมีในการกำจัดศัตรู พืช เผยแพร่ข้อมูลข่าวสารศัตรูพืชเหล่านี้ ให้แก่เกษตรกรและผู้สนใจต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

1. กรงดักหนู(Live trap) 100 กรง กรงเลี้ยงหนู อาหารเลี้ยงหนู
2. เหยื่อดักหนู เช่น ขี้ไต้ ข้าวโพดหวาน
3. สวนปาล์มน้ำมันปลูกใหม่ของเกษตรกรในเขตจังหวัดปทุมธานี จังหวัดสระบุรี จังหวัดอุทัยธานี จังหวัดสุพรรณบุรี จังหวัดพิษณุโลก จังหวัดกำแพงเพ็ชร จังหวัดชลบุรี จังหวัดระยอง จังหวัดจันทบุรี จังหวัดตราด จังหวัดสระแก้ว จังหวัดกาญจนบุรี จังหวัดราชบุรี จังหวัดหนองคาย จังหวัดกาฬสินธุ์ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ จังหวัดชุมพร และ จังหวัดสุราษฎร์ธานี
4. เครื่องชั่งน้ำหนักสนาม เชือก สำลี ลวด บอร์แร็ก เวอร์เนียร์ ไม้บรรทัด ไฟฉาย สายวัด ถุงผ้าดิบ สมุดบันทึกข้อมูล เครื่องมือผ่าตัด ขวดดองสัตว์ บิ๊กเกอร์ petridish ฟอร์เซ็บ
5. สารเคมี เช่น แอลกอฮอล์ ฟอร์มาลิน ไดเอททิลอีเทอร์ ไดอ็อกแซน เป็นต้น
6. อุปกรณ์สำหรับสตั๊ฟสัตว์ เช่น ใบมีดผ่าตัด กรรไกรตัดกระดูก ผงบอแร็ก ลวด สำลี
7. กล้องจุลทรรศน์ แว่นขยาย กล้องถ่ายรูป
8. ตู้เก็บตัวอย่างสัตว์

แบบและวิธีการทดลอง

1.แผนการทดลอง(Experimental Design): -

2.กรรมวิธี(Treatment) -

3.วิธีปฏิบัติการทดลอง (Methods or cultural Practice)

ดำเนินการศึกษาชนิดสัตว์ศัตรูในพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันอายุ1-3ปีในประเทศไทย ซึ่งเป็นพื้นที่ที่เคยปลูกพืชชนิดอื่นมาก่อน พื้นที่ร้าง หรือปลูกปาล์มร่วมกับพืชไร่ ไม้ผลอื่นๆ โดยครอบคลุมตั้งแต่สำรวจ ดักหนู เก็บรวบรวมตัวอย่าง จำแนกตัวอย่างหนูศัตรูพืช เขตการแพร่กระจาย การเก็บรักษาตัวอย่างไว้ในพิพิธภัณฑ์กลุ่มกีฏและสัตววิทยา

3.1โดยการหาข้อมูลพื้นที่ปลูกปาล์มอายุ 1-3 ปี โดยเป็นพื้นที่ยังไม่เคยปลูกปาล์มมาก่อน เช่น พื้นที่เป็นนาร้าง พื้นที่ที่เปลี่ยนจากพืชอื่นๆมาปลูกปาล์มน้ำมันหรือปลูกปาล์มน้ำมันร่วมกับไม้ผล พืชไร่ หรือพืชสวน

3.2 สำรวจ รวบรวม เก็บตัวอย่างหนูและสัตว์ศัตรูพืชในพื้นที่ปลูกปาล์มอายุ 1-3 ปี โดยการดักหนูและสัตว์ศัตรูปาล์มน้ำมันโดยสุ่มดักด้วยข้าวโพดหวาน หรือ ขี้ไต้ในพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันของเกษตรกร 18 จังหวัด คือ จังหวัดปทุมธานี จังหวัดสระบุรี จังหวัดอุทัยธานี จังหวัดสุพรรณบุรี จังหวัดพิษณุโลก จังหวัดกำแพงเพ็ชร จังหวัดชลบุรี จังหวัดระยอง จังหวัดจันทบุรี จังหวัดตราด จังหวัดสระแก้ว จังหวัดกาญจนบุรี จังหวัดราชบุรี จังหวัดหนองคาย จังหวัดกาฬสินธุ์ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ จังหวัดชุมพร และจังหวัดสุราษฎร์ ธานี ในแต่ละจังหวัดสุ่มวางกรงดักหนู1-5 อำเภอ ขึ้นอยู่กับมีการปลูกปาล์มน้ำมันในพื้นที่มากเท่าใด โดยสุ่มวางกรงดักหนูพื้นที่ละ100กรงบริเวณโคนต้นปาล์มน้ำมันต้นละ 1 กรง เดือนละ1 ครั้งๆละ3 วัน หรือตามร่องรอยที่พบการทำลายของหนู ทำการตรวจกรงทุกวันบันทึกระบบนิเวศของพื้นที่ อายุปาล์มน้ำมันและจำนวนหนูที่ดักได้ น้ำหนัก ลักษณะสีขน ความยาวลำตัว ความยาวหาง ความยาวตีนหลัง ความยาวใบหู ของหนูที่ดักได้

3.3 เก็บรวบรวมตัวอย่างหนูและสัตว์ที่ดักได้นำมาจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ ตัวอย่างหนูมีชีวิตและหนูตายดองในขวดบรรจุฟอร์มาลินหรือแอลกอฮอล์ 70% เพื่อนำมาวิเคราะห์ชื่อวิทยาศาสตร์ ลักษณะความแตกต่าง ตามระบบอนุกรมวิธานของในห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร โดยนำมาจำแนกชนิด เพศ น้ำหนัก และรายละเอียดของสัตว์ที่ดักได้ เช่น สีขนด้านหลัง สีขนท้อง ความยาวของหัว ความยาวลำตัว ความยาวหาง ความยาวหู ความยาวตีนหลัง ลักษณะของกระโหลก ฟัน เป็นต้น ต้น 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

3.4 สต๊ัฟตัวอย่างหนูและสัตว์ที่ดักได้และจัดเก็บเป็นตัวอย่างพร้อมบันทึกข้อมูลเบื้องต้นไว้ในตู้เก็บตัวอย่างสัตว์ของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เพื่อใช้เป็นข้อมูลฐานในการสืบค้นของนักวิจัยต่อไป

การบันทึกข้อมูล(Observation or Measurements)

1. บันทึกสภาพนิเวศวิทยาของพื้นที่ทำการสำรวจ
2. บันทึกความเสียหายของปาล์มน้ำมันที่ถูกหนูทำลายในพื้นที่ทำการสำรวจ
3. บันทึกจำนวน ชนิด เพศ น้ำหนัก ลักษณะสีขน ความยาวลำตัว ความยาวหาง ความยาวตีนหลัง ความยาวใบหู ของหนูที่ดักได้
4. บันทึกลักษณะสำคัญของตัวอย่างที่เก็บรวบรวมมา ศึกษาในห้องปฏิบัติการ เช่น สีขน ลักษณะกะโหลกฟัน ความยาวอวัยวะต่างๆ สภาพนิเวศวิทยาพื้นที่ดักหนูได้ จำแนกชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้อง

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาดำเนินการ : เริ่มต้น ตุลาคม 2548 สิ้นสุด กันยายน 2553 รวม 5 ปี

สถานที่ดำเนินการ :

1. พื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันอายุ 1-3 ปีของเกษตรกร ใน18 จังหวัดหรือ4ภาคของประเทศไทย

2.ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

❖**ภาคกลาง 6 จังหวัด**

: จังหวัด ปทุมธานี :ตำบลศาลาครุ อำเภอหนองเสือ

: จังหวัดสระบุรี :ตำบลหนองหมู อำเภอวิหารแดง และ ตำบลหนองแค อำเภอหนองแค

: จังหวัดอุทัยธานี :ตำบลคอกควาย อำเภอบ้านไร่

: จังหวัดกำแพงเพชร :ตำบลวังทองและตำบลอ่างทอง อำเภอเมือง ตำบลเทพนิมิต และตำบลวังชะโอน อำเภอบึงสามัคคี

: จังหวัดสุพรรณบุรี :ตำบลองค์พระและตำบลนิคมเกสียว อำเภอด่านช้าง

: จังหวัดพิษณุโลก : ตำบลบ้านมุง อำเภอเนินมะปราง ตำบลบ้านดง และตำบลบ้านกลาง อำเภอชาติตระการ ตำบลทับยายเชียง อำเภอพรหมพิราม ตำบลบ้านพร้าว และตำบลหนองกระท้าว อำเภอนครไทย

❖**ภาคตะวันออก 5 จังหวัด**

: จังหวัดชลบุรี : ตำบลหนองใหญ่ อำเภอหนองใหญ่

: จังหวัดระยอง : ตำบลหนองแตงโม อำเภอแกลง

: จังหวัดจันทบุรี: ตำบลหนองตาคงและตำบลทับไทร อำเภอโป่งน้ำร้อน

: จังหวัดตราด:ตำบลบ่อพลอยและตำบลช้างทูล อำเภอบ่อไร่ ตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง

:จังหวัดสระแก้ว:ตำบลไทยอุดม อำเภอคลองหาด ตำบลแซร์ออ อำเภอวัฒนานคร ตำบลผ่านศึกและ ตำบลทับพริก อำเภออรัญประเทศ

❖**ภาคตะวันตก 2 จังหวัด**

:จังหวัดกาญจนบุรี: ตำบลท่าขนุนและตำบลชะแล อำเภอทองผาภูมิ ตำบลหนองลู อำเภอสังขละบุรี ตำบลเขาโจด อำเภอศรีสวัสดิ์ ตำบลด่านมะขามเตี้ย อำเภอด่านมะขามเตี้ย

:จังหวัดราชบุรี : ตำบลห้วยยางโทน อำเภอปากท่อ ตำบลบ้านบึง อำเภอบ้านคา

❖**ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 2 จังหวัด**

: จังหวัดหนองคาย: ตำบลพระพุทธบาท อำเภอศรีเชียงใหม่ ตำบลบ้านม่วง อำเภอสังคม ตำบลหนองนาง อำเภอท่าบ่อ ตำบลศรีชมภู อำเภอโซ่พิสัย

: จังหวัดกาฬสินธุ์: ตำบลโพนกรง อำเภอเมือง

❖**ภาคใต้ 3 จังหวัด**

: จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ :ตำบลบ่อนอก อำเภอเมือง ตำบลศาลาลัย และ ตำบลศิลาลอย อำเภอสามร้อยยอด ตำบลหนองพลับ อำเภอหัวหิน ตำบลกุยบุรี อำเภอกุยบุรี ตำบลบาง

สะพาน อำเภอบางสะพานน้อย

:จังหวัดชุมพร: ตำบลนาพญาและตำบลท่ามะพลา อำเภอหลังสวน ตำบลตากแดด อำเภอเมือง ตำบลครน อำเภอสวี

:จังหวัดสุราษฎร์ธานี:ตำบลพุนพิน อำเภอพุนพิน และ ตำบลทุ่ง อำเภอไชยา

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการศึกษาชนิดหนูศัตรูพืชในพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันภาคต่างๆของประเทศไทยจำนวนทั้งสิ้น 18 จังหวัด(ตารางที่1และ ตารางที่ 2) พบว่า สัตว์ที่ทำความเสียหายแก่ปาลม์น้ำมัน อายุ1-3 ปี ซึ่งเป็นช่วงที่ต้นปาล์มน้ำมันมีขนาดเล็ก จึงพบทำลายมากระยะปลูกใหม่ๆ หนูและสัตว์ที่พบ อยู่ในอันดับสัตว์ฟันแทะ(OrderRodentia) มี 15 ชนิด หรือ 3 วงศ์(Family) ได้แก่

1.Family Muridae มี 3 สกุล คือ

1.1 สกุลหนูพุก(*Bandicota* spp.) มี 2 ชนิด เป็นหนูที่มีขนาดใหญ่ มีน้ำหนักตัวตั้งแต่ 300 ถึง 800 กรัม ได้แก่ หนูพุกใหญ่(*Bandicota indica*) และ หนูพุกเล็ก (*Bandicota savilei*) ซึ่งพบทั้ง 4 ภาคของประเทศไทย การทำลายโดยกัดโคนต้นและยอดต้นอ่อนหรือทำลายโคนต้นทำให้ปาล์มแห้งตายในที่สุด

1.2 สกุลหนูท้องขาว มี 8 ชนิด เป็นหนูขนาดกลาง มีน้ำหนักตัว 100-300 กรัม ที่สำคัญ ได้แก่ หนูท้องขาวบ้าน(*Rattus .rattus*) หนูป่ามาเลย์(*Rattus tiomanicus*) หนูนาใหญ่(*Rattus argentiventer*) ทั้ง 3 ชนิดนี้พบมากในพื้นที่ปลูกปาล์มทางภาคใต้ โดยเฉพาะหนูท้องขาวบ้านพบในพื้นที่ปลูกปาล์มเล็กทั้ง 4 ภาคของประเทศไทย นอกนั้นยังพบหนูจี๊ด(*Rattus exulans*) หนูฟานเหลือง (*Maxomys surifer*) หนูฟันขาวเล็ก(*Berylmys berdmorei*) หนูฟันขาวใหญ่(*Berylmys bowersi*) หนูหวาย(*Leopoldamys sabanus*) พบเฉพาะที่จังหวัดกาญจนบุรี

1.3 สกุลหนูหริ่ง มี 3 ชนิด เป็นหนูขนาดเล็กมีน้ำหนักตัว 10-15 กรัม ไม่เป็นศัตรูที่สำคัญของปาล์มน้ำมัน ได้แก่ หนูหริ่งนาหางสั้น(*Mus cervicolor*) หนูหริ่งนาหางยาว(*Mus caroli*) พบมากทั้ง 4 ภาคของประเทศไทย สำหรับหนูหริ่งป่าใหญ่ขนเสี้ยน(*Mus shortridgei*)พบเฉพาะที่จังหวัดกาญจนบุรี

2.Family Rhizomyidae

2.1.อ้นเล็ก(*Cannomys badius*) กัดกินรากปาล์มใต้ดินของต้นปาล์มปลูกใหม่ มีน้ำหนักตัว 500-800 กรัม พบเฉพาะที่จังหวัดกาญจนบุรี

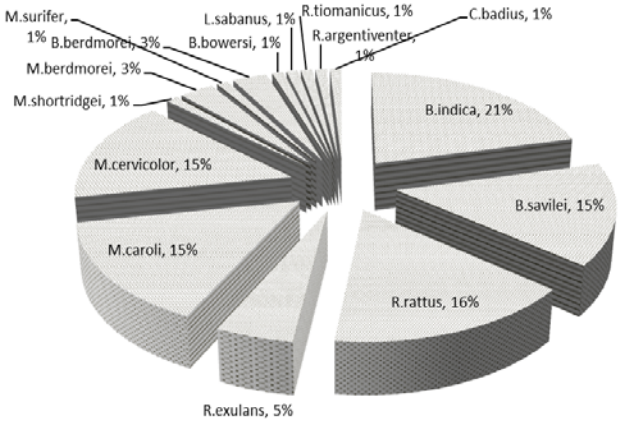
3.Family Sciuridae

3.1.กระจ้อนหรือกระแต (*Menetes berdmorei*) กัดกินลูกปาล์มสุกของปาล์มน้ำมันระยะให้ผลผลิต

จากผลการสำรวจพื้นที่ปาล์มปลูกใหม่อายุ 1-3 ปี พบการทำลายของกลุ่มหนูพุกกัดแทะทางใบปาล์มส่วนที่อยู่ติดพื้นดิน โคน และยอดต้นอ่อน หากมีการทำลายมากเฉพาะโคนต้นทำให้ต้นปาล์มแห้งตายในที่สุด หนูท้องขาวพบมากสุดในสวนปาล์มน้ำมันโดยเฉพาะปาล์มน้ำมันอายุตั้งแต่ 3 ปีขึ้นไป แต่จากการสำรวจมักพบหนูท้องขาวมากเนื่องจากพื้นที่เดิมปลูกไม้ผล พืชไร่ หรือมีทั้งปาล์มใหญ่เล็ก

ร่วมกัน ทำให้พบหนูชนิดนี้มากรวมทั้งเดิมในพื้นที่นั้นมีหนูอยู่แล้วเมื่อมีอาหารกินตลอดปีทำให้ขยายพันธุ์มากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาสัตว์ศัตรูปาล์มน้ำมันทางภาคใต้(พวงทองและเกรียงศักดิ์,2547)

การศึกษาชนิดหนูและสัตว์ศัตรูปาล์มน้ำมัน พื้นที่ทำการทำการศึกษา 18 จังหวัด พบว่ามีหนูพุกใหญ่(*Bandicota indica*) 21% หนูพุกเล็ก(*Bandicota savilei*) 15% หนูท้องขาวบ้าน(*Rattus rattus*) 16% หนูจี๊ด (*Rattus exulans*) 5% หนูหริ่งนาหางยาว (*Mus caroli*) 15% หนูหริ่งนาหางสั้น (*Mus cervicolor*) 15% หนูหริ่งป่าใหญ่ขนเสี้ยน(*Mus shortridgei*)1% กระจ้อนหรือกระแต (*Menetes berdmorei*)3% หนูฟานเหลือง(*Maxomys surifer*)1% หนูฟันขาวเล็ก (*Berylmys berdmorei*)3% หนูฟันขาวใหญ่ (*Berylmys bowersi*)1% หนูหวาย (*Leopoldamys sabanus*)1% หนูป่ามาเลย์ (*Rattus tiomanicus*)1% หนูนาใหญ่(*Rattus argentiventer*)1% และอ้นเล็ก (*Cannomys badius*) 1% ของจำนวนจังหวัดทั้งหมด(ภาพที่1)



ภาพที่1 แสดงชนิดหนูและสัตว์ต่างๆที่พบเป็นเปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ทำการสำรวจ 18 จังหวัด ระหว่างปี พ.ศ. 2549-2553

เขตการแพร่กระจายของชนิดหนูและสัตว์ในพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันอายุ1-3 ปี ที่พบในประเทศไทย

จากภาพที่1ตารางที่1 และ ตารางที่2พบว่ามีความหลากหลายของหนูและสัตว์ที่พบในพื้นที่ปลูกปาล์มใหม่อายุ1-3ปี ใน18 จังหวัด โดยเฉพาะ จังหวัดกาญจนบุรีพบหนูและสัตว์ฟันแทะหลากชนิดมาก (C,D,G,)เนื่องจากพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันอยู่ติดชายป่า หรืออยู่บนเขามีการปลูกทั้ง ไม้ผล พืชไร่ พืชสวนหลายชนิด จึงเป็นแหล่งอาหารที่สมบูรณ์ของสัตว์เหล่านี้ กลุ่มหนูพุก (A,B) เป็นศัตรูที่สำคัญของปาล์มระยะต้นเล็ก (1-2ปี) มีเขตการแพร่กระจายทั้ง 4 ภาค หนูท้องขาวบ้าน (I) เป็นศัตรูที่สำคัญของปาล์มน้ำมันระยะให้ผลผลิต(3-25 ปี) สำหรับกลุ่มหนูหริ่ง (E,F) เขตการแพร่กระจายพบในภาคตะวันตก ภาคตะวันออก เช่น จังหวัดระยองและจังหวัดสระแก้ว นอกจากนั้นมี จังหวัดหนองคายและจังหวัดประจวบคีรีขันธ์

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลการศึกษาพบว่าหนูและสัตว์ฟันแทะในพื้นที่ปลูกปาล์มอายุ1-3 ปีใน 18 จังหวัด อยู่ใน Order Rodentia (อันดับสัตว์ฟันแทะ)มี15 ชนิดหรือ 3 วงศ์(Family) ได้แก่ **Family Muridae ในสกุลหนูพุก** มีหนูพุกใหญ่(*Bandicota indica*) และหนูพุกเล็ก *Bandicota savilei*) **สกุลหนูท้องขาวมี** 8 ชนิด คือ หนูท้องขาวบ้าน (*Rattus rattus*), หนูนาใหญ่(*Rattus argentiventer*), หนูป่ามาเลย์ (*Rattus tiomanicus*), หนูจิ๊ด(*Rattus exulans*), หนูหวาย(*Leopoldamys sabanus*), หนูฟันขาวใหญ่ (*Berylmys bowersi*), หนูฟันขาวเล็ก (*Berylmys berdmorei*), หนูฟานเหลือง (*Maxomys surifer*) **สกุลหนูหริ่ง** มี 3 ชนิดคือ หนูหริ่งนาหางยาว (*Mus caroli*), หนูหริ่งนาหางสั้น (*Mus cervicolor*) และ หนูหริ่งป่าใหญ่ขนเสี้ยน (*Mus shortridgei*) นอกนั้นพบ อ้นเล็ก(*Cannomys badius*) .ใน **Family Rhizomyidae** และกระจ้อนหรือ กระแต(*Menetes berdmorei*) ใน **Family Sciuridae** (ภาพที่ 3)

สภาพนิเวศวิทยาเก่าของพื้นที่ปลูกปาล์มอายุ 1-3 ปี ได้แก่

ภาคกลาง พื้นที่เดิมเป็นร่องสวนส้ม นาข้าว หรือ ปลูกพืชไร่ เช่นมันสำปะหลัง กล้วย อ้อย และสับปะรด **ภาคตะวันออก** พื้นที่เดิมปลูกไม้ผล พืชไร่ และพื้นที่ร้าง **ภาคตะวันตก** พื้นที่เดิมปลูกไม้ผล นาข้าวและพืชไร่ **ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ** พื้นที่เดิมปลูกไม้ผล มันสำปะหลังหรือเป็นนาข้าว และ**ภาคใต้** พื้นที่เดิมเป็นนาข้าวหรือปลูกสับปะรดและไม้ผล

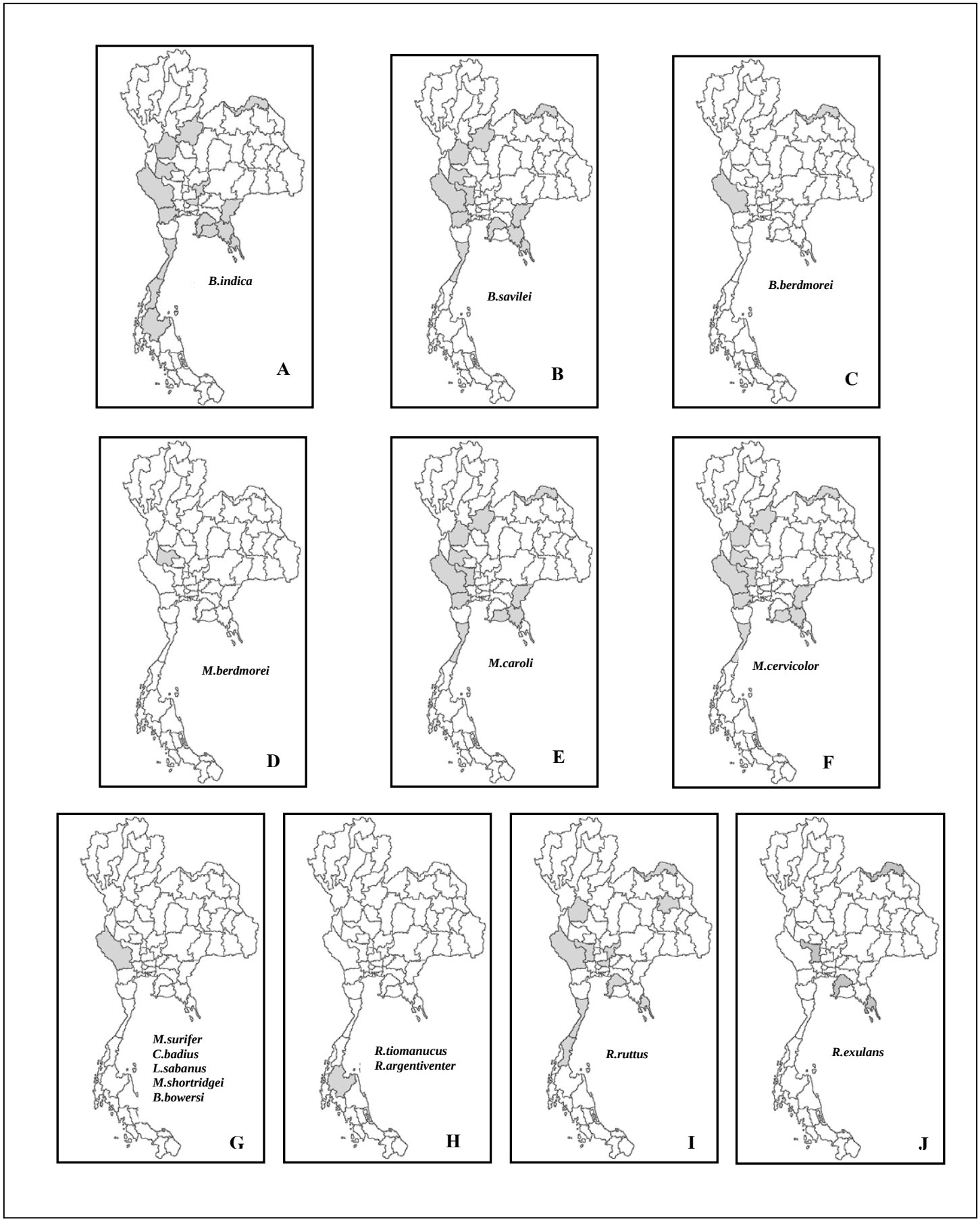
เขตการแพร่กระจายของสัตว์ศัตรูปาล์มน้ำมัน จากผลการสำรวจรวบรวมตัวอย่างหนูและสัตว์ฟันแทะที่เป็นศัตรูสำคัญ และมีเขตการแพร่กระจายไปทุกภาคที่ปลูกปาล์มน้ำมันได้แก่กลุ่มหนูพุก และกลุ่มหนูท้องขาว เกษตรกรผู้ปลูกปาล์มน้ำมันควรคำนึงถึงพื้นที่ปลูกและพึงตระหนักและเตรียมป้องกันศัตรูเหล่านี้ก่อนการระบาด

การทราบถึงชนิดหนูและสัตว์ฟันแทะที่มีแนวโน้มเป็นศัตรูสำคัญของพื้นปลูกปาล์มน้ำมันระยะ 1-3 ปี ในทุกภาคของประเทศไทยเพื่อพัฒนาวางแผนการควบคุมหนูและสัตว์ศัตรูในพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันทั้งระยะปลูกใหม่ และระยะให้ผลผลิตในพื้นที่เกษตรกร ที่อาจมีการระบาดของสัตว์ศัตรูพืชในระยะต่อไป

คำขอบคุณ

ข้าพเจ้า และคณะผู้วิจัย ขอขอบคุณ คุณทัศวรรณ พุ่มกาหลง คุณสมเกียรติ กล้าแข็ง รวมทั้งข้าราชการและพนักงานเกษตรจังหวัดและเกษตรอำเภอทุกท่านที่ช่วยในงานสำรวจครั้งนี้จนประสบผล สำเร็จลุล่วงด้วยดี

ภาพที่ 2แสดงเขตการแพร่กระจายของหนูชนิดต่างๆในพื้นที่ทำการสำรวจระหว่างปี พ.ศ.2549-2553



ตารางที่ 1 แสดงผลการสำรวจชนิดหนูและสัตว์ที่พบในพื้นที่ปาล์มปลูกใหม่ อายุ 1-3 ปี ภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคตะวันตก ระหว่างปี พ.ศ. 2549-2553

จังหวัด	ชนิดหนูและสัตว์ที่ดักได้									
	B.indica	*B.savilei*	*R. rattus*	*R.exulans*	*M.caroli*	*M.cervicolor*	*M.berdmorei*	*M.surifer* *M.shortridgei*	*B.berdmorei* *B.bowersi*	*C.badius* *L.sabanus*
ภาคกลาง										
จังหวัดปทุมธานี	✓		✓							
จังหวัดสระบุรี	✓		✓							
จังหวัดอุทัยธานี	✓	✓			✓	✓	✓			
จังหวัดสุพรรณบุรี		✓	✓	✓	✓	✓				
จังหวัดพิษณุโลก	✓	✓			✓	✓				
จังหวัดกำแพงเพ็ชร	✓	✓	✓		✓	✓				
ภาคตะวันออก										
จังหวัดชลบุรี	✓	✓	✓	✓						
จังหวัดระยอง	✓				✓	✓				
จังหวัดจันทบุรี	✓	✓			✓	✓				
จังหวัดตราด	✓	✓	✓	✓						
จังหวัดสระแก้ว	✓	✓	✓		✓	✓				
ภาคตะวันตก										
จังหวัดกาญจนบุรี	✓	✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓✓	✓✓
จังหวัดราชบุรี	✓	✓			✓	✓				

ตารางที่ 2 แสดงผลการสำรวจชนิดหนูและสัตว์ที่พบในพื้นที่ปาล์มปลูกใหม่อายุ 1-3 ปี ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ ระหว่างปี พ.ศ. 2549-2553

จังหวัด	ชนิดหนูและสัตว์ที่ดักได้								
	B.indica	*B.savilei*	*R.rattus*	*R.exulans*	*M.caroli*	*M.cervicolor*	*R.tiomanicus*	*B.berdmorei*	*R.argentiventer*
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ									
จังหวัดหนองคาย	✓		✓	✓	✓	✓		✓	
จังหวัดกาฬสินธุ์			✓						
ภาคใต้									
จังหวัดประจวบคีรีขันธ์	✓	✓	✓		✓	✓			
จังหวัดชุมพร	✓		✓						
จังหวัดสุราษฎร์ธานี	✓						✓		✓

หมายเหตุ: ***B. indica*** = *Bandicota indica* หนูพุกใหญ่ ***B. savilei***= *Bandicota savilei* หนูพุกเล็ก ***R.rattus*** = *Rattus rattus* หนูท้องขาวบ้าน
R.exulans =Rattus exulans หนูจี๊ด ***M.caroli*** = *Mus caroli* หนูหริ่งนาหางยาว ***M.cervicolor*** = *Mus cervicolor* หนูหริ่งนาหางสั้น
M.berdmorei = *Menetes berdmorei* กระจ้อนหรือกระแต ***M.surifer*** =*Maxomys surifer* หนูฟานเหลือง ***B.berdmorei***= *Berylmys berdmorei* หนูฟันขาวเล็ก
C.badius = *Cannomys badius* อ้นเล็ก ***M.shortridgei*** = *Mus shortridgei* หนูหริ่งป่าใหญ่ขนเสี้ยน ***L.sabanus*** = *Leopoldamys sabanus* หนูหวาย
R.tiomanicus=*Rattus tiomanicus*หนูป่ามาเลย์ ***R.argentiventer*** = *Rattus argentiventer* หนูนาท้องขาว ***B.bowersi*** = *Berylmys bowersi* หนูฟันขาวใหญ่

สกุลหนูพุก

Bandicota spp.

สกุลหนูท้องขาว

Rattus spp.

สกุลหนูหริ่ง

Mus spp.

ตู้เก็บตัวอย่างสัตว์

ภาพที่ 3 ชนิดหนูที่เป็นศัตรูที่สำคัญของปาล์มน้ำมัน และตู้เก็บตัวอย่างสัตว์

เอกสารอ้างอิง

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

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

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

พรรณนีย์ วิชชาชู. 2548. ปาล์มน้ำมันจากน้ำมันพืชถึงไบโอดีเซล. น.ส.พ.กสิกร 78 (3):69-83.

พวงทอง บุญทรง และเกรียงศักดิ์ หามะฤทธิ์. 2547. เอกสารวิชาการ ปาล์มน้ำมัน. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพ. หน้า 87-94.

Corbet, G.B. and J.E. Hill. 1992. The mammals of the Indomalayan region : a systematicreview. Oxford University Press, New York.488 p.

Duckett, J. E. and S., Karuppiah. 1989. A guide to the planter in utilizing barnowls (*Tyto alba*) as aeffective 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 conserveration 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 barnowls *Tytoalba* (Scopoli) in the Nigerian savanna. East Africa wildlife society. Afr. J. Ecol. 39 : 38-44.

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.588p.

อนุกรมวิธานด้วงงวงมะม่วงสกุล *Sternochetus* (Coleoptera: Curculionidae)

Taxonomy of Mango Weevil in Genus *Sternochetus* (Coleoptera: Curculionidae)

ศิริณี พูนไชยศรี อิทธิพล บรรณาการ สุนัดดา เชาวลิต

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ประเทศไทยประสบปัญหาการส่งออกมะม่วงไปยังประเทศมาเลเซีย เนื่องจากได้รับแจ้งจากประเทศมาเลเซียว่ามีการตรวจพบด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วงชนิด *Sternochetus mangiferae* (Fabricius) ซึ่งเป็นศัตรูกักกันของประเทศมาเลเซียทำให้ประเทศไทยต้องรีบแก้ไขปัญหานี้อย่างเร่งด่วน โดยการเร่งศึกษาวิจัยด้านอนุกรมวิธานเพื่อการจำแนกชนิดของด้วงงวงได้อย่างถูกต้อง จากการสำรวจรวบรวมผลมะม่วงจากแหล่งปลูกมะม่วงในจังหวัด เชียงใหม่ ลำพูน เพชรบุรี นครราชสีมา และระยอง ระหว่างเดือนตุลาคม 2551 ถึงเดือนกันยายน 2553 ผลมะม่วงที่รวบรวมได้นำกลับไปยังห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร เพื่อผ่าตรวจหาตัวเต็มวัยด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง จากการผ่าผลมะม่วงทั้งหมด 4,933 ผล พบผลที่มีตัวเต็มวัยด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง 265 ผล และพบตัวเต็มวัยทั้งหมด 266 ตัว นำตัวเต็มวัยไปศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานทั้งด้านสัณฐานวิทยา (morphology) และความแตกต่างของอวัยวะสืบพันธุ์ (genitalia) รวมทั้งการศึกษาจากตัวอย่างด้วงงวงในพิพิธภัณฑ์แมลงและตัวอย่างด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วงชนิด *Sternochetus mangiferae* (Fabricius*)* ที่ได้รับจากศาสตราจารย์ ดร.Rolf Oberprieler ผู้เชี่ยวชาญเรื่องด้วงงวงของประเทศออสเตรเลีย พบว่าตัวอย่างที่รวบรวมได้ทั้งหมดเป็นด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วงชนิด *Sternochetus olivieri* (Faust) และ *Sternochetus frigidus* (Fabricius) จำนวน 259 และ 7 ตัวอย่าง ตามลำดับ ซึ่งได้จัดทำแนวทางการวินิจฉัยชนิดและถ่ายภาพลักษณะสำคัญทางอนุกรมวิธานของด้วงงวงทั้ง 3 ชนิด การศึกษาครั้งนี้สามารถสรุปและยืนยันได้ว่า ประเทศไทยไม่มีด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วงชนิด *Sternochetus mangiferae* (Fabricius)

คำนำ

ปัจจุบันเป็นที่ยอมรับว่าปัญหาศัตรูพืชเป็นข้อกำหนดสำคัญในการต่อรองทางการค้าระหว่างประเทศ ตามมาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measure : SPS Agreement) และด้วยมาตรการดังกล่าว ทำให้ขณะนี้ประเทศ

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-50-52

ไทยกำลังประสบปัญหาในการส่งออกมะม่วงไปยังประเทศมาเลเซีย เนื่องจากทางการประเทศมาเลเซียได้แจ้งให้ประเทศไทยทราบว่าพบด้วงงวงมะม่วง (mango weevil) ชนิด *Sternochetus mangiferae* (Fabricius) ซึ่งเป็นศัตรูกักกัน (quarantine pest) ของประเทศมาเลเซียจากมะม่วงที่นำเข้าจากประเทศไทย หากยังตรวจพบอีกอาจต้องมีการพิจารณาระงับการนำเข้า 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 เพื่อยืนยันให้ชัดเจนว่าประเทศไทยไม่มีด้วงสกุลนี้และใช้ข้อมูลที่ศึกษาได้แก้ปัญหาการส่งออกมะม่วงไปยังมาเลเซียต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1) ตัวอย่างด้วงงวงมะม่วงทั้งหนอน และตัวเต็มวัยที่รวบรวมได้จากแปลงปลูกมะม่วง

2) อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ สวิงตาข่าย กรรไกรตัดกิ่งอย่างดี ขวดฆ่า ขวดดองตัวอย่างแมลง แอลกอฮอล์ พู่กัน กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก ถังแช่เย็น ฯลฯ

3) อุปกรณ์ที่ใช้จัดรูปร่างแมลง ได้แก่ เข็มไร้สนิม เข็มหมุดหัวกลม ไม้จัดรูปร่างแมลง ปากคีบ โหลชื้น ตู้อบแมลง ฯลฯ

4) 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

5) กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope ที่ติด camera lucida เป็นอุปกรณ์เสริมช่วยในการวาดภาพแมลงที่พบ กล้องถ่ายภาพ

6) อุปกรณ์วาดภาพ ได้แก่ ปากกา rotring และกระดาษไขเขียนแบบ

7) เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของศัตรูด้วงงวงมะม่วง

วิธีการ

1) เก็บรวบรวมตัวอย่างด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง ในผลมะม่วงจากแหล่งปลูกมะม่วงโดยการผ่าผลมะม่วงเพื่อตรวจดูด้วงงวงมะม่วงทั้งในเนื้อและในเมล็ด ตัวเต็มวัยที่ได้นำฆ่าในขวดที่ใส่สารฆ่าแมลงเอทิลอะซิเตท หลังจากด้วงตายแล้ว ใช้ปากคีบ คีบใส่ในซองกระดาษห่อแบบท๊อฟฟี่ บันทึกรายละเอียดพืชอาหาร วัน เดือน ปี สถานที่เก็บตัวอย่าง และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง นำตัวอย่างใส่กล่องกระดาษ เก็บรวมไว้

ในถังรักษาความเย็นเพื่อป้องกันไม่ให้ตัวอย่างเน่า ส่วนหนอนเก็บรักษาโดยการดองในขวดดองแมลงซึ่งบรรจุแอลกอฮล์ 80% บันทึกรายละเอียดเช่นเดียวกับตัวเต็มวัย

2) นำตัวเต็มวัยที่ฆ่าแล้วไปจัดรูปร่างบนไม้จัดรูปร่างตัวอย่างแมลง โดยใช้เข็มไร้สนิมปักบนกระดาษแข็งรูปสามเหลี่ยมขนาดเล็ก จัดรูปร่างให้เห็นด้านหลังและด้านข้าง นำไปอบให้แห้งในตู้อบตัวอย่างแมลง อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

3) ตรวจวิเคราะห์ชนิดด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง โดยศึกษาดูลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอกและลักษณะความแตกต่างของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ รวมทั้งศึกษาเปรียบเทียบกับด้วงงวงในพิพิธภัณฑ์แมลงและตัวอย่างด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วงชนิด *Sternochetus mangiferae* ที่ได้รับจาก Dr.Rolf Oberprierler ผู้เชี่ยวชาญเรื่องด้วงงวงจากประเทศออสเตรเลีย โดยใช้แนวทางการวินิจฉัยชนิดตามวิธีการของ Rolf (2008) ถ่ายภาพด้วงงวงมะม่วงและลักษณะที่สำคัญของแต่ละชนิดที่ได้ศึกษา

วิธีการผ่าอวัยวะสืบพันธุ์ของด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง

1. เลือกด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วงเพศผู้ โดยดูจากลักษณะแผ่นแข็งด้านล่างของปล้องท้อง (sternites) ซึ่งบริเวณกลางปล้องที่อยู่ระหว่างขาคู่สุดท้ายและกลางปล้องท้องปล้องสุดท้าย จะมีลักษณะแบน (flat) (ภาพที่ 1ค) ขณะที่เพศเมีย บริเวณกลางปล้องของแผ่นแข็งด้านหลังของปล้องท้องปล้องที่อยู่ระหว่างขาคู่สุดท้ายจะมีลักษณะนูน (convex) และปล้องท้องปล้องสุดท้ายจะโค้งงอ (deflexed apical margin) (ภาพที่ 1ง)

2. ผ่าอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ของด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง โดยใช้มีดผ่าตัดและใช้ปากคีบดึงอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ออก นำแช่ในแอลกอฮอล์ 70%

3. ดูดแอลกอฮอล์ ออก เติมสารละลาย potassium hydroxide 10% และต้มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที

4. ดูดสารละลาย potassium hydroxide 10% ออก เติมน้ำกลั่นและใช้พู่กันเขี่ยไขมันและเนื้อเยื่อออกจากอวัยวะสืบพันธุ์จนหมด ดูดน้ำกลั่นออกและเติมน้ำกลั่นใหม่ ใช้พู่กันเขี่ยทำความสะอาดทำซ้ำอีก 1 – 2 ครั้ง

5. นำอวัยวะสืบพันธุ์ของตัวอย่างด้วงงวงในข้อ 3 แช่ในกรดแอลกอฮอล์ 2 – 3 นาที

6. ดูดกรดแอลกอฮอล์ออก เติมน้ำกลั่น

7. ดูดน้ำกลั่นออก แล้วเติมแอลกอฮอล์ 95% เพื่อกำจัดน้ำออก แช่ทิ้งไว้ 10 นาที

8. นำตัวอย่างอวัยวะสืบพันธุ์แช่ใน clove oil เพื่อให้ตัวอย่างใส

9. วิเคราะห์ลักษณะความแตกต่างของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope

10. นำตัวอย่างอวัยวะสืบพันธุ์แช่ใน glycerine และเก็บไว้กับตัวอย่างของด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วงตัวที่นำอวัยวะสืบพันธุ์ไปศึกษา

11. จัดทำแนวทางการวินิจฉัยระดับชนิด ถ่ายภาพด้วงงวงมะม่วงและลักษณะที่สำคัญของแต่ละชนิดที่ได้ศึกษา

12. นำตัวอย่างด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วงที่ตรวจวิเคราะห์ชนิดแล้วเข้าตู้ควบคุมอุณหภูมิต่ำ (-20 องศาเซลเซียส) ใช้เวลา 3 ชั่วโมง เพื่อฆ่าแมลงขนาดเล็กที่จะเข้าทำลายตัวอย่างแมลงระหว่างการเก็บ-รักษา จัดเก็บลงในกล่องกระดาษสี่เหลี่ยมสีขาว นำจัดเข้าลิ้นชักในตู้เก็บแมลงในพิพิธภัณฑ์

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2551 **สิ้นสุด** กันยายน 2553

สถานที่ - แปลงปลูกมะม่วง ภาคใต้ ภาคกลาง ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจและรวบรวมผลมะม่วงจำนวน 4,933 ผล พบผลที่มีตัวเต็มวัยด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง 265 ผล และพบตัวเต็มวัยทั้งหมด 266 ตัว ดังตารางที่ 1 ผลการศึกษาด้านอนุกรมวิธานของตัวเต็มวัยด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วงที่พบ เป็นด้วงงวงในอันดับ Coleoptera วงศ์ Curculionidae ชนิด *Sternochetus olivieri* (Faust) และ *Sternochetus frigidus* (Fabricius) ไม่พบชนิด *Sternochetus mangiferae* (Fabricius) ซึ่งด้วงในสกุล *Sternochetus* มีลักษณะทางอนุกรมวิธานที่สำคัญดัง ภาพที่ 1ก ตัวอย่างด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วงที่พบ แต่ละชนิด รวมทั้งตัวอย่างด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วงที่ได้รับจาก Dr. Rolf Oberprieler ประเทศเครือรัฐ-ออสเตรเลีย รวม 3 ชนิด สามารถนำมาจัดทำแนวทางการวินิจฉัยชนิดด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วงและรายละเอียดของด้วงงวงแต่ละชนิดโดยปรับปรุงจากแนวทาง การวินิจฉัยชนิดด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วงจากวิธีการของ Rolf (2008) ดังรายงานตาม ลำดับต่อไปนี้

แนวทางการวินิจฉัยชนิดด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วงสกุล *Sternochetus* spp.

1. - **Elytra** large, whitish macula (patch) stretching from just behind humeri (shoulders) to top of declivity, inscribing a black, interval medial triangle before middle of length and sometimes posteriorly interrupted by a fainter, dark, transverse band above declivity **Pronotum** medially with a conspicuous carina (keel) in basal 2/3 of length, which is flanked on either side by a line of white scales and it's anterior end (in middle of pronotum) by tuft of dense, erect black scales

Aedeagus with sides nearly parallel, apically broadly rounded and no internal sclerites ภาพที่ 5ก.....***Sternochetus olivieri*** **(Faust)** (ภาพที่ 2ก)

- **Elytra** whitish macula forming a more or less distinct V **Pronotum** with erect black scales scattered and loose cluster **Aedeagus** with pair of internal sclerites.....2

2. - **Elytra** with sides nearly parallel from base to beyond middle, interstriae flat to Faintly but evenly costate (ridge), strial punctures rectangular to square, whitsh macula forming a more or less distinvt V and transverse posterior band **Pronotum** with erect black scales scattered over basal part of pronotal disk **Aedeagus** with pair of sclerites separate, not touching apically ภาพที่ 5ข..... .....***Sternochetus mangiferae*** **(Fabricius)** (ภาพที่ 2ข)

- Elytra narrowing from base to apex, odd interstriae except sutural one distinctly Costate-tuberculate, strial punctures round, whitish macula fragmented but usually forming a vague a nterior inverted triangle inscribing a similar, smaller black median triangle and a broken posterior band on declivity **Pronotum** with erect black scales arranged in medial pair of loose cluster **Aedeagus** with pair of internal sclerites overlapping apically ภาพที่ 5ค....***Sternochetus frigidus*** **(Fabricius)** (ภาพที่ 2ค)

รายละเอียดด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วงแต่ละชนิด

Sternochetus olivieri **(Faust), 1892 (**ภาพที่ 2ก**)**

ชื่ออื่น *Cryptorrhynchus olivieri* Faust

ชื่อสามัญ ด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง (mango seed weevils)

รูปร่างลักษณะ

ลำตัว (body) สีน้ำตาลเข้ม ขนาดยาว 7.0–8.0 มิลลิเมตร กว้าง 4.0 – 5.0 มิลลิเมตร

ส่วนหัว (head) ไม่มีตาเดี่ยว ตารวมใหญ่ ส่วนหัวยื่นยาวออกคล้ายงวง (rostum) และมีปากแบบกัดกิน (chewing type) อยู่ที่ส่วนปลายสุด หนวดมีลักษณะแบบข้อศอก (geniculate) ผสมแบบลูกตุ้ม (capitate) ส่วนของ pulps แข็ง สั้น (ภาพที่ 1ข)

ส่วนอก(thorax) อกปล้องแรก (pronotum) เห็นร่องลึก (carina) ขนาบข้างด้วยเกล็ดสีขาว (white scale) ยาว 2 ใน 3 ของความยาวของอกปล้องแรก ด้านซ้ายและขวาของอกปล้องแรกจะมีกลุ่มเกล็ดสีดำ (black scale) ตั้งเป็นกระจุก (tuft of erect) เห็นได้ชัดเจน (ภาพที่ 3ก) ปีก (wing) มี 2 คู่ ปีกคู่หน้ามีลักษณะหนาแข็ง (elytra) ปีกคู่หลังมีลักษณะเป็นแผ่นบาง (membrane) โดยปีกคู่หน้าตั้งแต่

บริเวณหัวไหล่ (humeri) มีแถบสีขาว (white macula) แผ่ขยายลาดเอียงลงมา มีกลุ่มเกล็ดสีดำเป็นรูปสามเหลี่ยมหัวกลับอยู่ ยาวไม่ถึงกึ่งกลางของปีก ส่วนที่เหลือตรงปลายปีกสีน้ำตาลอ่อน (ภาพที่ 4ก)

อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (male genitalia) ด้านข้างค่อนข้างขนานกัน บริเวณปลายอวัยวะสืบพันธุ์กว้างและกลมมน และไม่มีแผ่นแข็ง (sclerites) อยู่ภายใน (ภาพที่ 5ก)

***Sternochetus frigidus* (Fabricius), 1787** (ภาพที่ 2ค)

ชื่ออื่น *Cryptorrhychus gravis* Fabricius

ชื่อสามัญ ด้วงงวงเนื้อมะม่วง (mango pulp weevils)

รูปร่างลักษณะ

ลำตัว รูปร่างกลมรี สีน้ำตาล ขนาดยาว 6.0 – 7.0 มิลลิเมตร กว้าง 3.0 – 4.0 มิลลิเมตร

ส่วนหัว ไม่มีตาเดี่ยว ตารวมใหญ่ ส่วนหัวยื่นยาวออกคล้ายงวง และมีปากแบบกัดกินอยู่ที่ส่วนปลายสุด หนวดมีลักษณะแบบข้อศอกผสมแบบลูกตุ้ม ส่วนของ pulps แข็ง สั้น

ส่วนอก อกปล้องแรกมีเกล็ดสีดำกระจายรอบสันหลังของส่วนอก แต่ไม่มีกลุ่มเกล็ดที่ตั้งเป็นกระจุก (loose cluster of erect) (ภาพที่ 3ค) ปีกมี 2 คู่ ปีกคู่หน้ามีลักษณะหนาแข็ง บริเวณโคนปีกถึงปลายปีกมีลักษณะแคบลง ปีกคู่หลังมีลักษณะเป็นแผ่นบาง ร่องหลุม (puncture) บนปีกกลม แถบสีขาวถูกแบ่งเป็นส่วนๆ (frangmented white macula) ต่อกัน แต่ยาวไม่ถึงกลางปีก กลุ่มเกล็ดสีดำรูปสามเหลี่ยมหัวกลับบริเวณกึ่งกลางปีกมีขนาดเล็ก (ภาพที่ 4ค)

อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ มีแผ่นแข็ง 2 แผ่นอยู่ภายในและบริเวณปลายของแผ่นแข็งซ้อนทับกัน (ภาพที่ 5ค)

***Sternochetus mangiferae* (Fabricius), 1775** (ภาพที่ 2ข)

ชื่ออื่น *Cryptorrhynchus mangiferae* Fabricius

ชื่อสามัญ ด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง (mango seed weevils)

รูปร่างลักษณะ

ลำตัว สีน้ำตาล ขนาดยาว 8.0 – 10.0 มิลลิเมตร กว้าง 4.0 – 5.0 มิลลิเมตร

ส่วนหัว ไม่มีตาเดี่ยว ตารวมใหญ่ ส่วนหัวยื่นยาวออกคล้ายงวง และมีปากแบบกัดกิน อยู่ที่ส่วนปลายสุด หนวดมีลักษณะแบบข้อศอกผสมแบบลูกตุ้ม ส่วนของ pulps แข็ง สั้น

ส่วนอก อกปล้องแรกมีเกล็ดสีดำกระจาย (scattered erect) อยู่ทั่วสันหลังของอกปล้องแรก (ภาพที่ 3ข) ปีกมี 2 คู่ ปีกคู่หน้ามีลักษณะหนาแข็ง ปีกคู่หลังมีลักษณะเป็นแผ่นบาง โดยขอบปีกคู่หน้าด้านซ้ายและขวาตั้งแต่บริเวณหัวไหล่ขนานกันจากฐานถึงกึ่งกลางของปีก ร่องหลุมบนปีกเป็นรูปสี่เหลี่ยม แถบขาวสั้นไม่เป็นรูปตัว V (ภาพที่ 4ข)

อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ มีแผ่นแข็ง 2 แผ่นอยู่ภายใน บริเวณปลายของแผ่นแข็งไม่ซ้อนทับกัน (ภาพที่ 5ข)

สุชาดาและคณะ (2539) ได้ให้ข้อสังเกตว่ามะม่วงที่ปลูกเพื่อการค้าจะไม่พบการทำลายของด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง แต่จะพบการทำลายในสภาพการปลูกหลังบ้านและมักพบที่ต้นมะม่วงอายุมากกว่า 20 ปีขึ้นไป ซึ่งการสำรวจมะม่วงในครั้งนี้ก็ได้ผลลักษณะเดียวกันคือการสำรวจในแปลงเกษตรดีที่เหมาะสมจะไม่พบการทำลายของด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง เพราะมีการดูแลแปลงปลูกที่ดี มีการตัดแต่งกิ่งและการใช้สารเคมีเพื่อป้องกันกำจัดอย่างถูกวิธี ตลอดจนถึงการกำจัดวัชพืชและเศษซากพืชซึ่งเป็นที่หลบซ่อนของตัวเต็มวัยของด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วงนี้ จึงช่วยลดประชากรของด้วงงวงและลดการทำลายลงได้

ในส่วนของหนอน หลังจากที่ผ่าสำรวจและพบหนอนที่ยังมีชีวิต ได้นำมาทดลองเลี้ยงเพื่อศึกษาวงจรชีวิตในห้องปฏิบัติการ แต่ไม่สามารถเลี้ยงได้เนื่องจากมะม่วงบางผลเกิดเชื้อรา และบางผลเหี่ยวแห้งทำให้หนอนตาย สันนิษฐานว่าด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วงจะสามารถเจริญเติบโตจนครบวงจรชีวิตได้ในเมล็ดมะม่วงที่มีสภาพเนื้อในเมล็ด (cotyledons) สมบูรณ์เท่านั้น ด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วงไม่สามารถอาศัยอยู่ในเมล็ดที่ถูกทำลายโดยการผ่าสำรวจแม้ว่าจะประกบกลับในสภาพเดิม

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การจำแนกชนิดด้วงงวงสกุล *Sternochetus* spp. โดยการสำรวจรวบรวมผลมะม่วงจากแหล่งปลูกมะม่วงในจังหวัดต่างๆของประเทศไทย ระหว่างเดือน ตุลาคม 2551 ถึงเดือน กันยายน 2553 จำนวน 4,933 ผล พบว่าตัวอย่างที่รวบรวมได้ทั้งหมดเป็นด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วงชนิด *Sternochetus olivieri* (Faust) จำนวน 259 ตัวอย่าง และด้วงงวงผลมะม่วง *Sternochetus frigidus* (Fabricius) จำนวน 7 ตัวอย่าง โดยลักษณะทางอนุกรมวิธานที่สำคัญของ *Sternochetus olivieri* (Faust) คือ บริเวณสันหลังของอกปล้องแรกมีร่องลึกที่มีเกล็ดสีขาวขนาบข้าง และมีกลุ่มเกล็ดสีดำตั้งเป็นกระจุกแน่นทั้งด้านซ้ายและขวา ลักษณะของปีกมีแถบสีขาว ลาดเอียงลงมาจากหัวไหล่ และมีกลุ่มเกล็ดสีดำรูปสามเหลี่ยมหัวกลับอยู่ภายในและอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ไม่มีแผ่นแข็งอยู่ภายใน ส่วน *Sternochetus frigidus* (Fabricius) มีเกล็ดสีดำกระจายอยู่รอบอกปล้องแรก ลักษณะของปีกมีแถบสีขาวไม่ยาวต่อเนื่องกันเหมือนปีกของ *Sternochetus olivieri* (Faust) และอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้มีแผ่นแข็งซ้อนทับกันอยู่ภายใน และสำหรับด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วงชนิด *Sternochetus mangiferae* (Fabricius) พบว่า กลุ่มเกล็ดสีขาวเป็นแถบยาวแต่ไม่บรรจบกันเป็นรูปตัว V อกปล้องแรกไม่มีกระจุกเกล็ดสีดำ และอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้มีแผ่นแข็ง 2 แผ่นอยู่ภายในแต่บริเวณส่วนปลายของแผ่นแข็งไม่ซ้อนทับกันเหมือนในชนิด *Sternochetus frigidus* (Fabricius) การศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานของด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วงในครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่า ประเทศไทยไม่มีด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วงชนิด *Sternochetus mangiferae* (Fabricius)

เอกสารอ้างอิง

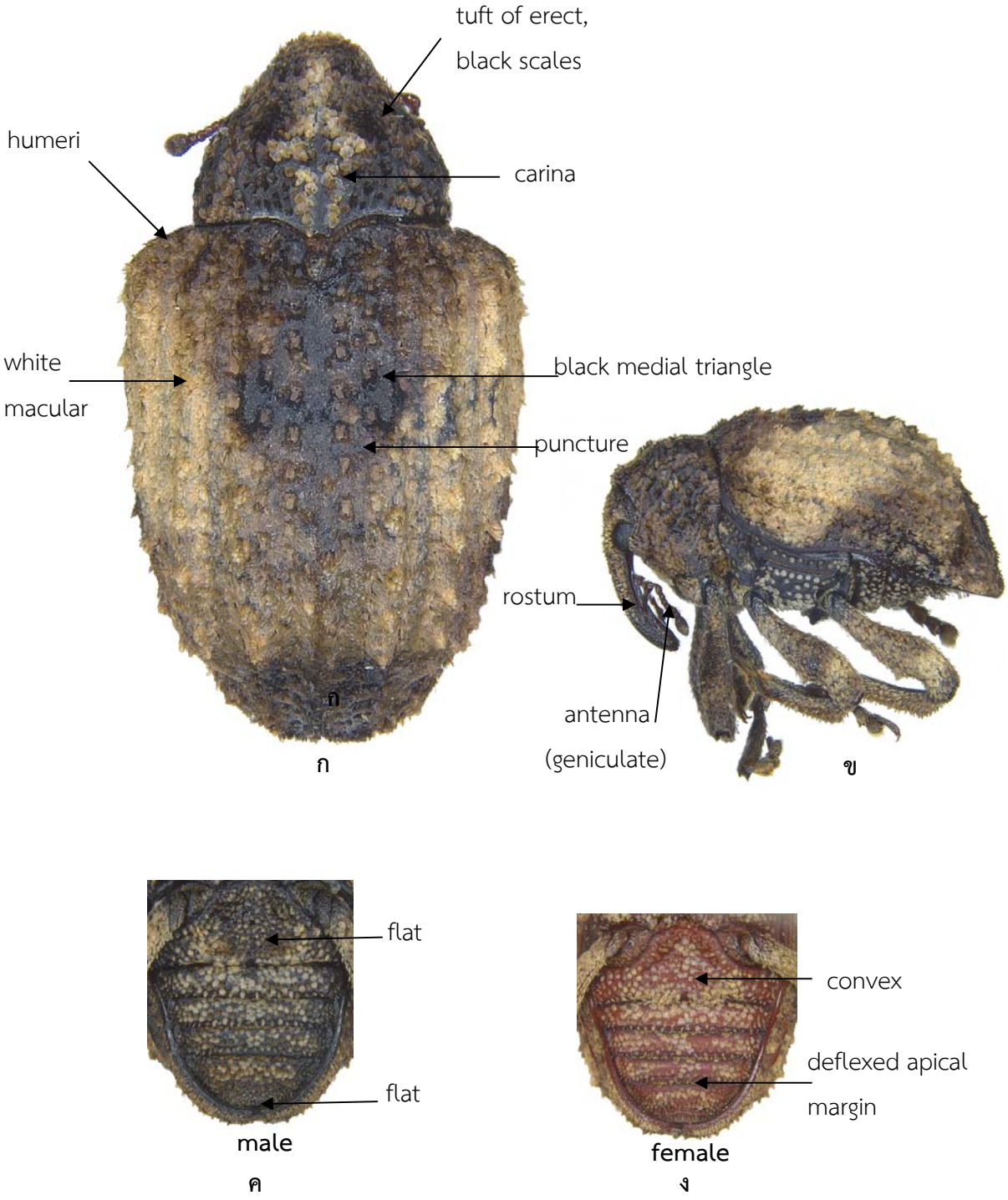
สมหมาย ชื่นราม. 2535. ด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง. วารสารกีฏและสัตววิทยา.14(1):53-59 น.

สุชาดา เสกสรรวิริยะ, วนิช ลิ่มโอภาสมณี, อรรจยา มาลากรอง และพุฒิพงศ์ คชรินทร์. 2539. การสำรวจและการศึกษาผลของรังสีแกมมาต่อด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง. *ใน* เอกสารการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีนิวเคลียร์ ครั้งที่ 6 วันที่ 2-4 ธันวาคม 2539 ณ โรงแรม เซ็นทรัลพลาซ่า กรุงเทพฯ. 95-103 น.

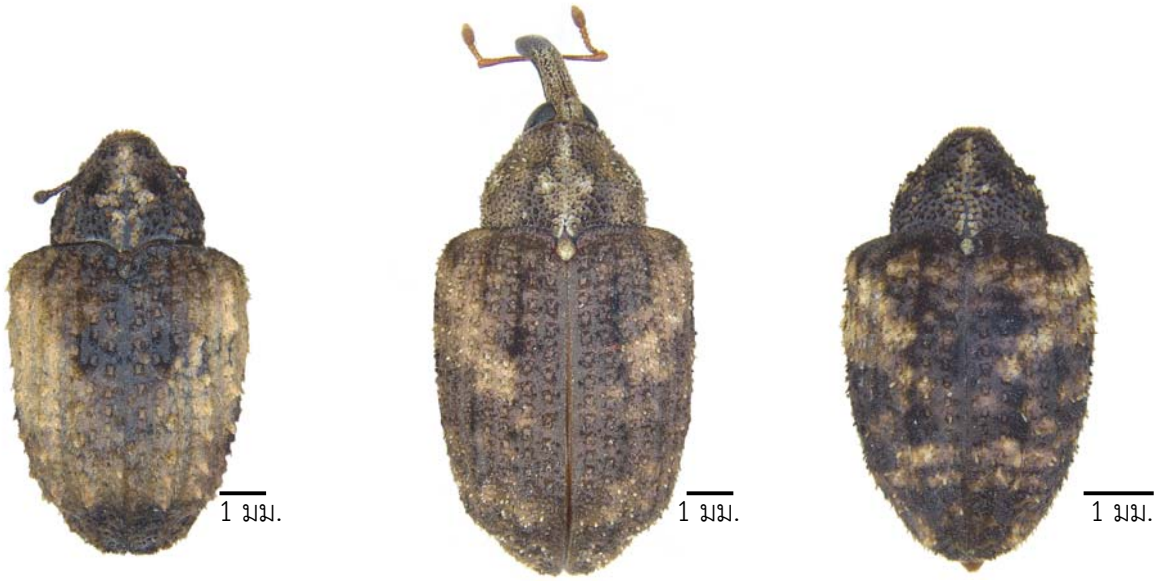
Oberprieler, R. 2008. Key to species of mango weevils (*Sternochetus*). CSIRO, Entomology.

ตารางที่ 1 จำนวนผลมะม่วงที่สำรวจรวบรวมได้จากแหล่งปลูกมะม่วงที่สำคัญของประเทศไทย

จังหวัด	จำนวนผล	หนอน	ดักแด้	ตัวเต็มวัย	รวม
กรุงเทพฯ	126	0	0	1	1
กำแพงเพชร	180	0	0	0	0
ฉะเชิงเทรา	109	0	0	1	1
ชลบุรี	160	1	0	0	1
เชียงใหม่	1,672	65	33	186	284
นครราชสีมา	697	110	48	7	165
ปทุมธานี	162	0	1	0	1
ปราจีนบุรี	140	0	0	0	0
เพชรบุรี	391	2	1	5	8
แม่ฮ่องสอน	120	11	3	19	33
ระยอง	180	6	0	0	6
ลำพูน	675	61	1	19	81
เลย	121	0	0	0	0
สระแก้ว	200	0	1	28	29
รวม	**4,933**	**256**	**88**	**266**	**610**

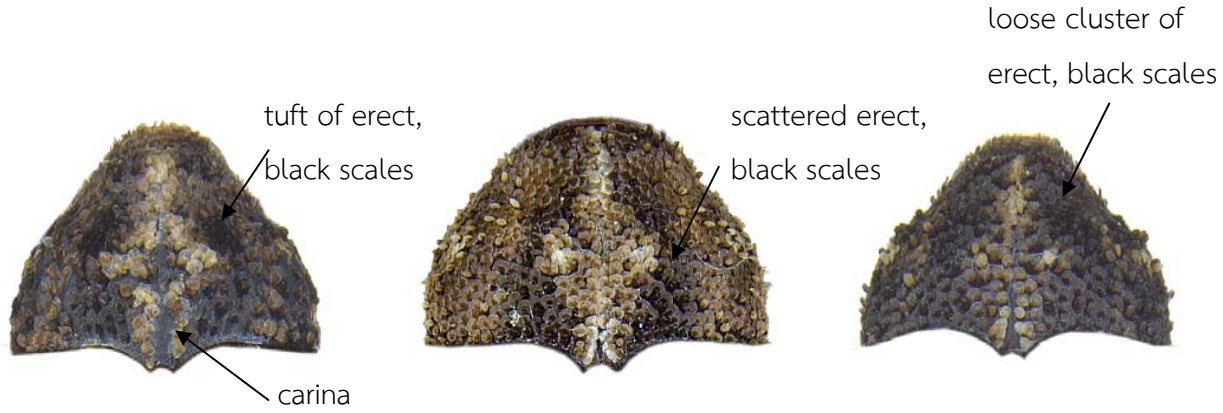


ภาพที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของด้วงงวงมะม่วงสกุล *Sternochetus*



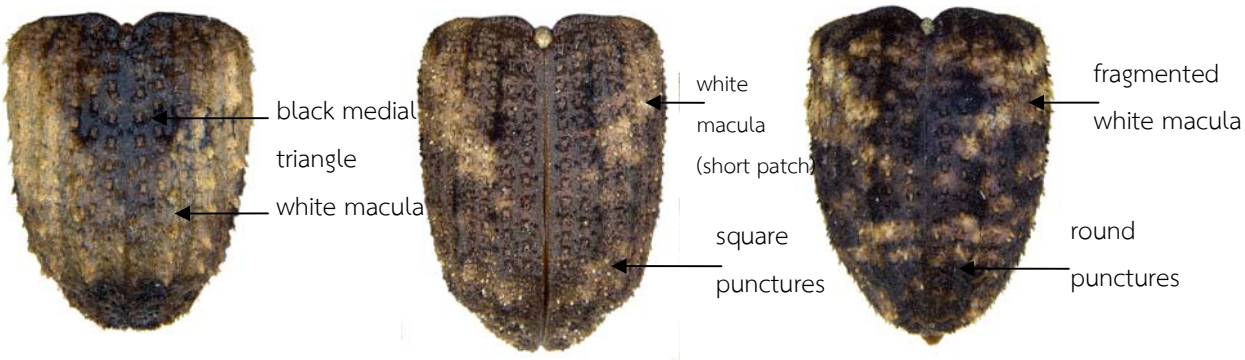
ก. *Sternochetus olivieri* (Faust) ข. *Sternochetus mangiferae* (Fabricius) ค. *Sternochetus frigidus* (Fabricius)

ภาพที่ 2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของด้วงงวงมะม่วงสกุล *Sternochetus*



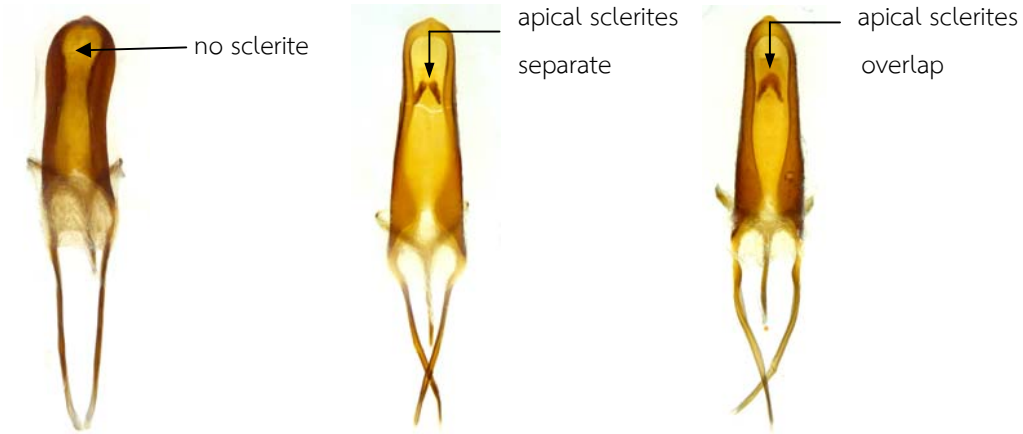
ก. *Sternochetus olivieri* (Faust) ข. *Sternochetus mangiferae* (Fabricius) ค. *Sternochetus frigidus* (Fabricius)

ภาพที่ 3 ลักษณะอกปล้องแรกของด้วงงวงมะม่วงสกุล *Sternochetus*



ก. *Sternochetus olivieri* (Faust) ข. *Sternochetus mangiferae* (Fabricius) ค. *Sternochetus frigidus* (Fabricius)

ภาพที่ 4 ลักษณะปีกคู่หน้าของด้วงงวงมะม่วงสกุล *Sternochetus*



ก. *Sternochetus olivieri* (Faust) ข. *Sternochetus mangiferae* (Fabricius) ค. *Sternochetus frigidus* (Fabricius)

ภาพที่ 5 ลักษณะอวัยวะสืบพันธุ์ของด้วงงวงมะม่วงสกุล *Sternochetus*

ภาพที่ 6 การสำรวจรวบรวมมะม่วงตามแปลงปลูกมะม่วงต่างๆ

ภาพที่ 7 การผ่าผลเพื่อตรวจหาด้วงงวงมะม่วงสกุล *Sternochetus*

การเก็บรักษาตัวอย่างแมลงในพิพิธภัณฑ์

Collection and Preservation on Insect for the Insect Museum

ศิริณี พูนไชยศรี เตือนจิตต์ สัตยาวิรุทธิ์ ชลิดา อุณหวุฒิ ลักขณา บำรุงศรี ยุวรินทร์ บุญทบ สุนัดดา เชาวลิต ณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักพืช

บทคัดย่อ

ตัวอย่างแมลงในพิพิธภัณฑ์แมลง มีความสำคัญอย่างมากต่อนักอนุกรมวิธานและผู้ที่ปฏิบัติงานด้านกีฏวิทยา ทั้งนี้เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการสืบค้น อ้างอิง เปรียบเทียบ ตรวจสอบ จึงมีความจำเป็นที่จะต้องมีการเก็บรวบรวมอย่างต่อเนื่อง ตลอดจนมีการดูแลรักษาอย่างถูกวิธี เพื่อให้ตัวอย่างที่เก็บรวบรวมนั้นมีความสมบูรณ์ทั้งรูปร่างลักษณะและรายละเอียดของข้อมูล ก่อนนำเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง การศึกษาครั้งนี้ได้สำรวจ รวบรวมตัวอย่างแมลงจากภูมิภาคต่างๆของประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2549 ถึงเดือนกันยายน 2553 โดยกำหนดตัวชี้วัดเป็นการเก็บรักษา ด้วงอันดับ Coleoptera ผีเสื้ออันดับ Lepidoptera และเพลี้ยไฟอันดับ Thysanoptera ผลการศึกษาสามารถรวบรวมตัวอย่างแมลงได้ทั้งหมด 6,842 ตัวอย่าง โดยเป็นด้วง 556 ตัวอย่าง (15 วงศ์) ผีเสื้อ 2,728 ตัวอย่าง (28 วงศ์) และเพลี้ยไฟ 3,558 ตัวอย่าง (1 วงศ์) แมลงทั้ง 3 อันดับมีวิธีการเก็บ-รักษาดังนี้ ด้วงและผีเสื้อเก็บรวบรวมได้ 2 วิธีการ ได้แก่ ใช้สวิงจับแมลงและวิธีการใช้กับดักแสงไฟ (light trap) สำหรับตัวอ่อนเก็บรักษาในแอลกอฮอล์ 80% ด้วงตัวเต็มวัยที่มีขนาดใหญ่ฆ่าในขวดฆ่า นำจัดรูปร่างบนไม้จัดรูปร่างตัวอย่างแมลง โดยใช้เข็มไร้สนิมปักที่มุมด้านหน้าของปีกขวา จัดขาทั้ง 3 คู่ให้อยู่ในลักษณะเกาะหรือเดิน ตัวเต็มวัยขนาดเล็กติดบนกระดาษแข็งรูปสามเหลี่ยมขนาดเล็ก ส่วนผีเสื้อกลางวันฆ่าโดยวิธีบีบอก (ผีเสื้อกลางวัน) แต่ถ้าเป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดใหญ่ฆ่าโดยใช้เข็มฉีดยาบรรจุ ethyl acetate ที่บริเวณอกด้านล่าง ผีเสื้อกลางคืนขนาดเล็กฆ่าในขวดฆ่า นำจัดรูปร่างบนไม้จัดรูปร่างตัวอย่างแมลง โดยใช้เข็มไร้สนิมปักบริเวณกลางอก จัดปีกให้กางออกโดยให้ขอบล่างของปีกคู่หน้าตั้งฉากกับลำตัว ขอบบนของปีกคู่หลังอยู่ใต้ขอบล่างของปีกคู่หน้า นำตัวอย่างด้วงและผีเสื้อที่จัดรูปร่างแล้วอบให้แห้งในตู้อบแมลง ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 30 - 60 วัน และสำหรับเพลี้ยไฟมีวิธีการเก็บรวบรวม โดยใช้พู่กันเขี่ยเพลี้ยไฟตัวอ่อนและตัวเต็มวัยแต่ละตัวลงในขวด ที่บรรจุน้ำยา AGA หรือโดยวิธีเขย่าส่วนของพืชให้เพลี้ยไฟตกลงกระดาษที่รองรับแล้วใช้ใช้พู่กันเขี่ยลงในน้ำยา AGA จากนั้นนำตัวอย่างเพลี้ยไฟไปทำสไลด์ถาวรและอบให้แห้งในตู้อบแมลงที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 15 - 50 วัน

รหัสการทดลอง 09-02-49-02-03-02-01-49

คำนำ

การเก็บรักษาตัวอย่างในพิพิธภัณฑ์เป็นการรวบรวมและเก็บรักษาตัวอย่างแมลงที่ถูกต้องตามวิธีการของแมลงแต่ละชนิด เริ่มต้นตั้งแต่การจับ การฆ่า การจัดรูปร่างก่อนนำไปจำแนกตามหลักการอนุกรมวิธานแมลง จนถึงการจัดเก็บตัวอย่างแมลงในพิพิธภัณฑ์ตามหลักสากล ซึ่งนับว่าเป็นงานที่สำคัญและมีประโยชน์อย่างยิ่ง

ตัวอย่างแมลงที่เก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ มีความสำคัญอย่างมากต่องานศึกษาวิจัยทั้งภายในและภายนอกหน่วยงานรวมทั้งในระดับประเทศด้วย ทั้งนี้เพราะข้อมูลตัวอย่างแมลงในพิพิธภัณฑ์แมลงที่ได้รวบรวมไว้เป็นข้อมูลสำคัญอย่างยิ่งในการศึกษาแมลงแต่ละชนิด โดยเฉพาะข้อมูลจากภาคสนามที่ได้จากการรวบรวมตัวอย่างในแต่ละครั้ง ซึ่งต้องบันทึก รายละเอียด พืช ส่วนของพืช/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

1. อุปกรณ์ที่ใช้เก็บตัวอย่างแมลงในอันดับด้วง ผีเสื้อและเพลี้ยไฟ 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)

2. อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับจัดรูปร่าง ได้แก่ โหลชื้น (relaxing chamber) 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)

3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการถ่ายภาพและจำแนกแมลง ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และชนิด compound microscope พร้อมอุปกรณ์ถ่ายภาพติดกับกล้อง กล้องถ่ายภาพภาคสนาม อุปกรณ์วาดภาพ เอกสารประกอบการจำแนกแมลง แผ่นบันทึกข้อมูล

4. อุปกรณ์ในการเก็บและรักษาตัวอย่างแมลงในพิพิธภัณฑ์ ได้แก่ กล่องกระดาษใส่ตัวอย่างแมลง หีบไม้ใส่ตัวอย่างแมลง (wooden box) กล่องเก็บสไลด์ (slide box) ตู้เก็บสไลด์ (slide collection cabinet) ตู้เก็บตัวอย่างแมลง (insect specimen collection cabinet) การบูร

วิธีการ

1. เก็บรวบรวมตัวอย่างด้วงจากสภาพธรรมชาติ โดยใช้สวิงจับแมลง โฉบบริเวณที่มีด้วงอาศัยอยู่ เพื่อเก็บรวบรวมด้วงที่ออกหากินในเวลากลางวัน ส่วนด้วงที่ออกหากินเวลากลางคืนเก็บ

รวบรวมโดยใช้กับดักแสงไฟ ฆ่าโดยการจับตัวด้วงใส่ขวดฆ่า ซึ่งบรรจุน้ำยา ethyl acetate หลังจากด้วงตาย ใช้ปากคีบ คีบด้วงใส่ในซองกระดาษพับแบบท๊อฟฟี่ บันทึกรายละเอียด พืชอาหาร วัน เดือน ปี สถานที่เก็บตัวอย่าง และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง นำไปจัดรูปร่างบนไม้จัดรูปร่างตัวอย่างแมลง โดยใช้เข็มไร้สนิม ปักที่มุมด้านหน้าของปีกขวา (บริเวณมุมที่ปีกจรดกัน) ใช้ปากคีบจัดขาทั้ง 3 คู่ ให้อยู่ในลักษณะเกาะหรือเดินโดยใช้เข็มหมุดขนาดกลางเป็นตัวยึด ตัวเต็มวัยขนาดเล็กให้ติดบนกระดาษแข็งรูปสามเหลี่ยมขนาดเล็ก จัดรูปร่างให้เห็นด้านหลังและด้านข้าง หรือวางตะแคงข้าง จัดให้ส่วนอกติดอยู่ที่ปลายแหลมของกระดาษแข็งรูปสามเหลี่ยมขนาดเล็ก นำไปอบให้แห้งในตู้อบตัวอย่างแมลง อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 30 - 60 วัน

2. เก็บรวบรวมตัวอย่างผีเสื้อจากสภาพธรรมชาติ โดยใช้สวิงจับแมลง โฉบบริเวณที่มีผีเสื้ออาศัยอยู่ เพื่อเก็บรวบรวมผีเสื้อที่ออกหากินในเวลากลางวัน ฆ่าผีเสื้อที่เก็บได้ โดยบีบบริเวณส่วนอก ส่วนผีเสื้อที่ออกหากินเวลากลางคืนเก็บรวบรวมโดยใช้กับดักแสงไฟ ผีเสื้อขนาดใหญ่ฆ่าโดยใช้เข็มฉีดน้ำยา ethyl acetate ที่บริเวณอก ผีเสื้อขนาดเล็กฆ่าในขวดฆ่า หลังจากผีเสื้อตาย ใช้ปากคีบ คีบผีเสื้อ ใส่ในซองกระดาษสามเหลี่ยม บันทึกรายละเอียด พืชอาหาร วัน เดือน ปี สถานที่เก็บตัวอย่าง และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง นำตัวอย่างใส่กล่องกระดาษ เก็บรวมไว้ในกล่องรักษาความเย็นเพื่อป้องกันไม่ให้ตัวอย่างเน่า นำไปจัดรูปร่างบนไม้จัดรูปร่าง โดยใช้เข็มไร้สนิมปักบริเวณกลางอก จัดปีกให้กางออกโดยให้ขอบล่างของปีกคู่หน้าตั้งฉากกับลำตัว ขอบบนของปีกคู่หลังอยู่ใต้ขอบล่างของปีกคู่หน้า นำตัวอย่างที่จัดรูปร่างแล้วไปอบให้แห้งในตู้อบ ปรับอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 15 - 30 วัน

3. เก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยไฟ โดยใช้พู่กันเขี่ยตัวอ่อนและตัวเต็มวัยแต่ละตัวลงในขวดที่บรรจุน้ำยา AGA หรือโดยการเขย่าส่วนของพืชให้เพลี้ยไฟตกลงบนกระดาษที่รองรับ ใช้พู่กันเขี่ยลงในน้ำยา AGA เพื่อเก็บรักษาตัวอย่าง บันทึกรายละเอียด พืชอาหาร วัน เดือน ปี สถานที่เก็บตัวอย่าง และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง นำไปทำสไลด์ถาวรตามวิธีการของศิริณี (2547) นอกจากรวบรวมตัวอย่างด้วงผีเสื้อและเพลี้ยไฟจากการสำรวจและเก็บจากสภาพธรรมชาติแล้ว ยังได้รับตัวอย่างจากนักวิชาการและผู้มาขอรับบริการทั้งภายในและต่างประเทศ เพื่อใช้ในการศึกษาครั้งนี้ด้วย

4. ตัวอย่างทั้งหมดหลังจากอบแห้งแล้วนำไปจำแนกในระดับวงศ์ โดยตรวจดูลักษณะสำคัญประกอบเอกสารการจำแนกของ ศิริณี (2544), องุ่น (2544) และ Triplehorn and Johoson (2005) ใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และชนิด compound microscope บันทึกรายละเอียดของแมลงบนแผ่นป้ายบันทึกกำกับตัวอย่าง นำตัวอย่างแมลงจัดเก็บลงในกล่องกระดาษสี่เหลี่ยมสีขาว เพลี้ยไฟนำจัดเก็บในกล่องเก็บแผ่นสไลด์ถาวร นำตัวอย่างทั้งหมดที่จัดเก็บเรียบร้อยแล้ว ไว้ในลิ้นชักตู้เก็บแมลงของพิพิธภัณฑ์ โดยจัดเรียงตามอักษรของลำดับวงศ์

เวลา สถานที่

เริ่มต้น เดือนตุลาคม 2549 **สิ้นสุด** เดือนกันยายน 2553

สถานที่ แหล่งปลูกพืชไร่ พืชสวน ไม้ผล ไม้ดอกไม้ประดับ นาข้าว พื้นที่ป่า

แปลงปลูกพืชอื่น ตลอดจนแหล่งเก็บผลผลิตทางการเกษตรทั่วทุกภาคของประเทศ
ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การเก็บ-รักษาด้วง มีวิธีการสำรวจ 2 วิธีการคือ สำรวจจากพื้นที่ต่างๆ ในสภาพธรรมชาติ เพื่อเก็บด้วงที่ออกหากินในช่วงเวลากลางวันโดยใช้สวิงจับแมลง (ภาพที่ 1ก) โฉบบริเวณใบไม้ ยอดไม้ต่างๆ ที่คาดว่ามีด้วงอาศัยอยู่ และวิธีการใช้กับดักแสงไฟ (ภาพที่ 1ข) เพื่อดึงดูดแมลงที่ออกหากินในเวลากลางคืน จากกรรมวิธีในการสำรวจทั้ง 2 วิธีนั้น มีวิธีการในการเก็บรักษาด้วง ดังนี้ ตัวหนอน เก็บรักษาในแอลกอฮอล์ 80% (ภาพที่ 1ค) ตัวเต็มวัย นำฆ่าในขวดฆ่า (ภาพที่ 1ง) หลังจากด้วงตายแล้ว จัดรูปร่างบนไม้จัดรูปร่างตัวอย่างแมลง (ภาพที่ 2ก) โดยใช้เข็มไร้สนิม ปักที่มุมด้านหน้าของปีกขวา (บริเวณมุมที่ปีกจรดกัน) จัดขาทั้ง 3 คู่ให้อยู่ในลักษณะเกาะหรือเดิน นำไปอบให้แห้งในตู้อบตัวอย่างแมลง (ภาพที่ 2ค) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 30 - 60 วัน ตัวเต็มวัยขนาดเล็กติดบนกระดาษแข็งรูปสามเหลี่ยมขนาดเล็ก (ภาพที่ 3ค) จัดรูปร่างให้เห็นด้านหลังและด้านข้าง หรือวางตะแคงข้างให้ส่วนอกติดอยู่บนปลายแหลมของกระดาษแข็งรูปสามเหลี่ยม ซึ่งจะทำให้ส่วนท้องโค้งลงด้านล่าง นำไปอบให้แห้งใน ตู้อบตัวอย่างแมลง ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 30 วัน

อันดับด้วง (Order Coleoptera) (ภาพที่ 3ค,ง)

ด้วงเป็นแมลงอันดับโคลีออพเตรา (Coleoptera) มีขนาดลำตัวและรูปร่างแตกต่างกันหลากหลายแบบ โดยปีกคู่หน้ามีเนื้อแข็งเป็นเนื้อเดียวกัน เรียกว่าอีไลตร้า (elytra) เป็นเปลือกหุ้มลำตัวทำหน้าที่ป้องกันลำตัวส่วนที่อ่อนนุ่ม ส่วนปีกคู่หลังเนื้อปีกบางใส เรียกว่า เม็มเบรน (membrane) มีหน้าที่ในการบิน มีปากแบบกัดกิน (chewing type หรือ eating type) หนวดมีหลายแบบ ขามี 2 แบบ ถ้าเป็นด้วงที่อาศัยอยู่ในน้ำ จะเป็นด้วงที่มีขาแบบว่ายน้ำ (swimming leg) พวกที่อาศัยบนบกมีขาแบบขาเดิน (walking leg) จากการศึกษาครั้งนี้รวบรวมตัวอย่างด้วงได้ 556 ตัวอย่าง นำไปจำแนกตามวิธีทางอนุกรมวิธานแมลง โดยใช้แนวทางการวินิจฉัยซึ่งปรับปรุงมาจาก สุธรรม (2510); Borror (2005); Pinratana (1999) และ Zimmerman (1994) ได้ 15 วงศ์ ดังนี้

วงศ์ Dytiscidae ด้วงดิ่ง แมลงตับเต่า (true water beetle, predaceous diving beetle)

ลำตัวเป็นรูปไข่ ขนาด 0.6 - 3.7 เซนติเมตร ปีกแข็งลื่นเป็นมันสีดำปนน้ำตาล หนวดยาวแบบเส้นด้าย ขาคู่หลังยาวและแบนกว่าขาคู่อื่นๆ มีขนเป็นแผงเหมาะสำหรับใช้ในการว่ายน้ำ ขาคู่กลางและคู่หลังอยู่ห่างกันมากเนื่องจากต้นขาของขาหลังแบนและใหญ่

ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยอาศัยอยู่ในน้ำ กินสัตว์น้ำขนาดเล็กเป็นอาหาร ตัวอ่อนกินจุและจับสัตว์น้ำที่ใหญ่กว่ากินได้ จึงได้ชื่อว่า water tiger หรือเสือน้ำ ตัวเต็มวัยสามารถอยู่บนบกได้ดีและบินได้ไกล โดยมากอาศัยอยู่ในบ่อหรือแหล่งน้ำนิ่ง ชอบขึ้นจากน้ำมาเล่นไฟในเวลาตอนกลางคืน จัดว่าเป็นแมลงที่ประโยชน์ (สุธรรม, 2510; Borror, 2005)

เขตการแพร่กระจาย : อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา

วงศ์ Cicindellidae ด้วงเสือ (tiger beetle)

ขนาดลำตัว 0.8 - 2.2 เซนติเมตร มีสีสดมีรอยแต้มเป็นจุดหรือแถบ ที่มีสีตัดกับสีพื้นของลำตัว เป็นแมลงที่คล่องแคล่วว่องไว วิ่งและบินได้เร็ว ความกว้างของหัวมีขนาดเท่ากับความกว้างของอกปล้องแรก หรือกว้างกว่า ตาโตโปน เห็นได้ชัดเจน กรามใหญ่และเรียวแหลมยื่นออกมา ขายาว

แมลงในวงศ์นี้อาศัยอยู่บนบกทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยเป็นตัวห้ำจับแมลงและสัตว์เล็กๆกินเป็นอาหาร (สุธรรม, 2510; White,1983)

เขตการแพร่กระจาย อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา อำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี

วงศ์ Carabidae ด้วงดิน (ground beetle) แมลงตด (bombardier beetle)

ขนาดลำตัว 0.7 - 4.3 เซนติเมตร ลำตัวสีดำเป็นมัน แตกต่างกับด้วงเสือที่มีความกว้างของหัวแคบกว่าความกว้างของอกปล้องแรก หนวดอยู่ด้านข้างของส่วนหัวอยู่ระหว่างตาและร่องที่ตั้งของกราม ปีกคู่หน้ามีร่องหลุมเรียงตัวเป็นแนว ขาค่อนข้างยาวดัดแปลงให้เหมาะสำหรับเดินหรือวิ่ง เกือบทุกชนิดอาศัยอยู่บนบก

เป็นแมลงที่วิ่งและหลบซ่อนได้เร็ว แต่ไม่ชอบบิน พบได้ตามใต้หิน ท่อนซุง ใบไม้ เปลือกไม้ ก้อนดิน ส่วนใหญ่มักจะออกหากินในเวลากลางคืน และซ่อนตัวในเวลากลางวัน เกือบทุกชนิดกินแมลงอื่นเป็นอาหาร เป็นแมลงที่มีประโยชน์ (White,1983) บางชนิดที่สามารถปล่อยก๊าซพิษออกมาจากลำตัวได้ เช่น แมลงตด ชนิดที่พบในประเทศไทยคือ *Pherosophus siamensis* Chaud. สามารถปล่อยสารประเภท ออกไซด์ของไนโตรเจนออกมา เมื่อถูกผิวจะไหม้คล้ายๆถูกกรดไนตริค ซึ่งเป็นวิธีการป้องกันตัวของแมลง (สุธรรม, 2510)

เขตการแพร่กระจาย : อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา อำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี อำเภอแม่จัน จังหวัดเชียงราย อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่ และอำเภอวังชิ้น จังหวัดแพร่

วงศ์ Curculionidae ด้วงงวง (snout beetle, weevil)

แมลงในวงศ์นี้มีขนาดลำตัว 1.0 - 3.1 เซนติเมตร ส่วนหัวยื่นยาวออกมาเป็นงวง ซึ่งมักจะยาวและโค้งลง ตาไม่โปน หนวดมีลักษณะเป็นแบบข้อศอก ผสมแบบลูกตุ้ม ปล้องฐาน (scape) ของหนวดยาวกว่า 3 ปล้องถัดไปรวมกัน ปลายหนวดขยายใหญ่ ปากตั้งอยู่ที่ปลายงวง ลำตัว ปีกและขาแข็งมาก ปีกคลุมส่วนท้องหมด ปล้องปลายขา (tarsal segment) เป็นแบบ 5-5-5 แต่มองเห็นได้ชัดเพียง 4 ปล้อง เพราะปล้องที่ 4 เล็กมากซ่อนอยู่ใต้ปล้องที่ 3 ซึ่งขยายเป็นแผ่นใหญ่

ตัวหนอนกินพืชเป็นอาหาร มีทั้งชนิดที่กินราก เจาะลงในลำต้น กินใบ เจาะผล หรือเมล็ดพันธุ์ในโรงเก็บ (Zimmerman,1994)

เขตการแพร่กระจาย : อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา อำเภอศรีสวัสดิ์ อำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี และจังหวัดจันทบุรี

วงศ์ Cerambycidae ด้วงหนวดยาว (longhorned beetle)

เป็นด้วงขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ ลำตัวเรียวยาวรูปร่างค่อนไปทางทรงกระบอก ขนาดลำตัว 1.1 - 4.8 เซนติเมตร หนวดแบบเส้นด้ายยื่นออกมาจากด้านหน้าของหัวมีความยาวเท่ากับความยาวลำตัวหรือยาวกว่า สามารถพับกลับไปด้านหลังของลำตัวได้

ตัวหนอนเจาะทำลายไม้ต่างๆ โดยเข้าไปกินอยู่ในเนื้อไม้ทำให้ต้นไม้ตาย ในประเทศไทยที่สำคัญได้แก่พวกที่เจาะทุเรียน มะม่วง ส้ม ขนุน นุ่น ไม้สัก ก่อให้เกิดความเสียหายได้มาก

เขตการแพร่กระจาย : อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา อำเภอศรีสวัสดิ์ อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี และจังหวัดจันทบุรี

วงศ์ Scarabaeidae ด้วงแรด ด้วงกว่าง แมลงนูน (scarab beetle)

ขนาดลำตัว 0.6 - 4.6 เซนติเมตร หนวดแบบใบไม้มี 10 ปล้องหรือน้อยกว่า 3 ปล้องสุดท้ายขยายเป็นแผ่นแบบใบไม้ แต่ละแผ่นที่มีลักษณะ บาง แบนและประกบแนบกันสนิท ปีกคู่หน้ามักจะคลุมส่วนปลายท้องไม่มิด ขนาดของลำตัวและรูปร่างนั้นแตกต่างกันมาก

เป็นด้วงที่ก่อให้เกิดความเสียหายแก่พืชหลายชนิด ตัวอ่อนกัดกินรากพืช เช่น ทุเรียน สับปะรด อ้อย ทำให้พืชยืนต้นตาย ตัวเต็มวัยกัดกินใบ ยอด

เขตการแพร่กระจาย : อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา อำเภอศรีสวัสดิ์ อำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี อำเภอวังชิ้น จังหวัดแพร่ อำเภอแกลง จังหวัดระยอง อำเภอคอนสาร จังหวัดชัยภูมิ และ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

วงศ์ Lucanidae ด้วงเขี้ยวกาง (stag beetle)

มีขนาดลำตัว 1.5 – 2.2 เซนติเมตร หนวดแบบใบไม้แต่ไม่ประกบกันแน่น โดยทั่วไปเพศผู้จะมีกรามยื่นยาวออกมาและมีขนาดใหญ่ บางครั้งอาจพบยาวเท่ากับหรือเกินครึ่งหนึ่งของลำตัว กรามของเพศเมียมักจะสั้น ปีกแข็งเป็นมันเรียบยาวคลุมส่วนท้องตลอด ตัวเต็มวัยชอบเล่นไฟ ส่วนใหญ่ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยกินไม้ที่เน่าผุ

เขตการแพร่กระจาย : อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา อำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่

วงศ์ Hydrophilidae แมลงเหนี่ยง (water scavenger beetle)

ลำตัวรูปไข่ ขนาดลำตัว 1.1 - 1.8 เซนติเมตร สีดำ หนวดสั้นเป็นแบบลูกตุ้ม อวัยวะส่วนปากคล้ายเส้นด้ายยาวออกมามากกว่าหนวด มีหนามแหลมด้านใต้อก ส่วนใหญ่อาศัยในแหล่งน้ำนิ่ง มีน้อยชนิดที่อาศัยบนบก ตัวเต็มวัยชอบแสงไฟและหากินกับซากเน่าเปื่อย ตัวอ่อนเป็นตัวห้ำ บางชนิดจับและกินแมลงหรือสัตว์อื่นเป็นอาหาร

เขตการแพร่กระจาย : อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา

วงศ์ Chrysomelidae เต่าทอง ด้วงหมัดกระโดด เต่าแตง (leaf beetle)

ลำตัวเป็นมัน อ้วนป้อม รูปไข่ ขนาดลำตัว 0.5 - 0.7 เซนติเมตร ถึง 0.9 - 2.2 เซนติเมตร หนวดแบบเส้นด้ายยาว ปล้องท้องค่อยๆขยายใหญ่ ปล้องปลายขาของขาคู่หน้า คู่กลาง คู่หลัง มีจำนวน 5-5-5 แต่บางตัวจะเห็นปล้องที่ 4 มีขนาดเล็ก และซ่อนในปล้องที่ 3

แมลงวงศ์นี้เป็นศัตรูสำคัญของพืชหลายชนิด ตัวเมียมักจะวางไข่ในดิน ใต้เปลือกไม้หรือตามลำต้นและใบพืช ตัวหนอนกินราก ใบ และเจาะลำต้นพืช บางชนิดเป็นพวกหนอนชอนใบ ตัวเต็มวัยกินใบและดอก พืชที่ถูกทำลายมากๆ ได้แก่ ผักต่างๆ ยาสูบ กล้วยไม้ และธัญพืช

เขตการแพร่กระจาย : อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา อำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี

วงศ์ Tenebrionidae มอดแป้ง (darkling beetle)

ขนาดลำตัว 1.2 - 2.6 เซนติเมตร ลำตัวสีดำ หรือน้ำตาลแดง แผ่นแข็งด้านล่างของท้อง 3 ปล้องแรก รวมกันเป็นแผ่นเดียว ขาทั้ง 3 คู่ มีจำนวนปล้องปลายขาไม่เท่ากัน หนวดเป็นแบบ เส้นด้าย หรือสร้อยลูกปัด หรือ แบบกระบอง

แมลงในวงศ์นี้ บางชนิดกินวัตถุที่เน่าเปื่อยเป็นอาหาร จะอาศัยอยู่ตามกองปุ๋ย มูลสัตว์ ปุ๋ย คอก ที่มีเชื้อราต่างๆ หรือตามไม้ผุ บางชนิดกินหนอนของแมลงอื่น และมีหลายชนิดทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยเป็นศัตรูในโรงเก็บ (พรทิพย์, 2548)

เขตการแพร่กระจาย : อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา

วงศ์ Meloidae ได้แก่ด้วงโสน ด้วงน้ำมัน ด้วงไฟเดือนห้า (oil beetle, Blister beetle)

ขนาดลำตัว 1.6 - 2.2 เซนติเมตร ลักษณะแคบยาว ปีกคู่หน้าเนื้อปีกไม่แข็งค่อนข้างอ่อนนุ่ม หัวกว้าง งุ้มลง อกปล้องแรกแคบกว่าส่วนหัว ขายาวเรียว ใต้เล็บแต่ละข้างจะมีแผ่นบางซึ่งมีปลายแหลมคมทำให้ดูเหมือนว่าเล็บแต่ละข้างแยกเป็นง่าม

แมลงในวงศ์นี้ ตัวเต็มวัยเป็นศัตรูทำลายดอกและใบพืช โดยเฉพาะถั่วต่างๆ โสน มะเขือเทศ กระเจี๊ยบ ฯลฯ บางชนิดเป็นประโยชน์ โดยช่วยกินไข่ของตั๊กแตน ในเมืองไทยมีด้วงน้ำมันหลายชนิด มักขับสาร Cantharidin ออกมาจากข้อต่อบริเวณขาเมื่อถูกรบกวน ซึ่งถ้าถูกร่างกายอาจทำให้เกิดอาการพองได้ (สุธรรม, 2510; Borror, 2005)

เขตการแพร่กระจาย : อำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี

วงศ์ Coccinellidae ด้วงเต่า เต่าลาย (ladybird beetle)

เป็นด้วงที่มีขนาดตัวค่อนข้างเล็ก ประมาณ 0.5 - 0.9 เซนติเมตร ลักษณะกลม โค้งนูน และเป็นมัน ส่วนหัวหดเข้าไปอยู่ใต้อกปล้องแรก หนวดสั้น มี 7-11 ปล้อง 3 ปล้องสุดท้ายขยายกว้างเล็กน้อย อวัยวะส่วนปากขยายใหญ่เป็นรูปสามเหลี่ยม ปล้องปลายขาของขาทุกคู่ มีจำนวน 4-4-4

แมลงในวงศ์นี้มีความสำคัญและเป็นประโยชน์ต่อการเกษตรมาก เพราะเกือบทุกชนิดทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยกินแมลงและไรเป็นอาหาร เช่น เพลี้ยอ่อน เพลี้ยหอย เพลี้ยแป้ง ไรแดง ฯลฯ โกศล (2538) รายงานว่ามีการนำด้วงเต่าหลายชนิดไปใช้ประโยชน์ในการปราบแมลงศัตรูพืชต่างๆ เช่น

เพลี้ยแป้งของส้มในแคลิฟอร์เนีย ซึ่งได้มีการนำด้วงเต่า *Rodolia cadinalis* จากออสเตรเลีย มาทำการผลิตเพิ่มจำนวนแล้วปล่อยในสวนส้ม ปรากฏว่าใช้ปราบเพลี้ยแป้งได้สำเร็จ อย่างไรก็ตามแมลงในวงศ์นี้บางชนิดสามารถทำลายพืชได้ เช่น *Epilachna 28-punctata* F.ซึ่งลงทำลายมะเขือ (สมหมาย, 2545)

เขตการแพร่กระจาย : อำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี

วงศ์ Lampyridae ได้แก่ หิ่งห้อย หิ่งห้อยช้าง (Lightningbug, firefly, glow worm)

ลำตัวมีขนาด 0.7 - 1.0 เซนติเมตร รูปร่างคล้ายทรงกระบอก ลำตัวและปีกมีลักษณะค่อนข้างอ่อนนิ่มกว่าแมลงปีกแข็งอื่นๆ ปีกคู่หน้ามีขนละเอียดปกคลุมอยู่หนาแน่น มีหนวดแบบเส้นด้าย หรือ ฟันเลื่อย จำนวน 11 ปล้อง อกปล้องแรกเป็นแผ่นบางขยายใหญ่คลุมส่วนหัว มีอวัยวะทำแสงที่ท้องปล้องที่ 5 ในเพศเมีย และปล้องที่ 5 - 6 ในเพศผู้ หลายชนิดที่ตัวเมียไม่มีปีก อย่างเช่น หิ่งห้อยช้าง ซึ่งมีรูปร่างคล้ายหนอน

หิ่งห้อยเป็นแมลงออกหากินตอนกลางคืน สามารถทำให้เกิดแสงกะพริบเป็นจังหวะ เพื่อหาคู่ผสมพันธุ์ แต่ละชนิดมีจังหวะการกะพริบแสงแตกต่างกัน ตัวหนอนและดักแด้สามารถที่จะเรืองแสงได้ แต่แสงจะอ่อนกว่าในตัวเต็มวัย โดยทั่วไปแสงที่เกิดนั้นเป็นสีเขียวปนเหลืองอ่อน เป็นแสงที่เกิดจากการทำปฏิกิริยา oxidation ของสารลูซิเฟอริน (luciferin) ซึ่งให้แสงเพียงอย่างเดียวแต่ไม่มีพลังงานความร้อน ตัวเต็มวัยมักจะไม่กินอาหารหรือกินน้อย อาหารของหิ่งห้อยเป็นพวกหอยต่างๆ

เขตการแพร่กระจาย : อำเภอวังชิ้น จังหวัดแพร่

วงศ์ Elateridae ด้วงดีด (click beetle)

ลำตัวมีสีดำ น้ำตาลหรือเทา อกและลำตัวยาวเป็นรูปทรงกระบอก และเรียวมนทางด้านท้ายของลำตัว ขนาดลำตัว 1.4 - 6.8 เซนติเมตร หนวดส่วนใหญ่เป็นแบบฟันเลื่อย บางชนิดเป็นแบบเส้นด้าย อกปล้องแรกใหญ่มีมุมแหลมทางด้านหลัง บริเวณอกปล้องแรกและอกปล้องกลาง ด้านล่างมีอวัยวะช่วยในการดีดตัว เมื่อเครื่องดีดนี้หลุดจากร่องที่จับจะทำให้เกิดการดีดลำตัวขึ้นสูงจากพื้นดิน

ตัวเต็มวัยของแมลงเหล่านี้อาศัยอยู่ตามใบไม้ ดอกไม้ กินพืชเป็นอาหาร มีหลายชนิด ชอบเล่นไฟ หลายชนิดหนอนเป็นศัตรูสำคัญของพืช โดยเฉพาะกัดกินต้นกล้าหรือรากพืชต่างๆ (Borror, 2005; White,1983)

เขตการแพร่กระจาย : อำเภอบ้านตาขุน จังหวัดสุราษฎร์ธานี อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา อำเภอศรีสวัสดิ์ จังหวัดกาญจนบุรี อำเภอวังชิ้น จังหวัดแพร่

Buprestidae แมลงทับ (metallic wood-boring beetle)

มีลักษณะคล้ายกับด้วงดีดมาก คือลำตัวยาวและแคบทางด้านท้าย ขนาดลำตัว 3.1 - 5.2 เซนติเมตร มีสีสดใสและแวววาวมากกว่าด้วงดีด แต่มักจะแวววาว โดยจะมีสีเขียวปนเหลือง ม่วง น้ำเงิน และสีอื่นๆ ลำตัวแข็งมาก หนวดเป็นแบบฟันเลื่อย ลักษณะที่แตกต่างกับด้วงดีดคือ ส่วนอกปล้อง

แรกกับปล้องที่สองรวมกันเป็นปล้องเดียว ไม่มีอวัยวะใช้ในการดีด ขอบด้านท้ายของอกปล้องแรก ไม่มีมุมแหลม

ตัวเต็มวัยมักพบได้ตามดอกไม้และเปลือกไม้ต่างๆ ตัวหนอนส่วนใหญ่ทำลายต้นไม้และป่าไม้ โดยกัดกินเข้าไปในเปลือกและเนื้อไม้ทำให้เกิดเป็นรู บางชนิดกินรากทำให้ต้นไม้ตาย

เขตการแพร่กระจาย : อำเภอบ้านตาขุน จังหวัดสุราษฎร์ธานี อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา อำเภอศรีสวัสดิ์ อำเภอเมือง อำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่

2. การเก็บ-รักษาผีเสื้อ มีวิธีการสำรวจ 2 วิธี คือใช้สวิงจับแมลงโฉบบริเวณที่มีผีเสื้ออาศัยอยู่ เพื่อเก็บผีเสื้อออกหากินในช่วงเวลากลางวัน (ภาพที่ 1ก) จากนั้นฆ่าผีเสื้อโดยวิธีบีบอก (ภาพที่ 1ง) นำตัวอย่างผีเสื้อที่ตายแล้วใส่ซองกระดาษสามเหลี่ยม และวิธีการใช้กับดักแสงไฟเพื่อดึงดูดผีเสื้อที่ออกหากินในเวลากลางคืน (ภาพที่ 1ข) ผีเสื้อขนาดใหญ่ฆ่าโดยใช้เข็มฉีดน้ำยา ethyl acetate ที่บริเวณอกด้านล่าง (ภาพที่ 1ฉ) ผีเสื้อขนาดเล็กฆ่าในขวดฆ่า (ภาพที่ 1ง) จากกรรมวิธีในการสำรวจทั้ง 2 วิธีนั้น มีวิธีการในการเก็บรักษาผีเสื้อ ดังนี้ นำไปจัดรูปร่างบนไม้จัดรูปร่างตัวอย่างแมลง โดยใช้เข็มไร้สนิมปักบริเวณกลางอก จัดปีกให้กางออกโดยให้ขอบล่างของปีกคู่หน้าตั้งฉากกับลำตัว ขอบบนของปีกคู่หลังอยู่ใต้ขอบล่างของปีกคู่หน้า (ภาพที่ 2ข) ตัวอย่างที่จัดรูปร่างแล้วอบให้แห้งในตู้อบแมลง ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 15 - 30 วัน (ภาพที่ 2ง)

อันดับเลพิดอพเทอรา (Order Lepidoptera) (ภาพที่ 3ก,ข)

ผีเสื้อเป็นแมลงที่มีขนาดตัวแตกต่างกันมาก มีการเจริญเติบโตแบบมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างแบบสมบูรณ์ รูปร่างลักษณะทั่วไป หัว ยื่นออกมาด้านหน้าลำตัวเห็นได้ชัด ตารวมโต กลม และมีขนอยู่เต็มระหว่างตารวมทั้งสองข้าง ทำหน้าที่รับภาพที่เคลื่อนไหว ตาเดี่ยว ส่วนใหญ่ไม่มี แต่บางชนิดอาจมีสองตาตั้งอยู่เหนือตารวม มักมีขนหรือเกล็ดปกคลุม หนวด มีหลายแบบส่วนใหญ่เป็นแบบกระบอง เส้นด้าย สร้อยลูกปัด ฟันเลื่อย ฟันหวี หรือ ฟันหวีสองแถว ในผีเสื้อกลางคืนตัวผู้มักมีหนวดต่างจากตัวเมีย ปาก เป็นแบบดูดกิน มีลักษณะท่องวงยาว (proboscis) เวลาที่ไม่ได้กินอาหารงวงจะม้วนเก็บเป็นวงกลม ขดอยู่ใต้หัว ปีก ผีเสื้อมีปีก 2 คู่ เป็นเยื่อบาง ๆ ประกบกัน มีเส้นปีกเป็นโครงร่างให้ปีกคงรูปอยู่ได้ ผีเสื้อ ส่วนใหญ่จะมีเส้นปีกในปีกคู่หน้า 12 เส้น ปีกคู่หลัง 9 เส้น ปีกคู่หน้าจะซ้อนทับปีกคู่หลังบางส่วน อวัยวะที่ช่วยในการเกี่ยวปีกขณะบินได้แก่ jugum และ fenulum มีผีเสื้อหลายชนิดไม่มีอวัยวะเกี่ยวปีก แต่จะดัดแปลงโคนปีกหลังให้ขยายกว้างออกเพื่อให้ปีกหน้าและปีกหลังติดกันแน่น ผีเสื้อหลายชนิดตัวเมียไม่มีปีก การจัดเรียงกันของเส้นปีกเป็นลักษณะสำคัญอย่างหนึ่ง ในการจำแนกวงศ์ของผีเสื้อ ขา ดัดแปลงให้เหมาะในการเดินมีเกล็ดติดอยู่มาก บางชนิดขาคู่หน้าหด เสื่อมหายไป บางชนิดขาคู่หลังหดหายไป หรือบางชนิดตัวเมียไม่มีขา ส่วนท้อง เป็นที่ตั้งของต่อม pheromone ที่ยืดหดได้ อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ตั้งอยู่ที่ท้องปล้องที่ 9 หรือ 10 ส่วนอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียตั้งอยู่ที่ท้องปล้องที่ 9 - 11 โดยปกติใช้อวัยวะ สืบพันธุ์ของผีเสื้อโดยเฉพาะเพศผู้ในการจำแนก

ชนิดผีเสื้อได้ จากการศึกษาครั้งนี้รวบรวมตัวอย่างผีเสื้อได้ 2,728 ตัวอย่าง นำไปจำแนกตามวิธีทางอนุกรมวิธานแมลง โดยใช้แนวทางการวินิจฉัยซึ่งปรับปรุงมาจาก Borror (2005); Inoue (1982) ได้ 28 วงศ์ โดยมีรายละเอียด ดังนี้

วงศ์ Danaidae ได้แก่ ผีเสื้อต้นรัก (milkweed butterfly)

เป็นผีเสื้อกลางวันขนาดกลาง มีสีฉูดฉาดประกอบด้วยสีเหลือง น้ำตาล ส้มปนเหลือง และมีลายเป็นจุด เส้นสีดำ หรือขาว ขาคู่หน้าสั้น หนวดเรียบไม่มีเกล็ด เป็นผีเสื้อที่มีอยู่ทั่วไปและพบได้บ่อย ตัวหนอนอาจจะเป็นศัตรูสำคัญของไม้ดอก เช่น ต้นรัก ต้นยี่โถ แต่ส่วนใหญ่กินวัชพืชเป็นอาหาร จึงไม่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ

เขตการแพร่กระจาย : พบได้ทั่วทุกภาคของประเทศไทย

Lycaenidae ได้แก่ผีเสื้อสีเงิน ผีเสื้อสีทองแดง (blue, copper, hairstreaks, harvesters)

เป็นผีเสื้อขนาดเล็ก บอบบาง สีสด น้ำเงิน ทองแดง น้ำตาลแก่ หรือส้ม ตัวผู้กับตัวเมียอาจมีสีต่างกัน หนวดมักมีสีขาว และมีเกล็ดขาวล้อมรอบขนตา บางชนิดปีกมีหางหรือเป็นติ่งยื่นยาวออกไป เส้นปีก radius (R) ของปีกหน้าแตกออกเป็น 3 - 4 แขนง media 1 (M1) ยื่นจากปลายของ discal cell ตัวหนอนค่อนข้างแบนมีลักษณะคล้ายหอย ลำตัวสั้นและกว้าง ขาจริงและขาเทียมเล็ก ส่วนหัวเล็กหดเข้าไปในลำตัวได้ มี 2 - 3 ชนิด มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ได้แก่ หนอนกินพืชตระกูลถั่ว หนอนเจาะผลทับทิม มะปราง ชมพู่ หว้า มะม่วง ลำไย และบางชนิดชอบกินพวกปรง เป็นต้น มีบางชนิดให้ประโยชน์โดยเป็นตัวห้ำกินเพลี้ยอ่อน

เขตการแพร่กระจาย : พบได้ทั่วทุกภาคของประเทศไทย

วงศ์ Nymphalidaeได้แก่ ผีเสื้อสี่ขา (four-footed butterfly)

เป็นผีเสื้อกลางวันที่มีขนาดกลาง ถึงขนาดใหญ่ มีเพียง 2 - 3 ชนิดที่มีขนาดเล็ก ลักษณะสำคัญ คือ ขาคู่หน้าเล็กมาก เล็กกว่าคู่อื่นๆ และไม่มีเล็บ ไม่ใช้ในการเดินหรือเกาะ ใช้แต่ขาคู่กลางหรือ หลัง เวลาเกาะจะพับขาคู่หน้าไว้กับอก หนวดปกคลุมด้วยเกล็ด ดักแด้มักจะห้อยหัวลง เป็นวงศ์ที่ไม่ค่อยมีความสำคัญทางเศรษฐกิจ หนอนบางชนิดจะกิน กระทกรก ละหุ่ง มะม่วง และไม้ดอกต่างๆ แต่ไม่มากมายจนก่อให้เกิดความเสียหายขึ้นได้

เขตการแพร่กระจาย : พบได้ทั่วทุกภาคของประเทศไทย

วงศ์ Papilionidae ได้แก่ ผีเสื้อหางแฉก (swallow tail, parnassian)

เป็นผีเสื้อกลางวันขนาดใหญ่ ลักษณะสำคัญคือ ปีกคู่หลังขยายเป็นหางยาว ส่วนมากพื้นปีกสีดำ และมีรอยจุด หรือลายสีเหลือง แดง เขียว ขาว หรือน้ำเงิน เมื่อถูกรบกวนจะปล่อยรยางค์เป็นง่ามเรียกว่า osmeterium ออกมาจากสันหลังอกปล้องแรก ส่งกลิ่นแรงเพื่อป้องกันตัว หนอนของแมลงในวงศ์นี้ เช่น พวก *Papilio* spp. เป็นศัตรูพืชสำคัญ เช่น พืชตระกูลส้ม บางชนิดเป็นศัตรูสำคัญของพืชตระกูลส้ม ผักบางชนิด ไม้ดอก วัชพืชป่า

เขตการแพร่กระจาย : พบได้ทั่วทุกภาคของประเทศไทย

วงศ์ Pieridae ได้แก่ ผีเสื้อหนอนกะหล่ำ (white / sulfur / orange tip)

เป็นผีเสื้อกลางวันขนาดกลาง มักจะมีสีขาว เหลือง หรือส้ม และมีลายจุดดำ ขา 3 คู่เจริญเท่ากัน ตัวหนอนยาวมีลำตัวเป็นปล้องเห็นได้ชัด ลำตัวมีขนาดต่างๆกัน ไม่มี osmeterium หนอนของแมลงในวงศ์นี้หลายชนิดเป็นศัตรูสำคัญของพืชที่เพาะปลูก โดยเฉพาะหนอนกะหล่ำปลี (*Pieris brassicae*) ซึ่งเป็นศัตรูทำลายพืชตระกูลกะหล่ำ บางชนิดกินพืชตระกูลถั่ว หรือบางชนิดตัวหนอนเป็นศัตรูทำลายพืชไม้ป่าและไม้ประดับ เช่น ต้นคูน

เขตการแพร่กระจาย : พบได้ทั่วทุกภาคของประเทศไทย

วงศ์ Hesperiidae ได้แก่ ผีเสื้อบินเร็ว ผีเสื้อสคิปเปอร์ (common skipper)

ตัวเต็มวัย ลำตัวป้อม บินได้เร็วมาก แตกต่างไปจากผีเสื้ออื่นๆ ที่ปลายหนวดมีลักษณะคล้ายตะขอ ขณะเกาะอยู่กับที่จะกางปีกโดยปีกหน้าและปีกหลังทำมุมกับตัวต่างกัน ตัวหนอนเรียบไม่มีขน ส่วนหัวมีขนาดใหญ่แข็ง คอคอดเล็ก แบ่งส่วนหัวจากลำตัวเห็นได้ชัดเจน หนอนบางชนิดเป็นศัตรูสำคัญของพืช โดยเฉพาะพืชตระกูลถั่ว (Cruciferae) นอกจากนี้ก็มี ข้าว กล้วย มะพร้าว ข่า ขิง โดยการกัดกินใบเป็นหนอนม้วนใบ บางครั้งก่อความเสียหายให้ทีละมากๆ จึงจัดว่าเป็นแมลงที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจวงศ์หนึ่ง

เขตการแพร่กระจาย : พบได้ทั่วทุกภาคของประเทศไทย

วงศ์ Amatidae ได้แก่ ผีเสื้อหญ้า (euchromid)

เป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดเล็กถึงขนาดกลาง มีสีสันฉูดฉาดต่างๆ กันมาก เช่น เหลือง ดำ น้ำเงิน น้ำตาล ฯลฯ บางชนิดปีกบางใส มีเกล็ดน้อย มีปากเป็นงวงยาว ตัวหนอนมีลำตัวสั้น มีหนามและขนอ่อน ลักษณะคล้ายกับหนอนในวงศ์ผีเสื้อลายเสือมาก แมลงในวงศ์นี้ไม่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ส่วนใหญ่ตัวหนอนอาศัยหญ้าและวัชพืชกินเป็นอาหาร เช่น กินผักบุ้ง กระทกรก

เขตการแพร่กระจาย : กาญจนบุรี ระยอง จันทบุรี เพชรบูรณ์ พิษณุโลก เลย ตาก แพร่ น่าน เชียงใหม่ สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช ตรัง

วงศ์ Arctiidae ได้แก่ ผีเสื้อหนอนบุ้ง ผีเสื้อลายเสือ (tiger moth, footman moth)

เป็นผีเสื้อขนาดเล็กถึงขนาดกลาง ส่วนใหญ่มีสีสันสดใส มีลายพาดขวางลำตัว สีและจุดสีต่างกันส่วนใหญ่สีเหลืองปนดำคล้ายเสือ เมื่อพักอยู่กับที่มักพับปีกหุ้มลำตัวคล้ายหลังคา เส้น medis 2+media 3 (M2+M3) อยู่ใกล้ cubitus (Cu1, Cu2) ทำให้เห็นเส้น cubitus คล้ายกับว่ามี 4 เส้น ในปีกคู่หน้า เส้น subcosta (Sc) และ radius (R) ของปีกหลังรวมกันเป็นเส้นเดียว ยาวแล้วจึงแยกออกจากกันอีกที่ปลาย ตัวหนอนมีขนมากลักษณะเป็นตัวบุ้ง ดักแด้มีปลอกซึ่งตัวหนอนถักเป็นใยผสมกับขนห่อหุ้มลำตัวไว้ หนอนของผีเสื้อชนิดนี้ส่วนใหญ่กินใบไม้ของต้นไม้ใหญ่ โดยเฉพาะไม้ป่า เป็นอาหาร บางครั้งเป็นศัตรูของไม้ป่า แต่โดยทั่วไปทางการเกษตรไม่ค่อยมีความสำคัญ ตัวเต็มวัยออกหากินกลางคืน และมักชอบเล่นแสงไฟ

เขตการแพร่กระจาย : กาญจนบุรี สระบุรี ระยอง จันทบุรี เพชรบูรณ์ พิษณุโลก เลย ตาก แพร่ น่าน เชียงใหม่ ศรีสะเกษ สกลนคร ประจวบคีรีขันธ์ สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช ตรัง

วงศ์ Bombycidae ได้แก่ ผีเสื้อไหม หนอนไหม (silk-worm, silk worm moth)

เป็นผีเสื้อกลางคืน ตัวเต็มวัยมีสีขาวครีม หรือน้ำตาล ปีกคู่หน้ามีลายเส้นสีน้ำตาลอ่อนถึงน้ำตาลเข้มพาดตามขวางหลายเส้น เมื่อแผ่ปีกวัดจากขอบปีกหนึ่งถึงอีกขอบปีกหนึ่งจะกว้างประมาณ 2 - 3 นิ้ว ลำตัวอ้วนป้อม มีขนคลุมเต็ม ตัวเต็มวัยไม่กินอาหาร โดยมากมีชีวิตอยู่ได้ 2 - 3 วัน ตัวหนอนเรียบไม่มีขน มีเขาเล็กๆ สั้นที่ปลายท้อง จะโตเต็มที่และเริ่มชักใยลักษณะเป็นเส้นไหมไหมห่อหุ้มดักแด้ภายใน มีการนำตัวไหมมาเลี้ยงเป็นเวลานานนับหลายศตวรรษ ไหมตัวหนึ่งจะให้เส้นใยยาวประมาณ 200-300 เมตร ผลจากการเลี้ยงไหมมาเป็นเวลานานนี้เองทำให้ไหมกลายเป็นสัตว์เลี้ยงและไม่สามารถจะเลี้ยงหาตัวเองได้ ถ้าปล่อยไว้ตามธรรมชาติ เส้นไหมที่ได้สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้มากมาย โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์เครื่องนุ่งห่ม เครื่องใช้สอยต่าง ๆ

เขตการแพร่กระจาย : เพชรบูรณ์ พิษณุโลก เลย ตาก แพร่ น่าน เชียงใหม่ สกลนคร นครศรีธรรมราช

วงศ์ Brahmaeidae ผีเสื้อพราหมณ์

เป็นวงศ์เล็ก แต่มีขนาดใหญ่ อาศัยอยู่มากในเขตอบอุ่นเหนือปีกมีลายแปลกสะดุดตาสีน้ำตาลหนวดแบบฟันหวีคล้ายผีเสื้อในวงศ์ก่อน แต่พวกนี้มีงวงใช้ดูดน้ำหวาน มักพบมาบินเล่นไฟตอนกลางคืนในบริเวณป่าทึบ ในประเทศไทยพบตามป่าค่อนข้างสูง

เขตการแพร่กระจาย : จังหวัดพิษณุโลก

วงศ์ Cossidae ได้แก่ ผีเสื้อหนอนเจาะไม้ (carpenter moth, leopard moth, goat moth)

เป็นผีเสื้อกลางคืนที่มีขนาดปานกลางถึงขนาดใหญ่ ลำตัวอ้วน ก้นแหลม ปีกค่อนไปทางยาวมากกว่ากว้าง หนา และแข็งแรง มักจะมีรอยด่างหรือจุดทั่วไปตามปีก หนวดเป็นแบบ bipectinate ทั้งตัวเมียและตัวผู้ หรือบางครั้งตัวผู้มีโคนหนวดแบบ bipectinate แต่ตอนปลายเป็นแบบ filiform แมลงในวงศ์นี้ออกหากินในเวลากลางคืน ชอบวางไข่ตามเปลือกหรือรูต้นไม้ ตัวหนอนเจาะกินเป็นรูขนาดใหญ่เข้าไปในเนื้อไม้หรือต้นไม้ต่างๆ ตัวหนอนมีส่วนหัวติดกับอกปล้องแรกซึ่งขยายใหญ่ มีกรามใหญ่ เป็นศัตรูของต้นไม้หลายชนิด มักจะพบขุยหรือมูลหนอนอยู่ที่โคนต้น บางครั้งมีน้ำเหลวใสๆ ไหลออกมาจากรู มีกลิ่นเหม็นสาบ ชนิดที่เป็นศัตรูสำคัญของต้นกาแฟ คือ หนอนกาแฟแดง ศัตรูที่ร้ายแรงทำลายไม้สักคือ ผีเสื้อหนอนเจาะสัก ซึ่งก่อให้เกิดความเสียหายให้ทีละมากๆ

เขตการแพร่กระจาย : เพชรบูรณ์ เลย ตาก แพร่ น่าน เชียงใหม่ นครราชสีมา ร้อยเอ็ด สกลนคร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช

วงศ์ Drapanidae ผีเสื้อปีกขอ

ลักษณะโดยทั่วไปคล้ายกับผีเสื้อหนอนคืบมาก แต่ส่วนมากจะมีมุมปลายปีกคู่หน้าโค้งงอคล้ายตะขอ หนามสำหรับเกี่ยวปีกเล็กมาก หรือไม่มี ส่วนมากมีสีน้ำตาล มีชุกชุมมากที่สุดในบริเวณเอเชียเขตร้อน หนอนตัวเรียว ตอนปลายตัวมีติ่งยื่นออกไป ติ่งนี้จะยกขึ้นมาได้ เข้าดักแด้ตามใบไม้บนดิน

เขตการแพร่กระจาย : เพชรบูรณ์ พิษณุโลก เลย เชียงใหม่ ตรัง

วงศ์ Euterotidae

เป็นผีเสื้อกลางคืนวงศ์ที่ขนาดลำตัวใหญ่ ส่วนใหญ่หากินในเวลากลางคืนและมักชอบเล่นแสงไฟ มีขนาดและสีสันต่างๆ กัน แต่ส่วนใหญ่มีสีน้ำตาล สีเทา ลำตัวอ้วนป้อม ปีกคู่หน้าและปีกคู่หลังกว้าง เมื่อเกาะมักกางปีกแบนราบขนานกับพื้น มีหนวดเป็นแบบ filiform เป็นส่วนใหญ่ บนสันหลังอกมักจะมีขนปกคลุมหนาแน่น ตัวหนอนโดยทั่วๆ ไปเรียบ มีขนละเอียดเล็กน้อยและมีสีทึบ เป็นศัตรูสำคัญของไม้ป่า โดยเฉพาะสน

เขตการแพร่กระจาย : พิษณุโลก เชียงใหม่ นครราชสีมา

วงศ์ Geometridae ได้แก่ ผีเสื้อหนอนคืบ (looper, measuring worm, geometer)

เป็นผีเสื้อกลางคืนวงศ์ใหญ่เป็นอันดับที่สองของอันดับผีเสื้อ ลำตัวเล็กบอบบางผิดกับปีกที่กว้างใหญ่ไม่ได้ส่วนสัดกับลำตัว จึงเป็นผีเสื้อที่บินไม่เร็ว เมื่อเกาะอยู่กับที่จะกางปีกขนานกับพื้น บนปีกมักจะมีเส้นเป็นลายคลื่นพาดตามขวาง มีบางชนิดที่ตัวเมียไม่มีปีกหรือมีปีกเล็กมาก ตัวผู้และตัวเมียหลายชนิดมีสีต่างกัน ตัวหนอนเรียวยาวและมีขาเทียมเฉพาะปล้องที่ 2 และที่ 10 การเคลื่อนไหวมีลักษณะคืบไปจึงได้ชื่อว่า หนอนคืบ

จัดเป็นวงศ์ที่มีความสำคัญในทางทำลายพืชที่เพาะปลูก พวกที่กินไม้ดอก เช่น เข็มแดง ยี่โถ กุหลาบ ดอกพุด เป็นต้น และมีพวกที่กินใบผลไม้หรือพืชที่สำคัญๆทางเศรษฐกิจ เช่น ลำไย มะม่วง ส้มเงาะ ทับทิม พริกไทย จึงจัดว่าเป็นวงศ์ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ

เขตการแพร่กระจาย : จันทบุรี ระยอง สระบุรี เพชรบูรณ์ พิษณุโลก ชัยภูมิ เลย ตาก แพร่ น่าน เชียงใหม่ นครราชสีมา ร้อยเอ็ด สกลนคร ประจวบคีรีขันธ์ สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช ตรัง

วงศ์ Lasiocampidae ผีเสื้อหนอนชักใย (tent caterpillar, lappet moth)

ผีเสื้อขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ ลำตัวค่อนข้างอ้วนและมีขนปกคลุมหนาแน่น ปีกกว้าง ขอบหน้าของปีกคู่หลัง มักพองยื่นไปข้างหน้าและมีเส้นปีกสั้นๆ พยุงอยู่หลายเส้น ไม่พบมีอวัยวะสำหรับเกี่ยวปีก ส่วนปากเสื่อมไป หนวดมักเป็นแบบฟันหวี (bipectinate) ทั้งสองเพศ แต่เพศผู้มีแขนงขนยาวกว่า ผีเสื้อในวงศ์นี้วางไข่เป็นกลุ่มติดอยู่ตามกิ่งไม้ หนอนมีขนปกคลุมหนาแน่น และสีสดสะดุดตา หลายชนิดทำลายใบไม้ผล เช่น หนอนบุ้งกินใบชมพู่ (*Trabala vishnou*) ตัวผู้มีสีเขียวอ่อน แต่ตัวเมียซึ่งมีขนาดใหญ่กว่ามีสีเหลืองสด

เขตการแพร่กระจาย : จันทบุรี เพชรบูรณ์ พิษณุโลก ชัยภูมิ เลย ตาก แพร่ น่าน เชียงใหม่ นครราชสีมา สกลนคร ตรัง

วงศ์ Limacodidae ผีเสื้อหนอนหอย

ผีเสื้อในวงศ์นี้มีลำตัวอ้วน ปีกสั้น แต่บินได้เร็ว ส่วนมากมีสีเขียว สีน้ำตาลแต้มเขียวหรือน้ำตาลแดง ส่วนปากเสื่อมไป ไข่มีรูปร่างแบนคล้ายเหรียญ หนอนมีรูปร่างแปลกจากวงศ์อื่นๆ โดยมีรูปร่างสั้นและแบน มีสี ลวดลายต่างๆ สวยงาม หัวซ่อนอยู่ใต้ลำตัว รอบๆ ตัวมีกระจุกขนที่มีพิษทำให้ผู้ที่โดนมีอาการปวดแสบปวดร้อน หนอนบางชนิดมีลำตัวเรียบ ไม่มีหนามเลย ชนิดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ หนอนหอยกินใบมะพร้าว

เขตการแพร่กระจาย : สระบุรี เพชรบูรณ์ พิษณุโลก น่าน เชียงใหม่ ร้อยเอ็ด สกลนคร นครศรีธรรมราช ตรัง

วงศ์ Lymantriidae ได้แก่ ผีเสื้อหนอนบุ้ง (gypsy moth)

เป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดกลาง มีสีเรียบๆ ไม่ฉูดฉาด หนวดของตัวผู้มักจะมีลักษณะเป็น bipectinate ไม่มีตาเดี่ยว ตัวเมียบางชนิดไม่มีปีกและมีหนวดเป็นแบบฟันเลื่อย (serrate) ขามักจะคลุมด้วยขนละเอียด และเมื่อเกาะนิ่งอยู่กับที่มักจะยื่นขาหน้าออกไป ตรงปลายส่วนท้องของตัวเมียมีขนยาวคลุมซึ่งใช้เป็นที่คลุมไข่เมื่อวางไข่เสร็จแล้ว ตัวหนอนมีขนปกคลุมมากเต็มลำตัวหรือเป็นกระจุกตามปล้องต่างๆ ลำตัวมีสีสันต่างๆ กันสวยงาม แมลงในวงศ์นี้เป็นศัตรูสำคัญของป่าไม้และต้นไม้ผลต่างๆ บางครั้งก่อให้เกิดความเสียหายอย่างหนัก ที่พบบ่อยๆ ได้แก่ หนอนบุ้งกินใบน้อยหน่า กุหลาบ ทองหลาง พืชตระกูลถั่ว ชงโค ผักกาด สนทะเล ส้มโอ ฝ้าย

เขตการแพร่กระจาย : ระยอง สระบุรี เพชรบูรณ์ พิษณุโลก ชัยภูมิ ตาก แพร่ น่าน เชียงใหม่ สกลนคร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช ตรัง

วงศ์ Noctuidae ได้แก่ ผีเสื้อหนอนกระทู้ต่างๆ (noctuids moth, owlet moth, cutworm)

เป็นผีเสื้อกลางคืนวงศ์ที่ใหญ่ที่สุดในอันดับผีเสื้อ หากินในเวลากลางคืนและมักชอบเล่นแสงไฟ มีขนาดและสีสันต่างๆ กันมาก แต่ส่วนใหญ่มีขนาดกลาง ลำตัวอ้วนป้อม ปีกคู่หน้าค่อนข้างแคบ ปีกคู่หลังกว้าง เมื่อพับปีกจะมีลักษณะหุ้มตัวคล้ายหลังคา มีหนวดเป็นแบบ filiform บนสันหลังอกมักจะมีเกล็ดปกคลุมหนา ตัวหนอนโดยทั่วๆ ไปเรียบ มีขนละเอียดเล็กน้อยและมีสีทึบ ส่วนใหญ่มีขาเทียมแมลงในวงศ์นี้เป็นศัตรูพืชที่สำคัญที่สุดวงศ์หนึ่ง ตัวหนอนกัดกินใบและผล และบางครั้งก็เจาะเข้าไปอยู่ในลำต้น มีหลายชนิดที่เป็นศัตรูของพืชต่างๆ ที่ปลูก รวมทั้งธัญพืชต่างๆ เช่น หนอนกอข้าวสีชมพู หนอนกระทู้ควายพระอินทร์ หนอนกระทู้ต่างๆ หนอนมีนิสัยออกหากินในเวลากลางคืนและจะหลบซ่อนตัวอยู่ตามใต้ก้อนหิน หรือใต้ดินตามโคนต้นพืชในเวลากลางวัน

เขตการแพร่กระจาย : กาญจนบุรี จันทบุรี ระยอง สระบุรี เพชรบูรณ์ พิษณุโลก ชัยภูมิ เลย ตาก แพร่ น่าน เชียงใหม่ นครราชสีมา ร้อยเอ็ด มหาสารคาม สกลนคร ศรีสะเกษ ประจวบคีรีขันธ์ สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช ระนอง ตรัง

วงศ์ Notodontidae ผีเสื้อปีกปม (prominent)

วงศ์นี้มีแพร่กระจายทั่วโลก ลำตัวขนาดปานกลาง มักมีปีกสีเทาหรือน้ำตาล ปีกยาวเรียว ปลายปีกมน ลำตัวยาวเลยปีกออกไป หนอนมีรูปร่างหลายแบบ เวลาถูกรบกวนจะยกส่วนหน้าและส่วนท้ายของลำตัวขึ้น ขาคู่สุดท้ายของหนอนเสื่อมหายไป หนอนบางชนิดอยู่กันเป็นกลุ่ม เข้าดักแด้ในรังที่ทำจากใบไม้แห้ง ในประเทศไทยมีหลายชนิด ที่เป็นศัตรูผลไม้ เช่น หนอนกินใบเงาะ หนอนกินใบมะขามเทศ

เขตการแพร่กระจาย : กาญจนบุรี เพชรบูรณ์ พิษณุโลก เลย ตาก เชียงใหม่ นครราชสีมา ร้อยเอ็ด นครศรีธรรมราช ตรัง

วงศ์ Plutellidae เสื้อหนอนใยผัก

เป็นผีเสื้อมีขนาดเล็ก ปีกค่อนข้างยาวสีคล้ำ มีแถบขาวบนปีก เวลาเกาะมักหุบปีก หนอนลำตัวเล็กสีเขียวใช้ใยห่อหุ้มตัวไว้ใต้ใบผัก เวลาตกใจจะดีดตัวลงจากใบ โดยมีใยห้อยลงไป ผักที่ชอบคือผักคะน้า ผักกาด

เขตการแพร่กระจาย : กาญจนบุรี เลย แพร่ น่าน เชียงใหม่ นครราชสีมา

วงศ์ Psychidae ผีเสื้อหนอนปลอก (bagworm moth)

วงศ์นี้พบอาศัยอยู่ทั่วไป ตัวหนอนทำปลอกหุ้มตัวด้วยเศษพืชต่างๆ นับตั้งแต่เริ่มฟักออกจากไข่ จะค่อยๆ ขยายขนาดของปลอกหุ้ม เมื่อเติบโตขึ้นมาผีเสื้อตัวเมียไม่มีปีก และไม่กินอาหาร อาศัยอยู่ภายในปลอกที่ห่อหุ้มตัว ผีเสื้อตัวผู้จะตามกลิ่นมาผสมพันธุ์กับตัวเมีย ไข่จะยังคงอยู่ในตัวแม่ที่ตายแล้ว จนฟักออกเป็นตัว จึงออกจากซากตัวแม่ชนิดที่สำคัญในประเทศไทย มีหนอนปลอกมะพร้าว

เขตการแพร่กระจาย : จันทบุรี เพชรบูรณ์ เลย ตาก ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร นครศรีธรรมราช ระนอง ตรัง

วงศ์ Pyralidae ได้แก่ ผีเสื้อหนอนเจาะลำต้น ผีเสื้อหนอนกอ (snout moth, pyralid moth)

เป็นผีเสื้อกลางคืนวงศ์ใหญ่เป็นที่สามของอันดับผีเสื้อ ประกอบด้วยผีเสื้อขนาดเล็กเป็นส่วนใหญ่ ลำตัวค่อนข้างบอบบาง หัวเห็นได้ชัด มักมีตาเดี่ยว หนวดแบบ filiform ปีกหน้ายาวเป็นรูปค่อนไปทางสามเหลี่ยม แมลงในวงศ์นี้มีความสำคัญทางเศรษฐกิจอย่างสูง มีหลายชนิดที่ตัวหนอนเจาะเข้าไปอาศัยอยู่ในลำต้น ข้าว ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ฯลฯ ก่อความเสียหายให้อย่างกว้างขวาง ที่สำคัญก็มีผีเสื้อหนอนเจาะลำต้นข้าวโพด หนอนกอสีครีม และหนอนกอสีม่วง

เขตการแพร่กระจาย : กาญจนบุรี จันทบุรี ระยอง สระบุรี เพชรบูรณ์ พิษณุโลก ชัยภูมิ เลย ตาก แพร่ น่าน เชียงใหม่ นครราชสีมา ร้อยเอ็ด มหาสารคาม สกลนคร ศรีสะเกษ ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช ระนอง ตรัง

วงศ์ Saturnidae ได้แก่ ผีเสื้อยักษ์ (giant silk worm moth)

เป็นผีเสื้อกลางคืนที่มีขนาดใหญ่ที่สุด โดยมากมีสีฉูดฉาด และมีลายเป็นวงคล้ายตาอยู่ตรงกลางปีก ลำตัวป้อม มีขนคลุมเต็ม หนวดเป็นแบบ bipectinate ตัวผู้เห็นได้ชัดเจนมากกว่าในตัวเมีย

ปากไม่เจริญ ตัวเต็มวัยไม่กินอาหาร ปีกใหญ่แข็งแรง ตัวหนอนมีขนาดโตโดยมากมีหนามหรือปุ่มขนาดต่างๆ ยื่นออกมาจากลำตัว แมลงในวงศ์นี้ 2 - 3 ชนิดนิยมเลี้ยงกันเพื่อใช้เส้นไหม ซึ่งจะได้ไหมเส้นหยาบขรุขระทอเป็นเสื้อผ้าที่ใช้ได้ทนทานกว่าไหมธรรมดา เช่น ไหมอีไร (Erisilk) มีบางชนิดเป็นศัตรูพืช เช่น พวกที่กินฝรั่ง กระท้อน ละหุ่ง อบเชย ชา และไม้ป่าต่างๆ แต่โดยทั่วๆไปจัดว่าไม่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ

เขตการแพร่กระจาย : จันทบุรี เพชรบูรณ์ พิษณุโลก เลย ตาก แพร่ น่าน เชียงใหม่ สกลนคร นครศรีธรรมราช

วงศ์ Sphingidae ได้แก่ ผีเสื้อจรวด ผีเสื้อสฟิงค์ (hawk moth, spinxed, hornworm)

เป็นผีเสื้อกลางคืนที่มีรูปร่างของลำตัว ปีก และหนวดเป็นแบบเฉพาะตัว คือ ลำตัวอ้วนและเรียวแหลมไปทางท้ายคล้ายรูปกระสวย ปีกยาวแคบ และมีมุมปีกหน้าแหลม ปีกหลังเล็กสั้นกว่าปีกหน้ามาก เมื่อซ้อนกันกับปีกหน้าจะมีรูปเป็นสามเหลี่ยม หนวดเป็น pectinate ที่รวมตัวกันแน่นหนาที่ตรงกลางหรืออาจจะไปถึงปลาย บางชนิดตอนปลายหนวดอาจงอเป็นตะขอ ปากยาวมากม้วนอยู่ใต้ส่วนหัว ตัวหนอนมักเรียกว่าตัวแก้ว ไม่มีขนให้เห็นชัด มีเขาลักษณะคล้ายหนามเป็นจงอยอยู่ที่ส่วนท้องปล้องที่ 8 เห็นได้ชัดเจน แมลงในวงศ์นี้บินได้เก่ง รวดเร็ว และบินได้เป็นทางไกลๆ บางชนิดหากินตอนกลางวัน แต่ส่วนใหญ่หากินตอนกลางคืน เป็นแมลงช่วยผสมเกสรที่ดี แต่ตัวหนอนเป็นศัตรูสำคัญของพืชหลายชนิด เช่น มะเขือเทศ ยาสูบ มันเทศ กาแฟ บางชนิดก็เป็นศัตรูสำคัญของไม้ดอกไม้ประดับ เช่น ต้นยี่โถ และต้นแสงจันทร์ การทำลายก็โดยกัดกินใบ

เขตการแพร่กระจาย : กาญจนบุรี จันทบุรี ระยอง สระบุรี เพชรบูรณ์ พิษณุโลก ชัยภูมิ เลย ตาก แพร่ น่าน เชียงใหม่ นครราชสีมา ร้อยเอ็ด มหาสารคาม สกลนคร ศรีสะเกษ ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช ระนอง ตรัง

วงศ์ Yponomeutidae ผีเสื้อลายจุด

ผีเสื้อขนาดเล็กถึงขนาดกลาง บริเวณหัวดูเรียบกว่าผีเสื้อวงศ์อื่นๆ ปีกสีสวย หรือสีเทาอ่อน บางชนิดปลายปีกคู่หน้ามีลักษณะคล้ายขอ แต่ส่วนมากปลายปีกมน หนอนมักอาศัยอยู่เป็นกลุ่มในรังที่ทำด้วยใยเหนียว บางชนิดเป็นหนอนชอนใบ บางชนิดเจาะผลไม้ บางชนิดเจาะอยู่ใต้ผิวต้นไม้แล้วสร้างรังและเข้าดักแด้อยู่ภายใน จนกว่าจะออกเป็นตัวเต็มวัย

เขตการแพร่กระจาย : เพชรบูรณ์ พิษณุโลก

วงศ์ Tortricidae ผีเสื้อหนอนม้วนใบ (leaf roller, tortricid, codling moth)

ผีเสื้อวงศ์นี้พบแพร่กระจายทั่วโลก ปีกกว้างไม่เกิน ๑ นิ้ว ปลายปีกตัดตรงหรือโค้ง เวลาเกาะหุบปีกดูคล้ายรูประฆังคว่ำ หนอนในผีเสื้อวงศ์นี้กินใบพืชหลายชนิด โดยจะใช้ใยยึดใบมาประกบ หรือม้วนเข้าหากัน ชนิดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ คือ หนอนม้วนใบส้ม

เขตการแพร่กระจาย : ระยอง เพชรบูรณ์ พิษณุโลก ชัยภูมิ ตาก แพร่ น่าน เชียงใหม่

วงศ์ Zygaenidae ผีเสื้อหนอนมะไฟ

เป็นผีเสื้อกลางคืนที่ออกหากินในเวลากลางวัน บางชนิดมีรูปร่างลักษณะคล้ายผีเสื้อวงศ์ Danaidae ต่างกันที่หนวดหนวดเป็น pectinate ส่วนมากมีสีสันสดใส ขณะเกาะมักหุบปีกเป็นรูปสามเหลี่ยม หนอนมักอาศัยกัดกินพืชรวมกันเป็นกลุ่ม โดยเรียงเป็นแถวอย่างเป็นระเบียบ หนอนมีขนพิษเล็กสั้นรอบลำตัว สัมผัสโดนทำให้รู้สึกปวดแสบปวดร้อน พบว่าเป็นศัตรูของไม้ผล ชนิดที่สำคัญได้แก่ หนอนกินใบมะไฟ

เขตการแพร่กระจาย : เชียงใหม่ ร้อยเอ็ด ศรีสะเกษ นครศรีธรรมราช ตรัง

วงศ์ Uranidae ผีเสื้อหางยาว

เป็นผีเสื้อขนาดกลาง ปีกกว้าง สีสวยงามมาก ลำตัวค่อนข้างบอบบาง ส่วนมากมีหางแหลมที่ปีกคู่หลัง มักออกหากินในเวลากลางวัน พวกที่ออกหากินกลางคืนจะมีสีออกเทา ขณะเกาะมักห้อยหัวลง บางชนิดจึงได้ชื่อว่าผีเสื้อค้างคาว ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์

เขตการแพร่กระจาย : เลย ตาก แพร่ น่าน เชียงใหม่ นครศรีธรรมราช

3. การเก็บ-รักษาเพลี้ยไฟ มีวิธีการสำรวจ คือ ตัวอ่อนและตัวเต็มวัย ใช้พู่กันเขี่ยเพลี้ยไฟแต่ละตัวลงในขวด ที่บรรจุน้ำยา AGA หรือโดยวิธีเขย่าส่วนของพืชให้เพลี้ยไฟตกลงกระดาษที่รองรับ (ภาพที่ 2จ) แล้วใช้ใช้พู่กันเขี่ยลงในน้ำยา AGA จากนั้นนำตัวอย่างเพลี้ยไฟไปทำสไลด์ถาวร(ภาพที่ 2ฉ)

อันดับเพลี้ยไฟ (Thysanoptera) (ภาพที่ 3จ,ฉ)

เพลี้ยไฟเป็นแมลงขนาดเล็ก ลำตัวยาว 0.5 - 2.0 มิลิเมตร สีเหลืองนวล เหลืองปนน้ำตาล น้ำตาลเข้ม และสีดำ ตารวมส่วนใหญ่มีสีดำ น้ำตาลเหลือง ตาเดี่ยวปกติมักมี 3 ตา มีสีแดง สีเทา พวกที่ไม่มีปีกจะไม่มีตาเดี่ยว หนวดมีจำนวน 6 - 10 ปล้อง บริเวณปล้องท้องที่ 3 และ 4 มีอวัยวะรับความรู้สึกแตกต่างกันตามแต่ชนิดของเพลี้ยไฟ มีปากแบบเขี่ยดูด (resping-sugking type) ที่มีกรามข้างซ้ายเพียงข้างเดียว อกปล้องแรกขนาดใหญ่และมีขนที่มีขนาดแตกต่างกันบริเวณขอบปล้อง บางชนิดมีขนกระจายทั่วทั้งปล้อง ในเพลี้ยไฟหลายชนิด อกปล้องแรกจะมีลวดลายคล้ายรอยแกะสลักหรือแบบร่างแห อกปล้องกลางและปล้องสุดท้ายมักจะรวมกัน ขาคู่หน้าจะเรียวยาว บางครั้งมีการดัดแปลงส่วนของต้นขา (femur) ให้ขยายใหญ่ ไว้ใช้ในการจับ โดยทั่วไปเพลี้ยไฟมีช่วงปลายขา (tarsi) 1-2 ปล้อง ปล้องสุดท้ายโป่งออก เป็นกระเปาะคล้ายถุงลมเพื่อใช้ยึดเกาะได้ดีขึ้น เพลี้ยไฟมีทั้งชนิดมีปีกและไม่มีปีก บางชนิดปีกสั้น ปีกมีลักษณะเป็นแผ่นบางใส ไม่มีเส้นปีก มีขนยาว (fringe) รอบขอบปีก แบนราบขนานกันบนสันหลัง (Terebrantia) หรือสามารถซ้อนบนลำตัวได้ (Tubulifera) ส่วนท้องจะมีลักษณะเรียวยาว มีจำนวนปล้อง 10 ปล้อง พวก Terebrantia ปล้องท้องปล้องที่ 10 เป็นรูปกรวยปลายแหลม มีอวัยวะวางไข่ (ovipositor) ลักษณะคล้ายฟันเลื่อย ส่วน Tubulifera ปลายส่วนท้องมีลักษณะเป็นรูปท่อ อวัยวะวางไข่คล้ายรางน้ำและหดเข้าไปภายในส่วนท้อง จากการศึกษาครั้งนี้รวบรวมตัวอย่างเพลี้ยไฟได้ 3,558 ตัวอย่าง นำไปจำแนกตามวิธีทางอนุกรมวิธานแมลง โดยใช้แนว

ทางการวินิจฉัยซึ่งปรับปรุงมาจาก สุธรรม (2510); Borror (2005) และ ศิริณี (2544) ได้ 1 วงศ์ โดยมีรายละเอียด ดังนี้

วงศ์ Thripidae

เพลี้ยไฟวงศ์นี้มีประมาณ 260 สกุล 1,700 ชนิด พบได้ในยอดอ่อน ใบอ่อน ตาดอก ผลอ่อน ฯลฯ ทั้งในไม้ดอก ไม้ประดับ ไม้ผล ตลอดจนพืชไร่อื่นๆ มีบางชนิดเป็นตัวห้ำ อวัยวะวางไข่มีลักษณะคล้ายฟันเลื่อย โค้งออกจากส่วนท้อง จำนวนปล้องหนวดน้อยกว่า 9 ปล้อง ประกอบด้วย 2 วงศ์ ย่อยที่รู้จักกันดี คือ Panchaetothripinae ซึ่งหัว อกปล้องแรก และขา มีลวดลายคล้ายรอยแกะสลักเป็นร่างแห ส่วน Thripinae ไม่มีลักษณะดังกล่าว

เขตการแพร่กระจาย : พบได้ทั่วทุกภาคของประเทศไทย

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการศึกษาครั้งนี้ ได้วิธีการเก็บ-รักษาตัวอย่างด้วง ผีเสื้อ และ เพลี้ยไฟ เพื่อให้ตัวอย่างอยู่ในสภาพที่สมบูรณ์ เก็บ-รักษาในพิพิธภัณฑ์ แตกต่างกัน ดังนี้

วิธีการเก็บ-รักษาตัวอย่างด้วงที่เหมาะสม 2 วิธี คือ สำรวจจากพื้นที่ต่างๆ ในสภาพธรรมชาติเพื่อเก็บด้วงที่ออกหากินในช่วงเวลากลางวันโดยใช้สวิงจับแมลงโฉบบริเวณที่มีด้วงอาศัยอยู่ และวิธีการใช้กับดักแสงไฟเพื่อดึงดูดด้วงที่ออกหากินในเวลากลางคืน ตัวหนอนด้วงเก็บรักษาในแอลกอฮอล์ 80% ตัวเต็มวัยขนาดใหญ่ฆ่าในขวดฆ่า นำจัดรูปร่างบนไม้จัดรูปร่างตัวอย่างแมลง (setting board) โดยใช้เข็มไร้สนิมปักที่มุมด้านหน้าของปีกขวา จัดขาทั้ง 3 คู่ให้อยู่ในลักษณะเกาะหรือเดิน ตัวเต็มวัยขนาดเล็กติดบนกระดาษแข็งรูปสามเหลี่ยมขนาดเล็กนำไปอบให้แห้งในตู้อบตัวอย่างแมลง ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 30-60 วัน ขึ้นอยู่กับขนาดลำตัว รวบรวมอย่างด้วงได้ 556 ตัวอย่าง นำไปจำแนกตามวิธีทางอนุกรมวิธานแมลงได้ 15 วงศ์ ได้แก่ วงศ์ Buprestidae 44 ตัวอย่าง วงศ์ Elateridae 94 ตัวอย่าง วงศ์ Scarabaeidae 179 ตัวอย่าง วงศ์ Cerambycidae 46 ตัวอย่าง วงศ์ Curculionidae 12 ตัวอย่าง วงศ์ Carabidae 40 ตัวอย่าง วงศ์ Cicindelidae 5 ตัวอย่าง วงศ์ Lucanidae 17 ตัวอย่าง วงศ์ Chrysomelidae 49 ตัวอย่าง วงศ์ Dytiscidae 2 ตัวอย่าง วงศ์ Lampyridae 34 ตัวอย่าง วงศ์ Hydrophilidae 2 ตัวอย่าง วงศ์ Tenebrionidae 1 ตัวอย่าง วงศ์ Coccinellidae 18 ตัวอย่าง วงศ์ Meloidae 13 ตัวอย่าง

วิธีการเก็บ-รักษาตัวอย่างผีเสื้อ มีวิธีการสำรวจ 2 วิธี คือใช้สวิงจับแมลงโฉบ เพื่อเก็บผีเสื้อออกหากินในช่วงเวลากลางวัน ฆ่าโดยวิธีบีบอก ผีเสื้อที่ตายแล้วใส่ซองกระดาษสามเหลี่ยม ใช้กับดักแสงไฟเพื่อดึงดูดผีเสื้อที่ออกหากินในเวลากลางคืน ผีเสื้อขนาดใหญ่ฆ่าโดยใช้เข็มฉีดน้ำยา ethyl acetate ที่บริเวณอกด้านล่าง ผีเสื้อขนาดเล็กฆ่าในขวดฆ่า นำไปจัดรูปร่างบนไม้จัดรูปร่างตัวอย่างแมลง โดยใช้เข็มไร้สนิมปักบริเวณกลางอก จัดปีกให้กางออกโดยให้ขอบล่างของปีกคู่หน้าตั้งฉากกับลำตัว ขอบบนของปีกคู่หลังอยู่ใต้ขอบล่างของปีกคู่หน้า ตัวอย่างที่จัดรูปร่างแล้วอบให้แห้งในตู้อบแมลง

ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 15 - 30 วัน รวบรวมอย่างผีเสื้อได้ 2,728 ตัวอย่าง จำแนกในระดับวงศ์ได้ 28 วงศ์ ได้แก่ Danaidae 61 ตัวอย่าง วงศ์ Lycaenidae 13 ตัวอย่าง วงศ์ Nymphalidae 73 ตัวอย่าง วงศ์ Papilionidae 171 ตัวอย่าง วงศ์ Pieridae 19 ตัวอย่าง วงศ์ วงศ์ Hesperiidae 6 ตัวอย่าง วงศ์ Amatidae 64 ตัวอย่าง วงศ์ Arctiidae 93 ตัวอย่าง วงศ์ Bombycidae 19 ตัวอย่าง วงศ์ Brahmaeidae 2 ตัวอย่าง วงศ์ Cossidae 12 ตัวอย่าง วงศ์ Drapanidae 10 ตัวอย่าง วงศ์ Euterotidae 13 ตัวอย่าง วงศ์ Geometridae 351 ตัวอย่าง วงศ์ Lasiocampidae 32 ตัวอย่าง วงศ์ Limacodidae 33 ตัวอย่าง วงศ์ Lymantriidae 80 ตัวอย่าง วงศ์ Noctuidae 727 ตัวอย่าง วงศ์ Notodontidae 79 ตัวอย่าง วงศ์ Plutellidae 7 ตัวอย่าง วงศ์ Psychidae 16 ตัวอย่าง วงศ์ Pyralidae 454 ตัวอย่าง วงศ์ Saturnidae 42 ตัวอย่าง วงศ์ Sphingidae 278 ตัวอย่าง วงศ์ Yponomeutidae 2 ตัวอย่าง วงศ์ Tortricidae 23 ตัวอย่าง วงศ์ Zygaenidae 16 ตัวอย่าง วงศ์ Uranidae 17 ตัวอย่าง

วิธีการเก็บ-รักษาตัวอย่าง เพลี้ยไฟมีวิธีการสำรวจ คือ ตัวอ่อนและตัวเต็มวัย ใช้พู่กันเขี่ยเพลี้ยไฟแต่ละตัวลงในขวด ที่บรรจุน้ำยา AGA หรือโดยวิธีเขย่าส่วนของพืชให้เพลี้ยไฟตกลงกระดาษที่รองรับแล้วใช้ใช้พู่กันเขี่ยลงในน้ำยา AGA จากนั้นนำตัวอย่างเพลี้ยไฟไปทำสไลด์ถาวร ส่วนเพลี้ยไฟเก็บรวบรวมได้ทั้งหมด 3,558 ตัวอย่าง ซึ่งทั้งหมดเป็นเพลี้ยไฟในวงศ์ Thripidae

เอกสารอ้างอิง

โกศล เจริญสม และ วิวัฒน์ เสือสะอาด. 2538. ศัตรูธรรมชาติของแมลงศัตรูพืชในประเทศไทย. เอกสารพิเศษ ฉบับที่ 6 ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์และสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, กรุงเทพฯ. 114 น.

พรทิพย์ วิสารทานนท์ และคณะ 2548. แมลงที่พบในผลิตผลเกษตรและการป้องกันกำจัด. กลุ่มวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 150 น.

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

ศิริณี พูนไชยศรี. 2547. การเก็บตัวอย่างแมลงเพื่อการศึกษาวิจัย. กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด, กรุงเทพฯ. 32 หน้า

องุ่น ลิ่ววานิช. 2540. การอนุรักษ์แมลงในประเทศไทย. ว.กีฏและสัตววิทยา. 19(2): 89 – 94.

องุ่น ลิ่ววานิช. 2543. แมลงอนุรักษ์. เอกสารแผ่นพับ. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. พิมพ์ครั้งที่ 2.

สุธรรม อารีกุล. 2510. บทปฏิบัติการกีฏวิทยาเบื้องต้น. ภาควิชากีฏวิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, บางเขน, กรุงเทพฯ. 424 หน้า

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

Borror, D.J. and D.M. Delong. 2005. Introduction to the Study of Insects. The United States of America. 864 p.

Inoue,H., S.Sugi, H.Kuroko, S.Moriuti and A.Kawabe. 1982. Moth of Japan. The Kyodo Printing Co. Ltd. Tokyo. 552 p.

Piratana A. & J.M. Maes. 1999. Lucanidae of Thailand. Brothers of St. Gabriel in Thailand. 103 p.

White, R.E.1983. A Field Guide to the Beetle of North Ameroca. Houghtio Mifflin Company, Boston New York. 368 p.

Zimmerman, E.C. 1994. Australian Weevils (Coleoptera: Curculionidae). Brown Prior Anderson.

ก.

ข.

ค.

ง.

จ.

ฉ.

ภาพที่ 1 การเก็บรักษาตัวอย่างด้วง ผีเสื้อ เพลี้ยไฟ

ก. การใช้สวิงจับแมลงที่ออกหากินกลางวัน (ผีเสื้อ ด้วง)

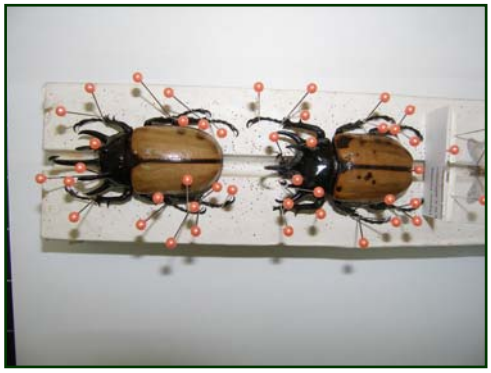
ข. การใช้กับดักแสงไฟจับแมลงที่ออกหากินกลางคืน (ผีเสื้อ ด้วง)

ค. ตัวอ่อนแมลงเก็บรักษาในแอลกอฮอล์ 80 %

ง. ตัวเต็มวัยด้วง ผีเสื้อ ฆ่าในขวดฆ่าขนาดใหญ่

จ. ผีเสื้อกลางวัน ฆ่าโดยวิธีบีบอก

ฉ. ผีเสื้อกลางคืนขนาดใหญ่ฆ่าโดยฉีด ethyl acetate



ก.

ข.

ค.

ง.

จ.

ฉ.

ภาพที่ 2 การเก็บรักษาตัวอย่างด้วง ผีเสื้อ เพลี้ยไฟ

ก. การจัดรูปร่างด้วง

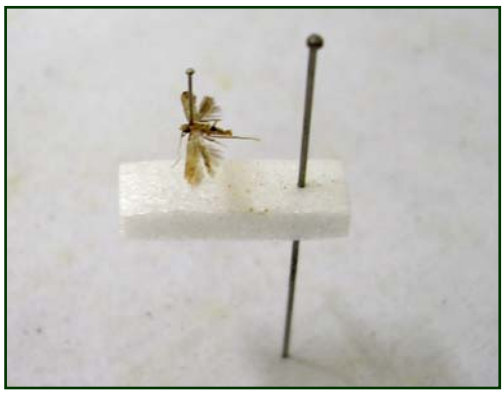
ข. การจัดรูปร่างผีเสื้อ

ค. การอบแมลงในตู้อบ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

ง. การเก็บ-รักษาตัวอย่างแมลงในพิพิธภัณฑ์

จ. การเก็บตัวอย่างเพลี้ยไฟ

ฉ. การเก็บ-รักษาตัวอย่างเพลี้ยไฟในพิพิธภัณฑ์



ก.

ข.

ค.

ง.

ก.

ข.

ภาพที่ 3 การเก็บรักษาตัวอย่างด้วง ผีเสื้อ เพลี้ยไฟ

ก. ผีเสื้อขนาดเล็ก

ข. ผีเสื้อขนาดใหญ่

ค. ด้วงขนาดเล็ก

ง. ด้วงขนาดใหญ่

จ. เพลี้ยไฟบนแผ่นสไลด์

ฉ. เพลี้ยไฟ

ศึกษาวัสดุคลุมดินที่มีผลต่อการควบคุมวัชพืชในกวาวเครือขาว

Effect of mulching materials on weed control in *Pueraria candollei* Wall.ex Benth. var. mirifica (Airy Shaw and Suvatabandhu) Niyomdham.

เพ็ญศรี นันทสมสราญ[1/] จรัญ ดิษฐไชยวงค์[2/]
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช [1/] ศูนย์วิจัยพัฒนาการเกษตรจังหวัดพิจิตร[2/]

บทคัดย่อ

ศึกษาวัสดุคลุมดินเพื่อกำจัดวัชพืชในกวาวเครือขาวปี พ.ศ. 2552-2553 ณ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร จ.พิจิตร วางแผนการทดลองแบบ Randomized complete block design จำนวน 5 ซ้ำ ประกอบด้วย 4 กรรมวิธี คือ คลุมแปลงด้วยพลาสติกสีดำเทา คลุมแปลงด้วยแผ่นชีวมวล กำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน และไม่มีการกำจัดวัชพืช วัชพืชในแปลงปลูกพืชสมุนไพรกวาวเครือขาวพบทั้งหมด 30 ชนิดแบ่งออกเป็น 4 ประเภทคือ ประเภทใบแคบ 8 ชนิด ประเภทใบกว้าง 20 ชนิด ประเภทกก 1 ชนิด และประเภทเฟิน 1 ชนิดที่สำคัญได้แก่ หญ้าตีนติด (*Brachiaria reptans* L.) หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colona* (L.) Link) ผักปราบนา(*Commelina diffusa* Burm.f.) สาบเสือ (*Eupatorium odoratum* L.) แห้วหมู (*Cyperus rotundus* L.) ทั้งสองปีพบว่าเส้นรอบวงของต้นกวาวเครือขาวไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ส่วนน้ำหนักแห้งวัชพืชในแปลงที่กำจัดด้วยแรงงาน มีน้อยที่สุด แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับพลาสติกสีดำเทา และแผ่นชีวมวล ทั้ง 3 กรรมวิธีมีความแตกต่างทางสถิติกับวิธีไม่กำจัดวัชพืช ซึ่งมีน้ำหนักวัชพืชมากที่สุด ดังนั้นการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานให้ผลดีที่สุด

---

[i] **รหัสการทดลอง 0112490503010152**

คำนำ

วัชพืชในพืชเศรษฐกิจมีผลทำให้ผลผลิตลดลง รวมทั้งการปลูกพืชสมุนไพรในเชิงพาณิชย์ เกษตรกรต้องพบกับปัญหาของวัชพืชอยู่เป็นประจำ โดยมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องขึ้นอยู่กับ ชนิดของพืชปลูก วิธีการปลูกพืช ชนิดของวัชพืช ความหนาแน่นของวัชพืช ชนิดของดิน ปริมาณน้ำและความชื้น สภาพนิเวศน์ของพืชปลูก และสภาพภูมิอากาศ (Smith,1983) วัชพืชมีผลต่อทั้งปริมาณและคุณภาพของผลผลิต นอกจากนี้ วัชพืชทำให้การปฏิบัติงานไม่สะดวก

ในพืชเศรษฐกิจผลผลิตสูญเสียถ้าไม่มีการกำจัดวัชพืช แต่การกำจัดวัชพืชไม่จำเป็นต้องทำตลอดฤดูปลูก ควรทำในช่วงเวลา 1 ใน 4 ถึง 1 ใน 3 ของอายุพืชปลูก (Moody, 1983) ดังนั้นจึงต้องปฏิบัติด้วยวิธีการต่างๆที่จะลดความสูญเสียของผลผลิตอันเนื่องมาจากวัชพืช ในการเพิ่มผลผลิตจะไม่ประสบความสำเร็จ ถ้าปราศจากการควบคุมวัชพืชที่ดี (Moody, 1991) อย่างไรก็ตามการศึกษาการควบคุมวัชพืชในพืชสมุนไพรยังมีน้อยมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกวาวเครือขาว กรมวิชาการเกษตรได้มีการศึกษาเบื้องต้นมาบ้างแล้ว

กวาวเครือขาว มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Pueraria candollei* Wall.ex Benth. var. mirifica (Airy Shaw and Suvatabandhu) Niyomdham (ราชบัณฑิตยสถาน,2546) กวาวเครือขาวเป็นพืชในวงศ์ถั่ว(Leguminosae) เป็นไม้เถาเลื้อย ขนาดใหญ่ เนื้อแข็ง ผลัดใบ ก้านใบหนึ่งมีใบย่อย 3 ใบ เรียงสลับกัน เนื้อใบด้านบนเกลี้ยง ด้านล่างมีขนสั้นประปราย ดอกออกเพียงปีละครั้งประมาณเดือนธันวาคมถึงเมษายน ดอกลักษณะเป็นช่อเดี่ยว ช่อดอกยาวประมาณ 30 เซนติเมตร ดอกมีสีม่วงเข้ม สีม่วงอ่อนจนขาว ฝักเล็กแบนบางคล้ายฝักถั่ว มีเมล็ด 3-5 เมล็ดต่อฝัก มีหัวใต้ดินคล้ายหัวมันแกว หัวมีรูปทรงค่อนข้างกลมไม่แน่นอน หัวคอดเป็นตอนๆต่อเนื่องกัน ผิวหัวมีทั้งเรียบ และเป็นคลื่น หัวมีขนาดเล็กใหญ่แตกต่างกันมาก หัวขนาดเล็กหนัก 300 กรัม หัวขนาดใหญ่หนักถึง 70 กิโลกรัม (เสงี่ยม, 2522) พบมากในพื้นที่ป่าเบญจพรรณทางภาคเหนือ ภาคตะวันตก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ บนพื้นที่สูงและบริเวณภูเขาหินปูนตามที่ลาดชัน และที่มีความสูงจากระดับน้ำทะเล 250-800 เมตร (ยุทธนา ,2541)

กวาวเครือขาวเป็นพืชสมุนไพรที่เป็น 1 ใน 12 ชนิดที่รัฐบาลได้มีนโยบายในแผนยุทธศาสตร์ของชาติที่จะรองรับงานวิจัยพืชสมุนไพรไทยและความต้องการส่งเสริมการใช้สมุนไพรอย่างถูกต้องและแพร่ หลายมากยิ่งขึ้น โดยมีแผนยุทธศาสตร์การพัฒนาอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์สมุนไพร มีแผนระยะเวลา 5 ปี (พ.ศ. 2548-2552) โดยกำหนดเป้าหมายของสมุนไพรเริ่มตั้งแต่วัตถุดิบที่มีคุณภาพ มีสารสำคัญค่อนข้างสม่ำเสมอ การศึกษาเริ่มตั้งแต่เรื่องพันธุ์ การขยายพันธุ์ วิธีการเพาะปลูก การอารักขาพืช การเก็บเกี่ยวและวิทยาการหลังเก็บเกี่ยวที่เหมาะสม เพื่อนำมาจัดทำเป็นหลักเกณฑ์เกษตรดีที่เหมาะสม (Good Agricultural Practice หรือ GAP) หลักเกณฑ์การเก็บเกี่ยวทีดี (Good Harvesting Practice หรือ GHP) การปลูกกวาวเครือขาว ใช้ต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเมล็ดในถุงดำ หลังจากต้นกล้าอายุได้ 2 เดือน จึงนำไปปลูกในแปลงที่เตรียมไว้ โดยปลูกในที่โล่งแจ้งหรือมี

ร่มเงาก็ได้ ควรใส่ปุ๋ยคอก 1-3 ตันต่อไร่ โดยขึ้นอยู่กับความอุดมสมบูรณ์ของดิน ปลูกแบบยกร่องหรือพื้นราบก็ได้ ดินที่ปลูกควรเป็นดินร่วนหรือดินร่วนปนทราย มีการระบายน้ำดี ปลูกระยะระหว่างต้นและแถวเท่ากับ 2 X 2 เมตร ขุดหลุมลึกประมาณ 20 X 20 เซนติเมตร ปลูก 1 ต้นต่อ 1 หลุม รดน้ำตามความจำเป็น การปลูกจะใช้ค้างหรือไม่ใช้ค้างก็ได้ ถ้าไม่ใช้ค้างจะประหยัดเรื่องการกำจัดวัชพืช เพราะกวาวเครือขาวจะเจริญคลุมแปลงปลูกหมด แต่ถ้าใช้ค้างกวาวเครือขาว จะเจริญเติบโตไปตามค้างของแต่ละต้น การปฏิบัติต่างๆในแปลงปลูก เช่นใส่ปุ๋ย พรวนดิน จะทำได้ง่ายกว่าไม่ใช้ค้าง (สมพิศ และเพ็ญศรี, 2548) อย่างไรก็ตามกวาวเครือขาวเป็นพืชสมุนไพรที่เก็บมาจากป่า การนำมาปลูกในเชิงพาณิชย์ เพื่อใช้ประโยชน์อย่างจริงจัง จึงต้องมีการศึกษาทางด้านการเกษตรถึงปัจจัยในด้านต่างๆ ตั้งแต่การจำแนกพันธุ์ การศึกษาทางด้านสรีรวิทยา ทางด้านธาตุอาหารและการใช้ปุ๋ยที่เหมาะสม รวมทั้งการป้องกันกำจัดศัตรูพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งทางด้านการควบคุมวัชพืช เมื่อปลูกในปริมาณมากๆ รวมทั้งวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว และการแปรรูปผลิตภัณฑ์ในเบื้องต้น (สิริพันธุ์ และจรัญ ,2548)

กวาวเครือขาวมีประโยชน์หลายด้าน ทั้งในรูปของยา อาหารเสริมสุขภาพ และเครื่องสำอาง (นันทวัน และอรนุช, 2539) กวาวเครือขาวเป็นพืชที่มีสาร myroestrogen ที่เป็นสารออกฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนที่สำคัญในสตรีเพศ (เฉลิมพล,2541) myroestrol เป็นสารธรรมชาติที่ผลิตขึ้นมาจากพืชซึ่งมีลักษณะคล้ายฮอร์โมนในเพศหญิง (Cain, 1960) กวาวเครือขาวเป็นพืชป่าที่จะพัฒนามาใช้ในเชิงการค้า ดังนั้นการนำกวาวเครือขาวมาใช้อย่างต่อเนื่องจะทำให้หมดไปจากป่าได้ การขยายพันธุ์ของกวาวเครือขาว ยังเป็นพืชที่ต้องหาวิธีการที่เหมาะสม (สมโภชน์, 2544) การใช้เมล็ดเพาะให้งอกยังต้องมีการศึกษา และใช้เวลานานไม่ต่ำกว่าสองปีที่จะเก็บเกี่ยวและให้ผลผลิต (อรดี,2541) อย่างไรก็ตาม สมพร และคณะ(2546) ได้รายงานถึงวิธีการเพาะเมล็ดให้มีความงอกสูงกว่าการเพาะปกติคือ นำเมล็ดไปแช่น้ำนาน 15 ชั่วโมง แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 15 ชั่วโมง หรือตากแดดนาน 3 ชั่วโมง และการเพาะเมล็ดในช่วงเดือนมิถุนายน จะให้ความงอกสูงสุด การปลูกกวาวเครือขาวให้เป็นพืชปลูกเศรษฐกิจ หรือปลูกในพื้นที่ขนาดใหญ่ ต้องมีการจัดการที่ดีและเหมาะสม โดยเฉพาะการจัดการวัชพืช เพื่อไม่ให้วัชพืชลดผลผลิต และปฏิบัติงานได้สะดวก จึงต้องศึกษาหาแนวทางในการควบคุมวัชพืช ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการทดลองนี้ เพื่อตรวจสอบชนิดวัชพืชที่สำคัญ และวิธีการกำจัดวัชพืชโดยใช้วัสดุต่าง ๆในกวาวเครือขาว

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ต้นพันธุ์กวาวเครือขาว
2. วัสดุคลุมแปลง ได้แก่ แผ่นชีวมวล พลาสติกสีดำเทา
3. กรอบสี่เหลี่ยมขนาด 50X50 เซนติเมตร

4. สายวัดเส้นรอบวง

วิธีการ

การทดลองศึกษาวัสดุคลุมดินที่มีผลต่อการควบคุมวัชพืชในกวาวเครือขาว วางแผนการทดลองแบบ Randomized complete block design จำนวน 5 ซ้ำ ประกอบด้วย 4 กรรมวิธี ดังนี้

1. คลุมแปลงด้วยพลาสติกสีดำเทา
2. คลุมแปลงด้วยแผ่นชีวมวล
3. กำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน
4. ไม่มีการกำจัดวัชพืช

การทดลอง แปลงทดลองย่อยขนาด 6 X 6 เมตร ปฏิบัติการกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีที่กำหนด

เวลาและสถานที่

ดำเนินการทดลองปี พ.ศ. 2552-2553 ณ ศูนย์วิจัยพัฒนาการเกษตรจังหวัดพิจิตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองในปี 2552-53 วัชพืชในแปลงปลูกพืชสมุนไพรกวาวเครือขาว พบว่าการคลุมแปลงด้วยพลาสติกสีดำเทามีชนิดวัชพืชน้อยที่สุดคือมี 14 ชนิด การคลุมแปลงด้วยแผ่นชีวมวล การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน และไม่มีการกำจัดวัชพืช มีวัชพืชจำนวน 22, 25 และ 30 ชนิดตามลำดับ (ตารางที่ 1) วัชพืชพบทั้งหมด 30 ชนิดซึ่งแบ่งออกได้เป็น 4 ประเภทคือ ประเภทใบแคบ 8 ชนิด ประเภทใบกว้าง 20 ชนิด ประเภทกก 1 ชนิด และประเภทเฟิน 1 ชนิด โดยวัชพืชแต่ละชนิดมีชื่อวิทยาศาสตร์ และวงศ์ดังที่ปรากฏตามตารางที่ 2 วัชพืชที่สำคัญ ได้แก่ หญ้าตีนติด(*Brachiaria reptans* L.) หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colona* (L.) Link) ผักปราบนา (*Commelina diffusa* Burm.f.) สาบเสือ (*Eupatorium odoratum* L.) แห้วหมู (*Cyperus rotundus* L.) เป็นต้น

การวิเคราะห์คุณสมบัติของดินในแปลงกวาวเครือขาว ค่อนข้างเป็นกรด คือมี pH 5.32 มีความอุดมสมบูรณ์ของดินมีค่า P 32.95 ppm K มีค่า 143.75 ค่าอินทรียวัตถุ 2.95 % และเป็นดินชุด Silty Clay (ตารางที่ 3)

การจำแนกชนิดและนับจำนวนวัชพืช โดยสุ่มเก็บในพื้นที่ 1 ตารางเมตรในแต่ละแปลงย่อย นำวัชพืชทุกชนิดมารวมเป็นในแต่ละกรรมวิธี และวิเคราะห์ผลทางสถิติ ในปี 2552 พบว่าจำนวนต้นของวัชพืชไม่แตกต่างทางสถิติของทั้ง 4 กรรมวิธี แต่สิ่งที่สำคัญคือน้ำหนักของวัชพืช การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานมีน้ำหนักวัชพืชน้อยที่สุดคือ 28.76 กรัม/ตารางเมตร การคลุมแปลงด้วยพลาสติกสีดำเทามี 35.14 กรัม/ตารางเมตร การคลุมแปลงด้วยแผ่นชีวมวล มี 51.14 กรัม/ตารางเมตรส่วนวิธีไม่กำจัดวัชพืชมีน้ำหนักวัชพืชมากที่สุดคือ 66.74 กรัม/ตารางเมตร (ตารางที่ 4)

การวัดการเจริญเติบโตของกวาวเครือขาว ด้วยการวัดเส้นรอบวงโคนต้นของกวาวเครือขาว ไม่มีความแตกต่างทางสถิติในทุกกรรมวิธีที่ใช้ทดลอง (ตารางที่ 5)

ในปี 2553 การนับประชากรของวัชพืช จำนวนต้นอาจมีขนาดที่แตกต่างกัน ซึ่งพบว่าทั้ง 4 กรรมวิธีตามลำดับที่ทดลองมีจำนวนต้นไม่แตกต่างทางสถิติคือ 13.7, 10.8 15.8 และ 25.5 ต้น/ตารางเมตร ตามลำดับของกรรมวิธี ส่วนน้ำหนักแห้งของวัชพืช มีความแตกต่างทางสถิติคือมีน้ำหนักแห้ง 8.06, 5.62, 5.90 และ 16.48 กรัม/ตารางเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 6) โดยวิธีการไม่กำจัดวัชพืชมีน้ำหนักวัชพืชมากที่สุด ดังนั้นวัชพืชจึงควรมีการกำจัดให้เหมาะสม โดยสอดคล้องกับงานวิจัยการใช้วัสดุคลุมดินในมะเขือเทศ ที่ใช้พลาสติกดำเทา ได้ผลดีในการควบคุมวัชพืช ทำให้มีปริมาณวัชพืชน้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช (เพ็ญศรี และคณะ, 2547)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1.วัชพืชในแปลงกวาวเครือขาว พบจำนวน 30 ชนิด แบ่งออกเป็นประเภทคือ ประเภทใบแคบ 8 ชนิด ประเภทใบกว้าง 20 ชนิด ประเภทกก 1 ชนิด และประเภทเฟิน 1 ชนิด ที่สำคัญได้แก่ หญ้าตีนติด หญ้านกสีชมพู ผักปราบนา สาบเสือ แห้วหมู เป็นต้น

2. การวัดเส้นรอบวงของกวาวเครือขาว ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ

3. การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน ทำให้มีน้ำหนักวัชพืชน้อยที่สุด

การใช้ประโยชน์

1. วัชพืชที่เป็นปัญหาในกวาวเครือประกอบด้วยวัชพืชใบแคบ ใบกว้าง กก และเฟิน

2. วิธีการกำจัดวัชพืชที่สามารถแนะนำได้ คือการ กำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน การคลุมแปลงด้วยวัสดุคลุมดิน เช่น พลาสติกสีดำเทา

คำขอบคุณ

ผู้ทดลองขอขอบคุณ ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยพัฒนาการเกษตรจังหวัดพิจิตร ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์นักวิชาการและพื้นที่ในการดำเนินงานการทดลองจนงานสำเร็จไปด้วยความเรียบร้อย

เอกสารอ้างอิง

เฉลิมพล เกิดมณี. 2541. กวาวเครือขาว. เอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการเรื่องกวาวเครือ. กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. หน้า 32-36.

นันทวัน บุณยะประภัสร และอรนุช โชคชัยเจริญพร. 2539. สมุนไพรไม้พื้นบ้าน. บริษัทประชาชน จำกัด. 895 หน้า.

เพ็ญศรี นันทสมสราญ รักชัย คุรุบรรเจิดจิต มะนิต สารุณา และเสริมศิริ คงแสงดาว. 2547. ผลของวัสดุคลุมดินต่อการควบคุมวัชพืชในการปลูกมะเขือเทศ. ผลงานฉบับเต็มเพื่อแต่งตั้งให้

ดำรงตำแหน่งนักวิชาการเกษตร 8ว. กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. หน้า 38-53.

ยุทธนา สมิตะสิริ. 2541. ภาพรวมงานวิจัยและพัฒนากวาวเครือขาวตั้งแต่อดีตถึงปัจจุบัน ((พ.ศ.2524 -2541). เอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการเรื่องกวาวเครือ. กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. หน้า 13-26.

เสงี่ยม พงษ์บุญรอด. 2522. กวาว. ไม้เทศเมืองไทย-สรรพคุณยาเทศและยาไทย. โรงพิมพ์กรุงธน. กรุงเทพฯ. หน้า 82-84.

สิริพันธุ์ ศรีจักรวาฬ และจรัญ ดิษฐไชยวงศ์. 2548. กวาวเครือขาว-พืชมหัศจรรย์. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. 41 หน้า.

สมพิศ ไม้เรียง และเพ็ญศรี นันทสมสราญ. 2548. พืชสมุนไพร...ในแผนยุทธศาสตร์ชาติ. หนังสือพิมพ์กสิกร. ปีที่ 78 ฉบับที่ 6.หน้า 72-83.

สมพร สุริยันต์ สมสุข ศรีจักรวาฬ และปราโมทย์ เกิดศิริ. 2546. ศึกษาการงอกของเมล็ดกวาวเครือขาว. วารสารวิชาการเกษตร. ปีที่ 21 ฉบับที่ 1.หน้า 12-18.

สมโภชน์ ทับเจริญ. 2544. การขยายพันธุ์กวาวเครือด้วยวิธีการแบ่งหัวต่อต้น. หนังสือพิมพ์เดลินิวส์ วันที่ 29 กรกฎาคม 2542.

อรดี สหวัชรินทร์. 2541. แนวทางในการคัดพันธุ์ ขยายพันธุ์ และการปลูกกวาวเครือ. เอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการเรื่องกวาวเครือ. กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. หน้า 37-43.

Ampong-Nyarko,K. and S.K. De Datta, 1990. A Handbook for weed control in rice. International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines, 113 p.

Cain, J.C. 1960. Miroestrol : on estrogen from the plant *Pueraria mirifica.* Nature. 18:774-777.

Moody, K. 1983. Weed control in tropical legumes. Pages 112-146. *In*: Weed control in tropical crops. Weed Science Society of the Philippines.

Moody, K. 1991. Weed management in rice . Pages 301-328. *In*: the Handbook of Pest Management in Agriculture. 2nd D.Pimentel (ed.) CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida, USA.

Smith R.J. Jr.1983. Weeds major economic importance in riceand yield losses due to weed competition. Pages 19-36. *In:* Weed control in rice. International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines.

ตารางที่ 1 ชนิดของวัชพืชในแต่ละกรรมวิธีของแปลงกวาวเครือขาว ปี 2552-2553

พลาสติกสีดำเทา	แผ่นชีวมวล	กำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน	ไม่กำจัดวัชพืช
หญ้าตีนติด	หญ้าตีนนก	หญ้าตีนนก	หญ้าตีนนก
หญ้าดอกขาว	หญ้านกสีชมพู	หญ้านกสีชมพู	หญ้านกสีชมพู
หญ้าแพรก	หญ้าตีนติด	หญ้าตีนติด	หญ้าตีนติด
หญ้าคา	หญ้าดอกขาว	หญ้าดอกขาว	หญ้าดอกขาว
สาบเสือ	หญ้าตีนกา	หญ้าคา	หญ้าแพรก
ผักปราบนา	สาบเสือ	หญ้าไซ	หญ้าคา
ผักปราบไร่	ผักปราบนา	สาบเสือ	หญ้าตีนกา
ผักเสี้ยน	ผักปราบไร่	ผักปราบนา	หญ้าไซ
ตดหมูตดหมา	ผักเสี้ยน	ผักปราบไร่	สาบเสือ
ตีนตุ๊กแก	ตดหมูตดหมา	ผักเสี้ยน	ผักปราบนา
เซ่งใบมน	ตีนตุ๊กแก	ตดหมูตดหมา	ผักปราบไร่
ถั่วลิสงนา	ลูกใต้ใบ	ตีนตุ๊กแก	ผักเสี้ยน
จมูกปลาหลด	ผักโขม	ถั่วลิสงนา	ตดหมูตดหมา
หญ้าแห้วหมู	ผักบุ้ง	ลูกใต้ใบ	ตีนตุ๊กแก
	ผักกาดช้าง	ผักโขม	เซ่งใบมน
	กะเม็ง	ผักกาดช้าง	ถั่วลิสงนา
	หญ้าเงี่ยงป่า	กะเม็ง	ผักโขม
	กาบหอย	หญ้าเงี่ยงป่า	ผักบุ้ง
	หญ้าแห้วหมู	กาบหอย	กะเม็ง
	กกสามเหลี่ยมเล็ก	หญ้าละออง	หญ้าเงี่ยงป่า
	หญ้าตุ้มหู	ตำลึง	กาบหอย
	หญ้าลิเภา	ผักยาง	หญ้าละออง
		เทียนนา	ผักยาง
		หญ้าตุ้มหู	ไมยราบเครือ
		หญ้าแห้วหมู	น้ำนมราชสีห์
			กะทกรก
			ตำแยแมว
			เกล็ดหอย
			หญ้าลิเภา
			หญ้าแห้วหมู

ตารางที่ 2 ชื่อวิทยาศาสตร์และวงศ์ของวัชพืชที่พบในแปลงทดลองกวาวเครือขาวปี 2552-2553

ชื่อไทย	ชื่อวิทยาศาสตร์	วงศ์	ประเภท
หญ้าตีนนก	*Digitaria adscendens* Henry	Poaceae	Grass
หญ้านกสีชมพู	*Echinochloa colona* (L.) Link	Poaceae	Grass
หญ้าตีนติด	*Brachiaria reptans* L	Poaceae	Grass
หญ้าดอกขาว	*Leptochloa chinensis* Nees	Poaceae	Grass
หญ้าแพรก	*Cynodon dactylon* Pers.	Poaceae	Grass
หญ้าคา	*Imperata cylindrical* Beauv.	Poaceae	Grass
หญ้าตีนกา	*Eleusine indica* Gaertn.	Poaceae	Grass
หญ้าไซ	*Leesia hexandra* Sw.	Poaceae	Grass
สาบเสือ	*Chromolaena odorata* R.M.King	Compositae	Broadleaf
ผักปราบนา	*Commelina diffusa* Burm.f.	Commelinaceae	Broadleaf
ผักปราบไร่	*Commelina benghalensis* L.	Commelinaceae	Broadleaf
ผักเสี้ยน	*Cleome rutidosperma* D.C.	Capparidaceae	Broadleaf
ตดหมูตดหมา	*Paedaria linearis* Hook.f.	Rubiaceae	Broadleaf
ตีนตุ๊กแก	*Tridax procumbens* L.	Compositae	Broadleaf
เซ่งใบมน	*Melochia corchorifolia* L.	Sterculiaceae	Broadleaf
ถั่วลิสงนา	*Alysicarpus vaginalis* (L.)DC	Papilionaceae	Broadleaf
ผักโขม	*Amaranthus viridis* L.	Amaranthaceae	Broadleaf
ผักบุ้ง	*Ipomoea aquatica* Forsk.	Convolvulaceae	Broadleaf
กะเม็ง	*Eclipta alba* Hassk	Compositae	Broadleaf
หญ้าเงี่ยงป่า	*Lindernia ciliata* Pennell	Scrophulariaceae	Broadleaf
กาบหอย	*Lindernia crustacea* F.Nuell	Scrophulariaceae	Broadleaf
หญ้าละออง	*Vernonia cinerea* Lees.	Asteraceae	Broadleaf
ผักยาง	*Euphorbia heterophylla* L.	Euphorbiaceae	Broadleaf
ไมยราบเครือ	*Mimosa invisa* Mart.	Mimosaceae	Broadleaf
น้ำนมราชสีห์	*Euphorbia hirta* L.	Euphorbiaceae	Broadleaf
กะทกรก	*Passiflora foetida* L.	Passifloraceae	Broadleaf
ตำแยแมว	*Acalypha indica* L.	Euphorbiaceae	Broadleaf
เกล็ดหอย	*Drymaria cordata* (L.)Willd. Ex R.&S.	Caryophyllaceae	Broadleaf
ลิเภา	*Lygodium flexuosum* (L.)Sw.	Schizaeaceae	Fern
หญ้าแห้วหมู	*Cyperus rotundus* L.	Cyperaceae	Sedge

ตารางที่ 3 คุณสมบัติของดินในแปลงกวาวเครือขาว

คุณสมบัติ	ค่าวิเคราะห์
ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH)	5.32
Organic matter	2.95%
Phosphorus	32.95 ppm
Potassium	143.75
Sand	17.9%
Silt	41.4%
Clay	40.4%
ชนิดของดิน	Silty Clay

ตารางที่ 4 จำนวนต้นและน้ำหนักแห้งของวัชพืชในแปลงกวาวเครือขาว ปี 2552

กรรมวิธี	จำนวนวัชพืช (ต้น/ ตร.ม.)	น้ำหนักวัชพืช (กรัม/ ตร.ม.)
คลุมแปลงด้วยพลาสติกสีดำเทา	19.4 a	35.82 ab
คลุมแปลงด้วยแผ่นชีวมวล	21.8 a	51.14 ab
กำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน	15.6 a	28.76 a
ไม่มีการกำจัดวัชพืช	23.0 a	66.74 b
C.V.(%)	38.9	45.61

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น95%โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 5 ขนาดเส้นรอบวงโคนต้นของกวาวเครือขาว ปี 2552

กรรมวิธี	เส้นรอบวงโคนต้นกวาวเครือขาว(ซม.)
คลุมแปลงด้วยพลาสติกสีดำเทา	19.13 a
คลุมแปลงด้วยแผ่นชีวมวล	19.45 a
กำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน	17.57 a
ไม่มีการกำจัดวัชพืช	18.10 a
C.V.(%)	19.0

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 6 จำนวนต้นและน้ำหนักแห้งของวัชพืชในแปลงกวาวเครือขาว ปี 2553

กรรมวิธี	จำนวนวัชพืช (ต้น/ตร.ม.)	น้ำหนักวัชพืช (กรัม/ตร.ม.)
คลุมแปลงด้วยพลาสติกสีดำเทา	13.7 a	8.06 a
คลุมแปลงด้วยแผ่นชีวมวล	10.8 a	5.62 a
กำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน	15.8 a	5.90 a
ไม่มีการกำจัดวัชพืช	25.5 a	16.48 b
C.V. (%)	16.4	56.6

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น95%โดยวิธี DMRT

ชื่อหนังสือ ผลงานวิจัยประจำปี ๒๕๕๓ เล่ม ๓
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผู้จัดทำ คณะทำงานจัดทำหนังสือรายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม
ประจำปี ๒๕๕๓

ผู้จัดพิมพ์ กลุ่มบริหารโครงการวิจัย
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์
โทรศัพท์ ๐-๒๕๗๙-๑๐๖๑, ๐-๒๕๗๙-๕๕๘๓

ลิขสิทธิ์ของ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
ห้ามคัดลอกข้อความ หรือส่วนใดส่วนหนึ่งของหนังสือไปเผยแพร่
และใช้โดยไม่ได้รับอนุญาต

พิมพ์ครั้งที่ ๑ เมื่อ กรกฎาคม ๒๕๕๔

จำนวนพิมพ์ ๖๕ เล่ม

พิมพ์ที่ โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด
๔๔/๑๖-๑๗ ถ.เลี่ยงเมืองนนทบุรี ต.ตลาดขวัญ อ.เมือง จ.นนทบุรี ๑๑๐๐๐
โทร. ๐-๒๕๒๕-๔๘๐๗-๙ โทรสาร ๐-๒๕๒๕-๔๘๕๕