Annual Report 2011

กรมวิชาการเกษตร
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

ผลงานวิจัย ประจำปี ๒๕๕๔
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
Plant Protection Research and Development Office

เล่ม ๔

ผลงานวิจัย ประจำปี ๒๕๕๔

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Plant Protection Research and Development Office

เอกสารวิชาการเลขที่ ๑/๒๕๕๕

กรมวิชาการเกษตร
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

Annual Report 2011

ผลงานวิจัย ประจำปี ๒๕๕๔
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
Plant Protection Research and Development Office
เล่ม ๔

Annual Report 2011

รายงาน
ผลงานวิจัยประจำปี ๒๕๕๔
เล่ม ๔

เอกสารวิชาการเลขที่ ๑/๒๕๕๕

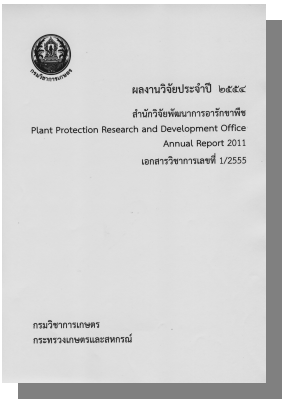
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

คณะผู้จัดทำ

นางรจนา ไวยเจริญ
นางสาวดาราพร รินทะรักษ์
นางณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล
นางสาวกาญจนา วาระวิชะนี
นางเสริมศิริ คงแสงดาว
นางสาวจรัญญา ปิ่นสุภา
นางสาวชลธิชา รักใคร่
นางวรัญญา มาลี
นางศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา
นางสาววิภาดา ปลอดครบุรี
นางบุญทิวา วาทิรอยรัมย์

ผู้รวบรวม

นางสาวชลิดา ปัญญาด้วง
นางสาวจิตติรัตน์ ชูชาติ



ชื่อหนังสือ ผลงานวิจัยประจำปี ๒๕๕๔ เล่ม ๔
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผู้จัดทำ คณะทำงานจัดทำหนังสือรายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม
ประจำปี ๒๕๕๔

ผู้จัดพิมพ์ กลุ่มบริหารโครงการวิจัย
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์
โทรศัพท์ ๐-๒๕๗๙-๑๐๖๑, ๐-๒๕๗๙-๕๕๘๓

ลิขสิทธิ์ของ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
ห้ามคัดลอกข้อความ หรือส่วนใดส่วนหนึ่งของหนังสือไปเผยแพร่

พิมพ์ครั้งที่ ๑ เมื่อ มิถุนายน ๒๕๕๕

จำนวนพิมพ์ ๖๕ เล่ม

พิมพ์ที่ โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด
๔๔/๑๖-๑๗ ถ. เลี่ยงเมืองนนทบุรี ต. ตลาดขวัญ อ. เมือง จ. นนทบุรี ๑๑๐๐
โทร. ๐-๒๕๒๕-๔๘๐๗-๙ โทรสาร ๐-๒๕๒๕-๔๘๕๕

คำนำ

“รายงานผลงานวิจัย ประจำปี ๒๕๕๔” เป็นเอกสารวิชาการที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จัดทำต่อเนื่องติดต่อกัน ๙ ปี จากผลงานวิจัยของนักวิจัย จากกลุ่มกีฏและสัตววิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช กลุ่มวิจัยวัชพืช กลุ่มวิจัยการกักกันพืช และกลุ่มบริหารศัตรูพืช ที่ดำเนินงานด้วยงบประมาณ ภายใต้ **แผนงานวิจัยและพัฒนา กรมวิชาการเกษตร ปี ๒๕๕๔ - ๒๕๕๘** ประกอบด้วยผลงานวิจัยด้านอารักขาพืช ที่ครอบคลุม ๔ โครงการวิจัย ได้แก่ วิจัยและพัฒนาการควบคุมศัตรูพืชทางการเกษตรโดยชีววิธี การศึกษาและพัฒนาประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช วิจัยการกักกันพืช และอนุกรมวิธานชีววิทยาและเทคนิคการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ และยังรวมถึงงานวิจัยด้านอื่น ๆ ได้แก่ การคุ้มครองพันธุ์พืช พืชผัก เห็ด ไม้ดอกไม้ประดับ พืชไร่เศรษฐกิจ ไม้ผลเศรษฐกิจ และพืชเศรษฐกิจเฉพาะพื้นที่ เป็นการรวมการดำเนินงาน จาก ๒๙ ชุดโครงการวิจัย ๔๒ โครงการวิจัย ๕๘ กิจกรรม นอกจากนี้ยังมีโครงการเร่งด่วนที่ได้รับมอบหมายเป็นภารกิจเพิ่มเติม ๑ การทดลอง ที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ต้องรับผิดชอบ รวมจำนวนการทดลองทั้งสิ้น ๒๗๕ การทดลอง

การจัดทำรายงานผลงานวิจัยเล่มนี้ เสร็จสมบูรณ์ เพราะนักวิจัยทุกท่าน จากกลุ่มวิชาการของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช มุ่งหวังจะเผยแพร่ผลงานด้านอารักขาพืชที่ตนได้วิจัยด้วยความพากเพียรและมุ่งมั่น ให้ผู้สนใจได้นำข้อมูลไปใช้ประโยชน์ ทั้งการอ้างอิง การประยุกต์ เพื่อขยายผล ตลอดจนการต่อยอดผลงานวิจัย สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จึงขอขอบคุณผู้เกี่ยวข้องทุกท่านไว้ในโอกาสนี้ด้วย

ก. จำเริญมา

(นายเกรียงไกร จำเริญมา)
ผู้อำนวยการสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
มิถุนายน ๒๕๕๕

สารบัญ

หน้า

รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2554 เล่มที่ 1.....1-512
รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2554 เล่มที่ 2.....513-1176
รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2554 เล่มที่ 3.....1177-1642
รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2554 เล่มที่ 4.....1643-2259
ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการเพิ่มผลผลิตอ้อย
โครงการวิจัย การบริหารจัดการศัตรูอ้อย 01-05-54-02
กิจกรรม การเพิ่มประสิทธิภาพการจัดการวัชพืชในอ้อยเพื่อลดต้นทุนการผลิต
กิจกรรมย่อย -
การทดลอง
➢ ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของ.....1
สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอก (pre-emergence)
ในอ้อยปลูกใหม่
01-05-54-02-01-00-01-54
❖ สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ
➢ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของ.....11
สารกำจัดวัชพืชประเภทหลังงอก (post-emergence)
ในอ้อยปลูกใหม่ และอ้อยตอ
01-05-54-02-01-00-02-54
❖ สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ
➢ศึกษาการจัดการวัชพืชประเภทเถาเลื้อยในอ้อย✪.....26
01-05-54-02-01-00-03-54
❖ สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ
ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนามันสำปะหลัง
โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการอารักขาพืชในมันสำปะหลัง 01-07-54-03
กิจกรรม วิจัยและพัฒนาวิธีการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูมันสำปะหลัง
กิจกรรมย่อย การศึกษาอนุกรมวิธาน นิเวศวิทยาของแมลงและไรศัตรูมันสำปะหลัง
การทดลอง
➢อนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้งในมันสำปะหลัง✪.....35
01-07-54-03-01-01-01-54.
❖ ชลิดา อุณหวุฒิ และคณะ

➢อนุกรมวิธานแมลงหวี่ขาวในมันสำปะหลัง✪.....40
01-07-54-03-01-01-02-54
❖ สุนัดดา เชาวลิต และคณะ

กิจกรรมย่อย การจัดการแมลงและไรศัตรูมันสำปะหลัง

การทดลอง ➢ทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงป้องกันกำจัด.....2228
เพลี้ยแป้งในมันสำปะหลัง ด้วยวิธีราดโคนต้น
01-07-54-03-01-02-01-54
❖ สุเทพ สหายา และพวงผกา อ่างมณี
➢ทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงประเภทพ่น.....2222
ทางใบป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งในมันสำปะหลัง
01-07-54-03-01-02-02-54
❖ สุเทพ สหายา และพวงผกา อ่างมณี
➢ทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดไรศัตรูสำคัญ✪.....49
ในมันสำปะหลัง
01-07-54-03-01-02-03-54
❖ พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูมันสำปะหลังโดยชีววิธี

การทดลอง ➢การใช้แมลงช้างปีกใส *Plesiochrysa ramburi* 55
ในการควบคุมเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังในสภาพไร่
01-07-54-03-01-03-01-54
❖ ประภัสสร เชยคำแหง และคณะ

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาการป้องกันกำจัดวัชพืชมันสำปะหลัง

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢ประสิทธิภาพของสารกำจัดวัชพืชแบบ✪.....59
pre-emergence ในมันสำปะหลัง
01-07-54-03-03-00-01-54
❖ จรรยา มณีโชติ และคณะ
➢การเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช✪.....91
แบบ tank-mixture
01-07-54-03-03-00-02-54
❖ จรรยา มณีโชติ และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาปาล์มน้ำมัน

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตปาล์มน้ำมัน 01-09-54-02

กิจกรรม วิจัยด้านอารักขาปาล์มน้ำมัน

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢การควบคุมโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันโดยชีววิธี.....116

01-09-54-02-02-00-01-54

❖ ชนินทร ดวงสอาด และคณะ

➢ศึกษาวิธีการจัดการวัชพืชในสวนปาล์มน้ำมัน.....126

01-09-54-02-02-00-05-54

❖ จรัญญา ปิ่นสุภา และคณะ

ชุดโครงการวิจัย การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแห้งแล้ง

โครงการวิจัย เทคโนโลยีการผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่เหมาะสมในสภาพแห้งแล้ง 01-10-54-02

กิจกรรม การลดความสูญเสียผลผลิตจากศัตรูข้าวโพด

กิจกรรมย่อย การลดความสูญเสียผลผลิตจากแมลงศัตรูพืช

การทดลอง ➢ทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงประเภท.....2138

คลุกเมล็ดในการป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนและเพลี้ยไฟ

ในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

01-10-54-02-04-02-03-54

❖ สุเทพ สหายา และคณะ

➢ทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงประเภท.....2144

พ่นทางใบในการป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนและเพลี้ยไฟ

ในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

01-10-54-02-04-02-04-54

❖ สุเทพ สหายา และคณะ

กิจกรรมย่อย การลดความสูญเสียผลผลิตจากวัชพืช

การทดลอง ➢ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสาร.....139

กำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอก (pre-emergence)

ในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

01-10-54-02-04-03-01-54

❖ สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ

➢ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสาร.....149
กำจัดวัชพืชประเภทหลังงอก (post-emergence)
ในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์
01-10-54-02-04-03-02-54
❖ สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาถั่วเหลือง

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตและการนำไปใช้ประโยชน์ของถั่วเหลือง 01-12-54-01

กิจกรรม เทคโนโลยีการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิต

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢การทดสอบประสิทธิภาพสารประเภทพ่น.....2150
ทางใบในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูที่สำคัญ
ในถั่วเหลือง
01-12-54-01-02-01-01-54
❖ สุเทพ สหายา และคณะ
➢การทดสอบประสิทธิภาพสารประเภทคลุกเมล็ด.....2156
ป้องกันกำจัดแมลงศัตรูทีสำคัญในถั่วเหลือง
01-12-54-01-02-01-02-54
❖ สุเทพ สหายา และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาถั่วเขียว

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพันธุ์ถั่วเขียว 01-13-54-01

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวผิวมัน

กิจกรรมย่อย การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันเพื่อต้านทานโรค/สภาพแวดล้อม/สรีรวิทยา

การทดลอง ➢การคัดเลือกพันธุ์ถั่วเขียวเพื่อต้านทานโรค✪.....157
ไวรัสใบด่างเหลืองโดยใช้เทคนิคอณูชีววิทยา
01-13-54-01-01-01-04-54
❖ กาญจนา วาระวิชะนี และคณะ

โครงการวิจัย เทคโนโลยีการผลิตถั่วเขียวให้มีคุณภาพ

กิจกรรม การวิจัยเทคโนโลยีการผลิตถั่วเขียวผิวมัน 01-13-54-02

กิจกรรมย่อย เทคโนโลยีการผลิตถั่วเขียวผิวมัน

การทดลอง ➢การจัดการวัชพืชเพื่อการผลิตถั่วเขียวคุณภาพ 165
01-13-54-02-01-01-04-54
❖ คมสัน นครศรี และคณะ

กิจกรรมย่อย อารักขาพืช

การทดลอง ➢ทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงในการคลุกเมล็ดในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสำคัญของถั่วเขียว 2161
01-13-54-02-01-03-02-54
❖ สุเทพ สหายา และคณะ

➢ทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงประเภทพ่นทางใบในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสำคัญของถั่วเขียว 2166
01-13-54-02-01-03-03-54
❖ สุเทพ สหายา และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาข้าวฟ่าง

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาข้าวฟ่าง 01-17-54-01

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์ข้าวฟ่างหวาน

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢การปรับปรุงพันธุ์ข้าวฟ่างหวานให้ต้านทานโรคลำต้นเน่าดำ : การผสมพันธุ์ 177
01-17-54-01-01-00-02-54
❖ พจนา ตระกูลสุขรัตน์ และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาสับปะรด

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตสับปะรด 01-18-54-02

กิจกรรม -

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢ความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของไวรัส✪.....180
Pineapple mealybug wilt-associated virus
กับชนิดของเพลี้ยแป้งในการก่อให้เกิดโรคเหี่ยว
ในสับปะรด
01-18-54-02-00-00-01-54
❖ วันเพ็ญ ศรีทองชัย และคณะ
➢ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของ.....189
สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอก (pre-emergence)
และหลังงอก (post-emergence) ในสับปะรด
01-18-54-02-00-00-02-54
❖ สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ
➢ทดสอบสารกำจัดวัชพืชที่มีประสิทธิภาพในการ.....202
ฆ่าตอสับปะรด
01-18-54-02-00-00-03-54
❖ สิริชัย สาธุวิจารณ์ และวนิดา ธารถวิล
➢การจัดการวัชพืชบาหยา (หรือหญ้าดอกขาว).....211
ในสับปะรด
01-18-54-02-00-00-04-54
❖ สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาทุเรียน

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพันธุ์ทุเรียน 01-21-54-01

กิจกรรม –

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢ศึกษาปฏิกิริยาของทุเรียนพันธุ์ลูกผสมต่อเชื้อรา✪.....221
Phytopthora palmivora
01-21-54-01-02-05-01-54
❖ นลินี ศิวากรณ์ และคณะ

โครงการวิจัย การเพิ่มประสิทธิภาพด้านการผลิตทุเรียนคุณภาพและการกระจายการผลิต 01-21-54-02

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการจัดการด้านเขตกรรมและการอารักขาพืช เพื่อเสริมประสิทธิภาพการผลิตทุเรียนคุณภาพ

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

➢คัดเลือกต้นตอทุเรียนพันธุ์พื้นเมืองที่ทนทาน.....2196
หรือต้านทานต่อเชื้อรา *Phytophthora* sp.
สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียน
01-21-54-02-03-00-01-54
❖ สุพัตรา อินทวิมลศรี และคณะ

➢การควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียน✪.....226
โดยใช้ชีวภัณฑ์ที่ผลิตได้จากเชื้อ *Bacillus subtilis*
01-21-54-02-03-00-03-54
❖ นลินี ศิวากรณ์ และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพันธุ์มะละกอ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพันธุ์มะละกอ 01-23-54-01

กิจกรรม -

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

➢การคัดเลือกสายพันธุ์มะละกอต้านทาน✪.....231
ไวรัสจุดวงแหวน *Papaya ring spot virus*
ในสภาพเรือนทดลอง
01-23-54-01-00-00-11-54
❖ ปริเชษฐ์ ตั้งกาญจนภาสน์ และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการผลิตมะม่วง 01-25-54-02

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการป้องกันกำจัดโรคแมลงศัตรูมะม่วงอย่างเหมาะสม

กิจกรรม -

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

➢การจัดการด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง และการ.....236
ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชต่อ
เพลี้ยแป้งในแปลงมะม่วงอินทรีย์
01-25-54-02-00-00-01-54
❖ สราญจิต ไกรฤกษ์ และคณะ

➢เทคโนโลยีการป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้โดยวิธี.....243
ผสมผสานในมะม่วง
01-25-54-02-00-00-02-54
❖ เกรียงไกร จำเริญมา และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนากล้วยไม้

โครงการวิจัย การจัดการคุณภาพกล้วยไม้สกุลหวายเพื่อการส่งออก 01-29-54-01

กิจกรรม การวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืชในกล้วยไม้สกุลหวาย

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢การใช้สารกำจัดวัชพืชในการป้องกันกำจัดวัชพืช✪.....246
ในกล้วยไม้สกุลหวาย
01-29-54-01-01-00-01-54
❖ เสริมศิริ คงแสงดาว และคณะ
➢ทดสอบประสิทธิภาพเชื้อจุลินทรีย์และสาร✪.....262
ฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอม,
Spodoptera exigua Hubner ในกล้วยไม้
01-29-54-01-01-00-02-54
❖ สมรวย รวมชัยอภิกุล และอุราพร หนูนารถ
➢การใช้ตัวห้ำตัวเบียนในการกำจัดศัตรูพืช.....268
01-29-54-01-01-00-03-54
- การใช้และอนุรักษ์ไรตัวห้ำ *Amblyseius cinctus* เพื่อควบคุมไรแมงมุมเทียมกล้วยไม้ *Tenuipalpus pacificus*
❖ มานิตา คงชื่นสิน และคณะ
➢การป้องกันกำจัดสัตว์ศัตรูพืช✪.....275
01-29-54-01-01-00-04-54
- การควบคุมหอยซัคซิเนีย *Succinea* sp. ในสวนกล้วยไม้โดยวิธีผสมผสาน
❖ ปราสาททอง พรหมเกิด และคณะ
➢การป้องกันกำจัดโรคดอกจุดสนิมของกล้วยไม้.....281
ที่มีสาเหตุจากเชื้อ *Curvularia* sp. โดยใช้เชื้อ
จุลินทรีย์ปฏิปักษ์และสารเคมี
01-29-54-01-01-00-05-54
❖ พีระวรรณ พัฒนวิภาส และคณะ

➢การศึกษาวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการ✪.....288
ป้องกันกำจัดเชื้อรา *Fusarium* spp. สาเหตุโรค
ในกล้วยไม้ที่ปลูกเป็นการค้า
01-29-54-01-01-00-06-54
❖ อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนากล้วยไม้สกุลแวนด้าเพื่อการค้า 01-29-54-02

กิจกรรม การอารักขาพืชในกล้วยไม้

กิจกรรมย่อย การป้องกันกำจัดโรคที่เกิดจากแบคทีเรียของกล้วยไม้

การทดลอง ➢การใช้สารเสริมประสิทธิภาพความแข็งแรง.....2241
ในการป้องกันกำจัดโรคที่เกิดจากแบคทีเรีย
ของกล้วยไม้แวนดาแอสโคเซนดา
01-29-54-02-03-01-01-54
❖ ดารุณี ปุญญพิทักษ์ และคณะ
➢การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพสารเคมี✪.....2126
ควบคุมโรคกล้วยไม้สกุลแวนดา
ที่เกิดจากแบคทีเรีย
01-29-54-02-03-01-02-54
❖ ศรีสุข พูนผลกุล และคณะ

กิจกรรม การเพิ่มประสิทธิภาพการขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลรองเท้านารี

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢การศึกษาชนิดราไมโคไรซ่ากล้วยไม้ใกล้สูญพันธุ์.....296
และการใช้ประโยชน์ราในการเพาะเมล็ดกล้วยไม้
01-29-54-03-02-00-03-54
❖ พรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยแก้ไขปัญหาการผลิตกล้วยไม้การค้าสกุลอื่นๆ 01-29-54-05

กิจกรรม การเพิ่มประสิทธิภาพผลผลิต

กิจกรรมย่อย การจัดการศัตรูพืช

การทดลอง ➢การใช้สารเสริมความแข็งแรงในการป้องกันกำจัด.....2248
โรคใบจุดที่เกิดจากแบคทีเรียของกล้วยไม้ (ออนซิเดียม)
01-29-54-05-01-02-01-54
❖ ดารุณี ปุญญพิทักษ์ และคณะ

➢การป้องกันกำจัดโรคกลีบดอกไหม้ในกล้วยไม้.....301
สกุลม็อคคาร่า โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ และสารเคมี
01-29-54-05-01-02-02-54
❖ ทัศนาพร ทัศคร และคณะ
➢การศึกษาการป้องกันกำจัดโรคสำคัญของกล้วยไม้ดิน.....308
โดยวิธีที่เหมาะสม
01-29-54-05-01-02-03-54
❖ ทัศนาพร ทัศคร และคณะ
➢การจัดการโรคที่เกิดจากเชื้อราของกล้วยไม้ดินสกุล
แกรมมะโตฟิลลัมและสปาโทกลอททิส
01-29-54-05-01-02-04-54
❖ สุพัตรา อินทวิมลศรี และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพริก

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตพริก 01-30-54-03

กิจกรรม การพัฒนาเทคโนโลยีเพื่อเพิ่มผลผลิตต่อไร่และลดสารพิษตกค้าง

กิจกรรมย่อย การพัฒนาเทคโนโลยีเพื่อลดสารพิษตกค้าง

การทดลอง ➢ประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจาก.....315
เห็ดเรืองแสง *Neonothopanus nambi*
ต่อไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*) ในพริก
01-30-54-03-01-01-01-54
❖ สุรีย์พร บัวอาจ และคณะ
➢เทคโนโลยีการป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้ในพริก..... 325
โดยวิธีผสมผสาน
01-30-54-03-01-01-02-54
❖ วิภาดา ปลอดครบุรี และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาไม้ดอกไม้ประดับ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาปทุมมาและกระเจียว 01-32-54-01

กิจกรรม การวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืชกลุ่มปทุมมาและกระเจียว

กิจกรรมย่อย การบริหารจัดการโรคเหี่ยวของปทุมมาและกระเจียวโดยวิธีผสมผสาน

การทดลอง ➢การพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์ชนิดผง✪ 331
Bacillus subtilis สายพันธุ์ 4415 และสายพันธุ์
ดินอ้อยno 6 เพื่อควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมา
01-32-54-01-01-01-01-54
❖ ดารุณี ปุญญพิทักษ์ และคณะ
➢การปรับปรุงวิธีการตรวจหาแบคทีเรีย✪ 338
Ralstonia solanacearum ในหัวพันธุ์ปทุมมาโดยใช้ชุดตรวจสอบ
(GLIFT kit) โรคเหี่ยวของปทุมมาและการขยายผล
การใช้ชุดตรวจสอบในกระบวนการผลิตหัวพันธุ์
01-32-54-01-01-01-02-54
❖ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ

กิจกรรมย่อย การจัดการโรคใบไหม้และใบจุดของปทุมมาและกระเจียว

การทดลอง ➢การศึกษาเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้ใบจุดของปทุมมา✪.....342
01-32-54-01-01-02-01-54
❖ ธารทิพย ภาสบุตร และคณะ
➢ทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัด✪.....347
โรคพืชในการควบคุมโรคใบไหม้ใบจุดของปทุมมา
01-32-54-01-01-02-02-54
❖ ทัศนาพร ทัศคร และคณะ

กิจกรรมย่อย การจัดการโรครากปมของปทุมมาและกระเจียว

การทดลอง ➢สำรวจและประเมินความเสียหายที่เกิดจาก..... 353
โรครากปมของปทุมมาและกระเจียว
01-32-54-01-01-03-01-54
❖ มนตรี เอี่ยมวิมังสา และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเบญจมาศ 01-32-54-03

กิจกรรม ศึกษาการอารักขาที่เหมาะสมในเบญจมาศ

กิจกรรมย่อย การจัดการโรคราสนิมขาวและโรคใบจุดเบญจมาศ

การทดลอง ➢การจัดการโรคราสนิมขาวของเบญจมาศ✪.....359

01-32-54-03-02-01-01-54

❖ อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาหน้าวัว 01-32-54-04

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์หน้าวัว

กิจกรรม -

การทดลอง ➢ปฏิกิริยาของพันธุ์หน้าวัวลูกผสมต่อโรคเน่าดำ✪.....366

ที่มีสาเหตุจากรา *Phytophthora parasitica*

01-32-54-04-01-00-04-54

❖ อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ และคณะ

กิจกรรม การวิจัยและพัฒนาเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตดอกคุณภาพดี

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢การจัดการโรครากโพรงของหน้าวัว.....375

01-32-54-04-03-00-02-54

❖ ธิติยา สารพัฒน์ และคณะ

ชุดโครงการวิจัย การปรับปรุงพันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตมะนาว

โครงการวิจัย การปรับปรุงพันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตมะนาว 01-35-54-01

กิจกรรม การศึกษาการใช้สารชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืชในการควบคุมโรคแคงเกอร์ของมะนาว

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢ศึกษาอัตราและระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้.....382

ชีวภัณฑ์ที่ผลิตได้จากเชื้อ *Bacillus subtilis*

เพื่อป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของมะนาว

01-35-54-01-03-00-01-54

❖ นลินี ศิวากรณ์ และคณะ

➢การพัฒนาน้ำหมักกระเทียมร่วมกันสมุนไพรอื่น✪.....388

เพื่อควบคุมโรคแคงเกอร์ของมะนาว

01-35-54-01-03-01-02-54

❖ นลินี ศิวากรณ์ และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนามันฝรั่ง

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการจัดการศัตรูที่สำคัญของมันฝรั่ง 01-36-54-03

กิจกรรม การจัดการไส้เดือนฝอยรากปมในมันฝรั่ง

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢การใช้ปอเทืองควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมในมันฝรั่ง.....393
01-36-54-03-01-00-01-54

❖ ไตรเดช ข่ายทอง และมนตรี เอี่ยมวิมังสา

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขิงคุณภาพ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขิงคุณภาพ 01-37-54-01

กิจกรรม –

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢การจัดการโรคเหี่ยวของขิงที่เกิดจากแบคทีเรีย.....399
Ralstonia solanacearum แบบผสมผสาน
01-37-54-01-00-00-01-54

❖ บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเห็ด

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการอารักขาเห็ด 01-39-54-02

กิจกรรม วิจัยเทคโนโลยีการจัดการโรคเห็ด

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢การศึกษาวิธีการป้องกันกำจัดราเมือก (slime mould).....403
ที่ทำความเสียหายในการเพาะเห็ดถุงเพื่อการค้า
01-39-54-02-01-00-01-54

❖ อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และคณะ

➢ชนิด และแหล่งอาศัยของเชื้อรา *Papulaspora* sp. 408
และระดับความเสียหายพี่พบปนเปื้อนในการเพาะเห็ดฟาง
(*Volvariella volvacea*) เป็นการค้า
01-39-54-02-01-00-02-54

❖ อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และคณะ

กิจกรรม วิจัยเทคโนโลยีการจัดการแมลงและไรศัตรูเห็ด

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

➢การป้องกันกำจัดไรไข่ปลาบนเห็ดหูหนู.....413
โดยการใช้สารสกัดจากพืช
01-39-54-02-02-00-01-54
❖ พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ และคณะ

➢การทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลง สารชีวินทรีย์..... 2232
และสารสกัดจากพืชในการป้องกันกำจัดหนอนแมลงวัน
ศัตรูเห็ดที่สำคัญในเห็ด
01-39-54-02-02-00-02-54
❖ อุราพร หนูนารถ และพิเชษฐ์ เชาววัฒนวงศ์

➢การศึกษาชีววิทยานิเวศวิทยาและการป้องกันกำจัด.....418
ด้วงเจาะเห็ดแมลงศัตรูเห็ดที่สำคัญ
01-39-54-02-02-00-03-54
❖ อุราพร หนูนารถ และคณะ

➢เทคโนโลยี การป้องกันกำจัดหนอนแมลงวันศัตรูเห็ด.....423
สำหรับเห็ดเพาะถุง
01-39-54-02-02-00-04-54
❖ สัญญาณี ศรีคชา และอุราพร หนูนารถ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพืชผัก

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการอารักขาพืชผัก 01-40-54-02

กิจกรรม การอารักขาพืชตระกูลกะหล่ำ

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

➢การทดสอบประสิทธิภาพ *Bacillus subtilis* 426
ในการควบคุมโรคใบจุดคะน้าสาเหตุจากเชื้อรา
Alternaria brassicicola
01-40-54-02-01-00-01-54
❖ บุษราคัม อุดมศักดิ์ และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาหน่อไม้ฝรั่งและกระเจี๊ยบเขียว

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตหน่อไม้ฝรั่ง 01-41-54-01

กิจกรรม เทคโนโลยีการอารักขาหน่อไม้ฝรั่ง

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢การใช้มวนเพชฌฆาต *Sycanus versicolor* Dohrn 434
ควบคุมแมลงศัตรูพืชในหน่อไม้ฝรั่ง
01-41-54-01-01-00-01-54

❖ รัตนา นชะพงษ์ และอุราพร หนูนารถ

กิจกรรม เทคโนโลยีการอารักขากระเจี๊ยบเขียว

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢ทดสอบประสิทธิภาพเชื้อจุลินทรีย์ และสารฆ่าแมลง✪.....442
ในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอม,
Spodoptera exigua Hubner ในกระเจี๊ยบเขียว
01-41-54-01-02-00-01-54

❖ สมรวย รวมชัยอภิกุล และอุราพร หนูนารถ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพืชเศรษฐกิจเฉพาะพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการผลิตมะเม่าในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน 02-03-54-01

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยี

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢วิจัยและพัฒนาการจัดการโรคและแมลงศัตรูมะเม่า.....449
02-03-54-01-02-00-02-54

- วิจัยและพัฒนาการจัดการโรคมะเม่า

❖ พรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ

➢วิจัยและพัฒนาการจัดการโรคและแมลงศัตรูมะเม่า.....453
02-03-54-01-02-00-03-54

- การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสำคัญในมะเม่า

❖ วิภาดา ปลอดครบุรี และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพืชเศรษฐกิจเฉพาะพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตน้อยหน่าคุณภาพในพื้นที่จังหวัดนครราชสีมา 02-04-54-03

กิจกรรม การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตน้อยหน่าคุณภาพ

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

- สำรวจและจำแนกชนิดของเพลี้ยแป้งและแมลงศัตรูน้อยหน่าในเขตพื้นที่จังหวัดนครราชสีมา 459
  02-04-54-03-01-00-03-54
  - ชมัยพร บัวมาศ และคณะ
- ศึกษาการใช้สารสกัดจากธรรมชาติในการควบคุมเพลี้ยแป้งน้อยหน่าในเขตพื้นที่จังหวัดนครราชสีมา 464
  02-04-54-03-01-00-04-54
  - พวงผกา อ่างมณี และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการผลิตพืชเศรษฐกิจเฉพาะพื้นที่อย่างมีคุณภาพในเขตภาคกลาง

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตฝรั่ง 02-05-54-01

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตฝรั่ง

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

- การจัดการโรคต้นเหี่ยวของฝรั่ง 2201
  02-05-54-01-01-00-01-54
  - สุพัตรา อินทวิมลศรี และนลินี ศิวากรณ์
- การจัดการโรครากปมของฝรั่ง 468
  02-05-54-01-01-00-02-54
  - ทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีต่างๆ ในการควบคุมโรครากปมของฝรั่ง
    - ธิติยา สารพัฒน์ และคณะ
  - ทดสอบประสิทธิภาพของวัสดุปรับปรุงดินชนิดต่างๆ ที่มีผลต่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมฝรั่งในสภาพเรือนทดลองและแปลง
    - ธิติยา สารพัฒน์ และคณะ
  - ทดสอบประสิทธิภาพเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมฝรั่งในสภาพเรือนทดลองและแปลง
    - ธิติยา สารพัฒน์ และคณะ

- การพัฒนารูปแบบการจัดการโรครากปมของฝรั่งแบบผสมผสาน
  - ❖ ธิติยา สารพัฒน์ และคณะ

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์ฝรั่ง

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

➢การคัดเลือกต้นตอที่ต้านทานหรือทนทานต่อโรคเหี่ยว✪และโรครากปมของฝรั่ง
02-05-54-01-02-00-03-54

- การคัดเลือกต้นตอที่ต้านทานหรือทนทาน⌘.....474
  ต่อโรคเหี่ยวและโรครากปมของฝรั่ง
  02-05-54-01-02-00-03(1)-54
  - ❖ มนตรี เอี่ยมวิมังสา และคณะ
- การคัดเลือกต้นตอฝรั่งที่ทนทานหรือต้านทาน⌘.....2209
  ต่อโรคเหี่ยวฝรั่งพันธุ์การค้า
  02-05-54-01-02-00-03(2)-54
  - ❖ สุพัตรา อินทวิมลศรี และธิติยา สารพัฒน์

โครงการวิจัย การพัฒนาและทดสอบเทคโนโลยีการผลิตชมพู่ 02-05-54-02

กิจกรรม การป้องกันกำจัดโรคแมลงศัตรูชมพู่

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

➢ศึกษาลักษณะอาการ สาเหตุและ.....481
การแพร่ระบาดของโรคผลเน่าชมพู่
02-05-54-02-02-00-01-54

- ❖ พจนา ตระกูลสุขรัตน์ และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพืชเศรษฐกิจเฉพาะพื้นที่ภาคตะวันออก

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตสละ 02-06-54-03

กิจกรรม ศึกษาสาเหตุและการป้องกันและกำจัดโรคในสละ

กิจกรรมย่อย ศึกษาสาเหตุและการป้องกันกำจัดโรคผลเน่าในสละ

การทดลอง

➢ศึกษาชนิดและชีววิทยาของเชื้อสาเหตุ.....486
โรคผลเน่าของสละ
02-06-54-03-01-01-01-54

- ❖ ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี และคณะ

กิจกรรม ศึกษาสาเหตุและการป้องกันและกำจัดแมลงในสละ

กิจกรรมย่อย ศึกษาสาเหตุและการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูในสละ

การทดลอง ➢การศึกษาชนิดชีววิทยาและนิเวศวิทยาของ.....490
แมลงศัตรูในสละ
02-06-54-03-02-01-01-54
❖ วนาพร วงษ์นิคง และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพืชเศรษฐกิจเฉพาะพื้นที่ภาคใต้ตอนล่าง

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตมันขี้หนู 02-08-54-05

กิจกรรม การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตมันขี้หนู

กิจกรรมย่อย การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตมันขี้หนู

การทดลอง ➢วิธีการที่เหมาะสมในการป้องกันกำจัด.....499
ไส้เดือนฝอยศัตรูมันขี้หนู
02-08-54-05-01-01-03-54
❖ มนตรี เอี่ยมวิมังสา และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาระบบการผลิตเกษตรอินทรีย์

โครงการวิจัย การศึกษาผลของระบบการปลูกพืชร่วมเพื่อจัดการระบบสมดุลในห่วงโซ่อาหาร ในระบบเกษตรอินทรีย์ 03-02-54-02

กิจกรรม ศึกษาชนิดของพืชกับดักที่มีประสิทธิภาพในระบบการปลูกพืชอินทรีย์

กิจกรรมย่อย ศึกษาชนิดของพืชกับดักและพืชอาศัยศัตรูธรรมชาติที่มีประสิทธิภาพ ในระบบการปลูกพืชอินทรีย์

การทดลอง ➢ศึกษาชนิดของพืชกับดัก และพืชอาศัยของแมลง✪.....502
ที่มีประโยชน์ในระบบการปลูกพืชผักอินทรีย์ภาคกลาง
03-02-54-02-01-01-01-54
❖ รจนา ไวยเจริญ และคณะ

กิจกรรม ศึกษารูปแบบการป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสานในระบบการปลูกพืชอินทรีย์

กิจกรรมย่อย ศึกษารูปแบบการป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน ในระบบการปลูกพืชอินทรีย์

การทดลอง ➢ศึกษารูปแบบการป้องกันกำจัดศัตรูพืช✪.....508
แบบผสมผสานในระบบการผลิตพืชผักอินทรีย์
ภาคกลาง
03-02-54-02-02-01-01-54
❖ รจนา ไวยเจริญ และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการควบคุมศัตรูพืชทางการเกษตรโดยชีววิธี 03-04-54-01

กิจกรรม การผลิตและการใช้แมลงและไรควบคุมศัตรูพืช

กิจกรรมย่อย การควบคุมแมลงหวี่ขาวโดยชีววิธี

การทดลอง ➢เทคโนโลยีการผลิตขยายและการใช้แตนเบียนสกุล *Eretmocerus* เพื่อควบคุมแมลงหวี่ขาว 03-04-54-01-01-01-01-54

❖ อัมพร วิโนทัย และคณะ

➢เทคโนโลยีการผลิตขยายและการใช้แตนเบียน✪.....513
Encarsia sp. เพื่อควบคุมแมลงหวี่ขาว
03-04-54-01-01-01-02-54

❖ รจนา ไวยเจริญ และคณะ

➢การทดสอบประสิทธิภาพของแมลงช้างปีกใส✪.....521
ในการควบคุมแมลงหวี่ขาวใยเกลียว
03-04-54-01-01-01-03-54

❖ ประภัสสร เชยคำแหง และคณะ

กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้แมลงและไรควบคุมศัตรูพืช

การทดลอง ➢พัฒนาการผลิตมวนเพชฌฆาต ✪.....524
03-04-54-01-01-02-01-54

❖ รัตนา นชะพงษ์

➢การผลิตและการใช้ไรตัวห้ำ, *Amblyseius* spp.✪.....531
ควบคุมเพลี้ยไฟ
03-04-54-01-01-02-02-54

❖ มานิตา คงชื่นสิน และคณะ

กิจกรรม การผลิตและการใช้เชื้อจุลินทรีย์และไส้เดือนฝอยควบคุมแมลงศัตรูพืช

กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้ไวรัส NPV ควบคุมแมลงศัตรูพืช

การทดลอง ➢พัฒนาเทคโนโลยีการผลิตไวรัส NPV.....2114
จากเซลล์เพาะเลี้ยง
03-04-54-01-02-01-01-54

❖ สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต และคณะ

➢พัฒนารูปแบบการเก็บรักษาเซลล์แมลงเพาะเลี้ยงต้นแบบ.....2121
03-04-54-01-02-01-02-54
❖ สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต และคณะ
➢การใช้สูตรผสมไวรัส NPV และแบคทีเรีย Bt✪.....538
ในการควบคุมหนอนผีเสื้อศัตรูพืช
03-04-54-01-02-01-03-54
❖ อิศเรส เทียนทัด และคณะ
➢การเพิ่มประสิทธิภาพของเชื้อไวรัส เอ็นพีวี✪.....550
ชนิดต่าง ๆ ด้วยเทคนิค Microencapsulation
03-04-54-01-02-01-04-54
❖ สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี และคณะ
➢การพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์ไวรัส เอ็นพีวี.....556
สำเร็จรูปเพื่อกำจัดหนอนกระทู้หอม
03-04-54-01-02-01-05-54
❖ สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี และคณะ
➢ศึกษาชีววิทยาของโปรโตซัวที่เข้าทำลายระบบ✪.....561
การเลี้ยงหนอนกระทู้ผักเพื่อผลิตไวรัส
Nucleopolyhedrovirus และการควบคุม
03-04-54-01-02-01-06-54
❖ ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ควบคุมแมลงศัตรูพืช

การทดลอง ➢ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย.....566
Bacillus thuringiensis ที่ผลิตด้วยวิธีต่างๆ
03-04-54-01-02-02-01-54
❖ สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี และคณะ
➢การศึกษาผลของสารกำจัดศัตรูพืชต่อประสิทธิภาพ.....570
ของแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* และไวรัส NPV
03-04-54-01-02-02-02-54
❖ อิศเรส เทียนทัด และคณะ

กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้เชื้อราควบคุมแมลงศัตรูพืช

การทดลอง ➢การคัดเลือกและพัฒนาวิธีการเลี้ยง✪.....582
เชื้อราบิวเวอเรีย (white muscardine fungus);
Beauveria bassiana (Balsamo)
เพื่อใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืช
03-04-54-01-02-03-01-54

❖ เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้ไส้เดือนฝอยควบคุมแมลงศัตรูพืช

การทดลอง ➢เทคนิคการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง ✪.....591
Steinernema riobrave
03-04-54-01-02-04-01-54

❖ วิไลวรรณ เวชยันต์ และคณะ

➢ศึกษาประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอย.....596
Steinernema riobrave ในการควบคุมด้วงหมัดผัก
03-04-54-01-02-04-02-54

❖ วิไลวรรณ เวชยันต์ และคณะ

➢วิจัยและพัฒนาการผลิตขยายไส้เดือนฝอย 2178
Steinernema glaseri เพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืช
03-04-54-01-02-04-03-54

❖ สาทิพย์ มาลี และวิไลวรรณ เวชยันต์

➢การทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ไส้เดือนฝอย✪.....2187
Steinernema carpocapsae สูตรผงในการควบคุม
แมลงศัตรูพืช
03-04-54-01-02-04-04-54

❖ สาทิพย์ มาลี และวิไลวรรณ เวชยันต์

กิจกรรม การผลิตและการใช้เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมโรคพืช

กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้แบคทีเรียควบคุมโรคพืช

การทดลอง ➢การพัฒนาผลิตภัณฑ์ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์.....604
DOA-WB4 แบบผงเพื่อควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจาก
แบคทีเรียของมันฝรั่ง
03-04-54-01-03-01-01-54

❖ บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ และคณะ

➢การพัฒนาผลิตภัณฑ์ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์.....609
ดินรากยาสูบ No. 4 แบบเม็ดเพื่อควบคุมโรคเหี่ยว
ที่เกิดจากแบคทีเรียของขิง
03-04-54-01-03-01-02-54
❖ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ
➢คัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีศักยภาพในการ✪.....615
ควบคุมเชื้อแบคทีเรีย *Erwinia carotovora* subsp.
carotovora และ *E. chrysanthemi* สาเหตุโรค
เน่าเละกล้วยไม้
03-04-54-01-03-01-03-54
❖ สุรีย์พร บัวอาจ และคณะ
➢การคัดเลือกและทดสอบสายพันธุ์ Bacillus.....624
ที่มีศักยภาพในการควบคุมเชื้อรา
Phytophthora parasitica
03-04-54-01-03-01-04-54
❖ บุษราคัม อุดมศักดิ์ และคณะ
➢การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีศักยภาพ.....631
ในการควบคุมเชื้อรา *Didymella bryoniae*
สาเหตุโรคยางไหล
03-04-54-01-03-01-05-54
❖ ทัศนาพร ทัศคร และคณะ
➢การคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุม✪.....637
เชื้อรา *Rhizoctonia solani*
03-04-54-01-03-01-06-54
❖ พีระวรรณ พัฒนวิภาส และคณะ
➢การคัดเลือกแบคทีเรีย *Pasteuria penetrans*.....644
ที่มีศักยภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม
Meloidogyne spp.
03-04-54-01-03-01-07-54
❖ ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ

กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้เชื้อราควบคุมโรคพืช

การทดลอง ➢การคัดเลือกเชื้อรา *Oudemansiella* spp.✪.....650
ที่มีศักยภาพในการควบคุมเชื้อราสกุล *Colletotrichum* spp.
สาเหตุโรคพืช
03-04-54-01-03-02-01-54
❖ พจนา ตระกูลสุขรัตน์ และคณะ
➢การคัดเลือกเชื้อราเอ็นโดไฟท์ที่มีศักยภาพ.....655
ในการยับยั้งเชื้อรา *Sclerotium rolfsii*
03-04-54-01-03-02-02-54
❖ ชนินทร ดวงสอาด และคณะ
➢การคัดเลือกและทดสอบศักยภาพของเชื้อรา.....662
ปฏิปักษ์ของไส้เดือนฝอยรากปม
03-04-54-01-03-02-03-54
❖ ธิติยา สารพัฒน์ และคณะ

กิจกรรม การควบคุมสัตว์ศัตรูพืช และวัชพืชโดยชีววิธี

กิจกรรมย่อย การควบคุมสัตว์ศัตรูพืชโดยชีววิธี

การทดลอง ➢การผลิตและการรักษาสปอร์โรซีสต์ของค๊อคซิเดียน.....669
โปรโตซัว *S. singaporensis* เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการผลิต
สารชีวินทรีย์กำจัดหนู
03-04-54-01-04-01-01-54
❖ ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ และคณะ
➢ศึกษาประสิทธิภาพไส้เดือนฝอย (*Steinernema* sp.)✪.....674
ควบคุมทาก *Parmarion* sp.
03-04-54-01-04-01-02-54
❖ ปราสาททอง พรหมเกิด และคณะ
➢คัดเลือกชนิด และศึกษาพฤติกรรมการกินหอยทาก✪.....679
ของหอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae ในประเทศไทย
03-04-54-01-04-01-03-54
❖ ดาราพร รินทะรักษ์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การควบคุมวัชพืชโดยชีววิธี

การทดลอง

➢การศึกษาประสิทธิภาพของพืชคาโลโปโกเนียม✪.....687
ซีรูเลียมต่อการควบคุมหญ้าคา
03-04-54-01-04-02-01-54
❖ คมสัน นครศรี และคณะ

➢ศักยภาพของฝอยทอง ในการควบคุมบาหยา✪.....692
(หญ้าดอกขาว)
03-04-54-01-04-02-02-54
❖ เสริมศิริ คงแสงดาว และกลอยใจ คงเจี้ยง

➢ศักยภาพของฝอยทองในการควบคุมขี้ไก่ย่าน.....699
03-04-54-01-04-02-03-54
❖ เสริมศิริ คงแสงดาว และกลอยใจ คงเจี้ยง

โครงการวิจัย การศึกษาและพัฒนาประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช 03-04-54-02

กิจกรรม การศึกษาประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชเพื่อหาสารทดแทนสารเฝ้าระวังและสารที่มีพิษตกค้าง

กิจกรรมย่อย การศึกษาประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดแมลงไรและสัตว์ศัตรูพืช

การทดลอง

➢การคัดเลือกสารฆ่าแมลงกลุ่มต่างๆ ในการป้องกัน✪.....706
กำจัดหนอนใยผัก
03-04-54-02-01-01-01-54
❖ สุภางคนา ถิรวุธ และคณะ

➢การคัดเลือกสารฆ่าแมลงและสารสกัดจากสะเดา.....2235
ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ *Thrips tabaci* Lindeman
และแมลงหวี่ขาว *Bemisia tabaci* Gennadius
03-04-54-02-01-01-02-54
❖ อุราพร หนูนารถ และคณะ

➢การคัดเลือกสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัด✪.....715
เพลี้ยไฟ (Cotton thrips) *Thrips palmi* Karny
03-04-54-02-01-01-03-54
❖ อุราพร หนูนารถ และคณะ

➢การคัดเลือกสารป้องกันกำจัดเพลี้ยไก่แจ้ทุเรียน.....719
Allocaridara malayensis Crawford
03-04-54-02-01-01-04-54
❖ ศรุต สุทธิอารมณ์ และคณะ
➢ทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดแมลง✪.....725
ศัตรูสำคัญในมะม่วง
03-04-54-02-01-01-05-54
❖ สราญจิต ไกรฤกษ์ และคณะ
➢การคัดเลือกสารป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้ง.....743
Ferrissia virgata (Cockerell)
03-04-54-02-01-01-06-54
❖ พวงผกา อ่างมณี และคณะ
➢ประสิทธิภาพสารสกัดสะเดา เชื้อแบคทีเรีย✪.....746
และสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดหนอน
กระทู้หอม หนอนชอนใบและเพลี้ยไฟหอม
และผลกระทบต่อแมลงศัตรูธรรมชาติในหอมแดง
03-04-54-02-01-01-07-54
❖ สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น
➢ประสิทธิภาพแบคทีเรีย และสารฆ่าแมลง✪.....753
ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผักหนอนกระทู้ผัก
และหนอนเจาะยอดกะหล่ำและผลกระทบต่อแมลง
ศัตรูธรรมชาติ ในกะหล่ำปลี
03-04-54-02-01-01-08-54
❖ สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น
➢การคัดเลือกสารฆ่าไรบางชนิดในการป้องกันกำจัด✪.....760
ไรแดงแอฟริกัน *Entetranychus africanus* (Tucker)
ในแปลงทดสอบ
03-04-54-02-01-01-09-54
❖ พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ และคณะ

➢การคัดเลือกสารฆ่าไรในการป้องกันกำจัดไรแดง✪.....764
ในแปลงทดสอบ.
03-04-54-02-01-01-10-54
❖ พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ และคณะ
➢ศึกษาความเป็นพิษของมะกล่ำตาหนูและกาก.....768
เมล็ดชาเพื่อใช้เป็นสารกำจัดหนู
03-04-54-02-01-01-11-54
❖ กรแก้ว เสือสะอาด และคณะ
➢ศึกษาความเป็นพิษและประสิทธิภาพของสบู่ดำ✪.....783
Jatropha curcus และมะคำดีควาย *Sapidus emajinatus*
เพื่อใช้เป็นสารกำจัดหอยสาลิกา *Sarika* sp. และหอยดักดาน
03-04-54-02-01-01-12-54
❖ ปราสาททอง พรหมเกิด และคณะ

กิจกรรมย่อย การศึกษาประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดโรคพืช

การทดลอง ➢การศึกษาประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัด.....788
โรคพืชในการป้องกันกำจัดเชื้อรา *Rhizoctonia solani*
สาเหตุโรคพืช
03-04-54-02-01-02-01-54
❖ พีระวรรณ พัฒนวิภาส และคณะ
➢การศึกษาประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัด.....796
โรคพืชในการป้องกันกำจัดเชื้อรา Alternaria
สาเหตุโรคพืช
03-04-54-02-01-02-02-54
❖ ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี และคณะ
➢การศึกษาประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัด.....799
โรคพืชในการป้องกันกำจัดเชื้อราสกุล Pythium
สาเหตุโรคพืช
03-04-54-02-01-02-03-54
❖ ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี และคณะ

➢ประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืช.....803
ในการป้องกันกำจัดเชื้อรา *Curvularia eragrostidis*
สาเหตุโรคพืช
03-04-54-02-01-02-04-54
❖ สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และคณะ
➢ประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อรา✪.....2133
ต่อเชื้อโรคกาบฝักเน่าของข้าวโพด
03-04-54-02-01-02-05-54
❖ ศรีสุข พูนผลกุล และคณะ
➢ผลของสารป้องกันกำจัดโรคพืช metalaxyl✪.....809
ต่อการเจริญของ รา *Phytophthora palmivora*
03-04-54-02-01-02-06-54
❖ อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การศึกษาประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดวัชพืช

การทดลอง ➢การทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืช✪.....820
เพื่อควบคุมธูปฤาษี
03-04-54-02-01-03-01-54
❖ คมสัน นครศรี และคณะ
➢การทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืช✪.....828
เพื่อควบคุมแห้วหมู; (*Cyperus rotundus* Linn.)
03-04-54-02-01-03-02-54
❖ คมสัน นครศรี และคณะ
➢การศึกษาช่วงเวลาการใช้สารกำจัดวัชพืช✪.....838
paraquat ในข้าวโพด
03-04-54-02-01-03-03-54
❖ คมสัน นครศรี และคณะ
➢ทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในการกำจัด✪.....849
สาหร่ายหางกระรอก *(Hydrilla verticillata* (Linn.f.) Royle)
และสาหร่ายพุงชะโด *(Ceratophyllum demersum* Linn.*)*
และผลกระทบต่อสัตว์น้ำ
03-04-54-02-01-03-04-54
❖ คมสัน นครศรี และจรัญญา ปิ่นสุภา

➢ทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภท✪.....858
ใช้ก่อนและหลังการงอกของวัชพืชเพื่อกำจัด
วัชพืชประเภทใบแคบและใบกว้างในแปลงทดสอบ
(ทานตะวัน)
03-04-54-02-01-03-05-54
❖ จรัญญา ปิ่นสุภา และคณะ
➢การศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืช✪.....871
เพื่อควบคุมหญ้าสาบ
03-04-54-02-01-03-06-54
❖ เพ็ญศรี นันทสมสราญ และคณะ
➢การศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อควบคุม.....880
วัชพืชเถาเลื้อยในโรงเรือน
03-04-54-02-01-03-07-54
❖ จรัญญา ปิ่นสุภา และคมสัน นครศรี

กิจกรรม การศึกษาความต้านทานของศัตรูพืชต่อสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช

กิจกรรมย่อย การศึกษาความต้านทานของแมลงและไรศัตรูพืชต่อสารป้องกันกำจัด

การทดลอง ➢ความผันแปรของความต้านทานต่อสาร✪.....888
ฆ่าแมลงในหนอนใยผัก (diamondback moth,
Plutella xylostella (L.)) จากพื้นที่ปลูกต่างๆ
03-04-54-02-02-01-01-54
❖ สุภราดา สุคนธาภิรมย์ ณ พัทลุง และคณะ
➢กลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงในหนอนใยผัก✪.....896
(diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.))
03-04-54-02-02-01-02-54
❖ สุภราดา สุคนธาภิรมย์ ณ พัทลุง และคณะ
➢ความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงในเพลี้ยไฟฝ้าย✪.....904
(cotton thrips, *Thrips palmi* Karny)
03-04-54-02-02-01-03-54
❖ สุภราดา สุคนธาภิรมย์ ณ พัทลุง และคณะ

➢กลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงในเพลี้ยไฟฝ้าย✪.....911
(cotton thrips, *Thrips palmi* Karny)
03-04-54-02-02-01-04-54
❖ สุภราดา สุคนธาภิรมย์ ณ พัทลุง และคณะ

กิจกรรมย่อย การศึกษาความต้านทานของวัชพืชต่อสารป้องกันกำจัด

การทดลอง ➢สถานการณ์การระบาดและการจัดการวัชพืช✪.....917
ต้านทานสารกำจัดวัชพืชกลุ่มยับยั้งการสังเคราะห์แสง
03-04-54-02-02-02-01-54
❖ จรรยา มณีโชติ และคณะ
➢สถานการณ์การระบาดและการจัดการวัชพืช✪.....937
ต้านทานสารกำจัดวัชพืชกลุ่มยับยั้งการทำงาน
ของเอนไซม์ ACCase
03-04-54-02-02-02-02-54
❖ จรรยา มณีโชติ และคณะ
➢สถานการณ์การระบาดและการจัดการวัชพืช✪.....953
ต้านทานสารกำจัดวัชพืชไกลโฟเสท
03-04-54-02-02-02-03-54
❖ จรรยา มณีโชติ และคณะ

กิจกรรม การศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชต่อศัตรูธรรมชาติและสัตว์น้ำ

กิจกรรมย่อย การศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชต่อศัตรูธรรมชาติ

การทดลอง ➢ผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช✪.....963
ที่มีต่อมวนเพชฌฆาตในสภาพห้องปฏิบัติการ
และสภาพกึ่งแปลงทดสอบ
03-04-54-02-03-01-01-54
❖ รัตนา นชะพงษ์ และอุราพร หนูนารถ
➢การศึกษาผลกระทบของสารฆ่าแมลงปากดูด.....971
ต่อแมลงช้างปีกใส
03-04-54-02-03-01-02-54
❖ ประภัสสร เชยคำแหง และคณะ

➢ทดสอบผลของสารป้องกันกำจัดศัตรูอ้อย.....975
ต่อแตนเบียนไข่ *Trichogramma confusum*
03-04-54-02-03-01-03-54
❖ รจนา ไวยเจริญ และคณะ
➢การศึกษาผลกระทบของสารฆ่าแมลง.....985
ต่อประชากรแมงมุมตัวห้ำ
03-04-54-02-03-01-04-54
❖ วิมลวรรณ โชติวงศ์ และคณะ
➢สารฆ่าไรบางชนิดที่ก่อให้เกิดการระบาดมากขึ้น✪.....996
ของไรแดงแอฟริกัน
03-04-54-02-03-01-05-54
❖ อัจฉราภรณ์ ประเสริฐผล และคณะ

กิจกรรมย่อย การศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชต่อสัตว์น้ำ

การทดลอง ➢ผลกึ่งเรื้อรังของสารสกัดจากกากเมล็ดชากำจัด✪.....1000
หอย *Camellia sinensis* L. ที่มีต่อเหงือกและ
เนื้อเยื่อตับของปลานิล *Oreochromis niloticus* L.
03-04-54-02-03-02-01-54
❖ ดาราพร รินทะรักษ์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดวัชพืช

การทดลอง ➢ผลของสารไกลโฟเสท ต่อการเปลี่ยนแปลง.....1013
ประชากรวัชพืช
03-04-54-02-03-03-01-54
❖ จรัญญา ปิ่นสุภา และคณะ
➢ผลของสารพาราควอทต่อการเปลี่ยนแปลง.....1033
ประชากรวัชพืช
03-04-54-02-03-03-02-54
❖ จรัญญา ปิ่นสุภา และคณะ

กิจกรรม เทคนิคการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช

กิจกรรมย่อย เทคนิคการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช

การทดลอง

➢ศึกษาช่วงความถี่ที่เหมาะสมในการพ่นสารฆ่าแมลง✪.....1051
ป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟฝ้ายในกล้วยไม้
03-04-54-02-04-01-01-54
❖ สิริกัญญา ขุนวิเศษ และคณะ

➢ศึกษาประสิทธิภาพของหัวฉีดชนิดต่างๆ.....1058
ประกอบเครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลังแบบใช้แรงลม
ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟศัตรูพริก
03-04-54-02-04-01-02-54
❖ วรวิช สุดจริตธรรมจริยางกูร และคณะ

➢ศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงกลุ่มต่างๆ.....1065
ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผักด้วยวิธีการพ่นสาร
แบบน้ำน้อย
03-04-54-02-04-01-03-54
❖ สุภางคนา ถิรวุธ และคณะ

➢ศึกษาอัตราสารออกฤทธิ์ของสารฆ่าแมลงกลุ่ม.....1073
diamide ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผักในคะน้า
ด้วยวิธีการพ่นสารแบบน้ำน้อย
03-04-54-02-04-01-04-54
❖ สุชาดา สุพรศิลป์ และคณะ

➢ทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงบางชนิดในการ.....1081
ป้องกันกำจัดเพลี้ยจักจั่นฝ้ายและเพลี้ยไฟพริก
โดยวิธีการราดโคน
03-04-54-02-04-01-05-54
❖ สมรวย รวมชัยอภิกุล และอุราพร หนูนารถ

➢การศึกษาและพัฒนาวิธีการพ่นสารเพื่อ.....1087
ป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้ง
03-04-54-02-04-01-06-54
❖ สมรวย รวมชัยอภิกุล และคณะ

➢ทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาว.....2172
ในมะเขือเทศโดยใช้กับถาดเพาะชำ ราดทางดินและ
รองก้นหลุมในแปลงทดสอบ
03-04-54-02-04-01-07-54

❖ สุเทพ สหายา และคณะ

กิจกรรมย่อย เทคนิคการใช้สารป้องกันกำจัดวัชพืช

การทดลอง ➢การใช้เครื่องลูบร่วมกับสารกำจัดวัชพืชชนิด✪.....1091
ใช้ทางใบเพื่อลดความเป็นพิษต่อพืชปลูก
03-04-54-02-04-02-01-54

❖ จรรยา มณีโชติ และคณะ

➢ศึกษาเทคนิคการใช้สารกำจัดวัชพืชเพื่อควบคุม.....1102
ผักปราบในสวนส้ม
03-04-54-02-04-02-02-54

❖ จรรยา มณีโชติ และคณะ

➢ผลของอัตราความเข้มข้นของสารกำจัดวัชพืช✪.....1114
และปริมาณน้ำต่อประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช
โดยใช้เทคนิคการลูบ
03-04-54-02-04-02-03-54

❖ คมสัน นครศรี และคณะ

กิจกรรม การศึกษาประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชชนิดใหม่เพื่อคำแนะนำในพืชส่งออก

กิจกรรมย่อย การศึกษาประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชเพื่อคำแนะนำในพืชผักสวนครัว

การทดลอง ➢การคัดเลือกสารป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาว.....2216
และหนอนชอนใบในผักสวนครัว (กะเพรา โหระพา และแมงลัก)
03-04-54-02-05-01-01-54

❖ สุเทพ สหายา และพวงผกา อ่างมณี

➢การคัดเลือกสารเคมีและสารสกัดจากพืช.....1121
ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูที่สำคัญในมะเขือเปราะ
03-04-54-02-05-01-02-54

❖ สัญญาณี ศรีคชา และคณะ

➢การคัดเลือกของสารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสำคัญ.....1126
ในผักแพวและผักแขยง
03-04-54-02-05-01-03-54
❖ วิภาดา ปลอดครบุรี และคณะ
➢การทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัด✪.....1131
แมลงศัตรูสำคัญในผักชี เพื่อการส่งออก
03-04-54-02-05-01-04-54
❖ ยุทธนา แสงโชติ และคณะ
➢การทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดแมลง✪.....1135
ศัตรูสำคัญในสะระแหน่
03-04-54-02-05-01-05-54
❖ พวงผกา อ่างมณี และคณะ
➢การศึกษาชนิดและทดสอบประสิทธิภาพสาร.....1139
ป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสำคัญในชะพลู
03-04-54-02-05-01-06-54
❖ ศรุต สุทธิอารมณ์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การศึกษาประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชเพื่อคำแนะนำในไม้ดอกไม้ประดับ

การทดลอง ➢การศึกษาชนิดและทดสอบประสิทธิภาพ.....1144
สารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพรรณไม้น้ำ
03-04-54-02-05-02-01-54
❖ วนาพร วงษ์นิคง และคณะ
➢การทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัด✪.....1150
ศัตรูที่สำคัญในไม้ประดับสกุล Hoya
03-04-54-02-05-02-02-54
❖ ยุทธนา แสงโชติ และวาทิน จันทร์สง่า
➢ศึกษาชนิดและการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสำคัญ.....1154
ในไม้ประดับสกุล Euphorbia เพื่อการส่งออก
03-04-54-02-05-02-03-54
❖ บุษบง มนัสมั่นคง และคณะ

➢ประสิทธิภาพสารเคมีในการป้องกันกำจัดแมลง✪.....1165
ศัตรูที่สำคัญในชบา สำหรับการปลูกต่อเพื่อการส่งออก
03-04-54-02-05-02-04-54

❖ สราญจิต ไกรฤกษ์ และคณะ

➢การคัดเลือกสารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสำคัญ.....1173
ในไม้ประดับสกุล Plumeria เพื่อการส่งออก
03-04-54-02-05-02-05-54

❖ วิภาดา ปลอดครบุรี และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยการกักกันพืช 03-04-54-03

กิจกรรม การศึกษาศัตรูพืชในประเทศเพื่อการค้าระหว่างประเทศ

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢การศึกษาชนิดแมลง/ไร/สัตว์ศัตรูพืช✪.....1177
พืชส่งออกได้แก่ มะละกอ และ มะพร้าวน้ำหอม
พืชนำเข้า ได้แก่ ปาล์มน้ำมัน และหัวพันธุ์ไม้ดอก
03-04-54-03-01-00-01-54

❖ ลักขณา บำรุงศรี และคณะ

➢การศึกษาชนิดของโรคพืชของพืชเพื่อการส่งออก.....1198
(มะละกอ และ มะพร้าวน้ำหอม) และพืชนำเข้า
(ปาล์มน้ำมันและหัวพันธุ์ไม้ดอก)
03-04-54-03-01-00-02-54

❖ พรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ

➢การศึกษาชนิดของวัชพืชของพืชส่งออก.....1215
(มะละกอ และ มะพร้าวน้ำหอม) และพืชนำเข้า
(ปาล์มน้ำมัน และหัวพันธุ์ไม้ดอก)
03-04-54-03-01-00-03-54

❖ ศิริพร ซึงสนธิพร และคณะ

กิจกรรม การศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

กิจกรรมย่อย การศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของพืชตามบทเฉพาะกาล

การทดลอง ➢การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช.....1254
สำหรับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดจากประเทศญี่ปุ่น
03-04-54-03-02-01-01-54

❖ ณัฏฐพร อุทัยมงคล และคณะ

➢การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยง.....1418
ศัตรูพืชของผลพลัมสดนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา
03-04-54-03-02-01-02-54

❖ วลัยกร รัตนเดชากุล และคณะ

➢การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช.....1427
ของผลมะม่วงสดนำเข้าจากสาธารณรัฐอินเดีย
03-04-54-03-02-01-03-54

❖ วรัญญา มาลี และคณะ

➢การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยง.....1443
ศัตรูพืชของผลพลับสดนำเข้าจากออสเตรเลีย
03-04-54-03-02-01-04-54

❖ วรัญญา มาลี และคณะ

➢การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยง.....1454
ศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์พิทูเนียนำเข้าจากญี่ปุ่น
03-04-54-03-02-01-05-54

❖ สุคนธ์ทิพย์ สมบัติ และคณะ

➢การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยง.....1465
ศัตรูพืชของผลอะโวคาโดสดนำเข้าจากเครือรัฐออสเตรเลีย
03-04-54-03-02-01-06-54

❖ อลงกต โพธิ์ดี และคณะ

➢การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยง.....1471
ศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากอินโดนีเซีย
03-04-54-03-02-01-07-54

❖ วาสนา ฤทธิ์ไธสง และคณะ

กิจกรรม การศึกษาศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับพืชนำเข้า

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

➢การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์.....1481
ปาล์มน้ำมันนำเข้าจากต่างประเทศ
03-04-54-03-03-00-01-54

❖ สุรพล ยินอัศวพรรณ และคณะ

➢การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์.....1489
พริกนำเข้าจากต่างประเทศ
03-04-54-03-03-00-02-54
❖ ชลธิชา รักใคร่ และคณะ
➢การศึกษาชนิดศัตรูพืชที่ติดมากับหัวพันธุ์.....1497
ทิวลิปนำเข้าจากต่างประเทศ
03-04-54-03-03-00-03-54
❖ วานิช คำพานิช และคณะ
➢การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์พืช✪.....1509
วงศ์กะหล่ำที่นำเข้าจากต่างประเทศ
03-04-54-03-03-00-04-54
❖ ศรีวิเศษ เกษสังข์ และคณะ
➢การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์.....1518
มะเขือยาวนำเข้าจากต่างประเทศ
03-04-54-03-03-00-05-54
❖ ศรีวิเศษ เกษสังข์ และคณะ
➢การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์✪.....1526
ถั่วฝักยาวที่นำเข้าจากต่างประเทศ
03-04-54-03-03-00-06-54
❖ ศรีวิเศษ เกษสังข์ และคณะ
➢การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ด✪.....1534
ผักชีนำเข้าจากต่างประเทศ
03-04-54-03-03-00-07-54
❖ นงพร มาอยู่ดี และคณะ
➢การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ด✪.....1542
ข้าวสาลีนำเข้าจากต่างประเทศ
03-04-54-03-03-00-08-54
❖ นงพร มาอยู่ดี และคณะ

➢การศึกษาชนิดของศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับ✪.....1550
เมล็ดพันธุ์วงศ์แตงที่นำเข้าจากต่างประเทศ
(เมล็ดพันธุ์แตงกวา)
03-04-54-03-03-00-09-54
❖ วันเพ็ญ ศรีชาติ และคณะ
➢การตรวจติดตามเชื้อ Columnea latent viroid.....1570
(CLVd) ที่ติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่นำเข้า
จากต่างประเทศ
03-04-54-03-03-00-10-54
❖ ปริเชษฐ์ ตั้งกาญจนภาสน์ และคณะ
➢การศึกษาชนิดของศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับ✪.....1577
หัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจากต่างประเทศ
03-04-54-03-03-00-11-54
❖ ปรียพรรณ พงศาพิชญ์ และคณะ

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบศัตรูพืชกักกัน

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢การผลิตชุดตรวจสอบ Potato virus A✪.....1583
สำเร็จรูปโดยเทคนิค Gold labeling IgG flow test
03-04-54-03-04-00-01-54
❖ สิทธิศักดิ์ แสไพศาล และชลธิชา รักใคร่

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดศัตรูพืชกักกันเพื่อการส่งออก

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢วิจัยกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัด✪.....1590
แมลงวันทองในผลแก้วมังกรเพื่อการส่งออก
03-04-54-03-05-00-01-54
❖ รัชฎา อินทรกำแหง และคณะ
➢วิจัยกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัด✪.....1596
แมลงวันทองในผลลองกองเพื่อการส่งออก
03-04-54-03-05-00-02-54
❖ รัชฎา อินทรกำแหง และคณะ

➢วิจัยและพัฒนาและวิธีกำจัดแมลงด้วย✪.....1601
ความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันทองในผลมะนาว
เพื่อการส่งออก
03-04-54-03-05-00-03-54
❖ สลักจิต พานคำ และคณะ
➢วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับ✪.....1617
กำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะละกอเพื่อการส่งออก
03-04-54-03-05-00-04-54
❖ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ และคณะ
➢วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อน✪.....1634
สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลลำไยเพื่อการส่งออก
03-04-54-03-05-00-05-54
❖ ชัยณรัตน์ สนศิริ และคณะ

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดศัตรูพืชกักกันเพื่อการส่งออก

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢การเฝ้าระวังไรแดง✪.....1643
Amphitetranychus viennensis (Zacher)
ศัตรูพืชกักกันของแอปเปิ้ล
03-04-54-03-06-00-01-54
❖ พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ และคณะ
➢การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของเพลี้ยแป้ง.....1647
Cataenococcus hispidus Green และ
Planococcus lichi Cox ในลิ้นจี่
03-04-54-03-06-00-02-54
❖ ศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา และคณะ
➢การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของหนอนเจาะผล✪.....1653
Cryptophlebia ombrodelta (lower) ในลิ้นจี่
03-04-54-03-06-00-03-54
❖ บุษบง มนัสมั่นคง และคณะ

➢การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของเพลี้ยไก่แจ้.....1658
(*Trioza erytreae* (Del Guercio) ในแหล่ง
ปลูกส้มจังหวัดเชียงใหม่
03-04-54-03-06-00-04-54
❖ ศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา และคณะ
➢การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของราเขม่าดำ.....1672
Urocystis cepulae ในพื้นที่ปลูกหอมแดงและกระเทียม
เพื่อการส่งออก
03-04-54-03-06-00-05-54
❖ พรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ
➢การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของราสนิม✪.....1679
(tropical maize rust): *Physopella zeae* (Mains)
Cummins & Ramachar ในข้าวโพด
03-04-54-03-06-00-06-54
❖ สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และคณะ
➢การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของราน้ำค้างข้าวโพด.....1686
Peronosclerospora philippinensis
03-04-54-03-06-00-07-54
❖ ชนินทร ดวงสอาด และคณะ
➢การเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของแบคทีเรีย✪.....1690
Pseudomonas syringae pv. *syringae*
ในพื้นที่ปลูกหอม กระเทียม เพื่อการส่งออก
03-04-54-03-06-00-08-54
❖ ทิพวรรณ กันหาญาติ และคณะ
➢การเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของ✪.....1694
Pantoea agglomerans ในพื้นที่ผลิตเมล็ดพันธุ์
ข้าวโพดเพื่อการส่งออก
03-04-54-03-06-00-09-54
❖ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ

➢การเฝ้าระวังการแพร่ระบาดโรคไวรัสของ✪.....1699
มันฝรั่งที่เกิดจากเชื้อ PVA, PVM, PVT, PVX, PVS
และ PLRV
03-04-54-03-06-00-10-54
❖ สิทธิศักดิ์ แสไพศาล และคณะ

โครงการวิจัย อนุกรมวิธาน ชีววิทยาและเทคนิคการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ
03-04-54-04

กิจกรรม อนุกรมวิธาน ชีววิทยา และเทคนิคการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ

กิจกรรมย่อย อนุกรมวิธาน ชีววิทยา นิเวศวิทยาของแมลง ไร สัตว์ศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติ

การทดลอง ➢อนุกรมวิธานเพลี้ยอ่อนวงศ์ย่อย Hormaphidinae.....1705
03-04-54-04-01-01-01-54
❖ ลักขณา บำรุงศรี และคณะ
➢อนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนเผ่า Macrosiphini✪.....1708
03-04-54-04-01-01-02-54
❖ ลักขณา บำรุงศรี และคณะ
➢อนุกรมวิธานเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus*.....1712
03-04-54-04-01-01-03-54
❖ ชลิดา อุณหวุฒิ และคณะ
➢อนุกรมวิธานเพลี้ยหอยสกุล *Pulvlnaria*.....1717
03-04-54-04-01-01-04-54
❖ ชมัยพร บัวมาศ และคณะ
➢อนุกรมวิธานแมลงหวี่ขาวในวงศ์ย่อย Aleurodicinae.....1721
03-04-54-04-01-01-05-54
❖ สุนัดดา เชาวลิต และคณะ
➢อนุกรมวิธานเพลี้ยไฟวงศ์ย่อย Panchaetothripinae.....1729
03-04-54-04-01-01-06-54
❖ อิทธิพล บรรณาการ และคณะ
➢อนุกรมวิธานผีเสื้อกลางคืนวงศ์ย่อย Pyraustinae.....1732
03-04-54-04-01-01-07-54
❖ สุนัดดา เชาวลิต และคณะ

➢อนุกรมวิธานแมลงวันผลไม้ทองสกุล *Bactrocera*✪.....1742
จากสารล่อแมลงในเขตภาคใต้ของประเทศไทย
03-04-54-04-01-01-08-54
❖ ยุวรินทร์ บุญทบ และคณะ
➢อนุกรมวิธานของตัวอ่อนแมลงวันทองสกุล *Bactrocera*✪....1759
03-04-54-04-01-01-09-54
❖ ชฎาภรณ์ คงแก้วศรี และคณะ
➢อนุกรมวิธานแมลงวันผลไม้สกุล *Dacus*✪.....1762
03-04-54-04-01-01-10-54
❖ ยุวรินทร์ บุญทบ และคณะ
➢อนุกรมวิธานและชีววิทยาเพลี้ยแป้ง✪.....1772
Pseudococcus jackbeardsleyi Gimpel & Miller
03-04-54-04-01-01-11-54
❖ ชลิดา อุณหวุฒิ และคณะ
➢การศึกษาอนุกรมวิธานแมงมุมสกุล *Argiope*✪.....1777
03-04-54-04-01-01-12-54
❖ วิมลวรรณ โชติวงศ์ และคณะ
➢ชนิดของมดที่อาศัยร่วมกับเพลี้ยแป้งสกุล✪.....1782
Phenacoccus
03-04-54-04-01-01-13-54
❖ ชมัยพร บัวมาศ และคณะ
➢ชีววิทยา การเข้าทำลาย ฤดูกาลระบาดของ.....1786
แมลงวันทองชนิด *Bactrocera cucurbitae* (Coquillet)
03-04-54-04-01-01-14-54
❖ สัญญาณี ศรีคชา และคณะ
➢สัณฐานวิทยาของเปลือกและกายวิภาคศาสตร์.....1791
ระบบสืบพันธุ์ของหอยเจดีย์เล็ก *Lamellaxis gracillis*
และหอยเจดีย์ใหญ่ *Prosopea walkeri* (Benson)
03-04-54-04-01-01-15-54
❖ ดาราพร รินทะรักษ์ และคณะ

➢ความชุกชุมและแหล่งอาศัยของนกแสก.....1798
(*Tytoalba javanica* (Gmelin, 1788)) ในพื้นที่
ภาคกลางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
03-04-54-04-01-01-16-54
❖ เกรียงศักดิ์ หามะฤทธิ์ และคณะ
➢อนุกรมวิธานไส้เดือนฝอย สกุล Steinernema.....1805
และ Heterorhabditis
03-04-54-04-01-01-17-54
❖นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล
➢ความหลากชนิดของสัตว์ศัตรูธรรมชาติของสัตว์.....1816
ฟันแทะในพื้นที่ปลูกพืชไร่บนพื้นที่เกษตรที่สูงภาคเหนือ
03-04-54-04-01-01-18-54
❖ เกรียงศักดิ์ หามะฤทธิ์ และคณะ
➢ความหลากชนิดและประชากรของหอยทากและ✪.....1822
ทากในโรงเรือนปลูกพืช
03-04-54-04-01-01-19-54
❖ ปราสาทอง พรหมเกิด และคณะ

กิจกรรมย่อย อนุกรมวิธาน ชีววิทยา นิเวศวิทยาของจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช

การทดลอง ➢อนุกรมวิธานและชีววิทยาของรา✪.....1829
Cladosporium สาเหตุโรค
03-04-54-04-01-02-01-54
❖ ชนินทร ดวงสอาด และคณะ
➢อนุกรมวิธานและพืชอาศัยของรา Alternaria✪.....1834
สาเหตุโรคพืช
03-04-54-04-01-02-02-54
❖ สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และคณะ
➢อนุกรมวิธานและชีววิทยาของราสกุล✪.....1841
Choanephora สาเหตุโรคเน่าเปียก (Wet rot)
03-04-54-04-01-02-03-54
❖ ธารทิพย ภาสบุตร และคณะ

➢การจำแนกชนิดของราสกุล Botryosphaeria✪.....1848
สาเหตุโรคพืชโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและ
ลักษณะทางพันธุกรรม
03-04-54-04-01-02-04-54
❖ พรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ
➢การศึกษาชีววิทยาและนิเวศวิทยาของรา.....1857
Phytophthora capsici
03-04-54-04-01-02-05-54
❖ อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ และคณะ
➢การศึกษาชีววิทยาและนิเวศวิทยาของรา.....1868
Didymella bryoniae (Auersw.) Rehm.
03-04-54-04-01-02-06-54
❖ ทัศนาพร ทัศคร และคณะ
➢การจำแนกชนิดและเอกลักษณ์ทางพันธุกรรม.....1876
ของ Raceแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum*
ที่พบในประเทศไทย
03-04-54-04-01-02-07-54
❖ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ
➢การจำแนกชนิดแบคทีเรีย Erwinia สาเหตุโรคเน่าเละ
โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและความสัมพันธ์
ทางพันธุกรรม
03-04-54-04-01-02-08-54
❖ รุ่งนภา คงสุวรรณ์ และคณะ
➢อนุกรมวิธานและความสามารถในการทำให้เกิดโรค✪.....1883
ของไส้เดือนฝอย migratory endoparasitic nematodes
03-04-54-04-01-02-09-54
❖ ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ
➢อนุกรมวิธานและชีววิทยาของไส้เดือนฝอยสกุล✪.....1887
Radopholus
03-04-54-04-01-02-10-54
❖ นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และช่อทิพย์ ศัลยพงษ์

➢การจำแนกชนิดของไวรัสกลุ่ม Tospovirus✪.....1895
สาเหตุโรคพืชที่สำคัญในประเทศไทย
03-04-54-04-01-02-11-54
❖ เยาวภา ตันติวานิช
➢การจำแนกชนิดของราสกุล Colletotrichum✪.....1900
สาเหตุโรคพืชโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและ
ลักษณะทางพันธุกรรม
03-04-54-04-01-02-12-54
❖ พรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ

กิจกรรมย่อย อนุกรมวิธาน ชีววิทยา นิเวศวิทยาของวัชพืช

การทดลอง

➢ชีววิทยาและ การแพร่กระจายของวัชพืชสกุล.....1909
ผักแว่น (Marsilea) และศักยภาพการเป็นวัชพืช
ของผักแว่นต่างถิ่น
03-04-54-04-01-03-01-54
❖ ศิริพร ซึงสนธิพร และธัญชนก จงรักไทย
➢ชีววิทยาและการแพร่ระบาดของหญ้าอีหนาว,✪.....1915
Digera muricata (L.) Mart.
03-04-54-04-01-03-02-54
❖ ศิริพร ซึงสนธิพร และคณะ
➢สัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชวงศ์ผักโขม.....1918
Amaranthaceae
03-04-54-04-01-03-03-54
❖ ภัทร์พิชชา รุจิรพงศ์ชัย และคณะ
➢สัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชสกุลน้ำนมราชสีห์.....1922
Euphorbia
03-04-54-04-01-03-04-54
❖ ธัญชนก จงรักไทย และคณะ
➢จำแนกชนิดวัชพืชในพืชสมุนไพร 10 พืช.....1926
03-04-54-04-01-03-05-54
❖ เพ็ญศรี นันทสมสราญ และคณะ

➢ศึกษาชนิดวัชพืชที่เป็นพืชอาศัยของเพลี้ยแป้ง✪.....1936
สกุล Phenacoccus
03-04-54-04-01-03-06-54

❖ จรรยา มณีโชติ และคณะ

➢ชีววิทยาและการแพร่กระจายของดาดตะกั่ว✪.....1954
03-04-54-04-01-03-07-54

❖ เสริมศิริ คงแสงดาว และคณะ

➢ชีววิทยาและนิเวศวิทยาของสาบม่วง✪.....1965
(Praxelis); *Praxelis clematidea* R.M King & H. Rob.
03-04-54-04-01-03-08-54

❖ วนิดา ธารถวิล และคณะ

➢ศักยภาพในการแข่งขันของจิงจ้อในพืชหลัก.....1975
03-04-54-04-01-03-09-54

❖ สิริชัย สาธุวิจารณ์ และวนิดา ธารถวิล

กิจกรรม วิจัยความหลากชนิดของแมลงเพื่อเก็บ - รักษาในพิพิธภัณฑ์

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

➢ความหลากชนิดของแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์✪.....1983
ในเขตสงวนชีวมณฑลสะแกราช
03-04-54-04-02-00-01-54

❖ ลักขณา บำรุงศรี และคณะ

➢ชนิดของแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์.....1986
ในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย
03-04-54-04-02-00-02-54

❖ ชฎาภรณ์ เฉลิมวิเชียรพร และคณะ

➢ความหลากชนิดของแมลงปออันดับโอโดนาทา.....1991
(Odonata) ในภาคเหนือของประเทศไทย
03-04-54-04-02-00-03-54

❖ อิทธิพล บรรณาการ และคณะ

➢ความหลากชนิดของตั๊กแตนหนวดสั้นวงศ์ Acrididae.....1995
ในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย
03-04-54-04-02-00-04-54

❖ สุนัดดา เชาวลิต และคณะ

➢ความหลากชนิดของมดในพื้นที่ศูนย์วิจัยและ.....2001
พัฒนาการเกษตรตาก และป่าธรรมชาติของจังหวัดตาก
03-04-54-04-02-00-05-54

❖ ชมัยพร บัวมาศ และคณะ

➢ความหลากชนิดของด้วงงวงในเขตสงวน.....2005
ชีวมณฑลสะแกราช
03-04-54-04-02-00-06-54

❖ อิทธิพล บรรณาการ และคณะ

➢ความหลากชนิดของหิ่งห้อยในเขตภาคใต้.....2008
ของประเทศไทย
03-04-54-04-02-00-07-54

❖ ยุวรินทร์ บุญทบ และคณะ

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการวินิจฉัยและตรวจสอบศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ

กิจกรรมย่อย การพัฒนาเทคโนโลยีการตรวจสอบศัตรูพืชโดยเซรุ่มวิทยา

การทดลอง

➢การผลิตแอนติซีรัมของไวรัส.....2017
Pineapple mealybug wilt-associated virus-1
สาเหตุโรคเหี่ยวสับปะรดโดยใช้
ระบบเซลล์แบคทีเรีย
03-04-54-04-03-01-01-54

❖ วันเพ็ญ ศรีทองชัย และคณะ

➢การผลิตแอนติซีรัมของเชื้อไวรัส Bean yellow.....2028
mosaic virus
03-04-54-04-03-01-02-54

❖ สิทธิศักดิ์ แสไพศาล และวันเพ็ญ ศรีทองชัย

➢การผลิตชุดตรวจสอบแบบ Lateral flow test strip✪.....2034
เพื่อตรวจสอบไวรัส Cucumber mosaic virus
03-04-54-04-03-01-03-54

❖ สิทธิศักดิ์ แสไพศาล และวันเพ็ญ ศรีทองชัย

➢การวิจัยและพัฒนา การผลิตชุดตรวจสอบ.....2042
เชื้อไวรัส Sugarcane mosaic virus subgroup
Maize dwarf mosic virus
03-04-54-04-03-01-04-54

❖ เยาวภา ตันติวานิช และศิวิไล ลาภบรรจบ

➢การพัฒนาชุดตรวจสอบแบบ.....2048
Lateral flow test strip เพื่อตรวจสอบแบคทีเรีย
Burkholderia gladioli pv. Gladioli
03-04-54-04-03-01-05-54

❖ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ

กิจกรรมย่อย การพัฒนาเทคโนโลยีการตรวจสอบศัตรูพืชโดยอณูชีววิธี

การทดลอง

➢การตรวจสอบเชื้อ *Candidatus Liberibacter* species✪.....2255
สาเหตุโรคฮวงลองบิง (กรีนนิ่ง) ด้วยเทคนิค Real-time PCR
03-04-54-04-03-02-01-54

❖ ดารุณี ปุญญพิทักษ์ และคณะ

➢การการตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย
Xanthomonas axonopodis pv. citri.....2054
ด้วยเทคนิค Real-time PCR
03-04-54-04-03-02-02-54

❖ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ

➢การตรวจสอบไวรัส Pineapple mealybug.....2061
wilt-associated virus-1 และ 2 สาเหตุโรคเหี่ยว
สับปะรดโดยเทคนิค multiplex PCR
03-04-54-04-03-02-04-54

❖ วันเพ็ญ ศรีทองชัย และคณะ

➢การตรวจสอบเชื้อไฟโตพลาสมา สาเหตุโรคพุ่มแจ้.....2072
(witches' broom) ของมันสำปะหลัง โดยเทคนิค
ทางอณูชีววิทยา
03-04-54-04-03-02-06-54

❖ กาญจนา วาระวิชะนี และคณะ

➢พัฒนาเทคนิคการตรวจสอบเชื้อไฟโตพลาสมา.....2078
สาเหตุโรคใบขาวอ้อย ด้วยกรดนิวคลีอิกตัวตรวจ
03-04-54-04-03-02-07-54

❖ กาญจนา วาระวิชะนี และคณะ

กิจกรรมย่อย การพัฒนาเทคโนโลยีการตรวจสอบศัตรูธรรมชาติโดยอณูชีววิธี

การทดลอง ➢การจำแนกสายพันธุ์ *Bacillus thuringiensis* 2083
ที่พบในประเทศไทยโดยเทคนิค PCR
03-04-54-04-03-03-01-54

❖ ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การพัฒนาเทคนิคอย่างง่ายและรวดเร็วในการแยกศัตรูพืชเพื่อการวินิจฉัย

การทดลอง ➢การพัฒนาชุดตรวจสอบและเทคนิคการแยก.....2089
ไส้เดือนฝอยในรากพืช
03-04-54-04-03-04-01-54

❖ นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการคุ้มครองพันธุ์พืช

โครงการวิจัย ศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ เพื่อประโยชน์ในการคุ้มครองพันธุ์พืช ตามกฎหมายคุ้มครองพันธุ์พืช พ.ศ.2542 03-11-54-02

กิจกรรม -

กิจกรรมย่อย ศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์และการจำแนกไม้ประดับพื้นเมือง ที่มีศักยภาพทางเศรษฐกิจ

การทดลอง ➢สำรวจ รวบรวม พรรณไม้น้ำเพื่อการปกป้อง✪.....2097
ไม้ท้องถิ่น
03-11-54-02-00-03-03-54

❖ ศิริพร ซึงสนธิพร และธัญชนก จงรักไทย

กิจกรรมย่อย ศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์และการจำแนกเมล็ดพืชที่มีศักยภาพ ทางการเกษตร

การทดลอง ➢ศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์และจำแนกเมล็ดพืช✪.....2100
สกุล Cyperus

- สัณฐานวิทยาของเมล็ดพืชสกุลกก (Cyperus)

❖ ศิริพร ซึงสนธิพร และธัญชนก จงรักไทย

โครงการวิจัยเร่งด่วน

โครงการวิจัย การผลิตและการใช้เชื้อจุลินทรีย์และไส้เดือนฝอยควบคุมแมลงศัตรูพืช

กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้เชื้อราควบคุมแมลงศัตรูพืช

การทดลอง ➢ศึกษาอัตราการใช้เชื้อราเขียว✪.....2104

Metarhizium anisopliae (Metsch) Sorokin

ในการควบคุมหนอนด้วงแรดมะพร้าว

❖ เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ และคณะ

หมายเหตุ : ✪ ชื่อการทดลองที่นักวิจัยแจ้งไม่ตรงกับชื่อการทดลองจากกองแผนงาน

⌘ มีเพียงการทดลองเดียวแต่นักวิจัยส่งรายงานผลงานวิจัยซ้ำกันสองเรื่องจึงกำหนดเพิ่มเติมการทดลองในรหัส 8 คู่ด้วยตัวเลข (1) และ (2)

การเฝ้าระวังไรแดง *Amphitetranychus viennensis* (Zacher) ศัตรูพืชกักกันของแอปเปิ้ล

Surveillance of *Amphitetranychus viennensis* (Zacher) Quarantine Pest of Apple

พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ อัจฉราภรณ์ ประเสริฐผล มานิตา คงชื่นสิน

กลุ่ม กีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ทำการทดลองเก็บตัวอย่างใบพืชที่เป็นพืชอาศัยของไรแดง *Amphitetranychus veinnensis* (Zacher) บนสถานีทดลองเกษตรหลง อ่างขาง ขุนวาง และ ขุนห้วยแห้ง จังหวัดเชียงใหม่ เริ่มดำเนินการในเดือนตุลาคม 2554 โดยเก็บตัวอย่างใบพืช 10. ต่อต้น จำนวน 10 ต้น/แปลง พบไรศัตรูพืชคือ ไร *Oligonychus biharensis* (Hirst) บนสาลี่ *Tetranychus urticae* Koch บนแอปเปิ้ล ไร *Panonychus elongates* Manson บนท้อ แต่ยังไม่พบไรแดง *Amphitetranychus veinnensis* (Zacher) จึงทำการเก็บตัวอย่างต่อไป

คำนำ

ไรแดง *Amphitetranychus veinnensis* (Zacher)จัดเป็นศัตรูพืชที่สำคัญของไม้ผลเมืองหนาว เช่น แอปเปิ้ล สาลี่ ท้อ บ๊วย เชอรี่ และราสเบอรี่ มีพืชอาศัยมากกว่า 40 ชนิด และแพร่กระจายไปในประเทศต่าง ๆ ทั่วโลกมากกว่า 20 ประเทศ (Bolland et al.,1998) มักพบไรแดง *A. veinnensis* อยู่รวมกันเป็นกลุ่มบ้นต้นแอปเปิ้ลในส่วนล่างของทรงพุ่ม โดยอาศัยดูดกินน้ำเลี้ยงอยู่ใต้ใบ หลังการผสมพันธุ์ ตัวเต็มวัยเพศเมียจะพักตัวและอาศัยอยู่ใต้เปลือกไม้ เมื่อถึงฤดูใบไม้ผลิก็จะเลิกพักตัว โดยประชากรจะเริ่มเพิ่มมากขึ้นในช่วงเดือน พฤษภาคม จนถึงเดือนมิถุนายน และจะพบความเสียหายมากขึ้นจนถึงเดือนตุลาคม จำนวนรุ่นต่อปีจะผันแปรไปในแต่ละท้องที่ เช่นในอิหร่านจะพบประมาณ 4-6 รุ่นต่อปี ในเยอรมันพบ 5-6 รุ่นต่อปี ในตุรกีพบมากถึง9-10 รุ่นต่อปี (CABI.2003)

Ji *et al.*,(2005) ทดสอบหาตารางชีวิตในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิต่าง ๆ 5 ระดับ พบว่า ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ประชากรของไร *A. veinnensis* จะเพิ่มเป็น 2 เท่าใน12.2 วัน มีชั่วอายุขัยสั้นที่สุดประมาณ 32.3 วัน ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และมีชั่วอายุขัยยาวที่สุดประมาณ 105.6 วันที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ตัวเมียสามารถวางไข่ได้ 17ฟอง/ตัว/วันที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส วงจรชีวิตจากไข่เป็นตัวเต็มวัยที่อุณหภูมิ 22-25 องศาเซลเซียส ประมาณ 12-14.5 วัน (CABI. 2003)

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-06-00-01-54

ไร *A. veinnensis* สามารถปรับตัวให้เข้ากับพืชอาหารใหม่ได้โดยใช้เวลาเพียง 2-3 รุ่นเท่านั้น ซึ่งเร็วกว่า ไรสองจุด (*Tetranychus urticae* Koch) ต้องใช้เวลาถึง 10 รุ่นจึงสามารถปรับตัวให้เข้ากับพืชอาหารใหม่ได้ Kasap (2004) ทดสอบการขยายพันธุ์ของไร *A. veinnensis* บนแอปเปิ้ลสายพันธุ์ต่าง ๆ 5 สายพันธุ์ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65 $\pm$ 10 % พบว่าสายพันธุ์ Golden Delicious มีอัตราการขยายพันธุ์สูงสุด พลอยชมพูและคณะ. (2550) ทดสอบหาอัตรการอยู่รอดและเปอร์เซ็นต์การฟักไข่ของไร *A. veinnensis* บนพืชอาหาร 7 ชนิด พบว่า สามารถอยู่รอดจนครบวงจรชีวิต และมี %การฟักของไข่สูงถึง 100% บนใบ ท้อและพลัมป่า ส่วนบนใบกุหลาบ สามารถอยู่รอดจนเป็นตัวเต็มวัยได้เพียง 4.17% แต่ ไม่สามรถขยายพันธุ์ได้

พลอยชมพู และคณะ (2550) ตรวจพบไรแดง *A. veinnensis* บนผลแอปเปิ้ลที่ส่งมาจากประเทศจีน โดยหลบซ่อนอยู่ในสภาพพักตัวที่ขั้วผลแอปเปิ้ล สามารถอดอาหารได้นาน เมื่อมาพบสภาพ และพืชอาหารที่เหมาะสมก็จะออกจากสภาพพักตัว เริ่มกินอาหารและเริ่มขยายพันธุ์ระบาดทำความเสียหายให้กับพืชได้ โดยที่ไรแดง *A. veinnensis* นี้ยังไม่มีรายงานการพบในประเทศไทยมาก่อน ดังนั้นจึงควรมีการสำรวจและเฝ้าระวังเพื่อป้องกันไม่ให้เข้ามาระบาดทำความเสียหายให้กับพืชเศรษฐกิจในประเทศไทยได้

วิธีดำเนินงาน

อุปกรณ์

- ต้นท้อ ต้นแอปเปิ้ล และ เนคทารีน ในเขตที่สูง จ.เชียงใหม่
- พู่กัน, เข็มเขี่ย, ถุงกระดาษเก็บตัวอย่าง
- กล้อง stereomicroscope, hand lens
- เครื่องหาพิกัด (GPS)
- อุปกรณ์บันทึกข้อมูล

วิธีการ

พื้นที่ : กำหนดพื้นที่ปลูกท้อ แอปเปิ้ล และ เนคทารีน ในภาคเหนือ ในเขตจังหวัด เชียงใหม่ ในเขตพื้นที่สถานีทดลองเกษตรหลวงอ่างขาง สถานีทดลองเกษตรหลวงขุนวาง สถานีทดลองเกษตรหลวงขุนห้วยแห้ง สุ่มสำรวจในแหล่งที่มีพืชอาศัยของไรแดง *Amphitetranychus viennensis* โดยสุ่มสำรวจบนใบท้อ ใบแอปเปิ้ล และ ใบเนคทารีน

ช่วงเวลาการสำรวจ : สุ่มสำรวจทุก 2 เดือน

ขนาดตัวอย่าง : สุ่มเก็บใบท้อ ใบแอปเปิ้ล และ ใบเนคทารีน จากต้น ต้นละ 10 ใบ จำนวน 10 ต้นต่อจุด จำนวน 4 จุด

นำมาตรวจหา ไรแดง *Amphitetranychus viennensis* บนใบที่เก็บมาภายใต้กล้องแบบ stereo นำตัวอย่างที่ได้มา จัดทำสไลด์ แล้วทำการจำแนกชนิด ภายใต้กล้อง compound โดยใช้คู่มือในการจำแนกไร

บันทึกข้อมูล

1) บันทึกจำนวนของไรแดงที่พบ และพืชที่พบ

2) บันทึกพิกัดพื้นที่ (สภาพทางภูมิศาสตร์) ชื่อที่อยู่ ที่ตั้งของแปลง วัน และเวลา ที่เก็บตัวอย่าง

3) บันทึกข้อมูลพืช สภาพของต้นพืช และบันทึกภาพ

4) บันทึกข้อมูลสภาพอากาศ

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2553 สิ้นสุด กันยายน 2556

สถานที่ สถานีทดลองเกษตรหลวง อ่างขาง ขุนห้วยแห้ง ขุนวางจังหวัดเชียงใหม่ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจเก็บตัวอย่างใบพืชที่เป็นพืชอาศัยของไรแดง *Amphitetranychus veinnensis* (Zacher) คือ แอปเปิ้ล ท้อ สาลี่ ในสถานีทดลองเกษตรหลวงทั้ง 3 แห่ง พบไรที่เป็นศัตรูพืชบนพืชต่าง ๆ คือ

สาลี่ พบ ไร *Oligonychus biharensis* (Hirst)

แอปเปิ้ล พบ ไร *Tetranychus urticae* Koch

ท้อ พบ ไร *Panonychus elongates* Manson

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ยังไม่พบไรแดง *Amphitetranychus veinnensis* (Zacher) ในพืชที่คาดว่าเป็นพืชอาศัยในเขตที่ทำการเก็บตัวอย่าง จึงทำการทดลองเก็บตัวอย่างต่อไป

เอกสารอ้างอิง

พลอยชมพู กรวิภาสเรือง. มานิตา คงชื่นสิน. พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ และ วัฒนา จารณศรี. 2550. ไรศัตรูพืชที่สำคัญของพืชนำเข้าจากต่างประเทศ. หน้า 1-16 ใน:การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติครั้งที่ 8.วันที่ 20-22 พฤศจิกายน 2550. โรงแรมอัมรินทร์ลากูน อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก.

Bolland, H.R., J. Gutierrez and C.H.W. Flechtman. 1988. World Catalouge of the Spider Mite Family (Tetranychidae). Koninklijke Brill Nv. Netherland. 392 pp.

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

Ji J, Zhang Y X, Chen X and Lin J Z. 2005. Laboratory population life table of *Amphitetranychus veinnensis* (Zacher) (Acari: Tetranychidae) at different temperatures. Systematic & Applied Acarology. (10), 7-10. (Abstract).

Kasap. I. 2004. Life history of hawthorn spider mite *Amphitetranychus viennensis* (Acarina: Tetranychidae) on various apple cultivars and at different temperatures. Experiment and Applied Acarology. 31: 1-2 (Abstract).

การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของเพลี้ยแป้ง *Cataenococcus hispidus* Green และ *Planococcus litchi* Cox ในลิ้นจี่

Surveilance on mealybug, *Cataenococcus hispidis* Green and *Planococcus litchi* Cox on Litchi

ศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา[1/] บุษบง มนัสมั่นคง[1/]

ชมัยพร บัวมาศ[2/] วนาพร วงษ์นิคง[1/]

[1/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

สถานการณ์การแพร่ระบาดของเพลี้ยแป้ง, *Cataenococcus hispidus* Green และ *Planococcus litchi* Cox ในลิ้นจี่ ดำเนินการสำรวจในแหล่งปลูกจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย พะเยา น่าน และสมุทรสงคราม ในระยะเก็บเกี่ยวผลลิ้นจี่ โดยสุ่มสำรวจแมลงในแปลงโดยวิธีการสุ่มอย่างง่าย (simple random sampling) คือ สุ่มตัดช่อผลลิ้นจี่ต้นละ 4 ทิศๆ ละ 1 ช่อ จำนวน 10 ต้น/แปลง ดำเนินการสำรวจระหว่างเดือนเมษายน-พฤษภาคม 2554 ผลการสำรวจจากแหล่งปลูกลิ้นจี่ จังหวัดสมุทรสงคราม จำนวน 5 แปลง จังหวัดน่าน จำนวน 9 แปลง จังหวัดพะเยา จำนวน 12 แปลง จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 14 แปลง และ จังหวัดเชียงราย จำนวน 7 แปลง รวม 47 แปลง จากผลผลิต 15,194 ผล น้ำหนัก 234.88 กิโลกรัม พบเพลี้ยแป้งทุกจังหวัดแหล่งผลิตลิ้นจี่ที่เข้าทำการสำรวจ โดยจากการจำแนกเบื้องต้นพบว่าเป็นชนิด *Ferrisia vergata*, *Planococcus* sp. และ *Pseudococcus* sp. และมีเพลี้ยแป้งที่ยังจำแนกชนิดไม่ได้ ซึ่งทุกตัวอย่างต้องรอการยืนยันชนิดจากนักอนุกรมวิธานอีกครั้ง

คำหลัก : การเฝ้าระวังศัตรูพืช (surveilance) ลิ้นจี่ (Litchi) เพลี้ยแป้ง (Mealy bug) *Cataenococcus hispidus* Green *Planococcus litchi* Cox

---

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-06-00-02-54

คำนำ

จากการเปิดเสรีการค้าภายใต้องค์การการค้าโลก (World Tread Organization, WTO) ซึ่งได้ยกเลิกมาตรการกีดกันทางภาษี และให้ใช้มาตรการทางสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (SPS Agreement) เป็นมาตรการทดแทน เพื่อให้ประเทศสมาชิกปกป้องมิให้ศัตรูพืชที่อาจจะติดไปกับสินค้าพืชจากประเทศหนึ่งไปสู่อีกประเทศหนึ่ง เป็นการอำนวยความสะดวกด้านการค้าระหว่างประเทศสมาชิก ประเทศไทยเป็นประเทศสมาชิกขององค์การการค้าโลก จึงต้องดำเนินการเพื่อเตรียมความพร้อมในด้านวิทยาศาสตร์ เพื่อใช้ในการต่อรองทางการค้าสินค้าเกษตรระหว่างประเทศ กรมวิชาการเกษตรโดยสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชซึ่งเป็นหน่วยงานอารักขาพืชแห่งชาติ จึงมีความจำเป็นต้องเตรียมความพร้อมด้านข้อมูล ทางวิทยาศาสตร์ทางด้านพืชดังกล่าวเพื่อใช้ในการเจรจาการค้าสินค้าเกษตรภายใต้เงื่อนไขขององค์การการค้าโลก การสำรวจ ติดตามและตรวจสอบศัตรูพืชเป็นงานพื้นฐานที่มีความจำเป็นสำหรับใช้ในการดำเนินการด้านอื่นๆ อีก เช่น Pest Risk Analysis, Establishment for pest free area, Pest list, Pest report เป็นต้น ซึ่งแนวทางการดำเนินงานจะสอดคล้องกับ ISPMs (International Standard for Phytosanitary Measures) ฉบับที่ 6 (Guidelines for Surveillance)

ลิ้นจี่เป็นพืชเศรษฐกิจที่มีศักยภาพในการผลิตและการตลาดสูง โดยเฉพาะตลาดส่งออกทั้งในรูปผลไม้สด ผลไม้แช่แข็ง และผลิตภัณฑ์แปรรูป สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2553) ได้รายงานว่าพื้นที่การปลูกลิ้นจี่ รวมทั้งประเทศ 151,260 ไร่ พื้นที่ปลูกมากที่สุด คือ จ.เชียงใหม่ 50,151 ไร่ รองลงมา จ.เชียงราย 32,269 ไร่ จ.พะเยา 21,078 ไร่ จ.น่าน 18,997 ไร่ และ จ.สมุทรสงคราม 10,477 ไร่ ตามลำดับ หรือคิดเป็น 87.91% ของพื้นที่ปลูกลิ้นจี่ทั้งประเทศ ลิ้นจี่สด ตลาดสำคัญอยู่เฉพาะในภูมิภาคใกล้เคียง เช่น จีน ฮ่องกง อินโดนีเซีย สหรัฐอาหรับอิมิเรต เป็นต้น ประเทศที่พัฒนาโดยเฉพาะประเทศในแถบยุโรปและอเมริกามักจะไม่ค่อยรับซื้อ เนื่องจากกลัวปัญหาด้านโรคแมลงที่ติดไปกับผลลิ้นจี่ ปี 2548 ประเทศไทยได้ยื่นขอเปิดตลาดผลไม้ไทยไปสหรัฐอเมริกา 6 ชนิด คือ ลำไย ลิ้นจี่ มะม่วง เงาะ สับปะรด และมังคุด และจากการทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชของลำไย พบ *E. hispidus* และ *P. litchi* เป็นศัตรูพืชกักกันของสหรัฐอเมริกา (CABI, 2003 and Ben-Dov,1994) นอกจากสหรัฐอเมริกา เพลี้ยแป้งทั้งสองชนิดยังพบเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ เกาหลีใต้ และไต้หวัน (DAFF, 2011; NZMAF, 2011; anonymous, 2006; Bureau of Animal and Plant Health Inspection and Quarantine, 2004) แต่จากการสืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับศัตรูลิ้นจี่ในประเทศที่ผ่านมาไม่เคยมีรายงานว่าศัตรูพืชดังกล่าวเข้าทำลายลิ้นจี่ในประเทศไทยมาก่อน ดังนั้นการสำรวจเพื่อตรวจหาเพลี้ยแป้งทั้งสองชนิด ในแหล่งปลูกลิ้นจี่ที่สำคัญเพื่อการส่งออก จึงมีความจำเป็นที่ต้องดำเนินการ ซึ่งผลการศึกษาดังกล่าวสามารถนำไปใช้เป็นหลักฐานอ้างอิงทางวิชาการ ในการขอเปิดตลาดลิ้นจี่กับประเทศคู่ค้าต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แปลงลิ้นจี่
2. กรรไกรตัดกิ่ง
3. ถังน้ำแข็ง
4. เครื่องกำหนดพิกัด (GPS)
5. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างแมลง เช่น กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก ยางรัดของ vial แอลกอฮอล์ 80% พู่กัน เข็มเขี่ย Label เป็นต้น
6. อุปกรณ์เก็บข้อมูล เช่น กล้องถ่ายรูป, คอมพิวเตอร์, กระดาน, ดินสอ, ปากกาเมจิก เป็นต้น

วิธีการ

ปี 2554

ดำเนินการสุ่มเลือกพื้นที่การสำรวจในแหล่งปลูกลิ้นจี่ทั่วประเทศ และแปลงลิ้นจี่ในแต่ละจังหวัด โดยใช้วิธี purposive sampling ได้พื้นที่การสุ่มสำรวจ ดังนี้ ในแหล่งปลูกภาคเหนือ อำเภอเชียงกลาง (1) ท่าวังผา (2) ทุ่งช้าง (2) ปัว (1) ภูเพียง (3) จังหวัดน่าน อำเภอแม่ใจ (12) จังหวัดพะเยา อำเภอฝาง (9) ไชยปราการ (5) จังหวัดเชียงใหม่ อำเภอเมือง (2) แม่จัน (2) แม่สาย (3) จังหวัดเชียงราย และแหล่งปลูกภาคกลาง อำเภออัมพวา (3) บางคนที (2) จังหวัดสมุทรสงคราม รวม 47 แปลง ดำเนินการสำรวจผลลิ้นจี่ในระยะเก็บเกี่ยว ดำเนินการสุ่มสำรวจแมลงในแปลงโดยวิธีการสุ่มอย่างง่าย (simple random sampling) คือ สุ่มตัดช่อผลลำไยต้นละ 4 ทิศๆ ละ 1 ช่อ จำนวน 10 ต้น/แปลง ร่วมกับการเก็บผลที่พบการทำลายของเพลี้ยแป้งจากต้นลำไยโดยตรง เก็บตัวอย่างเพลี้ยแป้งที่ได้ในแอลกอฮอล์ 80% บันทึกชนิดและจำนวนเพลี้ยแป้งที่ทำลายผลลำไย จำนวนผลลำไยที่สุ่มพิกัดพื้นที่ สภาพภูมิอากาศ และข้อมูลพืชและการจัดการ

เวลาและสถานที่

ทำการสุ่มสำรวจระหว่างเดือนเมษายน-พฤษภาคม 2554ในแหล่งปลูกลิ้นจี่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย พะเยา น่าน และสมุทรสงคราม

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ปี 2554

ผลการสำรวจเพื่อตรวจหาชนิดของหนอนเจาะผล และการแพร่กระจายของ เพลี้ยแป้ง, *Cataenococcus hispidus* Green และ *Planococcus lichi* Cox ในลิ้นจี่ จากแหล่งปลูกลิ้นจี่

จังหวัดสมุทรสงคราม จำนวน 5 แปลง จังหวัดน่าน จำนวน 9 แปลง จังหวัดพะเยา จำนวน 12 แปลง จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 14 แปลง และ จังหวัดเชียงราย จำนวน 7 แปลง รวม 47 แปลง จากผลผลิต 15,194 ผล น้ำหนัก 234.88 กิโลกรัม ในเบื้องต้นพบเพลี้ยแป้งทุกจังหวัดแหล่งผลิตลิ้นจี่ที่เข้าทำการสำรวจ โดยพบเพลี้ยแป้งเข้าทำลายผลลิ้นจี่ที่ อ.อัมพวา จ. สมุทรสงคราม อ.แม่ใจ จ. พะเยา อ.ทุ่งช้าง และ ปัว จ.น่าน อ.ไชยปราการ และฝาง จ.เชียงใหม่ อ.แม่จัน จากการจำแนกเบื้องต้นเป็นชนิด *Ferrisia vergata*, *Planococcus* sp. และ *Pseudococcus* sp. และมีเพลี้ยแป้งที่ยังจำแนกชนิดไม่ได้ ซึ่งทุกตัวอย่างต้องรอการยืนยันชนิดจากนักอนุกรมวิธานอีกครั้ง

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณชญาน์นันท์ โค้วอินทร์ ส่วนถ่ายทอดเทคโนโลยี สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 1 จังหวัดเชียงใหม่ เจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงราย ศูนย์วิจัยข้าวแพร่ และศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรน่าน ที่ช่วยดำเนินการติดต่อแปลงสำรวจ ขอขอบคุณคุณสุริยะ เกาะม่วงหมู่ เจ้าหน้าที่วิเคราะห์นโยบายและแผน คุณณิชาพร ฉ่ำประวิง นักวิชาการเกษตร และคุณสุรางค์ นงนุช ที่ช่วยดำเนินการสำรวจและเก็บข้อมูลในแปลง ตลอดจนรวบรวมข้อมูลเบื้องต้น ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2553. สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปี 2553. สำนักงานเศรษฐกิจ การเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพมหานคร. 176 หน้า.

anonymous. 2006 . List of Regulated Pests in Republic of Korea, 2006. (Online). Available. https://www.ippc.int/file_uploaded/1168303091735_List_of_Regulated_pests_in_Rep-1104665007.pdf (14 December. 2011)

APHIS. 2006. Proposed Rules : Federal Register, Volume 71 Issue 143 (Wednesday, July, 2006). (Online). Available. www.gpo/fdsys/pkg/Fr-2006-07-26/htm/E6-11941htm (14 December. 2011)

Ben-Dov Y. 1994. A systematic Catalogue of the Mealybugs of the World (Insecta: Homoptera: Coccoidea: Pseudococcidae and Putoidae) with Data on Geographical Distribution, Host Plants, Biology and Economic Importance. Intercept Limited, Andover, UK. 686 pp.

Bureau of Animal and Plant Health Inspection and Quarantine. 2004. Quarantine Requirements for The Importation of Plants or Plant Products into The Republic of China. (Online). Available. http://www.nda.agric.za/doaDev/topMenu/services/doc/ExportRequirements_Taiwan.pdf (15 December. 2011)

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

DAFF, 2011. Mangosteen fruit from Thailand : Final Import Risk Analysis Report. Department of Agriculture, Fisheries and forestry, Austrarian Government. 158 pp.

NZLMAF, 2011. (Online). Available. http://www.maf.govt.nz/biosecurity-animal-welfare/pests-diseases/boric (15 December. 2011)

ตารางที่ 1 ผลการสำรวจเพลี้ยแป้งในพื้นที่จังหวัดสมุทรสงคราม พะเยา น่าน เชียงใหม่ และเชียงราย เดือนเมษายน-พฤษภาคม 2554

จุดสำรวจ	เพลี้ยแป้ง	หมายเหตุ (การจำแนกเบื้องต้น)
จ.สมุทรสงคราม (4 แปลง)		
- อ.อัมพวา (3)	+ [1/]	*Ferrisia vergata*, *Planococcus* sp.
- อ.บางคนที (2)	-	
จ.พะเยา (12 แปลง)		
- อ.แม่ใจ (12)	+	*Planococcus* sp.
จ.น่าน (9 แปลง)		
- อ.ทุ่งช้าง (2)	+	*Pseudococcus* sp.
- อ.เชียงกลาง (1)	-	
- อ.ปัว (1)	+	*Pseudococcus* sp.
- อ.ท่าวังผา (2)	-	
- อ.ภูเพียง (3)	-	
จ.เชียงใหม่ (14 แปลง)		
- อ.ไชยปราการ (5)	+	*Pseudococcus* sp.
- อ.ฝาง (9)	+	*Ferrisia vergata*
จ.เชียงราย (7 แปลง)		
- อ.แม่จัน (2)	+	*Planococcus* sp
- อ.แม่สาย (3)	-	
- อ.เมือง (2)	-	

[1/] + = พบ, - = ไม่พบ

ยการเฝ้าระวังการแพร่กระจายของหนอนเจาะผล, *Cryptophlebia ombrodelta* (Lower) ในลิ้นจี่

Distribution of Fruit Borer, *Cryptophlebia ombrodelta* (Lower) on Lichi

บุษบง มนัสมั่นคง[1/] ศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา[1/] พวงผกา อ่างมณี[1/]
สุนัดดา เชาวลิต[2/] พฤทธิชาติ ปุญวัฒโท[2/] เกรียงไกร จำเริญมา[1/]

[1/] **กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**
[2/] **กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

รายงานความก้าวหน้า

สถานการณ์การแพร่ระบาดของหนอนเจาะผล *Cryptophlebia ombrodelta* (Lower) ในลิ้นจี่ ดำเนินการสำรวจในแหล่งปลูกจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย พะเยา น่าน และสมุทรสงคราม ในระยะเก็บเกี่ยวผลลิ้นจี่ โดยสุ่มสำรวจแมลงในแปลงโดยวิธีการสุ่มอย่างง่าย (simple random sampling) คือ สุ่มตัดช่อผลลิ้นจี่ต้นละ 4 ทิศๆ ละ 1 ช่อ จำนวน 10 ต้น/แปลง ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม 2553 – กันยายน 2554 ผลการสำรวจจากแหล่งปลูกลิ้นจี่ จังหวัดสมุทรสงคราม จำนวน 5 แปลง จังหวัดน่าน จำนวน 9 แปลง จังหวัดพะเยา จำนวน 12 แปลง จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 14 แปลง และ จังหวัดเชียงราย จำนวน 7 แปลง รวม 47 แปลง จากผลผลิต 15,194 ผล น้ำหนัก 234.88 กิโลกรัม ในเบื้องต้นไม่พบหนอนเจาะผล *Cryptophlebia ombrodelta* (Lower) ในทุกแปลงที่ทำการสำรวจ แต่พบหนอนเจาะขั้วผล *Conopomorpha sinensis* Bradley เข้าทำลายผลลิ้นจี่ทุกจังหวัดที่ทำการสำรวจ โดยพบเกือบทุกแปลงที่ดำเนินการสำรวจ และพบหนอนเจาะผล *Deudoric epijarbas* Moore เฉพาะในแปลงลิ้นจี่ อำเภอไชยปราการ จังหวัดเชียงใหม่ ส่วนตัวอย่างหนอนที่ลงทำลายผล อีก 1-2 ชนิด ที่พบในอำเภอภูเพียง จังหวัดน่าน และอำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ ต้องรอการยืนยันชนิดจากนักอนุกรมวิธานอีกครั้ง

คำหลัก : การสำรวจเพื่อตรวจหา (Detection surveys) การแพร่กระจาย (Distribution) ลิ้นจี่ (Lichi) หนอนเจาะผล, *Cryptophlebia ombrodelta* (Lower)

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-06-00-03-54

คำนำ

จากการเปิดเสรีการค้าภายใต้องค์การการค้าโลก (World Tread Organization, WTO) ซึ่งได้ยกเลิกมาตรการกีดกันทางภาษี และให้ใช้มาตรการทางสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (SPS Agreement) เป็นมาตรการทดแทน เพื่อให้ประเทศสมาชิกปกป้องมิให้ศัตรูพืชที่อาจจะติดไปกับสินค้าพืชจากประเทศหนึ่งไปสู่อีกประเทศหนึ่ง เป็นการอำนวยความสะดวกด้านการค้าระหว่างประเทศสมาชิก ประเทศไทยเป็นประเทศสมาชิกขององค์การการค้าโลกจึงต้องดำเนินการเพื่อเตรียมความพร้อมในด้านวิทยาศาสตร์ เพื่อใช้ในการต่อรองทางการค้าสินค้าเกษตรระหว่างประเทศ กรมวิชาการเกษตร โดยสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชซึ่งเป็นหน่วยงานอารักขาพืชแห่งชาติ จึงมีความจำเป็นต้องเตรียมความพร้อมด้านข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ทางด้านพืชดังกล่าวเพื่อใช้ในการเจรจาการค้าสินค้าเกษตรภายใต้เงื่อนไขขององค์การการค้าโลก การสำรวจ ติดตามและตรวจสอบศัตรูพืชเป็นงานพื้นฐานที่มีความจำเป็นสำหรับใช้ในการดำเนินการด้านอื่นๆ อีก เช่น Pest Risk Analysis, Establishment for pest free area, Pest list, Pest report เป็นต้น ซึ่งแนวทางการดำเนินงานจะสอดคล้องกับ ISPMs (International Standard for Phytosanitary Measures) ฉบับที่ 6 (Guidelines for Surveillance)

ลิ้นจี่เป็นพืชเศรษฐกิจที่มีศักยภาพในการผลิตและการตลาด ในปี 2550 มีการส่งออกลิ้นจี่สด ลิ้นจี่บรรจุภาชนะอัดลม และอบแห้ง ปริมาณ 26,801 เมตริกตัน มูลค่า 759 ล้านบาท ดังนั้นจึงควรมีขบวนการผลิตอย่างถูกต้องและเหมาะสม เพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีมาตรฐาน มีสุขอนามัย และสุขอนามัยพืช สามารถแข่งขันในตลาดโลก แหล่งปลูกสำคัญของลิ้นจี่อยู่ทางภาคเหนือตอนบน ได้แก่ จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ ลำปาง แพร่ น่าน ลิ้นจี่พันธุ์ที่ปลูกมาก คือ พันธุ์ฮงฮวย โอเฮี้ยะ ค่อม กิมเจ็ง และจักรพรรดิ์ การผลิตลิ้นจี่มักประสบปัญหาการให้ผลผลิตปีเว้นปี ปีที่มีผลผลิตมากมักเกิดปัญหาด้านการตลาด ลิ้นจี่มีตลาดส่งออกใหญ่ที่ประเทศจีน เนเธอร์แลนด์ และฮ่องกง เป็นต้น ส่วนประเทศที่พัฒนาแล้วมักจะไม่ค่อยรับซื้อ เนื่องจากกลัวปัญหาด้านโรคแมลงที่ติดไปกับผลลิ้นจี่ ซึ่งก่อนที่จะนำเข้าต้องยื่นคำขอเปิดตลาดพร้อมข้อมูลศัตรูพืช ซึ่งประกอบด้วยรายชื่อและรายละเอียดเกี่ยวกับศัตรูพืชเพื่อที่ประเทศผู้นำเข้าจะนำไปวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis, PRA) และอาจจะสอบถามข้อมูลเพิ่มเติมเพื่อกำหนดเงื่อนไขการนำเข้า แต่ที่ผ่านมาข้อมูลเหล่านี้ยังขาดอยู่ จึงมีความจำเป็นต้องดำเนินการวิจัยเพื่อหาข้อมูลเกี่ยวกับแมลงศัตรูพืชดังกล่าว

แมลงที่ลงทำลายผลลิ้นจี่ในประเทศไทยและสามารถติดไปกับผลผลิต ได้แก่ หนอนเจาะขั้วผล (*Conopomorpha sinensis* Bradley), หนอนกินผลลำไยและลิ้นจี่ (*Conogethes punciferalis* (Guenee), หนอนเจาะผล (*Deudorix epijarbas* Moore), เพลี้ยแป้งสีน้ำตาล *(Saisatia coffeae* Wlk.), เพลี้ยแป้ง (*Nipaecoccus* sp.), เพลี้ยแป้งข้าวตอก (*Ceroplastes pseudoceriferus* (Green)), เพลี้ยแป้งหลังเต่า *(Drepanococcus chiton* (Green)), เพลี้ยแป้ง (*Icerya* sp. (Margarodidae)) เป็นต้น (จริยาและคณะ, 2545)

แต่จากการดำเนินการการขอเปิดตลาดลิ้นจี่กับประเทศสหรัฐอเมริกา ซึ่งได้ส่งข้อมูลที่พบว่าลิ้นจี่มีหนอนเจาะผลชนิด *Cryptophlebia ombrodelta* ลงทำลายด้วย ซึ่งทางประเทศไทยไม่มีข้อมูลศัตรูพืชชนิดนี้ จึงต้องดำเนินการเฝ้าระวังและติดตามหนอนเจาะผล *Cryptophlebia ombrodelta* ในแหล่งปลูกลิ้นจี่เพื่อการส่งออก เพื่อเป็นข้อมูลสนับสนุนการดำเนินการขอเปิดตลาดการค้าต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แปลงลิ้นจี่
2. กรรไกรตัดกิ่ง
3. ถังน้ำแข็ง
4. เครื่องกำหนดพิกัด (GPS)
5. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างแมลง เช่น กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก ยางรัดของ vial แอลกอฮอล์ 80% พู่กัน เข็มเขี่ย Label เป็นต้น
6. อุปกรณ์เก็บข้อมูล เช่น กระดาน ดินสอ ปากกาเมจิก เป็นต้น

วิธีการ

ดำเนินการสุ่มเลือกพื้นที่การสำรวจในแหล่งปลูกลิ้นจี่ทั่วประเทศ และแปลงลิ้นจี่ในแต่ละจังหวัด โดยใช้วิธี purposive sampling ได้พื้นที่การสุ่มสำรวจ ดังนี้ ในแหล่งปลูกภาคเหนือ อำเภอเชียงกลาง (1) ท่าวังผา (2) ทุ่งช้าง (2) ปัว (1) ภูเพียง (3) จังหวัดน่าน อำเภอแม่ใจ (12) จังหวัดพะเยา อำเภอฝาง (9) ไชยปราการ (5) จังหวัดเชียงใหม่ อำเภอเมือง (2) แม่จัน (2) แม่สาย (3) จังหวัดเชียงราย และแหล่งปลูกภาคกลาง อำเภออัมพวา (3) บางคนที (2) จังหวัดสมุทรสงคราม รวม 47 แปลง ดำเนินการสำรวจผลลิ้นจี่ในระยะเก็บเกี่ยว สุ่มสำรวจแมลงในแปลงโดยวิธีการสุ่มอย่างง่าย (simple random sampling) คือ สุ่มตัดช่อผลลิ้นจี่ต้นละ 4 ทิศๆ ละ 1 ช่อ จำนวน 10 ต้น/แปลง ร่วมกับการเก็บตัวอย่างหนอนเจาะผลที่พบลงทำลายผลลิ้นจี่ นำมาเลี้ยงเพื่อให้เป็นตัวเต็มวัยเพื่อส่งจำแนกต่อไป บันทึกชนิด จำนวนหนอนเจาะผลที่ทำลายผลลิ้นจี่ จำนวนผลลิ้นจี่ที่สุ่ม พิกัดพื้นที่ สภาพภูมิอากาศ ข้อมูลพืช และการจัดการ

ระยะเวลาและสถานที่

ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม 2553 – เดือนกันยายน 2554 ในแหล่งปลูกลิ้นจี่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย พะเยา น่าน และสมุทรสงคราม และห้องปฏิบัติการสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการสำรวจเพื่อตรวจหาชนิดของหนอนเจาะผล และการแพร่กระจายของ *Cryptophlebia ombrodelta* ในลิ้นจี่ จากแหล่งปลูกลิ้นจี่ จังหวัดสมุทรสงคราม จำนวน 5 แปลง จังหวัดน่าน จำนวน 9 แปลง จังหวัดพะเยา จำนวน 12 แปลง จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 14 แปลง และ จังหวัดเชียงราย จำนวน 7 แปลง รวม 47 แปลง จากผลผลิต 15,194 ผล น้ำหนัก 234.88 กิโลกรัม ในเบื้องต้นไม่พบหนอนเจาะผล *Cryptophlebia ombrodelta* (Lower) ในทุกแปลงที่ทำการสำรวจ แต่พบหนอนเจาะขั้วผล *Conopomorpha sinensis* Breadley เข้าทำลายผลลิ้นจี่ทุกจังหวัดที่ทำการสำรวจ (ตารางที่ 1) โดยพบเกือบทุกแปลงที่ดำเนินการสำรวจ และพบหนอนเจาะผล *Deudoric epijarbas* Moore เฉพาะในแปลงลิ้นจี่ อำเภอไชยปราการ จังหวัดเชียงใหม่ ส่วนตัวอย่างหนอนที่ลงทำลายผลอีก 1-2 ชนิด ที่พบในอำเภอภูเพียง จังหวัดน่าน และอำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ ต้องรอการยืนยันชนิดจากนักอนุกรมวิธานอีกครั้ง

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่จากสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1 ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงราย ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแพร่ และศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรน่าน ที่ช่วยดำเนินการติดต่อแปลงสำรวจ ขอขอบคุณคุณสุริยะ เกาะม่วงหมู่ เจ้าหน้าที่วิเคราะห์นโยบายและแผน และคุณณิชาพร ฉ่ำประวิง นักวิชาการเกษตร ช่วยดำเนินการสำรวจและเก็บข้อมูลในแปลง ตลอดจนรวบรวมข้อมูลเบื้องต้น ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

จริยา วิสิทธิ์พานิช ชาตรี สิทธิกุล และเยาวลักษณ์ จันทร์บาง. 2545. โรคและแมลงศัตรูลำไย ลิ้นจี่ และมะม่วง. หจก.ธนบรรณการพิมพ์, จังหวัดเชียงใหม่. 308 หน้า.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2552. ข้อมูลพื้นฐานเศรษฐกิจการเกษตร ปี 2552. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. http://www.oae.go.th 93 หน้า.

ตารางที่ 1 แสดงผลการสำรวจหนอนเจาะผลในพื้นที่จังหวัดสมุทรสงคราม พะเยา น่าน เชียงใหม่ และเชียงราย ระหว่างเดือนเมษายน – พฤษภาคม ปี 2554

จุดสำรวจ	หนอนเจาะขั้ว *Conopomorpha sinensis* Bradley	หนอนเจาะผล *Deudorix epijarbas* Moore	หนอนกินผล *Conogethes punciferalis*
จ.สมุทรสงคราม (4 แปลง)			
- อ.อัมพวา (3)	-	-	-
- อ.บางคนที (2)	+	-	-
จ.พะเยา (12 แปลง)			
- อ.แม่ใจ (12)	+	-	-
จ.น่าน (9 แปลง)			
- อ.ทุ่งช้าง (2)	-	-	-
- อ.เชียงกลาง (1)	+	-	-
- อ.ปัว (1)	-	-	-
- อ.ท่าวังผา (2)	+	-	-
- อ.ภูเพียง (3)	+	-	-
จ.เชียงใหม่ (14 แปลง)			
- อ.ไชยปราการ (5)	+	+	-
- อ.ฝาง (9)	+	-	-
จ.เชียงราย (7 แปลง)			
- อ.แม่จัน (2)	+	-	-
- อ.แม่สาย (3)	+	-	-
- อ.เมือง (2)	+	-	-

[1/] + = พบ, - = ไม่พบ

การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของเพลี้ยไก่แจ้ (*Trioza erytreae* (Del Guercio) ในแหล่งปลูกส้มจังหวัดเชียงใหม่

Surveilance on African Citrus Psyllid, *Trioza erytreae* (Del Guercio) on Citrus Plantation, Chaingmai

ศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา[1/] บุษบง มนัสมั่นคง[1/]
สุธามาส ณ น่าน[3/] เจริญ ท่าระเบียบ[4/] จารุฉัตร เขนยทิพย์[4/]
ชมัยพร บัวมาศ[2/] วนาพร วงษ์นิคง[1/] ชลิดา อุณหวุฒิ[2/]
[1/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[3/] ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย สถาบันวิจัยพืชสวน
[4/] ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่ สำนักวิจัยพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1

รายงานความก้าวหน้า

การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของเพลี้ยไก่แจ้ (*Trioza erytreae* (Del Guercio) ในแหล่งปลูกส้มจังหวัดเชียงใหม่ ดำเนินการในแปลงปลูกส้มสายน้ำผึ้งจังหวัดเชียงใหม่ 6 สวน ได้แก่ อำเภอฝาง(2) ไชยปราการ (2) แม่อาย (2) และจังหวัดเชียงราย 3 สวน ได้แก่ อำเภอเมืองเชียงราย (2) และอำเภอแม่สาย (1) รวมทั้งสิ้น 9 สวน ระหว่างเดือน ธันวาคม 2553- กันยายน 2554 โดยติดตั้งกับดักกาวเหนียวจำนวน 4 กับดัก/ต้น รอบทรงพุ่ม จำนวน 10 ต้น/สวน เปลี่ยนกับดักกาวเหนียวทุก 1 เดือน ผลการเฝ้าติดตามการแพร่กระจาย พบว่า ไม่พบเพลี้ยไก่แจ้ส้มแอฟริกัน *Trioza erytreae* (Del Guercio) และเพลี้ยไก่แจ้เอเชีย *Diaphorina citri* Kuwayama ซึ่งเป็นชนิดที่พบระบาดในพืชตระกูลส้มในประเทศไทย

คำหลัก : การเฝ้าระวังศัตรูพืช (surveilance) ส้ม (Litchi) เพลี้ยไก่แจ้ (asfrican citrus psyllid) *Trioza erytreae* (Del Guercio) จังหวัดเชียงใหม่ (Chaingmai)

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-06-00-04-54

คำนำ

จากการเปิดเสรีการค้าภายใต้องค์การการค้าโลก (World Tread Organization, WTO) ซึ่งได้ยกเลิกมาตรการกีดกันทางภาษี และให้ใช้มาตรการทางสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (SPS Agreement) เป็นมาตรการทดแทน เพื่อให้ประเทศสมาชิกปกป้องมิให้ศัตรูพืชที่อาจจะติดไปกับสินค้าพืชจากประเทศหนึ่งไปสู่อีกประเทศหนึ่ง เป็นการอำนวยความสะดวกด้านการค้าระหว่างประเทศสมาชิก ประเทศไทยเป็นประเทศสมาชิกขององค์การการค้าโลก จึงต้องดำเนินการเพื่อเตรียมความพร้อมในด้านวิทยาศาสตร์ เพื่อใช้ในการต่อรองทางการค้าสินค้าเกษตรระหว่างประเทศ กรมวิชาการเกษตรโดยสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชซึ่งเป็นหน่วยงานอารักขาพืชแห่งชาติ จึงมีความจำเป็นต้องเตรียมความพร้อมด้านข้อมูล ทางวิทยาศาสตร์ทางด้านพืชดังกล่าวเพื่อใช้ในการเจรจาการค้าสินค้าเกษตรภายใต้เงื่อนไขขององค์การการค้าโลก การสำรวจ ติดตามและตรวจสอบศัตรูพืชเป็นงานพื้นฐานที่มีความจำเป็นสำหรับใช้ในการดำเนินการด้านอื่นๆ อีก เช่น Pest Risk Analysis, Establishment for pest free area, Pest list, Pest report เป็นต้น ซึ่งแนวทางการดำเนินงานจะสอดคล้องกับ ISPMs (International Standard for Phytosanitary Measures) ฉบับที่ 6 (Guidelines for Surveillance)

ผลจากมาตรการทางสุขอนามัยและสุขอนามัยพืชที่นำมาใช้ นอกจากการเฝ้าระวังแมลงศัตรูที่มีปัญหาด้านการส่งออกแล้ว ยังต้องป้องกันแมลงศัตรูพืชบางชนิดที่มีการแพร่ระบาดภายนอกประเทศและมีโอกาสติดเข้ามากับส่วนของพืชที่นำเข้ามา ไม่ให้เข้ามาแพร่กระจายภายในประเทศด้วย จากการสืบค้นข้อมูล พบว่า เพลี้ยไก่แจ้ส้มแอฟริกัน *Trioza erytreae* (Del Guercio) (Hemiptera : Psyllidae) ซึ่งมีแหล่งแพร่กระจายในทวีปแอฟริกาได้มีการแพร่กระจายสู่ประเทศจีน และมีโอกาสเคลื่อนย้ายเข้าสู่ประเทศไทย โดยเฉพาะในแหล่งปลูกส้มทางภาคเหนือ ในประเทศไทยพบเพลี้ยไก่แจ้ชนิด *Diaphorina citri* Kuwayama ในพืชตระกูลส้ม และที่สำคัญเพลี้ยไก่แจ้ทั้งสองชนิดยังเป็นพาหะในการนำโรคกรีนนิ่ง หรือโรคใบเหลืองต้นโทรมที่ทำความเสียหายอย่างมากแก่เกษตรกรผู้ปลูกส้ม โดยเฉพาะแหล่งปลูกส้มทางภาคเหนือซึ่งเป็นแหล่งปลูกใหญ่ของประเทศ ดังนั้นการเฝ้าติดตามการแพร่กระจายของเพลี้ยไก่แจ้ทั้งสองชนิดนี้ จึงมีความจำเป็นต้องดำเนินการเพื่อเฝ้าระวัง ติดตามและตรวจสอบการเข้ามาของเพลี้ยไก่แจ้ส้มแอฟริกัน *Trioza erytreae* และเขตการแพร่กระจายของเพลี้ยไก่แจ้ชนิด *Diaphorina citri* เพื่อกำหนดเขตการแพร่กระจายต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แปลงส้มเขียวหวาน
2. เครื่องกำหนดพิกัด (GPS)
3. กับดักกาวเหนียวสีเหลือง
4. อุปกรณ์เก็บข้อมูล เช่น กล้องถ่ายรูป, คอมพิวเตอร์, กระดาน, ดินสอ,

ปากกาเมจิก เป็นต้น

วิธีการ

ดำเนินการติดกับดักกาวเหนียวสีเหลืองในแหล่งปลูกส้มที่สำคัญใน อำเภอฝาง แม่อาย และไชยปราการ จังหวัดเชียงใหม่ รวม 6 สวน อำเภอเมือง และแม่สาย จังหวัดเชียงราย รวม 3 สวนโดยแต่ละสวนติดตั้งกับดักกาวเหนียวจำนวน 4 กับดัก/ต้น รอบทรงพุ่ม จำนวน 10 ต้น/สวน เปลี่ยนกับดักกาวเหนียวทุก 1 เดือน นำกับดักกาวเหนียวมาจำแนกชนิดของเพลี้ยไก่แจ้ส้ม แมลงศัตรูพืชอื่นๆ บันทึกพิกัดพื้นที่ และข้อมูลพืชและการจัดการ

เวลาและสถานที่

ระหว่างเดือนตุลาคม 2553-กันยายน 2554 ในสวนส้มของเกษตรกร อ.ฝาง ไชยปราการ และแม่อาย จังหวัดเชียงใหม่ และ อ.เมือง และแม่สาย จังหวัดเชียงราย

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ปี 2554

การดำเนินการเฝ้าระวังการแพร่กระจายของเพลี้ยไก่แจ้แอฟริกัน (*Trioza erytreae* (Del Guercio) ในแหล่งปลูกส้มจังหวัดเชียงใหม่ และเชียงราย ดำเนินการเป็นปีที่ 1 จากการบันทึกพิกัดพบว่าแปลงส้มในจังหวัดเชียงรายทั้ง 3 แปลง มีความสูง 391-423 เมตร จากระดับน้ำทะเล ส่วนแปลงส้มในจังหวัดเชียงใหม่ 6 แปลง มีความสูง 498-555 เมตรจากระดับน้ำทะเล จากข้อมูลดังกล่าว พบว่าแหล่งปลูกส้มในจังหวัดเชียงรายทั้งที่อำเภอฝาง แม่อาย และไชยปราการ มีความเสี่ยงในการเกิดการแพร่กระจายของเพลี้ยไก่แจ้ส้มแอฟริกัน ซึ่ง Espinosa and Hodges (2009) รายงานว่า เพลี้ยไก่แจ้ชนิดนี้ชอบอาศัยในที่อากาศเย็นและชื้น ที่ระดับความสูง 500-600 เมตรจากระดับน้ำทะเล และอ่อนแอต่อสภาพอากาศร้อนและแห้งแล้ง

ผลการติดตามการแพร่กระจายของเพลี้ยไก่แจ้ส้มแอฟริกัน ในช่วงเดือนมกราคม53 – กันยายน 2554 ในแปลงส้มสายน้ำผึ้งในจังหวัดเชียงใหม่และเชียงราย รวม 9 แปลง ไม่พบการแพร่ระบาดของเพลี้ยไก่แจ้ส้มแอฟริกัน และเพลี้ยไก่แจ้ส้มเอเชียซึ่งเป็นชนิดที่พบระบาดในแหล่งปลูกส้มในประเทศไทย แต่พบการแพร่ระบาดของศัตรูส้มสำคัญหลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่ง เพลี้ยไฟพริก ซึ่งจากปริมาณที่พบบนกับดัก พบมากในเดือนกุมภาพันธ์-มีนาคม 2554 และพบผีเสื้อหนอนชอนใบส้มในปริมาณเล็กน้อย และพบแมลงวันผลไม้ในกับดักหลายชนิดโดยพบปริมาณมากที่แปลงอำเภอไชยปราการ 1 และ 2 ชนิดของแมลงวันผลไม้ที่พบส่วนใหญ่เป็น *Bactrocera dorsalis* รองลงมาเป็นชนิด *B. cucurbitae B. tau* และ *B. correcta* เนื่องจากเป็นแปลงที่เกษตรกรไม่ค่อยดูแลรักษา สำหรับศัตรูธรรมชาติที่พบบนกับดักมากคือ แมลงช้าง และด้วงเต่า

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่ และศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย ที่ช่วยดำเนินการเก็บกับดักกาวเหนียว คุณสุริยะ เกาะม่วงหมู่ เจ้าหน้าที่วิเคราะห์โครงการ และคุณณิชาพร ฉ่ำประวิง ที่ช่วยดำเนินการจำแนกชนิดแมลงและรวบรวมข้อมูลเบื้องต้น จึงทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

Espinosa, A and A.C.Hodges. 2009. *Trioza erytreae*. Retrieved August, 5, 2009 from the World Wide Web : http://riki.bugwood.org/Trioza_erytreae

ตารางที่ 1 แสดงพิกัดและความสูงจากระดับน้ำทะเลของสวนส้มที่เข้าดำเนินการเฝ้าระวัง ติดตาม และตรวจสอบเพลี้ยไก่แจ้ส้ม

ลำดับ	code	ความสูงจากระดับน้ำทะเล(m)	พิกัด
จ.เชียงราย			
1	เมือง 1	391	N19°48'11.8" E099°57'28.7"
2	แม่สาย 1	392	N20°21'35.0" E099°52'47.2"
3	แม่สาย 2	423	N20°24'13.3" E099°52'27.0"
จ.เชียงใหม่			
1	ฝาง 1	549	N19°57'37.9" E099°08'25.2"
2	ฝาง 2	555	N19°56'07.5" E099°07'02.5"
3	แม่อาย 1	504	N20°00'05.8" E099°14'46.2"
4	แม่อาย 2	498	N20°0'04.0" E099°26'22.3"
5	ไชยปราการ 1	534	N19°45'02.2" E099°06'54.6"
6	ไชยปราการ 2	550	N19°45'03.9" E099°06'41.7"

ตารางที่ 2 ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติที่พบบนกับดักจากแปลงส้มที่เข้าเข้าดำเนินการเฝ้าระวัง ติดตาม และตรวจสอบเพลี้ยไก่แจ้ส้ม เดือนมกราคม-กันยายน 2554

เดือนมกราคม

แปลง	ศัตรูพืช				ศัตรูธรรมชาติ			หมายเหตุ
	เพลี้ยไก่แจ้ส้ม	เพลี้ยไฟ	ผีเสื้อหนอนชอนใบส้ม	แมลงวันผลไม้	แมลงช้าง	แตนเบียน	ด้วงเต่า	
แม่อาย 1	0	12		0	3			
แม่อาย 2	0	126		3	4			
ฝาง 1	0	67	1	5	1			
ฝาง 2	0	125		11	1	4		
ไชยปราการ 1	0	140		2	3			
ไชยปราการ 2	0	178		6	3			
เมืองเชียงราย 1	0	23		0	17			
เมืองเชียงราย 2	0	270		6	4			
แม่สาย	0	15		7	7			

เดือนกุมภาพันธ์ 2554

แปลง	ศัตรูพืช				ศัตรูธรรมชาติ			หมายเหตุ
	เพลี้ยไก่แจ้ส้ม	เพลี้ยไฟ	ผีเสื้อหนอนชอนใบส้ม	แมลงวันผลไม้	แมลงช้าง	แตนเบียน	ด้วงเต่า	
แม่อาย 1	0	854		1	2		1	
แม่อาย 2	0	539			1			
ฝาง 1	0	276	1	3	4		3	
ฝาง 2	0	706			3			
ไชยปราการ 1	0	241		30	2			
ไชยปราการ 2	0	414		4	1			
เมืองเชียงราย 1	0	738					1	
เมืองเชียงราย 2	0	370	2	1	1		4	
แม่สาย	0	54	5	2	2			

เดือนมีนาคม 2554

แปลง	ศัตรูพืช				ศัตรูธรรมชาติ			หมายเหตุ
	เพลี้ยไก่แจ้ส้ม	เพลี้ยไฟ	ผีเสื้อหนอนชอนใบส้ม	แมลงวันผลไม้	แมลงช้าง	แตนเบียน	ด้วงเต่า	
แม่อาย 1	0	6795			7		1	
แม่อาย 2	0	4155		1			1	
ฝาง 1	0	2881		3	4			
ฝาง 2	0	8021			4		5	
ไชยปราการ 1	0	8157		45	4		4	
ไชยปราการ 2	0	6215		2				
เมืองเชียงราย 1	0	18642					1	
เมืองเชียงราย 2	0	5500		7			1	
แม่สาย	0	129	1	1	1			

เดือนเมษายน 2554

แปลง	ศัตรูพืช				ศัตรูธรรมชาติ			หมายเหตุ
	เพลี้ยไก่แจ้ส้ม	เพลี้ยไฟ	ผีเสื้อหนอนชอนใบส้ม	แมลงวันผลไม้	แมลงช้าง	แตนเบียน	ด้วงเต่า	
แม่อาย 1	0	9		1	4			
แม่อาย 2	0	8		3	4		5	
ฝาง 1	0	24			31			
ฝาง 2	0	23		1	4		1	
ไชยปราการ 1	0	10		51	3			
ไชยปราการ 2	0	18		11	4		169	
เมืองเชียงราย 1	0	12			3		2	
เมืองเชียงราย 2	0			86	2			
แม่สาย	0	79		8	11		4	

เดือนพฤษภาคม 2554

แปลง	ศัตรูพืช				ศัตรูธรรมชาติ			หมายเหตุ
	เพลี้ยไก่แจ้ส้ม	เพลี้ยไฟ	ผีเสื้อหนอนชอนใบส้ม	แมลงวันผลไม้	แมลงช้าง	แตนเบียน	ด้วงเต่า	
แม่อาย 1	0	3		4	5		7	
แม่อาย 2	0			4	1		13	
ฝาง 1	0	1		3	1		5	
ฝาง 2	0	3		3	2		9	
ไชยปราการ 1	0			82			3	
ไชยปราการ 2	0			30			23	
เมืองเชียงราย 1	0	25			3			
เมืองเชียงราย 2	0	9		26			18	
แม่สาย	0	6			15		17	

เดือนมิถุนายน 2554

แปลง	ศัตรูพืช				ศัตรูธรรมชาติ			หมายเหตุ
	เพลี้ยไก่แจ้ส้ม	เพลี้ยไฟ	ผีเสื้อหนอนชอนใบส้ม	แมลงวันผลไม้	แมลงช้าง	แตนเบียน	ด้วงเต่า	
แม่อาย 1	0	12	1	3	1		6	
แม่อาย 2	0		10	6	3		11	
ฝาง 1	0	1		15	26		5	
ฝาง 2	0	6	10	4	11		9	
ไชยปราการ 1	0	1	1	160	3		2	
ไชยปราการ 2	0			308	1		25	
เมืองเชียงราย 1	0			7	13		3	
เมืองเชียงราย 2	0			304			33	
แม่สาย	0			2	8		13	

เดือนกรกฎาคม 2554

แปลง	ศัตรูพืช				ศัตรูธรรมชาติ			หมายเหตุ
	เพลี้ยไก่แจ้ส้ม	เพลี้ยไฟ	ผีเสื้อหนอนชอนใบส้ม	แมลงวันผลไม้	แมลงช้าง	แตนเบียน	ด้วงเต่า	
แม่อาย 1	0	1	2	2	6		7	
แม่อาย 2	0	3	15	12	4		6	
ฝาง 1	0	1	5	8	7		3	
ฝาง 2	0	4	5	3	3		3	
ไชยปราการ 1	0		2	49	3		26	
ไชยปราการ 2	0	2	3	249	3		8	
เมืองเชียงราย 1	0		1	5	3		3	
เมืองเชียงราย 2	0			89			11	
แม่สาย	0	1		3	1		3	

เดือนสิงหาคม 2554

แปลง	ศัตรูพืช				ศัตรูธรรมชาติ			หมายเหตุ
	เพลี้ยไก่แจ้ส้ม	เพลี้ยไฟ	ผีเสื้อหนอนชอนใบส้ม	แมลงวันผลไม้	แมลงช้าง	แตนเบียน	ด้วงเต่า	
แม่อาย 1	0	1	1	2	4		2	
แม่อาย 2	0	5		7	3		1	
ฝาง 1	0	1		1			2	
ฝาง 2	0	3		1	11		2	
ไชยปราการ 1	0			23				
ไชยปราการ 2	0			227	1		14	
เมืองเชียงราย 1	0	3	2	5	4		4	
เมืองเชียงราย 2	0	1	2	31	2		3	
แม่สาย	0	2	3	12	4		2	

เดือนกันยายน 2554

แปลง	ศัตรูพืช				ศัตรูธรรมชาติ			หมายเหตุ
	เพลี้ยไก่แจ้ส้ม	เพลี้ยไฟ	ผีเสื้อหนอนชอนใบส้ม	แมลงวันผลไม้	แมลงช้าง	แตนเบียน	ด้วงเต่า	
แม่อาย 1	0				3		3	
แม่อาย 2	0		5	2	1		2	
ฝาง 1	0	2	7		14			
ฝาง 2	0		4		2		6	
ไชยปราการ 1	0			115	2		1	
ไชยปราการ 2	0		1	24	6		16	
เมืองเชียงราย 1	0			1	3		3	
เมืองเชียงราย 2	0			24	1		2	
แม่สาย	0	2	1	9	5		4	

การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของราเขม่าดำ *Urocystis cepulae* ในพื้นที่ปลูกหอมแดงและกระเทียมเพื่อการส่งออก

Surveillance and Distribution of Smut Fungi: *Urocystis cepulae* in Shallot and Garlic Plantation for Exporting

พรพิมล อธิปัญญาคม สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ ชนินทร ดวงสอาด

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากผลการสำรวจโรคราเขม่าดำของหอมแดง ในเขตภาคเหนือ จังหวัดอุตรดิตถ์ เชียงใหม่ ลำพูน ช่วงเดือนตุลาคม 2553 – เดือนกันยายน 2554 โดยทำการสำรวจโรคราเขม่าดำของหอมแดงในจังหวัดอุตรดิตถ์ เชียงใหม่ ลำพูน จาก 8 พื้นที่ ๆ รวมทั้งหมด 35 แปลง แปลงละ 10 กก. ไม่พบโรคราเขม่าดำบนทุกส่วนของหอมแดง พบแต่โรคหอมเลื้อยสาเหตุเกิดจากรา *Colletotrichum* และโรคโคนเน่าสาเหตุเกิดจากรา *Sclerotium* เก็บตัวอย่างโรคมาศึกษาในห้องปฏิบัติการและเก็บเป็นตัวอย่างแห้งไว้ในพิพิธภัณฑ์โรค

จากการสุ่มตรวจโรคราเขม่าดำของหอมแดง.ในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จังหวัดอุบลราชธานี บุรีรัมย์ ศรีสะเกษ สกลนคร ช่วงเดือนตุลาคม 2553 – เดือนกันยายน 2554 จาก 7 พื้นที่ รวมทั้งหมด 39 แปลง แปลงละ 10 กก. ไม่พบโรคราเขม่าดำบนทุกส่วนของหอมแดง พบแต่โรคหอมเลื้อยสาเหตุเกิดจากรา *Colletotrichum* โรคโคนเน่าสาเหตุเกิดจากรา *Sclerotium* และโรครากปมสาเหตุเกิดจากไส้เดือนฝอย เก็บตัวอย่างโรคมาศึกษาในห้องปฏิบัติการและเก็บเป็นตัวอย่างแห้งไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-06-00-05-54

คำนำ

เนื่องจากในปัจจุบันการส่งออกและนำเข้าสินค้าเกษตรจะต้องมีความตกลงทั่วไปว่าด้วย ภาษีศุลกากรและการค้า (General Agreement on Tariff and Trade: GATT) ซึ่งต่อมาได้เปลี่ยนเป็นองค์การการค้าโลก (World Trade Organization: WTO) ได้กำหนดกฎเกณฑ์และระเบียบเพื่อให้เกิดการค้าเสรีและเป็นธรรม โดยทุกประเทศสมาชิกของ WTO จะต้องปรับลดอัตราอากรขาเข้าลงมาเป็นอันดับแรกสุดของการเปิดการค้าเสรี ในปัจจุบันมาตรการกีดกันด้านภาษีศุลกากรมีแนวโน้มที่จะลดลงเนื่องจากการเปิดเสรีทางการค้าภายใต้เขตการค้าเสรีต่างๆ มีเพิ่มขึ้น แต่ในขณะเดียวกันมาตรการกีดกันทางการค้าที่มิใช่ภาษีศุลกากร (non tariff barrier, NTB) จะเริ่มมีบทบาทและมีรูปแบบใหม่ๆ เพิ่มขึ้น ซึ่ง มาตรการที่สำคัญในด้านการเกษตรได้แก่ มาตรการด้านสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Sanitary and Phytosanitary Measures : SPS) มาตรการด้านสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช มีวัตถุประสงค์เพื่อปกป้องชีวิต และสุขภาพมนุษย์ สัตว์ และพืช เพื่อสร้างความมั่นใจต่อความปลอดภัยด้านอาหาร แต่ต้องไม่ใช้สิทธินั้นในทางที่เป็นการสร้างข้อจำกัดทางการค้า หรือเลือกปฏิบัติระหว่างประเทศสมาชิกตามอำเภอใจ ซึ่งการนำมาตรการ SPS มาใช้ควรสอดคล้องกับมาตรฐานตามที่องค์กรมาตรฐานระหว่างประเทศกำหนดขึ้น และต้องมีเหตุผล และหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่เพียงพอมีการประเมินความเสี่ยง (Risk Assessment) ที่เชื่อถือได้ ซึ่งประเทศคู่ค้ามักนำมาตรการ SPS มาใช้เป็นเครื่องมือในการกีดกันทางการค้ากับสินค้าอาหารประเภทปศุสัตว์ ประมง และพืชผักผลไม้ โดยอ้างการตรวจพบเชื้อโรค โรคแมลง และอื่นๆ ซึ่งส่งผลกระทบต่อภาพลักษณ์ทางการค้าของประเทศและเป็นการเพิ่มต้นทุนการผลิต

ในปี 2552 การส่งออกหอมแดงและกระเทียมไปประเทศอินโดนิเซียต้องปลอดจากโรคราเขม่าดำสาเหตุเกิดจาก *Urocystis cepulae* เนื่องจากราชนิดนี้เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศอินโดนีเซีย จากการสืบค้นข้อมูลในประเทศไทย บรรเจิด (2495) รายงานพบรา Onion smut ในหอมหัวใหญ่ Puckdeedindan (1966) รายงานพบราเขม่าดำในกระเทียม จากรายงานทั้ง 2 ฉบับนี้ทำให้การส่งออกหอมแดงและกระเทียมไปประเทศอินโดนิเซียจะต้องผ่านการตรวจวินิจฉัยโรคราเขม่าดำจากกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช โดยมีการส่งตัวอย่างหอมอดงและกระเทียมมาตรวจจำนวน 424 ตัวอย่าง ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ – พฤษภาคม 2552 ผลการตรวจไม่พบราเขม่าดำ พบแต่รา *Aspergillus niger* เป็นส่วนใหญ่ และจากการสอบถามนักวิชาการที่ทำงานทางด้านโรคของหอมและกระเทียมว่ามีการพบโรคราเขม่าดำบ้างหรือเปล่า นักวิชาการตอบว่าไม่เคยพบเลยตั้งแต่ทำงานมาจนกระทั่งเกษียณอายุราชการไปแล้ว ดังนั้นการศึกษาการเฝ้าระวังและการแพร่ระบาดของราเขม่าดำ *Urocystis cepulae* ในพื้นที่ปลูกหอม กระเทียม เพื่อการส่งออก จึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการสำรวจในพื้นที่ปลูกพืชทั้ง 2 ชนิด เพื่อติดตามสถานการณ์ของโรคนี้ว่ามีในประเทศไทยหรือไม่เพื่อที่จะรายงานและตีพิมพ์ผลงานเพื่อเป็นการปลดโรคชนิดนี้ออกจากบัญชีรายชื่อโรคในประเทศไทย เพื่อประโยชน์ต่อการส่งออกหอมและกระเทียมในอนาคต

วิธีดำเนินการ

วิธีการ

1.สืบค้นข้อมูลลักษณะอาการของราเขม่าดำของหอมแดง หอมหัวใหญ่และกระเทียม

2. จัดทำแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ

3. การสำรวจ กำหนดพื้นที่แหล่งปลูกหอมและกระเทียมในเขตภาคเหนือ (เชียงใหม่ เชียงราย ลำพูนและพะเยา) ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (ศรีสะเกษ ชัยภูมิ บุรีรัมย์ และสุรินทร์) และภาคกลาง (อุตรดิตถ์และเพชรบูรณ์)

4. วิธีการตรวจวินิจฉัยโรคราเขม่าดำ โดยจัดทำรูปภาพลักษณะอาการของโรคทุกระยะของพืชจัดทำเป็นคู่มือในการสำรวจ เมื่อออกสำรวจให้สังเกตจากลักษณะอาการของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือ และบันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป เก็บตัวอย่างโรคที่พบใส่ถุงหรือภาชนะที่ใช้เก็บตัวอย่าง พร้อมเขียนรายละเอียดกำกับ รีบนำกลับมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันผล

5. การตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ โดยตรวจหอมแดงภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo ทุกหัวจำนวน 1.5 กิโลกรัม และ ใช้เข็มปลายแหลมเขี่ยส่วนของรา มาวางบนสไลด์ หยดน้ำหรือสีย้อม และปิดทับด้วยแผ่น cover slip และตรวจดูลักษณะต่าง ๆ ของราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound

6. เก็บข้อมูลที่ได้ในรูป data sheet เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ทางสถิติ จัดทำรายงานผลการวิจัย

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มต้น – สิ้นสุด
ตุลาคม 2553 – กันยายน 2556

สถานที่
- แหล่งปลูกหอมแดง หอมใหญ่ และกระเทียม ในเขตภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคกลาง
- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สืบค้นข้อมูลลักษณะอาการของราเขม่าดำ

จากผลการสืบค้นข้อมูลลักษณะอาการของราเขม่าดำพบว่าราสาเหตุโรคเขม่าดำเกิดจากสาเหตุเกิดจากรา *Urocystis cepulae* สามารถเข้าทำลายหอมแดง (ภาพที่ 1 และ 2) หอมหัวใหญ่และกะเทียม ได้ที่ใบ โคนต้นและที่หัว

2. จัดทำแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจได้แก่ แหล่งปลูกหอมแดง หอมหัวใหญ่ และกระเทียม ตำบล อำเภอ จังหวัด ช่วงเวลาในการสำรวจ พิกัดของแหล่งปลูก(GPS) เป็นต้น

3. การสำรวจ กำหนดพื้นที่แหล่งปลูกหอมและกระเทียมในเขตภาคเหนือ (เชียงใหม่ เชียงราย ลำพูนและพะเยา) ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (ศรีสะเกษ ชัยภูมิ บุรีรัมย์ และสุรินทร์) และภาคกลาง (อุตรดิตถ์และเพชรบูรณ์) วางแผนการสำรวจในพื้นที่อย่างน้อย 20 ไร่ แบ่งพื้นที่ออกเป็น 4 ส่วนๆ ละประมาณ 5 ไร่ แต่ละส่วนทำการสุ่มสำรวจโดยวิธี completely randomized design (CRD) . จำนวน 10 จุดขนาดพื้นที่จุดละ 2x2 เมตร สุ่มตรวจ จุดละ 20 ตัวอย่าง ตรวจแบบตัวอักษร W ซ้าย ตามวิธีของ Delp *et.al.* (1986) ทำการสุ่มตรวจทุกเดือน

จากผลการสำรวจโรคราเขม่าดำในเขตภาคเหนือ ช่วงเดือนตุลาคม 2553 – เดือนกันยายน 2554 โดยทำการสำรวจโรคราเขม่าดำของหอมแดง ในจังหวัดอุตรดิตถ์ เชียงใหม่ ลำพูน

ที่ตำบลบ้านถาด อำเภอแม่วาง จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 11 แปลง
ที่อำเภอป่าซาง จังหวัดลำพูน จำนวน 3 แปลง
ที่บ้านแม่เป็น ตำบลแม่คำ อำเภอแม่จัน จังหวัดเชียงราย จำนวน 2 แปลง
บ้านหาดกรวด อำเภอเมือง จังหวัดอุตรดิตถ์ จำนวน 2 แปลง
ตำบลชัยจุมพล อำเภอลับแล จังหวัดอุตรดิตถ์ จำนวน10 แปลง
บ้านห้วยถาน อำเภอบ้านโฮ่ง จังหวัดลำพูน จำนวน 8 แปลง
ตำบลอินทขิล อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 5 แปลง
บ้านดัง อำเภอไชยปราการ จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 5 แปลง

จากการสุ่มตรวจโรคราเขม่าดำของหอมแดงใน 8 พื้นที่ จำนวน 35 แปลง แปลงละ 10 กก. ไม่พบโรคราเขม่าดำบนทุกส่วนของหอมแดง พบแต่โรคหอมเลื้อยสาเหตุเกิดจากรา *Colletotrichum* และ โรคโคนเน่าสาเหตุเกิดจากรา *Sclerotium* เก็บตัวอย่างโรคมาศึกษาในห้องปฏิบัติการและเก็บเป็นตัวอย่างแห้งไว้ในพิพิธภัณฑ์โรค

จากผลการสำรวจโรคราเขม่าดำของหอมแดงในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ช่วงเดือนตุลาคม 2553 – เดือนกันยายน 2554 โดยสำรวจโรคราเขม่าดำของหอมแดงในจังหวัดอุบลราชธานี บุรีรัมย์ ศรีสะเกษ สกลนคร

อำเภอหนองหงส์ จังหวัดบุรีรัมย์ จำนวน 17 แปลง
อำเภอเมืองฝ้าย จังหวัดบุรีรัมย์ จำนวน 2 แปลง

อำเภอชำนิ จังหวัดบุรีรัมย์ จำนวน 2 แปลง
อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์ จำนวน 3 แปลง
อำเภอยางชุมน้อย จังหวัดศรีสะเกษ จำนวน 5 แปลง
อำเภอราศรีไศล จังหวัดศรีสะเกษ จำนวน 5 แปลง
อำเภอวังหิน จังหวัดศรีสะเกษ จำนวน 5 แปลง

จากการสุ่มตรวจโรคราเขม่าดำของหอมแดงจำนวน 39 แปลง แปลงละ 10 กก. ไม่พบโรคราเขม่าดำบนทุกส่วนของหอมแดง พบแต่โรคหอมเลื้อยสาเหตุเกิดจากรา *Colletotrichum* โรคโคนเน่าสาเหตุเกิดจากรา *Sclerotium* และโรครากปมสาเหตุเกิดจากไส้เดือนฝอย เก็บตัวอย่างโรคมาศึกษาในห้องปฏิบัติการและเก็บเป็นตัวอย่างแห้งไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากผลการสำรวจโรคราเขม่าดำของหอมแดง ในเขตภาคเหนือ จังหวัดอุตรดิตถ์ เชียงใหม่ ลำพูน ช่วงเดือนตุลาคม 2553 – เดือนกันยายน 2554 โดยทำการสำรวจโรคราเขม่าดำของหอมแดงในจังหวัดอุตรดิตถ์ เชียงใหม่ ลำพูน จาก 8 พื้นที่ ๆ รวมทั้งหมด 35 แปลง แปลงละ 10 กก. ไม่พบโรคราเขม่าดำบนทุกส่วนของหอมแดง พบแต่โรคหอมเลื้อยสาเหตุเกิดจากรา *Colletotrichum* และโรคโคนเน่าสาเหตุเกิดจากรา *Sclerotium* เก็บตัวอย่างโรคมาศึกษาในห้องปฏิบัติการและเก็บเป็นตัวอย่างแห้งไว้ในพิพิธภัณฑ์โรค

จากการสุ่มตรวจโรคราเขม่าดำของหอมแดง.ในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จังหวัดอุบลราชธานี บุรีรัมย์ ศรีสะเกษ สกลนคร ช่วงเดือนตุลาคม 2553 – เดือนกันยายน 2554 จาก 7 พื้นที่ รวมทั้งหมด 39 แปลง แปลงละ 10 กก. ไม่พบโรคราเขม่าดำบนทุกส่วนของหอมแดง พบแต่โรคหอมเลื้อยสาเหตุเกิดจากรา *Colletotrichum* โรคโคนเน่าสาเหตุเกิดจากรา *Sclerotium* และโรครากปมสาเหตุเกิดจากไส้เดือนฝอย เก็บตัวอย่างโรคมาศึกษาในห้องปฏิบัติการและเก็บเป็นตัวอย่างแห้งไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช

เอกสารอ้างอิง

บรรเจิด คติการ. 2495. การปลูกหอมฝรั่ง. กสิกร 25 (5): 396-402.

Kálmán, V. 1992. European Smut Fungi. Printed and bound by Friedrich Pustet, Regensburg. 570 pp.

Kálmán, V. and R. Shivas. 2008. Fungi of Australia : The Smut Fungi. CSIRO Publishing, Collingwood, Australia. 267pp.

Puckdeedindan, P. 1996. A supplementary host list of plant disease in Thailand. Tech. Bull. No. 7, Dept. of Agr., Bangkok. 24 p.

Walker, J. 2001. Smuts of Liliales in Australia, *Australas*. Mycol, 20: 61-70.

ภาคผนวก

ภาพที่ 1: แสดงอาการโรคราเขม่าดำของหอมแดง (ภาพจาก courtesy R.C. lambe)

ก. แผลที่ใบและที่หัว ภายในมีราสีดำ ลักษณะคล้ายผงฝุ่นอัดรวมตัวกันอยู่

ข. ต้นกล้าหอมแดงที่เป็นโรคราเขม่าดำ

ภาพที่ 2: แสดงอาการโรคราเขม่าดำของหอมแดง (ภาพจาก courtesy R.C. lambe)

การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของราสนิม (tropical maize rust) : *Physopella zeae* (Mains) Cummins & Ramachar ในข้าวโพด

Surveillance and Epidemiology of tropical maize rust *: Physopella zeae* (Mains) Cummins & Ramachar

นางสาวสุณีรัตน์ สีมะเดื่อ

นางสาวพรพิมล อธิปัญญาคม นางสาวชนินทร ดวงสอาด นายอภิรัชต์ สมฤทธิ์

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการสำรวจการเกิดโรคราสนิมข้าวโพด ระหว่าง พฤศจิกายน 2553 ถึง กันยายน 2554 เพื่อทราบสถานการณ์ การปรากฏ หรือไม่ปรากฏและการแพร่กระจายของรา *Physopella zeae* สาเหตุโรค tropical maize rust ในแหล่งปลูกข้าวโพด 43 พื้นที่ จาก 21 จังหวัด คือ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย แพร่ สุโขทัย พิษณุโลก ตาก อุตรดิตถ์ เพชรบูรณ์ นครปฐม กาญจนบุรี ราชบุรี เลย ชัยภูมิ นครราชสีมา บุรีรัมย์ ศรีสะเกษ จันทบุรี กระบี่ สตูล และ สงขลา ผลการสำรวจ ไม่พบโรค tropical maize rust ที่เกิดจากเชื้อ *Physopella zeae* พบแต่ราสนิมที่เกิดจากเชื้อ *Puccinia polysora* และได้จัดทำและเก็บตัวอย่างแห้งโรคราสนิมที่เกิดจาก *P. polysora* จำนวน 118 ตัวอย่าง ส่งเข้าพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช เพื่อเป็นหลักฐานสำหรับการตรวจสอบยืนยันการปรากฏของโรค

คำนำ

ระบบการค้ายุคใหม่ภายใต้กรอบกติกาขององค์การการค้าโลก (World Trade Organization : WTO) เปลี่ยนแปลงไปในลักษณะที่มีการแข่งขันทางการค้าที่เสรีและเป็นธรรมมากขึ้น การดำเนิน การค้าระหว่างประเทศต้องเป็นไปตามกฎเกณฑ์และความตกลงที่เกี่ยวข้องภายใต้องค์การการค้าโลก ความตกลงที่สำคัญที่เกี่ยวข้องกับการค้าสินค้าเกษตร ได้แก่ ความตกลงว่าด้วยการบังคับใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement of Application of Sanitary and Phytosanitary Measures : SPS) ซึ่งให้สิทธิพื้นฐานแก่ประเทศในการกำหนดมาตรการสุขอนามัยเพื่อปกป้องสุขอนามัยของมนุษย์ พืช และสัตว์ของแต่ละประเทศนั้น โดยอาศัยมาตรฐานระหว่างประเทศสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช (International Standards for Phytosanitary Measures : ISPM) ในอนุสัญญาว่าด้วยการอารักขาพืชระหว่างประเทศ (International Plant Protection Convention :

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-06-00-06-54

IPPC) ภายใต้องค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ กรณีที่ไม่มีมาตรฐานระหว่างประเทศที่เกี่ยวข้อง การกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสามารถทำได้โดยใช้การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest risk assessment) จากข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ โดยเฉพาะข้อมูลสถานภาพศัตรูพืชทั้งภายในประเทศและประเทศคู่ค้า โดยใช้วิธีการประเมินซึ่งพัฒนาภายใต้อนุสัญญาอารักขาพืชระหว่างประเทศ (International Plant Protection Convention) จากเหตุผลดังกล่าวข้างต้น ทำให้ทุกประเทศที่เกี่ยวข้องในการค้าสินค้าเกษตร จำเป็นต้องเตรียมข้อมูลสถานภาพศัตรูพืชที่ถูกต้องและเชื่อถือได้ไว้ให้พร้อม ในการเปิดตลาดใหม่ ประเทศผู้นำเข้าอาจร้องขอข้อมูลศัตรูพืชของประเทศผู้ส่งออก เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ความเสี่ยง ถ้าประเทศผู้ส่งออกมีข้อมูลศัตรูพืชของประเทศตนพร้อมจัดหาได้ง่าย การเปิดตลาดใหม่ของสินค้าเกษตรในต่างประเทศก็จะเป็นไปอย่างรวดเร็ว ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการส่งออกของประเทศ กรณีของการนำเข้าสินค้าเกษตร การมีข้อมูลศัตรูพืชที่ถูกต้อง จะช่วยให้ฝ่ายกักกันพืช สามารถวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของสินค้าเกษตรนำเข้าได้อย่างถูกต้องด้วย ช่วยให้การเกษตรของประเทศไม่เสี่ยงต่อศัตรูพืชที่ไม่พึงประสงค์ เมื่อสินค้าดังกล่าวได้รับการอนุญาตให้นำเข้า และช่วยให้ฝ่ายกักกันสามารถชี้แจงการตัดสินใจด้านการกักกันพืชต่อต่างประเทศที่พยายามส่งออกสินค้าเกษตรเข้ามาในประเทศเราได้ดียิ่งขึ้น จากเหตุผลดังกล่าวข้างต้น จำเป็นที่ทุกฝ่ายที่เกี่ยวข้องต้องเตรียมความพร้อมของข้อมูลศัตรูพืช รวมทั้งโรคพืช สำหรับข้าวโพด เป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ มีการปลูกเพื่อบริโภคภายในประเทศ และส่งออกต่างประเทศ ในปี พ.ศ. 2551 มีพื้นที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ รวมทั้งประเทศ 6,691,807 ไร่ ให้ผลผลิต 4,249,354 ตัน ปริมาณการส่งออกรวม 339,504 ตัน มูลค่า 3,165.5 ล้านบาท มีปริมาณการนำเข้า 425,398 ตัน มูลค่า 1,490.6 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2552) แหล่งปลูกข้าวโพดมีเกือบทั่วประเทศ แหล่งผลิตในประเทศที่สำคัญ ภาคเหนือ ได้แก่ เพชรบูรณ์ นครสวรรค์ พิษณุโลก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ นครราชสีมา ศรีสะเกษ ชัยภูมิ ภาคกลาง ได้แก่ สระบุรี ลพบุรี ภาคตะวันตก ได้แก่ สุพรรณบุรี กาญจนบุรี และภาคตะวันออก ได้แก่ สระแก้ว จันทบุรี ในเรื่องของศัตรูพืช โรคราสนิมเป็นโรคที่สำคัญของข้าวโพด เกิดจากเชื้อสาเหตุ 3 ชนิด คือ *Puccinia sorghi* Schw. (common rust) *P. polysora* Underw. (southern rust) และ *Physopella zeae* (Mains) Cummins & Ramachar (tropical rust) (Melching, 1975 ; Renfro, 1998 ; Dolezal, 2010) สำหรับประเทศไทยมีรายงานพบ 2 ชนิด คือ *P. sorghi* และ *P. polysora* ส่วน *Physopella zeae* ยังไม่มีรายงานการพบโรค ดังนั้นเพื่อการเตรียมข้อมูลสถานภาพศัตรูพืชที่ถูกต้อง จึงควรติดตามเฝ้าระวังการเกิดและแพร่ระบาดของราสนิม *P. zeae* ในพื้นที่ปลูกข้าวโพดในประเทศไทย เพื่อให้ได้ข้อมูลการปรากฏ/ไม่ปรากฏและการแพร่กระจายของราสนิม *P. zeae* ซึ่งจะเป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อการกักกันพืช และสนับสนุนการส่งออก

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างโรคราสนิมข้าวโพด จากแหล่งปลูกพืชของประเทศไทย ระหว่างพฤศจิกายน 2553 ถึง กันยายน 2554

2. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างโรคพืช เช่น กรรไกร คัตเตอร์ ถุงพลาสติก กระดาษหนังสือพิมพ์ กล่องเก็บความเย็น ปากกา กระดาษบันทึกข้อมูล

3. เครื่องวัดพิกัด

4. คู่มือ และแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจโรคราสนิมข้าวโพด

5. แผงไม้อัดตัวอย่างโรคพืช กระดาษฟางและกระดาษหนังสือพิมพ์

6. วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเชื้อรา เช่น จานเลี้ยงเชื้อ หลอดแก้ว ฟาล์ค เข็มเขี่ย มีดโกน มีดผ่าตัด แผ่นแก้วสไลด์พร้อมแผ่นปิดสไลด์ และตะเกียงแอลกอฮอล์

7. สารเคมี ได้แก่ KOH shear's solution และ oil immersion

8. กล้องจุลทรรศน์ พร้อมกล้องถ่ายภาพ

9. ตำราสำหรับใช้ในการจัดจำแนกราสนิม

วิธีการ

1 สืบค้นข้อมูลที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ ข้อมูลพืช เช่น แหล่งปลูกข้าวโพด ขนาดพื้นที่ปลูก ประวัติการเกิดโรคในแต่ละพื้นที่ ข้อมูลเชื้อรา *Physopella zeae* เช่น รูปร่างลักษณะของเชื้อ และลักษณะอาการโรค และข้อมูลราสนิมชนิดอื่นของข้าวโพด

2 จัดทำคู่มือการสำรวจ เพื่อใช้ในการตรวจสอบอ้างอิงขณะทำการสำรวจ โดยการรวบรวมตัวอย่างอ้างอิงและรูปภาพของโรคราสนิมที่เกิดจาก *Physopella zeae* และจัดทำข้อมูลของเชื้อรา ได้แก่ ชื่อสามัญ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพืชอาศัย อาการของโรค รูปภาพสีของโรค และแหล่งอาศัยของรา รวมทั้งข้อมูลราสนิมชนิดอื่นของข้าวโพด

3. จัดทำฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ ได้แก่ วันที่ สถานที่ ตำแหน่งที่ตั้ง (พิกัด GPS) พันธุ์พืช ระยะการเจริญของพืช ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย ลักษณะอาการโรค เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค ระดับความรุนแรงของโรค การแพร่กระจายในไร่ สภาพภูมิประเทศ ภูมิอากาศ เป็นต้น

4. สำรวจการเกิดโรคราสนิมของข้าวโพด ระหว่าง พฤศจิกายน 2553 ถึง กันยายน 2554

โดยกำหนดพื้นที่แหล่งปลูกข้าวโพดในประเทศไทย เขตภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย แพร่ สุโขทัย พิษณุโลก ตาก อุตรดิตถ์ และเพชรบูรณ์ ภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดนครปฐม กาญจนบุรี และราชบุรี ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดเลย ชัยภูมิ นครราชสีมา บุรีรัมย์ ศรีสะเกษ ภาคตะวันออก ได้แก่ จังหวัดจันทบุรี และสระแก้ว และภาคใต้ ได้แก่ จังหวัดกระบี่ สตูล และ

สงขลา วางแผนการสำรวจอย่างน้อย 10 แปลง ต่อพื้นที่ แต่ละแปลงทำการสุ่มตัวอย่างแบบเป็นระบบ โดยเดินตามเส้นทแยงมุม ทุกๆ 10 ก้าว ตรวจโรคจุดละ 10 ต้น จำนวน 10 จุดต่อแปลง หรือ 10 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่แปลง

- ตรวจโรคราสนิมในแปลง โดยดูลักษณะอาการของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือการสำรวจที่จัดทำไว้ บันทึกรายละเอียดข้อมูล ตามแบบฟอร์มในข้อ 3 และถ่ายรูปลักษณะอาการโรค

- เก็บตัวอย่างโรคราสนิม โดยเลือกเก็บส่วนของพืชที่แสดงอาการโรค ห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ใส่ในถุงพลาสติก พร้อมแนบกระดาษบันทึกรายละเอียด ชื่อพืช สถานที่เก็บ วันที่เก็บ และลักษณะอาการของโรค บรรจุห่อตัวอย่างโรคพืชลงในกล่องเก็บความเย็น เพื่อนำมาจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุโรคในห้องปฏิบัติการ

5. จำแนกชนิดของราสนิมในห้องปฏิบัติการ โดยตรวจลักษณะราสนิมของข้าวโพดภายใต้กล้องจุลทรรศน์

- ตัดขวาง (cross section) เนื้อเยื่อพืช โดยนำส่วนของพืชที่เป็นโรคมาตรวจดูลักษณะอาการ และโครงสร้างของราสนิมภายใต้กล้อง stereo microscope จากนั้นนำส่วนที่แสดงลักษณะอาการที่มีราสนิมเจริญอยู่ มาตัดขวางเนื้อเยื่อ เมื่อได้ชิ้นส่วนที่แสดงลักษณะโครงสร้างของราสนิมชัดเจน จึงหยด shear's solution ปิดด้วยแผ่นปิดสไลด์ (cover slip) นำไปตรวจดูภายใต้กล้อง compound microscope เพื่อศึกษาลักษณะโครงสร้างของราสนิม

- ศึกษาลักษณะทางสัณฐานของสปอร์ โดยเขี่ยสปอร์จากตัวอย่างพืชที่เป็นโรคราสนิม ลงบนแผ่นกระจกสไลด์ แล้วหยด shear's solution ปิดด้วยแผ่นปิดสไลด์ ตรวจดูลักษณะทางสัณฐานของสปอร์ ใต้กล้อง compound microscope สุ่มวัดขนาดสปอร์ จำนวน 50 สปอร์ และโครงสร้างอื่นๆที่สำคัญ โดยใช้ calibrated micrometer บันทึกขนาด รูปร่าง ลักษณะผนังของสปอร์ และสี แล้วบันทึกภาพ จากนั้นหาค่าเฉลี่ยของขนาดสปอร์ และโครงสร้างของราสนิมที่วัดขนาดไว้

- จำแนกชนิดราสนิม โดยเปรียบเทียบลักษณะของราสนิมที่ศึกษากับคู่มือการจัดจำแนกราสนิม ได้แก่ The Rust Fungi of Cereals Grasses and Bamboos (Cummins, 1971) และ Illustrated Genera of Rust Fungi. Third Edition (Cummins *et al.*, 2003)

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

7. รวบรวมบันทึกข้อมูล โดยรวบรวมบันทึกข้อมูลสถานการณ์การเกิด และแพร่กระจายของราสนิม *Physopella zeae* ในข้าวโพด และจัดทำรายงาน

เวลาและสถานที่

เวลา **เริ่มต้น** ตุลาคม 2554 **สิ้นสุด** กันยายน 2556

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และแปลงปลูกข้าวโพดในประเทศไทย

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1 สืบค้นข้อมูลที่เกี่ยวข้อง ได้ข้อมูลพืช เช่น แหล่งปลูกข้าวโพด ขนาดพื้นที่ปลูก ประวัติการเกิดโรคในแต่ละพื้นที่ ข้อมูลเชื้อรา *Physopella zeae* เช่น รูปร่างลักษณะของเชื้อ และลักษณะอาการโรค และข้อมูลราสนิมชนิดอื่นของข้าวโพด ได้แก่ *Puccinia sorghi* และ*P. polysora*

2 จัดทำคู่มือการสำรวจ ได้คู่มือการสำรวจ ซึ่งประกอบด้วย รูปภาพ และข้อมูลของเชื้อรา และการเกิดโรคราสนิมที่มีสาเหตุจากเชื้อ *Physopella zeae* *Puccinia sorghi* และ *P. polysora* เพื่อใช้ในการตรวจสอบอ้างอิงขณะทำการสำรวจ

3. จัดทำฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ ได้แบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ ได้แก่ วันที่ สถานที่ ตำแหน่งที่ตั้ง (พิกัด GPS) พันธุ์พืช ระยะการเจริญของพืช ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย ลักษณะอาการโรค เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค ระดับความรุนแรงของโรค การแพร่กระจายในไร่ สภาพภูมิประเทศ ภูมิอากาศ เป็นต้น

4. สำรวจการเกิดโรคราสนิมของข้าวโพด สำรวจการเกิดโรคราสนิมข้าวโพด ใน 43 พื้นที่ คือ อ.เชียงดาว อ. ฝาง อ. ไชยปราการ และ อ. แม่แตง จ.เชียงใหม่ อ. เมือง จ. เชียงราย อ. เมือง จ. แพร่ อ. เมือง อ. หล่มสัก และ อ. หล่มเก่า จ. เพชรบูรณ์ อ. สวรรคโลก และ อ. ศรีสัชนาลัย จ. สุโขทัย อ. วังทอง จ. พิษณุโลก อ. สามเงา อ. บ้านตาก จ. ตาก อ. พิชัย จ. อุตรดิตถ์อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม อ. ท่าม่วง อ. ท่ามะกา อ. ศรีสวัสดิ์ อ. ไทรโยค และ อ. เมือง จ. กาญจนบุรี อ. ท่าสะโก และ อ. บ้านโป่ง จ. ราชบุรี อ. ด่านซ้าย อ. เมือง และ อ. วังสะพุง จ. เลย อ. เมือง และ อ. จัตุรัส จ. ชัยภูมิ อ. ด่านขุนทด อ. สีคิ้ว และ อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา อ. หนองหงส์ จ. บุรีรัมย์ อ. ยางชุมน้อย อ. วังหิน และ อ. เมือง จ. ศรีสะเกษ อ. เมือง อ. ท่าใหม่ และ อ. เขาสอยดาว จ. จันทบุรี อ. วังน้ำเย็น จ. สระแก้ว อ. เขาพนม จ. กระบี่ อ. มะนัง จ. สตูล อ. รัตภูมิ และ อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา พบโรคราสนิม จำนวน 118 ตัวอย่าง

5. จำแนกชนิดของราสนิมในห้องปฏิบัติการ หลังจากจำแนกชนิดของเชื้อราสนิมในห้องปฏิบัติการไม่พบโรค tropical maize rust ที่เกิดจากเชื้อ *Physopella zeae* พบแต่ราสนิมที่เกิดจากเชื้อ *Puccinia polysora*

6. จัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืช จัดทำและเก็บตัวอย่างแห้งโรคราสนิมที่เกิดจาก *P. polysora* จำนวน 118 ตัวอย่าง เพื่อเป็นหลักฐานสำหรับการตรวจสอบยืนยันการปรากฏของโรค ส่งเข้าพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช

7. รวบรวมบันทึกข้อมูล ไม่พบโรค tropical maize rust ที่เกิดจากเชื้อ *Physopella zeae*

สรุปผลการทดลอง

จากการสำรวจการเกิดโรคราสนิมข้าวโพด ระหว่าง พฤศจิกายน 2553 ถึง กันยายน 2554 เพื่อทราบสถานการณ์ การปรากฏ หรือไม่ปรากฏและการแพร่กระจายของรา *Physopella zeae* สาเหตุโรค tropical maize rust ในแหล่งปลูกข้าวโพด 43 พื้นที่ จาก 21 จังหวัด คือ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย แพร่ สุโขทัย พิษณุโลก ตาก อุตรดิตถ์ เพชรบูรณ์ นครปฐม กาญจนบุรี ราชบุรี เลย ชัยภูมิ นครราชสีมา บุรีรัมย์ ศรีสะเกษ จันทบุรี กระบี่ สตูล และ สงขลา ผลการสำรวจ ไม่พบโรค tropical maize rust ที่เกิดจากเชื้อ *Physopella zeae* พบแต่ราสนิมที่เกิดจากเชื้อ *Puccinia polysora* และได้จัดทำและเก็บตัวอย่างแห้งโรคราสนิมที่เกิดจาก *P. polysora* จำนวน 118 ตัวอย่าง ส่งเข้าพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช เพื่อเป็นหลักฐานสำหรับการตรวจสอบยืนยันการปรากฏของโรค

เอกสารอ้างอิง

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2552. ระบบรายงานข้อมูลออนไลน์ Available at www.oae.go.th (Access date : August 18, 2009).

Anonymous. 2005. Management of Plant Pathogen Collections. Department of Agriculture, Fisheries and Forestry, Commonwealth of Australia. 82 pp.

Cummins, G.B. 1971. The Rust Fungi of Cereals, Grasses and Bamboos. Springer-Verlag, New York. 570 pp.

Cummins, G.B. and Y. Hiratsuka. 2003. Illustrated Genera of Rust Fungi. 3rd Ed., The American Phytopathological Society, Minnesota. 225 pp.

Melching, J.S. 1975. Corn Rusts: Types, Races and Destructive Potential. Proceedings of the 13th Annual Corn and Sorghum Research Conference. Publication No. 30. American Seed Trade Association. 24 pp.

Dolezal, Wm. E. 2010. Corn Rust Identification. Pioneer Hi-Bred International, Inc., *Johnston, IA, USA. 31 pp.* Available at

http://www.nappfast.org/meetings/SCR%202010/pdfs/Dolezal%20Identifying_SouRst_020910_r2.pdf (Access date : July 7, 2010).

Renfro, R. 1998. Maize Rusts. Pages. 8-14. In : Diagnosing Maize Diseases in Latin America. C. Casela, R. Renfro and A.F. Krattiger (eds.) ISAA Briefs No. 9 ISAA : Ithaca, NY and EMBRAPA, Brasilia.

การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของราน้ำค้างข้าวโพด *Peronosclerospora philippinensis*

Surveillance and Distribution of Downy Mildew of Corn: *Peronosclerospora philippinensis*

ชนินทร ดวงสอาด พรพิมล อธิปัญญาคม สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการสำรวจพื้นที่ปลูกข้าวโพดส่งออกในประเทศไทยเพื่อติดตามสถานการณ์ของโรคราน้ำค้างที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Peronosclerospora philippinensis* ระหว่าง ตุลาคม 2553 – กันยายน 2554 ในพื้นที่ปลูกข้าวโพด 17 จังหวัดได้แก่ จังหวัดกาญจนบุรี ราชบุรี นครปฐม ศรีสะเกษ บุรีรัมย์ เชียงใหม่ อุตรดิตถ์ ชุมพร สุราษฎร์ธานี กระบี่ สตูล ตรัง สุโขทัย เลย เพชรบูรณ์ สระบุรี และขอนแก่น โดยพบการข้าวโพดที่แสดงอาการของราน้ำค้างที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Peronosclerospora sorghi* และยังไม่พบตัวอย่างข้าวโพดที่แสดงอาการของโรคราน้ำค้างที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Peronosclerospora philippinensis*

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-06-00-07-54

คำนำ

เนื่องจากในปัจจุบันการส่งออกและนำเข้าสินค้าเกษตรจะต้องมีความตกลงทั่วไปว่าด้วยภาษีศุลกากรและการค้า (General Agreement on Tariff and Trade: GATT) ซึ่งต่อมาได้เปลี่ยนเป็นองค์การการค้าโลก (World Trade Organization: WTO) ได้กำหนดกฎเกณฑ์และระเบียบเพื่อให้เกิดการค้าเสรีและเป็นธรรม โดยทุกประเทศสมาชิกของ WTO จะต้องปรับลดอัตราอากรขาเข้าลงมาเป็นอันดับแรกสุดของการเปิดการค้าเสรี ในปัจจุบันมาตรการกีดกันด้านภาษีศุลกากรมีแนวโน้มที่จะลดลงเนื่องจากการเปิดเสรีทางการค้าภายใต้เขตการค้าเสรีต่างๆ มีเพิ่มขึ้น แต่ในขณะเดียวกันมาตรการกีดกันทางการค้าที่มิใช่ภาษีศุลกากร (non tariff barrier, NTB) จะเริ่มมีบทบาทและมีรูปแบบใหม่ๆ เพิ่มขึ้น ซึ่ง มาตรการที่สำคัญในด้านการเกษตรได้แก่ มาตรการด้านสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Sanitary and Phytosanitary Measures : SPS) มาตรการด้านสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช มีวัตถุประสงค์เพื่อปกป้องชีวิต และสุขภาพมนุษย์ สัตว์ และพืช เพื่อสร้างความมั่นใจต่อความปลอดภัยด้านอาหาร แต่ต้องไม่ใช้สิทธินั้นในทางที่เป็นการสร้างข้อจำกัดทางการค้า หรือเลือกปฏิบัติระหว่างประเทศสมาชิกตามอำเภอใจ ซึ่งการนำมาตรการ SPS มาใช้ควรสอดคล้องกับมาตรฐานตามที่องค์กรมาตรฐานระหว่างประเทศกำหนดขึ้น และต้องมีเหตุผล และหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่เพียงพอมีการประเมินความเสี่ยง (Risk Assessment) ที่เชื่อถือได้ ซึ่งประเทศคู่ค้ามักนำมาตรการ SPS มาใช้เป็นเครื่องมือในการกีดกันทางการค้ากับสินค้าอาหารประเภทปศุสัตว์ ประมง และพืชผักผลไม้ โดยอ้างการตรวจพบเชื้อโรค โรคแมลง และอื่นๆ ซึ่งส่งผลกระทบต่อภาพลักษณ์ทางการค้าของประเทศและเป็นการเพิ่มต้นทุนการผลิต

ประเทศไทยเป็นแหล่งผลิตข้าวโพดที่สำคัญของภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มีพื้นที่ปลูกประมาณ 7ล้านไร่ ในปี 2547 มีปริมาณการส่งออกข้าวโพด 871,791 ตันต่อปี มูลค่าการส่งออกประมาณ 4,651 ล้านบาท(ที่มา: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร) ปัจจุบันประเทศไทยประสบปัญหาการส่งออกเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเนื่องจากประเทศปลายทางตรวจพบว่าโรคราน้ำค้าง *Peronosclerospora philippinensis* ซึ่งเป็นปัญหากับข้าวโพดในการส่งออกและนำเข้า ดังนั้น จึงมีความจำเป็นต้องทำการสำรวจในพื้นที่ข้าวโพดส่งออก เพื่อติดตามสถานการณ์ของ โรคราน้ำค้าง *Peronosclerospora philippinensis* ว่ามีในประเทศไทยหรือไม่ ซึ่งเป็นการศึกษาการเฝ้าระวังและการแพร่ระบาดของโรคราน้ำค้าง *Peronosclerospora philippinensis* ในพื้นที่ปลูกข้าวโพด เพื่อเป็นข้อมูลในการเจรจาการค้าเพื่อประโยชน์ต่อการส่งออกและนำเข้าข้าวโพดในอนาคต

ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้ จึงทำการศึกษาเพื่อให้ได้ข้อมูลถานการณ์การเกิดและการแพร่กระจายของศัตรูพืชเพื่อใช้สนับสนุนการออกประกาศการปลอดศัตรูพืช โดย NPPO และเพื่อศึกษาชีววิทยาและนิเวศวิทยาของศัตรูพืชพืชซึ่งจัดเป็นศัตรูพืชกักกัน

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างได้แก่ ถุงพลาสติก กรรไกร กรรไกรตัดแต่งกิ่ง กระดาษฟาง ไม้อัดทับตัวอย่าง
2. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อ หม้อนึ่งความดัน ตู้อบฆ่าเชื้อ
3. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ ขวดดูแรน บิกเกอร์ สไลด์และแผ่นแก้วปิดสไลด์ ตะเกียงแอลกอฮอล์
4. เข็มเขี่ยปลายแหลม ห่วงถ่ายเชื้อ ปากคีบ ใบมีดผ่าตัด มีด
5. กล้องจุลทรรศน์แบบ compound และ sterio
6. สารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ ได้แก่ สารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ และ เอธิลแอลกอฮอล์ 75%

วิธีการ

1.จัดทำคู่มือการสำรวจโดยการรวบรวมตัวอย่างอ้างอิงและรูปภาพของโรคราน้ำค้างสาเหตุเกิดจากรา *Peronosclerospora philippinensis* เพื่อใช้ในการตรวจสอบอ้างอิงขณะทำการสำรวจและจัดทำข้อมูลศัตรูพืช ชื่อสามัญ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพืชอาศัย อาการของโรค รูปภาพสีของโรค แหล่งอาศัยของรา และรายละเอียดของศัตรูพืชชนิดอื่นที่คล้ายคลึงกับศัตรูพืชเป้าหมาย

2. จัดทำฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจได้แก่ ชื่อที่อยู่ที่ตั้งของแปลง วันและเวลา สภาพดินฟ้าอากาศ ตำแหน่งที่ตั้ง (พิกัด GPS) เป็นต้น

3. การสำรวจโดยกำหนดพื้นที่แหล่งปลูกข้าวโพดในประเทศไทย วางแผนการสำรวจในพื้นที่อย่างน้อย 10 แปลง ต่อพื้นที่ แต่ละแปลงทำการสุ่มตัวอย่างแบบเป็นระบบ สุ่มตรวจโรค 5 แถวต่อแปลง กำหนดการตรวจแบบแถวเว้นแถว ทำการสุ่มตรวจทุกเดือนในระหว่างฤดูปลูก

4.วิธีการตรวจโรคราน้ำค้างในแปลง เมื่อออกสำรวจ ให้สังเกตจากลักษณะอาการของโรคเปรียบ เทียบกับคู่มือการสำรวจที่จัดทำไว้ บันทึกรายละเอียดข้อมูลของแปลง บันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป เก็บตัวอย่างห่อกระดาษและใส่ถุง นำกลับมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ

5. การตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ โดยตรวจใบข้าวโพดที่แสดงอาการโรคภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo ใช้เข็มปลายแหลมเขี่ยส่วนของรา มาวางบนสไลด์ หยดน้ำหรือสีย้อม และปิดทับด้วยแผ่น cover slip และตรวจดูลักษณะต่าง ๆ ของราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound

6. เก็บข้อมูลที่ได้ในรูป data sheet เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ทางสถิติ จัดทำรายงานผลการวิจัย

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มต้น – สิ้นสุด
เดือนตุลาคม 2553 - เดือนกันยายน 2556

สถานที่ - ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
- แหล่งปลูกข้าวโพดภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันตก ภาคเหนือ และภาคใต้

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ได้สำรวจพื้นที่ปลูกข้าวโพดส่งออกในประเทศไทยเพื่อติดตามสถานการณ์ของโรคราน้ำค้างที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Peronosclerospora philippinensis* ระหว่าง ตุลาคม 2553 – กันยายน 2554 ในพื้นที่ปลูกข้าวโพด 17 จังหวัดได้แก่ จังหวัดกาญจนบุรี ราชบุรี นครปฐม ศรีสะเกษ บุรีรัมย์ เชียงใหม่ อุตรดิตถ์ ชุมพร สุราษฎร์ธานี กระบี่ สตูล ตรัง สุโขทัย เลย เพชรบูรณ์ สระบุรี และขอนแก่น โดยพบการข้าวโพดที่แสดงอาการของราน้ำค้างที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Peronosclerospora sorghi* และยังไม่พบตัวอย่างข้าวโพดที่แสดงอาการของโรคราน้ำค้างที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Peronosclerospora philippinensis*

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจแหล่งปลูกข้าวโพดในประเทศไทยในพื้นที่ 17 จังหวัด ยังไม่พบข้าวโพดที่แสดงอาการของโรคราน้ำค้างที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Peronosclerospora philippinensis* แต่เพื่อสนับสนุนข้อมูลการสำรวจให้มีประสิทธิภาพ ควรทำการสำรวจในพื้นที่ปลูกข้าวโพดในพื้นที่จังหวัดอื่นๆ รวมถึงพื้นที่ปลูกในจังหวัดเดิมที่ได้ทำการสำรวจเพื่อเป็นการตรวจทานสถานการณ์การระบาดของโรค

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

เพื่อให้ได้ข้อมูลถานการณ์การเกิดและการแพร่กระจายของศัตรูพืชเพื่อใช้สนับสนุนการออกประกาศการปลอดศัตรูพืช โดย NPPO และเพื่อศึกษาชีววิทยาและนิเวศวิทยาของศัตรูพืชพืชซึ่งจัดเป็นศัตรูพืชกักกัน

เอกสารอ้างอิง

Donald, G. W. 2000. Compendium of Corn Disease. APS Press. The American Phytopathological Society. 78p.

Pitakspraiwan, P. and Piya, G. 1976. Morphological and cytological studies of *Sclerospora* species on corn in Thailand. Kasetsart J. 10:118-120.

การเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของแบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* ในพื้นที่ปลูกหอม กระเทียม เพื่อการส่งออก

Surveillance and Epidemiology of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* in onion and garlic plantation for exportation

ทิพวรรณ กันหาญาติ ดารุณี ปุญญพิทักษ์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล รุ่งนภา ทองเครื่ง

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การสำรวจแบคทีเรีย *Pseudomonas syringae pv. syringae* ในพื้นที่ปลูกหอม และกระเทียม ดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) เพื่อให้ทราบข้อมูลแบคทีเรีย *P. syringae pv. syringae* ในพื้นที่สำรวจและในเวลาที่กำหนด ดำเนินการโดยตรวจเอกสารข้อมูลของเชื้อแบคทีเรีย และลักษณะอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *syringae* ที่พบในหอมและกระเทียม ทดสอบวิธีการตรวจสอบเชื้อ *P. syringae* pv. *syringae* โดยใช้เทคนิค PCR จากตัวอย่างหอมหาแหล่งปลูกหอมและกระเทียมพร้อมทั้งวางแผนการสำรวจโรค ทำการสำรวจเก็บตัวอย่างหอมแดงและดินปลูกหอม จากจังหวัดศรีสะเกษ อุตรดิตถ์ จำนวน 15 ตัวอย่าง นำมาตรวจในห้องปฏิบัติการเพื่อแยกเชื้อ*P. syringae* pv. *syringae* ผลการตรวจแยกเชื้อ *P. syringae* pv. *syringae* สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียที่เรืองแสงได้จำนวน 20 isolate นำตรวจสอบโดยเทคนิค PCR พบว่าแบคทีเรียทั้งหมดไม่ใช่แบคทีเรีย *P. syringae* pv. *syringae*

รหัสโครงการ 03-04-54-03-06-00-08-54

คำนำ

ในปี 2552 ประเทศอินโดนิเซียได้ออกกฎระเบียบ The Regulation of the Minister of Agriculture No. 18/permentan/OT. 140/2/2008 (plant Quarantine Requirements and Measures Toward the Importation of Fresh Plant Products in the Form of Fresh Bulb Vegetables into the Territory of Republic of Indonesia เมื่อวันที่ 26 กุมภาพันธ์ 2551 มีผลบังคับใช้ตั้งแต่เดือน เมษายน 2551 โดยมีข้อกำหนดในการนำเข้าสินค้าพืชสดประเภทพืชหัวกลุ่ม bulb ต้องผ่านการตรวจรับรองและออกใบรับรองสุขอนามัยพืช ประเทศไทยส่งออกหัวหอมไปยังประเทศอินโดนีเซีย มูลค่าประมาณ 300 ล้านบาท เมื่อกฎระเบียงมีผลบังคับใช้ทำให้เกิดปัญหากับการส่งออกหัวหอม เนื่องจากประเทศไทยมีเชื้อศัตรูพืชที่เป็นศัตรูกันพืชของอินโดนีเซีย ได้แก่ ราเขม่าดำสาเหตุเกิดจาก *Urocystis cepulae* และแบคทีเรีย *Pseudomonas syringae pv. syringae* ทำให้การส่งออกหอมแดงและกระเทียมไปประเทศอินโดนิเซียต้องมีใบรับรองปลอดจากโรคทั้งสองชนิดกำกับไปด้วย จากการสืบค้นข้อมูลบัญชีรายชื่อโรคพืชที่พบในประเทศไทย พบว่า ไม่พบรายงานการพบแบคทีเรีย *P. syringae pv. syringae* ในหอมและกระเทียมในประเทศไทย แต่มีรายงานของ พัฒนา *et al.* (2537) พบแบคทีเรีย *P. syringae* ในพริกไทย เมื่อสืบค้นข้อมูลต่างประเทศ พบว่า CABI (2007) ได้รายงานว่าในประเทศไทยพบแบคทีเรีย *P. syringae pv. syringae* ในพืชหลายชนิดได้แก่ มะเขือเทศ พริก พริกไทย ส้มโอ หอมกระเทียม เป็นต้น จากข้อมูลที่สืบค้นดังกล่าวที่ไม่สอดคล้องกันทำให้ไม่ทราบสถานการณ์ในปัจจุบันของแบคทีเรีย *P. syringae pv. syringae* ในหอมและกระเทียม ดังนั้น จึงมีความจำเป็นต้องทำการสำรวจในพื้นที่ปลูกหอม และกระเทียมส่งออก ติดตามสถานการณ์ของโรคนี้ว่ามีในประเทศไทยหรือไม่ ซึ่งเป็นการศึกษาการเฝ้าระวังและการแพร่ระบาดของแบคทีเรีย *P. syringae pv. syringae*ในพื้นที่ปลูกพืชทั้งสองชนิด เพื่อที่จะรายงานและตีพิมพ์ผลงานเพื่อเป็นการปลดโรคชนิดนี้ออกจากบัญชีรายชื่อโรคในประเทศไทย เพื่อประโยชน์ต่อการส่งออกหอมและกระเทียมในอนาคต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อชนิดปลอดเชื้อ อุปกรณ์การแยกเชื้อแบคทีเรีย
2. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ตู้เย็นสำหรับเก็บตัวอย่าง หม้อนึ่งความดัน

ไอ เครื่องเขย่าชนิดควบคุมอุณหภูมิ เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ตู้อบ (oven)

3. เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่นๆที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องชั่ง, pH meter เป็นต้น
4. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

วิธีการ

แบบการวิจัย การสำรวจแบคทีเรีย *P. syringae pv. syringae* ในพื้นที่ปลูกหอม และกระเทียม ดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) เพื่อให้ทราบข้อมูลแบคทีเรีย *P. syringae pv. syringae* ในพื้นที่สำรวจและในเวลาที่กำหนด

ขั้นตอนและวิธีในการวิจัย ดำเนินการตามขั้นตอนต่อไปนี้

1. จัดทำคู่มือการสำรวจ โดยการรวบรวมตัวอย่างอ้างอิงและรูปภาพของโรคของพืชหัว (bulb) ที่เกิดจากแบคทีเรีย *P. syringae pv. syringae* เพื่อใช้ในการตรวจสอบอ้างอิงขณะทำการสำรวจและจัดทำข้อมูลศัตรูพืช ชื่อสามัญ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพืชอาศัย อาการของโรค รูปภาพสีของโรค และรายละเอียดของศัตรูพืชชนิดอื่นที่คล้ายคลึงกับศัตรูพืชเป้าหมาย

2. จัดทำฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจได้แก่ ชื่อที่อยู่ที่ตั้งของแปลง วันและเวลา สภาพดินฟ้าอากาศ ตำแหน่งที่ตั้ง (พิกัด GPS) เป็นต้น

3. การสำรวจ โดยกำหนดพื้นที่แหล่งปลูกหอมและกระเทียมในเขตภาคเหนือ (เชียงใหม่ เชียงราย ลำพูนและพะเยา) ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (ศรีสะเกษ ชัยภูมิ บุรีรัมย์ และสุรินทร์) และภาคกลาง (อุตรดิตถ์และเพชรบูรณ์) วางแผนการสำรวจในพื้นที่อย่างน้อย 10 แปลงต่อพื้นที่ แต่ละแปลงทำการสุ่มตัวอย่างแบบเป็นระบบ สุ่มตรวจโรค 5 แถวต่อแปลง กำหนดการตรวจแบบแถวเว้นแถว ทำการสุ่มตรวจทุกเดือนในระหว่างฤดูปลูก

4. วิธีการตรวจแบคทีเรีย *P. syringae pv. syringae* ในแปลง เมื่อออกสำรวจให้สังเกตจากลักษณะอาการของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือการสำรวจที่จัดทำไว้ บันทึกรายละเอียดข้อมูลของแปลง บันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป เก็บตัวอย่างห่อกระดาษและใส่ถุง นำกลับมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ

5. การตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ การตรวจสอบโดยการนำตัวอย่างที่เก็บมาหรือสุ่มหัวหอมแดงที่มีลักษณะนิ่มคล้ายจะเน่านำมาแยกเชื้อ *P. syringae pv. syringae* บนอาหาร King medium B คัดเฉพาะโคโลนีที่สร้าง fluorescent pigment นำมาทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี ได้แก่ Arginine dihydrolase test ถ้าเป็นเชื้อ *P. syringae pv. syringae* จะสร้าง fluorescent

pigment และไม่สามารถใช้สาร Arginine ได้ ยืนยันโดยใช้ specific primer โดยใช้วิธี Polymerase chain reaction (PCR) ซึ่งจากการตรวจยังไม่พบเชื้อ P. syringae pv. syringae

6. เก็บข้อมูลที่ได้ในรูป data sheet เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ทางสถิติ จัดทำรายงานผลการวิจัย

เวลาและสถานที่

ต.ค.53 – ก.ย.56 ที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และ แปลงปลูกหอมแดงและกระเทียมของเกษตรกร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การสำรวจแบคทีเรีย *Pseudomonas syringae pv. syringae* ในพื้นที่ปลูกหอม และกระเทียม ดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) เพื่อให้ทราบข้อมูลแบคทีเรีย *P. syringae pv. syringae* ในพื้นที่สำรวจและในเวลาที่กำหนด ดำเนินการโดยตรวจเอกสารข้อมูลของเชื้อแบคทีเรีย และลักษณะอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *syringae* ที่พบในหอมและกระเทียม ทดสอบวิธีการตรวจสอบเชื้อ *P. syringae* pv. *syringae* โดยใช้เทคนิค PCR จากตัวอย่างหอมหาแหล่งปลูกหอมและกระเทียมพร้อมทั้งวางแผนการสำรวจโรค ทำการสำรวจเก็บตัวอย่างหอมแดงและดินปลูกหอม จากจังหวัดศรีสะเกษ อุตรดิตถ์ จำนวน 15 ตัวอย่าง นำมาตรวจในห้องปฏิบัติการเพื่อแยกเชื้อ*P. syringae* pv. *syringae* ผลการตรวจแยกเชื้อ *P. syringae* pv. *syringae* สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียที่เรืองแสงได้จำนวน 20 isolate นำตรวจสอบโดยเทคนิค PCR พบว่าแบคทีเรียทั้งหมดไม่ใช่แบคทีเรีย *P. syringae* pv. *syringae*

เอกสารอ้างอิง

พัฒนา สนธิรัตน ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์ วิรัช ชูบำรุง และอุบล คือประโคน. 2537. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย. กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 285 หน้า.

CAB International, 2007. Crop Protection Compendium. Wallingford, UK: CAB International.

การเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของ *Pantoea agglomerans* ในพื้นที่ผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเพื่อการส่งออก

Surveillance and Epidemiology of *Pantoea agglomerans* in Corn seed production area for exportation

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล[1/] ทิพวรรณ กันหาญาติ[1/] ชลธิชา รักใคร่[2/] รุ่งนภา ทองเครั่ง[1/]

1/ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

2/ กลุ่มวิชากักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การสำรวจโรคเหี่ยวของข้าวโพดดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) เพื่อให้ทราบข้อมูลโรคเหี่ยวของข้าวโพดและเชื้อสาเหตุโรค *Pantoea agglomerans* ในพื้นที่สำรวจและในเวลาที่กำหนด ดำเนินการโดยตรวจเอกสารข้อมูลของเชื้อแบคทีเรีย และลักษณะอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *P. agglomerans* ที่พบในข้าวโพด ข้อมูลการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดจากแหล่งผลิตที่มีการแพร่ระบาดของเชื้อ *P. agglomerans* หาแหล่งปลูกข้าวโพดพร้อมทั้งวางแผนการสำรวจโรค ทำการสำรวจเก็บตัวอย่างเมล็ดพันธุ์และลักษณะอาการใบไหม้ จากจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ตาก ราชบุรี กาญจนบุรี และนครราชสีมา จำนวน 17 ตัวอย่าง นำมาตรวจในห้องปฏิบัติการเพื่อแยกเชื้อ *P. agglomerans* ผลการตรวจ พบว่าแบคทีเรียทั้งหมดไม่ใช่แบคทีเรีย *P. agglomerans*

รหัสโครงการ..... 03-04-54-03-06-00-09-54

คำนำ

ประเทศไทยเป็นแหล่งผลิตข้าวโพดที่สำคัญของภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มีพื้นทีปลูกประมาณ 7ล้านไร่ ในปี 2547 มีปริมาณการส่งออกข้าวโพด 871,791 ตันต่อปี มูลค่าการส่งออกประมาณ 4,651 ล้านบาท(ที่มา: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร) ปัจจุบันประเทศไทยประสบปัญหาการส่งออกเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเนื่องจากประเทศปลายทางตรวจพบ แบคทีเรีย *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* ศัตรูกักกันพืชของประเทศปลายทาง แต่ จากรายงานของ ณัฏฐิมา *et al.* (2551) ที่ทำการสำรวจพื้นที่ปลูกข้าวโพดเพื่อส่งออก ยังไม่พบแบคทีเรีย *P. stewartii* subsp. *stewartii* และ จุฑาเทพ (2550) ได้ศึกษาโรคเหี่ยวของข้าวโพดในประเทศไทย พบว่าแบคทีเรียที่แยกได้จากข้าวโพดในประเทศไทยที่มีอาการใบขีดสีน้ำตาล ขอบหยักคล้ายอาการของโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อ *P. stewartii subsp. stewartii* เมื่อนำมาจำแนกตามวิธีการมาตรฐานของ EPPO โดย เปรียบเทียบกับแบคทีเรีย *P. stewartii subsp. stewartii* สายพันธุ์ LMG2715 มาตรฐาน พบว่าแบคทีเรียที่แยกได้ทั้งหมดไม่ใช้แบคทีเรีย *P. stewartii subsp. stewartii* แต่เป็นแบคทีเรียที่มีความใกล้เคียงกับแบคทีเรีย *P. stewartii subsp. stewartii* มากและสามารถทำให้ข้าวโพดเป็นโรคได้เช่นกัน จากรายงานทั้งสองแสดงให้เห็นว่าประเทศไทยอาจมีแบคทีเรียชนิดอื่นที่ใกล้เคียงกับแบคทีเรีย *P. stewartii* subsp. *stewartii* ระบาดในแหล่งปลูกข้าวโพด ได้มีรายงานของ Morales-Valenzuela *et.al.* (2007) รายงานการพบโรคใบไหม้และโรคเหี่ยวในข้าวโพดและข้าวฟ่างที่เกิดจากแบคทีเรีย *Pantoea agglomerans* ครั้งแรกที่ประเทศแม็กซิโก จากการศึกษาพบว่าแบคทีเรีย *P. agglomerans* มีความใกล้เคียงกับแบคทีเรีย *P. stewartii* subsp. *stewartii* มาก และประเทศไทยมีการสั่งนำเข้าเมล็ดข้าวโพดมีมูลค่านำเข้า เพื่อการบริโภคและเพื่อใช้เป็นพ่อพันธุ์แม่พันธุ์ เพื่อการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสม สำหรับใช้ในประเทศและส่งออก ทำให้มีความเสี่ยงในการเป็นส้นทาง(pathway) ของศัตรูพืชที่สำคัญที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์ ทำให้อาจเป็นไปได้ว่าแบคทีเรีย *P. agglomerans* เป็นแบคทีเรียที่ระบาดในแปลงปลูกข้าวโพดในประเทศไทย ดังนั้น จึงมีความจำเป็นต้องทำการสำรวจในพื้นที่ข้าวโพดส่งออก เพื่อติดตามสถานการณ์ของแบคทีเรีย *P. agglomerans* ว่ามีในประเทศไทยหรือไม่ ซึ่งเป็นการศึกษาการเฝ้าระวังและการแพร่ระบาดของแบคทีเรีย *P. agglomerans* ในพื้นที่ปลูกข้าวโพด เพื่อเป็นข้อมูลในการเจรจาการค้าเพื่อประโยชน์ต่อการส่งออกและนำเข้าข้าวโพดในอนาคต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อชนิดปลอดเชื้อ อุปกรณ์การแยกเชื้อแบคทีเรีย
2. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ตู้เย็นสำหรับเก็บตัวอย่าง หม้อนึ่งความดันไอ เครื่องเขย่าชนิดควบคุมอุณหภูมิ เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ตู้อบ (oven)
3. เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่นๆที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องชั่ง, pH meter เป็นต้น
4. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

วิธีการ

แบบการวิจัย การสำรวจโรคเหี่ยวของข้าวโพดดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) เพื่อให้ทราบข้อมูลโรคเหี่ยวของข้าวโพดและเชื้อสาเหตุโรค ***Pantoea agglomerans*** ในพื้นที่สำรวจและในเวลาที่กำหนด

ขั้นตอนและวิธีในการวิจัย ดำเนินการตามขั้นตอนต่อไปนี้

1. ศึกษา รวบรวมข้อมูลการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดจากแหล่งผลิตที่มีการแพร่ระบาดของเชื้อ *Pantoea agglomerans*

2. จัดทำแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลที่ต้องการบันทึกได้แก่ แหล่งปลูก ตำบล อำเภอ จังหวัด ช่วงเวลาในการสำรวจ พิกัดของแหล่งปลูก(GPS) ลักษณะอาการ เป็นต้น

3. การสำรวจ กำหนดพื้นที่สำรวจโดยเป็นแหล่งผลิตเมล็ดพันธุ์ที่สำคัญของประเทศ จำนวน 8 แหล่งปลูก ใน 4 จังหวัด ได้แก่ ตาก นครราชสีมา สระบุรี และลพบุรี วางแผนการสำรวจในพื้นที่อย่างน้อย 20 ไร่ แบ่งพื้นที่ออกเป็น 4 ส่วนๆละประมาณ 5 ไร่ แต่ละส่วนทำการสุ่มสำรวจโดยวิธี completely randomized design (CRD) . จำนวน 10 จุดขนาดพื้นที่จุดละ 2x2 เมตร สุ่มตรวจ จุดละ 20 ตัวอย่าง ตรวจแบบตัวอักษร W ซ้าย ตามวิธีของ Delp et.al. (1986) ทำการสุ่มตรวจทุกเดือน

4. วิธีการตรวจวินิจฉัยโรคเหี่ยวของข้าวโพดในแปลงปลูก จัดทำรูปภาพลักษณะอาการของโรคทุกระยะของพืชจัดทำเป็นคู่มือในการสำรวจ เมื่อออกสำรวจให้สังเกตจากลักษณะอาการของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือ และบันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป เก็บตัวอย่างโรคที่พบใส่ถุงหรือภาชนะที่ใช้เก็บตัวอย่างพร้อมเขียนรายละเอียดกำกับ รีบนำกลับมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันผล

5. การตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ ตรวจสอบตัวอย่างด้วยวิธี ELISA โดยใช้ชุดตรวจสอบสำเร็จรูปจากบริษัท Agdia, Elkhart, Indiana, USA และ วิธี PCR ตามวิธีของ Blakemore

et.al. (1992) ยืนยันโดยการทำการแยกเชื้อสาเหตุจากตัวอย่างโรคที่เก็บมาโดยใช้อาหารเฉพาะ Nigrosine medium

6. เก็บข้อมูลที่ได้ในรูปdata sheet เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ทางสถิติ จัดทำรายงานผลการวิจัย

เวลาและสถานที่

ต.ค.53 – ก.ย.56 ที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และ แปลงปลูกข้าวโพด ในแหล่งผลิตเมล็ดพันธุ์ของประเทศไทย

รายงานความก้าวหน้า

การสำรวจโรคเหี่ยวของข้าวโพดดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) เพื่อให้ทราบข้อมูลโรคเหี่ยวของข้าวโพดและเชื้อสาเหตุโรค *Pantoea agglomerans* ในพื้นที่สำรวจและในเวลาที่กำหนด ดำเนินการโดยตรวจเอกสารข้อมูลของเชื้อแบคทีเรีย และลักษณะอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *P. agglomerans* ที่พบในข้าวโพด ข้อมูลการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดจากแหล่งผลิตที่มีการแพร่ระบาดของเชื้อ *P. agglomerans* หาแหล่งปลูกข้าวโพดพร้อมทั้งวางแผนการสำรวจโรค ทำการสำรวจเก็บตัวอย่างเมล็ดพันธุ์และลักษณะอาการใบไหม้ จากจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ตาก ราชบุรี กาญจนบุรี และนครราชสีมา จำนวน 17 ตัวอย่าง นำมาตรวจในห้องปฏิบัติการเพื่อแยกเชื้อ *P. agglomerans* ผลการตรวจ พบว่าแบคทีเรียทั้งหมดไม่ใช่แบคทีเรีย *P. Agglomerans*

เอกสารอ้างอิง

จุฑาเทพ วัชระไชยคุปต์. 2550. การศึกษาโรคเหี่ยวจากแบคทีเรียของข้าวโพดในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาเอก. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล พีระวรรณ พัฒนวิภาส ณัฏฐพร อุทัยมงคล และ ชลธิชา รักใคร่. 2551. การเฝ้าระวังการเกิดและการแพร่กระจายของแบคทีเรีย Pantoea stewartii . รายงานผลการวิจัยประจำปี 2551 . กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช . (อยู่ระหว่างการตีพิมพ์)

พัฒนา สนธิรัตน ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์ วิรัช ชูบำรุง และอุบล คือประโคน. 2537. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย. กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 285 หน้า.

CAB International, 2007. Crop Protection Compendium. Wallingford, UK: CAB International.

การเฝ้าระวังการแพร่ระบาดโรคไวรัสของมันฝรั่งที่เกิดจากเชื้อ PVA, PVM, PVT, PVX, PVS และ PLRV

Survey of the epidemic of Potato Virus Diseases caused by PVA, PVM, PVT, PVX, PVS and PLRV

สิทธิศักดิ์ แสไพศาล[1/] วิวัฒน์ ภาณุอำไพ[2/] นางสาวปรียพรรณ พงศาทิชณ์[1/]

[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1

รายงานความก้าวหน้า

สำรวจและเก็บตัวอย่างใบมันฝรั่ง ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 จากแปลงปลูกของเกษตรกรในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ จังหวัดลำปางและจังหวัดตาก โดยคัดแยกเฉพาะอาการคล้ายโรคไวรัสที่มีอาการใบด่างและใบม้วน ตรวจวินิจฉัยหาเชื้อไวรัสด้วยวิธี Nitrocellulose membrane-Enzyme-linked immuno sorbent assay (NCM-ELISA) (ตรวจเชื้อ PVX และ PVS) และ Double Antibody Sandwich Enzyme-linked immuno sorbent assay (DAS-ELISA) (ตรวจเชื้อ PVA, PVM, PVT และ PLRV) ในห้องปฏิบัติการ จากตัวอย่างทั้งหมด 700 พบการระบาดของเชื้อไวรัส PVS (0.71%) และ PVX (0.71%) ในพื้นที่ปลูกมันฝรั่ง ต.แม่แฝก อ.ฝาง จ.เชียงใหม่ ส่วนเชื้อไวรัส PVA, PVM, PVT และ PLRV ไม่พบการระบาดในพื้นที่ปลูกมันฝรั่ง

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-06-00-10-54

คำนำ

จากการที่ประเทศไทยได้เปิดเขตการค้าเสรีกับหลายประเทศภายใต้หลักเกณฑ์ขององค์การการค้าโลก (World Trade Organization: WTO) ในการนำเข้าและส่งออกสินค้าเกษตร ประเทศไทยจำเป็นต้องยึดหลักการตามความตกลงว่าด้วยการบังคับใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures: SPS Agreement) มาตรการ SPS Agreement นี้ยึดหลักการทางวิทยาศาสตร์ และการประเมินความเสี่ยงเพื่อปกป้องสินค้าเกษตรจากศัตรูพืชที่ไม่เคยมีมาก่อน ประเทศไทยมีการนำเข้าพืชจำนวนมากจากทั่วโลกในแต่ละปี และปัจจุบันประเทศไทยได้มีข้อตกลงเปิดการค้าเสรีกับหลายประเทศ มีการวางข้อกำหนดด้านคุณภาพของสินค้า ความปลอดภัยต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อมมาเป็นข้อกำหนดการนำเข้าสินค้า ดังนั้นแต่ละประเทศจำเป็นต้องมีข้อมูลด้านวิชาการที่ชัดเจนเพื่อเป็นข้อมูลสนับสนุนการเจรจาตกลงในเรื่องข้อกำหนดในแต่ละเรื่อง โดยเฉพาะอย่างยิ่งข้อมูลด้านศัตรูพืชและการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืช ที่จะถูกหยิบยกขึ้นมาเป็นเรื่องการกีดกันทางการนำเข้าได้เป็นอย่างดี ในระยะเวลาที่ผ่านมาประเทศไทยได้มีการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งมากกว่าปีละ 8,000-12,000 ตัน จากหลายประเทศ ทั้งจากประเทศออสเตรเลีย สหรัฐอเมริกา สก๊อตแลนด์ เป็นต้น เนื่องจากประเทศไทยไม่สามารถผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่งให้เพียงพอต่อความต้องการของผู้ปลูก แต่จากการนำเข้าหัวพันธุ์จากต่างประเทศมีปัญหาการติดเชื้อไวรัสเข้ามา ได้แก่เชื้อ PVS PVX PVY PLRV ฯลฯ ในภาวะปัจจุบันที่ประเทศไทยต้องสั่งหัวพันธุ์จากประเทศต่างๆ เข้ามาจำนวนมากทุกปี การเร่งรวบรวมและหาข้อมูลของเชื้อไวรัสโดยเฉพาะ PVA, PVM, PVT, PVX, PVS และ PLRV ให้เป็นปัจจุบัน ว่าเชื้อไวรัสทั้ง 6 ชนิดนี้ยังคงมีปรากฏอยู่ในแหล่งปลูกของประเทศไทยหรือไม่ หากปรากฏว่าสำรวจไม่พบว่ามีอยู่ในประเทศไทยอีกเลย นับว่าเป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์ที่จะนำมาแจ้งประกาศใน IPPC ว่าเชื้อเหล่านี้ไม่ได้มีอยู่ในประเทศไทยโดยถิ่นกำเนิด และปัจจุบันได้หายไปจากแหล่งปลูกมันฝรั่งของไทยแล้ว จากการที่ไทยมีข้อกำหนดให้มีการติดเชื้อไวรัสมากับหัวพันธุ์ได้ไม่เกิน 0.1% และฝ่ายวิชาการกักพืชมีการตรวจสอบอย่างเข้มงวดจริงจังทำให้หัวพันธุ์ที่นำเข้ามามีคุณภาพดี ปลอดโรคไวรัสมากขึ้น ดังนั้นการสำรวจให้ได้ข้อมูลของเชื้อทั้ง 6 ชนิดนี้จะเป็นประโยชน์ในการจัดทำเพื่อใช้เป็นข้อมูล ในการจัดทำรายชื่อศัตรูพืช (Pest list) และวิเคราะห์ความเสี่ยง (Pest Risk Analysis) ไวรัสของมันฝรั่ง และเป็นข้อมูลในการป้องกันกำจัดเพื่อการผลิตหัวพันธุ์ปลอดเชื้อไวรัส ดังนั้นจึงมีส่วนสำคัญมากเพื่อเป็นการป้องกันการนำเข้าเชื้อไวรัสจากต่างประเทศเข้ามาภายในประเทศไทย จึงควรเร่งรวบรวมและหาข้อมูลของเชื้อไวรัสดังกล่าวว่าพบหรือไม่พบภายในประเทศไทย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- ชุดตรวจ DAS-ELISA ของบริษัท BIOREBA
- สารเคมีและวัสดุที่ใช้ในการตรวจสอบด้วยวิธี NCM-ELISA
- ตู้แช่แข็ง -20 ^{0}C
- Ice box, ถุงพลาสติกสำหรับเก็บและบดตัวอย่าง

วิธีการ

1. เก็บตัวอย่างใบมันฝรั่ง เพื่อใช้ในการตรวจสอบและจำแนกโรคไวรัสของมันฝรั่งที่เกิดจากเชื้อ PVA, PVM, PVT, PVX, PVS และ PLRV

สำรวจและเก็บตัวอย่างอาการใบด่างของมันฝรั่งจากแหล่งปลูกมันฝรั่งของเกษตรกรโดยเก็บตัวอย่างใบจากแปลงปลูกที่ใช้หัวพันธุ์นำเข้าและแปลงที่ใช้หัวพันธุ์ที่ผลิตในประเทศไทยหรือเก็บใช้เองของผู้ปลูกมันฝรั่ง ใช้หลักการเก็บแบบ grid pattern (Canada/USA PVY-n Management plan) นำมาใช้สุ่มเก็บตัวอย่างในแปลงปลูกมันฝรั่งสำหรับตรวจหาเชื้อไวรัส PVS PVX และ PLRV จะเก็บเฉพาะตัวอย่างที่แสดงอาการที่สงสัยว่าเป็นโรค โดยการเดินสำรวจในแปลงหาต้นเป็นโรคที่มีอาการด่างและอาการใบม้วนงอที่เกิดจากเชื้อ PVA, PVM, PVT, PVX, PVS และ PLRV การเดินแบบ grid pattern จะเดินเป็นรูปตัว U ดูแถวริมตลอดแถวแล้วเดินเว้นไป 10 แถว หรือ 10 เมตร เดินเข้าแถวที่ 10 และ 11 แล้วเดินตลอดแถวมาจนทะลุหัวแถว ขณะเดินสามารถมองสำรวจดูออกไปในรัสมีของแถวที่ 9, 10, 11 และ 12 ได้เป็น 4 แถว เมื่อมาถึงปลายแถวก็เดินขึ้นไปข้างหน้าของแถวที่ยังไม่ได้เดินผ่าน เดินผ่านหัวแถวเว้นไปอีก 10 แถว เดินเข้าระหว่างแถวที่ 20 และ 21 เดินดูได้ อีก 4 แถวคือ 19, 20, 21 และ 22 จึงเดินเป็นรูปตัว U คว่ำหงายชนกันไปตลอดแปลง การเก็บตัวอย่างเลือกเก็บที่มีอาการด่างทุกชนิดที่พบระหว่างการสำรวจ หากมีอาการด่างมากทั้งแปลงให้เก็บโดยเว้นระยะ 3 เมตรต่อ 1 ต้น ในแถวที่เดินผ่านทั้งซ้ายและขวา เพราะอาการใบด่างเกิดจากเชื้อไวรัสได้หลายชนิดจำเป็นต้องเก็บให้มาก ส่วนอาการใบม้วนงอที่มีความชัดเจนอยู่ในต้นว่าเกิดจากเชื้อ PLRV เก็บในลักษณะเดียวกับใบด่าง

2. ตรวจจำแนกด้วยวิธี Nitrocellulose membrane-Enzyme-linked immuno sorbent assay (NCM-ELISA) เพื่อตรวจหาเชื้อ PVX และ PVS

นำตัวอย่างใบพืชที่ต้องการตรวจสอบใส่ในถุงพลาสติก เติม Extraction buffer (0.02 M Tris, 0.2 M NaN_3, 0.2% Na_2SO_3, pH 7.5) ในอัตราส่วน (ใบพืช : บัฟเฟอร์ = 1:5) แล้วบดตัวอย่างให้ละเอียด ทำการวางรูปแบบของแผ่น Nitrocellulose membrane (NCM) ขนาด 0.45 µm ชนิด High bone N+ ด้วยการตีเป็นช่องตารางสี่เหลี่ยม (ขนาด 1X1 ตารางเซนติเมตร) ทำเครื่องหมายที่

ตารางของตัวแผ่น NCM หัวท้ายเพื่อเรียงลำดับตัวอย่างจาก 1 ถึงตัวอย่างสุดท้าย นำแผ่น NCM พร้อมกับวางกระดาษกรองเบอร์ 1 ที่ตัดให้มีขนาดพอดีกับแผ่น NCM แช่ใน TBS (0.02M Tris, 0.5 M NaCl, pH 7.5) ประมาณ 5 นาที หลังจากนั้นคีบแผ่นกระดาษกรองเบอร์ 1 ขึ้นมาพร้อมกับแผ่น NCM ที่แช่ไว้ด้วยกัน วางลงบนแผ่นกระดาษกรองแผ่นใหม่ที่แห้งและมีขนาดใหญ่กว่า โดยใช้ pasteur pipette ที่สะอาดรีดแผ่น NCM ให้แนบติดกับกระดาษกรอง ทำการหยดตัวอย่างน้ำคั้นพืช 1 หยด หรือประมาณ 20-25 ไมโครลิตร ลงในช่องตารางบนแผ่น NCM ตามรูปแบบที่วางไว้ เมื่อหยดตัวอย่างเสร็จแล้วคีบแผ่น NCM ออกมาวางบนกระดาษสะอาดผึ่งไว้ประมาณ 10-20 นาที นำแผ่นตัวอย่างที่แห้งแล้วแช่ลงในกล่องสี่เหลี่ยมที่มี blocking buffer (2% non fat milk ใน TBS pH 7.5) อยู่ 10 มิลลิลิตร + 0.8 มิลลิลิตร ของ 25% titonx100 แช่นาน 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง หรือ ประมาณ 27-30°C หลังจากนั้นเท blocking buffer ออก ใส่ส่วนผสมของ IgG ของ PVS, PVX และ PLRV ที่ละลายอยู่ใน blocking buffer ใหม่ ในอัตรา 1:500 แช่แผ่น NCM นั้นเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง หรือ ประมาณ 27-30°C แล้วจึงล้างแผ่น NCM ด้วย TBS-Tween 3 ครั้ง ๆ ละ 3 นาที เทส่วนผสม Goat anti-rabbit conjugated Alkaline phosphatase (SIGMA A7778) ที่เจือจางเป็น 1:3000 ในสารละลาย blocking buffer จำนวน 10 มิลลิลิตร บ่มปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้อง 1 ชั่วโมง ล้างออกด้วย TBS-Tween 3 ครั้งๆ ละ 3 นาที แล้วเทส่วนผสม substrate (ละลาย 0.25% AS-MX จำนวน 1 มิลลิลิตร ใน 5 มิลลิลิตร ของ 0.2 M Tris HCl , pH 8.2 และละลายสาร Fast red TR-salt (FR-TR) ใน 6 มิลลิลิตร ของ 0.2 M Tris HCl , pH 8.2 เทส่วนผสมทั้ง 2 รวมกัน แล้วเทลงในกล่องแช่แผ่น NCM เขย่าเบาๆ) รอดูผลของปฏิกิริยา ประมาณ 5-30 นาที เมื่อเกิดปฏิกิริยาเห็นสีชมพูชัดเจนแล้วเท substrate ออก แล้วเทน้ำกลั่นลงแทน เพื่อเป็นการล้างและหยุดปฏิกิริยา

3. ตรวจจำแนกด้วยวิธี Double Antibody Sandwich Enzyme-linked immuno sorbent assay (DAS-ELISA) เพื่อตรวจหาเชื้อ PVA, PVM, PVT และ PLRV

นำตัวอย่างใบมันฝรั่งมาตรวจหาเชื้อ PVA, PVM, PVT และ PLRV ด้วยวิธี DAS-ELISA โดยใช้ชุดตรวจของบริษัท BIOREBA และปฏิบัติตามคำแนะนำและวิธีการของบริษัท BIOREBA

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มเดือนตุลาคม 2554 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2556

สถานที่ - ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กทม.

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. เก็บตัวอย่างใบมันฝรั่ง เพื่อใช้ในการตรวจสอบและจำแนกโรคไวรัสของมันฝรั่งที่เกิดจากเชื้อ PVA, PVM, PVT, PVX, PVS และ PLRV

การสำรวจและเก็บตัวอย่างอาการใบด่างของมันฝรั่งจากแปลงปลูกของเกษตรกรใน อ.ฝาง อ.ไชยปราการ อ.แม่อาย อ.สันทราย อ.เจดีย์แม่ครัว อ.แม่สรวย จ.เชียงใหม่ อ.แจ้ห่ม จ.ลำปาง และ อ.พบพระ อ.แม่สอด จังหวัดตาก ในปี 2554 ได้ตัวอย่างทั้งหมด 700 ตัวอย่าง ซึ่งการสำรวจและจำแนกต้องทำการรวบรวมข้อมูลแหล่งปลูกมันฝรั่งก่อนเป็นขั้นตอนแรก ก่อนทำการออกสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างมันฝรั่งในแต่ละแหล่งปลูกของเกษตรกรเพื่อนำตัวอย่างใบมันฝรั่งนั้นกลับมาตรวจในห้องปฏิบัติการ เพื่อใช้เป็นข้อมูลของเชื้อ PVA, PVM, PVT, PVX, PVS และ PLRV ที่ตรวจพบในแต่ละแหล่งปลูก

2. ตรวจจำแนกด้วยวิธี Nitrocellulose membrane-Enzyme-linked immuno sorbent assay (NCM-ELISA) เพื่อตรวจหาเชื้อ PVX และ PVS

จากตัวอย่างทั้งหมด 700 ตัวอย่าง ในพื้นที่ปลูกมันฝรั่งของเกษตรกรใน อ.ฝาง อ.ไชยปราการ อ.แม่อาย อ.สันทราย อ.เจดีย์แม่ครัว อ.แม่สรวย จ.เชียงใหม่ อ.แจ้ห่ม จ.ลำปาง และ อ.พบพระ อ.แม่สอด จังหวัดตาก โดยได้นำตัวอย่างมาตรวจวินิจฉัยหาเชื้อไวรัส PVS และ PVX ด้วยวิธี NCM-ELISA จากตัวอย่างทั้งหมดพบการเกิดโรคไวรัสของเชื้อ PVS, PVX ในพื้นที่ ต.แม่แฝก อ.ฝาง จ.เชียงใหม่ โดยพบเชื้อ PVX จำนวน 5 ตัวอย่าง (0.71%) และ PVS จำนวน 5 ตัวอย่าง (0.71%)

3. ตรวจจำแนกด้วยวิธี Double Antibody Sandwich Enzyme-linked immuno sorbent assay (DAS-ELISA) เพื่อตรวจหาเชื้อ PVA, PVM, PVT และ PLRV

จากตัวอย่างทั้งหมด 700 ตัวอย่าง ในพื้นที่ปลูกมันฝรั่งของเกษตรกรใน อ.ฝาง อ.ไชยปราการ อ.แม่อาย อ.สันทราย อ.เจดีย์แม่ครัว อ.แม่สรวย จ.เชียงใหม่ อ.แจ้ห่ม จ.ลำปาง และ อ.พบพระ อ.แม่สอด จังหวัดตาก โดยได้นำตัวอย่างมาตรวจวินิจฉัยหาเชื้อไวรัส PVA, PVM, PVT และ PLRV ด้วยวิธี DAS-ELISA จากตัวอย่างทั้งหมดไม่พบการระบาดของเชื้อไวรัส PVA, PVM, PVT และ PLRV ในพื้นที่ดังกล่าว

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ตัวอย่างใบมันฝรั่งทั้งหมด 700 ตัวอย่าง ที่เก็บในพื้นที่ปลูกมันฝรั่งของ อ.ฝาง อ.ไชยปราการ อ.แม่อาย อ.สันทราย อ.เจดีย์แม่ครัว อ.แม่สรวย จ.เชียงใหม่ อ.แจ้ห่ม จ.ลำปาง และ อ.พบพระ อ.แม่สอด จังหวัดตาก ในปี 2554 นั้นพบเชื้อไวรัส PVX และ PVS ในพื้นที่ปลูกมันฝรั่งอ.ฝาง จ.เชียงใหม่ แต่ในปริมาณน้อยโดยพบ PVX จำนวน 5 ตัวอย่าง (0.71%) และ PVS จำนวน 5 ตัวอย่าง (0.71%) ส่วนเชื้อไวรัส PVA, PVM, PVT และ PLRV นั้นไม่พบการระบาดในพื้นที่ที่ได้เก็บตัวอย่าง ซึ่งขณะนี้กำลังดำเนินการออกสำรวจและเก็บตัวอย่างใบมันฝรั่งของปี 2555 ในพื้นที่ปลูกมันฝรั่ง

เอกสารอ้างอิง

สุรภี กีรติยะอังกูร สิทธิศักดิ์ แสไพศาล วิวัฒน์ ภาณุอำไพ เยาวภา ตันติวานิช ปรียพรรณ พงศาพิชญ์. 2551. รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม: โครงการตรวจหา PVY strain และการประเมินความเสียหายของผลผลิตมันฝรั่งจากเชื้อ PVY ในประเทศไทย. กรมวิชาการเกษตร. 42 หน้า.

Gray, S., K. Perry and P. Baldauf. 2003. Report of 2003 Research activities funded by the Maine Potato Board.

Salim Khan M., M. I. Hoque, R. H. Sarker and H.-P. Muehlbach. 2003. Detection of Important Plant Viruses in In vitro Regenerated Potato Plants by Double Antibody Sandwich Method of ELISA. Plant Tissue Cult. 13(1) : 21-29, 2003.

อนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนวงศ์ย่อย Hormaphidinae

Taxonomy of Aphids Subfamily Hormaphidinae

ลักขณา บำรุงศรี ยุวรินทร์ บุญทบ สุนัดดา เชาวลิต
ชมัยพร บัวมาศ อิทธิพล บรรณาการ และชฎาภรณ์ คงแก้วศรี
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนวงศ์ย่อย Hormaphidinae ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 เพื่อทราบชนิด พืชอาศัย เขตการแพร่กระจาย ของเพลี้ยอ่อนในวงศ์ย่อย Hormaphidinae ที่มีอยู่ในประเทศไทย จากการเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยอ่อนจากแหล่งปลูกพืชต่าง ๆ ในจังหวัดเพชรบุรี กาญจนบุรี นนทบุรี นครราชสีมา เชียงใหม่ เชียงราย จันทบุรี และกรุงเทพมหานคร พบเพลี้ยอ่อนวงศ์ย่อย Hormaphidinae 2 สกุล คือ *Ceratovacuna lanigera* Zehntner และ *Pseudoregma* sp. การวิจัยยังไม่สิ้นสุด ต้องดำเนินการต่อในปี 2555

คำนำ

เพลี้ยอ่อนวงศ์ย่อย Hormaphidinae อยู่ในวงศ์ (family) Aphididae เป็นแมลงปากดูดขนาดเล็กลำตัวอ่อนนุ่มเคลื่อนไหวช้า ลำตัวค่อนข้างกลมแบน มีไขรอบลำตัว บริเวณส่วนหน้าของหัวมีส่วนที่ยื่นออกมาคล้ายเขา 1 คู่ หนวดสั้น มีสีสันแตกต่างกันเช่น สีเขียวอมเหลือง สีส้ม สีดำ สีน้ำตาลดำ เพลี้ยอ่อนในวงศ์ย่อยนี้พบดูดกินน้ำเลี้ยงที่ใบ และหน่ออ่อน ในพืชตระกูลไผ่ ตระกูลปาล์ม การศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนวงศ์ย่อย Hormaphidinae จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งเพื่อการศึกษาลักษณะความแตกต่าง ชนิด ชื่อวิทยาศาสตร์ พืชอาศัยและเขตการแพร่กระจาย สำหรับเป็นข้อมูลประกอบการพิจารณาแนวทางการป้องกันกำจัดต่อไป และเก็บรักษาตัวอย่างไว้ในพิพิธภัณฑ์ต่อไป

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-01-54

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

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

วิธีการ

1. สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยอ่อนจากแหล่งต่าง ๆ ทุกภาคของประเทศ ใช้พู่กันเขี่ยตัวอย่างเพลี้ยอ่อนบางส่วนใส่ขวดดองตัวอย่างแมลงที่บรรจุน้ำยาสำหรับดองเพลี้ยอ่อนซึ่งประกอบด้วย alcohal 80% และ lactic acid 75% อัตรา 2 : 1 บันทึกสถานที่ วัน เดือน ปีที่เก็บตัวอย่าง ชนิดของพืชและส่วนของพืชที่ถูกทำลาย รวมทั้งชื่อผู้เก็บตัวอย่างบนกระดาษไขเขียนแบบใส่ลงในขวดดองตัวอย่างแมลงแต่ละขวด เก็บตัวอย่างเพลี้ยอ่อนอีกส่วนหนึ่งรวมทั้งพืชอาหารใส่ในกล่องพลาสติกใสที่ฝากล่องบุด้วยลวดตาข่ายตาถี่ พร้อมกับบันทึกรายละเอียดปิดไว้ที่กล่องพลาสติกเช่นเดียวกับที่ใส่ลงในขวดดองตัวอย่างเพลี้ยอ่อน ถ่ายภาพลักษณะอาการของพืชที่ถูกทำลายในสภาพธรรมชาติ จากนั้นนำตัวอย่างเพลี้ยอ่อนที่รวบรวมได้กลับไปยังห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา เพื่อจำแนกชนิดเบื้องต้น
2. นำตัวอย่างเพลี้ยอ่อนจากข้อ 1. มาตรวจลักษณะภายนอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope แล้วบันทึกรายละเอียดต่าง ๆ เช่น รูปร่าง ขนาด และสี เป็นต้น
3. นำตัวอย่างเพลี้ยอ่อนมาทำสไลด์ถาวร โดยวิธีการของ Blackman and Eastop (1994) ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

3.1 นำตัวอย่างเพลี้ยอ่อนออกจากขวดดอง ใช้เข็มเจาะที่ตรงกลางส่วนอกด้านบน และรีดเอาของเหลวภายในตัวออก ระวังอย่าให้ส่วนของปากเสียหาย

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

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

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

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

3.6 เติม clove oil ลงไปเพื่อทำให้ตัวอย่างใส ทิ้งไว้ 10 – 20 นาที หรือจนตัวอย่างใส

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

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

5. วาดรูปแสดงลักษณะสำคัญทางอนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนแต่ละชนิดบนกระดาษกราฟและลอกลงกระดาษไขเขียนแบบ

6. บันทึกชื่อสกุล และชนิดของเพลี้ยอ่อน พืชอาศัย เขตการแพร่กระจาย และแมลงศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยอ่อนแต่ละชนิด

เวลาและสถานที่

เวลา : เดือนตุลาคม 2553 - เดือนกันยายน 2554

สถานที่ : 1. แหล่งปลูกพืชทั่วทุกภาคของประเทศ

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยอ่อนจากแหล่งปลูกพืชต่าง ๆ ในจังหวัด นครราชสีมา เชียงใหม่ เชียงราย จันทบุรี และกรุงเทพมหานคร จากการตรวจวิเคราะห์เบื้องต้นพบเพลี้ยอ่อนเผ่า Hormaphidinae 2 สกุล คือ *Ceratovacuna lanigera* Zehntner และ *Pseudoregma* sp. ขณะนี้อยู่ระหว่างการทำสไลด์ถาวรเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนวงศ์ย่อย Hormaphidinae ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 จากการเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยอ่อนจากแหล่งปลูกพืชต่าง ๆ ในจังหวัดเพชรบุรี กาญจนบุรี นนทบุรี นครราชสีมา เชียงใหม่ เชียงราย จันทบุรี และกรุงเทพมหานคร พบเพลี้ยอ่อนวงศ์ย่อย Hormaphidinae 2 ชนิด คือ *Ceratovacuna lanigera* Zehntner และ *Pseudoregma* sp.

เอกสารอ้างอิง

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

อนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนเผ่า Macrosophini

Taxonomy of Aphids Tribe Macrosiphini

ลักขณา บำรุงศรี ยุวรินทร์ บุญทบ สุนัดดา เชาวลิต
ชมัยพร บัวมาศ อิทธิพล บรรณาการ และชฎาภรณ์ คงแก้วศรี
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนเผ่า Macrosiphini ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 เพื่อทราบชนิด พืชอาศัย เขตการแพร่กระจาย ของเพลี้ยอ่อนในเผ่า Macrosiphini ที่มีอยู่ในประเทศไทย จากการเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยอ่อนจากแหล่งปลูกพืชต่าง ๆ ในจังหวัดเพชรบุรี กาญจนบุรี นนทบุรี นครราชสีมา เชียงใหม่ เชียงราย จันทบุรี และกรุงเทพมหานคร พบเพลี้ยอ่อนเผ่า Macrosiphini 2 สกุล คือ *Macrosiphum rosae* (Linneaus) ในกุหลาบ และ *Myzus persicae* (Sulzer) ในพืชผัก การวิจัยยังไม่สิ้นสุด ต้องดำเนินการต่อในปี 2555

คำนำ

เพลี้ยอ่อนเผ่า Macrosiphini อยู่ในวงศ์ย่อย (subfamily) Aphidinae วงศ์ (family) Aphididae เป็นแมลงปากดูดขนาดเล็กลำตัวอ่อนนุ่มเคลื่อนไหวช้า มีขนาดตัวและสีสันแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดและพืชอาหาร พบเป็นศัตรูในพืชหลายชนิดทั้งพืชไร่ ผัก ไม้ดอก ไม้ประดับ โดยดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณยอดอ่อน ดอกอ่อน ผลอ่อนและใบ ทำให้ส่วนต่าง ๆ ของพืชที่ถูกทำลายบิดงอผิดรูปร่าง ต้นพืชแคระแกรน ถ้าการทำลายรุนแรงจะเหี่ยวแห้งตายในที่สุด ในประเทศไทย Sirikajornjaru (2002) รายงานว่าเพลี้ยอ่อนในเผ่า Macrosiphini มีอยู่ 16 ชนิด บางชนิดเป็นพาหะนำโรคไวรัสของพืช เช่น *Myzus persicae* (Sulzer) เป็นพาหะนำเชื้อไวรัสโรคใบเหลืองในยาสูบ โรคใบหงิกในมันฝรั่ง (potato leaf roll) *Lipaphis erisimi* (Kaltenbach) เป็นพาหะนำเชื้อไวรัสโรคใบด่างในกะหล่ำดอก (Blackman and Eastop, 2000) การศึกษาลักษณะความแตกต่าง พืชอาหาร เขตการแพร่กระจายและศัตรูธรรมชาติ เพื่อใช้เป็นข้อมูลประกอบการพิจารณาแนวทางการป้องกันกำจัด และเก็บรักษาตัวอย่างไว้ในพิพิธภัณฑ์ต่อไป

ทะเบียนวิจัยเลขที่ 03 04 54 04 01 01 02 54

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

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

วิธีการ

1. สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยอ่อนจากแหล่งต่าง ๆ ทุกภาคของประเทศ ใช้พู่กันเขี่ยตัวอย่างเพลี้ยอ่อนบางส่วนใส่ขวดดองตัวอย่างแมลงที่บรรจุน้ำยาสำหรับดองเพลี้ยอ่อนซึ่งประกอบด้วย alcohal 80% และ lactic acid 75% อัตรา 2 : 1 บันทึกสถานที่ วัน เดือน ปีที่เก็บตัวอย่าง ชนิดของพืชและส่วนของพืชที่ถูกทำลาย รวมทั้งชื่อผู้เก็บตัวอย่างบนกระดาษไขเขียนแบบใส่ลงในขวดดองตัวอย่างแมลงแต่ละขวด เก็บตัวอย่างเพลี้ยอ่อนอีกส่วนหนึ่งรวมทั้งพืชอาหารใส่ในกล่องพลาสติกใสที่ฝากล่องบุด้วยลวดตาข่ายตาถี่ พร้อมกับบันทึกรายละเอียดปิดไว้ที่กล่องพลาสติกเช่นเดียวกับที่ใส่ลงในขวดดองตัวอย่างเพลี้ยอ่อน ถ่ายภาพลักษณะอาการของพืชที่ถูกทำลายในสภาพธรรมชาติ จากนั้นนำตัวอย่างเพลี้ยอ่อนที่รวบรวมได้กลับไปยังห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา เพื่อจำแนกชนิดเบื้องต้น
2. นำตัวอย่างเพลี้ยอ่อนจากข้อ 1. มาตรวจลักษณะภายนอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope แล้วบันทึกรายละเอียดต่าง ๆ เช่น รูปร่าง ขนาด และสี เป็นต้น
3. นำตัวอย่างเพลี้ยอ่อนมาทำสไลด์ถาวร โดยวิธีการของ Blackman and Eastop (1994) ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

3.1 นำตัวอย่างเพลี้ยอ่อนออกจากขวดดอง ใช้เข็มเจาะที่ตรงกลางส่วนอกด้านบน และรีดเอาของเหลวภายในตัวออก ระวังอย่าให้ส่วนของปากเสียหาย

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

3.3 ดูดแอลกอฮอล์ออก เติมสารละลาย KOH 10% สูงประมาณ 1 เซนติเมตร ทิ้งไว้

4 – 5 นาที

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

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

3.6 เติม clove oil ลงไปเพื่อทำให้ตัวอย่างใส ทิ้งไว้ 10 – 20 นาที หรือจนตัวอย่างใส

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

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

5. วาดรูปแสดงลักษณะสำคัญทางอนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนแต่ละชนิดบนกระดาษกราฟและลอกลงกระดาษไขเขียนแบบ

6. บันทึกชื่อสกุล และชนิดของเพลี้ยอ่อน พืชอาศัย เขตการแพร่กระจาย และแมลงศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยอ่อนแต่ละชนิด

เวลาและสถานที่

เวลา : เดือนตุลาคม 2553 - เดือนกันยายน 2554

สถานที่ : 1. แหล่งปลูกพืชทั่วทุกภาคของประเทศ

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยอ่อนจากแหล่งปลูกพืชต่าง ๆ ในจังหวัด นครราชสีมา เชียงใหม่ เชียงราย จันทบุรี และกรุงเทพมหานคร จากการตรวจวิเคราะห์เบื้องต้นพบเพลี้ยอ่อนเผ่า Macrosiphini 2 ชนิด คือ *Macrosiphum rosae* (Linneaus) และ *Myzus persicae* (Sulzer) ขณะนี้อยู่ระหว่างการทำสไลด์ถาวรเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนวงศ์ย่อย Aphidinae ระหว่างเดือนตุลาคม 2550 ถึงเดือนกันยายน 2551 จากการเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยอ่อนจากแหล่งปลูกพืชต่าง ๆ ในจังหวัดเพชรบุรี กาญจนบุรี นนทบุรี นครราชสีมา เชียงใหม่ เชียงราย จันทบุรี และกรุงเทพมหานคร พบเพลี้ยอ่อนวงศ์ย่อย Hormaphidinae 2 ชนิด คือ *Myzus persicae* (Sulzer) และ *Macrosiphum rosae* (Linnaeus)

เอกสารอ้างอิง

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

อนุกรมวิธานเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus*

Taxonomy of Mealybug in Genus *Phenacoccus*

ชลิดา อุณหวุฒิ ชมัยพร บัวมาศ ลักขณา บำรุงศรี สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus* ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 เพื่อทราบชนิด พืชอาศัย เขตการแพร่กระจาย ของเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus* ที่มีอยู่ในประเทศไทย ได้เก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยแป้งจากแหล่งปลูกพืชต่างๆ ในเขตภาคกลาง ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ นำตัวอย่างที่รวบรวมได้มาทำสไลด์ถาวรและตรวจจำแนกชนิดตามหลักอนุกรมวิธาน ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จากการตรวจจำแนกชนิด พบเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus* จำนวน 4 ชนิด คือ เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีเขียว: Madeira mealybug; *Phenacoccus madeirensis* Green พบในมันสำปะหลัง เพลี้ยแป้ง : Solanum mealybug; *P. solani* Ferris พบในว่านสีทิศ และ เพลี้ยแป้ง: Solenopsis mealybug; *P. solenopsis* Tinsley พบในกระเจี๊ยบเขียว ชบา วัชพืช เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู; Pink cassava mealybug: *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero พบในมันสำปะหลัง การศึกษานี้ยังไม่สิ้นสุดจะต้องดำเนินการต่อไปในปี 2555

คำนำ

เพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus* อยู่ในวงศ์ Pseudococcidae เป็นแมลงปากดูด ที่ทำความเสียหายให้กับพืชได้หลายชนิด ทั้งพืชสวนและพืชไร่ โดยดูดน้ำเลี้ยงจากส่วนต่างๆ ของพืช ทำให้บริเวณที่ถูกทำลายมีลักษณะผิดปกติ เช่น ใบเป็นจุดสีเหลืองและบางครั้งมีลักษณะย่น ผลบิดเบี้ยวและร่วง ต้นพืชที่ถูกทำลายรุนแรงจะเหี่ยวและแห้งตายในที่สุด มีรายงานว่าพบเพลี้ยแป้งสกุลนี้บนพืชหลากหลายชนิด ทั้งพืชผัก ไม้ผล พืชไร่ และหญ้าในประเทศสหรัฐอเมริกา โดยพบที่มลรัฐฮาวาย จำนวน 2 ชนิด (Zimmerman, 1948) และพบที่มลรัฐแคลิฟอร์เนียถึง 26 ชนิด (McKenzie, 1967) และ Williams (2004) รายงานว่าพบเพลี้ยแป้งสกุลนี้ในแถบเอเชียใต้รวม 14 ชนิด สำหรับในประเทศไทย เพลี้ยแป้งสกุลนี้มีหลายชนิด (species) บางชนิดเป็นศัตรูสำคัญทางด้านกักกันพืช เช่น *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero ซึ่งเป็นศัตรูพืชที่สำคัญของมันสำปะหลังในแอฟริกาใต้ เมื่อไรก็ตามที่เพลี้ยแป้งเหล่านี้บังเอิญเล็ดลอดไปสู่พื้นที่เพาะปลูกแหล่งใหม่ที่ปราศจากศัตรูธรรมชาติก็จะแพร่ขยายพันธุ์เกิดการระบาดและอาจทำความเสียหายอย่างรุนแรงให้กับมันสำปะหลังและพืชชนิดอื่นๆ ในพื้นที่เพาะปลูกแหล่งใหม่นั้น สำหรับในประเทศไทยยังไม่มีข้อมูลรายละเอียดต่าง ๆ ของเพลี้ย

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-03-54

แป้งสกุลนี้ ดังนั้นการศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus* จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งเพื่อทราบชนิดและชื่อวิทยาศาสตร์ พืชอาหาร และเขตการแพร่กระจายของเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus* แต่ละชนิด สำหรับเป็นข้อมูลประกอบการพิจารณาแนวทางการป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งดังกล่าว

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus*

2. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างเพลี้ยแป้ง ได้แก่ แอลกอฮอล์ 70 – 80% หรือน้ำยา AGA ขวดดองตัวอย่างแมลง พู่กัน คัตเตอร์ กรรไกรตัดกิ่ง กล่องพลาสติก ถุงกระดาษและถุงพลาสติก

3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวรเพลี้ยแป้ง ได้แก่ สารเคมีต่างๆ เช่น alcohol 70 %, potassium hydroxide 10%, hydrochloric acid, glacial acetic acid, xylene, carbolic acid, acid fuchsin, N-butyl alcohol, clove oil และ Canada balsam เข็มเขี่ย แผ่นสไลด์แก้ว แผ่นแก้วปิดสไลด์ กล่องใส่สไลด์ถาวร ตู้อบสไลด์ถาวร

4. กล้องจุลทรรศน์ compound microscope และ stereo microscope และกล้องถ่ายภาพ

5. อุปกรณ์วาดภาพ ได้แก่ ปากกา rotting และกระดาษไขเขียนแบบ

6. เอกสารประกอบการจำแนกชนิดเพลี้ยแป้ง

วิธีการ

1.สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยแป้งจากแหล่งปลูกพืชทุกภาคของประเทศ ตัดชิ้นส่วนของพืชที่มีเพลี้ยแป้งอาศัยอยู่ ใส่ในถุงกระดาษหรือห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์แล้วใส่ในถุงพลาสติก บันทึกสถานที่ พิกัดทางภูมิศาสตร์ วัน เดือน ปี ที่เก็บตัวอย่าง ชนิดและส่วนของพืชที่ถูกทำลาย รวมทั้งชื่อผู้เก็บ

2. นำตัวอย่างเพลี้ยแป้งที่เก็บรวบรวมได้ มาตรวจดูลักษณะภายนอกด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope ถ่ายภาพ บันทึกรายละเอียด เช่น ขนาด รูปร่างลักษณะและสีของเพลี้ยแป้งก่อนทำสไลด์ถาวรแล้วดองในแอลกอฮอล์ 80%

3. สำหรับตัวอย่างอีกส่วนหนึ่งโดยเฉพาะตัวอ่อนจะถูกกนำไปเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ โดยใส่ตัวอย่างพร้อมพืชอาหารในกล่องพลาสติกใสที่มีฝากล่องเป็นตาข่าย พร้อมบันทึกรายละเอียดตามข้อ 1 เพื่อศึกษาแมลงศัตรูธรรมชาติและวงจรชีวิตต่อไป

4. นำตัวอย่างเพลี้ยแป้งจากขวดดองตัวอย่างในข้อ 2 มาทำสไลด์ถาวร โดยดัดแปลงวิธีการของ Williams and Watson (1988) มีขั้นตอนดังนี้

4.1 ใช้เข็มเขี่ยเจาะบริเวณกลางส่วนอกด้านบนของตัวอย่างเพลี้ยแป้ง นำไปใส่ในหลอดทดลองที่บรรจุด้วยสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) 10% จากนั้นนำหลอดทดลองไป

ต้มด้วยวิธีวอเตอร์บาท ใช้เวลาประมาณ 15 นาที (เริ่มนับตั้งแต่น้ำในบีคเกอร์เดือด) โดยระวังไม่ให้สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ที่อยู่ในหลอดทดลองเดือด เพราะจะทำให้ตัวอย่างเกิดความเสียหายได้

4.2 นำตัวอย่างเพลี้ยแป้งที่ต้มแล้วมาล้างในน้ำกลั่น กดเบา ๆ บนลำตัวด้วยเข็มดัดปลายโค้ง เพื่อทำให้ไข่ ตัวอ่อน และของเหลวที่อยู่ในลำตัวหลุดออกมาทางรอยที่เจาะไว้ ถ้ายังมีก้อนไขมันตกค้างอยู่ให้นำไปแช่ในแอลกอฮอล์ 95% ประมาณ 2 – 3 นาที

4.3 ย้ายลงในคาร์บอลไซลีน (carbol xylene) แช่ทิ้งไว้ 10 นาทีจนกระทั่งตัวอย่างใส นำไปแช่ในแอลกอฮอล์ 95%

4.4 ย้ายลงในกรดแอลกอฮอล์ (acid alcohol) ซึ่งเป็นสารละลายของกรดแกลเซียลอะซิติก 1 ส่วน และแอลกอฮอล์ 50% 4 ส่วน แช่ทิ้งไว้ 2 – 3 นาที

4.5 ย้อมสีตัวอย่างโดยแช่ในน้ำยาย้อมสี ซึ่งเป็นสารละลายของแอซิดฟุชซิน (acid fuchsin) กรดเกลือ (hydrochloric acid) และน้ำกลั่น แช่ทิ้งไว้นาน 30 - 60 นาที

4.6 ย้ายลงในแอลกอฮอล์ 95% แช่ทิ้งไว้ 2 – 3 นาที เพื่อกำจัดสีส่วนเกิน

4.7 ย้ายลงในสารละลายเอ็น-บิวทิลแอลกอฮอล์ (N-butyl alcohol) กับ แอลกอฮอล์ 95 % ในอัตราส่วน 1:1 แช่ทิ้งไว้ 10 นาที

4.8 ย้ายลงในเอ็น-บิวทิลแอลกอฮอล์ แช่ทิ้งไว้ 10 นาที

4.9 ย้ายลงในโคล์ฟออย (clove oil) แช่ทิ้งไว้ 20 นาที

4.10 นำตัวอย่างเพลี้ยแป้งวางบนแผ่นสไลด์แก้ว ใช้กระดาษกรองซับโคล์ฟออยส่วนที่เกินออก หยดแคนาดาบัลซัม (canada balsam) 1 หยดบนตัวอย่างแมลงจัดรูปร่าง ให้สวยงามไม่บิดเบี้ยวหรือทับซ้อนกัน ปิดทับด้วยแผ่นแก้วปิดสไลด์

4.11 นำไปอบให้แห้ง ในตู้อบที่อุณหภูมิ 40 - 50 องศาเซลเซียส ใช้เวลาประมาณ 1-2 เดือน

5. ตรวจจำแนกชนิดเพลี้ยแป้งบนแผ่นสไลด์ถาวร ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope ที่มีกำลังขยายสูง ตรวจดูลักษณะสำคัญที่ใช้ในการจำแนก ได้แก่ หนวด (antennae) ขน (setae) รู (pores) ท่อ (tubular ducts) กลุ่มอวัยวะที่ผลิตเส้นแป้งด้านข้างลำตัว (cerarii) ช่องเปิดที่มีลักษณะคล้ายรอยแตกตามขวางของลำตัว (ostioles) และวงแหวนที่ล้อมรอบช่องเปิดของอวัยวะขับถ่าย (anal ring)

6. วาดรูปแสดงลักษณะทางอนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้งแต่ละชนิด โดยวาดลงบนกระดาษกราฟและลอกลงบนกระดาษไขเขียนแบบและจัดทำแนวทางวินิจฉัยชนิดเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus*

7. การบันทึกรายละเอียดบนแผ่นสไลด์ที่อบแห้งแล้วโดยวางแผ่นสไลด์หันด้านหัวของเพลี้ยแป้งเข้าหาตัว ด้านขวาเขียนรายละเอียดเกี่ยวกับพืชอาหาร วัน เดือน ปี สถานที่และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง ด้านซ้ายมือเขียนชื่อวิทยาศาสตร์ เพศ วันเดือนปี ที่ทำสไลด์และชื่อผู้จำแนก ควรลงรายละเอียดดังกล่าวเป็นภาษาอังกฤษ

8. จัดเก็บตัวอย่างเพลี้ยแป้งในกล่องใส่สไลด์ถาวรและนำเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามหลักสากล

เวลาสถานที่

เวลา เดือนตุลาคม 2553 **ถึง** เดือนกันยายน 2554

สถานที่ 1. แหล่งปลูกพืชจังหวัดต่างๆ

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตวิวทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยแป้งจากแหล่งปลูกพืชๆต่างๆ ทั่วทุกภูมิภาคของประเทศ ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 พบเพลี้ยแป้งสกุล *Phenaoccus* เพศเมีย จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีเขียว: Madeira mealybug; *Phenacoccus madeirensis* Green พบในมันสำปะหลัง ใน จ.นครราชสีมา และกำแพงเพชร เพลี้ยแป้ง : Solanum mealybug; *P. solani* Ferris พบในว่านสีทิศ ใน จ.กรุงเทพฯ และ เพลี้ยแป้ง: Solenopsis mealybug; *P. solenopsis* Tinsley พบในกระเจี๊ยบเขียว ชบา วัชพืช ในจังหวัดกรุงเทพฯ สุพรรณบุรี และกาญจนบุรี เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู; Pink cassava mealybug: *P. manihoti* Matile-Ferrero พบในมันสำปะหลัง จังหวัดนครราชสีมา กำแพงเพชร กาญจนบุรี การศึกษานี้จะต้องดำเนินต่อไปในปี 2555 โดยสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus* แหล่งปลูกพืชอื่นๆ ทั้ง ผัก ไม้ดอกไม้ประดับ พืชไร และไม้ผลให้ครอบคลุมทุกภูมิภาคของประเทศ และจัดทำแนวทางวินิจฉัยเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus* พร้อมบันทึกรายละเอียดของเพลี้ยแป้งแต่ละชนิด และจัดเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus* ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงกันยายน 2554 พบเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus* 4 ชนิด คือ เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีเขียว; Madeira mealybug: *Phenacoccus madeirensis* Green พบในมันสำปะหลัง เพลี้ยแป้ง; Solanum mealybug: *P. solani* Ferris พบในว่านสีทิศ และ เพลี้ยแป้ง; Solenopsis mealybug: *P. solenopsis* Tinsley พบในกระเจี๊ยบเขียว ชบา วัชพืช เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู; Pink cassava mealybug: *P. manihoti* Matile-Ferrero พบในมันสำปะหลัง การศึกษานี้ยังไม่สิ้นสุด จะต้องดำเนินการต่อไปในปี 2555

เอกสารอ้างอิง

McKenzie, H.L. 1967. Mealybugs of California with taxonomy, biology and control of North American species (Homoptera : Coccoidea : Pseudococcidae). University of California Press, California. 524 pp.

Williams, D.J. 2004. Mealybugs of Southern Asia. United Selangor Press Sdn. Bhd., Kuala Lumpur. 896 pp.

Zimmerman, E.C. 1948. Homoptera: Sternorrhyncha. Insect of Hawaii 5 : 161-165.

อนุกรมวิธานเพลี้ยหอย สกุล *Pulvinaria*

Taxonomy of Scale Insect in Genus *Pulvinaria*

ชมัยพร บัวมาศ ชลิดา อุณหวุฒิ ลักขณา บำรุงศรี สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยหอยสกุล *Pulvinaria* ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 เพื่อทราบชนิด พืชอาศัย เขตการแพร่กระจาย ของเพลี้ยหอยสกุล *Pulvinaria* ที่มีอยู่ในประเทศไทย ได้เก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยหอยจากแหล่งปลูกพืชต่างๆ ในเขตภาคกลาง ภาคเหนือ นำตัวอย่างที่รวบรวมได้มาทำสไลด์ถาวรและตรวจจำแนกชนิดตามหลักอนุกรมวิธาน ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จากการตรวจจำแนกชนิด พบเพลี้ยหอยสกุล *Pulvinaria* จำนวน 2 ชนิด คือ *Pulvinaria psidii* Maskell และอีก 1 ชนิด ยังไม่สามารถระบุชนิดได้ คือ *Pulvinaria* sp. ทั้ง 2 ชนิด พบบนผลลิ้นจี่ การศึกษานี้ยังไม่สิ้นสุดจะต้องดำเนินการต่อไปในปี 2555

คำนำ

เพลี้ยหอยสกุล *Pulvinaria* เป็นแมลงปากดูด ที่ทำความเสียหายให้กับพืชได้หลายชนิด ทั้งพืชสวนและพืชไร่ โดยดูดน้ำเลี้ยงจากส่วนต่าง ๆ ของพืช ทำให้บริเวณที่ถูกทำลายมีลักษณะผิดปกติ และเพลี้ยหอยขับถ่ายของเหลว มีลักษณะเป็นน้ำเหนียวๆ เรียกว่า มูลน้ำหวาน (honeydew) ซึ่งเป็นอาหารของราดำ ทำให้ราดำเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว และพืชสังเคราะห์แสงได้น้อยลง ส่งผลให้ผลผลิตลดลง สำหรับผลิตภัณฑ์ที่ได้ยังด้อยคุณภาพ กระทบต่อการส่งออกผลผลิตทางการเกษตร ซึ่งในประเทศออสเตรเลียเพลี้ยหอย *Pulvinaria polygonata* Cockerell เป็นศัตรูสำคัญของส้ม และเพลี้ยหอยชนิดนี้มีเขตการแพร่กระจายในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Smith *et al.*, 1997) สำหรับในประเทศมอร์ริเชียสพบเพลี้ยหอย *Pulvinaria iceryi* Signoret เข้าทำลายต้นอ้อยซึ่งมักอาศัยอยู่ด้านล่างของใบสร้างความเสียหายต่อผลผลิต (William, 1978) นอกจากนี้ยังพบเพลี้ยหอยในสกุล *Pulvinaria* ทำลายพืช ในสหรัฐอเมริกา แปซิฟิคใต้ นิวซีแลนด์ และยุโรป ประเทศไทย บุปผา (2540) ได้ศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยหอยศัตรูมะม่วง ซึ่งพบเพลี้ยหอยสกุลนี้ แต่ยังไม่ได้จำแนกชนิด สำหรับในประเทศไทยยังไม่มีข้อมูลรายละเอียดต่าง ๆ ของเพลี้ยหอยสกุลนี้ ดังนั้นการศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยหอยสกุล *Pulvinaria* จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งเพื่อทราบชนิดและชื่อวิทยาศาสตร์ พืชอาหาร และเขตแพร่กระจายของเพลี้ยหอยสกุล *Pulvinaria* แต่ละชนิดนำตัวอย่างที่ได้เก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลงเพื่อเป็นหลักฐานอ้างอิง และ สำหรับเป็นข้อมูลประกอบการพิจารณาแนวทางการป้องกันกำจัดเพลี้ยหอยดังกล่าว

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-04-54

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างเพลี้ยหอยสกุล *Pulvinaria*

2. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างเพลี้ยหอย ได้แก่ แอลกอฮอล์ 70 – 80% ขวดดองตัวอย่างแมลง คัตเตอร์ กรรไกรตัดกิ่ง กล่องพลาสติก ถุงกระดาษและถุงพลาสติก

3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวรเพลี้ยหอย ได้แก่ สารเคมีต่างๆ เช่น alcohol 70 %, potassium hydroxide 10%, hydrochloric acid, glacial acetic acid, xylene, carbolic acid, acid fuchsin, N-butyl alcohol, clove oil และ Canada balsam เข็มเขี่ย แผ่นสไลด์แก้ว แผ่นแก้วปิดสไลด์ กล่องใส่สไลด์ถาวร ตู้อบสไลด์ถาวร

4. กล้องจุลทรรศน์ compound microscope และ stereo microscope และ กล้องถ่ายภาพ

5. อุปกรณ์วาดภาพ ได้แก่ ปากกา rotting และกระดาษไขเขียนแบบ

6. เอกสารประกอบการจำแนกชนิดเพลี้ยหอย

วิธีการ

1.สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยหอยจากแหล่งปลูกพืชทุกภาคของประเทศ ตัดชิ้นส่วนของพืชที่มีเพลี้ยหอยอาศัยอยู่ ใส่ในถุงกระดาษหรือห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์แล้วใส่ในถุงพลาสติก บันทึกสถานที่ พิกัดทางภูมิศาสตร์ วัน เดือน ปี ที่เก็บตัวอย่าง ชนิดและส่วนของพืชที่ถูกทำลาย รวมทั้งชื่อผู้เก็บ

2. นำตัวอย่างเพลี้ยหอยที่เก็บรวบรวมได้ มาตรวจดูลักษณะภายนอกด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope ถ่ายภาพ บันทึกรายละเอียด เช่น ขนาด รูปร่างลักษณะและสีของเพลี้ยหอย ก่อนทำสไลด์ถาวรแล้วดองในแอลกอฮอล์ 80%

3. สำหรับตัวอย่างอีกส่วนหนึ่งโดยเฉพาะตัวอ่อนจะถูกกนำไปเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ โดยใส่ตัวอย่างพร้อมพืชอาหารในกล่องพลาสติกใสที่มีฝากล่องเป็นตาข่าย พร้อมบันทึกรายละเอียดตามข้อ 1 เพื่อศึกษาแมลงศัตรูธรรมชาติและวงจรชีวิตต่อไป

4. นำตัวอย่างเพลี้ยหอยจากขวดดองตัวอย่างในข้อ 2 มาทำสไลด์ถาวร โดยดัดแปลงวิธีการของ Williams and Watson (1990) มีขั้นตอนดังนี้

4.1 ใช้เข็มเขี่ยเจาะบริเวณกลางส่วนอกด้านบนของตัวอย่างเพลี้ยหอย นำไปใส่ในหลอดทดลองที่บรรจุด้วยสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) 10% จากนั้นนำหลอดทดลองไปต้มด้วยวิธีวอเตอร์บาท ใช้เวลาประมาณ 15 นาที (เริ่มนับตั้งแต่น้ำในบีคเกอร์เดือด) โดยระวังไม่ให้สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ที่อยู่ในหลอดทดลองเดือด เพราะจะทำให้ตัวอย่างเกิดความเสียหายได้

4.2 นำตัวอย่างเพลี้ยหอยที่ต้มแล้วมาล้างในน้ำกลั่น กดเบา ๆ บนลำตัวด้วยเข็มดัด

ปลายโค้ง เพื่อทำให้ไข่ ตัวอ่อน และของเหลวที่อยู่ในลำตัวหลุดออกมาทางรอยที่เจาะไว้ ถ้ายังมีก้อนไขมันตกค้างอยู่ให้นำไปแช่ในแอลกอฮอล์ 95% ประมาณ 2 – 3 นาที

4.3 ย้ายลงในคาร์บอลไซลีน (carbol xylene) แช่ทิ้งไว้ 10 นาทีจนกระทั่งตัวอย่างใส นำไปแช่ในแอลกอฮอล์ 95%

4.4 ย้ายลงในกรดแอลกอฮอล์ (acid alcohol) ซึ่งเป็นสารละลายของกรดแกลเซียลอะซิติก 1 ส่วน และแอลกอฮอล์ 50% 4 ส่วน แช่ทิ้งไว้ 2 – 3 นาที

4.5 ย้อมสีตัวอย่างโดยแช่ในน้ำยาย้อมสี ซึ่งเป็นสารละลายของแอซิดฟุชซิน (acid fuchsin) กรดเกลือ (hydrochloric acid) และน้ำกลั่น แช่ทิ้งไว้นาน 30 - 60 นาที

4.6 ย้ายลงในแอลกอฮอล์ 95% แช่ทิ้งไว้ 2 – 3 นาที เพื่อกำจัดสีส่วนเกิน

4.7 ย้ายลงในสารละลายเอ็น-บิวทิลแอลกอฮอล์ (N-butyl alcohol) กับ แอลกอฮอล์ 95 % ในอัตราส่วน 1:1 แช่ทิ้งไว้ 10 นาที

4.8 ย้ายลงในเอ็น-บิวทิลแอลกอฮอล์ แช่ทิ้งไว้ 10 นาที

4.9 ย้ายลงในโคล์ฟออย (clove oil) แช่ทิ้งไว้ 20 นาที

4.10 นำตัวอย่างเพลี้ยหอยวางบนแผ่นสไลด์แก้ว ใช้กระดาษกรองซับโคล์ฟออยส่วนที่เกินออก หยดแคนาดาบัลซัม (canada balsam) 1 หยดบนตัวอย่างแมลงจัดรูปร่าง ให้สวยงามไม่บิเบี้ยวหรือทับซ้อนกัน ปิดทับด้วยแผ่นแก้วปิดสไลด์

4.11 นำไปอบให้แห้ง ในตู้อบที่อุณหภูมิ 40 - 50 องศาเซลเซียส ใช้เวลาประมาณ 1-2 เดือน

5. ตรวจจำแนกชนิดเพลี้ยหอยบนแผ่นสไลด์ถาวร ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope ที่มีกำลังขยายสูง ตรวจดูลักษณะสำคัญที่ใช้ในการจำแนก ได้แก่ หนวด (antennae) ขน (setae) รู (pores) ท่อ (tubular ducts) และแผ่นแข็งที่อยู่บริเวณปลายส่วนท้อ (anal plate)

6. วาดรูปแสดงลักษณะทางอนุกรมวิธานของเพลี้ยหอยแต่ละชนิด โดยวาดลงบนกระดาษกราฟและลอกลงบนกระดาษไขเขียนแบบและจัดทำแนวทางวินิจฉัยชนิดเพลี้ยหอยสกุล *Pulvinaria*

7. การบันทึกรายละเอียดบนแผ่นสไลด์ที่อบแห้งแล้วโดยวางแผ่นสไลด์หันด้านหัวของเพลี้ยหอยเข้าหาตัว ด้านขวาเขียนรายละเอียดเกี่ยวกับพืชอาหาร วัน เดือน ปี สถานที่และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง ด้านซ้ายมือเขียนชื่อวิทยาศาสตร์ เพศ วันเดือนปี ที่ทำสไลด์และชื่อผู้จำแนก ควรลงรายละเอียดดังกล่าวเป็นภาษาอังกฤษ

8. จัดเก็บตัวอย่างเพลี้ยหอยในกล่องใส่สไลด์ถาวรและนำเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามหลักสากล

เวลาสถานที่

เวลา เดือนตุลาคม 2553 **ถึง** เดือนกันยายน 2554

สถานที่ 1. แหล่งปลูกพืชจังหวัดต่างๆ

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตวิวทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยหอยจากแหล่งปลูกพืชๆต่างๆ ทั่วทุกภูมิภาคของประเทศ ระหว่าง เดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 พบเพลี้ยหอยสกุล *Pulvinaria* เพศเมีย จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยหอยเกราะอ่อน: Green shield scale; *Pulvinaria psidii* Maskell ซึ่งพบในลิ้นจี่ ที่ จ.น่าน พะเยา และสมุทรสาคร และเพลี้ยหอย *Pulvinaria* sp. พบในลิ้นจี่ ที่ จ.น่าน

การศึกษานี้จะต้องดำเนินต่อไปในปี 2555 โดยสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยหอยสกุล *Pulvinaria* จากแหล่งปลูกพืชอื่นๆ ทั้ง ผัก ไม้ดอกไม้ประดับ พืชไร และไม้ผลให้ครอบคลุมทุกภูมิภาคของประเทศ และจัดทำแนวทางวินิจฉัยเพลี้ยหอยสกุล *Pulvinaria* พร้อมบันทึกรายละเอียดของเพลี้ยหอยแต่ละชนิด และจัดเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยหอยสกุล *Pulvinaria* ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงกันยายน 2554 พบเพลี้ยหอยสกุล *Pulvinaria* จำนวน 2 ชนิด คือ *Pulvinaria psidii* Maskell และอีก 1 ชนิด ยังไม่สามารถระบุชนิดได้ คือ *Pulvinaria* sp. ทั้ง 2 ชนิด พบบนผลลิ้นจี่ การศึกษานี้ยังไม่สิ้นสุดจะต้องดำเนินการต่อไปในปี 2555

เอกสารอ้างอิง

บุปผา เหล่าสินชัย. 2540. การศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยหอยศัตรูมะม่วง. วารสารกีฏและสัตววิทยา 19 (4): 196 -211.

Smith, D., G.A.C. Beettie and R. Broadley (eds.). 1997. Citrus pests and their natural enemies. Sttate of Queenstand. Department of Primary Industries, and Horticultural Research and Development Corporation. 272 pp.

Williams, J.R. 1978. Report on the “ Pou ‘a Poche Blanche” *Pulvinaria iceryi* Signoret. Mauritius Sugar Industry Research Institute. 29 pp.

Williams, D.J. and G.W. Watson. 1990. The Scale Insects of the Tropical South Pacific Region Part 3, the Soft Scales (Coccidae) and Other Families. CAB Intemational Institute of Entomology, Wallingford. 267 pp.

อนุกรมวิธานแมลงหวี่ขาวใน วงศ์ย่อย Aleurodicinae

Taxonomy of Whitefly in Subfamily Aleurodicinae

สุนัดดา เชาวลิต ลักขณา บำรุงศรี ชมัยพร บัวมาศ อิทธิพล บรรณาการ
ชฎาภรณ์ เฉลิมวิเชียรพร เกศสุดา สนศิริ สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาอนุกรมวิธานแมลงหวี่ขาว วงศ์ย่อย Aleurodicinae ให้ได้ชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้องและเป็นปัจจุบัน ลักษณะความแตกต่างพร้อมแนวทางการวินิจฉัยชนิด พืชอาหาร และเขตการแพร่กระจายของแมลงหวี่ขาววงศ์ย่อย Aleurodicinae เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานประกอบการจัดทำรายชื่อชนิดแมลงศัตรูพืช รองรับปัญหาด้านการนำเข้า-ส่งออกพืชในอนาคต ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 ในแหล่งปลูกพืชทั่วไป ทั้งพื้นที่เกษตร และพื้นที่ป่า ทั่วทุกภาคของประเทศไทย นำตัวอย่างที่สำรวจได้มาจำแนกชนิด ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จากการศึกษาครั้งนี้ ได้ตัวอย่างแมลงหวี่ขาววงศ์ย่อย Aleurodicinae จำนวน 115 ตัวอย่าง จำแนกชนิดตามหลักอนุกรมวิธานพบว่าเป็นแมลงหวี่ขาวใยเกลียว (Spiralling Whitefly) *Aleurodicus dispersus* Russell ตัวอย่างแมลงศัตรูทั้งหมดนำเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร การทดลองเรื่องนี้ยังไม่สิ้นสุด ต้องดำเนินการต่อในปี 2555

คำนำ

แมลงหวี่ขาว (whitefly) ในวงศ์ย่อย Aleurodicinae เป็นศัตรูพืชที่มีความสำคัญชนิดหนึ่ง ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยจะดูดกินน้ำเลี้ยงจากต้นพืชแล้วถ่ายมูลเหนียวที่เป็นน้ำหวานออกมาตามส่วนต่าง ๆ ของพืชที่อาศัย ซึ่งมูลเหนียวนี้เป็นอาหารของราดำ เมื่อเกิดราดำในปริมาณมากทำให้ปริมาณและคุณภาพของผลผลิตลดลง Mound และ Halsey (1978) ได้รายงานชนิดแมลงหวี่ขาวที่สำรวจพบในประเทศไทยไม่น้อยกว่า 50 ชนิด Chaweewan *et al.* (2007) รวบรวมรายชื่อแมลงหวี่ขาวที่พบในประเทศไทยมีจำนวน 93 ชนิด เป็นแมลงหวี่ขาวในวงศ์ย่อย Aleurodicinae 3 ชนิด สมชัย (2550) รายงานชนิดแมลงหวี่ขาวศัตรูพืชในประเทศไทยไว้ 9 ชนิด เป็นแมลงหวี่ขาวในวงศ์ย่อย Aleurodicinae 1 ชนิด สุนัดดา (2552) รายงานชนิดแมลงหวี่ขาววงศ์ย่อย Aleurodicinae เพิ่มอีก 1 ชนิด สำหรับในประเทศไทยข้อมูลของแมลงหวี่ขาววงศ์ย่อย Aleurodicinae ยังมีน้อยมาก ดังนั้น ในเบื้องต้นจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานเพื่อได้ทราบชนิด ลักษณะความแตกต่าง พืชอาหาร และเขตการแพร่กระจายของแมลงหวี่ขาวในวงศ์ย่อยนี้ได้อย่างถูกต้อง เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นด้านกีฏวิทยานำไปสู่การหาวิธีป้องกันกำจัดได้อย่างมีประสิทธิภาพ และเป็นพื้นฐานในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเพื่อการนำเข้า ส่งออกผลผลิตการเกษตรต่อไป

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-05-54

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1) ตัวอย่างแมลงหวี่ขาว ที่รวบรวมได้จากแหล่งปลูกพืชทั่วไป ทั้งพื้นที่เกษตร และพื้นที่ป่าทั่วทุกภาคของประเทศไทย

2) อุปกรณ์เก็บตัวอย่างได้แก่ ขวดดองแมลงซึ่งบรรจุแอลกอฮอล์ 80% ปากคีบ พู่กัน กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก ซองกระดาษใส่ตัวอย่างแมลง ถังรักษาความเย็น

3) อุปกรณ์และสารเคมีต่างๆ สำหรับใช้ในการทำสไลด์ถาวร ได้แก่ potassium hydroxide 10 %, alcohol 70-95 %, aetic acid gacial, Chloral-phenol, ammonia solution, hydrogen peroxide, acid fuchsin strain, clove oil และ canada balsam บีคเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร แผ่นสไลด์แก้วและแผ่นแก้วปิดสไลด์ ตู้อบสไลด์ถาวร

4) กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereomicroscope ,compound microscope และกล้องถ่ายภาพ

5) อุปกรณ์วาดภาพ ได้แก่ ปากกา rotting และกระดาษไขเขียนแบบ

6) เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของแมลงหวี่ขาว

วิธีการ

1) สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงหวี่ขาวศัตรูพืชในแหล่งปลูกพืชทั่วไป ทั้งพื้นที่เกษตรและพื้นที่ป่า ทั่วทุกภาคของประเทศไทย โดยตัดส่วนของพืชที่มีตัวอ่อน ดักแด้ หรือตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวเกาะอยู่ด้วยกรรไกรตัดกิ่ง นำตัวอย่างแมลงหวี่ขาวที่เก็บรวบรวมได้พร้อมพืชอาศัยห่อกระดาษแล้วนำใส่ถุงพลาสติก หรือกล่องพลาสติก หากตัวอย่างแมลงหวี่ขาวที่รวบรวมได้อยู่ในระยะตัวอ่อน ต้องนำไปเลี้ยงในห้องปฏิบัติการจนเป็นดักแด้ บันทึกข้อมูลเบื้องต้น เช่น พืชอาหาร สถานที่ วัน เดือน ปี และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง ทุกครั้งที่เก็บตัวอย่าง

2) นำตัวอย่างดักแด้และตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวที่เก็บรวบรวมได้ มาตรวจลักษณะภายนอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo microscope บันทึกรายละเอียดต่างๆ เช่น ขนาด รูปร่าง ลักษณะ สี ฯลฯ พร้อมทั้งถ่ายภาพแมลงหวี่ขาวแต่ละระยะ

3) นำตัวอย่างดักแด้ที่สำรวจได้ในข้อ 2) บางส่วนมาทำสไลด์ถาวร โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Martin (1987) โดยตัดชิ้นส่วนของพืชเฉพาะที่มีดักแด้ติดอยู่ แช่ในสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 10 % ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง หรือแช่ในสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 10 % ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-20 นาที จะช่วยให้แยกดักแด้ออกจากพืชอาศัยได้ง่าย โดยไม่ทำให้ตัวอย่างเสียหาย (ขั้นตอนนี้ระวังไม่ให้สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เดือด) ดูดสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ออก เติมกรดแกลเซียลอะซิติก แช่ทิ้งไว้ 2-3 นาที แล้วดูดกรดแกลเซียลอะซิติกออก เติมสารละลายคลอรอล-ฟีนอล (chloral-phenol) แช่ทิ้งไว้ 2-3 นาทีเช่นกัน แล้วดูดสารผสมนี้ออก วิธีนี้นอกจากจะช่วยกำจัดคราบไขมันที่ห่อหุ้มดักแด้แล้ว ยังช่วยในการย้อมสีทำให้ตัวอย่างติดสีได้ดีขึ้น การย้อมสีแมลงหวี่ขาวปฏิบัติตามขั้นตอนดังนี้

- ดักแด้ที่มีสีเข้มหรือสีดำ ให้ล้างตัวอย่างด้วยแอลกอฮอล์ 95% แล้วย้ายตัวอย่างลงในสารละลายที่เป็นส่วนผสมของแอมโมเนีย (Ammonia) กับไฮโดรเยนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) ในอัตราส่วน 80: 20 โดยปริมาตร แช่ทิ้งไว้ 2-3 นาที สารละลายนี้จะช่วยทำให้ตัวอย่างที่มีสีเข้มใสขึ้น

- ดักแด้ที่มีสีจางหรือสีซีด ให้ล้างตัวอย่างด้วยกรดแกลเซียลอะซิติก ย้ายตัวอย่างลงในสารละลายแอซิกฟุชซินสเตน ใช้เพียง 2-3 หยดเพื่อย้อมสีตัวอย่าง แช่ทิ้งไว้ 2-3 นาที ดูดสารละลาย หรือสีย้อมออก ล้างด้วยกรดแกลเซียลอะซิติก และแช่ในกรดแกลเซียลอะซิติก ทิ้งไว้ 2-3 นาที แล้วดูดสารละลายนี้ออก เติมโคลฟอออยหรือไซลีน แช่ทิ้งไว้ 2-3 นาที เมาท์ตัวอย่างบนแผ่นสไลด์ แล้วนำไปอบให้แห้งใช้เวลา 5 สัปดาห์

4) นำสไลด์ที่ผ่านการอบจนแห้งแล้วมาตรวจวิเคราะห์จำแนกชนิดใต้กล้องจุลทรรศน์ compound microscope ตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานด้วยการใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยชนิดของแมลงหวี่ขาว ลักษณะสำคัญที่ใช้จำแนกชนิดได้แก่ ขนและหนาม (setae & spine) ขอบลำตัว (margin) อวัยวะที่ใช้ในการขับไข เช่น รูชนิดต่างๆ (pores) vesiform orifice lingula และ operculum เป็นต้น

5) บันทึกรายละเอียดของแมลงหวี่ขาวชนิดต่างๆที่สำรวจพบ และข้อมูลอื่นที่สำคัญ ถ่ายภาพใต้กล้องจุลทรรศน์ รวมถึงบันทึกรายละเอียดบนแผ่นป้ายที่ต้องติดไว้กับสไลด์แมลงหวี่ขาวแต่ละตัว ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ที่จำแนกได้ วัน/เดือน/ปี สถานที่จับ และ วัน/เดือน/ปีที่ทำสไลด์ถาวร ชื่อน้ำยาที่ใช้เมาท์ (mount) สไลด์

6) จัดเก็บตัวอย่างที่ได้ศึกษา โดยนำตัวอย่างแมลงหวี่ขาวพร้อมตัวอย่างพืชที่มีดักแด้เกาะอยู่และสไลด์ถาวรที่จำแนกชนิดเรียบร้อยแล้ว เก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากล เพื่อตรวจสอบ สืบค้น และอ้างอิงในภายหลัง

เวลาสถานที่

เวลา : เดือนตุลาคม 2553 – เดือนกันยายน 2555

สถานที่ : - แหล่งปลูกพืชทั่วไป ทั้งพื้นที่เกษตร และพื้นที่ป่า ทั่วทุกภาคของประเทศไทย
- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาอนุกรมวิธานแมลงหวี่ขาว วงศ์ย่อย Aleurodicinae ในแหล่งปลูกพืชทั่วไป ทั้งพื้นที่เกษตร และพื้นที่ป่า ทั่วทุกภาคของประเทศไทย ได้ตัวอย่างแมลงหวี่ขาว วงศ์ย่อย Aleurodicinae จำนวน 115 ตัวอย่าง ผลการตรวจวิเคราะห์ โดยใช้แนวทางการวินิจฉัยตามหลักอนุกรมวิธานแมลง รวมทั้งเปรียบเทียบกับตัวอย่างแมลงหวี่ขาวที่มีในพิพิธภัณฑ์แมลงของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร สามารถวิเคราะห์ชนิด ได้ 1 ชนิด โดยมีรายละเอียด ดังนี้

แมลงหวี่ขาวใยเกลียว (Spiralling Whitefly)

ชื่ออื่น -

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Aleurodicus dispersus* Russell (Hemiptera: Aleyrodidae: Aleurodicinae)

ชื่อเดิม -

รูปร่างลักษณะ

แมลงหวี่ขาวใยเกลียววางไข่เป็นรูปวงกลมบนใบหรือใต้ใบพืช ลักษณะเป็นวงเกลียว มีเส้นใยสีขาวปกคลุม แต่ละวงมีไข่ประมาณ 14-26 ฟอง ระยะไข่ใช้เวลา 7-10 วัน (ภาพที่ 1ก) ระยะตัวอ่อนมี 4 วัย ตัวอ่อนวัย 1- 2 ใช้เวลา 6-9 วัน ระยะนี้เริ่มมีเส้นใยสีขาวปกคลุมแต่ไม่มาก ตัวอ่อนวัย 3 มีขนาดใหญ่ขึ้นเริ่มสร้างเส้นใยสีขาวปกคลุมตัวมากขึ้นแต่ยังสามารถมองเห็นส่วนต่างๆ ของตัวอ่อนระยะนี้ใช้เวลา 5-13 วัน ลอกคราบครั้งที่ 3 เพื่อเข้าสู่ระยะที่ 4 ใช้เวลา 5-16 วัน หลังจากลอกคราบครั้งสุดท้าย ตัวอ่อนจะมีลักษณะตัวนูนขึ้น ระยะที่ 3-4 จะมีเส้นใยสีขาวคล้ายเส้นด้ายลักษณะเป็นมันวาวปกคลุมจนไม่สามารถมองเห็นส่วนต่างๆ ของลำตัวได้ (ภาพที่ 1ข) ดักแด้มีความยาว 0.91 มิลลิเมตร กว้าง 0.69 มิลลิเมตร (ภาพที่ 1ค) ตัวเต็มวัย มีขนาดลำตัวยาว 2 มิลลิเมตร สีเหลืองอ่อน ปีก 2 คู่ ปกคลุมด้วยผงสีขาวคล้ายผงแป้ง (ภาพที่ 1ง)

ลักษณะบนแผ่นสไลด์ ดักแด้ลักษณะโค้งมนเป็นรูปไข่ พบรูประกอบจำนวน 5 คู่ มีขนาดใกล้เคียงกัน โดยพบที่ส่วนหัว 1 คู่ และส่วนท้องระหว่างปล้องท้องที่ 3 ถึงปล้องท้องที่ 6 จำนวน 4 คู่ และพบรูธรรมดาหลายๆขนาดกระจายอยู่ทั่วลำตัว บริเวณขอบลำตัวพบขนแข็งขนาดเล็กรอบลำตัว 12 คู่ รูเปิดที่ vasiform orifice มีรูปร่างคล้ายหัวใจโดยมีลิ้นขนาดใหญ่มองเห็นได้ชัดเจน ที่ส่วนปลายลิ้นพบขนแข็ง 4 เส้น ที่ฝาปิด จะมีขนขนาดเล็ก 2 เส้น (ภาพที่ 2)

พืชอาหาร

พบอาศัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากทุกระยะการเจริญเติบโตของพืช เช่น ดอก ใบ ผล ต้นอ่อน ชนิดพืชที่แมลงหวี่ขาวใยเกลียวเข้าทำลาย ได้แก่ กระเจี๊ยบเขียว กล้วย ถั่วพู ฝรั่ง พุดตาน พุทรา มะเขือม่วง แอปเปิ้ล มะลิ ลีลาวดี หูปลาช่อน องุ่น ขี้เหล็ก และน้อยหน่า จากรายงานพบว่าแมลงหวี่ขาวชนิดนี้มีพืชอาหารมากกว่า 100 ชนิด ในพืช 27 ตระกูล (Mound & Halsey.1978)

แหล่งที่สำรวจพบ

กาญจนบุรี เชียงราย ตาก นครนายก นครราชสีมา ปทุมธานี เพชรบุรี แพร่ ราชบุรี สมุทรสงคราม อุตรดิตถ์ และจากรายงานของ Mound & Halsey (1978) พบว่ามีการแพร่ระบาดอย่างกว้างขวางในหลายประเทศ เช่น แถบภูมิภาคพาเลอาคติค – มาคาโลนีเซีย แถบภูมิภาคเอธิโอเปีย – ไนจีเรีย โตโก (ในทวีปแอฟริกาทางทิศตะวันตก) ภูมิภาคตะวันออก (เอเชีย) – อินเดีย เกาะมัลดีฟ ศรีลังกา ไทย : ทางทิศใต้ – ตะวันออก แปซิฟิก เขตทรอปิค และ อเมริกาใต้

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาอนุกรมวิธานแมลงหวี่ขาว วงศ์ย่อย Aleurodicinae ในแหล่งปลูกพืชทั่วไป ทั้งพื้นที่เกษตร และพื้นที่ป่า ทั่วทุกภาคของประเทศไทย ได้ตัวอย่างแมลงหวี่ขาว วงศ์ย่อย Aleurodicinae

จำนวน 115 ตัวอย่าง ผลการตรวจวิเคราะห์ โดยใช้แนวทางการวินิจฉัยตามหลักอนุกรมวิธานแมลง รวมทั้งเปรียบเทียบกับตัวอย่างแมลงหวี่ขาวที่มีในพิพิธภัณฑ์แมลงของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร สามารถวิเคราะห์ชนิด ได้ 1 ชนิด ได้แก่ แมลงหวี่ขาวใยเกลียว (Spiralling Whitefly) *Aleurodicus dispersus* Russell ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงทำให้เกิดรอยแผลเป็นจุดสีเหลืองขนาดเล็ก ผลผลิตไม่ได้คุณภาพตามความต้องการ ตัวอย่างแมลงหวี่ขาวที่ได้จากการสำรวจ เก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลงกรมวิชาการเกษตร เพื่อตรวจสอบความถูกต้อง พร้อมจัดทำฐานข้อมูล นำไปใช้อ้างอิงทางวิชาการสำหรับงานอนุกรมวิธานและงานกีฏวิทยาด้านอื่นๆ นอกจากนี้ยังเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการจัดทำบัญชีรายชื่อแมลงศัตรูพืชเพื่อประกอบในงานสำคัญด้านการส่งออกและนำเข้าสินค้าเกษตร

เอกสารอ้างอิง

เตือนจิตต์ สัตยาวิรุฑธี, มโนชัย กีรติกสิกร และ สาทร สิริสิงห์. 2539. แมลงศัตรูถั่วลิสง. ห้างหุ้นส่วนจำกัด ฟันนี่ พับบลิชชิ่ง. กรุงเทพฯ. 72 หน้า.

พรทิพย์ วิสานทานนท์, พรรเพ็ญ ชโยพาส, ใจทิพย์ อุไรชื่น, รังสิมา เก่งการพานิช, กรรณิการ์ เพ็งคุ้ม, จิราภรณ์ ทองพันธ์, ดวงสมร สุทธิสุทธิ์, ลักขณา ร่มเย็น, ภาวินี หนูชนะภัย และ อัจฉรา เพชรโชติ. 2548. แมลงที่พบในผลผลิตเกษตรและการป้องกันกำจัด. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. กรุงเทพฯ. 18 หน้า.

พิสุทธิ์ เอกอำนวย. 2553. โรคและแมลงศัตรูที่สำคัญ. พิมพ์ครั้งที่ 3. อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด (มหาชน). กรุงเทพฯ. 591 หน้า.

วิภาดา ทองภักษิณ ปาริชาติ นุกูลการ วัชรี โอฬากนก. 2543. การผลิตปทุมมาอย่างถูกต้องและเหมาะสม. โรงพิมพ์สหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.กรุงเทพฯ. 79 หน้า.

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

ศรีสมร พิทักษ์, บุญทิวา วาทิรอยรัมย์, เตือนจิตต์ สัตยาวิรุฑธ์, วิเชียร บำรุงศรี, วรัญญา มาลี และ อัจฉรา หวังอาษา. 2554. แมลงศัตรูถั่วเหลืองและการป้องกันกำจัด. โรงพิมพ์คุรุสภาลาดพร้าว. กรุงเทพฯ. 54 หน้า.

สมาน ภัคดี, อเนก บางข่า, บัณฑิต จันทร์งาม, เสรี ทองศักดิ์, มนตรี ทศานนท์, นาตยา ดำอำไพ และ อนุ สุวรรณโฉม. 2541. รายงายประจำปี 2541 ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย. สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร. 62 หน้า.

สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น, อุราพร หนูนารถ, สมรวย รวมชัยอภิกุล และ ศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา. 2554. แมลงศัตรูผัก เห็ด และไม้ดอก. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. กรุงเทพฯ. 74หน้า.

สุวัฒน์ รวยอารี. 2544. เรียนรู้การจัดการแมลงศัตรูข้าวโดยวิธีผสมผสาน. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. กรุงเทพฯ. 262 หน้า.

สุรวิท วรรณไกรดรจน์. 2540. ปทุม.มาและกระเจียว (Curcuma) ไม้ดอกไม้ประดับ. สำนักพิมพ์บ้านและสวน. กรุงเทพฯ. 128 หน้า.

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

อรนุช กองกาญจนะ, วัชนา ชุณหวงศ์. 2540. แมลงศัตรูข้าวโพดและการป้องกันกำจัด. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. กรุงเทพฯ. 37 หน้า.

Borror, D.J. and D.M. Delong. 2005. Introduction to the Study of Insects. The United States of America. 864 pp.

Inoue,H., S.Sugi, H.Kuroko, S.Moriuti and A.Kawabe. 1982. Moth of Japan. The Kyodo Printing Co. Ltd. Tokyo. 552 pp.

Pholboon , P. 1965. A Host List of The Insectd of Thailand. Department of Agriculture, Bangkok. Thailand. 149 pp.

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

Pinratana, A. and J.M. Maes. 1999. Lucanidae of Thailand. Brothers of St. Gabriel in Thailand. 103 pp.

Zimmerman, E.C. 1994. Australian Weevils (Coleoptera: Curculionidae). Brown Prior Anderson.

ก ข

ค ง

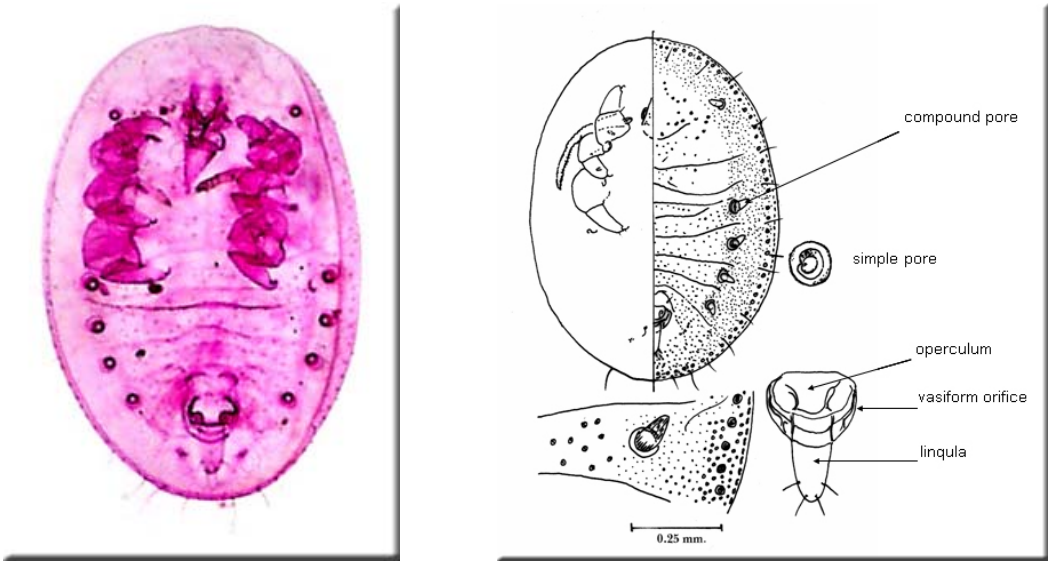
ภาพที่ 1 แมลงหวี่ขาวใยเกลียว *Aleurodicus dispersus* Russell

ก. ระยะไข่

ข. ระยะตัวอ่อน

ค. ระยะดักแด้

ง. ระยะตัวเต็มวัย



ก ข

ภาพที่ 2 แมลงหวี่ขาวใยเกลียว *Aleurodicus dispersus* Russell

ก. ลักษณะบนแผ่นสไลด์

ข. ภาพลายเส้น

อนุกรมวิธานเพลี้ยไฟวงศ์ย่อย Panchaetothripinae

Taxonomy of Thrips in Subfamily Panchaetothripinae

อิทธิพล บรรณาการ ศิริณี พูนไชยศรี ลักขณา บำรุงศรี สุนัดดา เชาวลิต
ชมัยพร บัวมาศ ชฎาภรณ์ เฉลิมวิเชียรพร เกศสุดา สนศิริ สิทธิศิโรดมภ์ แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

สำรวจ รวบรวมเพลี้ยไฟในแหล่งปลูกพืชต่างๆ เช่น มะม่วง มะม่วงหิมพานต์ ถั่วฝักยาว ถั่วเหลือง ข้าวโพด สบู่ดำ ในพื้นที่ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือ ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 นำตัวอย่างเพลี้ยไฟที่รวบรวมได้มาศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธาน เพื่อตรวจจำแนกชนิด ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช สามารถจำแนกชนิดเพลี้ยไฟวงศ์ย่อย Panchaetothripinae ได้ 2 ชนิด 110 ตัวอย่าง ซึ่งอยู่ในอันดับ Thysanoptera วงศ์ Thripidae ได้แก่ เพลี้ยไฟโกโก้ (Cocoa thrips) *Selenothrips rubrocinctus* Giard จำนวน 60 ตัวอย่าง และ เพลี้ยไฟถั่วลิสง (Bean thrips) *Caliothrips phaseoli* Hood จำนวน 50 ตัวอย่าง การทดลองเรื่องนี้ยังไม่สิ้นสุดต้องดำเนินการต่อในปี 2555

คำนำ

เพลี้ยไฟเป็นศัตรูสำคัญของพืชหลายชนิด ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยสามารถทำลายพืชได้ โดยการดูดกลืนน้ำเลี้ยงจากเซลล์พืชในส่วนยอดอ่อน ตาอ่อน ใบ ดอก และผล ทำให้ใบเกิดรอยด่าง สีซีด หรือทำให้ขอบใบแห้ง ตาอ่อนชะงักการเจริญเติบโต เพลี้ยไฟในวงศ์ย่อย Panchaetothripinae เป็นเพลี้ยไฟอีกวงศ์ย่อยหนึ่งที่เป็นศัตรูพืชที่สำคัญของมะม่วง สบู่ดำ ถั่วเหลือง ถั่วลิสง ส้มเขียวหวาน คะน้า ซึ่งเป็นพืชส่งออกและพืชพลังงานที่สำคัญของประเทศ สร้างความเสียหายให้กับพืชโดยการดูดกินโดยตรงและสร้างความเสียหายทางอ้อมจากสิ่งขับถ่ายที่เพลี้ยไฟถ่ายออกมา ซึ่งมีลักษณะคล้ายหยดน้ำเล็กๆ ติดอยู่ตามส่วนต่างๆ ของพืช หยดน้ำเหล่านี้เมื่อแห้งจะทำให้พืชเกิดรอยตำหนิเป็นจุดดำ (ศิริณี, 2544) การศึกษาอนุกรมวิธานเพลี้ยไฟในวงศ์ย่อย Panchaetothripinae นั้นจะได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์อย่างมาก ในการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการจัดการเพลี้ยไฟในวงศ์ย่อย Panchaetothripinae ที่ถูกต้องและเหมาะสมต่อไป

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-06-54

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

ตัวอย่างเพลี้ยไฟที่รวบรวมได้จากแปลงปลูกพืช อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ สวิงจับแมลง ปากคีบ พู่กัน ขวดดอง กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก ถังรักษาความเย็น สารเคมีต่างๆ เช่น น้ำกลั่น alcohol 50-100%, AGA, sodium hydroxide 10%, clove oil และ canada balsam เข็มเขี่ย แผ่นสไลด์แก้ว แผ่นแก้วปิดสไลด์ กล่องสไลด์ถาวร ตู้อบสไลด์ถาวร กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และ compound microscope ที่ติด camera lucida เป็นอุปกรณ์เสริมช่วยในการวาดภาพแมลงที่พบ กล้องถ่ายภาพ อุปกรณ์วาดภาพ ได้แก่ ปากกา rotring และกระดาษไขเขียนแบบ เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของเพลี้ยไฟวงศ์ย่อย Panchaetothripinae

วิธีการ

สืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับชนิดของเพลี้ยไฟวงศ์ย่อย Panchaetothripinae จากเอกสารวิชาการที่เกี่ยวข้อง ดำเนินการสำรวจ รวบรวมตัวอย่างเพลี้ยไฟจากแปลงปลูกพืชต่างๆ เช่น มะม่วง มะม่วงหิมพานต์ ถั่วฝักยาว ถั่วเหลือง ข้าวโพด สบู่ดำ ในพื้นที่ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือ โดยใช้วิธีการตีหรือเขย่าส่วนของพืชให้เพลี้ยไฟตกลงบนกระดาษขาวที่รองรับ และใช้พู่กันเขี่ยเพลี้ยไฟแต่ละตัวลงในขวดที่บรรจุน้ำยา AGA รวมทั้งเก็บตัวอย่างที่มีชีวิตด้วย บันทึกรายละเอียด พืชอาหาร ส่วนของพืชที่พบตัวอย่าง วัน/เดือน/ปี สถานที่ และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง นำตัวอย่างทั้งหมดที่รวบรวมได้กลับไปยังห้องปฏิบัติการ เพื่อศึกษาด้านอนุกรมวิธาน โดยการนำตัวอย่างเพลี้ยไฟไปทำสไลด์ถาวร

วิธีการทำสไลด์ถาวรของเพลี้ยไฟ

1. ย้ายตัวอย่างเพลี้ยไฟจากขวดลงเก็บรักษาในแอลกอฮอล์ 60 % แช่ทิ้งไว้อย่างน้อย 24 ชั่วโมง

2. ย้ายลงในโซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide) 5% เพื่อทำให้สีของเพลี้ยไฟจางลง เวลาที่ใช้ขึ้นอยู่กับชนิดของตัวอย่างเพลี้ยไฟ เจาะส่วนท้องของเพลี้ยไฟบริเวณต้นขาของขาหลังด้วยเข็มแหลมขนาดเล็ก เพื่อให้ของเหลวภายในออกจากตัวเพลี้ยไฟ

3. ย้ายเพลี้ยไฟที่เจาะแล้วลงในน้ำกลั่น จากนั้นนำไปแช่ในแอลกอฮอล์ 50 %ทิ้งไว้ 2 – 3 นาที

4. ย้ายลงในแอลกอฮอล์ 60 % อีกครั้ง ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง

5. ย้ายลงในแอลกอฮอล์ 70 % อีกครั้ง ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง

6. ย้ายลงในแอลกอฮอล์ 80 % อีกครั้ง ทิ้งไว้ 20 นาที

7. ย้ายลงในแอลกอฮอล์ 95 % อีกครั้ง ทิ้งไว้ 10 นาที

8. ย้ายลงในแอลกอฮอล์ 100 % อีกครั้ง ทิ้งไว้ 5 นาที ทำซ้ำอีก 1 ครั้ง

9. ย้ายลงในโคลฟออย (clove oil) เพื่อให้ตัวอย่างของเพลี้ยไฟใส แช่ทิ้งไว้ 20 – 30 นาที

10. หยดแคนาดาบัลซัม (Canada balsam) ซึ่งเป็นน้ำยาเมาท์สไลด์ (Mounting media) เพียงเล็กน้อยลงบนแผ่นแก้วปิดสไลด์ ป้ายเพลี้ยไฟลงในหยดแคนาดาบัลซัมลงบนกึ่งกลางของแผ่นสไลด์แก้ว ค่อยๆคว่ำแผ่นสไลด์ช้าๆ จนกระทั่งจรดแผ่นแก้วปิดสไลด์ รีบพลิกแผ่นสไลด์แก้วให้ด้านแผ่นแก้วปิดสไลด์กลับขึ้นด้านบน นำไปอบให้แห้ง

ดำเนินการจำแนกชนิดโดยศึกษาจากเอกสารของศิริณี (2544) และ Palmer, *et al.* (1989) รวมทั้งศึกษาจากตัวอย่างเพลี้ยไฟที่เก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง วาดภาพ/ถ่ายภาพลักษณะสำคัญทางอนุกรมวิธานและจัดทำแนวทางการวินิจฉัยระดับชนิด จัดทำป้ายและบันทึกข้อมูลรายละเอียดบนแผ่นสไลด์ถาวร ได้แก่ พืชอาหาร วัน/เดือน/ปี สถานที่และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง รวมทั้ง วัน/เดือน/ปี และชื่อผู้วิเคราะห์ชนิด นำตัวอย่างเพลี้ยไฟที่ศึกษาวิจัยทั้งหมดเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากลของพิพิธภัณฑ์ เพื่อใช้ในการตรวจสอบ สืบค้นและอ้างอิง

เวลาและสถานที่

เวลา เดือนตุลาคม 2553 ถึง เดือนกันยายน 2554

สถานที่ 1. แปลงปลูกพืชในพื้นที่ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือ

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

พบเพลี้ยไฟวงศ์ย่อย Panchaetothripinae และสามารถจำแนกชนิดได้ 2 ชนิด 110 ตัวอย่างคือ เพลี้ยไฟโกโก้ (Cocoa thrips) *Selenothrips rubrocinctus* Giard จำนวน 60 ตัวอย่าง และ เพลี้ยไฟถั่วลิสง (Bean thrips) *Caliothrips phaseoli* Hood จำนวน 50 ตัวอย่าง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาอนุกรมวิธานเพลี้ยไฟวงศ์ย่อย Panchaetothripinae ในแหล่งปลูกพืชต่างๆ เช่น มะม่วง มะม่วงหิมพานต์ ถั่วฝักยาว ถั่วเหลือง ข้าวโพด สบู่ดำ ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึง เดือนกันยายน 2554 พบเพลี้ยไฟวงศ์ย่อย Panchaetothripinae 2 ชนิด 110 ตัวอย่าง ซึ่งอยู่ในอันดับ Thysanoptera วงศ์ Thripidae ได้แก่เพลี้ยไฟโกโก้ (Cocoa thrips) *Selenothrips rubrocinctus* Giard จำนวน 60 ตัวอย่างและเพลี้ยไฟถั่วลิสง (Bean thrips) *Caliothrips phaseoli* Hood จำนวน 50 ตัวอย่าง การทดลองเรื่องนี้ยังไม่สิ้นสุดต้องดำเนินการต่อในปี 2555

เอกสารอ้างอิง

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

Palmer, J. M., L. A. Mound and G. J. du Heaunme. 1989. Cie Guides to Insects of Importance to Man. 2. Thysanoptera. C.A.B International Institute of Entomology. British Museum Natural History. 69 p.

อนุกรมวิธานผีเสื้อกลางคืนวงศ์ย่อย Pyraustinae

Taxonomy of Moth in Subfamily Pyraustinae

สุนัดดา เชาวลิต ลักขณา บำรุงศรี ชมัยพร บัวมาศ อิทธิพล บรรณาการ
ชฎาภรณ์ เฉลิมวิเชียรพร เกศสุดา สนศิริ สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาอนุกรมวิธานผีเสื้อกลางคืนวงศ์ย่อย Pyraustinae ให้ได้ชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้องและเป็นปัจจุบัน ลักษณะความแตกต่างพร้อมแนวทางการวินิจฉัยชนิด พืชอาศัย และเขตการแพร่กระจายของผีเสื้อกลางคืนวงศ์ย่อย Pyraustinae เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานประกอบการจัดทำรายชื่อชนิดแมลงศัตรูพืช รองรับปัญหาด้านการนำเข้า-ส่งออกพืชในอนาคต ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 ในแหล่งปลูกพืชทั่วไป ทั้งพื้นที่เกษตร และพื้นที่ป่า ทั่วทุกภาคของประเทศไทย นำตัวอย่างที่สำรวจได้มาจำแนกชนิด ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จากการศึกษาครั้งนี้พบผีเสื้อกลางคืนวงศ์ย่อย Pyraustinae ทั้งหมด 4 ชนิด ได้แก่ *Leucinodes orbonalis* Guenée, *Omiodes diemenalis* Guenée, *Maruca vitrata* Fabricius และ *Diaphania indica* (Saunders) ตัวอย่างผีเสื้อทั้งหมดนำเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร การทดลองเรื่องนี้ยังไม่สิ้นสุดต้องดำเนินการต่อในปี 2555

คำนำ

ผีเสื้อในวงศ์ย่อย Pyraustinae วงศ์ Crambidae เป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดเล็กถึงขนาดกลาง มีจำนวนชนิดและความหลากหลายในรูปร่างลักษณะค่อนข้างมาก หลายชนิดเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญ ระยะหนอนกัดกินส่วนต่างๆ ของพืชทำให้ปริมาณและคุณภาพการผลิตลดลง สร้างความเสียหายทำให้คุณภาพและผลผลิตลดลง ทั่วโลกมีผีเสื้อในวงศ์ย่อย Pyraustinae ประมาณ 1,400 ชนิด มากกว่าครึ่งพบแพร่ระบาดในประเทศเขตร้อน ในภูมิภาคเอเชีย สำรวจพบเกือบทุกประเทศ (CABI, 2007) จากการศึกษาในประเทศออสเตรเลียพบผีเสื้อในวงศ์ย่อยนี้ 390 ชนิด ที่สามารถจำแนกได้และมีอีกจำนวนมากที่ไม่สามารถจำแนกชนิดได้ (Common, 1990) สกุลที่เป็นศัตรูพืชที่สำคัญ เช่น สกุล *Diaphania* ทำลายพืชในวงศ์แตง (Cucurbitaceae) ถั่ว (Leguminosae) (Pandey , 1977) สกุล *Omiodes* ทำลายพืชในวงศ์ถั่วคลุมดิน (Calopogonium), ถั่วลิสง ถั่วเหลือง กวาวเลือ อัญชัญ กระถิน ถั่วงอก ในอินเดียผีเสื้อสกุลนี้จัดเป็นแมลงศัตรูพืชที่มีความสำคัญมากชนิดหนึ่ง (Dammerman, 1929) Govindan *et al.* (1989) รายงานว่าทุกชนิดของผีเสื้อในสกุล *Omiodaes* เป็นศัตรูสำคัญของพืชตระกูลถั่ว และไม้ประดับบางชนิด Ghesquière, (1942) ศึกษาวงจรชีวิตของ

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-07-54

O. indicate พบว่าตลอดชีพจักรใช้เวลา 25 วัน เพศเมีย 1 ตัว วางไข่ประมาณ 280 ฟอง Xia *et al.*, (1988) สามารถเลี้ยงผีเสื้อสกุลนี้ได้ 6 รุ่นต่อปี หนอนมี 5 วัย หนอนวัยสุดท้ายตัวสีเขียว ทำลายในชั้น mesophyll ของพืช ผีเสื้อสกุล *Nacolei* เป็นศัตรูสำคัญของกล้วย เฮลิโคเนีย ปาล์มบางชนิด (Paine, 1964; Wilkie, 1994) ผีเสื้อในสกุล *Diaphania* พบว่าหนอนกัดกินใบและผล ทำให้เกิดความเสียหาย บางชนิดเข้าทำลายระยะติดผลใหม่ (Patel and Kulkarny, 1956) หนอนเจาะฝักถั่วมารูคา ในสกุล *Maruca* เป็นศัตรูที่สำคัญเข้าทำลายถั่วพุ่มในระยะออกดอกและติดฝัก มีการระบาดตลอดปี โดยเฉาะในฤดูแล้ง ทำความเสียหายแก่ดอกและฝัก (พเยาว์, 2543)

สำหรับในประเทศไทยยังไม่เคยมีการรายงานจำนวนชนิดของผีเสื้อในวงศ์ย่อยนี้ ดังนั้น ในเบื้องต้นจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานเพื่อได้ทราบชนิด ลักษณะความแตกต่างพืชอาหาร และเขตการแพร่กระจายของผีเสื้อในวงศ์ย่อยนี้ได้อย่างถูกต้อง เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นด้านกีฏวิทยานำไปสู่การหาวิธีป้องกันกำจัดได้อย่างมีประสิทธิภาพ และเป็นพื้นฐานในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเพื่อการนำเข้า ส่งออกผลผลิตการเกษตรต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1) ตัวอย่างผีเสื้อกลางคืน ที่รวบรวมได้จาก แหล่งปลูกพืชทั่วไป ทั้งพื้นที่เกษตร และพื้นที่ป่า ทั่วทุกภาคของประเทศไทย

2) อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ สวิงจับแมลง ขวดฆ่า ขวดดอง ปากคีบ กล่องพลาสติก ซองกระดาษใส่ตัวอย่างแมลง กล่องใส่ตัวอย่างแมลง ถังรักษาความเย็น

3) สารเคมีต่างๆ เช่น เอทิลอะซีเตท แอลกอฮอล์ 80%

4) อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวร ได้แก่ สารเคมีต่างๆ เช่น น้ำกลั่น alcohol 50-100%, sodium hydroxide 10%, clove oil และ canabalsam เข็มเขี่ย แผ่นสไลด์แก้ว แผ่นแก้วปิดสไลด์ กล่องสไลด์ถาวร ตู้อบสไลด์ถาวร

5) กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereomicroscope ,compound microscope และกล้องถ่ายภาพ

6) อุปกรณ์วาดภาพ ได้แก่ ปากกา rotting และกระดาษไขเขียนแบบ

7) เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของผีเสื้อกลางคืนวงศ์ Pyralidae

วิธีการ

1) สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างผีเสื้อจากแหล่งปลูกพืชทั่วไป ทั้งพื้นที่เกษตร และพื้นที่ป่า ทั่วทุกภาคของประเทศไทย ใช้สวิงจับแมลง (insect net) โฉบ เพื่อเก็บตัวอย่างผีเสื้อในช่วงเวลากลางวัน และติดตั้งกับดักแสงไฟ (light trap) เพื่อดึงดูดผีเสื้อช่วงเวลากลางคืน ฆ่าโดยใช้ขวดฆ่า (killing jar) ซึ่งบรรจุน้ำยา ethyl acetate หลังจากผีเสื้อตายแล้ว ใช้เข็มไร้สนิม (stainless steel) ปักกลางอกด้านบนเพื่อรักษาตัวอย่างไม่ให้เสียหาย บันทึกรายละเอียด พืชอาหาร วัน เดือน

ปี สถานที่เก็บตัวอย่าง และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง นำตัวอย่างใส่กล่อง เก็บรวมไว้ในกล่องรักษาความเย็น เพื่อป้องกันไม่ให้ตัวอย่างเน่าเสีย ตัวอย่างทั้งหมดที่รวบรวมได้นำกลับไปยังห้องปฏิบัติการ นอกจากตัวอย่างผีเสื้อที่ได้จากสภาพธรรมชาติแล้ว มีตัวอย่างผีเสื้อที่มีอยู่เดิมในพิพิธภัณฑ์ กรมวิชาการเกษตร ตัวอย่างที่ได้รับจากนักวิชาการ และตัวอย่างจากผู้มาขอรับบริการตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิด เพื่อใช้ในการศึกษาครั้งนี้ด้วย

2) ตัวอย่างผีเสื้อที่ได้จากการสำรวจ มาจัดรูปร่าง บนไม้จัดรูปร่าง (setting board) จัดปีกให้กางออกโดยให้ขอบล่างของปีกคู่หน้าตั้งฉากกับลำตัว ขอบบนของปีกคู่หลังอยู่ใต้ขอบล่างของปีกคู่หน้า นำไปอบให้แห้งในตู้อบ (oven) ปรับอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 15-30 วัน ขึ้นกับขนาดตัวอย่าง

3) นำตัวอย่างผีเสื้อที่รวบรวมได้มาตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิด โดยดูลักษณะภายนอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Stereo microscope แล้วบันทึกรายละเอียดต่างๆ เช่น ขนาดลำตัว รูปร่าง ลักษณะ และสี เป็นต้น โดยตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานด้วยการใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยชนิด ผีเสื้อกลางคืนวงศ์ย่อย Pyraustinae ประกอบการเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์ ในผีเสื้อบางชนิดซึ่งมีลักษณะภายนอกใกล้เคียงกันมากต้องใช้อวัยวะสืบพันธุ์เพศในการจำแนก ซึ่งมีขั้นตอนการทำสไลด์ดังนี้

- ตัดส่วนท้องของผีเสื้อ แช่ในสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 10 % ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง หรือต้มในสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 10 % ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 - 20 นาที

- ดูดสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ออก ติมน้ำกลั่นเพื่อล้างโพแทสเซียม-ไฮดรอกไซด์ ที่ยังหลงเหลืออยู่ออกให้หมด ทำซ้ำอีก 1-2 ครั้ง ย้อมสีด้วยเกจส์สเตน (Gage's slain) ซึ่งเป็นสารละลายของแอซิตฟุชซิน 0.5 กรัม กรดเกลือ 10% 25 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร แช่ทิ้งไว้ นาน 2-3 นาทีหรือนานถึง 12 ชั่วโมง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับโครงสร้างของลักษณะอวัยวะสืบพันธุ์ของตัวอย่างผีเสื้อที่จะติดสีได้ง่ายหรือยาก

- ย้ายตัวอย่างลงในน้ำกลั่นเพื่อทำการผ่าเอาอวัยวะสืบพันธุ์ออกจากท้อง ถ้าเป็นเพศผู้ ใช้ปากคีบปลายแหลมดึงอวัยวะสืบพันธุ์ออกจากท้องได้เลย แต่ถ้าเป็นเพศเมียใช้มีดผ่าตัดผ่าผนังลำตัวด้านข้างออกเพื่อป้องกันการเสียหายของอวัยวะสืบพันธุ์ ใช้พู่กันและปากคีบปลายแหลมทำความสะอาดไขมันส่วนเกินออกให้หมด

- ย้ายตัวอย่างลงแอลกอฮอล์ 30% จัดรูปร่างอวัยวะสืบพันธุ์ ให้ได้ตามลักษณะที่ต้องการ ย้ายตัวอย่างแช่ในแอลกฮอล์ 100% กำจัดน้ำออกให้หมด

- เมาท์ลงบนแผ่นสไลด์แก้ว โดยนำอวัยวะสืบพันธุ์ วางบนสไลด์ที่หยดน้ำยา Canada- balsam แล้วปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์ นำไปอบให้แห้งในตู้อบอุณหภูมิ 50 ^{O}C นาน 4 - 6 สัปดาห์ จึงนำออกมาศึกษา

4) บันทึกลักษณะสัณฐานวิทยาพร้อมทั้งถ่ายภาพใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope วาดรูปโดยใช้เครื่องมือ camera lucida ช่วยทำให้ทราบสัดส่วนที่แท้จริงได้ บันทึกรายละเอียดบนแผ่นป้ายบันทึกของผีเสื้อ แต่ละตัว ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ วัน/เดือน/ปี สถานที่พบตัวอย่าง และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง

5) จัดทำแนวทางวินิจฉัย (key) สกุลและชนิดของผีเสื้อกลางคืนวงศ์ย่อย Pyraustinaeที่รวบรวมได้พร้อมภาพประกอบ

6) จัดเก็บตัวอย่างที่ได้ศึกษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากลของการเก็บรักษาตัวอย่าง ผีเสื้อกลางคืนวงศ์ย่อย Pyraustinae ทุกชนิดที่รายงานไว้ต้องเก็บรักษาตัวอย่างจริงไว้เพื่อการตรวจสอบ สืบค้น และอ้างอิงในภายหลัง

เวลาสถานที่

เวลา : เดือนตุลาคม 2553 – เดือนกันยายน 2556

สถานที่: - แหล่งปลูกพืชทั่วไป ทั้งพื้นที่เกษตร และพื้นที่ป่า ทั่วทุกภาคของประเทศไทย

- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาอนุกรมวิธานผีเสื้อกลางคืนวงศ์ย่อย Pyraustinae ในแหล่งปลูกพืชทั่วไป ทั้งพื้นที่เกษตร และพื้นที่ป่า ทั่วทุกภาคของประเทศไทย ผลการตรวจวิเคราะห์ตามหลักอนุกรมวิธาน โดยใช้แนวทางการวินิจฉัยตามหลักอนุกรมวิธานแมลง รวมทั้งเปรียบเทียบกับผีเสื้อกลางคืนวงศ์ย่อย Pyraustinae ที่มีในพิพิธภัณฑ์แมลงของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร สามารถวิเคราะห์ชนิด ได้ 4 ชนิด โดยมีรายละเอียด ดังนี้

ตารางแสดงรายละเอียดของผีเสื้อกลางคืนวงศ์ย่อย Pyraustinae

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อสามัญ	แหล่งที่สำรวจพบ	พืชอาหาร	จำนวนตัวอย่าง
1. *Leucinodes orbonalis* Guenée	หนอนเจาะผลมะเขือ (eggplant fruit borer)	จังหวัดกาญจนบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี สระบุรี	มะเขือเปราะ มะเขือยาว มะเขือเสวย มะเขือเหลือง มะเขือม่วง มะเขือพวง	32
2. *Omiodes diemenalis* Guenée	หนอนม้วนใบถั่ว (soybean leaf folder)	จังหวัดนครปฐม จันทบุรี สุพรรณบุรี เพชรบุรี ระนอง กำแพงเพชร ตาก อุตรดิตถ์ เพชรบูรณ์	ใบถั่วเหลือง ถั่วฝักยาว วัชพืช	11
3. *Maruca vitrata* Fabricius	หนอนเจาะฝักถั่ว (maruca bean pod borer)	จังหวัด นครปฐม สุพรรณบุรี เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ กำแพงเพชร ตาก สุโขทัย เพชรบูรณ์ พิษณุโลก สระบุรี	ดอกแค ช่อดอกถั่วเขียว ดอกทองกวาว เจาะถั่วฝักยาว ถั่วเขียว ถั่วแดง ใบมัสตาด ใบโสกน้ำ ดอก ฝักถั่วพู	18
4. *Diaphania indica* (Saunders)	ผีเสื้อหนอนฟัก (pumpkin caterpillar)	จังหวัดกาญจนบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี เพชรบุรี ชุมพร นครสวรรค์ อุตรดิตถ์ พิษณุโลก	ใบแตงโม ใบบวบ ใบแฟง ดอก ใบแคนตาลูป ใบแตงโม ใบตำลึง ใบแตงไทย ใบน้ำเต้า ใบ ดอก ผลมะระ ใบแตงกวา ใบมะเขือเทศ	39

หนอนเจาะผลมะเขือ (eggplant fruit borer)

ชื่ออื่น brinjal fruit borer

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Leucinodes orbonalis* Guenée (Lepidoptera: Crambidae: Pyraustinae)

ชื่อเดิม -

รูปร่างลักษณะ

ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดกลาง ขนาดลำตัวเมื่อกางปีกกว้าง 2.0-2.1 เซนติเมตร หัว อก และลำตัวปกคลุมด้วยขนสีน้ำตาล พื้นปีกสีขาว ปีกคู่หน้า ขอบปีกด้านบนสีน้ำตาลอ่อน โคนปีกสีน้ำตาลเข้ม มีแถบสีน้ำตาลพาดขวางกึ่งกลางปีก ขอบปีกด้านบนสีน้ำตาลเข้ม ปีกคู่ล่างมีแถบและจุดสีน้ำตาลกระจายอยู่ประปราย ท้องปกคลุมด้วยขนสีน้ำตาล (ภาพที่ 1 ก)

พืชอาหาร

ตัวหนอนกัดกินดอก ผล และส่วนเจริญของมะเขือเปราะ มะเขือยาว มะเขือเสวย มะเขือเหลือง มะเขือม่วง และมะเขือพวง

แหล่งที่สำรวจพบ

จังหวัดกาญจนบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี และสระบุรี

หนอนม้วนใบถั่ว (soybean leaf folder)

ชื่ออื่น bean leaf rolle

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Omiodes diemenalis* Guenée (Lepidoptera: Crambidae: Pyraustinae)

ชื่อเดิม *Lamprosema diemenalis* Guenée

Hedylepta diemenalis Guenée

Asopia diemenalis Guenée

Lamprosema absistalis (Walker)

Nacoleia diemenalis Guenée

Pyrausta absistalis Walker

Asopia lydialis Walker

Botys ustalis Lederer

Pyralis incertalis Walker

Hedylepta pyraustalis Snellen

รูปร่างลักษณะ

ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดกลาง ขนาดลำตัวเมื่อกางปีกกว้าง 1.8-2.2 เซนติเมตร หัว และอก ปกคลุมด้วยขนสีเหลือง ปีกคู่หน้าพื้นปีกสีเหลืองสีเข้ม มีแถบลายหยักสีน้ำตาลเข้มตัดขวางปีกบริเวณโคนปีกถึงกลางปีก 5 แถบ ปลายปีกมีแถบขนาดใหญ่สีน้ำตาลเข้ม ปีกคู่หลังสีเหลือง กลางปีกมีแถบลายหยักสีน้ำตาล ๒ แถบ ปลายปีกมีแถบขนาดใหญ่สีน้ำตาลเข้ม ท้องปกคลุมด้วยขนสีเหลือง

รอยระหว่างปล้องท้องมีขนสีขาวปกคลุม มีท้องปล้องสุดท้ายมีขนค่อนข้างยาวสีน้ำตาลเข้ม (ภาพที่ 1 ข)

พืชอาหาร

ตัวหนอนทำลายโดยการกัดกินและม้วนใบถั่วเหลือง ถั่วฝักยาว วัชพืช

แหล่งที่สำรวจพบ

จังหวัดนครปฐม จันทบุรี สุพรรณบุรี เพชรบุรี ระนอง กำแพงเพชร ตาก อุตรดิตถ์ และเพชรบูรณ์

หนอนเจาะฝักถั่ว (maruca bean pod borer)

ชื่ออื่น หนอนเจาะฝักถั่ว (lima bean pod borer, spotted podborer, bean pod borer, legume pod borer, mung moth)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Maruca vitrata* Fabricius (Lepidoptera: Crambidae: Pyraustinae)

ชื่อเดิม *Maruca testulalis* Geyer

Crochiphora testulalis Geyer

รูปร่างลักษณะ

ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดกลาง ขนาดลำตัวเมื่อกางปีกกว้าง 2.3-2.5 เซนติเมตร หัวและอก ปกคลุมด้วยขนสีน้ำตาลเข้ม ปีกคู่หน้าพื้นปีกสีน้ำตาลเข้ม ระหว่างโคนปีกถึงกลางปีก มีจุดกลมขนาดเล็กสีขาว 1จุด และแถบสีขาว 1 แถบ กลางปีกมีแถบสีขาวขนาดใหญ่ 4 แถบ แถบบนสุดสีเหลืองส้ม ปีกคู่หลังพื้นปีกสีขาว ปลายปีกมีแถบลายหยักสีน้ำตาลเข้ม ๒ แถบ ปลายปีกมีแถบสีน้ำตาลขนาดใหญ่ ท้องปกคลุมด้วยขนสีน้ำตาล (ภาพที่ 1 ค)

ลักษณะการทำลาย

ตัวหนอนทำลายโดยการกัดกินใบ ดอก ช่อดอกถั่วเขียว ดอกแค ดอกทองกวาว เจถั่วฝักยาว ถั่วเขียว ถั่วแดง ใบมัสตาด ใบโสกน้ำ ดอก และฝักถั่วพู

แหล่งที่สำรวจพบ

จังหวัดกาญจนบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี เพชรบุรี ชุมพร นครสวรรค์ อุตรดิตถ์ และพิษณุโลก

ผีเสื้อหนอนฟัก (pumpkin caterpillar)

ชื่ออื่น

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Diaphania indica* (Saunders) (Lepidoptera: Crambidae: Pyraustinae)

ชื่อเดิม *Margaronia indica Saunders*

Eudioptis capensis Zeller

Phakellura curcubitalis Guenée

Phakellura gazorialis Guenée

Botys hyalinalis Boisduval

Phakellura zygaenalis Guenée

Palpita indica Saunders

Glyphodes indica Saunders

Hedylepta indica Saunders

Phacellura indica Saunders

Phakellura indica Saunders

Eudioptis indica Saunders

รูปร่างลักษณะ

ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดกลาง ขนาดลำตัวเมื่อกางปีกกว้าง 2.3-2.5 เซนติเมตร หัวและอก ปกคลุมด้วยขนสีน้ำตาลเข้ม-ดำ ขอบปีกด้านบนและปลายปีกมีแถบขนาดใหญ่สีน้ำตาลเข้ม กลางปีกสีขาว ปีกคู่หลังปลายปีกมีแถบขนาดใหญ่สีขาว กลางปีกสีขาว เมื่อกางปีก รอยต่อสีขาวกลางปีกเชื่อมกันเป็นรูปสามเหลี่ยมแหลม โดยส่วนแหลมอยู่ที่ปีกคู่หน้า ล้อมรอบด้วยแถบขนาดใหญ่สีน้ำตาล ท้องปกคลุมด้วยขนสีขาว ท้องปล้องที่ 9 - 10 ปกคลุมด้วยขนสีน้ำตาล ท้องปล้องสุดท้ายขนยาวสีเหลือง (ภาพที่ 1 ง)

ลักษณะการทำลาย

ตัวหนอนทำลายโดยการกัดกินใบแตงโม ใบบวบ ใบแฟง ดอก ใบแคนตาลูป ใบแตงโม ใบตำลึง ใบแตงไทย ใบน้ำเต้า ใบดอก ผลมะระ ใบแตงกวา ใบมะเขือเทศ

แหล่งที่สำรวจพบ

จังหวัดกาญจนบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี เพชรบุรี ชุมพร นครสวรรค์ อุตรดิตถ์ พิษณุโลก

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาอนุกรมวิธานผีเสื้อกลางคืนวงศ์ย่อย Pyraustinae ในแหล่งปลูกพืชทั่วไป ทั้งพื้นที่เกษตร และพื้นที่ป่า ทั่วทุกภาคของประเทศไทย ผลการตรวจวิเคราะห์ตามหลักอนุกรมวิธาน โดยใช้แนวทางการวินิจฉัยตามหลักอนุกรมวิธานแมลง รวมทั้งเปรียบเทียบกับผีเสื้อกลางคืนวงศ์ย่อย Pyraustinae ที่มีในพิพิธภัณฑ์แมลงของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร สามารถวิเคราะห์ชนิด ได้ 4 ชนิด โดยมีรายละเอียด ดังนี้ *Leucinodes orbonalis* GGuenée, *Omiodes diemenalis* Guenée, *Maruca vitrata* Fabricius, *Diaphania indica* (Saunders) ผีเสื้อทั้ง 4 ชนิดนี้ จัดเป็นศัตรูพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจอย่างมาก ตัวอย่างที่ได้จากการสำรวจเก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลงกรมวิชาการเกษตร เพื่อตรวจสอบความถูกต้อง พร้อมจัดทำฐานข้อมูลนำไปใช้อ้างอิงทางวิชาการสำหรับงานอนุกรมวิธานและงานกีฏวิทยาด้านอื่นๆ นอกจากนี้ยังเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการจัดทำบัญชีรายชื่อแมลงศัตรูพืชทุมมาเพื่อประกอบในงานสำคัญด้านการส่งออก และนำเข้าสินค้าเกษตร

เอกสารอ้างอิง

พเยาว์ พรหมพันธุ์ใจ และ ทัศนีย์ แจ่มจรรยา. 2543. ศึกษาฤดูกาลระบาดและการพ่นสารป้องกันกำจัดหนอนเจาะฝักถั่วมารูคา (Maruca vitrata Fabr.) ในถั่วพุ่ม. *ใน* รายงานการประชุมวิชาการถั่วเขียวแห่งชาติ ครั้งที่ 8. นครปฐม. หน้า 184-192.

CABI . 2007. The 2007 Edition of the Crop Protection Compendium. CD-ROM. CAB International, Wallingford, UK. CD-ROM.

Common,I.F.B. 1990. Moths of Australia. Melbourne University, Australia . 535 pp.

Dammerman KW, 1929. The agricultural zoology of the Malay Archipelago.

Govindan R, Sarayanaswamy TK, Gururajarao MR, Satenahalli SB, 1989. Insects infesting wild mung Vigna vexillata in India. Environment and Ecology, 7(2):513

GhesquiFre J, 1942. Catalogues raisonnes de la Faune Entomologique du Congo Belge, Lepidoptera, Microlepidoptera (2nd partie) Annales du Mus, e du Congo Belge C.Zoologie Ser.III(II), Tome VII, fasc.2, 121-240.

Pandey PN, 1977. Host preference and selection of Diaphania indica Saunders (Lep., Pyralidae). Deutsche Entomologische Zeitschrift, 24(1/3):159-173

Patel RC, Kulkarny HL, 1956. Bionomics of the pumpkin caterpillar -Margaronia indica Saund. (Pyralidae: Lepidoptera). Journal of the Bombay Natural History Society, 54:118-127.

Pinese B, Dickinson G, 1989. Banana growers enthusiastic about bunch injections. Queensland Fruit and Vegetable News, 20:15-17.

Wilkie L, 1994. Aspects of the biology, ecology and morphology of banana scab moth Nacoliea octasema (Meyrick) (Lepidoptera: Pyralidae) related to potential control strategies in northern Queensland, PhD Thesis. Townsville, Australia: James Cook University.

Xia SP, Liu JP, Zhang CJ, Chen YN, 1988. A preliminary study on the bionomics of Lamprosema indicata Fabricius. Insect Knowledge, 25(2):81-84.

ก.

ข.

ค.

ง.

ภาพที่ 1 ความหลากชนิดของตั๊กแตนหนวดสั้น วงศ์ Arcrididae ในพื้นที่ภาคใต้ ของประเทศไทย

ก. *Leucinodes orbonalis* Guenée

ข. *Omiodes diemenalis* Guenée

ค. *Maruca testulalis* Geyer

ง. *Diaphania indica* (Saunders)

อนุกรมวิธานแมลงวันผลไม้ทองสกุล *Bactrocera* จากสารล่อแมลงในเขตภาคใต้ของประเทศไทย

Taxonomy of Fruit Flies in Genus *Bactrocera* from Insect Attractants in Southern of Thailand

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

บทคัดย่อ

การศึกษาอนุกรมวิธานของแมลงวันผลไม้สกุล *Bactrocera* ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 ในจังหวัดต่างๆ ในภาคใต้ โดยเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงวันผลไม้จากผลไม้และพืชผัก รวมทั้งการติดกับดักแบบ Steiner จากแหล่งปลูกพืชต่างๆ (เงาะ แก้วมังกร มะม่วง ลำไย ลิ้นจี่ เป็นต้น) ซึ่งใช้สารล่อ 3 ชนิด ได้แก่ methyl eugenol, cue lure, capi lure และ lati lure นำตัวอย่างที่รวบรวมได้กลับมายังห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เพื่อจัดรูปร่างและตรวจวิเคราะห์จำแนกชนิดตามหลักอนุกรมวิธาน จากการตรวจวิเคราะห์จำแนกชนิดพบแมลงวันผลไม้ชนิดต่างๆ จำนวน 17 ชนิด ดังนี้ *Bactrocera hochii* (Zia), *B. apicalis* (de Meijere), *B. diversa* (Coquillett), *B. isolata* Hardy, *B. tau* (Walker), *B. caudata* (Fabricius), *B. cucurbitae* (Coquillett), *B. umbrosa* (Fabricius), *B. albistrigata* (de Meijere), *B. limberfera* (Bezzi), *B. zonata* (Saunders), *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 จากนั้นตัวหนอนจะเจริญเติบโตอยู่ภายในผลทำให้ผลไม้เน่าเสียก่อนการเก็บเกี่ยว ตัวหนอนของแมลงวันผลไม้บางชนิดสามารถเจริญเติบโตบนดอกไม้ บางชนิดสามารถเข้าชอนใบ เนื้อเยื่อหรือรากพืช (White and Elson-Harris,1992) และสร้างปมได้อีกด้วย (Ibrahim and Ibrahim,1990) จากการศึกษาพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ มนตรี (2544) รายงานว่าพบแมลงวันผลไม้เข้าทำลายพืช 359 ชนิด โดยเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ 106 ชนิด และเป็นพืชที่ไม่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ 253 ชนิด ดังนั้นจึงพบว่าแมลงวันผลไม้สามารถ

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-08-54

ขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณ จากพืชอาศัยชนิดต่างๆ ได้ตลอดทั้งปี จึงทำให้การป้องกันกำจัดทำได้ยาก ก่อให้เกิดปัญหาต่อพืชผัก โดยเฉพาะผลไม้ที่เป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เช่นมะม่วง มังคุด ฝรั่ง และชมพู่ อีกทั้งแมลงวันผลไม้หลายชนิดเป็นแมลงศัตรูกักกัน หากไม่ได้มีการศึกษาด้านอนุกรมวิธานจะทำให้มีปัญหาในการจำแนกชนิด ซึ่งมีผลต่อการนำเข้าและส่งออกผักและผลไม้ ดังนั้น การตรวจวิเคราะห์ได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ จึงจะแก้ไขปัญหาเหล่านี้ได้ ดังนั้นการศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธาน พืชอาหาร และเขตการแพร่กระจายของแมลงวันผลไม้ 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, capi lure และ lati lureไปวางบริเวณสวนผลไม้ต่างๆ

2. นำผลไม้ที่มีร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้ ใส่กล่องเลี้ยงแมลง เพื่อเลี้ยงให้ตัวหนอนที่อยู่ภายในเจริญเติบโต และฟักออกเป็นตัวเต็มวัย เพื่อใช้ในการจำแนกชนิดแมลงวันผลไม้ ฆ่าตัวเต็มวัยด้วยเอทิลอะซีเตด หรือเก็บแมลงใส่หลอดแก้วแล้วนำมาแช่ในช่องน้ำแข็ง 4 – 5 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้จากการเลี้ยงและจากกับดักมาจัดรูปร่างโดยใช้เข็มขนาดเล็ก (micropin) แทงบริเวณด้านข้างของส่วนอกใต้ปีกให้ไปทางด้านหน้าของลำตัว แล้วจึงเสียบ micropin กับโฟมหรือค็อกขนาดเล็กที่มีเข็มปักแมลงเสียบอยู่

3. นำตัวอย่างแมลงวันผลไม้จากข้อ 2 มาตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิดจาก ลักษณะภายนอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ 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)

เวลาสถานที่

เริ่มต้น เดือนตุลาคม 2553 **สิ้นสุด** เดือนกันยายน 2554

สถานที่ : 1. แหล่งปลูกพืชต่างๆ ในจังหวัดต่างๆ ในภาคใต้ เช่น ชุมพร ระนอง สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พัทลุง ตรัง ภูเก็ต กระบี่ สงขลา และพังงา

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงวันผลไม้ ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึง เดือนกันยายน 2554 ทำการศึกษาโดยเก็บรวบรวมแมลงวันผลไม้จากผักและผลไม้ รวมทั้งจากการใช้กับดักล่อแมลงวันผลไม้แบบ Steiner ซึ่งประกอบด้วยสารล่อแมลงวันผลไม้เพศผู้ 3 ประเภท ได้แก่ cue lure, methyl eugenol ,capi lureและ lati lure จากแหล่งปลูกพืช และในสภาพป่าธรรมชาติต่างๆ ใน จังหวัดชุมพร ระนอง สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พัทลุง ตรัง ภูเก็ต กระบี่ สงขลา และพังงา จากการตรวจวิเคราะห์และวาดภาพประกอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบแมลงวันผลไม้จำนวน 17 ชนิด ดังนี้ *Bactrocera hochii* (Zia), *B. apicalis* (de Meijere), *B. diversa* (Coquillett), *B. isolata* Hardy, *B. tau* (Walker), *B. caudata* (Fabricius), *B. cucurbitae* (Coquillett), *B. umbrosa* (Fabricius), *B. albistrigata* (de Meijere), *B. limberfera* (Bezzi), *B. zonata* (Saunders), *B. nigrotibilis* (Perkins), *B. correcta* (Bezzi), *B. tuberculata* (Bezzi), *B. dorsalis* (Hendel), *B . papayae* Drew & Hancock และ *B. carambolae* Drew & Hancock (ภาพที่ 2) แมลงวันผลไม้ทั้งหมด สามารถจำแนกได้โดยดูจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของส่วนหัว จุดสีดำใต้หนวด จำนวนขน inferior fronto-orbital และขน superior fronto-

orbital สีของหนวดปล้องต่างๆ แถบสีบริเวณเส้นปีก สีของอกบริเวณ 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 6
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.....4
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 bristlesn
  5
5. - Face with a black line across oral margin; scutum entirely black.....
   .....*Bactrocera caudata* Fabricius
   - Face with a pair of black spots; scutum black with areas of red-brown colour
   ..... *Bactrocera tau* (Walker)
6. - Prescutellar (prsc.) setae absent.....7
   - Prescutellar (prsc.) setae present (ภาพที่ 1).....8
7. - 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)
8. - Medial postsutural yellow vitta present 9

- Medial postsutural yellow vitta absent 10

9. - 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. (some specimes).....
.....*Bactrocera cucurbitae* (Coquillett)

10. - Scutum mostly red-brown.....*Bactrocera zonata* (Saunders)

- Scutum mostly black..... 11

11. - Transverse band or bands across wings in addition to costal band and cubital streak.....12

- Wings colourless except for costal band and cubital streak.....13

12. - One transverse band across wing from costal band to hind margin and enclosing both the r-m and dm-cu crossvien.....*Bactrocera albistrigata* (de Meijere)

- Three broad bands across wing from costal band to hind margin.....
.....*Bactrocera umbrosa* (Fabricius)

13. - Costal band confluent with R_{4+5} . Lateral postsutural vittae broad and parallel sided; femora with large dark apical spots; abdominal terga IV and V with broad dark fuscous to black anterolateral corners.....*Bactrocera limbefera* (Bezzi)

- Costal band narrower, not reaching with R_{4+5} 14

14. - Costal band narrow and ending at apex of R_{2+3} and with a small fuscous spot around apex of R_{4+5} 15

- Wings with a complete costal band.....16

15. - Abdominal terga III-V with a black “T” pattern..... *Bactrocera corecta* (Bezzi)

- Abdomen with a least terga III to V entirely black. Abdominal terga III-V black; all femora entirely fulvous..... *Bactrocera tuberculata* (Bezzi)

16. - Mostly dark species with femora entirely black or with large areas of black.....
.....*Bactrocera nigrotibialis* (Perkins)

- Species with paler abdomen; femora mostly fulvous with or without dark marking, Abdominal terga III- V with a black “T” pattern with vaeiable lateral dark marking.....17

17. - 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 18

18. - 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)**

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 จากกับดักที่ใช้สาร Cue lure

พืชอาหาร ลำไย

เขตการแพร่กระจาย จังหวัด พัทลุง

Bactrocera* (*Asiadacus*) *apicalis de Meijere **(ภาพที่ 2 ข)**

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 จังหวัดตรัง

Bactrocera (*Hemigymnodacus*) *diversa* (Coquillett) **(ภาพที่ 2 ค)**

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 scutumสีดำ 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 Cue lure

แปลงปลูกพืช ลำไย และมะม่วง

เขตการแพร่กระจาย จังหวัดชุมพร และสุราษฎร์ธานี

Bactrocera (*Zeugodacus*) *isolata* Hardy **(ภาพที่ 2 ง)**

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 จากกับดักที่ใช้สาร Cue lure

แปลงปลูกพืช แตงโม ฟักเขียว

เขตการแพร่กระจาย จังหวัดชุมพร ระนอง สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พัทลุง ตรัง ภูเก็ต และกระบี่

***Bactrocera* (*Zeugodacus*) *tau* (Walker) (ภาพที่ 2 จ)**

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 มีแถบดำทางด้านข้าง ตรงกลางปล้องที่ 3 - 5 มีแถบสีดำยาวลงไป

กับดัก จากกับดักที่ใช้สาร Cue lure

แปลงปลูกพืช แตงโม ฟักเขียว แตงไทย

เขตการแพร่กระจาย จังหวัดชุมพร ระนอง สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พัทลุง ตรัง ภูเก็ต กระบี่ สงขลา และ พังงา

***Bactrocera* (*Zeugodacus*) *caudata* (Walker) (ภาพที่ 2 ฉ)**

ชื่อสามัญ -

รูปร่างลักษณะ

ขนาด ลำตัวยาว 7.6 -8.1 มม. ปีกยาว 7.2 – 7.5 มม.

หัว สีเหลืองอมน้ำตาล frons มีขน inferior fronto–orbital 2 คู่ และ superior fronto–orbital 1 คู่ ใต้หนวดแถบสีดำยาว arista สีน้ำตาล

อก scutum สีดำ บน mesomotum มี postsutural yellow vittae 3 แถบ อก บริเวณข้างๆ แถบเหลืองมีสีดำ scutellum สีเหลือง ขาบริเวณ femur มีสีเหลือง และบริเวณ femur ของขาของขาคู่หน้ามีแต้มจุดสีน้ำตาล tibia มีสีน้ำตาลอ่อน

ปีก ขอบปีกด้านบนใส บริเวณปลายปีกมีสีน้ำตาลเข้มเป็นแถบยาวลงมาใต้ R_{4+5}

ท้อง สีเหลือง บริเวณขอบมีสีดำ ปล้องท้องที่ 2 - 3 มีแถบขวางสีดำ ปล้องที่ 4 – 5 มีแถบสดำทางด้านข้าง ตรงกลางปล้องที่ 3 - 5 มีแถบสีดำยาวลงไป

กับดัก จากกับดักที่ใช้สาร Cue lure

แปลงปลูกพืช แตงโม ฟักเขียว แตงไทย

เขตการแพร่กระจาย จังหวัดชุมพร ระนอง สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พัทลุง ตรัง ภูเก็ต กระบี่ สงขลา และ พังงา

***Bactrocera* (*Zeugodacus*) *cucurbitae* (Coquillett) (ภาพที่ 2 ช)**

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} เป็นจุดกลมใหญ่สีน้ำตาลเข้ม และที่เส้น r-m และ dm- cu มีแถบขวางปีกสีเข้ม

ท้อง สีน้ำตาลออกเหลือง ด้านข้างปล้องที่1 มีสีน้ำตาลเข้ม ปล้องที่ 2 มีแถบสีน้ำตาลทางด้านบน ปล้องที่ 3 มีสีดำพาดตามขวาง กลางปล้องที่ 3 – 5 มีแถบสีดำพาดไปตามยาวของกลางปล้อง

กับดัก จากกับดักที่ใช้สาร Cue lure

แปลงปลูกพืช แตงโม ฟักเขียว แตงไทย

เขตการแพร่กระจาย จังหวัดชุมพร ระนอง สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พัทลุง ตรัง ภูเก็ต กระบี่ สงขลา และ พังงา

***Bactrocera* (*Bactrocera*) *umbrosa* (Fabricius) (ภาพที่ 2 ซ)**

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 จังหวัดชุมพร ระนอง สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พัทลุง ตรัง ภูเก็ต กระบี่ สงขลา และ พังงา

***Bactrocera* (*Bactrocera*) *albistrigata* (de Meijere) (ภาพที่ 2 ฒ)**

ชื่อสามัญ Asian Terminalia Fruit 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 โดยจบก่อน *ia.* setae scutellum สีเหลือง ขาสีน้ำตาลแดงยกเว้น femur ของขาคู่กลางที่พบครึ่งหนึ่งเป็นสีดำ และ 1/3 ของขาหลังเป็นสีดำ

ปีก ใส บริเวณ cell C เป็นสีน้ำตาลแดง ยาวไปตลอด costal เป็นแถบกว้างจนถึงปลายขอบปีกบริเวณ R_{4+5} และมีแถบขวางปีกสีน้ำตาล จาก costal ขยายมาจนเกือบถึง cubital มีสีน้ำตาลแดง

ท้อง ปล้องที่ 3 - 5 มีสีน้ำตาลอ่อน cและปล้องท้องด้าน มีแถบสีดำขนาดใหญ่ขวาง

กับดัก จากกับดักที่ใช้สาร Cue lure

แปลงปลูกพืช ชมพู่ ลำไย กระท้อน และมะม่วง

เขตการแพร่กระจาย จังหวัดชุมพร

Bactrocera (*Bactrocera*) *limberfera* (Fabricius) **(ภาพที่ 2 ญ)**

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 และบริเวณโคน femur มีสีดำครึ่งหนึ่ง

ปีก ใส บริเวณ cell C และ bc เป็นสีน้ำตาลเข้ม costal เป็นแถบกว้างขยายมายังปีก R_{4+5} และบริเวณ cubital มีสีน้ำตาลเข้ม

ท้อง ปล้องแรกสีดำ ปล้องที่ 3 - 5 มีสีน้ำตาลอ่อน ปล้องท้องด้านบนปล้องที่ 3 มีสีดำคาดตามขวาง และตรงกลางมีแถบคาดสีดำ

กับดัก จากกับดักที่ใช้สาร Cue lure

แปลงปลูกพืช ชมพู่ ลำไย กระท้อน และมะม่วง

เขตการแพร่กระจาย จังหวัดชุมพร ระนอง สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พัทลุง ตรัง และ พังงา

Bactrocera (*Bactrocera*) *zonata* (Saunders) **(ภาพที่ 2 ฎ)**

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 scutellum มีสีเหลือง ขามีสีเหลือง

ปีก ปีกใส สีบริเวณขอบปีกจะขาดตอน บริเวณปลายปีกมีแถบสีเหลืองขนาดเล็ก

ท้อง สีน้ำตาลแดงค่อนข้างกลม

กับดัก จากกับดักที่ใช้สาร Methyl eugenol

แปลงปลูกพืช ชมพู่

เขตการแพร่กระจาย จังหวัดชุมพร ระนอง สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช และตรัง

Bactrocera (*Bactrocera*) *nigrotibialis* (Perkins) **(ภาพที่ 2 ฏ)**

ชื่อสามัญ -

รูปร่างลักษณะ

ขนาด ลำตัวยาว 4.3 – 4.7 มม. ปีกยาว 4.4 – 4.8 มม.

หัว สีน้ำตาลเข้ม frons สีเหลืองอ่อน 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 ขาคู่แรกและขาคู่กลางมีสีดำ ขาหลังมีส่วน femur 2/3 ส่วน เป็นสีดำ tibia มีสีเข้ม

ปีก สีน้ำตาลเข้ม ปลายปีกมีสีดำหนา

ท้อง สีดำสนิท บริเวณขอบด้านล่างของปล้องที่ 2 สีเหลือง

กับดัก จากกับดักที่ใช้สาร methyl eugenol และ cue lure

แปลงปลูกพืช ชมพู่ ลำไย กระท้อน และมะม่วง

เขตการแพร่กระจาย จังหวัดชุมพร ระนอง สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พัทลุง ตรัง ภูเก็ต กระบี่ สงขลา และ พังงา

Bactrocera (*Bactrocera*) *correcta* (Bezzi) **(ภาพที่ 2 ฐ)**

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 จังหวัดชุมพร ระนอง สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พัทลุง ตรัง ภูเก็ต กระบี่ สงขลา และ พังงา

Bactrocera (*Bactrocera*) *tuberculata* (Bezzi) **(ภาพที่ ฑ)**

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 จังหวัดชุมพร ระนอง สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พัทลุง ตรัง ภูเก็ต กระบี่ สงขลา และ พังงา

Bactrocera (Bactrocera) dorsalis Hendel **(ภาพที่ 2 ฒ)**

ชื่อสามัญ Oriental Fruit Fly

รูปร่างลักษณะ

ขนาด ลำตัวยาว 4.4 – 6.5 มม. ปีกยาว 5.2 – 6.5 มม.

หัว สีเหลือง frons สีเหลืองอมน้ำตาล 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 ขอบปีกด้านบนมีสีน้ำตาลเข้มแต่ขยายไม่เกินส้น R_{2+3} ปลายปีกมีสีเข้มขอบบางไม่ขยายออก

ท้อง ปล้องแรกสีน้ำตาล ปล้องที่ 2 ทางด้านข้างมีสีน้ำตาลเข้ม ปล้องที่ 3 มีสีดำคาดตามขวาง และตรงกลางมีแถบคาดสีดำ

กับดัก จากกับดักที่ใช้สาร Methyl eugenol

แปลงปลูกพืช ชมพู่ ลำไย กระท้อน และมะม่วง

เขตการแพร่กระจาย จังหวัดชุมพร ระนอง สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พัทลุง ตรัง ภูเก็ต กระบี่ สงขลา และ พังงา

Bactrocera (*Bactrocera*) *papayae* Drew &Hancock (ภาพที่ 2 ณ)

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 จากกับดักที่ใช้สาร Methyl eugenol

แปลงปลูกพืช ชมพู่ ลำไย กระท้อน และมะม่วง

เขตการแพร่กระจาย จังหวัดชุมพร ระนอง สุราษฎร์ธานี

Bactrocera (*Bactrocera*) *carambolae* Drew &Hancock (ภาพที่ 2 ด)

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 ปล้องท้องด้านบนปล้องที่ 3 - 5 มีแถบสีดำรูปตัวที ปล้องแรกสีน้ำตาล ปล้องที่ 4 - 5 ทางด้านข้างมีสีน้ำตาลเข้ม

กับดัก จากกับดักที่ใช้สาร Methyl eugenol

แปลงปลูกพืช ชมพู่ ลำไย กระท้อน และมะม่วง

เขตการแพร่กระจาย จังหวัดชุมพร ระนอง สุราษฎร์ธานี

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาอนุกรมวิธานของแมลงวันผลไม้สกุล *Bactrocera* ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 โดยการใช้กับดักล่อแมลงวันผลไม้แบบ steiner ซึ่งประกอบด้วยสารล่อแมลงวันผลไม้ 3 ประเภท ได้แก่ cue lure, methyl eugenol และ lati lure พบแมลงวันเพศผู้เข้าติดกับดัก และสามารถจำแนกชนิดได้ 17 ชนิด *Bactrocera hochii* (Zia), *B. apicalis* (de Meijere), *B. diversa* (Coquillett), *B. isolata* Hardy, *B. tau* (Walker), *B. caudata* (Fabricius), *B. cucurbitae* (Coquillett), *B. umbrosa* (Fabricius), *B. albistrigata* (de Meijere), *B. limberfera* (Bezzi), *B. zonata* (Saunders), *B. nigrotibilis* (Perkins), *B. correcta* (Bezzi), *B. tuberculata* (Bezzi), *B. dorsalis* (Hendel), *B . papayae* Drew & Hancock และ *B. carambolae* Drew & Hancock แมลงวันผลไม้ทั้งหมด สามารถจำแนกได้โดยดูจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา เช่น ส่วนหัว จุดสีดำใต้หนวด จำนวนขน inferior fronto-orbital และขน superior fronto-orbital สีของหนวดปล้องต่างๆ แถบสีบริเวณเส้นปีก สีของอก บริเวณ scutum และ scutellum อีกทั้งลักษณะของแถบสีเหลืองด้านบนของส่วนอก (yellow vittae) สีของส่วนท้องและขาส่วนต่างๆ จากการศึกษาครั้งนี้พบแมลงวันผลไม้อีกหนึ่งชนิดที่เพิ่งมีรายงานครั้งแรกในประเทศไทย แต่พบครั้งแรกในโลกที่ราชอาณาจักรภูฏาน เป็นแมลงวันผลไม้ชนิดใหม่ที่รอการตั้งชื่อวิทยาศาสตร์ เนื่องจากต้องมีการศึกษาชนิดพืชอาหาร และเขตการแพร่กระจายของแมลงวันผลไม้ในประเทศไทยซึ่งจะต้องดำเนินการต่อไป

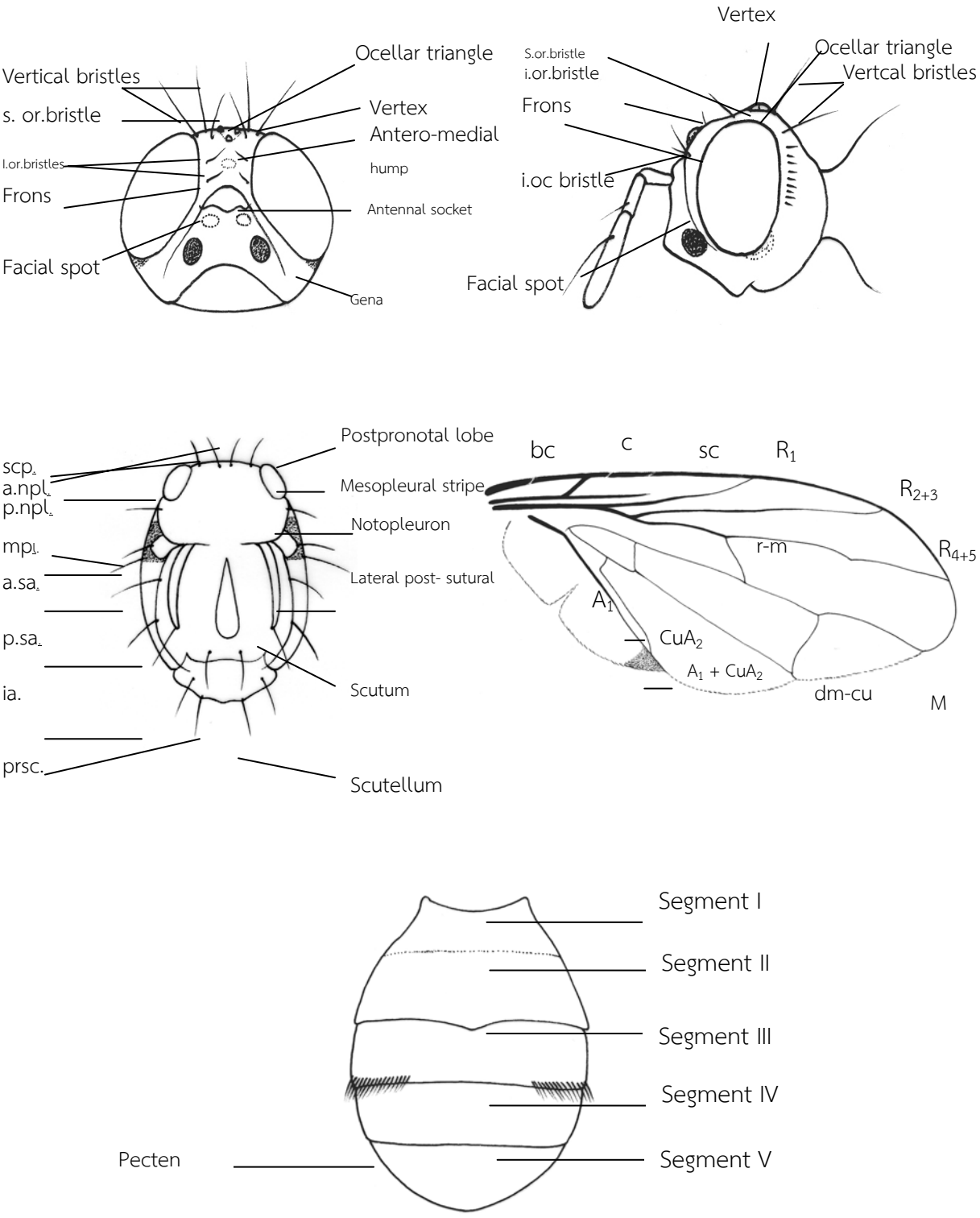
เอกสารอ้างอิง

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

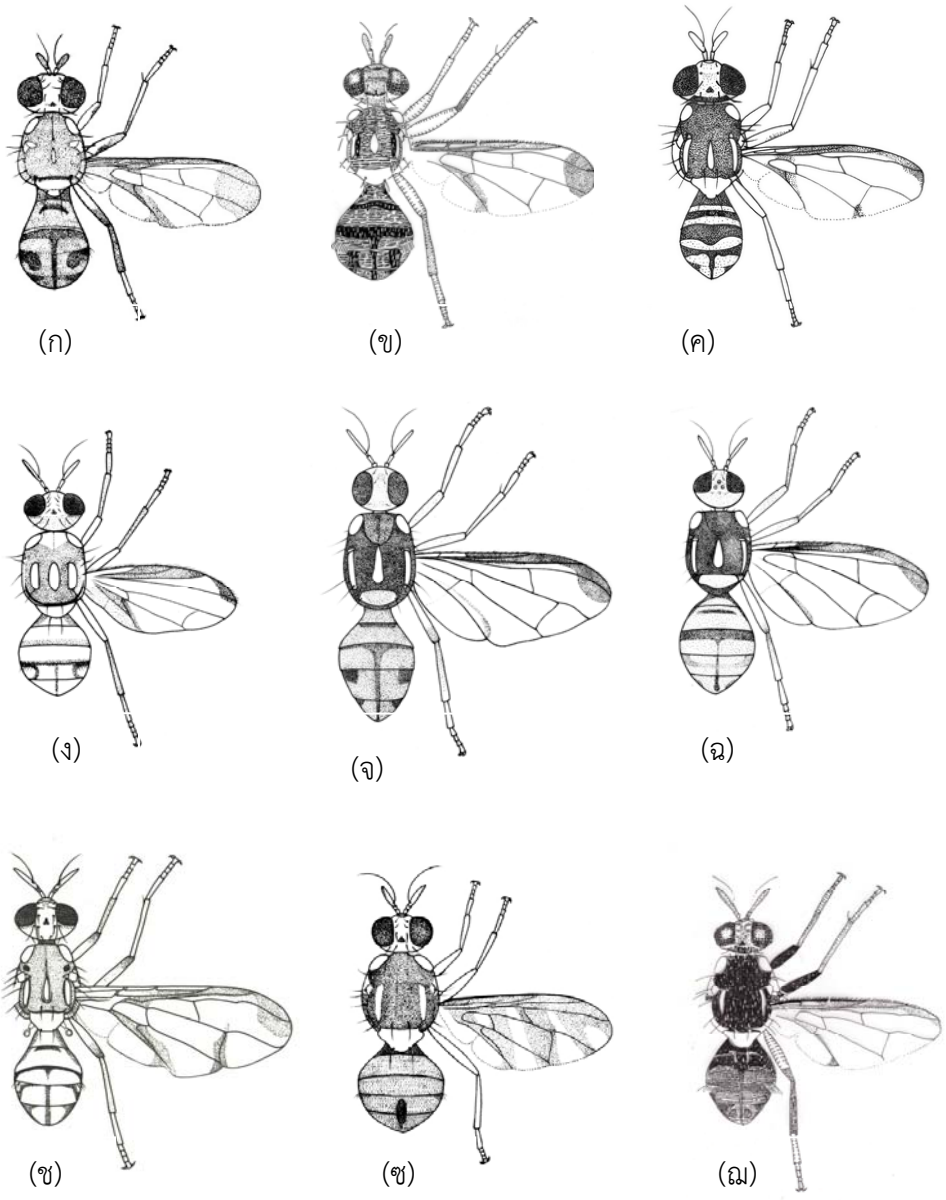
Ibrahim, R. and A. B. Ibrahim. 1990. Handbook on Identification of Fruit Flies in the Tropical. University Pertanian Malaysia Press. Malaysia.199 p.

Thompson, F.C. 1998. Fruit Fly Expert Identification System and Systematic Information Database Myia 9, 524 pp.

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



ภาพที่ 1 ลักษณะสัณฐานวิทยาของแมลงวันผลไม้สกุล *Bactrocera*



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. caudata* (Coquillent)
(ช) *B. cucurbitae* (Coquillett)
(ซ). *B. umbrosa* (Fabricius)
(ฌ) *B. nigrotibilis* (Perkins)

อนุกรมวิธานของตัวอ่อนแมลงวันทองสกุล Bactrocera

Taxonomy of Fruitfly Larvae in Genus *Bactrocera*

ชฎาภรณ์ เฉลิมวิเชียรพร ยุวรินทร์ บุญทบ สุนัดดา เชาวลิต
ชมัยพร บัวมาศ อิทธิพล บรรณาการ สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาอนุกรมวิธานของตัวอ่อนแมลงวันทองสกุล *Bactrocera* ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2553 – กันยายน 2554 เพื่อทราบชนิด พืชอาศัย เขตการแพร่กระจาย และแมลงศัตรูธรรมชาติของแมลงวันทองสกุล *Bactrocera* ที่มีอยู่ในประเทศไทย ได้เก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงวันทองจากแหล่งปลูกพืชต่างๆ เช่น พริก กระท้อน ฝรั่ง ชมพู่ มะเฟือง ทั่วทุกภาคในประเทศไทย นำตัวอย่างที่รวบรวมได้มาเลี้ยงจนเป็นตัวเต็มวัย จากนั้นก็ให้ตัวเต็มวัยที่ได้วางไข่และเลี้ยงจนเป็นหนอนระยะสุดท้าย นำตัวหนอนมาทำสไลด์ถาวร เพื่อตรวจจำแนกชนิดตามหลักอนุกรมวาน ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จากการตรวจจำแนกชนิดพบแมลงวันทองที่สามารถจำแนกชนิดได้แล้วจำนวน 1 ชนิด ได้แก่ *Bactrocera latrifron* การศึกษายังไม่สิ้นสุดต้องดำเนินการทดลองต่อในปี 2555

คำนำ

แมลงวันทองเป็นแมลงในวงศ์ Tephritidae (Trypetidae) อันดับ Diptera เป็นวงศ์ที่มีจำนวนชนิดมากที่สุดของแมลงในอันดับ Diptera ประกอบด้วย 3 วงศ์ย่อยคือ Dacinae, Tephritinae และ Teypetinae โดยตัวเต็มวัยจะเข้าทำลายผลไม้โดยการวางไข่กับผลไม้ที่มีเปลือกบาง หรืออ่อนนุ่ม จากนั้นตัวหนอนจะเจริญเติบโตอยู่ภายในผลทำให้ผลไม้เน่าเสียก่อนการเก็บเกี่ยว นอกจากนี้ตัวหนอนของแมลงวันทองบางชนิดตัวหนอนสามารถเจริญเติบโตบนดอกไม้ สกุล Asteraceae และสกุลอื่นๆ ได้อีกด้วย และตัวหนอนบางชนิดยังสามารถเข้าชอนใบ เนื้อเยื่อหรือรากพืช (White,1992) และสร้างปมได้อีกด้วย (Ibrahim and Ghani,1990) จากการศึกษาพืชอาศัยของแมลงวันทอง มนตรี(2544) รายงานว่าพบแมลงวันทองเข้าทำลายพืช 359 ชนิด โดยเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ 106 ชนิด และเป็นพืชที่ไม่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ 253 ชนิด ดังนั้นเห็นได้ว่าแมลงวันทองสามารถขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณ จากพืชอาศัยชนิดต่างๆ ได้ตลอดทั้งปี จึงทำให้การป้องกันกำจัดทำได้ยาก ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาต่อพืชผัก โดยเฉพาะผลไม้ที่เป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เช่น มะม่วง มังคุด ฝรั่ง ชมพู่ และพริก ดังนั้นการศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธาน พืชอาหาร และการแพร่กระจายของแมลงวันทอง ทำให้สามารถจำแนกชนิดของแมลงวันทองได้อย่าง

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-09-54

ถูกต้อง ซึ่งเป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำไปใช้ในการควบคุม กำจัด และป้องกันได้อย่างมีประสิทธิภาพ สำหรับในประเทศไทยยังไม่มีการศึกษาอนุกรมวิธานของตัวอ่อนแมลงวันทอง สกุล *Bactrocera* ดังนั้น การศึกษาในเรื่องนี้จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งเพื่อทราบชนิดและชื่อวิทยาศาสตร์ที่เป็นปัจจุบัน เขตการแพร่กระจายของตัวอ่อนแมลงวันทอง สกุล *Bactrocera* สำหรับเป็นข้อมูลประกอบการพิจารณาแนวทางการป้องกันกำจัด และเก็บรักษาตัวอย่างไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง

วิธีการดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้เก็บตัวอย่างแมลง ได้แก่ กับดักแมลงวันทองแบบ steiner ปากคีบ พู่กัน กล่องพลาสติก กล่องรักษาความเย็น ขวดดองแมลง ถุงพลาสติก และสารเคมี เช่น cue lure, methyl eugenol และ alcohol 70-80%

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

3. อุปกรณ์ใช้ในการถ่ายภาพ ได้แก่ กล้องถ่ายรูป ฟิล์มสี แผ่นบันทึกข้อมูล

4. กรงเลี้ยงแมลง ยีสต์และอาหารเทียมสำหรับเลี้ยงตัวเต็มวัยและตัวอ่อน

5. เอกสารประกอบการจำแนกชนิด

วิธีการ

1. สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงวันทองในแปลงเพาะปลูกและในสภาพธรรมชาติ โดยใช้กับดักล่อแมลงวันทองแบบ Steiner เก็บรวบรวมผลไม้ที่มีร่องรอยการทำลายของแมลงวันทอง พร้อมพืชอาหารใส่ถุงพลาสติกหรือกล่องพลาสติก เพื่อให้ระบายอากาศได้ดี บันทึกวันที่ เดือน พ.ศ. และสถานที่เก็บ และนำมาเลี้ยงยังห้องปฏิบัติการ

2. นำตัวอย่างตัวอ่อนแมลงวันทองที่เก็บได้ไปดองในแอลกอฮอล์ 75% และอีกส่วนนำไปเลี้ยงจนเป็นตัวเต็มวัย และเลี้ยงต่อจนกลางเป็นตัวหนอนระยะสุดท้าย นำตัวหนอนที่ได้ไปทำสไลด์ถาวรเพื่อเปรียบเทียบดูกับหนอนที่ได้จากการเก็บและทำสไลด์เลย โดยไม่เลี้ยงเป็นตัวเต็มวัย

3. เตรียมตัวอย่างตัวอ่อนเพื่อใช้ในการจำแนกชนิดแมลงวันทอง โดยใช้ตัวอย่างตัวอ่อนที่เก็บดองไว้ในแอลกอฮอล์

4. นำตัวอย่างตัวอ่อนมาศึกษาลักษณะต่างๆ โดยละเอียดโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ โดยดูลักษณะที่แตกต่างกันซึ่งเป็นลักษณะสำคัญในการจำแนกชนิด

5. นำลักษณะบางอย่างที่มีขนาดเล็กมาก เช่น ส่วนต่างๆ ของปาก แยกมาทำสไลด์ถาวร และทำการวิเคราะห์ชนิดตัวอ่อนแมลงวันทอง

6. บันทึกรายละเอียดต่างๆ เช่น รูปร่าง ลักษณะ ขนาด และสี เป็นต้น โดยตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานด้วยการใช้เอกสารแนวทางวินิจฉัยชนิดของตัวอ่อนแมลงวันทอง ประกอบการเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์

7. บันทึกลักษณะสัณฐานวิทยา โดยการถ่ายภาพใต้กล้องจุลทรรศน์ รวมถึงให้รายละเอียดบนแผ่นป้ายบันทึกของขวดดองตัวอ่อนแมลงวันทองทุกขวด ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ที่จำแนกได้ วัน/เดือน/ปี สถานที่เก็บตัวอย่าง และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง

8. จัดทำแนวทางวินิจฉัย (key) สกุล และชนิดของตัวอ่อนแมลงวันทองที่รวบรวมได้พร้อมภาพประกอบ

9. จัดเก็บตัวอย่างที่ได้ศึกษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยแบ่งเป็นหนวดหมู่ตามระบบสากลของการเก็บรักษาตัวอย่างแมลง ไมด์ (methyl bromide) ทุกๆ 6 เดือน

เวลาสถานที่

เวลา เดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554

สถานที่ - แหล่งปลูกพืชจังหวัดต่างๆ

- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงวันทองจากแหล่งปลูกต่างๆ ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 จากการตรวจจำแนกชนิดพบแมลงวันทองที่สามารถจำแนกชนิดได้แล้ว จำนวน 1 ชนิด ได้แก่ *Bactrocera latrifron* ซึ่งพบในพริกที่จังหวัดนครปฐม

สรุปผลการทดลองคำแนะนำ

จากการตรวจจำแนกชนิดพบแมลงวันทองที่สามารถจำแนกชนิดได้แล้ว จำนวน 1 ชนิด ได้แก่ *Bactrocera latrifron* การศึกษายังไม่สิ้นสุดต้องดำเนินการทดลองต่อในปี 2555

เอกสารอ้างอิง

มนตรี จิรสุรัตน์. 2544. ฐานข้อมูลแมลงวันผลไม้ในประเทศไทย. 168 – 233. ใน แมลงวันผลไม้ในประเทศไทย. เอกสารวิชาการกองกีฏและสัตววิทยา. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 244 หน้า

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

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

อนุกรมวิธานแมลงวันผลไม้สกุล *Dacus*

Taxonomy of Fruit flies in Genus *Dacus*

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

บทคัดย่อ

การศึกษาอนุกรมวิธานของแมลงวันผลไม้สกุล *Dacus* ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 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 3 ชนิด ดังนี้ *Dacus formosanus, D. sphaesoidalis* และ *D. longicolaris*

คำนำ

แมลงวันผลไม้หรือแมลงวันทอง (Fruit flies) จัดเป็นศัตรูพืชที่มีความสำคัญต่อผลไม้และผักหลายชนิด ตัวเต็มวัยจะเข้าทำลายผลไม้โดยการวางไข่ โดยใช้อวัยวะวางไข่แทงเข้าทางผิวหรือส่วนที่อ่อนนุ่ม จากนั้นตัวหนอนจะเจริญเติบโตอยู่ภายในผลทำให้ผลไม้เน่าเสียก่อนการเก็บเกี่ยว และ Ibrahim and Ghani (1990) รายงานว่าแมลงวันผลไม้บางชนิดสามารถสร้างปมให้แก่พืชได้ นอกจากนี้ White and Elson-Harris (1992) พบว่าตัวหนอนของแมลงวันผลไม้บางชนิดสามารถเจริญเติบโตบนดอกไม้ และตัวหนอนบางชนิดยังสามารถเข้าชอนใบ เนื้อเยื่อ หรือรากพืชได้อีกด้วย

แมลงวันผลไม้เป็นแมลงในอันดับ Diptera วงศ์ Tephritidae (Trypetidae) ประกอบด้วย 3 วงศ์ย่อยคือ Dacinae, Tephritinae และ Teypetinae พบการกระจายทั้งเขตอบอุ่น (temperate), เขตกึ่งร้อน(subtropical) และเขตร้อน (tropical) (Christenson and Forte, 1960) ทั่วโลกมีทั้งหมด 4,257 ชนิด 471 สกุล (Thompson, 1998) และในเขต Oriental Region พบแมลงวันผลไม้ทั้งหมด 800 ชนิด (White and Elson-Harris, 1992) จากการสำรวจของ Hardy (1973) ได้สำรวจในบริเวณประเทศไทย และบริเวณชายแดนของประเทศที่มีอาณาเขตติดกับประเทศไทยพบแมลงวันผลไม้ 211 ชนิด 63 สกุล โดยส่วนใหญ่เป็น *Dacus* นั้น Drew (1989) ได้มีการศึกษาทางอนุกรมวิธานและพบว่าแมลงวันผลไม้บางชนิดนั้นควรย้ายจากสกุล *Dacus* เป็นสกุล

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-10-54

Bactrocera จากความแตกต่างของตัวหนอน และลักษณะส่วนท้องของตัวเต็มวัย ดังนั้น พบว่าในประเทศไทยมีแมลงวันผลไม้ที่สำคัญใน 2 สกุล หลักคือ *Bactrocera* Maquart และ *Dacus* Fabricius

แมลงวันผลไม้หรือแมลงวันทอง (fruit flies) เป็นแมลงศัตรูที่มีความสำคัญมากสำหรับผลไม้และผักในเขตร้อน (tropical) และเขตร้อนชื้น (subtropical) ตัวเต็มวัยจะเข้าทำลายผลไม้โดยการวางไข่ กับผลไม้ที่มีเปลือกบาง หรืออ่อนนุ่ม จากนั้นตัวหนอนจะเจริญเติบโตอยู่ภายในผลทำให้ผลไม้เน่าเสียก่อนการเก็บเกี่ยว ตัวหนอนของแมลงวันผลไม้บางชนิดสามารถเจริญเติบโตบนดอกไม้ 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 จากพืชอาศัยชนิดต่าง ๆ ได้ตลอดทั้งปี จึงทำให้การป้องกันกำจัดทำได้ยาก ก่อให้เกิดปัญหาต่อพืชผัก โดยเฉพาะผลไม้ที่เป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เช่น มะม่วง มังคุด ฝรั่ง และชมพู่ อีกทั้งแมลงวันผลไม้หลายชนิดเป็นแมลงศัตรูกักกัน หากไม่ได้ศึกษาชนิด ก็มีผลต่อการนำเข้าและส่งออกผักและผลไม้ ดังนั้นการตรวจวิเคราะห์ได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ จึงจะแก้ไขปัญหาเหล่านี้ได้ ดังนั้นการศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธาน พืชอาหาร และเขตการแพร่กระจายของแมลงวันผลไม้ เป็นงานวิจัยที่มีความสำคัญอย่างยิ่ง ที่จะนำไปสู่การจำแนกและวิเคราะห์ชนิดของแมลงวันผลไม้ได้อย่างถูกต้อง ซึ่งและข้อมูลพื้นฐานในการนำไปใช้ในการควบคุม 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 โดยใช้กับดักล่อแมลงวันผลไม้แบบ Steiner ซึ่งประกอบด้วยสารล่อแมลงวันผลไม้ 3 ประเภท ได้แก่ Cue lure, Methyl Eugenol และ lati lure รวมทั้ง เก็บรวบรวมผลไม้ที่มีร่องรอยการทำลายของแมลงวันผลไม้ พร้อมพืชใส่ถุงพลาสติกหรือกล่องพลาสติก เพื่อให้ระบายอากาศได้ดี บันทึกวันที่ เดือน พ.ศ. สถานที่เก็บ นำกลับมาเลี้ยงยังห้องปฏิบัติการจนเป็นตัวเต็มวัย

2. นำส่วนของพืชมายังห้องปฏิบัติการ นำตัวอย่างพืชใส่กล่องพลาสติกที่มีตะแกรงรองก้นซึ่งด้านล่างใส่ขี้เลื่อย นำกล่องพลาสติกใส่ในกรงผ้า เพื่อให้ตัวเต็มวัยเจริญออกมา ให้อาหารคือ น้ำตาลผสมบรีเวอร์ยีสต์ในอัตรา 1 : 4 เพื่อให้สืบนลำตัวพัฒนาได้ดี

3. เตรียมตัวอย่างตัวเต็มวัย เพื่อใช้ในการจำแนกชนิดแมลงวันผลไม้ โดยใช้ตัวอย่างตัวเต็มวัยที่อบแห้ง หรือฆ่าด้วยเอทิลอาซีเตด หรือเก็บแมลงใส่หลอดแก้ว แช่ในช่องน้ำแข็ง 4 – 5 ชั่วโมง วิธีนี้จะทำให้สีไม่เปลี่ยนแปลงไป เมื่อได้ตัวอย่างแล้วใช้เข็มขนาดเล็ก (micropin) แทงบริเวณด้านข้างของส่วนอกใต้ปีกให้ไปทางด้านหน้าของลำตัว แล้วจึงเสียบ micropin กับโฟมหรือค๊อกขนาดเล็กที่มีเข็มปักแมลงเสียบอยู่ โดยมีป้ายเล็ก ๆ บันทึกกำกับ บอก สถานที่ วันเดือนปี และชื่อผู้เก็บ และมีป้ายบันทึกแยกบันทึกชื่อพืชที่เก็บมา และชื่อแมลงที่จำแนกได้อีก 1 ป้าย

4. การเตรียมอวัยวะเพศเพื่อทำสไลด์ถาวร

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

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

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

7. จัดทำแนวทางวินิจฉัย (key) สกุลและชนิดของแมลงวันผลไม้ที่รวบรวมได้พร้อมภาพประกอบ

8. จัดเก็บตัวอย่างที่ได้ศึกษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากลของการเก็บรักษาตัวอย่างแมลง (แมลงวันผลไม้ทุกชนิดที่รายงานไว้ต้องเก็บรักษาตัวอย่างจริงไว้เพื่อการตรวจสอบ สืบค้น และอ้างอิงในภายหลัง)

เวลาและสถานที่

เวลา : เดือนตุลาคม 2553 – เดือนกันยายน 2554

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

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงวันผลไม้ ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึง เดือนกันยายน 2554 ทำการศึกษาโดยเก็บรวบรวมแมลงวันผลไม้จากผักและผลไม้ รวมทั้งจากการใช้กับดักล่อแมลงวันผลไม้แบบ 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 3 ชนิด ดังนี้ *Dacus formosanus, D. sphaesoidali* และ *D. longicolaris* (ภาพที่ 1-3) แมลงวันผลไม้ทั้งหมด สามารถจำแนกได้โดยดูจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา ของส่วนหัว จุดสีดำใต้หนวด จำนวนขน inferior fronto-orbital และขน iuperior fronto-orbital สีของหนวดปล้องต่างๆ แถบสีบริเวณเส้นปีก สีของอก บริเวณ scutum และ scutellum อีกทั้งลักษณะของแถบสีเหลืองด้านบนของส่วนอก (yellow vittae) สีของส่วนท้องและขาส่วนต่างๆ (ภาพที่ 4)

ผลการทดลอง **สกุล *Dacus*** มีลักษณะดังนี้คือ

เดิมแมลงวันผลไม้ในสกุล *Bactrocera* นั้น จัดรวมกับสกุล *Dacus* แต่จากการศึกษาของ Hardy (1973) และ Drew (1989) นั้นจัดจำแนกแมลงวันที่อยู่ในสกุล *Dacus* โดยให้เป็นแมลงวันผลไม้ที่มีลักษณะของปล้องท้องด้านล่างเชื่อมติดกันเป็นแผ่น โดยส่วนท้องมีลักษณะเป็นรูปเรียวยาว

(clavate) และมีหนวดปล้องที่หนึ่งยาวเรียวกว่าปล้องอื่นๆอย่างเห็นได้ชัด ปีกมี Cell M ค่อนข้างยาว scutellum มีขนาดสั้น

รายละเอียดของแมลงวันผลไม้แต่ละชนิด

Dacus formosanus **(ภาพที่ 1)**

ชื่อสามัญ White Striped Fruit Fly

รูปร่างลักษณะ

ขนาด ลำตัวยาว 7.2 – 7.5 มม. ปีกยาว 7.8 – 8.1 มม.

หัว สีน้ำตาลดำ frons มีขน inferior fronto-orbital 2 คู่ และขน superior fronto-orbital 1 คู่ หนวดปล้องแรกยาวมีสีน้ำตาลแดง ปลายหนวดปล้องที่ 3 สีดำ มีเส้นขน arista สีดำ ใต้หนวดมีจุดสีดำรูปไข่ 2 จุด

อก scutum สีน้ำดำ ไม่มีแถบสีปรากฏ mesonotum ไม่มีแถบตรงกลาง ขาสีน้ำตาลแดง โดยขาหน้ามีสีดำครึ่งหนึ่ง femur ขาหลังมีแต้มจุดสีดำ

ปีก ใสมีแถบสีดำขยายยาวจาก costal มาจนถึงบริเวณปลายปีกขยายลงมาถึง R_{4+5}

ท้อง มีสีน้ำตาลแดง ท้องด้านล่าง (terga) ปล้องที่ 3 - 5 มีสีน้ำตาลเข้ม และมีจุดสีน้ำตาลอมส้มที่ด้านบน (posterocentrally) ของท้อง 4 และบริเวณตรงกลางปล้องที่ 5

กับดัก กับดักที่ใช้สาร Cue lure

พืชอาหาร ลำไย

เขตการแพร่กระจาย จังหวัดเชียงใหม่

Dacus sphaesoidalis **(ภาพที่ 2)**

ชื่อสามัญ Oriental Fruit Fly

รูปร่างลักษณะ

ขนาด ลำตัวยาว 7.2 – 7.5 มม. ปีกยาว 6.7 – 7.2 มม.

หัว สีน้ำตาล frons มีขน inferior fronto-orbital 2 คู่ และขน superior fronto-orbital 1 คู่ หนวดปล้องแรกยาวมีสีน้ำตาลเข้ม ปลายหนวดปล้องที่ 3 สีดำ มีเส้นขน arista สีดำ ใต้หนวดมีแถบสีดำพาดขวาง

อก scutum สีน้ำตาลแดง mesonotum ไม่มีแถบตรงกลาง ขาสีน้ำตาล femur ขาหลังมีแต้มจุดสีดำ

ปีก ใสปลายปีกทั้งสองมีจุดสีดำใหญ่ขยายบริเวณปลายปีก

ท้อง มีสีน้ำตาลแดง มีแถบสีดำบริเวณฐานปล้องท้องที่ 5 ด้านข้างมีแถบสีดำ และโค้งลง

กับดัก กับดักที่ใช้สาร methyl eugenol

พืชอาหาร ชมพู่ ลำไย กระท้อน และมะม่วง

เขตการแพร่กระจาย จังหวัดนครปฐม เชียงใหม่ สุราษฎร์ธานี ตรัง กาญจนบุรี จันทบุรี และระยอง

Dacus longicornis **(ภาพที่ 3)**

ชื่อสามัญ Oriental Fruit Fly

รูปร่างลักษณะ

ขนาด ลำตัวยาว 7.2 – 7.5 มม. ปีกยาว 6.7 – 7.2 มม.

หัว สีน้ำตาล frons มีขน inferior fronto-orbital 2 คู่ และขน superior fronto-orbital 1 คู่ หนวดปล้องแรกยาวมีสีน้ำตาลเข้ม ปลายหนวดปล้องที่ 3 สีดำ มีเส้นขน arista สีดำ ใต้หนวดมีแถบสีดำพาดขวาง

อก scutum สีน้ำตาลแดง mesonotum ไม่มีแถบตรงกลาง ขาสีน้ำตาล femur ขาหลังมีแต้มจุดสีดำ

ปีก ใสปลายปีกทั้งสองมีจุดสีดำใหญ่ขยายบริเวณปลายปีกขยายลงมาถึง R_{4+5}

ท้อง มีสีน้ำตาลแดง ท้องด้านล่าง (terga) ปล้องที่ 3 -5 มีสีน้ำตาลเข้ม และมีจุดสีน้ำตาลอมส้มที่ด้านบน (posterocentrally) ของท้อง 4 และบริเวณตรงกลางปล้องที่ 5

กับดัก กับดักที่ใช้สาร methyl eugenol

พืชอาหาร ชมพู่ และมะม่วง

เขตการแพร่กระจาย จังหวัดจันทบุรี และนครราชสีมา

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาอนุกรมวิธานของแมลงวันผลไม้สกุล *Bactrocera* ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 โดยการใช้กับดักล่อแมลงวันผลไม้แบบ steiner ซึ่งประกอบด้วยสารล่อแมลงวันผลไม้ 3 ประเภท ได้แก่ cue lure, methyl eugenol และ lati lure พบแมลงวันเพศผู้เข้าติดกับดัก และสามารถจำแนกชนิดได้ 3 ชนิด *Dacus formosanus, D. sphaesoidalis* และ *D. longicolaris* แมลงวันผลไม้ทั้งหมด สามารถจำแนกได้โดยดูจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา เช่น ส่วนหัว จุดสีดำใต้หนวด จำนวนขน inferior fronto-orbital และขน superior fronto-orbital สีของหนวดปล้องต่างๆ แถบสีบริเวณเส้นปีก สีของอก บริเวณ scutum และ scutellum อีกทั้งลักษณะของแถบสีเหลืองด้านบนของส่วนอก (yellow vittae) สีของส่วนท้องและขาส่วนต่างๆ จากการศึกษาครั้งนี้พบแมลงวันผลไม้อีกหนึ่งชนิดที่เพิ่งมีรายงานครั้งแรกในประเทศไทย แต่พบครั้งแรกในโลกที่ราชอาณาจักรภูฏาน เป็นแมลงวันผลไม้ชนิดใหม่ที่รอการตั้งชื่อวิทยาศาสตร์ และการศึกษาครั้งนี้ยังไม่สิ้นสุด เนื่องจากต้องมีการศึกษาชนิดพืชอาหาร และเขตการแพร่กระจายของแมลงวันผลไม้ในประเทศไทยซึ่งจะต้องดำเนินการต่อไป

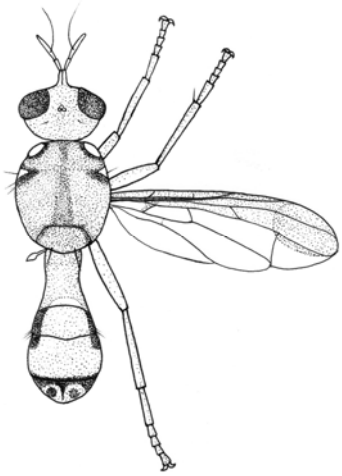
เอกสารอ้างอิง

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

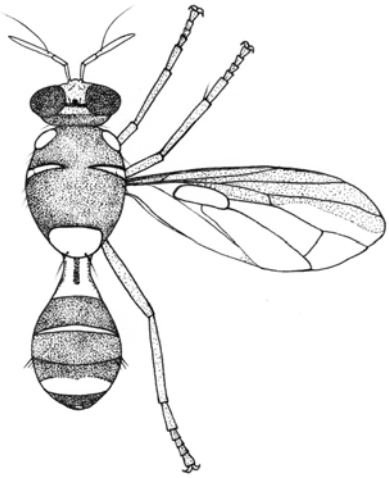
Drew, R.A.I. and D.L. Hancock. 1998. Revision of the tropical fruit flies (Diptera : Tephritidae : Dacidae) in South-east Asia II *Dacus* Fabricius. Invertebrate Taxonomy. 12 (567-654).

Ibrahim, R. and G.A. Ibrahim. 1990. Handbook on Identification of Fruit Flies in the Tropics. Universiti Pertanian Malaysia Press. Malaysia.199 p.

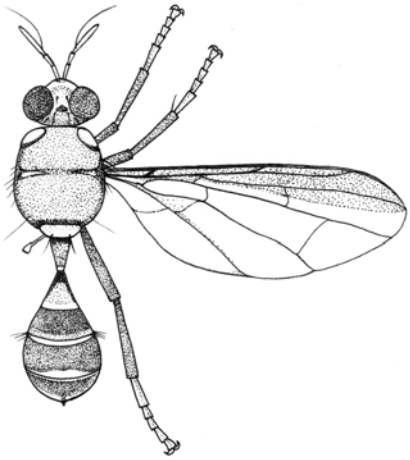
White, I. M. and M. M. Elson-Harris. 1992. Fruit Flies of Economics Significance: Their Identification an Bionomics. CAB International In Association with Aciar (Australian Centre for International Agricultural Research). Redwood Press Ltd. Melksham. UK. 601 p.



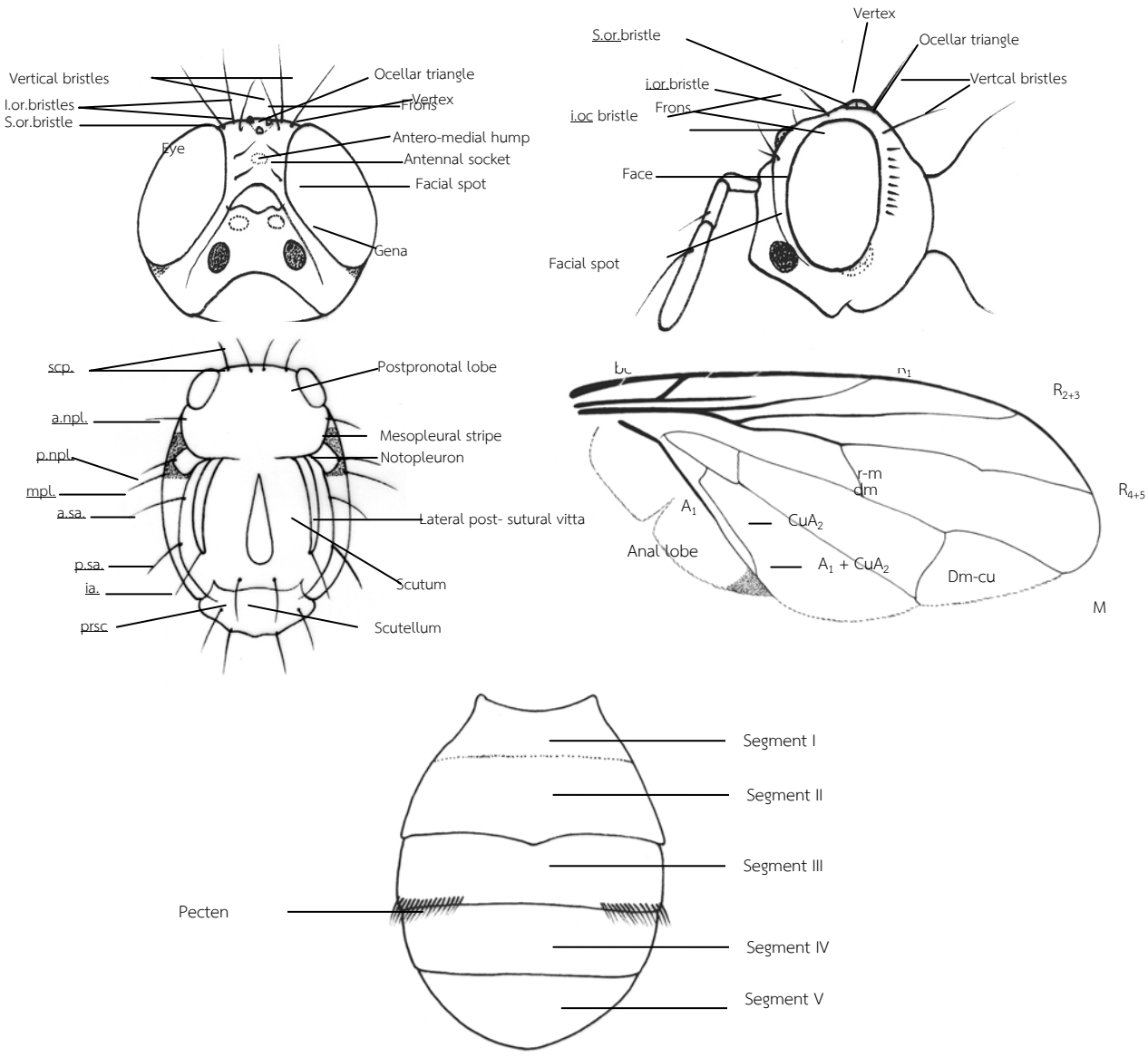
ภาพที่ 1 แมลงวันผลไม้ *Dacus formosanus*



ภาพที่ 2 แมลงวันผลไม้ *Dacus sphaesoidalis*



ภาพที่ 3 แมลงวันผลไม้ *Dacus longicolaris*



ภาพที่ 4 ลักษณะสัณฐานวิทยาของแมลงวันผลไม้

ลักษณะทางอนุกรมวิธานของแมลงวันผลไม้วงศ์ Tephritidae

หัว (Head) ประกอบด้วยส่วนต่างๆดังนี้

Frons – เป็นพื้นที่ส่วนหน้าของหัว ด้านข้างเป็นตารวมและพื้นที่อยู่ระหว่างเดี่ยวที่เรียงกันเป็นรูปสามเหลี่ยมอยู่ทางส่วนบนของหัว

Superior fronto-orbital bristles (s.or) – เป็นขนคู่บนสุดทางด้านบนของ frons

Inferior fronto-orbital bristle (i.or) – เป็นขนที่มี 2-3 คู่ อยู่ใต้ขน s.or

Facial spots – เป็นจุดสีเข้มที่อยู่ 2 ข้างหน้าใต้บริเวณหนวด

Antenna – หนวดที่ 3 ปล้องและมีขนยาวๆ (elongate bristle) อยู่ทางด้านบนของปล้องที่ 3

อก (Thorax) ประกอบด้วยส่วนต่างๆ ดังนี้

Scutellum – เป็นส่วนที่เป็นสามเหลี่ยมที่แยกโดยรอยบุ๋มจากขอบด้านล่างของ mesonotum

Bristles-sc. – ขนบน scutellum มี 2 หรือ 4

prsc-prescutellar bristles – เป็นขน 1 คู่ ทางด้านท้ายของ mesonotum แต่อยู่ทางด้านบนของ scutellum ขนนี้อาจจะมีหรือไม่มี

p.s.a. = posterior supra-alar bristles – ขน 1 คู่เหนือฐานปีกอยู่ทางด้านข้างตอนล่างของ mesonotum

a.s.a. = anterior supra- alar bristles – ขนเหนือปีกตรงด้านข้างของ mesonotum ขนนี้อาจมีหรือไม่มี

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 (mesonotum)

Mesopleural stripes – เป็นแถบสีเหลืองด้านข้างอก ซึ่งปกคลุมขอบด้านข้างตอนล่างของ mesopleuron และขอบด้านบนของ pteropleuron ซึ่งลักษณะรูปร่างของแถบนี้เป็นสิ่งสำคัญในการแยกชนิด (species)

Lateral post-sutural vitta – แถบสีเหลืองทางด้านข้างของ mesonotum ซึ่งมีขนาดและรูปร่างแตกต่างกันไป เริ่มจากด้านบนของ mesonotal suture จนถึงเหนือขน p.sa

Medial post-sutural vitta – แถบสีเหลืองตรงกลางของ mesonotum

อนุกรมวิธาน และชีววิทยาเพลี้ยแป้ง *Pseudococcus jackbeardsleyi* Gimpel & Miller

Taxonomy and Biology of Mealybug *Pseudococcus jackbeardsleyi* Gimpel & Miller

ชลิดา อุณหวุฒิ ชมัยพร บัวมาศ ลักขณา บำรุงศรี สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาอนุกรมวิธาน และชีววิทยาเพลี้ยแป้ง *Pseudococcus jackbeardsleyi* Gimpel & Miller ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 เพื่อทราบลักษณะความแตกต่างทางด้านอนุกรมวิธานในแต่ละระยะการเจริญเติบโต ชีวประวัติ ของเพลี้ยแป้ง *P. jackbeardsleyi* วิธีการและพืชอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงเพลี้ยแป้ง *P. jackbeardsleyi* โดยเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยแป้งจากแหล่งปลูกพืชต่างๆ นำตัวอย่างที่รวบรวมได้มาเลี้ยงบนฟักทองและทำสไลด์ถาวร ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช พบว่าเพลี้ยแป้ง *P. jackbeardsleyi* มีระยะไข่ประมาณ 7 - 10 วัน หลังจากนั้นจะฟักออกมาเป็นตัวอ่อนระยะที่ 1 (crawler) ขนาดค่อนข้างเล็กความยาว ประมาณ 0.7 - 1.2 มิลลิเมตร ตัวเต็มวัยเพศเมียมีขนาดลำตัวด้านกว้าง ประมาณ 1.5 – 2.0 มิลลิเมตร ด้านยาว ประมาณ 3.5 – 4.0 มิลลิเมตร ตัวเต็มวัยเพศเมียวางไข่จำนวน 300 – 500 ฟอง ใช้เวลาในการวางไข่ประมาณ 1 - 2 สัปดาห์ การศึกษานี้ยังไม่สิ้นสุดจะต้องดำเนินการต่อไปในปี 2555

คำนำ

เพลี้ยแป้ง *Pseudococcus jackbeardsleyi* Gimpel & Miller เป็นแมลงที่มีพืชอาหารที่หลากหลายทั้งพืชไร่และพืชสวน โดยดูดน้ำเลี้ยงจากส่วนต่าง ๆ ของพืช ทำให้บริเวณที่ถูกทำลายมีลักษณะผิดปกติ เช่น ใบเป็นจุดสีเหลืองและบางครั้งมีลักษณะย่น ผลบิดเบี้ยวและร่วง กิ่งแห้ง ต้นพืชที่ถูกทำลายรุนแรงจะตายในที่สุด ในเขตร้อน (tropical region) พบเพลี้ยแป้งชนิดนี้ในหลายประเทศ สำหรับประเทศไทย สำรวจพบเข้าทำลายมันสำปะหลังเกือบทุกแหล่งปลูกตั้งแต่ปีพ.ศ. 2551 ก่อปัญหาต่อเนื่องต่อการส่งออก นอกจากนี้ยังเป็นแมลงศัตรูพืชที่มีรายงานการเข้าทำลายพืชหลายชนิด เช่น โกโก้ และผกากรอง ในประเทศมาเลเซีย และพบทำลายมันสำปะหลังในประเทศมัลดีฟ ประเทศสหรัฐอเมริกามีรายงานว่าตรวจพบเพลี้ยแป้งชนิดนี้ติดไปกับกล้วยไม้ พืชอีกหลายชนิดที่นำเข้าจากประเทศไทย (Williams, 2004) ขณะที่ ชลิดา และคณะ (2548) รายงานว่าพบเพลี้ยแป้ง *P. jackbeardsleyi* บนใบสาวน้อยประแป้ง และสาบเสือในประเทศไทย ดังนั้นการ

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-11-54

เตรียมข้อมูลด้านอนุกรมวิธานและชีววิทยาของเพลี้ยแป้งชนิดนี้ จึงมีความจำเป็นที่ต้องดำเนินการศึกษาเพื่อรองรับปัญหาที่อาจจะเกิดขึ้นในอนาคตและสำหรับเป็นข้อมูลประกอบการพิจารณาแนวทางการป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งดังกล่าว และเก็บรักษาตัวอย่างไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างเพลี้ยแป้ง *P. jackbeardsleyi*

2. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างเพลี้ยแป้ง ได้แก่ แอลกอฮอล์ 70 – 80% หรือน้ำยา AGA ขวดดองตัวอย่างแมลง คัตเตอร์ กรรไกรตัดกิ่ง กล่องพลาสติก ถุงกระดาษและถุงพลาสติก

3. อุปกรณ์และพืชอาหารสำหรับเลี้ยงแมลง ได้แก่ กล่องพลาสติกกลม พู่กัน ผลฟักทอง และต้นมันสำปะหลัง

4. อุปกรณ์บันทึกข้อมูล ได้แก่ กระดาษ ดินสอ เวอร์เนียร์คาลิเปอร์ เป็นต้น

5. อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวรเพลี้ยแป้ง ได้แก่ สารเคมีต่างๆ เช่น alcohol 70 %, potassium hydroxide 10%, hydrochloric acid, glacial acetic acid, xylene, carbolic acid, acid fuchsin, N-butyl alcohol, clove oil และ Canada balsam เข็มเขี่ย แผ่นสไลด์แก้ว แผ่นแก้วปิดสไลด์ กล่องใส่สไลด์ถาวร ตู้อบสไลด์ถาวร

6. กล้องจุลทรรศน์ compound microscope และ stereo microscope และ กล้องถ่ายภาพ

7. อุปกรณ์วาดภาพ ได้แก่ ปากกา rotting และกระดาษไขเขียนแบบ

8. เอกสารประกอบการจำแนกชนิดเพลี้ยแป้ง

วิธีการ

1. สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยแป้ง *P. jackbeardsleyi* จากแหล่งปลูกพืชต่างๆ ตัดชิ้นส่วนของพืชที่มีเพลี้ยแป้งอาศัยอยู่ ใส่ในถุงกระดาษหรือห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์แล้วใส่ในถุงพลาสติก บันทึกสถานที่ พิกัดทางภูมิศาสตร์ วัน เดือน ปี ที่เก็บตัวอย่าง ชนิดและส่วนของพืชที่ถูกทำลาย รวมทั้งชื่อผู้เก็บ

2. นำตัวอย่างเพลี้ยแป้งที่รวบรวมได้จากการสำรวจ นำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ โดยใช้พู่กันเขี่ยตัวอ่อนตัวอ่อน ตัวเต็มวัย และถุงไข่ ลงบนผลฟักทองประมาณ 5 - 10 ตัว ต่อผล รอจนเพลี้ยแป้งวางไขและมีตัวอ่อนวัยที่ 1 ที่เริ่มฟัก

3. หลังจากนั้นให้ ใช้พู่กันเขี่ยตัวอ่อนเพลี้ยแป้งวัยที่ 1 ลงในฟักทองซึ่งวางไว้ในกล่องพลาสติกจำนวน 1 ตัวต่อ 1 ผล เปลี่ยนพืชอาหารเมื่อจำเป็นบันทึกรูปร่างลักษณะ สี ขนาด ทุกระยะการเจริญเติบโตรวมทั้งพฤติกรรมต่างๆตลอดการทดลอง พร้อมกับถ่ายภาพประกอบ

4. นำตัวอย่างเพลี้ยแป้งบางส่วนจากที่เลี้ยงบนฟักทอง มาตรวจดูลักษณะภายนอกด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope ถ่ายภาพ บันทึกรายละเอียด เช่น ขนาด รูปร่างลักษณะ สี และระยะการเจริญเติบโตของเพลี้ยแป้งก่อนดองในแอลกอฮอล์ 80%

5. นำตัวอย่างเพลี้ยแป้งจากขวดดองตัวอย่างในข้อ 4 มาทำสไลด์ถาวร โดยดัดแปลงวิธีการของ Williams and Watson (1988) มีขั้นตอนดังนี้

5.1 ใช้เข็มเขี่ยเจาะบริเวณกลางส่วนอกด้านบนของตัวอย่างเพลี้ยแป้ง นำไปใส่ในหลอดทดลองที่บรรจุด้วยสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) 10% จากนั้นนำหลอดทดลองไปต้มด้วยวิธีวอเตอร์บาท ใช้เวลาประมาณ 15 นาที (เริ่มนับตั้งแต่น้ำในบีคเกอร์เดือด) โดยระวังไม่ให้สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ที่อยู่ในหลอดทดลองเดือด เพราะจะทำให้ตัวอย่างเกิดความเสียหายได้

5.2 นำตัวอย่างเพลี้ยแป้งที่ต้มแล้วมาล้างในน้ำกลั่น กดเบา ๆ บนลำตัวด้วยเข็มดัดปลายโค้ง เพื่อทำให้ไข่ ตัวอ่อน และของเหลวที่อยู่ในลำตัวหลุดออกมาทางรอยที่เจาะไว้ ถ้ายังมีก้อนไขมันตกค้างอยู่ให้นำไปแช่ในแอลกอฮอล์ 95% ประมาณ 2 – 3 นาที

5.3 ย้ายลงในคาร์บอลไซลีน (carbol xylene) แช่ทิ้งไว้ 10 นาทีจนกระทั่งตัวอย่างใส นำไปแช่ในแอลกอฮอล์ 95%

5.4 ย้ายลงในกรดแอลกอฮอล์ (acid alcohol) ซึ่งเป็นสารละลายของกรดแกลเซียลอะซิติก 1 ส่วน และแอลกอฮอล์ 50% 4 ส่วน แช่ทิ้งไว้ 2 – 3 นาที

5.5 ย้อมสีตัวอย่างโดยแช่ในน้ำยาย้อมสี ซึ่งเป็นสารละลายของแอซิดฟุชซิน (acid fuchsin) กรดเกลือ (hydrochloric acid) และน้ำกลั่น แช่ทิ้งไว้นาน 30 - 60 นาที

5.6 ย้ายลงในแอลกอฮอล์ 95% แช่ทิ้งไว้ 2 – 3 นาที เพื่อกำจัดสีส่วนเกิน

5.7 ย้ายลงในสารละลายเอ็น-บิวทิลแอลกอฮอล์ (N-butyl alcohol) กับ แอลกอฮอล์ 95 % ในอัตราส่วน 1:1 แช่ทิ้งไว้ 10 นาที

5.8 ย้ายลงในเอ็น-บิวทิลแอลกอฮอล์ แช่ทิ้งไว้ 10 นาที

5.9 ย้ายลงในโคล์ฟออย (clove oil) แช่ทิ้งไว้ 20 นาที

5.10 นำตัวอย่างเพลี้ยแป้งวางบนแผ่นสไลด์แก้ว ใช้กระดาษกรองซับโคล์ฟออยส่วนที่เกินออก หยดแคนาดาบัลซัม (canada balsam) 1 หยดบนตัวอย่างแมลงจัดรูปร่าง ให้สวยงามไม่บิดเบี้ยวหรือทับซ้อนกัน ปิดทับด้วยแผ่นแก้วปิดสไลด์

5.11 นำไปอบให้แห้ง ในตู้อบที่อุณหภูมิ 40 - 50 องศาเซลเซียส ใช้เวลาประมาณ 1-2 เดือน

6. ตรวจจำแนกชนิดเพลี้ยแป้งบนแผ่นสไลด์ถาวร ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope ที่มีกำลังขยายสูง ตรวจดูลักษณะสำคัญที่ใช้ในการจำแนก ได้แก่ หนวด (antennae) ขน (setae) รู (pores) ท่อ (tubular ducts) กลุ่มอวัยวะที่ผลิตเส้นแป้งด้านข้างลำตัว (cerarii) ช่อง

เปิดที่มีลักษณะคล้ายรอยแตกตามขวางของลำตัว (ostioles) และวงแหวนที่ล้อมรอบช่องเปิดของอวัยวะขับถ่าย (anal ring)

7. วาดรูปแสดงลักษณะทางอนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้งแต่ละชนิด โดยวาดลงบนกระดาษกราฟและลอกลงบนกระดาษไขเขียนแบบและจัดทำแนวทางวินิจฉัยชนิดเพลี้ยแป้ง *P. jackbeardsleyi*

8. การบันทึกรายละเอียดบนแผ่นสไลด์ที่อบแห้งแล้วโดยวางแผ่นสไลด์หันด้านหัวของเพลี้ยแป้งเข้าหาตัว ด้านขวาเขียนรายละเอียดเกี่ยวกับพืชอาหาร วัน เดือน ปี สถานที่และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง ด้านซ้ายมือเขียนชื่อวิทยาศาสตร์ เพศ วันเดือนปี ที่ทำสไลด์และชื่อผู้จำแนก ควรลงรายละเอียดดังกล่าวเป็นภาษาอังกฤษ

9. จัดเก็บตัวอย่างเพลี้ยแป้งในกล่องใส่สไลด์ถาวรและนำเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามหลักสากล

เวลาสถานที่

เวลา เดือนตุลาคม 2553 **ถึง** เดือนกันยายน 2554

สถานที่ 1. แหล่งปลูกพืชจังหวัดต่างๆ

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตวิวทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในปีงบประมาณ 2554 ได้ทำการเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยแป้งจากแหล่งปลูกพืชต่างๆ นำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตวิวทยา พบว่าเพลี้ยแป้ง *P. jackbeardsleyi* มีระยะไข่ประมาณ 7-10 วัน หลังจากนั้นจะฟักออกมาเป็นตัวอ่อนระยะที่ 1 (crawler) ซึ่งจะมีลักษณะสีเหลืองค่อนข้างใส ลำตัวรูปไข่ ส่วนขาและหนวดมีการเจริญเติบโตดี เห็นได้ชัดเจน ขนาดค่อนข้างเล็กความยาว ประมาณ 0.7 - 1.2 มิลลิเมตร ตัวอ่อนเพศเมียจะมีการลอกคราบจำนวน 3 ครั้ง ตัวเต็มวัยเพศเมียจะมีผนังลำตัวสีเทาอมชมพู ขนาดตัวเต็มวัยด้านกว้าง ประมาณ 1.5 – 2.0 มิลลิเมตร ด้านยาว ประมาณ 3.5 – 4.0 มิลลิเมตร ตัวเต็มวัยเพศเมียจะเริ่มวางไข่โดยสร้างเส้นใยคล้ายสำลีหุ้ม ซึ่งจะวางไข่จำนวน 300 – 500 ฟอง ใช้เวลาในการวางไข่ประมาณ 1-2 สัปดาห์ การศึกษานี้จะต้องดำเนินต่อไปในปี 2555 โดยจะนำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ และจัดทำแนวทางวินิจฉัยเพลี้ยแป้ง *P. jackbeardsleyi* ซึ่งมีความแตกต่างตามระยะการเจริญเติบโต พร้อมบันทึกรายละเอียด และจัดเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาอนุกรมวิธาน และชีววิทยาเพลี้ยแป้ง *Pseudococcus jackbeardsleyi* Gimpel & Miller ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 พบว่าเพลี้ยแป้ง *P. jackbeardsleyi* มีระยะไข่ประมาณ 7 - 10 วัน หลังจากนั้นจะฟักออกมาเป็นตัวอ่อนระยะที่ 1 (crawler) ขนาดค่อนข้างเล็กความยาว ประมาณ 0.7 - 1.2 มิลลิเมตร ตัวเต็มวัยเพศเมียมีขนาดลำตัว

ด้านกว้าง ประมาณ 1.5 – 2.0 มิลลิเมตร ด้านยาว ประมาณ 3.5 – 4.0 มิลลิเมตร ตัวเต็มวัยเพศเมียวางไข่จำนวน 300 – 500 ฟอง ใช้เวลาในการวางไข่ประมาณ 1-2 สัปดาห์ การศึกษานี้ยังไม่สิ้นสุด จะต้องดำเนินการต่อไปในปี 2555

เอกสารอ้างอิง

ชลิดา อุณหวุฒิ ศิริณี พูนไชยศรี พรรณเพ็ญ ชโยภาส รัตนา นชะพงษ์ ลักขณา บำรุงศรี สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี ยุวรินทร์ บุญทบ และณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม. 2548. อนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus*. รายงานผลงานวิจัยปี บทคัดย่อ/รายงานความก้าวหน้าปี 2548. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. หน้า 77.

Williams, D.J. 2004. Mealybugs of Southern Asia. United Selangor Press Sdn., Kuala Lumpur. 896 pp.

การศึกษาอนุกรมวิธานแมงมุมสกุล *Argiope*

Taxonomic study on Spider Fauna in Genus *Argiope*

วิมลวรรณ โชติวงศ์ มานิตา คงชื่นสิน

พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ พลอยชมพู กรวิภาสเรือง

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

สำรวจและเก็บตัวอย่างแมงมุมสกุล *Argiope* จากแหล่งต่าง ๆ ทั่วประเทศไทย รักษาตัวอย่างแมงมุมในแอลกอฮอล์ 75 เปอร์เซ็นต์ การศึกษาประกอบด้วย การสำรวจและเก็บตัวอย่างแมงมุม การจัดหมวดหมู่ การตรวจจำแนกชนิด การบรรยายลักษณะ การวาดรูป ซึ่งจะเน้นวาดรูปแมงมุมทั้งตัวและวาดอวัยวะที่สำคัญที่ใช้ในการจำแนก ตัวอย่างแมงมุมสกุล *Argiope* เก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์สำหรับเป็นแหล่งสืบข้อมูลและจัดทำฐานข้อมูล

ระยะเวลาการทดลองเริ่มตุลาคม 2553 ถึง กันยายน 2556 จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างแมงมุมสกุล *Argiope* ตุลาคม 2553 ถึง มีนาคม 2555 ณ จังหวัด เชียงใหม่ นครสวรรค์ กำแพงเพชร เพชรบูรณ์ เพชรบุรี กาญจนบุรี สมุทรสงคราม นครราชสีมา ระยอง ชุมพร สุราษฎร์ธานี และ ระนอง พบแมงมุมสกุล *Argiope* 3 ชนิด ได้แก่ *Argiope pulchella* จำนวน 5 ตัวอย่าง *Argiope versicolor* จำนวน 3 ตัวอย่าง และ *Argiope catenulata* (Doleschall) จำนวน 3 ตัวอย่าง

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-12-54

คำนำ

แมงมุม *Argiope* ขึ้นชื่อว่าตัวเมียมีลวดลายที่ส่วนท้องสวยงามและมีสีสีนสดใส ขนาดอวัยวะเพศที่ใหญ่และเห็นได้ชัดเจน และมีสีสันต่างกัน 2 รูปแบบ (Levi, 1983) ยังเป็นที่รู้กันดีว่า *Argiope* ยังมีนิสัยกินกันเอง ในขณะที่ทำการผสมพันธุ์ นอกจากการใช้อวัยวะเพศในการจำแนกชนิดของแมงมุมแล้ว Levi 2004 รายงานว่า broken emboli ยังเป็นตัวช่วยในการจำแนกชนิดแมงมุมได้ดีเมื่อสีของแมงมุมซีดลงเมื่อถูกดองในแอลกอฮอล์เป็นระยะเวลานาน (Levi, 1983, Bjørn 1997) รายงานเพิ่มเติมว่า broken emboli ยังช่วยจำแนกชนิดแมงมุมในกรณีที่เราจับแมงมุมได้ตัวผู้หรือตัวเมียเพียงตัวเดียว แมงมุมสกุล *Argiope* ได้แพร่กระจายไปทั่วโลก ปัจจุบันพบ 85 ชนิดทางตอนกลางของเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ หมู่เกาะปาปัวนิวกินีและหมู่เกาะข้างเคียง พบ 44 ชนิด Platnick 2011 รายงานว่าเขตอื่นๆพบน้อยมาก ได้แก่ ออสเตรเลียพบ 15 ชนิด แอฟริกา 11 ชนิด อเมริกา 8 ชนิด ยุโรป 3 ชนิด เอเชียตอนกลาง 1 ชนิด แต่มีอยู่ 3 ชนิดซึ่งเป็นข้อยกเว้นที่แพร่กระจายกว้างขวางมากเช่น *A. trifasciata* ซึ่งแพร่กระจายไปทั่วโลก, *A. bruennichi* ซึ่งแพร่กระจายไปทั่วทวีปอเมริกา และออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ และหมู่เกาะใกล้เคียงในมหาสมุทรแปซิฟิก และ *A. lobata* ซึ่งแพร่กระจายไปทั่วทวีปยุโรปเอเชียและแอฟริกา

Levi 1983 ได้ทำการปรับปรุงและตีพิมพ์ *Argiope* เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งทำใน แปซิฟิกตะวันตก การรวบรวมชนิดของ Argiope ที่จีนและญี่ปุ่นถูกรวบรวมและตีพิมพ์โดย Yin *et al*., (1997), Song *et al*. (1999), Chikuni (1989) และ Tanikawa (2009) ตามลำดับ อินเดียโดย Tikader (1982) และ Sebastian and Peter (2009) ฟิลิปปินส์โดย Barrion and Litsinger (1995) Daxiang *et al*. (1999) ได้ทำการสำรวจและจัดทำคู่มือวินิจฉัย (key) ชนิดของแมงมุมสกุล *Argiope* ในประเทศจีน ซึ่งมี 2 ชนิดที่พบในข้าวอินทรีย์ในประเทศไทยได้แก่ *A. aemula* (Walckenaer) และ *A. catenulata* (Doleschall) (วิภาดาและคณะ, 2548) การสำรวจชนิดแมงมุมในประเทศไทยทำครั้งแรกในนาข้าว พบแมงมุม 13 วงศ์ 39 สกุล 63 ชนิด (Okuma, 1968; Okuma and Wongsiri, 1973, Patarakulpong, 1977) แมงมุมที่พบในนาข้าวส่วนใหญ่ได้แก่ แมงมุมวงศ์ Tetragnathidae, Oxyopidae, Araneidae, Lycosidae และ Micryphantidae วิภาดา (2541) รายงานเพิ่มเติมว่าวงศ์ที่พบปริมาณประชากรมากและมีบทบาทในการควบคุมประชากรศัตรูได้แก่ วงศ์ Araneidae, Clubionidae, Lycosidae, Oxyopidae, Salticidae, Tetragnathidae, Theridiidae และ Thomisidae แมงมุมสกุลนี้มีบทบาทสำคัญในการควบคุมประชากรแมลงศัตรูของพืชเศรษฐกิจต่างๆ และประเทศไทยตั้งอยู่ในเขตร้อน มีความหลากหลายของชนิดแมงมุมเป็นอันมาก แต่การศึกษาด้านอนุกรมวิธานของแมงมุมสกุล *Argiope* ยังทำน้อยมาก สมควรศึกษาอนุกรมวิธานแมงมุมสกุล *Argiope* เพื่อทราบจำนวนชนิด ชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้อง ลักษณะความแตกต่างที่ใช้จำแนกชนิด เขตการแพร่กระจาย พืชอาศัยเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานทางวิทยาศาสตร์ เป็นแหล่งสืบค้นและเปรียบเทียบตัวอย่างต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้เก็บตัวอย่าง ได้แก่ สวิงจับแมลง หลอดแก้วทดลอง ขวดดองตัวอย่างแมงมุมขนาดต่างๆ กัน กล่องพลาสติกใสขนาดต่างๆ กัน กระดาษtissue ปากคีบ พู่กัน ถุงพลาสติกใสขนาดต่าง ๆ กัน สารเคมี ได้แก่ alcohol 75% ethyl acetate

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

3. อุปกรณ์ในการเขียนผลงานวิจัยและเผยแพร่ ได้แก่ อุปกรณ์ในการถ่ายภาพ กล้อง stereomicroscope ติดตั้งด้วยกล้องถ่ายภาพ อุปกรณ์คอมพิวเตอร์ วัสดุสำนักงาน

4. กล่องพลาสติกใส 2 ขนาด คือ 7.5x5.5x3 และ 15x29x8.5 เซนติเมตร
5. กระดาษซับ
6. ปากคีบ
7. พู่กัน
8. ขวดดองแมงมุม
9. แอลกอฮอล์ 75%
10. ethyl acetate
11. เอกสารวิชาการเกี่ยวกับการจำแนกชนิดแมงมุม

วิธีการ

1. การเก็บและรักษาตัวอย่างแมงมุม แมงมุมแต่ละชนิดที่มีอุปนิสัยแตกต่างกัน

การเก็บตัวอย่างจึงมีหลายวิธี ดังนี้

1. การมองหาและจับโดยตรง วิธีนี้เหมาะสำหรับจับแมงมุมทุกเวลาและสถานที่และทำให้ผู้จับสามารถทราบถึงพฤติกรรมต่าง ๆ ของแมงมุมแต่ละชนิด บันทึกพฤติกรรมต่าง ๆ ของแมงมุมแต่ละชนิดในสภาพธรรมชาติ เช่น วิธีจับเหยื่อ ชนิดของเหยื่อ เวลาที่ออกหากิน ลักษณะใยดักเหยื่อ เป็นต้น จับแมงมุมโดยใช้หลอดทดลอง ฆ่าแมงมุมโดยใส่ก้อนสำลีในกล่องพลาสติกที่เลี้ยงแมงมุมหยด ethyl acetate 2 – 3 หยดลงบนก้อนสำลีเพื่อทำให้แมงมุมสลบ ดองแมงมุมในขวดที่บรรจุแอลกอฮอล์ 75 % เพื่อเก็บรักษาตัวอย่างและนำไปจำแนกชนิดต่อไป

2. การเคาะ ใช้ท่อนไม้กลมยาวเคาะซึ่งมีสวิงจับแมลงรองรับข้างใต้ แมงมุมจะตกลงในสวิง ฆ่าและรักษาตัวอย่างแมงมุมดังข้อ 1

3. การโฉบ ใช้สวิงจับแมลงโฉบแมงมุมจากวัชพืชในไร่ สวน ในหญ้า หรือในนาข้าวฆ่าและเก็บตัวอย่างแมงมุมเพื่อนำไปรักษาตัวอย่างดังข้อ 1

2. **การศึกษาอนุกรมวิธาน ของแมงมุมสกุล *Argiope***

แมงมุมที่เก็บรักษาไว้ นำมาจำแนกเป็นวงศ์ สกุล ชนิด การจำแนกจะศึกษาจากตำราต่างๆ โดยเฉพาะจากเอกสารเกี่ยวกับการศึกษาอนุกรมวิธานแมงมุมในแถบทวีปเอเชีย วาดรูปโดยใช้ grid scale เพื่อให้ได้ขนาดและสัดส่วนที่แท้จริงตามตัวอย่างแมงมุมที่วาด บรรยายลักษณะทางอนุกรมวิธาน ทำ key เพื่อใช้เป็นแนวทางในการจำแนก ถ่ายรูปแมงมุม เก็บและรักษาตัวอย่างแมงมุมไว้ในพิพิธภัณฑ์กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยและพัฒนาอารักขาพืช

เวลา สถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม พ.ศ. 2553 สิ้นสุดกันยายน พ.ศ. 2556

ไร่ นา สวน ของเกษตรกรทั่วประเทศ ป่า บ้านเรือน และสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างแมงมุมสกุล *Argiope* ณ จังหวัด นครราชสีมา กาญจนบุรี กำแพงเพชร เพชรบุรี สมุทรสงคราม เชียงใหม่ นครสวรรค์ เพชรบูรณ์ ระยอง ชุมพร

สุราษฎร์ธานี และ ระนอง พบแมงมุมสกุล *Argiope* 3 ชนิด ได้แก่ ***Argiope catenulata*** **(Doleschall), *Argiope versicolor* (Doleschall, 1859) และ** *Argiope pulchella* Thorell, 1881 ทำการวาดรูปแมงมุมทั้งตัวและอวัยวะสำคัญที่ใช้จำแนกชนิด บรรยายลักษณะทางอนุกรมวิธานของแมงมุม

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

แมงมุมเป็นตัวห้ำที่มีบทบาทสำคัญในการช่วยควบคุมประชากรแมลงศัตรูพืชต่างๆ การศึกษาอนุกรมวิธานแมงมุมสกุล *Argiope* เพื่อทราบชื่อวิทยาศาสตร์และลักษณะอนุกรมวิธานที่ถูกต้อง ซึ่งยังไม่เคยมีการทำมาก่อน การศึกษาประกอบด้วย การสำรวจและเก็บตัวอย่างแมงมุม การจัดหมวดหมู่ การตรวจจำแนกชนิด การบรรยายลักษณะ การวาดรูป ซึ่งจะเน้นวาดรูปแมงมุมทั้งตัวและวาดอวัยวะที่สำคัญที่ใช้ในการจำแนก ตัวอย่างแมงมุมเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์สำหรับเป็นแหล่งสืบข้อมูลและจัดทำฐานข้อมูล

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างแมงมุมสกุล *Argiope* ตุลาคม 2553 ถึง มีนาคม 2555 ณ จังหวัด เชียงใหม่ นครสวรรค์ กำแพงเพชร เพชรบูรณ์ เพชรบุรี กาญจนบุรี สมุทรสงคราม นครราชสีมา ระยอง ชุมพร สุราษฎร์ธานี และ ระนอง พบแมงมุมสกุล *Argiope* 3 ชนิด ได้แก่

Argiope pulchella จำนวน 5 ตัวอย่าง *Argiope versicolor* จำนวน 3 ตัวอย่าง และ *Argiope catenulata* (Doleschall) จำนวน 3 ตัวอย่าง

เอกสารอ้างอิง

Levi, H., 1983. The orb-weaver genera *Argiope*, *Gea* and *Neogea* from the western pacific region (Araneae; Araneidae, Argiopinae). *Bull. Mus. Comps. Zool.*, 150; 247-338.

Bjørn, P. P. 1997. A taxonomic revision of the African part of the orb-weaving genus *Argiope* (araneae: Araneidae). *Ent. scand.* **28:** 199-239.

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

Song, D. X., M. S. Zhu & J. Chen. 1999. *The Spiders of China*. Hebei Sci. Technol. Publ. House, Shijiazhuang, 640 pp.

Tikader, B. K. 1982. Family Araneidae (=Argiopidae), typical orbweavers. *Fauna India* (Araneae) **2:** 1-293.

วิภาดา วังศิลาบัตร. 2541. ความหลากหลายของชนิดแมงมุมในระบบนิเวศพืชเศรษฐกิจบางชนิด. การประชุมสัมมนาทางวิชาการ แมลง และสัตว์ศัตรูพืช ประจำปี 2541. ครั้งที่ 11 กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 121 – 144.

วิภาดา วังศิลาบัตร มานิตา คงชื่นสิน เทวินทร์ กุลปิยวัฒน์ และพิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์. 2548. การศึกษาอนุกรมวิธานแมงมุมในข้าวอินทรีย์. รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม 2548 เล่มที่ 1. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. หน้า 471-513.

Patarakulpong, W. 1977. A preliminary survey of spider fauna and their predation in the paddy fields of Thailand. M.S. Thesis. Kasetsart University. 59p.

Okuma, C. 1968. Preliminary survery on the spider fauna of the paddy fields in Thailand. Mushi. 42 (8) : 89 – 118.

Okuma, C. and T. Wongsiri, 1973. Second report on the spider fauna of the paddy fields in Thailand. Mushi. 47 (1) : 402 – 418.

ชนิดของมดที่อาศัยร่วมกับเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus*

Ants species associate with Mealybug in Genus *Phenacoccus*

ชมัยพร บัวมาศ ชลิดา อุณหวุฒิ ลักขณา บำรุงศรี

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาชนิดของมดที่อาศัยร่วมกับเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus* ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 เพื่อทราบชนิด เขตการแพร่กระจาย ของของมดที่อาศัยร่วมกับเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus* ที่มีอยู่ในประเทศไทย ซึ่งได้เก็บรวบรวมตัวอย่างจากแหล่งปลูกพืชต่างๆ ในเขตภาคตะวันตก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ นำตัวอย่างมดที่รวบรวมได้มาจัดรูปร่าง และตัวอย่างเพลี้ยแป้งมาทำสไลด์ถาวร ตรวจจำแนกชนิดตามหลักอนุกรมวิธาน ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จากการตรวจจำแนกชนิด พบมด จำนวน 4 ชนิด คือ มดคันไฟ; Fire ant: *Solenopsis geminata* Fabricius มดโล่บ้าน; *Meranoplus bicolor* Guérin-Méneville, มดน้ำผึ้ง; *Anoplolepis gracilipes* Fr.Smith, มดเหม็น; *Tapinoma melanocephalum* Fabricius และพบเพลี้ยแป้ง จำนวน 2 ชนิด คือ เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีเขียว; Madeira mealybug: *Phenacoccus madeirensis* Green, เพลี้ยแป้ง; Solenopsis mealybug: *P. solenopsis* Tinsley การศึกษานี้ยังไม่สิ้นสุดจะต้องดำเนินการต่อไปในปี 2555

คำนำ

มดเป็นแมลงสังคมที่สามารถอาศัยอยู่ได้ทั้งในพื้นที่ธรรมชาติและพื้นที่เกษตร ทำหน้าที่ได้หลายบทบาท โดยมดส่วนใหญ่เป็นตัวห้ำ (predators) หรือกินซาก (scarvangers) บางชนิดกินทั้งพืชและสัตว์ (omnivores) บางชนิดมีการพึ่งพาอาศัยอยู่ร่วมกับสัตว์อื่น และพืชอีกหลายชนิด แหล่งพลังงานที่สำคัญของมดที่จะใช้ในการออกหาอาหารคือน้ำหวานหรือน้ำตาล จึงพบว่ามีมดที่พึ่งพาอาศัยเพลี้ยแป้ง โดยอาศัยมูลน้ำหวาน (honeydew) ที่เพลี้ยแป้งขับถ่ายออกมา มดเหล่านี้จะนำไปเป็นอาหาร ขณะเดียวกันมดจะช่วยดูแลปกป้องเพลี้ยแป้งจากศัตรูที่จะเข้ามาทำลายหรือกินเพลี้ยแป้งนอกจากนี้เพลี้ยแป้งในระยะตัวอ่อนวัยที่ 1 (crawler) บางชนิดพบมดเป็นตัวนำพาไปยังพืชต้นอื่นๆ ในบริเวณเดียวกันได้ จึงเป็นปัจจัยหนึ่ง ที่ทำให้เพลี้ยแป้งแพร่กระจายในพื้นที่เกษตรทั้งพืชไร่และพืชสวน เพลี้ยแป้งบางชนิดเป็นศัตรูสำคัญทางด้านกักกันพืช เช่น *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero ซึ่งเป็นศัตรูพืชที่สำคัญของมันสำปะหลังในแอฟริกาใต้ เมื่อไรก็ตามที่เพลี้ยแป้งเหล่านี้บังเอิญเล็ดลอดไปสู่พื้นที่เพาะปลูกแหล่งใหม่ที่ปราศจากศัตรูธรรมชาติก็จะแพร่ขยายพันธุ์เกิดการระบาดและอาจทำความเสียหายอย่างรุนแรงให้กับมันสำปะหลังและพืชชนิดอื่น ๆ ในพื้นที่เพาะปลูกแหล่งใหม่นั้น ปัจจุบันในหลายประเทศมีการศึกษาความสัมพันธ์ของมดและเพลี้ยแป้ง ทำให้สามารถทราบถึง

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-13-54

ลักษณะของชีววิทยา และรูปแบบความสัมพันธ์ของมดกับเพลี้ยแป้งที่ปรากฏในพืชต่างๆ สำหรับในประเทศไทยไม่มีข้อมูลรายละเอียดต่างๆ ของชนิดมดที่ปรากฏร่วมกับเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus* ดังนั้นการศึกษาชนิดมดที่ปรากฏร่วมกับเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus* ในครั้งนี้ ข้อมูลที่ได้จะเป็นประโยชน์อย่างมากในการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการจัดการ และป้องกันกำจัดมดและเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus* ที่ถูกต้องและเหมาะสมต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างมดและเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus*

2. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างมดและเพลี้ยแป้ง ได้แก่ แอลกอฮอล์ 70 – 80% ปากคีบ พู่กัน ขวดดองตัวอย่างแมลง คัตเตอร์ กรรไกรตัดกิ่ง กล่องพลาสติก ถุงกระดาษและถุงพลาสติก

3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการจัดรูปร่างมด ได้แก่ เข็มไร้สนิมแมลง กระดาษสามเหลี่ยม กาวลาเท็กซ์ ไม้จัดรูปร่างแมลง ตู้อบ

4. อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวรเพลี้ยแป้ง ได้แก่ สารเคมีต่างๆ เช่น alcohol 70 %, potassium hydroxide 10%, hydrochloric acid, glacial acetic acid, xylene, carbolic acid, acid fuchsin, N-butyl alcohol, clove oil และ Canada balsam เข็มเขี่ย แผ่นสไลด์แก้ว แผ่นแก้วปิดสไลด์ กล่องใส่สไลด์ถาวร

5. กล้องจุลทรรศน์ compound microscope และ stereo microscope และกล้องถ่ายภาพ

7. เอกสารประกอบการจำแนกชนิดมดและเพลี้ยแป้ง

วิธีการ

1. สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างมดที่พบอยู่ร่วมกับเพลี้ยแป้ง จากแหล่งปลูกพืชต่างๆ เก็บตัวอย่างมดที่พบอยู่ร่วมกับเพลี้ยแป้งใส่ในกล่องพลาสติกหรือถุงกระดาษ

2. นำตัวอย่างมดและเพลี้ยแป้งที่เก็บรวบรวมได้ มาตรวจดูลักษณะภายนอกด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope ถ่ายภาพและบันทึก รายละเอียด เช่น ขนาด รูปร่างลักษณะและสี เป็นต้น แล้วดองในแอลกอฮอล์ 80% สำหรับมด นำไปจัดรูปร่าง ใช้เข็มไร้สนิมปักที่กึ่งกลางบริเวณอกถ้าเป็นตัวขนาดใหญ่ แต่ถ้าขนาดเล็กนำติดกระดาษสามเหลี่ยมขนาดเล็ก (card point) และสำหรับเพลี้ยแป้งนำไปทำสไลด์ถาวรเพื่อจำแนกชนิด นำไปอบให้แห้ง

3. ตรวจจำแนกชนิดมดที่จัดรูปร่างและอบแห้งแล้ว โดยอาศัยหลักการทางด้านอนุกรมวิธาน และวาดรูปแสดงลักษณะสำคัญที่ใช้ในการจำแนกแต่ละชนิด พร้อมภาพประกอบ เขตการแพร่กระจาย และจัดเก็บในพิพิธภัณฑ์ นำตัวอย่างมดที่จำแนกชนิดแล้วให้จัดเก็บลงในกล่องกระดาษสี่เหลี่ยมสีขาว จัดเรียงตามอักษรของลำดับ ชนิด นำจัดเข้าลิ้นชักในตู้เก็บแมลง บันทึกข้อมูลแต่ละตัวอย่างบนแผ่น

ป้ายบันทึกกำกับตัวอย่าแมลง (labeling specimen) เช่น ชนิดเพลี้ยแป้งที่พบอยู่ร่วมกัน วัน เดือน ปี สถานที่และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง

4. ตรวจจำแนกชนิดเพลี้ยแป้ง บนแผ่นสไลด์ถาวร ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope ที่มีกำลังขยายสูง โดยอาศัยหลักการทางด้านอนุกรมวิธาน และวาดรูปแสดงลักษณะสำคัญที่ใช้ในการจำแนกแต่ละชนิด พร้อม เขตการแพร่กระจายและพืชอาหารของแต่ละชนิดและ การบันทึกรายละเอียดบนแผ่นสไลด์ที่อบแห้งแล้วโดยวางแผ่นสไลด์หันด้านหัวของเพลี้ยหอยเข้าหาตัว ด้านขวาเขียนรายละเอียดเกี่ยวกับพืชอาหาร ชนิดมดที่พบอยู่ร่วมกัน วัน เดือน ปี สถานที่และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง ด้านซ้ายมือเขียนชื่อวิทยาศาสตร์ เพศ วันเดือนปี ที่ทำสไลด์และชื่อผู้จำแนก ควรลงรายละเอียดดังกล่าวเป็นภาษาอังกฤษ

5. จัดเก็บตัวอย่างมดที่จัดรูปร่างและอบแห้ง รวมทั้งเพลี้ยแป้งในกล่องใส่สไลด์ถาวร ไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลงโดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามหลักสากล

เวลาสถานที่

เวลา เดือนตุลาคม 2553 **ถึง** เดือนกันยายน 2554

สถานที่ 1. แหล่งปลูกพืชจังหวัดต่างๆ

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตวิวทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการเก็บรวบรวมมดที่อาศัยร่วมกับเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus* ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 พบมด จำนวน 4 ชนิด คือ มดคันไฟ; Fire ant: *Solenopsis geminata* Fabricius ใน จ. กาญจนบุรี มดโล่บ้าน; *Meranoplus bicolor* Guérin-Méneville, พบใน จ.กาญจนบุรี และ นครราชสีมา มดน้ำผึ้ง; *Anoplolepis gracilipes* Fr.Smith, พบใน จ.นครราชสีมา มดเหม็น; *Tapinoma melanocephalum* Fabricius พบในจ.กาญจนบุรี และปราจีนบุรี และพบเพลี้ยแป้ง จำนวน 2 ชนิด คือ เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีเขียว; Madeira mealybug: *Phenacoccus madeirensis* Green, พบใน จ. นครราชสีมา เพลี้ยแป้ง: Solenopsis mealybug: *P. solenopsis* Tinsley พบใน จ. กาญจนบุรี การศึกษานี้ยังไม่สิ้นสุดจะต้องดำเนินการต่อไปในปี 2555 โดยสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างมดที่อาศัยร่วมกับเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus* จากแหล่งอื่นๆ ให้ครอบคลุมทุกภูมิภาคของประเทศ บันทึกรายละเอียดของมดที่อาศัยร่วมกับเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus* และจัดเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาชนิดของมดที่อาศัยร่วมกับเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus* ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 พบมด จำนวน 4 ชนิด คือมดคันไฟ; Fire ant: *Solenopsis geminata* Fabricius มดโล่บ้าน; *Meranoplus bicolor* Guérin-Méneville มดน้ำผึ้ง;

Anoplolepis gracilipes Fr.Smith, มดเหม็น; *Tapinoma melanocephalum* Fabricius และพบเพลี้ยแป้ง จำนวน 2 ชนิด คือ เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีเขียว; Madeira mealybug: *Phenacoccus madeirensis* Green เพลี้ยแป้ง; Solenopsis mealybug: *P. solenopsis* Tinsley การศึกษานี้ยังไม่สิ้นสุดจะต้องดำเนินการต่อไปในปี 2555

เอกสารอ้างอิง

Hollodobler, S. O. and E. O. Wilson. 1990. Ants. Springer Verlage, Berlin. 732 pp.

Pitaksa,C., A. Chantarasuwan and A. Kongkanjana. 1998. Ant Control in Pineapple Field .The Third International Pineapple Symposium, November 17-20, Pattaya, Thailand.

ชีววิทยา การเข้าทำลาย ฤดูกาลระบาดของแมลงวันทองชนิด *Bactrocera cucurbitae* (Coquillet)

สัญญาณี ศรีคชา วิภาดา ปลอดครบุรี ยุวรินทร์ บุญทบ เกรียงไกร จำเริญมา
กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาวงจรชีวิตในห้องปฏิบัติการโดยมีอุณหภูมิเฉลี่ย 23.10±1.27 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพันธ์เฉลี่ย 91.07±0.25 เปอร์เซ็นต์ พบว่าตัวเต็มวัยเพศเมียจะเริ่มจับคู่ผสมพันธุ์เมื่ออายุ 14 วัน โดยวางไข่เป็นฟองเดี่ยวๆ หรือกลุ่มๆ ละ 2-3 ฟอง ตัวเมีย 1 ตัว สามารถวางไข่ได้ 376-453 ฟอง มีเปอร์เซ็นต์การฟัก 78% ระยะไข่ 3-4 วัน หนอนมี 3 ระยะ ระยะหนอน 8-9 วัน ระยะดักแด้ 9-10 วัน ตัวเต็มวัยเพศเมียอายุ 79-120 วัน และตัวเต็มวัยเพศผู้มีอายุ 86-132 วัน

คำนำ

แมลงวันทอง *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) เป็นศัตรูพืชที่สำคัญของพืชผักหลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพืชตระกูลแตง (Family Cucurbitaceae) ซึ่งเป็นพืชผักที่สำคัญทางเศรษฐกิจ มีพื้นที่ปลูกประมาณ 534,000 ไร่ พืชที่สำคัญได้แก่ แตงโม แตงกวา มะระ ฟักทอง ฟักเขียว บวบ และแคนตาลูป ในแต่ละปีมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์แตงโมคิดเป็นมูลค่ากว่า 340 ล้านบาท การผลิตพืชผักตระกูลนี้มีทั้งเพื่อบริโภคเองภายในประเทศ และเพื่อการส่งออก เช่น แตงกวามีทั้งการผลิตเพื่อบริโภคผลสด และแปรรูปเป็นผักดองส่งขายต่างประเทศ เช่นญี่ปุ่น นอกจากนี้ยังมีมะระที่ผลิตสำหรับการส่งออก จะเห็นได้ว่าพืชตระกูลแตงเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญทำรายได้ดี และมีศักยภาพในการส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศ แต่เนื่องจากการปลูกพืชตระกูลแตงในประเทศไทย มักประสบกับปัญหาจากการทำลายของแมลงวันทอง ซึ่งชนิดที่สำคัญคือ Melon fly, *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) ซึ่งเป็นแมลงวันทองที่มีขนาดใกล้เคียงกับ แมลงวันทองชนิด *Bactrocera dorsalis* (Hendel) แต่ลำตัวมีสีน้ำตาลอ่อนอมส้ม มีแถบสีเหลืองบนอกด้านสันหลัง จำนวน 3 แถบ ปีกมีแถบสีดำตามแนวขวางของปีก ปลายปีกมีแถบสีดำหนาจนดูเป็นจุดที่ปลายปีก แมลงชนิดนี้มีการเคลื่อนไหวเชื่องช้า และมีระดับการบินต่ำ สูงจากพื้นดิน ประมาณ 0.5-1.5 เมตร เป็นแมลงวันทองที่มีเขตแพร่กระจายทั่วไปในทุกภาคของประเทศไทย ทำลายพืชผักตระกูลแตง มีพืชอาหารกว่า 28 ชนิด เป็นแมลงที่พบการแพร่กระจายเกือบตลอดทั้งปีในประเทศไทย มีพืชอาศัยมากกว่า 21 ชนิด ได้แก่ ชะมดต้น ฟัก มะละกอ แตงโม ตำลึง แตงกวา ฟักทอง ตะโกนา กะดอม ขี้กาดง บวบเหลี่ยม บวบกลม มะเขือเทศ มะระขี้นก กะทกรก บวบงู ขี้กาแดง กระดึงช้าง ขี้กาดิน ถั่วฝักยาว พุทราจีน (กองกีฏและสัตววิทยา, 2544) นอกจากนี้ แสน (2529) รายงานว่า *B. curcubitae* (Coquillett) สามารถลง

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-14-54

ทำลายพืชตระกูลแตงได้ 10 ชนิด คือ ฟัก แตงโม ตำลึง แตง แตงกวา ฟักทอง บวบเหลี่ยม บวบกลม บวบงู และมะระขี้นก

B. cucurbitae จะเข้าทำลายทำให้ผลผลิตเสียหาย คุณภาพต่ำ เกษตรกรจึงต้องทำการป้องกันกำจัดทั้งก่อนและหลังเก็บเกี่ยว ซึ่งเป็นการเพิ่มต้นทุนการผลิต และการป้องกันกำจัดแมลงวันทองโดยใช้สารฆ่าแมลงอย่างต่อเนื่องจนเก็บเกี่ยว ก่อให้เกิดปัญหาสารพิษตกค้างในผลผลิตและสภาพแวดล้อม นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดปัญหาด้านกักกันพืช และถูกใช้เป็นเครื่องมือกีดกันทางการค้าของต่างประเทศ เช่น ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา กลุ่มสหภาพยุโรป ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ เกาหลีใต้ ไต้หวัน และจีน จะเห็นได้ว่าแมลงวันทองเป็นปัญหาในระดับประเทศที่ต้องให้ความสำคัญ ในการศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับแมลงวันทอง ทั้งทางด้านชีววิทยา นิเวศน์วิทยา ช่วงฤดูการแพร่ระบาด และการเข้าทำลายของแมลงวันทอง เพื่อจะได้ใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับหาทางป้องกันกำจัดเป็นการช่วยลดความเสียหายของผลผลิต และให้ผลผลิตมีคุณภาพตรงตามความต้องการของตลาด

อุปกรณ์และวิธีการ

1. สำรวจชนิดแมลงวันผลไม้ที่ลงพืชตระกูลแตง

โดยเก็บรวบรวมผลพืชตระกูลแตงเช่น ฟัก ฟักทอง แตงกวา มะระ แตงโม เมล่อน ที่ถูกแมลงวันผลไม้ทำลายจากแหล่งปลูกต่างๆ โดยนำมาชั่งน้ำหนัก และนับจำนวน บันทึกวัน/เดือน/ปี ระยะพืช และสถานที่เก็บตัวอย่าง จากนั้นนำมาเลี้ยงต่อในห้องปฏิบัติการ โดยนำผลใส่ในกล่องพลาสติกขนาด 22x29x10 เซนติเมตร ที่รองก้นกล่องด้วยขี้เลื่อยที่มีความชื้น สูงประมาณ 1 นิ้ว รอจนหนอนแมลงวันผลไม้ออกมาเข้าดักแด้ในขี้เลื่อยประมาณ 10 วัน จากนั้นใช้ตะแกรงรอนเบอร์ 20 ร่อนแยกดักแด้ออกจากขี้เลื่อย แล้วนำดักแด้ใส่ในกล่องพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 เซนติเมตร สูง 5 เซนติเมตร คลุมทับด้วยขี้เลื่อยที่มีความชื้น สูงประมาณ ½ นิ้ว จากนั้นนำไปไว้ในกรงเลี้ยงแมลงขนาด 0.35x0.35x0.50 เมตร ที่ภายในมีน้ำและอาหารสำหรับตัวเต็มวัย (Brewer's yeast และน้ำตาลไอซ์ซิ่ง อัตรา 1:4) เมื่อตัวเต็มวัยมีอายุประมาณ 7-10 วัน ทำการฆ่าโดยนำตัวเต็มวัยใส่ในหลอดแก้วแช่ในช่องทำน้ำแข็ง (freezer) นาน 4-5 ชั่วโมง แล้วนำไปจำแนกชนิดและตรวจนับจำนวน

2. การศึกษาชีววิทยาของแมลงวันผลไม้ชนิด *B. cucurbitae*

ทำการเก็บรวบรวมผลพืชตระกูลแตงที่ถูกแมลงวันผลไม้เข้าทำลายจากแหล่งปลูก จากนั้นนำมาเลี้ยงต่อในห้องปฏิบัติการ เมื่อได้แมลงวันผลไม้ชนิด *B. cucurbitae* จึงนำมาเลี้ยงขยายพันธุ์ต่อจนได้รุ่นที่ 1 (F1) จากนั้นทำการศึกษา

2.1 วงจรชีวิตของแมลงวันผลไม้ชนิด *B. cucurbitae* โดยดำเนินการศึกษาวงจรชีวิตในระยะต่างๆ ดังนี้

ระยะไข่ ศึกษาอายุของไข่ด้วยการทำ Hatching Rate โดยเขี่ยไข่ลงบนกระดาษกรองเบอร์ 91 ที่ให้ความชื้นตลอดเวลา แล้วเก็บไว้ในจานเลี้ยงเชื้อขนาด

เส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร จากนั้นตรวจนับและบันทึกจำนวนหนอนที่ฟักออกจากไข่ทุก 6 ชั่วโมง ทำ 5 ซ้ำๆ ละ 100 ฟอง

ระยะหนอน ศึกษาอายุและลักษณะของหนอนวัยต่างๆ โดยเลี้ยงหนอนในผลแตงกวา บันทึกขนาด ลักษณะ และการตายของหนอนวัยต่างๆ โดยศึกษาจากหนอน 100 ตัว

ระยะดักแด้ ศึกษาอายุและลักษณะของดักแด้ โดยทำการบันทึกขนาด และลักษณะของดักแด้ โดยศึกษาจากดักแด้ 100 ดักแด้

ระยะตัวเต็มวัย ศึกษาอายุขัย การผสมพันธุ์ การวางไข่ และลักษณะของตัวเต็มวัย โดยเลี้ยงแมลงวันผลไม้ชนิด *B. cucurbitae* เพศผู้ 1 ตัวและเพศเมีย 1 ตัว ในกล่องพลาสติกขนาด 21x15x8 เซนติเมตร ที่ภายในมีน้ำ อาหาร และกระบอกพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 เซนติเมตร สูง 4.5 เซนติเมตร เจาะรูขนาดเล็กจำนวน 20 รู ภายในกระบอกใส่ชิ้นฟักเพื่อล่อให้แมลงวางไข่ บันทึกปริมาณการวางไข่ทุกวันจนตัวเต็มวัยเพศเมียตาย นอกจากนี้ทำการบันทึกลักษณะตัวเต็มวัยทั้งเพศผู้และเพศเมีย ลักษณะการจับคู่ผสมพันธุ์ และการตายของตัวเต็มวัย โดยศึกษาจากแมลงวันผลไม้จำนวน 10 คู่

2.2 ตารางชีวิต (Life table) ของแมลงวันผลไม้ชนิด *B. cucurbitae* ทำการศึกษาโดยเจาะรูขนาด 1x1x1 เซนติเมตร บนผลแตงกวา จากนั้นนำกระดาษสีดำขนาด 0.5x0.5 เซนติเมตรวางในช่องที่เจาะไว้ แล้วจึงนำไข่ของแมลงวันผลไม้ชนิด *B. cucurbitae* วางในกระดาษจำนวน 100 ฟองต่อผล ทำ 3 ซ้ำ จากนั้นทำการปิดช่องที่เจาะไว้ด้วย parafilm บันทึกจำนวนไข่ที่ฟัก หนอนวัยต่างๆ ดักแด้ และตัวเต็มวัย แล้วนำมาคำนวณตามวิธีของ Southwood (1966)

3. การศึกษานิเวศน์วิทยาของแมลงวันผลไม้ชนิด *B. cucurbitae*

3.1 การศึกษาช่วงฤดูการระบาดของแมลงวันผลไม้ชนิด *B. cucurbitae* ทำการติดตั้งกับดักแมลงวันผลไม้แบบ Steiner ซึ่งภายในแขวนก้อนสำลีชุบสาร Cur-lure ผสมสารฆ่าแมลง malathion (ไดมาร์ค 83% EC) ในอัตรา 4:1 โดยปริมาตร จำนวน 8 กับดักต่อพื้นที่ 1 ไร่ โดยนำไปแขวนในแปลงปลูก เก็บแมลงวันผลไม้ในกับดักออกทุกสัปดาห์ หลังจากนั้นทำการจำแนกชนิดและบันทึกจำนวนที่พบ

3.2 การศึกษาระยะการเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้ในผลชมพู่ โดยทำการเก็บผลแตงกวาในระยะต่างๆ จากแปลงปลูกมาผ่าเพื่อตรวจสอบการเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้ทุกสัปดาห์ บันทึกชนิด จำนวน สัดส่วนเพศเมียและเพศผู้ของแมลงวันผลไม้ที่พบ ปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์

3.3 สำรวจศัตรูธรรมชาติที่ทำลายแมลงวันผลไม้ชนิด *B. cucurbitae* ในแหล่งปลูก โดยทำการสำรวจและเก็บรวบรวมศัตรูธรรมชาติจากแปลงปลูกพืชตระกูลแตง จากนั้นจำแนกชนิดและบันทึกจำนวนที่พบ

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2553 – กันยายน 2554

ห้องปฏิบัติการกลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

แปลงปลูกพืชตระกูลแตง จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ และสุพรรณบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

วงจรชีวิตของแมลงวันผลไม้ *B. cucurbitae* ดำเนินการศึกษาในปี พ.ศ. 2554 ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรุงเทพมหานคร โดยมีอุณหภูมิเฉลี่ย 23.10$\pm$1.27 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพันธ์เฉลี่ย 91.07$\pm$0.25 เปอร์เซ็นต์ จากการศึกษาชีววิทยาของ *B. cucurbitae* บนผลแตงกวาสด พบว่าการเจริญเติบโตของแมลงชนิดนี้แบ่งออกเป็น 4 ระยะ คือ

ระยะไข่ ตัวเต็มวัยเพศเมียจะวางไข่เป็นฟองเดี่ยวๆ หรือเป็นกลุ่มๆ ละ 2-3 ฟอง บนผลแตงกวา ไข่มีสีขาวผิวเป็นมันสะท้อนแสง รูปร่างคล้ายผลกล้วย มีขนาดเล็ก เมื่อใกล้ฟักจะมีสีขาวขุ่น ระยะไข่ 3-4 วัน ไข่มีเปอร์เซ็นต์การฟักสูงถึง 78%

ระยะหนอน หนอนมีลักษณะหัวแหลม ท้ายป้าน ไม่มีขา ส่วนหัวมีลักษณะเป็นตะขอแข็งสีดำ เมื่อฟักออกจากไข่ใหม่ๆ ลำตัวใสส่วนหัวที่เป็นตะขอมีสีน้ำตาล ตัวหนอนเคลื่อนที่โดยการยืดหดลำตัว หนอนมี 3 วัย ระยะหนอน 8-9 วัน

ระยะดักแด้ ดักแด้มีลักษณะกลมรีคล้ายถังเบียร์ ลำตัวเป็นปล้องๆ ตามแนวขวาง ดักแด้ในระยะแรกมีสีขาวและค่อยๆ เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอ่อนแล้วสีจะค่อยๆ เข้มขึ้นเมื่อดักแด้ใกล้ฟัก ระยะนี้แมลงไม่มีการเคลื่อนไหว ดักแด้อาศัยในดินลึกประมาณ 2.0-5.0 เซนติเมตร ระยะดักแด้ 9-10 วัน

ระยะตัวเต็มวัย ตัวเต็มวัยเป็นแมลงวันมีสีน้ำตาลแดงทั้งลำตัวและขา มีแถบสีเหลืองที่ส่วนอก ปีกบางใสสะท้อนแสงที่ปลายปีกมีจุด ระยะนี้จะไม่ทำลายพืช กินน้ำหวาน โปรตีน และวิตามิน ที่ได้จากสิ่งขับถ่ายจากแมลง นก น้ำยางจากแผลของต้นไม้ น้ำหวานจากพืช และเชื้อจุลินทรีย์บนพื้นดิน ตัวเต็มวัยหลังจากออกจากดักแด้ประมาณ 14 วัน จึงเริ่มจับคู่ผสมพันธุ์และเริ่มวางไข่ โดยวางไข่ในผลของพืชอาศัย ตัวเต็มวัยเพศเมียมีความสามารถในการวางไข่ตลอดอายุขัยได้ 376-453 ฟอง ตัวเต็มวัยเพศเมียมีอายุ 79-120 วัน ตัวเต็มวัยเพศผู้มีอายุ 86-132 วัน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาวงจรชีวิตในห้องปฏิบัติการโดยมีอุณหภูมิเฉลี่ย 23.10±1.27 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพันธ์เฉลี่ย 91.07±0.25 เปอร์เซ็นต์ พบว่าตัวเต็มวัยเพศเมียจะเริ่มจับคู่ผสมพันธุ์เมื่ออายุ 14 วัน โดยวางไข่เป็นฟองเดี่ยวๆ หรือกลุ่มๆ ละ 2-3 ฟอง ตัวเมีย 1 ตัว สามารถวางไข่ได้ 376-453 ฟอง มีเปอร์เซ็นต์การฟัก 78% ระยะไข่ 3-4 วัน หนอนมี 3 ระยะ ระยะหนอน 8-9 วัน ระยะดักแด้ 9-10 วัน ตัวเต็มวัยเพศเมียอายุ 79-120 วัน และตัวเต็มวัยเพศผู้มีอายุ 86-132 วัน

เอกสารอ้างอิง

กองกีฏและสัตววิทยา. 2544. แมลงวันทองในประเทศไทย. เอกสารวิชาการกองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 244 หน้า.

แสน ติกวัฒนานนท์. 2529. พืชอาหารของแมลงวันทองชนิดต่างๆในประเทศไทย. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า ปีที่ 4 ฉบับที่ 1 มกราคม – เมษายน 2529. หน้า 1-15

Southwood, T.R.E. 1966. Ecological Methods with Particular Reference to the Study of Insect Population. London. 361 pp.

สัณฐานวิทยาของเปลือกและกายวิภาคศาสตร์ระบบสืบพันธุ์ ของหอยเจดีย์เล็ก *Lamellaxis gracilis* และหอยเจดีย์ใหญ่ *Prosopea walkeri* (Benson)

Shell morphology and reproductive anatomical studies of *Lamellaxis gracilis* and *Prosopea walkeri* (Benson)

ดาราพร รินทะรักษ์ ปิยาณี หนูกาฬ ปราสาททอง พรหมเกิด

สมเกียรติ กล้าแข็ง ทรงทัพ แก้วตา

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

เริ่มดำเนินการสำรวจและเก็บตัวอย่างหอยเจดีย์เล็ก; *Lamellaxis gracilis* และหอยเจดีย์ใหญ่; *Prosopea walkeri* ได้ตัวอย่างหอยจำนวน 750 ตัว และ 1,500 ตัว ตามลำดับ โดยสำรวจตามพื้นที่เกษตรกรรมภาคต่างๆของประเทศไทย ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 นำมาจำแนกชนิดตามระบบอนุกรมวิธานของหอย โดยยึดหลักของ Abbott (1989), Panha (1996), Hemmen and Hemmen (2001) และ Vaught (1989) พบว่าทั้งหอยเจดีย์เล็กและหอยเจดีย์ใหญ่จัดอยู่ใน Class Gastropoda , Order Stylommatophora, Family Subulinidae แต่ถูกจำแนกคนละ Genus กล่าวคือหอยเจดีย์เล็กจัดอยู่ใน Genus *Lamellaxis,* Species: *Lamellaxis gracilis* ส่วนหอยเจดีย์ใหญ่จัดอยู่ใน Genus *Prosopeas*, Species: *Prosopeas walkeri*

จากการศึกษาสัณฐานวิทยาของเปลือกหอยเจดีย์เล็ก และหอยเจดีย์ใหญ่ พบว่า หอยเจดีย์เล็กตัวเต็มวัย มีขนาด 5.42 -9.91 มิลลิเมตร (n= 42) มีจำนวน 6-7 whorl เปลือกสีน้ำตาลโปร่งแสง และเป็นมันวาว ยอดเปลือกแหลม จำนวนไข่ 2-13 ฟอง ขึ้นอยู่กับอายุและขนาดของตัวเต็มวัยแต่ละตัว และหอยเจดีย์ใหญ่ ตัวเต็มวัย มีขนาด 12.33 -24.45 มิลลิเมตร (n= 60) มีจำนวน 7-8 whorl เปลือกสีน้ำตาลค่อนข้างโปร่งแสง เปลือกเป็นมันวาวน้อยกว่าหอยเจดีย์เล็ก ยอดเปลือกทู่มน จำนวนไข่ 4-15 ฟอง ขึ้นอยู่กับอายุและขนาดของตัวเต็มวัยแต่ละตัว โดยยังต้องวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS และการวิเคราะห์ ANOVA พร้อมกับเปรียบเทียบกายวิภาคระบบสืบพันธุ์ ของหอยทั้ง 2 ชนิด ในปี 2555 ต่อไป

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-15-54

คำนำ

รายงานการศึกษาชนิดหอยทากบกในประเทศไทย เริ่มตั้งแต่ทศวรรษที่ 19 โดย Martens (1860) รายงานว่าในประเทศไทย มีหอยทากบกกลุ่มที่ไม่มีฝาปิด (pulmonate snail) จำนวน 17 ชนิด และ Panha (1996) พบว่าปัจจุบันประเทศไทยมีหอยทากบกกลุ่มที่ไม่มีฝาปิด มากถึง 15 วงศ์ (family) 50 สกุล (genus) และมีจำนวนมากกว่า 136 ชนิด (species) ชมพูนุทและคณะ (2538) สำรวจพบว่าหอยทากที่เป็นศัตรูพืชในประเทศไทย มีอยู่หลายชนิด โดยหอยทากบกชนิดที่จัดเป็นศัตรูกล้วยไม้ ได้แก่ หอยทากยักษ์อาฟริกา *Achatina fulica*, หอยดักดาน *Cryptozona siamensis*, หอยทากสาริกา *Sarika* sp., หอยเจดีย์เล็ก *Lamellaxis gracilis* , หอยอำพันหรือหอยเล็บ *Succinea* sp. และหอยเลขหนึ่ง *Ovachlamys fulgens* ภายหลังมีการสำรวจ พบหอยเจดีย์ใหญ่ ในสวนกล้วยไม้และสวนไม้ดอกไม้ประดับอื่นๆ อีกหลายชนิด ซึ่งทั้งหอยเจดีย์ใหญ่และหอยเจดีย์เล็ก จัดเป็นหอยทากบกขนาดเล็ก ที่อยู่ในชั้น Gastropoda ชั้นย่อย Pulmonata อันดับ Stylommatophora ตัวเต็มวัยแต่ละตัวสามารถสร้างอวัยวะสืบพันธุ์ได้ทั้งเพศผู้และเพศเมีย ซึ่งเป็นลักษณะทั่วไปของหอยในอันดับ Stylommatophora (Tompa,1984)

ในงานทางด้านอนุกรมวิธานของสัตว์ในกลุ่มหอยทากบกนั้น เดิมจะใช้ข้อมูลเกี่ยวกับสัณฐานวิทยาของเปลือกในการจำแนกเป็นหลัก เช่น รูปทรงเปลือก ทิศของการขดวน ขนาดเปลือก สีสัน และลวดลาย เป็นต้น ซึ่งในบางครั้งทำให้เกิดปัญหาในการจำแนก เนื่องจากเปลือกของหอยทากแต่ละชนิดมีความผันแปรมาก ทำให้การจำแนก ชนิดโดยใช้สัณฐานวิทยาของเปลือกเพียงอย่างเดียว มีความซับซ้อน สับสน และขาดความชัดเจน โดยเฉพาะอย่างยิ่งหอยทากที่มีรูปทรงและขนาดของเปลือกใกล้เคียงกัน เช่นหอยเจดีย์เล็ก *Lamellaxis gracilis* และหอยทากกินเนื้อสีชมพู *Gulella bicolor* (Dundee and Baerwald, 1984) และเนื่องจากข้อมูลทางสัณฐานวิทยาของเปลือกหอยทากหลายกลุ่ม ยังไม่สมบูรณ์มากพอที่จะใช้แยกหอยทากบกได้ทุกชนิด ดังนั้นการใช้ลักษณะอื่นๆ อาทิ เช่น การศึกษาระดับโครโมโซม การใช้เทคนิคทางด้านมอร์โฟเมตริก (morphometrics) หรือกายวิภาคศาสตร์ อาจช่วยให้การจำแนก มีความชัดเจนและแม่นยำมากยิ่งขึ้น

และเนื่องจากในปัจจุบัน มีการศึกษาข้อมูลในระดับกายวิภาคของหอยทากบกน้อยมาก ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้ จึงมุ่งเน้นศึกษาข้อมูลระดับกายวิภาคของอวัยวะระบบสืบพันธุ์ เพื่อประกอบกับการศึกษาเปรียบเทียบสัณฐานวิทยาของเปลือก ซึ่งจะเป็นอีกวิธีการหนึ่งที่ช่วยให้งานทางด้านอนุกรมวิธานมีความสมบูรณ์ ชัดเจนยิ่งขึ้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างหอย ได้แก่ กล่องพลาสติกขนาดต่างๆ สเปรย์ฉีดน้ำ ถุงมือแพทย์ คีมคีบ พู่กัน ไฟฉาย กระดาษทิชชูอเนกประสงค์

- อุปกรณ์สำหรับเพาะเลี้ยงหอย ได้แก่ ตู้กระจกขนาด 25x40x26 เซนติเมตรและวัสดุรองตู้กระจกได้แก่ ขุยมะพร้าวและดินอัตราส่วน 1:1

- อุปกรณ์สำหรับศึกษาชีววิทยา ได้แก่ กล่องพลาสติกขนาด 15.5x22x7 เซนติเมตร และขนาด 6.5x9.5x2 เซนติเมตร พร้อมกระป๋องฉีดน้ำ

- อาหารสำหรับหอยทดลอง เช่น อาหารปลา ผักสดชนิดต่างๆ เช่น ผักกาดขาว แตงกวาฯลฯ

- เครื่องมือและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น เวอร์เนียร์ thermo-hygrometer, forceps

- อุปกรณ์ประกอบการถ่ายภาพ ได้แก่ กล้องถ่ายภาพดิจิตอล ฟิล์มสี และกล้องจุลทรรศน์

- เอกสารประกอบการศึกษาชีววิทยาหอยทาก

วิธีการ

มีขั้นตอนการทดลอง ดังนี้

1. <u>สำรวจ /รวบรวม/ เก็บตัวอย่าง /บันทึกเขตการแพร่กระจาย และทำแผนที่การกระจายของหอยเจดีย์เล็ก และหอยเจดีย์ใหญ่</u>

สำรวจ หอยทั้งสองชนิดตามพื้นที่ๆกำหนด เช่น ในพื้นที่ป่าธรรมชาติ พื้นที่ปลูกกล้วยไม้ในเขตภาคตะวันออก ภาคตะวันตก ภาคเหนือ และภาคกลาง เพื่อจัดทำแผนที่การกระจายพันธุ์ของหอยเจดีย์เล็ก และหอยเจดีย์ใหญ่ และเก็บตัวอย่างมาเพาะเลี้ยงเพื่อให้หอยปรับสภาพในตู้กระจกของห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานวิจัยสัตววิทยาการเกษตร

2 <u>เตรียมสถานที่สำหรับเพาะเลี้ยงหอยเจดีย์เล็ก และเจดีย์ใหญ่เพื่อศึกษาชีววิทยา</u>

ใช้ตู้กระจก ขนาด กว้างxยาวxสูง เท่ากับ 25x40x26 เซนติเมตร รองพื้นตู้กระจกด้วยดิน ผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ให้สูงจากพื้นตู้กระจกประมาณ 5 เซนติเมตร โดยวางกาบมะพร้าวไว้ในตู้กระจกสำหรับให้หอยวางไข่ให้ความชื้นโดยฉีดพ่นน้ำอย่างสม่ำเสมอ

3. <u>ตรวจสอบชนิด และสัณฐานวิทยาของเปลือกของหอยเจดีย์เล็ก และเจดีย์ใหญ่</u>

นำตัวอย่างที่ได้มาวิเคราะห์ชื่อตามระบบอนุกรมวิธานของหอย เปรียบเทียบกับเอกสารหอยทากบกทั้งในและต่างประเทศ โดยยึดหลักของ Abbott (1989), Panha (1996), Vaught (1989) และ Hemmen and Hemmen (2001)

4. <u>ศึกษาสัณฐานวิทยาเปลือกและกายวิภาคระบบสืบพันธุ์ของหอยเจดีย์เล็ก และเจดีย์ใหญ่</u>

โดยการสังเกต เปรียบเทียบ ถ่ายภาพและวาดภาพในห้องปฏิบัติการ โดยมีขั้นตอนดังนี้

4.1 ทำความสะอาดเปลือกหอยเจดีย์เล็กและเจดีย์ใหญ่ ด้วยน้ำอุ่น โดยใช้พู่กันหรือแปรงขนาดเล็ก ปัดคราบดินและคราบสกปรกอื่นๆ

4.2 นำตัวอย่างเปลือกหอยทั้ง 2 ชนิด มาผึ่งให้แห้ง ในที่มีอากาศถ่ายเท

4.3 ใช้สำลีชุบน้ำยาพาราฟินเหลว (liquid paraffin) เพื่อรักษาสีสัน และลวดลายของเปลือกหอย

4.4 นำตัวอย่างเปลือกหอย ทั้ง 2 ชนิดๆ ละ 10-15 เปลือก มาวัดค่า shell length, shell width, last whorl height, aperture length และ aperture width ด้วยเวอร์เนีย จากนั้นจึงเข้าสู่การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยใช้ ANOVA จากโปรแกรม SPSS

4.5 ศึกษากายวิภาคศาสตร์ของระบบสืบพันธุ์เจดีย์เล็ก และเจดีย์ใหญ่ โดยนำตัวอย่างหอย ที่ยังมีชีวิตมาทำให้อวัยวะภายในเปลือกยืดตัวโดยใช้ suffocation technique จนกระทั่งหอยมีการยืดตัวเต็มที่ และไม่ตอบสนองต่อการสัมผัส จึงนำมา fix และ dissection ด้วย 70% ethyl alcohol (criteria of Patterson, 1971) พร้อมสังเกต เปรียบเทียบ ถ่ายภาพและวาดภาพในห้องปฏิบัติการ

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาเริ่มต้น ตุลาคม 2553 สิ้นสุด กันยายน 2555 รวม 2 ปี

สถานที่ทำการทดลอง

: พื้นที่เกษตรกรรมและป่าธรรมชาติ ตามภาคต่างๆ ของประเทศไทย

: ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สอพ.

การบันทึกข้อมูล (ทุกขั้นตอนการทดลอง)

1. บันทึกเวลา และสถานที่ ที่เก็บตัวอย่างหอยทากทั้ง 2 ชนิด
2. บันทึกข้อมูลทางภูมิศาสตร์ ของสถานที่เก็บตัวอย่างหอยทั้ง 2 ชนิด
3. บันทึก ถ่ายภาพและวาดภาพเปลือกหอย และระบบสืบพันธ์ของหอยทั้ง 2 ชนิด
4. บันทึกข้อมูลอื่นๆ ที่สังเกตได้ ตลอดการทดลอง

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 ได้สำรวจ /เก็บตัวอย่างหอยเจดีย์เล็กและหอยเจดีย์ใหญ่ ตามพื้นที่ภาคต่างๆ ของประเทศไทย ตามแผนปฏิบัติการทดลอง ได้ตัวอย่างหอยเจดีย์เล็ก; *Lamellaxis gracilis* จำนวน 750 ตัว และหอยเจดีย์ใหญ่; *Prosopea walkeri* จำนวน 1,500

ตัว นำมาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ (โรงเรือน) พื้นที่ขนาด 4.30 x 4.30 เมตร พร้อมกับวัดค่า pH และความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ พื้นที่ๆ เก็บตัวอย่าง ดังนี้

ภาคกลางและตะวันตก ได้แก่ จังหวัดนครปฐม และในพื้นที่สวนกล้วยไม้ และแปลงปลูกผัก อำเภอท่ามะกา และท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี ได้ตัวอย่างหอยทั้ง 2 ชนิด เฉลี่ยชนิดละไม่น้อยกว่า 500 ตัว วัดค่า pH ของดิน = 6.8-7.0 และความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ 58-65% โดยเฉลี่ย

ภาคอีสาน ได้แก่แปลงปลูกผักในเขต อำเภอหนองหญ้าปล้อง จังหวัดนครราชสีมา บุรีรัมย์และศรีสะเกษ ได้ตัวอย่างหอยทั้ง 2 ชนิด วัดค่า pH ของดิน = 6.9-7.0 และความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ 55-68% โดยเฉลี่ย

2. ได้ตรวจจำแนกชนิดหอยทากบกตามระบบอนุกรมวิธานของหอย โดยยึดหลักของ Abbott (1989), Panha (1996), Vaught (1989) และ Hemmen and Hemmen (2001) ในห้องปฏิบัติการ พบว่า ทั้งหอยเจดีย์เล็กและหอยเจดีย์ใหญ่ จัดอยู่ใน Class Gastropoda , Order Stylommatophora, Family Subulinidae แต่ถูกจำแนกคนละสกุล กล่าวคือหอยเจดีย์เล็กจัดอยู่ใน Genus *Lamellaxis,* Species: *Lamellaxis gracilis* ส่วนหอยเจดีย์ใหญ่จัดอยู่ใน Genus *Prosopeas*, Species: *Prosopeas walkeri*

3. ได้ศึกษาสัณฐานวิทยาเบื้องต้นของหอยเจดีย์เล็ก *L. gracilis* และหอยเจดีย์ใหญ่ *P. walkeri* โดยการวัดขนาดเปลือกหอยวัยต่างๆ วาดภาพและถ่ายภาพในห้องปฏิบัติการ พบว่า

- หอยเจดีย์เล็ก ตัวเต็มวัย มีขนาด 5.42 -9.91 มิลลิเมตร (n= 42) มีจำนวน 6-7 whorl เปลือกสีน้ำตาลโปร่งแสง และเป็นมันวาว ยอดเปลือกแหลม จำนวนไข่ 2-13 ฟอง ขึ้นอยู่กับอายุและขนาดของตัวเต็มวัยแต่ละตัว

- หอยเจดีย์ใหญ่ ตัวเต็มวัย มีขนาด 12.33 -24.45 มิลลิเมตร (n= 60) มีจำนวน 7-8 whorl เปลือกสีน้ำตาลค่อนข้างโปร่งแสง เปลือกเป็นมันวาวน้อยกว่าหอยเจดีย์เล็ก ยอดเปลือกทู่มน จำนวนไข่ 4-15 ฟอง ขึ้นอยู่กับอายุและขนาดของตัวเต็มวัยแต่ละตัว

4. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ เปรียบเทียบข้อมูลสัณฐานวิทยาของเปลือกโดยใช้ Descriptive Statistic และวิเคราะห์โดยใช้ ANOVA. นำตัวอย่างเปลือกหอยเจดีย์ ทั้ง 2 ชนิด ๆ ชนิดละ 15-20 เปลือก มาวัดค่าต่าง ๆ คือ ค่า shell length (SL), shell width (SW), aperture length (CE), aperture width (FG), last whorl height (BC), apex to aperture height (AE), spire height (AH) and length from last suture to upper lip (DE) โดยทำการวัดทั้งหมด 3 ครั้ง แล้วนำมาหา

ค่าเฉลี่ย จากนั้นนำมาวิเคราะห์ ข้อมูลทางสถิติ ANOVA โดยใช้โปรแกรม SPSS พร้อมกับเปรียบเทียบกายวิภาคระบบสืบพันธุ์ ของหอยทั้ง 2 ชนิด ในปีต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทราบความแตกต่างทางสัณฐานวิทยาของเปลือกและข้อมูลกายวิภาคระบบสืบพันธุ์ของหอยเจดีย์เล็ก *Lamellaxis gracilis* และหอยเจดีย์ใหญ่ *Prosopea walkeri* เมื่อสิ้นสุดการทดลองจะเป็นฐานข้อมูลทางอนุกรมวิธานหอยทากศัตรูพืช เพื่อความชัดเจนในการจำแนกชนิด ใช้เป็นแนวทางประกอบมาตรการทางด้านกักกันพืชและใช้ในการพัฒนาและคิดค้นหาเทคโนโลยีการควบคุมและการป้องกันกำจัดให้ได้ผลสัมฤทธิ์ยิ่งขึ้น

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณสมพงษ์ ทวีสุข ผู้ประกอบการสวนกล้วยไม้ อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี ที่ให้ความร่วมมือและอนุญาตให้คณะวิจัยเข้าไปสำรวจพร้อมทั้งอนุญาตให้เก็บตัวอย่าง และขอบคุณ นางทัศวรรณ พุ่มกาหลง กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร ที่ช่วยบันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตของหอยทั้ง 2 ชนิด จึงขอขอบคุณไว้ ณ ที่นี้

เอกสารอ้างอิง

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

Abbott, R.T. 1989. Compendium of land shell. Melbourne, Australia : American Malacologist. 420 pp.

Dundee, D.S., and R.J. Baerwald. 1984. Observations an a micropredator, *Gulella Bicolor* (Hutton) (Gastropoda: Pulmonata: Streptaxidae). *Nautilus* 98:63-68.

Hemmen, J. and Hemmen C. 2001 Aktualisierte liste der terrestrischen gastropoden Thailands. Schr. Malakozool. 18:35-70.

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

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

Patterson, C.M. 1971. Taxonomic studies of the land snail family Succineidae.

Malacological Reviews. 4 : 131-202.

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

Vaught, K. C. 1989. A classification of the living mollusca. American malacologists, Melbourne.94 pp.

ความชุกชุมและแหล่งอาศัยของนกแสก (*Tyto alba javanica* (Gmelin, 1788)) ในพื้นที่ภาคกลาง ภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

Abundance and habitat use of barn owl (*Tyto alba javanica* (Gmelin, 1788) in the central, northern and north-eastern Thailand

เกรียงศักดิ์ หามะฤทธิ์ ปิยาณี หนูกาฬ ทรงทัพ แก้วตา

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ประชากรนกแสกในพื้นที่ที่ทำการสำรวจส่วนใหญ่มีประชากรน้อย บางพื้นที่ไม่พบนกแสกและแหล่งสร้างรังแต่บางพื้นที่มีความชุกชุมสูง เช่น อำเภอเมืองและอำเภอบางปลาม้า จังหวัดสุพรรณบุรี อำเภอหล่มเก่า จังหวัดเพชรบูรณ์ ความชุกชุมของนกแสกดังกล่าวมีความเกี่ยวข้องกับสภาพการใช้ประโยชน์ที่ดินและเกี่ยวข้องกับความชุกชุมของสัตว์ที่เป็นอาหารของนกแสก สถานที่หลบพักนอนและแหล่งสร้างรัง ชนิดของสถานที่ทำรังส่วนใหญ่เป็นโพรงใต้หลังคาโบสถ์ โพรงไม้ตามต้นไม้ขนาดใหญ่ หลืบหินและถ้ำเล็กๆบนภูเขา ชนิดสัตว์ที่นกแสกล่าเป็นอาหารมีความแตกต่างกัน ขึ้นกับสภาพการใช้ประโยชน์ที่ดินและพืชที่เพาะปลูก สัตว์ที่นกแสกล่าเป็นอาหารส่วนใหญ่เป็นหนูศัตรูพืชในนาข้าว พืชไร่ และในชุมชน เช่น หนูท้องขาว หนูหริ่ง หนูนาเล็กและหนูนาใหญ่ มีบางพื้นที่ที่พบนกแสกล่าค้างคาวกินแมลง หนูผีนา และกบเขียดเป็นอาหาร ซึ่งเป็นพื้นที่ที่เป็นป่าไม้ สวนป่า พื้นที่ปลูกพืชไร่ ซึ่งมีความชุกชุมของหนูน้อยกว่าสัตว์กลุ่มอื่นๆ

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-16-54

คำนำ

ในบรรดาสัตว์ผู้ล่าที่กินหนูเป็นอาหาร นกกลางคืนโดยเพาะนกแสก เป็นศัตรูธรรมชาติที่มีศักยภาพสูงที่สุดในการควบคุมประชากรหนู เนื่องจากเป็นนกที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อเหยื่อสูง มีการปรับตัวเพื่อออกล่าเหยื่อในเวลากลางคืน ซึ่งสอดคล้องกับพฤติกรรมการหากินของหนู ตลอดจนปรับตัวให้สามารถอยู่อาศัยหรือหาอาหารในสภาพพื้นที่เกษตรกรรม พื้นที่ชุมชน ซึ่งเป็นพื้นที่ที่มีกิจกรรมของมนุษย์ได้ดี และยังถูกมนุษย์ล่าเป็นอาหารน้อยกว่าสัตว์ผู้ล่ากลุ่มอื่นๆ (Lenton,1980) นกแสกในประเทศไทยถูกจัดอยู่ในสถานภาพใกล้ถูกคุกคาม (Near Threatened species) ตามบัญชีรายชื่อใน Thailand Red Data สาเหตุการคุกคามเนื่องจากการฆ่าเพราะความเชื่อที่ผิดๆ (Sanguansombat, 2005) สำหรับประชากรนกแสกชนิดย่อยที่อยู่ทางภาคใต้ (*Tyto alba stertens* Hartert, 1929)นั้น ได้มีการฟื้นฟูประชากรกลับคืนมาจนมีจำนวนประชากรจำนวนมาก และได้มีการนำปล่อยคืนสู่ธรรมชาติหลายแห่งแล้ว แต่นกแสกชนิดย่อยที่มีเขตการแพร่กระจายในเขตภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ (*Tyto alba javanica* Gmelin, 1788) ในปัจจุบันได้ลดจำนวนลงอย่างมาก จากการคุกคามต่อนกแสกโดยตรง การทำลายแหล่งสร้างรังและการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ล่าเหยื่อ ดังนั้นจึงควรที่จะมีการฟื้นฟูประชากรนกแสกชนิดย่อยนี้ให้กลับมา เพื่อที่จะนำไปสู่การอนุรักษ์และใช้ประโยชน์นกแสกในการควบคุมประชากรหนูศัตรูพืช ลดการใช้สารเคมีกำจัดหนู และควบคุมการระบาดของหนูศัตรูพืชอย่างยั่งยืน จึงมีความจำเป็นที่จะต้องทราบถึงประชากร แหล่งสร้างรัง และถิ่นที่อยู่อาศัยในปัจจุบันของนกแสกกลุ่มนี้ให้แน่ชัด รวมทั้งเพื่อเตรียมหาแหล่งพันธุกรรมที่จะนำมาเป็นกลุ่มประชากรตั้งต้นในการขยายพันธุ์เพื่อให้มีประชากรมากพอที่จะควบคุมประชากรหนูให้อยู่ในสภาวะสมดุลทางนิเวศต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่องกำหนดตำแหน่งทางภูมิศาสตร์ (GPS)
2. กล้องดักถ่ายภาพสัตว์ (Camera trap)
3. กล้องส่องทางไกลแบบสองตา (Binocular)
4. กล้องส่องทางไกลแบบตาเดียว (Scope)
5. กล้องถ่ายรูป
6. แผนที่ภูมิประเทศ ภาพถ่ายทางอากาศ

วิธีการ

1. ดำเนินการสำรวจตามพื้นที่ๆตรวจสอบจากเอกสารรายงานการพบเห็น หรือจากการสอบถาม โดยเน้นในบริเวณวัด ป่าชุมชน หมู่ไม้และอาคารที่ถูกปล่อยทิ้งร้าง ในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ และภาคกลาง สำรวจนับจำนวนประชากรนกแสกที่พบในแต่ละแหล่งอาศัย รวมทั้งทำการสำรวจนับโดยการใช้เสียงล่อในเวลากลางคืนในพื้นที่เกษตรกรรม ตามวิธีการของปริญญา (2551) ทำพิกัดจุดที่สำรวจพบด้วยเครื่อง GPS เพื่อจัดทำแผนที่การกระจาย

2. เก็บตัวอย่างก้อนสำรอกที่นกแสกคายทิ้งจากแต่ละแหล่ง นำมาตรวจวิเคราะห์ชนิดและสัดส่วนสัตว์ที่ถูกนกแสกแต่ละแหล่งล่าเป็นอาหารในห้องปฏิบัติการ

3. บันทึกภาพถ่ายสถานที่ที่พบนกแสกและแหล่งอาศัยของนกแสก บันทึกข้อมูลทางภูมิศาสตร์และข้อมูลการใช้ประโยชน์ที่ดินโดยรอบบริเวณสถานที่เก็บตัวอย่างก้อนสำรอกที่นกแสกคายทิ้ง บันทึกชนิดและจำนวนของสัตว์ที่พบซากในก้อนสำรอกของนกแสก

เวลาและสถานที่

เก็บรวบรวมข้อมูลระหว่างเดือนตุลาคม 2553-กันยายน 2554 ในพื้นที่ชุมชน พื้นที่เกษตรกรรมและป่าไม้ข้างเคียงชุมชนในท้องที่จังหวัดน่าน แพร่ มหาสารคาม กาฬสินธ์ ร้อยเอ็ด ราชบุรี กาญจนบุรี เพชรบูรณ์ เพชรบุรี สุพรรณบุรี อยุธยา ประจวบคีรีขันธ์ สุรินทร์ บุรีรัมย์ และศรีสะเกษ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจพบนกแสกและแหล่งสร้างรังวางไข่ในแต่ละพื้นที่แตกต่างกัน ชนิดสัตว์ที่นกแสกแต่ละแหล่งอาศัยล่ามาเป็นอาหารก็มีความคล้ายคลึงกันในบางแหล่ง แต่บางพื้นที่มีชนิดสัตว์ที่นกแสกล่าเป็นอาหารแตกต่างกัน ซึ่งแสดงไว้ใน ตารางที่ 1

จากผลการสำรวจจะเห็นได้ว่าประชากรนกแสกในแต่ละพื้นที่มีความชุกชุมแตกต่างกัน ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับสภาพการใช้ประโยชน์ที่ดิน แหล่งพักอาศัย แหล่งสร้างรังวางไข่ และความชุกชุมของสัตว์ที่นกสามารถล่าเป็นอาหาร ชนิดโพรงรังส่วนใหญ่เป็นโพรงใต้หลังคาโบสถ์ในวัด รองลงมาคือโพรงไม้ในวัด ในไร่นาและในป่า มีที่ใช้หลืบหินและถ้ำเล็กๆบนภูเขาบ้างไม่มาก ชนิดสัตว์ที่นกแสกล่าเป็นอาหารก็มีความผันแปรแตกต่างกันตามสภาพการใช้ประโยชน์ที่ดิน ส่วนใหญ่เป็นหนูศัตรูพืชในนาข้าว พืชไร่ และในชุมชน มีบางพื้นที่ที่พบนกแสกล่าค้างคาวกินแมลง หนูผีนาและกบเขียดเป็นอาหาร ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยวิทยานิพนธ์ของ Niyomsaeng (1982) ที่เก็บตัวอย่างสำรอกของนกแสกในจังหวัดอ่างทองพบว่านกแสกกินหนูเป็นอาหารร้อยละ 95 ได้แก่ หนูนาเล็ก หนูนาใหญ่ หนูพุกเล็ก หนูพุกใหญ่และหนูหริ่ง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ประชากรนกแสกในพื้นที่ที่ทำการสำรวจมีความชุกชุมแตกต่างกัน ส่วนใหญ่มีประชากรค่อนข้างน้อยบางพื้นที่ไม่พบนกแสกและแหล่งสร้างรังของนกแสก แต่บางพื้นที่มีความชุกชุมของประชากรนกแสกสูง เช่น อำเภอเมือง อำเภอบางปลาม้า จังหวัดสุพรรณบุรี อำเภอหล่มเก่า จังหวัดเพชรบูรณ์ เป็นต้น ซึ่งความชุกชุมของนกแสกดังกล่าวมีความเกี่ยวข้องกับสภาพการใช้ประโยชน์ที่ดิน ซึ่งเกี่ยวข้องกับความชุกชุมของสัตว์ที่เป็นเหยื่อของนกแสก รวมทั้งสถานที่หลบพักนอนและแหล่งสร้างรังวางไข่ ชนิดของโพรงรังส่วนใหญ่เป็นโพรงใต้หลังคาโบสถ์ในวัด โพรงไม้ตามต้นไม้ขนาดใหญ่ หลืบหินและถ้ำเล็กๆบนภูเขา ส่วนชนิดสัตว์ที่นกแสกล่าเป็นอาหารมีความแตกต่างกัน ซึ่งขึ้นกับสภาพการใช้ประโยชน์ที่ดินและพืชที่เพาะปลูก สัตว์ที่เป็นอาหารส่วนใหญ่เป็นหนูศัตรูพืชในนาข้าว พืชไร่ และในชุมชน เช่น หนูท้องขาว หนูหริ่ง หนูนาเล็ก หนูนาใหญ่ มีบางพื้นที่ที่พบนกแสกล่าค้างคาวกินแมลง หนูผีนาและกบเขียดเป็นอาหาร ซึ่งเป็นพื้นที่ที่เป็นป่าไม้ สวนป่า พื้นที่ปลูกพืชไร่ ซึ่งมีความชุกชุมของหนูน้อยกว่าสัตว์กลุ่มอื่นๆ

เอกสารอ้างอิง

Lenton, G.M. 1980. The ecology of barn owls (*Tyto alba*) in the Malay Peninsula with Reference to their use in biological control. PhD thesis, University of Kuala Lumper.

Niyomsaeng, S. 1982. Food habits of barn owl (*Tyto alba* (Scopoli)). Master Thesis. Kasetsart University, Bangkok (*in Thai*).

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 พื้นที่สำรวจ ลักษณะการใช้ประโยชน์ที่ดิน จำนวนนกแสก จำนวนรังและชนิดสัตว์ที่นกแสกล่าเป็นอาหาร

จังหวัด	อำเภอที่สำรวจ	ลักษณะการใช้ประโยชน์ที่ดินในพื้นที่ที่ทำการสำรวจ	จำนวนตัว/รัง	สัตว์ที่เป็นอาหารของนกแสก
น่าน	อำเภอเมือง	ชุมชนเมือง หมู่บ้านสวนผลไม้ ป่าไม้ป่าละเมาะและสวนป่า	2/0	หนูท้องขาว หนูหริ่ง
	อำเภอภูเพียง	พืชไร่ สวนผลไม้ สวนป่า และป่าไม้	1/3	หนูหริ่ง
	อำเภอท่าวังผา	ข้าวไร่ นาข้าว พืชไร่ ป่าไม้และชุมชน	2/2	หนูท้องขาว กบ เขียด
	อำเภอบ่อเกลือ	พื้นที่ปลูกพืชไร่นาข้าวและชุมชน	1/2	หนูท้องขาว
	อำเภอสองแคว	พื้นที่ปลูกพืชไร่ และป่าไม้	1/0	-
แพร่	อำเภอสอง	นาข้าว พืชไร่ ป่าไม้ ชุมชน	0/0	-
	อำเภอร้องกวาง	นาข้าว พืชไร่ ป่าไม้ ชุมชน	0/0	-
	อำเภอสูงเม่น	นาข้าวและชุมชน	2/2	หนูท้องขาว
เพชรบูรณ์	อำเภอหล่มเก่า	นาข้าวและชุมชน	8/5	หนูหริ่ง หนูท้องขาว
มหาสารคาม	อำเภอเมือง	นาข้าวและชุมชนริมแม่น้ำ	1/2	หนูนาใหญ่
ร้อยเอ็ด	อำเภอจังหาร	นาข้าวริมแม่น้ำ ป่าไม้ในวัดป่าและดอนปู่ตา	0/0	-
	อำเภอธวัชบุรี	นาข้าว ชุมชน ป่าไม้ในวัดป่าและริมแม่น้ำ	0/2	หนูนาใหญ่
	อำเภอโพนทอง	พื้นที่ปลูกพืชไร่นาข้าวและป่าเต็งรัง	3/2	หนูท้องขาว
	กิ่งอำเภอทุ่งเขาหลวง	นาข้าว ชุมชน ป่าไม้ริมแม่น้ำและในวัด	2/2	หนูท้องขาว
กาฬสินธ์	อำเภอยางตลาด	นาข้าวและชุมชน	0/0	-
	อำเภอร่องคำ	นาข้าวและชุมชน	0/0	-
	กิ่งอำเภอฆ้องชัย	นาข้าวและชุมชน	1/1	หนูนาใหญ่
บุรีรัมย์	อำเภอสตึก	นาข้าวริมแม่น้ำ สวนป่าและชุมชน	0/0	-

จังหวัด	อำเภอที่สำรวจ	ลักษณะการใช้ประโยชน์ที่ดินในพื้นที่ที่ทำการสำรวจ	จำนวนตัว/รัง	สัตว์ที่เป็นอาหารของนกแสก
สุรินทร์	อำเภอชุมพลบุรี	นาข้าวและชุมชน	0/0	-
	อำเภอท่าตูม	นาข้าวและชุมชน	1/3	หนูหริ่ง หนูท้องขาว
	อำเภอรัตนบุรี	นาข้าวและชุมชน	1/2	หนูท้องขาว
กาญจนบุรี	อำเภอห้วยกระเจา	สวนป่ายูคาลิปตัสและป่าละเมาะบนภูเขา	2/1	หนูหริ่ง หนูผีนา ค้างคาว
ศรีสะเกษ	อำเภอเมือง	ชุมชนเมือง พื้นที่ปลูกพืชไร่และนาข้าว	2/2	ค้างคาว
ราชบุรี	อำเภอเมือง	ชุมชนเมือง	1/0	ค้างคาว
	อำเภอปากท่อ	พื้นที่ปลูกพืชไร่ สวน และป่าไม้บนภูเขา	1/0	หนูผีนา ค้างคาว
เพชรบุรี	อำเภอเขาย้อย	นาข้าว ป่าไม้บนภูเขาและชุมชน	3/1	หนูหริ่ง
	อำเภอเมือง	ชุมชนเมือง	0/0	-
ประจวบคีรีขันธ์	อำเภอบางสะพานน้อย	พื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมัน มะพร้าว นากุ้ง ป่าละเมาะและที่รกร้าง	0/0	-
	อำเภอบางสะพาน	พื้นที่ปลูกมะพร้าว ปาล์มน้ำมัน ป่าละเมาะและที่รกร้าง	0/0	-
	อำเภอทับสะแก	พื้นที่ปลูกมะพร้าว ปาล์มน้ำมัน ที่รกร้าง	1/0	หนูท้องขาว
		พื้นที่ปลูกมะพร้าว สับปรด ที่รกร้าง	2/0	หนูท้องขาว
	อำเภอกุยบุรี	พื้นที่ปลูกมะพร้าว สับปรด ที่รกร้าง	0/0	-
	อำเภอสามร้อยยอด	พื้นที่ปลูกสับปรด อ้อย มะพร้าว และปาล์มน้ำมัน	0/0	-
	อำเภอปราณบุรี			

จังหวัด	อำเภอที่สำรวจ	ลักษณะการใช้ประโยชน์ที่ดินในพื้นที่ที่ทำการสำรวจ	จำนวนตัว/รัง	สัตว์ที่เป็นอาหารของนกแสก
สุพรรณบุรี	อำเภอเมือง	ชุมชนและนาข้าว	10/3	หนูนาเล็ก หนูหริ่ง
	อำเภออู่ทอง	ไร่อ้อย นาข้าว ป่าไม้ และชุมชน	0/0	-
	อำเภอบางปลาม้า	นาข้าวและชุมชน	5/3	หนูนาเล็ก หนูหริ่ง ค้างคาว หนูหริ่ง
	อำเภอสามชุก	นาข้าวและชุมชน	2/2	หนูนาเล็ก
	อำเภอเดิมบางนางบวช	นาข้าวและชุมชน	3/2	หนูนาเล็ก
อยุธยา	อำเภอบางปะอิน	นาข้าว ชุมชน โรงงานอุตสาหกรรม	3/1	หนูนาเล็ก หนูท้องขาว

อนุกรมวิธานไส้เดือนฝอยสกุล *Steinernema* และ *Heterorhabditis*

Taxonomy of *Steinernema* and *Heterorhabditis*

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

จากการวัดขนาดสัดส่วน และพิจารณารูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไส้เดือนฝอยสกุล *Steinernema* (REs) แยกได้จาก จ.ร้อยเอ็ด พบว่าตัวอ่อนระยะที่ 3 มีค่า L = 472 (444-508) ไมครอน, W = 24 (24-27) ไมครอน, EP = 42 (37-45) ไมครอน, ES =114 (102-126) ไมครอน, T = 43 (39-45) ไมครอน มีค่าสัดส่วน a = 19.3 (18.8-20.1), b = 4.1 (3.8-4.6), c = 11.1 (10.6-12.3), D% = 37 (33-40), E% = 99 (91-105) เป็นไส้เดือนฝอยที่มีขนาดเล็ก โดยตัวอ่อนระยะเข้าทำลายมีความยาวลำตัวเฉลี่ยเท่ากับ 472 ไมครอน ส่วนหางสั้น (43 ไมครอน) ในตัวเต็มวัยเพศผู้-เพศเมียทั้ง 2 ชั่วอายุ ปลายหางมี mucron และ spicule ยาวเท่ากับ 94.2 ไมครอน gubernaculum มีขนาดใหญ่และรูปร่างผอม พบโครงสร้าง epiptygma ในเพศเมียทั้ง 2 ชั่วอายุ มีความใกล้เคียงกับ *S. siamkayai* และ *S. tami* สำหรับไส้เดือนฝอย *Heterorhabditis* (REh) แยกได้จาก จ.ร้อยเอ็ด โดยพบว่าตัวอ่อนระยะที่ 3 มีค่า L = 541 (523-562) ไมครอน, W = 21 (20-22) ไมครอน, EP = 80 (79-85) ไมครอน, ES =112 (108-116) ไมครอน, T = 87 (82-92) ไมครอน, มีค่าสัดส่วน a = 26 (25-26), b = 4.8 (4.7-4.9), c = 6.2 (5.9-6.4), D% = 72 (70-73), E% = 92 (88-96) ตัวเต็มวัยเพศเมียมีลักษณะหางแบบ conoid มีค่า D% = 120 ตัวเต็มวัยเพศผู้ มีลักษณะหางแบบ conoid ความยาวของอวัยวะสืบพันธุ์ (spicule length) = 44 (38-48) ไมครอน สามารถจำแนกโดยเปรียบเทียบกับ Key มาตรฐาน พบว่ารูปร่างลักษณะและสัดส่วนต่างๆ มีความใกล้เคียงกับ *H. indica*

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-17-54

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 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) ไส้เดือนฝอยตัวอ่อน

ระยะที่สาม (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 ที่จะพัฒนาศัตรูธรรมชาติของแมลงชนิดนี้มาใช้ประโยชน์ โดยเฉพาะใช้กำจัดแมลงระยะตัวหนอนที่เป็นศัตรูสำคัญในพืช 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 โดยเฉพาะแมลงศัตรูพืชในพื้นที่ทำการเกษตร 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 เวียดนาม 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 และ *S. tami* Luc *et al.,* 2000 (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)

ไส้เดือนฝอยในสกุล *Steinernema* และ *Heterorhabditis* จึงเป็นศัตรูธรรมชาติของแมลงที่สามารถพัฒนานำไปใช้กำจัดแมลงศัตรูพืชได้หลายชนิด เช่น หนอนกระทู้ผัก หนอนกระทู้หอม หนอนใยผัก หนอนด้วงหมัดผัก และปลวก เป็นต้น ในปัจจุบันเกษตรกรให้ความสนใจการนำไส้เดือนฝอยกลุ่มนี้ไปใช้ควบคุมแมลง โดยเฉพาะแมลงดื้อสารเคมี และไส้เดือนฝอยดังกล่าวยังเป็นชีวภัณฑ์อีกชนิดหนึ่งที่ประสบผลสำเร็จในการผลิตขยายทั้งในระดับเกษตรกรผลิตใช้เองและการผลิตจำหน่ายเป็นการค้า

การค้นหาไส้เดือนฝอยที่มีประโยชน์จากธรรมชาติ เพื่อนำขึ้นมาพัฒนาและนำกลับไปใช้ควบคุมศัตรูพืช ได้เพิ่มความสำคัญและมีการศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องในหลายๆ ด้าน โดยเฉพาะงานวิจัยขั้นพื้นฐาน ซึ่งดำเนินงานโดยนักวิจัยในแต่ละสาขาเพื่อค้นหาจุดสำคัญของการนำมาใช้ให้มีประสิทธิภาพสูงสุด เพื่อนำสายพันธุ์พื้นเมืองมาใช้ควบคุมศัตรูพืชในท้องถิ่นที่มีสภาพแวดล้อมเดิม จึงเป็นงานวิจัยที่ได้รับความสนใจจากนักวิจัยทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทยได้เริ่มมีการสำรวจเก็บรวบรวมไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงเป็นครั้งแรกในปี พ.ศ. 2539 สามารถแยกได้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงจำนวน 10 ไอโซเลท จัดอยู่ใน family Steinernematidae จำนวน 10 ไอโซเลท โดยกำหนดรหัสตามจังหวัดที่พบคือ จังหวัดกาญจนบุรี (KBs) พิจิตร (PCs) อยุธยา (AYs) กาฬสินธุ์ (KSs) มหาสารคาม (MKs) ขอนแก่น (KKs) หนองคาย (NKs) สระแก้ว (SKs) อุบลราชธานี (UBs) และกำแพงเพชร (KPs) และ family Heterorhabditidae จำนวน 2 ไอโซเลท คือ ร้อยเอ็ด (REh) และเพชรบุรี (PRh) นำมาเก็บรวบรวมเป็น culture collection ณ กลุ่มงานไส้เดือนฝอย กรมวิชาการเกษตร (นุชนารถ และคณะ, 2543) ไส้เดือนฝอยที่แยกได้เหล่านี้ จึงควรมีการจัดจำแนกชนิด (species) อย่างถูกต้องต่อไป

วัตถุประสงค์ของการทดลอง เพื่อจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยสกุล *Steinernema* และ *Heterorhabditis* ไอโซเลทที่แยกได้ในประเทศไทย โดยใช้รูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเทคนิคทางชีวโมเลกุลในการแบ่งแยกในระดับ species

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. หนอนกินไขผึ้งเพาะเลี้ยงจากอาหารเทียม
2. ไส้เดือนฝอย *Steinernema* REs isolate และ *Heterorhabditis* REh isolate
3. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (Stereo microscope) และกำลังขยายสูง (Compound microscope) พร้อมกล้องถ่ายภาพดิจิตอล
4. สารเคมีสำหรับฆ่าและดองไส้เดือนฝอย ได้แก่ glycerine, TAF, 40% formaldehyde, tri-ethanolamine และ 95% ethanol
5. วัสดุ-อุปกรณ์ และเครื่องแก้วสำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการไส้เดือนฝอย

วิธีการ

เตรียมไส้เดือนฝอยสกุล *Steinernema* ไอโซเลท REs และ *Heterorhabditis* ไอโซเลท REh เพื่อการวัดขนาดสัดส่วน ได้จากหนอนกินรังผึ้งที่ปลูกเชื้อด้วยไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลาย (IJ) โดยตัวเต็มวัยเพศผู้ เพศเมียของไส้เดือนฝอยใน 1st และ 2nd generation ได้จากการผ่าหนอนกินรังผึ้งหลังปลูกเชื้อเป็นเวลา 3 วัน และ 6 วัน ตามลำดับ และไส้เดือนฝอยระยะ IJ ได้จากการเคลื่อนที่

ออกมาจากซากของหนอนเป็นเวลาประมาณ 10 วันหลังปลูกเชื้อ ไส้เดือนฝอยทุกระยะการเจริญเติบโตนำมาฆ่าด้วยน้ำอุ่น (50 °ซ) เป็นเวลา 2 นาที เติมน้ำยา fixative (TAF, 7 ml of 40 % formaldehyde, 2 ml tri-ethanolamine, 91 ml distilled water) นำไปเก็บที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเขี่ยไส้เดือนฝอยลงใน solution I (20 parts 95 % ethanol, 1 part glycerine, 79 parts distilled water) นำไปวางใน desiccator ที่มี 95 % ethanol บรรจุอยู่ วางไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 35 °ซ เป็นเวลา 12 ชม. เพื่อดึงน้ำออกจากตัวไส้เดือนฝอยช้าๆ และมีการแทนที่ด้วยกลีเซอรีน จากนั้นเติม solution II (5 parts of glycerine, 95 parts of 95 % ethanol) ลงไป นำไปไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 40 °ซ เป็นเวลา 3 ชม. กลีเซอรีนจะเข้าแทนที่น้ำในตัวไส้เดือนฝอย สามารถเห็นอวัยวะสำคัญภายในตัวไส้เดือนฝอยได้ชัดเจน เขี่ยไส้เดือนฝอยจำนวน 10 ตัว ลงในหยดกลีเซอรีนบนสไลด์แก้ว หนุนด้วยใยแก้วก่อนปิดทับด้วย cover slip และซิล ด้วยน้ำยาซิลสไลด์ ถ่ายภาพรูปร่างลักษณะและวัดขนาดสัดส่วนภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง โดยวัดส่วนต่างๆ ดังนี้

ตัวเต็มวัยเพศผู้ : ความยาวลำตัว (L); ความกว้างลำตัว (W); ความยาววัดจากหัวถึง excretory pore (EP); ความยาววัดจากหัวถึง esophagus (ES); ความยาวหาง (Tail); ความกว้างบริเวณ anus; ความยาว spicule และความยาว gubernaculum

ตัวเต็มวัยเพศเมีย : ความยาวลำตัว (L); ความกว้างลำตัว (W); ความยาววัดจากหัวถึง excretory pore (EP); ความยาววัดจากหัวถึง esophagus (ES); ความยาวหาง (Tail); ความกว้างบริเวณ anus และ % vulva

ตัวอ่อนระยะ Infective juvenile : ความยาวลำตัว (L); ความกว้างลำตัว(W); ความยาววัดจากหัวถึง excretory pore (EP); ความยาววัดจากหัวถึง esophagus (ES) และความยาวหาง (Tail)

นำมาคำนวณค่าสัดส่วน (ratio) โดยใช้ De Man's formula (Poinar, 1986) ดังนี้

Ratio : a = L/W; b = L/ES; c = L/Tail; d = EP/ES; e = EP/Tail

และคำนวณค่าพารามิเตอร์ตามวิธีการของ Nguyen (1993) ดังนี้ D% = EP/ES x 100; E% = EP/Tail x 100

การบันทึกข้อมูล ถ่ายภาพรูปร่างลักษณะที่สำคัญของไส้เดือนฝอยระยะ Infective juvenile ตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมีย ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่างๆ ค่าการวัดขนาดสัดส่วนและรูปร่างลักษณะสำคัญของไส้เดือนฝอย นำไปเปรียบเทียบ กับ key to species of the genus *Steinernema* and *Heterorhabditis* (Nguyen and Smart, 1996)

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา 1 ปี เริ่มตั้งแต่เดือนตุลาคม 2553 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2554

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการศึกษารูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. และ *Heterorhabditis* sp. ไอโซเลทที่แยกได้จากจังหวัดร้อยเอ็ด กำหนดรหัสเป็น REs และ REh ตามลำดับ โดย REs isolate อยู่ใน Family Steinernematidae และ REh isolate อยู่ใน Family Heterorhabditidae ทำการวัดขนาดสัดส่วนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Light microscope เพื่อการจัดจำแนกในระดับชนิด (species)

1. ไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. REs isolate

Steinernematidae Chitwood and Chitwood 1937, 1950; Rhabditoidea (Oerley), Rhabditida (Oerley) (syn. Neoaplectanidae Sobolev), type genus : *Steinernema* Travassos, 1927; synonym : *Neoaplectana* Steiner, 1929

รูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่สำคัญของตัวเต็มวัยเพศเมีย (female) เพศผู้ (male) และตัวอ่อนระยะเข้าทำลาย (infective-stage juvenile) ใช้ในการแบ่งแยกดังรายละเอียดต่อไปนี้

ตัวเต็มวัยเพศเมีย (female) : มีขนาดใหญ่ ส่วนของผนังชั้นนอกลำตัวเรียบ (smooth) หรือมีรอยย่น (annulated) ไม่พบเส้นข้างลำตัว (lateral field) ส่วนของรูขับถ่าย (excretory pore) ชัดเจน ส่วนหัวมีลักษณะกลมมน (rounded) หรือตัด (truncate) ประกอบด้วย 6 ริมฝีปาก (lip) แต่ละริมฝีปาก มีตุ่มเล็กๆ ที่เรียกว่า labial papillae จำนวน 1ตุ่ม บางครั้งพบโครงสร้างคล้ายตุ่มอยู่ใกล้ labial papillae นอกจากนั้น บริเวณริมฝีปากยังพบตุ่มที่เรียกว่า cephalic papillae จำนวน 4 ตุ่ม และพบอวัยวะที่เรียกว่า amphid มีขนาดเล็ก ซึ่งเป็นช่องรับความรู้สึกเกี่ยวกับสารเคมี (chemoreceptor organ) จำนวน 2 ช่อง ช่องปาก (stoma) ของตัวเต็มวัยเพศเมีย ยุบลงเป็นช่องสังเกตเห็นผนังของ cheilostom บริเวณริมฝีปากชัดเจน หลอดอาหาร (esophagus) เป็นแบบ rhabditoid ส่วนของ metacorpus โป่งพอง และแคบลง (isthmus) มีเส้นประสาท (nerve ring) ล้อมรอบรองรับด้วยฐานใหญ่เป็นกระเปราะ (basal bulb) หลอดอาหารต่อเชื่อมกับลำไส้มีลิ้นปิด-เปิด (cardic) ระบบสืบพันธุ์เป็นแบบท่อรังไข่ 2 ข้าง (didelphic) และโค้งงอที่ปลายรังไข่ทั้งสองข้าง อวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียอยู่บริเวณกลางลำตัวสังเกตเห็นชัดเจน พบโครงสร้างที่เรียกว่า epiptygma ตัวเมียที่ได้รับการผสมจากตัวผู้ วางไข่และฟักเป็นตัวอ่อนภายในมดลูกของตัวแม่ เรียกว่า ovoviviparous ตัวอ่อนสามารถเจริญ เติบโตภายในตัวแม่ได้หรือไข่ถูกขับออกมาฟักภายนอกตัวแม่ (oviparous) ความยาวหางของตัวเมียสั้นกว่าความกว้างของลำตัว มีค่าการวัดขนาดสัดส่วนตามตารางที่ 1

ตัวเต็มวัยเพศผู้ (male) : มีขนาดเล็กกว่าตัวเมีย 2 ถึง 3 เท่า ส่วนหัวประกอบด้วย 6 labial papillae และ 4 cephalic papillae มีช่องทางเดินอาหารคล้ายกับตัวเต็มวัยเพศเมีย ท่อสร้างและเก็บน้ำเชื้อ (testis) เป็นแบบข้างเดียวและโค้งงอที่ปลาย อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (spicule) มีลักษณะเป็นคู่ มีอวัยวะบังคับ spicule ที่เรียกว่า gubernaculum ไม่ปรากฏแพนหาง (bursa)

ปลายหางกลมปลายแหลม อาจมีติ่ง (mucronate) ที่ปลายหาง ปลายหางมีอวัยวะรับความรู้สึก เรียกว่า genital papillae 1ตุ่มเดี่ยว และ 10-14 ตุ่มคู่ มีค่าการวัดขนาดสัดส่วนตามตารางที่ 2

ตัวอ่อนระยะทำลาย (infective juvenile = third-stage infective juvenile) : ช่องปากยุบลงเป็นช่อง รูปร่างเรียวขนาดเล็ก ส่วนของผนังชั้นนอก (cuticle) มีลักษณะเป็นรอยย่น (annulated) มีเส้นข้างลำตัว (lateral line) 6 เส้น ช่องทางเดินอาหารติดต่อกับลำไส้ สังเกตเห็นช่องขับถ่ายทางผิวหนัง (excretory pore) ชัดเจน อยู่ในตำแหน่งเหนือ nerve ring ลักษณะปลายหางแหลม พบ phasmid ที่ตำแหน่งกลางหางระหว่างช่องขับถ่าย (anus) และปลายหาง มีค่าการวัดขนาดสัดส่วนตามตารางที่ 3

จากรูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาและขนาดสัดส่วน เปรียบเทียบกับ key มาตรฐาน มีความใกล้เคียงกับ *S. siamkayai* แยกได้จาก จ.เพชรบูรณ์ และ *S. tami* แยกได้จากประเทศเวียตนาม ซึ่งจะได้นำไปจำแนกดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิคทางอณูชีวโมเลกุลต่อไป

ตารางที่ 1 ค่าการวัดขนาดสัดส่วนของไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. REs isolate ตัวเต็มวัยเพศเมีย

ตัวเมียที่	ไมครอน							ค่าสัดส่วน (Ratio)				
	L	W	EP	ES	T	anus	% vulva	a	b	c	D %	E %
1	7,078.0	214.1	117.6	278.3	27.4	82.3	52.0	33.1	25.4	257.9	42.3	428.6
2	8,331.8	253.8	117.6	282.2	19.6	82.3	52.2	32.8	29.5	425.1	41.7	600.0
3	6,284.5	214.1	94.1	270.5	25.4	98.0	54.8	29.4	23.2	247.4	34.8	370.4
4	6,776.4	206.2	133.3	270.5	25.4	74.5	54.5	32.9	25.1	266.8	49.3	524.7
5	6,998.7	230.0	133.3	290.1	35.3	101.9	53.1	30.4	24.1	198.4	45.9	377.8
6	7,268.5	230.0	145.0	270.5	25.4	98.0	52.4	31.6	26.9	286.2	53.6	571.0
7	5,967.1	230.0	141.1	294.0	35.3	101.9	52.4	25.9	20.3	169.1	48.0	400.0
8	5,332.3	230.0	117.6	254.8	27.4	105.8	53.3	23.2	20.9	194.3	46.2	428.6
9	8,173.1	258.7	152.9	266.6	27.4	74.5	54.0	31.6	30.7	297.9	57.4	557.1
10	7,046.3	231.3	133.3	270.5	35.3	94.1	52.7	30.5	26.1	199.7	49.3	377.8
ผลรวม	69,256.6	2,298.0	1,285.8	2,747.9	284.0	913.4	531.3	301.3	252.2	2,542.8	468.3	4,636.0
ค่าเฉลี่ย	6,925.7	229.8	128.6	274.8	28.4	91.3	53.1	30.1	25.2	254.3	46.8	463.6
ค่าสูงสุด	8,331.8	258.7	152.9	294.0	35.3	105.8	54.8	33.1	30.7	425.1	57.4	600.0
ค่าต่ำสุด	5,332.3	206.2	94.1	254.8	19.6	74.5	52.0	23.2	20.3	169.1	34.8	370.4

หมายเหตุ : ความยาวลำตัว (L); ความกว้างลำตัว (W); ความยาววัดจากหัวถึง excretory pore (EP); ความยาววัดจากหัวถึง esophagus (ES); ความยาวหาง (Tail); ความกว้างบริเวณ anus และ % vulva; ค่าสัดส่วน a = L/W; b = L/ES; c = L/T; D% = EP/ES x 100; E% = EP/T x 100

ตารางที่ 2 ค่าการวัดขนาดสัดส่วนของไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. REs isolate ตัวเต็มวัยเพศผู้

ตัวผู้ที่	ไมครอน								ค่าสัดส่วน		
	L	W	EP	ES	T	spicule	gub.	anus	D%	SW	GS
1	1,784.3	147.8	88.7	191.1	27.6	98.5	70.9	55.2	46.4	1.8	0.7
2	1,942.9	157.6	86.7	179.3	23.6	90.6	67.0	43.3	48.4	2.1	0.7
3	1,998.4	145.8	98.5	175.3	34.5	90.6	67.0	59.1	56.2	1.5	0.7
4	2,141.1	157.6	103.4	197.0	41.4	82.7	63.0	63.0	52.5	1.3	0.8
5	1,982.5	147.8	86.7	195.0	31.5	98.5	69.0	57.1	44.4	1.7	0.7
6	1,974.6	161.5	84.7	191.1	37.4	98.5	69.0	49.3	44.3	2.0	0.7
7	1,934.9	157.6	94.6	189.1	31.5	88.7	63.0	51.2	50.0	1.7	0.7
8	2,260.1	172.4	90.6	189.1	34.5	96.5	61.1	45.3	47.9	2.1	0.6
9	2,061.8	147.8	98.5	178.3	33.5	98.5	78.8	39.4	55.2	2.5	0.8
10	1,998.4	149.7	99.5	194.1	33.5	98.5	65.0	46.3	51.3	2.1	0.7
ผลรวม	20,078.8	1,545.5	931.8	1,879.4	329.0	941.7	673.7	509.3	496.6	18.9	7.2
ค่าเฉลี่ย	2,007.9	154.5	93.2	187.9	32.9	94.2	67.4	50.9	49.7	1.9	0.7
ค่าสูงสุด	2,260.1	172.4	103.4	197.0	41.4	98.5	78.8	63.0	56.2	2.5	0.8
ค่าต่ำสุด	1,784.3	145.8	84.7	175.3	23.6	82.7	61.1	39.4	44.3	1.3	0.6

หมายเหตุ : ความยาวลำตัว (L); ความกว้างลำตัว (W); ความยาววัดจากหัวถึง excretory pore (EP); ความยาววัดจากหัวถึง esophagus (ES); ความยาวหาง (Tail); ความกว้างบริเวณ anus; ความยาว spicule และความยาว gubernaculum; ค่าสัดส่วน D% = EP/ES x 100; SW = ค่าสัดส่วนที่คำนวณจาก spicule/ความกว้างของลำตัวบริเวณช่องขับถ่ายปลายหาง; GS = ค่าสัดส่วนที่คำนวณจาก gubernaculum/spicule

ตารางที่ 3 ค่าการวัดขนาดสัดส่วนของไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. REs isolate ตัวอ่อนระยะที่ 3

ตัวอ่อนที่	ไมครอน					ค่าสัดส่วน (Ratio)				
	L	W	EP	ES	T	a	b	c	D %	E %
1	507.5	25.6	41.4	125.9	41.4	19.8	4.0	12.3	32.8	100.0
2	483.7	25.6	41.4	125.9	41.4	18.9	3.8	11.7	32.8	100.0
3	459.9	23.6	43.3	110.3	43.3	19.5	4.2	10.6	39.3	100.0
4	444.1	23.6	37.4	102.4	41.4	18.8	4.3	10.7	36.5	90.5
5	452.0	23.6	41.4	110.3	39.4	19.1	4.1	11.5	37.5	105.0
6	467.9	23.6	41.4	118.1	43.3	19.8	4.0	10.8	35.0	95.5
7	483.7	25.6	45.3	122.0	45.3	18.9	4.0	10.7	37.1	100.0
8	491.7	25.6	45.3	122.0	45.3	19.2	4.0	10.9	37.1	100.0
9	452.0	23.6	41.4	102.4	41.4	19.1	4.4	10.9	40.4	100.0
10	475.8	23.6	41.4	102.4	43.3	20.1	4.6	11.0	40.4	95.5
ผลรวม	4,718.4	244.3	419.6	1,141.9	425.5	193.2	41.5	111.0	369.1	986.4
ค่าเฉลี่ย	471.8	24.4	42.0	114.2	42.6	19.3	4.1	11.1	36.9	98.6
ค่าสูงสุด	507.5	25.6	45.3	125.9	45.3	20.1	4.6	12.3	40.4	105.0
ค่าต่ำสุด	444.1	23.6	37.4	102.4	39.4	18.8	3.8	10.6	32.8	90.5

หมายเหตุ : ความยาวลำตัว (L); ความกว้างลำตัว(W); ความยาววัดจากหัวถึง excretory pore (EP); ความยาววัดจากหัวถึง esophagus (ES) และความยาวหาง (Tail); ค่าสัดส่วน a = L/W; b = L/ES; c = L/T; D% = EP/ES x 100; E% = EP/T x 100

2. ไส้เดือนฝอย *Heterorhabtidis* sp. REh isolate

พบว่าตัวอ่อนระยะที่ 3 มีค่า L = 541 (523-562) ไมครอน, W = 21 (20-22) ไมครอน, EP = 80 (79-85) ไมครอน, ES =112 (108-116) ไมครอน, T = 87 (82-92) ไมครอน, มีค่าสัดส่วน a = 26 (25-26), b = 4.8 (4.7-4.9), c = 6.2 (5.9-6.4), D% = 72 (70-73), E% = 92 (88-96) (ตารางที่ 4)

ตัวเต็มวัยเพศเมียมีลักษณะหางแบบ conoid มีค่า D% = 120 ตัวเต็มวัยเพศผู้ มีลักษณะหางแบบ conoid ความยาวของอวัยวะสืบพันธุ์ (spicule length) = 44 (38-48) ไมครอน สามารถจำแนกโดยเปรียบเทียบกับ Key มาตรฐาน พบว่ารูปร่างลักษณะและสัดส่วนต่างๆ มีความใกล้เคียงกับ *H. indica*

ตารางที่ 4 ค่าการวัดขนาดสัดส่วนของไส้เดือนฝอย *Heterorhabditis* sp. REh isolate ตัวอ่อนระยะที่ 3

ตัวอ่อนที่	ไมครอน					ค่าสัดส่วน (Ratio)				
	L	W	EP	ES	T	a	b	c	D %	E %
1	561.6	22.3	84.7	116.3	91.6	25.2	4.8	6.1	72.8	92.5
2	553.8	21.6	81.6	115.5	88.6	25.6	4.8	6.3	70.6	92.1
3	538.2	20.8	78.5	111.7	84.7	25.9	4.8	6.4	70.3	92.7
4	546.0	21.6	78.5	112.4	86.2	25.3	4.9	6.3	69.8	91.1
5	530.4	20.8	78.5	107.8	89.3	25.5	4.9	5.9	72.8	87.9
6	538.2	20.8	80.1	109.3	88.6	25.9	4.9	6.1	73.3	90.4
7	546.0	21.6	80.9	110.9	87.8	25.3	4.9	6.2	72.9	92.1
8	522.6	20.8	78.5	110.9	81.6	25.1	4.7	6.4	70.8	96.2
9	553.8	21.6	83.2	116.3	91.6	25.6	4.8	6.0	71.5	90.8
10	522.6	20.0	78.5	109.3	81.6	26.1	4.8	6.4	71.8	96.2
ผลรวม	5,413.2	211.9	803.0	1,120.4	871.6	255.5	48.3	62.2	716.8	922.0
ค่าเฉลี่ย	541.3	21.2	80.3	112.0	87.2	25.6	4.8	6.2	71.7	92.2
ค่าสูงสุด	561.6	22.3	84.7	116.3	91.6	26.1	4.9	6.4	73.3	96.2
ค่าต่ำสุด	522.6	20.0	78.5	107.8	81.6	25.1	4.7	5.9	69.8	87.9

หมายเหตุ : ความยาวลำตัว (L); ความกว้างลำตัว(W); ความยาววัดจากหัวถึง excretory pore (EP); ความยาววัดจากหัวถึง esophagus (ES) และความยาวหาง (Tail); ค่าสัดส่วน a = L/W; b = L/ES; c = L/T; D% = EP/ES x 100; E% = EP/T x 100

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ไส้เดือนฝอยสกุล *Steinernema* และ *Heterorhabditis* ที่แยกได้จากดินใน จ.ร้อยเอ็ด รหัส REs และ REh isolate จำแนกโดยพิจารณาจากรูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการวัดขนาดสัดส่วนเปรียบเทียบกับ key มาตรฐาน พบว่า *Steinernema* มีขนาดและรูปร่างใกล้เคียงกับ *S. siamkayai* แยกได้จาก จ.เพชรบูรณ์ และ *S. tami* แยกได้จากประเทศเวียตนาม สำหรับไส้เดือนฝอย *Heterorhabditis* มีความใกล้เคียงกับ *H. indica* ซึ่งจะได้นำไปจำแนกดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิคทางอณูชีวโมเลกุลต่อไป

เอกสารอ้างอิง

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

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด พรพิมล อธิปัญญาคม และ สาโรจน์ ประชาศรัยสรเดช. 2543. งานวิจัยและพัฒนาไส้เดือนฝอย *Steinernema* spp. Thai isolate เพื่อควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี. หน้า 31-32. ใน : รายงานประชุมวิชาการกองโรคพืชและจุลชีววิทยา 8-10 มีนาคม 2543 ณ โรงแรมลองบีช เพชรบุรี.

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.

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

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

Nguyen, K.B. and G.C. Smart. 1996. Identification of entomopathogenic nematodes in the Steinernematidae and Heterorhabditidae (Nemata : Rhabditida). J. Nematol. 28 : 286-300.

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.

ความหลากชนิดของสัตว์ศัตรูธรรมชาติของสัตว์ฟันแทะในพื้นที่ปลูกพืชไร่บนพื้นที่เกษตรที่สูงภาคเหนือ

Diversity of rodent's natural enemies in the upland agricultural area of northern Thailand

เกรียงศักดิ์ หามะฤทธิ์ ปิยาณี หนูกาฬ
สมเกียรติ กล้าแข็ง ทรงทัพ แก้วตา
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ผลการสำรวจในพื้นที่เพาะปลูกพืชบนพื้นที่สูงในท้องที่จังหวัดน่านและจังหวัดพะเยา พบสัตว์ที่เป็นศัตรูธรรมชาติของหนูทั้งหมด 8 ชนิด ได้แก่ นกเค้าแมว นกแสก แมวดาว อีเห็นข้างลาย พังพอนเล็ก ชะมดแผงหางปล้อง สุนัขจิ้งจอก และงูสิงธรรมดา ในแต่ละพื้นที่มีความหลากหลายของชนิดสัตว์ที่เป็นศัตรูธรรมชาติของหนูแตกต่างกัน ที่ต่ำที่สุดมี 2-3 ชนิด ส่วนใหญ่มีความหลากหลาย 4-5 ชนิด พื้นที่ที่มีความหลากหลายมากที่สุด 6 ชนิด ระดับความชุกชุมที่พบเห็นในแต่ละพื้นที่ของสัตว์แต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน เช่น แมวดาว ส่วนใหญ่จะมีความชุกชุมในระดับปานกลาง แต่บางพื้นที่มีความชุกชุมมาก บางพื้นที่มีความชุกชุมน้อย ส่วนนกเค้าแมวส่วนใหญ่มีความชุกชุมมากเกือบทุกพื้นที่ ส่วนสัตว์ผู้ล่าขนาดใหญ่ เช่น สุนัขจิ้งจอกและชะมดแผงหางปล้อง แต่ละพื้นที่ก็มีความชุกชุมน้อยมาก เนื่องจากมีความต้องการแหล่งอาศัยที่เป็นพื้นที่ป่าไม้ ประกอบกับมีการล่าสัตว์เหล่านี้มากเป็นสาเหตุที่ทำให้ประชากรลดลง พบเห็นได้ในบางพื้นที่และมีความชุกชุมน้อยมาก ในกรณีของนกแสกที่พบเห็นได้น้อยและมีความชุกชุมน้อยอาจเนื่องจากนกแสกชอบอาศัยในบริเวณพื้นที่ชุมชนและพื้นที่เกษตรกรรมในบริเวณพื้นที่ราบมากกว่าในพื้นที่สูงจึงพบเห็นได้น้อย

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-18-54

คำนำ

พื้นที่ปลูกพืชในพื้นที่สูงทางภาคเหนือในหลายจังหวัด เช่น ตาก เชียงใหม่ เชียงราย น่าน และแม่ฮ่องสอน เป็นแหล่งปลูกพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจที่สำคัญ เช่น ข้าวไร่ ข้าวโพด ถั่วเหลือง ถั่วพื้นเมืองและกาแฟ แต่การปลูกพืชเหล่านี้บนพื้นที่สูงในปัจจุบันประสบปัญหาความเสียหายจากการทำลายของสัตว์ฟันแทะและมีแนวโน้มที่จะเพิ่มความรุนแรงมากขึ้น เนื่องจากระบบนิเวศของพื้นที่ปลูกพืชบนที่สูงมีป่าไม้ธรรมชาติและป่าที่ฟื้นฟูสภาพจากการหยุดใช้พื้นที่ปลูกพืชเป็นแหล่งอาศัยของสัตว์ฟันแทะ พื้นที่เพาะปลูกพืชหมุนเวียนของเกษตรกรที่มีอาณาเขตติดต่อหรือใกล้กับขอบเขตป่า สัตว์ฟันแทะที่อาศัยอยู่ในป่าจะออกมาหากินพืชที่ปลูกในพื้นที่ข้างเคียง แล้วแพร่ขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนประชากรมากขึ้น เนื่องจากมีพืชอาหารหมุนเวียนเลี้ยงประชากรสัตว์เหล่านี้ตลอดทั้งปี เกษตรกรในพื้นที่สูงยังไม่มีความรู้ในการป้องกันกำจัดสัตว์ศัตรูพืช ทำให้ผลผลิตที่ควรจะได้ลดลง ความเสียหายจากสัตว์ฟันแทะต่อผลผลิตทำให้เกษตรกรต้องหาทางเพิ่มปริมาณผลผลิต โดยการบุกรุกพื้นที่ป่าสำหรับใช้ในการเพาะปลูกมากขึ้น เป็นสาเหตุของการทำลายทรัพยากรป่าไม้บนพื้นที่ป่าต้นน้ำลำธารอีกสาเหตุหนึ่ง ถ้าหากมีการศึกษาวิจัยจนรู้ถึงชนิดสัตว์ศัตรูธรรมชาติของสัตว์แทะที่มีศักยภาพในการควบคุมสัตว์ฟันแทะ โดยเฉพาะสัตว์ในกลุ่มของหนูที่เป็นศัตรูของพืชที่เกษตรกรปลูกหมุนเวียนบนพื้นที่สูง จนสามารถนำมาสู่การเพิ่มประชากรในธรรมชาติ หรือการนำมาปล่อยกลับคืนสู่ธรรมชาติ จะเป็นประโยชน์ในระยะยาวต่อการจัดการสัตว์ฟันแทะที่ทำความเสียหายแก่ผลผลิตพืชไร่ของเกษตรกรบนพื้นที่สูงได้อย่างยั่งยืน จะสามารถช่วยเพิ่มปริมาณและคุณภาพของผลผลิต รวมทั้งเพิ่มรายได้จากการเกษตรให้แก่เกษตรกร และจะสามารถช่วยลดผลกระทบจากการใช้สารเคมีกำจัดสัตว์ฟันแทะ อนุรักษ์พันธุ์สัตว์ป่าที่เป็นประโยชน์ทางการเกษตร และช่วยลดการบุกรุกแผ้วถางป่าได้อีกส่วนหนึ่ง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. GPS
2. กล้องดักถ่ายภาพสัตว์
3. กล้องส่องทางไกลแบบสองตา
4. กล้องส่องทางไกลแบบตาดียว

5. กล้องถ่ายรูป

วิธีการ

1. สืบค้นแหล่งที่มีการระบาดของสัตว์ฟันแทะในพื้นที่ปลูกพืชบนพื้นที่สูงเช่น นาข้าว ข้าวไร่ ข้าวโพด ไม้ผลและถั่ว ในท้องที่จังหวัดตาก ลำปาง เชียงใหม่ อุตรดิตถ์ แพร่ น่าน พะเยา เชียงราย แม่ฮ่องสอนและเพชรบูรณ์

2. ดำเนินการสำรวจสัตว์ศัตรูธรรมชาติของสัตว์ฟันแทะในพื้นที่ปลูกพืชบนพื้นที่สูงเช่น นาข้าว ข้าวไร่ ข้าวโพด ถั่ว รวมทั้งพื้นที่ทิ้งร้างรอการหมุนเวียนกลับมาใช้เพาะปลูกอีก โดยการวางกรงดักเป็น กรงดักแบบรั้ว (TBS) กับดักพื้นเมืองและกล้องดักถ่ายภาพ (camera trap) รวมทั้งสำรวจร่องรอย รัง โพรง มูล เสียงร้อง และซาก

3. ถ่ายรูป สตั๊ฟเก็บตัวอย่างสัตว์ วิเคราะห์ซากที่พบในมูลและทำแผนที่การแกระจายด้วยGPS

เวลา สถานที่ สำรวจและเก็บข้อมูลระหว่างเดือนตุลาคม 2553- กันยายน 2554 ในพื้นที่เพาะปลูกพืชบนพื้นที่สูง ในท้องที่จังหวัดน่านและจังหวัดพะเยา

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจและเก็บข้อมูลระหว่างเดือนตุลาคม 2553- กันยายน 2554 ในพื้นที่เพาะปลูกพืชบนพื้นที่สูง ในท้องที่จังหวัดน่านและจังหวัดพะเยา พบสัตว์ที่เป็นศัตรูธรรมชาติของหนูทั้งหมด 8 ชนิด โดยเป็นกลุ่มนกกลางคืน 2 ชนิด ได้แก่ นกเค้าแมวและนกแสก เป็นสัตว์ลี้ยงลูกด้วยนม 5 ชนิด ได้แก่ แมวดาว อีเห็นข้างลาย พังพอนเล็ก ชะมดแผงหางปล้อง และสุนัขจิ้งจอก สัตว์จำพวกงู 1 ชนิด ได้แก่ งูสิงธรรมดา (**ตารางที่ 1**) ในแต่ละพื้นที่มีความหลากหลายของชนิดสัตว์ที่เป็นศัตรูธรรมชาติของหนูแตกต่างกัน ต่ำที่สุดมี 2-3 ชนิด ส่วนใหญ่มีความหลากหลาย 4-5 ชนิด พื้นที่ที่มีความหลากหลายมากที่สุด 6 ชนิด สัตว์ที่เป็นศัตรูธรรมชาติของหนูที่พบในพื้นที่เกษตรกรรมบนพื้นที่สูงเกือบทุกพื้นที่มี 4 ชนิด คือ แมวดาว อีเห็นข้างลาย พังพอนเล็กและนกเค้าแมว สัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนูที่พบในพื้นที่เพาะปลูกบนพื้นที่สูงเพียงบางพื้นที่มี 3 ชนิด คือ ชะมดแผงหางปล้อง สุนัขจิ้งจอก และนกแสก

นอกจากความถี่ในการพบเห็นแล้ว ถ้าหากพิจารณาถึงระดับความชุกชุมที่พบเห็นในแต่ละพื้นที่ของสัตว์แต่ละชนิด จะพบว่ามีความแตกต่างกัน เช่น แมวดาว ส่วนใหญ่จะมีความชุกชุมในระดับปานกลาง แต่บางพื้นที่มีความชุกชุมมาก เช่นพื้นที่เกษตรที่สูง ตำบลภูฟ้า อำเภอบ่อเกลือ จังหวัดน่าน บางพื้นที่มีความชุกชุมน้อย เช่น ในพื้นที่เกษตรที่สูงในท้องที่จังหวัดพะเยา ส่วนนกเค้าแมว ส่วนใหญ่มีความชุกชุม

มากเหมือนกันเกือบทุกพื้นที่ เนื่องจากเป็นนกขนาดเล็กที่สามารถปรับตัวให้อยู่ได้ในพื้นที่เกษตรกรรมและชุมชน รวมทั้งสามารถกินอาหารได้หลากหลาย ส่วนสัตว์ผู้ล่าขนาดใหญ่ เช่น สุนัขจิ้งจอก และชะมดแผงหางปล้อง พบเห็นได้เพียงชนิดละ 1 พื้นที่ แต่ละพื้นที่ก็มีความชุกชุมน้อยมาก เนื่องจากมีความต้องการแหล่งอาศัยที่เป็นพื้นที่ป่าไม้มากกว่า แต่เนื่องจากพื้นที่ป่าถูกทำลายจนโล่งเตียนไปเกือบหมด สัตว์ผู้ล่าขนาดใหญ่จึงอาศัยอยู่ไม่ได้ ประกอบกับมีการล่าสัตว์เหล่านี้ไปเป็นอาหารจำนวนมาก รวมทั้งการฆ่าสัตว์ผู้ล่าที่รบกวนสัตว์เลี้ยง เช่น สุนัขจิ้งจอก ก็เป็นสาเหตุที่ทำให้ประชากรลดลง พบเห็นได้ในบางพื้นที่และมีความชุกชุมน้อยมาก ในกรณีของนกแสก ที่พบเห็นได้น้อยและมีความชุกชุมน้อยด้วยนั้น อาจจะเนื่องมาจากนกแสกชอบอาศัยในบริเวณพื้นที่ชุมชนและพื้นที่เกษตรกรรมในบริเวณพื้นที่ราบมากกว่าในพื้นที่สูง ดังนั้นจึงพบเห็นนกแสกได้น้อย

สรุปผลผการทดลอง

ผลการสำรวจในพื้นที่เกษตรกรรมบนพื้นที่เกษตรที่สูงในท้องที่จังหวัดน่านและจังหวัดพะเยา พบสัตว์ที่เป็นศัตรูธรรมชาติของหนูทั้งหมด 8 ชนิด ได้แก่ นกเค้าแมว นกแสก แมวดาว อีเห็นข้างลาย พังพอนเล็ก ชะมดแผงหางปล้อง สุนัขจิ้งจอก และงูสิงธรรมดา ในแต่ละพื้นที่มีความหลากหลายของชนิดสัตว์ที่เป็นศัตรูธรรมชาติของหนูแตกต่างกัน ที่ต่ำที่สุดมี 2-3 ชนิด ส่วนใหญ่มีความหลากหลาย 4-5 ชนิด พื้นที่ที่มีความหลากหลายมากที่สุด 6 ชนิด ระดับความชุกชุมที่พบเห็นในแต่ละพื้นที่ของสัตว์แต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน เช่น แมวดาว ส่วนใหญ่จะมีความชุกชุมในระดับปานกลาง แต่บางพื้นที่มีความชุกชุมมาก บางพื้นที่มีความชุกชุมน้อย ส่วนนกเค้าแมวส่วนใหญ่มีความชุกชุมมากเกือบทุกพื้นที่ ส่วนสัตว์ผู้ล่าขนาดใหญ่ เช่น สุนัขจิ้งจอกและชะมดแผงหางปล้อง แต่ละพื้นที่ก็มีความชุกชุมน้อยมาก เนื่องจากมีความต้องการแหล่งอาศัยที่เป็นพื้นที่ป่าไม้ ประกอบกับมีการล่าสัตว์เหล่านี้มากเป็นสาเหตุที่ทำให้ประชากรลดลง พบเห็นได้ในบางพื้นที่และมีความชุกชุมน้อยมาก ในกรณีของนกแสกที่พบเห็นได้น้อยและมีความชุกชุมน้อยอาจเนื่องจากนกแสกเป็นนกที่ชอบอาศัยในบริเวณพื้นที่ราบ ใกล้เคียงพื้นที่ชุมชนและพื้นที่เกษตรกรรมมากกว่าในสภาพพื้นที่สูง จึงพบเห็นนกแสกได้น้อย

เอกสารอ้างอิง

Boonsong, P., Hongnark, S., Suasa-ard, K., Khoprasert, Y., Promkerd, P., Hamarit,G., Nookarn, P. and Jakel,T.1999. Rodent management in Thailand.pp.338-357. *In* **Ecologically-based rodent management**.

Duckett, J.E.and Karuppuah, S. 1989. A guide to the planter in utilizing barn owl (Tyto alba) as an effective biological control of rats in mature oil palm plantations. pp.357-372. *In* **PORIM International oil palm Development Conference**.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 พื้นที่สำรวจ นิเวศวิทยาถิ่นที่อยู่อาศัย ชนิดสัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนูและระดับความชุกชุม

จังหวัด	อำเภอ	นิเวศวิทยาถิ่นที่อยู่อาศัย	ชนิดสัตว์ศัตรูธรรมชาติ	ระดับความชุกชุม
น่าน	อำเภอภูเพียง	พื้นที่ปลูกข้าวโพด ข้าวไร่ สวนไม้ผล สวนสัก สวนยางพารา และป่าไม้	แมวดาว อีเห็นข้างลาย พังพอนเล็ก นกเค้าแมว นกแสก	ปานกลาง น้อย ปานกลาง มาก น้อย
	อำเภอท่าวังผา	พื้นที่ปลูกข้าวโพด ข้าวไร่ สวนไม้ผล สวนสัก สวนยางพารา และป่าไม้	แมวดาว อีเห็นข้างลาย ชะมดแผงหางปล้อง พังพอนเล็ก นกเค้าแมว นกแสก	ปานกลาง น้อย น้อยมาก ปานกลาง มาก น้อย
	อำเภอบ่อเกลือ	พื้นที่ปลูกข้าวโพด ข้าวไร่ และป่าไม้	แมวดาว อีเห็นข้างลาย พังพอนเล็ก นกเค้าแมว นกแสก	มาก น้อย ปานกลาง มาก น้อย
	อำเภอปัว	พื้นที่ปลูกข้าวโพด ข้าวไร่ สวนไม้ผล สวนไผ่ รวก และป่าไม้	แมวดาว อีเห็นข้างลาย พังพอนเล็ก นกเค้าแมว	ปานกลาง น้อย ปานกลาง มาก

	อำเภอ	นิเวศวิทยาถิ่นที่อยู่อาศัย	ชนิดสัตว์ศัตรูธรรมชาติ	ระดับความชุกชุม
	อำเภอสองแคว	พื้นที่ปลูกข้าวโพด ข้าวไร่ สวนไม้ผล สวนยางพาราและป่าไม้	แมวดาว อีเห็นข้างลาย พังพอนเล็ก นกเค้าแมว สุนัขจิ้งจอก	ปานกลาง น้อย ปานกลาง มาก น้อยมาก
	อำเภอสันติสุข	พื้นที่ปลูกข้าวโพด ข้าวไร่ สวนไม้ผล สวนสัก สวนยางพาราและป่าไม้	แมวดาว อีเห็นข้างลาย พังพอนเล็ก นกเค้าแมว	ปานกลาง น้อย ปานกลาง มาก
	อำเภอบ้านหลวง	พื้นที่ปลูกข้าวโพด สวนยางพาราและป่าไม้	พังพอนเล็ก นกเค้าแมว	ปานกลาง ปานกลาง
พะเยา	อำเภอเชียงม่วน	พื้นที่ปลูกข้าวโพด สวนสัก สวนยางพาราและป่าไม้	พังพอนเล็ก นกเค้าแมว งูสิงธรรมดา	น้อย มาก น้อย
	อำเภอปง	พื้นที่ปลูกข้าวโพด ข้าวไร่ สวนไม้ผล สวนยางพาราและป่าไม้	แมวดาว อีเห็นข้างลาย พังพอนเล็ก นกเค้าแมว	น้อย น้อย ปานกลาง มาก
	อำเภอเชียงคำ	พื้นที่ปลูกข้าวโพด ข้าวไร่ สวนไม้ผล สวนยางพาราและป่าไม้	แมวดาว อีเห็นข้างลาย พังพอนเล็ก นกเค้าแมว	น้อย น้อย ปานกลาง มาก

เกณฑ์ประเมินระดับความชุกชุม

น้อยมาก= สำรวจพบน้อยกว่า 10 % ของพื้นที่หรือเส้นทางสำรวจ

น้อย = สำรวจพบ 10-25 % ของพื้นที่หรือเส้นทางสำรวจ

ปานกลาง= สำรวจพบ 26-50 % ของพื้นที่หรือเส้นทางสำรวจ

มาก= สำรวจพบมากกว่า 50%ของพื้นที่หรือเส้นทางสำรวจ

ความหลากชนิดและประชากรของหอยทากและทากในโรงเรือนปลูกพืช

Survey of Snails and Slugs in Green House

ปราสาททอง พรหมเกิด ปิยาณี หนูกาศ ดาราพร รินทะรักษ์

สมเกียรติ กล้าแข็ง ทรงทัพ แก้วตา

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การสำรวจชนิดและประชากร หอยและทากในโรงเรือนปลูกไม้ดอกไม้ประดับ ได้แก่ กล้วยไม้ดอกเบญจมาศ ดอกหน้าวัว โรงเรือนปลูกผัก ได้แก่ ผักชีฝรั่ง ผักกาด ผักคะน้า โรงเรือนเพาะชำกล้าไม้ ได้แก่ เพาะชำกล้าไม้ยืนต้นของกรมป่าไม้ เพาะชำกล้าไม้สำหรับขาย เพาะชำกล้าต้นหม่อน เพาะชำกล้าไม้ยางพารา และ โรงเรือนส้มปลอดโรค พื้นที่จังหวัดต่างๆในภาคกลางและภาคเหนือของประเทศ ด้วยการใช้ตารางขนาด 1 ตารางเมตร สุ่มนับประมาณ 10 จุด/ไร่ ให้กระจายทั่วพื้นที่ อาจเดินสุ่มตามแนวเส้นทแยงมุมทั้งสองด้าน หรือแนวขนานกับพื้นที่ พร้อมทั้งเก็บหอยที่มีชีวิตอยู่มาเลี้ยงที่กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตรและเก็บรวบรวมเปลือกหอยมาทำความสะอาดเพื่อชั่งน้ำหนักและวัดขนาดแล้วเก็บไว้เป็นตัวอย่างใช้จำแนกชนิดของหอยพร้อมทั้งเก็บดินหรือวัสดุปลูกจากแปลงมาวัดความชื้นและความเป็นกรด-ด่าง และบันทึกสภาพแวดล้อมในโรงเรือน จากการสำรวจพบว่าหอยและทากหลายชนิดในโรงเรือนปลูกพืชต่างๆ จำแนกเป็นชนิด (ช่วงจำนวนประชากรหอยหรือทากเฉลี่ย) ได้แก่ชนิดที่เป็นศัตรูพืชที่สำคัญ พบ ทากเล็บมือนาง *Pamarion siammensis* (0.1 – 2.9) หอยดักดาน *Cryptozona siammensis* (1.0 - 12.2) หอยสาลิกา *Sarika* sp. (1.0 – 4.3) หอยทากยักษ์แอฟริกา *Achatina fulica* (1.0 – 4.1) หอยเจดีย์เล็ก *Lamellaxis gracilis* (1.0 – 2.1) หอยเจดีย์ใหญ่ *Prosopea walkeri* (1.0) หอยแรบบิดินา *Rhabidina* sp. (4.2) และหอยซัคซิเนีย *Succinea* sp. (3.0 - 45.0) ชนิดที่กินซากพืชและสัตว์ พบ ทากกล้วยตาก*Semperula siamensis*(0.1) ชนิดที่กินตระใคร่น้ำหรือมอสส์ พบ หอยไซโคลโตพีส *Cyclotopis* sp. (3.5 – 9.2) หอยหอม *Cyclophorus* sp. (1.0) หอยหางดิ้น *Durgella* sp.(0.2) และชนิดที่เป็นผู้ล่าหอย พบทากซาราซิน *Atopos sarasini* (0.1) หอยเจดีย์เล็ก

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-19-54

(1.0 – 2.1) เป็นต้น ดินมี pH 5.5 - 7.0 และ มีความชื้น 52.74 - 85.29 % ซึ่งโรงเรือนบางแห่งพบหอยที่เป็นศัตรูพืชสูงได้แก่หอยดักดาน และหอยซัคซิเนีย มีจำนวนเฉลี่ย 12.2 และ 45.0 ตัวต่อตารางเมตร จะต้องทำการกำจัด งานสำรวจนี้ยังดำเนินการต่อปี 2555

คำนำ

หอยทากและทากที่อาศัยอยู่บนบกมีหลายชนิดที่เป็นศัตรูพืช จะกัดกินพืชผลทางการเกษตร ได้แก่ราก ต้นอ่อน ใบ ดอก และ ผล เป็นต้น ของพืชเหล่านั้นเป็นอาหาร ทำให้ได้รับความเสียหาย ทั้งในพืชไร่ พืชผัก ไม้ดอกและไม้ประดับตลอดจนป่าไม้ นอกจากจะเป็นศัตรูพืชแล้วยังเป็นพาหะนำโรคมาสู่พืชและมนุษย์ด้วย ดังเช่นกล้วยจะถูกกัดกินตั้งแต่ระยะผลอ่อน ทำให้เกิดแผลและมีผิวสีน้ำตาลบางครั้งอาจเน่าเสีย เนื่องจากถูกแบคทีเรียเข้าทำลาย (Dawkins et.al.,1985)

หอยทากและทากมีรูปร่างลักษณะภายนอกแตกต่างกันคือ หอยจะมีเปลือกปกคลุมลำตัวไว้ ส่วนทากไม่มีหรือมีเปลือกขนาดเล็กปกคลุมลำตัว เปลือกหอยทำหน้าที่ป้องกันศัตรูและความชื้นที่ผิวลำตัวและน้ำภายในลำตัวให้คงอยู่ได้นาน เมื่ออยู่ในสภาพแห้งแล้ง ดังนั้นหอยทากและทากจึงชอบที่จะอาศัยอยู่ในที่ชุ่มชื้น โดยเฉพาะในแปลงที่เป็นโรงเรือนปลูกพืช เช่นโรงเรือนไม้ดอกและไม้ประดับ โรงเรือนปลูกพืชผัก โรงเรือนแปลงเพาะชำกล้าไม้ เป็นต้น ชมพูนุทและคณะ(2545) ได้ศึกษาชีววิทยาหอยซัคซิเนียเป็นศัตรูที่สำคัญในโรงเรือนปลูกกล้วยไม้ พบว่า หอยชอบอาศัยอยู่ในที่มีความ ชื้นสูง หอยจะไข่ตามพื้นดิน และกาบมะพร้าวที่เป็นวัสดุปลูกเป็นกลุ่ม ๆ ละ 4-10 ฟอง ไข่จะฟักภายใน 5-7 วัน ชมพูนุท (2546) ได้มีการสำรวจหอยและทากในประเทศไทยใน 24 จังหวัด พบว่าทั้งหอยทากและทากที่สำรวจทั้งที่อาศัยอยู่ในน้ำและบนบก มีรูปร่างลักษณะของหอยและทากแตกต่างกัน ทั้งที่พบหอยและทากในแปลง ไม้ผล ไม้ดอกไม้ประดับ พืชผัก พืชสมุนไพรและเครื่องเทศเป็นต้น โดยเฉพาะโรงเรือนเพาะชำกล้าไม้ที่มีการเพาะปลูกต้นกล้าพืชเล็กๆ หอยทากและทากจึงชอบเข้ามากัดกินกล้าพืชเหล่านั้นเป็นอาหารจนได้รับความเสียหายได้ต้องทำการปลูกใหม่ หลังจากทำการกำจัดหอย และทากเหล่านั้นแล้ว (Jahan and Raut, 1994) ดังนั้นจึงควรมีการศึกษา สำรวจชนิดของหอยทากและทากในโรงเรือนปลูกพืชพื้นที่ต่างๆตลอดจนสภาพทางนิเวศวิทยาที่เอื้ออำนวยต่อการอาศัยอยู่ของหอยทากและทากเหล่านั้นเพื่อทราบชนิดและเป็นฐานข้อมูลสำหรับอ้างอิง และสำหรับเตือนภัยตลอดจนหาวิธีการป้องกันกำจัดต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สัตว์ทดลอง

   หอยทาก และทากบก

2. อุปกรณ์

   2.1 แปลงโรงเรือนปลูกพืชชนิดต่างๆ

   2.2 กรอบตารางสุ่มนับประชากรหอยและทาก ขนาด 1 ตารางเมตร

   2.3 กล้องถ่ายรูป ถุงพลาสติกเก็บตัวอย่าง

   2.4 บีคเกอร์ กระดาษวัดความเป็นกรด ด่าง

   2.5 ตู้อบความร้อน เครื่องวัดพิกัดพื้นที่

   2.6 เครื่องชั่งน้ำหนัก

วิธีการ

1.สำรวจ ชนิด และประชากรหอยทากและทากในโรงเรือนปลูกพืชได้แก่ ไม้ดอกและไม้ประดับ พืชผัก เรือนเพาะชำกล้าไม้ เป็นต้น ของแต่ละจังหวัดในแต่ละภาคของประเทศ

2. สำรวจ ชนิด และประชากรหอยทากและทากด้วยการใช้ตารางสุ่มขนาด 1 ตารางเมตร โดยสุ่มนับประมาณ 10จุดต่อไร่ให้กระจายทั่วพื้นที่ด้วยการเดินสุ่มตามแนวเส้นทะแยงมุมทั้งสองด้าน พร้อมทั้งเก็บหอยที่มีชีวิตอยู่มาเลี้ยงที่กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตรและเก็บรวบรวมเปลือกหอยมาทำความสะอาดเพื่อชั่งน้ำหนักและวัดขนาดแล้วเก็บไว้เป็นตัวอย่างใช้จำแนกชนิดของหอย

3. สำรวจความเสียหายของพืชที่ปลูกด้วยตารางสุ่มขนาด 1 ตารางเมตรซึ่งเป็นจุดเดียวกันกับที่นับประชากรหอย สุ่มนับประมาณ10จุดต่อไร่โดยนับจำนวนต้นพืชที่ถูกทำลายและต้นพืชทั้งหมดในแต่ละกรอบตารางสุ่ม

4.เก็บดินหรือวัสดุปลูกจากแปลงมาวัดความชื้นและความเป็นกรด-ด่าง และบันทึกสภาพแวดล้อมของพื้นที่ในโรงเรือน

5. วัดพิกัดตำแหน่งโรงเรือนแปลงปลูกพืช

เวลาและสถานที่

เริ่ม ตุลาคม 2553 ถึง กันยายน 2554 ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กรมวิชาการเกษตร และแหล่งโรงเรือนปลูกพืช จังหวัดต่างๆในภาคกลาง และภาคเหนือ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การสำรวจชนิดและประชากรหอยและทากในโรงเรือนปลูกพืช ตามพื้นที่จังหวัดต่างๆในแต่ละภาคของประเทศ ด้วยการใช้ตารางสุ่มขนาด 1 ตารางเมตร โดยสุ่มนับประมาณ 10จุดต่อไร่ให้กระจายทั่วพื้นที่ อาจเดินสุ่มตามแนวเส้นทแยงมุมทั้งสองด้าน หรือแนวขนานกับพื้นที่ พร้อมทั้งเก็บหอยที่มีชีวิตอยู่มาเลี้ยงที่กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตรและเก็บรวบรวมเปลือกหอยมาทำความสะอาดเพื่อชั่งน้ำหนักและวัดขนาดแล้วเก็บไว้เป็นตัวอย่างใช้จำแนกชนิดของหอยพร้อมทั้งเก็บดินหรือวัสดุปลูกจากแปลงมาวัดความชื้นและความเป็นกรด-ด่าง และบันทึกสภาพแวดล้อมของพื้นที่ในโรงเรือน จากการสำรวจพบว่า

พื้นที่จังหวัดภาคกลาง

ที่อำเภอ เดิมบางนางบวช จังหวัดสุพรรณบุรี เป็นโรงเรือนปลูกกล้วยไม้พบหอยซัคซิเนีย *Succinea* sp. เฉลี่ย 3 ตัวต่อตารางเมตร หอยเจดีย์ใหญ่ *Prosopea walkeri* หอยเจดีย์เล็ก *Lamellaxis gracilis* หอยสาลิกา *Sarika* sp. และหอยทากยักษ์แอฟริกา *Achatina fulica* เฉลี่ยชนิดละ 1 ตัวต่อตารางเมตร ดินมีความเป็นกรดด่าง 7.5 ความชื้น 71.42 %

ที่อำเภอ ท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี เป็นโรงเรือนปลูกผักคะน้า พบหอยอัมพัน เฉลี่ย 45.18 ตัวต่อตารางเมตร

ที่อำเภอ หนองฉาง จังหวัด อุทัยธานี เป็นโรงเรือนเพาะชำขายพันธุ์ไม้ พบหอยไซโคลโตพีส *Cyclotopis* sp. หอยเจดีย์เล็ก หอยอำพัน และหอยสาริกา เฉลี่ย 2.0, 1.5, 2.5 และ 1.0 ตัวต่อตารางเมตร ตามลำดับ

ที่ อำเภอเมือง จังหวัด ชัยนาท เป็นโรงเรือนเพาะชำกล้าหม่อน พบหอยเจดีย์เล็ก หอยดักดาน *Cryptozona siammensis* และหอยสาริกา เฉลี่ย 3.3, 2.0 และ1.0 ตัวต่อตารางเมตร ตามลำดับ ที่ อำเภอ หันคา จังหวัด ชัยนาท เป็นโรงเรือนปลูกผักกาด พบหอยเจดีย์เล็กเฉลี่ย 2.0 ตัวต่อตารางเมตร

ที่ อำเภอ เมือง จังหวัด สิงห์บุรี เป็นโรงเรือน สวนกล้วยไม้ พบ ทากเล็บมือนาง และหอยอำพันเฉลี่ย 1.0 และ 1.0 ตัวต่อตารางเมตร ตามลำดับ ที่ อำเภอ อินทร์บุรี จังหวัด สิงห์บุรีเป็นโรงเรือน เพาะชำกล้าไม้ พบหอยดักดาน เฉลี่ย 1.1 ตัวต่อตารางเมตร

ที่ อำเภอ เมือง จังหวัด ลพบุรี เป็นโรงเรือนเพาะชำกล้าไม้ พบหอยดักดาน หอยหอม *Cyclophorus* sp. และหอยทากยักษ์แอฟริกาและ โรงเรือนเพาะชำขายพันธุ์ไม้ พบหอยไซโคลโตพีส

หอยเจดีย์เล็ก และหอยดักดาน เฉลี่ย 5.5, 1.0, 1.0, 20.0, 10.0 และ 1.5 ตัวต่อตารางเมตร ตามลำดับ ดินมี pH 5.5 - 7.0 และ มีความชื้น 52.74 - 85.29 %

พื้นที่จังหวัดภาคเหนือ

ที่ อำเภอ ห้างฉัตร จังหวัด ลำปาง เป็นโรงเรือนปลูกหน้าวัว พบหอยดักดาน หอยสาริกา หอยทากยักษ์แอฟริกา และทากเล็บมือนาง *Pamarion siammensis* เฉลี่ย 4.6, 0.4, 0.4 และ1.2 ตัวต่อตารางเมตร ตามลำดับ

ที่ อำเภอ ฝาง จังหวัด เชียงใหม่ เป็นโรงเรือนปลูกหน้าวัวพบ หอยดักดาน หอยสาริกา หอยทากยักษ์แอฟริกาและทากเล็บมือนาง ทากกล้วยตาก*Semperula siamensis* และทากซาราซิน *Atopos sarasini* เฉลี่ย 0.1, 0.2, 4.1, 0.1, 0.1 และ 0.1 ตัวต่อตารางเมตร ตามลำดับ ที่ อำเภอจอมทอง จังหวัด เชียงใหม่ เป็นโรงเรือนปลูกเบญจมาศ พบหอยแรบบิดินา *Rhabidina* sp. หอยหางดิ้น *Durgella* sp. และทากเล็บมือนาง เฉลี่ย 4.2, 0.2, และ 2.9 ตัวต่อตารางเมตร ตามลำดับ และที่ อำเภอ หางดง จังหวัด เชียงใหม่ เป็นโรงเรือนปลูกเบญจมาศ พบหอยดักดานและ หอยทากยักษ์แอฟริกา เฉลี่ย 0.8 และ 0.2 ตัวต่อตารางเมตร ตามลำดับ

ที่ อำเภอ แม่สอด จังหวัด ตาก เป็นโรงเรือนปลูกหน้าวัว พบหอยดักดานและ หอยสาริกา เฉลี่ยชนิดละ 1 ตัวต่อตารางเมตร ที่ อำเภอ เมือง จังหวัด ตาก เป็นโรงเรือนเพาะชำกล้าหม่อน พบหอยดักดานและหอยสาริกา เฉลี่ย 3.6 และ2.5 ตัวต่อตารางเมตร ตามลำดับ โรงเรือนส้มปลอดโรค พบทากเล็บมือนาง หอยดักดานและหอยสาริกาเฉลี่ย 1.0,12.6 และ 3.0 ตัวต่อตารางเมตร ตามลำดับ

ที่อำเภอ เวียงสา จังหวัด น่าน เป็นโรงเรือนขายกล้ายางพารา พบหอยดักดาน เฉลี่ยและ 0.2 ตัวต่อตารางเมตร ที่ อำเภอ เมือง จังหวัด น่าน เป็นโรงเรือนส้มปลอดโรค พบ หอยดักดานและหอยเจดีย์เล็ก โรงเรือนปลูกหน้าวัว พบทากเล็บมือนาง และหอยดักดานเฉลี่ย 7.8, 1.5, 1.0 และ 1.4 ตัวต่อตารางเมตร ตามลำดับ

ที่ อำเภอ เด่นชัย จังหวัด แพร่ เป็นโรงเรือนเพาะชำกล้าไม้ พบทากเล็บมือนาง หอยดักดานและหอยสาริกา อำเภอ ร้องกวาง จ. แพร่ เป็นโรงเรือนเพาะชำกล้าไม้ พบหอยดักดาน เฉลี่ย,2.0, 2.3, 1.0 และ 2.2 ตัว ต่อตารางเมตร ตามลำดับ

ที่ อำเภอ .เมือง จังหวัด อุตรดิตถ์ เป็นโรงเรือนเพาะชำกล้าไม้ พบหอยดักดาน โรงเรือนขายพันธุ์ไม้ พบหอยดักดานและหอยสาริกา เฉลี่ย 13.1, 3.5 และ 1.0 ตัว ต่อตารางเมตร ตามลำดับ

ที่ อำเภอ เมือง จังหวัด พิษณุโลก เป็นโรงเรือนปลูกผักชีฝรั่ง พบหอยดักดาน ที่อำเภอ วังทอง จังหวัด พิษณุโลก พบทากเล็บมือนาง หอยดักดานและหอยสาลิกา เฉลี่ย 1.2, 1.0, 3.3และ/2.5 ตัวต่อตารางเมตร ตามลำดับ

ที่ อำเภอ เมือง จังหวัด พิจิตร เป็นโรงเรือนส้มปลอดโรค พบ หอยดักดาน ไซโคโตพีส และหอยเจดีย์เล็ก โรงเรือนปลูกหน้าวัว พบทากเล็บมือนาง ไซโคโตพีส และหอยดักดาน เฉลี่ย 1.0, 9.2, 7.2, 1.0, 3.5 และ 1.0 ตัว ตัวต่อตารางเมตร ตามลำดับ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากผลการสำรวจชนิดและประชากรหอยและทากในโรงเรือนปลูกพืช ตามพื้นที่จังหวัดต่างๆ ในภาคกลางและภาคเหนือของประเทศ ในโรงเรือนปลูกพืชต่างๆ คือ โรงเรือนปลูกไม้ดอกไม้ประดับ ได้แก่ กล้วยไม้ ดอกเบญจมาศ ดอกหน้าวัว โรงเรือนปลูกผัก ได้แก่ ผักชีฝรั่ง ผักกาด ผักคะน้า โรงเรือนเพาะชำกล้าไม้ ได้แก่ เพาะชำกล้าไม้ยืนต้นของกรมป่าไม้ เพาะชำกล้าไม้สำหรับขาย เพาะชำกล้าต้นหม่อน เพาะชำกล้าไม้ยางพารา และ โรงเรือนส้มปลอดโรค พบหอยและทากหลายชนิดในโรงเรือนปลูกพืชต่างๆ จำแนกเป็นชนิด (ช่วงจำนวนประชากรหอยหรือทากเฉลี่ย) ได้แก่ชนิดที่เป็นศัตรูพืชที่สำคัญ พบ ทากเล็บมือนาง (0.1 – 2.9) หอยดักดาน(1.0 - 12.2) หอยสาลิกา(1.0 – 4.3) หอยทากยักษ์แอฟริกา(1.0 – 4.1) หอยเจดีย์เล็ก(1.0 – 2.1) หอยเจดีย์ใหญ่ (1.0) หอยแรบบิดินา (4.2) และหอยซัคซิเนีย(3.0 - 45.0) ชนิดที่ชากพืชและสัตว์ พบ ทากกล้วยตาก(0.1) ชนิดที่กินตระใคร่น้ำหรือมอสส์ พบ หอยไซโคลโตพีส (3.5 – 9.2) หอยหอม (1.0) หอยหางดิ้น (0.2) และชนิดที่เป็นผู้ล่าหอย พบ ทากซาราซิน (0.1) หอยเจดีย์เล็ก (1.0 – 2.1) เป็นต้น ซึ่งมีโรงเรือนบางแห่งมีหอยที่เป็นศัตรูพืชสูงได้แก่หอยดักดาน และหอยซัคซิเนีย มีจำนวนเฉลี่ย 12.2 และ 45.0 ตัวต่อตารางเมตร จะต้องทำการกำจัด และโดยเฉพาะโรงเรือนเพาะชำกล้าไม้ ซึ่งเป็นที่จำหน่าย หรือแจกจ่ายกระจายต้นไม้ไปสถานที่ต่างๆ ก็จะมีหอยและทากติดไปกับต้นพันธุ์กล้าไม้เหล่านั้นด้วย ทำให้หอยและทากแพร่ระบาดไปในที่ต่างๆอย่างรวดเร็ว จะต้องประชาสัมพันธ์ให้ระวัง งานสำรวจนี้ยังดำเนินการต่อปี 2555

คำขอบคุณ

เจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาเกษตรจังหวัด สำนักวิจัยและพัฒนาเขต 1 – 8 เจ้าหน้าที่โรงเรือนเพาะชำกล้าไม้ทุกแห่ง และ เจ้าของโรงเรือนเพาะชำทุกแห่งที่ให้ความเอื้อเฟื้อพาเข้าสำรวจหอยและทากเป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

ชมพูนุท จรรยาเพศ, ปิยาณี หนูกาฬ. 2545. ชีววิทยาหอยทากซัคซิเนียศัตรูกล้วยไม้. รายงานผลการวิจัย กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร หน้า 304.

ชมพูนุท จรรยาเพศ 2546. ทากและหอยทาก.ในเอกสารประกอบการฝึกอบรมแมลงและสัตว์ศัตรูพืชและการ ป้องกันกำจัด ครั้งที่ 12 กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร หน้า 1- 27.

Dawkins, G.,G. Sislop, M. Luxton and C. Bishop. 1985. Transmission of Liquorice rot of carrots by slugs. J. mollusk. Stu. 51, 1985

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

อนุกรมวิธานและชีววิทยาของรา *Cladosporium* สาเหตุโรค

Identification and Biology of *Cladosporium*

ชนินทร ดวงสอาด พรพิมล อธิปัญญาคม สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างของพืชที่แสดงอาการของโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Cladosporium* จากแหล่งปลูกพืชในประเทศไทย ในพื้นที่จังหวัดกาญจนบุรี ราชบุรี นครปฐม ศรีสะเกษ บุรีรัมย์ เชียงใหม่ เชียงราย อุตรดิตถ์ ชุมพร สุราษฎร์ธานี กระบี่ สตูล ตรัง สุโขทัย เลย เพชรบูรณ์ สระบุรี และขอนแก่น ได้ตัวอย่างของพืชที่แสดงอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Cladosporium* โดยตัวอย่างพืชที่แสดงอาการไหม้โดยมีเชื้อรา *Cladosporium* เป็นเชื้อราสาเหตุคือ ไฮเดรนเยียและช่อดอกมะม่วง และเมื่อจำแนกพบว่าเชื้อรา *Cladosporium* ที่แยกได้คือ เชื้อรา *Cladosporium cladosporioides*

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-02-01-54

คำนำ

รา *Cladosporium* เป็นราใน Class Dematiaceous Hyphomycetes ที่สร้างเส้นใย conidiophores หรือ conidium ที่มีสีเข้ม (dark-colored) conidiophores เป็นก้านยาว ตั้งตรง และแตกกิ่งก้าน รูปร่างของ conidium ไม่แน่นอน โคโลนีมีสีเขียวมะกอกเข้ม รา *Cladosporium* มีจำนวนชนิดมากกว่า 700 ชนิด เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคได้ทั้งกับคนและพืช ซึ่งราชนิดนี้ก่อให้เกิดโรคสำคัญกับพืชหลายชนิด เช่น *Cladosporium capsici* สาเหตุโรคดอกไหม้ (flower blight) เบญจมาศ *C.cucumerinum* สาเหตุโรคราดำ (leaf mold) แตงโมและสแคป (scab) ในแตงกวา *C.allii-cepae* สาเหตุโรคใบจุด (leaf blotch) หอม กระเทียม *C. fulvum* สาเหตุโรคกำมะหยี่และใบจุดมะเขือเทศ *C. musae* สาเหตุโรคใบลาย ใบจุดด่าง (leaf speckle) กล้วย *C. cladosporioides* และ *C. herbarum* สาเหตุโรคใบจุดสีน้ำตาล (brown spot) ในองุ่น และยังมีพืชอื่นที่แสดงอาการของโรคพืชที่มีเชื้อสาเหตุจาก genus *Cladosporium* เช่นโรคราดำในกล้วยไม้ ทุเรียน ลำไย โรคฝักจุด ฝักลายในกระเจี๊ยบเขียว โรคใบจุดในมะละกอ และอื่นๆ ที่ยังไม่ระบุชนิดของรา *Cladosporium* และยังพบว่า รา *Cladosporium* เป็นราในระยะสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (anamorph) ของรา *Mycosphaerella* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคใบจุดของพืชสำคัญหลายชนิด ดังนั้นการจำแนกชนิดของรา *Cladosporium* นี้จึงมีความสำคัญ ซึ่งรา *Cladpsporium* หลายชนิดที่เป็นสาเหตุโรคพืชที่นำเข้าหรือส่งออก ดังนั้นหากทราบถึง ชนิดของรา *Cladosporium* บนพืชอาศัยต่าง ๆ จึงเป็นข้อมูลที่จะเป็นประโยชน์ในทางด้านโรคพืชและการเกษตรทั่วไป และการรวบรวมเก็บรักษาสายพันธุ์บริสุทธิ์ของเชื้อราดังกล่าวเข้าไปใน culture collection จะเป็นแหล่งเก็บรักษาพันธุกรรมเชื้อราเพื่อการนำไปใช้ศึกษาค้นคว้าเรื่องสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่จะเป็นประโยชน์การเกษตร การแพทย์ และอุตสาหกรรมต่อไปในอนาคต และเป็นข้อมูลพื้นฐานในด้านการจำแนกชนิดของเชื้อราและยังเป็นข้อมูลอ้างอิงในการจัดทำบัญชีรายชื่อ เพื่อประโยชน์ในการนำเข้าและส่งออกสินค้า

ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้ จึงทำการศึกษาชนิดของราสกุล *Cladosporium* สาเหตุโรคพืช

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างได้แก่ ถุงพลาสติก กรรไกร กรรไกรตัดแต่งกิ่ง กระดาษฟาง ไม้อัดทับตัวอย่าง
2. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อ หม้อนึ่งความดัน ตู้อบฆ่าเชื้อ
3. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดทดลอง ขวดดูแรน บิกเกอร์ สไลด์และแผ่นแก้วปิดสไลด์ กระบอกตวง แท่งแก้ว ตะเกียงแอลกอฮอล์
4. เข็มเขี่ยปลายแหลม ห่วงถ่ายเชื้อ ปากคีบ ใบมีดผ่าตัด มีด

5. กล้องจุลทรรศน์แบบ compound และ sterio
6. อาหารแยกและเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ water agar (WA) potato dextrose agar (PDA) Malt Extract Agar, Corn Meal Agar (CMA)
7. สารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ ได้แก่ สารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ และ เอธิลแอลกอฮอล์ 75%

วิธีการ

1. สืบค้นเอกสารและเตรียมอุปกรณ์การทดลอง

สืบค้น ตรวจเอกสารที่เกี่ยวข้อง และเตรียมวัสดุอุปกรณ์ที่ต้องใช้ในการทดลอง

2. สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคพืช

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

3. การแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืช

- ศึกษาลักษณะอาการของโรคและแยกเชื้อราโดยตรง

ศึกษาลักษณะอาการของโรคและแยกเชื้อราโดยตรงจากชิ้นส่วนพืช ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo หรือ ทำ moist chamber บ่มที่อุณหภูมิ 32±2 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน เมื่อพบเชื้อราสร้างเส้นใยหรือ conidium ตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และใช้เข็มเขี่ยส่วนของเชื้อรามาวางบนสไลด์ หรือใช้ใบมีดตัดขวางชิ้นส่วนพืชให้บาง ๆ และตรวจดูลักษณะต่าง ๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound ถ่ายรูปลักษณะเชื้อและบันทึกลักษณะต่าง ๆ ของเชื้อ

- แยกเชื้อราโดยวิธี Tissue transplant

นำส่วนของพืชที่เป็นโรคมาตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 0.5x0.5 มิลลิเมตร ให้คาบต่อส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 10 % เป็นเวลา 3-5 นาที ล้างในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำไปซับบนกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้แห้ง แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหาร ½Potato Dextrose Agar, Potato Dextrose Agar, Malt Extract Agar, Corn Meal Agar หรือ water agar บ่มที่อุณหภูมิ 32±2 องศาเซลเซียส นาน 3-7 วัน แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ และเลี้ยงบนอาหาร PDA

4. การจำแนกชนิดเชื้อราสาเหตุโรคพืช

นำเชื้อราที่แยกได้มาเลี้ยงบนอาหาร ½Potato Dextrose Agar, Potato Dextrose Agar,

Malt Extract Agar, Corn Meal Agar หรือ water agar โดยบันทึกลักษณะอาการต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

- บันทึกอัตราการเจริญของเชื้อราบนอาหารชนิดต่าง ๆ ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ บันทึกสีของโคโลนีด้านบนและด้านล่างอาหารเลี้ยงเชื้อ รวมทั้งการสร้างเม็ดสี (pigment)

- ศึกษารูปร่างลักษณะของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo และ compound microscope โดยตรวจดูลักษณะเส้นใย conidiophore และสปอร์ และศึกษาลักษณะของสปอร์และโครงสร้างอื่น ๆ ของเชื้อรา โดยการ mount slide ด้วยน้ำหรือ shear's solution

- ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อได้แก่ ลักษณะของเส้นใย ขนาด สี ลักษณะของสปอร์ conidiophore สี ขนาด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และ compound บันทึกขนาด รูปร่าง วาดภาพ และบันทึกภาพด้วยกล้องถ่ายภาพ และถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน (Scanning Electron Microscope)

5. การพิสูจน์โรค

นำรา *Cladosporium* แต่ละไอโซเลทที่แยกได้จากตัวอย่างพืชแต่ละชนิด ทำการปลูกเชื้อบนพืชชนิดเดียวกับตัวอย่างพืชที่แยกราได้ โดยวิธี detach leaf เพื่อพิสูจน์ความเป็นสาเหตุโรคของพืชชนิดนั้นๆ

6. เก็บรักษาสายพันธุ์เชื้อรา

เชื้อราที่แยกได้นั้น เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และเก็บรักษาไว้ใน Culture Collection และเก็บตัวอย่างแห้งโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์ โรคพืช ตึกอิงคศรีกสิการ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

7. สรุปผลการทดลอง

รวบรวมข้อมูลและสรุปผลการทดลอง

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มต้น – สิ้นสุด
เดือนตุลาคม 2553 - เดือนกันยายน 2556

สถานที่ - ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช
- โรงเรือนทดลองกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างของพืชที่แสดงอาการของโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Cladosporium* จากแหล่งปลูกพืชในประเทศ ได้ตัวอย่างของพืชที่แสดงอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Cladosporium cladosporioides* จาก ไฮเดรนเยียและช่อดอกมะม่วงที่แสดงอาการไหม้

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างของพืชที่แสดงอาการของโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Cladosporium* จากแหล่งปลูกพืชในประเทศไทย ระหว่าง ตุลาคม 2553-กันยายน 2554 ได้ตัวอย่างเชื้อรา *Cladosporium cladosporioides* โดยการเก็บตัวอย่างจะต้องเพิ่มพื้นที่ในการสำรวจและชนิดของพืชปลูกให้หลากหลายและตรงตามฤดูกาล หรือสำรวจโรคในพื้นที่ที่มีสภาพภูมิอากาศที่เหมาะสมที่อาจพบการแสดงอาการของโรค

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

การทราบชนิดและวิธีการจำแนกชนิดของรา *Cladosporium* บนพืชอาศัยต่าง ๆ เป็นข้อมูลที่จะเป็นประโยชน์ในทางด้านโรคพืชและการเกษตรทั่วไป และการรวบรวมเก็บรักษาสายพันธุ์บริสุทธิ์ของเชื้อราดังกล่าวเข้าไปใน culture collection จะเป็นแหล่งเก็บรักษาพันธุกรรมเชื้อราเพื่อการนำไปใช้ศึกษาค้นคว้าเรื่องสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่จะเป็นประโยชน์การเกษตร การแพทย์ อุตสาหกรรมต่อไปในอนาคต และเป็นข้อมูลพื้นฐานในด้านการจำแนกชนิดของเชื้อรา และยังเป็นข้อมูลอ้างอิงในการจัดทำบัญชีรายชื่อเพื่อประโยชน์ในการนำเข้าและส่งออกสินค้า

เอกสารอ้างอิง

ชลธิชา รักใคร่ อุดร อุณหวุฒิ สุรพล ยินอัศวพรรณ จำลอง ลภาสาธุกุล และ ณฏฐพร อุทัยมงคล. 2550. การศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้าองุ่นผลสดจากประเทศสหรัฐอเมริกา. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2550. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. เล่ม 2: หน้า 1084-1096.

พัฒนา สนธิรัตน์ ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์ วิรัช ชูบำรุง และ อุบล คือประโคน. 2537. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย. กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

วิจัย รักวิทยาศาสตร์. 2551. ราวิทยาเบื้องต้น. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.

Ellis, M. B. 1971. Dematecеous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 698 p.

Ellis, M. B. 1976. More Dematecеous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 507 p.

อนุกรมวิธานและพืชอาศัยของรา *Alternaria* สาเหตุโรคพืช

Taxonomy and Study on Host of Plant Pathogenic Fungi : Genus *Alternaria*

นางสาวสุณีรัตน์ สีมะเดื่อ

นางสาวพรพิมล อธิปัญญาคม นางสาวชนินทร ดวงสอาด นายอภิรัชต์ สมฤทธิ์

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการสำรวจ และเก็บตัวอย่างโรคพืช ในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2553 ถึง กันยายน 2554 จากแปลงปลูกพืช ในพื้นที่ 15 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดกาญจนบุรี สุพรรณบุรี เชียงราย เชียงใหม่ ลำพูน อุตรดิตถ์ สุโขทัย ตาก ศรีสะเกษ บุรีรัมย์ นครราชสีมา ตรัง ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร และจันทบุรี หลังจากจำแนกชนิดเบื้องต้น พบว่า ได้ตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากรา *Alternaria* spp. จำนวน 50 ตัวอย่าง บนพืช 15 ชนิด ได้แก่ ตัวอย่างโรคใบจุดของคะน้า โรคใบจุดของดาวเรือง โรคใบจุดของยาสูบ โรคใบจุดของสร้อยไก่ โรคใบจุดของบานไม่รู้โรย โรคใบจุดสีม่วงของหอมแดง โรคใบจุดสีม่วงของหอมแบ่ง โรคใบจุดสีม่วงของหอมใหญ่ โรคใบจุดของกะหล่ำดอก โรคใบจุดของผักกาดเขียว โรคใบจุดของผักกาดขาว โรคใบจุดของผักกาดหางหงส์ โรคใบจุดของบรอคโคลี่ โรคใบจุดของกะหล่ำเจดีย์ และโรคใบจุดของงา และจำแนกชนิดเชื้อ *Alternaria* ในระดับ species พบว่าโรคใบจุดของคะน้าเกิดจากเชื้อ *Alternaria brassicicola* โรคใบจุดสีม่วงของหอมแดง หอมแบ่ง และหอมหัวใหญ่ เกิดจากเชื้อ *A. porii* และ โรคใบจุดของสร้อยไก่ และบานไม่รู้โรย เกิดจากเชื้อรา *Nimbya gomphrenae* (Synonym : *Alternaria gomphrenae*) ได้เก็บเชื้อบริสุทธิ์ จำนวน 50 ไอโซเลท รวบรวมไว้ในศูนย์รวบรวมเชื้อราสาเหตุโรคพืชของกลุ่มวิจัยโรคพืช รวมทั้งจัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืช พร้อมลงรายละเอียดข้อมูลตัวอย่าง เก็บในพิพิธภัณฑ์โรคพืช จำนวน 50 ตัวอย่าง เชื้อรา *Alternaria* spp. ที่รวบรวมได้จะนำไปจำแนกในระดับ species และศึกษาพืชอาศัยต่อไป

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-02-02-54

คำนำ

ราสกุล *Alternaria* เป็นสาเหตุโรคทำความเสียหายต่อผลผลิตของพืชเศรษฐกิจหลายชนิด ทั้งพืชผัก ไม้ผล ไม้ดอก ไม้ประดับ รวมทั้งวัชพืช รา *Alternaria* ที่เป็นสาเหตุโรคพืช ได้แก่ *Alternaria dauci* สาเหตุโรคใบไหม้ของแครอท *A. radicina* สาเหตุโรคเน่าดำของแครอท *A. brassicae* และ *A. brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดของพืชตระกูลกะหล่ำ และโรคเน่า (head rot) ของบรอคโคลี่ *A. solani* สาเหตุโรคไบไหม้ และผลเน่าของมะเขือเทศ *A. tenuis* และ *A. alternata* สาเหตุโรคผลจุดของพริก โรคใบจุดของ geranium หรือ จิบโซฟิลล่า *A. porri* สาเหตุโรคใบจุดสีม่วงหรือใบไหม้กับพืชตระกูลหอมกระเทียม *A. dianthi* และ *A. dianthicola* สาเหตุโรคใบไหม้ และกลีบดอกจุดของคาร์เนชั่น และทานตะวัน *A. zinniae* สาเหตุโรคใบจุด และกลีบดอกจุดของบานชื่น *A. tennuissima* สาเหตุโรคใบจุดของแพนซี่ *A. citri* สาเหตุโรคเน่าดำ ซึ่งเป็นโรคหลังการเก็บเกี่ยวของผลส้ม (พัฒนาและคณะ, 2526, 2537 ; Katoh *et al*., 2005 ; Chase, 1998 : Laemmlen, 2009) เป็นต้น

เนื่องจากราสกุล *Alternaria* เป็นสาเหตุโรคพืชทำความเสียหายต่อผลผลิตของพืชเศรษฐกิจหลายชนิด ซึ่งในประเทศไทยมีรายงานในด้านการจัดจำแนกชนิด และการศึกษาพืชอาศัยของราสกุล *Alternaria* ไม่มาก ดังนั้นจึงควรที่จะทำการศึกษาและจำแนกชนิดของเชื้อรา *Alternaria* spp. สาเหตุโรคพืช เพื่อให้ได้ทราบชนิด และลักษณะประจำพันธุ์ รวมทั้งพืชอาศัยของเชื้อรา ซึ่งเป็นข้อมูลพื้นฐานในการหาวิธีการป้องกันกำจัดโรค เพื่อเตรียมพร้อมสำหรับนำมาใช้กำหนดแผนการป้องกันกำจัด ได้รวดเร็วทันเหตุการณ์ และยังเป็นข้อมูลอ้างอิงในการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช เพื่อประโยชน์ในการนำเข้าและส่งออกสินค้า และได้เชื้อรา *Alternaria* spp. สาเหตุโรคพืช เพื่อเก็บในศูนย์รวบรวมเชื้อรา สาเหตุโรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช และตัวอย่างแห้งโรคพืชเก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช วิธีดำเนินการ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างโรคพืชที่คาดว่าเกิดจากเชื้อรา *Alternaria* spp.จากแหล่งปลูกพืชของประเทศไทย ระหว่าง พฤศจิกายน 2553 ถึง กันยายน 2554

2. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างโรคพืช เช่น กรรไกร คัตเตอร์ ถุงพลาสติก กระดาษหนังสือพิมพ์ กล่องเก็บความเย็น ปากกา กระดาษบันทึกข้อมูล

3. เครื่องวัดพิกัด

4. แผงไม้อัดตัวอย่างโรคพืช กระดาษฟางและกระดาษหนังสือพิมพ์

5.วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเชื้อรา เช่น จานเลี้ยงเชื้อ หลอดแก้ว ฟาล์ค เข็มเขี่ย มีดโกน มีดผ่าตัด แผ่นแก้วสไลด์พร้อมแผ่นปิดสไลด์ ตะเกียงแอลกอฮอล์ และcork boror

6. สารเคมี ได้แก่ sodium hypochlorite shear's solution และ oil immersion

7. อาหารเลี้ยงเชื้อรา ได้แก่ Potato Dextrose Agar (PDA)

8. กล้องจุลทรรศน์ พร้อมกล้องถ่ายภาพ

9. ตำราสำหรับใช้ในการจัดจำแนกรา *Alternaria* spp.

10. วัสดุ อุปกรณ์ในเรือนปลูกพืชทดลอง ได้แก่ เมล็ดพันธุ์พืช ดิน ปุ๋ย กระถาง บัวรดน้ำ พลั่วมือ แผ่นเลเบล

วิธีการ

1. เก็บและรวบรวมตัวอย่างโรคพืช

เก็บตัวอย่างพืชที่แสดงอาการเป็นโรคซึ่งคาดว่าเกิดจากเชื้อรา *Alternaria* spp. จากแหล่งปลูกพืชในประเทศไทย โดยเลือกเก็บส่วนของพืชที่แสดงอาการของโรค ได้แก่ ใบ ดอก ผล กิ่ง และลำต้น ห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ ใส่ในถุงพลาสติก พร้อมแนบกระดาษบันทึกรายละเอียด ชื่อพืช สถานที่เก็บ วันที่เก็บ และลักษณะอาการของโรค บรรจุห่อตัวอย่างโรคพืชลงในกล่องเก็บความเย็นเพื่อนำมาจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุโรคในห้องปฏิบัติการ

2. ศึกษา และจำแนกชนิดของรา *Alternaria* spp.

- ศึกษาลักษณะอาการของโรคและเชื้อสาเหตุโรคโดยตรงจากพืช

ศึกษาลักษณะอาการของโรคและเชื้อสาเหตุโรคโดยตรงจากพืชภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo microscope หรือ ทำ moist chamber บ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน เมื่อพบเชื้อราสร้างเส้นใยหรือ conidium นำมาตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยใช้เข็มเขี่ยส่วนของเชื้อราวางบนสไลด์ หรือใช้ใบมีดตัดขวางชิ้นส่วนพืช (cross section)ให้บาง ๆ และนำมาตรวจดูลักษณะต่าง ๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ compound microscope ถ่ายรูปและบันทึกลักษณะต่าง ๆ ของเชื้อ

- แยกเชื้อรา และเก็บเชื้อบริสุทธิ์

แยกเชื้อราโดยวิธี Tissue transplant โดยนำส่วนของพืชที่เป็นโรคมาตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 0.5x0.5 มิลลิเมตร ให้คาบต่อส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แช่ในสารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรท์ 10 % เป็นเวลา 3-5 นาที ล้างในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อ แล้วนำไปวางบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ จากนั้นนำเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้ เลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ศึกษาต่อไป

- พิสูจน์โรคตามวิธีการ Koch's postulate

นำเชื้อรา *Alternaria* spp. บริสุทธิ์ที่แยกได้ มาเลี้ยงบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส นาน 5 วัน จากนั้นใช้ cork boror ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ตัดวุ้นอาหารบริเวณส่วนปลายเส้นใยของเชื้อรา นำไปปลูกเชื้อบนพืชชนิดเดิม สำหรับกรรมวิธี

เปรียบเทียบปลูกเชื้อด้วยชิ้นวุ้นอาหาร PDA ที่ปราศจากเชื้อสาเหตุโรค เมื่อพืชเป็นโรคนำส่วนที่แสดงอาการเป็นโรคมาแยกเชื้อบริสุทธิ์ตรวจดู เพื่อยืนยันเชื้อสาเหตุโรคอีกครั้ง

- ศึกษาลักษณะของเชื้อรา

นำเชื้อราที่แยกได้มาเลี้ยงบนอาหาร PDA และบันทึกลักษณะต่าง ๆ ได้แก่ อัตราการเจริญของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ สีของโคโลนีด้านบนและด้านล่างจานอาหารเลี้ยงเชื้อ รวมทั้งการสร้างเม็ดสี (pigment)

ศึกษา และบันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราได้แก่ รูปร่าง ขนาด สี ของเส้นใย conidia conidiophore และโครงสร้างอื่นๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo microscope และ compound microscope และถ่ายภาพ จากนั้นหาค่าเฉลี่ยของขนาดโครงสร้างต่างๆของราที่วัดขนาดไว้

- จำแนกชนิดเชื้อรา *Alternaria* spp. สาเหตุโรคพืช

โดยเปรียบเทียบลักษณะของรา *Alternaria* spp. ที่ศึกษากับเอกสารการจัดจำแนกรา *Alternaria* spp.

3. เก็บรักษาสายพันธุ์เชื้อรา

เชื้อราที่แยกได้เก็บรักษาไว้ใน Culture Collection ของกลุ่มวิจัยโรคพืชโดยเลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส

4. จัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืช

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

5. ศึกษาพืชอาศัยของรา *Alternaria* spp.

- เตรียมพืชทดสอบ

ปลูกพืชทดสอบชนิดต่างๆ ในกระถาง ในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง รดน้ำตามปกติ พืชที่ใช้ทดสอบ เป็นพืชซึ่งพบปลูกในบริเวณเดียวกัน หรือใกล้เคียง กับพืชที่พบโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria* spp. เช่น พืชในวงศ์ Solanaceae ได้แก่ มะเขือยาว พริก และยาสูบ เป็นต้น วงศ์ Leguminosae ได้แก่ ถั่วฝักยาว ถั่วลิสง และถั่วเหลือง วงศ์ Cucurbitaceae ได้แก่ ฟักทอง แตงกวา และแตงเทศ วงศ์ Umbelliferae ได้แก่ แครอท คื่นฉ่าย และผักกาดหัว วงศ์ Cruciferae ได้แก่

ผักกาดหอม คะน้า และผักกาดเขียวปลี วงศ์ Liliaceae ได้แก่ หอม และกระเทียม และวัชพืชในแปลงปลูก เป็นต้น

- เตรียมเชื้อรา *Alternaria* spp.

เตรียม conidial suspension ของเชื้อโดย นำเชื้อรา Alternaria spp. มาเลี้ยงบนอาหาร V-8 juice agar ในจานเลี้ยงเชื้อ ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน จากนั้น ล้างสปอร์บนผิวหน้าอาหารด้วยน้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว นำมารวมกันในฟาล์ค นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าความเร็ว 100 ครั้งต่อนาที นาน 20 นาที เพื่อให้ conidia กระจายออกจากกันโดยสม่ำเสมอ แล้วตรวจนับ conidia ด้วย haemacytometer เพื่อให้ได้ปริมาณเชื้อ 10^5 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร

- ทดสอบพืชอาศัย

โดยพ่น conidial suspension ของเชื้อ *Alternaria* spp. ที่เตรียมไว้ บนพืชทดสอบต่างๆ ซึ่งมีกรรมวิธีพ่นน้ำนึ่งฆ่าเชื้อเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ รดน้ำตามปกติ และ ตรวจบันทึกการเกิดโรคทุกวัน เมื่อพืชเป็นโรคนำส่วนที่แสดงอาการโรคมาแยกเชื้อบริสุทธิ์ตรวจดู เพื่อยืนยันเชื้อสาเหตุโรคอีกครั้ง

เวลาและสถานที่

เวลา **เริ่มต้น** ตุลาคม 2554 **สิ้นสุด** กันยายน 2556

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และแปลงปลูกพืชของเกษตรกร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. เก็บและรวบรวมตัวอย่างโรคพืช

จากการสำรวจ และเก็บตัวอย่างโรคพืช ในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2553 ถึง กันยายน 2554 จากแปลงปลูกพืช ในพื้นที่ 15 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดกาญจนบุรี สุพรรณบุรี เชียงราย เชียงใหม่ ลำพูน อุตรดิตถ์ สุโขทัย ตาก ศรีสะเกษ บุรีรัมย์ นครราชสีมา ตรัง ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร และจันทบุรี ได้ตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากรา *Alternaria* spp. จำนวน 50 ตัวอย่าง บนพืช 15 ชนิด ได้แก่ ตัวอย่างโรคใบจุดของคะน้า จำนวน 15 ตัวอย่าง จาก อ. ท่าม่วง และ อ. พนมทวน จ. กาญจนบุรี อ. ศรีประจันต์ จ. สุพรรณบุรี และ อ. เมือง จ. เชียงราย โรคใบจุดดาวเรือง จำนวน 11 ตัวอย่าง จาก อ. ท่าม่วง และ อ. พนมทวน จ. กาญจนบุรี ต. ทุ่งสว่าง อ. วังหิน จ. ศรีสะเกษ อ. สิเกา จ. ตรัง อ. เมือง จ. ประจวบ-คีรีขันธ์ อ. เขาสอยดาว จ. จันทบุรี และ อ. บ้านตาก จ. ตาก โรคใบจุดของยาสูบจาก อ. ศรีประจันต์ จ. สุพรรณบุรี จำนวน 1 ตัวอย่าง โรคใบจุดของสร้อยไก่ จาก อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา จำนวน 1 ตัวอย่าง โรคใบจุดของบานไม่รู้โรย จำนวน 2 ตัวอย่าง จาก อ. เมือง จ. ชุมพร โรคใบจุดสีม่วงของหอมแดง จำนวน 9 ตัวอย่าง จาก ต.ไทยสามัคคี อ.หนองหงส์ จ.บุรีรัมย์ ต. บ้านโฮ่ง อ. บ้านโฮ่ง

จ. ลำพูน อ. เมือง จ. เชียงราย และ ต. ศรีดงเย็น อ. ไชยปราการ จ. เชียงใหม่ โรคใบจุดสีม่วงของหอมแบ่ง จำนวน 2 ตัวอย่าง จาก ต. ชัยจุมพล อ. ลับแล จ. อุตรดิตถ์ และ ต. บ้านกาด อ. แม่วาง จ. เชียงใหม่ โรคใบจุดสีม่วงของหอมใหญ่ จำนวน 1 ตัวอย่าง จาก ต. บ้านกาด อ. แม่วาง จ. เชียงใหม่ โรคใบจุดของกะหล่ำดอก จำนวน 1 ตัวอย่าง จาก ต. กลันทา อ. เมือง จ. บุรีรัมย์ และโรคใบจุดของผักกาดเขียว จำนวน 1 ตัวอย่าง จาก ต. อินทขิล อ. แม่แตง จ. เชียงใหม่ โรคใบจุดผักกาดขาว จำนวน 1 ตัวอย่าง จาก ต. แม่สลองนอก อ. แม่ฟ้าหลวง จ. เชียงราย โรคใบจุดของผักกาดหางหงส์ จำนวน 1 ตัวอย่าง โรคใบจุดของบรอคโคลี่ จำนวน 1 ตัวอย่าง และโรคใบจุดของกะหล่ำเจดีย์ จำนวน 1 ตัวอย่าง จาก ต. รอบเวียง อ. เมือง จ. เชียงราย โรคใบจุดของงา จำนวน 2 ตัวอย่าง จาก ต.ไทยสามัคคี อ. หนองหงส์ จ. บุรีรัมย์ และ อ. สวรรคโลก จ. สุโขทัย

2. ศึกษา และจำแนกชนิดของรา *Alternaria* spp.

นำเชื้อรา *Alternaria* spp.บริสุทธิ์ที่แยกได้ มาพิสูจน์โรคตามวิธีการ Koch's postulate โดยเลี้ยงบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส นาน 2 วัน แล้วนำไปปลูกเชื้อบนพืชชนิดเดิม พบว่าพืชแสดงอาการโรค และเมื่อนำส่วนของพืชที่เป็นโรคมาแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อยืนยันเชื้อสาเหตุ พบว่าเชื้อรา *Alternaria* spp. ทั้ง 50 ไอโซเลท เป็นสาเหตุโรคพืช

นำเชื้อรา *Alternaria* spp. บริสุทธิ์ที่รวบรวมได้ มาจำแนกชนิดเบื้องต้น โดยศึกษาลักษณะอาการของโรคและเชื้อสาเหตุโรคโดยตรงจากพืชภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo microscope หรือทำ moist chamber บ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน เมื่อพบเชื้อราสร้างเส้นใยหรือ conidium นำมาตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าทุกตัวอย่าง เกิดจากเชื้อรา *Alternaria* และได้นำเชื้อ *Alternaria* ที่เป็นสาเหตุโรคใบจุดคะน้า โรคใบจุดสีม่วงของหอมแดง หอมแบ่ง และหอมหัวใหญ่ โรคใบจุดของสร้อยไก่ และบานไม่รู้โรย มาศึกษาลักษณะทางสัณฐาน โดยศึกษาลักษณะโคโลนีของเชื้อบนอาหาร PDA และ รูปร่าง ลักษณะ ขนาด สี ของเส้นใย conidia conidiophore และโครงสร้างอื่นๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ได้ผลดังนี้ คือ โรคใบจุดคะน้าเกิดจาก เชื้อ *Alternaria brassicicola* โรคใบจุดสีม่วงของหอมแดง หอมแบ่ง และหอมหัวใหญ่ เกิดจากเชื้อ *A. porii* และ โรคใบจุดของสร้อยไก่ และบานไม่รู้โรย เกิดจากเชื้อรา *Nimbya gomphrenae* (Synonym : *Alternaria gomphrenae*)

3. เก็บรักษาสายพันธุ์เชื้อรา

เชื้อรา *Alternaria* spp. ที่แยกได้ทั้ง 50 ไอโซเลท เก็บเข้าศูนย์รวบรวมเชื้อราสาเหตุโรคพืชของกลุ่มวิจัยโรคพืช โดยเลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส โดยส่วนหนึ่งเก็บไว้เพื่อศึกษาต่อ

4. จัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืช

ได้จัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืชที่เกิดจากรา *Alternaria* spp. เพื่อส่งเข้าพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช จำนวน 50 ตัวอย่าง

5. ศึกษาพืชอาศัยของรา *Alternaria* spp.

จะทดสอบพืชอาศัยของรา *Alternaria* spp. ในเรือนปลูกพืชทดลอง ในปี 2555 และ2556

สรุปผลการทดลอง

จากการสำรวจ และเก็บตัวอย่างโรคพืช ในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2553 ถึง กันยายน 2554 จากแปลงปลูกพืช ในพื้นที่ 15 จังหวัด หลังจากจำแนกชนิดเบื้องต้น พบว่าได้ตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากรา *Alternaria* spp. จำนวน 50 ตัวอย่าง บนพืช 15 ชนิด และจำแนกชนิดเชื้อ *Alternaria* ในระดับ species พบว่าโรคใบจุดของคะน้าเกิดจากเชื้อ *Alternaria brassicicola* โรคใบจุดสีม่วงของหอมแดง หอมแบ่ง และหอมหัวใหญ่ เกิดจากเชื้อ *A. porii* และ โรคใบจุดของสร้อยไก่ และบานไม่รู้โรย เกิดจากเชื้อรา *Nimbya gomphrenae* (Synonym : *Alternaria gomphrenae* เก็บเชื้อบริสุทธิ์ จำนวน 50 ไอโซเลท รวบรวมไว้ในศูนย์รวบรวมเชื้อราสาเหตุโรคพืชของกลุ่มวิจัยโรคพืช รวมทั้งจัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืช พร้อมลงรายละเอียดข้อมูลตัวอย่าง เก็บในพิพิธภัณฑ์โรคพืช จำนวน 50 ตัวอย่าง เชื้อรา *Alternaria* spp. ที่รวบรวมได้จะนำไปจำแนกในระดับ species และศึกษาพืชอาศัยต่อไป

เอกสารอ้างอิง

พัฒนา สนธิรัตน วิรัช ชูบำรุง ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน และปิยะ เกียรติก้อง. 2526. เชื้อรา *Alternaria* ที่เป็นสาเหตุโรคใบจุดของพืชผักบางชนิด. *วารสารโรคพืช* ปีที่ 3 เล่มที่ 4. ต.ค.-ธ.ค. 2526. น. 154-167.

พัฒนา สนธิรัตน์ ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์ วิรัช ชูบำรุง และ อุบล คือประโคน. 2537. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย. กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 285 หน้า

Anonymous. 2005. Management of Plant Pathogen Collections. Department of Agriculture, Fisheries and Forestry, Commonwealth of Australia. 82 pp.

Chase, A.R. 1998. Alternaria Diseases of Ornamentals *Western Connection turf & Ornamentals*, A Monthly publication 1(3). Available at

Laemmlen, F. 2009. Alternaria Diseases. Publication 8040. Available at http://ucanr.org/freepubs/docs/8040.pdf. (Access date : August 24, 2009).

Katoh, H, A. Isshiki, A. Masunaka, H. Yamamoto and K. Akimitsu. 2005. Abstracts & Program. The Second Asian Conference on Plant Pathology 2005, 25-28 June 2005, National University of Singapore, Singapore. 113 p.

อนุกรมวิธานและชีววิทยาของราสกุล *Choanephora* สาเหตุโรคเน่าเปียก (Wet rot)

Taxonomic and Biological Study on *Choanephora* Causal Agent of Wet Rot Disease

ธารทิพย ภาสบุตร

อภิรัชต์ สมฤทธิ์ ทัศนาพร ทัศคร

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

จากการสำรวจเก็บตัวอย่างพืชที่เป็นโรค จากแปลงปลูกของเกษตรกร ในพื้นที่ 10 จังหวัด ได้แก่ กาญจนบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี ราชบุรี เชียงใหม่ เชียงราย ตาก เพชรบูรณ์ ชลบุรีและจันทบุรี ระหว่างเดือน พฤษภาคม 2554 ถึง สิงหาคม 2554 ซึ่งเป็นช่วงที่มีการระบาดของโรค ได้ตัวอย่างพืชที่เป็นโรคเน่าเปียก (wet rot) พืชที่เกิดจากเชื้อรา *Choanephora* sp. ทั้งหมดจำนวน 18 ตัวอย่าง จากพืช 8 ชนิด ได้แก่ พริกจำนวน 5 ตัวอย่าง มะเขือเปราะจำนวน 3 ตัวอย่าง มะเขือยาวจำนวน 3 ตัวอย่าง ถั่วพูจำนวน 1 ตัวอย่าง ฟักทองจำนวน 1 ตัวอย่าง แตงกวาจำนวน 2 ตัวอย่าง ชบาจำนวน 2 ตัวอย่าง กล้วยไม้จำนวน 2 ตัวอย่าง จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานและจำแนกชนิดรา *Choanephora* sp. สาเหตุโรคเน่าเปียกของ พริก มะเขือเปราะ มะเขือยาว ถั่วพู ฟักทอง แตงกวา และชบา จำแนกได้เป็นรา *Choanephora cucurbitarum* (Berk. & Rav.) Thaxt. ซึ่งรานี้สร้าง conidiophore มีลักษณะตั้งตรง ที่ปลายก้านขยายโป่งออกเรียกว่า primary vesicle รอบๆ primary vesicle จะมีก้านสั้นๆ ที่ปลายก้านเหล่านี้มีลักษณะโป่งกลมเรียกว่า secondary vesicle สร้าง conidium รูปร่างยาวรี หัวท้ายเรียวแหลม ตรงกลางโป่งออก (ellipsoid) สีน้ำตาล เซลล์เดียวบนผนังมีเส้นขีดตามแนวยาว ที่ปลาย conidium ด้านที่ติดบน vesicle มีติ่งสั้นๆ (papilla) ไม่มีสี *C. cucurbitarum* สร้าง columellate sporangium บนก้าน sporangiophore ปลายโป่งเป็น columella ลักษณะกลม sporangium มีสีน้ำตาล รูปร่างกลม ภายในมี sporangiospore จำนวนมาก รูปร่างยาวรี หัวท้ายเรียวแหลม ตรงกลางโป่งออก สีน้ำตาล เซลล์เดียวบนผนังมีเส้นขีดตามแนวยาว ปลายทั้งสองข้างมี appendage หลายเส้น การทดลองนี้ยังไม่สิ้นสุดยังต้องดำเนินการต่อในปี พ.ศ.2555 และ พ.ศ.2556

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-02-03-54

คำนำ

โรคเน่าเปียก (wet rot) หรือโรคยอดและดอกเน่าของพืชที่เกิดจากราสกุล *Choanephora* เป็นโรคซึ่งระบาดทำความเสียหายแก่พืชเศรษฐกิจหลายชนิด เช่น หน่อไม้ฝรั่ง ถั่วลันเตา พริก กระเจี๊ยบเขียว แตงกวา ฟักทอง มะเขือ เบญจมาศ แก้วมังกร และขนุน เป็นต้น ลักษณะการทำลายจะทำลายส่วนที่อ่อนหรือส่วนเจริญของพืชเช่น ตาดอก ดอก ยอดอ่อนใบอ่อนและผลอ่อน ทำให้พืชเกิดอาการเหี่ยว เนื้อเยื่อแห้งกลายเป็นสีน้ำตาลดำหรือเกิดอาการเน่า มักพบราสร้างก้านชูสปอร์ส่วนปลายเป็นตุ่มเล็กๆสีดำ ตั้งฉากชูขึ้นมาจากส่วนของพืชที่เป็นโรค มองเห็นชัดด้วยตาเปล่า การเข้าทำลายจะเกิดในช่วงที่ฝนตกชุกมีความชื้นในบรรยากาศสูง (ศศิธร 2545)

ราสกุล *Choanephora* อยู่ใน subdivision Zygomycotina class Zygomycetes, order Mucorales, family Choanephoraceae ราสกุลนี้มีการสืบพันธุ์ทั้งแบบไม่ใช้เพศและแบบใช้เพศ การสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ สร้างสปอร์ (sporangiospore) ที่เคลื่อนที่เองไม่ได้ บน sporangium แบบ columellate และ sporangiolum ซึ่งเกิดแยกก้าน sporangiophore ที่มีปลายโค้งงอและไม่แตกกิ่งก้าน sporangiospore สีน้ำตาลปนดำ รูปกระสวย ที่ผนังมีเส้นขีด (striate wall) และที่หัวท้ายมี appendage คล้ายเส้นขน (hair-like) หลายเส้น ส่วน sporangiolum ที่สร้างนั้นภายในมีสปอร์เพียงสปอร์เดียว สร้างอยู่บน sporangiophore ที่มีปลายโป่งเป็นโครงสร้างรูปกลมเรียกว่า secondary vesicle บน secondary vesicle มีก้าน stalk สั้น ๆ แตกออกไปโดยรอบหลายก้าน ที่ปลายก้านเหล่านี้เป็นที่เกิดของ monosporous sporangiolum สีน้ำตาลปนดำ มี เส้นขีด แต่ไม่มี appendage ส่วนการสืบพันธุ์แบบใช้เพศเป็นแบบ heterothallic สร้าง zygosporangium เกิดอยู่ระหว่าง apposed suspensors พบ chlamydospore ผนังเรียบพบทั้งจากเส้นใยที่เจริญอยู่ด้านบนและด้านใต้ substrate และรานี้สามารถผลิต β-carotene ได้ (วิจัย, 2546)

ปัจจุบันระบบนิเวศน์เกษตรมีการเปลี่ยนแปลงไปทั้งสภาพอากาศและพันธุ์พืชที่ปลูก ทำให้พืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและวัชพืช เป็นโรคเน่าเปียกหรือโรคยอดและดอกเน่าที่เกิดจากราสกุล *Choanephora* มากขึ้น ดังนั้นการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและอนุกรมวิธานราสกุล *Choanephora* สาเหตุโรคของพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและวัชพืชเพิ่มเติมจากที่เคยมีรายงานมาแล้วจึงเป็นสิ่งจำเป็น เพื่อให้ได้ชื่อชนิดของราสาเหตุโรคพร้อมข้อมูลพืชอาศัย การเกิดและการระบาดของโรค รวมทั้งแหล่งแพร่กระจายของราที่เป็นข้อมูลปัจจุบัน ซึ่งข้อมูลดังกล่าวเป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญสำหรับงานด้านอารักขาพืช และได้สายพันธุ์ราสกุล *Choanephora* ไว้ในหน่วยเก็บรักษาจุลินทรีย์โรคพืช เพื่อการอนุรักษ์ไว้ใช้ในการศึกษาวิจัยในด้านต่างๆ เช่น การศึกษาเปรียบเทียบลักษณะที่อาจผันแปรที่เกิดขึ้นของเชื้อในช่วงปีที่ต่างกัน การศึกษาทางด้านอณูชีววิทยาศึกษาการสร้างสารทุติยภูมิ และศึกษาการมีประโยชน์อื่นๆ เป็นต้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างโรคพืชที่คาดว่าเกิดจากเชื้อรา *Choanephora* sp.จากแหล่งปลูกพืชของประเทศไทย
2. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างโรคพืช เช่น กรรไกร คัตเตอร์ ถุงพลาสติก กระดาษหนังสือพิมพ์ ปากกา กระดาษบันทึกข้อมูล
3. วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเชื้อรา เช่น เข็มเขี่ย มีดโกน มีดผ่าตัด แผ่นแก้วสไลด์พร้อมแผ่นปิดสไลด์ และตะเกียงแอลกอฮอล์
4. สารเคมี ได้แก่ lactophenol และ oil immersion
5. อาหารเลี้ยงเชื้อรา ได้แก่ Potato Dextrose Agar (PDA)
6. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง ตู้เขี่ยเชื้อ กล้องถ่ายภาพ
7. ตำราสำหรับใช้ในการจัดจำแนกรา *Choanephora* sp.

วิธีการ

1. **สืบค้นข้อมูล**

สืบค้นข้อมูลโรคเน่าเปียกหรือโรคยอดและดอกเน่าที่เกิดจากรา *Choanephora* sp. ของพืชในประเทศไทยจากเอกสารต่าง ๆ หรือจากข้อมูลอิเล็กทรอนิกส์

2. **สำรวจรวบรวมเก็บตัวอย่างพืชเป็นโรคและศึกษาลักษณะอาการ**

เก็บตัวอย่างพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจและวัชพืช ที่แสดงอาการของโรคที่คาดว่าเกิดจากเชื้อรา *Choanephora* sp. จากแหล่งปลูกพืชในประเทศไทย โดยเลือกเก็บส่วนของพืชที่แสดงอาการของโรค ห่อตัวอย่างพืชที่เก็บมาด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ ใส่ในถุงพลาสติก พร้อมแนบกระดาษบันทึกรายละเอียด ชื่อพืช สถานที่เก็บ วันที่เก็บ เพื่อนำตัวอย่างพืชที่ได้มาศึกษาลักษณะอาการและจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุโรคในห้องปฏิบัติการ

3. **ศึกษาลักษณะทางสัณฐานของราสาเหตุโรคจากตัวอย่างพืชเป็นโรคโดยตรง**

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานของราโดยตรงจากชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรคภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo โดยใช้เข็มเขี่ยย้าย fruiting body ที่เชื้อราสร้างขึ้น วางลงบนแผ่นกระจกสไลด์ แล้วหยด lactophenol ปิดด้วยแผ่นปิดสไลด์ ตรวจดูลักษณะทางสัณฐานของเส้นใยและโครงสร้างต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ด้วยกำลังขยาย 400 และ1,000 เท่า วัดขนาดเส้นใย และโครงสร้างอื่นๆที่สำคัญโดยใช้ calibrated micrometer แล้วตรวจเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ศึกษาลักษณะทางสัณฐานของเชื้อรา จัดจำแนกชนิดเชื้อรา *Choanephora* sp. สาเหตุโรคพืชโดยเปรียบเทียบลักษณะของรา *Choanephora* sp. ที่ศึกษากับคู่มือการจัดจำแนกรา *Choanephora* sp.

จากนั้นแยกเชื้อราโดยใช้เข็มเขี่ยย้าย fruiting body ของเชื้อรามาวางบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ จากนั้นนำเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้ เลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ศึกษาต่อไป

4. **ศึกษาราสาเหตุโรคโดยวิธีแยกเชื้อจากเนื้อเยื่อพืชเป็นโรค** (Tissue transplant)

แยกเชื้อราโดยนำส่วนของพืชที่เป็นโรคมาตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 0.5x0.5 มิลลิเมตร ให้ได้รอยต่อของส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แช่ในสารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 นาที ล้างในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อ แล้วนำไปวางบนอาหาร water agar ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน ตรวจดูเส้นใยราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ ตัด hyphal tip ของราที่เจริญออกมาจากชิ้นตัวอย่างพืช ย้ายไปวางบนอาหาร PDA เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นนำเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้ เลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาต่อไป

5. ศึกษาอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมกับการเจริญของรา *Choanephora* sp.

นำเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้และจำแนกชนิดแล้วมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 5 ชนิด ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ นำไปวางไว้ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ภายใต้แสงธรรมชาติ วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ ตรวจผลโดย วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีในแนวราบทุก 3 6 9 และ 12 วัน

6. ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญของรา *Choanephora* sp.

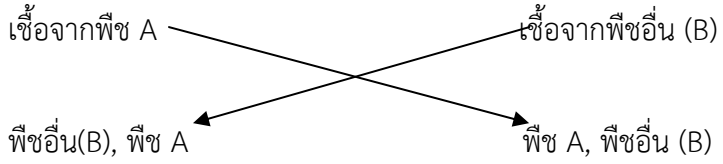
เลี้ยงเชื้อไอโซเลทเดียวกันบนอาหารที่เหมาะสมจากผลการทดลองในข้อ 11.5 นำไปเลี้ยงในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ไม่มีแสงสว่าง ที่ระดับอุณหภูมิ 20 25 30 และ 35 องศาเซลเซียส วางแผนการทดลองแบบ CRD กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ตรวจผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีในแนวราบทุก 3 6 9 และ 12 วัน

7. **พิสูจน์การเกิดโรคตามวิธีการ Koch's postulate**

นำรา *Choanephora* sp. ที่แยกได้จากตัวอย่างพืชเป็นโรค มาเลี้ยงบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส นาน 2 วัน จากนั้นใช้ cork boror ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ตัดวุ้นอาหารบริเวณส่วนปลายเส้นใยของเชื้อรา นำไปปลูกเชื้อบนพืชชนิดเดิมสำหรับกรรมวิธีเปรียบเทียบปลูกเชื้อด้วยชิ้นวุ้นอาหาร PDA ที่ปราศจากเชื้อสาเหตุโรค เมื่อพืชเป็นโรค

8. **ศึกษาชนิดพืชอาศัยของรา *Choanephora* sp.**

โดยการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคของพืชชนิดหนึ่งไปยังพืชทดสอบอีกชนิดหนึ่ง (cross inoculation) ดังแผนผัง



การเตรียมรา *Choanephora* sp.

เตรียมสารแขวนลอยสปอร์โดย นำรา *Choanephora* spp. ที่แยกได้จากพืชเศรษฐกิจที่สำคัญมาเลี้ยงบนอาหารที่ทดสอบแล้วว่ารามีการเจริญและสร้างสปอร์ดี ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นล้างสปอร์บนผิวหน้าอาหารด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว นำมารวมกัน แล้วนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าความเร็ว 100 รอบต่อนาที นาน 20 นาที เพื่อให้สปอร์กระจายออกจากกันอย่างสม่ำเสมอ ตรวจนับสปอร์ด้วย haemacytometer

การปลูกเชื้อลงบนต้นพืชทดสอบ

ปลูกพืชชนิดต่างๆ ที่จะใช้ทดสอบในกระถาง เมื่อพืชมีอายุประมาณ 3 สัปดาห์ นำสารแขวนลอยสปอร์รา *Choanephora* sp. ที่เตรียมไว้ พ่นลงบนพืชทดสอบ คลุมด้วยถุงพลาสติกใส เพื่อให้พืชได้รับความชื้นสูง หลังจากนั้น 24 ชั่วโมง เปิดถุงพลาสติก ตรวจผลการเกิดโรคหลังจากปลูกเชื้อ 5-7 วัน แล้วทำการแยกเชื้ออีกครั้งหนึ่งและตรวจสอบว่าเป็นเชื้อชนิดเดียวกันหรือไม่ โดยประเมินระดับความรุนแรงของโรค เป็น 5 ระดับ

ระดับ 1 พืชไม่แสดงอาการเป็นโรค

ระดับ 2 พืชแสดงอาการเป็นโรค1-10 เปอร์เซ็นต์

ระดับ 3 พืชแสดงอาการเป็นโรค11-25 เปอร์เซ็นต์ และมีสปอร์ของราอยู่บ้าง

ระดับ 4 พืชแสดงอาการเป็นโรค26-50 เปอร์เซ็นต์ และมีสปอร์ของราทั้งสปอร์แก่และสปอร์อ่อน

ระดับ 5 พืชแสดงอาการเป็นโรคมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ และมีสปอร์แก่สีน้ำตาลเข้มลักษณะแผลช้ำจนยุบหรือยอดหักพับ

การปลูกเชื้อลงบนผลของพืชทดสอบ

นำผลของพืชที่จะทดสอบมาพืชละ 10 ผล นำราที่เตรียมไว้ มาปลูกเชื้อลงบนผลของพืชโดยวิธีทำแผล นำผลพืชที่ทดสอบไปไว้ที่ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ตรวจผลการเกิดโรคหลังจากปลูกเชื้อ ทุกวัน จนครบ 10 วัน ประเมินระดับความรุนแรงของโรค

ระดับ 1 พืชไม่แสดงอาการเป็นโรค

ระดับ 2 พืชแสดงอาการเป็นโรค1-10 เปอร์เซ็นต์

ระดับ 3 พืชแสดงอาการเป็นโรค11-25 เปอร์เซ็นต์ และมีสปอร์ของราอยู่บ้าง

ระดับ 4 พืชแสดงอาการเป็นโรค26-50 เปอร์เซ็นต์ และมีสปอร์ของราทั้งสปอร์แก่และสปอร์อ่อน

ระดับ 5 พืชแสดงอาการเป็นโรคมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ และมีสปอร์แก่สีน้ำตาลเข้มลักษณะแผลช้ำจนยุบและมีขนาดใหญ่

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา	เริ่มต้น เดือน ตุลาคม พ.ศ. 2553
	สิ้นสุด เดือน กันยายน พ.ศ. 2556
สถานที่ทำการทดลอง	แปลงปลูกพืชของเกษตรกร
	กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
	กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจเก็บตัวอย่างพืชที่เป็นโรค จากแปลงปลูกของเกษตรกร ในพื้นที่ 10 จังหวัด ได้แก่ กาญจนบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี ราชบุรี เชียงใหม่ เชียงราย ตาก เพชรบูรณ์ ชลบุรีและจันทบุรี ระหว่างเดือน พฤษภาคม 2554 ถึง สิงหาคม 2554 ซึ่งเป็นช่วงที่มีการระบาดของโรค สภาพร้อนอบอ้าว ครึ้มฟ้าครึ้มฝน สลับกับมีฝนตกความชื้นในแปลงสูง เป็นสภาพแวดล้อมที่เหมาะต่อการเกิดโรค มีฝนตกชุกมีความชื้นในบรรยากาศสูง คือในช่วงเดือนพฤษภาคม 2554 ถึง สิงหาคม 2554 ได้ตัวอย่างพืชที่เป็นโรคเน่าเปียก (wet rot) พืชที่เกิดจากเชื้อรา *Choanephora* sp. ทั้งหมดจำนวน 18 ตัวอย่าง จากพืช 8 ชนิด ได้แก่ พริก จำนวน 5 ตัวอย่าง มะเขือ จำนวน 5 ตัวอย่าง ถั่วพู จำนวน 1 ตัวอย่าง ฟักทอง จำนวน 1 ตัวอย่าง แตงกวา จำนวน 2 ตัวอย่าง ชบา จำนวน 2 ตัวอย่าง กล้วยไม้ จำนวน 2 ตัวอย่าง จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานและจำแนกชนิดจากชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรคภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo โดยใช้เข็มเขี่ยย้าย fruiting body ที่เชื้อราสร้างขึ้น วางลงบนแผ่นกระจกสไลด์ แล้วหยด lactophenol ปิดด้วยแผ่นปิดสไลด์ พบว่าเชื้อรา *Choanephora* sp. สาเหตุโรคเน่าเปียกของ พริก มะเขือเปราะ มะเขือยาว ถั่วพู ฟักทอง แตงกวาและชบา เป็นรา *Choanephora cucurbitarum* (Berk. & Rav.) Thaxt. รานี้สร้าง conidiophore ลักษณะตั้งตรง ที่ปลายก้านขยายโป่งออกเรียกว่า primary vesicle รอบๆ primary vesicle จะมีก้านสั้นๆ ที่ปลายก้านเหล่านี้มีลักษณะโป่งกลมเรียกว่า secondary vesicle สร้าง conidium รูปร่างยาวรี หัวท้ายเรียวแหลม ตรงกลางโป่งออก (ellipsoid) สีน้ำตาล เซลล์เดียวบนผนังมีเส้นขีดตามแนวยาว ที่ปลาย conidium ด้านที่ติดบน vesicle มีติ่งสั้นๆ (papilla) ไม่มีสี *C. cucurbitarum* สร้าง columellate sporangium บนก้าน sporangiophore ปลายโป่งเป็น columella ลักษณะกลม sporangium มีสีน้ำตาล รูปร่างกลม ภายในมี sporangiospore จำนวนมาก รูปร่างยาวรี หัวท้ายเรียวแหลม ตรงกลางโป่งออก สีน้ำตาล เซลล์เดียวบนผนังมีเส้นขีดตามแนวยาว ปลายทั้งสองข้างมี appendage หลายเส้น การทดลองนี้ยังไม่สิ้นสุด ต้องดำเนินการต่อในปี 2555 และ 2556

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาอนุกรมวิธานและชีววิทยาของราสกุล *Choanephora* สาเหตุโรคเน่าเปียก (Wet rot) ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 พบตัวอย่างพืชที่เป็นโรคเน่าเปียกจากเชื้อรา *Choanephora* sp. ทั้งหมดจำนวน 18 ตัวอย่าง จากพืช 8 ชนิด ได้แก่ พริกจำนวน 5 ตัวอย่าง มะเขือเปราะจำนวน 2 ตัวอย่าง มะเขือยาวจำนวน 3 ตัวอย่าง ถั่วพูจำนวน 1 ตัวอย่าง ฟักทองจำนวน 1 ตัวอย่าง แตงกวาจำนวน 2 ตัวอย่าง ชบาจำนวน 2 ตัวอย่าง กล้วยไม้จำนวน 2 ตัวอย่าง จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานและจำแนกชนิดพบว่าเป็นรา *Choanephora cucurbitarum* (Berk. & Ravenel) Thaxt.

เอกสารอ้างอิง

วิจัย รักวิทยาศาสตร์. 2546. ราวิทยาเบื้องต้น. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม. 351 หน้า

ศศิธร วุฒิวณิชย์. 2545. โรคของผักและการควบคุมโรค. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 182 หน้า

การจำแนกชนิดของราสกุล *Botryosphaeria* สาเหตุโรคพืช โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะทางพันธุกรรม

Identification of *Botryosphaeria* Plant Pathogenic Fungi Using Morphological and Molecular Characteristics

พรพิมล อธิปัญญาคม สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และ ชนินทร ดวงสอาด

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ผลการสำรวจรวบรวมและเก็บตัวอย่างสาเหตุโรคพืชที่เกิดจากรา *Botryosphaeria* ได้ตัวอย่างโรคพืชทั้งหมด 17 ตัวอย่าง จากพืชทั้งหมด 6 ชนิด ในจังหวัดกำแพงเพชร กรุงเทพฯ จันทบุรี ฉะเชิงเทรา เชียงใหม่ นครปฐม นครราชสีมา ประจวบคีรีขันธ์ ระยอง ราชบุรี สกลนคร สมุทรปราการ สมุทรสาคร สมุทรสงคราม และสุโขทัย ตัวอย่างโรคพืชที่รวบรวมได้ทั้งหมดนำมาศึกษาในห้องปฏิบัติการโดยการศึกษาราจากเนื้อเยื่อพืชโดยตรง การทำ moist chamber และโดยวิธีการแยกราจากเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรค ผลจากการศึกษาจำแนกชนิดเชื้อโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำแนกได้รา *Lasiodiplodia theobromae* จากมังคุด (2 ไอโซเลท) องุ่น (2 ไอโซเลท) มะม่วง (1 ไอโซเลท) กล้วย (2 ไอโซเลท) และมะเม่า (1 ไอโซเลท), *Dothiorella* จากมะม่วง (2 ไอโซเลท) และ *Botryosphaeria* จากกิ่ง (15 ไอโซเลท) และผลแก้วมังกร (5 ไอโซเลท) (ตารางที่ 1) แยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษาการจำแนกชนิดของเชื้อในระดับ species และศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อต่อไป และตัวอย่างแห้งโรคพืชเก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์โรคพืช ที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช ตึกอิงคศรีกสิการ

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-02-04-54

คำนำ

ราสกุล *Botryosphaeria* Ces. And De Npt พบแพร่กระจายอยู่ทั่วไป มักพบเป็นสาเหตุโรคแคงเคอร์ของพืชที่เป็นไม้เนื้อแข็ง ราเข้าทำลายพืชทางแผลจากการตัดแต่งกิ่งและทางเนื้อเยื่อที่ถูกทำลาย แต่ราก็สามารถเข้าทำลายพืชโดยตรงทางกลุ่มเซลล์ของพืชและพักตัวอยู่ที่ส่วนของตา บางครั้งมักพบว่ารามีลักษณะเป็นเอ็นโดไฟท์โดยไม่แสดงอาการบนเนื้อเยื่อพืช (Smith *et al.,* 1996) รากลุ่มนี้ก่อให้เกิดโรคพืชที่สำคัญของพืชหลายชนิด ได้แก่ พืชวงศ์แอปเปิ้ล ไม้ผลชนิดเมล็ดแข็ง สาเหตุโรคผลเน่า ใบจุดตากบ โรคแคงเคอร์บนลำต้นและกิ่ง เปลือกแตกยางไหล ยืนต้นตาย และบางชนิดทำให้ต้นไม้ตาย (Weaver, 1974; Brown and Britton, 1986; Britton *et al*., 1990; Pusey, 1993; Parker and Sutton, 1993)

ในด้านการจำแนกชนิดของรากลุ่มนี้ ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Botryosphaeria* ซึ่งเป็นระยะสืบพันธุ์แบบใช้เพศ (teleomorphic stage) นั้นจะแตกต่างกันเล็กน้อยในแต่ละ species แต่ลักษณะทางสัณฐานของราในระยะสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ (anamorphic stage) จะมีความแตกต่างกันมาก รา *Botryosphaeria* มีระยะสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ ประมาณ 18 ชนิด จัดอยู่ใน Class Coelomycetes ได้แก่ *Botryodiplodia* (Sacc.) Sacc., *Diplodia* Fr., *Dothiorella* Sacc., *Fusicoccum* Corda, *Lasiodiplodia* Ellis & Everh., *Macrophomina* (Sacc.) Berl. & Voglino และ *Sphaeropsis* Sacc. ลักษณะของราในกลุ่มนี้จะแตกต่างกันแต่ลักษณะบางชนิดก็จะมีลักษณะคล้ายคลึงและใกล้เคียงกันมากเมื่อตรวจดูลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ ในปัจจุบันนี้มีการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อมาใช้ในการจำแนกชนิด ซึ่งก็ทำให้การจำแนกชนิดของรามีความถูกต้องและแม่นยำมากขึ้น

งานวิจัยนี้ครอบคลุมวัตถุประสงค์ของโครงการวิจัยและพัฒนาเพื่อการจำแนกชนิดของรา *Botryosphaeria* โดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อและศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของราโดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล ในการแบ่งแยกในระดับ genus และ species

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. เก็บรวบรวมตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากรา *Botryosphaeria*

เก็บตัวอย่างโรคพืชจากส่วนของใบ ดอก ผล กิ่ง ลำต้น และรากของพืช จากแหล่งปลูกพืชต่าง ๆ บันทึกรายละเอียด ชนิดพืช แหล่งที่เก็บ วันที่เก็บ และลักษณะอาการของโรค ห่อตัวอย่างพืชด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ ใส่ในถุงพลาสติก บรรจุห่อตัวอย่างลงในกล่องเก็บความเย็น เพื่อนำมาทำศึกษาชนิดและแยกเชื้อสาเหตุในห้องปฏิบัติการ และจัดเก็บตัวอย่างแห้งของพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช ตึกอิงคศรีกสิการ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2. การศึกษารา *Botryosphaeria* จากส่วนที่เป็นโรค

2.1 การศึกษาราจากเนื้อเยื่อพืชโดยตรง (Direct observation)

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

ถ้าไม่พบสปอร์ของราบนชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรคหลังจากตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และเมื่อเขี่ยเชื้อดูแล้ว ไม่พบราบนชิ้นส่วนพืชให้ทำ moist chamber โดยนำตัวอย่างพืชมาบ่มไว้ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว วางชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรคไว้บนกระดาษกรองที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วและหยดน้ำนึ่งที่ฆ่าเชื้อแล้วบนกระดาษกรองเพื่อให้ความชื้น 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 ตรวจดูเส้นใยรา

ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo ตัดปลายเส้นใย (hyphal tip) ของราที่เจริญออกมาจากชิ้นส่วนพืช วางลงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ จนเชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และนำไปศึกษารายละเอียดของราเพื่อการจำแนกชนิดของราต่อไป เก็บรักษาสายพันธุ์ราไว้ในอุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส

2.3 ศึกษาลักษณะของเชื้อบนอาหารชนิดต่าง ๆ

นำรา *Botryosphaeria* ที่แยกได้มาเลี้ยงบนอาหาร ½Potato Dextrose Agar, Potato Dextrose Agar, Malt Extract Agar, Corn Meal Agar, Oat meal agar หรือ water agar โดยบันทึกลักษณะต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

บันทึกอัตราการเจริญของเชื้อราบนอาหารชนิดต่าง ๆ ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ บันทึกสีของโคโลนีด้านบนและด้านล่างอาหารเลี้ยงเชื้อ รวมทั้งการสร้างเม็ดสี (pigment)

3. การจำแนกชนิดรา *Botryosphaeria*

- ศึกษารูปร่างลักษณะของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo และ compound microscope โดยตรวจดูลักษณะเส้นใย conidiophore และสปอร์ และศึกษาลักษณะของสปอร์และโครงสร้างอื่น ๆ ของเชื้อรา โดยการ mount slide ด้วยน้ำหรือ shear's solution
- ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อได้แก่ ลักษณะของเส้นใย ขนาด สี ลักษณะของสปอร์ conidiophore สี ขนาด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และ compound บันทึกขนาด รูปร่าง วาดภาพ และบันทึกภาพด้วยกล้องถ่ายภาพ และถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน (Scanning Electron Microscope)

4. **เก็บรักษาสายพันธุ์ราและตัวอย่างแห้ง**

เก็บรักษาราที่แยกได้ไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และเก็บรักษาไว้ใน Culture Collection และเก็บตัวอย่างแห้งโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช ตึกอิงคศรีกสิการ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

5. การพิสูจน์การเกิดโรค

ทำการพิสูจน์การเกิดโรค โดยทำการปลูกเชื้อส่วนของพืช โดยทำแผลและไม่ทำแผล อย่างละ 10 ซ้ำ เปรียบเทียบกับการเกิดโรคบนส่วนที่ไม่ปลูกเชื้อด้วยวิธีเดียวกัน แยกเชื้อสาเหตุจากต้นที่แสดงอาการโรค เปรียบเทียบชนิดของราสาเหตุโรคใช้ในการปลูกเชื้อ

6. การศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของรา *Botryosphaeria*

6.1 การเตรียมรา *Botryosphaeria*

เลี้ยงรา *Botryosphaeria* บนอาหาร MEA (Malt extract agar) นาน 7-10 วัน หลังจากนั้นใช้เข็มเขี่ยเอาเส้นใยของรามาเลี้ยงในอาหารเหลว PDB (Potato dextrose broth) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ใน flask 250 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ นาน 7 วัน หลังจากนั้นนำราในอาหารเหลวมากรองด้วยกระดาษกรองนึ่งฆ่าเชื้อ และ

ทำให้แห้งด้วยการดูดอากาศออกด้วยเครื่องดูดสัญญากาศ เก็บเส้นใยราที่แห้งด้วยหลอดและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำมาสกัด DNA

6.2 การสกัด DNA จากรา

นำรา *Botryosphaeria* อย่างน้อย 5 genera 5 species อย่างละ 4 isolates ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส มาสกัด DNA โดยใช้วิธีของ Crous และคณะ (2000)

6.3 การเพิ่มปริมาณยีน Internal Transcribed Spacer โดยใช้เทคนิค PCR

นำ DNA ของราที่แยกได้ในข้อ 13.2.3 มาทำ PCR โดยใช้ไพร์เมอร์ ITS1 (5'TTTCCGTAGGTGAACCTGC3') และ ITS4 (5'TCCTCCGCTTATTGATATGC)

- สังเคราะห์คู่ primer ITS1 และ ITS4 เพื่อทำการเพิ่มปริมาณของ rDNA ในช่วง ITS1-5.8S rDNA-ITS2-26SrDNA
- นำ DNA ของราทั้งหมดในข้อ 13.2.3 มาเพิ่มปริมาณของ rDNA ในช่วง ITS1-5.8S rDNA-ITS2-26SrDNA โดยใช้คู่ไพร์เมอร์ ITS1 และ ITS4 ด้วยวิธี PCR ประกอบด้วยส่วนผสมดังนี้

10X PCR buffer	6 ไมโครลิตร
25 mM $MgCl_2$	3 ไมโครลิตร
10 mM dNTP	1 ไมโครลิตร
ไพร์เมอร์ ITS1 (50 พิโคโมล / ไมโครลิตร)	1 ไมโครลิตร
ไพร์เมอร์ ITS4 (50 พิโคโมล / ไมโครลิตร)	1 ไมโครลิตร
Taq DNA Polymerase (5 ยูนิต / ไมโครลิตร)	0.25 ไมโครลิตร
น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ	28.75 ไมโครลิตร
สารละลาย DNA (50 นาโนกรัม / ไมโครลิตร)	10 ไมโครลิตร
รวมปริมาตร	50 ไมโครลิตร

- ส่วนของ β-tubulin นั้นเพิ่มปริมาณโดยใช้คู่ไพร์เมอร์ Bt2a และ Bt2b

นำส่วนผสมทั้งหมดผสมตามสัดส่วนลงในหลอด PCR ขนาด 0.2 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำหลอด PCR เข้าเครื่องเพิ่มปริมาณ DNA โดยมีรอบการทำปฏิกิริยา (Slippers *et al.*, 2004) ดังนี้

94 องศาเซลเซียส	5 นาที	1 รอบ
94 องศาเซลเซียส	1 นาที 50 วินาที	30 รอบ
52 องศาเซลเซียส	2 นาที	
72 องศาเซลเซียส	1 นาที	
72 องศาเซลเซียส	5 นาที	1 รอบ
4 องศาเซลเซียส	hold	

6.4 การวิเคราะห์หาลำดับเบสของยีน ITS1-5.8SrDNA-ITS2-26SrDNA

นำผลผลิตที่ได้จากข้อ 13.2.3 มาตรวจวิเคราะห์ผลด้วย electrophoresis บน 1% agarose gel ใน 0.5XTBE buffer โดยตัดแถบ DNA ที่เป็นยีนเป้าหมาย ภายใต้ UV transilluminator โดยใช้วิธีของ Slippers และคณะ (2004)

6.5 การเปรียบเทียบลำดับเบสของยีนที่นำมาศึกษาทั้งหมด

การเปรียบเทียบลำดับเบสของยีนที่นำมาศึกษาทั้งหมดไปวิเคราะห์เปรียบเทียบกับฐานข้อมูลที่มีรายงานอยู่ใน GenBank ในช่วงลำดับเบส 15 ITS rDNA และ 15 β-tubulin ซึ่งเป็นราในกลุ่ม *Botryosphaeria* โดยนำมาเปรียบเทียบวิเคราะห์ความสัมพันธ์และการวิวัฒนาการด้วย PAUP (Phylogenetic Analysis Using Parsimony) version 4.0b8 โดย Swofford (2000)

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มต้น – สิ้นสุด
ตุลาคม 2553 – กันยายน 2556

สถานที่
- แหล่งพืชธรรมชาติ
- แปลงปลูกพืชของเกษตรกร
- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. เก็บรวบรวมตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากรา *Botryosphaeria*

ผลการสำรวจรวบรวมและเก็บตัวอย่างสาเหตุโรคพืชที่เกิดจากรา *Botryosphaeria* ได้ตัวอย่างโรคพืชทั้งหมด 17 ตัวอย่าง จากพืชทั้งหมด 6 ชนิด ในจังหวัดกำแพงเพชร กรุงเทพฯ จันทบุรี ฉะเชิงเทรา เชียงใหม่ นครปฐม นครราชสีมา ประจวบคีรีขันธ์ ระยอง ราชบุรี สกลนคร สมุทรปราการ สมุทรสาคร สมุทรสงคราม และ สุโขทัย ตัวอย่างโรคพืชที่รวบรวมได้ทั้งหมดนำมาศึกษาในห้องปฏิบัติการโดยการศึกษาราจากเนื้อเยื่อพืชโดยตรง การทำ moist chamber และโดยวิธีการแยกราจากเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรค

แก้วมังกร	กิ่ง (ลำต้นจุด)	จันทบุรี ราชบุรี สมุทรสาคร สมุทรสงคราม ระยองสมุทรปราการ กรุงเทพฯ นครราชสีมา เชียงใหม่ นครปฐม
แก้วมังกร	ผล (ผลเน่า)	จันทบุรี ราชบุรี สมุทรสาคร
มังคุด	ผล (ผลเน่า)	จันทบุรี
องุ่น	ลำต้น (ต้นเหี่ยว)	ประจวบคีรีขันธ์ นครราชสีมา
มะม่วง	ลำต้น (อาการยางไหล)	นครราชสีมา
มะม่วง	ผล (ขั้วผลเน่า)	ฉะเชิงเทรา

กล้วย	ผล (ขั้วผลเน่า)	สุโขทัย กำแพงเพชร
มะเม่า	ลำต้น (อาการยางไหล)	สกลนคร

2. การศึกษารา *Botryosphaeria* จากส่วนที่เป็นโรค และการจำแนกชนิด

ผลจากการศึกษาจำแนกชนิดเชื้อโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำแนกได้รา *Lasiodiplodia theobromae* จากมังคุด (2 ไอโซเลท) องุ่น (2 ไอโซเลท) มะม่วง (1 ไอโซเลท) กล้วย (2 ไอโซเลท) และมะเม่า (1 ไอโซเลท), *Dothiorella* จากมะม่วง (2 ไอโซเลท) และ *Botryosphaeria* จากกิ่ง (15 ไอโซเลท) และผลแก้วมังกร (5 ไอโซเลท) (ตารางที่ 1) แยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษาการจำแนกชนิดของเชื้อในระดับ species และศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อต่อไป และตัวอย่างแห้งโรคพืชเก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์โรคพืช ที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช ตึกอิงคศรีกสิการ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลการสำรวจรวบรวมและเก็บตัวอย่างสาเหตุโรคพืชที่เกิดจากรา *Botryosphaeria* ได้ตัวอย่างโรคพืชทั้งหมด 17 ตัวอย่าง จากพืชทั้งหมด 6 ชนิด ในจังหวัดกำแพงเพชร กรุงเทพฯ จันทบุรี ฉะเชิงเทรา เชียงใหม่ นครปฐม นครราชสีมา ประจวบคีรีขันธ์ ระยอง ราชบุรี สกลนคร สมุทรปราการ สมุทรสาคร สมุทรสงคราม และสุโขทัย ผลจากการศึกษาจำแนกชนิดเชื้อโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำแนกได้รา *Lasiodiplodia theobromae* จากมังคุด (2 ไอโซเลท) องุ่น (2 ไอโซเลท) มะม่วง (1 ไอโซเลท) กล้วย (2 ไอโซเลท) และมะเม่า (1 ไอโซเลท), *Dothiorella* จากมะม่วง (2 ไอโซเลท) และ *Botryosphaeria* จากกิ่ง (15 ไอโซเลท) และผลแก้วมังกร (5 ไอโซเลท) (ตารางที่ 1) แยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษาการจำแนกชนิดของเชื้อในระดับ species และศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อต่อไป และตัวอย่างแห้งโรคพืชเก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์โรคพืชที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช ตึกอิงคศรีกสิการ

เอกสารอ้างอิง

Britton, KO., FF. Hendrik, PL. Pusey, Okie WR., Reilly, and JW. Daniell. 1990. Evaluating the reaction of peach cultivars to infection by three *Botrysphaeria* species. HortScience 25, 468-470.

Brown, EA. and KO. Britton. 1986. *Botryosphaeria* diseases of apple and peach in the Southeastern United State, Plant Disease 70, 480-484.

Chandrasrikul, A. 1962. A preliminary host list of plant diseases in Thailand. Tech. Bull. No. 9, Dept. of Agr., Bangkok. 14p.

Denman, S., P.W. Crous, J.Z. (E) Groenewald, B. Slippers, B. D. Wingfield, M.J. Winfield. 2003. Circumscription of *Botryosphaeria* species associated with Proteaceae based on morphology and DNA sequence data. Mycologia 95 (2): 294-307.

Parker, KC. And TB. Sutton. 1993. Susceptibility of apple fruit to *Botryosphaeria dothidea* and isolate variation. Plant Disease 77, 385-389.

Puckdeedindan, P. 1996. A supplementary host list of plant disease in Thailand. Tech. Bull. No. 7, Dept. of Agr., Bangkok. 24 p.

Pusey, PL. 1993. Role of *Botryosphaeria* species in peach tree gummosis on the basis of differential isolation from outer and inner bark. Plant Disease 77, 170-174.

Schreiber, L.R. 1964. Stem canker and die-back of Rhododendron caused by *Botryosphaeria ribis* Gross. & Dugg. Plant Dis. Rep. 48: 207-210.

Smith, C.O. 1934. Inoculations showing the wide host range of *Botryosphaeria ribis*. J. Agric. Res. (Washington, D.C.) 49: 467-476.

Themis, J.M. 1991. Pathogenicity, distribution, sources of inoculum, and infection courts of*Botryosphaeria dothidea* on Pistachio. Phytopathology 81 (5): 566-573.

Weaver, D.J., 1974. A gummosis dsisease of peach trees caused by *Botryosphaeria dothidea*. Phytopathology 64: 1429-1432.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1: ชนิดของเชื้อสาเหตุโรคบนพืชอาศัยต่าง ๆ ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 – เดือนกันยายน 2554

ชนิดของเชื้อ	พืช	ส่วนของพืชที่เป็นโรค
Botryosphaeria	แก้วมังกร	กิ่ง (ลำต้นจุด)
Botryosphaeria	แก้วมังกร	ผล (ผลเน่า)
Lasiodiplodia theobromae	มังคุด	ผล (ผลเน่า)
Lasiodiplodia theobromae	องุ่น	ลำต้น (ต้นเหี่ยว)
Lasiodiplodia theobromae	มะม่วง	ลำต้น (อาการยางไหล)
Dothiorella	มะม่วง	ผล (ขั้วผลเน่า)
Lasiodiplodia theobromae	กล้วย	ผล (ขั้วผลเน่า)
Lasiodiplodia theobromae	มะเม่า	ลำต้น (อาการยางไหล)

การศึกษาชีววิทยาและนิเวศวิทยาของรา *Phytophthora capsici* {[(Leonian) emend. A. Alizadeh and P. H. Tsao] Tsao } Mchan and Coffey

Study on Biology and Ecology of *Phytophthora capsici*

อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี พีระวรรณ พัฒนวิภาส

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ได้เก็บรวบรวมตัวอย่างโรคเหี่ยวของพริก ระหว่าง เดือนตุลาคม 2553 - เดือนกันยายน 2554 จาก จังหวัดเชียงใหม่ ลำปาง ลำพูน และเพชรบูรณ์ เพื่อศึกษาชีววิทยาและนิเวศวิทยาของรา *Phytophthora capsici* พบโรครากเน่าโคนเน่าพริกหวานหรือพริกยักษ์ โรครากเน่าโคนเน่าพริกขี้หนู โรครากเน่าโคนเน่ามะเขือยาว โรครากเน่าโคนเน่าพริกขี้หนู และโรครากเน่าโคนเน่าพริกหนุ่ม เมื่อแยกเชื้อบริสุทธิ์ได้รา *Phytophthora* sp. จำนวน 10 ไอโซเลท ราทำให้พืชแสดงอาการเหี่ยวทั้งต้น ตั้งแต่ยอด ใบ และผล รากและโคนต้นถูกทำลาย เกิดอาการรากเน่า โคนเน่า และทำให้เกิดอาการเน่าคอดิน ราสร้างเส้นใยที่เจริญได้ดีบนอาหารวุ้นแครอท และ สร้างสปอร์จำนวนมากบนอาหารแข็ง เมื่อสปอร์มีอายุมากขึ้นจะหลุดออกจากก้านชูสปอร์ได้ง่าย โดยมีก้านสปอร์ยาวติดอยู่ ด้านบนของสปอร์มีส่วนเปิดสำหรับเป็นทางออกของสปอร์ที่มีหางและว่ายน้ำได้ เด่นชัด รา *P. capsici* ทำให้พืชทดสอบได้แก่ พริกหวาน พริกหยวก พริกชี้ฟ้า พริกขี้หนู มะเขือเทศ ตำลึง และเส็ง เป็นโรค แผลขยาย 10–20 มิลลิเมตร แสดงอาการแผลเน่าสีน้ำตาลดำ ถึงสีดำ ดังนั้นพืชทั้ง 7 ชนิดนี้จึงน่าจะเป็นพืชอาศัยของรานี้

คำหลัก : ชีววิทยา, นิเวศวิทยา, รา *Phytophthora capsici*, พืชอาศัย

คำนำ

พริกเป็นพืชที่มีความสำคัญทั้งในทางเศรษฐกิจ และวิถีชีวิตของไทย สามารถปลูกได้ทั่วทุกภาคของประเทศ ในประเทศไทยนิยมปลูกพริก 2 กลุ่ม คือ กลุ่ม *Capsicum annuum* เช่น พริกหวาน พริกหยวก พริกชี้ฟ้า และกลุ่ม *C. frutescens* ที่เป็นกลุ่มพริกขี้หนู เช่น พริกขี้หนูสวน และพริกขี้หนูใหญ่

รา *Phytopthora capsici* ถูกรายงานครั้งแรกโดย Leonian .ในปี ค.ศ. 1922 เป็นสาเหตุโรคไหม้ของพริก (*Capsicum annuum* L.- Chilli peppers, chili, chile หรือ chilli)) ในรัฐนิวเม็กซิโก สหรัฐอเมริกา และเป็นสาเหตุโรคอื่นๆ ซึ่งเรียกตามอาการของพืชที่ผิดปกติไป เช่น โรคต้น

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-02-05-54

เหี่ยว (Phytophthora blight) เน่าคอดิน (damping-off) รากเน่า โคนเน่า ผลเน่า (Phytophthora root rot, crown rot และ stem and fruit rot) มีรายงานว่าเป็นสาเหตุของโรคพืชอีกหลายชนิด คือ พริกหวาน หรือ พริกยักษ์ (sweet pepper หรือ bell pepper) มะเขือ ฝ้าย พริกไทยดำ โกโก้ มะเขือเทศผลมะเขือ สมอฝ้าย พริกไทยดำ โกโก้ มะเขือเทศ เป็นต้น (Erwin and Ribeiro, 1996)

โรคเหี่ยวในพริกที่เกิดจากรา *P. capsici* เป็นโรคที่สำคัญซึ่งเข้าทำลายและทำให้สูญเสียผลผลิตเป็นจำนวนมากในแต่ละปี การจัดการป้องกันและกำจัดโรคผลักดันให้เกษตรกรต้องใช้สารเคมีและแรงงานในการผลิตเพิ่มขึ้น เป็นผลเสียต่อสุขภาพสิ่งแวดล้อม และยังเพิ่มต้นทุนในการผลิต ทำให้ผลตอบแทนน้อยลง และยังส่งผลกระทบต่อผู้บริโภคที่มีความเสี่ยงต่อการได้รับสารพิษตกค้างจากผลิตผล ตลอดระยะเวลากว่า 30 ปีที่มีการรายงานและศึกษาวิจัยเพื่อแก้ไขปัญหาโรคนี้ในประเทศไทย พบว่าข้อมูลทางชีววิทยาและนิเวศวิทยาของเชื้อรามีน้อย หรือแทบไม่มีเลย ข้อมูลส่วนใหญ่มักเป็นการศึกษาการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดโรค ซึ่งเป็นการแก้ไขที่ปลายเหตุทำให้การป้องกันกำจัดโรคไม่ประสบผลสำเร็จเท่าที่ควร การศึกษาวิจัยทางด้านชีววิทยาและวงจรชีวิตของรานี้จึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง เพื่อให้สามารถติดตามหาแหล่งที่อยู่อาศัยเริ่มแรก (อาศัยข้ามฤดู) ของราที่เป็นต้นกำเนิดการแพร่กระจายของรา จากจุดเล็กๆ ที่จะนำไปสู่การแพร่ระบาด ทำลายผลิตผลของพืชอย่างรุนแรงในเวลาต่อมาได้ และเชื้อราอยู่ในสภาพอย่างไรบนเศษซากของ ใบ กิ่ง ผล ที่เป็นโรค หรืออาจอยู่ในพืชอาศัย ทั้งที่เป็นพืชเศรษฐกิจ หรือ/และวัชพืชที่เกิดบริเวณสวนลำไย จึงควรมีการศึกษาชีววิทยาและนิเวศวิทยา รา *P. capsici* สาเหตุของโรคเพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาการป้องกันกำจัดโรคอย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

วิธีดำเนินการ

1. การเก็บ รวบรวมตัวอย่างโรคเหี่ยวของพริกและการแยกเชื้อสาเหตุ

ได้เก็บและรวบรวม และเก็บตัวอย่างโรคเหี่ยวของพริกระหว่าง ตุลาคม 2553 - กันยายน 2554 นำตัวอย่างโรคพืชเหล่านั้นมาแยกเชื้อบริสุทธิ์ในวันเดียวกัน โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Tissue transplanting) ตัดบริเวณรอยต่อเนื้อเยื่อที่เป็นโรคกับเนื้อเยื่อปกติ เป็นชิ้นส่วนขนาด 2x2 มิลลิเมตร ตัวอย่างละ 15-20 ชิ้น เลี้ยงบนอาหารวุ้นมันฝรั่งผสม บี อาร์ เอ็น เอ พี (PDA + BRNAP) ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อเฉพาะ (Selective media) (Masago *et al.*, 1972) เพาะเชื้อในอุณหภูมิห้อง (25 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง ตัดชอบโคโลนีของเส้นใยเชื้อที่เจริญออกจากชิ้นตัวอย่างเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อเฉพาะอีกครั้ง เพาะเชื้อในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง ตัดชอบโคโลนีของเส้นใยเชื้อที่เจริญออกจากชิ้นเชื้อ เลี้ยงบนอาหารวุ้นแครอท (Carrot agar) (Kaosiri *et al.*, 1978) แยกเก็บเชื้อบริสุทธิ์แต่ละตัวอย่างในหลอดทดลอง ศึกษารายละเอียดของเชื้อสาเหตุเหล่านั้น ที่ห้องปฏิบัติการโรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

2. การศึกษาลักษณะอาการของโรคเหี่ยวของพริกและการเกิดโรค

ศึกษารายละเอียดลักษณะอาการของโรคเหี่ยวของพริก สภาพแวดล้อมของการเกิดโรค และการปฏิบัติดูแลของเกษตรกร

3. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาของ รา *Phytophthora* sp. โรคเหี่ยวของพริก

3.1 ศึกษาลักษณะการเจริญของเส้นใย (ลักษณะโคโลนี) ของเชื้อ

เลี้ยงรา *Phytophthora* ในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร ที่มีอาหารวุ้นมันฝรั่ง และอาหารวุ้นแครอท จำนวน 15 มิลลิเมตร เพื่อศึกษาลักษณะการเจริญของเส้นใย ใช้ เครื่องเจาะรู (Cork borer) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว ตัดเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อซึ่งเลี้ยงบนอาหารวุ้นแครอท นาน 5 วัน วางให้ด้านที่มีเส้นใยของเชื้อคว่ำลงบนอาหารบริเวณกลางจานเลี้ยงเชื้อ นำไปบ่มในตู้บ่มมืดอุณหภูมิห้อง จนเชื้อเจริญเติบโตเต็มจานเลี้ยงเชื้อ ศึกษาบันทึกลักษณะการเจริญที่ผิวหน้าอาหารและความหนาแน่นของเส้นใย

3.2 ศึกษาลักษณะรูปร่างและขนาดสปอร์ของรา

นำรา *Phytophthora* ในจานเลี้ยงเชื้อ ที่มีอาหารวุ้นแครอท จำนวน 15 มิลลิเมตร ที่บ่มในตู้บ่มมืดนาน 72 ชั่วโมง นำไปไว้ใต้แสงนีออน (White cool) 40 วัตต์ 2 หลอดระยะ 30 เซนติเมตรที่ให้แสง 200 แรงเทียน (Foot candle ftc) ที่อุณหภูมิห้อง ปล่อยไว้ใต้แสงนาน 48 ชั่วโมง เพื่อให้เชื้อสร้าง สปอร์แรงเจีย (Sporangia) ศึกษาและบันทึกลักษณะการแตกแขนงของก้านสปอร์ (Sporangiophores) วัดความยาว (Length) และความกว้าง (Breadth) ของ สปอร์แรงเจีย เพื่อหาอัตราส่วนความยาวต่อความกว้าง วัดความยาวของก้านสปอร์ (Pedicel หรือ Stalk) ความยาวของปาปิลา (Papilla) และวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ คลาไมโดสปอร์ (Chlamydospore) ศึกษาสปอร์ทั้ง 2 ชนิด จำนวนตัวอย่างละ 50 สปอร์

3.3 ศึกษาแบบคู่ผสม (Mating type) ของรา

เลี้ยงรา *Phytophthora* แต่ละไอโซเลท บนอาหารวุ้นแครอท วิธีการเดียวกับ ข้อ 3.1 จากนั้นใช้ เครื่องเจาะรู ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว ตัดเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีของ เชื้อดังกล่าว (Unknown) เลี้ยงบนอาหารวุ้นแครอท ในจานเลี้ยงเชื้อด้านตรงข้ามกับรา *P. palmivora* มาตรฐานที่ทราบแบบคู่ผสมแล้ว คือ Mating type A1 (*P. palmivora* สาเหตุโรคผลเน่าลำไย) แล้วทำวิธีการเดียวกันกับรา *P. palmivora* มาตรฐาน Mating type A2 (*P. palmivora* สาเหตุโรคเน่าแก้วหน้าม้า) เพื่อหา แบบคู่ผสม ของราทุกไอโซเลท นำเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง ในที่มืดนาน 7-10 วัน ศึกษาและบันทึกการสร้าง Sexual structure ของเชื้อ Unknown กับ A1 หรือ A2 มาตรฐาน วัดขนาด (ความยาวและความกว้าง) ของ โอโอโกเนีย (Oogonia), โอโอสปอร์ (Oospores) และ แอนเธอริเดีย (Antheridia) จำนวนไอโซเลทละ 50 สปอร์ ศึกษาตำแหน่งของ แอนเธอริเดีย บนผิวของ โอโอโกเนียม (Oogonium) และลักษณะของ โอโอสปอร์ (Oospore) ที่อยู่ภายในแต่ละโอโอโกเนียม

4. การตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสายพันธุ์เชื้อ
โดยวิธีการทำสปอร์แรงเจียมเดี่ยว (Single sporangium culture)

นำรา *Phytophthora* บริสุทธิ์จากตัวอย่างโรคที่เก็บจากแหล่งต่างๆ ในข้อ 1 แต่ละตัวอย่างในหลอดทดลอง มาเลี้ยงบนอาหารวุ้นแครอท ตัวอย่างละ 3 ซ้ำเก็บไว้ในที่มืด 72 ชั่วโมง นำไปไว้ใต้แสงนีออน ที่อุณหภูมิห้อง ปล่อยไว้ใต้แสงนาน 24–48 ชั่วโมง ใช้เข็มเขี่ย (Loop) ลนไฟฆ่าเชื้อ แช่ในน้ำกลั่นนึ่ง นำมาแตะบนปลายเส้นใย ซึ่งได้ สปอร์แรงเจีย จำนวนมาก นำไปเขี่ยให้กระจาย (Streak) บนอาหารวุ้น (WA) แล้วส่องดูใต้กล้องจุลทรรศน์ขนาดกำลังขยาย 10 x 10 เพื่อหา สปอร์แรงเจียมเดี่ยว (Single sporangium) ตักสปอร์เดี่ยวดังกล่าววางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 5 จุดต่อ 1 จาน เลี้ยงบนอาหารวุ้นแครอท ปริมาณ 15 มิลลิเมตรในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มไว้ในอุณหภูมิห้องนาน 72 ชั่วโมง ตัดขอบโคโลนีของเส้นใยเชื้อที่เจริญออกจากสปอร์เดี่ยวนั้น นำไปเลี้ยงบนอาหารวุ้นแครอท แยกเก็บเชื้อบริสุทธิ์แต่ละตัวอย่างในหลอดทดลอง

5. การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของรา *Phytophthora* sp. สาเหตุโรคเหี่ยวของพริกที่แยกได้

เลี้ยงราบริสุทธิ์ที่แยกได้จากแต่ละพื้นที่ บนอาหารวุ้นแครอท ที่อุณหภูมิห้อง ใช้ เครื่องเจาะรูขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว ตัดเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อ นำไปปลูกเชื้อ โดยวิธีเด็ดใบ (Detached leaf) ใช้ใบพริกระยะใบเพสลาด ที่ปลายของก้านใบพันด้วยสำลีชุบน้ำกลั่น เพื่อให้ใบสดอยู่เสมอ ปลูกเชื้อที่แยกได้ ใช้ เครื่องเจาะรู ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว เจาะทำแผลบนบริเวณกลางใบพริก วางเส้นใยบนอาหารวุ้นคว่ำลงบนใบที่ทำแผล จากนั้นใช้สำลีชุบน้ำวางบนชิ้นอาหารวุ้นดังกล่าวเพื่อให้ความชื้น วางใบพริกในกล่องพลาสติกปิดฝาเก็บไว้ในอุณหภูมิห้องนาน 3 วัน นำใบพริกที่แสดงอาการเป็นโรค ตัดบริเวณรอยต่อเนื้อเยื่อที่เป็นโรคกับเนื้อเยื่อปกติไปแยกเชื้อบริสุทธิ์อีกครั้งหนึ่ง แยกเก็บเชื้อบริสุทธิ์แต่ละไอโซเลทในหลอดทดลอง

6. ศึกษาความรุนแรงของเชื้อรา *P. capsici* บนพืชชนิดต่างๆ

เลี้ยงเชื้อรา *Phytophthora* บริสุทธิ์ที่แยกได้จากแต่ละพื้นที่ บนอาหารวุ้นแครอท ที่อุณหภูมิห้อง ปลูกเชื้อบนพืชชนิดต่างๆ คือปลูกเชื้อแก่ ใบพืชทดสอบ 14 ชนิด ซึ่งเป็นพืชที่ปลูกในบริเวณที่ปลูกพริก และพืชอื่นได้แก่ ทุเรียน (หมอนทอง) มะละกอ (แขกดำ) มะเขือเปราะ มะเขือพวง มะเขือยาว มะเขือม่วง พริกหวาน พริกหยวก พริกชี้ฟ้า พริกขี้หนู มะเขือเทศ กระเจี๊ยบ และวัชพืชที่พบในบริเวณปลูกพริก ได้แก่ เส็ง และตำลึง ทดสอบกับใบพืชชนิดละ 10 ใบ หลังจากปลูกเชื้อแล้ว 3 วัน วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลบนใบพืชที่แสดงอาการเป็นโรค แล้วตัดบริเวณรอยต่อเนื้อเยื่อที่เป็นโรคกับเนื้อเยื่อปกติไปแยกเชื้อบริสุทธิ์อีกครั้งหนึ่ง

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การเก็บ รวบรวมตัวอย่างโรคเหี่ยวของพริกและการแยกเชื้อสาเหตุ

ผลการเก็บและรวบรวมตัวอย่างโรคเหี่ยวของพริกระหว่าง ตุลาคม 2553 - กันยายน 2554 พบโรคพืชที่มีสาเหตุจากรา *Phytophthora* spp. แยกเชื้อบริสุทธิ์ ได้รา *P. capsici* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าพริกหวานหรือพริกยักษ์ 4 ไอโซเลท สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าพริกขี้หนู 1 ไอโซเลท สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่ามะเขือยาว 1 ไอโซเลท จากเชียงใหม่ สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าพริกขี้หนู จากจังหวัดลำปาง และลำพูน จังหวัดละ 1 ไอโซเลท สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าพริกหนุ่ม 2 ไอโซเลท จากเพชรบูรณ์ รวมทั้งหมด 10 ไอโซเลท (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 รา *Phytophthora capsici* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าพริกจากแหล่งปลูกต่าง ๆ

ที่	ไอโซเลท	พืช	แหล่งปลูกที่เก็บตัวอย่าง
1.	53[1]-Bp[2]-CM[3] 1[4] S[5]	พริกหวาน	นางจันทร์เพ็ญ มูลปานัน
2.	53-Bp-CM 2 R		หมู่ 3 บ้านม่วงคำ อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่
3.	53-Bp-CM 3 S	พริกหวาน	นายต่อม เหล่าเสือ บ้านเลขที่ 4 หมู่ 3 บ้านม่วงคำ
4.	53-Bp-CM 4 R		ตำบลโป่งแยง อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่
5.	54-Ch-CM 1 S	พริกขี้หนู	ตำบลสบเมิง อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่
6.	54-Ep-CM 1 F	มะเขือยาว	ตำบลช่างเคิ่ง อำเภอแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่
7.	54-Ch-Lp 1 S	พริกขี้หนู	อำเภอเมือง จังหวัดลำพูน
8.	54-Ch-Lpa 1 S	พริกขี้หนู	อำเภอเมือง จังหวัดลำปาง
9.	54-Ch-PB 1 S	พริกหนุ่ม	อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์
10.	54-Ch-PB 2 S	พริกหนุ่ม	อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์

หมายเหตุ

[1] ตัวเลข 2 ตัวแรก = ปี พ.ศ. ที่แยกรา *P. capsici* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าพืชได้

[2] อักษร 2 ตัวแรก = รา *P. capsici* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าที่แยกได้จากพืชชนิดต่างๆ

Bp = พริกหวาน พริกยักษ์ (Bell pepper)

Ch = พริกขี้หนู พริกหนุ่ม (Chili)

Eg = มะเขือ (Egg-plant)

[3] อักษร 2/3 ตัวถัดมา = อักษรย่อชื่อจังหวัดภาษาอังกฤษที่เก็บไอโซเลทเชื้อ

CM = เชียงใหม่ (Chiang Mai)

LP = ลำพูน (LamPhun)

LPa = ลำปาง (LamPang)

PhB = เพชรบูรณ์ (PhetchaBun)

[4] ตัวเลข = ไอโซเลทของเชื้อที่เก็บได้ในจังหวัดนั้น

[5] อักษร 1 ตัวหลัง = ส่วนของพืชที่แยกเชื้อสาเหตุได้

S = ลำต้น (Stem)

R = ราก (Root)

F = Fruit

เช่น 53[1]-Bp[2]-CM[3] 1[4] S[5] คือ รา *P. capsici* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าพริกหวานจาก จาก จังหวัดเชียงใหม่ ไอโซเลทที่ 1 แยกได้จากลำต้น

2. การศึกษาลักษณะอาการของโรคเหี่ยวของพริกและการเกิดโรค

2.1 พืชที่ปลูกในโรงเรือน

พบพืชที่ปลูกในสภาพโรงเรือน ได้แก่ พริกหวานหรือพริกยักษ์ ที่อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งปลูกแปลงพริกหวาน บริเวณหุบเขา เกษตรกรส่วนใหญ่เป็นชาวเขา เช่าโรงเรือนกางมุ้งสำหรับปลูกพริกหวาน มีรายได้ดี เพราะพริกหวานมีราคาน่าพอใจ การปลูกทำโดยเพาะกล้าประมาณ 1 เดือน จึงแยกลงปลูกในถุงดำสำหรับเพาะชำ วางเรียงเป็นแถวในโรงเรือน การให้น้ำใช้ระบบน้ำหยด พริกหวานจะเริ่มติดผลหลังปลูก 45-60 วัน จึงเก็บเกี่ยวผลภายหลังติดผล มีอายุการเก็บเกี่ยวนานรวม 6 เดือน ในพื้นที่ 1 ไร่ ปลูกได้ประมาณ 4000 ต้น ช่วงเวลาที่ไปเก็บตัวอย่างประมาณเดือนสิงหาคม เกษตรกรกำลังทยอยเก็บเกี่ยวผลผลิต ได้พบพริกหวานผลโต สีสวย ติดอยู่บนต้น ส่วนด้านในโรงเรือนพบพริกหวานต้นโตแสดงลักษณะอาการเหี่ยวทั้งต้น ตั้งแต่ยอด ใบ และผลจำนวนหลายสิบต้น เมื่อถอนลำต้นพริกหวานที่เป็นโรคขึ้นดู พบว่าบริเวณรากและโคนต้นถูกทำลาย เกิดอาการรากเน่า โคนเน่า เมื่อผ่าดูลำต้นตามยาวบริเวณโคนที่เน่า พบว่าเนื้อเยื่อของลำต้นเป็นสีน้ำตาล เกิดการเน่าแบบไม่มีกลิ่น พริกหวานนี้น่าจะเกิดโรครากเน่าโคนเน่าจากรา *Phytophthora* ซึ่งมักพบอาการของโรคเกิดขึ้นที่โคนลำต้นบริเวณติดกับดินก่อน เกิดเป็นแผลสีน้ำตาลดำขยายลุกลามขึ้นไปตามลำต้น การปฏิบัติดูแลของเกษตรกร นั้น ได้ทิ้งต้นพริกเป็นโรคไว้ในโรงเรือน โดยเฉพาะบริเวณด้านริมของโรงเรือน ที่มีการกระเซ็นของน้ำฝนจากหลังคาโรงเรือน และนำเศษซากพริกที่เป็นโรคไปกองสุมไว้ข้างโรงเรือน ทำให้เป็นแหล่งสะสมเชื้อและแหล่งแพร่ระบาดโรค

2.2 พืชที่ปลูกในสภาพไร่

พบว่า รา *P. capsici* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าพริก หรือ Phytophthora blight สามารถเข้าทำลายพืชที่ปลูกในสภาพไร่ ได้แก่ พริกขี้หนู ในระยะกล้า ที่จังหวัดลำพูนและลำปาง ทำให้เกิดโรคเน่าคอดิน และเข้าทำลายพริกหนุ่ม ที่จังหวัดเพชรบูรณ์ ในระยะต้นโตทั้งราก ลำต้น ใบ และผล มักทำให้เกิดอาการเหี่ยวของพริกในระยะกำลังออกผลแล้วตายทั้งต้น ใบที่เกิดโรคแสดงอาการจุดเล็กๆ สีเขียวเข้ม ลำต้นที่ถูกทำลายแสดงอาการใบเหี่ยว ผลมีลักษณะฉ่ำน้ำ เนื้อผลเป็นสีเข้มดำ หากเกิดรุนแรง เชื้อเข้าทำลายเมล็ดได้ด้วย

Erwin and Ribeiro (1996) รายงานว่า .ในปี ค.ศ. 1922 Leonian เป็นคนแรกที่รายงาน รา *P. capsici* เป็นสาเหตุโรคไหม้ของพริก (*Capsicum annuum*L.-Chili pepper) ในรัฐนิวเม็กซิโก สหรัฐอเมริกา และต่อมามีรายงานการเป็นสาเหตุของโรคพืชอีกหลายชนิด เช่น ผลมะเขือ สมอฝ้าย พริกไทยดำ โกโก้ มะเขือเทศ เป็นต้น (Erwin and Ribeiro, 1996) สำหรับในประเทศไทย ใน ปี ค.ศ. 1977 Tsao และ Tummakate รายงานการจำแนกชนิดรา *Phytophthora* บน พริกไทยดำ (Black pepper) ต่อมา Kobayashi และคณะ (1978) ได้ศึกษาราสาเหตุโรคพืชเศรษฐกิจ (Economic plants) ของประเทศไทย ที่อาศัยอยู่ในดิน (Soil borne diseases) โดยเฉพาะ รา *Phytophthora* รายงานการพบ การระบาดของ รา *P. capsici* บนพริกและพริกไทย ในปี พ.ศ. 2548 อมรรัตน์ และคณะ พบการระบาดของโรคเหี่ยวของพริกหวาน หรือพริกยักษ์ มีสาเหตุจาก รา *P. capsici* และพบยังการระบาดของโรคบน พริกขี้หนูและพริกหนุ่ม อีกด้วย (อมรรัตน์, 2552)

3. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาของ รา *Phytophthora* sp. โรคเหี่ยวของพริก

3.1 ศึกษาลักษณะการเจริญของเส้นใย (ลักษณะโคโลนี) ของเชื้อ

ลักษณะการเจริญเติบโตของ รา *P. capsici* ในระยะการสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ การเจริญของเส้นใย (Culture pattern หรือ Colony pattern) บนอาหารแข็ง คืออาหารวุ้นมันฝรั่ง และอาหารวุ้นแครอท ซึ่งบ่มในตู้บ่มมืดอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่าการสร้างเส้นใยบนอาหารแข็ง มีลักษณะการเจริญเป็นเส้นตรง มีกิ่งก้านแยกออกไปสม่ำเสมอค่อนข้างเป็นระเบียบ เส้นใยค่อนข้างฟูลักษณะใส ไม่มีสี ไม่มีผนังกั้นเส้นใย ผิวผนังเส้นใยเรียบ (Smoot) ไม่มีการโป่งพอง ทำให้เกิดลักษณะรูปแบบเป็นแฉกคล้ายเส้นใยแมงมุม เชื้อเจริญบนอาหารวุ้นแครอท เต็มจานเลี้ยงเชื้อเมื่ออายุ 5 วัน แต่บนอาหารวุ้นมันฝรั่ง เชื้อเจริญเติบโตได้ช้ากว่า เจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อเมื่ออายุ 7 วัน นอกจากนี้ บนอาหารวุ้นแครอท ราสร้างเส้นใยหนาแน่นกว่าและสร้าง สปอร์แรนเจีย (Sporangia) จำนวนมากกว่าบนอาหารวุ้นมันฝรั่งอีกด้วย

3.2 ศึกษาลักษณะรูปร่างและขนาดสปอร์ของรา

รา *P. capsici* สร้างสปอร์แรนเจียจำนวนมาก มีรูปร่างแตกต่างหลายแบบ ทั้งเป็นรูปไข่ หรือรูปค่อนข้างยาว หรือรูปร่างคล้ายไส้เดือนฝอยรากปม ขนาดแตกต่างกัน มีความยาวเฉลี่ย 46.58 $\pm$ 10.58 µm ความกว้างเฉลี่ย 37.00 $\pm$ 8.50 µm อัตราส่วนความยาวต่อความกว้าง เท่ากับ 1.26 ต่อ 1 เมื่อสปอร์มีอายุมากขึ้นจะหลุดออกจากก้านชูสปอร์ได้ง่าย โดยมีก้านสปอร์ยาวติดอยู่ ความยาวของก้านสปอร์เฉลี่ย 53.33 $\pm$ 58.12 µm ด้านบนของสปอร์มีส่วนเปิดสำหรับเป็นทางออกของสปอร์ที่มีหางและว่ายน้ำได้ เด่นชัด ราสร้างคลามายโดสปอร์จำนวนน้อย บนอาหารวุ้นแครอท มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง เฉลี่ย 25.58 $\pm$ 26.45 µm

3.3 ศึกษา แบบคู่ผสม (Mating type) ของรา

ยังไม่ทำการทดลอง

4. การตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสายพันธุ์เชื้อ

โดยวิธีการทำสปอร์แรงเจียมเดี่ยว (Single sporangium culture)

ผลการทำเชื้อบริสุทธิ์จากสปอร์แรงเจียมเดี่ยว (Single sporangium culture) ของรา *Phytophthora* ที่แยกได้ เพื่อหาลักษณะการเจริญของเส้นใยบนอาหารวุ้นมันฝรั่ง และอาหารวุ้นแครอท ทำให้ได้เชื้อบริสุทธิ์เพื่อใช้ในงานทดลอง พบว่าลักษณะการเจริญของเชื้อบริสุทธิ์จากสปอร์เดี่ยว เหมือนกับที่แยกได้จากลำไยที่เป็นโรคโดยตรงทุกประการ

การทำเชื้อบริสุทธิ์จากสปอร์แรงเจียมเดี่ยว เป็นวิธีการที่ทำได้ง่ายกว่า การทำเชื้อบริสุทธิ์จากซูสปอร์เดี่ยว (Single zoospore) เนื่องจาก *Phytophthora* ที่แยกได้ มีการผลิต หรือสร้างสปอร์แรนเจีย บนผิวอาหารแข็ง โดยเฉพาะบนอาหารวุ้นแครอท และ สปอร์แรนเจีย ที่สร้างบนอาหารวุ้นแครอท หลุดจากก้านชูสปอร์ได้ง่ายและมีก้านสปอร์ยาวอยู่ด้วย ซึ่งตรงกับการทดลองของ Kaosiri et al. (1980) ที่แยก สปอร์แรงเจียมเดี่ยว จากรา *P. palmivora* สาเหตุโรคเน่าของโกโก้

5. การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของรา *Phytophthora* sp.

สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของพริกที่แยกได้

ผลการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของ รา *Phytophthora* sp. สาเหตุโรคพริกและมะเขือที่แยกได้ พบว่ารา *Phytophthora* บริสุทธิ์ที่แยกได้จากโรคพริก ภายหลังการปลูกเชื้อนาน 7 วัน ทำให้ใบพริกระยะเพสลาดเป็นโรค แสดงอาการแผลเน่าสีน้ำตาลดำ ถึงสีดำ บนเนื้อเยื่อใบทั้งด้านหลังใบและท้องใบ หลังจากนั้น แผลจะลุกลามไปตาม เส้นใบ มีขนาด และรูปร่างไม่แน่นอน แต่ขยายขึ้นไปตามความยาวของใบมากกว่าความกว้าง

การทดสอบความสามารถทำให้เกิดโรคโดยใช้ใบพริกครั้งนี้ ได้ผลการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองของ อมรรัตน์และคณะ (2546) ที่ได้ทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของรา *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียนที่แยกได้จากแต่ละพื้นที่ปลูก ทดสอบโดยวิธีเด็ดใบภายหลังการปลูกเชื้อโดยการทำแผลเป็นเวลา 3 วัน ทำให้ใบทุเรียนพันธุ์หมอนทองระยะเพสลาดเป็นโรค และการทดลองของ พจนาและอมรรัตน์ (2546) ที่ทดสอบการปลูกเชื้อ *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียนในห้องปฏิบัติการ เพื่อหาวิธีการที่เหมาะสมสำหรับจำแนกระดับความรุนแรงของโรค โดยวิธีเด็ดใบ และได้ผลดีเช่นเดียวกับ การทดลองของ อมรรัตน์และคณะ (2553) ที่ทดสอบปฏิกิริยาของพันธุ์หน้าวัวลูกผสมต่อโรคเน่าดำ พบว่าเป็นวิธีการที่เหมาะสม สามารถทดสอบหาพันธุ์/สายพันธุ์หน้าวัวได้เป็นจำนวนมาก ดังนั้นการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคควรทำการทดสอบโดยการใช้วิธีเด็ดใบ ซึ่งเป็นวิธีการที่สะดวกและประหยัดเวลาในการศึกษาได้มาก

6. ศึกษาความรุนแรงของเชื้อรา *P. capsici* บนพืชชนิดต่างๆ

การศึกษาความรุนแรงของเชื้อรา *P. capsici* บนพืชชนิดต่างๆ พบว่าเชื้อรา *Phytophthora* บริสุทธิ์ที่แยกได้จากแต่ละพื้นที่ทุกไอโซเลท หลังจากปลูกเชื้อแล้ว 3 วัน ทำให้ใบทุเรียนพันธุ์

หมอนทอง ใบมะละกอพันธุ์แขกดำ มะเขือเปราะ และมะเขือพวงเป็นโรคน้อย พืชแสดงอาการค่อนข้างต้านทาน แผลขยายน้อยกว่า 10 มิลลิเมตร ทำให้ใบกระเจี๊ยบ มะเขือยาว และมะเขือม่วงเป็นโรคแผลขยาย 10–20 มิลลิเมตร แต่ทำให้พืชทดสอบ 7 ชนิด ได้แก่ พริกหวาน พริกหยวก พริกชี้ฟ้า พริกขี้หนู มะเขือเทศ ตำลึง และเส็ง เกิดแผลขนาดใหญ่ แผลขยายมากกว่า 20 มิลลิเมตร แสดงอาการแผลเน่าสีน้ำตาลดำ ถึงสีดำ บางแผลแผลขยายใหญ่จนเต็มใบ ด้านหลังใบและท้องใบ แผลขยายใหญ่ขึ้นไปตามความกว้างและความยาวของใบ ลุกลามไปตามเส้นใบ มีขนาดและรูปร่างไม่แน่นอน ดังนั้นพืชทั้ง 7 ชนิดจึงน่าจะเป็นพืชอาศัยของรานี้ได้ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ความรุนแรงของรา *Phytophthora capsici* สาเหตุโรคเหี่ยวพริกบนพืชต่างชนิด

วงศ์/พืช	**ความรุนแรงของ รา *Phytophthora capsici***
BOMBACACEAE (สอาดและคณะ, 2543)	
ทุเรียน (หมอนทอง) *Durio zibethinus* Linn.	+
CARICACEAE	
มะละกอ (แขกดำ) *Carica papaya*	+
SOLANACEAE.	
มะเขือเปราะ *Solanum xanthocarpum* Schrad. & Wendl	+
มะเขือพวง *Solanum torvum* sw.	+
กระเจี๊ยบแดง *Hibiscus sabdariffa* L.	++
มะเขือยาว *Solanum melongena* L.	++
มะเขือม่วง *Solanum melongena*	++
พริกหวาน *Capsicum annuum L. var. longum*	+++
พริกหยวก *Copsicum annuum* L.	+++
พริกชี้ฟ้า *Capsicum annuum* Linn. Var *acuminatum* Fingerh.	+++
พริกขี้หนู *Capsicum frutescens* Linn.	+++
มะเขือเทศ *Lycopersicon esculuentum* Mill.	+++
Cucurbitaceae	
ตำลึง Coccinia grandis Voigt.	+++
MALVACEAE	
เส็ง, Urena lobata Linn L.	+++

หมายเหตุ

[1]

–	=	ไม่มีแผล
±	=	แผลขยาย 1–5 มิลลิเมตร
+	=	แผลขยาย 5–10 มิลลิเมตร
++	=	แผลขยาย 10–20 มิลลิเมตร
+++	=	แผลขยาย 20 มิลลิเมตรขึ้นไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลการเก็บรวบรวมตัวอย่างโรคเหี่ยวของพริก พบโรครากเน่าโคนเน่าพริกหวานหรือพริกยักษ์ โรครากเน่าโคนเน่าพริกขี้หนู โรครากเน่าโคนเน่ามะเขือยาว โรครากเน่าโคนเน่าพริกขี้หนู และโรครากเน่าโคนเน่าพริกหนุ่ม จาก จังหวัดเชียงใหม่ ลำปาง ลำพูน และเพชรบูรณ์ แยกเชื้อบริสุทธิ์ได้รา *Phytophthora* sp. จำนวน 10 ไอโซเลท ราทำให้พืชแสดงอาการเหี่ยวทั้งต้น ตั้งแต่ยอด ใบ และผล รากและโคนต้นถูกทำลาย เกิดอาการรากเน่า โคนเน่า ทำให้เกิดโรคเน่าคอดิน มักทำให้เกิดอาการเหี่ยวของพริกในระยะกำลังออกผลแล้วตายทั้งต้น ใบที่เกิดโรคแสดงอาการจุดเล็กๆ สีเขียวเข้ม ลำต้นที่ถูกทำลายแสดงอาการใบเหี่ยว ผลมีลักษณะฉ่ำน้ำ เนื้อผลเป็นสีเข้มดำ หากเกิดรุนแรง เชื้อเข้าทำลายเมล็ดได้ด้วย ราสร้างเส้นใยที่เจริญได้ดีบนอาหารวุ้นแครอท ลักษณะคล้ายเส้นใยแมงมุม สร้างสปอร์จำนวนมากบนอาหารแข็ง เมื่อสปอร์มีอายุมากขึ้นจะหลุดออกจากก้านชูสปอร์ได้ง่าย โดยมีก้านสปอร์ยาวติดอยู่ ด้านบนของสปอร์มีส่วนเปิดสำหรับเป็นทางออกของสปอร์ที่มีหางและว่ายน้ำได้เด่นชัด สรุปว่าราสาเหตุโรคเหี่ยวพริกที่ศึกษา คือ รา *P. capsici* ราทำให้ใบพืชทดสอบ 7 ชนิด ได้แก่ พริกหวาน พริกหยวก พริกชี้ฟ้า พริกขี้หนู มะเขือเทศ ตำลึง และเส็ง เกิดแผลขนาดใหญ่ แผลขยายมากกว่า 20 มิลลิเมตร พืชทั้ง 7 ชนิดนี้จึงอาจจะเป็นพืชอาศัยของรานี้ได้

การศึกษาชีววิทยาและนิเวศวิทยาของรา *P. capsici* นี้ยังไม่จบ จึงควรมีการทดสอบพืชอาศัยอื่นๆ ให้มากขึ้น และต้องมีการแยกเชื้อบริสุทธิ์จากแหล่งอาศัยของเชื้อ เช่น จากดินในแหล่งระบาดของโรค หรือจากแหล่งน้ำ เป็นต้น เพื่อหาแหล่งกำเนิด หรือแหล่งอาศัยของเชื้อ ในโอกาสต่อไป

เอกสารอ้างอิง

พจนา ตระกูลสุขรัตน์และอมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์. 2546. เทคนิคการปลูกเชื้อ *Phytophthora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียนในห้องปฏิบัติการ. หน้า 135-145 *ใน* รายงานประจำปี 2546 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ.

อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์. 2552. รา *Phytophthora* สาเหตุโรคพืชในประเทศไทย. เอกสารประกอบการฝึกอบรม หลักสูตร การวินิจฉัยโรคพืชที่เกิดจากราสกุล PHYTOPHTHORA และ PYTHIUM ระหว่างวันที่ 19-21 พฤษภาคม 2552. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 74 หน้า.

อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ พจนา ตระกูลสุขรัตน์และทวี เก่าศิริ. 2546. ความผันแปรใน *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl. ทุเรียน : ลักษณะรูปร่างและแบบคู่ผสม. วารสารวิชาการเกษตร 21 (1) : 72-89.

อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ ทวี เก่าศิริ และพัชราภรณ์ ลีลาภิรมย์กุล. 2548. พริกหวานที่อำเภอแม่ริม..... เหี่ยว. กสิกร 78 (6) : 63-67.

อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ พจนา ตระกูลสุขรัตน์ และพีระวรรณ พัฒนวิภาส. 2553. ปฏิกิริยาของพันธุ์หน้าวัวลูกผสมต่อโรคเน่าดำ. รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (เอกสารกำลังจัดพิมพ์X

Erwin, D. C. and O. K. Ribeiro. 1996. *Phytophthora* Diseases Worldwide. APS Press, St. Paul., MN., USA. 562 p.

Kobayashi, N., T. Kamhangridthirong and U. Kueprakone. 1978. Studies on the soil borne diseases of economic plants in Thailand, with species reference to *Phytophthora* diseases. Plant Pathology and Microbiology Div., of Dept. of Agr., Thailand. 124 p.

Kaosiri, T; G. A. Zentmyer and D. C. Erwin. 1978. Stalk length as a taxonomic criterion for *Phytopthora palmivora* isolates from cacao. Canadia Journal of Botany 56:1730-1738.

Kaosiri, T; G. A. Zentmyer and D. C. Erwin. 1980. Oospore morphology and germination in the *Phytopthora palmivora* complex from cacao. Mycologia 72:888-907.

Masago, H., M. Yoshikawa, M. Fukada and N. Nakanishi. 1972. Selection inhibition of *Pythium* spp. on a medium for direct isolation of *Phytophthora* spp. from soils and plants. Phytophthology 67 : 425 – 428.

Tsao. D. H. and A. Tummakate. 1977. The identify of a *Phytophthora* species from black pepper in Thailand. Mycologia 69:631-637.

การศึกษาชีววิทยาและนิเวศวิทยาของรา *Didymella bryoniae* (Auersw.) Rehm.

Study on Biology and Ecology of *Didymella bryoniae* (Auersw.) Rehm.

ทัศนาพร ทัศคร ธารทิพย ภาสบุตร พีระวรรณ พัฒนวิภาส อภิรัชต์ สมฤทธิ์

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

สำรวจและเก็บตัวอย่างแตงกวา แตงร้าน แตงแคนตาลูป และแตงเมล่อนที่แสดงอาการโรคยางไหล ที่ จ.สุพรรณบุรี แพร่ สระแก้ว และพะเยา เพื่อแยกหาเชื้อสาเหตุในห้องปฏิบัติการ สามารถแยกได้รา *D. bryoniae* จำนวน 3 ไอโซเลท ทดสอบการเจริญของเชื้อสาแหตุโรคจำนวน 3 ไอโซเลทบนอาหารสูตรต่างๆ จำนวน 7 สูตรที่เตรียมไว้ ได้แก่ PDA PSA PCA MEA CMA OMA และ V8 agar ทำการบันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตของเชื้อและลักษณะของเส้นใยทุกวัน จำนวน 9 วัน ผลการทดลองพบว่า เชื้อราสาเหตุโรค *D. bryoniae* ทั้ง 3 ไอโซเลท สามารถเจริญได้ดีที่สุดบนสูตรอาหาร PDA OMA และ V8 agar ส่วนอาหารสูตรอื่น ๆ เชื้อราสามารถเจริญได้ดีปานกลาง

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-02-06-54

คำนำ

โรคยางไหล (Gummy Stem Blight) เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Didymella bryoniae* (Auersw.) Rehm. เป็นโรคสำคัญที่พบมีการระบาดและเข้าทำลายในพืชตระกูลแตง ประเทศไทยพบมีการระบาดในพืชตระกูลแตง ในพื้นที่ปลูกทางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ลักษณะอาการของโรคเริ่มแรกจะพบแผลฉ่ำน้ำที่บริเวณ ลำต้น กิ่ง ก้าน และใบ โดยเฉพาะบริเวณข้อต่อของลำต้นกับกิ่ง ลักษณะสำคัญของโรคคือ ที่แผลจะมียางเหนียวสีแดง (gummy ooze) ไหลเยิ้มออกมาจากแผล และเกาะแห้งอยู่ที่บริเวณแผล ซึ่งด้วยลักษณะอาการของโรคเช่นนี้ จึงได้มีการตั้งชื่อโรคตามอาการโรคที่พบ คือ โรคยางไหล ถ้าโรคมีการระบาดในระยะที่ติดผล จะทำให้ต้นแตงมีการเจริญเติบโตช้า ผลโตไม่เต็มที่ และในต้นที่อาการรุนแรงมาก ต้นจะเหี่ยวแห้งและยืนต้นตาย ทำให้ผลผลิตที่ได้ลดลง บางครั้งเกษตรกรจึงรีบเก็บผลผลิตก่อน ทั้งที่แตงยังสุกไม่เต็มที่ทำให้ผลผลิตของแตงไม่ได้คุณภาพ (ทัศนาพรและพีระวรรณ, 2552)

ลักษณะอาการของโรคยางไหล เริ่มแรกจะพบแผลฉ่ำน้ำที่บริเวณ ลำต้น กิ่ง ก้าน และใบ โดยเฉพาะบริเวณข้อต่อของลำต้นกับกิ่ง หลังจากนั้นส่วนทีเป็นแผลจะบุ๋มลึก และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหรือน้ำตาลแดง ลักษณะสำคัญของโรคคือ ที่แผลจะมียางเหนียวสีแดง (gummy ooze) ไหลเยิ้มออกมาจากแผล และเกาะแห้งอยู่ที่บริเวณแผล ส่วนอาการที่ใบก็จะพบใบเป็นแผลฉ่ำน้ำก่อนจากนั้นแผลที่ใบจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ลุกลามไปตามเส้นกลางใบทำให้ใบไหม้ วงจรการเกิดโรคของเชื้อรา *D. bryoniae* สามารถอาศัยและติดไปได้ทั้งในเมล็ดพันธุ์และดิน (seed borne , soil borne) และอยู่ข้ามฤดูได้เป็นเวลานานในเศษซากพืชที่เป็นโรค โดยอาศัยอยู่ใน perithecium เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมคือ มีความชื้นสูง perithecium ที่อยู่บนเศษซากพืชก็จะเจริญแล้วสร้างและปล่อย conidia ออกมา และ conidia นี้สามารถแพร่กระจายไปกับน้ำฝน หรือระบบการให้น้ำ

เนื่องจากเชื้อรา *D. bryoniae* เป็นเชื้อราที่สามารถอาศัยและติดไปได้ทั้งในเมล็ดพันธุ์และดิน (seed borne , soil borne) และอยู่ข้ามฤดูได้เป็นเวลานานในเศษซากพืชเพื่อแพร่กระจายโรคได้ในฤดูปลูกถัดไป ดังนั้นเพื่อหลีกเลี่ยงการเกิดโรคในแปลง เกษตรกรจึงต้องมีการย้ายพื้นที่ปลูกไปเรื่อย ๆ เพราะถ้าปลูกซ้ำที่ติดต่อกัน 2-3 ปี โรคในแปลงจะมีการระบาดที่รุนแรงขึ้น การแก้ปัญหานี้ด้วยการจัดการโรคทั้งระบบการปลูกจึงเป็นสิ่งที่สำคัญ เพราะถ้ามีการจัดการโรคที่ถูกต้องเหมาะสมเกษตรกรสามารถควบคุมการเกิดโรคในแปลงได้ และลดการสะสมเชื้อสาเหตุโรคในแปลงปลูกได้

ในการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับเชื้อรา *D. bryoniae* สาเหตุโรคยางไหลนี้ยังขาดข้อมูลทางด้านชีววิทยา การเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ การเข้าทำลายพืชอาศัยของเชื้อสาเหตุโรค และการ

ถ่ายโรคทางเมล็ดพันธุ์ ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดการแพร่ระบาดของโรค ดังนั้นเพื่อให้การป้องกันกำจัดโรคยางไหลมีประสิทธิภาพและสามารถนำไปสู่การจัดการโรคแบบผสมผสานได้ จึงมีความจำเป็นที่จะต้องศึกษาข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับเชื้อสาเหตุโรคดังกล่าวเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการป้องกันกำจัดโรคต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ
2. กล้องจุลทรรศน์
3. อุปกรณ์เครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการ
4. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติก กล่องเก็บความเย็น ปากกา กรรไกร ฯลฯ
5. กล้องถ่ายภาพ
6. วัสดุการเกษตร ดิน กระถาง เมล็ดพันธุ์ กระบะเพาะกล้า

วิธีการ

1.การสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคยางไหลของพืชตระกูลแตง

สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคยางไหลจากแหล่งปลูกพืชตระกูลแตงที่สำคัญ บันทึกข้อมูลต่างๆที่สำคัญในพื้นที่ปลูก ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ และภาคกลาง ที่เป็นแหล่งปลูกสำคัญ โดยสุ่มเก็บตัวอย่างในลักษณะการเดินซิกแซกตามแบบของ Barker (1985) จำนวน 10 % ต่อพื้นที่เพาะปลูก เมื่อพบต้นที่เป็นโรค ควรเก็บตัวอย่างโรคในระยะต่างๆ โดยห่อตัวอย่างด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์และใส่ในถุงพลาสติก บรรจุลงในกล่องเก็บความเย็นเพื่อนำกลับไปศึกษาแยกเชื้อสาเหตุและจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุของโรคในห้องปฏิบัติการ บันทึกข้อมูลตามลักษณะอาการของโรคและถ่ายภาพส่วนที่เป็นโรค ประเมินเปอร์เซ็นต์การเป็นโรค (disease incidence)

2. การศึกษาชนิดเชื้อสาเหตุโรคยางไหล

2.1 การศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ศึกษาลักษณะของเชื้อสาเหตุโรค โดยทำการตัดชิ้นส่วนพืชบริเวณที่แสดงอาการโรค (section) และทำสไลด์ เพื่อตรวจดูลักษณะต่าง ๆ ของเชื้อราที่สำคัญเพื่อใช้ในการจำแนกชนิดของเชื้อรา เช่น ลักษณะของเส้นใย และสปอร์ ภายใต้กล้อง Compound microscope และเปรียบเทียบลักษณะของเชื้อราที่พบกับเอกสารที่ใช้ในการจำแนกชนิดเชื้อรา ILLUSTRATED GENERA of IMPERFECT FUNGI และหนังสือดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย

2.2 การแยกเชื้อสาเหตุโรคโดยวิธี Tissue transplanting

แยกเชื้อสาเหตุโรคจากตัวอย่างพืชที่แสดงอาการของโรคยางไหลที่พบ โดยตัดชิ้นตัวอย่างที่บริเวณส่วนที่เป็นโรคและส่วนปกติขนาดประมาณ 2x2 มิลลิเมตร จากนั้นฆ่าเชื้อที่ผิวพืชโดยแช่ชิ้นส่วนพืชลงในสารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที ซับให้แห้งด้วยกระดาษกรองที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วจนแห้งสนิท นำชิ้นส่วนพืชมาวางบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) แล้วบ่มไว้ในห้องปฏิบัติการ อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-3 วัน ตรวจดูเส้นใยเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereomicroscope แยก hyphal tip ของเชื้อราที่เจริญออกมาจากชิ้นตัวอย่างพืช วางลงบนอาหาร PDA เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเชื้อเจริญเต็มจานอาหาร เลี้ยงเชื้อเก็บไว้เพื่อศึกษาลักษณะรายละเอียดของเชื้อประกอบกับเอกสารอ้างอิงเพื่อการจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุโรค

2.3 **การศึกษาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญเส้นใยและการสร้าง perithecium ของรา *D. bryoniae***

1. ศึกษาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อราและการสร้าง perithecium โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD กรรมวิธีคือสูตรอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อรา ได้แก่ Potato Dextrose Agar (PDA), Corn Meal Agar (CMA) Oat Meal Agar (OMA) Malt Extract Agar

(MEA) Potato Sucrose Agar และ V-8 Agar เมื่อเตรียมอาหารตามสูตรต่างๆแล้ว จึงย้ายเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้จากข้อ 2.2 มาเลี้ยงบนอาหารที่เตรียมไว้ จำนวน 10 จานอาหารเลี้ยงเชื้อต่ออาหาร 1 ชนิด บันทึกข้อมูลโดยวัดขนาดโคโลนีเมื่อเชื้อราอายุ 9 วัน บันทึกลักษณะสีของเส้นใย การเจริญของเส้นใย การสร้าง perithecium เพื่อเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรต่างๆ

เวลาสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2553 สิ้นสุด กันยายน 2558

สถานที่ทดลอง

ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

แปลงเกษตรกรปลูกแตงที่สำคัญ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคยางไหลของพืชตระกูลแตง

ในปี 2554 ได้สำรวจและเก็บตัวอย่างแตงกวา แตงร้าน แตงแคนตาลูป และแตงเมล่อนที่แสดงอาการโรคในพื้นที่ปลูกแตง จ. กาญจนบุรี สุพรรณบุรี สระแก้ว และพะเยา เพื่อแยกหาเชื้อสาเหตุในห้องปฏิบัติการ จากการเก็บตัวอย่างโรคในแตงแคนตาลูป และแตงเมล่อนนั้น พบว่าลักษณะอาการของโรคยางไหล เริ่มแรกจะพบแผลฉ่ำน้ำที่บริเวณ ลำต้น กิ่ง ก้าน และใบ โดยเฉพาะบริเวณข้อต่อของลำต้นกับกิ่ง หลังจากนั้นส่วนทีเป็นแผลจะนุ่มลึก และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล หรือน้ำตาลแดง ลักษณะสำคัญของโรคคือ ที่แผลจะมียางเหนียวสีแดง (gummy ooze) ไหลเยิ้มออกมาจากแผล และเกาะแห้งอยู่ที่บริเวณแผล ส่วนอาการที่ใบก็จะพบใบเป็นแผลฉ่ำน้ำก่อน จากนั้นแผลที่ใบจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ลุกลามไปตามเส้นกลางใบทำให้ใบไหม้ และที่บริเวณแผลที่แห้ง จะพบเชื้อราสร้างเม็ดสีดำ ขนาดเล็กกระจายอยู่ทั่วแผล ซึ่งถ้าพบลักษณะอาการของโรคในช่วงระยะที่แตงติดผลหรือระยะที่กำลังเก็บเกี่ยวจะทำให้เกิดความเสียหายกับผลผลิตของเกษตรกรเป็นอย่างมาก

2. การศึกษาชนิดเชื้อสาเหตุโรคยางไหล

จากการแยกเชื้อสาเหตุจากลักษณะอาการดังกล่าวโดยวิธี Tissue transplanting ซึ่งเมื่อศึกษาเส้นใยเชื้อราที่แยกได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA พบว่า สามารถแยกได้เชื้อราที่มีลักษณะเส้นใยเชื้อรามีสีขาว ฟู ละเอียดในช่วง 3 วันแรก จากนั้นเส้นใยเชื้อราจะเปลี่ยนเป็นสีเข้มขึ้นเมื่อเชื้อรามีอายุ

มากขึ้น และการเจริญของโคโลนีเชื้อราจะพบมีการเจริญของเส้นใยไม่เท่ากัน ทำให้ขอบโคโลนีเกิดเป็นขอบหยัก เมื่อศึกษาและจำแนกชนิดของเชื้อจากชิ้นส่วนพืชที่มีการสร้างส่วนขยายพันธุ์สีดำที่เชื้อสร้างขึ้น ก็พบว่าเชื้อรามีการสร้าง perithium ขนาดเล็กสีดำ ฝังที่บริเวณแผล และภายใน perithium มีสปอร์ขนาดเล็กบรรจุอยู่ มีลักษณะรูปร่าง กลมรี เล็ก ใส มี 1-2 septate เมื่อเปรียบลักษณะเชื้อราดังกล่าวที่แยกได้กับเอกสารที่ใช้ในการจำแนกชนิดเชื้อรา ILLUSTRATED GENERA of IMPERFECT FUNGI และหนังสือดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย ก็พบว่า โรคยางไหลจากแตงแคนตาลูป และแตงเมล่อนที่เก็บตัวอย่างได้จาก จ. พะเยา จ. สระแก้ว และ จ. สุพรรณบุรี จำนวน 3 ไอโซเลท นั้น คือเชื้อรา *D. bryoniae* ซึ่งเชื้อสาเหตุโรคยางไหล (Gummy Stem Blight) ในประเทศไทยมีรายงานว่าเกิดจากเชื้อรา *Didymella bryoniae* (Auersw.) Rehm. ซึ่งเป็นราชั้นสูง มีการระยะการสืบพันธุ์ 2 แบบ คือ ในระยะที่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (sexual stage,teleomormp) เชื้อราจะมีการสร้าง perithecia ที่มี ascospores อยู่ภายในถุง ascus แต่ถ้าเป็นในระยะที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (asexual stage, anamorph) มีรายงานเกิดจากเชื้อสาเหตุ *Ascochyta cucumis* (พริพมล, 2552) ซึ่งในรายงานต่างประเทศ พบว่าในระยะนี้เป็นเชื้อรา *Phoma cucurbitacearum* ซึ่งถ้าเป็นเชื้อราในระยะนี้จะสังเกตพบว่า เชื้อราจะมีการสร้าง pycnidia สีดำเล็กๆกระจายอยู่ทั่วบริเวณแผล และ pycnidia นี้สามารถสร้าง conidia ที่ไม่มี septate หรือมี septate เพียงอันเดียว (Keinath และคณะ,1995)

จากการศึกษาชนิดของเชื้อสาเหตุจะพบปัญหาในการเก็บแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ ซึ่งต้องมีการแยกเลี้ยงเชื้อหลาย ๆครั้ง ซึ่งพบว่าเชื้อราสาเหตุโรคมีการเจริญที่ช้าเมื่อเทียบกับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนพืชครั้งแรก ทำให้ในการศึกษาลักษณะต่างๆ และการปลูกเชื้อสาเหตุโรคต้องใช้เวลานานในการเลี้ยงเชื้อ ดังนั้นการศึกษาต่อไปจะได้มีการนำเชื้อราสาเหตุที่ได้ไปเลี้ยงบนสูตรอาหารต่างๆ เพื่อศึกษาหาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อต่อไป

3. **การศึกษาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญเส้นใยและการสร้าง perithecium ของรา *D. bryoniae***

จากการทดสอบเลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคจำนวน 3 ไอโซเลท ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรต่างๆ จำนวน 7 สูตร ได้แก่ PDA PSA PCA MEA CMA OMA และ V8 agar สูตรๆละ 10 จานอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง และทำการบันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตของเชื้อและลักษณะของเส้นใยทุกวัน เป็นเวลา 9 วัน ผลการทดลองพบว่า เชื้อราสาเหตุโรคสามารถเจริญได้ดีทั้ง 3 ไอโซเลท ใน

สูตรอาหาร PDA OMA และ V8 agar ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบการเจริญแต่ละไอโซเลทแล้ว พบว่า ไอโซเลทสุพรรณบุรี มีการเจริญของเส้นใยได้ดีกว่าไอโซเลทสระแก้ว และ พะเยา (ตารางที่ 1)

สำหรับผลการทดลองการศึกษาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการสร้าง perithecium ของเชื้อรา *D. bryoniae* นั้น เนื่องจากห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืชประสบภัยน้ำท่วมในปี 2554 ทำให้ไม่สามารถเก็บผลการทดลองได้ จึงต้องทำการทดลองซ้ำในปี 2555 ต่อไป

ตารางที่ 1 การเจริญของเส้นใยเชื้อรา *D. bryoniae* สาเหตุโรคยางไหลบนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรต่างๆ ที่อุณหภูมิห้อง หลังการทดลอง 9 วัน

อาหาร	**ค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อรา** *D. bryoniae* แต่ละไอโซเลท (ซ.ม.)		
	สระแก้ว	**พะเยา**	**สุพรรณบุรี**
PDA	6.75 [1/]	6.65	8.52
V8	6.06	5.90	6.72
MEA	5.74	5.90	5.74
OMA	5.15	5.65	5.78
PCA	6.11	6.15	6.78
CMA	5.10	5.50	6.59

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่ได้จากอาหารแต่ละสูตรๆละ 10 ซ้ำ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

สำรวจและเก็บตัวอย่างแตงกวา แตงร้าน แตงแคนตาลูป และแตงเมล่อนที่แสดงอาการโรคยางไหล ที่ จ.สุพรรณบุรี แพร่ สระแก้ว และพะเยา เพื่อแยกหาเชื้อสาเหตุในห้องปฏิบัติการ สามารถแยกได้รา *D. bryoniae* จำนวน 3 ไอโซเลท ทดสอบการเจริญของเชื้อสาแหตุโรคจำนวน 3 ไอโซเลทบนอาหารสูตรต่างๆ จำนวน 7 สูตร ได้แก่ PDA PSA PCA MEA CMA OMA และ V8 agar ผลการทดลองพบว่า เชื้อราสาเหตุโรค *D. bryoniae* ทั้ง 3 ไอโซเลท สามารถเจริญได้ดีบนสูตรอาหาร PDA OMA และ V8 agar ส่วนอาหารสูตรอื่น ๆ สามารถเจริญได้ดีปานกลาง ซึ่งข้อมูลนี้อยู่ระหว่างการทดสอบซ้ำในปี 2555

เอกสารอ้างอิง

ทัศนาพร ทัศคร และ พีระวรรณ พัฒนวิภาส. 2552. โรคยางไหลในแคนตาลูป. จดหมายข่าวผลิใบ ปีที่ 12 ฉบับที่ 3 ประจำเดือน เมษายน 2552. หน้า 2 - 3.

พรพิมล อธิปัญญาคม และ ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช. 2552. อนุกรมวิธานราสาเหตุโรคพืช Class Ascomycetes. เอกสารวิชาการ *ใน* รายงานการประชุมสัมมนาวิชาการอารักขาพืช ณ โรงแรมเมธาวลัย อ. ชะอำ จ. เพชรบุรี วันที่ 1-3 มิถุนายน 2552. หน้า 73 – 77.

Keinath, A. P.,Farnham, M. W.., and Zitter, T. A. 1995. Morphological, pathological, and genetic differentiation of *Didymella bryoniae* and *Phoma* spp. Isolated from cucurbits. Phytopathology 85: 364-369.

การจำแนกชนิดและเอกลักษณ์ทางพันธุกรรม ของ Race แบคทีเรีย *Rasonia solanacearum* ที่พบในประเทศไทย

Identification and DNA Fingerprint of Race of *Rasonia solanacearum* in Thailand

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล ทิพวรรณ กันหาญาติ บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ รุ่งนภา ทองเครั่ง

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การจำแนกชนิด Race แบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ที่พบในประเทศไทย โดยทำการฟื้นฟูการมีชีวิตของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของพืชตระกูลมะเขือ ที่เก็บรักษาไว้ใน culture collection จำนวน 100ไอโซเลท คัดเลือกโคโลนีที่รุนแรงเพื่อใช้ในการทดสอบ ทำการปลูกพืชอาศัยของ แบคทีเรีย *R. solanacearum* ได้แก่ พริก มะเขือเทศ มะเขือเปราะ อายุ 1 เดือน จากนั้นนำ *เชื้อ R. Solanacearum* ความเข้มข้น 108 cfu/ml ที่คัดเลือกไว้มาปลูกเชื้อลงบนพืชอาศัย ผลการทดสอบพบว่า พืชอาศัยทั้งหมดแสดงอาการของโรคเหี่ยวภายใน 14-28 วัน แสดง ว่า แบคทีเรีย *R. solanacearum* ของพืชตระกูลมะเขือทั้ง 100 ไอโซเลทจัดอยู่ใน Race 1

รหัสโครงการ 03-04-54-04-01-02-07-54

คำนำ

เชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* (syn. *Pseudomonas solanacearum*) จัดเป็นเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชที่มีความสำคัญมากชนิดหนึ่ง ทำให้เกิดโรคเหี่ยว (bacterial wilt) ก่อความเสียหายกับพืชปลูกหลายชนิด ทั้งที่เป็นพืชเศรษฐกิจจนถึงวัชพืชมากกว่า 200 ชนิดในวงศ์ Solanaceae (Kelman, 1953) ความรุนแรงของโรคขึ้นอยู่กับชนิดของพืชที่เชื้อเข้าทำลาย สภาพแวดล้อมและสายพันธุ์ของเชื้อแบคทีเรีย ในประเทศไทยมีการปลูกพืชหลายชนิดที่เป็นพืชอาศัยของเชื้อโรคชนิดนี้ โดยเฉพาะพืชเศรษฐกิจของประเทศได้แก่ มะเขือเทศ พริก มันฝรั่ง ขิง และปทุมมา เป็นต้น เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้สามารถอาศัยอยู่ในดินได้เป็นเวลานาน สามารถเข้าทำลายพืชทางรากโดยเข้าตามรอยแผลที่เกิดจากการทำลายของแมลง ไส้เดือนฝอย รอยฉีกขาดของรากหรือแผลที่เกิดในธรรมชาติ สามารถแพร่ระบาดไปกับน้ำได้ดีโดยเฉพาะในช่วงฤดูฝนที่มีฝนตกชุกจะมีการระบาดของโรครุนแรงและรวดเร็ว เชื้อนี้สามารถติดไปกับหัวพันธุ์โดยสามารถแอบแฝงอยู่ในหัวพันธุ์ (Latent infection) เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมและปริมาณของเชื้อโรคมากพอก็จะแสดงอาการของโรคออกมา โดยจะแสดงอาการเมื่อนำหัวพันธุ์ไปปลูกในสภาพแปลง ทำให้เกิดการระบาดของโรคในแปลงปลูก นอกจากนี้เชื้อนี้ยังสามารถอาศัยอยู่ในพืชอาศัยอื่นได้เนื่องจากมีพืชอาศัยที่กว้าง ทำให้เชื้อโรคสามารถอยู่ข้ามฤดูได้

เชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* พบกระจายในเขตร้อนและใกล้เขตร้อนอบอุ่นเย็นของพื้นที่ทั่วโลก มีความหลากหลายทางสายพันธุ์มาก โดยมีความแตกต่างในพืชอาศัย(host range) การกระจายตัวตามภูมิศาสตร์(geographical distribution) ความสามารถในการเกิดโรค (pathogenicity) ความสัมพันธ์ของการระบาดของเชื้อโรค (epidemiological relationships) และ คุณสมบัติทางสรีรวิทยาของเชื้อ (physiological properties) ทำให้มีการศึกษาเพื่อการจัดจำแนกหรือบรรยาย (describe) ลักษณะของเชื้อแบคทีเรียตามการกระจายตามตามภูมิประเทศและการเกิดโรคบนพืชอาศัยไว้ดังนี้

Race 1: มีผลกระทบกับยาสูบ, มะเขือเทศ, มันฝรั่ง, มะเขือยาว, กล้วย diploid และพืชในกลุ่มมะเขืออื่นๆและ วัชพืช มีการเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิสูง โดยมีอุณหภูมิสูงสุด (35-37 ° C).

Race 2: มีผลกระทบกับกล้วย triploid (ก่อให้เกิดโรค Moko) และ เฮลิโคเนีย มีการเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิสูง โดยมีอุณหภูมิสูงสุด (35-37 ° C).

Race 3: มีผลกระทบส่วนใหญ่กับมันฝรั่งและมะเขือเทศ ไม่มีผลกระทบกับพืชกลุ่มมะเขืออื่นๆ มีการเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิต่ำ อุณหภูมิลดสูงสุด (27 ° C).

Race 4: มีผลกระทบกับพืชตระกูลขิง (Zingiber officinale) มีการเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิสูง โดยมีอุณหภูมิสูงสุด (35-37 ° C).

Race 5: มีผลกระทบกับพืชตระกูลหม่อน (Morus spp.) ที่พบที่ประเทศจีน มีการเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิสูง โดยมีอุณหภูมิสูงสุด (35-37 ° C).

บางสายพันธุ์สามารถเกิดโรคกับพืชอาศัยได้กว้างแต่บางสายพันธุ์เกิดโรคกับพืชในวงศ์จำกัด เช่น สายพันธุ์ที่พบในแถบเขตหนาวเช่นในแถบประเทศยุโรป เรียกว่าเป็นสายพันธุ์ที่เรียกว่า low temperature จัดอยู่ใน race 3 ซึ่งทำให้เกิดโรคกับมันฝรั่ง และมะเขือเทศในเขตพื้นที่สูงที่มีอากาศหนาวเย็นเท่านั้น นอกจากนี้ยังมีสายพันธุ์ที่เข้าทำลายพืชตระกูลกล้วยเท่านั้น จัดอยู่ใน race 2 (ก่อให้เกิดโรค Moko disease) ในประเทศไทยได้มีการจัดจำแนกชนิดของเชื้อ *R. solanacearum* ไว้บ้างแต่ยังไม่มีการศึกษาและรายงานชนิดของrace ที่พบในประเทศไทย ทำให้ขาดข้อมูลการเกิดโรคความรุนแรง ตลอดจนพืชอาศัยที่พบในประเทศไทย ซึ่งถ้าทราบถึงชนิดของrace ของเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* จะทำให้หาวิธีการป้องกันกำจัดได้อย่างถูกต้องต่อไป และเป็นการรายงานชนิดของ race ของเชื้อ *R. solanacearum* ในประเทศไทย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อชนิดปลอดเชื้อ อุปกรณ์การแยกเชื้อแบคทีเรีย
2. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ตู้เย็นสำหรับเก็บตัวอย่าง หม้อนึ่งความดันไอ เครื่องเขย่าชนิดควบคุมอุณหภูมิ เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ตู้อบ (oven)
3. เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่นๆที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องชั่ง, pH meter เป็นต้น
4. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ
5. วัสดุการเกษตร ได้แก่ ดิน กระถางต้นไม้ ปุ๋ย
6. โรงเรือนปลูกพืชทดลอง

วิธีการ

ขั้นตอนที่ 1 การจำแนกชนิด Race แบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ที่พบในประเทศไทย

1. ปลูกพืชอาศัยของเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ได้แก่ พืชตระกูลมะเขือ (มะเขือเทศ พริก มันฝรั่ง มะเขือยาว มะเขือพวง มะเขือเปราะ ยาสูบ) ตระกูลขิง(ขิง ขิงแดง ปทุมมา กระเจียว กระทือ) หน้าวัว ฤาษีผสม กล้วยชนิดต่างๆ เป็นต้น

2. การเตรียมเชื้อ *Ralstonia solanacearum* นำเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* ที่เก็บรักษาไว้ในแหล่งเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมโรคพืช จำนวน 300 ไอโซเลท มาเลี้ยงในอาหาร TTC ที่อุณหภูมิ 30 $^{\circ}$C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง คัดเลือกโคโลนีเดี่ยวมาเลี้ยงในอาหารเหลว 523 บนเครื่องเขย่าที่มีความเร็วรอบ 250 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 30 C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำ 100 µl ของสารละลายเชื้อมาเกลี่ยลงบนอาหารแข็ง 523 บ่มที่อุณหภูมิ 30 C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการละลายเชื้อด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ปรับความเข้มข้นของเชื้อโดยการวัดค่าความขุ่นโดยใช้เครื่องspectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 600 นาโนเมตร ให้ได้ค่า OD เท่ากับ 0.3 มีความเข้มข้นของเชื้อประมาณ 10^8 cfu/ml

3. การปลูกเชื้อ *R. solanacearum* บนพืชอาศัย โดยก่อนปลูกเชื้องดการให้น้ำพืชทดสอบเป็นเวลา 1 วัน ทำการปลูกพืชทดสอบโดยใช้มีดหรือคัตเตอร์ที่สะอาดตัดส่วนรากห่างจากต้น 1-2 เซนติเมตร ราดด้วยสารละลายเชื้อที่เตรียมข้างต้นทันที โดยใช้อัตราส่วนสารละลายต่อดินในกระถาง 1: 10(V/V) (~ 25 มิลลิลิตร/ต้น)

4. บันทึกผล ตรวจผลการทดลองทุกๆ 7 วัน หลังการปลูกเชื้อ โดยให้ค่าคะแนนความรุนแรงของโรคตั้งแต่ 1-5 ตามอาการของพืช ดังนี้

1 = พืชปกติ (healthy plant)

2 = ใบเหี่ยว 1 ใบต่อต้น (one leaflet or leaf wilting)

3 = 1/3 ของต้นแสดงอาการเหี่ยว (1/3 of plant wilting)

4 = 2/3 ของต้นแสดงอาการเหี่ยว (2/3 of plant wilting)

5 = แสดงอาการเหี่ยวทั้งต้นหรือต้นตาย (whole plant wilting or dead)

ยืนยันการเกิดโรคเหี่ยวโดยการตรวจด้วย ELISA และ แยกเชื้อบนอาหาร TTC

5. ทดสอบชนิด Biovar นำเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* ที่ทดสอบพืชอาศัยเรียบร้อยแล้วมาทดสอบการใช้น้ำตาล 6 ชนิด เพื่อจัดจำแนก biovar ของแต่ละไอโซเลทเพื่อหาความสัมพันธ์ของ biovar กับการเกิดโรคบนพืชอาศัยของสายพันธุ์ประเทศไทยเปรียบเทียบกับรายงานในต่างประเทศ

ขั้นตอนที่ 2 การศึกษาเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมของ Race แบคทีเรีย *Ralstoonia solanacearum* ที่พบในประเทศไทย

1. การเตรียมแบคทีเรีย *R. solanacearum* เพื่อสกัดดีเอ็นเอ

นำเชื้อแบคทีเรีย *R.solanacearum* มาเลี้ยงบนอาหารแข็ง Wakimoto's medium ให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ ย้ายเชื้อโคโลนีเดี่ยวมาเลี้ยงในอาหารแข็ง LB (Luria &Bertani medium) (Sambrook et al., 1989) อายุ 48 ชั่วโมง เตรียมไว้สำหรับสกัดดีเอ็นเอ

2. การแยกสกัดดีเอ็นเอของแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ให้บริสุทธิ์

ใช้การแยกสกัดจีโนมิค ดีเอ็นเอ โดยตามวิธีของ Pitcher et al. (1989) ใช้เชื้อบริสุทธิ์แบคทีเรีย *R.solanacearum* ที่เลี้ยงบนอาหารแข็ง LB อายุ 48 ชั่วโมง ใช้ลูปฆ่าเชื้อ แตะเชื้อแบคทีเรียให้เต็มหนึ่งลูปละลาย ใน 1 ml ของ Resuspension buffer (0.15 M NaCl และ 0.01M EDTA, pH 8.0) นำไปปั่นตกตะกอนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง ที่ความเร็ว 12,000 g เป็นเวลา 5 นาที ทิ้งส่วนน้ำใสข้างบน เติมด้วย 100 µl ของ TE buffer pH 8.0 (10 mM Tris และ 1mM EDTA, pH 8.0) ผสมให้เข้ากันโดยใช้ เครื่องปั่น Vortex เติมด้วย 500 µl ของ Guanidine thiocyanate – EDTA – Sarkosyl solution ผสมให้เข้ากัน เติมด้วย 250 µl ของ 7.5 M ammonium acetate ที่แช่เก็บไว้ในตู้เย็น -20 oC ผสมให้เข้ากัน วางบนน้ำแข็ง 5 นาที เติมด้วย 500 µl ของสารผสม chloroform : isoamyl alcohol อัตรา 24/1 ผสมให้เข้ากัน นำไปปั่นตกตะกอนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง ที่ 12,000 g เป็นเวลา 10 นาที เก็บส่วนน้ำใสข้างบน ใส่หลอดใหม่ที่บรรจุสาร isopropanol ที่แช่เก็บไว้ในตู้เย็น -20 oC จำนวน 378 µl ผสมให้เข้ากันโดยการพลิกหลอดกลับไปมา จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงเพื่อเก็บตะกอนดีเอ็นเอ ที่ 12,000 g เป็นเวลา 10 นาที ล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วย 150 µl ของ 70 % ethanol จำนวน 2 ครั้ง ทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง ละลายตะกอนดีเอ็นเอ ด้วย TE buffer, pH. 8.0 ปริมาณ 100 µl วัดปริมาณความเข้มข้น และคุณภาพของดีเอ็นเอ ที่ช่วงคลื่น A260 และ A280 ด้วยเครื่อง UV/Vis spectrophotometer และปรับความเข้มข้นดีเอ็นเอให้มีความเข้มข้น 50 ng/µl เพื่อนำไปศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

3. การศึกษาเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมของแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ด้วยเทคนิค rep-PCR

การศึกษาเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ด้วยเทคนิค rep PCR ใช้ไพรเมอร์ 2 ชนิด ในการทดลองได้แก่ enterobacteria repetitive intergenic concensus (ERIC) และ interspersed repetitive BOX sequence (BOX) (Louws *et al.*, 1994) เพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอโดยใช้ปริมาตรรวมในการทำปฏิกิริยา PCR 25 µl ในหลอดขนาด 0.2 ml โดยปฏิกิริยาประกอบด้วยดีเอ็นเอของเชื้อ *X. axonopodis* pv..*citri* 50 ng ผสมกับ 10X PCR buffer [67 mM Tris-HCl, pH8.8, 83 mM $(NH_4)_2SO_4$, 2.0 mM $MgCl_2$, 30 mM 2-mercaptoethanol,

10% dimethylsulfoxide และ bovine serum albumin] dNTPs ชนิดละ 125 µM, เอนไซม์ Taq DNA polymerase 1.0 ยูนิต (Invitrogen Corporation Grand Island, NY, USA) และไพรเมอร์ ERIC ชนิดละ 50 pM และ ไพรเมอร์ BOX จำนวน 100 pM แล้วเติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อให้ได้ปริมาตรรวม 25 µl ผสมสารให้เข้ากัน ทำปฏิกิริยา PCR ในเครื่องควบคุมอุณหภูมิ (Thermal cycler) โดยกำหนดอุณหภูมิและเวลาให้มีการสังเคราะห์ดีเอ็นเอตามวิธีของ Louws *et al.* (1994)

ปฏิกิริยา	อุณหภูมิ (°C)	เวลา (นาที)
1. แยกสายดีเอ็นเอต้นแบบเริ่มต้น (initial denaturing)	95	7
2. แยกสายดีเอ็นเอแม่แบบ (denaturing)	94	1
3. ไพรเมอร์เริ่มต้นจับคู่กับดีเอ็นเอแม่แบบ (primer annealing)	53 (BOX)	1
	53 (ERIC)	1
4. สังเคราะห์ดีเอ็นเอ (extension)	65	8
5. สังเคราะห์ดีเอ็นเอรอบสุดท้าย (final extension)	65	15

ทำปฏิกิริยาขั้นตอนที่ 2-4 เป็นวงจรลูกโซ่ทั้งหมด 30 รอบ หยุดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 4 °C นำดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยา PCR ปริมาณ 10 µl มาผสมกับ loading dye (0.025% bromophenol blue, 40% Ficoll 400, 0.5% SDS) ปริมาณ 2 µl จากนั้นทำการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอด้วยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส (agarose gel electrophoresis) โดยใช้ 1.5 % อะกาโรสใน 0.5 xTAE (40mM Tris, 4mM sodium acetate, 1mM EDTA, pH 7.9) ใช้กระแสไฟฟ้าที่ค่าความต่างศักย์ 100 โวลต์ นาน 2 ชั่วโมง ย้อมดีเอ็นเอด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ ตรวจดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอุลตราไวโอเลต

เวลาและสถานที่

ต.ค.53 – ก.ย.58 ที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การจำแนกชนิด Race แบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ที่พบในประเทศไทย โดยทำการฟื้นฟูการมีชีวิตของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของพืชตระกูลมะเขือ ที่เก็บรักษาไว้ใน culture collection จำนวน 100ไอโซเลท คัดเลือกโคโลนีที่รุนแรงเพื่อใช้ในการทดสอบ ทำการปลูกพืชอาศัยของ แบคทีเรีย *R. solanacearum* ได้แก่ พริก มะเขือเทศ มะเขือเปราะ อายุ 1 เดือน จากนั้นนำ *เชื้อ R. Solanacearum* ความเข้มข้น 108 cfu/ml ที่คัดเลือกไว้มาปลูกเชื้อลงบนพืชอาศัย ผลการทดสอบพบว่า พืชอาศัยทั้งหมดแสดงอาการของโรคเหี่ยวภายใน 14-28 วัน แสดง ว่าแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของพืชตระกูลมะเขือทั้ง 100 ไอโซเลทจัดอยู่ใน Race 1

เอกสารอ้างอิง

Buddenhagen, I.W. (1986) Bacterial wilt revisited. In: *Bacterial wilt disease in Asia and the South Pacific. Proceedings of an International Workshop held at PCARRD, Los Banos, Philippines, 8-10 October 1985* (Ed. by Persley, G.J.), pp. 126-143. *ACIAR Proceedings* **13**.

Buddenhagen, I.W.; Kelman, A. (1964) Biological and physiological aspects of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Annual Review of Phytopathology* **2**, 203-230.

Buddenhagen, I.W.; Sequeira, L.; Kelman, A. (1962) Designation of races of *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology* **52**, 726.

Cook, D.R.; Sequeira, L. (1988) The use of restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis in taxonomy and diagnosis. *ACIAR Bacterial Wilt Newsletter* No. 4, p. 4.

Cook, D.; Sequeira, L. (1994) Strain differentiation of *Pseudomonas solanacearum* by molecular genetic methods. In: *Bacterial wilt: the disease and its causative agent, Pseudomonas solanacearum* (Ed. by Hayward, A.C.; Hartman, G.L.), pp. 77-93. CAB International, Wallingford, UK.

Echandi, E. (1991) Bacterial wilt. In: *Compendium of tobacco diseases* (Ed. by Shew, H.D.; Lucas, G.B.), pp. 33-35. EPPO/CABI (1992) *Quarantine pests for Europe* (Ed. by Smith, I.M.; McNamara, D.G.; Scott, P.R.; Harris, K.M.). CAB International, Wallingford, UK.

French, E.R.; Sequeira, L. (1968) Bacterial wilt or moko of plantain in Peru. *Fitopatologia* **3**, 27-38.

Hartman, G.L.), pp. 95-112. CAB International, Wallingford, UK.

Hayward, A.C. (1994a) The hosts of *Pseudomonas solanacearum*. In: *Bacterial wilt: the disease and its causative agent, Pseudomonas solanacearum* (Ed. by Hayward, A.C.; Hartman, G.L.), pp. 9-24. CAB International, Wallingford, UK.

Hayward, A.C. (1994b) Systematics and phylogeny of *Pseudomonas solanacearum* and related bacteria. In: *Bacterial wilt: the disease and its causative agent, Pseudomonas solanacearum* (Ed. by Hayward, A.C.; Hartman, G.L.), pp. 123-135. CAB International, Wallingford, UK.

อนุกรมวิธานและความสามารถในการทำให้เกิดโรคของไส้เดือนฝอย migratory endoparasitic nematodes

Taxonomy and pathogenicity of migratory endoparasitic nematodes

ไตรเดช ข่ายทอง ธิติยา สารพัฒน์ มนตรี เอี่ยมวิมังสา

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

เก็บตัวอย่างดินบริเวณรากพืชในพื้นที่ปลูกพืชภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคใต้ จำนวน 113 ตัวอย่างตรวจพบไส้เดือนฝอยสกุล *Pratylenchus* จำนวน 34 ตัวอย่าง เพิ่มจำนวนประชากรไส้เดือนฝอยโดย นำตัวอย่างดินที่ตรวจพบไส้เดือนฝอยใส่ลงในกระถางพลาสติก ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 นิ้ว และปลูกข้าวโพดเป็นระยะเวลา 45 วัน แยกไส้เดือนฝอยที่ได้ออกจากรากข้าวโพด และเลี้ยงไส้เดือนฝอยจากตัวเต็มวัยเพศเมียที่มีไข่ 1 ตัวบนชิ้นแคร็อทได้สำเร็จจำนวน 6 ตัวอย่าง การเลี้ยงไส้เดือนฝอยบนชิ้นแคร็อทประสบปัญหาในการเตรียมชิ้นแคร็อทที่ปลอดเชื้อ และเปอร์เซ็นต์ที่เลี้ยงไส้เดือนฝอยจากตัวเต็มวัย 1 ตัวได้สำเร็จอยู่ในระดับต่ำ ได้แก้ไขโดยเปลี่ยนวิธีการเลี้ยง โดยการเลี้ยงบนรากข้าวโพดบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในสภาพปลอดเชื้อ ซึ่งพบว่าได้ผลดีกว่าการเลี้ยงบนชิ้นแคร็อท และสามารถ sub-culture ได้ง่าย ซึ่งในปี 2555 จะใช้การเลี้ยงไส้เดือนฝอยบนรากข้าวโพดในสภาพปลอดเชื้อ และเมื่อได้ไส้เดือนฝอยแล้วจะทำสไลด์ถาวรและจำแนกชนิดต่อไป

คำนำ

Migratory endoparasitic nematodes เป็นไส้เดือนฝอยชนิดที่เข้าสู่รากพืช ดูดกินอาหารและเคลื่อนที่ภายในรากพืช ไส้เดือนฝอยกลุ่มนี้ไม่ชักนำให้เซลรากพืชเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นแหล่งอาหาร (Feeding Site) เหมือนกับไส้เดือนฝอยรากปม (Root-knot Nematodes) หรือไส้เดือนฝอยซีสต์ (Cyst Nematodes) แต่จะเข้าทำลายเนื้อเยื่อของรากในส่วน Cortex Parenchyma เป็นหลัก โดยดูดกินอาหารจากเซลและเคลื่อนที่ภายในรากพืช การเคลื่อนที่และดูดกินอาหารดังกล่าวทำให้รากเป็นโพรง เกิดแผลสีน้ำตาล ในบางกรณีรากอาจถูกเชื้อโรคอื่นๆ เข้าทำลายซ้ำเติม ต้นพืชที่ระบบรากถูกไส้เดือนฝอยเข้าทำลายจะมีอาการแคระแกรน ต้นโทรม ใบเหลือง ผลผลิตลดลง *Pratylenchus* และ *Radopholus* เป็นไส้เดือนฝอยสกุลที่สำคัญของไส้เดือนฝอยกลุ่มนี้ ซึ่งโดยทั่วไปเป็นไส้เดือนฝอยที่มีพืชอาศัยกว้าง อย่างไรก็ตามไส้เดือนฝอยชนิดต่างๆ จะมีความสำคัญ และทำความเสียหายต่อพืช

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-02-09-54

แต่ละชนิดแตกต่างกันออกไป เช่น *P. coffeae* และ *P. goodeyi* เป็นศัตรูที่สำคัญของกล้วย (Gowen *et al*., 2005) *P. coffeae*, *P. brachyurus*, *P. goodeyi*, *P. pratensis*, *P. loosi, P. panamaensis, P. zeae and P. vulnus* เป็นศัตรูของกาแฟ (Campos and Villain, 2005) *P. penetrans* ทำลายพืชได้มากเกือบ 400 ชนิด (Evans *et al*., 1993) ไส้เดือนฝอยรากโพรง *Radopholus similis* สามารถทำลายพืชได้มากกว่า 250 ชนิด (O'Bannon, 1977) จำนวนไส้เดือนฝอย *R. similis* เริ่มต้นเพียง 10 ตัว สามารถสร้างความเสียหายแก่ต้นหน้าวัวได้ (Sipes and Lichty, 2002) การทดลองนี้เป็นการรวบรวมไส้เดือนฝอยสกุล *Pratylenchus* เป็นหลัก ปัจจุบันไส้เดือนฝอยรากแผลได้ถูกจำแนกแล้วมากกว่า 60 ชนิด มีรายงานการพบไส้เดือนฝอยรากแผล *P. brachyurus, P. coffeae, P. zeae, P. vulnus, P. minyus, P. delattrei*, *P. nongkiensis*, *P. sudanensis*, *P. thornei* และ *Pratylenchus* spp. ในแหล่งปลูกพืชของประเทศไทย (Chunram, 1972; Pliansinchai and Boonduang, 1978; Pliansinchai and Boonduang, 1986) ข้อมูลของไส้เดือนฝอยรากแผลในประเทศไทยค่อนข้างเก่า ซึ่งปัจจุบันการจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยรากแผลได้เปลี่ยนไป ทำให้ชนิดของไส้เดือนฝอยรากแผลในปัจจุบันแตกต่างจากข้อมูลในอดีต การศึกษาการจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยกลุ่มนี้จึงเป็นสิ่งจำเป็น เพื่อปรับปรุงฐานข้อมูลให้มีความทันสมัย นอกจากนี้ข้อมูลด้านผลกระทบต่อพืชของไส้เดือนฝอยกลุ่มนี้ยังมีไม่มากนัก การศึกษาถึงความสามารถในการทำให้เกิดโรคต่อพืชของไส้เดือนฝอยสกุล *Pratylenchus* ทำให้ทราบถึงข้อมูลในการเข้าทำลายพืช ความเสียหายที่ไส้เดือนฝอยกระทำต่อพืช ซึ่งจะเป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อใช้ในการจัดการไส้เดือนฝอยในสกุลนี้ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์และวิธีการ

การดำเนินงานในปีงบประมาณ 2554 เป็นการเก็บตัวอย่างดิน จากแหล่งปลูกพืชชนิดต่างๆ ในประเทศไทย เพื่อตรวจหาไส้เดือนฝอย ทำการคงสภาพไส้เดือนฝอย และทำสไลด์ถาวร จำแนกชนิดของไส้เดือนฝอย รวมทั้งเพิ่มจำนวนไส้เดือนฝอยในพืชอาศัย เพื่อให้ได้จำนวนประชากรของไส้เดือนฝอยมากพอในการศึกษาด้านชีววิทยาต่อไป

การเก็บตัวอย่างดิน

เก็บตัวอย่างดินและรากพืชจากแปลงปลูกพืชในจังหวัดต่างๆ ทั้งพืชล้มลุกและพืชยืนต้นโดยใช้ท่อเก็บตัวอย่างดินขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 นิ้ว เก็บดินลึกประมาณ 20 เซนติเมตร โดยสุ่มเก็บจำนวน 20 จุดต่อ 1 ตัวอย่าง บันทึกวันที่เก็บตัวอย่าง ชนิดพืช บันทึกพิกัดทางภูมิศาสตร์

การแยกไส้เดือนฝอยจากตัวอย่างดินและการเลี้ยงเพิ่มจำนวนไส้เดือนฝอย

แยกไส้เดือนฝอยออกจากตัวอย่างดินโดยวิธีการล้างตัวอย่างดิน และกรองน้ำส่วนบนผ่านตะแกรงโลหะที่มีขนาดช่อง 850 ไมโครเมตร วางบนตะแกรงที่มีขนาดช่อง 38 ไมโครเมตร ล้างตัวอย่างดินที่ค้างอยู่บนตะแกรงอันล่าง และนำตัวอย่างใส่ลงบนกระดาษกรอง ที่วางอยู่บนตะแกรง

ไนลอน วางลงในจานรองที่มีน้ำสะอาด (Decanting and Sieving with Baermann's Tray Technique) ตรวจไส้เดือนฝอยภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ นำตัวอย่างดินที่ตรวจพบไส้เดือนฝอย *Pratylenchus* ใส่ลงในกระถางพลาสติก ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 นิ้ว และปลูกข้าวโพดเพื่อเพิ่มจำนวนประชากรไส้เดือนฝอย เป็นระยะเวลา 45 วัน เตรียมชิ้นแคร็อท (Carrot disc) ที่ปลอดเชื้อเพื่อใช้ในการเลี้ยงไส้เดือนฝอย โดยการฆ่าเชื้อที่ผิวแคร็อท ด้วยการพ่นด้วยแอลกอฮอล์ 70% นำแคร็อทไปเผาไฟจนผิวด้านนอกไหม้เกรียม ใช้มีดที่สะอาดปอกเปลือกแคร็อทและหั่นตามขวางหนาประมาณ 0.7 เซนติเมตร วางลงในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 เซนติเมตร แยกไส้เดือนฝอยออกจากรากข้าวโพดโดยวิธี Baermann's Tray Technique นำไส้เดือนฝอยที่ได้ไปฆ่าเชื้อที่ผิว โดยการเขี่ยตัวเต็มวัยเพศเมียของไส้เดือนฝอยที่มีไข่ใส่ลงใน streptomycin sulfate ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทิ้งไว้ 3-6 ชั่วโมง จากนั้นใช้เข็มเขี่ยที่สะอาด เขี่ยตัวเต็มวัยเพศเมียของไส้เดือนฝอยที่มีไข่ วางลงบนชิ้นแคร็อทที่เตรียมไว้ ชิ้นละ 1 ตัว นำไส้เดือนฝอยที่ได้จากชิ้นแคร็อทไปทำสไลด์ถาวร

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2554 สิ้นสุด กันยายน 2558

กลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในปี 2554 ทำการเก็บตัวอย่างดินจำนวนทั้งสิ้น 113 ตัวอย่าง ตรวจพบไส้เดือนฝอยสกุล *Pratylenchus* 34 ตัวอย่าง เลี้ยงไส้เดือนฝอยจากตัวเต็มวัยเพศเมียที่มีไข่ 1 ตัวบนชิ้นแคร็อทได้สำเร็จ 6 ตัวอย่าง ซึ่งการเลี้ยงไส้เดือนฝอยบนชิ้นแคร็อทประสบปัญหาในการเตรียมชิ้นแคร็อทที่ปลอดเชื้อ เนื่องจากแคร็อทที่ซื้อมาจากตลาดส่วนใหญ่มักมีแบคทีเรียอยู่ภายใน ทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อขึ้นในภายหลัง นอกจากนี้การเลี้ยงไส้เดือนฝอยจากตัวเต็มวัยเพียง 1 ตัว ใช้เวลานาน สภาพของชิ้นแคร็อทที่อยู่ในจานเลี้ยงเชื้ออาจเปลี่ยนไป ซึ่งอาจไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอย ทำให้ไส้เดือนฝอยตายในที่สุด การเลี้ยงไส้เดือนฝอยบนชิ้นแคร็อทตรวจสอบการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอยได้ยาก ต้องรอจนกระทั่งไส้เดือนเดือนฝอยมีจำนวนมากพอที่จะสังเกตเห็นได้ ได้แก้ปัญหาโดยการเลี้ยงไส้เดือนฝอยบนรากข้าวโพด บนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในสภาพปลอดเชื้อ ซึ่งประสบผลสำเร็จมากกว่า และสามารถตรวจดูการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอยและ sub-culture ได้ง่าย ดังนั้นในปี 2555 จะใช้การเลี้ยงไส้เดือนฝอย *Pratylenchus* บนรากข้าวโพดแทน ซึ่งทำได้ง่ายกว่า และคาดว่าจะมีเปอร์เซ็นต์การเลี้ยงที่สำเร็จเพิ่มมากขึ้น ในปี 2554 ได้เก็บตัวอย่างดินจากรากกล้วยเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งโดยปกติดินบริเวณรากกล้วยมักจะพบไส้เดือนฝอย *Pratylenchus* จึงเน้นการเก็บดินจากรากกล้วยก่อน เพื่อให้โอกาสในการตรวจพบไส้เดือนฝอย *Pratylenchus* มากขึ้น ในปี 2555 จะเก็บตัวอย่างดินจากพืชหลายชนิดมากขึ้น

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ทำการเก็บตัวอย่างดินจำนวนทั้งสิ้น 113 ตัวอย่าง ตรวจพบไส้เดือนฝอยสกุล *Pratylenchus* 34 ตัวอย่าง เลี้ยงไส้เดือนฝอยจากตัวเต็มวัยเพศเมียที่มีไข่ 1 ตัวบนชิ้นแคร็อทได้สำเร็จ 6 ตัวอย่าง

เอกสารอ้างอิง

Campos, V.P., and L. Villain. 2005. Nematode parasites of coffee and cocoa. Pp. 529-579. in Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture, 2nd edition. M. Luc, R.A. Sikora and J. Bridge, eds. CAB International.

Chunram, C. 1972. A list of plant parasitic nematodes in Thailand. Plant Protection Service Technical Bulletin No.1 Pp. 23-26. The Plant Industry Division. Ministry of Agriculture, Thailand.

Evans, K., D.L. Trudgill, and J.M.Webster.1993. Plant Parasitic Nematodes in Temperate Agriculture. Pp. 648. CAB International. Wallingford, UK.

Gowen, R.S., P. Quénéhervé, and R. Fogain. 2005. Nematode parasites of bananas and plantains. Pp. 611-643. in Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture, 2nd edition. M. Luc, R.A. Sikora and J. Bridge, eds. CAB International.

O'Bannon, J.H. 1977. Worldwide dissemination of *Radopholus similis* and its importance in crop production. Journal of Nematology 9:16-25.

Pliansinchai, U., and A. Boonduang. 1978. A systematic study of plant parasitic nematodes of Black pepper in Thailand. Nematology Section Technical Bulletin No.2 Pp. 22-30. Plant Pathology Division, Department of Agriculture, Thailand.

Pliansinchai, U., and A. Boonduang. 1986. A systematic study of plant parasitic nematodes of Sugarcane in Thailand. Nematology Section Technical Bulletin No.5 Pp. 48-61. Plant Pathology and Microbiology Division, Department of Agriculture, Thailand.

Sipes, B.S., and J.S. Lichty. 2002. *Radopholus similis* damage to *Anthurium andraeanum*. Nematropica 32:77-81.

อนุกรมวิธานและชีววิทยาของไส้เดือนฝอยสกุล Radopholus

Taxonomy and Biology of Radopholus

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด [1/] ช่อทิพย์ ศัลยพงษ์ [2/]

[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]สำนักควบคุมวัสดุการเกษตร

รายงานความก้าวหน้า

แยกได้ไส้เดือนฝอยสกุล *Radopholus* จากรากพรรณไม้น้ำในฟาร์มผลิตเขตกรุงเทพมหานคร นำไปผ่านกระบวนการรักษาสภาพ โดยการดึงน้ำออกจากตัวไส้เดือนฝอยและแทนที่ด้วยกลีเซอรีน จากนั้นนำตัวเต็มวัยเพศเมีย-เพศผู้ไปทำสไลด์ถาวรเพื่อวัดขนาดลำตัวภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และถ่ายภาพ ผลการวัดขนาดตัวเต็มวัยเพศเมีย L = 650.5 (576.0-722.0) ไมครอน; W = 21.2 (21.0-22.0) ไมครอน; Stylet = 20.6 (18.0-24.0) ไมครอน; tail = 60.3 (55.0-65.0) ไมครอน; ค่าสัดส่วน a= 30.7 (26.6-32.8); b= 8.9 (7.9-10.6); c= 10.8 (10.1-12.2); % Vulva = 55.0 (52.1-58.9) % เมื่อนำขนาดสัดส่วนและภาพถ่ายเปรียบเทียบกับ Key ไส้เดือนฝอย สามารถจำแนกในเบื้องต้นเป็นชนิด (species) *Radopholus similis* จากศึกษาการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอย *R. similis* ในชิ้นแครอทสภาพปลอดเชื้อ เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 22 และ 32 °ซ พบว่า ไส้เดือนฝอยเจริญเติบโตครบวงจรชีวิตจากตัวเต็มวัยถึงตัวเต็มวัย ใช้เวลา 28 และ 20 วัน ที่อุณหภูมิตามลำดับ โดยพบไส้เดือนฝอยระยะตัวอ่อนในวันที่ 10 ที่อุณหภูมิ 22 °ซ และวันที่ 5 ที่อุณหภูมิ 32 °ซ หลังจากเพาะเลี้ยงบนชิ้นแครอท อุณหภูมิที่สูงขึ้นมีผลต่อการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอยได้เร็วกว่าอุณหภูมิต่ำ

คำนำ

ไส้เดือนฝอยสกุล *Radopholus* เป็นไส้เดือนฝอยกักกันที่มีความสำคัญและพบในเขตร้อนและเขตกึ่งร้อนทั่วโลก (Fogain, 2000) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแหล่งที่มีการปลูกกล้วย ประเทศที่พบ ได้แก่ ทุกประเทศในทวีปอัฟริกา บางประเทศในทวีปเอเชีย อเมริกากลางและใต้ ประเทศคิวบา ออสเตรเลีย หลายประเทศในทวีปยุโรป และในสหรัฐอเมริกา *Radopholus* ชนิดที่มีความสำคัญคือ *R. similis* มีการกระจายตัวในเขตภาคตะวันออกเฉียงใต้ของประเทศเปอร์โตริโก และในรัฐฮาวาย (Sipes and Delate, 1996) มีพืชอาศัยมากกว่า 600 ชนิด (Uchida *et al*., 2003) แต่พืชอาศัยที่สำคัญได้แก่

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-02-10-54

กล้วย และส้มที่ปลูกในเขตร้อน โดยกล้วยจัดเป็นพืชอาศัยที่สำคัญอันดับหนึ่งของไส้เดือนฝอยชนิดนี้ ซึ่งพบว่ากล้วยเกือบทุกสายพันธุ์สามารถเป็นพืชอาศัยของ *R. similis* พืชชนิดอื่นๆ ที่จัดเป็นพืชอาศัย ได้แก่ มะพร้าว ขิง ปาล์ม อะโวกาโด กาแฟ พริกไทย อ้อย ชา พืชผักและไม้ดอกไม้ประดับ หญ้า และวัชพืชหลายชนิด

ไส้เดือนฝอย *R. similis* สามารถครบวงจรชีวิตได้ภายในส่วนของ cortex พืช วงจรชีวิตของ *R. similis* ในพืชพวกส้ม พบว่า ตัวอ่อนฟักออกจากไข่ภายในระยะเวลา 3 ถึง 7 วัน และไส้เดือนฝอยครบวงจรชีวิตภายใน 18 ถึง 20 วัน ที่ 24 ถึง 26 องศาเซลเซียส (Evan *et al.,* 1993) วงจรชีวิตของ *R. similis* จะนานมากขึ้นเมื่ออุณหภูมิต่ำลง ตัวเมียของไส้เดือนฝอย *R. similis* จะวางไข่โดยเฉลี่ย 2 ฟองต่อวัน โดยทั่วไปแล้ว *R. similis* ต้องการตัวผู้เพื่อการผสมพันธุ์ แต่อย่างไรก็ตาม ในบางครั้งพบว่าตัวเมียของไส้เดือนฝอยสามารถออกไข่ได้โดยไม่มีการผสมพันธุ์จากตัวผู้ (parthenogenesis) ตัวผู้ของไส้เดือนฝอยชนิดนี้ไม่มีการเข้าทำลายและดูดกินน้ำเลี้ยงจากรากพืช (Evan *et al*., 1993)

ไส้เดือนฝอย *R. similis* จัดเป็นศัตรูพืชแบบ migratory endoparasite และทำให้เกิดโรค spreading decline ในพืชพวกส้ม (Duncan and Cohn, 1990) โดยอาการดังกล่าวมักเกิดขึ้นหลังจากไส้เดือนฝอยเข้าทำลายรากแล้วหนึ่งปี ส้มที่ถูกไส้เดือนฝอยเข้าทำลายจะมีจำนวนใบและการเจริญเติบโตลดลง สีของใบมีการเปลี่ยนแปลงในลักษณะซีดลง และเกิดอาการ dieback ของกิ่งส้ม ใบของส้มอาจเหี่ยวในเวลากลางวันแต่จะกลับเป็นปกติเมื่อเวลาได้รับน้ำหรือเมื่อฝนตก ส้มให้ผลผลิตลดลงและผลที่ได้มีขนาดเล็กและมีลักษณะเหมือนขาดธาตุอาหาร ในรัฐฟลอริดาพบว่าไส้เดือนฝอย *R. similis* ทำให้ผลผลิตของส้มโอลดลง 50 ถึง 80 เปอร์เซ็นต์ ในส่วนของส้มเขียวหวานพบว่าไส้เดือนฝอยมีส่วนทำให้ผลผลิตลดลง 40 ถึง 70 เปอร์เซ็นต์ ในพืชพวกอาโวกาโดก็เช่นเดียวกันพบว่าผลผลิตลดลงเมื่อถูกไส้เดือนฝอยชนิดนี้เข้าทำลาย เมื่อทำการขุดรากที่ระดับความลึก 2.5 ฟุต จากระดับผิวดินพบว่า 30 เปอร์เซ็นต์ของรากหาอาหาร (feeder roots) ได้ถูกทำลาย และเมื่อขุดลงไปลึกมากกว่านั้นพบว่า 90 เปอร์เซ็นต์ของรากที่พบได้ถูกทำลายโดยไส้เดือนฝอย ในกล้วยพบว่าการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอย *R. similis* ทำให้เกิดอาการโค่นล้มของต้นกล้วยโดยเฉพาะอย่างยิ่งต้นที่กำลังให้ผลผลิต เนื่องจากระบบรากได้ถูกทำลาย ในส่วนของรากพบว่าเกิดอาการเน่า (lesion) สีน้ำตาลหรือสีดำที่บริเวณจุดที่ไส้เดือนฝอยเข้าทำลาย เมื่อไส้เดือนฝอยเคลื่อนที่ผ่านชั้น cortex ของรากพืช ทำให้เกิดโพรง และเปิดทางให้เชื้อโรคในดิน เช่น รา *Fusarium oxysporum* และ *Rhizoctonia solani* เข้าทำลายรากพืชซึ่งทำให้เกิดอาการรุนแรงมากยิ่งขึ้น (Sipes *et al*., 2001)

ในประเทศไทย ไส้เดือนฝอย *R. similis* สร้างปัญหาให้กับพืชส่งออก โดยมีการตรวจพบปนเปื้อนไปกับพรรณไม้น้ำส่งออกไปสหภาพยุโรป ทำให้เกิดการเผาทำลายพืช ณ ประเทศปลายทาง ส่งผลกระทบต่อการส่งออกของเกษตรกรผู้ปลูกเป็นอย่างยิ่งในขณะนี้ ณ ปัจจุบัน การศึกษาด้านอนุกรมวิธานและชีววิทยา เป็นงานวิจัยพื้นฐานที่มีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งที่นักอนุกรมวิธานต้องทำการจัดจำแนกไส้เดือนฝอยซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องทางการเกษตร เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานที่เป็นองค์ความรู้สำหรับการพัฒนาด้านอื่นๆ ต่อไป

วัตถุประสงค์ของการทดลอง เพื่อจำแนกชนิดและศึกษาวงจรชีวิตของไส้เดือนฝอยสกุล *Radopholus* ที่เก็บได้จากพรรณไม้น้ำส่งออกในฟาร์มผลิต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่อง Ultrasonic ความถี่ 50 kHz. ใช้แยกไส้เดือนฝอยออกจากรากพืช
2. สารเคมีสำหรับใช้ในกระบวนการเตรียมไส้เดือนฝอย ได้แก่ TAF, 40 % formaldehyde, tri-ethanolamine, glycerine, 95 % ethanol และน้ำกลั่น
3. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ 40 °ซ
4. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (Stereo microscope) และกำลังขยายสูง (Compound microscope) พร้อมกล้องถ่ายภาพดิจิตอล
5. วัสดุ-อุปกรณ์ และเครื่องแก้วสำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการไส้เดือนฝอย
6. ชิ้นแครอทสำหรับใช้เพาะเลี้ยงขยายไส้เดือนฝอย

วิธีการ

11.1 การศึกษารูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยใช้ Light microscope (LM)

นำไส้เดือนฝอยระยะตัวอ่อน ตัวเต็มวัยเพศเมียและเพศผู้ ฆ่าด้วยน้ำอุ่น (50 °ซ) เป็นเวลา 2 นาที เติมน้ำยา fixative (TAF, 7 ml of 40 % formaldehyde, 2 ml tri-ethanolamine, 91 ml distilled water) นำไปเก็บที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเขี่ยไส้เดือนฝอยลงใน solution I (20 parts 95 % ethanol, 1 part glycerine, 79 parts distilled water) นำไปวางใน desiccator ที่มี 95 % ethanol บรรจุอยู่ วางไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 35 oซ เป็นเวลา 12 ชม. เพื่อดึงน้ำออกจากตัวไส้เดือนฝอยช้าๆ และมีการแทนที่ด้วยกลีเซอรีน จากนั้นเติม solution II (5 parts of glycerine, 95 parts of 95 % ethanol) ลงไป นำไปไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 40 °ซ เป็นเวลา 3 ชม. กลีเซอรีนจะเข้าแทนที่น้ำในตัวไส้เดือนฝอย สามารถเห็นอวัยวะสำคัญภายในตัวไส้เดือนฝอยได้ชัดเจน เขี่ยไส้เดือนฝอยลงในหยดกลีเซอรีนบนสไลด์แก้ว หนุนด้วยใยแก้วก่อนปิดทับด้วย cover slip และซิล ด้วยน้ำยาซิลสไลด์ ถ่ายภาพรูปร่างลักษณะและวัดขนาดสัดส่วนภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง โดยวัดส่วนต่างๆ ดังนี้

ตัวเต็มวัยเพศผู้ : ความยาวลำตัว (L); ความกว้างลำตัว(W); หลอดดูดอาหาร; ความยาววัดจากหัวถึง excretory pore (EP); ความยาววัดจากหัวถึง esophagus (ES); ความยาวหาง (Tail); ความกว้างบริเวณ anus; ความยาว spicule และความยาว gubernaculum

ตัวเต็มวัยเพศเมีย : ความยาวลำตัว (L); ความกว้างลำตัว(W); หลอดดูดอาหาร; ความยาววัดจากหัวถึง excretory pore (EP); ความยาววัดจากหัวถึง esophagus (ES); ความยาวหาง (Tail); ความกว้างบริเวณ anus และ % vulva

นำมาคำนวณค่าสัดส่วน (ratio) โดยใช้ De Man's formula (Poinar, 1986) ดังนี้

Ratio : a = L/W; b = L/ES; c = L/Tail; d = EP/ES; e = EP/Tail

และคำนวณค่าพารามิเตอร์ตามวิธีการของ Nguyen (1993) ดังนี้

D% = EP/ES x 100; E% = EP/Tail x 100

การบันทึกข้อมูล ถ่ายภาพรูปร่างลักษณะที่สำคัญของไส้เดือนฝอยระยะตัวอ่อน ตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมีย ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่างๆ ค่าการวัดขนาดสัดส่วนและรูปร่างลักษณะสำคัญของไส้เดือนฝอย นำไปเปรียบเทียบกับ key

11.2 ศึกษาการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอย *Radopholus* ในชิ้นส่วนพืชที่อุณหภูมิ 2 ระดับ

1. เตรียมหัวเชื้อไส้เดือนฝอย *R. similis* ทำการล้างฆ่าเชื้อที่ผิวโดยแช่ในสาร 0.1% hyamine เป็นเวลา 15 นาที และแช่ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อซ้ำ 2 ครั้ง

2. เตรียมวุ้น 1.5 % (วุ้นผง 15 กรัม + น้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร) นึ่งฆ่าเชื้อ นำไปเทลงในจานเพาะเลี้ยง (Petri dish) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ปริมาตรวุ้นเท่ากับ 1 ใน 4 ของความสูงจานเพาะ ในสภาพปลอดเชื้อ

3. เตรียมชิ้นส่วนพืช (แครอท) โดยนำหัวแครอทปอกเปลือกให้สะอาด และหั่นตามขวางของหัวให้เป็นชิ้นวงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร ทำการล้างด้วยแอลกอฮอล์ 70 % โดยวิธีการจุ่ม และจุ่มล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อซ้ำ 2 ครั้ง วางผึ่งชิ้นแครอทให้แห้งในตู้ปลอดเชื้อประมาณ 30 นาที จากนั้นใช้ปากคีบฆ่าเชื้อ คีบชิ้นแครอทวางลงบนอาหารวุ้นบริเวณกลางจาน ได้เป็นจานอาหารเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอย

4. การเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอยในชิ้นแครอท นำไส้เดือนฝอย (จากข้อ 1) จำนวน 100±10 ตัว/น้ำกลั่น 50 ไมโครลิตร หยดลงบนชิ้นแครอทในจานอาหารเพาะเลี้ยงที่เตรียมไว้ (จากข้อ 3) โดยปฏิบัติในตู้ปลอดเชื้อ จากนั้นหุ้มจานเพาะเลี้ยงด้วยกระดาษอลูมิเนียมฟรอยด์ เก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิ 22 และ 32 °ซ

การบันทึกข้อมูล ตรวจการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอยโดยบันทึกการเปลี่ยนแปลงเป็นระยะต่างๆ แต่ละอุณหภูมิ ทุก 5 วัน

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา 3 ปี เริ่มตั้งแต่เดือนตุลาคม 2553 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2556

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การจำแนกชนิดไส้เดือนฝอย *Radopholus* ที่แยกได้จากพรรณไม้น้ำสกุล *Anubias* จากฟาร์มผลิตพรรณไม้น้ำส่งออกเขตกรุงเทพมหานคร โดยพิจารณาจากรูปร่างลักษณะและขนาดสัดส่วนของไส้เดือนฝอยระยะตัวเต็มวัยเพศผู้-เพศเมีย ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Light microscope (LM)

รูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ในทุกระยะการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอย *R. similis* มีรูปร่างลักษณะคล้ายตัวหนอน (vermiform) ไม่มีสี และมีความยาวลำตัวน้อยกว่า 1 มม. แบ่งแยกเป็นเพศผู้และเพศเมีย (sexual dimorphism) อาศัยอยู่ในดินและรากพืช

ขนาดและรูปร่างลักษณะของตัวเต็มวัยเพศผู้

มีขนาดความยาวลำตัว 500-600 ไมครอน (0.50-0.60 ไมครอน) รูปร่างผอมบางกว่าเพศเมีย ส่วนหัวโค้งมนกลมและยกขึ้น ประกอบด้วยรอยย่น 4 รอย หลอดดูดอาหาร (stylet) ผอม เรียวเล็ก ความยาว 12-13 ไมครอน มี basal knob ขนาดเล็กมาก ไม่พบ median bulb และส่วนของ esophagus ลดขนาดลง มีส่วนหางเรียวและกลม บริเวณปลายหางมีอวัยวะสืบพันธุ์ (spicule) ยาว 17-19 ไมครอน มีเส้นข้างลำตัว (lateral line) 4 เส้น (ภาพที่ 1 A และ B)

ขนาดและรูปร่างลักษณะของตัวเต็มวัยเพศเมีย

มีขนาดความยาวลำตัว 650.5 (576.0-722.0) ไมครอน รูปร่างใหญ่กว่าเพศผู้ โดยมีความกว้างลำตัว 21.2 (21.0-22.0) ไมครอน ส่วนหัวโค้งมนแต่ไม่ยกขึ้น ประกอบด้วยรอยย่น 4 รอย หลอดดูดอาหารแข็งแรงมีความยาว 20.6 (18.0-24.0) ไมครอน มี basal knob กลม ส่วนของ esophagus ซ้อนทับลำไส้ทางด้านหลัง (dorsal) โดยมีค่าสัดส่วน a = 30.7 (26.6-32.8); b = 8.9 (7.9-10.6); c = 10.8 (10.1-12.2) พบอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย (vulva) ในตำแหน่ง 55.0 (52.1-58.9) % ของความยาวลำตัว มีรังไข่ (ovary) 2 ข้าง ส่วนของ spermatheca มีลักษณะรี ส่วนหางเรียวยาวและบริเวณปลายหางมน มีเส้นข้างลำตัว 4 เส้น (ภาพที่ 1 C และ D)

เมื่อนำค่าการวัดขนาดสัดส่วนของไส้เดือนฝอยเปรียบเทียบกับ key มาตรฐาน และพิจารณาจากรูปร่างลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (Compound microscope) สามารถจัดจำแนก ตามลำดับของอนุกรมวิธาน

Order Tylenchida

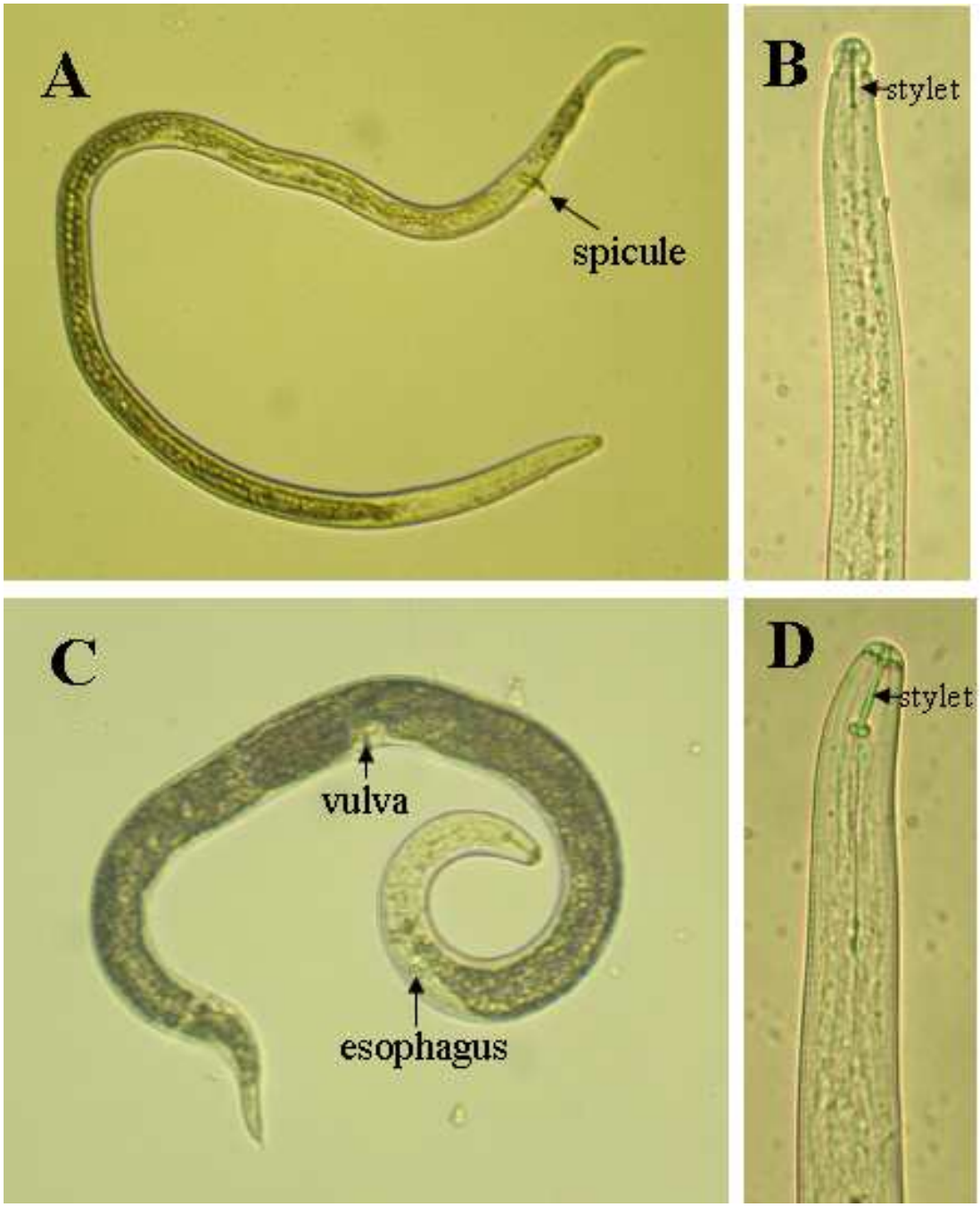
Sub order Tylenchina

Family Pratylenchidae

Sub family Pratylenchinae

Genus *Radopholus*

Species *similis*



ภาพที่ 1 ไส้เดือนฝอย *Radopholus similis* (Cobb, 1893) Thorne, 1949

A) ลำตัวของตัวเต็มวัยเพศผู้

B) ส่วนหัวของตัวเต็มวัยเพศผู้

C) ลำตัวของตัวเต็มวัยเพศเมีย

D) ส่วนหัวของตัวเต็มวัยเพศเมีย

การเจริญเติบโตและวงจรชีวิต

ไส้เดือนฝอย *R. similis* เข้าทำลายรากพืชในลักษณะที่เรียกว่า migratory endoparasite สามารถเคลื่อนที่เข้าออกรากพืชได้ตลอดเวลา จึงพบตัวอ่อนและตัวเต็มวัยอยู่บริเวณนอกรากพืช หรือในวัสดุปลูก ไส้เดือนฝอยจะเข้าไปอยู่อาศัยภายในราก โดยดูดกินน้ำเลี้ยงและแร่ธาตุอาหาร ของพืชที่จะลำเลียงไปเลี้ยงส่วนลำต้นเหนือดิน จากนั้นเจริญเติบโตและขยายพันธุ์จนครบวงจรชีวิต ภายในราก โดยตัวเต็มวัยเพศเมียวางไข่ และไข่มีการพัฒนาแบ่งเซลล์เป็นตัวอ่อนระยะที่ 1 ภายในไข่ และไข่ฟักเป็นตัวอ่อนระยะที่ 2 ไส้เดือนฝอยมีการเจริญเติบโตโดยวิธีการลอกคราบจากตัวอ่อนระยะที่ 2 เป็นระยะที่ 3 4 และเป็นตัวเต็มวัยเพศผู้หรือเพศเมีย ตามลำดับ จากการศึกษาการเจริญเติบโตของ *R. similis* ที่แยกได้จากพรรณไม้น้ำจากฟาร์มผลิตในเขตกรุงเทพมหานคร โดยเพาะเลี้ยงในชิ้นแครอทสภาพปลอดเชื้อ ที่อุณหภูมิ 22 และ 32 °ซ พบว่า ไส้เดือนฝอยเจริญเติบโตครบวงจรชีวิตจากตัวเต็มวัยถึงตัวเต็มวัย ใช้เวลา 28 และ 20 วัน ที่อุณหภูมิตามลำดับ โดยพบไส้เดือนฝอยระยะตัวอ่อนในวันที่ 10 ที่อุณหภูมิ 22 °ซ และวันที่ 5 ที่อุณหภูมิ 32 °ซ หลังจากเพาะเลี้ยงบนชิ้นแครอท อุณหภูมิที่สูงขึ้นมีผลต่อการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอยได้เร็วกว่าอุณหภูมิต่ำ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ไส้เดือนฝอยสกุล *Radopholus* แยกได้จากพรรณไม้น้ำสกุล *Anubias* ในฟาร์มผลิตพรรณไม้น้ำส่งออก เขตกรุงเทพมหานคร จากการศึกษารูปร่างลักษณะและวัดขนาดสัดส่วนของตัวเต็มวัยเพศผู้-เพศเมีย สามารถจัดจำแนกชนิด (species) เป็น *Radopholus similis* (Cobb, 1893) Thorne, 1949 และสามารถเจริญเติบโตได้ดีเมื่อเพาะเลี้ยงในชิ้นแครอทสภาพปลอดเชื้อ โดยที่อุณหภูมิ 22 และ 32 °ซ พบว่า ไส้เดือนฝอยเจริญเติบโตครบวงจรชีวิตจากตัวเต็มวัยถึงตัวเต็มวัย ใช้เวลา 28 และ 20 วัน ตามลำดับ

เอกสารอ้างอิง

Duncan, L. W., and E. Cohn. 1990. Nematode parasites of citrus. Pp. 321-346 in M. Luc, R.A. Sikora, and J. Bridge, eds. Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture. CAB International, Wallingford, U.K.

Evans, K., D.L. Trudgill, and J.M. Webster. 1993. Chapter 1. Extraction, Identification and Control of Plant Parasitic Nematodes. in Plant Parasitic Nematodes in Temperate Agriculture. CAB International, UK. 648 pages.

Fogain, R. 2000. Effect of Radopholus similis on plant growth and yield of plantains (Musa, AAB). Nematology 32: 129-133.

Sipes, B.S., D.P. Schmitt, and S.C. Nelson. 2001. Burrowing nematode, a major pest in the tropics. University of Hawaii, CTAHR Plant Disease Publication PD-21.

Sipes, B.S., and K. M. Delate. 1996. Potential of biologically-derived nematicides for control of anthurium decline. Nematropica 26 : 171-175.

Uchida, J.Y., B.S. Sipes, and C.Y. Kadooka. 2003. Burrowing nematode on anthurium: Recognizing symptoms, understanding the pathogen, and preventing disease. University of Hawaii, CTAHR Plant Disease Publication PD-24.

การจำแนกชนิดของไวรัสกลุ่ม Tospovirus สาเหตุโรคพืชที่สำคัญในประเทศไทย

Identification of Tospovirus in Thailand

เยาวภา ตันติวานิช

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การสำรวจและเก็บตัวอย่างพืช ได้แก่ มะเขือเทศ พริก มันฝรั่ง ที่แสดงอาการคล้ายกับอาการของโรคที่เกิดจากทอสโพไวรัสเข้าทำลาย จากแหล่งปลูกพืชที่สำคัญในประเทศไทยได้แก่ จังหวัดตาก เชียงใหม่ และ อุบลราชธานี จำนวน 5 ตัวอย่าง นำมาตรวจสอบเชื้อไวรัสที่ห้องปฏิบัติการด้วยเทคนิค Direct antigen coating ELISA (DAC-indirect ELISA) พบว่า ตรวจพบ Watermelon silver mottle virus (WSMoV) และ tomato necrosis virus จากตัวอย่าง มันฝรั่ง พริก และมะเขือเทศ จำนวน 5 ตัวอย่าง

รหัสโครงการ 03-04-54-04-01-02-11-54

คำนำ

ทอสโพไวรัสจัดอยู่ใน Family Bunyaviridae และ Genus Tospovirus อนุภาคของทอสโพไวรัสมีลักษณะทรงกลม (spherical) ขนาด 80-120 นาโนเมตร กรดนิวคลีอิคเป็นอาร์เอ็นเอ (RNA) สายเดี่ยว 3 ชิ้น คือ ขนาดใหญ่ (L-RNA) ขนาดกลาง (M-RNA) และขนาดเล็ก (S-RNA) แต่ละชิ้นห่อหุ้มด้วยโปรตีน (coat protein) และมีเยื่อหุ้มอนุภาค (envelope) ซึ่งประกอบด้วยไขมันและไกลโคโปรตีน (glycoprotein) มีรายงานการพบเชื้อแล้วอย่างน้อย 15 species (ชนิด) โดยอาศัยข้อมูลจีโนมร่วมกับลักษณะทางชีววิทยา ทอสโพไวรัสมีความหลากหลายมากทั้งในด้านพืชอาศัย แมลงพาหะ และสามารถจัดแบ่งได้อย่างน้อย 6 ซีโรกรุ๊ป (Serogroup) (Cortes et al., 1998) ตามลักษณะการทำปฏิกิริยาทางซีรัมวิทยาของเชื้อแต่ละชนิด ทอสโพไวรัสมีเพลี้ยไฟเป็นพาหะถ่ายทอดโรคโดยมีความสัมพันธ์เป็นแบบคงทน (persistent) (German et al., 1992) นอกจากนี้เชื้อไวรัสยังสามารถปนเปื้อนมากับเมล็ดและส่วนขยายพันธุ์ (Ie, 1970)

สำหรับในประเทศไทยได้มีการตรวจพบทอสโพไวรัสตั้งแต่ปี 2516 ด้วยเทคนิค ELISA โดยใช้แอนติซีรัมต่อซีโรกรุ๊ปของทอสโพไวรัส แต่ยังไม่ได้จำแนกไวรัสสาเหตุโรคในระดับ Species ต่อมาในปี 2528 ได้มีการตรวจในถั่วลิสงโดยใช้แอนติซีรัมต่อเชื้อ Groundnut bud necrosis virus : GBNV เป็นตัวตรวจ (โสภณ, 2536) และได้ตรวจพบการถ่ายทอดโรคผ่านทางเมล็ดมะเขือเทศลูกผสมเบอร์ 578 ในอัตรา 1.3-2.5% และเบอร์ 674 ในอัตรา 2.5% (โสภณและจุฑารัตน์, 2536) Pongsapich และ Chiemsombat (2002) ได้ตรวจจำแนกทอสโพไวรัสที่เข้าทำลายมะเขือเทศพบว่าเป็นทอสโพไวรัสซีโรกรุ๊ป 4 (Serogroup IV) แต่ยังไม่ได้ระบุชนิด (Species) ของเชื้อ และยังไม่ทราบชนิดของเพลี้ยไฟที่เป็นพาหะถ่ายทอดโรค หรือการถ่ายทอดโรคผ่านทางเมล็ด นอกจากนั้นแล้วยังพบพืชปลูกหลายชนิดที่เป็นพืชอาศัยในสภาพธรรมชาติ คือ พริก มะเขือเทศ แตงโม แคนตาลูป ยาสูบ ถั่วพุ่ม รวมทั้งวัชพืชในแปลงปลูก เช่น โทงเทง ผักเป็ด แพงพวย ผักเสี้ยนผี ผักแครด และกระดุมใบ (โสภณ, 2536) ลักษณะอาการของพืชที่ถูกทอสโพไวรัสเข้าทำลาย จะมีอาการไหม้ (necrosis) บนส่วนต่างๆ ของพืช อาการบนใบ เช่น ใบซีด (chlorosis) ด่างวงแหวน (ring spot) ด่างประ (mottling) ใบเป็นสีเงิน (silvering) แคระแกร็น (stunting) และใบจุด (local lesion) ซึ่งอาการของโรคจะผันแปรขึ้นอยู่กับชนิดของไวรัส พืชอาศัย ระยะเวลาที่เชื้อเข้าทำลายพืชและสภาพแวดล้อม ในสภาพธรรมชาติทอสโพไวรัสมีเพลี้ยไฟเป็นพาหะถ่ายทอดโรค เพลี้ยไฟที่มีรายงานว่าเป็นพาหะของทอสโพไวรัสมีทั้งหมด 8 ชนิด

ในประเทศไทยมีรายงานการตรวจพบและจำแนกชนิดทอสโพไวรัสแล้ว 4 ชนิด ได้แก่ Watermelon silver mottle virus (WSMoV) Thailand tomato tospovirus or tomato necrosis virus (TNSV) Capsicum chlosis virus (CaCV) และ Melon yellow spot virus (MYSV) (โสภณ, 2536; Pongsapich และ Chiemsombat, 2002; วิมลและคณะ, 2547)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- เครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูง
- spectrophotometer
- ตู้แช่แข็ง -20 และ -80 ^{0}C
- สารเคมีและวัสดุที่ใช้ในการตรวจสอบด้วยวิธี ELISA

วิธีการ

การเก็บตัวอย่างพืช

เก็บตัวอย่างพืช เช่น มะเขือเทศ พริก พืชตระกูลแตง จากแหล่งปลูกพืชที่สำคัญในประเทศไทย โดยเก็บส่วนต่างๆ ของพืชที่แสดงอาการคล้ายกับอาการของโรคที่เกิดจากทอสโพไวรัสเข้าทำลาย ใส่ตัวอย่างพืชในถุงพลาสติกกันน้ำและเก็บไว้ในที่เย็นประมาณ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำมาตรวจสอบเชื้อไวรัสที่ห้องปฏิบัติการ

การตรวจสอบทอสโพไวรัสในตัวอย่างพืช

1. ตรวจสอบทอสโพไวรัสในตัวอย่างพืชด้วยเทคนิค Direct antigen coating ELISA (DAC-indirect ELISA) ใช้วิธีของโสภณ (2536) โดยบดชิ้นส่วนของพืชใน carbonate coating buffer ที่เย็น ในอัตราส่วนพืช 1 กรัมต่อบัฟเฟอร์ 20-50 มิลลิลิตร ดูดน้ำคั้นตัวอย่างปริมาตร 100 ไมโครลิตร หยอดใส่ลงในหลุมของ ELISA plate บ่มในกล่องชื้นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง หรือเก็บที่ 4 องศาเซลเซียส นานข้ามคืน ครบเวลาแล้วจึงล้างหลุมให้สะอาดด้วย PBST 3 ครั้ง โดยแช่ไว้ 3-5 นาทีต่อครั้ง เจือจางแอนติซีรัมต่อเชื้อทอสโพไวรัสกรุ๊ป 4 ในอัตรา 1: 1,000 (v/v) และผสมน้ำคั้นพืชปกติที่บดใน conjugate buffer (1:50 w/v) ให้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 1:100 ตั้งทิ้งไว้ 20-40 นาที เพื่อกำจัดโปรตีนพืช จากนั้นนำแอนติซีรัมไปหยอดลงในหลุมตัวอย่าง หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มในกล่องชื้นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ครบเวลาแล้วล้างด้วยวิธีเดิม เตรียม goat-anti rabbit IgG alkaline phosphatase conjugate เจือจาง อัตรา 1:100 (v/v) ใน conjugate buffer นำไปหยอดในหลุมตัวอย่างที่ล้างแล้ว หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มในกล่องชื้นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ครบเวลาแล้วล้างด้วยวิธีเดิม เตรียม 0.5% p-Nitrophenyl phosphate ใน substrate buffer นำมาหยอดลงในหลุมที่ล้างแล้ว หลุมละ 100 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปบ่มไว้ในกล่องชื้นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 45-60 นาที หยุดปฏิกิริยาด้วย 3M KOH หลุมละ 25 ไมโครลิตร วัดความเข้มของสีที่เกิดขึ้นในหลุมตัวอย่างด้วย ELISA reader ที่ความยาวช่วงคลื่น 405 นาโนเมตร

2. ตรวจสอบทอสโพไวรัสในตัวอย่างพืชด้วยเทคนิค Tissue blot immunoassay (TBIA) โดยทำการตรวจทอสโพไวรัสด้วยวิธี TBIA เปรียบเทียบกับวิธี ELISA โดยใช้ใบมีดโกนที่คมตัดส่วนของ

พืชบริเวณที่จะทดสอบ แล้วกดผิวหน้าตัดของพืชลงบนแผ่น nitrocellulose membrane 1 ครั้ง ปล่อยให้แห้ง นำแผ่นเมมเบรนใส่ในถุงพลาสติกแล้วเติม 5% NFDM (non fat dry milk ในสารละลาย PBS buffer) ปิดถุงให้สนิท นำไปเขย่าเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ครบเวลาแล้วล้างออกด้วย PBST buffer 1 ครั้ง แล้วเติม IgG ของทอสโพไวรัสซีโรกรุ๊ป 4 ที่เจือจาง 1:1,000 เท่า ใน PBST buffer นำไปเขย่าเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ล้างเมมเบรนด้วย 5% NFDM ใน PBS แล้วเติม goat anti rabbit alkalite phosphatate conjugate ที่เจือจาง 1:30,000 เท่า ใน PBST buffer ลงในถุง นำไปเขย่าอีก 1 ชั่วโมง ล้างเมมเบรน 3 ครั้งๆ ละ 10 นาที ด้วย PBST แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นอีกครั้ง ใช้กระดาษกรองซับน้ำให้เมมเบรนแห้งหมาดๆ ใส่ลงในถุงพลาสติกแล้วเติม BCTP/NBT (1mg/ml) เมื่อปรากฏสีม่วงบนตัวอย่างควบคุมที่มีไวรัส นำเมมเบรนมาแช่ในน้ำกลั่นเพื่อหยุดปฏิกิริยา และอ่านผลโดยดูจากสีม่วงที่เกิดขึ้นซึ่งเป็นผลบวก แสดงว่ามีไวรัสในตัวอย่างที่นำมาตรวจสอบ

3. การสกัดอาร์เอ็นเอและสังเคราะห์ Nucleocapsid gene (N gene) ด้วยเทคนิค multiplex PCR โดยนำตัวอย่างพืชที่ตรวจพบทอสโพไวรัสมาสกัดอาร์เอ็นเอด้วย RLT buffer (QIAGEN) ตามวิธีของ วิมลและคณะ (2547) สังเคราะห์ cDNA และเพิ่มปริมาณยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาค (Nucleocapsid gene, N gene) โดยใช้ Superscript III (Invitrogen TM) ในหลอดปฏิกิริยาผสมไพรเมอร์รวมกัน 6 สาย ซึ่งจำเพาะต่อไวรัส 4 ชนิด คือ Watermelon silver mottle virus (WSMoV) Capsicum chlosis virus (CaCV) tomato necrosis virus (TNSV) และ Melon yellow spot virus (MYSV) ตรวจผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ บันทึกผล

เวลาและสถานที่

ต.ค.53 – ก.ย.56 ที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

เก็บตัวอย่างพืช เช่น มะเขือเทศ พริก มันฝรั่ง จากแหล่งปลูกพืชที่สำคัญในประเทศไทยได้แก่ จังหวัดตาก เชียงใหม่ และ อุบลราชธานี จำนวน 5 ตัวอย่าง โดยเก็บส่วนต่างๆ ของพืชที่แสดงอาการคล้ายกับอาการของโรคที่เกิดจากทอสโพไวรัสเข้าทำลาย ใส่ตัวอย่างพืชในถุงพลาสติกกันน้ำและเก็บไว้ในที่เย็นประมาณ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำมาตรวจสอบเชื้อไวรัสที่ห้องปฏิบัติการ

ตรวจสอบทอสโพไวรัสในตัวอย่างพืชด้วยเทคนิค Direct antigen coating ELISA (DAC-indirect ELISA) ใช้วิธีของโสภณ (2536) พบว่า ตรวจพบ Watermelon silver mottle virus (WSMoV) และ tomato necrosis virus จากตัวอย่าง มันฝรั่ง พริก และมะเขือเทศ จำนวน 5 ตัวอย่าง

เอกสารอ้างอิง

ปรียพรรณ พงศาพิชณ์. 2543. การพัฒนากรดนิวคลีอิคตัวตรวจสำหรับวินิจฉัยทอสโพไวรัสในมะเขือเทศและพริก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 71 หน้า

วิมล สีเทา พิสสวรรณ เจียมสมบัติ อรประไพ คชนันท์ อัญจนา บุญชด นุชนารถ วารินทร์ ปิยาภรณ์ เพชรสูงเนิน และชาญณรงค์ ศรีภิบาล. 2547. การจำแนกทอสโพไวรัสที่พบในพริกมะเขือเทศ และพืชตระกูลแตง. น. 445-451 ใน การประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 42. 1-4 กุมภาพันธ์ 2547 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ

โสภณ วงศ์แก้ว. 2536. โรคไวรัสของถั่วลิสงในประเทศไทย. กลุ่มพืชน้ำมัน กองส่งเสริมพืชไร่นา กรมส่งเสริมการเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ. 44 น.

โสภณ วงศ์แก้ว และจุฑารัตน์ เชื้อพงษ์. 2536. ไวรัสสาเหตุโรคยอดไหม้ของถั่วลิสงและการสำรวจการแพร่ระบาดของโรควิสาของถั่วลิสง ปี 2535-2536, น. 233-238. ใน รายงานการสัมมนางานวิจัยถั่วลิสง ครั้งที่ 11, 17-21 พฤษภาคม 2536. ระนอง.

Cortes, I., I.C. Livieratos, A. Derks, D. Peters and R. Kormelink. 1998. Molecular and serological characterization of iris yellow spot virus, a new distint tospovirus species. Phytopathology 88: 1276-1282.

German, T.L., D.E. Ullman and J.W. Moyer. 1992. Tospovirus: diagnosis, molecular biology, phylogeny and vector relationships. Annual Review of Phytopathology 30 :315-348.

Ie, T.S. 1970. Tomato spotted wilt virus. C.M.I./A.A.B. Description of plant virus. No. 39.

Lee, A.M., D.M. Persley and J.E. Thomas. 2002. A new tospovirus serogroup IV species infectingcapsicum and tomato in Queensland, Australasian Plant Pathology. 31 : 231-239.

Pongsapich, P and P. Chiemsombat. 2002. Characterization of Tospovirus Infecting Tomatoes in Thailand Revaled the Presence of Serogroup IV-tospovirus But Not Serogroup I-tomato spotted wilt virus. 92 p. In the first International Conference on Tropical and Subtropical Plant Diseases. The Imperial Mae Ping Hotel Chiang Mai, Thailand.

การจำแนกชนิดของราสกุล *Colletotrichum* สาเหตุโรคพืช โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะทางพันธุกรรม

Identification of *Colletotrichum* Plant Pathogenic Fungi Using Morphological and Molecular Characteristics

พรพิมล อธิปัญญาคม สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และ ชนินทร ดวงสอาด

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ผลการสำรวจรวบรวมและเก็บตัวอย่างสาเหตุโรคพืชที่เกิดจากรา *Colletotrichum* ได้ตัวอย่างโรคพืชทั้งหมด 36 ตัวอย่าง จากพืชทั้งหมด 9 ชนิด ในจังหวัดกำแพงเพชร กาญจนบุรี กรุงเทพฯ กำแพงเพชร จันทบุรี ฉะเชิงเทรา ชุมพร เชียงใหม่ นครปฐม นครนายก นครราชสีมา บุรีรัมย์ ระยอง ราชบุรี ศรีสะเกษ สระบุรี สมุทรสาคร สมุทรสงคราม สุโขทัย และ อุตรดิตถ์ ตัวอย่างโรคพืชที่รวบรวมได้ทั้งหมดนำมาศึกษาในห้องปฏิบัติการโดยการศึกษาราจากเนื้อเยื่อพืชโดยตรง การทำ moist chamber และโดยวิธีการแยกราจากเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรค ผลจากการศึกษาจำแนกชนิดเชื้อโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำแนกได้รา *Colletotrichum* จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ *Colletotrichum gloeosporioides* และ *C. capsici* และ *Colletotrichum* spp. 8 ชนิด (ตารางที่ 1) ซึ่งมีลักษณะของสปอร์คล้าย ๆ กัน ยังไม่สามารถจำแนกชนิดได้แยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษาการจำแนกชนิดของเชื้อในระดับ species และศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อต่อไป และตัวอย่างแห้งโรคพืชเก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์โรคพืช ที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช ตึกอิงคศรีกสิการ

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-02-12-54

คำนำ

ราสกุล *Colletotrichum* พบแพร่กระจายอยู่ทั่วโลก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเขตร้อนและกึ่งเขตร้อน ดำรงชีวิตแบบ saprophyte และ parasite จัดเป็นราที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เนื่องจากเป็นสาเหตุของพืชเศรษฐกิจหลายชนิด สามารถเข้าทำลายพืชได้ทุกระยะการเจริญเติบโตของพืช ตั้งแต่ก่นออกดอกจนถึงระยะหลังการเก็บเกี่ยว ส่งผลให้ปริมาณและคุณภาพลดลง ทำให้ไม่เป็นที่ต้องการของตลาดภายในและภายนอกประเทศ ซึ่งเป็นปัญหาที่สำคัญอย่างหนึ่งของการส่งออกไม้ผลไปต่างประเทศ

แต่เดิมจัดราที่คล้าย *Colletotrichum* แต่ไม่มี setae ไว้ใน genus *Gloeosporium* แต่ในปัจจุบัน *Gloeosporium* ได้จัดรวมอยู่ใน *Marssonina* ปัจจุบันพบว่ารา *Colletotrichum* มีจำนวนมากกว่า 20 species บนพืชอาศัยต่าง ๆ กัน ส่วนใหญ่ทำให้เกิดโรคใบจุดหรือโรคแอนแทรคโนส Domsch *et al.* (1993 a, b) ได้รายงาน 2 species ซึ่งในบางครั้งเป็นราดิน (soil-borne) ได้แก่ *Colletotrichum gloeosporioides* (teleomorph เป็นรา *Glomerella cingulata* สร้าง conidia รูปทรงกระบอก หัวท้ายมนไม่มี setae และ *Colletotrichum dematium* สร้าง conidia รูปพระจันทร์เสี้ยว และมี setae

ลักษณะสำคัญของรา Coelomycetes genus นี้คือการสร้าง acervuli อยู่ใต้ epidermis ของพืช บนวุ้นอาหารจะพบลักษณะคล้าย sporodochia ราสร้าง phialides ไม่มีสี เกิดรวมเป็นกลุ่มหนาแน่น บาง species จะพบ setae สีดำ ปลายแหลม เกิดจากฐานของ stroma conidia รูปทรงกระบอก หรือพระจันทร์เสี้ยว มี 1 เซล ไม่มีสี ผนังเรียบ มักเกิดอยู่ในกลุ่มสารเมือกเหลวสีครีม ส้ม แดง หรือน้ำตาล ลักษณะสำคัญอีกอย่างหนึ่งของรา genus นี้คือการสร้าง appressoria เกิดจากการงอกของ conidia มีสีน้ำตาล รูปร่างกลมหรือมีส่วนที่โป่งหรือยื่นออก (lobed) การจัดจำแนกของราในกลุ่มนี้อาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา เช่นลักษณะของสปอร์ การมีหรือไม่มี setae การสร้าง sclerotia ลักษณะของโคโลนีบนอาหารต่าง ๆ ในปัจจุบันมีการศึกษาทางด้านชีวโมเลกุลกันมากขึ้น โดยเปรียบเทียบลักษณะทางพันธุกรรมพบว่าลักษณะของราในกลุ่มนี้จะแตกต่างกันแต่ลักษณะบางชนิดก็จะมีลักษณะคล้ายคลึงและใกล้เคียงกันมากเมื่อตรวจดูลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ ในปัจจุบันนี้มีการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อมาใช้ในการจำแนกชนิด ซึ่งก็ทำให้การจำแนกชนิดของรามีความถูกต้องและแม่นยำมากขึ้น

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. สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคพืช

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

2. การแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืช

- ศึกษาลักษณะอาการของโรคและแยกเชื้อราโดยตรงจากเนื้อเยื่อพืช

ศึกษาลักษณะอาการของโรคและแยกเชื้อราโดยตรงจากชิ้นส่วนพืช ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo หรือ ทำ moist chamber บ่มที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ นาน 5-10 วัน เมื่อพบเชื้อราสร้างเส้นใยหรือ conidium ตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และใช้เข็มเขี่ยส่วนของเชื้อรามาวางบนสไลด์ หรือใช้ใบมีดตัดขวางชิ้นส่วนพืชให้บาง ๆ และตรวจดูลักษณะต่าง ๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound ถ่ายรูปลักษณะเชื้อและบันทึกลักษณะต่าง ๆ ของเชื้อ

- แยกเชื้อราโดยวิธี Tissue transplant

นำส่วนของพืชที่เป็นโรคมาตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 0.5x0.5 มิลลิเมตร ให้คาบต่อส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปรคลอไรท์ 10 % เป็นเวลา 3-5 นาที ล้างในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำไปซับบนกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้แห้ง แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหาร ½Potato Dextrose Agar, Potato Dextrose Agar, Malt Extract Agar, Corn Meal Agar หรือ water agar บ่มที่อุณหภูมิ 32±2 องศาเซลเซียส นาน 3-7 วัน แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ และเลี้ยงบนอาหาร PDA

3. ศึกษาลักษณะของเชื้อบนอาหารชนิดต่าง ๆ

นำรา *Colleotrichum* ที่แยกได้มาเลี้ยงบนอาหาร ½Potato Dextrose Agar, Potato Dextrose Agar, Malt Extract Agar, Corn Meal Agar, Oat meal agar หรือ water agar โดยบันทึกลักษณะต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

บันทึกอัตราการเจริญของเชื้อราบนอาหารชนิดต่าง ๆ ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ บันทึกสีของโคโลนีด้านบนและด้านล่างอาหารเลี้ยงเชื้อ รวมทั้งการสร้างเม็ดสี (pigment)

4. การจำแนกชนิดเชื้อราสาเหตุโรคพืช

- ศึกษารูปร่างลักษณะของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo และ compound microscope โดยตรวจดูลักษณะเส้นใย conidiophore และสปอร์ และศึกษาลักษณะของสปอร์และโครงสร้างอื่น ๆ ของเชื้อรา โดยการ mount slide ด้วยน้ำหรือ shear's solution
- ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อได้แก่ ลักษณะของเส้นใย ขนาด สี ลักษณะของสปอร์ conidiophore สี ขนาด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และ compound บันทึกขนาด รูปร่าง วาดภาพ และบันทึกภาพด้วยกล้องถ่ายภาพ และถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน (Scanning Electron Microscope)

5. เก็บรักษาสายพันธุ์ราและตัวอย่างแห้ง

เก็บรักษาราที่แยกได้ไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และเก็บรักษาไว้ใน Culture Collection และเก็บตัวอย่างแห้งโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์ โรคพืช ตึกอิงคศรีกสิการ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

6. การพิสูจน์การเกิดโรค

ทำการพิสูจน์การเกิดโรค โดยทำการปลูกเชื้อส่วนของพืช โดยทำแผลและไม่ทำแผล อย่างละ 10 ซ้ำ เปรียบเทียบกับการเกิดโรคบนส่วนที่ไม่ปลูกเชื้อด้วยวิธีเดียวกัน แยกเชื้อสาเหตุจากต้นที่แสดงอาการโรค เปรียบเทียบชนิดของราสาเหตุโรคใช้ในการปลูกเชื้อ

การเตรียม DNA จากเส้นใยของรา

7. การเตรียมเส้นใยของรา

เลี้ยงรา *Colletotrichum* บนอาหาร MEA (Malt extract agar) นาน 7-10 วัน หลังจาก

นั้นใช้เข็มเขี่ยเอาเส้นใยของรามาเลี้ยงในอาหารเหลว PDB (Potato dextrose broth) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ใน flask 250 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ นาน 7 วัน หลังจากนั้นนำราในอาหารเหลวมากรองด้วยกระดาษกรองนึ่งฆ่าเชื้อ และทำให้แห้งด้วยการดูดอากาศออกด้วยเครื่องดูดสัญญากาศ เก็บเส้นใยราที่แห้งด้วยหลอดและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำมาสกัด DNA

8. การสกัด DNA จากรา

นำรา *Colletotrichum* อย่างน้อย 5 genera 5 species อย่างละ 5 isolates ที่เก็บรักษาไว้
ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส มาสกัด DNA โดยใช้วิธีของ Crous และคณะ (2000)

9. <u>การเพิ่มปริมาณยีน Internal Transcribed Spacer โดยใช้เทคนิค PCR</u>

นำ DNA ของราที่แยกได้ในข้อ 13.2.3 มาทำ PCR โดยใช้ไพร์เมอร์ ITS1 (5'TTTCCGTAGGTGAACCTGC3') และ ITS4 (5'TCCTCCGCTTATTGATATGC)

- สังเคราะห์คู่ primer ITS1 และ ITS4 เพื่อทำการเพิ่มปริมาณของ rDNA ในช่วง ITS1-5.8S rDNA-ITS2-26SrDNA
- นำ DNA ของราทั้งหมดในข้อ 13.2.3 มาเพิ่มปริมาณของ rDNA ในช่วง ITS1-5.8S rDNA-ITS2-26SrDNA โดยใช้คู่ไพร์เมอร์ ITS1 และ ITS4 ด้วยวิธี PCR ประกอบด้วยส่วนผสมดังนี้

10X PCR buffer	6 ไมโครลิตร
25 mM $MgCl_2$	3 ไมโครลิตร
10 mM dNTP	1 ไมโครลิตร
ไพร์เมอร์ ITS1 (50 พิโคโมล / ไมโครลิตร)	1 ไมโครลิตร
ไพร์เมอร์ ITS4 (50 พิโคโมล / ไมโครลิตร)	1 ไมโครลิตร
Taq DNA Polymerase (5 ยูนิต / ไมโครลิตร)	0.25 ไมโครลิตร
น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ	28.75 ไมโครลิตร
สารละลาย DNA (50 นาโนกรัม / ไมโครลิตร)	10 ไมโครลิตร
รวมปริมาตร	50 ไมโครลิตร

- ส่วนของ β-tubulin นั้นเพิ่มปริมาณโดยใช้คู่ไพร์เมอร์ Bt2a และ Bt2b

นำส่วนผสมทั้งหมดผสมตามสัดส่วนลงในหลอด PCR ขนาด 0.2 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำหลอด PCR เข้าเครื่องเพิ่มปริมาณ DNA โดยมีรอบการทำปฏิกิริยา (Slippers *et al.,* 2004) ดังนี้

94 องศาเซลเซียส	5 นาที		1 รอบ
94 องศาเซลเซียส	1 นาที	50 วินาที	30 รอบ
52 องศาเซลเซียส	2 นาที		
72 องศาเซลเซียส	1 นาที		
72 องศาเซลเซียส	5 นาที		1 รอบ
4 องศาเซลเซียส	hold		

13.2.4 การวิเคราะห์หาลำดับเบสของยีน ITS1-5.8SrDNA-ITS2-26SrDNA

นำผลผลิตที่ได้จากข้อ 13.2.3 มาตรวจวิเคราะห์ผลด้วย electrophoresis บน 1% agarose gel ใน 0.5XTBE buffer โดยตัดแถบ DNA ที่เป็นยีนเป้าหมาย ภายใต้ UV transilluminator โดยใช้วิธีของ Slippers และคณะ (2004)

13.2.6 การเปรียบเทียบลำดับเบสของยีนที่นำมาศึกษาทั้งหมด

การเปรียบเทียบลำดับเบสของยีนที่นำมาศึกษาทั้งหมดไปวิเคราะห์เปรียบเทียบกับฐานข้อมูลที่มีรายงานอยู่ใน GenBank ในช่วงลำดับเบส 15 ITS rDNA และ 15 β-tubulin ซึ่งเป็นรา ในกลุ่ม *Colletotrichum* โดยนำมาเปรียบเทียบวิเคราะห์ความสัมพันธ์และการวิวัฒนาการด้วย PAUP (Phylogenetic Analysis Using Parsimony) version 4.0b8 โดย Swofford (2000)

เวลาและสถานที่

เวลา	เริ่มต้น – สิ้นสุด
	ตุลาคม 2553 – กันยายน 2556
สถานที่	- แหล่งพืชธรรมชาติ
	- แปลงปลูกพืชของเกษตรกร
	- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. เก็บรวบรวมตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากรา *Colletotrichum*

ผลการสำรวจรวบรวมและเก็บตัวอย่างสาเหตุโรคพืชที่เกิดจากรา *Colletotrichum* ได้ตัวอย่างโรคพืชทั้งหมด 36 ตัวอย่าง จากพืชทั้งหมด 9 ชนิด ในจังหวัดกำแพงเพชร กาญจนบุรี กรุงเทพฯ กำแพงเพชร จันทบุรี ฉะเชิงเทรา ชุมพร เชียงใหม่ นครปฐม นครนายก นครราชสีมา บุรีรัมย์ ระยอง ราชบุรี ศรีสะเกษ สระบุรี สมุทรสาคร สมุทรสงคราม สุโขทัย และ อุตรดิตถ์ ตัวอย่างโรคพืชที่รวบรวมได้ทั้งหมดนำมาศึกษาในห้องปฏิบัติการโดยการศึกษาราจากเนื้อเยื่อพืชโดยตรง การทำ moist chamber และโดยวิธีการแยกราจากเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรค ดังนี้

แก้วมังกร	กิ่ง (แอนแทรคโนส)	จันทบุรี ราชบุรี สมุทรสาคร สมุทรสงคราม ระยอง นครราชสีมา เชียงใหม่ นครปฐม
แก้วมังกร	ผล (ผลเน่าแอนแทรคโนส)	จันทบุรี ราชบุรี สมุทรสาคร ระยอง นครราชสีมา นครปฐม
มะม่วง	ใบ และผล	กรุงเทพฯ กำแพงเพชร นครราชสีมา ฉะเชิงเทรา
มะละกอ	ผล (แอนแทรคโนส)	สระบุรี ชุมพร
เล็บครุฑ	ใบ (ใบจุด)	กรุงเทพฯ

ชะพลู	ใบ (ใบจุด)	นครนายก
มะปราง	ใบ (ใบจุด)	นครนายก
หอมแดง	ใบ และ หัว (หอมเลื้อย แอนแทรคโนส)	อุตรดิตถ์ เชียงใหม่ ศรีสะเกษ บุรีรัมย์
พริก	ใบ ผล (แอนแทรคโนส)	กาญจนบุรี สุโขทัย อุตรดิตถ์
กล้วย	ผล (แอนแทรคโนส)	สุโขทัย

2. การศึกษารา *Colletotrichum* จากส่วนที่เป็นโรค และการจำแนกชนิด

ผลจากการศึกษาจำแนกชนิดเชื้อโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำแนกได้รา *Colletotrichum* จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ *Colletotrichum gloeosporioides* และ *C. capsici* และ *Colletotrichum* spp. 8 ชนิด (ตารางที่ 1) ซึ่งมีลักษณะของสปอร์คล้าย ๆ กัน ยังไม่สามารถจำแนกชนิดได้แยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษาการจำแนกชนิดของเชื้อในระดับ species และศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อต่อไป และตัวอย่างแห้งโรคพืชเก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์โรคพืชที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช ตึกอิงคศรีกสิการ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลการสำรวจรวบรวมและเก็บตัวอย่างสาเหตุโรคพืชที่เกิดจากรา *Colletotrichum* ได้ตัวอย่างโรคพืชทั้งหมด 36 ตัวอย่าง จากพืชทั้งหมด 9 ชนิด จำแนกชนิดเชื้อโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำแนกได้รา *Colletotrichum* จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ *Colletotrichum gloeosporioides* และ *C. capsici* และ *Colletotrichum* spp. 8 ชนิด (ตารางที่ 1) ซึ่งมีลักษณะของสปอร์คล้าย ๆ กัน ยังไม่สามารถจำแนกชนิดได้แยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษาการจำแนกชนิดของเชื้อในระดับ species และศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อต่อไป และตัวอย่างแห้งโรคพืชเก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์โรคพืชที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช ตึกอิงคศรีกสิการ

เอกสารอ้างอิง

นิพนธ์ วิสารทานนท์. 2535. โรคผลเน่าของมะม่วงและวิธีการควบคุมโรค. เคหการเกษตร. 16: 72-75’

Bailey, J.A. and M.J. Jeger. 1992. *Colletotrichum*: Biology, Pathology and Control. CAB International, Kew. 380P.

Sutton,B.C. 1980. The Coelomycetes Fungi Impefect with Pynidia Acervuli and Stromata. Commonwealth Agricultural Bureaux, England. 696 p.

Sutton,B.C. 1992. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotichum,* pp. 1-23. *In Colletotrichum*: Biology, Pathology and Control. Bailey, J.A. and M.J. Jeger (eds.) CAB International, Kew.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1: ชนิดของเชื้อ บนพืชอาศัยต่าง ๆ ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 – เดือนกันยายน 2554

ชนิดของเชื้อ	พืช	ส่วนของพืชที่เป็นโรค
Colletotrichum gloeosporioides, *Colletotrichum* sp.	แก้วมังกร	กิ่ง (แอนแทรคโนส)
Colletotrichum gloeosporioides, *Colletotrichum* sp.	แก้วมังกร	ผล (ผลเน่าแอนแทรคโนส)
Colletotrichum gloeosporioides	มะม่วง	ใบ และผล
Colletotrichum gloeosporioides	มะละกอ	ผล (แอนแทรคโนส)
Colletotrichum sp.	เล็บครุฑ	ใบ (ใบจุด)
Colletotrichum sp.	ชะพลู	ใบ (ใบจุด)
Colletotrichum sp.	มะปราง	ใบ (ใบจุด)
Colletotrichum gloeosporioides, *Colletotrichum* sp.	หอมแดง	ใบ และ หัว (หอมเลื้อย แอนแทรคโนส)
Colletotrichum gloeosporioides, *C. capsici*, *Colletotrichum* sp.	พริก	ใบ ผล (แอนแทรคโนส)
Colletotrichum gloeosporioides, *Colletotrichum* sp.	กล้วย	ผล (แอนแทรคโนส)

ชีววิทยาและ การแพร่กระจายของวัชพืชสกุลผักแว่น (*Marsilea*) และศักยภาพการเป็นวัชพืชของผักแว่นต่างถิ่น

Biology and Distribution of Water Clover (*Marsilea*) and Weedy Potential of Alien Water Clover.

ศิริพร ซึงสนธิพร ธัญชนก จงรักไทย

กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การสำรวจ รวบรวม ผักแว่นในพื้นที่ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ได้ตัวอย่างทั้งสิ้น 40 ตัวอย่าง แต่มีเพียง 2 ตัวอย่าง ที่สามารถระบุชนิดได้ทันที คือเป็นชนิด *Marsilea scalaripes* D.M. Johnson และ *M. crenata* C.Presl นอกนั้นต้องนำมาศึกษาต่อที่กลุ่มวิจัยวัชพืช

คำนำ

ผักแว่นเป็นเฟิร์นน้ำในวงศ์ Marsileaceae ซึ่งพืชในวงศ์ส่วนใหญ่ขึ้นในที่น้ำท่วมขังตื้นๆ หรือที่ชื้นแฉะ มีเพียงบางชนิดที่สามารถทนแล้งได้ดี หรือขึ้นในที่ที่มีช่วงระยะเวลาแห้งแล้งมากกว่าในช่วงหนึ่งปี มีเหง้าซึ่งมีลำต้นเลื้อยตามผิวดินหรือที่ต่ำกว่าผิวดินเล็กน้อย รากเกิดตามข้อ ใบตั้งตรงสลับกันเป็นสองแถวที่ด้านบนของลำต้น แตกแขนงตามซอกใบ ใบอ่อนม้วนงอ Eames (1936) สรุปว่าพืชในวงศ์นี้มีทั้งสิ้น 4 สกุล โดยหนึ่งสกุลเป็นฟอสซิล ส่วนที่พบในปัจจุบันมีเพียง 3 สกุลซึ่งมีลักษณะแตกต่างกัน ได้แก่

- สกุล *Pilularia* L. มีสมาชิก 6 ชนิด กระจายตัวในทวีปยุโรป ทวีปอเมริกา และแถบเหนือของทวีปแอฟริกา และออสเตรเลีย ซึ่งใบมีลักษณะเป็นแท่งปลายแหลม แผ่นใบไม่ปรากฏชัดเจน
- สกุล *Regnellidium* Lindman ซึ่งมีสมาชิกเพียง 1 ชนิดเท่านั้น คือ *Regnellidium diphyllum* Lindman ซึ่งมีถิ่นกำเนิดในบราซิล ลักษณะสำคัญคือใบย่อย 2 ใบ
- สกุล *Marsilea* L.เป็นสกุลที่ใหญ่ที่สุดของวงศ์นี้ มีสมาชิกประมาณ 45 ชนิด (Johnson, 1986) มีใบย่อยที่ปลาย 4 ใบ เป็นสกุลที่พบได้ทุกทวีปทั่วโลก ซึ่งอาฟริกาและออสเตรเลียมีความหลากหลายของพืชสกุลนี้มาก พืชในสกุลนี้มีความแตกต่างที่จำนวน รูปร่าง การเรียงตัวและการติดของส่วนขยายพันธุ์ หรือสปอโรคาร์ป

Gupta (1962) ระบุว่าพบพืชสกุล *Marsilea* L. ในจีน 3 ชนิด ได้แก่ *M. coromandelica* Burm. f., *M. quadrifolia* L. และ *M. sinensis* Hand.-Mzt. ในอินเดีย 9 ชนิด ได้แก่ *M. aegyptiaca* Willd., *M. brachycarpa* A. Br., *M. brachypus* A. Br., *M. condensate* Baker, *M.*

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-03-01-54

coromandelica Burm.f., *M. gracitenta* A. Br., *M. minuta* L., *M. Rajasthanensis* Gupta, และ *M. quadrifolia* และพบในพม่า 1 ชนิด ได้แก่ *M. brachycarpa* A. Br.

Johnson (1986) ศึกษาตัวอย่างแห้งของพืชสกุล *Marsilea* จากแหล่งต่างๆ ประมาณ 4,000 ชิ้น และตัวอย่างพืชสดจากแหล่งต่างๆ เป็นตัวแทนของพืชจำนวน 40 ประชากร นำมาปลูกและศึกษาลักษณะลักษณะ รูปร่าง ลักณะภายในหรือกายภาค นับจำนวนโครโมโซม และได้แบ่งพืชในสกุลนี้ที่นำมาศึกษาเป็น 3 หมู่ (section) ได้แก่

- หมู่ Marsilea พืชในกลุ่มนี้มีรากที่ข้อและปล้อง และมักมียอดเกิดที่ข้อ ที่ไม่แน่นนักหรืออาจมีเพียง 1-2 ใบ สปอโรคาร์ปติดอยู่บนก้านใบที่ตำแหน่งเหนือฐานก้านใบ ซึ่งก้านสปอโรคาร์ปจะแตกแขนงหรือไม่ก็ได้ สปอโรคาร์ปมีสันปรากฏ จำนวนกลุ่มอับสปอร์ 9-17. พืชในกลุ่มนี้ได้แก่ *Marsilea quadrifolia* L., *Marsilea minuta* L.

- หมู่ Clemys รากเกิดที่ปล้อง สปอโรคาร์ปเกิดบนก้านใบ 1-25 อัน ก้านสปอโรคาร์ปไม่แตกแขนง พืชในกลุ่มนี้ ในหนึ่งสปอโรคาร์ปมี 4-14 กลุ่มอับสปอร์ เช่น *Marsilea deflexa* A. Braun, *Marsilea polycarpa* Hooker & Greville., *Marsilea crotophora* D.M. Johnson.

- หมู่ Nodorhizae ในหนึ่งสปอโรคาร์ปมี 10-23 กลุ่มอับสปอร์ เช่น *Marsilea ancylopoda* A. Braun, *Marsilea oligospora* Gooddding.

M. scalaripes D.M. Johnson เป็นพืชในสกุลผักแว่น ที่ตั้งชื่อโดย D.M. Johnson ในปี 1988 จากตัวอย่างที่เก็บจากรัฐเคดาห์ ของมาเลเซีย ในปี 1941 ซึ่งเก็บโดย Corner ซึ่งตัวอย่างนี้เป็นตัวอย่างที่ไม่สมบูรณ์ อยู่ที่ British Museum ประเทศอังกฤษ (Johnson, 1988)

ในประเทศไทยพบพืชในวงศ์นี้เพียงสกุลเดียว คือ *Marsilea* และพืชที่รู้จักกันทั่วไปมีเพียงชนิดเดียวคือ ผักแว่น หรือผักลิ้นปี; *Marsilea crenata* C. Presl ซึ่งเป็นทั้งวัชพืชและผักพื้นเมือง สามารถพบได้ทั้งในนาข้าว หรือแม้แต่นาที่ปลูกพืชอื่นเป็นพืชหลังนา เช่น ถั่วเหลือง ในที่ชื้นแฉะ แหล่งน้ำที่ระดับน้ำไม่มากนัก หรือตามชายตลิ่งของแหล่งน้ำ ริมร่องสวน เป็นผักพื้นบ้าน รับประทานสดในหลายจังหวัด ทั้งภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (สถาบันแพทย์แผนไทย, 2541) ภาคกลาง (สถาบันแพทย์แผนไทย, 2542-ก) และภาคเหนือ (สถาบันแพทย์แผนไทย, 2542-ข) ของประเทศไทย

Holm *et al*. (1997) และ Waterhouse (1993) ได้รายงานว่าประเทศไทยมี *Marsilea quadrifolia* L. ซึ่งเป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดในทวีปยุโรป พบระบาดเป็นวัชพืชในหลายประเทศในเขตอบอุ่น นอกจากนี้ Waterhouse (1993) ยังได้ระบุว่าประเทศไทยมี *Marsilea minuta* L. ซึ่งเป็นวัชพืชในทวีปแอฟริกา

ผักแว่น เป็นเฟิร์นน้ำที่สามารถทนแล้งได้ดี ขึ้นเป็นวัชพืชทั่วไป เดิมในประเทศไทยพบเพียงชนิดเดียว ในปัจจุบันพบอีกชนิดที่เป็นพืชท้องถิ่นของไทย คือผักแว่นใบมัน; *M. scalaripes* D.M. Johnson พบในแหล่งน้ำไหลในจังหวัดปราจีนบุรี เป็นผักพื้นเมือง และมีศักยภาพเป็นไม้ประดับได้ (ศิริพร, 2550)

นอกจากนี้ยังมีการนำเข้าพืชสกุลนี้จากออสเตรเลีย เพื่อนำมาเป็นไม้ประดับ การศึกษาชนิดและการแพร่กระจายในประเทศไทย จะทำให้เกิดความชัดเจนถึงชนิดของพืชสกุลผักแว่นที่มีในประเทศไทย และศักยภาพการเป็นวัชพืชของพืชนำเข้าในสกุลนี้ด้วย

ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์ ดังนี้

1. เพื่อศึกษา สำรวจชนิด การแพร่กระจาย การระบาด ของพืชสกุลผักแว่นในประเทศไทย
2. ศึกษาชีววิทยา นิเวศวิทยาของวัชพืชสกุลผักแว่น
3. เพื่อรวบรวมตัวอย่างวัชพืช สำหรับการอ้างอิง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- การสำรวจได้แก่ แผนที่ สมุดบันทึก กรรไกร ถุงพลาสติก ปากกาเขียนพลาสติก หรือกระดาษป้ายชื่อ และกล้องถ่ายภาพ

- อุปกรณ์สำหรับปลูกพืชทดสอบและสารเคมี ได้แก่ กระถาง ดิน ป้ายกำกับการทดลอง ปุ๋ย และสารเคมีกำจัดศัตรูพืช

- 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

1. สำรวจผักแว่นตามสภาพนิเวศน์ที่เหมาะสม คือแหล่งน้ำ หรือที่ชื้นแฉะ ศึกษาสภาพพื้นที่ ลักษณะสปอโรคาร์ป และเก็บตัวอย่างสด นำมาปลูกเพื่อศึกษารายละเอียดเพิ่มเติม ที่กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร

2. การตรวจสอบชนิด เนื่องจากพืชในสกุลนี้จะมีลักษณะของสปอโรคาร์ปแตกต่างกัน เช่น ตำแหน่ง รูปร่าง จำนวน เป็นต้น ดังนั้น หากไม่สามารถระบุชนิดได้ทันที ต้องนำมาปลูกและรอจนกว่าพืชจะสร้างสปอโรคาร์ป จึงทำการเก็บพืชที่มีการสร้างสปอโรคาร์ปแล้วมาจัดทำตัวอย่างแห้ง และตรวจสอบชนิดต่อไป

3. การศึกษาศักยภาพการเป็นวัชพืชของผักแว่นต่างถิ่น โดยการจากเอกสาร ข้อมูล และประเมินโดยวิธีการประเมินศักยภาพของออสเตรเลีย ซึ่งพัฒนาโดย Dr Paul Pheloung ประกอบกับข้อมูลที่สังเกตุจากเจริญเติบโตในประเทศไทย หากข้อมูลใดขาด อาจศึกษาเพิ่มเติมโดยการทดลอง

4. การตรวจสอบชนิดพืชโดยการเทียบกับตัวอย่างพันธุ์ไม้ในพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพ อาคารพิพิธภัณฑ์พืชสิรินธร กรมวิชาการเกษตร หรือหอพรรณไม้ กรมอุทยาน พรรณพืชและสัตว์ป่า และ/หรือ ตรวจสอบกับเอกสารเกี่ยวกับวัชพืช และพืชพรรณต่างๆ

เวลาสถานที่

ตุลาคม 2553 - กันยายน 2554 ที่ กลุ่มวิจัยวัชพืช และอาคารพิพิธภัณฑ์พืชสิรินธร กรมวิชาการเกษตร หรือหอพรรณไม้ กรมอุทยาน พรรณพืชและสัตว์ป่า

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจในภาคเหนือ ตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลางและภาคใต้ ซึ่งพบผักแว่นที่มีการสร้างสปอโรคาร์ปแล้ว ทำให้สามารถระบุชนิดได้ทันที จำนวนสองแห่ง คือที่ ตำบลบ้านเสียว อำเภอนาหว้า จังหวัดนครพนม ซึ่งเป็นผักแว่นใบมัน (*Marsilea scalaripes* D.M.Johnson) (พิกัด N 17.55125 E 104.07374) (ภาพที่ 1) ซึ่งมีสปอโรคาร์ปกลมดำที่ก้านใบ (ภาพที่ 2) และตัวอย่างที่ตำบลบ้านใหม่ อำเภอครบุรี จังหวัดนครราชสีมา (พิกัด N14.49342 E102.28408) (ภาพที่ 3) ซึ่งเป็นชนิด *Marsilea crenata* C.Presl) L. ซึ่งสร้างสปอโรคาร์ปรูปไต เป็นกลุ่มใหญ่ที่โคนใบ (ภาพที่ 4) ส่วนที่เหลือ 40 ตัวอย่างไม่มีการสร้างสปอโรคาร์ป ต้องนำมาศึกษาการสร้างสปอโรคาร์ปที่เรือนทดลองของกลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ภาพที่ 1 ลักษณะผักแว่นใบมัน (*M. scalaripes* D.M.Johnson)

ภาพที่ 2 ลักษณะสปอโรคาร์ปของผักแว่นใบมัน

ภาพที่ 3 ลักษณะผักแว่น ชนิด *Marsilea crenata* C.Presl

ภาพที่ 4 ลักษณะสปอโรคาร์ปของผักแว่น (*M. crenata* C.Presl)

เอกสารอ้างอิง

Gupta, K.M.. 1962. Botanical Monograph No.2 Marsilea. Council of Scientific & Industrial Research, New Delhi. 113p.

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

Johnson. D.M. 1986. Systematics of the New World Species of Marsilea (Marsileaceae). Systematic Botany Monographs vol.11. The American Society of Plant Taxonomists. USA.87p.

Johnson. D.M. 1988. *Marsilea scalaripes*, A New Member of Marsilea section Clemys from the Asian Tropics. American Fern Journal 78(2): 68-71.

Waterhouse, D. F. 1993. The major invertebrate pests and weeds of agriculture in Southeast Asia. The Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra. 141 pp. cited by http://www.hear.org/Pier/species/ marsilea_minuta.htm (2006)

ชีววิทยาและการแพร่ระบาดของหญ้าอีหนาว; *Digera muricata* (L.) Mart.

Biology and Distribution of False Amaranth; *Digera muricata* (L.) Mart.

ศิริพร ซึงสนธิพร ธัญชนก จงรักไทย กลอยใจ คงเจี้ยง

กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาชีววิทยาและการแพร่ของหญ้าอีหนาว พบการแพร่ระบาดในพื้นที่จังหวัดนครพนม เพชรบูรณ์ ลพบุรี และสระบุรี เมื่อนำเมล็ดมาศึกษาการงอกในจานรองแก้ว โดยการแช่น้ำ ไม่พบเมล็ดงอก และอยู่ระหว่างการทดสอบการงอกด้วยการแช่น้ำร้อน แช่กรด และการบดให้เมล็ดแตก ส่วนการงอกในดินโดยไม่มีการแช่น้ำ มีจำนวนต่ำมาก ส่วนการศึกษาการเจริญเติบโตและการแข่งขันกับพืชปลูก (ข้าวโพด และผักบุ้ง) อยู่ระหว่างการดำเนินการซ้ำ เนื่องจากการทดลองได้รับความเสียหายเนื่องจากถูกน้ำท่วม

คำนำ

วัชพืชร้ายแรงหลายชนิดสามารถสร้างเมล็ดจำนวนมาก เมล็ดมีการพักตัวเมื่อสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม หรือมีอายุยาว นอกจากนี้หลายชนิดยังมีขนาดเล็ก ยากต่อการตรวจสอบ หรือมีขนาดใกล้เคียงกับเมล็ดพืชปลูก ทำให้แยกออกจากเมล็ดพันธุ์พืชปลูกได้ยาก (Muenscher, 1980)

การปนเปื้อนของเมล็ดวัชพืชในเมล็ดพันธุ์พืช เป็นสาเหตุหนึ่งของแพร่ระบาดของวัชพืชในแปลงพืชปลูก คำแนะนำในการป้องกันวัชพืชจึงมักแนะนำให้ใช้เมล็ดพันธุ์ที่ปราศจากเมล็ดวัชพืชเจือปน เช่น เกษตรดีที่เหมาะสมสำหรับข้าวนาสวนนาน้ำฝน การปลูกข้าวแบบบูรณาการ คำแนะนำการป้องกันกำจัดวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืช ในการค้าระหว่างประเทศก็เช่นกัน ประเทศผู้นำเข้าได้กำหนดให้มีการจัดการ หรือการตรวจรับรองว่าสินค้าที่ส่งไปนั้นไม่มีเมล็ดวัชพืชติดไป เช่น ข้อตกลงร่วมการนำเข้าลำไยและลิ้นจี่จากประเทศไทย

หญ้าอีหนาว (*Digera muricata*) เป็นวัชพืชในวงศ์ผักโขม ที่อาจมีถิ่นกำเนิดในทวีปแอฟริกา เพิ่งพบรายงานในประเทศไทย เมื่อ 2550 ในเอเชียพบในปากีสถาน อินเดีย (ศิริพร, 2550) ยังขาดข้อมูลชีวิทยาและการแพร่กระจายในประเทศไทย

ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชีววิทยา นิเวศวิทยา การแพร่ระบาดของวัชพืชหญ้าอีหนาว

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-03-02-54

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- การสำรวจได้แก่ แผนที่ สมุดบันทึก กรรไกร ถุงพลาสติก ปากกาเขียนพลาสติก หรือกระดาษป้ายชื่อ และกล้องถ่ายภาพ

- อุปกรณ์สำหรับปลูกพืชทดสอบและสารเคมี ได้แก่ กระถาง ดิน ป้ายกำกับการทดลอง ปุ๋ยและสารเคมีกำจัดศัตรูพืช

- 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

1. สำรวจการแพร่กระจายของหญ้าอีหนาวในพื้นที่ต่างๆ เมื่อพบจดบันทึกพิกัด และบันทึกรายละเอียดอื่นๆ เช่น สภาพพื้นที่ ชนิดพืชข้างเคียง เป็นต้น

2. การงอกของเมล็ด เก็บรวบรวมเมล็ดแก่ของหญ้าอีหนาว นำมาทดสอบการงอกในห้องปฏิบัติการ โดยการเพาะในจานแก้ว ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 11 เซนติเมตร และทดสอบในเรือนทดลอง

3. การเจริญเติบโต นำเมล็ดหญ้าอีหนาวมาโรยในกระถางพลาสติก (ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 25 เซนติเมตร) จำนวน 10 กระถาง เมื่องอกแล้ว ถอนออกและเหลือต้นที่แข็งแรงที่สุดไว้เพียงต้นเดียว บันทึกความสูงและจำนวนกิ่งก้านทุกสัปดาห์

4. การแข่งขันกับพืชปลูก นำเมล็ดข้าวโพดและหญ้าอีหนาวมาหว่านในกระถางปูนขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 45 เซนติเมตร โดยมีจำนวนต้นข้าวโพดและหญ้าอีหนาวแปรเปลี่ยน แต่มีจำนวนรวมคงที่เท่ากับ 5 ต้น จดบันทึกการเจริญเติบโตของพืชทั้งสองชนิดทุก 10 วัน จนกว่าจะเก็บเกี่ยว

เวลาสถานที่

ตุลาคม 2553 - กันยายน 2554 ที่ เรือนทดลองของกลุ่มวิจัยวัชพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การแพร่กระจาย ผลการสำรวจพบหญ้าอีหนาวในแปลงข้าวโพด ทานตะวัน และพืชผักในพื้นที่จังหวัดสระบี และแปลงผักหลายชนิดในจังหวัดนครพนม ซึ่งทั้งหมดมีสภาพเป็นไร่ มีความชื้นมาก ยกเว้นในแปลงข้าวโพดหลังเก็บเกี่ยว

2. การงอกของเมล็ด การทดสอบการงอกของหญ้าอีหนาวในห้องปฏิบัติการ โดยการแช่น้ำและเพาะในจานแก้ว ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 11 เซนติเมตร จานละ 50 เมล็ด บันทึกจำนวนเมล็ดงอกทุกสัปดาห์ ปรากฏว่าหญ้าอีหนาวไม่งอกเลย ขณะนี้อยู่ระหว่างการทดลองปัจจัยการงอกอื่นๆ เช่น น้ำร้อน การอบ และการทำให้เมล็ดแตก และการงอกในสภาพเรือนทดลอง พบเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำมาก

3. **การเจริญเติบโต** อยู่ระหว่างการศึกษาซ้ำ เนื่องจากการทดลองเดิมได้รับความเสียหายเนื่องจากถูกน้ำท่วม

4. **การแข่งขันกับพืชปลูก** อยู่ระหว่างการศึกษาซ้ำ เนื่องจากการทดลองเดิมได้รับความเสียหายเนื่องจากถูกน้ำท่วม

เอกสารอ้างอิง

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.

Muenscher, W.C. 1980. Weeds 2nd ed. Cornell University Press. USA. 586p.

สัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชวงศ์ผักโขม Amaranthaceae

Seed Morphology of Amaranthaceae Weed.

ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย [1/]

ศิริพร ซึงสนธิพร[1/] **ธัญชนก จงรักไทย**[1/] **กาญจนา พฤกษพันธ์**[2/]

[1/] **กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

[2/] **กลุ่มวิจัยเพื่อการคุ้มครองพันธุ์พืช สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช**

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาสัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชวงศ์ผักโขม Amaranthaceae มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานเมล็ดวัชพืชชนิดต่างๆ ในวงศ์ผักโขม และรวบรวมตัวอย่างวัชพืช และเมล็ดวัชพืช สำหรับการอ้างอิงในการศึกษา พบ ตัวอย่างแห้งในพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพสิรินธร ของวัชพืชในวงศ์ผักโขม คือ *Deeringia amaranthoides* (Lam.) Merr., *Deeringia polysperma* Roxb.Moq., *Amaranthus hybridus, Amaranthus viridis., Amaranthus spinosus*., *Amranthus tricolor, Amaranthus lividus*., *Amaranthus gracilis Desf. Amaranthus deflexus. Achyranthes aspera* L., *Alternanthera bettzickiana* (Regel) Nichols., *Alternanthera sessilis* (L.) DC., *Celosia argentea* L., *Gomphrena celosioides* Mart., *Gomphrena globosa* L. การตรวจสอบตัวอย่างแห้งในพิพิธภัณฑ์พืชของมหาวิทยาลัยขอนแก่น พบวัชพืชในวงศ์ผักโขม คือ *Aerva sanguinolenta*, *Alternanthera pungens Kunth*., *Alternanthera bettzickiana* (Regel) Nichols., *Alternanthera sessilis* (L.) DC., *Achyranthes bidentata*., *Achyranthes aspera., Achyranthes* sp.,*Celosia argentea* L., *Gomphrena celosioides* Mart., *Gomphrena globosa* L. และจากการสำรวจเมล็ดวัชพืชวงศ์ผักโขมในจังหวัดต่างๆ ทั้งในพื้นที่ทำการเกษตร และไม่ทำการเกษตร พบ วัชพืชวงศ์ผักโขม คือ *Achyranthes aspera* L., *Alternanthera bettzickiana* (Regel) Nichols., *Alternanthera sessilis* (L.) DC., *Alternanthera pungens*,. *Amaranthus spinosus* L., *Amaranthus viridis* L., *Celosia argentea* L., *Gomphrena celosioides* Mart., *Gomphrena globosa* L. และยังมีส่วนที่ยังไม่สามารถจำแนกได้ ซึ่งอยู่ในขั้นตอนการปลูกและเก็บเมล็ดเพื่อจำแนกชื่อต่อไป

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-03-03-54

คำนำ

เมล็ดวัชพืช เป็นส่วนขยายพันธุ์ที่มีสามารถถูกเคลื่อนย้ายโดยกิจกรรมของมนุษย์ จะโดยความตั้งใจหรือไม่ก็ตาม จะทำให้วัชพืชนั้นสามารถเจริญเติบโตในที่ใหม่และอาจกลายเป็นวัชพืชร้ายแรง ทำให้เกิดความเสียหายต่อความหลากหลายทางชีวภาพและเศรษฐกิจได้ การปนเปื้อนของเมล็ดวัชพืชในสินค้าเกษตรในการค้าระหว่างประเทศ ทำให้เกิดความเสียหายอย่างมาก การแก้ไข หรือตอบโต้ จำเป็นต้องมีการพิสูจน์ ตรวจวิเคราะห์ชนิดจำเป็นต้องใช้ตัวอย่างเมล็ดในการยืนยัน ตัวอย่างเมล็ดวัชพืชและคู่มือการตรวจสอบจึงเป็นสิ่งสำคัญ ในการตอบข้อสงสัยหรือตอบโต้ข้อกล่าวหาในการค้าระหว่างประเทศ Larsen (1992) รายงานว่าพืชที่พบทั่วไปในประเทศไทย เช่น พืชในกลุ่มผักโขม (Amaranthus) กลับมีตัวอย่างพืชน้อยมาก การที่เป็นเช่นนี้ อาจเนื่องจากการศึกษาเกี่ยวกับพืช โดยนักอนุกรมวิธาน มักมุ่งเน้นที่พืชท้องถิ่นหรือพืชพรรณที่อยู่ตามธรรมชาติในป่าเขา มากกว่าในพื้นที่การเกษตร ดังนั้นข้อมูลและตัวอย่างพืชที่พบในพื้นที่การเกษตรจึงมีน้อยมากจากรายชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย (เต็ม สมิตินันท์, 2544) มีรายชื่อพืชในวงศ์นี้ถึง 22 ชนิด แต่พบตัวอย่างแห้งในพิพิธภัณฑ์พืชต่าง ๆ ในประเทศไทยน้อย จึงจำเป็นต้องมีการศึกษารวบรวม เพื่อเป็นข้อมูลพื้นในการสืบค้นต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างเมล็ด
2. สารเคมีกันเชื้อรา สำหรับชุบตัวอย่างพืชแห้ง
3. ขวดแก้วสำหรับเก็บตัวอย่างเมล็ด
4. กล้องดิจิตอล และอุปกรณ์พ่วงต่อที่จำเป็นสำหรับบันทึกภาพและการเก็บรวบรวมข้อมูลเป็นระบบดิจิตอล
5. เครื่องคอมพิวเตอร์ เพื่อการรวบรวมข้อมูล

วิธีการทดลอง

ทำการทดลองโดยวิธีการสำรวจ บันทึกภาพ และตรวจสอบความถูกต้อง

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

1) ตรวจสอบชนิดและการแพร่กระจายวัชพืชวงศ์ผักโขม จากตัวอย่างพรรณไม้แห้งในพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพ หอพรรณไม้ และพิพิธภัณฑ์พืชศาสตราจารย์กสิน สุวตะพันธ์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2) สำรวจรวบรวมตัวอย่างพืชสด และเมล็ดในพื้นที่ภาคกลาง ภาคเหนือ และภาคตะวันออก-เฉียง เหนือ และจัดทำตัวอย่างแห้ง

3) นำตัวอย่างพืชสดที่ไม่ยังไม่สามารถระบุชนิด และยังขาดลักษณะจะระบุชนิดได้ ปลูกในกระถาง ที่กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เพื่อศึกษารายละเอียดเพิ่มเติม

4) ตรวจสอบชนิด โดยการเทียบกับตัวอย่างแห้ง และเอกสาร

5) เปรียบเทียบลักษณะเมล็ดของตัวอย่างพืชที่ได้ เช่น ลักษณะสี ขนาด รูปร่าง เพื่อจัดทำคู่มือ

6) จัดทำรายงานและฐานข้อมูล

- การบันทึกข้อมูล

บันทึกในรูปแบบฐานข้อมูล ที่สามารถสืบค้นได้

เวลาและสถานที่

ทำการทดลองระหว่างเดือน ตุลาคม 2553 ถึง กันยายน 2554 ที่กลุ่มวิจัยวัชพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาวัชพืชวงศ์ผักโขม โดยการตรวจสอบตัวอย่างแห้งในพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพสิรินธร พบวัชพืชในวงศ์ผักโขม *คือ Deeringia amaranthoides* (Lam.) Merr., *Deeringia polysperma* Roxb.Moq., *Amaranthus hybridus, Amaranthus viridis., Amaranthus spinosus*., *Amranthus tricolor, Amaranthus lividus*., *Amaranthus gracilis Desf. Amaranthus deflexus. Achyranthes aspera* L., *Alternanthera bettzickiana* (Regel) Nichols., *Alternanthera sessilis* (L.) DC., *Celosia argentea* L., *Gomphrena celosioides* Mart., *Gomphrena globosa* L. การตรวจสอบตัวอย่างแห้งในพิพิธภัณฑ์พืชของมหาวิทยาลัยขอนแก่น พบวัชพืชในวงศ์ผักโขม *คือ Aerva sanguinolenta*, *Alternanthera pungens Kunth*., *Alternanthera bettzickiana* (Regel) Nichols., *Alternanthera sessilis* (L.) DC., *Achyranthes bidentata*., *Achyranthes aspera., Achyranthes* sp.,*Celosia argentea* L., *Gomphrena celosioides* Mart., *Gomphrena globosa* L.

และจากการสำรวจเมล็ดวัชพืชวงศ์ผักโขมในจังหวัดต่างๆ ทั้งในพื้นที่ทำการเกษตร และไม่ทำการเกษตร พบ วัชพืชวงศ์ผักโขม คือ *Achyranthes aspera* L., *Alternanthera bettzickiana* (Regel) Nichols., *Alternanthera sessilis* (L.) DC., *Alternanthera pungens*,. *Amaranthus spinosus* L., *Amaranthus viridis* L., *Celosia argentea* L., *Gomphrena celosioides* Mart., *Gomphrena globosa* L. และยังมีส่วนที่ยังไม่สามรถจำแนกได้ ซึ่งอยู่ในขั้นตอนการปลูกและเก็บเมล็ดเพื่อจำแนกชื่อต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการศึกษาวัชพืชวงศ์ผักโขมโดยการสำรวจเมล็ดวัชพืชวงศ์ผักโขมในจังหวัดต่างๆ ทั้งในพื้นที่ทำการเกษตร และไม่ทำการเกษตร พบ วัชพืชวงศ์ผักโขม คือ *Achyranthes aspera* L., *Alternanthera bettzickiana* (Regel) Nichols., *Alternanthera sessilis* (L.) DC., *Alternanthera pungens*,. *Amaranthus spinosus* L., *Amaranthus viridis* L., *Celosia argentea* L., *Gomphrena celosioides* Mart., *Gomphrena globosa* L. และยังมีส่วนที่ยังไม่สามรถจำแนกได้ ซึ่งอยู่ในขั้นตอนการปลูกและเก็บเมล็ดเพื่อจำแนกชื่อต่อไป

เอกสารอ้างอิง

เต็ม สมิตินันท์. 2544. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2544. ส่วนพฤกษศาสตร์ป่าไม้ สำนักวิชาการป่าไม้ กรมป่าไม้. กรุงเทพฯ. 810 หน้า.

Larsen, K. 1992. Amaranthaceae in Flora of Thailand. Vol. 5 Part 4 : 375 - 409

สัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชสกุลน้ำนมราชสีห์ *Euphorbia*

Seed Morphology of *Euphorbia* Weeds.

ธัญชนก จงรักไทย[1/] ศิริพร ซึงสนธิพร[1/] ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย[1/] กลอยใจ คงเจี้ยง[2/] และ กาญจนา พฤกษพันธ์[3/]

[1/] กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]กลุ่มวิชาการ สำนักวิจัยพัฒนาการเกษตรเขตที่ 8

[3/]กลุ่มวิจัยเพื่อการคุ้มครองพันธุ์พืช กลุ่มคุ้มครองพันธุ์พืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาสัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชสกุลน้ำนมราชสีห์ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานเมล็ดวัชพืชชนิดต่างๆ ในสกุลน้ำนมราชสีห์ และรวบรวมตัวอย่างวัชพืช และเมล็ดวัชพืช สำหรับการอ้างอิงในการศึกษา ซึ่งอยู่ในระหว่างการทดลองซึ่งยังไม่สิ้นสุดระยะเวลา ผลที่ได้จากการศึกษา พบ ตัวอย่างแห้งในพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพสิรินธร พืชในสกุลน้ำนมราชสีห์ คือ *Euphobia sieboldiona* Morr.et Decne ; *Euphobia sessiliflora* Roxb ; *Euphobia serpens* Kunth ; *Euphobia thymilifolia* L. ; *Euphobia tirucalli* ; *Euphobia heterophylla* L. ; *Euphobia hirta* L. และในพิพิธภัณฑ์พืชของมหาวิทยาลัยขอนแก่น พืชในสกุลน้ำนมราชสีห์ (Euphobia) คือ *Euphobia thymilifolia* L. ; *Euphobia heterophylla* L. ; *Euphobia hirta* L. ; *Euphobia Milli* L. และจากการสำรวจวัชพืชในจังหวัดต่างๆ ทั้งในพื้นที่การเกษตร และไม่ทำการเกษตร พบ คือ *Euphobia thymilifolia* L. ; *Euphobia heterophylla* L. ; *Euphobia hirta* L. ; *Euphobia bifida* Hook. & Arn. และยังมีส่วนที่ยังอยู่ระหว่างการจำแนกโดยอยู่ในขั้นตอนการปลูก และเก็บเมล็ดเพื่อจำแนกชื่อ และถ่ายภาพต่อไป

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-03-04-54

คำนำ

เมล็ดวัชพืช เป็นส่วนขยายพันธุ์ที่มีสามารถถูกเคลื่อนย้ายโดยกิจกรรมของมนุษย์ จะโดยความตั้งใจหรือไม่ก็ตาม จะทำให้วัชพืชนั้นสามารถเจริญเติบโตในที่ใหม่และอาจกลายเป็นวัชพืชร้ายแรง ทำให้เกิดความเสียหายต่อความหลากหลายทางชีวภาพและเศรษฐกิจได้ การปนเปื้อนของเมล็ดวัชพืชในสินค้าเกษตรในการค้าระหว่างประเทศ ทำให้เกิดความเสียหายอย่างมาก การแก้ไข หรือตอบโต้จำเป็นต้องมี การพิสูจน์ ตรวจวิเคราะห์ชนิดจำเป็นต้องใช้ตัวอย่างเมล็ดในการยืนยัน ตัวอย่างเมล็ดวัชพืชและคู่มือการตรวจสอบจึงเป็นสิ่งสำคัญ ในการตอบข้อสงสัยหรือตอบโต้ข้อกล่าวหาในการค้าระหว่างประเทศ

เมล็ดวัชพืชเป็นส่วนสำคัญของต้นวัชพืช เพราะทำหน้าที่เป็นส่วนขยายพันธุ์ หากเรารู้จักลักษณะและสัณฐานวิทยาของวัชพืชแล้วจะสามารถช่วยลดการระบาด และแพร่กระจายโดยการปนเปื้อนไปกับเมล็ดพันธุ์ของพืชปลูก วัสดุปลูก และอุปกรณ์ทางการเกษตรได้ นอกจากนี้ยังสามารถใช้เป็นคู่มือในการสำรวจชนิดและจำนวนเมล็ดของวัชพืชที่อยู่ในดินในฤดูปลูก เพื่อคาดคะเนถึงผลเสียหายที่จะเกิดขึ้นและสามารถเลือกวิธีจัดการได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป (ดวงพร และรังสิต, 2544)

พืชวงศ์เปล้า (Euphorbiaceae) เป็นวงศ์ที่มีการกระจายตัวทั่วโลก คาดว่ามีทั้งสิ้นประมาณ 300 สกุล 5,000 ชนิด ในประเทศไทยมีพืชวงศ์นี้ 87 สกุล ประมาณ 425 ชนิด (Kongkanda and Van Welzen, 2005) วัชพืชสำคัญในสกุล Euphorbia มีหลายชนิด เช่น หญ้ายาง ใบต่างดอก ลูกเขยตายแม่ยายทำศพ (*Euphorbia heterophylla* L.) น้ำนมราชสีห์ นมราชสีห์ ผักโขมแดง หญ้าน้ำหมึก หญ้าหลังอิ่ง (*Euphorbia hirta* L.) (Noda et al., 1994) น้ำนมราชสีห์ทะเล มะพร้าวนกเขา (*Euphorbia atoto* G.Forst.) หญ้ารก (*Euphorbia prostrata* Aiton) น้ำนมราชสีห์เล็ก (*Euphorbia serpens* Kunth) น้ำนมราชสีห์เล็ก (*Euphorbia thymifolia* L.) (ส่วนพฤกษศาสตร์, 2544)

อุปกรณ์และวิธีการ

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 กล้องถ่ายภาพ กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำแบบใช้แสง เข็มเขี่ย ปากคีบ หนังสือคู่มือการจำแนกพรรณไม้ต่างๆ

วิธีการ

สำรวจวัชพืช ในพื้นที่ทำการเกษตร และนอกพื้นที่ทำการเกษตร ในพื้นที่ที่สามารถเข้าถึงโดยรถยนต์ หรืออยู่ในระยะที่สามารถเดินเข้าถึงได้ การสำรวจโดยเดินตามแนวตั้งฉากกับด้านยาวของแปลงอย่างน้อย 3 แนว หากเป็นแปลงขนาดใหญ่เดินตามแนวทแยงมุม จดบันทึกวัชพืชที่พบ จนกว่าจะไม่พบชนิดใหม่เพิ่มเติม สำหรับวัชพืชที่ไม่สามารถระบุชนิดได้ นำตัวอย่างสดมาศึกษารายละเอียดเพิ่มเติม ที่กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร

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

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2553 - กันยายน 2554 ที่ กลุ่มวิจัยวัชพืช และอาคารพิพิธภัณฑ์พืชสิรินธร กรมวิชาการเกษตร หรือหอพรรณไม้ กรมอุทยาน พรรณพืชและสัตว์ป่า

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาสัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชสกุลน้ำนมราชสีห์ ระยะเวลา 1 ปี (ปีงบประมาณ 2554) พบ ตัวอย่างแห้งในพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพสิรินธร พืชในสกุลน้ำนมราชสีห์ คือ *Euphobia sieboldiona* Morr.et Decne ; *Euphobia sessiliflora* Roxb ; *Euphobia serpens* Kunth ; *Euphobia thymilifolia* L. ; *Euphobia tirucalli* ; *Euphobia heterophylla* L. ; *Euphobia hirta* L. และในพิพิธภัณฑ์พืชของมหาวิทยาลัยขอนแก่น พืชในสกุลน้ำนมราชสีห์ (Euphobia) คือ *Euphobia thymilifolia* L. ; *Euphobia heterophylla* L. ; *Euphobia hirta* L. ; *Euphobia Milli* L. และพบวัชพืชสกุลน้ำนมราชสีห์ จากการสำรวจวัชพืชในจังหวัดต่างๆ ทั้งในพื้นที่การเกษตร และไม่ทำการเกษตร พบ คือ *Euphobia thymilifolia* L. ; *Euphobia heterophylla* L. ; *Euphobia hirta* L. ; *Euphobia bifida* Hook. & Arn. และยังมีส่วนที่ยังอยู่ระหว่างการจำแนก โดยอยู่ในขั้นตอนการปลูก และเก็บเมล็ดเพื่อจำแนกชื่อ และถ่ายภาพต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ดวงพร สุวรรณกุล และรังสิต สุวรรณเขตนิคม. 2544. สัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชในประเทศไทย. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 146 หน้า.

ส่วนพฤกษศาสตร์ป่าไม้ สำนักวิชาการป่าไม้ กรมป่าไม้. 2544. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย เต็ม สมิตินันทน์ ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม. หน้า 74.

Kongkanda Chayamarit and Perer C. Van Welzen. 2005. Euphorbiaceae. Flora of Thailand Vol.8 part 1.

Noda, K., Teerawatsakul, M., Prakongvongs, C., and 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. 164 p.

จำแนกชนิดวัชพืชในพืชสมุนไพร 10 พืช

Identification of Weed Species in 10 Medicinal Plants.

เพ็ญศรี นันทสมสราญ[1/] ภัทร์พิชชา รุจิรพงศ์ชัย[1/]
คมสัน นครศรี[1/] วินัย สมประสงค์[2/] และ บดินทร สอนสุภาพ[2/]
[1/] กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยคุ้มครองพันธุ์พืช สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช

รายงานความก้าวหน้า

การจำแนกชนิดวัชพืชในพืชสมุนไพร 10 พืช ได้แก่ กระเจี๊ยบแดง กวาวเครือขาว พริกไทย หม่อน บัวบก ไพล ขมิ้นชัน ฟ้าทะลายโจร กระชายดำ ชุมเห็ดเทศ โดยการสำรวจวัชพืชด้วยวิธีการแบบ Unrestricted Sampling Method (Anonymous, 1982) ในแต่ละแปลงปลูกเก็บวัชพืชอย่างน้อยจำนวน 4-8 กรอบ หรือมากกว่าโดยแต่ละกรอบมีขนาด 50X50 ซม.พบว่า โดยส่วนใหญ่วัชพืชประเภทใบกว้างมีความเด่นด้วยค่าของ sum dominant ratio เพราะในพืชสมุนไพรมีร่มเงาและมีความชื้น โดยน้ำนมราชสีห์(*Euphorbia hirta* L.)เป็นวัชพืชประเภทใบกว้างที่เด่นในพืชบัวบก ส่วนแห้วหมู (*Cyperus rotundus* L.)เป็นวัชพืชประเภทกกที่เด่นในกวาวเครือขาว ลูกใต้ใบ(*Phylanthus niruri* L.)เป็นวัชพืชประเภทใบกว้างที่เด่นในกระเจี๊ยบแดง ผักปราบ(*Commelina diffusa* Burm.f.) เป็นวัชพืชประเภทใบกว้างที่เด่นในหม่อน และผักเสี้ยนผี(*Cleome viscosa* L.)เป็นวัชพืชประเภทใบกว้างที่เด่นในพริกไทย

คำนำ

พืชสมุนไพรเป็นพืชที่มีศักยภาพ ที่ประชาชนทุกแขนงให้ความสนใจในความรู้ มีการตื่นตัวนำมาใช้ประโยชน์อย่างมากและกว้างขวางในหลากหลายรูปแบบ (ศูนย์ศึกษาการพัฒนาเขาหินซ้อน ,2546; เพ็ญศรี,2546 และเพ็ญศรี,2547) ประเทศไทยเป็นประเทศที่ได้เปรียบเพราะมีความหลากหลายทางชีวภาพของพืช รวมทั้งวัชพืชหลายชนิดมีคุณสมบัติเป็นสมุนไพร(เพ็ญศรี,2550) ประกอบกับภูมิประเทศและภูมิอากาศทำให้มีพืชสมุนไพรที่มีคุณค่ามากมายหลายชนิดที่ควรอนุรักษ์ (Horticultural Research Institute,2003)และมีศักยภาพในการที่จะปลูกสมุนไพรในเชิงพาณิชย์ได้เป็นอย่างดี การปลูกพืชสมุนไพรต้องมีแนวทางการวิจัยเพื่อนำไปสู่การส่งเสริมให้มีการปลูกอย่างถูกต้องและเหมาะสมตามหลักวิชาการ รัฐบาลได้มีนโยบายและยุทธศาสตร์ของชาติจำนวนพืช

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-03-05-54

สมุนไพร12 ชนิด (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์,2547; และสมพิศ และเพ็ญศรี,2548) ที่จะทำให้การวิจัยพืชสมุนไพรรองรับความต้องการ และส่งเสริมการใช้สมุนไพร อย่างถูกต้องและแพร่หลายมากขึ้น (สมภพ และพร้อมจิตร, 2547)

ประโยชน์ของพืชสมุนไพรมีมากมาย สามารถจัดเป็นหมวดหมู่ใช้ตามอาการของโรคได้ เช่นรสฝาดทำหน้าที่สมานใช้รักษาโรคท้องเสีย (เพ็ญศรี,2549) พืชสมุนไพรบางชนิดมีน้ำมันหอมระเหยที่ช่วยให้คลายความเมื่อยล้า และเพิ่มพลังให้กับชีวิต (ICMAP,2003) อย่างไรก็ดีพืชสมุนไพรควรมีมาตรฐานในการนำมาใช้ (Department of Medical Sciences, 2002) รวมทั้งให้ได้วัตถุดิบที่ดีมีคุณภาพเพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตอุตสาหกรรมยาจากพืชสมุนไพร ดังเช่นฟ้าทะลายโจรในการผลิตยามนุษย์ต้องมีคุณภาพไม่มีเมล็ดหรือต้นวัชพืชเจือปน (เพ็ญศรี และอำไพ,2552) ดังนั้นจุดเริ่มต้นที่สำคัญคือการเพาะปลูก

การปลูกโดยทั่วไปเป็นการปลูกแบบดั้งเดิมซึ่งผลผลิตที่ออกมามีคุณภาพไม่สม่ำเสมอ (เพ็ญศรี ,2552) ดังนั้นหากต้องการให้ได้ผลผลิตสูงและมีคุณภาพ วัชพืชเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ผลผลิตและคุณภาพลดลง และที่สำคัญต้องทราบชนิด และความหนาแน่นของวัชพืช เพื่อใช้เป็นพื้นฐานในการจัดทำบัญชีรายชื่อวัชพืชในพืชสมุนไพร ดังนั้นการ
ดำเนินงาน นี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อสำรวจและจำแนกชนิดและความหนาแน่นของวัชพืชในพืชสมุนไพร 10 พืช

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

-กรอบขนาด 50X50 ซม.

-เลนส์ขยาย

-อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่าง เช่น กรรไกร ถุงพลาสติก

-เฟรมอัดตัวอย่าง กระดาษหนังสือพิมพ์/กระดาษฟาง กระดาษลูกฟูก และเชือกมัด

-กล้องบันทึกภาพ และอุปกรณ์ในการจัดทำพรรณไม้แห้ง

-หนังสือ และเอกสารประกอบการจำแนกชื่อวิทยาศาสตร์

วิธีการ

วางแผนการสำรวจแบบ Unrestricted Sampling Method (Anonymous, 1982) ในแต่ละแปลงปลูกเก็บวัชพืชอย่างน้อยจำนวน 4-8 กรอบ หรือมากกว่าโดยกรอบมีขนาด 50X50 ซม. หรือ

1X1 เมตร ขึ้นอยู่กับขนาดของแปลงเพื่อให้เป็นตัวแทนของแปลงพืชปลูกสมุนไพรจำนวน 10 พืชในแหล่งปลูกของพืชสมุนไพรแต่ละชนิดทั่วประเทศไทยทั้งในเขตภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ ดำเนินงานด้วยการสุ่ม 4-8 จุดต่อหนึ่งแปลง บันทึกจำนวนชนิด นับปริมาณวัชพืชแต่ละชนิด และหาชื่อวัชพืช บันทึกภาพ เก็บตัวอย่างวัชพืชที่สมบูรณ์ คือมีส่วนของราก ต้น ใบ และดอก อัดไว้ในแผงไม้ เพื่อนำมาตากแห้ง นำมาวิเคราะห์หาชื่อที่แน่นอน (กรณีที่ยังไม่สามารถหาชื่อได้ทันที) และเก็บไว้เป็นหลักฐานอ้างอิง รวมถึงการเทียบเคียงในการตรวจวิเคราะห์หาชื่อวัชพืช นอกจากนี้ยังเป็นข้อมูลเกี่ยวกับปริมาณและเขตการแพร่กระจายพันธุ์ของวัชพืชแต่ละชนิด ทำการวิเคราะห์ลักษณะเชิงปริมาณ (Quantitative characteristic analysis) ของวัชพืชที่สำรวจพบในแปลงเพื่อจัดลำดับวัชพืชเด่น (dominant species) และวัชพืชรอง (co-dominant species) โดยอาศัยค่าของ sum dominant ratio ซึ่งคำนวณได้จากค่า relative density และค่า relative frequency จากสมการดังต่อไปนี้

$$\text{Relative density (RD)} = \frac{\text{Density for a species}}{\text{Total density for all species}} \times 100$$

$$\text{Relative frequency(RF)} = \frac{\text{Frequency value for a species}}{\text{Total frequency value for all species}} \times 100$$

$$\text{Sum dominant ratio (SDR)} = \frac{RD + RF}{2}$$

-การบันทึกข้อมูล

การเก็บข้อมูล จำแนกชื่อวิทยาศาสตร์ให้ถูกต้องตามหลักสากล บันทึกชนิดและปริมาณของวัชพืช หาค่า RD, RF, SDR ระยะเจริญเติบโตของพืชสมุนไพร

เวลาและสถานที่

ปี 2554-56 สำรวจในแหล่งปลูกพืชสมุนไพรทั่วประเทศทั้งในเขตภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

สำรวจวัชพืชในพืชสมุนไพร 5 พืช ดำเนินการในพื้นที่ดังนี้

บัวบก: นครปฐม

กวาวเครือขาว: กาญจนบุรี

กระเจี๊ยบแดง: ลพบุรี สุพรรณบุรี

หม่อน: นครราชสีมา ชัยภูมิ

พริกไทย: จันทบุรี ระยอง

วัชพืชที่พบในบัวบก: น้ำนมราชสีห์ (*Euphorbia hirta* L.) เป็นวัชพืชประเภทใบกว้างที่เด่น มีค่าความหนาแน่นสัมพัทธ์ (RD) =22.7 ความถี่สัมพัทธ์(RF) = 93.7 และค่าอัตราความเด่น(SDR) ของวัชพืช=58.2 รองลงมาคือหญ้าดอกขาว (*Leptochloa chinensis*)มีค่าความหนาแน่น สัมพัทธ์ (RD)=16.9 ความถี่สัมพัทธ์(RF)= 68.8 และค่าอัตราความเด่น(SDR) ของวัชพืช=42.8 ตามลำดับ ด้วยผักเบี้ยใหญ่ (*Portulaca oleracea*) สร้อยนกเขา (*Mollugo pentaphylla* L.)(ตารางที่1)

วัชพืชที่พบในกวาวเครือขาว แห้วหมู (*Cyperus rotundus* L.) เป็นวัชพืชประเภทกกที่เด่นมีค่า SDR=51.3 รองลงมาคือตีนตุ๊กแก(*Tridax procumbens*) มีค่า SDR=30.3 (ตารางที่2)

วัชพืชที่พบในกระเจี๊ยบแดง: ลูกใต้ใบ(*Phylanthus niruri*) เป็นวัชพืชประเภทใบกว้างที่เด่นมีค่า SDR=38.6 รองลงมาคือสะอึก (*Ipomoea gracilis*) มีค่า SDR=37.1 (ตารางที่3)

วัชพืชที่พบในหม่อน: ผักปราบ (*Commelina diffusa* Burm.f.) เป็นวัชพืชประเภทใบกว้างที่เด่นมีค่า SDR= 44.6 รองลงมาคือผักเสี้ยนผี (*Cleome viscosa* L.) มีค่า SDR= 43.0(ตารางที่4)

วัชพืชที่พบในพริกไทย: ผักเสี้ยนผี (*Cleome viscosa* L.)เป็นวัชพืชประเภทใบกว้างที่เด่นในพริกไทยมีค่า SDR= 37.4 รองลงมาคือหญ้าสาบ (*Prexelis clematidea*) มีค่า SDR=23.0 (ตารางที่5)

ในพืชสมุนไพรมีร่มเงาและมีความชื้น วัชพืชประเภทใบกว้างเด่นกว่าวัชพืชประเภทอื่นๆในภาพรวม วัชพืชใบกว้างสามารถกำจัดได้ง่ายกว่าใบกว้าง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1.วัชพืชที่มีค่า sum dominant ratio ส่วนใหญ่เป็นประเภทใบกว้าง เนื่องจากพืชสมุนไพรมีร่มเงาและมีความชื้น

2.ความหนาแน่น และความถี่ของวัชพืชที่พบเป็นข้อมูลพื้นฐานในการจัดทำบัญชีรายชื่อวัชพืช

3.วัชพืชที่พบมากใช้เป็นกลยุทธ์ในการหาแนวทางป้องกันและกำจัด

เอกสารอ้างอิง

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2547. แผนยุทธศาสตร์การพัฒนาอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์สมุนไพร. คณะกรรมการพัฒนาอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์สมุนไพร. กระทรวงสาธารณสุข. 120 หน้า.

เพ็ญศรี นันทสมสราญ. 2546. สมุนไพรกับคนไทย (ตอนที่ 1). กสิกร. 76(6) หน้า 97-103.

เพ็ญศรี นันทสมสราญ. 2547. สมุนไพรกับคนไทย (ตอนจบ). กสิกร. 77(1) หน้า 72-81

เพ็ญศรี นันทสมสราญ. 2549. สมุนไพรที่ใช้ตามอาการของโรค. กสิกร. 79(2) หน้า 43-53.

เพ็ญศรี นันทสมสราญ. 2550. วัชพืชสมุนไพร. กสิกร. 80(1) หน้า 103-110.

เพ็ญศรี นันทสมสราญ. 2552. การจัดการวัชพืชในพืชสมุนไพร. เอกสารประกอบการฝึกอบรมวัชพืชเสำคัญและการจัดการในพืชเศรษฐกิจ หน้า 77-94.

เพ็ญศรี นันทสมสราญ. อำไพ ประเสริฐสุข. 2552. ศึกษา การจัดการวัชพืชในฟ้าทะลายโจร.การประชุมวิชาการอารักขาพืช “อารักขาพืช หลากผลผลิตเพื่อเศรษฐกิจยั่งยืน” หน้า 121-126.

ศูนย์ศึกษาการพัฒนาเขาหินซ้อน อันเนื่องมาจากพระราชดำริ. 2546. พืชสมุนไพรในสวนป่าสมุนไพรเขาหินซ้อน. สวนพฤกษศาสตร์ภาคตะวันออก(เขาหินซ้อน) อำเภอ พนมสารคาม จังหวัดฉะเชิงเทรา. 101 หน้า.

สมพิศ ไม้เรียง และเพ็ญศรี นันทสมสราญ. 2548. พืชสมุนไพร...ในแผนยุทธศาสตร์ชาติ. กสิกร. 78(6) หน้า 72-83.

สมภพ ประธานธุรารักษ์ และพร้อมจิตร ศรลัมพ์. 2547. สมุนไพรการพัฒนาเพื่อการใช้ประโยชน์ที่ยั่งยืน. เฟื่องฟ้าการพิมพ์ กรุงเทพฯ. 163 หน้า.

Department of Medical Sciences. 2002. Standard of Thai Herbal Medicine. *Senna alata* (L.) Roxb. E.T.O. Press , Bangkok. 80 p.

Horticultural Research Institute, Department of Agriculture. 2003. Amazing Thai Medicinal Plants. Bangkok Thailand, 32 p.

International Council on Medicinal and Aromatic Plants. 2003. A Proceedings of WOCMAP III: The IIIrd World Congress on Medicinal and Aromatic Plants. Chiang Mai,Thailand. February 3-7 , 2003. 191 p.

ตารางที่1 ความหนาแน่น(RD) ความถี่(RF) และอัตราความเด่น(SDR) ของวัชพืชในบัวบก

Weed species	RD	RF	SDR
น้ำนมราชสีห์ (*Euphorbia hirta*)	22.7	93.7	58.2
หญ้าดอกขาว (*Leptochloa chinensis*)	16.9	68.8	42.8
ผักเบี้ยใหญ่ (*Portulaca oleracea*)	16.1	68.8	42.5
สร้อยนกเขา (*Mollugo pentaphylla*)	16.1	43.8	29.9
กกขนาก (*Cyperus difformis*)	12.5	50.0	31.3
ขัดมอญ (*Sida acuta*)	2.8	18.8	10.8
หญ้าตีนติด (*Brachiaria reptans*)	2.4	18.8	10.6
ผักเบี้ยหิน (*Trianthema portulacastrum*)	2.0	12.5	7.3
ผักโขม (*Amaranthus viridis*)	2.0	6.3	4.2
หญ้าตีนกา (*Eleusine indica*)	1.2	6.3	3.8
หญ้ายาง (*Euphorbia heterophylla*)	1.2	6.3	3.8
แห้วหมู (*Cyperus rotundus*)	1.2	6.3	3.8
หนวดปลาดุก (*Fimbristylis milicea*)	0.8	12.2	6.5
หญ้าตีนนก (*Digitaria ciliaris*)	0.8	6.3	3.6
ต้อยติ่ง (*Ruella tuberosa*)	0.8	6.3	3.6
หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colona*)	0.4	6.3	3.4
หญ้าละออง (*Vernonia cinerea*)	0.4	6.3	3.4

ตารางที่ 2 ความหนาแน่น(RD) ความถี่(RF) และอัตราความเด่น(SDR) ของวัชพืชในกวาวเครือขาว

Weed species	RD	RF	SDR
แห้วหมู (*Cyperus rotundus*)	48.8	53.8	51.3
ตีนตุ๊กแก (*Tridax procumbens*)	6.7	53.8	30.3
หญ้าขจรจบ (*Pennisetum pedicellatum*)	3.2	38.5	20.9
หญ้ากำมะหยี่ (*Lagascea mollis*)	9.9	38.5	20.3
หญ้ายาง (*Euphorbia heterophylla*)	2.0	38.5	20.3
หญ้าสาบ (*Prexelis clematidea*)	1.5	38.5	20.0
ถั่วลาย (*Centrosema pubescens*)	8.8	30.8	19.8
พะดอเงียว (*Dichanthium annulatum*)	4.7	30.8	17.8
ผกากรอง (*Lantana camara*)	1.7	23.1	12.4
น้ำนมราชสีห์ (*Euphorbia hirta*)	2.6	15.4	9.0
สะอึก (*Ipomoea gracilis*)	1.5	15.4	8.5
สาบเสือ (*Eupatorium odoratum)*	1.2	15.4	8.3
ชุมเห็ดไทย (*Cassia tora*)	3.5	7.7	5.6
หญ้าตีนติด (*Brachiaria reptans*)	1.2	7.7	4.5
หญ้าบุ้ง (*Cenchrus echinatus*)	1.2	7.7	4.4
หญ้าดอกแดง (*Rhyncherytrum repens*)	0.9	7.7	4.3
หญ้าปากควาย (*Dactyroctenium agyptium*)	0.3	7.7	4.0
ลูกใต้ใบ (*Phylanthus niruri*)	0.3	7.7	4.0

ตารางที่ 3 ความหนาแน่น(RD) ความถี่(RF) และอัตราความเด่น(SDR) ของวัชพืชในกระเจี๊ยบแดง

Weed species	RD	RF	SDR
ลูกใต้ใบ (*Phylanthus niruri*)	33.2	44	38.6
สะอึก (*Ipomoea gracilis*)	14.2	60	37.1
หญ้าตีนติด (*Brachiaria reptans*)	5.1	64	34.6
ปอวัชพืช (*Corchorus aestuan*)	11.2	52	31.6
กะเพราผี (*Hyptis sauveolens*)	12.1	36	24.1
โสนดอน (*Aeschynomene americana*)	4.4	40	22.2
หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colona*)	3.9	36	20.0
หญ้ายาง (*Euphorbia heterophylla*)	10.2	12	11.1
หญ้านก (*Eriochloa procera*)	1.4	20	10.7
หญ้าดอกขาว (*Leptochloa chinensis*)	1.6	16	8.8
ตีนตุ๊กแก (*Tridax procumbens*)	1.2	8	4.6
น้ำนมราชสีห์ (*Euphorbia hirta*)	0.9	8	4.5
ผักเสี้ยนผี (*Cleome viscosa*)	0.7	8	4.3
ผักปราบ (*Commelina diffusa*)	0.5	4	2.2
ถั่วผี (*Phaseolus lathryroides*)	0.2	4	2.1
แห้วหมู (*Cyperus rotundus*)	0.2	4	2.1
กะเม็ง (*Eclipta alba*)	0.2	4	2.1
ตดหมูตดหมา (*Paederia linearis*)	0.2	4	2.1

ตารางที่ 4 ความหนาแน่น(RD) ความถี่(RF) และอัตราความเด่น(SDR) ของวัชพืชในหม่อน

Weed species	RD	RF	SDR
ผักปราบ (*Commelina diffusa*)	14.3	75	44.6
ผักเสี้ยนผี (*Cleome viscosa* L.)	11.0	75	43.0
ผักคราด (*Spilanthes acmella*)	11.4	50	38.7
หญ้ายาง (*Euphorbia heterophylla*)	11.4	58.3	34.9
ตำแยแมว (*Acalypha indica*)	9.8	50	29.9
หญ้าโขย่ง (*Rottboelia cochinchinensis*)	11.4	33.3	22.4
หญ้าขน (*Brachiaria mutica*)	6.9	33.3	20.1
หญ้าขจรจบ (*Pennisetum polystacchy*on)	4.1	25	14.6
หญ้าเขมรเล็ก (*Borreria laevis*)	4.1	16.7	10.4
พันงูเขียว (*Starchytapheta jamicensis*)	3.7	16.7	10.2
ลูกใต้ใบ (*Phylanthus niruri*)	2.9	16.7	9.8
ผักโขมหนาม (*Amaranthus spinosus*)	2.9	16.7	9.8
โทงเทง (*Physalis minima*)	2.4	16.7	9.6
หญ้ากำมะหยี่ (*Lagascea mollis*)	2.4	16.7	9.6
หญ้าดอกห่าง (*Paspalidium flavidum*)	4.1	8.3	6.2
ต้อยติ่ง (*Ruella tuberosa*)	2.0	8.3	5.1
หญ้าละออง (*Vernonia cinerea*)	1.6	8.3	5.0
หงอนไก่ป่า (*Celosia argentea*)	0.8	8.3	4.6

ตารางที่ 5 ความหนาแน่น(RD) ความถี่(RF) และอัตราความเด่น(SDR) ของวัชพืชในพริกไทย

Weed species	RD	RF	SDR
ผักเสี้ยนผี (*Cleome viscosa*)	14.7	60	37.4
หญ้าสาบ (*Prexelis clematidea*)	16.0	30	23.0
ลูกใต้ใบ (*Phylanthus niruri*)	7.3	35	21.1
ผักปราบ (*Commelina diffusa*)	4.6	25	14.8
สร้อยนกเขา (*Mollugo pentafhylla*)	4.1	25	14.6
หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colona*)	4.1	25	14.6
แห้วหมู (*Cyperus rotundus*)	6.0	20	13.0
น้ำนมราชสีห์ (*Euphorbia hirta*)	6.0	25	12.8
หญ้าตีนนก (*Digitaria adscendens*)	9.5	15	12.3
กกตุ้มหู (*Cyperus kyllingia*)	3.0	20	11.5
หญ้าละออง (*Vernonia cinerea*)	1.4	5	11.2
ผักโขม (*Amaranthus viridis*)	2.4	20	11.2
จิงจ้อ (*Aniscia mantinicencis*)	4.6	15	9.8
หญ้าดอกขาว (*Leptochloa chinensis*)	3.3	15	9.1
กระดุมใบใหญ่ (*Borreria latifolia*)	3.0	15	9.0
ขัดมอญ (*Sida acuta*)	1.6	15	8.3
หญ้ามาเลเซีย (*Axonopus compressus*)	1.6	10	5.8
หญ้าตีนติด (*Brachiaria reptans*)	0.5	10	5.3
หูปลาช่อน (*Emilia sonchifolia*)	0.5	10	5.2
ตีนตุ๊กแก (*Tridax procumbens*)	1.4	5	3.2
ผักเบี้ยใหญ่ (*Portulaca oleracea*)	0.8	5	2.9
หญ้าลูกเห็บ (*Paspalum conjugatum*)	0.8	5	2.9
ผักปราบไร่ (*Commelina benghalensis*)	0.8	5	2.9
ตำแยแมว (*Acalypha indica*)	0.8	5	2.9
หญ้ายาง (*Euphorbia heterophylla*)	0.5	5	2.7
ต้อยติ่ง (*Ruella tuberosa*)	0.5	5	2.7

ศึกษาชนิดวัชพืชที่เป็นพืชอาศัยของเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus*

Identification of weeds as alternate hosts of *Phenacoccus* mealybug

จรรยา มณีโชติ[1/] ชลิดา อุณหวุฒิ[2/] สุพัตรา ชาวกงจักร์[3/]
ชมัยพร บัวมาศ[3/] วนิดา ธารถวิล[1/] สิริชัย สาธุวิจารณ์[1/] ยุรวรรณ อนันตนมณี[1/]
[1/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช [2/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[3/]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกาฬสินธุ์ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 3

บทคัดย่อ

ผลการสำรวจแปลงปลูกมันสำปะหลัง 42 แปลงในภาคตะวันออก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือเฉียงเหนือ ในระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2553-มีนาคม 2554 เพื่อศึกษาชนิดของวัชพืชที่เป็นพืชอาศัยของเพลี้ยแป้งในสกุล *Phenacoccus* พบว่ามีการระบาดของเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus* จำนวน 2 ชนิด คือ เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู (*P. manihoti*) และ เพลี้ยแป้งเขียว (*P. madeirensis*) ส่วนใหญ่ที่พบเป็นเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู มากกว่าเพลี้ยแป้งเขียว พบวัชพืชที่เป็นพืชอาศัยของเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus* ทั้งหมด 10 ชนิด ได้แก่ สาบม่วง (*Praxelis clematidae*) ครอบจักวาล (*Abutilon indicum*) หญ้าท่าพระ (*Ricardia brasiliensis)* ถั่วลิสงนา (*Alysicarpus vaginalis*) พันงูขาว(*Achyranthes aspera*) ตดหมูตดหมา (*Paederia* spp.) สะอึก (*Ipomoea* spp.) กระต่ายจาม (Scoparia dulcis) หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium*) และ หญ้าขจรจบดอกเล็ก (*Pennisetum pedicellatum)* โดยที่สาบม่วงเป็นวัชพืชที่พบเพลี้ยแป้งทั้งสองชนิดอาศัยมากที่สุด โดยเฉลี่ยพบเพลี้ยแป้งสีชมพู (*P. manihoti*) จำนวน 99 ตัวและถุงไข่ 15 ถุงต่อต้น เพลี้ยแป้งสีเขียว (*P. madeirensis*) จำนวน 9 ตัวและถุงไข่ 4 ถุงต่อต้น ดังนั้น การกำจัดวัชพืชที่เป็นพืชอาศัยของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลัง นอกจากจะช่วยลดการระบาดของเพลี้ยแป้งแล้ว ยังช่วยลดการแก่งแย่งน้ำ แสงแดด และธาตุอาหาร ในมันสำปะหลังได้ด้วย

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-03-10-54

คำนำ

มันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของไทย ปลูกทั่วไปใน 45 จังหวัดทั่วประเทศ ในฤดูเก็บเกี่ยวปี 2550/51 สามารถผลิตได้ 26.9 ล้านตัน จากพื้นที่เพาะปลูก 7.3 ล้านไร่ สามารถผลิตเป็นผลิตภัณฑ์แปรรูปประเภทต่าง ๆ ได้มากมายหลายชนิด เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบทั้งภายในประเทศและส่งไปจำหน่ายยังต่างประเทศ รวมมูลค่าส่งออกปีละประมาณ 33,731 ล้านบาท ซึ่งทำให้ประเทศไทยเป็นผู้ส่งออกผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังได้มากที่สุดในโลก โดยมีตลาดที่สำคัญคือ ประชาคมยุโรป ญี่ปุ่น จีน ไต้หวัน และ สหรัฐอเมริกา (นิรนาม, 2550)

การปลูกมันสำปะหลังในอดีตไม่พบปัญหาการระบาดของแมลงศัตรูพืช เนื่องจากเป็นพืชที่ปลูกง่าย ทนทานและปรับตัวได้ดี แต่จากการขยายพื้นที่ปลูกเพิ่มมากขึ้นในปัจจุบันทำให้เริ่มประสบปัญหาการระบาดของแมลงศัตรูพืช ซึ่งเดิมอาจจะพบอยู่แล้วแต่ไม่ก่อให้เกิดความเสียหายใดๆ ช่วงต้นปี 2551 พบการระบาดของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลัง จำนวน 2 ชนิด ชนิดแรก คือเพลี้ยแป้งลาย ซึ่งพบระบาดทั่วไปแต่ยังไม่เคยสร้างปัญหารุนแรงต่อผลผลิตมันสำปะหลัง ส่วนเพลี้ยแป้งอีกชนิดหนึ่ง คือ เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู (*Phenacoccus manihoti*) ซึ่งไม่เคยมีรายงานว่าพบการระบาดในแหล่งมันสำปะหลังของประเทศไทยมาก่อน แต่พบการทำลายเสียหายรุนแรงกว่าชนิดแรก พื้นที่ปลูกมันสำปะหลังในปี 2552 ที่มีการระบาดของเพลี้ยแป้งสีชมพู ได้รับความเสียหายประมาณ 1,421,070 ไร่ โดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และการระบาดมีแนวโน้มขยายวงกว้างและทวีความรุนแรงมากขึ้นในหลายจังหวัด ได้แก่ ชลบุรี ระยอง ฉะเชิงเทรา ปราจีนบุรี สระแก้ว นครราชสีมา และกำแพงเพชร โดยพื้นที่การระบาดมากที่สุด คือ จังหวัดนครราชสีมา

Nwanze (1982) ได้ศึกษาความเสียหายของผลผลิตมันสำปะหลังจากการระบาดของเพลี้ยแป้งสีชมพู (*Phenacoccus manihoti*) พบว่า สามารถทำให้ผลผลิตมันสำปะหลังลดลงได้ถึง 54.4-84.4 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งความเสียหายนั้นขึ้นอยู่กับฤดูปลูก หากปลูกในฤดูแล้งผลผลิตจะเสียหายได้มากกว่าในช่วงฤดูฝน

ในประเทศไทย พบเพลี้ยแป้งในสกุล *Phenacoccus* 2 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยแป้งสีชมพู และ เพลี้ยแป้งเขียว แต่ที่ทำความเสียหายให้ผลผลิตมันสำปะหลังมากที่สุดคือเพลี้ยแป้งสีชมพู ส่วนสาเหตุการระบาดของเพลี้ยแป้งสีชมพูยังไม่ทราบแน่ชัดสันนิษฐานว่าสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปในปัจจุบันมีส่วนทำให้เกิดการระบาด อย่างไรก็ตาม ปัจจัยสำคัญที่ทำให้พื้นที่การระบาดขยายวงกว้างขึ้นเกิดจากการขยายพื้นที่ปลูกและมีการใช้ท่อนพันธุ์ มันสำปะหลังที่มีไข่ ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยเพลี้ยแป้งติดไปกับท่อนพันธุ์ จากนั้นหลังปลูกจะมีมดเป็นพาหะนำเพลี้ยแป้งกระจายไปสู่ต้นมันสำปะหลังอื่นและแปลงข้างเคียง (นิรนาม, 2552) สุเทพ (2552) รายงานว่าพบเพลี้ยแป้งในมันสำปะหลัง 4 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยแป้งลาย; *Ferrisia virgata* (Cockerell) เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีเทาหรือเพลี้ยแป้งแจ็คเบียสเล่ย์; *Pseudococcus jackbeardleyi* Gimpel & Miller เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีเขียว; *Phenacoccus madeirensis* Green และเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู;

Phenacoccus manihoti Matile and Ferrero ถึงแม้จะมีการใช้แตนเบียน *Anagyrus lopezi* กำจัดเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู แล้วก็ตามแต่แตนเบียนมีความเฉพาะเจาะจงสูง จึงไม่สามารถกำจัดเพลี้ยแป้งอีก 3 ชนิดที่เหลือได้

นายบัญญัติ แหวนแก้ว ผู้จัดการฝ่ายวิชาการ (ศูนย์เรียนรู้) สถาบันพัฒนามันสำปะหลังห้วยบง กล่าวถึงสถานการณ์การระบาดของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู ว่าการระบาดรอบแรกปลายปี 2551 -เมษายน 2552 พื้นที่ระบาดวงกว้างคือครอบคลุม 14 จังหวัด 2 ล้านไร่ แต่การระบาดรอบนี้วงแคบคือรุนแรงอยู่ใน 4 จังหวัด ได้แก่ นครราชสีมา ลพบุรี ชัยภูมิ กำแพงเพชร แต่พื้นที่ระบาด 4-5 แสนไร่ แต่มีลักษณะหนาแน่นกระจุกตัว และพื้นที่ปลูกมันที่มีการระบาดอายุการปลูกไม่เกิน 4 เดือน ซึ่งการระบาดในอายุมันสำปะหลังระยะนี้ความเสียหายจะมีมากถึง 60 เปอร์เซ็นต์

นอกจากวัชพืชจะเป็นศัตรูพืชที่สำคัญที่ทำให้ผลผลิตมันสำปะหลัง แล้ว วัชพืชยังเป็นแหล่งอาศัยของแมลงศัตรูพืชสำคัญอีกหลายชนิด เช่น เพลี้ยแป้ง ไส้เดือนฝอย และ แมลงหวี่ขาว โดยเฉพาะเพลี้ยแป้ง มีรายงานในประเทศอินเดียว่าพบวัชพืชใบกว้างหลายชนิด เช่น Parthenium (*Parthenium hysterophorus* L.) ครอบจักรวาล (*Abutilon indicum*) หญ้าไม้กวาด (*Sida spp.*) ขี้ครอก (*Xanthium strumarium*) พันงูขาว (*Achyranthes aspera*) สาบแร้งสาบกา (*Ageratum conyzoides*) เป็นพืชอาศัยของเพลี้ยแป้งในแปลงปลูกฝ้าย (Dha, A.K. 2007; Chander, 2009)

จากการสำรวจในเบื้องต้น พบว่า ในแหล่งปลูกมันสำปะหลังในจังหวัดนครราชสีมา ซึ่งเป็นพื้นที่มีการระบาดรุนแรงของเพลี้ยแป้ง ในช่วงเดือนเมษายน 2551 เป็นพื้นที่ประมาณ 300,000 ไร่ นี้ พบว่ามีวัชพืชใบกว้างบางชนิดโดดเด่นขึ้นมาในพื้นที่ ได้แก่ หญ้ายาง (*Euphorbia geniculata*) หญ้าท่าพระ (*Ricardia braseliensis*) ผักเบี้ยหิน (*Trianthema portulacastrum*) ผักปราบไร่ (*Commelina benghalensis*) และ สาบม่วง (*Praxelis clematidea*) ซึ่งวัชพืชเหล่านี้บางชนิด อาจเป็นพืชอาศัยที่สำคัญของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลัง หากทราบชนิดวัชพืชที่เป็นพืชอาศัยของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังแล้ว สามารถใช้เป็นข้อมูลในการพยากรณ์ สถานการณ์การระบาดของเพลี้ยแป้งในแหล่งที่พบวัชพืชเหล่านี้ได้ในอนาคต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ถุงพลาสติกและกระติกน้ำแข็ง
2. กรรไกรตัดแต่งกิ่ง
3. แว่นขยาย
4. กล้องถ่ายรูป
5. ถุงกระดาษเก็บตัวอย่างวัชพืช
6. เครื่องวัดพิกัด (GPS)

วิธีการ

1. สำรวจแปลงมันสำปะหลังที่มีการระบาดของเพลี้ยแป้ง จำนวน 100 แปลง ใน 20 จังหวัด ได้แก่

   ภาคเหนือตอนล่าง นครสวรรค์ กำแพงเพชร พิษณุโลก

   ภาคกลาง ลพบุรี สระบุรี ฉะเชิงเทรา สระแก้ว อุทัยธานี ปราจีนบุรี กาญจนบุรี

   ภาคตะวันออก ชลบุรี ระยอง จันทบุรี

   ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ นครราชสีมา เลย มหาสารคาม บุรีรัมย์ ร้อยเอ็ด ยโสธร กาฬสินธุ์
2. แต่ละแปลง บันทึกชนิดวัชพืชและจำนวนเพลี้ยแป้งที่พบบนต้นวัชพืชในพื้นที่ 0.5 x 0.5 เมตร จำนวน 20 quadrats โดยให้แต่ละจุดห่างกันประมาณ 20 เมตร เดินสุ่มเป็นรูปตัว W (Thomas, 1985)
3. บันทึกค่า GPS ของแต่ละ quadrat เพื่อสะดวกในการติดตามครั้งต่อไป
4. นับจำนวนและจำแนกชนิดวัชพืช เพื่อหาความหนาแน่นของวัชพืชในแต่ละแปลง
5. สุ่มนับตัวอ่อน ตัวเต็มวัย และ ถุงไข่ของเพลี้ยแป้งบนต้นมันสำปะหลังใน 20 จุดที่สุ่มนับบนต้นวัชพืช
6. หาความสัมพันธ์ระหว่างความหนาแน่นของวัชพืชและการระบาดเพลี้ยแป้ง

ระยะเวลาดำเนินการ เดือนตุลาคม 2553 ถึง มีนาคม 2555

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การแพร่ระบาดของเพลี้ยแป้ง *Phenacoccus*

ในระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึง กันยายน 2554 ได้สำรวจในพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังในภาคตะวันออกฉียงเหนือ ซึ่งมีรายงานการระบาดของเพลี้ยแป้ง ทั้งหมด 42 แปลง (ตารางผนวกที่ 1) พบว่ามีเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus* จำนวน 2 ชนิด (Species) คือ เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู (*P. manihoti*) และ เพลี้ยแป้งเขียว (*P. madeirensis*) แต่ส่วนใหญ่ที่พบเป็นเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู มากกว่าเพลี้ยแป้งเขียว (ตารางที่ 1) จังหวัดที่มีการระบาดของเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus* ในมันสำปะหลังรุนแรงที่สุด คือ จังหวัด ยโสธร ซึ่งในต้นมันสำปะหลัง 20 ต้นพบตัวเต็มวัยและตัวอ่อนของเพลี้ยแป้งชมพูมากถึง 20, 861 ตัว และมีถุงไข่จำนวน 2, 079 ถุง รองลงมา ได้แก่กาฬสินธุ์ ขอนแก่น ฉะเชิงเทรา ปราจีนบุรี ร้อยเอ็ด มหาสารคาม และ นครราชสีมา ตามลำดับ (ตารางที่1)

ความหนาแน่นของเพลี้ยแป้ง *Phenacoccus*

เมื่อแบ่งระดับความหนาแน่นของจำนวนเพลี้ยแป้งที่พบบนต้นมันสำปะหลังในแต่ละแปลงเป็น 3 ระดับ คือ ความหนาแน่นน้อย=เพลี้ยแป้ง น้อยกว่า 100 ตัว/ต้น ความหนาแน่นปานกลาง = เพลี้ยแป้ง 100-1,000 ตัว/ต้น และมีความหนาแน่นมาก= พบเพลี้ยแป้งมากกว่า 1,000 ตัว/ต้น พบว่า มีการ

ระบาดของเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus* ระดับหนาแน่นมากกว่า 1,000 ตัวต่อต้นทั้งหมด 19 แปลง แปลงที่มีการระบาดของเพลี้ยแป้งหนาแน่นระดับปานกลาง 16 แปลง และมีเพียง 7 แปลงที่มีความหนาแน่นของเพลี้ยแป้งน้อย (ตารางที่ 2) โดยพบจำนวนแปลงที่มีเพลี้ยแป้งบนต้นมันสำปะหลังมากกว่า 125 ตัวต่อต้น เป็นจำนวน 38 แปลง คิดเป็นความถี่ในการพบการระบาดระดับนี้ถึง 81 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3)

ชนิดวัชพืช ที่เป็นพืชอาศัยของเพลี้ยแป้ง

ผลการสำรวจพบว่า เพลี้ยแป้งทั้งสองชนิดอาศัยอยู่บนต้นวัชพืช 10 ชนิด โดยพบทั้งตัวอ่อน ตัวเต็มวัย และถุงไข่ แบ่งเป็นวัชพืชใบกว้าง 8 ชนิด ได้แก่ สาบม่วง (*Praxelis clematidae*) ครอบจักรวาล (*Abutilon indicum*) หญ้าท่าพระ (*Ricardia brasiliensis)* ถั่วลิสงนา (*Alysicarpus vaginalis*) พันงูขาว(*Achyranthes aspera*) ตดหมูตดหมา (*Paederia* spp.) สะอึก (*Ipomoea* spp.) กระต่ายจาม (*Scoparia dulcis*) และ วัชพืชใบแคบ 2 ชนิด ได้แก่ หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium*) และ หญ้าขจรจบดอกเล็ก (*Pennisetum pedicellatum)* (ตารางที่ 3) เป็นที่น่าสังเกตว่า ในบรรดาวัชพืชทั้ง 10 ชนิดนี้ พบสาบม่วงใน 41 แปลงที่สำรวจโดยมีความหนานแน่นเฉลี่ 122 ต้นต่อตารางเมตร ส่วนครอบจักรวาล หญ้าท่าพระ ถั่วลิสงนา พัยงูขาว ตดหมูตดหมา สะอึก กระต่ายจาม หญ้าปากควาย และ หญ้าขจรจบดอกเล็ก มีความหนาแน่น 2, 33, 8, 2, 12, 2, 5, 6 และ 10 ต้นต่อตารางเมตร ตามลำดับ สาบม่วงจึงน่าจะมีความสัมพันธ์กับการพยากรณ์การระบาดของเพลี้ยแป้งในสกุลนี้มากกว่าวัชพืชชนิดอื่นๆ (ตารางที่ 4) แต่ความหนาแน่นของสาบม่วงในแปลงไม่มีความสัมพันธ์กับจำนวนตัวและถุงไข่ของเพลี้ยแป้งทั้งสองชนิด (ตารางที่ 5)

เนื่องจากในช่วงเดือนเมษายน-ธันวาคม 2554 มีพายุฝนเกิดขึ้นบ่อยครั้ง และมีการปล่อยแตนเบียนสำหรับควบคุมเพลี้ยแป้งสีชมพู ทำให้การระบาดของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังลดลงมาก จึงไม่สามารถเก็บข้อมูลแปลงได้ครบตามจำนวนที่วางแผนไว้ และข้อมูลล่าสุดในเดือนกุมภาพันธ์ 2555 มีรายงานการระบาดของเพลี้ยแป้งลาย ; *Ferrisia virgata* (Cockerell) และ เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีเทา หรือเพลี้ยแป้งแจ็คเบียสเล่ย์; *Pseudococcus jackbeardleyi* Gimpel & Miller ในพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังของจังหวัดกำแพงเพชร ซึ่งเป็นที่น่าสังเกตว่าเพลี้ยแป้งสีชมพูลดการระบาดลง อาจเนื่องมาจากหลายสาเหตุร่วมกัน ได้แก่ ปริมาณฝนที่เพิ่มมากขึ้นในช่วงปี 2554 การรณรงค์ให้เกษตรกรแช่ท่อนพันธุ์ด้วยสารกำจัดแมลงก่อนปลูก และการปล่อยแตนเบียนของภาครัฐ ซึ่งน่าจะมีการศึกษาชนิดวัชพืชที่เป็นพืชอาศัยของเพลี้ยแป้งลายและเพลี้ยแป้งแจ็คเบียสเล่ย์ต่อไป เพื่อความสมบูรณ์ของข้อมูลดังกล่าว

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. พบวัชพืชที่เป็นพืชอาศัยของเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus* ทั้งหมด 10 ชนิด ได้แก่ สาบม่วง (*Praxelis clematidae*) ครอบจักวาล (*Abutilon indicum*) หญ้าท่าพระ (*Ricardia brasiliensis)* ถั่วลิสงนา พันงูขาว ตดหมูตดหมา (*Paederia* spp.) สะอึก (*Ipomoea* spp.) กระต่ายจาม หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium*) และหญ้าขจรจบดอกเล็ก (*Pennisetum pedicellatum*)
2. สาบม่วงเป็นวัชพืชที่พบเพลี้ยแป้งทั้งสองชนิดอาศัยมากที่สุด โดยเฉลี่ยพบเพลี้ยแป้งสีชมพู (*P. manihoti*) จำนวน 99 ตัวและถุงไข่ 15 ถุงต่อต้น เพลี้ยแป้งสีเขียว (*P. madeirensis*) จำนวน 9 ตัวและถุงไข่ 4 ถุงต่อต้น
3. พบการระบาดรุนแรงของเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus* ในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2553-เดือนมีนาคม 2554 จำนวน 34 แปลงคิดเป็น 80 เปอร์เซ็นต์ของแปลงทั้งหมดที่สำรวจ 42 แปลง
4. พบการระบาดรุนแรงของเพลี้ยแป้งสีชมพู (*P. manihoti*) มากกว่าเพลี้ยแป้งสีเขียว (*P. madeirensis*) และมีความถี่ในการพบเพลี้ยแป้งสีชมพูและเพลี้ยแป้งเขียวเป็น 95.2 และ 42.9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ
5. แปลงที่มีการระบาดรุนแรงที่สุดของเพลี้ยแป้งสีชมพู (*P. manihoti*) มีจำนวนตัวอ่อนและตัวเต็มวัยเฉลี่ย 1,044 ตัว และมีถุงไข่ 1,040 ถุง
6. การกำจัดวัชพืชที่เป็นพืชอาศัยของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลัง นอกจากจะช่วยลดการระบาดของเพลี้ยแป้งแล้ว ยังช่วยลดการแก่งแย่งน้ำ แสงแดด และธาตุอาหาร ในมันสำปะหลังได้ด้วย

เอกสารอ้างอิง

นิรนาม. 2547. การควบคุมวัชพืชในมันสำปะหลัง. *ใน* คำแนะนำการป้องกันกำจัดวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืช. กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. หน้า 68-70.

นิรนาม 2550. สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปี 2550. ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร 115 หน้า.

นิรนาม 2552. วิธีป้องกันกำจัด" เพลี้ยแป้งมันสำปะหลัง" ที่ระบาดอย่างรุนแรง. ข่าวเกษตร หนังสือพิมพ์เดลินิวส์ ประจำวันที่ 13 พฤษภาคม 2552.

สุเทพ สหายา. 2552. สารป้องกันกำจัดแมลง และไรศัตรูพืช. เอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตรแมลงและสัตว์ศัตรูพืชและการป้องกันกำจัด ครั้งที่ 14, 20 – 24 เมษายน 2552 ณ ตึกจักรทอง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. 45 หน้า.

Nwanze, K. F..1982. Relationships between cassava root yields and crop infestations by the mealybug, *Phenacoccus manihoti*. Tropical Pest management 28:: 27-38. Caused Yield loss 84.4%

Alphen JJM van, Neuenschwander P, Dijken MJ van, Hammond WNO, Herren HR, 1989. Insect invasions: the case of the cassava mealybug [Phenacoccus manihoti] and its natural enemies evaluated. Entomologist, 108(1-2):38-55

Dha, A.K. 2007. Status of mealy bug in Punjab. Cited on://www.ncipm.org.in/ mealybugPunjab.doc

Chander, S. 2009. Mealybug status in offseason/weed host. Cited on ://www.ncpm.org.in

Thomas, A.G. 1985. Weed survey system used in Saskatchewan for cereal and oilseed crops. Weed Sci. 33: 34-43.

ตารางที่ 1 จำนวนเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus* 2 ชนิด แบ่งเป็นถุงไข่และตัวเต็มวัย ที่สำรวจพบในแปลงปลูกมันสำปะหลังในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ในระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2553 –มีนาคม 2554

แปลงที่	จังหวัด	จำนวนเพลี้ยแป้งที่พบในมันสำปะหลัง			
		P. manihoti (สีชมพู)		*P. madeirensis* (สีเขียว)	
		ถุงไข่	จำนวนตัว	ถุงไข่	จำนวนตัว
1	กาฬสินธุ์	17	121	0	0
2	กาฬสินธุ์	3	64	5	246
3	กาฬสินธุ์	16	64	0	6
4	กาฬสินธุ์	38	33	5	253
5	กาฬสินธุ์	179	931	48	7
6	มหาสารคาม	0	18	41	274
7	มหาสารคาม	1	5	40	65
8	มหาสารคาม	16	130	18	35
9	นครราชสีมา	20	230	29	826
10	ขอนแก่น	36	31	18	46
11	ร้อยเอ็ด	2	1	0	526
12	ร้อยเอ็ด	24	5,782	19	122
13	นครราชสีมา	13	116	0	0
14	นครราชสีมา	1	29	0	0
15	ฉะเชิงเทรา	0	0	115	1,950
16	ฉะเชิงเทรา	22	144	0	0
17	ฉะเชิงเทรา	43	1,197	0	0
18	ฉะเชิงเทรา	0	0	549	2,378
19	ฉะเชิงเทรา	1,008	8,096	200	305

ตารางที่ 1 (ต่อ)

แปลงที่	จังหวัด	จำนวนเพลี้ยแป้งที่พบในมันสำปะหลัง			
		P. manihoti (สีชมพู)		*P. madeirensis* (สีเขียว)	
		ถุงไข่	จำนวนตัว	ถุงไข่	จำนวนตัว
20	ฉะเชิงเทรา	115	1,205	2	25
21	กาฬสินธุ์	734	9,811	31	210
22	ร้อยเอ็ด	85	374	0	0
23	กาฬสินธุ์	21	240	0	0
24	กาฬสินธุ์	47	404	0	0
25	มหาสารคาม	71	1,472	0	0
26	มหาสารคาม	38	369	0	0
27	มหาสารคาม	12	438	0	0
28	มหาสารคาม	120	1,532	0	0
29	ขอนแก่น	4,204	6,289	0	0
30	ยโสธร	156	1,742	0	0
31	ยโสธร	2,079	20,861	0	0
32	ยโสธร	32	63	0	0
33	ยโสธร	174	479	0	0
34	มหาสารคาม	261	4,068	0	0
35	มหาสารคาม	172	1,661	0	0
36	มหาสารคาม	12	362	0	0
37	มหาสารคาม	0	0	203	3,060
38	มหาสารคาม	7	236	0	0
39	มหาสารคาม	44	1,215	0	0
40	ปราจีนบุรี	43	1,197	0	0
41	ปราจีนบุรี	74	506	549	7375
42	ปราจีนบุรี	2	705	0	0

หมายเหตุ ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าได้จากการนับเพลี้ยแป้งจากมันสำปะหลังทั้งหมด 20 ต้น

ตารางที่ 2 ความหนาแน่นของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู (*Phenacoccus manihoti*) ที่พบบนต้นวัชพืชในแปลงมันสำปะหลังจำนวน 42 แปลง ในภาคกลาง และภาคตะวัน- ออกเฉียงเหนือ สำรวจในระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2553-มีนาคม 2554

แปลงที่	จังหวัด	ระดับความหนาแน่นของเพลี้ยแป้งสีชมพู
1	กาฬสินธุ์	ปานกลาง
2	กาฬสินธุ์	ปานกลาง
3	กาฬสินธุ์	น้อย
4	กาฬสินธุ์	ปานกลาง
5	กาฬสินธุ์	ปานกลาง
6	มหาสารคาม	ปานกลาง
7	มหาสารคาม	น้อย
8	มหาสารคาม	ปานกลาง
9	นครราชสีมา	มาก
10	ขอนแก่น	น้อย
11	ร้อยเอ็ด	ปานกลาง
12	ร้อยเอ็ด	มาก
13	นครราชสีมา	ปานกลาง
14	นครราชสีมา	น้อย
15	ฉะเชิงเทรา	มาก
16	ฉะเชิงเทรา	ปานกลาง
17	ฉะเชิงเทรา	มาก
18	ฉะเชิงเทรา	มาก
19	ฉะเชิงเทรา	มาก
20	ฉะเชิงเทรา	น้อย
21	กาฬสินธุ์	มาก
22	ร้อยเอ็ด	ปานกลาง
23	กาฬสินธุ์	ปานกลาง
24	กาฬสินธุ์	ปานกลาง

ตารางที่ 2 (ต่อ)

แปลงที่	จังหวัด	ระดับความหนาแน่นของเพลี้ยแป้งสีชมพู
25	มหาสารคาม	มาก
26	มหาสารคาม	น้อย
27	มหาสารคาม	ปานกลาง
28	มหาสารคาม	มาก
29	ขอนแก่น	มาก
30	ยโสธร	มาก
31	ยโสธร	มาก
32	ยโสธร	น้อย
33	ยโสธร	ปานกลาง
34	มหาสารคาม	มาก
35	มหาสารคาม	มาก
36	มหาสารคาม	ปานกลาง
37	มหาสารคาม	มาก
38	มหาสารคาม	ปานกลาง
39	มหาสารคาม	มาก
40	ปราจีนบุรี	มาก
41	ปราจีนบุรี	มาก
42	ปราจีนบุรี	มาก

หมายเหตุ ระดับความหนาแน่นของจำนวนเพลี้ยแป้ง แบ่งเป็น 3 ระดับ ดังนี้

ความหนาแน่นน้อย =พบเพลี้ยแป้ง น้อยกว่า 100 ตัว

ความหนาแน่นปานกลาง = พบเพลี้ยแป้ง100-1,000 ตัว

ความหนาแน่นมาก = พบเพลี้ยแป้ง 1,000ตัว

ตารางที่ 3 จำนวนแปลงที่พบการระบาดของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังในสกุล *Phenacoccus*

ระดับความหนาแน่นของเพลี้ยแป้ง	จำนวนแปลงที่พบเพลี้ยแป้ง	% แปลงที่พบการระบาด
0	0	0
1	0	0
2	1	2.4
3	3	7.1
4	2	4.8
5	1	2.4
6	34	81
รวม	42	100

หมายเหตุ ระดับความหนาแน่นของเพลี้ยแป้งที่พบบนต้นมันสำปะหลัง

0 = ไม่พบเพลี้ยแป้ง

1 = พบเพลี้ยแป้ง 1-25 ตัว

2 = พบเพลี้ยแป้ง 26-50 ตัว

3 = พบเพลี้ยแป้ง 51-75ตัว

4 = พบเพลี้ยแป้ง 76-100 ตัว

5 = พบเพลี้ยแป้ง 101-125 ตัว

6 = พบเพลี้ยแป้งมากกว่า 125 ตัว

ตารางที่ 4 ความหนาแน่นของวัชพืช 10 ชนิด ที่เป็นพืชอาศัยของเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus*

แปลงที่	จังหวัด	สาบม่วง	ครอบจักรวาล	หญ้าท่าพระ	เถ้าลิสงนา	พันงูขาว	ตดหมูตดหมา	สะอึก	กระต่ายจาม	หญ้าปากควาย	ขจรจบดอกเล็ก
1	กาฬสินธุ์	196	2		30					4	1
2	กาฬสินธุ์	364			14						14
3	กาฬสินธุ์	232			2				2	10	
4	กาฬสินธุ์	192			14						
5	กาฬสินธุ์	319		1	2					6	
6	มหาสารคาม	47	2		2				3	11	
7	มหาสารคาม	126			5			3		13	
8	มหาสารคาม	146									
9	นครราชสีมา	162						1		1	
10	ขอนแก่น	23		68						6	
11	ร้อยเอ็ด	162								3	
12	ร้อยเอ็ด	39									
13	นครราชสีมา	319									
14	นครราชสีมา	300	2							5	2
15	ฉะเชิงเทรา	9									
16	ฉะเชิงเทรา	7									
17	ฉะเชิงเทรา			44							
18	ฉะเชิงเทรา	23			4						
19	ฉะเชิงเทรา	11						1			
20	ฉะเชิงเทรา			9							
21	กาฬสินธุ์	205									
22	ร้อยเอ็ด	20		53					9		
23	กาฬสินธุ์	7									
24	กาฬสินธุ์	315		9		2					

ตารางที่ 4 (ต่อ)

25	มหาสารคาม	275									
26	มหาสารคาม										
27	มหาสารคาม	129		3			2				
28	มหาสารคาม	215									
29	ขอนแก่น	119		188						3	
30	ยโสธร	5									
31	ยโสธร	73			1						9
32	ยโสธร	8		7							
33	ยโสธร	17		6							
39	มหาสารคาม	126									
40	ปราจีนบุรี	27					25		7		4
41	ปราจีนบุรี	89					8				31
42	ปราจีนบุรี	101									
	เฉลี่ย	**122**	**2**	**33**	**8**	**2**	**12**	**2**	**5**	**6**	**10**

ตารางที่ 5 ความหนาแน่นของต้นสาบม่วงต่อตารางเมตร จำนวนเพลี้ยแป้ง 2 ชนิดในสกุล *Phenacoccus* ที่พบบนต้นสาบม่วงและต้นมันสำปะหลัง

แปลงที่	จังหวัด	ความหนาแน่น ของสาบม่วง (ต้น/ตรม.)	สาบม่วง				มันสำปะหลัง			
			P.manihoti		*P. madeirensis*		*P.manihoti*		*P. madeirensis*	
			ตัวเต็มวัย	ไข่/ตัวอ่อน	ตัวเต็มวัย	ไข่/ตัวอ่อน	ตัวเต็มวัย	ไข่/ตัวอ่อน	ตัวเต็มวัย	ไข่/ตัวอ่อน
3	กาฬสินธุ์	38	2	0	7	0	3	1	0	0
4	กาฬสินธุ์	32	53	0	0	0	2	2	13	0
11	ร้อยเอ็ด	64	1	0	138	70	3	1	26	0
13	นครราชสีมา	32	3	2	0	0	6	1	0	0
14	นครราชสีมา	60	8	3	0	0	1	0	0	0
19	ฉะเชิงเทรา	2	695	78	0	0	405	50	15	10
21	กาฬสินธุ์	41	29	0	0	0	491	37	11	2
24	กาฬสินธุ์	63	17	0	0	0	20	2	0	0
25	มหาสารคาม	55	8	0	0	0	74	4	0	0
28	มหาสารคาม	43	19	3	0	0	77	6	0	0
31	ยโสธร	14	775	120	0	0	1043	104	0	0
34	มหาสารคาม	20	10	13	0	0	203	13	0	0
35	มหาสารคาม	24	18	5	0	0	83	9	0	0
38	มหาสารคาม	6	43	21	0	0	12	0	0	0
39	มหาสารคาม	25	54	18	0	0	61	2	0	0
40	ปราจีนบุรี	5	29	0	0	0	60	2	0	0
41	ปราจีนบุรี	18	2	0	10	0	25	4	0	27
42	ปราจีนบุรี	20	18	0	0	0	35	0	0	0
เฉลี่ย		*31*	*99*	*15*	*9*	*4*	*145*	*13*	*4*	*2*

ตารางผนวกที่ 1 ตำแหน่งพิกัดแปลงมันสำปะหลังที่พบการระบาดของเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus*

ลำดับที่	วันที่สำรวจ	ตำบล	อำเภอ	จังหวัด	พิกัดแปลง	
					N	E
1	15 พ.ย.53	นาดี	ยางตลาด	กาฬสินธุ์	16.41154	103.37571
2	15 พ.ย.53	นาดี	ยางตลาด	กาฬสินธุ์	16.41444	103.37263
3	16 พ.ย.53	โนนทอง	เมือง	กาฬสินธุ์	16.47951	103.57246
4	16 พ.ย.53	นาดี	ยางตลาด	กาฬสินธุ์	16.41498	103.37272
5	16 พ.ย.53	-	ยางตลาด	กาฬสินธุ์	-	-
6	19 พ.ย.53	เขวาไร่	นาเชือก	มหาสารคาม	15.84159	103.04609
7	19 พ.ย.53	เขวาไร่	นาเชือก	มหาสารคาม	15.84106	103.04631
8	19 พ.ย.53	วังไชย	บรบือ	มหาสารคาม	15.95388	103.0502
9	15 ธ.ค.53	ลาดบัวขาว	สีคิ้ว	นครราชสีมา	14.86654	101.59798
10	15 ธ.ค.53	คำพอุง	โพธิ์ชัย	ร้อยเอ็ด	15.89484	102.62744
11	16 ธ.ค.53	คำพอุง	โพธิ์ชัย	ร้อยเอ็ด	16.37208	103.8404
12	16 ธ.ค.53	หนองแวงนางบัว	พล	ขอนแก่น	16.36674	103.86134
13	2 ก.พ.54	กลางดง	ปากช่อง	นครราชสีมา	-	-
14	8 ก.พ.54	หนองน้ำใส	สีคิ้ว	นครราชสีมา	14.94694	101.50251
15	10 ก.พ.54	เขาหินซ้อน	พนมสารคาม	ฉะเชิงเทรา	14.94700	101.50165
16	10 ก.พ.54	ท่ากระดาน	สนามชัยเขต	ฉะเชิงเทรา	13.64529	101.68784
17	10 ก.พ.54	ทุ่งพระยา	สนามชัยเขต	ฉะเชิงเทรา	13.64485	101.68761
18	10 ก.พ.54	ทุ่งพระยา	สนามชัยเขต	ฉะเชิงเทรา	133.71927	101.70832
19	11 ก.พ.54	ลานกระทิง	สนามชัยเขต	ฉะเชิงเทรา	13.71944	101.70787
20	11 ก.พ.54	ลานกระทิง	สนามชัยเขต	ฉะเชิงเทรา	-	-
21	14 ก.พ.54	สะอาดไชยศรี	ดอนจาน	กาฬสินธ์	16.45142	103.73912
22	14 ก.พ.54	อัคคะคำ	โพธิ์ชัย	ร้อยเอ็ด	16.40723	103.75911
23	14 ก.พ.54	สะอาดไชยศรี	ดอนจาน	กาฬสินธ์	16.47078	103.76668

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

ลำดับที่	วันที่สำรวจ	ตำบล	อำเภอ	จังหวัด	พิกัดแปลง	
					N	E
24	14 ก.พ.54	สะอาดไชยศรี	ดอนจาน	กาฬสินธ์	16.47138	103.76650
25	15 ก.พ.54	ชื่นชม	ชื่นชม	มหาสารคาม	16.54678	103.12617
26	15 ก.พ.54	ชื่นชม	ชื่นชม	มหาสารคาม	-	-
27	15 ก.พ.54	ชื่นชม	ชื่นชม	มหาสารคาม	16.54896	103.13589
28	15 ก.พ.54	ชื่นชม	ชื่นชม	มหาสารคาม	16.40647	103.75882
29	15 ก.พ.54	น้ำอ้อม	กระนวน	ขอนแก่น	16.68882	103.13395
30	16 ก.พ.54	ห้องแซง	เริงนกทา	ยโสธร	16.24002	104.27450
31	16 ก.พ.54	ห้องแซง	เริงนกทา	ยโสธร	16.25644	104.31670
32	16 ก.พ.54	ห้องแซง	เริงนกทา	ยโสธร	16.27382	104.36623
33	16 ก.พ.54	ห้องแซง	เริงนกทา	ยโสธร	16.27080	104.38104
34	17 ก.พ.54	บรบือ	บรบือ	มหาสารคาม	16.27020	104.38067
35	17 ก.พ.54	บรบือ	บรบือ	มหาสารคาม	16.06035	103.10868
36	17 ก.พ.54	บรบือ	บรบือ	มหาสารคาม	16.05997	103.11417
37	17 ก.พ.54	บรบือ	บรบือ	มหาสารคาม	16.05963	103.11414
38	17 ก.พ.54	นาโพธิ์	กุดรัง	มหาสารคาม	16.08229	102.93324
39	17 ก.พ.54	นาโพธิ์	กุดรัง	มหาสารคาม	16.07771	102.92945
40	30 มี.ค.54	บ้านนา	กบินทร์บุรี	ปราจีนบุรี	13.99242	101.84353
41	30 มี.ค.54	บ่อทอง	กบินทร์บุรี	ปราจีนบุรี	13.94348	101.82255
42	30 มี.ค.54	นาแขม	กบินทร์บุรี	ปราจีนบุรี	14.03594	101.73818

ภาพผนวกที่ 1 สาบม่วงที่มีถุงไข่ของเพลี้ยแป้งชมพูและเขียว (บน) มันสำปะหลังที่มีตัวอ่อน ตัวเต็มวัย และถุงไข่ของเพลี้ยแป้งชมพูและเขียว (ล่าง)

ชีววิทยาและการแพร่กระจายของดาดตะกั่ว
Biology and Distribution of Hemigraphis ; (*Hemigraphis reptans* (G. Forst.) T. Anderson).

เสริมศิริ คงแสงดาว กลอยใจ คงเจี้ยง ภัทร์พิชชา รุจิระพงษ์ชัย
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ดาดตะกั่ว (Hemigraphis); *Hemigraphis reptans* (G. Forst.) T. Anderson เป็นวัชพืชข้ามปีพบในโรงเรือนและสวนกล้วยไม้ ต้นดาดตะกั่วเดี่ยวๆดูสวยงามดี ทำให้เกษตกรปล่อยไว้ในแปลงจนต้นดาดตะกั่วซึ่งออกดอกผลิตเมล็ดเร็ว จำนวนมาก ดีดเมล็ดออกไปได้ไกล เช่นเดียวกับต้อยติ่งขยายพันธุ์ได้ทั้งเมล็ดและแตกกิ่งใหม่จากตอ ทำให้กำจัดได้ไม่สมบูรณ์ จึงต้องมีการศึกษาชีววิทยาและการแพร่กระจายของดาดตะกั่ว เพื่อให้ได้ข้อมูลนำไปจัดการดาดตะกั่วต่อไป ในปี 2554 ได้ทำการศึกษาความงอกและการเจริญเติบโตของดาดตะกั่ว โดยเก็บต้นดาดตะกั่วจากแปลงกล้วยไม้ที่มีปัญหาดาดตะกั่ว ที่จังหวัดนครปฐม แบ่งเมล็ดสำหรับเพาะ 9 ครั้ง ตั้งแต่ทันทีหลังเก็บ (0 เดือน) และ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 เดือน แต่ละชุดทำการทดลองโดยวางแผนการทดลองแบบ CRD มี 4 กรรมวิธี โดยเพาะใน 4 สภาพ เพาะในจานแก้ว สภาพสว่าง และสภาพมืด, เพาะในกาบมะพร้าว และเพาะในดิน แต่ละสภาพเพาะเมล็ด 20 หน่วยทดลอง (50 เมล็ด/ 1 หน่วยทดลอง) บันทึกข้อมูลความงอก และวัดการเจริญเติบโต

ผลการทดลองพบว่า เมล็ดดาดตะกั่วสามารถงอกได้ทันทีตั้งแต่เมล็ดสุกแก่ ดีดออกจากต้นในสภาพมีแสงเมล็ดงอกได้ดีที่สุด ไม่งอกในสภาพมืด แต่เมื่อเมล็ดนั้นเจอแสงแดด ก็จะงอกได้ตามปกติ เมื่ออายุเมล็ดเพิ่มขึ้น ความสามารถในการงอกลดลง การเจริญเติบโตของต้นดาดตะกั่ว หลังใบจริงคู่ที่ 3 แผ่ขยายเต็มที่ เริ่มแทงช่อดอกแรก รากแขนงที่แตกต่อมาจากรากแก้ว และรากแขนงต่อๆมา มีลักษณะแข็งแรง ยาวใหญ่ และ ข้อโคนต้นถี่ เป็นสาเหตุที่ทำให้การกำจัดด้วยการถอนทำได้ไม่ สมบูรณ์

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-03-07-54

คำนำ

Hemigraphis reptans (G. Forst.) T.Anderson ex Hemsl. อยู่ในวงศ์ Acanthaceae ชนิดที่เป็นวัชพืช ชื่อสามัญ Hemigraphis, red lily, red flame, waffle plant และที่ฮาวายพบเป็นวัชพืชในสนามหญ้า (Anonymous, 2002) ชื่อที่เกษตรกรสวนกล้วยไม้เรียกคือ ผักแหวง หญ้าบังแหวง สำหรับดาดตะกั่วชนิดที่เป็นไม้ประดับ Hemigraphis alternata (Burm.f.)T.And. ชื่อ สามัญไทย ดาดตะกั่ว, ฮ่อมครั่ง, ห่งจื๊ออั้ง ไม่ค่อยพบการติดผล (วิทย์, 2009) ลำต้นเป็นข้อๆ ต้นแผ่แตกกิ่งตั้งแต่โคนต้น ใบเดี่ยว ออกเป็นคู่ไปตามข้อต้น ใบรูปไข่ ปลายใบแหลม โคนใบมน ด้านบนสีเขียวปนม่วง ใต้แผ่นใบมีสีม่วงแดง ขอบใบเรียบ ดอกรูปกรวยเล็กๆสีม่วง 5 แฉก ในแต่ละช่อจะมีใบประดับเรียงซ้อนกันเป็นชั้นๆ เสริมศิริ และคณะ (2552) พบว่าการใช้สารกำจัดวัชพืชทั้งประเภทก่อนวัชพืชงอกและประเภทหลังวัชพืชงอก เพียงครั้งเดียวไม่สามารถกำจัดดาดตะกั่วได้สมบูรณ์ เนื่องจากดาดตะกั่วยังสามารถงอกขึ้นมาใหม่ได้จากตอและเมล็ด และตอของดาดตะกั่วที่ขึ้นอยู่ในกาบมะพร้าวกำจัดออกให้หมดได้ยาก ระยะเวลากำจัดที่เหมาะสมคือต้องกำจัดตั้งแต่ระยะต้นอ่อนจึงเห็นสมควรที่จะมีการศึกษาหาข้อมูลมาประกอบการวางแผนการกำจัดที่มีประสิทธิภาพดีต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

ต้นดาดตะกั่ว จานแก้ว (petri dishes) ดิน กาบมะพร้าว กระถางพลาสติก ปากคีบปลายแหลม ไม้บรรทัด แว่นขยาย

วิธีการ

ปี 2554 ศึกษาความงอกและการเจริญเติบโตของดาดตะกั่ว

1.1.ศึกษาความงอกของเมล็ดดาดตะกั่ว

-แบบและวิธีการทดลอง และวิธีปฏิบัติการทดลอง เมล็ดดาดตะกั่วที่ใช้ในการทดลอง เก็บรวบรวมจากสวนกล้วยไม้ จังหวัดนครปฐม คัดเลือกเมล็ดที่สมบูรณ์ วางแผนการทดลองแบบ CRD แบ่งเมล็ดออก 9 ชุด ชุดแรกนำมาเพาะทันทีหลังจากเก็บจากธรรมชาติ และส่วนชุดที่เหลือเก็บไว้ในสภาพอุณหภูมิห้องนำมาเพาะเดือนละครั้งเป็นเวลา 8 เดือน เพาะใน 4 สภาพ คือ ได้รับแสงแดด

ธรรมชาติ และในที่มืด บนดิน บนกาบมะพร้าว ใช้เมล็ดดาดตะกั่วหน่วยทดลองละ 50 เมล็ด แตละสภาพเพาะครั้งละ 20 หน่วยทดลอง

-การบันทึกข้อมูล เมื่อเมล็ดดาดตะกั่วงอก บันทึกความงอกของเมล็ดหลังจากปลูก 2 และ 3 สัปดาห์ สำหรับการเพาะในดินและในกาบมะพร้าวถอนให้เหลือต้นที่แข็งแรง 10 ต้น เพื่อบันทึกข้อมูลการเจริญเติบโต

1.2. **ศึกษาการเจริญเติบโตของดาดตะกั่ว**

-แบบและวิธีการทดลอง

1.2.1.ผิวดิน คัดเลือกพื้นที่ที่มีดาดตะกั่วขึ้นหนาแน่น สุ่ม 3 จุดพื้นที่ขนาด 50x50 เซนติเมตร

1.2.2.วัสดุปลูก (กาบมะพร้าว) คัดเลือกกระถางกล้วยไม้ที่มีต้นดาดตะกั่วขึ้นหนาแน่น จำนวน 30 กระถาง

-วิธีปฏิบัติการทดลอง สุ่มต้นดาดตะกั่วที่เป็นตัวแทนออกมาจุดละ 20 ต้น บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโต ได้แก่ ความสูงต้น ขนาดใบ ความยาวกิ่ง จำนวนกิ่ง จำนวนช่อดอก ช่อดอกย่อย จำนวนฝัก จำนวนเมล็ด จำนวนรากและความยาวราก

เวล าสถานที่

ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 เรือนทดลองของกลุ่มวิจัยวัชพืช และสวนกล้วยไม้จังหวัดนครปฐม

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

เปรียบเทียบความงอกของเมล็ดดาดตะกั่วเมื่อเพาะในสภาพต่างๆ

จากการนำเมล็ดดาดตะกั่วที่สุกแก่มาเพาะในสภาพต่างๆ ที่ 3 สัปดาห์หลังการเพาะ พบว่าความงอกของเมล็ดดาดตะกั่วที่เพาะในจานแก้วที่ได้รับแสงแตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมล็ดที่เพาะในที่มีแสงแดดธรรมชาติ (Light/Dark) มีเปอร์เซนต์ความงอกสูงสุด ส่วนเมล็ดที่เพาะในจานแก้วสภาพมืดตลอดเวลา ซึ่งแทบจะไม่มีเมล็ดงอกเลย สอดคล้องกันทุกเดือน และเมื่อนำเมล็ดที่เพาะในที่มืดนาน 2 สัปดาห์ออกมารับแสงแดดธรรมชาติ (Dark 2 wk + Light/Dark)

พบว่าเมล็ดที่ไม่งอกชุดนั้นสามารถงอกได้ตามปกติ รองลงมาจากสภาพที่ได้รับแสงธรรมชาติ แสดงว่าแสงจำเป็นต่อการงอกของเมล็ดดาดตะกั่ว

ส่วนการเพาะในดินเมล็ดดาดตะกั่วงอกขึ้นมาน้อยกว่าการเพาะในจานแก้ว เนื่องจากเมล็ดที่งอกแล้วต้องปรับตัวในสภาพแวดล้อมและดันให้โผล่พ้นดินขึ้นมา และความงอกยิ่งน้อยลงเมื่อเพาะในกาบมะพร้าว เนื่องจากกาบมะพร้าวมีความพรุนและแห้งกว่าดิน จากการสังเกตุพบว่าต้นดาดตะกั่วจะยาวมากกว่าต้นที่งอกจากดิน เพราะเมล็ดที่ตกลงไปในซอกเส้นใยกาบมะพร้าว ต้องใช้อาหารในเมล็ดมากในการยืดตัวหลังงอก เพื่อให้โผล่ขึ้นมารับแสงบนผิวกาบมะพร้าว (Table 1)

ความงอกของเมล็ดดาดตะกั่วหลังสุกแก่

จากการเปอร์เซนต์ความงอกของเมล็ดดาดตะกั่วมาเพาะในสภาพแสงแดดธรรมชาติ (Light/Dark) พบว่าเมล็ดดาดตะกั่วสามารถงอกได้ทันทีหลังสุกแก่ (หลังการดีดออกจากเมล็ด) โดยมีความงอก 75.8 เปอร์เซนต์ หลังจากสุกแก่นาน 1 เดือนเมล็ดดาดตะกั่วงอกได้มากที่สุด คือ 92 เปอร์เซนต์ เปอร์เซนต์ความงอกจะลดลงเล็กน้อยในช่วงเมล็ดอายุ 4 เดือน แต่ยังสูงกว่าทันทีหลังสุกแก่ คือ อายุ 2, 3 และ 4 เดือน เปอร์เซนต์ความงอก 82.4, 80.8 และ 77 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ หลังจากนั้นความงอกของเมล็ดลดลงตามลำดับจนถึงเกือบไม่งอกได้เลย คือ อายุ 5, 6, 7 และ 8 เดือน เปอร์เซนต์ความงอก 49.2, 46.6, 26.8 และ 9.8 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ (Table 2) และต้นอ่อนของดาดตะกั่วที่งอกในช่วงหลังมักอ่อนแอ จากการเพาะในดินและกาบมะพร้าว และในสภาพจากแก้วที่เพาะในที่มืดนาน 2 สัปดาห์แล้วจึงนำออกมาเพาะในที่มีแสง จึงพบว่าค่าเปอร์เซนต์ความงอกลดลงมาก (Table 1)

การเจริญเติบโตของต้นดาดตะกั่ว

<u>สภาพเรือนทดลอง</u>

1. ปลูกในดิน

การพัฒนาของต้นดาดตะกั่ว พบว่า หลังจากงอกจากเมล็ด 1 สัปดาห์เริ่มแตกใบจริงคู่แรกและใบจริงคู่ที่ 2 และ 3 จะแตกที่สัปดาห์ที่ 2 และ 3 ตามลำดับ ใบจริงมีขนแข็งสั้นๆ ใบคู่ที่ 4 คือใบประดับของช่อดอกแรก มีขนาด มีขนาดเฉลี่ยกว้าง 1.2 x ยาว 2.2 เซนติเมตร ก้านช่อยาว 0.5 เซนติเมตร จะออกในสัปดาห์ที่ 4 พร้อมกับเริ่มมีการแตกกิ่งจากมุมใบคู่ที่ 1 แผ่นใบและก้านใบมีการแผ่ขยายใหญ่ยืดตัวเพิ่มตามอายุที่เพิ่มขึ้น โดยใบเลี้ยงมีขนาดเท่าเดิมเฉลี่ยกว้าง 0.61 x ยาว 1.82

เซนติเมตร ก้านใบยาว 0.28 เซนติเมตร ตั้งแต่เริ่มงอกจากเมล็ด และติดอยู่กับต้นนานถึง 60 วัน ส่วนใบจริงมีขนาดเฉลี่ยกว้าง 1.75 x ยาว 2.55 เซนติเมตร ก้านใบยาว 0.95 เซนติเมตร ใบจริงมีขนแข็งสั้นๆ

ความสูงต้นของต้นดาดตะกั่ว พบว่าเพิ่มขึ้นน้อยมาก เนื่องจากดาดตะกั่วมีลำต้นสั้นมาก จนแทบจะเรียกว่าไม่มีลำต้น ส่วนที่เห็นเป็นต้นดาดตะกั่วทั้งหมดคือการยืดตัวของกิ่งที่แผ่กว้างออกไป และการชูช่อดอก การแตกใบแต่ละคู่คือการเพิ่มความสูงของลำต้น เมื่ออายุ 20, 30, 45, 60 และ 90 วัน เฉลี่ย 0.64, 0.86, 1.15, 1.8 และ 3.3 เซนติเมตร ตามลำดับ นี่คือคำตอบแรกของคำว่ากำจัดให้หมดไปได้ยาก เนื่องการดึงกำจัดออกต้นดาดตะกั่วจะหักขาดจากต้นได้ง่าย

รากของดาดตะกั่ว เป็นพืชใบเลี้ยงคู่มีรากแก้ว หลังจากงอกจากเมล็ด รากแก้วยึดติดอยู่ 1 ตำแหน่ง ลำต้นและใบเลี้ยงที่ยังอ่อนจะทอดนอนกับพื้นก่อนแตกรากแขนงแรกออกมาจากส่วนของลำต้นที่มีใบจริงติดอยู่ จากการสังเกตุพบว่ารากแขนงแรกนี้จะยาวกว่ารากแก้วมาก หลังจากนั้นจะเริ่มมีการเพิ่มขนาด (ความแข็งแรงของราก) ความยาวจำนวนรากแขนง และเพิ่มจำนวนรากฝอยที่ใช้หาอาหาร

ความยาวรากเมื่ออายุ 20, 30, 45, 60 และ 90 วัน เฉลี่ย 2.84, 6.4, 8.2, 9.5 และ 10.6 เซนติเมตร ตามลำดับ และจำนวนรากแขนง เมื่ออายุ 30, 45, 60 และ 90 วัน เฉลี่ย 3.97, 5.94, 7.4 และ 7.5 ราก ตามลำดับ

2. ปลูกในกาบมะพร้าว

พบว่าเมล็ดดาดตะกั่วตกลงไปในซอกกาบไยมะพร้าว จึงงอกโผล่ออกมาให้เห็นช้ากว่าการปลูกในดิน และเมื่อไม่มีการให้ปุ๋ย และกาบมะพร้าวแห้งเร็วกว่าดิน ทำให้ต้นดาดตะกั่วที่งอกขึ้นมาโตช้าอยู่ที่ระยะใบเลี้ยงนาน ไม่มีการพัฒนาใบจริง

<u>สภาพสวนกล้วยไม้</u>

<u>สุ่มต้นดาดตะกั่วจากพื้นดินใต้โต๊ะ</u>วัดการเจริญเติบโตดาดตะกั่วต้นโตพบว่าโดยเฉลี่ยมีความสูงต้น 11.9 เซนติเมตร ใบมีขนาดกว้าง 2.8 x ยาว 5.4 เซติเมตร ก้านใบยาว 3.38 เซนติเมตร จำนวนกิ่ง 3.5 กิ่งความยาวกิ่ง 5.6 เซนติเมตร ช่อดอกออกที่ปลายกิ่ง จำนวนช่อดอก 6.3 ช่อ ความยาวก้านช่อ

ดอก 6.4 เซนติเมตร ความยาวช่อดอก 3.63 เซนติเมตร ความยาวราก 14.4 ช่อดอกออกที่ปลายกิ่ง จำนวน 12.14 ราก ทุกข้อที่แตะดินจะงอกรากยึดดิน ทำให้การถอนออกจากดินให้หมดทำได้ยาก

สุ่มต้นดาดตะกั่วจากกระถางกล้วยไม้ พบว่ามีดาดตะกั่วต้นโตออกดอกติดเมล็ดแล้ว, ต้นเล็กยังไม่ออกดอก และต้นอ่อน เฉลี่ย 5.6, 5.2 และ 5.2 ต้นต่อกระถางตามลำดับ วัดการเจริญเติบโตดาดตะกั่วต้นโตโดยเฉลี่ยมีความสูงต้น 15.1 เซนติเมตร ใบมีขนาดกว้าง 3.2 x ยาว 5.3 เซติเมตร ก้านใบยาว 2.7 เซนติเมตร ช่อดอกออกที่ปลายกิ่ง จำนวน 3-5 ช่อดอกย่อย มี 23.7 ฝัก ฝักยาว 0.75 เซนติเมตร แต่ละฝักมีเมล็ด 6-12 เมล็ด ทุกข้อที่ติดกับกาบมะพร้าวจะงอกรากยึดกับกาบมะพร้าวไว้

สรุปโดยภาพรวม พบว่าอาหารและน้ำจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของดาดตะกั่ว ดังนั้นต้นดาดตะกั่วในกระถางกล้วยไม้ที่ได้รับปุ๋ยและน้ำสม่ำเสมอ จึงมีขนาดโตกว่าการปลูกในสภาพเรือนทดลองที่รดน้ำเพียงอย่างเดียว ดาดตะกั่วที่ปลูกในดินผสมโตน้อยกว่าดาดตะกั่วที่ขึ้นใต้โต๊ะกล้วยไม้ และเห็นได้ชัดจากการปลูกในกาบมะพร้าวในสภาพเรือนทดลองที่ดาดตะกั่วหลังจากงอกแล้วแทบไม่มีการพัฒนาเลย

ต้นดาดตะกั่วเริ่มมีการออกดอกตั้งแต่ใบคู่ที่ 4 การเจริญเติบโตเน้นการแผ่กิ่งก้านสาขามากกว่าความสูงต้น ทุกปลายกิ่งจะแตกช่อดอก การออกดอกจะทยอยบานยืดออกไปต่อเนื่อง จึงทำให้ทยอยติดเมล็ด และเมล็ดทยอยแก่และดีดออกต่อเนื่อง รากดาดตะกั่วมีความยาวมากกว่าความสูงต้น การดึงกำจัดออกต้นดาดตะกั่วออกจากเม็ดดินทำได้ง่ายกว่า การดึงต้นดาดตะกั่วออกจากกาบมะพร้าว เนื่องจากรากฝอยยึดจับแน่นกับเส้นไยของกาบมะพร้าว และข้อที่สั้น ทำให้ตอของดาดตะกั่วยังคงติดอยู่กับกาบมะพร้าว แตกกิ่งใหม่ต่อไปได้ ยิ่งกำจัดหลายครั้งตอจะยิ่งมีขนาดใหญ่ขึ้นเรื่อยๆ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เมล็ดดาดตะกั่วสามารถงอกได้ทันทีตั้งแต่เมล็ดสุกแก่ ดีดออกจากต้น ในสภาพมีแสงเมล็ดงอกได้ดีที่สุด ไม่งอกในสภาพมืด แต่เมื่อเมล็ดนั้นเจอแสงแดด ก็จะงอกได้ตามปกติ เมื่ออายุเมล็ดเพิ่มขึ้น ความสามารถในการงอกลดลง

การเจริญเติบโตของต้นดาดตะกั่ว หลังใบจริงคู่ที่ 3 แผ่ขยายเต็มที่ เริ่มแทงช่อดอกแรก ราก แขนงที่แตกต่อมาจากรากแก้ว และรากแขนงต่อๆมา มีลักษณะแข็งแรง ยาวใหญ่ และ ข้อโคนต้นถี่ เป็นสาเหตุที่ทำให้การกำจัดด้วยการถอนทำได้ไม่ สมบูรณ์

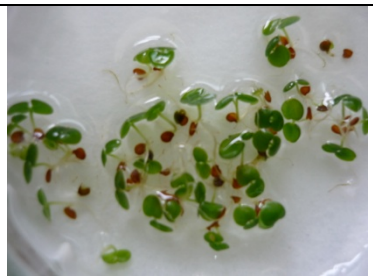
เอกสารอ้างอิง

วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม. 2009. พจนานุกรม สมุนไพรไทย. ดาดตะกั่ว.). [ออนไลน์]. แหล่งข้อมูล : http://www.samunpri.com/herbs/?p=397 (11 พฤศจิกายน 2551)

เสริมศิริ คงแสงดาว สิริชัย สาธุวิจารณ์ และจรัญญา ปิ่นสุภา. 2552. การจัดการดาดตะกั่ว (*Hemigraphis reptans*) ในกล้วยไม้สกุลหวาย. หน้า 1968-1991. ใน: รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2552 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เล่ม 3 กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

Anonymous. 2002. Hemigraphis reptans (G. Forst.) T. Anderson. [Online]. Available. http://www.hear.org/pier/species/hemigraphis_reptans.htm (November 11, 2008)

ภาคผนวก

<table>
<tr><td colspan="2">ต้นอ่อนดาดตะกั่วที่เพาะในสภาพต่างๆ ที่ 2 สัปดาห์หลังเพาะ</td></tr>
<tr><td>แสงแดด</td><td>มืด</td></tr>
<tr><td>  </td><td> </td></tr>
<tr><td>ดิน</td><td>กาบมะพร้าว</td></tr>
<tr><td> </td><td> </td></tr>
<tr><td>ต้นดาดตะกั่วชนิดที่เป็นไม้ประดับ แทบไม่มีดอก</td><td>ต้นดาดตะกั่วชนิดที่เป็นวัชพืช เดี่ยวๆดูสวยงามดี มีดอกและเมล็ดมาก</td></tr>
<tr><td> </td><td> </td></tr>
</table>

ใบจริงมีขนแข็งสั้นๆ	หลังใบจริงคู่ที่ 3 แผ่ขยายเต็มที่เริ่มแทงช่อดอก
รากแขนงมีความยาวมากกว่ารากแก้ว	ส่วนที่เห็นเป็นต้นดาดตะกั่วทั้งหมดคือการยืดตัวของกิ่งที่แผ่กว้างออกไปและการชูช่อดอก
ลักษณะกิ่ง ใบและช่อดอกของดาดตะกั่ว	สภาพต้นดาดตะกั่วใต้โต๊ะกล้วยไม้

ต้นดาดตะกั่วในกระถางกล้วยไม้ที่สุ่มวัดการเจริญเติบโต	สภาพปัญหาดาดตะกั่วในสวนกล้วยไม้

Table 1. Percentage germination of Hemigraphis seeds after ripening under various germination condition.

Germination condition	% Germination (Months after ripening)								
	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Light/Dark	75.8 b	92.0 a	82.4 a	80.8 a	77.0 a	49.2 a	46.6 a	26.8 a	9.8 a
Dark	0.2 e	1.2 d	1.0 e	1.0 d	68.8 b[1/]	1.0 e	0.2 d	0 d	0 b
Dark 2 wk + Light/Dark	84.2 a	92.6 a	73.8 b	70.4 b	77.0 a	37.4 b	26.8 b	11.8 b	1.8 b
Soil	63.2 c	60.2 b	62.4 c	36.6 c	28.4 c	11.2 d	4.2 c	3.8 cd	0.2 b
Coconut hull	41.2 d	40.8 c	46.6 d	37.8 c	27.6 c	19.0 c	6.4 c	6.8 bc	0 b
C.V. (%)	23.2	19.4	26.3	26.2	24.5	44.4	47.7	50.2	99.2

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

[1/] = ขณะเพาะภาชนะบรรจุมืดไม่สนิททำให้เมล็ดดาดตะกั่วงอกได้ ต้นที่งอกมีสีขาวและยืดยาวหาแสง

Table 2. Percentage germination of Hemigraphis seeds after ripening.

Germination condition	% Germination (Months after ripening)								
	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Light/Dark	75.8 c	92.0 a	82.4 b	80.8 bc	77.0 bc	49.2 d	46.6 d	26.8 e	9.8 f

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

C.V. = 16.9 %

1964

ชีววิทยาและนิเวศวิทยาของสาบม่วง (Praxelis);
Praxelis clematidea R.M King & H. Rob.
Biology and ecology of Praxelis (*Praxelis clematidea* R.M. King & H. Rob.)

วนิดา ธารธวิล ยุรวรรณ อนันตนมณี จรรยา มณีโชติ
สิริชัย สาธุวิจารณ์ สุพัตรา ชาวกงจักร์
กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

จากการดำเนินงานในปีที่ผ่านมา ได้ทำการสำรวจและรวบรวมเมล็ดสาบม่วงในพื้นที่แปลงของเกษตรกรที่ทำการเพาะปลูกมันสำปะหลัง สับปะรดและยางพารา ในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 50 แปลง ดังนี้ จังหวัดกาฬสินธุ์ มหาสารคาม ขอนแก่น ร้อยเอ็ด หนองคาย เลย นครพนม และได้นำเมล็ดมาทำการเพาะเพื่อทดสอบความงอกและศึกษาการเจริญเติบโตของสาบม่วง พบว่าเมล็ดมีเปอร์เซ็นต์ความงอกค่อนข้างต่ำ อาจเนื่องมาจากสภาพเมล็ดที่ได้จากการสำรวจไม่สมบูรณ์ มีความเป็นไปได้ว่าเกษตรกรอาจฉีดพ่นยาในช่วงที่ติดเมล็ดจึงทำให้เมล็ดไม่สมบูรณ์ ซึ่งขณะนี้ได้ทำการปลูกทดสอบใหม่เพื่อใช้เก็บข้อมูลและศึกษาชีววิทยาของสาบม่วงอีกครั้ง

ในการศึกษาชีววิทยาของสาบม่วงนั้นเบื้องต้นได้นำเมล็ดสาบม่วงมาทำการเพาะทดสอบความงอกในจานเพาะ พบว่า เมื่ออายุได้ประมาณ 3-5 วัน เมล็ดจะแทงรากสีขาวออกมา มีความยาวประมาณ 0.5-1 เซนติเมตร มีใบเลี้ยงคู่แรกเมื่ออายุได้ประมาณ 7-10 วัน มีขนาดความสูงต้นอยู่ที่ประมาณ 1-1.5 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเมล็ดในสภาพดินปลูกพบว่า เมล็ดจะมีใบเลี้ยงคู่แรกโผล่พ้นดินเมื่อ อายุได้ประมาณ 7-10 วัน และเมื่อต้นสาบม่วงเจริญได้ประมาณ 2 สัปดาห์ จะมีใบจริงคู่แรก และเริ่มมีตุ่มดอกขนาดเล็กเมื่ออายุได้ประมาณ 28-32 วัน ทั้งนี้เมล็ดสาบม่วงเป็นเมล็ดที่ต้องการแสงในการงอกซึ่งจากการทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกในสภาพที่มืดและที่สว่างพบว่าเมล็ดที่เพาะทดสอบในสภาพมีแสง มีเปอร์เซ็นต์งอก (26%) สูงกว่าเมล็ดที่เพาะในสภาพไม่มีแสงซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ความงอกเป็น 0%

งานในปี 2555 ทำการสำรวจการระบาดของสาบม่วงในเขตภาคตะวันออก จำนวน 50 แปลง และเก็บตัวอย่างวัชพืชและเมล็ดเพื่อนำมาปลูกทดสอบและศึกษาชีววิทยาของสาบม่วงต่อไป

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-010-03-08-54

ปัญหา/อุปสรรค์/ เมล็ดที่เก็บมาเพาะเพื่อศึกษาชีววิทยามีเปอร์เซ็นต์ความงอกต่ำมาก จำนวนเมล็ดจึงไม่เพียงพอ และวิธีการเก็บรักษาเมล็ดวัชพืช

คำนำ

สาบม่วง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า (*Praxelis clematidea* R.M.King & H.Rob.) อยู่ในวงศ์ Asteraceae มีแหล่งกำเนิดอยู่ที่ ทางเหนือของประเทศอาเจนตินา ทางใต้ของประเทศบราซิล ประเทศปารากวัย ประเทศโบลิเวีย และประเทศเปรู (Anonymous, 2003) เป็นพืชฤดูเดียว ความสูง 0.2-1.0 เมตร ลำต้นเป็นทรงกระบอกมีขน ใบมีรูปร่างคล้ายเพชร ขอบใบหยักเป็นซี่อยู่ระหว่าง 5-8 ซี่ ช่อดอกมีสีม่วงประกอบด้วยดอกย่อย 30-50 ดอกย่อย เมล็ดมีสีดำมีขนฟูอยู่รวมกันเป็นกระจุก (Anonymous, 2003) สาบม่วง (*Praxelis clematidea* R.M.King & H.Rob.) มีลักษณะคล้ายสาบแร้งสาบกา ในประเทศไทย พบครั้งแรกในแปลงทุเรียน จังหวัดจันทบุรี ประมาณปี พศ.2546 เนื่องจากมีลักษณะดอกคล้ายสาบแร้งสาบกา แต่ใบคล้ายสาบเสือ จึงเข้าใจผิดว่าเป็นวัชพืชในตระกูลเดียวกับสาบเสือ ในขณะนั้นได้มีการตั้งชื่อว่า หญ้าสาบ ใช้ชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Chromolaena* sp. (นิรนาม, 2547) ต่อมาจากการสืบค้นพบว่าชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Praxelis clematidea* R.M.King & H.Rob (Anonymous, 2003) สาบม่วงเป็นวัชพืชที่ใช้เมล็ดในการขยายพันธุ์และยังสามารถใช้ส่วนแขนงลำต้นที่ติดกับดินงอกรากเจริญเป็นต้นใหม่ได้ นอกจากนี้สาบม่วงยังมีการเจริญเติบโตและสร้างเมล็ดได้เร็ว แพร่กระจายโดย ลม วัสดุทางการเกษตร เครื่องจักรกลการเกษตร หรือแม้แต่กระทั่งมนุษย์เอง และยังสามารถปรับตัวให้อยู่รอดในสภาพอากาศและถิ่นที่อยู่ได้อย่างกว้างขวาง

การเจริญเติบโต การพัฒนา และการขยายพันธุ์ของวัชพืช ต้องอาศัยทั้งปัจจัยภายในและภายนอก ซึ่งปัจจัยภายใน ได้แก่ ช่วงการพักตัวของเมล็ดวัชพืช การงอกของเมล็ด การเจริญและพัฒนาการของต้นอ่อน การเจริญเติบโต การออกดอก การติดเมล็ด ระยะสุขแก่ของเมล็ด และตายของวัชพืช ปัจจัยภายนอก เช่น น้ำ ภูมิอากาศ แสง อุณหภูมิ ชนิดดิน พันธุกรรมพืช ฮอร์โมน และธาตุอาหารพืช เหล่านี้เป็นต้น ส่งผลต่อการเจริญเติบโต และการดำรงพันธุ์ของพืชทั้งทางตรง และทางอ้อม วงจรชีวิตของวัชพืช การขยายพันธุ์ และการพักตัวของเมล็ดในดินจึงมีความสำคัญมาก ต่อการอยู่รอดของวัชพืชในสภาพสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม (Radosevich และ Holt, 1984)

เนื่องจากเมล็ดสาบม่วงสามารถปลิวลมได้จึงพบการระบาดไปได้ทั่วทุกพื้นที่ ทั้งในแปลงสับปะรด ยางพารา มันสำปะหลัง รวมถึงในแปลงหญ้าอาหารสัตว์ โดยเฉพาะในภาค

ตะวันออกเฉียงเหนือ แต่ยังไม่ทราบถึงปัจจัยที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของสาบม่วง วัชพืชที่พบในแต่ละพื้นที่มีลักษณะที่มีการเจริญเติบโตแตกต่างกันไปขึ้นกับสภาพพื้นที่ และภูมิอากาศที่แตกต่างกัน ดังนั้นการศึกษาพื้นฐานทางด้านชีววิทยา และนิเวศวิทยาของวัชพืชจะช่วยให้สามารถวางแผนในการจัดการวัชพืชได้อย่างเหมาะสม และตรงประเด็นปัญหาของวัชพืช ทำให้สามารถลดการใช้สารกำจัดวัชพืชที่เกินความจำเป็นซึ่งอาจมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และระบบนิเวศเกษตร ความสัมพันธ์ระหว่างวัชพืช และสิ่งแวดล้อม ระบบการปลูกพืช และการจัดการพื้นที่เพาะปลูก(ดวงพร, 2544) ดังนั้นการจัดการสาบม่วงที่มีประสิทธิภาพ จำเป็นต้องศึกษาข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับประชากรของเมล็ดวัชพืช รวมทั้งชีววิทยาของวัชพืชที่สำคัญเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการวางแผนการจัดการต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างวัชพืช
2. เครื่องวัดพิกัด GPS
3. กระถางขนาด 6” 8” และ 12”
4. ดินผสมปลูก
5.กล้องถ่ายรูป

วิธีการ

<u>การทดลองที่ 1</u> การแพร่กระจายของสาบม่วง

แผนการทดลอง (Experimental Design) แบบสุ่มโดยวิธี Unrestricted sampling method
กรรมวิธี (Treatment) การทดลองมี 2 กรรมวิธี คือ การสำรวจ และรวบรวมชนิดวัชพืช

<u>วิธีสุ่มตัวอย่างวัชพืช</u>

ในการสำรวจนั้นใช้กรอบสี่เหลี่ยม (Quadrat) ขนาด 0.5×0.5 เมตร วางแปลงสุ่มโดยวิธี Unrestricted sampling method (Anonymous, 1982) ทำการสุ่ม 4 จุดต่อหนึ่งแปลง บันทึกจำนวนชนิด นับปริมาณวัชพืชแต่ละชนิด และหาชื่อวัชพืช บันทึกภาพ ส่วนการวิเคราะห์ลักษณะเชิงปริมาณ (Quantitative characteristic) ของวัชพืชที่สำรวจพบในแปลงเพื่อจัดลำดับวัชพืชเด่น

(dominant species) และวัชพืชรอง (co-dominant species) นั้นได้อาศัยค่าของ sum dominance ratio ซึ่งคำนวณได้จากค่า relative density และค่า relative frequency

วิธีการการสำรวจ

สำรวจการระบาดของสาบม่วงในแปลงปลูกสับปะรด ยางพารา และมันสำปะหลังในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 50 แปลง โดยสุ่มนับสาบม่วง จำนวน 4 จุดๆ ละ 0.25 ตารางเมตร เพื่อเก็บข้อมูลความหนาแน่น และจดบันทึกข้อมูลพิกัด GPS สภาพพื้นที่ ชนิดดิน

การทดลองที่ 2 ศึกษาการเจริญเติบโตของสาบม่วงในชุดดินต่างๆ

นำสาบม่วงที่มีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงจำนวน 5 ประชากร ประชากรละ 3 ซ้ำ มาทำการปลูกทดสอบเพื่อดูการเจริญเติบโต ในชุดดิน 4 ชุดดิน ได้แก่ ดินร่วน(ชุดดินปากช่อง) ดินทราย ดินเหนียว (ชุดดินบางเขน) และดินลูกรัง

การทดลองที่ 3 ทดสอบความงอกของเมล็ดสาบม่วงในสภาพมีแสงและไม่มีแสง

ในการทดสอบใช้เมล็ดสาบม่วงที่ได้จาก ทำการเพาะทดสอบในห้องปฏิบัติการ จำนวน 3 ซ้ำ โดยภายใต้สภาพมีแสงจะวางจานเพาะไว้ในสภาพห้องปกติ ส่วนในสภาพไม่มีแสงจะนำไปไว้ในตู้ปิดเป็นเวลา 7 วัน จึงทำการเก็บข้อมูลความงอก

การทดลองที่ 4 ศึกษาวงจรชีวิตของสาบม่วง

นำสาบม่วงจากการการทดลองที่ 1 มาเพาะทดสอบความงอกในห้องปฏิบัติการ และปลูกในโรงเรือน ใช้สาบม่วง 10 ประชากร เพาะ ทุก 2 สัปดาห์ เพื่อศึกษาวงจรชีวิตเช่น การงอกของเมล็ด การเจริญเติบโต และการขยายพันธุ์ในสภาพแวดล้อมต่างๆ เป็นต้น

การเก็บข้อมูล ในโรงเรือน นำเมล็ดสาบม่วงมาเพาะ และเก็บข้อมูล เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ด วัดความสูง นับจำนวนใบ ระยะการออกดอก จำวนวนดอก การติดเมล็ด จำนวนเมล็ดต่อดอก

จำนวนเมล็ดต่อต้น น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งต่อต้น พร้อมกับบันทึกภาพช่วงระยะการเจริญเติบโตในระยะต่างๆ

เวลาและสถานที่

- แปลงปลูกสับปะรด ยางพารา และมันสำปะหลัง ในไร่เกษตรกร
- โรงเรือนกลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักพัฒนาการอารักขาพืช
- โรงเรือนศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกาฬสินธุ์

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 การแพร่กระจายของสาบม่วง

ผลการสำรวจสาบม่วงในแปลงปลูกพืชเศรษฐกิจพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือพบการแพร่ระบาดของสาบม่วง แบ่งเป็นพื้นที่จังหวัดกาฬสินธุ์ จำนวน 18 แปลง จังหวัดขอนแก่น จำนวน 4 แปลง จังหวัดมหาสารคาม จำนวน 5 แปลง จังหวัดหนองคาย จำนวน 12 แปลง จังหวัดร้อยเอ็ด จำนวน 3 แปลง จังหวัดเลย จำนวน 9 แปลง จังหวัด นครพนม จำนวน 6 แปลง ซึ่งจากการสำรวจพบการแพร่ระบาดของสาบม่วงในพืชปลูกดังนี้

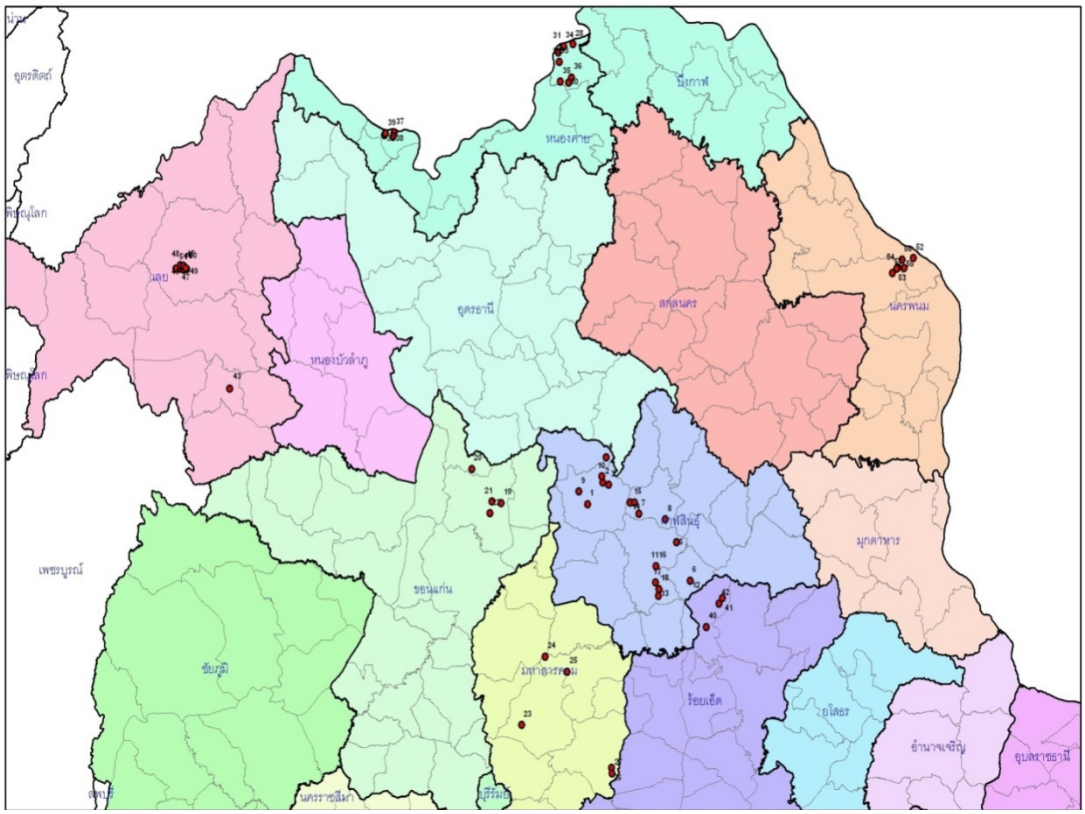
ชนิดพืช	จำนวนแปลงที่พบสาบม่วง	% total
มันสำปะหลัง	14	28
ยางพารา	21	42
สับปะรด	15	30
รวม	50	100

จากข้อมูลดังกล่าวทำให้ทราบว่า สาบม่วงมีการแพร่กระจายไปในหลายพื้นที่รวมถึงในพื้นที่ปลูกพืชเศรษฐกิจของภาคตะวันออกเฉียงเหนือซึ่งพบมากในพื้นที่ปลูกยางพารา(42%) สับปะรด(30%) และมันสำปะหลัง(28%) ตามลำดับ ทั้งนี้สาบม่วงที่สำรวจพบในแปลงยาพาราส่วนใหญ่จะเป็นแปลงยางที่ปลูกใหม่อายุไม่เกิน 3-4 ปี ซึ่งมีร่มเงา สาบม่วงที่พบจึงมีขนาดต้นเล็กกว่าที่พบในแปลงมันสำปะหลังและในแปลงสับปะรดที่มีสภาพแปลงที่ได้รับแสงแดดจัดตลอดทั้งวัน จึงเป็นข้อมูลที่ต้องทำการศึกษาเพิ่มเพื่อการจัดการและควบคุมสาบม่วงให้เหมาะสม

เมื่อนำข้อมูลการสำรวจมาสร้างเป็นแผนที่ จะเห็นว่า พื้นที่ที่ทำการสำรวจค่อนข้างกระจายตัว แต่ก็พบสาบม่วงกระจายอยู่ทั่วไป แสดงให้เห็นว่า สาบม่วงมีความสารมารถในการแพร่กระจายและ

เจริญเติบโตได้เกือบทุกพื้นที่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งจากการสำรวจพื้นที่ต่างๆส่วนใหญ่จะมีลักษณะดินเป็นดินทราย และดินร่วนปนทราย อาจเป็นไปได้ว่าสาบม่วงเจริญเติบโตได้ดีในสภาพของดินทราย ซึ่งจะต้องศึกษาต่อเพื่อให้ทราบถึงชนิดดินที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาบม่วงต่อไป

<u>แผนที่แสดงตำแหน่งที่สำรวจพบสาบม่วง (*Praxelis clematidea*)</u>



<u>การทดลองที่ 2</u> การเจริญเติบโตของสาบม่วงในชุดดินที่ต่างกัน
ดินร่วน(ชุดดินปากช่อง) ดินทราย(ชุดดิน) ดินเหนียว(ชุดดินบางเขน) และดินลูกรัง

ปลูกทดสอบสาบม่วง 5 ประชากร ได้แก่ สาบม่วงจาก อ.ด่านขุนทด 3 ประชากร อ.ไร่ม่วง จังหวัด เลย 2 ประชากร ประชากรละ 3 ซ้ำ ใน 4 ชุดดิน

จากการสังเกตุในเบื้องต้นพบว่า สาบม่วงเจริญได้ดีในดินทราย และดินร่วน ส่วนสาบม่วงที่ปลูกในดินเหนียว ดินลูกรัง ไม่เจริญเติบโต ทั้งนี้การทดลองยังอยู่ในช่วงของการดำเนินการจึงยังไม่สามารถสรุปผลได้

<u>การทดลองที่ 3</u> ทดสอบความงอกของเมล็ดสาบม่วงในสภาพมีแสงและไม่มีแสง

จากการทดสอบพบว่า เมล็ดสาบม่วงที่เพาะภายใต้สภาพที่มีแสง มีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงกว่าสภาพไม่มีแสง 26% ส่วนภายใต้สภาพไม่มีแสง เมล็ดไม่งอกเลย จึงสรุปได้ว่า เมล็ดสาบม่วงต้องการแสงในการงอก ข้อมูลที่ได้นี้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการควบคุมการเจริญเติบโตของสาบม่วงให้เหมาะสมต่อไป

การทดลองที่ 4 ศึกษาวงจรชีวิตสาบม่วง

จากข้อมูลการสำรวจทำให้ทราบว่า วัชพืชสาบม่วงมีการแพร่ระบาดในพืชเศรษฐกิจของพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ทั้งในมันสำปะหลัง สับปะรด และยางพารา ซึ่งจากการสำรวจตามพื้นที่ดังกล่าวนั้นได้เก็บรวบรวมเมล็ดสาบม่วงมาทำการศึกษาวงจรชีวิตตั้งแต่งอกจนถึงเริ่มออกดอก จากนั้นได้ทำการเพาะเมล็ดสาบม่วงที่ได้จากการสำรวจพบว่า หลังจากเพาะเมล็ดได้ประมาณ 3-5 วัน เมล็ดจะแทงรากสีขาวออกมา มีความยาวรากประมาณ 0.5-1 เซนติเมตร มีใบเลี้ยงคู่แรกเมื่ออายุได้ประมาณ 7-10 วันและมีความยาวรากเฉลี่ยอยู่ที่ประมาณ 3-5 เซนติเมตร มีขนาดความสูงต้นอยู่ที่ประมาณ 1-1.5 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเมล็ดวัชพืชในสภาพดินปลูกพบว่า เมล็ดจะมีใบเลี้ยงคู่แรกโผล่พ้นดินเมื่อ อายุได้ประมาณ 9-12 วัน และเมื่อต้นสาบม่วงเจริญได้ประมาณ 2 สัปดาห์ จะมีใบจริงคู่แรก และเริ่มมีตุ่มดอกขนาดเล็กเมื่ออายุได้ประมาณ 39 วัน

เนื่องจากเมล็ดสาบม่วงที่ได้จากการสำรวจมีเปอร์เซ็นต์ความงอกเป็นศูนย์ อาจเนื่องจากเป็นเพราะเกษตรกรมีการฉีดพ่นสารกำจัดวัชพืชในช่วงติดเมล็ด เพื่อความสมบูรณ์ของข้อมูลจึงได้ดำเนินการทดลองใหม่อีกครั้ง

ภาพที่1 การแพร่ระบาดของวัชพืชสาบม่วงในแปลงยางพารา สับปะรด และ มันสำปะหลัง ตามลำดับ

ภาพที่ 2 ลักษณะดอกของวัชพืชสาบม่วงในแต่ละระยะตั้งแต่เป็นตุ่มดอกจนกระทั้งติดเมล็ด

ภาพที่ 3 ลักษณะเมล็ดของวัชพืชสาบม่วง

ภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ 1 ชนิดพืชปลูกและพิกัดแปลงที่พบสาบม่วงในการสำรวจ
เดือน ตุลาคม พศ.2553 ถึง กันยายน พศ.2554

พืชปลูก	จังหวัด	พิกัดx	พิกัด Y	เปอร์เซนต์งอก
มันสำปะหลัง	กาฬสินธุ์	48Q 0319654	UTM 1847717	0
มันสำปะหลัง	กาฬสินธุ์	48Q 0326268	UTM 1855852	0
มันสำปะหลัง	กาฬสินธุ์	48Q 0328830	UTM 1854930	0
มันสำปะหลัง	กาฬสินธุ์	48Q 0327696	UTM 18653431	0
มันสำปะหลัง	กาฬสินธุ์	48Q 0357882	UTM 1833505	0
มันสำปะหลัง	กาฬสินธุ์	48Q 0363688	UTM 1819068	0
มันสำปะหลัง	กาฬสินธุ์	48Q 0341744	UTM 1844052	0
มันสำปะหลัง	ขอนแก่น	48Q 0282730	UTM 1848207	0
มันสำปะหลัง	ขอนแก่น	48Q 0269993	UTM 1860911	0
มันสำปะหลัง	มหาสารคาม	48P 0291363	UTM 1764822	0
มันสำปะหลัง	มหาสารคาม	48P 0301569	UTM 17905643	0
มันสำปะหลัง	มหาสารคาม	48P 0310891	UTM 1784887	0
มันสำปะหลัง	ร้อยเอ็ด	48Q 0376153	UTM 1810453	0
มันสำปะหลัง	เลย	47Q 0780406	UTM 1934850	0

พืชปลูก	จังหวัด	พิกัดx	พิกัด Y	เปอร์เซนต์งอก
ยางพารา	กาฬสินธุ์	48Q 0315992	UTM 1852487	0
ยางพารา	กาฬสินธุ์	48Q 0325758	UTM 1858146	0
ยางพารา	กาฬสินธุ์	48Q 03491270	UTM 1824440	0
ยางพารา	กาฬสินธุ์	48Q 0363688	UTM 1819068	0
ยางพารา	กาฬสินธุ์	48Q 0350122	UTM 1813420	0
ยางพารา	กาฬสินธุ์	48Q 0337894	UTM 184828	0
ยางพารา	กาฬสินธุ์	48Q 0339801	UTM 1848310	0
ยางพารา	กาฬสินธุ์	48Q 03491270	UTM 1824440	0
ยางพารา	กาฬสินธุ์	48Q 0348754	UTM 1818258	0
ยางพารา	กาฬสินธุ์	48Q 0350246	UTM 1815882	0
ยางพารา	ขอนแก่น	48Q 0278717	UTM 1848632	0
ยางพารา	ขอนแก่น	48Q 0277858	UTM 1844236	0
ยางพารา	มหาสารคาม	48P 0329932	UTM 1748861	0
ยางพารา	มหาสารคาม	48P 0330185	UTM 1746782	0
ยางพารา	หนองคาย	48Q 0313407	UTM 2020259	0
ยางพารา	หนองคาย	48Q 0307467	UTM 2013550	0
ยางพารา	หนองคาย	48Q 0311444	UTM 2005928	0
ยางพารา	หนองคาย	48Q 0309167	UTM 2019390	0
ยางพารา	เลย	47Q 0804771	UTM 1890595	0
ยางพารา	เลย	47Q 0782220	UTM 1934943	0
ยางพารา	เลย	47Q 0783493	UTM 1935885	0

พืชปลูก	จังหวัด	พิกัดx	พิกัด Y	เปอร์เซนต์งอก
สับปะรด	หนองคาย	48Q 0307238	UTM 2017277	0
สับปะรด	หนองคาย	48Q 0309352	UTM 2019561	0
สับปะรด	หนองคาย	48Q 0307975	UTM 2006269	0
สับปะรด	หนองคาย	48Q 0312785	UTM 2007880	0
สับปะรด	หนองคาย	48Q 0236667	UTM 1987211	0
สับปะรด	หนองคาย	48Q 0236294	UTM 1985718	0
สับปะรด	หนองคาย	48Q 0233006	UTM 1986732	0
สับปะรด	เลย	47Q 0783643	UTM 1934682	0
สับปะรด	เลย	47Q 0782220	UTM 1986204	0
สับปะรด	เลย	47Q 0783501	UTM 1935976	0
สับปะรด	เลย	47Q 0784880	UTM 1934921	0
สับปะรด	เลย	47Q 0784474	UTM 1935218	0
สับปะรด	นครพนม	48Q 0459528	UTM 1940036	0
สับปะรด	นครพนม	48Q 0452738	UTM 1936563	0
สับปะรด	นครพนม	48Q 0452470	UTM 1936164	0

เอกสารอ้างอิง

ดวงพร สุวรรณกุล และรังสิต สุวรรณเขตนิคม. (2544). วัชพืชในประเทศไทย. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นิรนาม. กรมวิชาการเกษตร. 2547. คำแนะนำการป้องกันกำจัดวัชพืช และการใช้สารกำจัดวัชพืช ปี 2547. กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร. 123 น.

Anonymouse. 2003 . Australian Weed Management. www.weeds.gov.au/.../alert/p-clematidea.html. 20 August 2009.

Radosevich, S.R., and J.S.Holt. 1984. Weed Ecology, Implications for weed management. John Wiley and sons, New York.

ศักยภาพในการแข่งขันของจิงจ้อในพืชหลัก

Competition Potential of *Operculina turpethum* (L.) Sativa Manso In Crop

สิริชัย สาธุวิจารณ์ และ วนิดา ธารถวิล

กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาศักยภาพในการแข่งขันของจิงจ้อในพืชหลัก เพื่อทราบข้อมูลผลกระทบและช่วงเวลาที่เหมาะสมในการจัดการจิงจ้อในอ้อย ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนกุมภาพันธ์-กันยายน 2554 ณ เรือนทดลอง กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ มี 5 กรรมวิธี โดยการปลูกอ้อยและจิงจ้อในอัตราส่วนต่างๆ ดังนี้ อัตราส่วนระหว่างอ้อยกับจิงจ้อ 100:0 อัตราส่วนระหว่างอ้อยกับจิงจ้อ 75:25 อัตราส่วนระหว่างอ้อยกับจิงจ้อ 50:50 อัตราส่วนระหว่างอ้อยกับจิงจ้อ 25:75 และอัตราส่วนระหว่างอ้อยกับจิงจ้อ 0:100 ผลการทดลอง พบว่า ความสูงอ้อย ที่ระยะ 1-3 เดือน หลังย้ายปลูก มีความแตกต่างกันตามอัตราส่วนการปลูกอ้อยกับจิงจ้อ แต่หลังจากนั้นไม่แตกต่างกัน อัตราส่วนการปลูกอ้อยกับจิงจ้อไม่มีผลต่อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของลำต้นอ้อย แต่มีผลต่อการแตกกอของอ้อย ที่ระยะ 4 เดือน หลังย้ายปลูกไปแล้ว การปลูกอ้อยกับจิงจ้อ อัตราส่วน 100:0 ให้ผลผลิตอ้อยสูงสุด คือ 19.0 กิโลกรัม

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-03-09-54

คำนำ

อ้อยเป็นพืชที่มีอายุในการเก็บเกี่ยวนาน จึงต้องให้ความสำคัญกับการจัดการวัชพืชเพราะถ้าไม่สามารถจัดการได้จะส่งผลให้ผลผลิตของอ้อยลดต่ำลงเป็นอันมาก รวมถึงการเพิ่มขึ้นของต้นทุนการผลิต วัชพืชในไร่อ้อยสามารถขยายพันธุ์และแพร่ระบาดได้รวดเร็ว ทำให้การควบคุมและกำจัดยากวัชพืชเหล่านั้นสามารถปรับตัวอยู่ได้เกือบทุกสภาพแวดล้อม ตัวอย่างเช่น แห้วหมู หญ้าตีนกา หญ้าปากควาย หญ้าดอกขาว หญ้าชันกาด ผักยาง ผักโขมหนาม ผักเบี้ยหิน และพวกวัชพืชเถาเลื้อย (เกลียวพันธ์, 2546) โดยปกติเกษตรกรจะทำการควบคุมวัชพืช 2 ครั้ง คือ ช่วงเวลาปลูก และช่วงของการพูนโคนใส่ปุ๋ย ซึ่งจะใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอกและหลังงอก ตามลำดับ โดยชนิดวัชพืชที่ขึ้นในแปลงปลูกช่วงแรกจะเป็นวัชพืชใบแคบ วัชพืชใบกว้าง และวัชพืชวงศ์กก แต่เมื่ออ้อยมีอายุประมาณ 4-5 เดือนขึ้นไป จะเริ่มมีวัชพืชเถาเลื้อยขึ้น เช่น สะอึก ตดหมูตดหมา และจิงจ้อ เป็นต้น ทำให้ยากต่อการกำจัด เนื่องจากอ้อยมีการเจริญเติบโตปกคลุมพื้นที่ไม่สามารถนำเครื่องจักรเข้าไปทำงานได้เพราะจะทำให้อ้อยได้รับการกระทบกระเทือนเสียหายได้ ส่งผลให้การเจริญเติบโตและผลผลิตของอ้อยลดลง เป็นอุปสรรค์ในการเก็บเกี่ยวเพราะวัชพืชเหล่านี้จะเลื้อยพันต้นอ้อย และมีการสร้างเมล็ดร่วงหล่นในแปลงปลูก ซึ่งพร้อมที่จะขึ้นในฤดูปลูกถัดไปเมื่อมีสภาพที่เหมาะสม

จิงจ้อดอกขาว (*Operculina turpethum* (L.) Sativa Manso) เป็นไม้ล้มลุกเลื้อยพัน ต้นเป็นไม้ล้มลุกพันเลื้อย ยาว 5-10 เมตร ใบเป็นใบเดี่ยวเรียงสลับ รูปขอบขนานวงรีหรือรูปขอบขนานกว้าง 1.5-3.5 เซนติเมตร ยาว 6-9 เซนติเมตร ดอก ออกเป็นช่อออกที่ซอกใบ ดอกย่อย 1-3 ดอก กลีบดอกมีสีขาวเหลืองเชื่อมติดกันเป็นรูปกรวย ด้านนอกมีแถบขนที่กลางกลีบ ผลแห้งแตกได้ รูปทรงกลมสีน้ำตาลดำ เมล็ดมีสีน้ำตาลเข้มมีขน ขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ด (สถาบันการแพทย์แผนไทย, 2542)

ศิริพร (2552) รายงานว่า การศึกษาเกี่ยวกับความเสียหายที่เกิดจากวัชพืชเฉพาะถิ่นนั้นทำได้ยาก เนื่องจากในสภาพธรรมชาติแปลงปลูกพืชชนิดหนึ่งหากไม่มีการใช้สารเคมีเลย ย่อมมีวัชพืชขึ้นปะปนกันหลายชนิด แต่อาจมีวัชพืชบางชนิดเป็นวัชพืชเด่น ความเสียหายที่เกิดขึ้นจึงเป็นภาพรวมหรือโดยประมาณการ อย่างไรก็ตามต้องให้ความสนใจกับวัชพืชร้ายแรงเป็นพิเศษ เนื่องจากวัชพืชร้ายแรงมักสามารถแข่งขัน แก่งแย่งธาตุอาหาร และปัจจัยจำกัดอื่น ๆ กับพืชปลูกได้ดี ทำให้ผลผลิตของพืชปลูกลดลงอย่างมากแม้มีความหนาแน่นต่ำและมักควบคุมได้ยาก วัชพืชร้ายแรงส่วนใหญ่มักมีลักษณะรุกรานและสามารถดำรงอยู่ในธรรมชาติได้ดี โดยมีลักษณะดังนี้ 1) มีการเจริญเติบโตทางต้นอย่างรวดเร็ว 2) สามารถขยายพันธุ์ได้จำนวนมากในระยะเวลาสั้น 3) สามารถปรับตัวให้มีชีวิตอยู่ได้แม้ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม 4) ส่วนที่ใช้ขยายพันธุ์มักมีการพักตัวเมื่อสภาพไม่เหมาะสม 5)วัชพืชร้ายแรงหรือพืชรุกรานหลายชนิดมักมีการปลดปล่อยสารบางชนิด ทำให้แมลงหรือศัตรูไม่ชอบ และ 6) การไม่มีศัตรูพืชตามธรรมชาติ ทำให้พืชนั้นเจริญเติบโตได้โดยไม่ถูกรบกวน

ดังนั้น การศึกษาศักยภาพในการแข่งขันของจิงจ้อในอ้อย จึงมีความจำเป็นเพื่อนำข้อมูลที่ได้ประกอบการวางแผนการจัดการวัชพืชอย่างมีประสิทธิภาพและลดต้นทุนการผลิตต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ท่อนพันธุ์อ้อยพันธุ์ k84-200
2. เมล็ดจิงจ้อดอกขาว
3. ดินผสม
4. ไม้ปักแปลง
5. ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15
6. บล็อกปูน ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.0 เมตร

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ มี 5 กรรมวิธี ได้แก่

1. อัตราส่วนระหว่างอ้อยกับจิงจ้อ 100:0 (8:0 ต้น)
2. อัตราส่วนระหว่างอ้อยกับจิงจ้อ 75:25 (6:2 ต้น)
3. อัตราส่วนระหว่างอ้อยกับจิงจ้อ 50:50 (4:4 ต้น)
4. อัตราส่วนระหว่างอ้อยกับจิงจ้อ 25:75 (2:6 ต้น)
5. อัตราส่วนระหว่างอ้อยกับจิงจ้อ 0:100 (0:8 ต้น)

การเตรียมต้นกล้าอ้อย ท่อนพันธุ์อ้อยที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3.0 เซนติเมตร ตัดให้มีความยาว 10 เซนติเมตร เพาะในกระถางขนาด 6 นิ้ว และเมื่ออ้อยอายุ 1 เดือน เลือกต้นที่สมบูรณ์ปลูก

การเตรียมต้นกล้าจิงจ้อ นำเมล็ดจิงจ้อแช่น้ำร้อน (อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง นำไปเพาะในถาดหลุม เมื่อเมล็ดงอกย้ายปลูกในกระถางขนาด 6 นิ้ว และเมื่อจิงจ้ออายุ 1 เดือน เลือกต้นที่สมบูรณ์ย้ายปลูก

ปลูกอ้อยและจิงจ้อตามกรรมวิธีที่กำหนดไว้ข้างต้นในบล็อกปูนเส้นผ่าศูนย์กลาง 100 เซนติเมตร ให้น้ำด้วยระบบมินิสปริงเกอร์ในปริมาณที่เท่ากัน กำจัดโรค แมลง และใส่ปุ๋ยตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร

การบันทึกข้อมูล วัดการเจริญเติบโตของอ้อย เช่น ความสูง เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น การแตกกอ และปริมาณผลผลิต พร้อมทั้งชั่งน้ำหนักแห้งจิงจ้อขณะเก็บเกี่ยวอ้อย

เวลาสถานที่

ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนกุมภาพันธ์-กันยายน 2554 ณ เรือนทดลอง กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ความสูงอ้อย ที่ระยะ 1 เดือน หลังย้ายปลูก การปลูกอ้อยกับจิงจ้อ อัตราส่วน 25:75 อ้อยมีความสูงที่สุด 66.7 เซนติเมตร ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการปลูกอ้อยกับจิงจ้อ อัตราส่วน 100:0 และ 50:50 แต่แตกต่างกันทางสถิติกับการปลูกอ้อยกับจิงจ้อ อัตราส่วน 75:25 ซึ่งอ้อยมีความสูง 52.8 เซนติเมตร ที่ระยะ 2 เดือน หลังย้ายปลูก การปลูกอ้อยกับจิงจ้อ อัตราส่วน 25:75 และการปลูกอ้อยกับจิงจ้อ อัตราส่วน 100:0 อ้อยมีความสูงที่สุด เท่ากับ 89.8 และ 83.5 เซนติเมตร ตามลำดับ และไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการปลูกอ้อยกับจิงจ้อ อัตราส่วน 50:50 ซึ่งอ้อยมีความสูง 79.3 เซนติเมตร ที่ระยะ 3 เดือน หลังย้ายปลูก การปลูกอ้อยกับจิงจ้อ อัตราส่วน 25:75 อ้อยมีความสูงที่สุด คือ 112.8 เซนติเมตร และแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น ที่ระยะ 4, 5 และ 6 เดือน หลังย้ายปลูก ความสูงของอ้อยในทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 1)

เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้นอ้อย ที่ระยะ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 เดือน หลังย้ายปลูก ในกรรมที่ปลูกอ้อยไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 2)

การแตกกอของอ้อย ที่ระยะ 2 เดือน หลังย้ายปลูก การปลูกอ้อยกับจิงจ้อ อัตราส่วน 100:0 และ 75:25 อ้อยมีการแตกกอมากที่สุด เท่ากับ 2.5 และ 2.4 ลำ/กอ ตามลำดับ และไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการปลูกอ้อยกับจิงจ้อ อัตราส่วน 50:50 ซึ่งอ้อยมีการแตกกอ 2.1 ลำ/กอ ที่ระยะ 3 และ 4 เดือน หลังย้ายปลูก ในกรรมวิธีที่ปลูกอ้อย การแตกกอของอ้อยไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระยะ 5 เดือน หลังย้ายปลูก การปลูกอ้อยกับจิงจ้อ อัตราส่วน 100:0, 75:25 และ 50:50 อ้อยมีการแตกกอมากที่สุด เท่ากับ 3.6, 3.3 และ 3.0 ลำ/กอ ตามลำดับ แต่แตกต่างกันทางสถิติกับการปลูกอ้อยกับจิงจ้อ อัตราส่วน 25:75 ซึ่งอ้อยมีการแตกกอ 2.2 ลำ/กอ และที่ระยะ 6 เดือน หลังย้ายปลูก การปลูกอ้อยกับจิงจ้อ อัตราส่วน 100:0 อ้อยมีการแตกกอมากที่สุด เท่ากับ 4.0 ลำ/กอ และไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการปลูกอ้อยกับจิงจ้อ อัตราส่วน 75:25 ซึ่งอ้อยมีการแตกกอ 3.4 ลำ/กอ (ตารางที่ 3)

น้ำหนักแห้งของจิงจ้อขณะเก็บเกี่ยวผลผลิตอ้อย พบว่า กรรมวิธีการปลูกอ้อยกับจิงจ้อ อัตราส่วน 0:100 ให้น้ำหนักแห้งจิงจ้อสูงสุด เท่ากับ 745.0 กรัม ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการปลูกอ้อยกับจิงจ้อ อัตราส่วน 25:75 ให้น้ำหนักแห้งจิงจ้อ เท่ากับ 745.0 กรัม แต่แตกต่างกันทางสถิติกับการปลูกอ้อยและจิงจ้อ อัตราส่วน 50:50 และ 75:25 ซึ่งให้น้ำหนักแห้งจิงจ้อ เท่ากับ 430.0 และ 315.0 กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ผลผลิตอ้อย พบว่า การปลูกอ้อยกับจิงจ้อ อัตราส่วน 100:0 ให้ผลผลิตอ้อยสูงสุด เท่ากับ 19.0 กิโลกรัม และแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น การปลูกอ้อยกับจิงจ้อ อัตราส่วน 75:25 ให้ปริมาณผลผลิตอ้อยรองลงมา เท่ากับ 13.8 กิโลกรัม แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการปลูกอ้อยกับจิงจ้อ อัตราส่วน 50:50 ซึ่งให้ผลผลิตอ้อย 9.6 กิโลกรัม และการปลูกอ้อยกับจิงจ้อ อัตราส่วน 25:75 ซึ่งให้ผลผลิตอ้อยน้อยที่สุด เท่ากับ 5.6 กิโลกรัม

สรุปผลการทดลอง

1. ความสูงอ้อย ที่ระยะ 1-3 เดือน หลังย้ายปลูก มีความแตกต่างกันตามอัตราส่วนการปลูกอ้อยกับจิงจ้อ แต่หลังจากนั้นไม่แตกต่างกัน

2. อัตราส่วนการปลูกอ้อยกับจิงจ้อไม่มีผลต่อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของลำต้นอ้อย แต่มีผลต่อการแตกกอของอ้อย ที่ระยะ 4 เดือน หลังย้ายปลูกไปแล้ว

3. การปลูกอ้อยกับจิงจ้อ อัตราส่วน 100:0 ให้ผลผลิตอ้อยสูงสุด เท่ากับ 19.0 กิโลกรัม

เอกสารอ้างอิง

เกลียวพันธ์ สุวรรณรักษ์. 2546. วัชพืชในไร่อ้อยและการป้องกันกำจัด. กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 33 หน้า.

ศิริพร ซึงสนธิพร. 2552. พืชต่างถิ่น: วัชพืชในประเทศไทย. หน้า 13-21 *ใน*: เอกสารประกอบการฝึกอบรม วัชพืชสำคัญและการจัดการในพืชเศรษฐกิจ. กลุ่มวิจัยวัชพืช 29-30 เมษายน 2552 ณ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรงเทพฯ.

สถาบันการแพทย์แผนไทย. 2542. ผักพื้นบ้านภาคเหนือ. สถาบันการแพทย์แผนไทย กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข กรุงเทพฯ. 280 หน้า.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 ความสูงอ้อย ที่ระยะ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 เดือน หลังย้ายปลูก

กรรมวิธี	ความสูงอ้อย (เซนติเมตร)[1/]					
	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	4 เดือน	5 เดือน	6 เดือน
อัตราส่วนระหว่างอ้อยกับจิงจ้อ 100:0	61.9 ab	83.5 a	104.5 b	126.7 a	147.2 a	174.6 a
อัตราส่วนระหว่างอ้อยกับจิงจ้อ 75:25	52.8 b	71.7 b	96.9 b	1327 a	153.1 a	181.3 a
อัตราส่วนระหว่างอ้อยกับจิงจ้อ 50:50	58.6 ab	79.3 ab	100.9 b	138.3 a	161.3 a	192.0 a
อัตราส่วนระหว่างอ้อยกับจิงจ้อ 25:75	66.7 a	89.8 a	112.8 a	124.2 a	141.6 a	168.7 a
อัตราส่วนระหว่างอ้อยกับจิงจ้อ 0:100	0.0 c	0.0 c	0.0 c	0.0 b	0.0 b	0.0 b
ค่าเฉลี่ย	48.01	64.85	82.99	104.40	120.65	143.34
CV (%)	12.00	10.22	5.85	15.85	15.49	15.92

[1/] ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

1980

ตารางที่ 2 เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้นอ้อย ที่ระยะ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 เดือน หลังย้ายปลูก

กรรมวิธี	เส้นผ่าศูนย์กลาง (เซนติเมตร)[1/]					
	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	4 เดือน	5 เดือน	6 เดือน
อัตราส่วนระหว่างอ้อยกับจิงจ้อ 100:0	1.5 a	1.7 a	2.0 a	2.3 a	2.5 a	2.7 a
อัตราส่วนระหว่างอ้อยกับจิงจ้อ 75:25	1.5 a	1.9 a	2.1 a	2.4 a	2.6 a	2.8 a
อัตราส่วนระหว่างอ้อยกับจิงจ้อ 50:50	1.6 a	1.9 a	2.2 a	2.4 a	2.6 a	2.9 a
อัตราส่วนระหว่างอ้อยกับจิงจ้อ 25:75	1.6 a	1.8 a	2.1 a	2.5 a	2.7 a	2.9 a
อัตราส่วนระหว่างอ้อยกับจิงจ้อ 0:100	0.0 b	0.0 b	0.0 b	0.0 b	0.0 b	0.0 b
ค่าเฉลี่ย	1.23	1.44	1.67	1.90	2.07	2.26
CV (%)	6.88	7.94	7.55	8.99	7.97	7.60

[1/] ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 3 การแตกกอ ที่ระยะ 2, 3, 4, 5 และ 6 เดือน หลังย้ายปลูก

กรรมวิธี	การแตกกอ (ลำ/กอ)[1/]				
	2 เดือน	3 เดือน	4 เดือน	5 เดือน	6 เดือน
อัตราส่วนระหว่างอ้อยกับจิงจ้อ 100:0	2.5 a	2.6 a	2.7 a	3.6 a	4.0 a
อัตราส่วนระหว่างอ้อยกับจิงจ้อ 75:25	2.4 a	2.6 a	2.6 a	3.3 a	3.4 ab
อัตราส่วนระหว่างอ้อยกับจิงจ้อ 50:50	2.1 ab	2.3 a	2.5 a	3.0 a	3.2 b
อัตราส่วนระหว่างอ้อยกับจิงจ้อ 25:75	1.7 b	2.0 a	2.1 a	2.2 b	2.3 c
อัตราส่วนระหว่างอ้อยกับจิงจ้อ 0:100	0.0 c	0.0 b	0.0 b	0.0 c	0.0 d
ค่าเฉลี่ย	1.75	1.87	2.00	2.41	2.57
CV (%)	15.21	27.15	24.64	20.59	18.73

[1/] ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 4 น้ำหนักแห้งของจิงจ้อขณะเก็บเกี่ยวผลผลิตอ้อยและผลผลิตอ้อย

กรรมวิธี	น้ำหนักแห้งจิงจ้อ[1/] (กรัม)	ผลผลิตอ้อย (กิโลกรัม)
อัตราส่วนระหว่างอ้อยกับจิงจ้อ 100:0	0.0 c	19.0 a
อัตราส่วนระหว่างอ้อยกับจิงจ้อ 75:25	315.0 b	13.8 b
อัตราส่วนระหว่างอ้อยกับจิงจ้อ 50:50	430.0 b	9.6 bc
อัตราส่วนระหว่างอ้อยกับจิงจ้อ 25:75	642.5 a	5.6 c
อัตราส่วนระหว่างอ้อยกับจิงจ้อ 0:100	745.0 a	0.0 d
ค่าเฉลี่ย	426.5	9.61
CV (%)	18.93	30.42

[1/] ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ความหลากชนิดของแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์ในเขตสงวนชีวมณฑลสะแกราช

Diversity of Rare and Endangered Insect Species in Sakaerat Biosphere Reserves

ลักขณา บำรุงศรี ยุวรินทร์ บุญทบ สนัดดา เชาวลิต ชมัยพร บัวมาศ
อิทธิพล บรรณาการ และสิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

จากการจำแนกชนิดแมลงที่ได้จากการสำรวจแมลงในเขตสงวนชีวมณฑลสะแกราช อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา โดยสำรวจในบริเวณป่าดิบแล้ง รวมทั้งติดตั้งกับดักแสงไฟ พบแมลงหายาก 5 ชนิด จำนวน 9 ตัวอย่าง ได้แก่ ผีเสื้อถุงทอง; *Troides aeacus* (C.&R. Felder) จำนวน 5 ตัวอย่าง ผีเสื้อถุงทองป่าสูง; *Troides helena Linnaeus* จำนวน 1 ตัวอย่าง และผีเสื้อค้างคาว ; *Lyssa zampa* Butler จำนวน 1 ตัวอย่าง ผีเสื้อพราหมณ์ ; *Brahmaea wallichii wallichii* Gray จำนวน 1 ตัวอย่าง ด้วงกว่างดาว; *Cheirotonus parryi* Gray จำนวน 1 ตัวอย่าง

คำนำ

แมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ในความหมายของพิพิธภัณฑ์แมลง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร หมายถึง แมลงที่ได้สืบค้นจากตัวอย่างที่เก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยพิจารณาจากระยะเวลาที่จับได้ครั้งล่าสุดมานานกว่า 30 - 40 ปี ซึ่งตลอดระยะเวลาดังกล่าวสำรวจไม่พบแมลงชนิดนั้นหรือพบแต่มีจำนวนน้อยมาก (ไม่เกิน 25 ตัวอย่าง) รวมทั้งแมลงที่มีอยู่ในบัญชีรายชื่อในอนุสัญญา CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora) หรือ อนุสัญญาระหว่างประเทศว่าด้วยการค้า ซึ่งพืชและสัตว์ป่าที่กำลังสูญพันธุ์ ในบัญชีหมายเลข 2 (องุ่น, 2540)

สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราชเป็นแหล่งสงวนชีวมณฑล (UNESCO Biosphere Reserves) แห่งหนึ่งของโลกที่ทำหน้าที่ดำเนินการอนุรักษ์พัฒนา และสนับสนุนการศึกษาวิจัย ที่เชื่อมโยงกับเครือข่ายนานาชาติทั่วโลก ซึ่งครอบคลุมเนื้อที่ประมาณ 48,800 ไร่ พื้นที่ทั่วไปปกคลุมด้วยป่าไม้สำคัญ 2 ชนิด ได้แก่ป่าดิบแล้ง (Dry Evergreen fore) และป่าเต็งรัง (Dry Dipterocarp forest) ป่าทั้งสองชนิดครอบคลุมเนื้อที่ประมาณร้อยละ 70 ของพื้นที่ สถานีวิจัย นอกนั้นเป็นป่าชนิดอื่น เช่น ป่าไผ่ ป่าปลูกทุ่งหญ้า เป็นต้น

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-02-00-01-54

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

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1) ตัวอย่างแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์ ที่รวบรวมได้จากแหล่งที่มีสภาพป่าอุดมสมบูรณ์

2) อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ สวิงจับแมลง ขวดฆ่า ขวดดอง ปากคีบ พู่กัน กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก ซองกระดาษใส่ตัวอย่างแมลง ถังรักษาความเย็น

3) สารเคมีต่างๆ เช่น เอทิลอะซีเตท แอลกอฮอล์ 80%

4) อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวร ได้แก่ สารเคมีต่างๆ เช่น น้ำกลั่น alcohol 50-100%, sodium hydroxide 10%, clove oil และ canabalsam เข็มเขี่ย แผ่นสไลด์แก้ว แผ่นแก้วปิดสไลด์ กล่องสไลด์ถาวร ตู้อบสไลด์ถาวร

5) กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereomicroscope ,compound microscope และกล้องถ่ายภาพ

6) อุปกรณ์วาดภาพ ได้แก่ ปากกา rotting และกระดาษไขเขียนแบบ

7) เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์

วิธีการ

1) สำรวจและรวบรวมตัวอย่างแมลง โดยแบ่งตามประเภทป่า ดังนี้ ป่าเต็งรัง ป่าดิบแล้ง ป่าเบญจพรรณ และป่าสัก โดยสำรวจในทุกๆ เดือน

2) บันทึกรายละเอียดของปัจจัยแวดล้อมที่พบแมลง เช่น ระดับความสูงจากน้ำทะเล ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ อุณหภูมิ และพิกัดทางภูมิศาสตร์ (GPS)

3) นำแมลงที่มีสีสันสวยงามหรือรูปร่างแปลกมาจัดรูปร่างตามวิธีการของแต่ละชนิด จากนั้น นำมาจำแนกชนิด ศึกษาข้อมูลของชนิดเหล่านั้นในพิพิธภัณฑ์แมลงกรมวิชาการเกษตร โดยดูปริมาณที่มีในพิพิธภัณฑ์ ปีที่จับได้ครั้งสุดท้าย ศึกษาค้นคว้าข้อมูลจากเอกสารต่างๆ ถึงสถานภาพความมากน้อยของแมลงเหล่านี้ เช่น พบทั่วไปหรือหายาก รวมทั้งข้อมูลจากผู้ค้าแมลงทั้งในและต่างประเทศ บันทึกข้อมูลวันที่จับ สถานที่จับ ชื่อวิทยาศาสตร์

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2553 ถึง กันยายน 2554

สถานที่ เขตสงวนชีวมณฑลสะแกราช จังหวัดนครราชสีมา

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตวิวทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการจำแนกชนิดแมลงที่ได้จากการสำรวจแมลงในเขตสงวนชีวมณฑลสะแกราช อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา โดยสำรวจในบริเวณป่าดิบแล้ง รวมทั้งติดตั้งกับดักแสงไฟ พบแมลงหายาก 5 ชนิด จำนวน 9 ตัวอย่าง ได้แก่ ผีเสื้อถุงทอง; *Troides aeacus* (C.&R. Felder) จำนวน 5 ตัวอย่าง ผีเสื้อถุงทองป่าสูง; *Troides helena Linnaeus* จำนวน 1 ตัวอย่าง และผีเสื้อค้างคาว ; *Lyssa zampa* Butler จำนวน 1 ตัวอย่าง ผีเสื้อพราหมณ์ ; *Brahmaea wallichii wallichii* Gray จำนวน 1 ตัวอย่าง ด้วงกว่างดาว; *Cheirotonus parryi* Gray จำนวน 1 ตัวอย่าง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาชนิดแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึง เดือนกันยายน 2554 โดยการสำรวจและรวบรวมแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์จากป่าธรรมชาติที่มีความอุดมสมบูรณ์ นำตัวอย่างทั้งหมดที่รวบรวมได้ไปตรวจวิเคราะห์ชนิดตามหลักอนุกรมวิธาน พร้อมทั้งศึกษาจากตัวอย่างแมลงที่มีในพิพิธภัณฑ์แมลงและเอกสารที่เกี่ยวข้อง 5 ชนิด จำนวน 9 ตัวอย่าง ได้แก่ ผีเสื้อถุงทอง; *Troides aeacus* (C.&R. Felder) จำนวน 5 ตัวอย่าง ผีเสื้อถุงทองป่าสูง; *Troides helena Linnaeus* จำนวน 1 ตัวอย่าง และผีเสื้อค้างคาว ; *Lyssa zampa* Butler จำนวน 1 ตัวอย่าง ผีเสื้อพราหมณ์ ; *Brahmaea wallichii wallichii* Gray จำนวน 1 ตัวอย่าง ด้วงกว่างดาว; *Cheirotonus parryi* Gray จำนวน 1 ตัวอย่าง

เอกสารอ้างอิง

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

ชนิดของแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์ในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย

Study of the rare and Endanger Insects Species in the Southern Part of Thailand

ชฎาภรณ์ เฉลิมวิเชียรพร ยุวรินทร์ บุญทบ สุนัดดา เชาวลิต
ชมัยพร บัวมาศ อิทธิพล บรรณาการ สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาชนิดของแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์ในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2553 – กันยายน 2554 โดยการออกสำรวจแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์จากบริเวณเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าและอุทยานแห่งชาติต่างๆ ในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย และจากบริเวณที่มีป่าไม้อุดมสมบูรณ์ในจังหวัดต่างๆ เช่น ภูเก็ต ระนอง นครศรีธรรมราช ตรัง สตูล เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ และสุราษฎร์ธานี พบแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์ทั้งหมด 1 ชนิด ในอันดับ Lepidoptera ได้แก่ ผีเสื้อร่อนลมสยาม *Ldea leuconoe* (วงศ์ Danaidae) การวิจัยยังไม่สิ้นสุด ต้องดำเนินการต่อไปในปี 2555

คำนำ

ประเทศไทยมีความหลากหลายทางด้านแมลงสูงทั้งด้านจำนวนชนิดและปริมาณแต่จากสภาพแวดล้อมปัจจุบันนี้เกิดสภาวะโลกร้อน (Global Warming) ที่หมายถึงการเปลี่ยนแปลงในระดับโลกอันเป็นผลมาจากกิจกรรมการเบียดเบียนและทำลายธรรมชาติ โดยไม่ตระหนักถึงคุณค่าและผลที่จะติดตามมา โดยเฉพาะปัญหาในการปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซน์ (CO_2) สู่ชั้นบรรยากาศ ซึ่งก่อให้เกิดปรากฏการณ์เรือนกระจก การกระทำดังกล่าวก่อให้เกิด การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ (Climate Change) ซึ่งก็คือความเปลี่ยนแปลงของดิน ฟ้า อากาศ ในระดับโลก ระดับภูมิภาค หรือระดับท้องถิ่นที่เกิดขึ้นแล้วในอดีต กำลังเกิดขึ้นในปัจจุบัน หรืออาจจะเกิดขึ้นในอนาคต (โชติชัย,2552) และส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศของแมลง ประกอบกับแมลงบางชนิดมีรูปร่างแปลก สวยงามเป็นที่ต้องการและแสวงหาเพื่อสะสมไว้เป็นสมบัติส่วนตัวหรือซื้อขายแลกเปลี่ยน จึงมีการล่าจับแมลงกันมากเพื่อประโยชน์ทางการค้า จากปัญหาของระบบนิเวศที่เปลี่ยนแปลงไปรวมทั้งมีธุรกิจค้าแมลงเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วนี้ ทำให้น่าเป็นห่วงว่าแมลงอาจขาดแหล่งที่อยู่อาศัยและแหล่งอาหารหรือถูกจับไปเป็นจำนวนมาก มีผลให้แมลงบางชนิดที่มีปริมาณน้อยอยู่แล้วในธรรมชาติอาจสูญพันธุ์ไปได้ ดังนั้นจึงได้ดำเนินการศึกษาชนิดของแมลงอนุรักษ์โดยเฉพาะแมลงที่สวยงามและหายาก ซึ่งมีการล่า การค้ามากไม่ให้สูญพันธุ์ไปจากประเทศไทยโดยเฉพาะในพื้นที่ภาคใต้นั้นยังมีทรัพยากรธรรมชาติที่อุดมสมบูรณ์ มีสภาพป่าเป็นป่าดิบชื้น มีความหลากหลายทางชีวภาพรวมถึงความหลากหลายของชนิดแมลง และพื้นที่

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-02-00-02-54

ดังกล่าวยังไม่มีการศึกษาชนิดของแมลงอนุรักษ์ ดังนั้นจึงได้เนินการศึกษาชนิดแมลงอนุรักษ์ โดยเฉพาะแมลงที่สวยงามและหายาก และจากข้อมูลที่ได้ยังก่อให้เกิดประโยชน์ต่อการประเมินสถานภาพของแมลงหายาก แมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์ และแมลงที่สูญพันธุ์แล้วได้อีกด้วย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

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

วิธีการ

1. รวบรวมตัวอย่างแมลงทุกชนิดจากสภาพธรรมชาติ ซึ่งในสภาพธรรมชาติสามารถรวบรวมได้โดยวิธีการต่อไปนี้

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

- นำตัวอย่างแมลงที่รวบรวมได้ มาจัดรูปร่างและตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิดจากลักษณะภายนอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo microscope แล้วบันทึกรายละเอียดต่างๆ เช่น รูปร่าง ลักษณะ ขนาด และสี เป็นต้น โดยตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานด้วยการใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยชนิดแมลง ประกอบการเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์ ซึ่งทำให้ทราบถึงชนิดของแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์

- ตัวอย่างหนอนหรือแมลง นำไปเลี้ยงเพื่อศึกษาพฤติกรรมและการเจริญเติบโตเมื่อหนอนหรือตัวอ่อนแมลงเจริญเป็นตัวเต็มวัย นำไปจัดรูปร่างและอบแห้ง

2. ตรวจวิเคราะห์ชนิดตามหลักการของอนุกรมวิธานของแมลงแต่ละชนิด

- บันทึกรายละเอียดของแมลงบนแผ่นป้ายบันทึกกำกับตัวอย่างแมลงแต่ละตัว ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ วัน เดือน ปี สถานที่และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง และบันทึกรายละเอียดข้อมูลสำคัญของแมลงและชนิดของพืชที่พบตัวอย่าง ถ่ายภาพแมลงที่ได้ศึกษา

3. จัดเก็บแมลงในพิพิธภัณฑ์

- นำตัวอย่างแมลงจัดใส่กล่อง เก็บเรียงใส่ในลิ้นชักและเรียงตามลำดับตัวอักษรภาษาอังกฤษ

4. การดูและรักษาตัวอย่างแมลง

- ใส่สารป้องกันแมลง (การบูรหรือลูกเหม็น) เพื่อป้องกันแมลงขนาดเล็กที่สามารถเข้าทำลายตัวอย่างแมลง ไร สัตว์ได้ทั้งในหีบไม้และในแต่ละลิ้นชักของแต่ละตู้เก็บ และเติมสารป้องกันแมลงเข้าทำลายตัวอย่างทุก 1-2 เดือน

- รมสารป้องกันกำจัดแมลง เช่น เมทิลโบร์ไมด์ (methyl bromide) ทุกๆ 6 เดือน

เวลาสถานที่

เวลา เดือนตุลาคม 2553 ถึง เดือนกันยายน 2554

สถานที่ - สำรวจจากแหล่งที่มีสภาพป่าอุดมสมบูรณ์ เช่น สวนพฤกษศาสตร์ สถานีวิจัย ในภาคใต้ของประเทศไทย

- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตวิวทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจแมลงที่หายากและใกล้สูญพันธุ์ที่กำหนดไว้ตาม พ.ร.บ. สงวนและคุ้มครองสัตว์ป่า พ.ศ. 2535 ตามพื้นที่ป่าไม้ เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าในจังหวัดต่างๆในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 พบแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์ทั้งหมด 1 ชนิด ในอันดับ Lepidoptera ได้แก่ผีเสื้อร่อนลมสยาม *Idea leuconoe* (วงศ์ Danaidae) ตามรายละเอียด ต่อไปนี้

อันดับ Lepidoptera พบแมลงในกลุ่มผีเสื้อ 1 ชนิด 2 ตัวอย่าง

วงศ์ Danaidae สำรวจพบ ผีเสื้อร่อนลมสยาม (ภาพที่ 1)

Scientific name : *Idea leuconoe*

Common name : Siam Tree Nymph

Family : Danaidae

ลักษณะ ปีกบนพื้นปีกสีขาว และมีสีดำตามแนวเส้นปีก มีจุดสีดำประปรายทั่วทั้งปีก คล้ายผีเสื้อร่อนลมน้อย และผีเสื้อร่อนลมมลายู แต่ตำแหน่งของจุดสีดำจะแตกต่างกัน และมีขนาดปีกใหญ่กว่า ปีกล่างคล้ายปีกบนเมื่อกางปีก ความยาวประมาณ 126 มิลลิเมตร

สถานที่พบ อำเภอถลาง จังหวัดภูเก็ต

จำนวนที่สำรวจพบ 2 ตัวอย่าง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาชนิดของแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์ ตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2553 – กันยาย 2554 โดยการออกสำรวจแมลงหายากจากบริเวณเขตรักษาพันธุ์ป่า และอุทยานแห่งชาติต่างๆ ในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย และจากบริเวณที่มีป่าไม้อุดมสมบูรณ์ในจังหวัดต่างๆ เช่น ภูเก็ต ระนอง นครศรีธรรมราช ตรัง สตูล เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ และสุราษฎร์ธานี พบแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์ทั้งหมด 1 ชนิด ในอันดับ Lepidoptera ได้แก่ผีเสื้อร่อนลมสยาม *Idea leuconoe* (วงศ์ Danaidae)

จากการสำรวจพบเพียงตัวเต็มวัยของแมลงเหล่านี้ ซึ่งในการอนุรักษ์แมลงที่หายากและใกล้สูญพันธุ์ ควรมีการศึกษาเรื่องพืชอาหารและระบบนิเวศที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของแมลงที่หายากและใกล้สูญพันธุ์ได้ ให้คงอยู่ในธรรมชาติอย่างยั่งยืนต่อไป

เอกสารอ้างอิง

โชติชัย สุวรรณาภรณ์ . 2552. ผลกระทบ และแนวทางการแก้ไขปัญหา Climate Change. สำนักงานเศรษฐกิจการคลัง. แหล่งที่มา http://www.nidambe11.net/ekonomiz/2007q2/2007may11p4.htm. 9 กันยายน 2552

ศิริณี พูนไชยศรี. 2545ก. พิพิธภัณฑ์นิทรรศการแมลง. แผ่นพับ. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตรกรุงเทพฯ. พิมพ์ครั้งที่ 1.

ศิริณี พูนไชยศรี. 2545ข. พิพิธภัณฑ์แมลง. แผ่นพับ. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. พิมพ์ครั้งที่ 2.

ศิริณี พูนไชยศรี. 2547. การเก็บตัวอย่างแมลงเพื่อการศึกษาวิจัย. กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด, กรุงเทพฯ. 32 หน้า

องุ่น ลิ่ววานิช. 2540. การอนุรักษ์แมลงในประเทศไทย. ว.กีฏและสัตววิทยา. 19(2): 89 – 94.

องุ่น ลิ่ววานิช. 2543. แมลงอนุรักษ์. เอกสารแผ่นพับ. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. พิมพ์ครั้งที่ 2.

ภาพที่ 1 ผีเสื้อร่อนลมสยาม

ความหลากชนิดของแมลงปออันดับโอโดนาทา (Odonata) ในภาคเหนือของประเทศไทย

Species Diversity of Dragonflies in Order Odonata in the Northern Part of Thailand

อิทธิพล บรรณาการ สุนัดดา เชาวลิต ชมัยพร บัวมาศ
ชฎาภรณ์ เฉลิมวิเชียรพร เกศสุดา สนศิริ สิทธิศิโรดมภ์ แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

สำรวจ รวบรวมแมลงปอในเขตภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 นำตัวอย่างแมลงปอที่รวบรวมได้มาศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานเพื่อตรวจจำแนกชนิด ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช สามารถจำแนกชนิดแมลงปอได้ 4 ชนิด 264 ตัวอย่าง ซึ่งอยู่ในอันดับ Odonata วงศ์ Libellulidae ได้แก่ แมลงปอบ้านเสือสามเหลี่ยม *Orthetrum triangulare* (Selye) 35 ตัวอย่าง แมลงปอบ้านบ่อ *Crocothemis servilia* Drury 123 ตัวอย่าง แมลงปอบ้านไร่ปีกทอง *Rhyothemis phyllis* (Sulzer) 78 ตัวอย่าง และวงศ์ Calopterygidae คือ แมลงปอเข็มน้ำตกจีน *Neurobasis chinensis* (Linnaeus) 28 ตัวอย่าง การทดลองเรื่องนี้ยังไม่สิ้นสุดต้องดำเนินการต่อในปี 2555

คำนำ

ในจำนวนแมลงทั้งหลายแมลงปอนับว่าเป็นแมลงที่มีขนาดใหญ่และสีสันสวยงามชนิดหนึ่ง เป็นแมลงที่คุ้นเคยและอยู่ใกล้ตัวมนุษย์ แมลงปอเป็นสัตว์ที่ล่าสัตว์อื่นกินเป็นอาหาร ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัย มีธรรมชาติของการเป็นตัวห้ำตลอดชีวิต กินแมลงเกือบทุกชนิดและทุกตัวที่อ่อนแอกว่า เช่น ยุง ริ้น แมลงวัน ผีเสื้อ ผึ้ง รวมทั้งแมลงปอด้วยกันเอง แมลงปอเป็นสัตว์ที่ไม่มีอันตรายต่อมนุษย์ มีประโยชน์สำหรับการควบคุมทางชีวภาพและสามารถเป็นตัวบ่งชี้ถึงความอุดมสมบูรณ์ของสภาพแวดล้อมได้เป็นอย่างดี (Charles and Norman, 2005) แมลงปอจะหายไปถ้าน้ำเริ่มสกปรกและเน่าเสีย ประเทศไทยมีการค้นพบแมลงปอมากกว่า 295 ชนิด แต่เนื่องจากภาวะโลกร้อน สถานการณ์ป่าไม้ และแหล่งน้ำในประเทศไทยถูกทำลายจนเหลือน้อยลง ทำให้การศึกษาและค้นพบแมลงปอเป็นไปด้วยความยากลำบากมากขึ้น เพราะป่าไม้เป็นที่อยู่เพียงแหล่งเดียวที่เหมาะสมกับแมลงปอมากที่สุด ถึงแม้ว่าเราจะสามารถปลูกป่าทดแทนได้แต่สภาพแวดล้อมก็ไม่สมบูรณ์เท่ากับในธรรมชาติ ปัจจุบันสภาพทางภูมิศาสตร์และสภาพแวดล้อมทางตอนเหนือของประเทศไทยนั้นมีความอุดมสมบูรณ์มากกว่าภูมิภาคอื่นๆ ทั้งในเรื่องของสภาพอากาศ พื้นที่ป่าไม้ แม่น้ำและน้ำตก อาทิ ลักษณะภูมิประเทศของจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง และลำพูน มีทั้งพื้นที่ภูเขา พื้นที่ป่าต้นน้ำลำธาร พื้นที่ราบลุ่มน้ำ ที่ราบเชิงเขา และพื้นที่เกษตรกรรม จึงเป็นพื้นที่ที่มีความเหมาะสม

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-02-00-03-54

สำหรับการศึกษาความหลากชนิดของแมลงปอ การศึกษาความหลากชนิดและการเก็บรวมรวมตัวอย่างแมลงปอจะได้จำนวนตัวอย่างแมลงปอและข้อมูลที่เป็นประโยชน์อย่างมาก ในการศึกษาถึงจำนวนชนิด ชื่อวิทยาศาสตร์ และเขตการแพร่กระจายของแมลงปอในภาคเหนือ รวมถึงสภาพความอุดมสมบูรณ์ของสิ่งแวดล้อม รวมทั้งได้ตัวอย่างแมลงปอเพื่อเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์แมลง เพื่อใช้เป็นแหล่งข้อมูล สืบค้นอ้างอิง สำหรับนักวิชาการ นักวิจัย นิสิต นักศึกษา เกษตรกร อีกด้วย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

ตัวอย่างตัวเต็มวัยแมลงปอและตัวอ่อนที่รวบรวมได้จากแปลงปลูกพืช พื้นที่ป่าไม้ แม่น้ำ และน้ำตก อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ สวิงจับแมลง ขวดฆ่าที่บรรจุสารเอทิลอะซีเตท ขวดดอง ปากคีบพู่กัน กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก ซองกระดาษใส่ตัวอย่างแมลง ถังรักษาความเย็น อุปกรณ์ที่ใช้จัดรูปร่างแมลง ได้แก่ เข็มไร้สนิม เข็มหมุดหัวกลม ไม้จัดรูปร่างแมลง ปากคีบ โหลชื้น ตู้อบแมลง อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวร ได้แก่ สารเคมีต่างๆ เช่น น้ำกลั่น alcohol 50-100%, sodium hydroxide 10%, clove oil และ canada balsam เข็มเขี่ย แผ่นสไลด์แก้ว แผ่นแก้วปิดสไลด์ กล่องสไลด์ถาวร ตู้อบสไลด์ถาวร กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope กล้องถ่ายภาพ อุปกรณ์วาดภาพ ได้แก่ ปากกา rotring และกระดาษไขเขียนแบบ เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของแมลงปอ

วิธีการ

สืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับชนิดของแมลงปอจากเอกสารวิชาการที่เกี่ยวข้อง ดำเนินการสำรวจ และเก็บรวบรวมตัวอย่างในเขตภาคเหนือตอนบน (เชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง ลำพูน แพร่) สำรวจและเก็บตัวอย่างแมลงปอทุกๆ 2 เดือน เดินสำรวจแมลงปอ โดยเฉพาะบริเวณใกล้แหล่งน้ำในพื้นที่เกษตรกรรม ที่ราบเชิงเขา พื้นที่ราบลุ่มน้ำ พื้นที่ป่าต้นน้ำลำธาร พื้นที่ภูเขา ถ่ายภาพและเก็บตัวอย่าง โดยใช้สวิงช้อนตัวอ่อนในแหล่งน้ำ เก็บรักษาในหลอดบรรจุแอลกอฮอล์ 80% และใช้สวิงโฉบตัวเต็มวัยและในขวดฆ่าที่บรรจุสารเอทิลอะซิเตท หลังจากแมลงปอตายต้องจัดส่วนหางซึ่งมีลักษณะผอมเรียวบางและหักง่ายให้มีสภาพคงเดิม โดยใช้เส้นขนที่มีความแข็ง (ขนหมูหรือขนหางม้า) แทงผ่านจากส่วนอกไปยัง ส่วนท้องแต่ไม่ให้สุดปลายส่วนท้อง เพราะอวัยวะสืบพันธุ์เป็นลักษณะสำคัญที่ใช้ในการวิเคราะห์จะเสียหาย เก็บตัวเต็มวัยในซองกระดาษรูปสามเหลี่ยม บันทึกรายละเอียดต่างๆ เช่น รูปร่าง ลักษณะ ขนาด สี วัน เดือนปี ชื่อผู้เก็บ สภาพแวดล้อม อุณหภูมิ และพิกัดทางภูมิศาสตร์ (GPS) เป็นต้น นำแมลงปอที่รวบรวมไปจัดรูปร่าง (set) ตามวิธีการของ Poonchaisri (2004) และนำมาศึกษาชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานด้วยการใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยชนิดของ Charles and Johnson (2005) Paulson (2009) และ พิสุทธิ์ (2541) รวมทั้งศึกษาเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์ บันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยการถ่ายภาพใต้กล้อง

จุลทรรศน์ รวมถึงให้รายละเอียดบนแผ่นป้ายบันทึกของขวดดองตัวอ่อนและตัวเต็มวัย ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ที่จำแนกได้ วัน/เดือน/ปี สถานที่เก็บตัวอย่าง และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง จัดทำแนวทางวินิจฉัย (key) สกุล และชนิดของแมลงปอ ที่รวบรวมได้พร้อมภาพประกอบ จัดเก็บตัวอย่างที่ได้ศึกษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากลของการเก็บรักษาตัวอย่างแมลง เพื่อใช้ในการตรวจสอบสืบค้นและอ้างอิง

เวลาและสถานที่

เวลา เดือนตุลาคม 2553 ถึง เดือนกันยายน 2554

สถานที่ 1. เขตภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย (เชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง ลำพูน แพร่)

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

สามารถจำแนกชนิดแมลงปอได้ 4 ชนิด 264 ตัวอย่าง ซึ่งอยู่ในอันดับ Odonata วงศ์ Libellulidae ได้แก่ แมลงปอบ้านเสือสามเหลี่ยม *Orthetrum triangulare* (Selye) 35 ตัวอย่าง แมลงปอบ้านบ่อ *Crocothemis servilia* Drury 123 ตัวอย่าง แมลงปอบ้านไร่ปีกทอง *Rhyothemis phyllis* (Sulzer) 78 ตัวอย่าง และวงศ์ Calopterygidae คือ แมลงปอเข็มน้ำตกจีน *Neurobasis chinensis* (Linnaeus) 28 ตัวอย่าง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

สำรวจ รวบรวมแมลงปอในเขตภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึง เดือนกันยายน 2554 นำตัวอย่างแมลงปอที่รวบรวมได้มาศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานเพื่อตรวจจำแนกชนิด ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช สามารถจำแนกชนิดแมลงปอได้ 4 ชนิด 264 ตัวอย่าง ซึ่งอยู่ในอันดับ Odonata วงศ์ Libellulidae ได้แก่ แมลงปอบ้านเสือสามเหลี่ยม *Orthetrum triangulare* (Selye) 35 ตัวอย่าง แมลงปอบ้านบ่อ *Crocothemis servilia* Drury 123 ตัวอย่าง แมลงปอบ้านไร่ปีกทอง *Rhyothemis phyllis* (Sulzer) 78 ตัวอย่าง และวงศ์ Calopterygidae คือ แมลงปอเข็มน้ำตกจีน *Neurobasis chinensis* (Linnaeus) 28 ตัวอย่าง การทดลองเรื่องนี้ยังไม่สิ้นสุดต้องดำเนินการต่อในปี 2555

เอกสารอ้างอิง

พิสุทธิ์ เอกอำนวย. 2541. แมลงปอของไทย Dragonflies and Damselflies from Thailand. พิมพ์ครั้งที่ 2. บริษัท เลิฟแอนด์ลิพเพรส จำกัด. 168 หน้า.

Charles, A. T. and N. F. Johnson. 2005. Borror and Delong's Introduction to the Study of Insects. 7th ed. Brooks/Coles. USA. 864 p.

Paulson, D. 2009. Dragonflies and Damselflies of the west. Princeton University Press. New Jersy, USA. 535 p.

Poonchaisri, S. 2004. Preserving Insect Specimens for Research. The Agricultural Co-Operative Ferderation of Thailand., Limited. Bangkok. 32 p.

ความหลากชนิดของตั๊กแตนหนวดสั้นวงศ์ Arcrididae ในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย

Specief Diversity of Grasshoppers Family Arcrididae In The Southern Part Thailand

สุนัดดา เชาวลิต ลักขณา บำรุงศรี ยุวรินทร์ บุญ ชมัยพร บัวมาศ อิทธิพล บรรณาการ ชฎาภรณ์ เฉลิมวิเชียรพร เกศสุดา สนศิริ สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาความหลากชนิดของตั๊กแตนหนวดสั้น วงศ์ Arcrididae ในพื้นที่ภาคใต้ ของประเทศไทย ให้ทราบถึงชนิด ลักษณะการทำลาย และเขตการแพร่กระจาย เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานประกอบการจัดทำรายชื่อชนิดแมลงศัตรูพืช ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 ในพื้นที่เพาะปลูกทางการเกษตร ทุ่งหญ้า ป่าเขา ทางภาคใต้ของประเทศไทย นำตัวอย่างที่สำรวจได้มาจำแนกชนิด ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จากการศึกษาครั้งนี้พบตั๊กแตนหนวดสั้น วงศ์ Arcrididae ทั้งหมด ๔ ชนิด ได้แก่ *Oxya yezoensis* Shiraki, *Pternoscirta caliginosa* (Haan), *Acrida* sp., *Atractomorpha* sp. ตัวอย่างแมลงศัตรูทั้งหมดนำเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร การทดลองเรื่องนี้ยังไม่สิ้นสุดต้องดำเนินการต่อในปี 2555

คำนำ

ตั๊กแตนหนวดสั้นเป็นแมลงที่มีความหลากหลายของรูปร่างลักษณะค่อนข้างมาก มีขนาดลำตัวแตกต่างกัน การเจริญเติบโต เป็นแบบเปลี่ยนแปลงรูปร่างทีละน้อย (gradual metamorphosis) ตัวอ่อนเรียกว่า nymph มีอุปนิสัยการกินอาหาร ที่อยู่อาศัย และลักษณะทั่วไปใกล้เคียงกับตัวเต็มวัย ต่างกันที่ขนาดลำตัว และการพัฒนาของอวัยวะสืบพันธุ์ ตั๊กแตนหนวดสั้นพบอาศัยอยู่ทั่วไป ตามทุ่งหญ้า ป่าเขา รวมถึงพื้นที่เพาะปลูกทางการเกษตร หลายชนิดจัดเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญ เนื่องจากทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยกินพืชและผลผลิตทางการเกษตรเป็นอาหารทำให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจ หลายชนิดเป็นอาหารของสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ในธรรมชาติ จึงนับว่ามีความสำคัญในห่วงโซ่อาหาร ช่วยเพิ่มสมดุลในระบบนิเวศน์ และมีอีกหลายชนิดที่มนุษย์สามารถนำมาบริโภคเป็นอาหารได้ นับเป็นแหล่งโปรตีนทางเลือกอีกรูปแบบในอนาคต การระบาดหรือเพิ่มปริมาณของตั๊กแตนหนวดสั้นเกิดจากองค์ประกอบหลายปัจจัยด้วยกัน เช่น สภาพแวดล้อมต่างๆ ที่เปลี่ยนแปลงไป สภาวะโลกร้อนในปัจจุบัน อาจจะมีผลให้วงจรชีวิตของตั๊กแตนสั้นลง การปลูกพืชชนิดเดียวกันในพื้นที่กว้างๆ ทำให้

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-02-00-04-54

ตั๊กแตนมีแหล่งที่มีพืชอาหารอุดมสมบูรณ์ เพิ่มปริมาณขึ้นอย่างรวดเร็ว การทำลายป่าเพื่อเปลี่ยนเป็นพื้นที่การเกษตรซึ่งเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยและเป็นแหล่งอาหารของตั๊กแตนหลายชนิด ทำให้เกิดการอพยพจากป่ามาสู่พื้นที่เกษตรมากขึ้น ปัจจุบันนี้พื้นที่ภาคใต้มีการส่งเสริมการปลูกพืชน้ำมัน เพื่อตอบสนองความต้องการด้านพลังงานของประเทศ มีการขยายแปลงเพาะปลูกให้มีขนาดใหญ่ในบริเวณเดียวกัน ซึ่งอาจจะมีผลต่อการดำรงอยู่และหายไป หรือการเพิ่มปริมาณขึ้นอย่างรวดเร็วของตั๊กแตนหลายชนิด ดังนั้นการศึกษาความหลากชนิดของตั๊กแตนหนวดสั้นวงศ์ Arcrididae ในพื้นที่ภาคใต้จึงนับว่าเป็นงานที่สำคัญและมีประโยชน์อย่างยิ่ง เพื่อเป็นแหล่งรวบรวมข้อมูลต่างๆ เช่น จำนวนชนิด ลักษณะความแตกต่าง พืชอาหาร และเขตการแพร่กระจาย ซึ่งเป็นข้อมูลพื้นฐานมีความสำคัญอย่างมากสำหรับงานศึกษาวิจัยในลำดับ ต่อไป

ตั๊กแตนเป็นแมลงที่มีความหลากหลายของชนิดค่อนข้างมาก ประกอบด้วยแมลงหลายวงศ์ด้วยกัน ทั่วโลกมีประมาณ 22 วงศ์ (Grzimek et al. 2004, Rowell and Flook 2001) สำหรับในประเทศไทย Chaweewan *et al.* (2007) รายงานไว้ 10 วงศ์ วงศ์ที่พบบ่อยที่สุด ได้แก่ วงศ์ Acrididae จำแนกได้ 47 ชนิด อาศัยอยู่ทั้งพื้นที่เกษตร และพื้นที่ป่าทั่วไป สมุทร (2524) ศึกษาตั๊กแตนหนวดสั้นในประเทศไทย โดยแบ่งตามความสำคัญทางเศรษฐกิจออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ ได้แก่ กลุ่มที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ คือตั๊กแตนที่เคยระบาด ทำลายพืชสำคัญมาแล้ว มี 7 ชนิด กลุ่มที่มีแนวโน้มที่จะมีความสำคัญทางเศรษฐกิจในอนาคต คือชนิดที่เคยปรากฏและมีประชากรหนาแน่นบางพื้นที่ แต่ยังไม่ระบาดในพื้นที่กว้าง มี 7 ชนิดและกลุ่มที่ไม่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจยังไม่ระบุจำนวนชนิด บุปผา (2526) ศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานตั๊กแตนหนวดสั้น วงศ์ Acrididae ในนาข้าว พบ 22 ชนิด ณัฐกฤต และคณะ (2544) สำรวจชนิดตั๊กแตนในพื้นที่ปลูกอ้อยและข้าวโพด พบ 10 ชนิด นอกจากนี้ตั๊กแตนหนวดสั้นอีกหลายชนิดที่เป็นที่รู้จักและมีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เช่น ตั๊กแตนปาทังก้า APPPC (1987) รายงานการแพร่ระบาดในประเทศจีน อินเดีย ญี่ปุ่น ลาว เวียดนาม และประเทศไทย พบว่าเป็นศัตรูสำคัญของพืชไม่น้อยกว่า 34 ชนิด เช่น ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ข้าว อ้อย ปาล์มน้ำมัน และถั่วเหลือง CABI (2007) รายานการแพร่ระบาดตั๊กแตนผี ในประเทศบังคลาเทศ อินเดีย อินโดนีเซียและประเทศไทย พืชอาหารหลักได้แก่ มะพร้าว ในแง่ของการนำมาใช้ประโยชน์ องุ่น (2531) นำแมลงกินได้ทั้งหมดกว่า 100 ชนิดมาวิเคราะห์คุณค่าทางอาหาร ตั๊กแตนปาทังก้าพบว่า ให้โปรตีนมากที่สุด ยังมีตั๊กแตนอีกจำนวนมาก

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1) ตัวอย่างตั๊กแตนหนวดสั้น ที่รวบรวมได้จากแปลงปลูกพืช

2) อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ สวิงจับแมลง ขวดฆ่า ขวดดอง ปากคีบ พู่กัน กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก ซองกระดาษใส่ตัวอย่างแมลง ถังรักษาความเย็น

3) สารเคมีต่างๆ เช่น เอทิลอะซีเตท แอลกอฮอล์ 80%

4) อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวร ได้แก่ สารเคมีต่างๆ เช่น น้ำกลั่น alcohol 50-100%, sodium hydroxide 10%, clove oil และ canabalsam เข็มเขี่ย แผ่นสไลด์แก้ว แผ่นแก้วปิดสไลด์ กล่องสไลด์ถาวร ตู้อบสไลด์ถาวร

5) กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereomicroscope ,compound microscope และกล้องถ่ายภาพ

6) อุปกรณ์วาดภาพ ได้แก่ ปากกา rotting และกระดาษไขเขียนแบบ

7) เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของตั๊กแตนหนวดสั้น และตัวอย่างตั๊กแตนหนวดสั้น ในพิพิธภัณฑ์แมลง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

วิธีการ

1) สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างตั๊กแตนหนวดสั้นวงศ์ Arcrididae จากพื้นต่างๆ เช่น พื้นที่เพาะปลูกทางการเกษตร ทุ่งหญ้า ป่าเขา ทางภาคใต้ของประเทศไทย

2) เก็บตัวอย่างโดยใช้สวิงจับแมลง (insect net) โฉบ เพื่อเก็บตัวอย่างตั๊กแตนหนวดสั้นในช่วงเวลากลางวัน และติดตั้งกับดักแสงไฟ (light trap) เพื่อดึงดูดตั๊กแตนหนวดสั้นที่ออกหากินตอนกลางคืน ฆ่าตัวเต็มวัยในขวดฆ่า (killing jar) ซึ่งใส่สารฆ่าแมลงเอทิลอะซิเตท หลังจากตั๊กแตนตายแล้ว ห่อในกระดาษห่อแบบท๊อฟฟี่ บันทึกรายละเอียดเกี่ยวกับตัวอย่างแมลง ได้แก่ พืชอาหาร วัน เดือน ปี สถานที่เก็บตัวอย่าง และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง บันทึกรายละเอียดสภาพแวดล้อม เช่น พิกัดทางภูมิศาสตร์ อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ เป็นต้น จากนั้นนำตัวอย่างใส่กล่องกระดาษ เก็บรวมไว้ในกล่องรักษาความเย็นเพื่อป้องกันไม่ให้ตัวอย่างเน่า ตัวอ่อนที่ต้องการเลี้ยงให้เป็นตัวเต็มวัยนำใส่กล่องพลาสติกพร้อมใส่พืชอาหาร บันทึกรายละเอียดเช่นเดียวกับตัวเต็มวัย รวมทั้งบันทึกโดยการถ่ายภาพ นำตัวอย่างทั้งหมดที่รวบรวมได้กลับไปยังห้องปฏิบัติการ นอกจากการเก็บตัวอย่างตั๊กแตนจากสภาพธรรมชาติแล้ว มีตัวอย่างตั๊กแตนที่มีอยู่เดิมในพิพิธภัณฑ์ กรมวิชาการเกษตร ตัวอย่างที่ได้รับจากนักวิชาการ และตัวอย่างจากผู้มาขอรับบริการตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิด เพื่อใช้ในการศึกษาครั้งนี้ด้วย

3) ตัวเต็มวัยที่ตายแล้วนำไปจัดรูปร่างบนไม้จัดรูปร่างตัวอย่างแมลง โดยใช้เข็มไร้สนิม ปักที่กึ่งกลางบริเวณอก ใช้ปากคีบจัดขาทั้ง 3 คู่ ให้อยู่ในลักษณะเกาะหรือเดินโดยใช้เข็มหมุดขนาดกลางเป็นตัวยึด นำไปอบให้แห้งในตู้อบ (oven) ปรับอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 15-30 วัน ขึ้นกับขนาดตัวอย่าง

4) นำตัวอย่างตั๊กแตนหนวดสั้นที่รวบรวมได้มาตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิด โดยดูลักษณะภายนอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Stereo microscope แล้วบันทึกรายละเอียดต่างๆ เช่น ขนาดลำตัว รูปร่าง ลักษณะ และสี เป็นต้น โดยตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานด้วยการใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยชนิด ตั๊กแตนหนวดสั้นวงศ์ Arcrididae ประกอบการเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์

5) ตัวอย่างตั๊กแตนที่มีการจัดจำแนกแล้ว บันทึกรายละเอียดของแมลงบนแผ่นป้ายบันทึกกำกับตัวอย่าง จากนั้นนำจัดเก็บลงในกล่องกระดาษสี่เหลี่ยมสีขาว จัดเรียงตามอักษรของลำดับชนิด นำจัดเข้าลิ้นชักในตู้เก็บแมลงจัดเก็บแมลงในพิพิธภัณฑ์แมลง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

เวลาและสถานที่

เวลา : เดือนตุลาคม 2553 – เดือนกันยายน 2556

สถานที่ : 1) สำรวจจากพื้นที่เพาะปลูกทางการเกษตร ทุ่งหญ้า ป่าเขา ทางภาคใต้ของประเทศไทย

2) ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตวิวทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาความหลากชนิดของตั๊กแตนหนวดสั้น วงศ์ Arcrididae ในพื้นที่ภาคใต้ ของประเทศไทย ผลการตรวจวิเคราะห์ตามหลักอนุกรมวิธาน ผลการตรวจวิเคราะห์ตามหลักอนุกรมวิธานโดยใช้แนวทางการวินิจฉัยตามหลักอนุกรมวิธานแมลง รวมทั้งเปรียบเทียบกับตัวอย่างตั๊กแตนหนวดสั้น วงศ์ Arcrididae ที่มีในพิพิธภัณฑ์แมลงของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร สามารถวิเคราะห์ชนิด ได้ 4 ชนิด โดยมีรายละเอียด ดังนี้

ตารางแสดงรายละเอียดของความหลากชนิดของตั๊กแตนหนวดสั้น วงศ์ Arcrididae ในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อสามัญ	แหล่งที่สำรวจพบ	พืชอาหาร	จำนวนตัวอย่าง
1. *Oxya yezoensis* Shiraki	ตั๊กแตนเล็ก (Japanese grasshopper)	ชุมพร ระนอง ภูเก็ต	-	12
2. *Pternoscirta caliginosa* (Haan)	ตั๊กแตนขาลายข้างแถบ (rutus grasshopper)	สุราษฎร์ธานี ตรัง	-	29
3. *Acrida* sp.	ตั๊กแตนขาลายข้างแถบ (rutus grasshopper)	ภูเก็ต	-	3
4. *Atractomorpha* sp.	ตั๊กแตนขาลายข้างแถบ (rutus grasshopper)	ชุมพร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช	-	11

ตั๊กแตนเล็ก (Japanese grasshopper)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการศึกษาความหลากชนิดของตั๊กแตนหนวดสั้น วงศ์ Arcrididae ในพื้นที่ภาคใต้ ของประเทศไทย พบตั๊กแตนหนวดสั้น วงศ์ Arcrididae ทั้งหมด ๔ ชนิด ได้แก่ *Oxya yezoensis* Shiraki, *Pternoscirta caliginosa* (Haan), *Acrida* sp., *Atractomorpha* sp. ตั๊กแตนหนวดสั้นทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวันกัดกินพืช ผลผลิตไม่ได้คุณภาพตามความต้องการ หรืออาจไม่สามารถเก็บผลผลิตได้เลย ตั๊กแตนหนวดสั้นมักระบาดในปริมาณมากและมีความสามรถในการเคลื่อนย้ายจากที่หนึ่งไปยังอีกที่เพื่อหาแหล่งอาหารใหม่ได้อย่างรวดเร็ว การศึกษาให้ทราบถึงชนิดของตั๊กแตนหนวดสั้นที่มารระบาดในพื้นที่จะทำให้สามารถหาทางป้องกันกำจัดได้อย่างมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น ตัวอย่างแมลงศัตรูทั้งหมดนำเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร

เอกสารอ้างอิง

ณัฐกฤต พิทักษ์ และ อนุวัฒน์ จันทรสุวรรณ. 2544. เอกสารวิชาการ แมลงศัตรูอ้อยโรงงาน อ้อยเคี้ยว อ้อยคั้นน้ำ และการป้องกันกำจัด. กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูข้าวโพดและพืชไร่อื่นๆ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 102 หน้า

บุปผา เหล่าสินชัย วิทย์ นามเรืองศรี และ ม.ร.ว. จิราพันธ์ จันทรทัต. 2526. การศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานของตั๊กแตนหนวดสั้นในนาข้าวในประเทศไทย. กลุ่มงานอนุกรมวิธานและวิจัยไร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 18 หน้า

สมุทร มงคลกิติ. 2524. ตั๊กแตนที่สำคัญและการป้องกันกำจัด. เอกสารประกอบการบรรยาย ในการอบรมเรื่อง “แมลง-สัตว์ศัตรูพืชและการป้องกันกำจัด” กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 26 หน้า

องุ่น ลิ่ววานิช. 2531. แมลงกินได้. กสิกร 61(6):545-551

APPPC, 1987. Insect pests of economic significance affecting major crops of the countries in Asia and the Pacific region. Technical Document No. 135. Bangkok, Thailand: Regional FAO Office for Asia and the Pacific (RAPA), 56 pp.

CABI . 2007. The 2007 Edition of the Crop Protection Compendium. CD-ROM. CAB nternational, Wallingford, UK. CD-ROM.

Chaweewan , H. , T. Nopachon and Chutima D. 2007. Checklists of Insects and Mites in Thailand. Department of National Parks, Wildlife and Plant Conservation Minisrty of Natural Resources and environment. 77-80.

Grzimek, B., D. G. Kleiman, V. Geist, and M. C. McDade. 2004. *Grzimek's Animal Life* Encyclopedia. Detroit: Thomson-Gale

Rowell, H. and P. Flook. 2001. Caelifera. Shorthorned grasshoppers, locusts and Relatives. Tree of Life Web Project. Retrieved April 8, 2007.

ก

ข

ค

ง

ภาพที่ 1 ความหลากชนิดของตั๊กแตนหนวดสั้น วงศ์ Arcrididae ในพื้นที่ภาคใต้ ของประเทศไทย

ก. *Oxya japonica* (Thunberg)

ข. *Pternoscirta caliginosa* (Haan)

ค. *Acrida* sp.

ง. *Atractomorpha* sp.

ความหลากชนิดของมดในพื้นที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรตากและป่าธรรมชาติของจังหวัดตาก

Species Diversity of Ants at Center of Agricultural and Development;Tak and Natural Forest of Tak Province

ชมัยพร บัวมาศ ชลิดา อุณหวุฒิ ลักขณา บำรุงศรี

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาความหลากชนิดของมดในพื้นที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรตากและป่าธรรมชาติของจังหวัดตาก ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 เพื่อทราบชนิด ความสัมพันธ์ของกิจกรรมทางการเกษตรที่มีผลต่อชนิดมด และเป็นข้อมูลในการประเมินสถานภาพของมดที่สัมพันธ์กับกิจกรรมทางการเกษตร และนำไปสู่การวางแผนแนวทางการอนุรักษ์ความหลากหลายทางชีวภาพเพื่อการจัดการพื้นที่เกษตรอย่างยั่งยืนในพื้นที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรตาก ซึ่งได้เก็บรวบรวมตัวอย่างจากแหล่งปลูกพืชต่างๆ ได้แก่ แปลงชา กาแฟ อะโวกาโด และแม็คคาเดเมีย นำตัวอย่างมดที่รวบรวมได้มาจัดรูปร่าง ตรวจจำแนกชนิดตามหลักอนุกรมวิธาน ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จากการตรวจจำแนกชนิด พบมด จำนวน 10 ชนิด คือ มดคันไฟ; Fire ant: *Solenopsis geminata* Fabricius มดโล่บ้าน; *Meranoplus bicolor* Guérin-Méneville, มดน้ำผึ้ง; *Anoplolepis gracilipes* Fr.Smith, มดเหม็น; *Tapinoma melanocephalum* Fabricius , มดแดง; Weaver ant: *Oecophylla smaragdina* Fabricius, มดก้นห้อย: *Dolichoderus thoracicus* Fr.Smith มดคัน; *Pheidole sp*1 มดคัน; *Pheidole sp*2 มดคัน; *Pheidole sp*3 มดดำทุ่ง; *Iridomyrmex anceps* (Roger) การศึกษานี้ยังไม่สิ้นสุดจะต้องดำเนินการต่อไปในปี 2555

คำนำ

มด เป็นแมลงสังคม ที่จัดอยู่ในอันดับ (Oder) Hymenoptera วงศ์ (Family) Formicidae สามารถอาศัยอยู่ได้ทั้งในพื้นที่ธรรมชาติและพื้นที่เกษตร พบทั้งในดิน ตามซากพืช ใต้ก้อนหิน ตามต้นไม้หรือไม้พื้นล่าง เป็นต้น จึงทำให้มดมีความหลากหลายทั้งด้านชนิดและแหล่งที่อยู่อาศัย มดมีความสำคัญในการดำรงไว้ซึ่งความสมดุลตามธรรมชาติในระบบนิเวศ เนื่องจากมดสามารถทำหน้าที่ได้หลายบทบาท โดยมดส่วนใหญ่เป็นตัวห้ำ (predators) หรือกินซาก(scavengers) แต่บางชนิดกินทั้งพืชและสัตว์ (omnivores) บางชนิดมีการพึ่งพาอาศัยอยู่ร่วมกับสัตว์อื่น และพืชอีกหลายชนิด ในปัจจุบันมีหลายหน่วยงานได้ริเริ่มศึกษาความหลากชนิดของมด แต่ยังไม่มีข้อมูลที่ครอบคลุมในแต่ละระบบนิเวศ และโดยส่วนใหญ่จะศึกษาเฉพาะมดที่อาศัยอยู่ในป่า การศึกษาชนิดมดที่อยู่ในระบบนิเวศเกษตรยังมีข้อมูลน้อยมาก Pitaksa *et al.* (1998) ได้รายงานว่าพบมด 6 ชนิดในไร่สับปะรด

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-02-00-05-54

และยังขาดการศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับกิจกรรมทางการเกษตรที่มีผลต่อจำนวนชนิดของมดในแต่ละพื้นที่ ซึ่งเป็นข้อมูลที่สามารถนำไปสู่การประเมินสถานภาพของมดที่สัมพันธ์กับกิจกรรมทางการเกษตร ซึ่งพื้นที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรตาก ตั้งอยู่ ณ ดอยมูเซอ ตำบลแม่ท้อ จังหวัดตาก มีพื้นที่ทั้งหมดประมาณ 3,000 ไร่ มีพื้นที่ป่าธรรมชาติล้อมรอบ สภาพอากาศหนาวเย็นเกือบตลอดปี

ภายในศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรตากมีการค้นคว้าและวิจัยพืชชนิดต่างๆ มากมาย ทั้งไม้เมืองหนาว เช่น กาแฟ อะโวกาโด้ มะคาเดเมียนัท ชา ลินจี่ กุหลาบ กล้วยไม้ป่า ดอกหน้าวัว พืชผักพื้นเมือง และพืชสมุนไพรต่างๆ มากมาย ซึ่งก่อให้เกิดกิจกรรมทางการเกษตรต่างๆ ในพื้นที่ เช่น การไถพรวน การกำจัดวัชพืช การตัดแต่งกิ่ง การใส่ปุ๋ย การใช้สารเคมีกำจัดแมลง เป็นต้น ซึ่งกิจกรรมเหล่านี้ล้วนทำให้เกิดการสูญเสียความหลากหลากหลายทางชีวภาพ ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตที่อยู่ภายในพื้นที่ซึ่งการเข้าไปศึกษาเป็นข้อมูลที่สามารถนำไปสู่การประเมินสถานภาพของมดที่สัมพันธ์กับกิจกรรมทางการเกษตรและการวางแผนแนวทางการอนุรักษ์ความหลากหลายทางชีวภาพเพื่อการจัดการพื้นที่เกษตรอย่างยั่งยืนได้ในอนาคตศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรตาก

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างมด

2. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างมด ได้แก่ แอลกอฮอล์ 70 – 80% ปากคีบ ขวดดองตัวอย่างแมลง คัตเตอร์ กรรไกรตัดกิ่ง กล่องพลาสติก และถุงพลาสติก

3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการจัดรูปร่างมด ได้แก่ เข็มไร้สนิมแมลง กระดาษสามเหลี่ยม กาวลาเท็กซ์ ไม้จัดรูปร่างแมลง ตู้อบ

5. กล้องจุลทรรศน์ stereo microscope และ กล้องถ่ายภาพ

7. เอกสารประกอบการจำแนกชนิดมด

วิธีการ

1.สำรวจและรวบรวมมดจากพื้นที่ต่างๆ ทั้งพื้นที่แปลงเกษตรและป่าธรรมชาติ เพื่อให้ครอบคลุมแหล่งที่อยู่อาศัยของมด โดยจะดำเนินการเก็บตัวอย่างมดตามวิธีดังนี้

1.1 การเก็บโดยใช้มือ เก็บมดที่อาศัยอยู่ตามต้นไม้ ไม้พื้นล่าง ไม้พุ่มหรือวัชพืช โดยใช้ปากคีบและใช้สวิงโฉบโดยจับมดใส่ในขวดเก็บตัวอย่าง วิธีการนี้จะได้ตัวอย่างมดที่อาศัยตามต้นไม้หรือกลุ่มมดที่กินน้ำหวานจากแมลงที่อาศัยอยู่ตามต้นไม้ ไม้พุ่ม หรือวัชพืช

1.2 การร่อนซากพืช ทำการร่อนซากพืชที่ปกคลุมผิวดิน เก็บซากพืชที่อยู่ในแปลงใส่ในตะแกรงร่อนที่มีถาดรองรับด้านล่างและใช้ปากคีบจับมดใส่ในขวดเก็บตัวอย่าง

1.3. การร่อนดิน โดยใช้พลั่วหรือเสียมขุดดินในแปลงนำมาร่อนในตะแกรงที่มีถาดรองรับด้านล่าง ใช้ปากคีบจับมดใส่ในขวดเก็บตัวอย่าง ซึ่งการเก็บมดในวิธีนี้จะทำการเก็บหลังจากเก็บมดโดยใช้กับดักน้ำหวานแล้ว วิธีนี้เป็นการเก็บมดที่อาศัยอยู่ในดิน

1.4 การใช้เหยื่อล่อ เช่นการใช้น้ำหวาน หรือใช้เนยแข็ง วางเป็นจุดๆ เพื่อล่อมดให้ออกมากินเหยื่อที่วางไว้ หลังจากนั้นใช้ปากคีบจับมดใส่ในขวดเก็บตัวอย่าง

2. การบันทึกรายละเอียดของข้อมูลแมลง ในแต่ละพื้นที่ที่ทำการสำรวจตัวอย่างจะต้องบันทึกข้อมูลดังนี้ พิกัดภูมิศาสตร์ ปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิอากาศ ความชื้นอากาศ วัน เดือน ปี สถานที่ที่เก็บ และชื่อผู้เก็บ เพื่อนำมาใช้เป็นฐานข้อมูลในการวิเคราะห์ด้านความสัมพันธ์กับปัจจัยแวดล้อมต่างๆ

3. การบันทึกรายละเอียดของกิจกรรมทางการเกษตร เนื่องจากในศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรตาก มีแปลงทดลองและวิจัยต่างๆ ทั้งไม้ผลเมืองหนาว กาแฟ และไม้ดอกต่างๆ และการปลูกพืชเหล่านี้มักมีกิจกรรมทางการเกษตร เช่น การไถพรวน การกำจัดวัชพืช การตัดแต่งกิ่ง การใส่ปุ๋ย การใช้สารเคมีกำจัดแมลง ข้อมูลเหล่านี้จะนำมาหาความสัมพันธ์ของกิจกรรมทางการเกษตรที่ได้ดำเนินการกับจำนวนชนิดที่สำรวจพบในแปลงต่างๆ เพื่อเป็นข้อมูลต่อไป

4. การเตรียมตัวอย่าง โดยนำตัวอย่างที่รวบรวมได้นำไปจัดรูปร่าง ใช้เข็มไร้สนิมปักที่กึ่งกลางบริเวณอกถ้าเป็นตัวขนาดใหญ่ แต่ถ้าขนาดเล็กนำติดกระดาษสามเหลี่ยมขนาดเล็ก (card point) และนำไปอบให้แห้ง

5. จำแนกชนิดมดและจัดเก็บในพิพิธภัณฑ์ นำตัวอย่างมดที่จำแนกชนิดแล้วให้จัดเก็บลงในกล่องกระดาษสี่เหลี่ยมสีขาว จัดเรียงตามอักษรของลำดับ ชนิด นำจัดเข้าลิ้นชักในตู้เก็บแมลง บันทึกข้อมูลแต่ละตัวอย่างบนแผ่นป้ายบันทึกกำกับตัวอย่างแมลง (labeling specimen)

6.นำข้อมูลจำนวนชนิดมดที่ได้มาหาความสัมพันธ์กับข้อมูลกิจกรรมทางการเกษตรเพื่อประมวลผลต่อไป

7. จัดเก็บตัวอย่างมดที่จัดรูปร่างและอบแห้ง รวมทั้งเพลี้ยแป้งในกล่องใส่สไลด์ถาวร ไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลงโดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามหลักสากล

เวลาสถานที่

เวลา เดือนตุลาคม 2553 **ถึง** เดือนกันยายน 2554

สถานที่ 1. พื้นที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรตากและป่าธรรมชาติของจังหวัดตาก

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตวิวทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการเก็บรวบรวมมดในพื้นที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรตากและ ป่าธรรมชาติของจังหวัดตาก ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 พบมด จำนวน 10 ชนิด คือ มดคันไฟ; Fire ant: *Solenopsis geminata* Fabricius มดโล่บ้าน; *Meranoplus bicolor* Guérin-Méneville, มดน้ำผึ้ง; *Anoplolepis gracilipes* Fr.Smith, มดเหม็น; *Tapinoma melanocephalum* Fabricius , มดแดง; Weaver ant: *Oecophylla smaragdina* Fabricius, มดก้นห้อย: *Dolichoderus thoracicus* Fr.Smith มดคัน; *Pheidole sp*1 มดคัน; *Pheidole sp*2 มดคัน; *Pheidole sp*3 มดดำทุ่ง; *Iridomyrmex anceps* (Roger) การศึกษานี้ยังไม่สิ้นสุดจะต้องดำเนินการต่อไปในปี 2555 โดยสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างมด บันทึกรายละเอียดของมดที่อาศัยร่วมกับเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus* และจัดเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาความหลากชนิดของมดในพื้นที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรตากและป่าธรรมชาติของจังหวัดตาก ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 พบมด จำนวน 10 ชนิด คือ มดคันไฟ; Fire ant: *Solenopsis geminata* Fabricius มดโล่บ้าน; *Meranoplus bicolor* Guérin-Méneville, มดน้ำผึ้ง; *Anoplolepis gracilipes* Fr.Smith, มดเหม็น; *Tapinoma melanocephalum* Fabricius , มดแดง; Weaver ant: *Oecophylla smaragdina* Fabricius, มดก้นห้อย: *Dolichoderus thoracicus* Fr.Smith มดคัน; *Pheidole sp*1 มดคัน; *Pheidole sp*2 มดคัน; *Pheidole sp*3 มดดำทุ่ง; *Iridomyrmex anceps* (Roger) การศึกษานี้ยังไม่สิ้นสุดจะต้องดำเนินการต่อไปในปี 2555

เอกสารอ้างอิง

Briese, D.T. 1982. The Effect of Ants on the Soil of Semi-Arid Saltbush Habitat. Insectes Sociaux 29 (2 bis): 375-382.

Pitaksa,C., A. Chantarasuwan and A. Kongkanjana. 1998. Ant Control in Pineapple Field .The Third International Pineapple Symposium, November 17-20, Pattaya, Thailand.

ความหลากชนิดของด้วงงวงในเขตสงวนชีวมณฑลสะแกราช

Species Diversity of Weevils at Sakaerat Biosphere Reserves

อิทธิพล บรรณาการ สุนัดดา เชาวลิต ชมัยพร บัวมาศ

ชฎาภรณ์ เฉลิมวิเชียรพร เกศสุดา สนศิริ สิทธิศิโรดมภ์ แก้วสวัสดิ์

กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

สำรวจ รวบรวมด้วงงวงในเขตสงวนชีวมณฑลสะแกราช สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช จังหวัดนครราชสีมา ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึง เดือนกันยายน 2554 นำตัวอย่างด้วงงวงที่รวบรวมได้มาศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานเพื่อตรวจจำแนกชนิด ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช สามารถจำแนกชนิดด้วงงวงได้ 8 ชนิด 88 ตัวอย่าง ซึ่งอยู่ในอันดับ Coleoptera วงศ์ Curculionidae ได้แก่ ด้วงยีราฟ *Apoderus notatus* Fabricius 1 ตัวอย่าง ด้วงงวงเล็ก *Apion* sp. 80 ตัวอย่าง ด้วงงวง *Colobodes* sp. 1 ตัวอย่าง ด้วงงวง *Cyphicerus* sp. 1 ตัวอย่าง ด้วงงวง *Astycus lateris* 2 ตัวอย่าง ด้วงงวง *Sybulus* sp. 1 ตัวอย่าง ด้วงงวง *Phytoscaphus* sp. 1 ตัวอย่าง และด้วงงวง *Tadius* sp. 1 ตัวอย่าง การทดลองเรื่องนี้ยังไม่สิ้นสุดต้องดำเนินการต่อในปี 2555

คำนำ

ด้วงงวง (weevils, snout beetles) จัดเป็นวงศ์ (Family) ที่มีความหลากชนิดและจำนวนมากที่สุดของแมลงในอันดับด้วง (Coleoptera) ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยเจาะอาศัยอยู่ในเนื้อไม้ทั้งไม้สดและไม้แห้ง ตัวอ่อนหลายชนิดอาศัยกัดกินอยู่ในรากพืช เมล็ดพืช สร้างความเสียหายกับผลผลิตทางการเกษตร พืชปลูก ไม้ดอกไม้ประดับ ผลไม้ และพืชผัก นอกจากนี้ยังมีด้วงงวงอีกหลายชนิดที่เป็นปัญหาในการส่งออกและนำเข้าผลผลิตทางการเกษตร เช่น ด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วงซึ่งเป็นปัญหาในการส่งออกมะม่วงจากประเทศไทยไปยังประเทศมาเลเซีย และด้วงงวงขั้วผลส้มซึ่งเป็นปัญหาในการนำเข้าผลส้มจากออสเตรเลีย (ศิริณี และ ชลิดา,2551) ด้วงงวงจึงเป็นแมลงที่น่าเรียนรู้และทำความรู้จักอย่างยิ่ง แหล่งสงวนชีวมณฑลสะแกราช (Sakaerat Biospere Reserves) เป็นแหล่งสงวนชีวมณฑลของโลกซึ่งได้รับการรับรองจากองค์การ UNESCO ภายใต้โครงการมนุษย์และชีวมณฑล (Man and Biosphere, MAB) ในปี 2519 เดิมเป็นสถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มีพื้นที่ปกคลุมด้วยป่าไม้สำคัญ 2 ชนิด คือ ป่าดิบแล้ง (Dry Evergreen Forest) และป่าเต็งรัง (Dry Dipterocarp Forest) รวมประมาณ 48,800 ไร่ พื้นที่นี้มีความหลากหลายทางชีวภาพสูง ประกอบด้วยชนิดพันธุ์พืช สัตว์ และแมลงจำนวนมากอาทิ ด้วงงวง โดยความหลากชนิดและปริมาณของตัวอ่อนและตัวเต็มวัยด้วงงวงมีบทบาทสำคัญในระบบ

รหัสการทดลอง 03 04 54 04 02 00 06 54

ห่วงโซ่อาหารคือเป็นอาหารของสัตว์อื่นๆ เช่น นก และแมลงห้ำต่างๆ ทำให้ระบบนิเวศมีความสมดุล ซึ่งนับวันพื้นที่ป่าก็จะถูกบุกรุกทำลายกลายเป็นชุมชน ป่าลดน้อยลง พันธุ์พืช สัตว์ และแมลงก็จะค่อยๆ สูญสิ้นไปได้มีการศึกษาด้านพันธุ์พืชต่างๆ แต่ยังไม่มีข้อมูลเกี่ยวกับด้วงงวงในเขตสงวนชีวมณฑลสะแกราช จึงสมควรสำรวจและ
ศึกษาชนิดของด้วงงวง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

ตัวอย่างตัวเต็มวัยด้วงงวงและหนอนที่รวบรวมได้จากเขตสงวนชีวมณฑลสะแกราช อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ สวิงจับแมลง ขวดฆ่าที่บรรจุสารเอทิลอะซีเตท ขวดดอง ปากคีบ พู่กัน กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก ซองกระดาษใส่ตัวอย่างแมลง ถังรักษาความเย็น อุปกรณ์ที่ใช้จัดรูปร่างแมลง ได้แก่ เข็มไร้สนิม เข็มหมุดหัวกลม ไม้จัดรูปร่างแมลง ปากคีบ โหลชี้น ตู้อบแมลง อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวร ได้แก่ สารเคมีต่างๆ เช่น น้ำกลั่น alcohol 50-100%, sodium hydroxide 10%, clove oil และ canada balsam เข็มเขี่ย แผ่นสไลด์แก้ว แผ่นแก้วปิดสไลด์ กล่องสไลด์ถาวร ตู้อบสไลด์ถาวร กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope กล้องถ่ายภาพ อุปกรณ์วาดภาพ ได้แก่ ปากกา rotring และกระดาษไขเขียนแบบ เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของด้วงงวง

วิธีการ

สืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับชนิดของด้วงงวงจากเอกสารวิชาการที่เกี่ยวข้อง ดำเนินการสำรวจ และเก็บรวบรวมด้วงงวงในบริเวณป่าดิบแล้งและป่าเต็งรัง ทุกๆ 2 เดือน เดินสำรวจด้วงงวง ถ่ายภาพและเก็บตัวอย่าง โดยเก็บตัวอ่อนในหลอดบรรจุแอลกอฮอล์ 80 % และตัวเต็มวัยในขวดฆ่าที่บรรจุสารเอทิลอะซิเตท หลังจากด้วงตายให้เก็บตัวเต็มวัยในกระดาษรูปสามเหลี่ยมโดยห่อแบบท๊อฟฟี่ บันทึกรายละเอียดต่างๆ เช่น รูปร่าง ลักษณะ ขนาด สี พืชอาศัย วันเดือนปี ชื่อผู้เก็บ สภาพแวดล้อม อุณหภูมิ และพิกัดทางภูมิศาสตร์ (GPS) เป็นต้น ในเวลากลางคืนจะเก็บตัวอย่างด้วงงวงจากกับดักแสงไฟ (light trap) นำด้วงงวงที่รวบรวมได้มาจัดรูปร่างและอบให้แห้ง ศึกษาและวิเคราะห์ชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานโดยการใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยชนิด White (1983) และ Charles and Norman (2005) รวมทั้งศึกษาเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์ บันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยการถ่ายภาพใต้กล้องจุลทรรศน์ รวมถึงให้รายละเอียดบนแผ่นป้ายบันทึกของขวดดอง ตัวอ่อนและตัวเต็มวัย ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ที่จำแนกได้ วัน/เดือน/ปี สถานที่เก็บตัวอย่าง และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง จัดทำแนวทางวินิจฉัย (key) สกุล และชนิดของด้วงงวงที่รวบรวมได้พร้อมภาพประกอบ จัดเก็บตัวอย่างที่ได้ศึกษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากลของพิพิธภัณฑ์ เพื่อใช้ในการตรวจสอบ สืบค้นและอ้างอิง

เวลาและสถานที่

เวลา เดือนตุลาคม 2553 ถึง เดือนกันยายน 2554

สถานที่ 1. เขตสงวนชีวมณฑลสะแกราช สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช จังหวัดนครราชสีมา

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

พบด้วงงวง 8 ชนิด 88 ตัวอย่าง คือ ด้วงยีราฟ *Apoderus notatus* Fabricius 1 ตัวอย่าง ด้วงงวงเล็ก *Apion* sp. 80 ตัวอย่าง ด้วงงวง *Colobodes* sp. 1 ตัวอย่าง ด้วงงวง *Cyphicerus* sp. 1 ตัวอย่าง ด้วงงวง *Astycus lateris* 2 ตัวอย่าง ด้วงงวง *Sybulus* sp. 1 ตัวอย่าง ด้วงงวง *Phytoscaphus* sp. 1 ตัวอย่าง และด้วงงวง *Tadius* sp. 1 ตัวอย่าง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาความหลากชนิดของด้วงงวงในเขตสงวนชีวมณฑลสะแกราช สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช จังหวัดนครราชสีมา ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 พบด้วงงวง 8 ชนิด 88 ตัวอย่าง ซึ่งอยู่ในอันดับ Coleoptera วงศ์ Curculionidae ได้แก่ ด้วงยีราฟ *Apoderus notatus* Fabricius 1 ตัวอย่าง ด้วงงวงเล็ก *Apion* sp. 80 ตัวอย่าง ด้วงงวง *Colobodes* sp. 1 ตัวอย่าง ด้วงงวง *Cyphicerus* sp. 1 ตัวอย่าง ด้วงงวง *Astycus lateris* 2 ตัวอย่าง ด้วงงวง *Sybulus* sp. 1 ตัวอย่าง ด้วงงวง *Phytoscaphus* sp. 1 ตัวอย่าง และด้วงงวง *Tadius* sp. 1 ตัวอย่าง การทดลองเรื่องนี้ยังไม่สิ้นสุดต้องดำเนินการต่อในปี 2555

เอกสารอ้างอิง

ศิริณี พูนไชยศรี และชลิดา อุณหวุฒิ. 2551. ด้วงงวงขั้วผลส้ม (Fuller Rose Weevil) *Pantomorus cervinus* (Boheman) ; Coleoptera : Curculionidae. http://it.doa.go.th/pibai/pibai/n11/_v_11-oct/korkui.html

Charles, A. T. and N. F. Johnson. 2005. Borror and Delong's Introduction to the Study of Insects. 7th ed. Brooks/Coles. USA. 864 p.

White, R. E. 1983. Beetles. Peterson Field Guides. Houghton Mifflin Company. USA. 368 p.

2008

ความหลากชนิดของหิ่งห้อยในเขตภาคใต้ของประเทศไทย

Diversity of Fireflies in Southern of Thailand

ยุวรินทร์ บุญทบ ศิริณี พูนไชยศรี ลักขณา บำรุงศรี สุนัดดา เชาวลิต
ชมัยพร บัวมาศ อิทธิพล บรรณาการ ชฎาภรณ์ เฉลิมวิเชียรพร สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักพืช

บทคัดย่อ

โดยการสำรวจหิ่งห้อย จากบริเวณป่าที่ยังคงความอุดมสมบูรณ์ในประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 นำกลับไปตรวจวิเคราะห์ชนิดตามหลักอนุกรมวิธาน รวมทั้งศึกษาจากตัวอย่างแมลงที่มีในพิพิธภัณฑ์ ที่กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร นำข้อมูลและตัวอย่างแมลงที่พบเปรียบเทียบกับข้อมูลและตัวอย่างที่มีอยู่ในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร การศึกษาครั้งนี้พบ พบตัวอย่างหิ่งห้อยบก และหิ่งห้อยน้ำกร่อย โดยเป็นหิ่งห้อย ใน 5 สกุล (Genus) ได้แก่ *Lamprigera* (Motschulsky) 1853, *Stenocladius* Deyrolle and Fairmaire, 1878, *Luciola* Lapote, 1833, *Asymmetricata* Ballantyne, 2009 และ *Pyrocoelia* Gorham, 1880 และจากการตรวจวินิจฉัยระดับชนิด (Species) พบหิ่งห้อยทั้งหมด 7 ชนิด ได้แก่ *Lamprigera* sp., *Stenocladius* sp., *Luciola aquatilis* Thancharoen,2007, *Asymmetricata circumdata* (Motschulsky),2009, *Pyrocoelia praetexta* Olivier,1911, *P. analis* (Fabricius,1801) และ *Pyrocoelia* sp.

คำนำ

ประเทศไทยจัดเป็นแหล่งความหลากหลายทางชีวภาพที่สำคัญ (Brooks *et al*,2002) เนื่องจากมีความหลากหลายทางด้านแมลงสูงทั้งด้านจำนวนชนิดและปริมาณ แต่ก็ยังไม่สามารถให้ข้อมูลที่สมบูรณ์เกี่ยวกับจำนวนชนิดและความหลากหลายของแมลง ทั้งนี้ก็เนื่องมาจากแมลงมีอยู่ในทุกภาคของประเทศและสภาพแวดล้อมเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็ว ทั้งจากธรรมชาติเองและจากการกระทำของมนุษย์ ทำให้เกิดผลกระทบต่อสมดุลของธรรมชาติและความหลากหลายของสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะแมลงในบรรดาแมลงในประเทศไทย หิ่งห้อย นับว่าเป็นแมลงที่มีคุณลักษณะพิเศษ คือสามารถบ่งชี้ถึงความอุดมสมบูรณ์และสมดุลของธรรมชาติได้ และนอกจาก หิ่งห้อย จะเป็นแมลงที่มีความสวยงามเฉพาะตัวแล้วยังมีคุณสมบัติที่สามารถใช้เป็น “ตัวห้ำ” ในการควบคุมศัตรูพืชตามหลักการทางชีวภาพ เนื่องจากหิ่งห้อยในระยะที่เป็นตัวหนอนจะกินหอยฝาเดียวเล็กๆ เป็นอาหาร (Dan,1998) ซึ่งหอยเหล่านั้นเป็นหอยที่ทำลายพืช เช่น ข้าว หรือกล้วยไม้ นอกจากนี้หอยยังเป็น

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-02-00-07-54

พาหะนำโรคหลายชนิดมาสู่มนุษย์และสัตว์ เช่น โรคพยาธิใบไม้ในลำไส้โรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ เป็นต้น ดังนั้นหิ่งห้อยจึงเป็นแมลงที่มีความสำคัญทั้งในด้านการแพทย์ และโดยเฉพาะอย่างยิ่งแก่การเกษตรกรรม ซึ่งเป็นอาชีพหลักของคนไทย

หิ่งห้อยมีถิ่นที่อยู่อาศัยที่แตกต่างกัน เช่น บริเวณแหล่งน้ำจืด น้ำกร่อย รวมทั้งบนบกซึ่งมักพบในพื้นที่ป่าที่มีความอุดมสมบูรณ์ แต่ปัจจุบันพบว่าประชากรของหิ่งห้อยลดลง 70 เปอร์เซ็นต์ จากเมื่อ 3 ปีที่ผ่านมา (Debbie, 2009) เนื่องจากสภาพแวดล้อม ถิ่นที่อยู่อาศัยของหิ่งห้อยถูกทำลาย ซึ่งอาจเกิดจากการปนเปื้อนของสารเคมี รวมทั้งการขยายตัวขึ้นอย่างรวดเร็วของเมือง ทำให้แสงสว่างจากบ้านเรือนและจากโรงงานอุตสาหกรรมนั้น ไปรบกวนการสืบพันธุ์ของหิ่งห้อย ซึ่งปัจจัยต่างๆ เหล่านี้ทำให้ประชากรของหิ่งห้อยลดลง (Kathy, 2009)

และจากข้อมูลปัจจุบันนั้นกรมวิชาการเกษตรยังมีข้อมูลและการศึกษาเกี่ยวกับหิ่งห้อยน้อยมาก ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาความหลากชนิดของหิ่งห้อย ซึ่งพื้นที่บริเวณภาคใต้ของประเทศไทยนั้น เป็นบริเวณที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูงเนื่องจากมีป่าหลายๆ ประเภท เช่น ป่าชายเลน ป่าดิบแล้ง ป่าเบญจพรรณ และป่าดิบชื้นซึ่งมีเฉพาะพื้นที่ในเขตภาคใต้เท่านั้น นอกจากนี้แหล่งน้ำในภาคใต้ยังคงความอุดมสมบูรณ์โดยมีทั้ง แหล่งน้ำจืด น้ำกร่อย จึงคาดว่าพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทยจะเป็นอีกพื้นที่หนึ่งที่มีความหลากหลายทางชีวภาพของหิ่งห้อยสูง และจากข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้จะเป็นแหล่งข้อมูลพื้นฐานที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้เพื่ออนุรักษ์ และใช้ประโยชน์ต่อไปในอนาคต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สำรวจและรวบรวมตัวอย่างหิ่งห้อยตามสถานที่ต่างๆ เช่น โดยแบ่งการสำรวจออกเป็น 3 ลักษณะสภาพแวดล้อม ดังนี้

- สภาพป่าที่มีความอุดมสมบูรณ์ เช่น ป่าดิบแล้ง ป่าเบญจพรรณ ป่าชายเลน และป่าดิบชื้น
- แหล่งน้ำจืด
- แหล่งน้ำกร่อย

ทำการสำรวจ เดือนละหนึ่งครั้ง โดยเก็บทั้งตัวอ่อน และตัวเต็มวัยใส่ถุงพลาสติกหรือกล่องพลาสติกเพื่อให้ระบายอากาศได้ดี บันทึกวันที่ เดือน พ.ศ. และสถานที่เก็บ

2. บันทึกรายละเอียดของปัจจัยแวดล้อมที่พบแมลง เช่น ระดับความสูงจากน้ำทะเล ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ อุณหภูมิ และพิกัดทางภูมิศาสตร์ (GPS)

3. นำตัวอ่อนของหิ่งห้อยมาบันทึก ลักษณะทางสัณฐานวิทยา จากนั้นนำมาเลี้ยงยังห้องปฏิบัติการจนเป็นตัวเต็มวัย

4. เตรียมตัวอย่างตัวเต็มวัย เพื่อใช้ในการจำแนกชนิดหิ่งห้อย โดยใช้ตัวอย่างตัวเต็มวัยที่อบแห้งหรืออาจฆ่าด้วยเอทิลอาซีเตด หรือเก็บแมลงใส่หลอดแก้ว แช่ในช่องน้ำแข็ง 4 – 5 ชั่วโมง วิธีนี้จะทำให้สีไม่เปลี่ยนแปลงไป เมื่อได้ตัวอย่างแล้วใช้เข็มปักแมลง (insect pin) แทงด้านบนส่วนอกด้านขวา โดยมีป้ายเล็ก ๆ กับกับโดยบอก สถานที่ วันเดือนปี ผู้เก็บ อีกชิ้นเป็นชื่อแมลงที่จำแนกชนิดได้

5. การเตรียมอวัยวะเพศในการทำสไลด์ สำหรับหิ่งห้อยที่ต้องจำแนกจากลักษณะอวัยวะเพศ โดยมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

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

6. นำตัวอย่างหิ่งห้อยจากข้อ 1 รวมทั้งหิ่งห้อยที่มีอยู่ในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร ตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิดจาก ลักษณะภายนอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Stereo microscope แล้วบันทึกรายละเอียดต่างๆ เช่น รูปร่าง ลักษณะ ขนาด และสี เป็นต้น โดยตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานด้วยการใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยชนิดของหิ่งห้อย ประกอบการเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์

7. บันทึกลักษณะสัณฐานวิทยาโดยการถ่ายภาพใต้กล้องจุลทรรศน์ รวมถึงให้รายละเอียดบนแผ่นป้ายบันทึกของหิ่งห้อยแต่ละตัว ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ที่จำแนกได้ วัน/เดือน/ปี สถานที่พบตัวอย่าง และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง

8. จัดเก็บตัวอย่างที่ได้ศึกษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากลของการเก็บรักษาตัวอย่างแมลง (หิ่งห้อยทุกชนิดที่รายงานไว้ต้องเก็บรักษาตัวอย่างจริงไว้เพื่อการตรวจสอบ สืบค้นและอ้างอิงในภายหลัง)

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มต้น เดือนตุลาคม 2553 **สิ้นสุด** เดือนกันยายน 2554

สถานที่ - ป่าชายเลน ป่าดิบแล้ง ป่าเบญจพรรณ และป่าดิบชื้น และแหล่งน้ำ แหล่งน้ำจืด น้ำกร่อย ในจังหวัดต่างๆ ของภาคใต้

- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตวิวทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

โดยการสำรวจหิ่งห้อย จากบริเวณป่าที่ยังคงความอุดมสมบูรณ์ในประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 นำกลับไปตรวจวิเคราะห์ชนิดตามหลักอนุกรมวิธาน รวมทั้งศึกษาจากตัวอย่างแมลงที่มีในพิพิธภัณฑ์ ที่กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตวิวทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร นำข้อมูลและตัวอย่างแมลงที่พบเปรียบเทียบกับข้อมูลและตัวอย่างที่มีอยู่ในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร การศึกษาครั้งนี้พบ พบตัวอย่างหิ่งห้อยบก และหิ่งห้อยน้ำกร่อย โดยเป็นหิ่งห้อย ใน 5 สกุล (Genus) *Lamprigera* (Motschulsky) 1853, *Stenocladius* Deyrolle and Fairmaire,1878, *Luciola* Lapote,1833, *Asymmetricata* Ballantyne,2009 และ *Pyrocoelia* Gorham,1880 และจากการตรวจวินิจฉัยระดับชนิด (Species) พบหิ่งห้อยทั้งหมด 7 ชนิด ได้แก่ *Lamprigera* sp., *Stenocladius* sp., *Luciola aquatilis* Thancharoen,2007, *Asymmetricata circumdata* (Motschulsky),2009, *Pyrocoelia praetexta* Olivier,1911, *P. analis* (Fabricius,1801) และ *Pyrocoelia* sp.

รายละเอียดหิ่งห้อยแต่ละชนิด

***Lamprigera* sp. (ภาพที่ 1)**

ชื่อสามัญ หิ่งห้อยยักษ์, หิ่งห้อยช้าง: Giant Firefly

ลักษณะสำคัญ

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

สถานที่พบ จังหวัดตรัง ระนอง

***Stenocladius* sp. (ภาพที่ 2)**

ชื่อสามัญ หิ่งห้อย

ลักษณะสำคัญ

เป็นด้วงที่มีลำตัวยาว 3.7 – 5.5 เซนติเมตร กว้าง 1.2 -1.3 เซนติเมตร ลักษณะพิเศษคือ ตัวเต็มวัยเพศเมียไม่มีปีก ตัวหนอนมีลักษณะ ลำตัวแบ่งเป็นปล้องๆ สีเหลืองอ่อน บริเวณด้านบนของแต่ละปล้องมีสีดำ และมีสีน้ำตาลอ่อนอยู่บริเวณตรงกลางของสีดำในแต่ละปล้อง บริเวณส่วนหัวและส่วนปลายท้องมีสีน้ำตาล สามารถทำแสงมีลักษณะกลม บริเวณปล้องท้องปล้องสุดท้าย

หมายเหตุ จากการสำรวจในครั้งนี้พบเฉพาะตัวหนอน ซึ่งไม่สามารถเลี้ยงให้เป็นตัวเต็มวัยได้ แต่จากการตรวจเอกสาร พบว่าเพศผู้มีหนวดมีลักษณะพิเศษแตกต่างจากหิ่งห้อยทั่วไปคือ มีลักษณะเป็นฟันหวี (pectinate)

สถานที่พบ จังหวัดตรัง ชุมพร

*Pyrocoelia anal*is (Fabricius, 1801) (**ภาพที่ 3**)

ชื่อสามัญ หิ่งห้อย

ลักษณะสำคัญ

เป็นด้วงที่มีลำตัวยาว 1.50 – 1.62 เซนติเมตร กว้าง เซนติเมตร 0.6 - 0.8 ส่วนหัวสีส้ม มีลักษณะแบน แผ่ขยายกว้าง ปีกคู่หน้าสีดำและบริเวณขอบปีกมีแถบสีส้มอยู่รอบปีก (0.5 มิลลิเมตร) และบริเวณด้านข้างของปีกแถบสีส้มมีความหนาประมาณสองเท่าของขอบปีกด้านใน (1.2 มิลลิเมตร) หนวดและขาสีดำ หนวดมีลักษณะฟันเลื่อย (serrate) อวัยวะทำแสงมีลักษณะเป็นแผ่นแบนยาว

สถานที่พบ จังหวัดตรัง ชุมพร สุราษฎร์ธานี ระนอง

Pyrocoelia praetexta Olivier, 1991 (**ภาพที่ 4**)

ชื่อสามัญ หิ่งห้อย

ลักษณะสำคัญ

เป็นด้วงที่มีลำตัวยาว 1.58 - 1.65 เซนติเมตร กว้าง 0.6 - 0.8 เซนติเมตร ส่วนหัวสีส้ม มีลักษณะแบน แผ่ขยายกว้าง ปีกคู่หน้าสีดำและบริเวณขอบปีกมีสีส้มบางๆ (0.5 มิลลิเมตร) อยู่รอบปีก หนวดและขาสีดำ หนวดมีลักษณะฟันเลื่อย (serrate) อวัยวะทำแสงมีลักษณะเป็นแผ่นแบนยาว

สถานที่พบ จังหวัด ชุมพร สุราษฎร์ธานี ระนอง

Pyrocoelia sp. (ภาพที่ 5)

ชื่อสามัญ หิ่งห้อย

ลักษณะสำคัญ

เป็นด้วงที่มีลำตัวยาว 1.71 – 1.82 เซนติเมตร กว้าง เซนติเมตร 0.7 - 0.8 ส่วนหัวสีส้ม มีลักษณะแบน แผ่ขยายกว้าง ปีกคู่หน้าสีส้ม หนวดและขาสีดำ หนวดมีลักษณะฟันเลื่อย (serrate) อวัยวะทำแสงมีลักษณะเป็นแผ่นแบนยาว

สถานที่พบ จังหวัดชุมพร สุราษฎร์ธานี

Asymmetricata circumdata (Motschulsky) 2009, (ภาพที่ 6)

ชื่อสามัญ หิ่งห้อย

ลักษณะสำคัญ

เป็นด้วงที่มีลำตัวยาว 1.1 - 1.20 เซนติเมตร กว้าง เซนติเมตร 0.5 - 0.7 ส่วนหัวสีส้ม มีลักษณะแบน ปีกคู่หน้าสีดำและบริเวณขอบปีกมีแถบสีส้มอยู่รอบปีก (0.7 มิลลิเมตร) และบริเวณด้านข้างของปีกแถบสีส้มมีความหนาประมาณเท่าครึ่งของขอบปีกด้านใน (1.0 มิลลิเมตร) หนวดและขาสีดำ หนวดมีลักษณะฟันเลื่อย (serrate) อวัยวะทำแสงมีลักษณะเป็นแผ่นแบนขยายใหญ่เต็มปล้องท้อง

สถานที่พบ จังหวัดตรัง ชุมพร สุราษฎร์ธานี ระนอง

Luciola aquatilis Thancharoen, 2007 (ภาพที่ 7)

ชื่อสามัญ หิ่งห้อย

ลักษณะสำคัญ

เป็นด้วงที่มีลำตัวยาว 1.0 - 1.1 เซนติเมตร กว้าง เซนติเมตร 0.35 - 0.37 ส่วนหัวน้ำตาลอ่อน มีลักษณะแบน ปีกคู่หน้าสีน้ำตาลอมเทา บริเวณปลายขอบปีกมีสีดำ และบริเวณขอบปีกด้านบนมีลักษณะคล้ายแต้มจุดสีดำ หนวดสีดำ มีลักษณะฟันเลื่อย (serrate) ขามีสีเหลืองและปลายเล็บ (tarsi) มีสีดำ อวัยวะทำแสงมีลักษณะเป็นแผ่นแบนขยายใหญ่เต็มปล้องท้อง

สถานที่พบ จังหวัดตรัง ชุมพร สุราษฎร์ธานี ระนอง

เอกสารอ้างอิง

ศิริณี พูนไชยศรี. 2548. ทิ้งถ่วง. กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพ.

Ballantyne, L.A. 1992 Revisional studies on flashing fireflies (Coleoptera: Lampyridae). Doctoral Dissertation. Uni-versity of Queensland, St. Lucia, Brisbane, Australia. 420 pp.

Branham, M. A., and J. W. Wenzel. 2003. The origin of photic behavior and the evolution of sexual communication in fireflies (Coleoptera: Lampyridae). Cladistics 19: 1-22.

Brooks, T.M., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., Gustavo A. B. da Fonseca, Rylands, A.B., Konstant, W.R., Flick, P.,Pilgrim, J., Oldfield, S., Magin, G. & Craig Hilton-Taylor. 2002. Habitat Loss and Extinction in the Hotspots of Biodiversity. Conservation Biology, 16(4), 909–923.

Dan Mahr. 1998. Excerpt from Midwest Bilogical Control. Bilogical Control News. 5(10)

Debbie Hadley. 2009. Habits and Traits of Fireflies, Family Lampyridae. Available source. http://insects.about.com/od/beetles/p/lampyridae.htm

Hutacharern, C., N. Tubtim & Dokmai, C. (2007) Checklists of Insects and Mites in Thailand. Department of National Parks, Wildlife and Plant Conservation, Bangkok, Thailand, 319 pp.

Kathy Marks. 2009. Fireflies in decline as natural habitats are destroyed. Available source. http://www.independent.co.uk/environment/nature/fireflies-in-decline-as-natural-habitats-are- destroyed-914472.html, 3 October 2009.

ภาพที่ 1 *Lamprigera* (Motschulsky) 1853

ภาพที่ 2 *Stenocladius* Deyrolle

ภาพที่ 3 หิ่งห้อย *Pyrocoelia analis* (Fabricius)

ภาพที่ 4 หิ่งห้อย *Pyrocoelia praetexta* Olivier

ภาพที่ 5 หิ่งห้อย *Pyrocoelia* sp.

ภาพที่ 6 หิ่งห้อย *Asymmetricata circumdata* (Motschulsky)

ภาพที่ 7 หิ่งห้อย *Luciola aquatilis* Thancharoen

การผลิตแอนติซีรัมของไวรัส *Pineapple mealybug wilt-associated virus*-1 สาเหตุโรคเหี่ยวสับปะรดโดยใช้ระบบเซลล์แบคทีเรีย

Antiserum production of *Pineapple mealybug wilt-associated virus*-1causing pineapple wilt disease by bacterial cell system

วันเพ็ญ ศรีทองชัย[1/] ศรีเมฆ ชาวโพงพาง[2/] กาญจนา วาระวิชะนี[1/]

[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]ภาควิชาโรคพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

รายงานความก้าวหน้า

นำใบสับปะรดที่เป็นโรคเหี่ยวมาแยกสกัดอาร์เอ็นเอโดยใช้ชุดสกัดอาร์เอ็นเอสำเร็จรูป (MasterPure™RNA Purification Kit) แล้วนำไปเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค RT-PCR โดยใช้ไพรเมอร์จากส่วนของยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคของเชื้อไวรัส PMWaV-1 ได้แก่pet101_PMWaV1F (5'CACCATGGCTGATTCGAGCAAACAAAAACAAC3') และ pet101_PMWaV1R (5'TTTG CGTCCACCCATAAAGATGTGCG3') สังเคราะห์ ได้ชิ้นของดีเอ็นเอ ขนาด 771 คู่เบส จากนั้นนำไปโคลนเข้าสู่ เวคเตอร์ pET 101/D-TOPO® (Invitrogen) และคัดเลือกเฉพาะโคลนที่มีชิ้นดีเอ็นเอที่ใส่เข้าไปใน vector นำมาทำให้บริสุทธิ์โดยวิธี Miniprep แล้วส่งไปตรวจสอบลำดับเบส พบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์ 771 คู่เบส ขณะนี้กำลังดำเนินการคัดเลือกโคลนที่สามารถสังเคราะห์โปรตีนได้ในเซลล์ของ *E. coli* ในอาหาร 2XYT ที่เติมสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร- และใช้สาร Isopropyl-β-D thiogalactopyranoside (IPTG) ในการชักนำให้เกิดการสังเคราะห์โปรตีน

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-03-01-01-54

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-1 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 และนำไปฉีดกระตุ้นกระต่ายทดลองเพื่อผลิตแอนติซีรัมที่มีประสิทธิภาพสูงในการตรวจเชื้อไวรัสสาเหตุโรค

ฉะนั้นควรพัฒนาวิธีการผลิตแอนติซีรัมของ PMWaV-1 โดยอาศัยเทคโนโลยีชีวภาพ ได้แก่ การโคลนยีน และนำมาเพิ่มปริมาณโปรตีนของเชื้อในเซลล์แบคทีเรีย ก่อนนำไปฉีดเข้ากระต่าย เพื่อให้ได้แอนติซีรัมที่มีประสิทธิภาพสูงสำหรับใช้ในการคัดเลือกหน่อพันธุ์ปลอดโรคเพื่อนำไปปลูกในปริมาณมาก

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ต้นสับปะรดที่เป็นโรคเหี่ยวที่เกิดจากไวรัส PMWaV-1
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 ที่มีความจำเพาะต่อโปรตีนใน ribosome ของ ไวรัสสาเหตุของโรคเหี่ยวสับปะรด (PMWaV-1) ได้แก่

pet101_PMWaV1F 5’ATGGCTGATTCGAGCAAACAAAAACAAC 3’

pet101_PMWaV1R 5’TTTGCGTCCACCCATAAAGATGTGCG3’

เพื่อนำไปใช้ในการเพิ่มปริมาณของชิ้นดีเอ็นเอ ในกระบวนการ cloning เข้าสู่ vector

1.2 การแยกสกัดอาร์เอ็นเอของของไวรัสจากใบสับปะรด

โดยใช้ชุดสกัดสำเร็จรูป (MasterPure™ RNA Purification Kit ของบริษัท EPICENTRE)

1. เก็บตัวอย่างพืช 1 – 5 มิลลิกรัม ใช้ทำได้ทันที หรือจะแช่เก็บที่ – 70 °ซ
2. ดูด Proteinase K (50 ไมโครกรัม/ไมโครลิตร) 1 ไมโครลิตร ทำให้เจือจางใน 300 ไมโครลิของ Tissue and Cell Lysis Solution (1 ตัวอย่าง) ใส่ 5 ไมโครลิตร ในหลอด 1.5 มิลลิลิตร
3. บดตัวอย่างพืชใน ไนโตรเจนเหลว และเก็บใส่หลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร
4. เติมสารละลาย Tissue and Cell Lysis Solution ซึ่งผสมกับ Proteinase K แล้ว (ข้อ 2) 300 ไมโครลิตร และผสมให้เข้ากัน
5. นำไปบ่มที่ 65 °ซ นาน 15 นาที (ผสมให้เข้ากันโดยใช้ Vortex ทุกๆ 5 นาที) นำสารละลายเซลล์พืชที่ได้มาแช่ในน้ำแข็ง นาน 3 – 5 นาที

6. เติม MPC Protein Precipitation Reagent 175 ไมโครลิตร. ในสารละลายของ RNA ของเซลล์พืช 300 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้ Vortex นาน 10 วินาที
7. นำมาปั่นที่ 10,000 รอบ/นาที นาน 10 นาที
8. ทิ้งตะกอน และเก็บส่วนใสใส่หลอดใหม่
9. เติม Isopropanal 500 ไมโครลิตร โดยต้องเย็นจัดโดยแช่ที่ -20 °ซ แล้วพลิกหลอดขึ้นลง 30-40 ครั้ง
10. นำสารละลายข้อ 9 มาปั่น 10,000 รอบ/นาที ที่ 4°ซ นาน 10 นาที
11. ล้างตะกอนด้วย 75 % ethanol 500 ไมโครลิตร แล้ว quick spin (ล้าง 2 ครั้ง)
12. dry ตะกอนใน 37°ซ นานประมาณ 2 ชั่วโมง
13. ละลายตะกอนของ RNA ที่ได้ใน TE buffer 15-20 ไมโครลิตร

1.3 การเพิ่มปริมาณ cDNA ด้วยเทคนิค RT-PCR

นำอาร์เอ็นเอของเชื้อที่ได้จากการแยกสกัด มาทำปฏิกิริยา RT-PCR โดยใช้ไพรเมอร์ ที่มีความจำเพาะกับไวรัส PMWaV1 (Sether and Hu, 2002a) ได้แก่

pet101_PMWaV1F	5'CACCATGGCTGATTCGAGCAAACAAAAACAAC 3'
pet101_PMWaV1R	5'TTTGCGTCCACCCATAAAGATGTGCG3'

โดยใช้ปฏิกิริยาดังนี้

RT-PCR Profile

20 ul. Reaction (ใช้ชุดของ Bioneer)

dH_2O	6 ไมโครลิตร
Primer R (100 พิโคโมล)	1 ไมโครลิตร
RNA template	5 ไมโครลิตร
บ่มที่ 95 °ซ 3 นาที แล้วแช่บนน้ำแข็ง.อีก 5 นาที จากนั้นเติม	
5X RT buffer	4 ไมโครลิตร
10 mM dNTP	1 ไมโครลิตร
DTT	2 ไมโครลิตร
บ่มที่ 37 °ซ 10 นาที แล้วเติม	
M-MLV Reverse Transcriptase	1 ไมโครลิตร
บ่มที่ 45 °ซ 50 นาที	

PCR Profile

50 ul. Reaction

5x Phusion® HF buffer	10.0 ไมโครลิตร
10 uM dNTPs	2.0 ไมโครลิตร
Primer F (10 uM)	2.0 ไมโครลิตร

Primer R (10 uM)	2.0	ไมโครลิตร
dH_2O	32.5	ไมโครลิตร
Template (ที่ได้จาก RT-PCR)	2.0	ไมโครลิตร
Phusion® Hot Start II DNA Polymerase (2 Unit/ul)	0.5	ไมโครลิตร

นำหลอดที่ผสมปฏิกิริยามาใส่ในเครื่อง Thermal cycler เพื่อสังเคราะห์ cDNA ตาม program ดังนี้

95 °ซ	5 นาที	
95 °ซ	45 วินาที	} 35 รอบ
58 °ซ	45 วินาที	
72 °ซ	1 นาที	
72 °ซ	10 นาที	
25 °ซ	15 นาที	

ตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยา PCR ด้วย 1.5 % 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 เวคเตอร์ pET 101/D-TOPO® (Invitrogen) 1 ไมโครลิตร และ salt solution 1 ไมโครลิตร จากนั้นเติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2 ไมโครลิตร ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 10 นาที จากนั้นเติม competent cell 50 ไมโครลิตร (*E. coli* , DH5α) แช่ในน้ำแข็งนาน 30 นาที แล้วทำการ heat shock cell โดยการแช่หลอดในน้ำที่มีอุณหภูมิ 42 °ซ นาน 90 วินาที ก่อนย้ายไปแช่บนน้ำแข็งทันที อีก 5 นาที เติมอาหาร 2XYT ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ก่อนนำไปเขย่าที่ 37°ซ นาน 60 นาที ดูดมา 50 ไมโครลิตร และเทแผ่ (spread) ลงบนอาหารแข็ง 2XYT Agar (ที่มี ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร) บ่มที่ 37 °C ข้ามคืน

1.5 การสกัดโคลนของพลาสมิด

คัดเลือกเฉพาะโคโลนีสีขาวบนอาหารแข็ง 2XYT โดยใช้ไม้จิ้มฟันที่ปราศจากเชื้อ แล้วนำมาเลี้ยงในอาหารเหลว 2XYT (มี ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร ผสมอยู่) เขย่าด้วยความเร็ว 170 รอบต่อนาที ที่ 37°ซ ข้ามคืน นำเชื้อที่อยู่ในอาหารเหลว 1 มิลลิลิตร มาหมุนเหวี่ยงที่ 10,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที เก็บตะกอนที่ได้มาละลายใน Solution I (25 mM Tris HCl pH 8.0, 50 mM glucose และ 10 mM EDTA) 200 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วเติม Solution II (0.2 N NaOH, 1% SDS) 400 ไมโครลิตร เขย่าหลอดก่อนที่จะเติม Solution III (3 M potassium acetate pH 5.2) 3000 ไมโครลิตร และ chloroform : isoamyl alcohol (24 :1) 200 ไมโครลิตร เขย่าและแช่บนน้ำแข็ง 10 นาที แล้วนำไปหมุนเหวี่ยง ที่ 14,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที นำส่วนของน้ำใสมา

เติมด้วยหนึ่งเท่าโดยปริมาตรของ isopropanol และนำไปหมุนเหวี่ยง ที่ 14,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ล้างตะกอนที่ได้ด้วย 70% ethanol และหมุนเหวี่ยงอีกครั้งที่ความเร็วรอบและเวลาเท่าเดิม แล้วละลายตะกอนพลาสมิดด้วยน้ำ (มี RNase 2 % ผสมอยู่) 50 ไมโครลิตร ตั้งไว้ที่ 37 °ซ นาน 30 นาที หลังจากนั้นนำพลาสมิดที่สกัดได้ส่งตรวจเพื่อหาลำดับนิวคลีโอไทด์

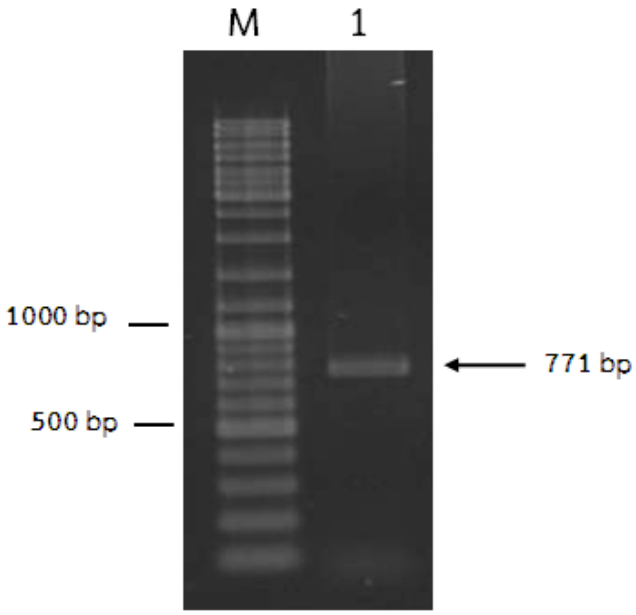
เวลาและสถานที่ ระยะเวลา ตุลาคม 2553 - กันยายน 2555
สถานที่ กลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การโคลนยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคไวรัส (coat protein gene, CP)

ปริมาณอาร์เอ็นเอของใบสับปะรดที่เป็นโรคเหี่ยวที่เกิดจากไวรัส PMWaV-1 ที่ได้จากการสกัด และเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค RT-PCR ใช้ไพรเมอร์ pet101_PMWaV1 และ pet101_PMWaV1R จากการตรวจวิเคราะห์ขนาดของดีเอ็นเอ ด้วย agarose gel electrophoresis พบ แถบดีเอ็นเอขนาด 771 คู่เบส (bp) (ภาพที่ 1)

การตรวจสอบโคลนต่างๆของพลาสมิด pET 101/D-TOPO® (Invitrogen, ขนาด 5753 bp) หลังต่อเชื่อมกับ PCR product (771 คู่เบส) โดยการตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นดีเอ็นเอของเชื้อไวรัส ด้วยเครื่อง Sequencer พบว่าเป็นลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคของไวรัส PMWaV-1(ภาพที่ 2)



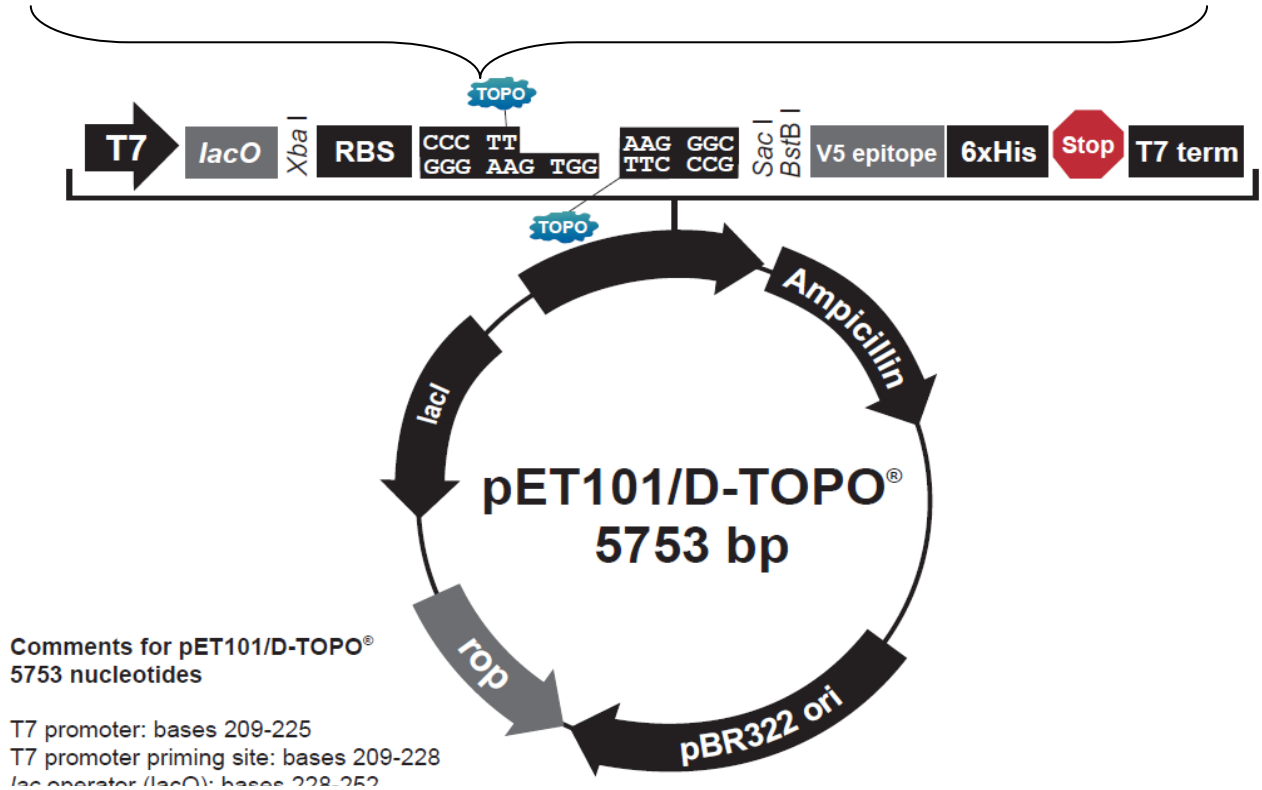
ภาพที่ 1. การเพิ่มปริมาณยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคไวรัส โดยใช้ไพรเมอร์ pet101_PMWaV1 และ pet101_PMWaV1R วิเคราะห์ขนาดดีเอ็นเอด้วย agarose gel electrophoresis

M = ดีเอ็นเอมาตรฐาน (1 kb Ladder, Fermentas)

1 = ดีเอ็นเอของยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคไวรัส จากสับปะรดที่เป็นโรคเหี่ยว

ภาพที่ 2. ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคไวรัส (771 bp) ที่เชื่อมต่อเข้าสู่พลาสมิด pET 101/D-TOPO®

ATGGCTGATTCGAGCAAACAAAAACAACCTGAACATGCTGACTCTGGGCCTAAGACAG
TGGAAGACCAAGTCAAGGAAATAATGAACCTACCTGTGCCGGGAGGTAGGACTACTG
TGTCGACGTTTGAAGATTTGATAGCAGCCGAAAATGCTATAATTGATTTCACCAAGGTT
GATGTACCACGCATGATTAACGTTCCGATCCCAGGAATAGTTACTAATGCACACAAGG
TGATAGGATCCAAAGCTCTGTGGGAGTTGGGTAAATCGAAGGGTATATCAGAATCGGC
GAAACACATGATCCAATTTTTGATGCAATCTTTCCAAGATATGTGCACCTTTTCTACATC
ACCGAAAGTTTCGGCGACTCAGAACTACTCCACCACAGCTAAGTATGATGGTAAAGAT
GTTAACGTCACGCACGAGGAGATCAGAATTGCTTTGAGCAACTCACTATCCAATTTGG
GATACGATAATCCTATGAGACAGTTTGGGAGAGGTTTTACTTCCACAATTGTTCAAGGA
CTGAGTTCTGGGAAGTTGGTGGTTAACACTAGGATATGTACTAAGAACGGAGTACCGA
GGAATTATTACTCGTTCTATCCAGATTGCTTACACGTAGAAGCCAGAGTACACGGTGAT
GATGCAGCGTTGGTAAGTGAGTTAGCCAGAATGGTAGCCATAAACAGAGCAAACTCG
AGTGGTTCTGGCGAACACAACGTCTTTGAGAAGACGGCTGTGTCCCCGCACATCTTTA
TGGGTGGACGCAAA



สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

นำใบสับปะรดที่เป็นโรคเหี่ยวมาแยกสกัดอาร์เอ็นเอโดยใช้ชุดสกัดอาร์เอ็นเอสำเร็จรูป (MasterPure™RNA Purification Kit) แล้วนำไปเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค RT-PCR โดยใช้ไพรเมอร์จากส่วนของยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคของเชื้อไวรัส PMWaV-1 ได้แก่pet101_PMWaV1F (5'CACC ATGGCTGATTCGAGCAAACAAAAACAAC 3') และ pet101_PMWaV1R (5'TTTGCGTCCACCC ATAAAGATGTGCG3') สังเคราะห์ ได้ชิ้นของดีเอ็นเอ ขนาด 771 คู่เบส จากนั้นนำไปโคลนเข้าสู่เวคเตอร์ pET 101/D-TOPO® (Invitrogen) และคัดเลือกเฉพาะโคลนที่มีชิ้นดีเอ็นเอที่ใส่เข้าไปใน vector นำมาทำให้บริสุทธิ์โดยวิธี Miniprep แล้วส่งไปตรวจสอบลำดับเบส พบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์ 771 คู่เบส ขณะนี้กำลังดำเนินการคัดเลือกโคลนที่สามารถสังเคราะห์โปรตีนได้ในเซลล์ของ *E. coli* ในอาหาร 2XYT ที่เติมสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร- และใช้สาร Isopropyl-β-D thiogalactopyranoside (IPTG) ในการชักนำให้เกิดการสังเคราะห์โปรตีน

เอกสารอ้างอิง

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

การผลิตแอนติซีรัมของเชื้อไวรัส *Bean yellow mosaic virus*

Antiserum production of *Bean yellow mosaic virus*

สิทธิศักดิ์ แสไพศาล วันเพ็ญ ศรีทองชัย

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

รายงานความก้าวหน้า

การจำแนกชนิดไวรัส พบอาการต้นแกลดิโอลัสมีอาการใบด่างเป็นแถบ ใบเล็กลง มีขีดประขาวกระจายทั้งใบและมีอาการแคระแกร็น ช่อดอกเล็กลง มีอาการดอกด่างขาว ก้านช่อดอกสั้น และเมื่อตรวจสอบดูเชื้อสาเหตุของโรคด้วยกล้องจุลทัศน์อีเล็กตรอน พบอนุภาคของเชื้อไวรัสที่มีรูปร่างเป็นท่อนยาวคด ที่มีความยาวประมาณ 750 nm ในส่วนของการถ่ายทอดโรคและพืชทดสอบนั้นใช้ต้น *Chenopodium Amaranticolor* และ *Chenopodium quinoa* หลังจากปลูกเชื้อ แสดงอาการเป็นจุดแผลสีเหลืองขอบสีแดง ส่วนต้นแกลดิโอลัสแสดงอาการด่างขีดประขาวที่ใบอ่อน หลังจากปลูกเชื้อแล้วประมาณ 1 เดือน เชื้อนี้ถ่ายทอดได้ด้วยน้ำคั้นผ่านทางบาดแผลและมีเพลี้ยอ่อน เช่น *Myzus circumflexus, Aphis fabae* เป็นแมลงพาหะ ในส่วนของการแยกเชื้อไวรัสบริสุทธิ์และผลิตแอนติซีรัม และการทดสอบคุณภาพของแอนติซีรัมด้วยวิธี NCM-ELISA นั้นยังอยู่ในระหว่างการดำเนินการ

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-03-01-02-54

คำนำ

แกลดิโอลัสมีมากกว่า 150 ชนิด มีทั้งกลิ่นหอมและไม่มีกลิ่น ปัจจุบันมีพันธุ์ที่ปลูกเป็นการค้าเกือบ 3,000 พันธุ์ สำหรับพันธุ์ที่ปลูกในประเทศไทยไม่แน่นอน เพราะได้มีการสั่งพันธุ์ แกลดิโอลัสใหม่ ๆ เข้ามาปลูกอยู่เสมอ เพราะต้องการให้ตรงกับความนิยมของผู้ใช้ และคุณภาพ ของพันธุ์ที่ได้จากการเก็บหัวพันธุ์มาปลูกจะลดลง แกลดิโอลัสจัดเป็นไม้ดอกเมืองหนาว ที่มีการผลิตเป็นการค้ามาไม่นาน ตลาดยังไม่กว้างขวาง ราคาของดอกแกลดิโอลัสจะแตกต่างไปตามคุณภาพ ซึ่งเป็นไปตามขนาดความยาวของก้านดอกเป็นสำคัญ ราคาเฉลี่ยจะอยู่ระหว่าง 1-8 บาท ต่อช่อดอก ปัจจุบันแกลดิโอลัสหรือซ่อนกลิ่นฝรั่ง เป็นไม้ตัดดอกที่ได้รับความนิยมสูงมีสีสันสะดุดตา เช่น สีขาว เหลือง ชมพู แดง ม่วง ส้ม มีช่อดอกยาว เหมาะสำหรับปลูกเพื่อตัดดอกเป็นการค้า เพราะสามารถตัดช่อดอกได้ตั้งแต่ดอกยังไม่บาน และปัจจุบันนี้พื้นที่การปลูกแกลดิโอลัสส่วนใหญ่จะเป็นบริเวณจังหวัดทางภาคเหนือ เช่น เชียงใหม่ เชียงราย และในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น อ.ปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา และในพื้นที่บริเวณเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ ส่วนใหญ่แกลดิโอลัสที่ปลูกจะส่งมาขายยังตลาด ในกรุงเทพมหานคร และส่งไปขายยังตลาดต่างประเทศอีก เช่น ซาอุดิอาระเบีย แคนาดา ซึ่งประสบปัญหาเกี่ยวกับดอกไม่สม่ำเสมอ ค่าขนส่งสูง ปลายช่อดอกโค้งงอ รวมทั้งปัญหาของโรคและแมลงที่ทำให้คุณภาพดอกลดลง โดยเฉพาะโรคใบด่างดอกด่างที่เกิดจากเชื้อไวรัส *Bean yellow mosaic virus* (BYMV) ซึ่งเชื้อสามารถติดมากับหัวพันธุ์ที่นำเข้า รวมทั้งมีเพลี้ยอ่อนและเพลี้ยไฟเป็นแมลงพาหะ ทำให้เกิดการระบาดได้มากและรวดเร็ว ส่งผลโดยตรงต่อคุณภาพของดอกแกลดิโอลัส โดยจะมีอาการปรากฏชัดบนใบและดอก โดยจะเห็นรอยด่างเป็นทางทำให้ดอกไม่มีคุณภาพและไม่สมบูรณ์

การพัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อไวรัสที่ติดมากับหัวพันธุ์ จึงจัดว่ามีความจำเป็นเพื่อป้องกันการระบาด และเพื่อสนับสนุนการการผลิตแกลดิโอลัสให้มีคุณภาพ ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยในครั้งนี้เพื่อวิจัยและพัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อไวรัส *Bean yellow mosaic virus* (BYMV) ที่ติดมากับหัวพันธุ์แกลดิโอลัส ให้มีประสิทธิภาพ รวดเร็ว ถูกต้องและแม่นยำ เพื่อให้ได้หัวพันธุ์ที่มีคุณภาพและปลอดโรค และเพื่อส่งเสริมการผลิตแกลดิโอลัสให้มีคุณภาพ เป็นการพัฒนาคุณภาพการผลิตในประเทศไทยให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- ตัวอย่างแกลดิโอลัสเป็นโรคใบด่าง
- กล้องจุลทัศน์อีเล็กตรอน, ultracentrifuge, เครื่อง Thermal Cycler
- กระต่ายทดลอง และกรงเลี้ยงกระต่าย

วิธีการ

ขั้นตอนที่ 1 การจำแนกชนิดไวรัส เชื้อสาเหตุ Bean yellow mosaic virus

ลักษณะอาการของโรค

ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างแกลดิโอลัสที่แสดงอาการใบด่างมาศึกษา โดยทำควบคู่ไปกับการตรวจสอบดูเชื้อสาเหตุของโรคด้วยกล้องจุลทัศน์อีเล็กตรอน และทดลองปลูกเชื้อบนต้นแกลดิโอลัสที่ปลูกจากหัวพันธุ์ที่ได้รับการตรวจสอบแล้วว่าปลอดโรคไวรัส เก็บต้นไว้ ตรวจดูอาการติดต่อกันเป็นเวลา 1 เดือน

ศึกษาลักษณะสัณฐานของเชื้อไวรัส

สำรวจและเก็บตัวอย่างแกลดิโอลัส นำมาตรวจสอบด้วยกล้องจุลทัศน์อิเล็กตรอน ด้วยการบดตัวอย่างเป็นโรคในสารละลาย phosphotungstic acid 2% pH 6.8 ใช้แผ่นกริดที่เคลือบหน้ากริดด้วย colloidient และเคลือบทับด้วยผง carbon บริสุทธิ์ ขนาด 300 mesh วางผึ่งจนกริดที่จับตัวอย่างแห้งแล้วจึงนำไปตรวจสอบอนุภาคไวรัสด้วยกล้องจุลทัศน์อิเล็กตรอน

ศึกษาการถ่ายทอดโรคและพืชทดสอบ

นำน้ำคั้นของตัวอย่างแกลดิโอลัส มาปลูกเชื้อลงบนต้นแกลดิโอลัสและพืชทดสอบ *Chenopodium amaranticolor, C. quinoa,* ที่มีใบ 3-5 ใบ โดยบดตัวอย่างเป็นโรคในสารละลาย 0.1 M Sodium phosphate buffer pH 7.5 ที่มี 0.2% Sodium sulphyte แล้วไปทาลงบนใบพืชแต่ละชนิดที่โรยผง celite ตรวจอาการของโรคเป็นเวลา 1-3 เดือน ในกรงกันแมลง

ขั้นตอนที่ 2 การแยกเชื้อไวรัสบริสุทธิ์และผลิตแอนติซีรัม

บดตัวอย่างใบ Chenopodium ที่เป็นโรคจำนวน 100 gm ใน blander กับ 300 ml ของ 0.5M sodium citrate pH 6.5 ที่มี 5 mM EDTA และ 0.5 thioglycollic acid บดในสภาพเย็น กรองกากพืชทิ้งไปด้วยผ้ากรอง นำน้ำคั้นผสมกับ 25% chloroform ให้เข้ากันดี ตกตะกอนเอาเศษพืชออกไปด้วยการหมุนเหวี่ยงที่ 3,000 g นาน 10 นาที นำน้ำใสส่วนบนมาเติม polyethyleneglycol (mol.wt. 6,000) จำนวน 10% ของของเหลวโดยกวนให้เข้ากันดีที่ 4°C นาน 1 ชั่วโมงแล้วนำไปหมุนเหวี่ยงตกตะกอนด้วยความเร็ว 5,000 g นาน 30 นาที ละลายตะกอนด้วย 50

ml ของ 5mM soidum borate buffer ที่มี 0.5 mM EDTA pH 9.0 แล้วเติม Triton X-100 ลงไป 2% ของของเหลวกวนให้เข้ากันนาน 30 นาที หมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 g นาน 15 นาที นำสารละลายข้างบนมาหมุนเหวี่ยง ที่ความเร็วสูง เพื่อตกตะกอนไวรัสลงมาที่ความเร็ว 77,000 g นาน 1½ ชั่วโมงละลายตะกอนด้วย 2 ml ของ 5 mM EDTA pH 9.0 นำมาผ่านวิธีการ sucrose density gradient ที่มีน้ำตาลที่ 10-40% แล้วหมุนเหวี่ยงที่ 74,000 g นาน 1½ ชั่วโมง ดึงแถบสีขาวของไวรัสออกจากชั้นของน้ำตาลแล้วเจือจางด้วย 5 mM EDTA pH 9.0 นำมาตกตะกอนไวรัสด้วยการหมุนเหวี่ยงที่ 77,000 g นาน 2 ชั่วโมง ละลายตะกอนของไวรัส นำไปวัด spectrophotometer เพื่อคำนวณความเข้มข้นของไวรัสและตรวจสอบขนาดอนุภาคของเชื้อด้วยกล้องจุลทัศน์อิเล็กตรอน

การฉีดกระต่ายและเจาะเลือดเก็บแอนติซีรัม

แยกเชื้อ Bean yellow mosaic virus ด้วยวิธีดังกล่าวข้างต้น สัปดาห์ละ 1 ครั้งเป็นเวลา 3 สัปดาห์ แล้วนำไปฉีดกระต่าย โดยละลาย BYMV เป็น 1 ml ผสมกับ Freund's incomplete adjuvant 1 ml ให้เข้ากันดี แล้วจึงฉีดเข้ากล้ามเนื้อสะโพกของกระต่ายสลับกันสัปดาห์ละข้าง 3 สัปดาห์ หลังจากฉีดครั้งสุดท้ายแล้ว 20 วัน เจาะเลือดติดต่อกันสัปดาห์ละครั้ง จำนวน 6 สัปดาห์ แยกเม็ดเลือดแดงออกทิ้งไปแล้วเก็บแอนติซีรัม โดยวางเลือดกระต่ายไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 ชั่วโมงหรือเก็บในตู้เย็นข้ามคืน แล้วนำมาปั่นหมุนเหวี่ยงแยกเล็ดเลือกแดงทิ้งไป แบ่งใส่หลอดขนาด 1.5 ml แล้วเก็บไว้ที่ -80°C

การเตรียม IgG ของแอนติซีรัม BYMV

การสกัด Immuno gamma-globulin (IgG) และปรับความเข้มข้นของ IgG โดยนำแอนติซีรัมมาผสมให้เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตรา 1:9 แล้วเติม ammonium sulphate ที่อิ่มตัวลงไปในปริมาณที่เท่ากับสารละลายแอนติซีรัมที่เจือจางนี้ แล้วบ่มปฏิกิริยาไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที จึงนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 rpm (รอบต่อนาที) นาน 20 นาที เพื่อตกตะกอนด้วย centrifuge แล้วละลายตะกอนที่ได้ด้วยครึ่งเท่าของ phosphate buffer saline (PBS) แล้ว dialyse ใน PBS 1 ลิตร นาน 4 ชั่วโมง 3 ครั้ง วัดความเข้มข้นของ IgG ด้วย Spectrophotometer ที่ OD 280 nm เพื่อปรับให้ได้ความเข้มข้นของโปรตีนเป็น 1 mg/ml ทดลองตรวจสอบด้วยวิธี NCM-ELISA ตามขั้นตอนในข้อ 1.3 โดยเจือจาง IgG เป็น 1: 500 , 1:1,000 และ 1:2,000 เท่า เตรียมน้ำคั้นพืชเจือจางเป็น 1:10 เท่า

ขั้นตอนที่ 3 การทดสอบคุณภาพของแอนติซีรัมด้วยวิธี NCM-ELISA

ตรวจสอบด้วยวิธี NCM-ELISA

1. แบ่งตัวอย่างใบพืชที่ต้องการตรวจสอบบดละเอียดในถุงพลาสติกด้วย Extraction buffer 1 ml
2. วางรูปแบบของแผ่น NCM ด้วยการทำเครื่องหมายที่ตัวแผ่น NCM หัวท้ายเพื่อเรียงตัวอย่างจาก 1-45 ถึงตัวอย่างสุดท้ายได้ชัดเจนตรงตารางที่เขียนขึ้น
3. แช่แผ่น NCM พร้อมกับวางกระดาษกรองเบอร์ 1 ที่ตัดให้มีขนาดพอดีกับแผ่น NCM แช่ลงใน

TBS นาน 5 นาที

4. คีบแผ่นกระดาษกรองเบอร์ 1 ขึ้นมาพร้อมกับแผ่น NCM ที่ได้แช่ไว้ วางลงบนแผ่นกระดาษกรองเบอร์ 1 แผ่นใหม่ที่แห้งและมีขนาดใหญ่กว่า ใช้ pasture pipet ที่สะอาดรีดแผ่น NCM ให้แนบติดกับกระดาษกรอง
5. หยดตัวอย่างน้ำคั้นของพืช 1-2 หยด หรือประมาณ 25 ul ลงในช่องตารางบนแผ่น NCM ตามรูปแบบที่วางไว้ เมื่อหยดตัวอย่างเสร็จแล้วคีบแผ่น NCM ออกมาวางบนกระดาษสะอาดทิ้งไว้ประมาณ 10-20 นาที (แผ่นตัวอย่างนี้สามารถเก็บใส่ถุงพลาสติกแช่ตู้เย็นไว้ได้นาน 2-3 สัปดาห์)
6. นำแผ่นตัวอย่างที่แห้งแล้วแช่ลงในกล่องสี่เหลี่ยมที่มี blocking solution อยู่ 10 ml (TBS 20 ml +นมพร่องไขมันเนย + 0.8 ml 25% titon X100) แช่นาน 1 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้องหรือประมาณ 27-30°C
7. เท blocking solution ออกใส่ส่วนผสมของ IgG ของ BYMV ใน buffer TBS + 2% นมพร่องไขมันเนยหรือ blocking solution นั้นเอง ในอัตรา 40 ul ต่อ 10 ml TBS + 2% milk แช่นาน 1 ชั่วโมง ในสภาพเช่นเดียวกับข้อ 6
8. ล้างแผ่น NCM ด้วย T-TBS 3 ครั้ง ๆ ละ 3 นาที
9. เทส่วนผสม GAR 140 ul ใน 10 ml TBS+2% นมพร่องไขมันเนย บ่มปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้อง 1 ชั่วโมง เช่นเดียวกับข้อ 6 แล้วล้างเช่นเดียวกับข้อ 8
10. เทส่วนผสม substrate รอดูผลประมาณ 5-30 นาที เมื่อเกิดปฏิกิริยาสีชมพูเข้มตามต้องการแล้ว เท substrate ออกและเทน้ำกลั่นลงแทน เป็นการล้างและหยุดปฏิกิริยา สังเกตุสีที่เกิดขึ้น

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มเดือนตุลาคม 2554 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2555

สถานที่ - ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กทม.

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1 การจำแนกชนิดไวรัส เชื้อสาเหตุ Bean yellow mosaic virus

ลักษณะอาการของโรคและศึกษาลักษณะสัณฐานของเชื้อไวรัส

พบอาการต้นแกลดิออลัสมีอาการใบด่างเป็นแถบ และด่างประขาวด่างเป็นขีดทั่วทั้งต้น ใบเล็กลง และมีอาการแคระแกร็น ช่อดอกเล็กลง ก้านช่อดอกสั้น มีขีดประขาวกระจายทั้งใบและช่อดอกทำให้ดอกเล็กลง มีอาการดอกด่างขาว และเมื่อตรวจสอบดูเชื้อสาเหตุของโรคด้วยกล้องจุลทัศน์อีเล็กตรอน พบอนุภาคของเชื้อไวรัสที่มีรูปร่างเป็นท่อนยาวคด ที่มีความยาวประมาณ 750 nm

ศึกษาการถ่ายทอดโรคและพืชทดสอบ

ต้น *Ch. Amaranticolor* และ *Ch. quinoa* แสดงอาการเป็นจุดแผลสีเหลืองขอบสีแดง หลังจากปลูกเชื้อ ส่วนต้นแกลดิโอลัสแสดงอาการด่างขีดประขาวที่ใบอ่อนหลังจากปลูกเชื้อแล้ว ประมาณ 1 เดือน เชื้อนี้ถ่ายทอดได้ด้วยการปลูกเชื้อด้วยน้ำคั้นผ่านทางแผลที่เกิดจากผง celite และมีแมลงพาหะมากกว่า 20 ชนิด เช่น *Myzus circumflexus, Aphis fabae*

ขั้นตอนที่ 2 และ 3 การแยกเชื้อไวรัสบริสุทธิ์และผลิตแอนติซีรัม และการทดสอบคุณภาพของแอนติซีรัมด้วยวิธี NCM-ELISA นั้นอยู่ในระหว่างการดำเนินการ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการดำเนินงานวิจัยในขั้นตอนที่ 1 ทำให้ได้ข้อมูลเกี่ยวกับโรคใบด่างบนแกลดิโอลัส ที่มีสาเหตุจากเชื้อ Bean yellow mosaic virus ที่ทำให้ต้นแกลดิออลัสมีอาการใบและดอกด่าง ซึ่งอาจมีอาการคล้ายกับเชื้อ CMV ด้วย ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืช ทำให้คุณภาพของดอกไม่ได้มาตราฐาน และเมื่อตรวจสอบดูเชื้อสาเหตุของโรคด้วยกล้องจุลทัศน์อีเล็กตรอน พบอนุภาคของเชื้อไวรัสที่มีรูปร่างเป็นท่อนยาวคด ที่มีความยาวประมาณ 750 nm ซึ่งสามารถถ่ายทอดได้ด้วยแมลงพาหะกว่า 20 ชนิด เช่น *Myzus persicae, Aphis fabae* รวมทั้งเชื้อถ่ายทอดได้ด้วยน้ำคั้นและสามารถติดไปกับหัวพันธุ์ได้ถึง 3% จึงทำให้เกิดการแพร่ระบาดไปได้กว้าง

เอกสารอ้างอิง

สุรภี กีรติยะอังกูร สิทธิศักดิ์ แสไพศาล วิวัฒน์ ภาณุอำไพ เยาวภา ตันติวานิช ปรียพรรณ พงศาพิชญ์. 2551. รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม: โครงการตรวจหา PVY strain และการประเมินความเสียหายของผลผลิตมันฝรั่งจากเชื้อ PVY ในประเทศไทย. กรมวิชาการเกษตร. 42 หน้า.

Gray, S., K. Perry and P. Baldauf. 2003. Report of 2003 Research activities funded by the Maine Potato Board.

McDonald, J.G. and R.P. Singh. 1996. Hostrange, symptomology and serology of isolates of potato virus Y (PVY) that shared properties with both the PVY^{n} and PVY^{O} strain groups.

Singh, R. P., D. L. McLaren, X. Nie and M. Singh. 2003. Possible Escape of a Recombinant Isolate of Potato virus Y by Serological Indexing and Methods of its Detection. Plant Disease Vol. 87 No.6:679-686.

การพัฒนาชุดตรวจสอบแบบ Lateral flow test strip เพื่อตรวจสอบไวรัส *Cucumber mosaic virus*

Development of Lateral flow test strip for detecting *Cucumber mosaic virus*

สิทธิศักดิ์ แสไพศาล[1/] วันเพ็ญ ศรีทองชัย[1/]

[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

สกัดและทดสอบคุณภาพของ IgG ของ CMV เมื่อนำไปตรวจสอบกับตัวอย่างพืชที่เป็นโรค ได้ผลของปฏิกิริยาที่ดีเกิดสีชมพูเข้มบนแผ่น NCM และทำการเตรียมสารละลายแขวนลอยอนุภาคทอง (colloidal gold) ติดสลาก IgG ของ CMV ด้วยอนุภาคทองได้สารละลายแขวนลอยอนุภาคทอง นำมาพ่นลงบนแผ่นวัสดุใยแก้ว ได้แผ่นใยแก้วเคลือบ IgG ของ CMV ติดสลากอนุภาคทอง นำไปทดสอบกับเมมเบรน 7 ชนิด ที่เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาของ CMV พบว่าปฏิกิริยาเกิดได้ดีและมีประสิทธิภาพในเมมเบรน AE 100 ซึ่งให้ปฏิกิริยาของเส้น test line และ control line ได้ชัดเจน และได้ทำการเปรียบเทียบใช้สารละลายบัฟเฟอร์ 7 ชนิด ในการเตรียมตัวอย่างน้ำคั้นพืช พบว่าสามารถใช้ extraction buffer TBS-T บดตัวอย่างพืชและนำไปทดสอบได้ดีเพราะไม่ทำให้เกิดปฏิกิริยาข้ามระหว่างเส้น test line และ control line ซึ่งขณะนี้ยังอยู่ในระหว่างการดำเนินการปรับปริมาณของ gold และปริมาณในการ line เส้น Test line และ Control line ใหม่ เพื่อให้ได้แถบแบนหรือปฏิกิริยาที่ชัดเจนและคมชัดสมบูรณ์มากขึ้น

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-03-01-03-54

คำนำ

จากการที่ประเทศไทยได้เปิดเขตการค้าเสรีกับหลายประเทศภายใต้หลักเกณฑ์ขององค์การการค้าโลก (World Trade Organization: WTO) ในการนำเข้าและส่งออกสินค้าเกษตร ประเทศไทยจำเป็นต้องยึดหลักการตามความตกลงว่าด้วยการบังคับใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures: SPS Agreement) มาตรการ SPS Agreement นี้ยึดหลักการทางวิทยาศาสตร์ และการประเมินความเสี่ยงเพื่อปกป้องสินค้าเกษตรจากศัตรูพืชที่ไม่เคยมีมาก่อน ประเทศไทยมีการนำเข้าพืชจำนวนมากจากทั่วโลกในแต่ละปี และปัจจุบันประเทศไทยได้มีข้อตกลงเปิดการค้าเสรีกับหลายประเทศ มีการวางข้อกำหนดด้านคุณภาพของสินค้า ความปลอดภัยต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อมมาเป็นข้อกำหนดการนำเข้าสินค้า ดังนั้นแต่ละประเทศจำเป็นต้องมีข้อมูลด้านวิชาการที่ชัดเจนเพื่อเป็นข้อมูลสนับสนุนการเจรจาตกลงในเรื่องข้อกำหนดในแต่ละเรื่อง โดยเฉพาะอย่างยิ่งข้อมูลด้านศัตรูพืชและการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืช ที่จะถูกหยิบยกขึ้นมาเป็นเรื่องการกีดกันทางการนำเข้าได้เป็นอย่างดี ในระยะเวลาที่ผ่านมาประเทศไทยได้มีการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งมากกว่าปีละ 8,000-12,000 ตัน จากหลายประเทศ ทั้งจากประเทศออสเตรเลีย สหรัฐอเมริกา สก๊อตแลนด์ เป็นต้น เนื่องจากประเทศไทยไม่สามารถผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่งให้เพียงพอต่อความต้องการของผู้ปลูก แต่จากการนำเข้าหัวพันธุ์จากต่างประเทศมีปัญหาการติดเชื้อไวรัสเข้ามา ได้แก่เชื้อ PVS PVX PVY PLRV ฯลฯ ในภาวะปัจจุบันที่ประเทศไทยต้องสั่งหัวพันธุ์จากประเทศต่างๆ เข้ามาจำนวนมากทุกปี การเร่งรวบรวมและหาข้อมูลของเชื้อไวรัสโดยเฉพาะ PVA,PVM,PVT,PVX,PVS และ PLRV ให้เป็นปัจจุบัน ว่าเชื้อไวรัสทั้ง 6 ชนิดนี้ยังคงมีปรากฏอยู่ในแหล่งปลูกของประเทศไทยหรือไม่ หากปรากฏว่าสำรวจไม่พบว่ามีอยู่ในประเทศไทยอีกเลย นับว่าเป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์ที่จะนำมาแจ้งประกาศใน IPPC ว่าเชื้อเหล่านี้ไม่ได้มีอยู่ในประเทศไทยโดยถิ่นกำเนิด และปัจจุบันได้หายไปจากแหล่งปลูกมันฝรั่งของไทยแล้ว จากการที่ไทยมีข้อกำหนดให้มีการติดเชื้อไวรัสมากับหัวพันธุ์ได้ไม่เกิน 0.1% และฝ่ายวิชาการกักพืชมีการตรวจสอบอย่างเข้มงวดจริงจังทำให้หัวพันธุ์ที่นำเข้ามามีคุณภาพดี ปลอดโรคไวรัสมากขึ้น ดังนั้นการสำรวจให้ได้ข้อมูลของเชื้อทั้ง 6 ชนิดนี้จะเป็นประโยชน์ในการจัดทำเพื่อใช้เป็นข้อมูล ในการจัดทำรายชื่อศัตรูพืช (Pest list) และวิเคราะห์ความเสี่ยง (Pest Risk Analysis) ไวรัสของมันฝรั่งและเป็นข้อมูลในการป้องกันกำจัดเพื่อการผลิตหัวพันธุ์ปลอดเชื้อไวรัส ดังนั้นจึงมีส่วนสำคัญมากเพื่อเป็นการป้องกันการนำเข้าเชื้อไวรัสจากต่างประเทศเข้ามาภายในประเทศไทย จึงควรเร่งรวบรวมและหาข้อมูลของเชื้อไวรัสดังกล่าวว่าพบหรือไม่พบภายในประเทศไทย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน
- เครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูง
- spectrophotometer
- ตู้แช่แข็ง -20 และ -80 ^{0}C
- สารเคมีและวัสดุที่ใช้ในการตรวจสอบด้วยวิธี ELISA
- สารเคมีและวัสดุที่ใช้ในการตรวจสอบด้าน GLIFT
- เครื่องมือใช้ในการ spray IgG, IgG-conjugate ควบคุมปริมาณได้
- เมมเบรน 7 ชนิด

วิธีการ

ขั้นตอนที่ 1 การสกัด Immuno gamma-globulin (IgG) และปรับความเข้มข้น IgG ของ CMV

การสกัด IgG ของ CMV ดำเนินการโดยนำแอนติซีรัมมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตรา 1:9 (แอนติซีรัมต่อน้ำกลั่น) ผสมให้เข้ากันค่อยๆ เติมแอมโมเนียมซัลเฟตที่อิ่มตัวลงไปจำนวนเท่ากับปริมาณสารละลายแอนติซีรัมที่เจือจาง กวนเบาๆขณะเติม บ่มปฏิกิริยาไว้ที่อุณหภูมิ ห้องนาน 30 นาที จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนโปรตีนของ IgG ที่ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที ด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูง (high speed centrifuge) ละลายตะกอนที่ได้ด้วยครึ่งเท่าของ phosphate buffer saline (PBS) แล้ว dialyse ในครึ่งเท่าของ PBS 1 ลิตร ดำเนินการ3 ครั้ง แต่ละครั้งเป็นเวลา 4 ชั่วโมง วัดความเข้มข้นของ IgG ด้วย Spectrophotometer ที่ OD 280 (สุรภีและคณะ, 2532(1); สุรภีและคณะ, 2532(2))

ขั้นตอนที่ 2 การทดสอบคุณภาพของ IgG ของ CMV

ทดสอบคุณภาพของ IgG โดยวิธี Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) ใช้ Nitro cellulose membrane รองรับปฏิกิริยา (NCM-ELISA) โดยเจือจาง IgG ของเชื้อแต่ละชนิดในอัตรา 1:500 ดำเนินการทดสอบโดยมีขั้นตอนดังนี้ คือ

1. บดตัวอย่างพืชที่เป็นโรคจากเชื้อ CMV ให้ละเอียดในถุงพลาสติก ด้วย extraction buffer ในอัตรา 1:10 (ตัวอย่างพืชต่อบัฟเฟอร์) เตรียมน้ำคั้นใบพืชปกติเช่นเดียวกัน
2. นำแผ่น NCM วางแช่ลงใน Tris buffer saline pH 7.5 เป็นเวลา 5 นาที คีบแผ่น NCM ขึ้นวางลงบนกระดาษกรองอีกชุดที่แห้ง รีดแผ่น NCM ให้แนบติดกับกระดาษกรอง

3. หยดบัฟเฟอร์ 1 หยด (หรือ 25 ไมโครลิตร) ในช่องแรก หยดน้ำคั้นพืชปกติ 2 ช่อง และน้ำคั้นพืชเป็นโรค 2 ช่อง หยดตัวอย่าง CMV
4. นำแผ่น NCM ที่หยดตัวอย่างแล้ว แช่ลงในกล่องที่มี blocking solution (TBS 20 มิลลิลิตร + 0.4 กรัม non fat milk+0.8 มิลลิลิตร triton X-100) แช่เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง
5. คีบแผ่น NCM ตัวอย่าง CMV แช่ลงในส่วนผสม IgG ของ CMV ตามลำดับ IgG เจือจาง 1:500 ใน buffer TBS+2% non fat milk 5 มิลลิลิตร แช่เป็นเวลา 30 นาทีที่อุณหภูมิห้อง
6. ล้างแผ่น NCM ด้วย TBS-Tween 20 3 ครั้งๆ ละ 3 นาที
7. นำแผ่น NCM แช่ลงใน Goat anti-rabbit IgG-conjugate alkaline phosphatase (SIGMA A-7778) ใน TBS+2% non fat milk 5 มิลลิลิตร บ่มปฏิกิริยาเป็นเวลา 30 นาที
8. เทออกแล้วล้างเช่นเดียวกับ ข้อ 7
9. เทส่วนผสมของสารละลาย substrate ลงใน NCM เขย่าเบาๆ รอดูผลประมาณ 5-30 นาที เมื่อเกิดปฏิกิริยาสีชมพูแล้วเทสารละลาย substrate ทิ้ง ล้างด้วยน้ำกลั่นเพื่อหยุดปฏิกิริยา

ขั้นตอนที่ 3 การเตรียมสารละลายแขวนลอยอนุภาคทอง (Colloidal Gold)

การเตรียมสารละลายแขวนลอยอนุภาคทอง เตรียมจากสารประกอบ $HAuCl_4$ เพื่อให้ได้อนุภาคทอง ที่บริสุทธิ์และมีขนาด 40 นาโนเมตร โดยนำสารละลาย 1 เปอร์เซ็นต์ของ gold chloride ที่ต้มเดือดแล้วมาเติม sodium citrate ทำให้เย็นลง นำไปวัดค่า OD ที่ 530 ปรับให้ได้เท่ากับ 0.5 (Hampton *et al.*, 1990) นำสารละลายทองแขวนลอยไปใช้ในการติดสลาก (conjugate หรือ labeling) IgG ของ CMV ต่อไป

ขั้นตอนที่ 4 การติดสลาก IgG ของ CMV ด้วยอนุภาคทอง

นำ IgG ของ CMV จำนวน 2 มิลลิลิตร เติมลงในสารละลายทองแขวนลอยที่เตรียมไว้จำนวน 200 มิลลิลิตร กวนเบาๆด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า (magnetic stirrer) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้องแล้วเติมสารละลาย bovine serum albumin (BSA) ที่เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 200 ไมโครลิตร กวนเบาๆ อีก 1 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 9,000 รอบต่อนาที นาน 40 นาที เพื่อตกตะกอน IgG ติดสลากด้วยอนุภาคทอง (gold particle labeled IgG) แล้วละลายตะกอนด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ให้มีความเข้มข้นของสารละลายเป็น 0.5 ที่ OD 540 นำไปพ่นลงบนแผ่นวัสดุใยแก้ว (fiber glass) แยกกันในปริมาณ 1.5 ไมโครลิตรต่อเซนติเมตร แล้วนำไปอบแห้งในตู้อบควบคุมอุณหภูมิ (incubator) 37 °ซ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

ขั้นตอนที่ 5 การทดสอบคัดเลือกชนิดของเมมเบรนที่เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาของ CMV บนเส้น test line

ในการวิจัยการผลิตชุด GLIFT kit ของ CMV ได้ทดลองใช้เมมเบรน 7 ชนิดคือ

1. เมมเบรน S&S AE 100
2. เมมเบรน S&S AE 99
3. เมมเบรน S&S AE 98 Fast
4. เมมเบรน Unisart CN 95
5. เมมเบรน Unisart CN 140
6. เมมเบรน Millipore HF 13504
7. เมมเบรน Prisma 60

ใช้เครื่องพ่นสารละลายควบคุมปริมาณ ทำการพ่น IgG ของ Goat anti-rabbit (GAR) โดยใช้ GAR ที่เจือจาง 1:3 ปริมาณ 1 ไมโครลิตรต่อเซนติเมตร เป็นเส้น control line ใช้ IgG ของ CMV พ่นเป็น test line ในปริมาณ 1.0 ไมโครลิตรต่อเซนติเมตร และ 1.5 ไมโครลิตรต่อเซนติเมตร ตามลำดับ ลงบนแผ่นเมมเบรน โดยเส้นทั้ง 3 มีระยะห่างกัน 0.5 เซนติเมตร เส้นทั้ง 3 เส้นถูกพ่นพร้อม กันและจัดให้อยู่กึ่งกลางของแผ่น NCM ที่มีความกว้าง 2.5 เซนติเมตร นำแผ่นที่พ่น IgG แล้วไปอบที่อุณหภูมิ 37 $^{\circ}$C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ก่อนนำมาทดสอบ (เส้น control line เป็นเส้นที่มีไว้ตรวจสอบว่าการไหลของสารละลายทั้งหมดในชุดตรวจสอบมีความสมบูรณ์ โดยปรากฏเป็นเส้นสีแดงเกิดจากปฏิกิริยาของ GAR กับ IgG ที่ผลิตมาจากกระต่ายและติดสลากอนุภาคทอง)

ขั้นตอนที่ 6 การเปรียบเทียบสารละลายบัฟเฟอร์ในการเตรียมตัวอย่างน้ำคั้นพืช

ทดลองใช้ buffer 7 ชนิด ในการเตรียมตัวอย่างพืชในการตรวจสอบโรคไวรัสของพืช

1. PBS
2. PBS-T
3. TBS
4. TBS-T
5. Ext-Agdia
6. Ext-ELISA
7. Ext-Buffer

ขั้นตอนที่ 7 ทดสอบประสิทธิภาพความไว (sensitivity) ในการตรวจสอบเชื้อไวรัส CMV

การทดสอบประสิทธิภาพความไว (sensitivity) ของ GLIFT kit ในการตรวจสอบเชื้อ CMV ในอัตราความเข้มข้นต่างๆ ด้วยการเจือจางน้ำคั้นพืชเป็นโรค ในอัตรา 1:10 1:100 1:200 1:500 1:1,000 และ 1:2,000 แล้วหยดทดสอบเท่าๆ กัน อ่านผลหลังหยดตัวอย่างแล้วประมาณ 5 นาที

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มเดือนตุลาคม 2554 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2556

สถานที่ - ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กทม.

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1 การสกัด Immuno gamma-globulin (IgG) และปรับความเข้มข้น IgG ของ CMV และ
ขั้นตอนที่ 2 การทดสอบคุณภาพของ IgG ของ CMV

ผลในขั้นตอนที่ 1 และ 2 การสกัดและทดสอบคุณภาพของ IgG ของ CMV ได้ IgG ของ CMV วัดความเข้มข้นของ IgG ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ OD^{280} เท่ากับ 11.2 ปรับค่า IgG ของ CMV ให้ได้เท่ากับ 1.4 ซึ่งมีค่าความเข้มข้นของโปรตีนเป็น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อนำ IgG ของ CMV ที่ปรับ OD^{280} เท่ากับ 1.4 ไปตรวจสอบกับตัวอย่างพืชที่เป็นโรคได้ผลของปฏิกิริยาที่ดีเกิดสีชมพูเข้มบนแผ่น NCM สามารถนำไปใช้ผลิตชุดตรวจสอบได้

ขั้นตอนที่ 3 การเตรียมสารละลายแขวนลอยอนุภาคทอง (Colloidal Gold) และ
ขั้นตอนที่ 4 การติดสลาก IgG ของ CMV ด้วยอนุภาคทอง

ผลในขั้นตอนที่ 3 และ 4 การเตรียมสารละลายแขวนลอยอนุภาคทอง (colloidal gold) และการติดสลาก IgG ของ CMV ด้วยอนุภาคทองได้สารละลายแขวนลอยอนุภาคทอง จากนั้นปรับให้ได้ค่า OD 540 เท่ากับ 0.5 เมื่อกวนสารละลายทองแขวนลอยที่มีอนุภาคขนาด 40 นาโนเมตร ผสมกับ IgG ของ CMV ซึ่งเป็นการติดสลากอนุภาคทองกับ IgG นำมาพ่นลงบนแผ่นวัสดุใยแก้ว แล้วอบแห้งที่ 37 $^{\circ}$C นาน 2 ชั่วโมง จึงได้แผ่นใยแก้วเคลือบ IgG ของ CMV ติดสลากอนุภาคทองที่แห้งพร้อมนำไปประกอบเป็นชุดตรวจสอบ

ขั้นตอนที่ 5 การทดสอบคัดเลือกชนิดของเมมเบรนที่เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาของ CMV บนเส้น test line

ผลในขั้นตอนที่ 5 ทดสอบคัดเลือกชนิดของเมมเบรนที่เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาของ CMV บนเส้น test line จากการทดสอบเมมเบรนทั้ง 7 ชนิด ในการตรวจสอบ CMV พบว่าปฏิกิริยาเกิดได้ดีและมีประสิทธิภาพในเมมเบรน AE 100 และ CN 140 แต่เมมเบรน AE 100 ให้ปฏิกิริยาของ test line ได้ดีและชัดเจนกว่า แต่ต้องทำการปรับปริมาณของ gold ที่เหมาะสมและปริมาณในการ line ใหม่ ทั้งเส้น Test line และ Control line เพื่อให้ได้แถบแบนหรือปฏิกิริยาที่ชัดเจนและคมชัดมากขึ้น เพื่อที่จะให้ชุดตรวจไวรัสสามารถตรวจเชื้อ CMV ได้ดีอย่างสมบูรณ์

ขั้นตอนที่ 6 การเปรียบเทียบสารละลายบัฟเฟอร์ในการเตรียมตัวอย่างน้ำคั้นพืช

ผลในขั้นตอนที่ 6 การเปรียบเทียบใช้สารละลายบัฟเฟอร์ทั้ง 7 ชนิด ในการเตรียมตัวอย่างน้ำคั้นพืช พบว่าการใช้ extraction buffer ของ TBS-T ในการเตรียมตัวอย่างพืชได้ดีเพราะไม่ทำให้เกิดปฏิกิริยากับเส้น test line และแถบเส้น control line มีความคมชัดและอ่านผลได้ชัดเจน

ขั้นตอนที่ 7 ทดสอบประสิทธิภาพความไว (sensitivity) ในการตรวจสอบเชื้อไวรัส CMV

ผลในขั้นตอนที่ 7 ทดสอบประสิทธิภาพความไว (sensitivity) ในการตรวจสอบเชื้อ CMV ของชุดตรวจนั้น ยังอยู่ในระหว่างการดำเนินงาน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ในการทดลองผลิตชุดตรวจสอบแบบ Lateral flow test strip เพื่อตรวจสอบไวรัส *Cucumber mosaic virus* โดยใช้หลักการทางเซรุ่มวิทยา (Serology) ร่วมกับการต่อเชื่อมแอนติซีรัมหรือ IgG ของไวรัส กับอนุภาคของ Colloidal Gold ซึ่งสามารถแสดงผลของปฏิกิริยาให้เห็นได้ชัดเจนเป็นสีแดงส้มนั้น โดยนำ Colloidal Gold มา conjugate กับ IgG เมื่อถูกละลายออกไปจะไปทำปฏิกิริยาทางเซรุ่มวิทยาจับอนุภาคของไวรัสในน้ำคั้นตัวอย่างพืชเป็นโรคแล้วไหลผ่านไปบนแผ่นเมมเบรนชนิด AE 100 และไหลไปพบกับแถบ IgG ของไวรัส ที่ line ไว้ด้านบนของแผ่นเมมเบรน โดยห่างจากปลายด้านล่างของแผ่นเมมเบรนประมาณ 3.5 cm นั้น IgG จึงทำปฏิกิริยากับเชื้อไวรัสที่ถูกพาขึ้นมากับ Gold labeling IgG (Gold labeling IgG)+(Virus)+(IgG) ที่จับติดบนแผ่นเมมเบรน ตรงแนวของแถบ IgG ที่ line ไว้ เมื่อเกิดปฏิกิริยามาจับกันมากๆขึ้น จึงมองเห็นเป็นแถบเส้นตรงของปฏิกิริยาสีแดงส้มของอนุภาคทอง การผลิตชุดตรวจสอบแบบ Lateral flow test strip เพื่อตรวจสอบเชื้อไวรัส CMV นั้นในขั้นตอนการติดสลาก IgG ของ CMV ด้วยอนุภาคทอง ต้องทำการปรับปริมาณของ gold ที่เหมาะสมและปริมาณในการ line ใหม่ ทั้งเส้น Test line และ Control line เพื่อให้ได้แถบแบนหรือปฏิกิริยาที่ชัดเจนและคมชัดมากขึ้น เพื่อที่จะให้ชุดตรวจไวรัสสามารถตรวจเชื้อ CMV ได้ดีอย่างสมบูรณ์ ซึ่งยังอยู่ในระหว่างการดำเนินการ

เอกสารอ้างอิง

สุรภี กีรติยะอังกูร วันเพ็ญ ศรีทองชัย ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และ เยาวภา ตันติวานิช. 2551. รายงานผลวิจัยเรื่องเต็ม “โครงการผลิต GLIFT kit เพื่อวินิจฉัยโรคไวรัสและแบคทีเรียของพืชเศรษฐกิจเชิงพาณิชย์ “ กรมวิชาการเกษตร. 67 หน้า.

Anonymous. 2004. Cucumber Mosaic Virus. 2 p. Available at : www.avrdc.org/pdf/pepper/CMV.pdf

Berke, T.G., L.L. Black, R.A. Morris, N.S. Talekar and J.F. Wang. 2003. Suggested Cultural Practices for Sweet Pepper. 5 p. Available at: http://www.avrdc.org.tw/LC/pepper/swtpepper.pdf

Kim, S. and Je-Kyun Park. 2004. Development of a Test Strip Reader for Lateral Flow Membrane-based Immunochromatographic Assay. *Biotechnol. Bioprocess Eng.* 9: 127-131.

Ninlawan Pichayayothin. 2001. Pacific Biotech Co. Ltd. (Thailand). Website www. Pacific-biotech.com

การวิจัยและพัฒนา การผลิตชุดตรวจสอบเชื้อไวรัส Sugarcane mosaic virus subgroup Maize dwarf mosic virus

Production of

เยาวภา ตันติวานิช[1/] ศิวิไล ลาภบรรจบ[2/]

[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ สถาบันวิจัยพืชไร่

รายงานความก้าวหน้า

เก็บตัวอย่างข้าวโพดที่แสดงอาการใบด่างและมีอาการเตี้ยแคระจากแปลงปลูกข้าวโพด อำเภอตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์ นำมาตรวจสอบไวรัสด้วย เทคนิค Indirect ELISA (DAC-ELISA) นำตัวอย่างที่ตรวจพบไวรัส มาเพิ่มปริมาณบนข้าวฟ่าง โดยบดใบข้าวโพดใน 0.1 M phosphate buffer, pH 7.0 จากนั้นนำน้ำคั้นไปปลูกเชื้อด้วยวิธีกล รอจนใบข้าวฟ่างแสดงอาการด่างให้เห็นชัดเจนจึง การแยกสกัดอาร์เอ็นเอ โดยใช้ RLT buffer (QIAGEN®) ดัดแปลงวิธีของ QIAGEN (2001) ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของอาร์เอ็นเอ เตรียมนำอาร์เอ็นเอที่ได้ไปการเพิ่มปริมาณยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคต่อไป

รหัสโครงการ 03-04-54-04-03-01-04-54

คำนำ

ข้าวโพดเป็นธัญพืชที่สำคัญมากพืชหนึ่งของโลก ผลผลิตประมาณครึ่งหนึ่งใช้เป็นอาหารมนุษย์ นอกจากนั้นใช้เป็นอาหารเลี้ยงสัตว์และอื่นๆ ข้าวโพดมีถิ่นกำเนิดแถบบริเวณประเทศตะวันตก และเป็นที่นิยมบริโภคกันแถบประเทศทวีปอเมริกากลางและใต้ สำหรับประเทศไทย ข้าวโพดเป็นที่รู้จักและนิยมบริโภคในรูปอาหารว่างระหว่างมื้ออาหารมาช้านานแล้ว และยังมีการปลูกข้าวโพดเพื่อการเลี้ยงสัตว์กันมาก จนถึงปัจจุบันข้าวโพดนับเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศอีกด้วย สำหรับข้าวโพดหวานจัดเป็นข้าวโพดที่สำคัญที่สุดในการส่งออก ในปี 2548 ประเทศไทยส่งออกข้าวโพดหวานในรูปแบบต่างๆ เป็นมูลค่ารวม 3,200 ล้านบาท แต่ในช่วงที่ผ่านมาพบว่าเกษตรกรประสบปัญหาความแห้งแล้งร่วมกับการระบาดของไวรัสและโรคใบไหม้แผลใหญ่จากเชื้อรา ทำให้ปริมาณผลผลิตลดลง ไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด ตั้งแต่ปี 2547 เป็นต้นมา มีรายงานว่าพบโรคไวรัสระบาดอย่างหนักจนเกิดความเสียหายไปทั่วพื้นที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์และข้าวโพดหวาน ทั้งในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ปัจจุบันมีการใช้เทคนิคการตรวจสอบสาเหตุโรคหลายชนิดในการตรวจสอบไวรัสนี้ เช่น เทคนิค dot blot hybridization Direct antigen coating ELISA (DAC-ELISA) Tissue blot immunoassay (TBIA) RT-PCR และ Real Time PCR ซึ่งเทคนิคต่างๆ เหล่านั้นอาจต้องใช้เวลาในการตรวจสอบนาน และ/หรือมีค่าใช้จ่ายสูง ไม่สะดวกต่อการปฏิบัติงานในภาคสนามและการให้บริการตรวจสอบผลิตผลเกษตร งานวิจัยนี้จึงได้นำ เทคนิค GLIFT Kit (Gold Labeling IgG Flow Test) มาปรับใช้ในการตรวจสอบไวรัสชนิดนี้ เพื่อให้สามารถตรวจสอบไวรัสได้อย่างมีประสิทธิภาพ สะดวกรวดเร็ว และถูกต้องแม่นยำมากขึ้น

โรคใบด่างแคระข้าวโพดเกิดจากไวรัส Maize dwarf mosaic virus (MDMV) เป็นไวรัสตัวยาวในวงศ์ Potyviridae และเป็น subgroup ของเชื้อ Sugarcane mosaic virus (SCMV) ก่อให้เกิดความเสียหายกับการปลูกข้าวโพดมาก ตั้งแต่ลดการเจริญเติบโต ผลผลิตลดลงและทำให้ต้นข้าวโพดตายในพันธุ์ที่อ่อนแอหรือเมื่อต้นข้าวโพดได้รับไวรัสในขณะที่ยังเป็นต้นอ่อน ลักษณะอาการโดยทั่วไปข้าวโพดจะแสดงอาการเป็นจุดสีซีด (chlorotic spot) บริเวณฐานของใบอ่อนที่แตกใหม่ จากนั้นอาการจะขยายออกไปเป็นขีดสั้นๆ (broken streak) ไปตามแนวของเส้นใบ ถ้าเชื้อเข้าทำลายในระยะกล้าข้าวโพดจะชะงักการเจริญเติบโต เมื่อข้าวโพดแก่ใบเปลี่ยนเป็นสีม่วงหรือม่วงแดง ลักษณะอาการของโรคบางครั้งคล้ายกับโรคราน้ำค้าง แต่ถ้าตรวจสอบเวลาเช้ามืดอาการของโรคใบด่างจะไม่มีผงสปอร์สีขาวๆเกิดขึ้นเหมือนของราน้ำค้าง (Vock, 1978) เชื้อสามารถแพร่ระบาดไปได้โดยอาศัยเพลี้ยอ่อน (Rhopalosiphum maidis) ดูดเชื้อจากต้นเป็นโรคไปถ่ายทอดสู่ต้นปกติ การถ่ายทอดใช้เวลาอันสั้นมาก จากการสำรวจพบว่าหญ้าจอนห์สัน อ้อย ข้าวฟ่าง เป็นแหล่งเพาะเชื้อที่สำคัญของโรคนี้ นอกจากแมลงแล้วเชื้อวิสานี้ยังสามารถถ่ายทอดโดยการสัมผัส น้ำคั้นของพืชเป็นโรค (sap)

แพร่เชื้อติดไปกับเครื่องมือทางการเกษตร โรคนี้มีความสัมพันธ์กับโรคใบด่างอ้อยมาก (sugarcane mosaic virus) (De Leon, 1984)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- เครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูง
- spectrophotometer
- ตู้แช่แข็ง -20 และ -80 ^{0}C
- สารเคมีและวัสดุที่ใช้ในการตรวจสอบด้วยวิธี ELISA
- สารเคมีและวัสดุที่ใช้ในการตรวจสอบด้าน GLIFT
- เครื่องมือใช้ในการ spray IgG, IgG-conjugate ควบคุมปริมาณได้
- เมมเบรน 7 ชนิด

วิธีการ

การเตรียมไวรัสที่ใช้ในการทดลอง

เก็บตัวอย่างข้าวโพดที่แสดงอาการใบด่างและมีอาการเตี้ยแคระจากแปลงปลูก ตรวจสอบไวรัสด้วย เทคนิค Indirect ELISA (DAC-ELISA) โดยบดตัวอย่างใบข้าวโพดใน carbonate buffer (0.015M Na2CO3, 0.035M NaHCO3 pH 9.6) ในอัตราใบพืช 1 กรัม ต่อบัฟเฟอร์ 2 มิลลิลิตร (1:20) ดูดน้ำคั้นปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ในหลุมของ ELISA plate บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ครบเวลาแล้วล้างด้วยสารละลาย PBST (140 mM Na2CO3, 2mM KH2HPO4, 8 mM Na2HPO42H2O, 2 mM KCl, 0.05% Tween20) เตรียมแอนติซีรัมเจือจาง 1:1000 ใน conjugate buffer (PBST, 2% polyvinyl- pyrrodidone, 0.2% ovalbumin) ใส่ลงในหลุมๆ ละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ล้างด้วยสารละลาย PBST จากนั้นเติม anti rabbit IgG alkaline phosphatase conjugate ใน conjugate buffer ที่เจือจางในอัตรา 1:30,000 หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ล้างออกและเตรียมสารละลาย substrate p-Nitrophenyl phosphate ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรใน substrate buffer (diethanolamine 9.7%, pH 9.8) ใส่หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาด้วยสารละลาย 3M KOH หลุมละ 50 ไมโครลิตร อ่านค่า ELISA (O.D.) ที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร

นำตัวอย่างที่ตรวจพบไวรัส มาเพิ่มปริมาณบนข้าวฟ่าง โดยบดใบข้าวโพดใน 0.1 M phosphate buffer, pH 7.0 จากนั้นนำน้ำคั้นไปปลูกเชื้อด้วยวิธีกล รอจนใบข้าวฟ่างแสดงอาการด่างให้เห็นชัดเจนจึงนำมาทำการทดลองต่อไป

การแยกสกัดอาร์เอ็นเอ

การแยกสกัดอาร์เอ็นเอจากข้าวฟ่าง โดยใช้ RLT buffer (QIAGEN®) ดัดแปลงวิธีของ QIAGEN (2001) นำใบข้าวฟ่างที่แสดงอาการด่าง 0.1 กรัม มาบดให้ละเอียด เติม RLT Lysis buffer (QIAGEN®) ปริมาตร 495 ไมโครลิตร เติม β- mercaptoethanol 5 ไมโครลิตรผสมให้เข้ากัน แล้วหมุนเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนเศษพืช นำน้ำใสส่วนบนใส่หลอดใหม่ เติม PCI mixture [phenol/chloroform: isoamyl alcohol (25/24:1)] ผสมให้เข้ากัน แล้วหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที นำน้ำใสใส่หลอดใหม่ เติม 3M sodium acetate pH 5.2 ปริมาตร 0.1 เท่า และ absolute ethanol ปริมาตร 2.5 เท่า นำไปไว้ที่อุณหภูมิ – 20 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที แล้วหมุนเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนกรดนิวคลีอิค ล้างตะกอนด้วย 70% ethanol ผึ่งตะกอนให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง ละลายตะกอนที่ได้ด้วย RNase-free- H2O ปริมาตร 20 ไมโครลิตร เก็บไว้ที่ -20 องศาเซลเซลเซียส จนกว่าจะนำไปใช้ในการศึกษาขั้นตอนต่อไป

การเพิ่มปริมาณยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาค

การสังเคราะห์ complementary DNA (cDNA) ของยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคจาก RNA ของไวรัสใบด่างแคระข้าวโพดที่สกัดจากใบข้าวฟ่างที่เป็นโรคด้วยวิธี reverse transcription จากนั้นเพิ่มปริมาณ cDNA ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ cDNA ที่ได้จากปฏิกิริยา reverse transcription ปริมาตร 1 ไมโครลิตร เป็นต้นแบบ (template) ในปฏิกิริยา 20 ไมโครลิตร ซึ่งประกอบด้วย 50mM MgCl2 0.6 ไมโครลิตร 10xPCR buffer 2 ไมโครลิตร 10 mM dNTP 0.5 ไมโครลิตร forward primers (SsCP1) และ reverse primers (T24V) (20 pmol/µl) 0.5 ไมโครลิตร Taq DNA polymerase 0.5 ไมโครลิตร d H2O 14.4 ไมโครลิตร และ template 1 ไมโครลิตร นำไปใส่เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (DNA thermal cycle) โดยตั้งปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที ตามด้วยปฏิกิริยาเพื่อให้มีการสังเคราะห์ดีเอ็นเอเพิ่มปริมาณมากขึ้นในแต่ละรอบ ดังนี้ ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เพื่อแยกดีเอ็นเอต้นแบบให้เป็นสายเดี่ยว (denature) เป็นเวลา 1 นาที ขั้นที่ 2 ที่อุณหภูมิ 57 องศาเซลเซียส เพื่อให้ไพรเมอร์จับคู่กับดีเอ็นเอต้นแบบ (annealing) เป็นเวลา 1 นาที และขั้นที่ 3 ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ เป็นเวลา 10 นาที จำนวน

35 รอบ และปฏิกิริยาขั้นสุดท้ายที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ เป็นเวลา 10 นาที เมื่อปฏิกิริยาเสร็จสมบูรณ์ตรวจสอบผลจากปฏิกิริยา PCR ด้วยวิธีเจลอิเลคโตรโฟรีซีส

ผลิตชุดตรวจสอบไวรัสวิธี GLIFT kit

ผลิตแอนติเจนของ Sugarcane mosaic virus โดยใช้ cDNA ที่เพิ่มปริมาณได้ มาทำให้บริสุทธิ์และใช้เป็นแอนติเจนฉีดเข้ากระต่ายเพื่อการผลิตแอนติซีรัม จากนั้นทำการผลิตแอนติซีรัม สกัด IgG และทดสอบคุณภาพ IgG และทดสอบวิธีการผลิตชุดตรวจสอบไวรัสอย่างง่ายของ Sugarcane mosaic virus

เวลาและสถานที่

ต.ค.53 – ก.ย.56 ที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การเตรียมไวรัสที่ใช้ในการทดลอง

เก็บตัวอย่างข้าวโพดที่แสดงอาการใบด่างและมีอาการเตี้ยแคระจากแปลงปลูกข้าวโพด อำเภอตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์ นำมาตรวจสอบไวรัสด้วย เทคนิค Indirect ELISA (DAC-ELISA) นำตัวอย่างที่ตรวจพบไวรัส มาเพิ่มปริมาณบนข้าวฟ่าง โดยบดใบข้าวโพดใน 0.1 M phosphate buffer, pH 7.0 จากนั้นนำน้ำคั้นไปปลูกเชื้อด้วยวิธีกล รอจนใบข้าวฟ่างแสดงอาการด่างให้เห็นชัดเจนจึงนำมาทำการทดลองต่อไป

การแยกสกัดอาร์เอ็นเอ

การแยกสกัดอาร์เอ็นเอจากข้าวฟ่าง โดยใช้ RLT buffer (QIAGEN®) ดัดแปลงวิธีของ QIAGEN (2001) ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของอาร์เอ็นเอ เตรียมนำอาร์เอ็นเอที่ได้ไปการเพิ่มปริมาณยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคต่อไป

เอกสารอ้างอิง

สุรภี กีรติยะอังกูร ขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์ และกิตติศักดิ์ กีรติยะอังกูร. 2547. GLIFT kit ตรวจไวรัส
ของกล้วยไม้ใน 5 นาที. ผลงานวิจัยเพื่อพิจารณาเป็นผลงานวิจัยดีเด่นประจำปี 2547.

De Leon, C. 1984. Maize Diseases. A guide for field identification. Centro Internacional de
Mejoramiento de Maiz y Trigo (CIMMYT). 3rd edition. 115 p.

Vock, N.T. 1978. A handbook of plant diseases in colour. Plant Pathology Branch. Queensland Department of Primary Industry.

การพัฒนาชุดตรวจสอบแบบ Lateral flow test strip เพื่อตรวจสอบแบคทีเรีย *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli*

Development of Lateral flow test strip for *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli* detection

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล ทิพวรรณ กันหาญาติ ทัศนาพร ทัศคร รุ่งนภา ทองเครั่ง

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การผลิตแอนติเซรั่ม ของแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* เพื่อใช้ผลิตชุดตรวจสอบ Lateral flow test strip โดยการสกัดโปรตีนจากแบคทีเรีย *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli* เพื่อใช้เป็นแอนติเจน นำแอนติเจนบริสุทธิ์พร้อมที่จะฉีดกระต่าย ฉีดแอนติเจนเข้าไปในกระต่ายเพื่อผลิตแอนติซีรัม โดยฉีดกระต่ายจำนวน 4 ครั้ง เจาะเลือดกระต่ายทุกอาทิตย์ จำนวน 4 ครั้ง นำเลือดกระต่ายมาแยกเอาแอนติซีรั่มโดยแยกเฉพาะน้ำเหลืองทิ้งเม็ดเลือดแดง ได้แอนติซีรั่มจำนวน 30 ml นำแอนติซีรั่มมาทดสอบค่า titer ที่มีค่า titer 1: 15000 ทดสอบความเฉพาะเจาะจงกับเชื้อแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* พบว่ามีความเฉพาะเจาะจงต่อแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli*

รหัสโครงการ 03-04-54-04-03-01-05-54

คำนำ

กล้วยไม้เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ไทยครองสัดส่วนการส่งออกกล้วยไม้อันดับหนึ่งของโลก สำหรับมูลค่าการค้ากล้วยไม้ของโลกปี พ.ศ. 2550 สูงกว่า 155 ล้านดอลลาร์สหรัฐ (คิดเป็นมูลค่าประมาณ 5,337 ล้านบาท) โดยไทยเป็นประเทศผู้ส่งออกกล้วยไม้อันดับหนึ่งของโลก โดยเฉพาะกล้วยไม้เมืองร้อน และในปี พ.ศ. 2550 ไทยมีสัดส่วนส่งออกกล้วยไม้ตัดดอกสูงถึงร้อยละ 70 ของตลาดโลก รองลงมาได้แก่ สิงคโปร์ นิวซีแลนด์ เกาหลีใต้ และออสเตรเลียเป็นต้น แต่การผลิตกล้วยไม้ประสบปัญหาการระบาดของศัตรูพืช นอกจากนี้ในปัจจุบันได้มีการปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้ชนิดใหม่ๆขึ้นมาที่อ่อนแอต่อศัตรูพืช ทำให้แต่การผลิตกล้วยไม้ประสบปัญหามากขึ้น โดยเฉพาะโรคกล้วยไม้ที่เกิดจากแบคทีเรีย แต่เดิมพบเป็นเพียงเล็กน้อย แต่ในปัจจุบันพบปัญหาโรคที่เกิดจากแบคทีเรียระบาดอย่างมาก และด้วยสภาพภูมิอากาศปัจจุบัน ภาวะโลกร้อนได้ส่งผลกระทบโดยทางตรงและทางอ้อมต่อ สภาพแวดล้อมและ มนุษย์ และ สิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ โดยเฉพาะจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช ทำมีการปรับสภาพให้มีกิจกรรมต่างๆเปลี่ยนแปลงไป จุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชในเขตร้อน ที่มีการปรับตัวให้รุนแรงขึ้น สามารถเข้าทำลายพืชอาศัยเพิ่มมากขึ้น โรคแบคทีเรียของกล้วยไม้ที่สำคัญมีอยู่ 3 ชนิด ได้แก่ โรคเน่าสีน้ำตาล (brown rot) เกิดจากแบคทีเรีย *Burkholderia gladioli* (*Pseudomonas gladioli)* (Chuenchitt *et al.,*1983; สุเนตรา และสิริลักษณ์, 2532; ปิยะรัตน์ และจงวัฒนา, 2551) โรคใบจุด (leaf spot) เกิดจากแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae (Pseudomonas cattleyae)* (นิยมรัฐ, 2547; ปิยะรัตน์ และจงวัฒนา, 2551) และโรคเน่าและ (soft rot) เกิดจากแบคทีเรีย *Erwinia carotovora subsp. Carotovora* (นิยมรัฐ, 2538; ปิยะรัตน์ และจงวัฒนา, 2551) แต่โรคที่พบระบาดมากในแปลงปลูกในปัจจุบันได้แก่ โรคเน่าสีน้ำตาล และโรคใบจุด ซึ่ง Chuenchitt *et al.* (1983) ได้รายงานการพบการระบาดของโรคเน่าสีน้ำตาลของกล้วยไม้ตระกูลหวายที่เกิดจากแบคทีเรีย *Burkholderia gladioli* ในเขตหนองแขม กรุงเทพฯ ซึ่งเป็นแหล่งผลิตกล้วยไม้ขนาดใหญ่ของประเทศไทย โดยทำความเสียหายถึงร้อยละ 50 ของกล้วยไม้ที่ปลูก ดังนั้นการที่สามารถตรวจสอบและจำแนกชนิดของแบคทีเรียได้อย่างรวดเร็วทำให้สามารถป้องกันกำจัดโรคที่เกิดจากแบคทีเรียได้อย่างทันต่อสถานการณ์ ทำให้สามารถเก็บดอกจำหน่าย การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาการพัฒนาชุดตรวจสอบแบบ Lateral flow test strip เพื่อตรวจสอบแบคทีเรีย *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli* ชุดตรวจสอบนี้สมารถนำไปใช้ในการตรวจสอบในแปลงปลูกและรู้ผลการตรวจภายในเวลา 5-10 นาที ทำให้เกษตรกรสามารถป้องกันกำจัดได้อย่างถูกต้อง รวดเร็ว

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อชนิดปลอดเชื้อ อุปกรณ์การแยกเชื้อแบคทีเรีย
2. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ตู้เย็นสำหรับเก็บตัวอย่าง หม้อนึ่งความดันไอ เครื่องเขย่าชนิดควบคุมอุณหภูมิ เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ตู้อบ (oven)
3. เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่นๆที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องชั่ง, pH meter เป็นต้น
4. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ
5. วัสดุการเกษตร ได้แก่ ดิน กระถางต้นไม้ ปุ๋ย
6. โรงเรือนปลูกพืชทดลอง

วิธีการ

1. การเตรียมแอนติเจน (Antigen) นำเชื้อแบคทีเรีย *Burkholderia gladioli* ที่จำแนกชนิดและทดสอบความรุนแรงโรคแล้วมาเลี้ยงบนอาหารแข็ง PSA (Potato semi-synthetic agar) ให้มีอายุ 48 ชั่วโมง นำมาล้างเซลล์แบคทีเรีย 3 ครั้งด้วยสารละลาย phosphate buffer saline (PBS) (Allan and Kelman, 1977) แล้วนำไปตกตะกอนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 12,000 g เป็นเวลา 20 นาที นำเซลล์แบคทีเรียที่ล้างแล้วมาละลายในPBSจากนั้นนำไปทำการ fix เซลล์แบคทีเรีย ด้วย 2% glutaraldehyde (Allan and Kelman, 1977) เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วนำมาทำให้ glutaraldehyde เจือจางหมดไปโดยการ dialysis ใน PBS ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที โดยเปลี่ยน PBS ทุกๆ 4 ชั่วโมง เก็บสารละลายเชื้อแบคทีเรียที่ได้ไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการฉีดกระต่ายต่อไป

2. การผลิตแอนติซีรัม ทำการละลายเชื้อแบคทีเรียที่ได้จากการ fix เซลล์ด้วย glutaraldehyde แล้วปรับความเข้มข้นของแบคทีเรียให้ได้ประมาณ 10^9 หน่วยโคโลนี ต่อมิลลิลิตร ด้วย PBS จากนั้นนำไปผสมกับ Freund's incomplete adjuvant ในอัตรา 1:1 ผสมให้เข้ากันเพื่อนำไปฉีดเข้าใต้ผิวหนังของกระต่ายทดลองพันธุ์ New Zealand สีขาว โดยก่อนการฉีด 1 สัปดาห์ เจาะเก็บเลือดกระต่ายไว้ก่อนเพื่อใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (Normal serum) จากนั้นนำสารละลายแบคทีเรียที่ผสมกับ adjuvant แล้วฉีดเข้าใต้ผิวหนังของกระต่าย โดยฉีดอาทิตย์ละหนึ่งครั้ง รวมระยะเวลาทั้งสิ้น 4 สัปดาห์ หลังการฉีดครั้งสุดท้าย 1 อาทิตย์ เจาะเก็บเลือดกระต่าย 3 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 1 สัปดาห์ แยกและเก็บแอนติซีรัม โดยนำเลือดกระต่ายที่ได้ตั้งทิ้งไว้เพื่อให้เม็ดเลือดแดงแข็งตัว จากนั้นใช้เข็มลนไฟฆ่าเชื้อ แล้วกรีดที่ผิวตรงรอยต่อระหว่างบีกเกอร์กับเลือดจนรอบ นำบีกเกอร์ไปตั้งทิ้งไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4°C นาน 12 ชั่วโมง แล้วนำเอาเฉพาะส่วนน้ำใสมาปั่นตกตะกอนด้วย

เครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 g นาน 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4°C เพื่อเอาส่วนเม็ดเลือดแดงออกไป นำส่วนน้ำใสที่ได้ซึ่งเป็นแอนติซีรัมเก็บแช่แข็งไว้

3. **ทดสอบประสิทธิภาพของแอนติซีรัม** โดยนำแอนติบอดีที่ได้แต่ละครั้ง มาทำให้เจือจางจนถึง 1: 10^6 และทดสอบปฏิกิริยากับแบคทีเรีย *B. gladioli* ที่ความเข้มข้น 10^8 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร โดยเทคนิค วิธี Dot Immunobinding assay (DIBA) (Hamplton et al, 1990)

4. ผลิตชุดตรวจสอบไวรัสวิธี GLIFT kit

4.1 นำแอนติซีรั่มที่มีความเฉพาะเจาะจงกับแบคทีเรีย *B. gladioli* มาแยกเฉพาะส่วนอิมมูโนโกลบูลิน (IgG) ออกจากสารอื่น ๆ ในเซรุ่มนั้น โดยใช้การตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต (ammonium sulfate precipitation) (Hampton el al,1990) นำ 1 มิลลิลิตรของแอนติซีรั่มผสมกับ 1 มิลลิลิตรของน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ หยด 1.3 มิลลิลิตร ของ saturated ammonium sulfate pH 7.2 ที่แช่เย็น ค่อย ๆ หยดบนเครื่องกวน (stirring) ทำให้มีแอนติซีรั่ม มีความเข้มข้นของ ammonium sulfate 40% ผสมบนเครื่องกวนต่อไป 30 นาที เก็บไว้ข้ามคืนในตู้เย็น นำมาหมุนเหวี่ยงที่ 8,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที เก็บตะกอนค่อย ๆ ละลายตะกอนด้วย 1 มิลลิลิตร ของ Phosphate buffer Saline (PBS) (0.01 M phosphate buffer pH 7.2 และ 0.15 M NaCl) เติม 1 มิลลิลิตร น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ และ 1.02 มิลลิลิตรของ saturated ammonium sulfate ทำให้แอนติซีรัมมีความเข้มข้นของ ammonium sulfate 33% ผสมบนเครื่องกวน 30 นาที ตกตะกอนที่ 8,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที ละลายตะกอนด้วย 1.5 มิลลิลิตร ของ PBS นำไปทำให้ ammonium sulfate เจือจางโดย dialysis ใน PBS ที่ 40C เป็นเวลา 36 ชั่วโมง โดยมีการเปลี่ยน PBS ทุก ๆ 4 ชั่วโมง นำมากรองผ่าน filter ขนาด 0.2 ไมครอน เก็บ IgG ไว้ที่ –20°C

4.2 การทดสอบคุณภาพ IgG โดยนำ IgG ของแบคทีเรีย *B. gladioli* ที่ได้มาวัดความเข้มข้น ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ช่วงคลื่นแสง 280 นาโนเมตร เจือจางให้เชื้อมีค่า O.D. เท่ากับ 1.4 โดยใช้ครึ่งเท่าของ PBS เพื่อให้มีปริมาณโปรตีน 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร นำไปทดสอบคุณภาพโดยการตรวจแบคทีเรีย *B. gladioli* ที่ความเข้มข้น 10^8 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร ด้วยวิธี Indirect Dot Immunobinding assay (DIBA) (Hampton *el al*,1990 โดยใช้ IgG ของแบคทีเรีย *B. gladioli* ที่เจือจาง 1: 500

4.3 การติดฉลาก IgG ของแบคทีเรีย *B. gladioli* ด้วยอนุภาคทอง เตรียมสารละลายแขวนลอยอนุภาคทอง โดยนำ 1% gold chloride ที่ต้มเดือดแล้วมาเติม sodium citrate ทำให้เย็นลง แล้ววัดความเข้มข้นด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ช่วงคลื่นแสง 530 นาโนเมตร ให้มีค่า O.D. เท่ากับ 0.5 ได้อนุภาคทองแขวนลอยในสารละลาย ขนาด 40 นาโนเมตร นำ IgG ของแบคทีเรีย *B. gladioli* จำนวน 2 มิลลิลิตร เติมลงในสารละลายทองแขวนลอย 200 มิลลิลิตร กวนบนเครื่องกวน

นาน 60 นาที แล้วเติมสารละลาย bovine serum albumin (BSA) ปั่นเก็บตะกอน แล้วปรับให้ได้ค่า 0.5 ที่ OD 540

4.4 การทดสอบชนิดของ membrane ที่เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาของแอนติซีรัม ของแบคทีเรีย *B. gladioli* บนเส้น test line ทดสอบ 3-4 ชนิด ที่มีขนาดประมาณ 5-12 ไมโครเมตร

4.5 การประกอบเป็นชุดตรวจสอบ และทดสอบปฏิกิริยากับแบคทีเรีย *B. gladioli* ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ตั้งแต่ 10^2-10^8 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร และจากตัวอย่างกล้วยไม้

4.6 ทดสอบประสิทธิภาพของความไว (sensitivity) ในการตรวจแบคทีเรีย *B. gladioli*

4.7 รวบรวม วิเคราะห์ผล และเขียนรายงาน

เวลาและสถานที่

ต.ค.53 – ก.ย.56 ที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การผลิตแอนติเซรั่ม ของแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* เพื่อใช้ผลิตชุดตรวจสอบ Lateral flow test strip โดยการสกัดโปรตีนจากแบคทีเรีย *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli* เพื่อใช้เป็นแอนติเจน นำแอนติเจนบริสุทธิ์พร้อมที่จะฉีดกระต่าย ฉีดแอนติเจนเข้าไปในกระต่ายเพื่อผลิตแอนติซีรัม โดยฉีดกระต่ายจำนวน 4 ครั้ง เจาะเลือดกระต่ายทุกอาทิตย์ จำนวน 4 ครั้ง นำเลือดกระต่ายมาแยกเอาแอนติซีรั่มโดยแยกเฉพาะน้ำเหลืองทิ้งเม็ดเลือดแดง ได้แอนติซีรั่มจำนวน 30 ml นำแอนติซีรั่มมาทดสอบค่า titer ที่มีค่า titer 1: 15000 ทดสอบความเฉพาะเจาะจงกับเชื้อแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* พบว่ามีความเฉพาะเจาะจงต่อแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli*

เอกสารอ้างอิง

นิยมรัฐ ไตรศรี. 2544. คู่มือโรคไม้ดอกไม้ประดับและการป้องกันกำจัด. กลุ่มวิจัยโรคพืชผักไม้ดอกและไม้ประดับ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพมหานคร. 50 หน้า.

นิยมรัฐ ไตรศรี. 2547. โรคของกล้วยไม้และการป้องกันกำจัด.หน้า 47-74. ใน เอกสารวิชาการกล้วยไม้. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และจงวัฒนา พุ่มหิรัญ 2551. การศึกษาโรคกล้วยไม้ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย.รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2551 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

สุเนตรา ภาวิจิตร สุทธิพงษ์ ญาณวารี และ ศิริลักษณ์ โล่สวัสดิ์. 2532. การศึกษาสาเหตุโรคเน่าของกล้วยไม้สกุลหวายทางเคมีและฟิสิกส์. รายงานความก้าวหน้าผลงานวิจัย กลุ่มงานบักเตรีวิทยา กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร หน้า 30-40.

อนุพันธ์ อิฐรัตน์ .2542. ภัยเงียบจากคลอรีน. เอกสารประกอบการบรรยาย ณ ห้องประชุมกำธรสุวรรณกิจ กรมอนามัย.

Chandrkrachang, S.2002. The applications of chitin and chitosan in agriculture in Thailand, in: K. Suchiva, S. Chandrkrachang, P. Methacanon, M.G. Peter (Eds.), Advances in Chitin Science, vol. 5:458-462.

Chuenchitt, S. 1982. A new bacterial disease on orchids Dendrobium sp. caused by Pseudomonas gladioli. Kasetsart J. (Sci) 17 : 27-32.

การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomomnas axonopodis* pv. *citri* ด้วยเทคนิค Real-time PCR

Detection of *Xanthomomnas axonopodis* pv. *citri* using Real-time PCR

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล ทิพวรรณ กันหาญาติ บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ รุ่งนภา ทองเครั่ง

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomomnas axonopodis* pv. *citri* ด้วยเทคนิค Real-time PCR ดำเนินการโดยได้ออกแบบ primer ที่มีความจำเพาะต่อ *pth A* gene ของ แบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *citri* ได้แก่ pth154R:5' GGTGTGGTGCCTCGATAGAT 3' and pth154F:5' AACAGACCATTGCCCTAT 3' การทดสอบความเฉพาะเจาะจงและความไวของไพรเมอร์และทดสอบ profile ทดสอบความเฉพาะเจาะจงของไพรเมอร์พบว่าไพรเมอร์ที่ออกแบบไว้มีความเฉพาะเจาะจงกับเชื้อ*X axonopodis* pv. *citri* สาเหตุโรคแคงเกอร์ของพืชตระกูลส้ม ทดสอบสภาวะที่เหมาะสมของปฏิกริยา Real time PCR กับไพรเมอร์ที่ออกแบบเอาไว้

รหัสโครงการ 03-04-54-04-03-02-02-54

คำนำ

โรคแคงเกอร์เป็นโรคที่สำคัญโรคหนึ่งของพืชตระกูลส้ม สามารถเข้าทำลายต้นส้มได้ในทุกส่วนของต้น และมักพบระบาดรุนแรงในช่วงฤดูฝน เมื่อเป็นโรคมากๆจะทำให้ต้นส้มทรุดโทรม ใบร่วงต้นแคระแกรน ผลผลิตลดลงและไม่มีคุณภาพ สาเหตุของโรคเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (=*Xanthomonas campestris* pv. c*itri*) จากการศึกษาเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้สามารถแบ่งกลุ่มตามการแพร่ระบาดในแหล่งต่างๆทั่วโลก (geographic distribution) และตามพืชอาศัย (Host rage) และแบ่งตามคุณสมบัติทางชีวเคมีเป็น 5 กลุ่ม ซึ่งเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* ที่พบในประเทศไทยจัดอยู่ในกลุ่ม CBCD-A (Citrus Bacterial Canker Disease – A) เป็นกลุ่มที่แพร่ระบาดมากที่สุดในเอเชีย แอฟริกา หมู่เกาะในมหาสมุทรแปซิฟิก และในอเมริกาใต้ เชื้อในกลุ่มนี้จัดเป็นเชื้อที่มีพืชอาศัยกว้างที่สุด เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ที่พบระบาดในประเทศไทยเข้าทำลายพืชตระกูลส้มทุกชนิดที่ปลูก และสามารถแพร่ระบาดไปกับผลส้ม มะนาว และกิ่งพันธุ์ โดยเฉพาะกิ่งพันธุ์ถ้ามีโรคนี้ติดไป จะทำให้เกิดการระบาดไปยังต้นอื่นๆได้ ปัจจุบันได้มีการพยายามส่งออกผลส้มออกไปขายยังต่างประเทศ โดยเฉพาะส้มโอ ทำให้จำเป็นต้องหาวิธีการป้องกันกำจัดโรคนี้ มิฉะนั้นจะไม่สามารถส่งผลส้มไปขายได้ เพราะเชื้อโรคนี้เป็นเชื้อที่สำคัญทางกักกันพืช ในประเทศอเมริกา ออสเตรเลีย และญี่ปุ่น มีการตรวจสอบการนำเข้าผลส้มหรือกิ่งพันธุ์ส้มอย่างเข้มงวด ในสวนที่ต้องการส่งออกผลผลิตส้มไปยังต่างประเทศไม่ว่าจะเป็นส้มโอ และส้มเขียวหวาน จำเป็นต้องมีการกำจัดโรคให้หมดไปและต้องตรวจแปลงไม่ให้มีโรคในแปลงปลูก วิธีการที่จะป้องกันกำจัดให้ได้ผลดีจำเป็นต้องมีวิธีการตรวจหาเชื้ออย่างรวดเร็ว แม่นยำ และมีประสิทธิภาพ การวิธีการตรวจหาเชื้อที่ใช้โดยทั่วไปจะทำการแยกเชื้อและปลูกเชื้อกลับบนต้นอ่อนส้ม ให้ต้นอ่อนส้มแสดงอาการ ต้องใช้เวลาในการตรวจหาเชื้อ 14-21 วัน ซึ่งใช้เวลานานไม่ทันต่อสถานการณ์ บางครั้งต้นส้มอาจเกิดการระบาดของโรคไปแล้ว ถ้ามีวิธีการตรวจหาที่รวดเร็วจะทำให้แก้ไขหรือป้องกันกำจัดได้ทันสถานการณ์

Roberts และคณะ (1996) ได้รายงานเกี่ยวกับการตรวจสอบเชื้อ *Xanthomonas fragariae* สาเหตุโรค angular leaf spot ของ สตอเบอร์รี โดยใช้ specific primer และ nested PCR พบว่า specific primer RST2และ RST3 จากการ design primer จาก *hrp* gene สามารถตรวจหาเชื้อได้ในระดับ 10^4 -10^5 cfu/ml ในขณะที่ใช้ วิธี nested PCR สามารถตรวจหาเชื้อได้ถึงระดับต่ำ เพียง 18 cell

Hartung และคณะ (1993) ได้ทำการศึกษาการตรวจสอบเชื้อ*Xanthomonas campestris* pv. *citri*โดยวิธีเทคนิค PCR โดยใช้ fragment ขนาด 572 bp EcoRI จาก plasmid DNA ของ *Xanthomonas campestris* pv. *citri* XC62 ที่เชื่อมต่อกับ pUC9 นำไปหาลำดับเบส และ design primer ได้ primer ขนาด 18 bp จำนวน 7 primer นำมาทดสอบโดยใช้เทคนิคPCR กับเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *citri* และ เชื้อแบคทีเรียอื่นๆ พบว่า มี 4 primer ที่สามารถเพิ่ม

ปริมาณได้กับเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *citri* และไม่เพิ่มปริมาณในเชื้ออื่นๆ และพบว่า primer 2-3 สามารถ เพิ่มปริมาณได้กับเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *citri* pathotype A

Hartung และคณะ(1996) ได้ศึกษาการตรวจสอบอย่างรวดเร็ว โดยใช้เทคนิค Immunocapture และ nested PCR ในการตรวจสอบเชื้อ *Xanthomonas axodopodis* pv. *citri* โดยใช้ specific primer ในการเพิ่มปริมาณในส่วนของ plasmid DNA ของเชื้อแบคทีเรีย PCR product ที่ได้ถูกนำมาใช้ในการตรวจหาโดยวิธี immunocapture โดยใช้ monoclonal antiserum ในการตรวจสอบพบว่า สามารถตรวจหาเชื้อในใบส้มได้ในปริมาณที่ต่ำได้ โดยมีประสิทธิภาพเพิ่มมากกว่าการใช้ nested PCR อย่างเดียวอยู่ถึง 100 เท่า

ณัฏฐิมา และคณะ (2548) ได้ศึกษาวิธีการตรวจหาแบคทีเรียสาเหตุโรคแคงเกอร์ของพืชตระกูลส้มโดยเทคนิค Polymerase Chain Reaction โดยใช้คู่ไพรเมอร์ D1(GGCCTTGATCAAAAGAACCA) และ D2(TTGAAGTAGG GGACGGTTTA) ที่ออกแบบจาก pthA gene ของเชื้อ *X. axonopodis* pv. *citri* strain 306 และ GenBank accession number XCU28802 สามารถตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *citri* สาเหตุโรคแคงเกอร์ได้ ทั้งในระดับดีเอ็นเอ และเซลล์แขวนลอยของเชื้อโดยความไว (sensitivity) ในการตรวจเชื้อที่ความเข้มข้นต่ำสุดของดีเอ็นเอ เท่ากับ 5 พิโคกรัม และความเข้มข้นต่ำสุดของเซลล์แขวนลอยเชื้อที่ตรวจได้คือ 100 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร โดยมีความเฉพาะเจาะจงกับเชื้อ X. axonopodis pv. citri สายพันธุ์ canker A

Mavrodieva และคณะ (2004) พัฒนาเทคนิค Real time PCR ในการตรวจสอบโรคแคงเกอร์ทุกสายพันธุ์ ที่มีความไว รวดเร็ว และวิเคราะห์ตามเวลาจริงทีเกิดขึ้นในหลอด PCR โดยสามารถนำไปใช้เครื่อง RAPID machine ที่สามารถพบพาไปใช้ในแปลงปลูกได้ นำไปใช้ตรวจสอบโรคแคงเกอร์ในแปลงปลูกโดยสามารถตรวจสอบใบส้มที่เป็นโรคเพียงจุดแผลเล็กๆแผลเดียว โดยมีความไวในการตรวจจับความเข้มข้นต่ำสุดของเชื้อ *X. axonopodis pv. citri* 10 CFU/แผล และเป็นการรายงานผลครั้งแรกในการใช้วิธีนี้ไปตรวจหาเชื้อ *X. axonopodis pv. citri* บนตัวอย่างแห้งโรคพืช ที่เก็บไว้ตั้งแต่ ปี 1912 ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช

การศึกษาในครั้งนี้เป็นการนำเอาเทคนิค Real time PCR ซึ่งเป็นเทคนิคทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพที่มีความปลอดภัยสูง ไม่ต้องใช้สารที่เป็นอันตราย สามารถแสดงผลได้ในเวลาอันรวดเร็ว มาปรับใช้ในการตรวจสอบ ให้เกิดความรวดเร็ว แม่นยำ และมีประสิทธิภาพ ลดการระบาดของโรคและสามารถหาทางป้องกันกำจัดได้ทันถ่วงที และสามารถนำไปปรับใช้ในงานกักกันพืชต่อไปในอนาคตได้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อชนิดปลอดเชื้อ อุปกรณ์การแยกเชื้อแบคทีเรีย
2. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ตู้เย็นสำหรับเก็บตัวอย่าง หม้อนึ่งความดันไอ เครื่องเขย่าชนิดควบคุมอุณหภูมิ เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ตู้อบ (oven)
3. เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่นๆที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องชั่ง, pH meter เป็นต้น
4. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ
5. วัสดุการเกษตร ได้แก่ ดิน กระถางต้นไม้ ปุ๋ย
6. โรงเรือนปลูกพืชทดลอง

วิธีการ

1. **ออกแบบ specific primer** โดยใช้ primer design software ชื่อ Primer3 จาก *pthA* gene family ได้แก่ *pthA* gene (Gene Bank accession U28802) *apl1* (AB021363) *apl2* (AB021364) *apl3* (AB021365) *pthA*1, *pthA2, pthA3, pthA4* (Gene Bank accession AE008925) จำนวน 1 คู่สาย นำไปสั่งสังเคราะห์ primer จาก หน่วยบริการชีวภาพ ศูนย์พันธุวิศวกรรมแห่งชาติ โดยมีprimer 2/3 ที่ Hartung *et.al* (1993) รายงานว่าสามารถตรวจหาเชื้อ *X. axonopodis* pv. *citri* ได้ เพื่อเปรียบเทียบกับ primer ที่ออกแบบไว้

2. **การแยก genomic DNA ให้บริสุทธิ์** (Purified genomic DNA) การแยก genomic DNA ให้บริสุทธิ์ ใช้วิธีของ Pitcher *et al.* (1989) โดยใช้เชื้อบริสุทธิ์แบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *citri* สาเหตุโรคแคงเกอร์ของพืชตระกูลส้ม อายุ 48 ชั่วโมง บนอาหารแข็ง LB ใช้ลูปฆ่าเชื้อ แตะเชื้อแบคทีเรียให้เต็มหนึ่งลูป ละลาย ใน1 มิลลิลิตร Resuspension buffer (0.15 M NaCl และ 0.01M EDTA pH 8.0) นำไปปั่นตกตะกอนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง Hettich (Universal 116, Gemnany) ที่ความเร็วรอบ 14,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ทิ้งส่วนน้ำใสข้างบน เติมด้วย 100 ไมโครลิตร TE buffer pH 8.0 (10 mM Tris และ 1mM EDTA pH 8.0) ผสมให้เข้ากันโดยใช้ เครื่องปั่น vortex เติมด้วย 500 ไมโครลิตรของ Guanidine thiocyanate – EDTA – Sarkosyl solution ผสมให้เข้ากัน เติมด้วย 250 ไมโครลิตร ของ 7.5 M ammonium acetate ที่แช่เย็นใน ตู้เย็น -20 $^{\circ}$C ผสมให้เข้ากัน วางบนน้ำแข็ง 5 นาที เติมด้วย 500 ไมโครลิตร chloroform/iso-amyl-alcohol (24/1) ผสมให้เข้ากัน นำไปปั่นตกตะกอนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง Hettich (Universal 116, Gemnany) ที่ความเร็วรอบ 14,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที เก็บส่วนน้ำใสข้างบน ใส่หลอดใหม่ที่บรรจุ สาร isopropanol ที่แช่เย็นใน ตู้เย็น -20 $^{\circ}$C จำนวน378 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยการพลิกหลอด

กลับไปมา จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงเพื่อเก็บตะกอน genomic DNA ที่ความเร็วรอบ 14000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ล้างตะกอนดีเอนเอด้วย 150 ไมโครลิตร ของ 70 % ethanol จำนวน 2 ครั้ง ทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง ลายตะกอนDNA ด้วย TE buffer pH. 8.0 ปริมาณ 100 ไมโครลิตร วัดปริมาณความเข้มข้น และคุณภาพของดีเอนเอ ที่ช่วงคลื่น A260/A280 ด้วยเครื่อง spectrophotometer (U 2001 UV/Vis, Hitachi Instruments, Inc., USA) และปรับความเข้มข้น DNA ของเชื้อแต่ละไอโซเลทให้มีความเข้มข้น 50 นาโนกรัม/ไมโครลิตร เพื่อนำไปทดสอบปฏิกิริยา Polymerase chain reaction

3. **ทดสอบหาสภาพที่เหมาะสมของปฏิกิริยา Real time PCR** โดยการหา Tm ที่เหมาะสมของไพรเมอร์ เพื่อนำมาทำการทดสอบปฏิกิริยา Real time PCR จะได้อุณหภูมิในการจับคู่ไพรเมอร์กับดีเอ็นเอต้นแบบ (annealing temperature) ที่เหมาะสม ตลอดจนทดสอบหาเวลาที่เหมาะสมในการทำปฏิกริยาในแต่ละช่วงเวลา ทดสอบสภาวะที่เหมาะสมของ Real time PCR เพื่อหา crossing point และ วิเคราะห์หา melting curve

4. **ทดสอบความจำเพาะ (specificity) และความไว (sensitivity) ของปฏิกิริยา Real time PCR** ในการตรวจเชื้อ *X. axonopodis* pv.*citri* เป็นการทดสอบ primer ที่ออกแบบไว้ โดยใช้สภาพที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 3 มาทำการทดสอบความจำเพาะของ primer โดยใช้ DNA และเซลของเชื้อแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *citri* ความเข้มข้นของ DNA ที่ 50 ng และความเข้มข้นของเซลล์ที่ 10^8 cfu/ml การทดสอบความไวในการตรวจสอบเชื้อแคงเกอร์ (sensitivity) ของ primer เป็นการทดสอบ primer ที่ออกแบบไว้ โดยใช้สภาพที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 3 โดยใช้ DNA ของเชื้อแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *citri* ที่มีความเข้มข้น 8 ระดับ ตั้งแต่ 50 นาโนกรัม ถึง 100 เฟมโตกรัม และใช้เซลล์แบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *citri* ที่ความเข้มข้น 10^8, 10^7, 10^6, 10^5, 10^4, 10^3, 10^2, 10 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร

5. **ทดสอบวิธี Real time PCR ในการตรวจหาเชื้อ *X. axonopodis* pv.*citri* จากตัวอย่างโรคแคงเกอร์** ทำการเก็บตัวอย่างโรคแคงเกอร์ของส้มโอจากแปลงเกษตรกรใน อ.เวียงแก่น จ.เชียงราย จำนวน 10 ตัวอย่าง ตัดแผลตัวอย่างโรค โดย cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 mm. นำตัวอย่างใส่หลอด 1.5 ml microcentrifuge ที่เติมด้วย 100 ul ของ phosphate buffer saline pH 7.0 บดตัวอย่างด้วย plastic disposable pestles ให้ละเอียดนำไปตกตะกอนด้วยเครื่อง centrifuge ที่ 5,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที เก็บส่วนบนที่เป็นน้ำใสใส่หลอด microcentrifuge ขนาด 1.5 ml ทิ้งส่วนตะกอน นำ 2 ul ของตัวอย่างเป็นต้นแบบในการทำปฏิกิริยา Real time PCR ตามปฏิกิริยาที่กล่าวมาแล้วข้างต้น และทุกตัวอย่างเปรียบเทียบกับการตรวจเชื้อบนอาหาร semi-selective for *Xanthomonas* (SX media) โดยนำตัวอย่างโรคแคงเกอร์แต่ละตัวอย่างปริมาณ 50 ไมโครลิตรไป

เกลี่ยให้ทั่วบนอาหารเลี้ยงเชื้อ SX โดยใช้แท่งแก้วรูปตัวแอล บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28^0 C นาน 72 ชั่วโมง ตรวจนับปริมาณเชื้อที่ขึ้นบนอาหาร

เวลาและสถานที่

ต.ค.53 – ก.ย.56 ที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomomnas axonopodis* pv. *citri* ด้วยเทคนิค Real-time PCR ดำเนินการโดยได้ออกแบบ primer ที่มีความจำเพาะต่อ *pth A* gene ของ แบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *citri* ได้แก่ pth154R:5' GGTGTGGTGCCTCGATAGAT 3' and pth154F:5' AACAGACCATTGCCCTAT 3' การทดสอบความเฉพาะเจาะจงและความไวของไพรเมอร์และทดสอบ profile ทดสอบความเฉพาะเจาะจงของไพรเมอร์พบว่าไพรเมอร์ที่ออกแบบไว้มีความเฉพาะเจาะจงกับเชื้อ*X axonopodis* pv. *citri* สาเหตุโรคแคงเกอร์ของพืชตระกูลส้ม ทดสอบสภาวะที่เหมาะสมของปฏิกริยา Real time PCR กับไพรเมอร์ที่ออกแบบเอาไว้

เอกสารอ้างอิง

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล อรวรรณ ชัชวาลการพาณิชย์ ปิยะรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ วิชัย โฆสิตรัตน และวงศ์ บุญสืบสกุล. 2548. การพัฒนาวิธีการตรวจหาเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคแคงเกอร์ของพืชตระกูลส้มโดยวิธี Polymerase Chain Reaction. วารสารโรคพืช ปีที่ 19 ฉบับที่1-2 หน้า 35-46.

อำไพวรรณ ภราดรนุวัฒน์, วิชัย ก่อประดิษฐ์สกุล, วิเชียร กำจายภัย, สุพัฒน์ อรรถธรรม และนิพนธ์ ทวีชัย, 2527 , โรคส้มในประเทศไทย. โรงพิมพ์ หจก. พันนีพับลิชชิง , กรุงเทพฯ. 126 หน้า

Cubero, J. and J.M. Graham. 2002. Genetic relationship among worldwide strains of Xanthomonas causing canker in citrus species and design of new primers for their identification by PCR. Appl. Environ. Microbiol. 68: 1257-1264.

Gabriel, D.W. 1999.. The Xanthomonas avr/pth gene family. Pages 39-55 in: Plant-Microbe Interactions, vol. 4. G. Stacey and N.T. Keen, eds. The American Phytopathological Society, St. Paul, MN.

Hartung, J. S., Daniel, J. F. and Pruvost, O. P .1993. Detection of Xanthomonas campestris pv. citri by the polymerase chain reaction method. Appl Environ Microbiol ;59:1143-8

Hartung, J. S., Pruvost, O. P ,Villemot I.,and Alvarez, A. 1996. Rapid and colorimetric detection of Xanthomonas axonopodis p.v. citri by immunocapture and nested – polymerase chain reaction assay. Phytopathology 86:95-101.

Mavrodieva, V., Levy L. and D.W. Gabriel. 2004. Improved sampling methods for real-time polymerase chain reaction diagnosis of citrus canker from field samples. Phytopathology 94:61-68.

Schoulties , C.B. , E.L. Civerolo , Miller , R.E. Stall , C. J. Krass , S.R. Poc and S.P. Oucharmo. 1987. Citrus canker in Florida. Plant Dis. 71: 388 – 395.

Swarup, S., De Feyter, R., Brlansky, R.H., and Gabriel, D. W. 1991. A pathogenicity locus from Xanthomonas citri enables strains from several pathovars of X. campestris to elicit cankerlike lesions on citrus. Phytopathology 81:802-809.

การตรวจสอบไวรัส *Pineapple mealybug wilt-associated virus*-1 และ -2 สาเหตุโรคเหี่ยวสับปะรดโดยเทคนิค multiplex PCR

Detection of *Pineapple mealybug wilt-associated virus* -1 and -2 using multiplex PCR technique

วันเพ็ญ ศรีทองชัย ปริเชษฐ์ ตั้งกาญจนภาสน์ กาญจนา วาระวิชะนี

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การพัฒนาวิธีการตรวจสอบไวรัสสาเหตุโรคเหี่ยวสับปะรดทั้ง 2 strain (PMWaV-1 และ PMWaV-2) ในปฏิกิริยาเดียวกัน โดยอาศัยเทคนิค Multiplex RT-PCR เริ่มจากการออกแบบไพรเมอร์บริเวณ heat shock protein gene ที่มีความจำเพาะต่อไวรัส PMWaV-1 ได้แก่ PM1_HS_M_F : 5’ CCACTCTGTGTTTC TCTCCAGG 3’ และ PM1_HS_M_R : 5’CTCCCAGATA GTTATCTCCCATCG 3’ และ ไพรเมอร์บริเวณ heat shock gene ที่มีความ จำเพาะต่อไวรัส PMWaV-2 ได้แก่ PM2_HS_M_F: 5’ CAAGGACG GGTCGGTAATGCTAG 3’ และPM2_HS_M_R : 5’ CCAACGCTAAA CAGTA CGCATACC 3’ จากนั้นการสกัด อาร์เอ็นเอ ของเชื้อ PMWaV-1 และ PMWaV-2 จากใบสับปะรดเป็นโรค โดยใช้ชุดสกัดสำเร็จรูป (MasterPure^{TM}RNA Purification Kit ของบริษัท EPICENTRE) แล้วนำมาทดสอบและปรับระยะเวลารวมทั้งอุณหภูมิให้เหมาะสมในการสังเคราะห์เพิ่มปริมาณ cDNA โดยเทคนิค Multiplex RT-PCR พบว่า อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสม ได้แก่ เริ่มจาก 50 $^{\circ}$C นาน 30 นาที เพื่อสังเคราะห์ cDNA จากนั้นเข้าสู่ปฏิกิริยา PCR เริ่มจาก 95 $^{\circ}$C นาน 30 นาที, (94 $^{\circ}$C นาน 45 วินาที , 60 $^{\circ}$C นาน 45 วินาที , 72 $^{\circ}$C นาน 60 วินาที) รวม 35 รอบตามด้วย 72 $^{\circ}$C นานอีก 10 นาที 25 $^{\circ}$C นานอีก 15 นาที หลังจากนั้นนำ PCR product ที่ได้ไปตรวจสอบขนาดของชิ้นดีเอ็นเอด้วยวิธี gel electrophoresis ใน 2% agarose ที่ 100 V. นาน 35-40 นาที พบว่าไวรัส PMWaV1 ให้แถบสีขาวขนาด 635 bp ส่วนไวรัส PMWaV2 ให้แถบสีขาวขนาด 380 bp

---

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-03-02-04-54

คำนำ

สับปะรดเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย สามารถปลูกและเก็บผลผลิตได้ตลอดปี เพื่อใช้บริโภคสดภายในประเทศและแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆมีมูลค่าส่งออกประมาณปีละ13,000-15,000 ล้านบาท โดยประเทศไทยครองความเป็นผู้นำในการผลิตและส่งออกสับปะรดเป็นอันดับหนึ่งของโลก เป็นเวลานานกว่า 10 ปีจนถึงปัจจุบัน โดยมีตลาดผู้นำเข้าที่สำคัญ ได้แก่ สหรัฐอเมริกา สหภาพยุโรป ญี่ปุ่น และสาธารณรัฐประชาชนจีน

โรคเหี่ยวสับปะรด (Pineapple wilt disease หรือ Mealybug wilt of pineapple) พบระบาดเป็นครั้งแรกในรัฐฮาวาย ประเทศสหรัฐอเมริกา เมื่อต้นปี พ.ศ. 2443 และปัจจุบันโรคนี้แพร่ระบาดทั่วไปในประเทศที่มีการปลูกสับปะรดเป็นการค้า เช่น ออสเตรเลีย ไทยและคิวบา เป็นต้น สำหรับประเทศไทยมีรายงานว่าพบการระบาดของโรคเหี่ยวในแหล่งปลูกสับปะรดของจังหวัดชลบุรี ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2532 และทำความเสียหายให้แก่ผลผลิตอย่างสูง ต่อมาในปี พ.ศ. 2546 โรคนี้ระบาดรุนแรงในแปลงปลูกสับปะรดของภาคตะวันตกบริเวณจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ และเพชรบุรี ซึ่งเป็นแหล่งปลูกสำคัญของประเทศ โดยมีพื้นที่ปลูกสับปะรดเป็นอันดับ1 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 เป็นพันธุ์ที่ปลูกมากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 70 ของผลผลิตรวมของสับปะรด (วันเพ็ญ และคณะ, 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)

วิธีการตรวจสอบหาเชื้อสาเหตุในสับปะรดโดยใช้แมลงพาหะ อาการเหี่ยวบนพืชทดสอบเริ่มปรากฏหลังการถ่ายทอดโรคแล้วอย่างน้อย 4 เดือน หรือใช้เทคนิคทางอณูชีววิทยา เช่น เทคนิค RT-PCR ซึ่งให้ผลที่แม่นยำ และรวดเร็ว แต่ต้องตรวจสอบครั้งละ 1 strain ทำให้ต้องเสียค่าใช้จ่ายสูงในการตรวจสอบหน่อพันธุ์สับปะรดเป็นจำนวนมาก

ในปัจจุบันเทคโนโลยีชีวภาพได้มีการพัฒนาตลอดเวลา ทำให้สามารถตรวจสอบเชื้อไวรัส 2 ชนิดในการทำปฏิกิริยาหลอดเดียวกัน เรียกว่า multiplex PCR ซึ่งเป็นการประหยัดเวลาและค่าใช้จ่ายในการตรวจสอบไวรัส เช่น Menzel และคณะ (2002) ได้ใช้ multiple PCR 2 ชุดที่มีความจำเพาะกับ mRNA ในพืช ซึ่งสามารถตรวจสอบไวรัส 4 ชนิดที่เข้าทำลายองุ่นได้ เช่น *Apple chlorotic leaf spot virus, Apple stem grooving virus, Apple mosaic virus* และ *Apple stem pitting virus* เป็นวิธีที่รวดเร็ว แม่นยำ และอาจนำไปใช้ตรวจสอบไวรัสขององุ่นแทนการใช้พืชทดสอบหรือ ELISA หรือ Lorenzen และคณะ (2003) รายงานว่าสามารถพัฒนาการตรวจสอบไวรัสของมันฝรั่ง (*Potato virus Y*, PVY) หลาย strins ของ PVY^{N}, PVY^{O} จากการทำปฏิกิริยาในการเพิ่มปริมาณ cDNA ในหลอดเดียวกัน โดยอาศัยเทคนิค multiple PCR และทำให้ตรวจจำแนกเชื้อ PVY ได้ถึง 119 ไอโซเลท รวมทั้งสามารถตรวจเชื้อ PVY หลาย strain ที่เข้าทำลายพืชต้นเดียวกัน นอกจากนี้ Olufemi และคณะ (2008) รายงานว่า ได้นำเทคนิค multiplex PCR มาพัฒนาการตรวจสอบไวรัสในมันสำปะหลัง ได้แก่ *African cassava mosaic virus* (ACMV), *East african cassava mosaic Cameroon virus* (EACMCV) โดย 1 ชุดของไพรเมอร์ประกอบด้วย upstream primer ที่พบในทั้ง 2 ไวรัส ส่วนอีก 2 downstream primer มีความจำเพาะกับไวรัสแต่ละชนิด โดยออกแบบไพรเมอร์ที่มีขนาดนิว คลีโอไทด์ 368 คู่เบส สำหรับตรวจ ACMV และ 650 คู่เบส สำหรับตรวจ EACMCV สำหรับอีกชุดของไพรเมอร์ ประกอบด้วยไพรเมอร์ที่ให้ PCR product 540 คู่เบส และ 655 คู่เบส สำหรับตรวจยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคไวรัส EACMCV และ ACMV ตามลำดับ ซึ่งสามารถนำไปใช้ตรวจมันสำปะหลังในแปลงปลูกในประเทศไนจีเรีย อันจะนำไปสู่การคัดเลือกท่อนพันธุ์ปลอดไวรัสต่อไปในอนาคต ฉะนั้น การทดลองครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาการตรวจสอบไวรัสสาเหตุโรคเหี่ยวทั้ง 2 strain (PMWaV-1และ-2) ในปฏิกิริยาเดียวกัน

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ต้นสับปะรดที่เป็นโรคเหี่ยว เกิดจากไวรัส PMWaV-1 และ PMWaV-2
2. ไพรเมอร์ ที่มีความจำเพาะเจาะจงกับไวรัส PMWaV-1 และ PMWaV-2
3. สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดอาร์เอ็นเอ ของไวรัส
4. สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณ cDNA
5. สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค electrophoresis

วิธีการ

1. การออกแบบไพรเมอร์

สืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับลำดับเบส (full length) ของยีนต่างๆที่มีรายงานใน GenBank ของ PMWaV-1 และ PMWaV-2 แล้วออกแบบ primer ให้ครอบคลุมนิวคลีโอไทด์ที่จำเพาะเจาะจงกับไวรัสแต่ละ strain และออกแบบ primer ให้ครอบคลุมนิวคลีโอไทด์ที่พบทั่วไปในไวรัสทั้งสอง strain โดยออกแบบไพรเมอร์ บริเวณ heat shock protein gene ที่มีความจำเพาะต่อไวรัส PMWaV1 ได้แก่ PM1_HS_M_F : 5' CCACTCTGTGTTTCTCTCCAGG 3' และ PM1_HS_M_R : 5'CTCCCAGATAGTTATCTCCCATCG 3' และ ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อไวรัส PMWaV2 ได้แก่ PM2_HS_M_F: 5' CAAGGACGGGTCGGTAATGCTAG 3' และPM2_HS_M_R : 5' CCAACGCTAAACAGTA CGCATACC 3'

2. การสกัด อาร์เอ็นเอ ของเชื้อ PMWaV-1 และ PMWaV-2 จากใบสับปะรด

โดยใช้ชุดสกัดสำเร็จรูป (MasterPure™RNA Purification Kit ของบริษัท EPICENTRE)

2.1 เก็บตัวอย่างพืช 1 – 5 มิลลิกรัม ใช้ทำได้ทันที หรือจะแช่เก็บที่ – 70 °ซ

2.2 ดูด Proteinase K (50 ไมโครกรัม/ไมโครลิตร) 1 ไมโครลิตร ทำให้เจือจางใน 300 ไมโครลิตรของ Tissue and Cell Lysis Solution (1 ตัวอย่าง) ใส่ 5 ไมโครลิตร ในหลอด 1.5 มิลลิลิตร

2.3 บดตัวอย่างพืชใน ไนโตรเจนเหลว และเก็บใส่หลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร

2.4 เติมสารละลาย Tissue and Cell Lysis Solution ซึ่งผสมกับ Proteinase K แล้ว (ข้อ 2.2) 300 ไมโครลิตร และผสมให้เข้ากัน

2.5 นำไปบ่มที่ 65 °ซ นาน 15 นาที (ผสมให้เข้ากันโดยใช้ Vortex ทุกๆ 5 นาที)

นำสารละลายเซลล์พืชที่ได้มาแช่ในน้ำแข็ง นาน 3 – 5 นาที

2.6 เติม MPC Protein Precipitation Reagent 175 ไมโครลิตร. ในสารละลายของ RNA ของเซลล์พืช 300 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้ Vortex นาน 10 วินาที

2.7 นำมาปั่นที่ 10,000 รอบ/นาที นาน 10 นาที

2.8 ทิ้งตะกอน และเก็บส่วนใสใส่หลอดใหม่

2.9 เติม Isopropanal 500 ไมโครลิตร โดยต้องเย็นจัดโดยแช่ที่ -20 °ซ แล้วพลิก

หลอดขึ้นลง 30-40 ครั้ง

2.10 นำสารละลาย มาปั่น 10,000 รอบ/นาที ที่ 4°ซ นาน 10 นาที

2.11 ล้างตะกอนด้วย 75% ethanol 500 ไมโครลิตร แล้ว quick spin (ล้าง 2 ครั้ง)

2.12 dry ตะกอนใน 37°ซ นานประมาณ 2 ชั่วโมง

2.13 ละลายตะกอนของ RNA ที่ได้ใน TE buffer 15-20 ไมโครลิตร

3. ทดสอบและปรับระยะเวลารวมทั้งอุณหภูมิให้เหมาะสมในการสังเคราะห์เพิ่มปริมาณ cDNA โดยเทคนิค Multiplex RT-PCR

นำอาร์เอ็นเอของเชื้อที่ได้จากการแยกสกัด มาทำปฏิกิริยา RT-PCR แบบ OneStep โดยใช้ไพรเมอร์ที่ออกแบบจากบริเวณ heat shock protein gene ที่มีความจำเพาะกับไวรัส PMWaV แต่ละ strain และใช้ชุดสารเคมีของ QIAGEN OneStep RT-PCR ในการเพิ่มปริมาณ complementary DNA (cDNA)

5X QIAGEN OneStep RT-PCR buffer ไมโครลิตร	4.0
dNTP 10 uM (2.5 uM each) ไมโครลิตร	0.8
Primer PM1_HS_M_F (10 uM) ไมโครลิตร	1.2
Primer PM1_HS_M_R (10 uM) ไมโครลิตร	1.2
Primer PM2_HS_M_F (10 uM) ไมโครลิตร	1.2
Primer PM2_HS_M_R (10 uM) ไมโครลิตร	1.2
Enzyme Reverse Transcriptase Hot StarTaq DNA Polymerase ไมโครลิตร	0.8
dH_2O (RNase-free water) ไมโครลิตร	11.0
Template (RNA) ไมโครลิตร	1.0
รวม	**20.0**

นำหลอดที่ผสมปฏิกิริยามาใส่ในเครื่อง Thermal cycler เพื่อสังเคราะห์ cDNA ตาม program ดังนี้

OneStep RT-PCR Profile		
50 °ซ	30 นาที	
95 °ซ	15 นาที	
94 °ซ	45 วินาที	35 รอบ (cycle)
60 °ซ	45 วินาที	
72 °ซ	1 นาที	
72 °ซ	10 นาที	
25 °ซ	15 นาที	

ตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยา PCR ด้วย 2 % agarose gel electrophoresis ที่กระแสไฟฟ้า 100 โวล์ท ใน TAE บัฟเฟอร์ เป็นเวลา 30 นาที

จากนั้นนำ PCR product มาทำให้บริสุทธิ์ แล้วเชื่อมต่อเข้าเวคเตอร์ pGEM-T-Easy และ heat shock เข้าเซลล์แบคทีเรีย *E. coli* (DH5α) และคัดเลือกโคโลนีบนอาหาร 2xYT + ampicillin + IPTG + Xgal เลือกเฉพาะโคโลนีสีขาว เพื่อนำไปเลี้ยงเพิ่มปริมาณบนอาหารเหลว 2xYT จากนั้นสกัดพลาสมิดออก แล้วนำไปตรวจสอบขนาดของชิ้นดีเอ็นเอ โดยเทคนิค PCR พร้อมทั้งส่งตัวอย่างไปตรวจสอบลำดับเบส พบว่า ลำดับเบสตรงตามที่ออกแบบไว้

เวลาและสถานที่ ระยะเวลา ตุลาคม 2553 – กันยายน 2555

สถานที่ - กลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ออกแบบไพรเมอร์

ออกแบบไพรเมอร์ บริเวณ heat shock protein gene ที่มีความจำเพาะต่อไวรัส PMWaV1 ได้แก่ PM1_HS_M_F : 5’ CCACTCTGTGTTTCTCTCCAGG 3’ และ PM1_HS_M_R : 5’CTCCCAGATA GTTATCTCCCATCG 3’ ซึ่งให้แถบดีเอ็นเอขนาด 635 bp และ ไพรเมอร์บริเวณ heat shock gene ที่มีความจำเพาะต่อไวรัส PMWaV2 ได้แก่ PM2_HS_M_F: 5’ CAAGGACGGGTCGGTAATGCTAG 3’ และPM2_HS_M_R : 5’ CCAACGCTAAACAGTA CGCATACC 3’ ซึ่งให้แถบดีเอ็นเอขนาด 380 bp

Sequence PMWaV1 from genome of Heat shock protein gene (ขนาด 690 bp)

ATGGAGGTGGGTATTGATTTTGGCACCACCTATTCCACTCTGTGTTTCTCTCCAGGTAAAGGAAATGATGGTTGTG
TGGTAGAGAGTGACACGATATTTATACCTACTGTCGTTGGTTACAGGAAGGACAACACTCACGCCATAGGTTTGG
GGGCACTGTTGGAAAAAGACTTAGAGGTTTATCGTGATATAAAAAGGTATTTCGGACTCAACAAGTTCAACAAAGA
TGTGTATCTCGATAAATTGAAACCCACAATCGAGGTAGTGATTGACGACTGGGGTTGTTCTATAGGACCAGTAGA
CGGTGCGAGAGGGAAAGCCAAATCAGTTCTCACTTTAGCCTCTGATTTTATAACGGGATTGGTACAACTAGCGAT
CAAGATGACGAATCAACAAGTATCTGTGTCTGTTTGTTCAGTACCAGCAGCTTACAATTCTTATCAAAGGAGTTTT
ATTTTTGAAAGTTGTAAGTTGAGCTCTATAAATGTGCAGGCGGTAGTAAACGAACCGACCGCAGCTGGATTGAGT
GCTTTCATAACTACCCCGAAAGCTTCTGTGAATTATTTGTTAGTCTACGATTTCGGAGGAGGCACTTTTGATAGTT
CCTTACTCGTGGTTGGGCCTGCGTACGTGGGAGTACTGGATTCGATGGGAGATAACTATCTGGGAGGCAGGGACG
TAGATAACA

PMWaV1

Name of primer	Sequence (37-672)	%GC	Tm	Length (Base)	PCR Product (bp)
PM1_HS_M_F	CCACTCTGTGTTTCTCTCCAGG	54.5	56.7	22	635
PM1_HS_M_R	CTCCCAGATAGTTATCTCCCATCG	50	57.38	24	

Sequence PMWaV2 from genome of Heat shock protein gene (ขนาด 610 bp)

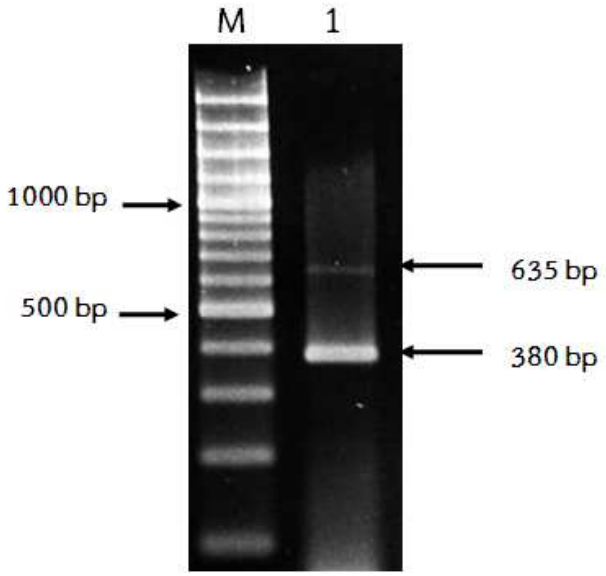
CATACGAACTAGACTCATACGTGCTAAAATTAAAACCAGTGCACAGAGTGGAAGTGTTCAAGGACGGGTCGGTAA
TGCTAGGGGGTATTGGTGAAGGCCCTGATAGGACGGTCTCTGTAACGGATATCATATCCCTTTTTTCTAAAGCACT
TATAAAGGAAGCGGAACAGTCTACTGGACTACGCGTAACGGGTGCGGTGGTAACGGTACCAGCCGACTACAACTC
TTTTAAACGTAGTTTTATAACTAACTGCATGAAAGACTTGGGTATTCCAGTAAGGGCTATAGTAAATGAACCGACC
GCTGCAGCGTTATATTCTTTATCTATATTACAAGAAAAGGATTTATTTCTGTCTGTTTTTGACTTTGGTGGAGGGA
CGTTTGATGTGTCTTTTGTTAGAAAACTCGGAGATGTGGTATGCGTACTGTTTAGCGTTGGCGATAACTTTTTAGG
GGGAAGGGATATCGACAGGGCGGTAGCAGCTGAGGTGAAGGCAAGAGTGGGCGAATCTATTGATACAGCTACATT
GTCATTATTTGCAGCGTCTATTAAAGAGGAGGTGACTAATGAGCCGAGGGCAAAGACGCACGTAGTAAAATTGGT
GGATGG

PMWaV2

Name of primer	Sequence (59-439)	%GC	Tm	Length (Base)	PCR Product (bp)
PM2_HS_M_F	CAAGGACGGGTCGGTAATGCTAG	56	58.84	23	380
PM2_HS_M_R	CCAACGCTAAACAGTACGCATACC	50	57.38	24	

2. ทดสอบและปรับระยะเวลารวมทั้งอุณหภูมิให้เหมาะสมในการสังเคราะห์เพิ่มปริมาณ cDNA โดยเทคนิค Multiplex RT-PCR

ผลการทดลอง พบว่า อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสม ได้แก่ เริ่มจาก 50 °ซ นาน 30 นาที เพื่อสังเคราะห์ cDNA จากนั้นเข้าสู่ปฏิกิริยา PCR เริ่มจาก 95 °ซ นาน 30 นาที, (94 °ซ นาน 45 วินาที , 60 °ซ นาน 45 วินาที , 72 °ซ นาน 60 วินาที) รวม 35 รอบตามด้วย 72 °ซ นานอีก 10 นาที 25 °ซ นานอีก 15 นาที หลังจากนั้นนำ PCR product ที่ได้ไปตรวจสอบขนาดของชิ้นดีเอ็นเอด้วยวิธี gel electrophoresis ใน 2% agarose ที่ 100 V. นาน 35-40 นาที พบว่าไวรัส PMWaV1 ให้แถบสีขาวขนาด 635 bp ส่วนไวรัส PMWaV2 ให้แถบสีขาวขนาด 380 bp (ภาพที่ 1) จากนั้นนำ PCR product มาทำให้บริสุทธิ์ แล้วเชื่อมต่อเข้าเวคเตอร์ pGEM-T-Easy และ heat shock เข้าเซลล์แบคทีเรีย *E. coli* (DH5a) และคัดเลือกโคโลนีบนอาหาร 2xYT +ampicillin +IPTG + Xgal เลือกเฉพาะโคโลนีสีขาว เพื่อนำไปเลี้ยงเพิ่มปริมาณบนอาหารเหลว 2xYT จากนั้นสกัดพลาสมิดออก แล้วนำไปตรวจสอบขนาดของชิ้นดีเอ็นเอ โดยเทคนิค PCR พร้อมทั้งส่งตัวอย่างไปตรวจสอบลำดับเบส พบว่า ลำดับเบสตรงตามที่ออกแบบไว้



ภาพที่ 1. ผลวิเคราะห์การตรวจสอบดีเอ็นเอของไวรัส PMWaV-1 และ PMWaV-2 ของสับปะรดโดย

เทคนิค Multiplex RT-PCR ใช้ไพรเมอร์ PM1_HS_M_F และ PM1_HS_M_R สำหรับ

PMWaV-1และใช้ไพรเมอร์ PM2_HS_M_F และ PM2_HS_M_R สำหรับ PMWaV-2

M : ดีเอ็นเอมาตรฐาน (100 bp. DNA Ladder)

1 : ต้นสับปะรดเป็นโรคที่เกิดจาก PMWaV-1 + PMWaV-2

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การพัฒนาวิธีการตรวจสอบไวรัสสาเหตุโรคเหี่ยวสับปะรดทั้ง 2 strain (PMWaV-1 และ PMWaV-2) ในปฏิกิริยาเดียวกัน โดยอาศัยเทคนิค Multiplex RT-PCR เริ่มจากการออกแบบไพรเมอร์บริเวณ heat shock protein gene ที่มีความจำเพาะต่อไวรัส PMWaV-1 ได้แก่ PM1_HS_M_F : 5’ CCACTCTGTGTTTC TCTCCAGG 3’ และ PM1_HS_M_R : 5’CTCCCAGATA GTTATCTCCCATCG 3’ และ ไพรเมอร์บริเวณ heat shock gene ที่มีความ จำเพาะต่อไวรัส PMWaV-2 ได้แก่ PM2_HS_M_F: 5’ CAAGGACG GGTCGGTAATGCTAG 3’ และPM2_HS_M_R : 5’ CCAACGCTAAA CAGTA CGCATACC 3’ จากนั้นการสกัด อาร์เอ็นเอ ของเชื้อ PMWaV-1 และ PMWaV-2 จากใบสับปะรดเป็นโรค โดยใช้ชุดสกัดสำเร็จรูป (MasterPure^{TM}RNA Purification Kit ของบริษัท EPICENTRE) แล้วนำมาทดสอบและปรับระยะเวลารวมทั้งอุณหภูมิให้เหมาะสมในการสังเคราะห์เพิ่มปริมาณ cDNA โดยเทคนิค Multiplex RT-PCR พบว่า อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสม ได้แก่ เริ่มจาก 50 $^{\circ}$C นาน 30 นาที เพื่อสังเคราะห์ cDNA จากนั้นเข้าสู่ปฏิกิริยา PCR เริ่มจาก 95

°C นาน 30 นาที, (94 °C นาน 45 วินาที , 60 °C นาน 45 วินาที , 72 °C นาน 60 วินาที) รวม 35 รอบตามด้วย 72 °C นานอีก 10 นาที 25 °C นานอีก 15 นาที หลังจากนั้นนำ PCR product ที่ได้ไปตรวจสอบขนาดของชิ้นดีเอ็นเอด้วยวิธี gel electrophoresis ใน 2% agarose ที่ 100 V. นาน 35-40 นาที พบว่าไวรัส PMWaV1 ให้แถบสีขาวขนาด 635 bp ส่วนไวรัส PMWaV2 ให้แถบสีขาวขนาด 380 bp จากนั้นนำ PCR product มาทำให้บริสุทธิ์ แล้วเชื่อมต่อเข้าเวคเตอร์ pGEM-T-Easy และ heat shock เข้าเซลล์แบคทีเรีย *E. coli* (DH5a) และคัดเลือกโคโลนีบนอาหาร 2xYT +ampicillin +IPTG + Xgal เลือกเฉพาะโคโลนีสีขาว เพื่อนำไปเลี้ยงเพิ่มปริมาณบนอาหารเหลว 2xYT จากนั้นสกัดพลาสมิดออก แล้วนำไปตรวจสอบขนาดของชิ้นดีเอ็นเอ โดยเทคนิค PCR พร้อมทั้งส่งตัวอย่างไปตรวจสอบลำดับเบส พบว่า ลำดับเบสตรงตามที่ออกแบบไว้

เอกสารอ้างอิง

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

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

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

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

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

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

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.

Lorenzen, J.H., L.M. Piche, N.C. Gudmestad, T. Meacham and P. Shiel. 2006. A multiplex PCR assay to characterize Potato virus Y isolates and identify strain mixtures. Plant Disease. 90 (7): 935-940.

Menzel, W., W. Jelkmann and E. Maiss. 2002. Detection of four apple viruses by multiplex RT-PCR assays with coamplification of plant mRNA as internal control. J. of Virol. Methods. 99 (1-2): 81-92.

Olufemi J., P. Alabi, Lava Kumar and R.A. Naidu. 2008. Multiplex PCR for the detection of *African cassava mosaic virus* and *East African cassava mosaic Cameroon virus* in cassava. J. of Virol. Methods. 154 (1-2): 111-120.

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.

การตรวจสอบเชื้อไฟโตพลาสมา สาเหตุโรคพุ่มแจ้ (witches' broom) ของมันสำปะหลังโดยเทคนิคทางอณูชีววิทยา

Invsetigation of Phytoplasma Causing Cassava Witches' Broom Disease by Molecular Biology

กาญจนา วาระวิชะนี ปริเชษฐ์ ตั้งกาญจนภาสน์ วันเพ็ญ ศรีทองชัย

กลุ่มงานไวรัสวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

มันสำปะหลังเป็นพืชที่ใช้ประโยชน์ทั้งการแปรรูปเพื่อการบริโภค และใช้เป็นอาหารสัตว์ ในปัจจุบันแผนยุทธศาสตร์ของประเทศได้กำหนดให้มันสำปะหลังเป็นพืชทดแทนพลังงานเพื่อใช้ประโยชน์ในการผลิตเอทานอล จึงต้องมีการเพิ่มพื้นที่ในการปลูกมากขึ้น ในเดือนเมษายน ปี 2551 เกิดมีการระบาดของเพลี้ยแป้งเข้าทำลายมันสำปะหลังที่.อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา ต่อมา รศ.ณรงค์ 2552 ได้มีรายงานว่าสำรวจพบโรคพุ่มแจ้ (Phyllody) มันสำปะหลัง ที่เกิดจากเชื้อไฟโตพลาสมา แพร่ระบาดไปตามพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังจังหวัด ได้แก่ ชลบุรี ระยอง จันทบุรี ตราด สระแก้ว นครนายก ปราจีนบุรี เป็นต้น สำหรับประเทศไทยยังมีผู้ศึกษาโรคนี้น้อยมากและยังไม่มีหลักฐานของข้อมูลใดปรากฏว่าพบโรคพุ่มแจ้ (witches' broom) มันสำปะหลังในประเทศไทย ในปี 2554 ตรวจตัวอย่างสำปะหลังที่แสดงอาการคล้ายเชื้อไฟโตพลาสมาในพื้นที่ปลูกของประเทศไทยทางภาคตะวันออก ได้แก่ จังหวัดจันทบุรี ระยอง ชลบุรี ฉะเชิงเทรา และปราจีน และอีสานได้แก่ จังหวัดบุรีรัมย์ นครราชสีมา ชัยภูมิ ร้อยเอ็ด มหาสารคาม ขอนแก่น กาฬสินธุ์ และอุดรธานี ด้วยuniversal ในส่วน 16s ribosomal RNA ด้วย primer 2 คู่ คือ P1/P7 และ R16F2/R2 จากการตรวจสอบยังไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อไฟโตพลาสมาในทุกตัวอย่าง

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-03-02-06-54

คำนำ

เชื้อไฟโตรพลาสมามีลักษณะลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยทั่วไปจะคล้ายกับแบคทีเรียมีขนาดเล็กที่สุด แต่ไม่มีผนังเซลล์ รูปร่างไม่แน่นอนมีขนาด 80-900 นาโนเมตร เป็นเชื้อสาเหตุโรคพืช สามารถพบเชื้ออยู่ในกลุ่มเซลล์ท่ออาหารของต้นพืช (Shikata *et. al.,* 1969) ลักษณะอาการของโรคพุ่มแจ้ (witches' broom) มันสำปะหลัง ที่พบ คือ ยอดมันสำปะหลังแตกพุ่มฝอยมากกว่าปกติ และมีขนาดเล็ก ใบมีสีเหลืองซีดใบที่เป็นโรคจะเริ่มแห้งตายจากใบล่างขึ้นไปถึงที่ปลายยอด ต่อมากิ่งก้านเกิดอาการแห้งตายจากยอด (Die back) ลำต้นแสดงอาการแคระแกรน ผลผลิตหัวลดลง (Martiez-Lopez., 1977) Elizabeth *et al.,* (2007) ได้รายงานว่าพบโรค cassava Frogskin disease (CFSD) ที่เกิดจากเชื้อไฟโตรพลาสมาซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม 16SrIII ribosomal และโรคนี้ทำลายผลผลิตถึง 90 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่การปลูกมันสำปะหลังของประเทศโคลัมเบีย บราซิล เวเนซูเอร่า และปานามา อาการจะพบที่ระบบรากมีลักษณะยาวผิดปกติ และมีชั้น cortex หรือ ชั้น epidermis ที่มีความหนากว่าพืชปกติ ถ้าอาการเป็นรุนแรงมากระบบรากจะแห้งตายในที่สุด ในเดือนเมษายน ปี 2551 เกิดมีการระบาดของเพลี้ยแป้งเข้าทำลายมันสำปะหลังที่.อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา พบความเสียหายของการทำลายในพื้นที่ปลูกประมาณ 3000,000 ไร่ (http://www.pandintong.com/ViewContent.php?ContentID=3971, 24 สิงหาคม 2552) ต่อมา รศ.ณรงค์ 2552 ได้มีรายงานว่าสำรวจพบโรคพุ่มแจ้ (Phyllody) มันสำปะหลัง ที่เกิดจากเชื้อไฟโตพลาสมา แพร่ระบาดไปตามพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังจังหวัด ได้แก่ ชลบุรี ระยอง จันทบุรี ตราด สระแก้ว นครนายก ปราจีนบุรี เป็นต้น ซึ่งเป็นพื้นที่ที่มีการระบาดของเพลี้ยแป้งด้วย ขณะนี้จึงทำให้เกิดความสับสนขึ้นว่าอาการที่ปรากฏกับมันสำปะหลังเกิดจากเพลี้ยแป้งอย่างเดียวหรือเกิดจากเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคพุ่มแจ้ (witches' broom) ร่วมเข้าทำลายด้วย เพราะลักษณะอาการที่พืชแสดงคล้ายคลึงกันมาก เช่น ยอดมันสำปะหลังแตกพุ่มฝอยมากกว่าปกติ ใบมีขนาดเล็ก และมีสีเหลืองซีดที่ใบ เป็นต้น สำหรับประเทศไทยยังมีผู้ศึกษาโรคนี้น้อยมากและยังไม่มีหลักฐานของข้อมูลใดปรากฏว่าพบโรคพุ่มแจ้ (witches' broom) มันสำปะหลังในประเทศไทย จึงต้องเร่งสำรวจเพื่อสาเหตุที่แท้จริงว่าเกิดจากศัตรูพืชชนิดใดและทำการป้องกันกำจัดให้ถูกต้องตามสาเหตุนั้นๆ เพื่อลดความเสี่ยงที่จะเกิดขึ้นกับผลผลิตได้ทันท่วงที พร้อมทั้งหาวิธีการตรวจวินิจฉัยว่าที่รวดเร็ว แม่นยำสูง ควบคู่ไปด้วย เช่น ตรวจด้วยเทคนิคทางด้านอณูชีวิทยา เป็นต้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างมันสำปะหลังที่แสดงอาการคล้ายเชื้อไฟโตพลาสมาในพื้นที่ปลูกของประเทศไทยทางภาคตะวันออก ได้แก่ จังหวัดจันทบุรี ระยอง ชลบุรี ฉะเชิงเทรา และปราจีน และอีสาน ได้แก่ จังหวัด บุรีรัมย์ นครราชสีมา ชัยภูมิ ร้อยเอ็ด มหาสารคาม ขอนแก่น กาฬสินธุ์ และอุดรธานี

2. อุปกรณ์ทางการเกษตร ได้แก่ โรงเรือน กระถาง ตระกร้า ดิน ถุงปลูก ปุ๋ย และป้ายชื่อ

3. อุปกรณ์ด้านวิทยาศาสตร์ ได้แก่ ตู้แช่แข็ง -20°C อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath shaker) เครื่องชั่งละเอียด เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูงควบคุมอุณหภูมิ (Centrifuge) เครื่อง Thermal cycler และเครื่อง Gel electrophoresis

4. สารเคมีวิทยาศาสตร์ ไนโตรเจนเหลวสารประกอบ CTAB buffer (2% CTAB, 100 mM Tris-HCl, pH 8.0, 20 mM EDTA, 1.4 M NaCl, 1.0% Na2SO3 และ 2.0% PVP-40; Na2SO3 และ PVP-40), เอ็นไซม์ Taq DNA Polymerase, Recombinant (Invitrogen), GeneRuler 100 bp DNA Ladder (Fermentas), Chloroform: Isoamyl alcohol (24:1) และ Ethanol

วิธีการ

1. สืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคพุ่มแจ้ (witches' broom) ของมันสำปะหลังจากข้อมูลที่เคยมีรายงานมาเพื่อใช้ประกอบการวิจัย

2. สำรวจและเก็บตัวอย่างเชื้อไฟโตพลาสมามันสำปะหลังที่แสดงอาการคล้ายเชื้อไฟในพื้นที่ปลูกสำคัญของประเทศไทยตัวอย่างาในพื้นที่ปลูกของประเทศไทยทางภาคตะวันออก ได้แก่ จังหวัดจันทบุรี ระยอง ชลบุรี ฉะเชิงเทรา และปราจีน และอีสาน ได้แก่ จังหวัด บุรีรัมย์ นครราชสีมา ชัยภูมิ ร้อยเอ็ด มหาสารคาม ขอนแก่น กาฬสินธุ์ และอุดรธานี

3. ทำการเก็บใบพืชและเก็บท่อนพันธุ์ที่แสดงอาการโรคจากที่สำรวจมาเพื่อใช้ทดสอบต่อไปด้วยวิธีการ ดังนี้

3.1 ทำการเก็บใบมันสำปะหลังแบบแห้งแล้วเก็บไว้ที่ - 20 องศาเซลเซียล เพื่อใช้ทดสอบต่อในขั้นต่อไป

3.2 ทำการเก็บใบใบมันสำปะหลังแบบสดแล้วเก็บไว้ที่ - 20 องศาเซลเซียล เพื่อใช้ทดสอบต่อในขั้นต่อไป

3.3 ทำการปลูกท่อนพันธุ์ในกระถางปลูกภายในโรงเรือนกันแมลงเพื่อใช้ทดสอบต่อในขั้นต่อไป

4. สกัดดีเอ็นเอของเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคพุ่มแจ้ (witches' broom) ของมันสำปะหลังด้วยวิธีที่เหมาะสม CTAB method (Doyle and Doyle, 1990) เป็นต้น แล้วเก็บดีเอ็นเอที่สกัดแล้วไว้ที่ - 20 องศาเซลเซียล เพื่อใช้ทดสอบต่อในขั้นต่อไป

5. เลือกไพร์เมอร์ที่มีรายงานไว้ในส่วน 16s ribosomal RNA คือ P1/P7 และ R16F2n & R16R2 ที่ขนาดประมาณ 1,200 เบส ที่มีความเฉพาะต่อกับเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคพุ่มแจ้ (witches' broom) ของมันสำปะหลัง โดยใช้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของส่วนยีนที่มีศักยภาพเหมาะสมจาก GenBank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Entrez) และนำมาออกแบบไพร์เมอร์โดยอาศัยโปรแกรม GeneFisher

6. รวบรวม วิเคราะห์ และรายงานผลการทดสอบ

7. สรุปผลและเขียนรายงานผลการวิจัย

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา ตุลาคม 2553-กันยายน 2554

สถานที่ กลุ่มงานไวรัสวิทยาและโรงเรือนทดลอง ของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการตรวจดีเอ็นเอตัวอย่างสำปะหลังที่แสดงอาการคล้ายเชื้อไฟโตพลาสมาในพื้นที่ปลูกของประเทศไทยทางภาคตะวันออก ได้แก่ จังหวัดจันทบุรี ระยอง ชลบุรี ฉะเชิงเทรา และปราจีน และอีสาน ได้แก่ จังหวัด บุรีรัมย์ นครราชสีมา ชัยภูมิ ร้อยเอ็ด มหาสารคาม ขอนแก่น กาฬสินธุ์ และอุดรธานี ด้วยเทคนิค PCR เลือกใช้ไพรเมอร์ที่มีรายงานไว้แล้ว 2 คู่ ได้แก่ P1 & P7 และ R16F2n & R16R2 ผลการตรวจสอบในปี 2554 ไม่พบเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคพุ่มแจ้ของมันสำปะหลัง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

นำดีเอ็นเอของมันสำปะหลังที่สกัดด้วยวิธี CTAB buffer (จากพื้นที่ปลูกทางภาคตะวันออกและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ) มาทำการตรวจหาเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคพุ่มแจ้ของมันสำปะหลังด้วยเทคนิค PCR เลือกใช้ไพรเมอร์ที่มีรายงานไว้แล้ว 2 คู่ ได้แก่ P1 & P7 และ R16F2n & R16R2 ผลการทดสอบในปี 2554 ไม่พบเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคพุ่มแจ้ของมันสำปะหลังในทุกตัวอย่างที่ทำการตรวจสอบ

เอกสารอ้างอิง

รศ.ณรงค์ สิงห์บุระอุดม. 22 มกราคม 2552 : การเฝ้าระวังโรคระบาดพืช ;โรคพุ่มแจ้ มันสำปะหลัง (Phyllody). ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. สืบค้นจาก : http://www.pandintong.com/ViewContent.php?ContentID=3971 (24 สิงหาคม 2552)

Doyle, J.J. and Doyle, J.L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus 12: 13-15.

Elizabeth A., M. Juan Fernando, L. German Alberto and L. John Bernard. 2007. Detection and characterization of a phytoplasma associated with frog skin disease in cassava. Bulletin of Insectology 60 (2) : 273-274.

Martiez-Lopez., G. 1977. American virus and mycoplasma disease of cassava. Proc. Cassava Protection Workshop Ser. CE-14 : 85-87.

Shikata, E., W.S. Teng and T. Matsumoto, 1969. Mycoplasma or PLT-like micre-organism detected in leaf of sugarcane plant infected with white leaf disease and suppression of the disease symptoms by the antibiotics of tetra cycline grop , J.Fac. Agri., Hokkaido Univ. 56(2) : 70-90

พัฒนาเทคนิคการตรวจสอบเชื้อไฟโตพลาสมา สาเหตุโรคใบขาวอ้อย ด้วยกรดนิวคลีอิกตัวตรวจ

Development of the Detection Phytoplasma of Sugarcane White Leaf Disease by Nucleic Acid Probe

กาญจนา วาระวิชะนี วันเพ็ญ ศรีทองชัย ปริเชษฐ์ ตั้งกาญจนภาสน์

กลุ่มงานไวรัสวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

อ้อยเป็นพืชอุตสาหกรรมหลักอีกชนิดหนึ่งของประเทศไทยที่นำรายได้เข้าประเทศในปีหนึ่งๆ มากกว่าหมื่นล้านบาท และในปัจจุบันอ้อยยังเป็นวัตถุดิบที่สำคัญอย่างหนึ่งในอุตสาหกรรมการผลิตเอทานอล จากศักยภาพดังกล่าวจึงต้องมีการขยายพื้นที่ปลูกให้เพิ่มมากขึ้นซึ่งส่วนใหญ่อยู่ทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ แต่ผลผลิตที่ได้ต่อหน่วยพื้นที่ปลูกกลับมีแนวโน้มลดลง ปัญหาที่สำคัญอย่างหนึ่งที่ทำให้อ้อยสูญเสียผลผลิตไปมาก คือ ปัญหาของโรคใบขาวที่เกิดจากเชื้อไฟโตพลาสมา ในปัจจุบันยังไม่มีเทคโนโลยีใดที่สามารถแก้ไขปัญหานี้ได้ ดังนั้นวิธีการควบคุมการแพร่ระบาดของโรคที่ดีที่สุด คือ การปลูกอ้อยโดยใช้ท่อนพันธุ์ที่ปราศจากโรค ควบคู่กับการจัดการในแปลงผลิต ดังนั้น วิธีการตรวจสอบที่มีความแม่นยำจึงสามารถตรวจการปนเปื้อนโรคโดยทำการออกแบบไพร์เมอร์ 1 คู่ ในส่วนของ Sec A gene คือ SecA-F/ SecA-R ที่ให้แถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 400 เบส นำมาใช้เทียบกับ universal primer 2 คู่ ในส่วน 16s ribosomal RNA คือ P1/P7 และ R16F2/R2 ที่ให้แถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 1,200 เบส แล้วนำผลผลิตที่ให้แถบดีเอ็นเอไปสร้างกรดนิวคลีอิกตัวตรวจที่มีความจำเพาะต่อเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อยต่อไป

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-03-02-07-54

คำนำ

โรคใบขาวอ้อยเกิดจากเชื้อไฟโตรพลาสมามีลักษณะคล้ายกับแบคทีเรียขนาดเล็กที่สุด แต่ไม่มีผนังเซลล์ รูปร่างไม่แน่นอนมีขนาด 80-900 นาโนเมตร มีแมลงพาหะคือเพลี้ยจักจั่นสีน้ำตาล สามารถพบเชื้ออยู่ในกลุ่มเซลล์ท่ออาหารของต้นอ้อย อ้อยที่ถูกเชื้อเข้าทำลายจะมีใบสีขาว ต้นแคระแกรน ใบแคบ เรียวเล็กกว่าปกติ แตกหน่อเร็ว ส่วนหน่อที่แตกใหม่จะมีสีขาวมีลักษณะคล้ายกอตะไคร้ หากเป็นมากอ้อยจะตายภายใน 2-4 เดือน โรคใบขาวอ้อยสามารถติดไปได้กับท่อนพันธุ์ จึงเป็นปัญหาอย่างมากถ้าอ้อยมีอาการแฝงของโรคอยู่ หากเกษตรกรนำอ้อยที่มีอาการแฝงไปขยายพันธุ์จะทำให้เกิดการแพร่ระบาดของโรคอย่างกว้างขวางและรวดเร็วมากขึ้นหากเพลี้ยจักจั่นสีน้ำตาลช่วยถ่ายทอดโรคในสภาพแปลงปลูก ซึ่งในขณะนี้วิธีการควบคุมการแพร่ระบาดของโรคที่ดีที่สุด คือ การใช้ท่อนพันธุ์ที่สะอาดปราศจากโรค จึงเป็นที่มาของวิจัยเพื่อพัฒนากรดนิวคลีอิกตัวตรวจโรคใบขาวในอ้อยขึ้น เรียกว่าเทคนิคนิวคลีอิกไฮบริไดเซชั่น (nucleic acid hybridization) ซึ่งเทคนิคนี้สามารถตรวจหาดีเอ็นเอเป้าหมายได้ถึงระดับยีนโดยอาศัยหลักการจับคู่กันของลำดับเบสคู่สม โดยทั่วไปวิธีการนี้มีไวและความจำเพาะสูงในการตรวจจับกรดนิวคลีอิกของไฟโตรพลาสมาถึงแม้ว่าเชื้อจะมีปริมาณน้อยกรดนิวคลีอิกตัวตรวจก็มีประสิทธิภาพในการตรวจจับได้ดี เมื่อทำการผลิตกรดนิวคลีอิกตัวตรวจมาแล้วยังสามารถเก็บไว้ได้นานและสามารถเพิ่มปริมาณได้ง่ายเมื่อต้องการใช้งาน และที่สำคัญกรดนิวคลีอิกตัวตรวจนี้สามารถใช้จำแนกเชื้อสาเหตุได้ถึงระดับสายพันธุ์ (พรทิพย์ และคณะ 2541) (Klinkong *et. al.,* 1993) แต่อย่างไรก็ตามก่อนการสร้างกรดนิวคลีอิกตัวตรวจที่มีประสิทธิภาพสูงนั้นต้องหายีนที่เหมาะสมก่อนเพื่อให้สามารถตรวจจับเชื้อสาเหตุโรคได้อย่างแม่นยำ จึงต้องทำการออกแบบไพร์เมอร์ที่มีความจำเพาะสูงกับเชื้อเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อย แล้วนำมาเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค PCR แล้วนำไปผลิตเป็นกรดนิวคลีอิกตัวตรวจที่มีความจำเพาะสูงเป็นลำดับต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างโรคอ้อยใบขาว
2. อุปกรณ์ทางการเกษตร ได้แก่ โรงเรือน กระถาง ตระกร้า ดิน ถุงปลูก ปุ๋ย และป้ายชื่อ
3. อุปกรณ์ด้านวิทยาศาสตร์ ได้แก่ ตู้แช่แข็ง -20°C อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath shaker) เครื่องชั่งละเอียด เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูงควบคุมอุณหภูมิ (Centrifuge) เครื่อง Thermal cycler และเครื่อง Gel electrophoresis
4. สารเคมีวิทยาศาสตร์ เช่น ไนโตรเจนเหลว สารประกอบ CTAB buffer เอ็มไซด์ (Roch) Chlorofrom และ Ethanol

วิธีการ

1. เก็บตัวอย่างโรคอ้อยใบขาว จากแปลงปลูกอ้อยจังหวัดกาญจนบุรี แล้วนำท่อนพันธุ์จากแปลงที่ไปสำรวจมาเก็บไว้ในเรือนทดลองเพื่อใช้เป็นแหล่งเชื้อต่อไป

2.สืบค้นข้อมูลส่วนยีนของเชื้อไฟโตพลาสมาที่มีศักยภาพเหมาะสมเพื่อนำมาสร้างเป็นกรดนิวคลีอิกตัวตรวจที่มีประสิทธิภาพสูง ด้วยการสืบค้นข้อมูลจากรายงานต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับเชื้อในกลุ่มไฟโตรพลาสมา หรือกลุ่มใกล้เคียง เช่น เชื้อในกลุ่มไมโครพลาสมา เป็นต้น

3.ทำการออกแบบไพร์เมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงสูงกับเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อยโดยใช้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของส่วนยีนที่มีศักยภาพเหมาะสมจาก GenBank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Entrez) เพื่อนำมาออกแบบไพร์เมอร์โดยอาศัยโปรแกรม GeneFisher (http://www.bibiserv.techfak.unibielefeld.de/genefisher/)

4. หาวิธีการสกัดดีเอ็นเอของเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อย

5. ทำการสังเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ ด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) ในส่วน 16s ribosomal RNA โดย universal primer 2 คู่ คือ P1/P7 และ R16F2/R2 ที่ขนาด และ ในส่วน Sec A โดย primer 1 คู่ คือ SecA-F/ SecA-R

7. ตรวจสอบผล PCR ด้วยเทคนิค Gel electrophoresis

8. รวบรวม วิเคราะห์ และรายงานผลการทดสอบ

9. สรุปผลและเขียนรายงานผลการวิจัย

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา ตุลาคม 2553-กันยายน 2554

สถานที่ กลุ่มงานไวรัสวิทยาและโรงเรือนทดลอง ของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ได้ตัวอย่างโรคอ้อยใบขาวจากแปลงปลูกอ้อย จ.กาญจนบุรี เป็นแหล่งเชื้อใช้ทดสอบต่อไป

ได้วิธีการสกัดดีเอ็นเอที่เหมาะนำไปใช้สกัดเชื้อไฟโตรพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อย คือ CTAB buffer (Doyle and Doyle, 1990) ซึ่งมีส่วนประกอบ ดังนี้ สารละลาย CTAB extraction buffer (2% CTAB, 100 mM Tris-HCl, pH 8.0 ; 20 mM EDTA, pH 8.0; 1.4 M NaCl, 1.0% Na2SO3 หรือ 2% 2-mercaptoethanol และ 2.0% PVP-40)

ได้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของส่วนยีนที่มีศักยภาพเหมาะสมจาก GenBank สำหรับนำมาออกแบบไพร์เมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงสูงกับเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อยคือยีนในส่วน Sec A โดยออกแบบไพร์เมอร์ 1 คู่ คือ SecA-F/ SecA-R ที่ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 400 เบส เพื่อนำมาใช้เทียบกับ universal primer 1 คู่ ในส่วน 16s ribosomal RNA คือ P1/P7 และ R16F2/R2 ที่ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 1,200 เบส แล้วนำผลผลิตที่ให้แถบดีเอ็นเอไปสร้างกรดนิวคลีอิกตัวตรวจที่มีความจำเพาะต่อเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อยต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ตัวอย่างโรคอ้อยใบขาวจากแปลงปลูกอ้อย จ.กาญจนบุรี สามารถสกัดเชื้อไฟโตรพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อย คือ CTAB buffer (Doyle and Doyle, 1990) โดยสามารถนำมาสังเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ ด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) ด้วยไพร์เมอร์ในส่วน Sec A โดย primer 1 คู่ คือ SecA-F/ SecA-R ที่ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 400 เบส ซึ่งคู่ไพร์เมอร์นี้สามารถตรวจเชื้อใบขาวอ้อยได้เหมือนไพร์เมอร์ในส่วน ในส่วน 16s ribosomal RNA คือ P1/P7 และ R16F2/R2 ที่ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 1,200 เบส แล้วนำผลผลิตที่ให้แถบดีเอ็นเอไปสร้างกรดนิวคลีอิกตัวตรวจที่มีความจำเพาะต่อเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อยต่อไป

เอกสารอ้างอิง

พรทิพย์ วงศ์แก้ว, ยุพา หาญบุญทรง พิศาล ศิริธร สมคิด บุญครอง และชุตินันท์ ชูสาย. 2541. การพัฒนาเทคนิคการตรวจเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อยในระดับไร่โดยวิธี DNA probe. รายงานการประชุมวิชาการอ้อยและน้ำตาลทรายแห่งชาติครั้งที่ 3, หน้า 50-61. กรุงเทพฯ. สมาคมวิชาการอ้อยและน้ำตาลทรายแห่งชาติร่วมกับสำนักคณะ กรรมการอ้อยและน้ำตาล.

Klinkong, S. and E. Seemuller, 1993. Detection and differentiation of the mycoplasmalike organism associated with sugarcane white leaf disease using cloned extrachromosomal DNA probe. Kasetsart J.27 : 98-103.

Doyle, J.J. and Doyle, J.L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus 12: 13-15.

2083

การจำแนกสายพันธุ์ *Bacillus thuringiensis* ที่พบในประเทศไทย โดยเทคนิค PCR

The Isolation of *Bacillus thuringiensis* strains in Thailand by PCR Identification

ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ อิศเรส เทียนทัด

สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี รัตนา นชะพงศ์

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

จากคัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ของกรมวิชาการเกษตรที่สามารถควบคุมหนอนกระทู้หอมและหนอนกระทู้ผักได้มากกว่า 80% จำนวน 11 และ 55 isolate ตามลำดับ นำมาเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารเลี้ยงเชื้อ ก่อนนำไปทดสอบกับหนอนกระทู้หอมและหนอนกระทู้ผักวัย 2 พบว่า ไม่มี isolate ใดสามารถทำให้หนอนกระทู้หอมตายมากกว่า 80% มี 7 isolate ที่ทำให้หนอนกระทู้ผักตายตั้งแต่ 80% ได้แก่ 320-3 14-14 281-4 27-1 7-1 และ 320-20 14-4 ตามลำดับ เมื่อนำเชื้อทั้ง 7 isolate ไปตรวจสอบด้วยวิธี PCR โดยใช้อุณหภูมิ 94°C 5 นาที จำนวน 1 รอบ อุณหภูมิ 94°C 1 นาที อุณหภูมิ 54°C 1 นาที อุณหภูมิ 72°C 1 นาที จำนวน 30 รอบ และใช้อุณหภูมิ 72°C 10 นาที จำนวน 1 รอบ จากนั้นนำไปตรวจสอบด้วยวิธี electrophoresis พบว่าเชื้อทั้ง 7 isolate มี *cry* โปรตีนเป็นชนิด *Cry 1AC* ซึ่งเป็นชนิดที่สามารถควบคุมหนอนผีเสื้อได้ดี และจะนำเชื้อ *Bacillus thuringiensis* ของกรมวิชาการเกษตรซึ่งมีจำนวนมาก มาทำการศึกษาต่อไป

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-03-03-01-54

คำนำ

แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* (Bt) เป็นแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติพิเศษที่สามารถสร้างสาร toxin ภายในเซลล์พร้อม ๆ กับการสร้าง spore สาร toxin นี้มีคุณสมบัติทำลายแมลงศัตรูพืชหลายชนิดได้ดี โสธร (2512) ได้รายงานว่าเชื้อ *Bacillus thuringiensis* ได้ถูกนำเข้ามาในประเทศไทย ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2512 โดยมีจุดประสงค์เพื่อนำมาใช้ควบคุมหนอนใยผัก *Plutella xylostella* และหนอนคืบกะหล่ำปลี *Trichoplusia ni* ซึ่งดื้อต่อสารฆ่าแมลง ต่อมาได้มีการนำ Bt สายพันธุ์ใหม่ ๆ เช่น *aizawai* สามารถควบคุมแมลงศัตรูพืชได้กว้างขวางขึ้น (อัจฉรา, 2539) จากปัญหาของหนอนใยผักดื้อต่อสารเคมีกำจัดแมลงได้อย่างรวดเร็ว เป็นผลทำให้กสิกรต้องใช้สารเคมีกำจัดแมลงที่มีฤทธิ์รุนแรงมากขึ้น พิษตกค้างของสารฆ่าแมลงบนพืชผักจึงมีสูงขึ้น ผู้บริโภคประสบอันตรายจากสารพิษบนพืชผักเพิ่มมากขึ้น อัจฉราและคณะ (2527) ได้นำ Bt ที่ผลิตได้มาควบคุมหนอนใยผักบนกะหล่ำปลีอย่างได้ผล วินัย (2533) ได้นำ Bt ไปใช้ในการบริหารแมลงศัตรูพืชผักตระกูลกะหล่ำ โดยนำไปใช้ลดและทดแทนสารฆ่าแมลง และได้มีการแนะนำให้ใช้ Bt ควบคุมแมลงศัตรูผักมากขึ้น อัจฉราและคณะ (2536) นำ Bt มาใช้ควบคุมหนอนผีเสื้อศัตรูส้มเขียวหวานได้ 3 ชนิด คือ หนอนแปะใบส้ม หนอนผีเสื้อกินใบส้ม และหนอนเจาะสมอฝ้าย การนำ Bt ไปใช้ประโยชน์ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชช่วยลดปัญหาผลกระทบของสารฆ่าแมลงและพิษตกค้างของสารฆ่าแมลงได้เป็นอย่างดี

การคัดเลือกสายพันธุ์ Bt จากแหล่งต่าง ๆ ของประเทศไทย นอกจากจะได้สายพันธุ์ใหม่ที่เป็นข้อมูลของความหลากหลายทางชีวภาพแล้ว อาจได้สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูงขึ้น และสามารถทำลายแมลงได้มากชนิดขึ้นอีกด้วย เนื่องจากเชื้อ Bt แต่ละสายพันธุ์สร้างโปรตีนที่มีความเป็นพิษต่อแมลงศัตรูพืชต่างชนิดกัน ซึ่งการสร้างนี้ถูกควบคุมโดยยีนที่ต่างกัน Höfte และ Whiteley (1989) จึงได้จัดระบบอนุกรมวิธานของโปรตีนและยีนที่ควบคุมแต่ละชนิดว่า “*cry* ” และเรียกโปรตีนที่สร้างขึ้นว่า “Cry” การในการจำแนกสายพันธุ์ของ Bt โดยการศึกษารูปร่างลักษณะของผลึกโปรตีนของสารพิษ (toxin) จากกล้องจุลทรรศน์ electron microscope การจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อ Bt ในปัจจุบันได้นำเทคนิคทางด้านอิมมูโน (H-antigen) เทคนิคทางชีวเคมี (Barjac และ Frachon, 1990) และเทคนิคทางด้านพันธุวิศวกรรมมาใช้ โดย Chak และคณะ (1994) รายงานการศึกษาการจำแนกเชื้อ Bt จากดินด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ specific oligonucleotide primer สามารถค้นพบเชื้อ Bt จำนวน 225 ชนิด (isolates) ด้วยต้นทุนและแรงงานที่ต่ำ สามารถจำแนกเชื้อ Bt ที่มียีน *cry* แตกต่างกัน 6 ชนิด ประกอบด้วย *cry* 1 A(a), *cry* 1 A(b), *cry* 1 A(c), *cry* 1 C, *cry* 1 D และ *cry* 4 Bourque และคณะ (1993) รายงานการศึกษาการจำแนกเชื้อ Bt โดยใช้ multiplex polymerase chain reaction และ primers ที่นำมาใช้มีความจำเพาะเจาะจงต่อกลุ่มผลึกโปรตีนของเชื้อ Bt. สามารถจำแนกยีน *cry* ได้ 3 ชนิด คือ *cry* 1 A(a), *cry* 1 A(b) และ *cry* 1 A(c)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์และสารเคมี

1. อุปกรณ์ในการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณเชื้อจุลินทรีย์
2. ตู้เขี่ยเชื้อ
3. กล้องจุลทรรศน์
4. เครื่องแยกเชื้อบริสุทธิ์ (centrifuge)
5. เครื่องผสมอาหารเทียม
6. เครื่อง PCR
7. เครื่อง electrophoresis
8. สารเคมีผลิตอาหารเทียม
9. สารเคมีเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย บีที
10. สารเคมีทำ PCR

วิธีการ

ขั้นตอนที่ 1

1. คัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ของกรมวิชาการเกษตร ที่ทำให้หนอนกระทู้ผักและหนอนกระทู้หอมตายตั้งแต่ 80% ขึ้นไป

2. นำเชื้อ Bt ที่ได้มาเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ NA บ่มในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 72 ชั่วโมง

3. นำเชื้อแต่ละ isolate มาทดสอบโดยหยดเชื้อบนอาหารเทียมสำหรับหนอนกระทู้ผักหรือหนอนกระทู้หอมวัย 2 Isolate ละ 30 ตัว บันทึกข้อมูลหนอนที่ตายทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 7 วัน วิเคราะห์ข้อมูล

ขั้นตอนที่ 2

1. ออกแบบ primers
2. นำเชื้อ Bt ที่ทำให้หนอนกระทู้ผักตาย 80% ขึ้นไป มาสกัดดีเอ็นเอ
3. ทำ PCR โดยปฏิกิริยาประกอบด้วย 1 µl DNA, 12.5 µl PCR mixture, primers จำนวน 2 สาย สายละ 1.25 µl และ Dye 2.5 µl

4. นำมาเพิ่มปริมาณในเครื่อง PCR โดยใช้อุณหภูมิ 94°C 5 นาที จำนวน 1 รอบ อุณหภูมิ 94°C 1 นาที อุณหภูมิ 54°C 1 นาที อุณหภูมิ 72°C 1 นาที จำนวน 30 รอบ และใช้อุณหภูมิ 72°C 10 นาที จำนวน 1 รอบ

5. นำดีเอ็นเอที่ได้มาตรวจสอบโดยวิธี electrophoresis โดยใช้ agarose gel วิเคราะห์ข้อมูลและสรุปผลการทดลอง

เวลา สถานที่ ตุลาคม 2554-กันยายน 2555 ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1 คัดเลือกเชื้อ Bt ของกรมวิชาการเกษตร ได้เชื้อที่ทำให้หนอนตายตั้งแต่ 80% โดยเป็นหนอนกระทู้ผัก 55 isolate และหนอนกระทู้หอม 11 isolate เมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพพบว่ามี 7 isolate ที่ทำให้หนอนกระทู้ผักตายมากกว่า 80% และไม่มี isolate ใดทำให้หนอนกระทู้หอมตายมากกว่า 80 % ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้ผักที่ได้รับเชื้อ isolate ต่างๆ

ชื่อ isolate	เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้ผัก	สถานที่เก็บตัวอย่างเชื้อ
7-1	83.33	ต.ห้วยไร่ อ.คอนสวรรค์ จ.ชัยภูมิ
14-4	80	อ.เมือง จ.อุดรธานี
14-14	93.33	อ.เมือง จ.อุดรธานี
27-1	86.67	ต.โพนสา อ.ท่าบ่อ จ.หนองคาย
281-4	89.66	ต. วังหมี อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา
320-3	96.66	ฮ.สวนผึ้ง จ.ราชบุรี
320-20	86.66	ฮ.สวนผึ้ง จ.ราชบุรี

เมื่อนำเชื้อที่เพาะเลี้ยงในอาหาร NA 72 ชั่วโมง ส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบผลึกโปรตีนเป็นรูปปิรามิดคู่ฐานชนกัน (Bipyramid)

ขั้นตอนที่ 2 นำเชื้อทั้ง 7 isolate มาสกัดดีเอ็นเอ จากนั้นนำไปทำ PCR พบว่ากระบวนการ PCR ที่เหมาะสมคือใช้อุณหภูมิ 94°C 5 นาที จำนวน 1 รอบ อุณหภูมิ 94°C 1 นาที อุณหภูมิ 54°C 1 นาที อุณหภูมิ 72°C 1 นาที จำนวน 30 รอบ และใช้อุณหภูมิ 72°C 10 นาที จำนวน 1 รอบ เมื่อนำไปตรวจสอบด้วยวิธี electrophoresis พบว่าเชื้อทั้ง 7 isolate มี *cry* โปรตีนเป็นชนิด *Cry 1AC*

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการศึกษาพบว่า เชื้อ *Bt* ของกรมวิชาการเกษตรที่สามารถควบคุมหนอนกระทู้หอมได้มากกว่า 80% จำนวน 11 isolate เมื่อนำมาทดสอบกับหนอนกระทู้หอมวัย 2 พบว่า ไม่มี isolate ใดสามารถทำให้หนอนตายมากกว่า 80% ส่วนหนอนกระทู้ผักนำเชื้อ Bt จำนวน 55 isolate มาทดสอบกับหนอนกระทู้ผักวัย 2 พบว่ามี 7 isolate ที่ทำให้หนอนตายตั้งแต่ 80% ได้แก่ 320-3 14-14 281-4 27-1 7-1 และ 320-20 14-4 ตามลำดับ เมื่อนำไปตรวจสอบด้วยวิธี PCR พบว่าเชื้อทั้ง 7 isolate มี *cry* โปรตีนเป็นชนิด *Cry 1AC* ซึ่งเป็นชนิดที่สามารถควบคุมหนอนผีเสื้อได้ดี นอกจากนี้เชื้อ Bt ของกรมวิชาการเกษตรยังมีอีกเป็นจำนวนมาก ซึ่งจะได้ทำการศึกษาต่อไป

เอกสารอ้างอิง

โสธร ประเสริฐผล. 2512. การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชด้วยเชื้อจุลินทรีย์. กสิกร 42(3) : 289-305.

อัจฉรา ตันติโชดก. 2539. แบคทีเรียควบคุมแมลงศัตรูพืช. เอกสารทางวิชาการ การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีเพื่อการเกษตรที่ยั่งยืน. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 163-182.

อัจฉรา ตันติโชดก. 2527. การศึกษาความคงทนของเชื้อ *Bacillus thuringiensis* บนกะหล่ำปลีในสภาพไร่. รายงานผลการค้นคว้าและวิจัย ปี 2527. กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 110-114.

อัจฉรา ตันติโชดก และอุทัย เกตุนุติ. 2537. ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียสูตรผงละลายน้ำในการควบคุมหนอนกระทู้หอมบนองุ่น. รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยปี 2537. กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 22-29.

Bourque, S.N, J.R. Valero, J.Mercier, M.C.Lavoie and R.C.Levesque. 1993. Multiplex polymerase chain reaction for detection and differentiation of the microbial insecticide *Bacillus thuringiensis*. Appl. Environ. Microbiol. 59:523-527.

Chak,K.F., D.C. Chao, M.Y. Tseng, S.S. Kao, S.J.Tuan and T.Y.Feng. 1994. Determination and distribution of *cry* – type genes of *Bacillus thuringiensis* isolates from Taiwan. Appl. Environ. Microbiol. 60:2415-2420.

Hofte, H.and H.R. whiteley.1989. Insecticidal crystal protein of *Bacillus thuringiensis*. Microbial. Rev. 53 : 242-25.

การพัฒนาชุดตรวจสอบและเทคนิคการแยกไส้เดือนฝอยในรากพืช

Development of Test Kit and Nematode Extraction Technique in Plant Root

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด [1/]

วานิช คำพานิช [1/] **ช่อทิพย์ ศัลยพงษ์** [2/]

[1/]**กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

[2/]**สำนักควบคุมวัสดุการเกษตร**

รายงานความก้าวหน้า

การพัฒนาวิธีการแยกไส้เดือนฝอย *Radopholus similis* จากรากพรรณไม้น้ำ (*Anubias nana*) โดยวิธีการใช้สาร 3 ชนิด ได้แก่ น้ำเกลือ 0.5 % แอลกอฮอล์ 5 % และคลอร็อกซ์ 0.5 % แช่รากแบบตัดเป็นชิ้นเล็กๆ และรากแบบซอยละเอียด นำมาเขย่าด้วยมือเป็นเวลา 5 นาที พบว่า รากซอยละเอียดที่แช่ในแอลกอฮอล์ 5 % และเขย่า 5 นาที สามารถแยกไส้เดือนฝอย *R. similis* ที่อยู่ในเนื้อเยื่อรากออกมาได้มากที่สุดเท่ากับ 47.2 % ในขณะที่การตัดรากเป็นชิ้นเล็กแช่แอลกอฮอล์ 5 % และเขย่า 5 นาทีเช่นกัน ได้เท่ากับ 17.2 % ซึ่งมีความแตกต่าง 30 % สำหรับการใช้น้ำเกลือ 0.5 % และคลอร็อกซ์ 0.5 % แช่รากซอยละเอียด สามารถแยกไส้เดือนฝอยออกจากรากได้เท่ากับ 40.7 และ 39.5 % ตามลำดับ ซึ่งดีกว่าการใช้น้ำกลั่นที่สามารถแยกไส้เดือนฝอยได้เท่ากับ 18.5 %

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-03-04-01-54

คำนำ

การตรวจสอบไส้เดือนฝอยศัตรูพืชมีหลายวิธี แต่ละวิธีตรวจสอบมีขั้นตอนในการปฏิบัติที่แตกต่างกัน ได้แก่ การแยกไส้เดือนฝอยศัตรูพืชออกจากดินนิยมใช้วิธี Cobb's sieving & Baermann funnel method และ Cobb's sieving & Centrifugal flotation การแยกไส้เดือนฝอยออกจากชิ้นส่วนของพืช ได้แก่ ส่วนหัว ราก ใบ ดอก และเมล็ด ใช้วิธีย้อมชิ้นส่วนพืชด้วยสีย้อม หรือใช้วิธี Centrifugal flotation (Barker, 1985) สำหรับในกรณีตรวจแยกไส้เดือนฝอยที่อยู่ในเนื้อเยื่อรากลึก เช่น ไส้เดือนฝอยในกลุ่ม migratory endoparasite (*Hirschmanniella, Radopholus* และ *Pratylenchus*) ใช้วิธีพ่นหมอกหรือ Mist chamber (Hooper, 1970) ซึ่งแต่ละวิธีการตรวจแยกยังมีข้อดีข้อเสียแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดของไส้เดือนฝอย ชนิดพืชที่ตรวจแยก ตัวอย่างพืชหรือวัสดุที่ใช้ตรวจ จำนวนตัวอย่าง ค่าใช้จ่าย ความยากง่ายในการปฏิบัติหรือตรวจวิเคราะห์ มาตรฐานของเครื่องมือ และผู้ปฏิบัติงาน จึงต้องมีการพิจารณากระบวนการตรวจให้เหมาะสมเพื่อเกิดความแม่นยำและ/หรือคลาดเคลื่อนน้อยที่สุด โดยกรมวิชาการเกษตร เป็นหน่วยงานรับผิดชอบในการตรวจสอบศัตรูพืชและออกใบรับรองพืชนำเข้าและส่งออก ซึ่ง ณ ปัจจุบันการปนเปื้อนของไส้เดือนฝอยศัตรูพืชกักกันติดไปกับพืชส่งออกของไทย กำลังประสบปัญหาไส้เดือนฝอยศัตรูพืชติดไปกับรากพรรณไม้น้ำส่งออกไปประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรป โดยตรวจพบไส้เดือนฝอย *Radopholus similis* ติดไปกับรากไม้น้ำสกุล *Anubias* spp. ที่ส่งไปยังประเทศเนเธอร์แลนด์ และไส้เดือนฝอย *Hirschmanniella* sp. ติดไปกับไม้น้ำสกุล *Vallisneria* sp. ที่ส่งไปประเทศโปแลนด์ รวมการแจ้งเตือนตลอดปี 2550 จำนวน 5 ครั้ง และในปี 2551 สถานการณ์การส่งออกพรรณไม้น้ำไป EU ยังคงประสบปัญหาการปนเปื้อนไส้เดือนฝอย *R. similis* อย่างต่อเนื่อง มีการแจ้งเตือนและเผาทำลายพรรณไม้น้ำที่มีการปนเปื้อนไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ณ ประเทศปลายทาง จำนวน 11 ครั้ง เรื่องดังกล่าวจึงเป็นผลกระทบต่อการส่งออกพรรณไม้น้ำ รวมไปถึงไม้ดอกไม้ประดับของไทยอีกด้วย โดยทางกลุ่มสหภาพยุโรปได้มีข้อกำหนดให้ประเทศไทยต้องตรวจรับรองพืชปลอดไส้เดือนฝอย *R. similis* ในพรรณไม้น้ำ-ไม้ประดับทุกชนิดในวงศ์ Araceae, Marantaceae, Musaceae และ Strelitziaceae (นุชนารถ, 2553)

ปี 2551 กรมวิชาการเกษตร ได้ออกแบบเครื่อง Mist chamber ที่ประกอบจากวัสดุในประเทศ มีราคาถูก โดยใช้หลักการพ่นน้ำให้เป็นฝอยตกกระทบไปบนรากพืชที่ตั้งอยู่บนกรวย ความชื้นจากการพ่นน้ำตลอด 48 ชม. จะทำให้ไส้เดือนฝอยที่อาศัยอยู่ภายในราก (endoparasite) โดยเฉพาะไส้เดือนฝอย *R. similis* และ *Hirschmanniella* sp. เคลื่อนที่ออกจากเนื้อเยื่อพืชและลงสู่ปลายกรวย จากนั้นทำการไขน้ำจากปลายกรวยนำไปตรวจไส้เดือนฝอยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ซึ่งการใช้เทคนิค Mist chamber จะสามารถแยกได้ไส้เดือนฝอยที่มีชีวิต ทำให้มองเห็นรูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไส้เดือนฝอยได้อย่างชัดเจน จึงจำแนกชนิดได้ง่ายและแม่นยำกว่าวิธีย้อมสีราก ซึ่งสีย้อมจะติดทั้งลำตัวไส้เดือนฝอยทำให้ยากต่อการจำแนกชนิด หรือวิธีเขย่ารากในน้ำบนเครื่องเขย่าอาจต้องใช้เวลา

นานมากกว่า 3-5 วัน จึงจะทำให้ไส้เดือนฝอยเคลื่อนที่ออกมาจากรากหรือไส้เดือนฝอยอยู่ในรากลึก อาจไม่เคลื่อนที่ออกมา ทำให้การตรวจแยกผิดพลาดขาดความแม่นยำ (นุชนารถ และ วานิช, 2551)

ปี 2552 นุชนารถ และวราภรณ์ ได้ทดสอบการใช้คลื่นเหนือเสียง (Ultrasonic) ที่ความถี่ 50/60 kHz. เป็นเวลา 10 นาที สามารถแยกไส้เดือนฝอย *R. similis* ออกจากรากไม้น้ำสกุล *Anubias* sp. โดยผ่านน้ำเป็นตัวกลางได้จำนวนเฉลี่ย 26.4 ตัว ในขณะที่ใช้วิธีพ่นหมอกด้วยเครื่องพ่นหมอก เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แยกได้เท่ากับ 8.2 ตัว เมื่อทำการทดสอบระยะเวลาที่เหมาะสมในการแช่รากไม้น้ำในเครื่อง Ultrasonic ที่ 5 10 20 40 และ 60 นาที พบว่าการแช่รากเป็นเวลา 20 นาที สามารถแยกไส้เดือนฝอยออกจากรากได้เฉลี่ย 38.3 ตัว ซึ่งเป็นระยะเวลาที่คลื่นเสียงไม่ทำความเสียหายให้กับรากไม้น้ำสามารถนำกลับไปปลูกต่อได้ จากผลการทดสอบเปรียบเทียบ วิธีการต่างๆ ในการแยกไส้เดือนฝอยออกจากรากพืช พบว่าการใช้คลื่นเสียงมีประสิทธิภาพในการแยกไส้เดือนฝอยได้ดีกว่าวิธีพ่นหมอก และวิธี Sucrose Centrifuge Method โดยวิธีแยกด้วยคลื่นเสียงใช้เวลาเพียง 20 นาที ในขณะที่วิธีพ่นหมอกใช้เวลานานกว่า 48 ชั่วโมง ตลอดจนการเตรียมตัวอย่างรากพืชไม่ยุ่งยาก ประหยัดเวลา แรงงาน และค่าใช้จ่ายกว่าวิธี Centrifuge floating method รวมทั้งการใช้คลื่นเสียงแยกไส้เดือนฝอยออกจากรากพืช ยังสามารถรองรับการตรวจพืชส่งออกในปริมาณมากกว่า 100 ตัวอย่าง/วัน

ปี 2554 กรมวิชาการเกษตร ได้พัฒนาชุดตรวจสอบภาคสนามโดยการใช้คลื่นเสียงชนิด Ultrasonic เป็นเครื่องมือในการแยกไส้เดือนฝอยออกจากราก ใช้เวลา 20 นาที พร้อมติดตั้งกล้องจุลทรรศน์ขนาดเล็ก (mini microscope) กำลังขยาย 50 เท่า ใช้ส่องตรวจไส้เดือนฝอยที่แยกได้ทันที ซึ่งเป็นชุดสำเร็จรูปที่เจ้าหน้าที่ตรวจพืช และเกษตรกร สามารถพกพาไปใช้ในภาคสนามได้ด้วยตนเอง (Tangchitsomkid, 2012)

อย่างไรก็ตามเครื่อง Ultrasonic ยังมีราคาค่อนข้างสูง จึงควรพัฒนาเทคนิคอื่นๆ ในการแยกไส้เดือนฝอย เพื่อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของเกษตรกรหรือเจ้าหน้าที่ตรวจรับรองพืชนำเข้า-ส่งออกภาคสนาม สามารถนำไปใช้ปฏิบัติในแปลงปลูกได้อย่างมีประสิทธิภาพและเหมาะสม

ดังนั้น การตรวจสอบไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่อาจติดมากับพืชที่นำเข้าหรือส่งออกไปยังประเทศคู่ค้า จึงเป็นเรื่องที่มีความสำคัญและมีผลกระทบต่อการส่งออกของประเทศไทยในขณะนี้เป็นอย่างยิ่ง การพัฒนาเครื่องมือและเทคนิคการตรวจแยกไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ให้ได้เครื่องมือและเทคนิคที่สามารถรองรับการทำงานกับตัวอย่างพืชจำนวนมากในคราวเดียวกัน เพื่อประหยัดเวลาและแรงงาน มุ่งเน้นการใช้วัสดุ-อุปกรณ์ในการสร้างเครื่องมือที่มีราคาถูก หาได้ง่ายในประเทศ สะดวกในการใช้งาน และมีประสิทธิภาพ รวมถึงผู้ปฏิบัติหรือเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชสามารถตรวจสอบได้ด้วยตนเอง ซึ่งถือเป็นเรื่องเร่งด่วนและสอดคล้องกับความต้องการในการใช้ตรวจพืชที่นำเข้าและส่งออกของประเทศไทยเป็นอย่างยิ่ง

วัตถุประสงค์ของการทดลอง เพื่อพัฒนาเครื่องมือและเทคนิคการตรวจแยกไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่เข้าทำลายราก ให้เป็นวิธีการตรวจอย่างง่าย มีความแม่นยำ ได้เป็นชุดตรวจสอบมีราคาถูกและมีประสิทธิภาพ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สารเคมีชนิดต่างๆ ได้แก่ น้ำเกลือ แอลกอฮอล์ คลอร็อกซ์ และน้ำกลั่น
2. ไส้เดือนฝอย *R. similis* ที่ใช้ในการทดสอบ เพาะเลี้ยงจากชิ้นแครอทในสภาพปลอดเชื้อ
3. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (Stereo microscope) และกำลังขยายสูง (Compound microscope) พร้อมกล้องถ่ายภาพดิจิตอล
4. พืชทดสอบ ได้แก่ รากพรรณไม้น้ำ (*Anubias nana*)
5. วัสดุ-อุปกรณ์ และเครื่องแก้วสำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการไส้เดือนฝอย

วิธีการ

1. การเพิ่มไส้เดือนฝอย *R. similis* ในชิ้นแครอท

- เตรียมหัวเชื้อไส้เดือนฝอย *R. similis* ทำการล้างฆ่าเชื้อที่ผิวโดยแช่ในสาร 0.1% hyamine เป็นเวลา 15 นาที และแช่ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อซ้ำ 2 ครั้ง
- เตรียมวุ้น 1.5 % (วุ้นผง 15 กรัม + น้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร) นึ่งฆ่าเชื้อ นำไปเทลงในจานเพาะเลี้ยง (Petri dish) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ปริมาตรวุ้นเท่ากับ 1 ใน 4 ของความสูงจานเพาะ ในสภาพปลอดเชื้อ
- เตรียมชิ้นส่วนพืช (แครอท) โดยนำหัวแครอทปอกเปลือกให้สะอาด และหั่นตามขวางของหัวให้เป็นชิ้นวงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร ทำการล้างด้วยแอลกอฮอล์ 70 % โดยวิธีการจุ่ม และจุ่มล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อซ้ำ 2 ครั้ง วางผึ่งชิ้นแครอทให้แห้งในตู้ปลอดเชื้อประมาณ 30 นาที จากนั้นใช้ปากคีบฆ่าเชื้อ คีบชิ้นแครอทวางลงบนอาหารวุ้นบริเวณกลางจาน ได้เป็นจานอาหารเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอย
- การเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอยในชิ้นแครอท นำหัวเชื้อไส้เดือนฝอยจำนวน 100+10 ตัว/น้ำกลั่น 50 ไมโครลิตร หยดลงบนชิ้นแครอทในจานอาหารเพาะเลี้ยงที่เตรียมไว้ โดยปฏิบัติในตู้ปลอดเชื้อ จากนั้นหุ้มจานเพาะเลี้ยงด้วยกระดาษอลูมิเนียมฟรอยด์ เก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง

2. การเตรียมรากพรรณไม้น้ำที่ถูกไส้เดือนฝอยเข้าทำลาย

นำต้นพรรณไม้น้ำ *Anubias nana* ที่มีหน่อและราก ปลูกลงในกระบะทรายหยาบ 20 ต้น/กระบะขนาด 30 x 45 ซม. เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำไส้เดือนฝอย *R. similis* ที่เพาะเลี้ยงได้จากชิ้น

แครอท จำนวน 200 ตัว/ต้น หยดลงบริเวณโคนต้น จากนั้นปลูกเลี้ยงพืชเป็นเวลา 2 เดือน ได้รากพืชทดสอบที่ถูกไส้เดือนฝอยเข้าทำลายสำหรับใช้ในการทดลอง

3. การทดสอบแยกไส้เดือนฝอยออกจากราก

3.1 ตัดรากเป็นชิ้นเล็กๆ ทดสอบแช่รากพรรณไม้น้ำในสาร 3 ชนิด ได้แก่ น้ำเกลือ 0.5% แอลกอฮอล์ 5% คลอร็อกซ์ 0.5% เขย่าเป็นเวลา 5 นาที โดยมีการแช่รากในน้ำกลั่นเป็นตัวเปรียบเทียบ

นำรากพรรณไม้น้ำที่ถูกไส้เดือนฝอย *R. similis* เข้าทำลาย จำนวน 5 กรัม/ซ้ำ ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ แช่ในสารต่างๆ ตามกรรมวิธี โดยใส่ในขวด flask ขนาด 250 มล. ปริมาตร 100 มล. ทำการเขย่าด้วยมือเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเทน้ำผ่านตะแกรงหยาบ 20 mesh ได้ชิ้นส่วนรากบนตะแกรงหยาบ นำน้ำที่ได้ผ่านตะแกรงละเอียดขนาด 400 mesh แยกได้ไส้เดือนฝอยที่อยู่บนตะแกรง เก็บน้ำและไส้เดือนฝอยบนตะแกรงละเอียดนำไปตรวจนับจำนวน สำหรับชิ้นส่วนรากที่อยู่บนตะแกรงหยาบนำไปปั่นละเอียดเพื่อแยกไส้เดือนฝอยที่เหลืออยู่ในรากเพื่อตรวจนับ โดยการกรองแยกเศษเนื้อเยื่อรากผ่านตะแกรงหยาบและตะแกรงละเอียดตามลำดับ

บันทึกผล นับจำนวนของไส้เดือนฝอย *R. similis* ที่แยกได้จากการเขย่าในสารแต่ละชนิดและไส้เดือนฝอยที่คงเหลือในรากปั่นละเอียด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ออกจากรากหลังการเขย่าด้วยมือ 5 นาที

3.2 ซอยรากให้ละเอียด ปฏิบัติเช่นเดียวกับวิธีการในข้อ 3.1 แต่ใช้กรรไกรซอยรากให้ละเอียดก่อนนำไปแช่สารและเขย่าด้วยมือในเวลา 5 นาทีเท่ากัน

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา 1 ปี เริ่มตั้งแต่เดือนตุลาคม 2553 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2554

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการเขย่ารากที่ตัดเป็นชิ้นๆ ด้วยมือเป็นเวลา 5 นาที ในสารชนิดต่างๆ พบว่าแอลกอฮอล์ 5 % สามารถแยกไส้เดือนฝอย *R. similis* ออกจากรากได้ดีที่สุด เท่ากับ 17.2 % รองลงมาคือน้ำเกลือ 0.5 % และคลอร็อกซ์ 0.5 % ไส้เดือนฝอยเคลื่อนที่ออกจากรากเท่ากับ 6.1 และ 5.9 % ตามลำดับ ในขณะที่การเขย่ารากในน้ำกลั่นที่เวลา 5 นาทีเท่ากัน พบไส้เดือนฝอยเพียง 1.9 % (ตารางที่ 1)

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า สารที่ใช้ทดสอบชนิดต่างๆ มีผลต่อการเคลื่อนที่ออกจากรากพืชของไส้เดือนฝอย *R. similis* โดยเฉพาะแอลกอฮอล์ซึ่งสามารถซึมเข้าเนื้อเยื่อรากและขับไล่ไส้เดือนฝอยให้เคลื่อนตัวออกมาได้มากที่สุดเมื่อเทียบกับสารอื่นๆ แต่อย่างไรก็ตาม การแยกโดยตัดรากเป็นชิ้นเล็กๆ และแช่สารนำไปเขย่า 5 นาที ไส้เดือนฝอยเคลื่อนที่ออกมานอกรากมากที่สุดเพียง 17.2 %

หากทำการซอยรากให้ละเอียดก่อนนำไปแช่สารและเขย่าด้วยมือ 5 นาทีเช่นกัน พบว่าสามารถแยกไส้เดือนฝอยออกจากรากได้เพิ่มขึ้นในทุกๆ สารที่แช่ โดยการเขย่ารากซอยละเอียดในแอลกอฮอล์ 5 % แยกไส้เดือนฝอยได้ 47.2 % รองลงมาคือน้ำเกลือ 0.5 % และคลอร็อกซ์ 0.5 % แยกได้ 40.7 และ 39.5 % ตามลำดับ ในขณะที่การแช่รากซอยละเอียดในน้ำกลั่นพบไส้เดือนฝอย 18.5 % (ตารางที่ 2)

ดังนั้น การซอยรากให้ละเอียด ช่วยให้สารชนิดต่างๆ ซึมเข้าสู่เนื้อเยื่อได้ทั่วถึงกว่าการตัดรากเป็นชิ้นๆ และช่วยให้ไส้เดือนฝอยเคลื่อนที่ออกมาได้จำนวนมากเพียงพอที่จะตรวจสอบได้อย่างรวดเร็วภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ สามารถนำวิธีการดังกล่าวมาปรับใช้ตรวจรับรองพืชเพื่อการปลูกต่อในแหล่งผลิต โดยตรวจพบไส้เดือนฝอยเพียง 1 ตัวของการสุ่มตรวจพืชในบ่อปลูกหรือโรงเรือนปลูก จะไม่สามารถส่งออกได้ และบ่อปลูกหรือโรงเรือนนั้นๆ ต้องมีมาตรการป้องกันกำจัดให้หมดไป แล้วทำการตรวจสอบรากใหม่ จึงจะผ่านการตรวจออกใบรับรองเพื่อการส่งออกต่อไป

อย่างไรก็ตาม ยังมีสารอีกหลายชนิดที่สามารถดูดซึมเข้าสู่เนื้อเยื่อรากเพื่อไปรบกวนหรือเป็นพิษต่อไส้เดือนฝอย *R. similis* ซึ่งอาศัยของในเซลล์ชั้นในของรากพืช ให้เคลื่อนที่ออกมาอย่างรวดเร็ว จึงควรทำการทดสอบสารกำจัดศัตรูพืชประเภทดูดซึม ได้แก่ ฟิโปรนิล อิมิดาโคลพริด และอะบาเม็กติน เพื่อเป็นทางเลือกใช้แยกไส้เดือนฝอยออกจากราก และสารในกลุ่มดังกล่าวจะใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนการป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอยในกลุ่ม migratory endoparasite ต่อไป

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์ของไส้เดือนฝอย *Raopholus similis* ที่เคลื่อนที่ออกจากรากพรรณไม้น้ำ (*Anubias nana*) ที่ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ นำไปแช่ด้วยสารชนิดต่างๆ และเขย่าด้วยมือเป็นเวลา 5 นาที

ชนิดสารและความเข้มข้น	จำนวนไส้เดือนฝอย (ตัว) [1/]		ผลรวม	% ไส้เดือนฝอยหลังการเขย่า [2/]
	หลังการเขย่า	คงเหลือในราก		
น้ำเกลือ 0.5 %	24.4	381.4	405.8	6.0
แอลกอฮอล์ 5 %	73.4	352.8	426.2	17.2
คลอร็อกซ์ 0.5 %	21.2	335.6	356.8	5.9
น้ำกลั่น (Control)	4.2	216.4	220.6	1.9

[1/] ค่าเฉลี่ย 5 ซ้ำ

[2/] % ไส้เดือนฝอยหลังการเขย่า = $\frac{\text{จำนวนไส้เดือนฝอยหลังการเขย่า}}{\text{ผลรวมของไส้เดือนฝอย}} \times 100$

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์ของไส้เดือนฝอย *Raopholus similis* ที่เคลื่อนที่ออกจากรากพรรณไม้น้ำ (*Anubias nana*) ซอยรากละเอียด นำไปแช่ด้วยสารชนิดต่างๆ และเขย่าด้วยมือเป็นเวลา 5 นาที

ชนิดสารและความเข้มข้น	จำนวนไส้เดือนฝอย (ตัว) [1/]		ผลรวม	% ไส้เดือนฝอยหลังการเขย่า[2/]
	หลังการเขย่า	คงเหลือในราก		
น้ำเกลือ 0.5 %	13.2	19.2	32.4	40.7
แอลกอฮอล์ 5 %	17.0	19.0	36.0	47.2
คลอร็อกซ์ 0.5 %	12.4	19.0	31.4	39.5
น้ำกลั่น (Control)	5.6	24.6	30.2	18.5

[1/] ค่าเฉลี่ย 5 ซ้ำ

[2/] % ไส้เดือนฝอยหลังการเขย่า $= \frac{\text{จำนวนไส้เดือนฝอยหลังการเขย่า}}{\text{ผลรวมของไส้เดือนฝอย}} \times 100$

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การย่อยรากให้ละเอียดและนำไปแช่ในแอลกอฮอล์ 5 % เขย่าด้วยมือเป็นเวลา 5 นาที สามารถแยกไส้เดือนฝอย *R. similis* ออกจากรากพรรณไม้น้ำได้ดีที่สุด คิดเป็น 47.2 % ในขณะที่การตัดรากเป็นชิ้นๆ แยกได้เท่ากับ 17.2 % และการใช้น้ำเกลือ 0.5 % และคลอร็อกซ์ 0.5 % เป็นสารแช่ ช่วยให้ไส้เดือนฝอยเคลื่อนที่ออกจากรากได้เช่นกัน โดยการเขย่ารากย่อยละเอียดดีกว่ารากตัดเป็นชิ้นๆ คิดเป็น 40.7 และ 39.5 % ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้น้ำกลั่นแยกได้เพียง 18.5 %

เอกสารอ้างอิง

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. 2553. การจัดการศัตรูพืชในพรรณไม้น้ำเพื่อการส่งออก. *ใน* เอกสารประกอบการฝึกอบรมโครงการพัฒนาการผลิตสัตว์น้ำสวยงามและพรรณไม้น้ำส่งออก. วันที่ 17-18 มิถุนายน 2553. สถาบันวิจัยสัตว์น้ำสวยงามและพรรณไม้น้ำ สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด, กรุงเทพฯ. 29 หน้า.

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และ วราภรณ์ ประกอบ. 2552. การใช้คลื่นเสียงตรวจแยกไส้เดือนฝอยศัตรูพืชจากรากพรรณไม้น้ำเพื่อการส่งออก. *ใน* การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 9 จ. อุบลราชธานี.

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และ วานิช คำพานิช 2551. การพัฒนาเครื่องมือและเทคนิคการแยกไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับพืชนำเข้าและส่งออก. ผลงานวิจัยฉบับเต็ม กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 26 หน้า.

Barker, K.R. 1985. Nematode extraction and bioassays, Pages 19-35. *In* : K.R. Barker, C.C. Carter, and J.N. Sasser, eds. An Advanced Treatise on *Meloidogyne*, Vol. II Methodology. North Carolina State University Graphics, Raleigh, NC.

Hooper, D.J. 1970. Extraction of nematodes from plant material, Pages 34-38. In : J.F. Southey, ed. Laboratory methods for work with plant and soil nematodes. Ministry of Agriculture, Fishery, and Food Technology Bulletin 2, Her Majesty's Stationery Office, London.

Tangchitsomkid, N. 2012. A new technology of nematode extraction kit for field work. Pages. 109. *In* The International Conference on Tropical and Sub-tropical Plant Diseases 2012. February 7-10, 2012 The Empress Hotel, Chiang Mai.

สำรวจ รวบรวม พรรณไม้น้ำเพื่อการปกป้องไม้ท้องถิ่น

Aquatic Plant Collection for Protection of Native Plant.

ศิริพร ซึงสนธิพร ธัญชนก จงรักไทย

กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การสำรวจรวบรวมพรรณไม้น้ำ ได้ทั้งไม้น้ำที่วัชพืชทั่วไป ซึ่งมีทั้งพืชที่พืชท้องถิ่น และพืชต่างถิ่น และไม้น้ำที่พบในปริมาณและความถี่ที่ต่ำมาก เช่น สันตะวาใบลอย (*Ottelia ovalifolia*) ผักพาย (*Butomopsis latifolia* (D.Don) Kunth) หรือพืชที่พบทั่วไป แต่มีความแตกต่างกัน เช่น สันตะวาใบพาย (*Ottelia alismoides*) แต่มีดอกสีม่วงอ่อน ขณะที่ที่พบทั่วไปมีสีขาว เป็นต้น

คำนำ

พรรณไม้น้ำหรือพืชน้ำ (Aquatic plants) หมายถึงพืชที่อยู่ในน้ำโดยอาจจะจมอยู่ใต้น้ำทั้งหมด หรือ โผล่บางส่วนขึ้นมาอยู่เหนือน้ำ หรือเป็นพืชที่ขึ้นอยู่ตามริมน้ำ ชายตลิ่ง นอกจากนี้ก็ยังรวมถึงพืชที่เจริญเติบโตอยู่ในบริเวณที่ลุ่มน้ำขังหรือที่ชื้นแฉะอีกด้วยศิริพร (2544) รายงานว่าแว่นแก้วใบหยัก (*Hydrocotyle leucocephala* Cham. & Schlecht.) ซึ่งเป็นไม้น้ำ นำเข้าจากต่างประเทศ มีจำหน่ายทั่วไปตามร้านค้าพรรณไม้มีถิ่นกำเนิดในอเมริกาใต้ เป็นพืชล้มลุกอายุข้ามปี ประเทศไทยเป็นประเทศในเขตร้อนซึ่งเป็นแหล่งกำเนิดพรรณไม้น้ำสวยงามที่นิยมหลายชนิดอีกทั้งภูมิประเทศของประเทศไทยมีความเหมาะสมสำหรับการแพร่ขยายพันธุ์ของพรรณไม้น้ำหลายชนิด พรรณไม้น้ำแบ่งออกตามลักษณะทางนิเวศน์ดังนี้

- พืชใต้น้ำ (submerge) เป็นพวกที่มีการเจริญเติบโตอยู่ใต้น้ำทั้งหมด อาจมีรากยึดเกาะกับดินใต้น้ำ หรือไม่ก็ได้ บางชนิดมีใบและต้นอยู่ใต้น้ำ มีเพียงส่วนดอกที่เมื่อบานที่ผิวน้ำ หรือพ้นผิวน้ำ เช่น สันตะวาใบพาย สันตะวาใบข้าว สาหร่ายหางกระรอก สาหร่ายข้าวเหนียว

- พืชโผล่เหนือน้ำ (emerged plants) เป็นพรรณไม้น้ำที่มีการเจริญเติบโตอยู่ใต้น้ำบางส่วนและเหนือน้ำบางส่วน โดยมีรากหรือทั้งรากและลำต้นเจริญอยู่ในดินใต้น้ำ ส่งส่วนของใบและดอกขึ้นมาเจริญเหนือน้ำ เช่น บัวสาย บัวบา ผักตับเต่า

รหัสการทดลอง 03-11-57-02-00-03-03-54

- พืชลอยน้ำ (floating plants) เป็นพวกที่เจริญลอยอยู่ที่ระดับน้ำ มีรากห้อยลอยอยู่ในน้ำ ส่วนต้น ใบและดอก เจริญปิ่มน้ำ หรือเหนือน้ำ รากอาจหยั่งหรือยึดพื้นดินใต้น้ำก็ได้ มีหลายชนิดที่ลอยเป็นอิสระในน้ำ เช่น ผักตบชวา จอก ผักกระเฉด แหน จอกหูหนู เป็นต้น

- ไม้ชายน้ำ (marginal plants) เป็นไม้น้ำที่มักขึ้นตามชายน้ำ ริมตลิ่ง ชายคลอง หนองน้ำ มักมีรากและลำต้นเจริญเติบโตอยู่ใต้ดิน บางส่วนของต้น ใบ และดอกเจริญเหนือน้ำ เช่น ธูปฤาษี โพลง ขาเขียด ผักตบไทย เตยหอม เป็นต้น

ไม้น้ำหลายชนิด สามารถเจริญได้ทั้งบนบกและในน้ำ เช่น ผักแว่น ธูปฤาษี ผักบุ้ง ไมยราบยักษ์ ผักกระเฉด เป็นต้น

การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ สำรวจ และรวบรวมพรรณไม้น้ำท้องถิ่น และไม้น้ำต่างถิ่น เพื่อหาแนวทางป้องกันไม่ให้พืชต่างถิ่นเหล่านั้น เจริญ แพร่พันธุ์ แทนที่ไม้ท้องถิ่น โดยการสำรวจ รวบรวม ตรวจสอบชนิดของไม้น้ำท้องถิ่น และหาทางนำมามาใช้ประโยชน์ สำหรับไม้น้ำต่างถิ่น สำรวจ ตรวจสอบชนิด และหาทางป้องกันไม่ให้เป็นวัชพืชในแหล่งน้ำตามธรรมชาติ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- การสำรวจได้แก่ แผนที่ สมุดบันทึก กรรไกร ถุงพลาสติก ปากกาเขียนพลาสติก หรือกระดาษป้ายชื่อ และกล้องถ่ายภาพ

- อุปกรณ์สำหรับปลูกพืชทดสอบและสารเคมี ได้แก่ กระถาง ดิน ป้ายกำกับการทดลอง ปุ๋ย และสารเคมีกำจัดศัตรูพืช

- 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

สำรวจการแพร่กระจายของไม้น้ำ ในแหล่งน้ำตามธรรมชาติพื้นที่ต่างๆ เมื่อพบจดบันทึกพิกัดและสภาพพื้นที่ นำมาปลูกในเรือนทดลองของกลุ่มวิจัยวัชพืช ตรวจสอบชนิดโดยการเทียบกับตัวอย่างพืชแห้งของพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพ และเอกสารด้านอนุกรมวิธานและคู่มือตรวจสอบชนิดพืชต่างๆ

เวลาสถานที่

ตุลาคม 2553 - กันยายน 2554 ที่ กลุ่มวิจัยวัชพืช และอาคารพิพิธภัณฑ์พืชสิรินธร กรมวิชาการเกษตร หรือหอพรรณไม้ กรมอุทยาน พรรณพืชและสัตว์ป่า

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

วัชพืชน้ำที่สำรวจและรวบรวมได้ มีทั้งที่เป็นพืชที่พบทั่วไป เช่น บอนจีน หรือตาลปัตรฤาษี (*Limnocharis flava*) จอก (Pistea stratiotes) ซึ่งมีรูปร่างแตกต่างกัน สันตะวาใบลอย (*Ottelia ovalifolia*) สันตะวาใบพาย (*Ottelia alismoides*) (จากสภาพนิเวศที่แตกกัน และมีลักษณะแตกต่างกัน เช่น ลักษณะใบ) สาหร่ายญี่ปุ่น (*Myriophyllum* b*rasiliense*) ผักพาย (*Butomopsis latifolia* (D.Don) Kunth) บัวบา (*Nymphoides indicum* (L.) Kuntze) บัวบาเล็ก (*Nymphoides cristatu*m (Roxb.) Grisebach) ผักคางไก่ (*Sagittaria guayanensis* Humb., Bonpl. & Kunth) เต่าเขียด หรือผักคางไก่ (*Sagittaria sagittifolia* L.) ซึ่งไม้น้ำเหล่านี้บางชนิดพบกระจายตัวน้อยมากในธรรมชาติ สภาพนิเวศน์ถูกทำลาย หรือถูกพืชที่มีความแข็งแกร่ง สามารถแข่งขันได้ดีกว่าเข้าแทนที่ เช่น โพลง (*Monochloria elata*) ที่ถูกแทนที่ด้วยธูปฤาษี หรือการแพร่ระบาดของบัวบาเล็กอย่างรุนแรงในแม่น้ำแม่กลอง ส่วนเหนือเขื่อนแม่กลอง ทำให้ไม้น้ำอื่น เช่น ดีปรีน้ำลดลง เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

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

สัณฐานวิทยาของเมล็ดพืชสกุลกก (*Cyperus*)

Seed Morphology of Sedge (Cyperus)

ศิริพร ซึงสนธิพร ธัญชนก จงรักไทย

กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาชีววิทยาและการแพร่ของหญ้าอีหนาว พบการแพร่ระบาดในพื้นที่จังหวัดนครพนม เพชรบูรณ์ ลพบุรี และสระบุรี เมื่อนำเมล็ดมาศึกษาการงอกในจานรองแก้ว โดยการแช่น้ำ ไม่พบเมล็ดงอก และอยู่ระหว่างการทดสอบการงอกด้วยการแช่น้ำร้อน แช่กรด และการบดให้เมล็ดแตก ส่วนการงอกในดินโดยไม่มีการแช่น้ำ มีจำนวนต่ำมาก ส่วนการศึกษาการเจริญเติบโตและการแข่งขันกับพืชปลูก (ข้าวโพด และผักบุ้ง) อยู่ระหว่างการดำเนินการซ้ำ เนื่องจากการทดลองได้รับความเสียหายเนื่องจากถูกน้ำท่วม

คำนำ

David and Koyama (1998) รายงานว่ามีพืชในสกุล *Cyperus* ในประเทศไทย มีจำนวน 47 ชนิด แต่ไม่มีชนิดใดเป็นพืชประจำถิ่นหรือท้องถิ่นของไทยเลย แต่ในชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย เต็ม สมิตตินันทน์ (2544) ระบุมีทั้งสิ้น 48 ชนิด คือ กกเหลี่ยม *Cyperus babakan* Steud. กกโปร่ง *Cyperus castaneus* Willd. กกลอยแพ *Cyperus cephalotes* Vahl หญ้าใบคม *Cyperus compactus* Retz. กกดอกแบน *Cyperus compressus* L. กกสานเสื่อ กกจันทบุรี *Cyperus corymbosus* Rottb. กกรังกาป่า *Cyperus cuspidatus* Kunth หญ้าเหลี่ยม *Cyperus cyperinus* (Retz.) J.V.Suringar หญ้ารังกา กกหางกระรอก กกสามเหลี่ยม *Cyperus cyperoides* (L.) Kuntze กกขนาก กกกระหนาก *Cyperus difformis* L. กกรังกา กกดอกแดง หญ้ารังกา *Cyperus digitatus* Roxb. กกดอกหญ้า *Cyperus distans* L.f. แห้วหมูหิน หญ้าหัวหงอก *Cyperus dubius* Rottb. กก กระจาย *Cyperus elatus* L. กก *Cyperus exaltatus* Retz. กกนา กกแดง *Cyperus haspan* L. กกกระโดง *Cyperus helferi* Boeck. กก กกสามเหลี่ยมเล็ก กกสามเหลี่ยม *Cyperus imbricatus* Retz. กกรังกา หญ้ากก *Cyperus involuvratus* Rottb. หญ้ารังกาขาว กกหัวแดง หญ้าหัวแดง *Cyperus iria* L. กกกะแปด กกดอกกลม *Cyperus javanicus* Houtt. หญ้าตีนกา *Cyperus laxus* Lam. หญ้าแฝกไหม หญ้าหางกาน้อย แห้วหมูป่า *Cyperus leucocephalus* Retz. หญ้าสามเหลี่ยม *Cyperus malaccensis* Lam. กกระบาด *Cyperus michelianus* (L.) Link

---

รหัสการทดลอง

กกแห้วหมู *Cyperus mitis* Steud. กกโมลี *Cyperus mollipes* (C.B.Clarke)K.Schum. หญ้าขี้นเหลือง *Cyperus niveus* Retz. กกข้อ *Cyperus nutans* Vahl กกขจร *Cyperus odoratus* L. กกโอวี *Cyperus ohwii* Kuk กกพานี *Cyperus paniceus* (Rottb.) Boeck. กกอียิปต์ *Cyperus papyrus* L. กกช่อดอกขน *Cyperus pilosus* Vahl กกรังกาน้อย *Cyperus platystylis* R.Br. หญ้าตะกรับ กกตะกรับ *Cyperus procerus* Rottb. กกเล็ก หญ้าฮังกา แห้วหมูนา *Cyperus pulcherrimus* Willd. & Kunth กกลำซ้อนใบ *Cyperus radians* Nees & Meyen ex Kunth หญ้าแห้วหมู หญ้าขนหมู หญ้ามะนิ่งหมู *Cyperus rotundus* L. กกปี *Cyperus sphacelatus* Rottb. กกกะหรี่ *Cyperus squarrosus* L. กกกะแซก *Cyperus stenophyllus* J.V.Suringar กกทราย *Cyperus stoloniferus* Retz. หญ้าดอกแดง หญ้ากกรังกา *Cyperus tenuiculmis* Boeck. กกนา *Cyperus tenuispica* Steud. กกกาบตาล *Cyperus tonkinensis* C.B.Clarke หญ้าสามเหลี่ยมหญ้าคมบาง กกใบแบน *Cyperus trialatus* (Boeck.) Kern และ แห้วไทย มะนิ่ว แห้วจีน *Cyperus esculentus* L. ซึ่งชนิดสุดท้ายนี้เป็นพืชต่างถิ่นหรือพืชที่มาจากต่างประเทศ ซึ่งไม่พบรายชื่อนี้ในรายงานของ David and Koyama (1998) พืชสกุลนี้มีการนำมาใช้ประโยชน์ต่างๆ กัน เช่น สานเสื่อ (*C. corymbosus* Rottb.) (สุชาดา, 2542) นอกจากนี้ยังใช้เป็นสมุนไพรได้ด้วย เช่น หญ้าแห้วหมู กกลังกา (วิทย์, 2539) เป็นต้น แต่หลายชนิดเป็นวัชพืชที่พบทั่วไป เช่น กกทราย กกช่อดอกขน (Noda *et al.*, 1994)

การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชในสกุลกก เพื่อใช้ช่วยในการตรวจสอบชนิดพืชในสกุลนี้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- การสำรวจได้แก่ แผนที่ สมุดบันทึก กรรไกร ถุงพลาสติก ปากกาเขียนพลาสติก หรือกระดาษป้ายชื่อ และกล้องถ่ายภาพ

- อุปกรณ์สำหรับปลูกพืชทดสอบและสารเคมี ได้แก่ กระถาง ดิน ป้ายกำกับการทดลอง ปุ๋ย และสารเคมีกำจัดศัตรูพืช

- 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

1. สำรวจการแพร่กระจายของพืชในสกุลกก ในพื้นที่ต่างๆ เมื่อพบจดบันทึกพิกัด และสภาพพื้นที นำมาปลูกในเรือนทดลองของกลุ่มวิจัยวัชพืช ตรวจสอบชนิดโดยการเทียบกับตัวอย่างพืชแห้งของพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพ และเอกสารด้านอนุกรมวิธานและคู่มือตรวจสอบชนิดพืชต่างๆ

2. การศึกษาสัณฐานวิทยาของพืชสกุลกก เก็บรวบรวมเมล็ดกก ที่ได้จากการสำรวจในที่ต่างๆ นำมาศึกษาด้วยกล้องขยาย และถ่ายภาพ เพื่อการศึกษาลักษณะเมล็ด

เวลาสถานที่

ตุลาคม 2553 - กันยายน 2554 ที่ กลุ่มวิจัยวัชพืช และอาคารพิพิธภัณฑ์พืชสิรินธร กรมวิชาการเกษตร หรือหอพรรณไม้ กรมอุทยาน พรรณพืชและสัตว์ป่า

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การรวบรวมกก การสำรวจ และรวบรวมพืชสกุลกก จากพื้นที่ต่างๆ และนำตัวอย่างสดมาปลูกรวบรวมที่กลุ่มวิจัยวัชพืชแล้ว จำนวน 20 ตัวอย่าง เป็นกก 18 ชนิด ได้แก่

- กกลอยแพ *Cyperus cephalotes* Vahl
- หญ้าใบคม *Cyperus compactus* Retz.
- กกดอกแบน *Cyperus compressus* L.

- กกสานเสื่อ กกจันทบุรี *Cyperus corymbosus* Rottb.
- กกรังกาป่า *Cyperus cuspidatus* Kunth
- หญ้ารังกา กกหางกระรอก กกสามเหลี่ยม *Cyperus cyperoides* (L.) Kuntze
- กกขนาก กกกระหนาก *Cyperus difformis* L.
- กกรังกา กกดอกแดง หญ้ารังกา *Cyperus digitatus* Roxb.
- กกดอกหญ้า *Cyperus distans* L.f.
- แห้วหมูหิน หญ้าหัวหงอก *Cyperus dubius* Rottb.
- กกนา กกแดง *Cyperus haspan* L.
- กก กกสามเหลี่ยมเล็ก กกสามเหลี่ยม *Cyperus imbricatus* Retz.
- หญ้ารังกาขาว กกหัวแดง หญ้าหัวแดง *Cyperus iria* L.
- กกอียิปต์ *Cyperus papyrus* L.
- กกช่อดอกขน *Cyperus pilosus* Vahl
- หญ้าตะกรับ กกตะกรับ *Cyperus procerus* Rottb.
- หญ้าแห้วหมู หญ้าขนหมู หญ้ามะนิ่งหมู *Cyperus rotundus* L.
- กกกะหรี่ *Cyperus squarrosus* L.

2. สัณฐานวิทยาของเมล็ดพืชสกุลกก อยู่ระหว่างการรวบรวมเมล็ด เพื่อการศึกษาสัณฐานเมล็ดต่อไป

เอกสารอ้างอิง

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

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.

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.

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

ศึกษาอัตราการใช้เชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin ในการควบคุมหนอนด้วงแรดมะพร้าว

Efficacy of entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin to control *Oryctes rhinoceros*.

เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์[1/] อิศเรส เทียนทัด[1/] วิไลวรรณ เวชยันต์[1/] ยุทธนา แสงโชติ[2/]

[1/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ศึกษาอัตราการใช้เชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin ในการควบคุมหนอนด้วงแรดมะพร้าว ได้ทำการวิจัยในช่วงเดือนตุลาคม 2553 - กันยายน 2554 (รวมระยะเวลา 1 ปี) ที่ห้องปฏิบัติการเชื้อราโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และแหล่งปลูกมะพร้าวใน 2 พื้นที่คือ ต.สามเรือน อ. เมืองราชบุรี จ.ราชบุรี และ ต.โรงหีบ อ. บางคนที จ. สมุทรสงคราม โดยดำเนินการดังนี้ นำเชื้อราเขียวของกรมวิชาการเกษตร (DOA) ที่ผ่านการคัดเลือกในห้องปฏิบัติการว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนด้วงแรดมะพร้าวมาเลี้ยงขยายเพื่อทดสอบในพื้นที่ที่เตรียมไว้ ศึกษาอัตราการใช้เชื้อที่เหมาะสมต่อหน่วยพื้นที่ โดยใช้เชื้อราเขียว DOA ในอัตรา 200, 400, 600, 800 และ 1,000 กรัม ต่อถังซีเมนต์ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 80 ซม. สูง 50 ซม. ซึ่งมีความจุ 0.25 ลูกบาศก์เมตร ทำการเปรียบเทียบกับเชื้อราเขียวจากกรมส่งเสริมการเกษตร (DOAE) และการไม่ใส่เชื้อ (control) ตรวจนับเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวในวันที่ 14 และ 28 ของการทดลอง ผลการทดสอบทั้ง 3 ครั้ง ที่จ.ราชบุรี พบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวส่วนใหญ่ในวันที่ 28 ของการทดลอง เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวทั้ง 3 ครั้งค่อนข้างน้อย ส่วนใหญ่พบน้อยกว่า 50% จากการทดลองครั้งที่ 1 ในวันที่ 28 ของการทดลองมีแนวโน้มการใช้ที่เหมาะสมอยู่ที่อัตรา 200, 400 และ 800 กรัม โดยแสดงเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อไม่แตกต่างกันที่ 13.69, 5.98 และ 5.19% ตามลำดับ การทดลองครั้งที่ 2 ในวันที่ 28 ของการทดลอง พบแนวโน้มการใช้เชื้อราเขียว DOA ที่เหมาะสมอยู่ที่อัตรา 200, 400 และ 600 กรัม โดยมีเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อไม่แตกต่างกันที่ 34.66, 57.12 และ 39.30% ตามลำดับ ส่วนการทดลองครั้งที่ 3 พบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อไม่แตกต่างกันในทุกอัตราที่ใช้ การติดเชื้อที่ 28 วันอยู่ในช่วง 14.98 – 28.43% การทดสอบประสิทธิภาพที่ จ.สมุทรสงครามพบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อทั้งในวันที่ 14 และ 28 ของการทดลอง โดยพบการติดเชื้อมากที่สุดในวันที่ 28 ของการทดลอง การติดเชื้อราเขียวส่วนใหญ่จะพบมากกว่า 50% ผลการทดลองทั้ง 3 ครั้ง พบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวของ DOA ไม่มีความแตกต่างกันในทุกอัตราที่ใช้

รหัสการทดลอง 03-04-54-01-02-03-02-55

ทดสอบ ทั้งในวันที่ 14 และ 28 ของการทดลอง โดยผลการทดลองครั้งที่ 1 การติดเชื้อราเขียวของ DOAที่ 28 วันอยู่ระหว่าง 46.89 – 68.96% ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างจากเชื้อของ DOAE ที่พบการติดเชื้อที่ 57.06% การทดลองครั้งที่ 2 การติดเชื้อราเขียวของ DOAที่ 28 วันอยู่ระหว่าง 64.88 – 83.42% ในขณะที่การติดเชื้อราเขียวของ DOAE อยู่ที่ 62.37% การทดลองครั้งที่ 3 การติดเชื้อราเขียวของ DOA ที่ 28 วันอยู่ระหว่าง 46.24 – 67.43% ส่วนการติดเชื้อราเขียวของ DOAE อยู่ที่ 58.65% จากผลการทดลองทั้ง 2 พื้นที่พบว่า เชื้อราเขียวสายพันธุ์ DOA มีความเฉพาะเจาะจงและมีแนวโน้มต่อการเกิดโรคกับหนอนด้วงแรดมะพร้าวสูงกว่าเชื้อราเขียวสายพันธุ์ DOAE โดยมีอัตราการใช้เหมาะสมที่ 200 กรัม ต่อ 0.25 ลูกบาศก์เมตร นอกจากนี้ยังพบว่าสภาพอากาศ อุณหภูมิในกองล่อ และปริมาณเชื้อที่ใส่เป็นปัจจัยซึ่งมีผลต่อการติดเชื้อของหนอนด้วย

คำนำ

ปัจจุบันมีผู้ให้ความสนใจงานป้องกันกำจัดศัตรูพืชทางชีวภาพมากขึ้น การนำเชื้อจุลินทรีย์มาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชเป็นอีกวิธีการหนึ่งที่ได้รับความสนใจนอกจากมีความปลอดภัยต่อสุขภาพของตัวเกษตรกรผู้ใช้รวมทั้งผู้บริโภคแล้ว ยังไม่ทำให้เกิดพิษตกค้างของสารฆ่าแมลงในสภาพแวดล้อม

เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม (*M. anisopliae*) เป็นจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชได้หลายชนิด ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ จัดอยู่ใน Phylum Ascomycota ซึ่งเชื้อราในกลุ่มนี้มักจะเป็นสาเหตุก่อให้เกิดโรค “ muscadine” ในแมลง โดยใน *M. anisopliae* มีการเรียกเชื้อราชนิดนี้ว่า “green muscadine” พบแพร่กระจายได้ทั่วไป สามารถใช้ควบคุมแมลงในกลุ่ม Diptera, Lepidoptera, Orthoptera, Coleoptera, Hemiptera และ Hymenoptera (Lezama-Gutiérrez และคณะ 2000; Kershaw และคณะ 1999; Rosa และคณะ 2000)

ในเมืองไทยมีการศึกษาการนำเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมเพื่อใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชมากมาย จากรายงานผลงานค้นคว้าวิจัยตั้งแต่ปี 2525 -2539 โดยมลิวัลย์ ปันยารชุน กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา ได้ทำการศึกษาและทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราดังกล่าวกับแมลงศัตรูพืชชนิดต่างๆ พบว่าสามารถนำมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชได้หลายชนิดได้แก่ ด้วงแรดมะพร้าว (*Oryctes rhinoceros*), มอดเจาะผลกาแฟ (*Hypothenemus hampei*) มวนโกโก้ (*Helopeltis* spp) เป็นต้น เสาวนิตย์ และคณะ (2553) ได้ทำการคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* ในห้องปฏิบัติการ โดยเน้นการควบคุมแมลงศัตรูมะพร้าว ได้แก่ หนอนด้วงแรดมะพร้าว ,หนอนแมลงดำหนาม และหนอนหัวดำมะพร้าว จากการดำเนินงานที่ผ่านมาได้เก็บรวบรวมเชื้อราเขียว *M. anisopliae* จากแหล่งต่างๆ จำนวนทั้งสิ้น 10 ไอโซเลท และได้นำมาทดสอบประสิทธิภาพเพื่อคัดเลือกไอโซเลทที่มีความเหมาะสม ซึ่งการทดสอบในเบื้องต้นได้ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพดีในการควบคุมแมลงศัตรูมะพร้าวดังกล่าว

การดำเนินงานในปี 2554 ได้นำเชื้อราเขียวไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพดีในการควบคุมหนอนด้วงแรดศัตรูมะพร้าวมาขยายผลทดสอบในสภาพไร่ โดยศึกษาอัตราการใช้ที่เหมาะสม ผลที่ได้จะรวบรวมผลงานที่ได้เพื่อเผยแพร่ให้แก่เกษตรกรและผู้สนใจต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม *M. anisopliae* สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร (DOA) และกรมส่งเสริมการเกษตร (DOAE)
2. หนอนด้วงแรดมะพร้าว
3. ข้าวโพดบดหยาบ
4. Potato Dextrose Broth (PDB)
5. กล่องเลี้ยงแมลง
6. ที่ดูดสปอร์ (Micropipet)
7. เครื่องนับสปอร์ (Hemacytometer)
8. ตู้เขี่ยเชื้อ
9. หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)
10. กล้องจุลทรรศน์
11. บีกเกอร์ ขนาด 250, 500, 1000 มล.
12. กระบอกตวง ขนาด 250, 500, 1000 มล.
13. ฟลาสก์ ขนาด 250, 500 มล.
14. ถังซีเมนต์ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 80 ซม. สูง 50 ซม. พร้อมฝาปิด จำนวน 56 ถัง
15. วัสดุที่ใช้ทำกองล่อ ได้แก่ ปุ๋ยคอก และ ขุยมะพร้าว

วิธีการ

1. เลี้ยงเพิ่มปริมาณเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม

นำเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมที่ผ่านการคัดเลือกในห้องปฏิบัติการว่ามีประสิทธิภาพดีมาเลี้ยงขยายเพิ่มปริมาณ โดยเริ่มต้นจากการเลี้ยงในอาหารเหลว (PDB) ตัดชิ้นวุ้นที่มีเชื้อราเขียวประมาณ 1 X 1 ซม. ถ่ายใส่ลงในฟลาสค์อาหารเหลว (PDB) นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่า ที่ความเร็วรอบ 180/นาที เป็นเวลานาน 4 วัน ตรวจเช็คการปนเปื้อนของเชื้ออื่นด้วยกล้องจุลทรรศน์ก่อนจะนำมาเลี้ยงเพิ่มปริมาณบนข้าวโพดบดหยาบ โดยเตรียมเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ 200 กรัม เติมน้ำ 200 มิลลิลิตร ปิดปากถุงด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121° ซ ความดัน 15 ปอนด์/ ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงถ่ายหัวเชื้อที่เตรียมไว้ใส่ในอัตรา 5 มล./ถุง คลุกให้เชื้อ

กระจายทั่วอาหาร นำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง (27 ± 3 °ซ.) เป็นเวลานาน 14 วัน เชื้อราเขียวจะเจริญเติบโตและสร้างโคนิเดียจนเต็มถุง จึงนำเชื้อที่ได้ไปทดสอบกับแมลงศัตรูพืชต่อไป

2. ศึกษาอัตราการใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมที่เหมาะสม

สิ่งทดลอง : เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร (DOA) และ สายพันธุ์กรมส่งเสริมการเกษตร (DOAE) อายุเชื้อ 14 วัน

แบบและวิธีการทดลอง: วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 7 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม (DOA) อัตรา 200 กรัม / 0.25 ลูกบาศก์เมตร
กรรมวิธีที่ 2 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม (DOA) อัตรา 400 กรัม/ 0.25 ลูกบาศก์เมตร
กรรมวิธีที่ 3 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม (DOA) อัตรา 600 กรัม/ 0.25 ลูกบาศก์เมตร
กรรมวิธีที่ 4 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม (DOA) อัตรา 800 กรัม / 0.25 ลูกบาศก์เมตร
กรรมวิธีที่ 5 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม (DOA) อัตรา 1,000 กรัม/ 0.25 ลูกบาศก์เมตร
กรรมวิธีที่ 6 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม (DOAE) อัตรา 1,000 กรัม/ 0.25 ลูกบาศก์เมตร
กรรมวิธีที่ 7 ใช้น้ำเปล่าเป็น control

ทำการทดลองใน 2 พื้นที่ คือ ต.สามเรือน อ. เมืองราชบุรี จ. ราชบุรี และที่ ต.โรงหีบ อ. บางคนที จ. สมุทรสงคราม ระหว่างวันที่ 26 เมษายน – 14 กันยายน 2554 โดยผสมปุ๋ยคอก และขุยมะพร้าว ในอัตรา 0.5 : 1 ลงในถังซีเมนต์ขนาดกว้าง 80 ซม. สูง 50 ซม. รดน้ำให้ชุ่มทิ้งไว้ประมาณ 1 – 2 อาทิตย์หรือจนกว่าไม่มีความร้อนเกิดขึ้นในส่วนผสมดังกล่าว จากนั้นนำเชื้อราเขียวที่เตรียมไว้ใส่ตามกรรมวิธีต่างๆ คลุกเชื้อราเขียวให้กระจายทั่วทั้งถัง ใส่หนอนด้วงแรดมะพร้าวในอัตรา 30 ตัว/ถัง รดน้ำเพื่อให้เกิดความชุ่มชื้น หาวัสดุได้แก่ ทางมะพร้าวคลุมปากถังเพื่อรักษาความชื้นสังเกตการเป็นโรค ของหนอนในวันที่ 14 และ 28 ของการทดลอง จดบันทึกข้อมูลเพื่อการวิเคราะห์ผล

การบันทึกข้อมูล : เก็บรวบรวมข้อมูล และจดบันทึกความผิดปกติทั้งหมดที่เกิดขึ้นระหว่างทำการทดลอง ได้แก่ - อาการและการเกิดโรคของแมลงที่ใช้ทดสอบ
- ระยะเวลาที่ทำให้เกิดโรค

: วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ IRRISTAT

เวลาและสถานที่

- ตุลาคม 2553 สิ้นสุด เดือนกันยายน 2554
- ห้องปฏิบัติการเชื้อราโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ และแหล่งปลูกมะพร้าว ในพื้นที่ จ.ราชบุรี และจ.สมุทรสงคราม

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวกับหนอนด้วงแรดมะพร้าวที่ จ.ราชบุรี

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวทั้ง 3 ครั้ง ที่ ต.สามเรือน อ. เมืองราชบุรี จ. ราชบุรี พบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวส่วนใหญ่ในวันที่ 28 ของการทดลอง เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวทั้ง 3 ครั้งค่อนข้างน้อย ส่วนใหญ่พบน้อยกว่า 50% การทดลองครั้งที่ 1 ในวันที่ 28 ของการทดลอง พบเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคของราเขียว DOA ในทุกอัตราที่ทำการทดลอง มีแนวโน้มการใช้ที่เหมาะสมอยู่ที่อัตรา 200, 400 และ 800 กรัม โดยแสดงเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อไม่แตกต่างกันที่ 13.69, 5.98 และ 5.19% ตามลำดับ การทดลองครั้งที่ 2 ในวันที่ 28 ของการทดลอง พบแนวโน้มการใช้เชื้อราเขียว DOA ที่เหมาะสมอยู่ที่อัตรา 200, 400 และ 600 กรัม โดยแสดงเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อไม่แตกต่างกันที่ 34.66, 57.12 และ 39.30% ตามลำดับ ส่วนการทดลองในครั้งที่ 3 พบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อไม่แตกต่างกันในทุกอัตราที่ใช้ โดยการติดเชื้อที่ 14 วันอยู่ระหว่าง 0.86 – 2.72% และการติดเชื้อที่ 28 วันอยู่ระหว่าง 14.98 – 28.43%

การทดสอบประสิทธิภาพราเขียวกับหนอนด้วงแรดมะพร้าวที่จ.สมุทรสงคราม

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวทั้ง 3 ครั้ง ที่ ต.โรงหีบ อ. บางคนที จ. สมุทรสงคราม พบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อทั้งในวันที่ 14 และ 28 ของการทดลอง โดยพบการติดเชื้อมากที่สุดในวันที่ 28 ของการทดลอง การติดเชื้อราเขียวส่วนใหญ่จะพบมากกว่า 50% และการติดเชื้อที่พบมักจะเป็นไปในทิศทางเดียวกัน จากการทดลองครั้งที่ 1 พบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียว ไม่แตกต่างกันในทุกอัตราที่ใช้ ทั้งในวันที่ 14 และ 28 ของการทดลอง โดยการติดเชื้อราเขียวของ DOA ที่ 14 วันอยู่ระหว่าง 3.83 – 16.30% ไม่แตกต่างจากเชื้อของ DOAE และการไม่ใส่เชื้อ (control) ที่พบการติดเชื้อที่ 3.51% และ 0 ตามลำดับ เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวของ DOAที่ 28 วันอยู่ระหว่าง 46.89 – 68.96% ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างจากเชื้อของ DOAE ที่พบการติดเชื้อที่ 57.06% การทดลองครั้งที่ 2 ให้ผลคล้ายการทดลองครั้งที่ 1 โดยในวันที่ 14 ของการทดลอง ยังคงพบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวของ DOAไม่มีความแตกต่างกันในทุกอัตราที่ใช้ทดสอบ การติดเชื้ออยู่ระหว่าง 44.87 – 62.19% ส่วนเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวของ DOAE ค่อนข้างน้อยกว่าโดยอยู่ที่ 26.50% การติดเชื้อราเขียวของ DOAที่ 28 วันอยู่ระหว่าง 64.88 – 83.42% ในขณะที่การติดเชื้อราเขียวของ DOAE อยู่ที่ 62.37% การทดลองครั้งที่ 3 ยังคงมีแนวโน้มเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวคล้ายผลการทดลองใน 2 ครั้งแรก โดยยังคงพบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวไม่มีความแตกต่างกันในทุกอัตราที่ใช้ทดสอบ การติดเชื้อราเขียวของ DOA ที่ 14 วันอยู่ระหว่าง 19.57 – 41.01% ซึ่งมากกว่าการติดเชื้อราเขียวของ DOAE ที่ 18.76% และการติดเชื้อราเขียวของ DOA ที่ 28 วันอยู่ระหว่าง 46.24 – 67.43% ส่วนการติดเชื้อราเขียวของ DOAE อยู่ที่ 58.65%

จากผลการวิเคราะห์หาอัตราการใช้เชื้อราเขียวสายพันธุ์ DOA ที่เหมาะสม พบว่าเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวไม่มีความแตกต่างกันในทุกอัตราที่ใช้ทดสอบ จากผลการทดลองนี้การใช้เชื้อราเขียวที่อัตรา 200 กรัมต่อพื้นที่ 0.25 ลูกบาศก์เมตร น่าจะมีความเหมาะสม เนื่องจากมีแนวโน้มของการเกิดโรคที่ดีไม่แตกต่างจากการใส่ในอัตราที่มากกว่า นอกจากนี้ยังเป็นการประหยัดเชื้อ และลดต้นทุนการผลิตเชื้อ ซึ่งผล

การทดสอบเป็นไปในทางเดียวกันกับ มลิวัลย์ และคณะ (2529) ที่ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราเขียวต่อด้วงแรดมะพร้าวที่ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร โดยใช้เชื้อราเขียวที่อัตรา 200, 400, 600, 800 และ 1,000 กรัม ต่อกองปุ๋ยหมักขนาด 2 x 2 x 0.5 เมตร และได้สรุปว่า อัตราการใช้ที่เหมาะสม คือ 200 – 400 กรัม โดยทำให้หนอนด้วงแรดเป็นโรคได้ 77.55 – 96.35% และเชื้อยังคงประสิทธิภาพได้นาน 6 – 12 เดือน

ผลการทดลองใช้เชื้อราเขียว DOA ทั้ง 2 พื้นที่ พบว่าได้ผลการทดสอบมีแนวโน้มการติดเชื้อไปในทางเดียวกันคือสามารถทำให้หนอนด้วงแรดเกิดการติดเชื้อได้ในทุกอัตราที่ใช้ทดสอบ แต่จะมีความแตกต่างกันในเปอร์เซ็นต์การติดโรค โดยพบว่าที่ จ.ราชบุรี เกิดการติดโรคน้อยกว่าที่ จ.สมุทรสงคราม ทั้งนี้เนื่องจากสภาพพื้นที่ และสภาพอากาศที่มีความแตกต่างกันในช่วงเวลาทดลอง โดยพื้นที่ที่ทำการทดลองในเขต จ.ราชบุรี เป็นที่โล่งไม่ได้เป็นสภาพสวน แต่อยู่ในแหล่งที่มีการรับซื้อยอดมะพร้าวมีการกองส่วนที่เหลือใช้จากการตัดแต่งยอดมะพร้าวทำให้กลายเป็นแหล่งขยายพันธุ์ของหนอนด้วงแรด สภาพอากาศในเวลากลางวันค่อนข้างร้อน วัดอุณหภูมิเฉลี่ยในกองล่อได้ 32.42 ^{O}C ส่วนสภาพพื้นที่ในเขต จ.สมุทรสงคราม อยู่ในแหล่งปลูกมะพร้าวมีลักษณะเป็นร่องสวน สภาพอากาศในเวลากลางวันค่อนข้างเย็นกว่า เนื่องจากอยู่ใต้ร่มเงาของต้นมะพร้าว วัดอุณหภูมิเฉลี่ยในกองล่อได้ 29.50 ^{O}C จากลักษณะดังกล่าวทำให้ผลการทดลองที่ได้เกิดความแตกต่างกัน โดยพบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวในแปลงทดสอบ จ.สมุทรสงคราม เกิดขึ้นมากกว่าแปลงทดสอบใน เขต จ.ราชบุรี

และจากการทดลองมีการลดส่วนผสมของ ปุ๋ยคอก : มะพร้าวสับ จากเดิมที่ใช้ 1: 1 ปรับลดลงเป็น 0.5: 1 เนื่องจากพบว่าการใส่ปุ๋ยคอกมากเกินไป ทำให้ขบวนการหมักใช้เวลานาน และส่วนผสมเกิดความร้อนสูง เมื่อลดอัตราส่วนปุ๋ยคอกลงทำให้ขบวนการหมักใช้เวลาเร็วขึ้น และความร้อนที่เกิดในกองล่อสลายตัวได้เร็วทำให้ลดระยะเวลาในการทำการทดสอบให้เร็วขึ้น อย่างไรก็ดีจากการทดลองยังพบว่าปริมาณเชื้อของ DOA ที่ใส่ไม่ได้สัมพันธ์ต่อการเกิดโรคมากนัก เนื่องจากส่วนใหญ่พบว่าหนอนด้วงแรดเกิดการติดโรคไม่แตกต่างกันในแต่ละการทดลอง การติดเชื้อส่วนใหญ่น่าจะเกิดจากการคลุกส่วนผสมทั้งหมดและเชื้อราเขียวในถังซีเมนต์ ให้เข้ากันเพื่อให้เชื้อกระจายทั่วทั้งถังและมีโอกาสสัมผัสกับหนอนด้วงแรดมากที่สุด นอกจากนี้การให้ความชื้นกับส่วนผสมยังมีส่วนช่วยกระตุ้นให้โคนิเดียของเชื้องอกและ infect เข้าไปในตัวเหยื่อได้ดีขึ้น จากผลการทดลองที่ จ.ราชบุรี และจ.สมุทรสงคราม ทั้ง 3 ครั้ง พบว่าปริมาณเชื้อราเขียวที่ใส่แปรผกผันกับเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียว การเพิ่มปริมาณเชื้อราเขียวมากขึ้นไม่ทำให้เกิดการติดเชื้อเพิ่มขึ้นเสมอไป เปรียบเทียบจากการใส่เชื้อราเขียวของ DOA ที่อัตรา 1,000 กรัม ไม่ได้ทำให้การติดเชื้อราเขียวของหนอนด้วงแรดแตกต่างในทางสถิติจากการใส่เชื้อราเขียวของ DOA ที่อัตรา 200 กรัม ในทางตรงกันข้ามกลับทำให้เปอร์เซ็นต์การติดโรคของหนอนลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องจากในธรรมชาติมีจุลินทรีย์อยู่หลายชนิดทั้งเชื้อรา และเชื้อแบคทีเรียชนิดต่างๆ เมื่ออยู่ในพื้นที่จำกัด ทำให้เกิดการแข่งขันกันเพื่อแย่งอาหารและที่อยู่อาศัย จากปรากฏการณ์นี้ทำให้เกิดความผันผวนในกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่อยู่ในพื้นที่ดังกล่าว โดยพบว่าในธรรมชาติจุลินทรีย์ที่มีการเจริญเติบโตได้เร็วกว่าจะมีความสามารถและมีศักยภาพในการแข่งขันที่สูงกว่าจุลินทรีย์ที่มีการเจริญเติบโตช้ากว่า

(Anonymous, 2012) ราเขียวเป็นเชื้อราที่พบในดิน ซึ่งโดยปกติดินจะช่วยปกป้องแสงแดดซึ่งเป็นอันตรายต่อโคนิเดีย ทำให้โคนิเดียสามารถมีชีวิตอยู่รอดได้ นอกจากนี้ยังช่วยปกป้องไม่ให้เกิดความแห้งอันเกิดจากอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงจากภายนอก แต่อย่างไรก็ดีในดินประกอบไปด้วยจุลินทรีย์ชนิดอื่นมากมายซึ่งอาจผลิตสารที่สามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของโคนิเดียได้ (Boucias and Pendland, 1998)

และจากการเปรียบเทียบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวของ DOA และ DOAE ทั้ง 3 ครั้ง พบว่าเชื้อราเขียวของ DOA มีแนวโน้มทำให้หนอนด้วงแรดมะพร้าวเกิดการติดเชื้อได้ดีกว่า เมื่อเปรียบเทียบขนาดโคนิเดียพบว่าเชื้อราเขียวของ DOA มีความยาวของโคนิเดียเชื้อมากกว่า เชื้อราเขียวของ DOAE จากข้อมูลที่ได้พบว่ามีความสอดคล้องกับ Boucias and Pendland (1998) ที่กล่าวว่า เชื้อราเขียว M. *anisopliae* แบ่งออกเป็น 2 varieties ตามขนาดความยาวของโคนิเดีย คือ M. *anisopliae* var. major เป็น varieties ที่มีความยาวถึง 18 µm มีความเฉพาะเจาะจงสูงกว่า ส่วนใหญ่ใช้ควบคุมแมลงในดินโดยเฉพาะกลุ่มหนอนด้วง ได้แก่ หนอนด้วงแรดมะพร้าว และ M. *anisopliae* var. *anisopliae* เป็น varieties ที่มีความยาวของโคนิเดียสั้นกว่าไม่เกิน 9 µm เชื้อราเขียวสายพันธุ์นี้สามารถใช้ควบคุมแมลงได้หลายกลุ่ม เช่น กลุ่มด้วง ผีเสื้อ ตั๊กแตน มวน และเพลี้ยต่างๆ แต่อย่างไรก็ดีควรมีการจำแนกสายพันธุ์ให้เกิดความชัดเจนต่อไปในอนาคต

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวใน 2 พื้นที่ ทั้ง จ.ราชบุรี และจ.สมุทรสงคราม พบว่า เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวของหนอนด้วงแรดมีความแตกต่างกันโดยพบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวในแปลงทดสอบ จ.สมุทรสงคราม เกิดขึ้นมากกว่าแปลงทดสอบในเขต จ.ราชบุรี เนื่องจากสภาพพื้นที่ และสภาพอากาศที่มีความแตกต่างกันในช่วงเวลาที่ทำการทดลอง โดยพื้นที่ในเขต จ.สมุทรสงคราม อยู่ในแหล่งปลูกมะพร้าวมีลักษณะเป็นร่องสวน สภาพอากาศในเวลากลางวันค่อนข้างเย็นกว่าจึงเกิดการติดโรคได้ดีกว่าในเขต จ.ราชบุรี ซึ่งเป็นที่โล่ง และมีสภาพอากาศในเวลากลางวันค่อนข้างร้อนกว่าจึงพบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวน้อยกว่า นอกจากนี้ยังพบว่าเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียวสายพันธุ์ DOA ไม่มีความแตกต่างกันในทุกอัตราที่ใช้ทดสอบ จากผลการทดลองนี้การใช้เชื้อราเขียวสายพันธุ์ DOA ที่อัตรา 200 กรัมต่อพื้นที่ 0.25 ลูกบาศก์เมตร มีความเหมาะสมมากกว่า เนื่องจากมีแนวโน้มของการเกิดโรคที่ดีไม่แตกต่างจากการใส่เชื้อในอัตราที่สูงกว่า นอกจากนี้ยังเป็นการประหยัดเชื้อ สามารถลดต้นทุนการผลิตเชื้อที่ใช้ได้

การใส่เชื้อราเขียว DOA ที่อัตราต่างๆกัน พบว่าปริมาณเชื้อราเขียวที่ใส่แปรผกผันกับเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราเขียว โดยพบการเพิ่มปริมาณเชื้อราเขียวมากขึ้นไม่ทำให้เกิดการติดเชื้อเพิ่มขึ้นเสมอไป ความแปรปรวนอาจเกิดขึ้นจากการแข่งขันกันเพื่อแย่งอาหารและที่อยู่อาศัย ของเชื้อรา และเชื้อแบคทีเรียชนิดต่างๆ เมื่ออยู่ในพื้นที่จำกัด นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อราเขียวสายพันธุ์ DOA มีความเฉพาะเจาะจงและมีแนวโน้มต่อการเกิดโรคของหนอนด้วงแรดมะพร้าวสูงกว่าเชื้อราเขียวสายพันธุ์ DOAE

เมื่อพิจารณาลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่าทั้ง 2 สายพันธุ์มีความแตกต่างกันที่ขนาดความยาวของโคนิเดีย โดยพบว่าเชื้อราเขียวของ DOA มีความยาวของโคนิเดียเชื้อมากกว่า เชื้อราเขียวของ DOAE ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลจากเอกสารอ้างอิงที่กล่าวถึงเชื้อราเขียวที่โคนิเดียมีความยาวมากจะมีความเฉพาะเจาะจงต่อหนอนด้วงแรดมะพร้าว มากกว่าพวกที่มีความยาวของโคนิเดียสั้น แต่อย่างไรก็ดีควรมีการจำแนกสายพันธุ์ให้เกิดความชัดเจนต่อไปในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

มลิวัลย์ ปันยารชุน, สุรพล ตรุยานนท์, คนอง คลอดเพ็ง, อานุภาพ ธีรกุล และอำนวย อิศรางกูร ณ อยุธยา. 2529. การศึกษาประสิทธิภาพเชื้อราเขียวต่อด้วงแรดมะพร้าว, น.1-17. *ใน* รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยประจำปี 2529 กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์, เกรียงไกร จำเริญมา และสาทิพย์ มาลี. 2553. การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae*. น.842-853. *ใน* รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553 เล่ม 2 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. เอกสารวิชาการ ลำดับที่ 1/2554 กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

Anonymous. 2012. Ecological Association/Interactions among Soil Microorganisms. Available. http://agriinfo.in/?page=topic&superid=5&topicid=172 (January 18, 2012).

Boucias, D.G. and J.C. Pendland. 1998. Principles of Insect Pathology. Kluwer Academic Publishers. 537 p.

Kershaw, M.J., E.R. Moorhouse, R. Bateman, S.E. Reynolds and A.K. charnley. 1999. The role of destruxins in pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* for three species of insect. J. Invertebr. Pathol. 74: 213-223.

Lezama-Gutiérrez , R., A. Trujilo-De la Luz, J. Molina-Ochoa, O. Rebolledo-Dominguez, A.R. Pescador, M. López-Edwards and M. Aluja. 2000. Virulence of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) on Anastrepha

ludens (Diptera: Tephritidae): Laboratory and Field Trials. J. Econ. Entomol. 93: 1080-1084.

Rosa, W. DE LA, R. Alatorre, J.F. Barrera and C. Toriello. 2000. Effect of Beauveria bassiana and *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycetes) upon the coffee berry borer (Coleoptera: Scolytidae) under field conditions. J. Econ. Entomol. 93: 1409-1414.

ตารางที่ 1 แสดงเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยจากการติดเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมที่แปลงทดสอบ ต.สามเรือน อ. เมืองราชบุรี จ. ราชบุรี ระหว่างวันที่ 26 เมษายน – 14 กันยายน 2554

อัตราที่ใช้	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยจากการติดเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม					
	การทดลองครั้งที่ 1		การทดลองครั้งที่ 2		การทดลองครั้งที่ 3	
	14 วัน	28 วัน	14 วัน	28 วัน	14 วัน	28 วัน
DOA 200 กรัม	0.00	13.69 a	0.00	34.66 ab	2.72 a	26.13 ab
DOA 400 กรัม	0.00	5.98 ab	0.00	57.12 a	1.73 a	14.98 ab
DOA 600 กรัม	0.00	0.86 b	0.00	39.30 ab	0.86 a	28.43 a
DOA 800 กรัม	0.00	5.19 ab	0.00	21.00 bc	0.00 a	20.91 ab
DOA 1,000 กรัม	0.00	0.83 b	0.00	25.78 bc	0.00 a	24.05 ab
DOAE 1,000 กรัม	0.00	1.70 b	0.00	6.31 c	0.00 a	16.10 ab
Control =ไม่ใส่เชื้อ	0.00	0.83 b	0.00	1.04 c	0.00 a	0.00 b
CV (%)	-	140.3	-	65.5	260.3	89.5

1/ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ทดสอบโดยใช้ DMRT)

ตารางที่ 2 แสดงเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยจากการติดเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมที่แปลงทดสอบ ต.โรงหีบ อ. บางคนที จ. สมุทรสงคราม ระหว่างวันที่ 26 เมษายน – 14 กันยายน 2554

อัตราที่ใช้	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยจากการติดเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม					
	การทดลองครั้งที่ 1		การทดลองครั้งที่ 2		การทดลองครั้งที่ 3	
	14 วัน	28 วัน	14 วัน	28 วัน	14 วัน	28 วัน
DOA 200 กรัม	4.88 a	64.00 a	48.22 ab	83.42 a	35.99 a	67.43 a
DOA 400 กรัม	14.09 a	60.69 a	62.19 a	81.40 a	20.11 ab	57.37 a
DOA 600 กรัม	3.83 a	68.96 a	53.93 ab	82.42 a	41.01 a	59.81 a
DOA 800 กรัม	13.00 a	54.17 a	61.01 a	78.37 ab	19.85 ab	46.24 a
DOA 1,000 กรัม	16.30 a	46.89 a	44.87 ab	64.88 ab	19.57 ab	46.71 a
DOAE 1,000 กรัม	3.51 a	57.06 a	26.50 bc	62.37 b	18.76 ab	58.65 a
Control =ไม่ใส่เชื้อ	0.00 a	1.96 b	0.00 c	0.00 c	1.28 b	0.00 b
CV (%)	132	39.2	43.4	17.7	65.4	28

1/ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ทดสอบโดยใช้ DMRT)

พัฒนาเทคโนโลยีการผลิตไวรัส NPV จากเซลล์เพาะเลี้ยง

Development Technology of Nucleopolyhedrovirus Producing from Cell Culture

สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต สาทิพย์ มาลี เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

พัฒนาเทคโนโลยีการผลิตไวรัส NPV จากเซลล์เพาะเลี้ยง ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ระหว่าง เดือนตุลาคม 2553 ถึง เดือนกันยายน 2554 เซลล์เพาะเลี้ยงทั้ง 4 ชนิด สามารถเจริญเติบโตเป็นเซลล์ต้นแบบได้ตามเทคนิควิธีการนี้ โดยมีค่าร้อยละการเจริญของเซลล์หนอนเจาะสมอฝ้ายที่ 90.05 % เซลล์หนอนใยผักที่ 90.21 % เซลล์หนอนกระทู้ผัก ที่ 91.25 % และเซลล์หนอนกระทู้หอม 91.45 % ซึ่งยังคงสภาพได้เป็นเซลล์เพาะเลี้ยง (cell line) ซึ่งต้องใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงพัฒนาเพื่อให้ได้เป็นเซลล์เพาะเลี้ยงต่อเนื่อง (continuous cell line)

คำหลัก : เซลล์แมลงเพาะเลี้ยง การผลิต Insect cell culture, Nucleopolyhedrovirus, NPV, producing, biopesticide

---

รหัสการทดลอง 03-04-54-01-02-01-01-54

คำนำ

การใช้ไวรัสสาเหตุโรคของแมลงเป็นสารชีวินทรีย์ควบคุมแมลงศัตรูพืชหลายชนิด ได้แพร่หลายในหลายประเทศทั่วโลก เช่น สหภาพโซเวียต อินเดีย จีน ญี่ปุ่น แอฟริกา ออสเตรเลีย อเมริกา เป็นต้น บางชนิดได้มีการผลิตเป็นการค้า เนื่องจากควบคุมแมลงศัตรูพืชได้ดีและมีความปลอดภัยสูงต่อสิ่งมีชีวิตอื่น ทำให้ไวรัสมีความเฉพาะเจาะจงในการเข้าทำลายแมลง (Entwistle, 1998) สำหรับในประเทศไทย นับแต่ปี พ.ศ. 2510 มีรายงานการศึกษาวิจัยโรคไวรัส NPV สาเหตุโรคของแมลง ในกลุ่ม Nucleopolyhedrovirus (NPV) หรือชื่อเดิม Nuclear polyhedrosis viruses (อุทัย, 2544) โดยกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ได้มีการวิจัยและพัฒนาการผลิตขยายและการใช้ไวรัสสาเหตุโรคของแมลง ชนิด *Spodoptera exigua* Multiple-nucleocapsid Nucleopolyhedrovirus (SeMNPV) เป็นปริมาณมากในรูปแบบการผลิตแบบ *in vivo* คือ ผลิตจากหนอนแมลง เนื่องจาก ไวรัสจะสามารถเจริญขยายเพิ่มจำนวนได้ในเซลล์ที่มีชีวิตเท่านั้น การผลิตไวรัสจึงสามารถผลิตขยายได้ 2 รูปแบบ คือ การผลิตจากหนอนแมลง เรียกว่าแบบ *in vivo* และ ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยง เรียกว่า แบบ *in vitro* (สุชลวัจน์, 2545; Wongwilikhit and Somsuk, 2006) ปัญหาที่พบในการผลิตไวรัส SeMNPV ที่ใช้รูปแบบการผลิต แบบ *in vivo* คือ 1.) อัตราการผลิตไวรัสแต่ละรุ่น/ชนิดไม่สม่ำเสมอ เนื่องจากเลี้ยงหนอนไม่ได้ตามกำหนดเวลาที่ต้องการใช้แต่ละรุ่น 2.) ประสิทธิภาพไม่แน่นอน มีกลิ่นเหม็น เนื่องจากมีการปนเปื้อนจุลินทรีย์อื่น เช่น แบคทีเรีย โปรโตซัว รา ทั้งที่เป็นสาเหตุโรคแมลงหรือแม้แต่ไวรัสที่ต่างชนิดกัน และผลิตภัณฑ์ไวรัสไม่สามารถจำแนกชนิดได้ด้วยลักษณะทางสรีระวิทยา 3.) ผลิตภัณฑ์ไวรัสที่มีจำหน่ายทุกวันนี้ ยังไม่สามารถกำหนดมาตรฐานในการขึ้นทะเบียนสารชีวินทรีย์ตามมาตรฐานความปลอดภัยทางชีวภาพ เพียงแต่ให้ใช้แบบไม่มีการขึ้นทะเบียนฯเท่านั้น 5.) การใช้สถานที่และแรงงานในการปฏิบัติงานมาก ซึ่งทำให้มีต้นทุนสูง และทำให้มีข้อจำกัดในกระบวนการผลิตขยายในปริมาณมาก (อุทัยและคณะ, 2537) การแก้ปัญหาดังกล่าวข้างต้นของการผลิตไวรัส SeMNPV แบบ *in vivo* จึงมีการทดลองวิจัยรูปแบบการผลิตไวรัส SeMNPV จากเซลล์เพาะเลี้ยง หรือที่เรียกว่า การผลิตแบบ *in vitro* โดยนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเซลล์แมลงศัตรูพืชจาก United Stated Department of Agriculture (USDA) ประเทศสหรัฐอเมริกา (สุชลวัจน์, 2539; สุชลวัจน์และคณะ, 2543; Lynn and Shapiro, 1998) มาใช้ทดลองเพาะเลี้ยงเซลล์หนอนแมลงสายพันธุ์ไทยในกลุ่มแมลงศัตรูพืชผัก ผลจากการทดลองเพาะเลี้ยงเซลล์หนอนกระทู้ผักสายพันธุ์ไทย (Sl cell line : *Spodoptera litura* cell line) จากเอ็มบริโอ (Embryonic stem cell) ได้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเซลล์แมลงชนิดนี้ได้เป็นผลดี มีอัตราการเจริญ 91.49 % (สุชลวัจน์และคณะ, 2545) ต่อมาใช้เทคนิคเดียวกันเพาะเลี้ยงเซลล์หนอนกระทู้หอมมีค่าร้อยละการเจริญของเซลล์ 90.91 % และได้เป็นรูปแบบการผลิตขยายไวรัสจากเซลล์เพาะเลี้ยงต่อเนื่องกันได้ดี (สุชลวัจน์และคณะ, 2551) ดังนั้น จึงทำการวิจัยพัฒนาต่อยอดเพื่อให้ได้เทคโนโลยีการผลิตไวรัส NPV จากเซลล์เพาะเลี้ยงชนิดใหม่เพิ่มเติม ที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ในการผลิตไวรัส NPV จากเซลล์เพาะเลี้ยง เพื่อให้ได้เทคโนโลยีที่สามารถนำไปขยายผลในเชิง

การค้าได้ และทำให้ผลิตภัณฑ์ไวรัสมีคุณภาพมาตรฐานความปลอดภัยทางชีวภาพ ในการนำไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี สอดคล้องกับแนวทางการผลิตพืชให้ปลอดภัยต่อผู้บริโภคและไม่ก่อให้เกิดมลพิษต่อสภาพแวดล้อม เพื่อยกระดับคุณภาพชีวิตและการพัฒนาที่ยั่งยืนตามยุทธศาสตร์การพัฒนาประเทศตามแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ฉบับที่ 10 (พ.ศ. 2550-2554)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. วัสดุอุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างแมลงและการเลี้ยงแมลงในห้องปฏิบัติการ เช่น กล่องพลาสติก ปากคีบ น้ำหวาน อาหารเทียมเลี้ยงแมลง เป็นต้น

2.วัสดุอุปกรณ์การเพาะเลี้ยงเซลล์แมลง เช่น อาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ ขวดใส่สารละลาย สารเคมีผสมสูตรสำเร็จ กระดาษกรอง ชุดกรองสารละลาย จานพลาสติกเพาะเลี้ยงเซลล์แมลง ชุดเครื่องผ่าตัด หลอดดูดสารละลาย หลอดปั่นแยกสาร T-flask และภาชนะเพาะเลี้ยง Cells lines ขนาดต่างๆ อาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ สารเคมีที่จำเป็น เช่น Sodium phosphate, Serum, Glucose, Yeastolate, Tryptose, Primatone, Cystine, Methionine, Inosine, Pluronic, Sodium bicarbonate, Potassium chloride, Magnesium sulfate เป็นต้น

3. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเซลล์แมลง เช่น เครื่องกรองอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์แมลง เครื่องวัดค่าออสโมซีส กล้องจุลทรรศน์ ถังไนโตรเจนเหลวเก็บสต๊อคเซลล์ ตู้ควบคุมอุณหภูมิ เครื่องเพาะเลี้ยงเซลล์ cell spin เป็นต้น

4. วัสดุอุปกรณ์เก็บตัวอย่าง Cell line เช่น หลอด Cryotube ใส่สารละลาย ไนโตรเจนเหลว เป็นต้น

วิธีการ

ดำเนินการทดลองวิจัยย่อย 2 การทดลอง ได้แก่ 1.) เพาะเลี้ยงเซลล์แมลงศัตรูพืชสายพันธุ์ไทยต้นแบบ 2.) เพาะเลี้ยงไวรัสจากเซลล์แมลงศัตรูพืชสายพันธุ์ไทยต้นแบบ

การทดลองที่ 1. เพาะเลี้ยงเซลล์แมลงศัตรูพืชสายพันธุ์ไทยต้นแบบ

เพาะเลี้ยงขยายเซลล์แมลงเพาะเลี้ยง จาก Embryonic stem cell ตามเทคนิควิธีการของสุชลวัจน์ (2545) เพาะเลี้ยงไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ ที่ 27 $^{\circ}$C ในอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์แมลงศัตรูพืช มีค่าออสโมซีส 350 – 360 mOsmols/kg. ค่า pH 6.2- 6.3 อัตราการเลี้ยงขยายเซลล์ (sub-culture) 1:5 ในภาชนะเพาะเลี้ยงเซลล์ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 35 มม. ทำการ sub-culture 3-4 วัน/ครั้ง คัดเลือกเซลล์เพาะเลี้ยงให้มีค่าร้อยละการเจริญของเซลล์ที่สามารถเจริญต่อไปได้ (cells viability)

มากกว่า 80% เพื่อให้ได้อัตราการเจริญของเซลล์เพิ่มขึ้น 5-10 เท่า ภายใน 4-7 วัน ใช้เป็นเซลล์เพาะเลี้ยงตั้งต้น (starter cells) จำนวน 2 ซ้ำ เพื่อหาอัตราการเจริญของเซลล์ที่เหมาะสมในแต่ละภาชนะ และอัตราการขยายเพิ่มปริมาณ บันทึกผลโดยการตรวจนับจำนวนเซลล์ทุกวันต่อเนื่องด้วยสไลด์ Hemocytometer ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ light compound microscope จำนวน 4 ซ้ำ เปรียบเทียบอัตราการเจริญของเซลล์ โดยคำนวณจากค่าร้อยละของเซลล์ที่สามารถเจริญต่อไปได้ แล้วคัดเลือก Se-cell line ไปใช้ในการทดลองที่ 2

การทดลองที่ 2. เพาะเลี้ยงไวรัสจากเซลล์แมลงศัตรูพืชสายพันธุ์ไทยต้นแบบ

นำเซลล์หนอนกระทู้หอมเพาะเลี้ยงที่คัดเลือกจากการทดลองที่ 1 ข้างต้น มาเลี้ยงขยายในภาชนะ แบบ T-flask ใช้เซลล์ตั้งต้น 2 x 10^5 – 1 x 10^6 เซลล์/มล. เพื่อทดสอบประสิทธิภาพการสร้างผลึกไวรัสในเซลล์หนอน กระทู้หอมเพาะเลี้ยง หลังจาก sub-culture 4 วัน และเพาะอนุภาคไวรัส (infection) จากเลือดหนอนกระทู้หอม ในเซลล์เพาะเลี้ยง อนุภาคไวรัสที่ใช้มีค่า Multiplicity of infection (MOI) ที่เหมาะสมต่อความเข้มข้นของเซลล์ตั้งต้น 2 x 10^5 - 1 x 10^6 เซลล์/มล. จำนวน 2 ซ้ำต่ออัตราอนุภาคไวรัส หลังจากนั้น ตรวจดูการสร้างผลึกโปรตีนไวรัสบริเวณนิวเคลียสของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ inverted microscope เปรียบเทียบกับเซลล์เพาะเลี้ยงปกติ ตรวจนับจำนวนผลึกไวรัสที่ได้ด้วยสไลด์ Hemocytometer ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ light compound microscope จำนวน 4 ซ้ำ คัดเลือกอัตราอนุภาคไวรัสที่ดีที่สุดในการทดลองข้างต้นนำมาใช้ผลิตขยายแบบต่อเนื่องจำนวน 3 รอบการผลิต โดยทำการปั่นแยกอนุภาคไวรัสจากผลผลิตไวรัสจากเซลล์เพาะเลี้ยง ปั่นตกตะกอนที่แรงเหวี่ยง 10,000g นาน 8 นาที มาใช้เพาะเลี้ยงอนุภาคไวรัสในเซลล์เพาะเลี้ยงในรอบการผลิตถัดไป รอบที่ 1 และ 2 ในภาชนะ แบบ cell spin flask (ปริมาตร 500 – 1,000 มล./ขวด)

เวลาและสถานที่ทำการทดลอง

ดำเนินการทดลองวิจัย ตั้งแต่ เดือนตุลาคม 2553 สิ้นสุด เดือนกันยายน 2555 ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยาสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองย่อยที่ 1. เพาะเลี้ยงเซลล์แมลงศัตรูพืชสายพันธุ์ไทยต้นแบบ

จากการเพาะเลี้ยงขยายเซลล์แมลงเพาะเลี้ยง จาก Embryonic stem cell จากหนอนแรกเกิด เปรียบเทียบ 4 ชนิด ได้แก่ หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนใยผัก หนอนกระทู้ผัก หนอนกระทู้หอม ตามเทคนิควิธีการของ สุชลวัจน์ (2545) เพาะเลี้ยงไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ ที่ 27 °C ในอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์แมลงศัตรูพืช มีค่าออสโมซีส 350 – 360 mOsmols/kg. ค่า pH 6.2- 6.3 อัตราการเลี้ยงขยายเซลล์ (sub-culture) 1:5 ในภาชนะเพาะเลี้ยงเซลล์ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 35 มม. ทำการ sub-culture 3-4 วัน/ครั้ง คัดเลือกเซลล์เพาะเลี้ยงให้มีค่าร้อยละการเจริญของเซลล์ที่สามารถเจริญต่อไปได้ (cells viability) มากกว่า 80% เพื่อให้ได้อัตราการเจริญของเซลล์เพิ่มขึ้น 5 เท่าภายใน 4 วัน ใช้เป็นเซลล์เพาะเลี้ยงตั้งต้น (starter cells) และตรวจดูความต่อเนื่องของการเจริญของเซลล์ พบว่า เซลล์เพาะเลี้ยงทั้ง 4 ชนิด สามารถเจริญเติบโตเป็นเซลล์ต้นแบบได้ตามเทคนิควิธีการนี้ โดยมีค่าร้อยละการเจริญที่สูงสุดของเซลล์ เซลล์หนอนใยผักที่ 90.21 % หนอนเจาะสมอฝ้ายที่ 90.05 % เซลล์หนอนกระทู้ผัก ที่ 91.25 % และเซลล์หนอนกระทู้หอม 91.45 % (ตารางที่ 1) ซึ่งยังคงสภาพได้เป็นเซลล์เพาะเลี้ยง (cell line) ซึ่งต้องใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงพัฒนาเพื่อให้ได้เป็นเซลล์เพาะเลี้ยงต่อเนื่อง (continuous cell line) จึงจะนำไปใช้ในการทดลองที่ 2 ต่อไป

ตารางที่ 1. ร้อยละการเจริญของเซลล์ที่สามารถเจริญต่อไปได้ (cells viability) มากกว่า 80%

แหล่งที่เก็บตัวอย่างแมลง	ร้อยละการเจริญของเซลล์ที่สามารถเจริญต่อไปได้ (cells viability)			
	เซลล์หนอนใยผัก	เซลล์หนอนเจาะสมอฝ้าย	เซลล์หนอนกระทู้ผัก	เซลล์หนอนกระทู้หอม
1. กาญจนบุรี	90.21	90.05	91.25	91.45
2. นครราชสีมา	-	85.90	-	-
3. นนทบุรี	-	-	87.35	-
4. กรุงเทพฯ	-	-	83.25	-

การทดลองย่อยที่ 2. เพาะเลี้ยงไวรัสจากเซลล์แมลงศัตรูพืชสายพันธุ์ไทยต้นแบบ

ดำเนินการต่อจากการทดลองย่อยที่ 1. เพาะเลี้ยงเซลล์แมลงศัตรูพืชสายพันธุ์ไทยต้นแบบจนกระทั่งได้เป็นเซลล์เพาะเลี้ยงต่อเนื่อง (continuous cell line) แล้ว

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เทคนิคการเพาะเลี้ยงขยายเซลล์แมลงเพาะเลี้ยง จาก Embryonic stem cell จากหนอนแรกเกิด เปรียบเทียบ 4 ชนิด ได้แก่ หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนใยผัก หนอนกระทู้ผัก หนอนกระทู้หอม สามารถเจริญเติบโตเป็นเซลล์ต้นแบบได้ตามเทคนิควิธีการนี้ ที่สามารถนำไปเผยแพร่ได้ และถ้าวิจัยต่อเนื่องนำไปประยุกต์ต่อยอด จะได้เป็นต้นแบบที่เหมาะสมต่อการผลิตขยายไวรัสจากเซลล์เพาะเลี้ยง มาตรฐาน ที่สามารถนำไปจดสิทธิบัตร เพื่อเป็นประโยชน์ของกรมวิชาการเกษตรต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ทิพย์วดี อรรถธรรม และ สุดาวรรณ เชยชมศรี. 2530. เอกสารวิชาการ เทคนิคการเพาะเลี้ยงเชื้อไวรัสเพื่อกำจัดแมลงศัตรูพืช. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม.

สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต 2545. เทคนิคการเพาะเลี้ยงเซลล์แมลงศัตรูพืช เอกสารประกอบการบรรยายเชิงปฏิบัติการ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรุงเทพฯ.

สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต อุทัย เกตุนุติ และ พิมลพร นันทะ. 2543. การเพาะเลี้ยงเซลล์หนอนกระทู้หอมเพื่อการผลิตเชื้อไวรัส NPV. น. 447-458. *ใน* เอกสารวิชาการประชุมสัมมนาทางวิชาการ “แมลงและสัตว์ศัตรูพืช” ครั้งที่ 12. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 28-31 มีนาคม 2543. ณ โรงแรมอมารี ออคิด รีสอร์ท เมืองพัทยา จังหวัดชลบุรี.

สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต และ พิมลพร นันทะ. 2544. เชื้อไวรัส เอ็น พี วี ของหนอนคืบกะหล่ำปลี. น. 73-78. *ใน* เอกสารการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ. ครั้งที่ 5. 21-23 พฤศจิกายน 2544. โรงแรมเฟลิกซ์ ริเวอร์แคว จ.กาญจนบุรี.

สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต พิมลพร นันทะ และ วัชรี สมสุข.. 2545. การเพาะเลี้ยงเซลล์หนอนกระทู้ผักสายพันธุ์ไทยจากเอ็มบริโอ. น. 197-206. *ใน* เอกสารวิชาการประชุมสัมมนาทางวิชาการ “เทคโนโลยีการจัดการแมลงและสัตว์ศัตรูพืชเพื่อเกษตรดีที่เหมาะสม” ครั้งที่ 13. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร . 6-9 สิงหาคม 2545. ณ โรงแรม โกลเด้นแซนด์ จังหวัดเพชรบุรี.

สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต วัชรี สมสุข เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ และ สาทิพย์ มาลี. 2548. การตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ไวรัส NPV. รายงานผลงานประจำปี สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต วัชรี สมสุข สาทิพย์ มาลี และ เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์. 2551. วิจัยรูปแบบการผลิตไวรัส SeMNPV จากเซลล์เพาะเลี้ยง *(in vitro)*. น. 1-11. *ใน* เอกสารผลงานวิจัยดีเด่นและผลงานวิจัยที่เสนอเข้าร่วมพิจารณาเป็นผลงานวิจัยดีเด่นประจำปี 2550. การ

ประชุมวิชาการประจำปี 2551 กรมวิชาการเกษตร. วันที่ 16-18 มิถุนายน 2551. ณ โรงแรมมิราเคิล แกรนด์ คอนเวนชั่น กรุงเทพฯ.

สุดาวรรณ เชยชมศรี. 2542. เทคโนโลยีการผลิตไวรัสกำจัดแมลงศัตรูพืชด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเซลล์. น. 72-82. *ใน* เอกสารการประชุมสัมมนาทางวิชาการ สารชีวินทรีย์กำจัดศัตรูพืช ในศตวรรษที่ 21. จัดโดย สมาคม กีฏและสัตววิทยาแห่งประเทศไทย กรมวิชาการเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 15-16 กรกฎาคม 2542. ณ โรงแรมมิราเคิล แกรนด์ คอนเวนชั่น กรุงเทพฯ.

อุทัย เกตุนุติ อัจฉรา ตันติโชดก สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต และ พิมลพร นันทะ. 2537. ปรับปรุงการผลิตและทำสูตรสำเร็จของไวรัส NPV. น. 457-486. *ใน* เอกสารวิชาการ การประชุมสัมมนาวิชาการ"แมลงและสัตว์ศัตรูพืช" ครั้งที่ 9 กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

อุทัย เกตุนุติ. 2544. การควบคุมแมลงศัตรูพืชด้วยไวรัส NPV. น. 141-177. *ใน* เอกสารวิชาการ การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี เพื่อการเกษตรยั่งยืน. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. พิมพ์ที่โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด กรุงเทพฯ.

Entwisetle, P.F. 1998. A world survey of virus control of insect pests, pp. 186-201. *In* Insect viruses and pest management. Eds. F.R. Hunter-Fujita, P.F. Entewistle, H.F. Evans and N. E. Crook.

พัฒนารูปแบบการเก็บรักษาเซลล์แมลงเพาะเลี้ยงต้นแบบ

Development of Maintenance Insect Cell Line Stock

สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ สาทิพย์ มาลี

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

พัฒนารูปแบบการเก็บรักษาเซลล์แมลงเพาะเลี้ยงต้นแบบ ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ระหว่าง เดือนตุลาคม 2553 ถึง เดือนกันยายน 2554 เพาะเลี้ยงเซลล์ที่อุณหภูมิต่างๆ สภาพแวดล้อมกัน เซลล์เพาะเลี้ยงทั้ง 4 ชนิด สามารถเจริญเติบโตแบ่งเซลล์ได้ดี ที่อุณหภูมิห้อง 25-28 $^{\circ}$C (12 ชั่วโมง/วัน) ซึ่งยังคงสภาพได้เป็นเซลล์เพาะเลี้ยง (cell line) ได้

คำหลัก : เซลล์แมลงเพาะเลี้ยง การผลิต Insect cell culture, producing, biopesticide

---

รหัสการทดลอง 03-04-54-01-02-01-02-54

คำนำ

เซลล์แมลงเพาะเลี้ยง สามารถนำไปใช้ประโยชน์ ทดแทนตัวหนอนทดลองในการผลิตไวรัสโรคแมลง เพื่อช่วยลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่ทำให้ผลิตภัณฑ์ไวรัสมีกลิ่นเหม็น ทำให้คุณภาพสม่ำเสมอและมีมาตรฐานความปลอดภัย เป็นเทคโนโลยีการผลิตที่เหมาะสมอีกวิธีการหนึ่ง ที่สามารถพัฒนาไปใช้ในการผลิตไวรัสโรคแมลงชนิดอื่นๆ ได้ในทำนองเดียวกัน จึงต้องมีการพัฒนาการเก็บรักษาเซลล์แมลงเพาะเลี้ยงต้นแบบเพื่อให้มีไว้ใช้งานได้อย่างต่อเนื่อง และเก็บรักษาเซลล์เพาะเลี้ยงได้อย่างเป็นระบบ การนำเซลล์เพาะเลี้ยง (cell line) นอกจากนำไปใช้ประโยชน์ในการผลิตไวรัส NPV เพื่อใช้เป็นสารชีวินทรีย์ควบคุมแมลงศัตรูพืชแล้ว (Entwisetle, 1998; สุดาวรรณ, 2542; สุชลวัจน์และคณะ, 2551) ยังสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในงานวิจัยอื่นๆได้อีกมาก เช่น การทดสอบสารพิษของรา (Vey *et al.*, 1993) การทำสูตรอาหารเทียมเพาะเลี้ยงแตนเบียน *Trichogramma sp.* (Notarte and Merritt, 2001) การทดลองการเกิดโรคไวรัสในเซลล์ (สุชลวัจน์และคณะ, 2551) เป็นต้น และมีการเก็บรักษาและเพาะเลี้ยงเซลล์ได้อย่างประสิทธิภาพ (Lynn, 2001)

เซลล์แมลงเพาะเลี้ยง สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการผลิตไวรัสซึ่งเป็นชีวินทรีย์ที่มีประโยชน์ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช การตั้งต้นเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นแบบจะต้องใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงจนกว่าจะได้เป็นเซลล์เพาะเลี้ยงที่ต่อเนื่อง ที่มีทั้งคุณภาพและประสิทธิภาพ นานเป็นปี และต้องใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงให้อาหารทุกสัปดาห์ ดังนั้นจึงต้องมีการพัฒนารูปแบบการเก็บรักษาเพื่อประหยัดเวลาค่าใช้จ่ายในการเพาะเลี้ยง และเก็บรักษาเซลล์ต้นแบบเพื่อให้มีไว้ใช้อย่างต่อเนื่อง โดยที่ไม่ต้องตั้งต้นเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นแบบทุกครั้ง สามารถยืดระยะเวลาช่วงชีวิตของเซลล์เพาะเลี้ยงได้นานขึ้น และมีความหลากหลายในชนิดของเซลล์แมลงเพาะเลี้ยงต้นแบบ นอกจากนี้ ในต่างประเทศมีการผลิตเซลล์ขายเพื่อการค้าในรูปแช่แข็งซึ่งมีราคาสูงมาก ดังนั้น จึงควรมีการทดลองวิจัยหารูปแบบการเก็บรักษาเซลล์เพาะเลี้ยง เพื่อประหยัดค่าใช้จ่ายในการดำเนินงานวิจัยภายในประเทศ และมีแนวทางที่ผลิตเซลล์เพื่อการค้าได้อีกด้วย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. วัสดุอุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างแมลงและการเลี้ยงแมลงในห้องปฏิบัติการ เช่น กล่องพลาสติก ปากคีบ น้ำหวาน อาหารเทียมเลี้ยงแมลง เป็นต้น

2.วัสดุอุปกรณ์การเพาะเลี้ยงเซลล์แมลง เช่น อาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ ขวดใส่สารละลาย สารเคมีผสมสูตรสำเร็จ กระดาษกรอง ชุดกรองสารละลาย จานพลาสติกเพาะเลี้ยงเซลล์แมลง หลอดดูดสารละลาย หลอดปั่นแยกสาร T-flask และภาชนะเพาะเลี้ยง Cells lines ขนาดต่างๆ อาหารเพาะเลี้ยง

เซลล์ สารเคมีที่จำเป็น เช่น Sodium phosphate, Serum, Glucose, Yeastolate, Tryptose, Primatone, Cystine, Methionine, Inosine, Pluronic, Sodium bicarbonate, Potassium chloride, Magnesium sulfate เป็นต้น

3. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเซลล์แมลง เช่น เครื่องกรองอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์แมลง เครื่องวัดค่าออสโมซีส กล้องจุลทรรศน์ ถังไนโตรเจนเหลวเก็บสต๊อคเซลล์ ตู้ควบคุมอุณหภูมิ เครื่องเพาะเลี้ยงเซลล์ cell spin เป็นต้น

4. วัสดุอุปกรณ์เก็บตัวอย่าง Cell line เช่น หลอด Cryotube ใส่สารละลาย ไนโตรเจนเหลว เป็นต้น

วิธีการ

1. เตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์แมลง และเซลล์เพาะเลี้ยง

2 พัฒนาวิธีการทดสอบการเก็บรักษาเซลล์เพาะเลี้ยง แบบระยะสั้น โดยการเก็บรักษาในภาชนะเลี้ยงที่อุณหภูมิต่ำกว่า 25-28 $^{\circ}$C เช่น 5, 10, 15, 20, 25 $^{\circ}$C เก็บข้อมูลทุก 3, 5, 7, 10, 15 วัน

3. พัฒนาวิธีการการเก็บรักษาเซลล์เพาะเลี้ยง แบบระยะยาว โดยการเก็บรักษาในภาชนะทนอุณหภูมิต่ำมาก เช่น -20, - 80 และ -196 $^{\circ}$C เก็บข้อมูลทุก 6 เดือน

4. ตรวจสอบคุณภาพเซลล์ตามระยะการเก็บรักษา ด้วยค่าร้อยละการเจริญของเซลล์ (cells viability) และ เทคนิคชีวโมเลกุล หรือ วิธี isozyme analysis

5. บันทึกผลทุกขั้นตอน พร้อมสรุปผล

เวลาและสถานที่ทำการทดลอง

ดำเนินการทดลองวิจัย ตั้งแต่ เดือนตุลาคม 2553 สิ้นสุด เดือนกันยายน 2555 ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

นำเซลล์เพาะเลี้ยงที่เจริญในภาชนะเพาะเลี้ยงเซลล์ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 35 มม. อาหารเพาะเลี้ยงเซลล์แมลงศัตรูพืช มีค่าออสโมซีส 350 – 360 mOsmols/kg. ค่า pH 6.2- 6.3 เพาะเลี้ยงในสภาวะค่าออสโมซีส 350 – 360 mOsmols/kg. ค่า pH 6.2- 6.3 ที่อุณหภูมิ 27 $^{\circ}$C ระยะเวลา 24 ชั่วโมง/วัน เปรียบเทียบที่อุณหภูมิ 25-28 $^{\circ}$C ระยะเวลา 12 ชั่วโมง/วัน ตรวจหาค่าร้อยละการเจริญของเซลล์ที่สามารถเจริญต่อไปได้ (cells viability) และตรวจดูความต่อเนื่องของการเจริญของเซลล์ พบว่า เพาะเลี้ยงเซลล์ที่อุณหภูมิต่างๆสภาพแวดล้อมกัน เซลล์เพาะเลี้ยงทั้ง 4 ชนิด สามารถเจริญเติบโตแบ่งเซลล์ได้ดี ที่อุณหภูมิห้อง 25-28 $^{\circ}$C (12 ชั่วโมง/วัน) ซึ่งยังคงสภาพได้เป็นเซลล์เพาะเลี้ยง (cell line) ได้ ส่วนที่ควบคุมอุณหภูมิ 5 $^{\circ}$C ระยะเวลา 24 ชั่วโมง/วัน และ การตรวจสอบคุณภาพเซลล์ตามระยะการเก็บรักษา ด้วย เทคนิคชีวโมเลกุล หรือ วิธี isozyme analysis จะดำเนินการทดลองวิจัยต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การพัฒนาวิธีการทดสอบการเก็บรักษาเซลล์เพาะเลี้ยง แบบระยะสั้น โดยการเก็บรักษาในภาชนะเลี้ยงที่อุณหภูมิต่างๆจะช่วยให้ลดค่าใช้จ่ายได้ ซึ่งถ้าได้ดำเนินการต่อเนื่อง และมีการตรวจสอบคุณภาพเซลล์ตามระยะการเก็บรักษา ด้วย เทคนิคชีวโมเลกุล หรือ วิธี isozyme analysis เพื่อยืนยันคุณภาพของเซลล์ได้ดียิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต วัชรี สมสุข สาทิพย์ มาลี และ เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์. 2551. วิจัยรูปแบบการผลิตไวรัส *Spodoptera exigua* Multiple-nucleocapsids Nucleopolyhedrosisvirus (SeMNPV) จากเซลล์เพาะเลี้ยง (in vitro) *ใน* เอกสารการประชุม ผลงานวิจัยดีเด่น ประจำปี 2550 การประชุมวิชาการ ประจำปี 2551 กรมวิชาการเกษตร. 16-18 มิถุนายน, โรงแรมมิราเคิล แกรนด์ คอนเวนชั่น กรุงเทพฯ.

สุดาวรรณ เชยชมศรี. 2542 เทคโนโลยีการผลิตไวรัสกำจัดแมลงศัตรูพืชด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเซลล์ หน้า 72-82 ใน เอกสารการประชุมสัมมนาทางวิชาการ สารชีวินทรีย์กำจัดศัตรูพืช *ใน* ศตวรรษที่ 21 จัดโดย สมาคม กีฏและสัตววิทยาแห่งประเทศไทย กรมวิชาการเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 15-16 กรกฎาคม, โรงแรมมิราเคิล แกรนด์ คอนเวนชั่น กรุงเทพฯ

Lynn, D.E. 2001. Novel techniques to establish new insect cell lines. In Vitro Cell. 37:319-321.

Entwisetle, P.F. 1998. A world survey of virus control of insect pests, p.186-201 *In* Insect viruses and pest management edits : Frances R. Hunter-Fujita, Philip F. Entewistle, Hugh F. Evans and Norman E. Crook.

Notarte, A. and D.J. Merritt 2001. Successful in vitro rearing of *Trichogramma australicum* (Hymenoptera : Trichogrammatidae) on artificial diet containing cultured insect cells, Bulletin of Entomological Research 91 (3) : 227-231

Vey,A., J. N. Quiot , I. Mazet and C.W. McCoy. 1993. Toxicity and Pathology of Crude Broth Filtrate Produced by *Hirsutella thompsonii* var. thompsonii in shake culture. J. Inverteb. Pathol. 61 : 131-137.

การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพสารเคมีควบคุมโรคกล้วยไม้สกุลแวนดา ที่เกิดจากแบคทีเรีย

Efficacy of bactericides to control bacterial diseases of Vanda

ศรีสุข พูนผลกุล[1/] วรางคนา แซ่อ้วง[1/]

สุรีย์พร บัวอาจ[2/] รุ่งนภา คงสุวรรณ์[2/] ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์[3/]

[1/]กลุ่ม บริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/] กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[3/]สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

รายงานความก้าวหน้า

จากการทดลองพบว่า เชื้อ *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* ใช้สารเคมีแคงเกอร์X 19.5 % WP ที่ความเข้มข้น 300,450และ600 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางความกว้างของส่วนใสบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 2.0,2.12และ2.36 เซนติเมตรตามลำดับ สารเคมีคาซูมิน แอล 2% W/V SL ที่ความเข้มข้น 1500,2000และ2500 ppm มีเส้นผ่านศูนย์กลางความกว้างของส่วนใสบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 0.8,0.74และ1.17 เซนติเมตรตามลำดับ สารเคมีริคโกมิลโกลด์12 68% WG ที่ความเข้มข้น 1000,2000และ3000 ppm มีเส้นผ่านศูนย์กลางความกว้างของส่วนใสบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 0.44,0.36และ0.44 เซนติเมตรตามลำดับ สารเคมีคูโปรฟิกซ์ 77% WG ที่ความเข้มข้น 2000,3000และ4000 ppm มีเส้นผ่านศูนย์กลางความกว้างของส่วนใสบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 0.14,0.26และ0.18 เซนติเมตรตามลำดับ

เชื้อ *E. chrysanthemi* ใช้สารเคมีแคงเกอร์X 19.5 % WP ที่ความเข้มข้น 300,450และ600 ppm มีเส้นผ่านศูนย์กลางความกว้างของส่วนใสบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 1.04,1.0และ 1.04 เซนติเมตรตามลำดับ สารเคมีคาซูมิน แอล 2% W/V SL ที่ความเข้มข้น 1500,2000และ2500 ppm มีเส้นผ่านศูนย์กลางความกว้างของส่วนใสบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 0.48,0.5และ0.78 เซนติเมตรตามลำดับ สารเคมีริคโกมิลโกลด์12 68% WG ที่ความเข้มข้น 1000,2000และ3000 ppm มีเส้นผ่านศูนย์กลางความกว้างของส่วนใสบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 0,0.68และ0.72 เซนติเมตรตามลำดับ สารเคมีคูโปรฟิกซ์ 77% WG ที่ความเข้มข้น 2000,3000และ4000 ppm มีเส้นผ่านศูนย์กลางความกว้างของส่วนใสบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 0.2,0.06และ0.06 เซนติเมตรตามลำดับ

เชื้อ *Acidovorax avenae* subsp.*cattleyae* ใช้สารเคมีแคงเกอร์X 19.5 % WP ที่ความเข้มข้น 300,450และ600 ppm มีเส้นผ่านศูนย์กลางความกว้างของส่วนใส

รหัสการทดลอง 01-29-54-02-03-01-02-54

บริเวณยับยั้งเฉลี่ย 3.1,3.38และ3.5 เซนติเมตรตามลำดับ สารเคมีคาซูมิน แอล 2% W/V SL ที่ความเข้มข้น 1500,2000และ2500 ppm มีเส้นผ่านศูนย์กลางความกว้างของส่วนใสบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 1.2,1.82และ2.06 เซนติเมตรตามลำดับ สารเคมีริคโกมิลโกลด์12 68% WG ที่ความเข้มข้น 1000,2000และ3000 ppm มีเส้นผ่านศูนย์กลางความกว้างของส่วนใสบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 1.0,1.08 และ1.12 เซนติเมตรตามลำดับ สารเคมีคูโปรฟิกซ์ 77% WG ที่ความเข้มข้น 2000,3000และ4000 ppm มีเส้นผ่านศูนย์กลางความกว้างของส่วนใสบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 0.56,0.8และ0.72 เซนติเมตรตามลำดับ สารเคมีนอร์ดอกซ์ 58% WP ที่ความเข้มข้น 1000,1500และ2000 ppm มีเส้นผ่านศูนย์กลางความกว้างของส่วนใสบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 0.08,0.06และ0.58เซนติเมตรตามลำดับ

เชื้อ *Burkholderia gladioli* ใช้สารเคมีแคงเกอร์X 19.5 % WP ที่ความเข้มข้น 300,450 และ600 ppm มีเส้นผ่านศูนย์กลางความกว้างของส่วนใสบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 0.2,0.34และ0.44 เซนติเมตรตามลำดับ สารเคมีคูโปรฟิกซ์ 77% WG ที่ความเข้มข้น 2000,3000และ4000 ppm มีเส้นผ่านศูนย์กลางความกว้างของส่วนใสบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 0.1,0.2และ0.2 เซนติเมตรตามลำดับ สารเคมีฟังกูราน 77% WP ที่ความเข้มข้น 500,750และ1250 ppm มีเส้นผ่านศูนย์กลางความกว้างของส่วนใสบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 0.04,0.16และ0.3 เซนติเมตรตามลำดับ

การทดสอบปฏิกิริยาการดื้อต่อสารเคมี โดยทำการผสมสารเคมีในกลุ่มของสารปฏิชีวนะ และสารประกอบคอปเปอร์ ที่ความเข้มข้นต่ำกว่าที่แนะนำ ในอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วนำแบคทีเรียสาเหตุโรค 4 ชนิด ใช้ลูปแตะเชื้อนำมาลากบนอาหารผสมสารเคมี พบว่าเชื้อแบคทีเรียไม่สามารถเจริญเติบโตได้ จึงสรุปได้ว่าเชื้อแบคทีเรียไม่มีการดื้อต่อสารเคมี

การทดลองในปี2555 จะทำการคัดเลือกสารเคมี 3 ตัวมาทำการทดลองในระดับโรงเรือนปลูกพืชทดลองต่อไป

คำนำ

ปิยรัตน์ และจงวัฒนา (2551) ศึกษาโรคกล้วยไม้ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย พบปัญหาการแพร่ระบาดของโรคใบจุดแบคทีเรีย (โรคตากบ) เกิดจากเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* โรคเน่าเกิดจากเชื้อ *Burkholderia gladioli* โรคเน่าเละ จากแบคทีเรีย *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* พบเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเน่าเละชนิดใหม่ คือ *E. chrysanthemi*

เอกสารคู่มือเกษตรดีที่เหมาะสม (กรมวิชาการเกษตร, 2550) แนะนำการควบคุมโรคเน่าที่จากเชื้อแบคทีเรีย ในกล้วยไม้ตัดดอก สเตรปโตมัยซินออกซิเตตราซัยคลิน10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร โปรเคนเพนนิซิลิน-จี 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร คอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ 77% WP 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร สลับกับ แคปแทน 50%WP

นิยมรัฐ (2544) แนะนำสารเคมีการป้องกันกำจัดโรคเน่าเละ และโรคเน่า ในกลุ่มสารปฏิชีวนะ เช่น แอกกริมัยซิน ซึ่งมีส่วนประกอบของสเตรปโตมัยซินหรือแอกกริสเตรป อัตรา 10-20 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร โดยมีข้อควรระวังการใช้ในอัตราที่เข้มข้นสูงเกินไปหรือพ่นบ่อย ๆ เชื้อแบคทีเรียจะดื้อต่อสาร และทำให้ใบกล้วยไม้กลายเป็นสีเหลือง ซีดขาว เห็นได้ชัดกับไม้สกุลแวนดาและแอสโคเซนดา

Uchida (2006) รายงานว่าโรคเน่าเละเป็นสาเหตุหลักที่สร้างความเสียหายให้กับการปลูกเลี้ยงกล้วยไม้สกุลหวายของฮาวาย แต่สารเคมีควบคุมโรคไม่มีสารควบคุมโรคที่มีประสิทธิภาพสูง แอกริบูม มีประสิทธิภาพดีในการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยว โดยสามารถควบคุมแบคทีเรียสกุล *Erwinia* และ*Pseudomonas* ที่อาจติดมากับก้านดอก ปัญหาที่พบคือการควบคุมโรคด้วยสารประกอบคอปเปอร์ เกิดการแพ้สารเคมี และการใช้สารปฏิชีวนะหรือสารแอนติไบโอติก ทำให้เกิดการดื้อยาได้ง่าย

อรพรรณ (2552) รวบรวมสารเคมีที่ทดสอบและได้รับรองขึ้นทะเบียนเพื่อการควบคุมโรคจากแบคทีเรียในประเทศไทย ได้แก่ สารเคมีควบคุมโรคแคงเคอร์ของมะนาวและส้ม คือ Bordeaux mixture +maneb+zineb, copper hydroxide, copper sulfate, cuprous oxide, kasugamycin+copper oxychloride, streptomycin sulphate+oxytetracycline hydrochloride, thiram, tribasic copper sulfate สารเคมีควบคุมโรคใบแห้งของหอมหัวใหญ่ bacbicure (Merpazole)

ปิยรัตน์ และคณะ (2553) ทดสอบการควบคุมโรคเน่าจากแบคทีเรีย *Burkholderia gladioli* ในกล้วยไม้สกุลม็อคคาร่า พบว่าวิธีการตัดใบที่เป็นโรคออกก่อน แล้วพ่นสารเคมีควบคุมโรคทุก 7 วัน ในกลุ่มสเตรปโตมัยซิน พ่น 2 ครั้งสลับด้วยการพ่นแคปแทน สามารถควบคุมการเกิดโรคได้ โดยไม่พบอาการเป็นพิษต่อกล้วยไม้สกุลม็อคคาร่าลูกผสม อายุ 3 ปีครึ่ง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1.จานเลี้ยงเชื้อ

2.อาหารเลี้ยงเชื้อ NGA

3.กระดาษกรอง Whatman no. 1

วิธีการ

1.คัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพสารเคมีควบคุมเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคกล้วยไม้

ทำการคัดเลือกสารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธี paper disc diffusion กับแบคทีเรียสาเหตุโรคในกล้วยไม้ 4 ชนิด ได้แก่

1. *Acidovorax avenae* subsp.*cattleyae*

2. *Burkholderia gladioli*

3. *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*

4. *E. chrysanthemi*

- เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient glucose agar (NGA) หลอมอาหารและเทให้อาหารแผ่ทั่วในจานเลี้ยงเชื้อแบบบาง ๆ

-เลี้ยงแบคทีเรียสาเหตุโรคกล้วยไม้ 4 ชนิด ได้แก่ *A. avenae* subsp. *cattleyae*, *B. gladioli*, *E. carotovora* subsp. *carotovora* และ *E. chrysanthemi* เริ่มจากการนำเชื้อสาเหตุโรคที่เลี้ยงขยายเชื้อไว้ 24 ชั่วโมง นำมาเตรียมเป็นเซลล์แขวนลอยเชื้อ ผสมเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคแต่ละชนิดในอาหาร NGAหลอมเหลวที่อุ่นประมาณ 40- 45 องศาเซลเซียส เททับบนอาหารบางที่เททิ้งไว้แบบวิธี double layer ด้านล่างจานอาหารเป็นอาหาร NGA

-ทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียสาเหตุโรคแต่ละชนิด โดยใช้วิธี paper disc diffusion เตรียมสารเคมีทดสอบ ในอัตราความเข้มข้นที่แนะนำ (ตามฉลาก) อัตราสูงกว่า และต่ำกว่าเป็นระดับ ใช้ปิเปตดูดสารแต่ละชนิดและความเข้มข้นหยดสารละลายบนกระดาษตาปลา (เตรียมโดยการนำกระดาษกรอง Whatman no. 1 จำนวน 2 แผ่นประกบกันแล้วตัดด้วยที่ตัดกระดาษเป็นรูปวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5 เซนติเมตร) แผ่นละ 5 ไมโครลิตร นำไปวางบนผิวหน้าอาหารที่เตรียมไว้ 4 จุด (ทุกอัตราความเข้มข้น) ใช้น้ำนึ่งฆ่าเชื้อวางตรงกลางจานอาหารเป็นการทดลองเปรียบเทียบ ทำการทดลองอย่างน้อย 3 ซ้ำ

-เก็บจานเลี้ยงเชื้อที่ทดลองในถุงพลาสติกใสในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ตรวจผลการทดลองหลังการบ่มเชื้อ 24-48 ชั่วโมง บันทำผลการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียสาเหตุโรคโดยวัดความกว้างส่วนใสของรัศมีบริเวณยับยั้ง (clear zone) คำนวณหาค่าเฉลี่ยของการยับยั้งแต่อัตราความเข้มข้น

-คัดเลือกสารเคมีที่มีประสิทธิภาพยับยั้งแบคทีเรียสาเหตุโรคชนิดต่าง ๆ ทดสอบยืนยันผลของประสิทธิภาพสารเคมี โดยใช้แบคทีเรียสาเหตุโรคไอโซเลทต่างกัน อย่างน้อย 5 ไอโซเลท

2.ทดสอบปฏิกิริยาการดื้อต่อสารเคมี

-เตรียมอาหารผสมสารเคมีในกลุ่มของสารปฏิชีวนะ และสารประกอบคอปเปอร์ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ นำแบคทีเรียสาเหตุโรค 4 ชนิด ไอโซเลทต่าง ๆ ใช้ลูปแตะเชื้อนำมาลากบนอาหารผสมสารเคมี (5 ไอโซเลท ต่อจานเลี้ยงเชื้อ) เก็บจานเลี้ยงเชื้อในถุงพลาสติก ในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง บันทึกผลการเจริญของเชื้อไอโซเลทต่าง ๆ ทำการ sub-culture อีกบนอาหารชนิดเดิมอีก 5 ครั้ง บันทึกผลการเจริญ ผลการดื้อยาของเชื้อต่อสารเคมีชนิดหรืออัตราความเข้มข้นต่าง ๆ

เวลาสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2553 ถึง กันยายน 2554

ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

เชื้อ *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* ใช้สารเคมีแคงเกอร์X 19.5 % WP ที่ความเข้มข้น 300,450และ600 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางความกว้างของส่วนใสบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 2.0,2.12และ2.36 เซนติเมตรตามลำดับ สารเคมีคาซูมิน แอล 2% W/V SL ที่ความเข้มข้น 1500,2000และ2500 ppm มีเส้นผ่านศูนย์กลางความกว้างของส่วนใสบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 0.8,0.74และ1.17 เซนติเมตรตามลำดับ สารเคมีริคโกมิลโกลด์12 68% WG ที่ความเข้มข้น 1000,2000และ3000 ppm มีเส้นผ่านศูนย์กลางความกว้างของส่วนใสบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 0.44,0.36และ0.44 เซนติเมตรตามลำดับ สารเคมีคูโปรฟิกซ์ 77% WG ที่ความเข้มข้น 2000,3000และ4000 ppm มีเส้นผ่านศูนย์กลางความกว้างของส่วนใสบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 0.14,0.26และ0.18 เซนติเมตรตามลำดับ

เชื้อ *E. chrysanthemi* ใช้สารเคมีแคงเกอร์X 19.5 % WP ที่ความเข้มข้น 300,450และ600 ppm มีเส้นผ่านศูนย์กลางความกว้างของส่วนใสบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 1.04,1.0และ 1.04 เซนติเมตรตามลำดับ สารเคมีคาซูมิน แอล 2% W/V SL ที่ความเข้มข้น 1500,2000และ2500 ppm มีเส้นผ่านศูนย์กลางความกว้างของส่วนใสบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 0.48,0.5และ0.78 เซนติเมตรตามลำดับ สารเคมีริคโกมิลโกลด์12 68% WG ที่ความเข้มข้น 1000,2000และ3000 ppm มีเส้นผ่านศูนย์กลางความกว้างของส่วนใสบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 0,0.68และ0.72 เซนติเมตรตามลำดับ สารเคมีคูโปรฟิกซ์ 77% WG ที่ความเข้มข้น 2000,3000และ4000 ppm มีเส้นผ่านศูนย์กลางความกว้างของส่วนใสบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 0.2,0.06และ0.06 เซนติเมตรตามลำดับ

เชื้อ *Acidovorax avenae* subsp.*cattleyae* ใช้สารเคมีแคงเกอร์X 19.5 % WP ที่ความเข้มข้น 300,450และ600 ppm มีเส้นผ่านศูนย์กลางความกว้างของส่วนใสบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 3.1,3.38และ3.5 เซนติเมตรตามลำดับ สารเคมีคาซูมิน แอล 2% W/V SL ที่ความเข้มข้น 1500,2000และ2500 ppm มีเส้นผ่านศูนย์กลางความกว้างของส่วนใสบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 1.2,1.82และ2.06 เซนติเมตรตามลำดับ สารเคมีริคโกมิลโกลด์12 68% WG ที่ความเข้มข้น 1000,2000และ3000 ppm มีเส้นผ่านศูนย์กลางความกว้างของส่วนใสบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 1.0,1.08 และ1.12 เซนติเมตรตามลำดับ สารเคมีคูโปรฟิกซ์ 77% WG ที่ความเข้มข้น 2000,3000และ4000 ppm มีเส้นผ่านศูนย์กลางความกว้างของส่วนใสบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 0.56,0.8และ0.72 เซนติเมตร

ตามลำดับ สารเคมีนอร์ดอกซ์ 58% WP ที่ความเข้มข้น 1000,1500และ2000 ppm มีเส้นผ่านศูนย์กลางความกว้างของส่วนใสบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 0.08,0.06และ0.58เซนติเมตรตามลำดับ

เชื้อ *Burkholderia gladioli* ใช้สารเคมีแคงเกอร์X 19.5 % WP ที่ความเข้มข้น 300,450 และ600 ppm มีเส้นผ่านศูนย์กลางความกว้างของส่วนใสบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 0.2,0.34และ0.44 เซนติเมตรตามลำดับ สารเคมีคูโปรฟิกซ์ 77% WG ที่ความเข้มข้น 2000,3000และ4000 ppm มีเส้นผ่านศูนย์กลางความกว้างของส่วนใสบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 0.1,0.2และ0.2 เซนติเมตรตามลำดับ สารเคมีฟังกูราน 77% WP ที่ความเข้มข้น 500,750และ1250 ppm มีเส้นผ่านศูนย์กลางความกว้างของส่วนใสบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 0.04,0.16และ0.3 เซนติเมตรตามลำดับ

การทดสอบปฏิกิริยาการดื้อต่อสารเคมี โดยทำการผสมสารเคมีในกลุ่มของสารปฏิชีวนะ และสารประกอบคอปเปอร์ ที่ความเข้มข้นต่ำกว่าที่แนะนำ ในอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วนำแบคทีเรียสาเหตุโรค 4 ชนิด ใช้ลูปแตะเชื้อนำมาลากบนอาหารผสมสารเคมี พบว่าเชื้อแบคทีเรียไม่สามารถเจริญเติบโตได้ จึงสรุปได้ว่าเชื้อแบคทีเรียไม่มีการดื้อต่อสารเคมี

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การคัดเลือกสารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ในห้องปฏิบัติการสารเคมีที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* ,*E. chrysanthemi* มี 4 สารเคมี เชื้อ *Acidovorax avenae* subsp.*cattleyae* มี 5 สารเคมี และเชื้อ *Burkholderia gladioli* มี 3 สารเคมี การทดสอบปฏิกิริยาการดื้อต่อสารเคมีได้ว่าเชื้อแบคทีเรียไม่มีการดื้อต่อสารเคมี

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร, 2550. เกษตรดีที่เหมาะสมสำหรับกล้วยไม้ตัดดอก. สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร. โรงพิมพ์ เทพพิทักษ์ กรุงเทพฯ. 52 หน้า.

นิยมรัฐ ไตรศรี. 2544. โรคของกล้วยไม้. หน้า 2-51. ใน คู่มือโรคไม้ดอกไม้ประดับและการป้องกันกำจัด. โรงพิมพ์คุรุสภาลาดพร้าว กรุงเทพฯ.

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และจงวัฒนา พุ่มหิรัญ. 2551. การศึกษาสาเหตุโรคใบจุดแบคทีเรียของกล้วยไม้สกุลแวนดา. การประชุมวิชาการ ครั้งที่ 47 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วันที่ 17-20 มีนาคม 2552.

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และจงวัฒนา พุ่มหิรัญ. 2553. การศึกษาโรคกล้วยไม้ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย. รายงานความก้าวหน้าผลงานวิจัย ปี 2551 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช.

อรพรรณ วิเศษสังข์. 2552. คู่มือการเลือกใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. 128 หน้า.

Uchida Janice. 2006. Bacterial diseases of Dendrobium. Pest Management Guidelines. http://www.extento.hawaii.edu/kbase//reports/dendrobium_pest.htm (21-7-2006)

ประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อราต่อเชื้อโรคกาบฝักเน่าของข้าวโพด

Efficacy of fungicides to control ear rot of corn

ศรีสุข พูนผลกุล วรางคนา แซ่อ้วง

มนตรี เอี่ยมวิมังสา

กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ผลการทดลองในห้องปฏิบัติการ พบว่า สารป้องกันกำจัดโรคพืช 4 ชนิด ได้แก่ Difenoconazole (สกอร์) , Procloraz (เจอราจ), carboxin (Vitavax), และ carbendazim ให้ผลการยับยั้งเชื้อราในห้องปฏิบัติการดีที่สุด จึงได้คัดเลือกไปทดลองในแปลงทดลองของเกษตรกร ได้ผลดังนี้ โรคบนฝักหลังการเก็บเกี่ยว พบเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคตั้งแต่ 1.66 ถึง 28.33 % เปอร์เซ็นต์ฝักเป็นโรคของแปลงเปรียบเทียบ(ไม่พ่นสาร) เป็น 28.33 % สารป้องกันกำจัดโรคพืชที่ให้ผลดีที่สุดเมื่อพ่นทุก 7 วัน คือ Procloraz อัตรา 40 มล/ น้ำ 20 ลิตรและ Difenoconazole อัตรา 30 มล/ น้ำ 20 ลิตร โดยพบฝักเป็นโรคเท่ากันที่ 1.66 % สารป้องกันกำจัดโรคพืชที่ได้ผลรองลงไป ได้แก่ Difenoconazole อัตรา 20 มล/ น้ำ 20 ลิตร Procloraz อัตรา 20 มล/ น้ำ 20 ลิตร carbendazim อัตรา 40 มล/ น้ำ 20 ลิตร carboxin อัตรา 20 มล/ น้ำ 20 ลิตร carboxin อัตรา 40 มล/ น้ำ 20 ลิตร และ carbendazim อัตรา 60 มล/ น้ำ 20 ลิตร พบฝักเป็นโรค 3.33, 5.0, 8.33, 8.33, 11.66 และ 11.66 % ตามลำดับ ลิตร เปอร์เซ็นต์เชื้อรา *Diplodia maydis* ที่พบบนเมล็ดมีตั้งแต่ 0.83 -8.5 % โดยพบเชื้อราบนเมล็ดจากแปลงปรียบเทียบสูงสุด เป็น 8.5 % เปอร์เซ็นต์เชื้อรา *Diplodia maydis* บนเมล็ดที่พบในแปลงพ่นสารทดลอง Procloraz อัตรา 40 มล/ น้ำ 20 ลิตร carbendazim อัตรา 60 มล/ น้ำ 20 ลิตร carbendazim อัตรา 40 มล/ น้ำ 20 ลิตร Difenoconazole อัตรา 30 มล/ น้ำ 20 ลิตร Difenoconazole อัตรา 20 มล/ น้ำ 20 ลิตร carboxin อัตรา 20 มล/ น้ำ 20 ลิตร carboxin อัตรา 40 มล/ น้ำ 20 ลิตร และProcloraz อัตรา 20 มล/ น้ำ 20 ลิตร เปอร์เซ็นต์เชื้อรา *Diplodia maydis* ที่พบเป็น 0.83, 1.16, 2.0, 3.0, 3.66, 5.83, 7.16, และ 7.33 % ตามลำดับ น้ำหนัก 100 เมล็ดข้าวโพดของทุกการทดลองอยู่ระหว่าง 22.9 - 27.86 กรัม

คัดเลือกสารป้องกันกำจัดโรคพืช Carbendazim, Difenoconazole และ Procloraz ไปทดลองหาจำนวนครั้งและช่วงเวลาพ่นสารในปี 2555 ต่อไป

รหัสการทดลอง 03-04-54-02-01-02-05-54

คำนำ

โรคฝักเน่าของข้าวโพดเกิดจากเชื้อรา *Stenocarpella maydis* หรือชื่ออื่น ๆ ที่รู้จักคือ *Diplodia maydis* พบระบาดเฉพาะบนข้าวโพดเท่านั้น แต่โรคนี้ก็ทำความเสียหายต่อการผลิตข้าวโพดอย่างมาก อาการของโรคฝักเน่าเกิดขึ้นเนื่องจากเชื้อรา เข้าทำลายบริเวณข้อที่ติดต่อกับดอกตัวเมีย โดยเส้นใยของเชื้อราเจริญเข้าทำลายก้านดอกตัวเมีย แล้วเจริญอยู่บนกาบของฝักข้าวโพด เมื่อเกสรตัวเมีย (ไหมของข้าวโพด) โผล่พ้นกาบหุ้มช่อดอกตัวเมียเส้นใย เชื้อราจะเจริญเข้าทางไหมและพักตัวอยู่นอกรังไข่ ถ้าเชื้อราเข้าทำลายระยะดอกอ่อน ฝักจะแห้งเปลี่ยนเป็นสีเทา เมล็ดข้าวโพดลีบ ฝักมีน้ำหนักเบา (Shurtleff, 1980). ใบข้าวโพดแห้งและต้นตาย (Flett et al., 2001).ถ้าสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมเชื้อราจะพักตัวและสร้างส่วนขยายพันธุ์ลักษณะเม็ดสีดำเล็ก ๆ (pycnidia) บนกาบหุ้มฝักซังข้าวโพดและบนผิวนอกเมล็ดข้าวโพด ซึ่งอาจมองเห็นไม่ชัดเจนด้วยตาเปล่า แต่เมื่อเก็บเกี่ยวและลอกกาบหุ้มฝักออกจะพบเส้นใยสีขาวแผ่ปกคลุมเมล็ด ซังข้าวโพดและต่อมาเส้นใยเปลี่ยนเป็นสีดำเพราะมีการสร้างเม็ด pycnidia ขึ้น (Shurtleff, 1980)

การป้องกันกำจัด ด้วยการใช้พันธุ์ต้านทานโรค แต่ส่วนใหญ่มักเป็นพันธุ์แท้มากกว่า สำหรับพันธุ์ชนิดลูกผสมอ่อนแอต่อโรคนี้ (Hooker, 1977; Fakorede and Mock, 1978; Shurtleff, 1980; Clark and Foley, 1985; Chambers, 1987; Wicks et al., 1988; Coors and Mardones, 1989). การใช้วิธีเขตกรรม เช่น การปลูกพืชหมุนเวียน (Flett, 1995). และการฝังกลบเศษซากข้าวโพดลึก ๆ Flett et al. (1998) ช่วยลดความรุนแรงของโรคในฤดูต่อไปได้ ธาตุอาหารพืชในดินช่วยส่งเสริมหรือยับยั้งความรุนแรงของโรคได้ โดยพบว่าสัดส่วนของ N : K ที่มากกว่า 3.5 จะเพิ่มความรุนแรงของโรค(Liebhart and Murdock, 1965). ความสมดุลของธาตุอาหารช่วยลดการเกิดโรคลงได้ (Nelson ,1963) การควบคุมโรคด้วยสารป้องกันกำจัดโรคพืชได้แก่การใช้ benomyl และ maneb ในระยะก่อนฝักข้าวโพดออกไหม (Warren and Von Qualen ,1986) Beukes and Flett ,1992 พบว่าส่วนการใช้ benomyl และ carbendazim ผสมกันดีที่สุด การคลุกเมล็ดด้วย chloranil, captan หรือ thiram ช่วยลดการเกิดโรคลง(McGee, 1988)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1.จานเลี้ยงเชื้อ

2.อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

3.สารป้องกันกำจัดโรคพืช 12 ชนิด

4.แปลงทดลอง

วิธีการ

1.การทดลองในห้องปฏิบัติการ

เตรียมเชื้อราและสปอร์ของเชื้อราให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ และเพิ่มปริมาณเชื้อทดสอบ

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารป้องกันกำจัดโรคพืช 12 ชนิด ความเข้มข้นต่าง ๆ

ดำเนินการทดลองในห้องปฏิบัติการ โดยใช้สารทดลอง 12 ชนิด ได้แก่ Azoxystrobin (อมิสตา), carbendazim, carboxin (Vitavax), chlorothalonil (ซูนา-เอ็กซ์), Procloraz (เจอราจ) , ควินโตซีน (เทอราคลอร์ 24อีซี), dimethomorph (ฟอรัม),Difenoconazole (สกอร์) และ Azoxystrobin + Difenoconazole (ออติวา) โดยเทคนิค Poison food technique โดยผสมสารป้องกันกำจัดโรคพืชที่ความเข้มข้น 4 ระดับ (50, 100, 500 และ 1,000 ppm)

2.การทดลองในแปลงปลูกเกษตรกร อำเภอพบพระ จังหวัดตาก

สารป้องกันกำจัดโรคพืช 4 ชนิด ๆ ละ 2 อัตรา พ่นบนต้นข้าวโพดหลังปลูก 40 วัน และพ่นทุก 7 วัน จำนวน 5 ครั้ง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ขนาดแปลงทดลอง ระยะปลูก ระยะระหว่างแถว 65 เซนติเมตร ระยะระหว่าต้น 20 เซนติเมตร ขนาดแปลงย่อย 3 X 5 เมตร ตรวจสอบโรคบนฝักหลังการเก็บเกี่ยว นับจำนวนฝักเป็นโรคเปรียบเทียบกับแปลงไม่พ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช

เวลาสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2553 ถึง กันยายน 2554

ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชและแปลงเกษตรกร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

สารป้องกันกำจัดโรคพืช 4 ชนิด ได้แก่ Difenoconazole (สกอร์) , Procloraz (เจอราจ), carboxin (Vitavax), และ carbendazim ให้ผลการยับยั้งเชื้อราในห้องปฏิบัติการดีที่สุด จึงได้คัดเลือกไปทดลองในแปลงทดลองของเกษตรกร ได้ผลดังนี้ โรคบนฝักหลังการเก็บเกี่ยว พบเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคตั้งแต่ 1.66 ถึง 28.33 % เปอร์เซ็นต์ฝักเป็นโรคของแปลงเปรียบเทียบ(ไม่พ่นสาร) เป็น 28.33 % สารป้องกันกำจัดโรคพืชที่ให้ผลดีที่สุดเมื่อพ่นทุก 7 วัน คือ Procloraz อัตรา 40 มล/ น้ำ 20 ลิตรและ Difenoconazole อัตรา 30 มล/ น้ำ 20 ลิตร โดยพบฝักเป็นโรคเท่ากันที่ 1.66 % สารป้องกันกำจัดโรคพืชที่ได้ผลรองลงไปได้แก่ Difenoconazole อัตรา 20 มล/ น้ำ 20 ลิตร Procloraz อัตรา 20 มล/ น้ำ 20 ลิตร carbendazim อัตรา 40 มล/ น้ำ 20 ลิตร carboxin อัตรา 20 มล/ น้ำ 20 ลิตร carboxin อัตรา 40 มล/ น้ำ 20 ลิตร และ carbendazim อัตรา 60 มล/ น้ำ 20 ลิตร พบฝักเป็นโรค 3.33, 5.0, 8.33, 8.33, 11.66 และ 11.66 % ตามลำดับ ลิตร

เปอร์เซ็นต์เชื้อรา *Diplodia maydis* ที่พบบนเมล็ดมีตั้งแต่ 0.83 -8.5 % โดยพบเชื้อราบนเมล็ดจากแปลงปรียบเทียบสูงสุด เป็น 8.5 % เปอร์เซ็นต์เชื้อรา *Diplodia maydis* บนเมล็ดที่พบในแปลงพ่นสารทดลอง Procloraz อัตรา 40 มล/ น้ำ 20 ลิตร carbendazim อัตรา 60 มล/ น้ำ 20 ลิตร carbendazim อัตรา 40 มล/ น้ำ 20 ลิตร Difenoconazole อัตรา 30 มล/ น้ำ 20 ลิตร Difenoconazole อัตรา 20 มล/ น้ำ 20 ลิตร carboxin อัตรา 20 มล/ น้ำ 20 ลิตร carboxin อัตรา 40 มล/ น้ำ 20 ลิตร และProcloraz อัตรา 20 มล/ น้ำ 20 ลิตร เปอร์เซ็นต์เชื้อรา *Diplodia maydis* ที่พบเป็น 0.83, 1.16, 2.0, 3.0, 3.66, 5.83, 7.16, และ 7.33 % ตามลำดับ น้ำหนัก 100 เมล็ดข้าวโพดของทุกการทดลองอยู่ระหว่าง 22.9 - 27.86 กรัม

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลการทดลองในห้องปฏิบัติการ พบว่า สารป้องกันกำจัดโรคพืช 4 ชนิด ได้แก่ Difenoconazole (สกอร์) , Procloraz (เจอราจ), carboxin (Vitavax), และ carbendazim ให้ผลการยับยั้งเชื้อราในห้องปฏิบัติการดีที่สุด สารป้องกันกำจัดโรคพืชที่ให้ผลดีที่สุดเมื่อพ่นทุก 7 วัน คือ Procloraz อัตรา 40 มล/ น้ำ 20 ลิตรและ Difenoconazole อัตรา 30 มล/ น้ำ 20 ลิตรสารป้องกันกำจัดโรคพืชที่ได้ผลรองลงไป carbendazim อัตรา 40 มล/ น้ำ 20 ลิตร

เอกสารอ้างอิง

Flett BC, 1995. Integrated disease management of Stenocarpella maydis ear rot of maize. Proceedings of the Congress of the South African Society of Crop Science, Stellenbosch, South Africa

Flett BC, McLaren NW, Wehner FC, 2001. Incidence of Stenocarpella maydis ear rot of corn under crop rotation systems. Plant Disease, 85(1):92-94; 11 ref. View Abstract

McGee D.C, 1988. Maize diseases. A reference source for seed technologists. St. Paul, Minnesota, USA: APS Press. View Abstract

Nelson DW, 1963. Relationship between soil fertility and the incidence of Diplodia stalk rot and northern leaf blight in Zea mays. M.S. thesis, University of Illinois, Urbana, USA

Shurtleff M.C, 1980. Compendium of Corn Diseases. 2nd ed. St. Paul, MN, USA: American Phytopathological Society.

Vincent, J.M. 1927. Distortion of fungi hyphae in the presence of certain inhibitors. Nature 59:850.

Warren HL, Von Qualen SK, 1984. Use of leaf whorl inoculation technique for evaluation of stalk rot resistance. Phytopathology, 74:1272.

ทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงประเภทคลุกเมล็ดในการป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนและเพลี้ยไฟในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

Field Trial on Effectiveness of Some Insecticides for Controlling Aphids and Thrips on Animal Feed Stuffs Corn By Seed Treatment

สุเทพ สหายา[1/] **บุญทิวา วาทิรอยรัมย์**[2/]
พวงผกา อ่างมณี[1/] **อมรา ไตรศิริ**[3/]
[1/]**กลุ่มกีฏและสัตววิทยา** [2/]**กลุ่มบริหารโครงการวิจัย สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**
[3/] **ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ สถาบันวิจัยพืชไร่**

.....

รายงานความก้าวหน้า

การทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนและเพลี้ยไฟในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์โดยวิธีการคลุกเมล็ด ดำเนินการที่แปลงเกษตรกร อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 – กันยายน 2555 สำรวจพบการระบาดของเพลี้ยไฟในช่วงเดือนสิงหาคม 2554 วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ได้แก่การคลุกเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดด้วยสาร thiamethoxam (Cruiser 35%FS), imidacloprid(Provado X 60%FS), imidacloprid(Gaucho 70%WS) และ carbosulfan (Posse 25%ST) อัตรา 5, 10, 5, และ 50 กรัมหรือมิลลิลิตรต่อเมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม ตามลำดับ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่ใช้สาร สุ่มนับจำนวนเพลี้ยไฟจากข้าวโพด 10 ต้น หลังข้าวโพดงอก 3, 7, 14, 21 และ 28 วัน ผลการทดลองมีแนวโน้มว่าการคลุกเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดด้วยสารฆ่าแมลงทุกกรรมวิธีมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟในข้าวโพด และจะทำการทดลองซ้ำในฤดูกาลปลูกปี 2555 ต่อไป

คำค้น : ข้าวโพด เพลี้ยอ่อน เพลี้ยไฟ สารฆ่าแมลง การคลุกเมล็ด

Keywords : Corn, Aphids, Thrips, Seed treatment

รหัสการทดลอง 01-10-54-02-04-02-03-54

คำนำ

แมลงศัตรูเป็นปัญหาที่สำคัญของการปลูกข้าวโพด ซึ่งเข้าทำลายในระยะต่างๆ ในแต่ละการเจริญเติบโตของข้าวโพดตั้งแต่ปลูกจนกระทั่งเก็บเกี่ยว แมลงศัตรูข้าวโพดนั้นแบ่งออกตามลักษณะการทำลายได้ 2 กลุ่ม กลุ่มแรกคือแมลงศัตรูประเภทปากกัด ทำลายพืชโดยการกัดกินใบ ยอด ช่อดอก เส้นไหม ฝัก หรือเข้าไปอาศัยกัดกินอยู่ภายในลำต้น ทำให้พืชชะงักการเจริญเติบโต ลำต้นหักพับ คุณภาพฝักเสียหาย ได้แก่ หนอนเจาะลำต้นข้าวโพด หนอนเจาะสมอฝ้ายหรือหนอนเจาะฝักข้าวโพด หนอนกระทู้หอม และหนอนกระทู้ข้าวโพด มอดดิน ด้วงกุหลาบ และด้วงปีกแข็งอีกหลาย กลุ่มที่สองคือแมลงศัตรูประเภทปากดูด ทั้งตัวอ่อน และตัวเต็มวัย ทำความเสียหายโดยดูดกินน้ำเลี้ยงจากส่วนต่างๆ ของพืช ได้แก่ เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน เพลี้ยกระโดดดำ มวนอ้อย เป็นต้น แมลงศัตรูข้าวโพดที่พบเห็นในแปลงปลูกมีมากกว่า 70 ชนิด แต่ที่พบเห็นประจำและก่อให้ปัญหาบ่อยครั้งในข้าวโพด ที่สำคัญพบเพียง 8 ชนิด ดังต่อไปนี้ มอดดิน, *Calomycterus* sp. เพลี้ยไฟข้าวโพด, *Frankliniella williamsi* Hood เพลี้ยอ่อนข้าวโพด, *Rhopalosiphum maidis* (Fitch) หนอนกระทู้ข้าวโพด, *Mythimna separata* (Walker) หนอนเจาะลำต้นข้าวโพด, *Ostrinia furnacalis* (Guenée) หนอนกระทู้หอม, *Spodoptera exigua* (Hübner) หนอนเจาะสมอฝ้ายหรือหนอนเจาะฝักข้าวโพด, *Helicoverpa armigera* (Hubner) และด้วงกุหลาบ, *Adoretus compressus* (Weber) แมลงบางชนิด เช่น เพลี้ยอ่อนเป็นแมลงพาหะนำเชื้อไวรัสสาเหตุของโรคใบด่าง

การคลุกเมล็ดพืชก่อนปลูกเป็นกลยุทธ์หนึ่งที่ใช้สำหรับป้องกันแมลงศัตรูพืชตั้งแต่เริ่มปลูก โดยเฉพาะข้าวโพดต้นเล็กมักมีแมลงศัตรูจำพวกปากดูดเข้าทำลาย เช่น เพลี้ยอ่อน และเพลี้ยไฟ ถ้าระบาดรุนแรงอาจสูญเสียผลผลิต จนถึงไม่ได้ผลผลิตเลย ปัจจุบันมีสารที่ขึ้นทะเบียนสำหรับคลุกเมล็ดพืชหลายชนิด แต่การใช้ยังไม่กว้างขวางเนื่องจากขาดคำแนะนำของทางราชการ ดังนั้นจึงทดสอบการคลุกเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด เพื่อให้ได้วิธีการป้องกันกำจัดโรคและแมลงศัตรูแมลงศัตรูข้าวโพดแบบผสมผสานเหมาะสมสำหรับพื้นที่ทั้งข้าวโพดเลี้ยงสัตว์และข้าวโพดฝักสด

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แปลงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์นครสวรรค์ 2

2. สารป้องกันกำจัดแมลง ได้แก่ thiamethoxam (Cruiser 35%FS), imidacloprid(Provado X 60%FS), imidacloprid(Gaucho 70%WS) และ carbosulfan (Posse 25%ST)
3. เครื่องชั่งละเอียด กระบอกตวงสาร และถุงพลาสติกสำหรับคลุกเมล็ด
4. ไม้หลักและป้ายสำหรับทำเครื่องหมายแปลงทดลอง

วิธีการ

แบบการวิจัย วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี คือการพ่นสารทางใบ (Foliage spray) ด้วยสารฆ่าแมลงชนิดต่าง ๆ ดังนี้

1. thiamethoxam 35% FS	อัตรา 5 มิลลิลิตรต่อเมล็ด 1 กก.
2. imidacloprid 60 % FS	อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อเมล็ด 1 กก.
3. imidacloprid 70 % WS	อัตรา 5 กรัมต่อเมล็ด 1 กก.
4. carbosulfan 25%ST	อัตรา 50 กรัมต่อเมล็ด 1 กก.
5. ไม่ใช้สารฆ่าแมลง	

คลุกเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดตามกรรมวิธี ปลูกข้าวโพดขนาดแปลงย่อย 5 x 10 เมตรระยะระหว่างต้นและแถว 0.30 x 0.80 เมตร จำนวน 20 แปลงย่อย หลังจากข้าวโพดงอก ทำการตรวจนับเพลี้ยอ่อนและเพลี้ยไฟ โดยวิธีสุ่มนับจากข้าวโพดบริเวณกลางแปลงย่อย ๆ ละ 10 ต้น ไม่ตรวจนับแถวริม ทำการตรวจนับแมลงหลังข้าวโพดงอก 3, 7, 10, 21 และ 28 วัน

การบันทึกข้อมูล บันทึกจำนวนเพลี้ยอ่อน และเพลี้ยไฟที่พบแต่ละกรรมวิธี บันทึกผลกระทบของสารทดลองที่มีต่อต้นข้าวโพด (phytotoxicity) เปรียบเทียบผลการทดลองพ่นสารตามกรรมวิธีต่างๆ โดยวิเคราะห์ผลทางสถิติจำนวนแมลงในแต่ละครั้งที่ตรวจนับด้วยโปรแกรม IRRISTAT โดยแปลงค่าข้อมูลจำนวนแมลงที่ตรวจนับได้ ด้วยค่า sqaure root (x + 0.5) ก่อนวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ระยะเวลาและสถานที่ดำเนินการ เริ่มต้น ตุลาคม 2553 สิ้นสุด กันยายน 2555 ที่แปลงเกษตรกร อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลอง ปี 2554

พบการระบาดของเพลี้ยอ่อนเพียงเล็กน้อยและมีการกระจายตัวไม่สม่ำเสมอ แต่พบการระบาดของเพลี้ยไฟ

จำนวนเพลี้ยไฟ (ตารางที่ 1)

หลังงอก 3 วัน กรรมวิธีใช้สารพบจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 2.00 – 13.00 ตัว/10ต้น ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สารที่พบเฉลี่ย 26.00 ตัว/10 ต้น กรรมวิธีคลุกเมล็ดด้วยสารกลุ่มนีโอนิโคตินอยด์ได้แก่ thiamethoxam 35%FS, imidacloprid 60%FS และ imidacloprid 70%WS พบเพลี้ยไฟเฉลี่ย 2.00, 3.00 และ 5.00 ตัว/10 ต้น ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีคลุกเมล็ดด้วยสาร carbosulfan 25%ST ที่เป็นสารกลุ่มคาร์บาเมทซึ่งพบเฉลี่ย 13.00 ตัว/10 ต้น

หลังงอก 5 วัน กรรมวิธีใช้สารพบจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 8.00 – 35.00 ตัว/10ต้น ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สารที่พบเฉลี่ย 62.00 ตัว/10 ต้น กรรมวิธีคลุกเมล็ดด้วยสาร thiamethoxam 35%FS และ imidacloprid 60%FS พบเฉลี่ย 8.00 ตัว/10 ต้นเท่ากัน น้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีการใช้สาร imidacloprid 70%WS และ carbosulfan 25%ST ที่พบเพลี้ยไฟเฉลี่ย 19.00 และ 35.00 ตัว/10 ต้น ตามลำดับ อย่างไรก็ตามกรรมวิธีคลุกเมล็ดด้วยสารกลุ่มนีโอนิโคตินอยด์ได้แก่ thiamethoxam 35%FS, imidacloprid 60%FS และ imidacloprid 70%WS ยังคงพบเพลี้ยไฟน้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีคลุกเมล็ดด้วยสาร carbosulfan 25%ST ที่เป็นสารกลุ่มคาร์บาเมท

หลังงอก 14 วัน กรรมวิธีใช้สารพบจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 17.00 – 51.00 ตัว/10ต้น ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สารที่พบเฉลี่ย 85.00 ตัว/10 ต้น กรรมวิธีคลุกเมล็ดด้วยสาร thiamethoxam 35%FS และ imidacloprid 60%FS พบเฉลี่ย 17.00 และ 19.00 ตัว/10 ต้น ตามลำดับ น้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีการใช้สาร imidacloprid 70%WS และ carbosulfan 25%ST ที่พบเพลี้ยไฟเฉลี่ย 29.00 และ 51.00 ตัว/10 ต้น ตามลำดับ อย่างไรก็ตามกรรมวิธีคลุกเมล็ดด้วยสารกลุ่มนีโอนิโคตินอยด์ได้แก่ thiamethoxam 35%FS, imidacloprid 60%FS และ imidacloprid 70%WS ยังคงพบเพลี้ยไฟน้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีคลุกเมล็ดด้วยสาร carbosulfan 25%ST ที่เป็นสารกลุ่มคาร์บาเมท

หลังงอก 21 วัน กรรมวิธีใช้สารพบจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 23.00 – 84.00 ตัว/10ต้น ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สารที่พบเฉลี่ย 131.00 ตัว/10 ต้น กรรมวิธีคลุกเมล็ดด้วยสาร thiamethoxam 35%FS , imidacloprid 60%FS และ imidacloprid 70%WS พบเฉลี่ย 23.00, 44.00 และ 36.00 ตัว/10 ต้น ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ กรรมวิธีคลุกเมล็ดด้วยสาร thiamethoxam 35%FS พบเพลี้ยไฟน้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธี คลุกเมล็ดด้วยสาร

carbosulfan 25%ST ในขณะที่ การคลุกเมล็ดด้วยสาร imidacloprid 60%FS และ imidacloprid 70%WS พบเพลี้ยไฟ ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีคลุกเมล็ดด้วยสาร carbosulfan 25%ST

หลังงอก 28 วัน กรรมวิธีใช้สารพบจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 28.50 – 94.75 ตัว/10ต้น ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สารที่พบเฉลี่ย 62.00 ตัว/10 ต้น กรรมวิธีคลุกเมล็ดด้วยสาร thiamethoxam 35%FS และ imidacloprid 70%WS พบเฉลี่ย 28.50 และ 42.25 ตัว/10 ต้น ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่น้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีการใช้สาร imidacloprid 60%FS และ carbosulfan 25%ST ที่พบเพลี้ยไฟเฉลี่ย 52.25 และ 94.75 ตัว/10 ต้น ตามลำดับ กรรมวิธีคลุกเมล็ดด้วยสารกลุ่มนีโอนิโคตินอยด์ ได้แก่ thiamethoxam 35%FS , imidacloprid 60%FS และ imidacloprid 70%WS พบเพลี้ยไฟ น้อยกว่า และแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีคลุกเมล็ดด้วยสาร carbosulfan 25%ST

ผลการทดลองในปี 2554 พบว่ากรรมวิธีการคลุกเมล็ดข้าวโพดก่อนปลูกด้วยสารทุกชนิดมีแนวโน้มในการควบคุมประชากรของเพลี้ยไฟในข้าวโพด โดยเฉพาะสารกลุ่มนีโอนิโคตินอยด์ อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องทดลองซ้ำเพื่อยืนยันผลการทดลองก่อนทำการแนะนำต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นางประไม จำปาเงิน นางสาวกัญญาภัค ตาแก้วและนางสาววีณา ทิพย์สุขุม ที่ช่วยดำเนินการทดลองและรวบรวมข้อมูลจนผลงานสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ตารางที่ 1 จำนวนเพลี้ยไฟที่พบในข้าวโพดจากการคลุกเมล็ดด้วยสารฆ่าแมลงชนิดต่างๆ ที่ อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา ปี 2554

	อัตราการใช้ (ก/มล ต่อ เมล็ด 1กก.	จำนวนเพลี้ยไฟ (ตัว/10 ต้น)				
		หลังงอก				
		3	7	14	21	28
Thiamethoxam 35%FS	5	2.00 a	8.00 a	17.00 a	23.00 a	28.50 a
Imidacloprid 60%FS	10	3.00 a	8.00 a	19.00 a	44.00 ab	52.25 b
Imidacloprid 70%WS	5	5.00 a	19.00 b	29.00 b	36.00 ab	42.25 a
Carbosulfan 25%ST	50	13.00 b	35.00 c	51.00 c	84.00 b	94.75 c
ไม่ใช้สาร	-	26.00 c	62 .00 d	85.00 d	131.00 c	62.00 d
CV (%)		70.7	42.1	20.6	27.1	35.5

1/ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % วิเคราะห์โดย วิธี Duncan ' S New Multiple Range Test

ทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงประเภทพ่นทางใบ ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนและเพลี้ยไฟในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

Field Trial on Effectiveness of Some Insecticides for Controlling Aphids and Thrips on Animal Feed Stuffs Corn By Foliar Spray

สุเทพ สหายา[1/] บุญทิวา วาทิรอยรัมย์[2/]

พวงผกา อ่างมณี[1/] อมรา ไตรศิริ [3/]

[1/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา [2/]กลุ่มบริหารโครงการวิจัย สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[3/]ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ สถาบันวิจัยพืชไร่

.....

รายงานความก้าวหน้า

การทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนและเพลี้ยไฟในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์โดยวิธีการพ่นสารทางใบ ดำเนินการที่แปลงข้าวโพดศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ อำเภอตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์ ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 – กันยายน 2555 สำรวจพบการระบาดของเพลี้ยไฟในช่วงเดือนสิงหาคม 2554 วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ได้แก่การพ่นสาร imidacloprid(Provado 70%WG) thiamethoxam (Actara 25%WG), clothianidin (Dantoz 16%SG), spinosad (Success 12%SC) และ emamectin benzoate (Proclaim 1.92%EC) อัตรา 10, 10, 15, 10 และ 10 กรัมหรือมิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ตามลำดับ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร สุ่มนับจำนวนเพลี้ยไฟจากข้าวโพด 10 ต้น ทำการพ่นสารตามกรรมวิธี 2 ครั้งห่างกัน 7 วัน ผลการทดลองมีแนวโน้มว่าการพ่นสารทุกกรรมวิธีมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟในข้าวโพด และจะทำการทดลองซ้ำในฤดูกาลปลูกปี 2555 ต่อไป

คำค้น : ข้าวโพด เพลี้ยอ่อน เพลี้ยไฟ สารฆ่าแมลง การพ่นสาร

Keywords : Corn, Aphids, Thrips, Foliar spray

รหัสการทดลอง 01-10-54-02-04-02-04-54

คำนำ

แมลงศัตรูเป็นปัญหาที่สำคัญของการปลูกข้าวโพด ซึ่งเข้าทำลายในระยะต่างๆ ในแต่ละการเจริญเติบโตของข้าวโพดตั้งแต่ปลูกจนกระทั่งเก็บเกี่ยว แมลงศัตรูข้าวโพดนั้นแบ่งออกตามลักษณะการทำลายได้ 2 กลุ่ม กลุ่มแรกคือแมลงศัตรูประเภทปากกัด ทำลายพืชโดยการกัดกินใบ ยอด ช่อดอก เส้นไหม ฝัก หรือเข้าไปอาศัยกัดกินอยู่ภายในลำต้น ทำให้พืชชะงักการเจริญเติบโต ลำต้นหักพับ คุณภาพฝักเสียหาย ได้แก่ หนอนเจาะลำต้นข้าวโพด หนอนเจาะสมอฝ้ายหรือหนอนเจาะฝักข้าวโพด หนอนกระทู้หอม และหนอนกระทู้ข้าวโพด มอดดิน ด้วงกุหลาบ และด้วงปีกแข็งอีกหลาย กลุ่มที่สองคือแมลงศัตรูประเภทปากดูดทั้งตัวอ่อน และตัวเต็มวัย ทำความเสียหายโดยดูดกินน้ำเลี้ยงจากส่วนต่างๆ ของพืช ได้แก่ เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน เพลี้ยกระโดดดำ มวนอ้อย เป็นต้น แมลงศัตรูข้าวโพดที่พบเห็นในแปลงปลูกมีมากกว่า 70 ชนิด แต่ที่พบเห็นประจำและก่อให้ปัญหาบ่อยครั้งในข้าวโพด ที่สำคัญพบเพียง 8 ชนิดดังต่อไปนี้ มอดดิน, *Calomycterus* sp. เพลี้ยไฟข้าวโพด, *Frankliniella williamsi* Hood เพลี้ยอ่อนข้าวโพด, *Rhopalosiphum maidis* (Fitch) หนอนกระทู้ข้าวโพด, *Mythimna separata* (Walker) หนอนเจาะลำต้นข้าวโพด, *Ostrinia furnacalis* (Guenée) หนอนกระทู้หอม, *Spodoptera exigua* (Hübner) หนอนเจาะสมอฝ้ายหรือหนอนเจาะฝักข้าวโพด, *Helicoverpa armigera* (Hubner) และด้วงกุหลาบ, *Adoretus compressus* (Weber) แมลงบางชนิด เช่น เพลี้ยอ่อนเป็นแมลงพาหะนำเชื้อไวรัสสาเหตุของโรคใบด่าง

สำหรับปัญหาด้านอารักขาพืชในข้าวโพดทั้งข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ หรือข้าวโพดฝักสดนั้น ยังขาดเทคโนโลยีการป้องกันกำจัดโรคแมลงที่เหมาะสม เนื่องจากขาดการวิจัยมานานแล้ว นอกจากนี้ในแผนงานวิจัยในรอบหลายปีที่ผ่านมามุ่งเน้นการวิจัยการแก้ปัญหาเฉพาะพืชเศรษฐกิจที่สำคัญสำหรับส่งออกเท่านั้น อย่างไรก็ตามการปลูกข้าวโพดทั้งข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ หรือข้าวโพดฝักสดหลายชนิด ได้แก่ ข้าวโพดหวาน ข้าวโพดข้าวเหนียว ข้าวโพดเทียน ข้าวโพดฝักอ่อน และข้าวโพดคั่ว แม้จะปลูกเพื่อใช้บริโภคในตลาดภายในประเทศ แต่ก็มีความสำคัญต่ออาชีพเกษตรกรรมของประเทศ โดยเฉพาะหากมีศัตรูพืชระบาดจะทำให้มีผลผลิตลดลง หรือกรณีใช้สารที่ไม่ถูกต้องอาจมีปัญหาพิษตกค้างในผลผลิตได้ โดยเฉพาะข้าวโพดฝักสด ซึ่งนอกจากจะส่งผลต่อเกษตรกรโดยตรงแล้วยังอาจส่งผลกระทบต่ออุตสาหกรรมภายในประเทศ ตลอดจนการนำเข้าส่งออกด้วย

ปัจจุบันมีการปรับปรุงการแบ่งกลุ่มของสารป้องกันกำจัดแมลงไว้ตามกลไกการออกฤทธิ์หรือตำแหน่งของการออกฤทธิ์ (Mode of Action หรือ Site of Action) ซึ่งจัดกลุ่มโดย Insecticide Resistance Action Committee (IRAC) ซึ่งมีวัตถุประสงค์เพื่อให้เกษตรกร นักวิชาการ นักส่งเสริมเกษตร และธุรกิจเคมีเกษตร มีการแนะนำการใช้สารป้องกันกำจัดแมลงและไร อย่างมีประสิทธิภาพและยั่งยืน และเป็นกลยุทธ์ในการจัดการความต้านทานของแมลงไรต่อสารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช นอกจากนี้แล้วสารใหม่ๆที่ขึ้นทะเบียนในปัจจุบันค่อนข้างมีความเฉพาะเจาะจงต่อชนิดของแมลงศัตรูพืช ขณะเดียวกันก็มีความปลอดภัยต่อมนุษย์ สภาพแวดล้อม และศัตรูธรรมชาติ ดังนั้นแนวทางแก้ไขในการเพิ่มผลผลิตและลดการสูญเสียผลผลิตข้าวโพด

จากการทำลายโรคแมลงศัตรู คือการเร่งทำการวิจัยการป้องกันกำจัดโรคและแมลง โดยมุ่งเน้นวิธีการที่มีประสิทธิภาพ ปลอดภัยต่อผู้บริโภคและศัตรูธรรมชาติ เพื่อให้ได้วิธีการป้องกันกำจัดโรคและแมลงศัตรูแมลงศัตรูข้าวโพดแบบผสมผสานเหมาะสมสำหรับพื้นที่ทั้งข้าวโพดเลี้ยงสัตว์และข้าวโพดฝักสด

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แปลงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์นครสวรรค์ 2
2. สารป้องกันกำจัดแมลง ได้แก่ imidacloprid(Provado 70%WG), thiamethoxam (Actara 25% WG) clothianidin (Dantoz 16%SG), spinosad (Success 12%SC) และ emamectin benzoate (Proclaim 1.92%EC)
3. เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง
4. กระบอกตวงสาร และถังน้ำสำหรับผสมสารฯ
5. ไม้หลักและป้ายสำหรับทำเครื่องหมายแปลงทดลอง

วิธีการ

แบบการวิจัย วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี คือการพ่นสารทางใบ (Foliage spray) ด้วยสารฆ่าแมลงชนิดต่าง ๆ ดังนี้

1. thiamethoxam 25% WG อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
2. imidacloprid 70 % WG อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
3. clothianidin 16%WG อัตรา 15 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
4. emamectin benzoate 1.92%EC อัตรา 10 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
5. spinosad 12%SC อัตรา 10 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
6. ไม่ใช้สารฆ่าแมลง

ปลูกข้าวโพดขนาดแปลงย่อย 5 x 10 เมตรระยะระหว่างต้นและแถว 0.30 x 0.80 เมตร จำนวน 24 แปลงย่อย หลังจากข้าวโพดงอก ทำการตรวจนับเพลี้ยอ่อนและเพลี้ยไฟ โดยวิธีสุ่มนับจากข้าวโพดบริเวณกลางแปลงย่อย ๆ ละ 10 ต้น ไม่ตรวจนับแถวริม พ่นสารตามกรรมวิธีเมื่อพบเพลี้ยอ่อนหรือเพลี้ยไฟระบาด ทำการตรวจนับแมลงก่อนพ่นสารและหลังพ่นสาร 3, 5 และ 7 วัน พ่นซ้ำเมื่อพบการระบาดของแมลง

การบันทึกข้อมูล บันทึกจำนวนเพลี้ยอ่อน และเพลี้ยไฟที่พบแต่ละกรรมวิธี บันทึกผลกระทบของสารทดลองที่มีต่อต้นข้าวโพด (phytotoxicity) เปรียบเทียบผลการทดลองพ่นสารตามกรรมวิธีต่างๆ โดยวิเคราะห์ผลทางสถิติจำนวนแมลงในแต่ละครั้งที่ตรวจนับด้วยโปรแกรม IRRISTAT โดยแปลงค่าข้อมูลจำนวนแมลงที่ตรวจนับได้ ด้วยค่า sqaure root (x + 0.5) ก่อนวิเคราะห์ผลทางสถิติ ถ้าจำนวนแมลงก่อนพ่นสารไม่

แตกต่างกันทางสถิติวิเคราะห์ความแปรปรวนหลังพ่นสารด้วยวิธี analysis of variance ถ้าจำนวนแมลงก่อนพ่นสารแตกต่างกันทางสถิติวิเคราะห์ความแปรปรวนหลังพ่นสารด้วยวิธี analysis of covariance จากนั้นเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT คำนวณเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัด (% Efficacy) ตามวิธีการของ Henderson – Tilton (Puntener, 1992)

ระยะเวลาและสถานที่ดำเนินการ เริ่มต้น ตุลาคม 2553 สิ้นสุด กันยายน 2555 ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ อำเภอตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลอง ปี 2554

ก่อนพ่นสารพบการระบาดของเพลี้ยอ่อนเพียงเล็กน้อยและมีการกระจายตัวไม่สม่ำเสมอ แต่พบการระบาดของเพลี้ยไฟค่อนข้างรุนแรง จึงทำการพ่นสารเพื่อทดสอบประสิทธิภาพกับเพลี้ยไฟ

จำนวนเพลี้ยไฟ (ตารางที่ 1)

ก่อนพ่นสารพบจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 136.50 – 196.75 ตัว/10ต้น ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติ จึงวิเคราะห์ข้อมูลหลังพ่นสารด้วยวิธี Analysis of covariance

หลังพ่นสารครั้งแรกแล้ว 3 พบจำนวนเพลี้ยไฟอยู่ระหว่าง 61.50 -187.50 ตัว/10 ต้น ซึ่งมีความแตกต่างกันในทางสถิติ กรรมวิธีที่มีการพ่นสาร spinosad พบเพลี้ยไฟน้อยที่สุดเฉลี่ย 61.50 ตัว/10 รองลงมาคือ imidacloprid พบเฉลี่ย 76.75 ตัว/10 ต้น ทั้ง 2 กรรมวิธีดังกล่าวพบเพลี้ยไฟน้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารที่พบเฉลี่ย 187.50 ตัว/10 ต้น กรรมวิธีพ่นสาร emamectin benzoate, thiamethoxam และ clothianidin พบเพลี้ยไฟเฉลี่ย 107.50, 131.00 และ 146.00 ตัว/10 ต้น ตามลำดับไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร

หลังพ่นสารครั้งแรกแล้ว 5 กรรมวิธีที่พ่นสารจำนวนเพลี้ยไฟอยู่ระหว่าง 68.50 – 112.25 ตัว/10 ต้น ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ แต่น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารที่พบเฉลี่ย 188.25 ตัว/10 ต้น

หลังพ่นสารครั้งแรกแล้ว 7 กรรมวิธีที่พ่นสารจำนวนเพลี้ยไฟอยู่ระหว่าง 40.75 – 49.00 ตัว/10 ต้น ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ แต่น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารที่พบเฉลี่ย 153.00 ตัว/10 ต้น

หลังการพ่นสารครั้งแรก แล้ว 7 วัน ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารยังคงพบเพลี้ยไฟ จึงทำการพ่นสารครั้งที่ 2 โดยใช้ข้อมูลจำนวนเพลี้ยไฟที่หลังพ่นสารครั้งแรกแล้ว 7 วัน เป็นข้อมูลก่อนพ่น ซึ่งมีความแตกต่างกันในทางสถิติ จึงวิเคราะห์ข้อมูลหลังพ่นสารด้วยวิธี Analysis of covariance

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 3 วัน กรรมวิธีที่พ่นสารพบจำนวนเพลี้ยไฟอยู่ระหว่าง 0 – 0.50 ตัว/10 ต้น ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ แต่น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารที่พบเฉลี่ย 16.25 ตัว/10

ต้น สาเหตุที่จำนวนเพลี้ยไฟในกรรมวิธีไม่พ่นสารลดลงเนื่องจากภายหลังพ่นสารครั้งที่ 2 มีฝนตกหนักติดต่อกัน

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 5 วัน กรรมวิธีที่พ่นสารจำนวนเพลี้ยไฟอยู่ระหว่าง 1.25 – 3.25 ตัว/10 ต้น ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ แต่น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารที่พบเฉลี่ย 6.25 ตัว/10 ต้น

หลังพ่นสารครั้งแรกแล้ว 7 วัน กรรมวิธีที่พ่นสารพบจำนวนเพลี้ยไฟอยู่ระหว่าง 11.50 – 16.00 ตัว/10 ต้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติ กรรมวิธีการพ่นสาร imidacloprid, spinosad, thiamethoxam clothianidin พบเพลี้ยไฟเฉลี่ย 10.25, 11.50, 14.25 และ 14.25 ตัว/10 ต้น ตามลำดับ น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารที่พบเฉลี่ย 24.00 ตัว/10 ต้น ส่วนการพ่นสาร emamectin benzoate พบเพลี้ยไฟเฉลี่ย 16.00 ตัว/10 ต้น ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร

ผลการทดลองในปี 2554 พบว่ากรรมวิธีการพ่นสารทุกกรรมวิธีมีแนวโน้มในการควบคุมประชากรของเพลี้ยไฟในข้าวโพด โดยเฉพาะสาร imidacloprid และ spinosad อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องทดลองซ้ำเพื่อยืนยันผลการทดลองก่อนทำการแนะนำต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

-

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นางประไม จำปาเงิน นางสาวกัญญาภัค ตาแก้วและนางสาววีณา ทิพย์สุขุม ที่ช่วยดำเนินการทดลองและรวบรวมข้อมูลจนผลงานสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ตารางที่ 1 จำนวนเพลี้ยไฟที่พบในข้าวโพดจากการพ่นสารกรรมวิธีต่างๆ ที่ อ.ตากฟ้า จ.นครสวรรค์ ปี 2554

กรรมวิธี	อัตราการใช้ (ก/มล ต่อน้ำ 20 ลิตร	จำนวนเพลี้ยไฟ (ตัว/10 ต้น) 1/						
		ก่อนพ่น	หลังพ่นสารครั้งที่ 1			หลังพ่นสารครั้งที่ 2**		
			3 วัน	5 วัน	7 วัน	3 วัน	5 วัน	7 วัน
Imidacloprid 70%WG	10	136.50 a	76.75 ab	68.50 a	48.75 a	0 a	2.75 a	10.25 a
Thiamethoxam 25%WG	10	170.00 ab	131.00 cd	109.25 a	49.00 a	0.50 a	2.75 a	14.25 a
Clothianidin 16%SG	15	196.75 b	146.00 d	112.25 a	40.75 a	0 a	1.25 a	14.25 a
Spinosad 12%SC	10	167.75 ab	61.50 a	73.50 a	41.00 a	0.25 a	2.00 a	11.50 a
Emamectin benzoate	10	144.25 a	107.50 bcd	96.25 a	46.75 a	0.50 a	3.25 a	16.00 ab
ไม่พ่นสาร	-	140.00 a	187.50 d	188.25 b	153.00 b	16.25 b	6.25 b	24.00 b
CV (%)		19.5	27.4	40.1	13.8	140.6*	95.5*	34.9
RE (%)		-	36.5	34.9	54.2	37.0	44.6	52.1

1/ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % วิเคราะห์โดย วิธี Duncan ' S New Multiple Range Test

2149

การทดสอบประสิทธิภาพสารประเภทพ่นทางใบในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูที่สำคัญในถั่วเหลือง

Field Trial on Effectiveness of Some Insecticides for Controlling Soybean Insect Pests By Foliar Spray

สุเทพ สหายา[1/] บุญทิวา วาทิรอยรัมย์[2/]

พวงผกา อ่างมณี[1/] อมรา ไตรศิริ[3/]

[1/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา [2/] กลุ่มบริหารโครงการวิจัย สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[3/] ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ สถาบันวิจัยพืชไร่

.....

รายงานความก้าวหน้า

การทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูที่สำคัญในถั่วเหลืองโดยวิธีการพ่นสารทางใบ ดำเนินการที่แปลงศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ อำเภอตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์ ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 – กันยายน 2555 สำรวจพบการระบาดของแมลงหวี่ขาวยาสูบ ; *Bamisia tabaci* Gennadius ช่วงเดือนกรกฎาคม 2554 วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ได้แก่การพ่นสาร imidacloprid(Provado 70%WG) thiamethoxam (Actara 25%WG), buprofezin (Napam 25%WP) , buprofezin(Napam 25%WP)+white oil (Vite oil 67%EC) และ white oil (Vite oil 67%EC) อัตรา 10, 10, 40, 20+50 และ 100 กรัมหรือมิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ตามลำดับ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร สุ่มนับจำนวนตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาว 10 ต้น/แปลงย่อย ทำการพ่นสารตามกรรมวิธี 2 ครั้งห่างกัน 7 วัน ผลการทดลองมีแนวโน้มว่าการพ่นสารทุกกรรมวิธีมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวยาสูบในถั่วเหลือง และจะทำการทดลองซ้ำในฤดูกาลปลูกปี 2555 ต่อไป

คำค้น : ถั่วเหลือง แมลงศัตรูที่สำคัญ สารฆ่าแมลง การพ่นสารทางใบ

Keywords : Soybean, Key insect pest, Foliar spray

คำนำ

ถั่วเหลือง (Soybean : *Glycine nae* (L) Mersill) เป็นพืชน้ำมันที่สำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของประเทศไทย ผลผลิตที่ผลิตได้ไม่เพียงพอกับการใช้ในประเทศ ต้องนำเข้าจากต่างประเทศตั้งในรูปของเมล็ดและกากถั่วเหลือง ผลผลิตส่วนใหญ่นำไปใช้ในอุตสาหกรรมหลายชนิดและผลผลิตบางส่วนนำมาบริโภคสด

รหัสการทดลอง 01-12-54-01-02-01-01-54

แมลงศัตรูถั่วเหลือง เป็นอุปสรรคสำคัญหนึ่งในการเพิ่มผลผลิตถั่วเหลือง แมลงศัตรูพบเข้าทำลาย ทุกระยะการเจริญเติบโตของถั่วเหลือง บางชนิดทำความเสียหายให้กับถั่วเหลืองโดยตรง บางชนิดเป็นพาหะนำโรค

สารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช ที่อยู่ในกลุ่มของสารเคมีเฝ้าระวังตามประกาศของกรมวิชาการเกษตรในปัจจุบันมีด้วยกัน 9 ชนิด ได้แก่ aldicarb, blasticidin-s, carbofuran, dicrotophos, ethoprofos, formethanate, methidathion, methomyl และ oxamyl พบว่าสารดังกล่าวยังมีการใช้กันอย่างแพร่หลายโดยเฉพาะพืชไร่ ได้แก่ ข้าวโพด ทานตะวัน ถั่วเหลือง ถั่วลิสง ถั่วเขียว ข้าวฟ่าง งา กลุ่มของสารเฝ้าระวังดังกล่าวมีพิษร้ายแรงอยู่ในระดับความเป็นพิษ class Ia และ Ib ซึ่งมีค่าความเป็นพิษสูงอาจก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ยังมีรายงานการพบพิษตกค้างในพืชเศรษฐกิจบ่อยครั้งซึ่งมีผลกระทบต่อการส่งออกของสินค้าไปต่างประเทศ หลายประเทศมีการกำหนดค่าพิษตกค้าง(Maximum Risidue Limited:MRLs) ของสินค้าเกษตรใหม่ อีกประการหนึ่งตั้งแต่ปี 2545 เป็นต้นมา กรมวิชาการเกษตรประกาศห้ามใช้สารฆ่าแมลงหลายชนิด เช่น methamidophos, parathion methyl และ endosulfan ทำให้เกษตรกรมีทางเลือกการใช้สารลดลง

ปัจจุบันมีการปรับปรุงการแบ่งกลุ่มของสารป้องกันกำจัดแมลงไว้ตามกลไกการออกฤทธิ์หรือตำแหน่งของการออกฤทธิ์ (Mode of Action หรือ Site of Action) ซึ่งจัดกลุ่มโดย Insecticide Resistance Action Committee (IRAC) ซึ่งมีวัตถุประสงค์เพื่อให้เกษตรกร นักวิชาการ นักส่งเสริมเกษตร และธุรกิจเคมีเกษตร มีการแนะนำการใช้สารป้องกันกำจัดแมลงและไร อย่างมีประสิทธิภาพและยั้งยืน และเป็นกลยุทธ์ในการจัดการความต้านทานของแมลงไรต่อสารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช นอกจากนี้แล้วสารใหม่ๆที่ขึ้นทะเบียนในปัจจุบันค่อนข้างมีความเฉพาะเจาะจงต่อชนิดของแมลงศัตรูพืช ขณะเดียวกันก็มีความปลอดภัยต่อมนุษย์ สภาพแวดล้อม และศัตรูธรรมชาติ ดังนั้นแนวทางแก้ไขในการเพิ่มผลผลิตและลดการสูญเสียผลผลิตถั่วเหลืองจากการทำลายโรคแมลงศัตรู คือการเร่งทำการวิจัยการป้องกันกำจัดโรคและแมลง โดยมุ่งเน้นวิธีการที่มีประสิทธิภาพ ปลอดภัยต่อผู้บริโภคและศัตรูธรรมชาติ เพื่อให้ได้วิธีการป้องกันกำจัดโรคและแมลงศัตรูแมลงศัตรูถั่วเหลืองแบบผสมผสานเหมาะสมสำหรับพื้นที่ทั้งถั่วเหลืองฝักแห้ง และถั่วเหลืองฝักสด

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แปลงถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60
2. สารป้องกันกำจัดแมลง ได้แก่ imidacloprid(Provado 70%WG), thiamethoxam (Actara 25% WG) buprofezin (Napam 25%WP) และ white oil (Vite oil 67%EC)

3. เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง
4. กระบอกตวงสาร และถังน้ำสำหรับผสมสารฯ
5. ไม้หลักและป้ายสำหรับทำเครื่องหมายแปลงทดลอง

วิธีการ

แบบการวิจัย วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี คือการพ่นสารทางใบ (Foliage spray) ด้วยสารฆ่าแมลงชนิดต่าง ๆ ดังนี้

1. imidacloprid 70 % WG อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
2. thiamethoxam 25% WG อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
3. buprofezin 25%WP อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
4. buprofezin 25%WP+white oil 67%EC อัตรา 20กรัม +50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
5. white oil 67%EC อัตรา 100 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
6. ไม่ใช้สารฆ่าแมลง

ปลูกถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ขนาดแปลงย่อย 5 x 5 เมตรระยะระหว่างต้นและแถว 0.25 x 0.50 เมตร จำนวน 24 แปลงย่อย ทำการตรวจนับเพลี้ยอ่อน เพลี้ยไฟและแมลงหวี่ขาว โดยวิธีสุ่มนับจากถั่วเหลืองบริเวณ 4 แถวกลางแปลงย่อย ๆ ละ 10 ต้น ไม่ตรวจนับแถวริม พ่นสารตามกรรมวิธี เมื่อพบแมลงชนิดใดชนิดหนึ่งระบาด ทำการตรวจนับแมลงก่อนพ่นสารและหลังพ่นสาร 3, 5 และ 7 วัน พ่นซ้ำเมื่อพบการระบาดของแมลง

การบันทึกข้อมูล บันทึกจำนวนแมลงที่พบแต่ละกรรมวิธี บันทึกผลกระทบของสารทดลองที่มีต่อต้นถั่วเหลือง (phytotoxicity) เปรียบเทียบผลการทดลองพ่นสารตามกรรมวิธีต่างๆ โดยวิเคราะห์ผลทางสถิติจำนวนแมลงในแต่ละครั้งที่ตรวจนับด้วยโปรแกรม IRRISTAT โดยแปลงค่าข้อมูลจำนวนแมลงที่ตรวจนับได้ ด้วยค่า sqaure root (x + 0.5) ก่อนวิเคราะห์ผลทางสถิติ ถ้าจำนวนแมลงก่อนพ่นสารไม่แตกต่างกันทางสถิติวิเคราะห์ความแปรปรวนหลังพ่นสารด้วยวิธี analysis of variance ถ้าจำนวนแมลงก่อนพ่นสารแตกต่างกันทางสถิติวิเคราะห์ความแปรปรวนหลังพ่นสารด้วยวิธี analysis of covariance จากนั้นเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT คำนวณเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัด (% Efficacy) ตามวิธีการของ Henderson – Tilton (Puntener, 1992)

ระยะเวลาและสถานที่ดำเนินการ เริ่มต้น ตุลาคม 2553 สิ้นสุด กันยายน 2555 ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ อำเภอตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลอง ปี 2554

ก่อนพ่นสารพบการระบาดของเพลี้ยอ่อน เพลี้ยไฟเพียงเล็กน้อยและมีการกระจายตัวไม่สม่ำเสมอ แต่พบการระบาดของแมลงหวี่ขาวยาสูบไม่รุนแรง แต่ระบาดค่อนข้างสม่ำเสมอจึงทำการพ่นสารเพื่อทดสอบประสิทธิภาพกับแมลงหวี่ขาว

จำนวนตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาว (ตารางที่ 1)

ก่อนพ่นสารพบจำนวนแมลงหวี่ขาวเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 12.00 – 15.75 ตัว/10ต้น ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จึงวิเคราะห์ข้อมูลหลังพ่นสารด้วยวิธี Analysis of variance

หลังพ่นสารครั้งแรกแล้ว 3 วัน พบจำนวนแมลงหวี่ขาวอยู่ระหว่าง 1.75 -13.00 ตัว/10 ต้น ซึ่งมีความแตกต่างกันในทางสถิติ กรรมวิธีที่มีการพ่นสารพบแมลงหวี่ขาวเฉลี่ย 1.75 – 4.78 ตัว/10 ต้น น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พนสารที่พบแมลงหวี่ขาวเฉลี่ย 13.00 ตัว/10 ต้น กรรมวิธีพ่นสาร white oil 67% พบจำนวนแมลงหวี่ขาวน้อยที่สุดเฉลี่ย 1.75 ตัว/10 ต้น น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสาร imidacloprid 70%WG ที่พบเฉลี่ย 4.78 ตัว/10 ต้น การพ่นสาร thiamethoxam 25%WG, buprofezin 25%WP และ buprofezin 25%WP+ white oil 67%EC พบแมลงหวี่ขาวเฉลี่ย 2.50, 2.25 และ 2.75 ตัว/10 ต้น ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และไม่แตกต่างทางสถิติกับการพ่นสาร imidacloprid 70%WG และ white oil 67%

หลังพ่นสารครั้งแรกแล้ว 5 วัน พบจำนวนแมลงหวี่ขาวอยู่ระหว่าง 9.00 -22.50 ตัว/10 ต้น ซึ่งมีความแตกต่างกันในทางสถิติ กรรมวิธีที่มีการพ่นสารพบแมลงหวี่ขาวเฉลี่ย 9.00 – 21.50 ตัว/10 ต้น น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พนสารที่พบแมลงหวี่ขาวเฉลี่ย 22.50 ตัว/10 ต้น กรรมวิธีพ่นการพ่นสาร thiamethoxam 25%WG, white oil 67% และ buprofezin 25%WP พบจำนวนแมลงหวี่ขาวเฉลี่ย 9.00, 9.25และ 11.75 ตัว/10 ต้น ตามลำดับ น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสาร imidacloprid 70%WG ที่พบเฉลี่ย 21.50 ตัว/10 ต้น ส่วนการพ่นสาร buprofezin 25%WP+ white oil 67%EC พบแมลงหวี่ขาวเฉลี่ย 15.00 ตัว/10 ต้น ไม่แตกต่างทางสถิติ กับวิธีการพ่นสารวิธีอื่นๆ

หลังพ่นสารครั้งแรกแล้ว 7 วัน กรรมวิธีที่มีการพ่นสารพบจำนวนแมลงหวี่ขาวเฉลี่ย 8.00 – 20.00 ตัว/10 ต้น ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารที่พบเฉลี่ย 19.75 ตัว/10 ต้น

หลังการพ่นสารครั้งแรก แล้ว 7 วัน ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารยังคงพบแมลงหวี่ขาว จึงทำการพ่นสารครั้งที่ 2โดยใช้ข้อมูลจำนวนแมลงหวี่ขาวที่หลังพ่นสารครั้งแรกแล้ว 7 วัน เป็นข้อมูลก่อนพ่น ซึ่งมีความแตกต่างกันในทางสถิติ จึงวิเคราะห์ข้อมูลหลังพ่นสารด้วยวิธี Analysis of covariance

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 3 วัน กรรมวิธีที่มีการพ่นสารพบแมลงหวี่ขาวเฉลี่ย 13.20 - 16.50 ตัว/10 ต้น น้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารที่พบเฉลี่ย 34.50 ตัว/10 ต้น การพ่น

สาร imidacloprid 70%WG ,thiamethoxam 25%WG และ white oil 67% พบแมลงหวี่ขาวเฉลี่ย 9.75, 13.20 และ 13.20 ตัว/10 ต้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่น้อยกว่า และแตกต่างกันทางสถิติกับการพ่นสาร buprofezin 25%WP+ white oil 67%EC พบแมลงหวี่ขาวเฉลี่ย 22.50 ตัว/10 ต้น ในขณะที่การพ่นสาร buprofezin 25%WP พบจำนวนแมลงหวี่ขาวเฉลี่ย 16.50 ตัว/10 ต้นไม่แตกต่างทางสถิติ กับวิธีการพ่นสารวิธีอื่นๆ

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 5 กรรมวิธีที่มีการพ่นสารพบแมลงหวี่ขาวเฉลี่ย 14.50 – 25.00 ตัว/10 ต้น น้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารที่พบเฉลี่ย 36.00 ตัว/10 ต้น การพ่นสาร white oil 67% พบแมลงหวี่ขาวน้อยที่สุดเฉลี่ย 14.50 ตัว/10 ต้น น้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสาร buprofezin 25%WP + white oil 67%EC พบจำนวนแมลงหวี่ขาวเฉลี่ย 25.00 ตัว/10 ต้น แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการพ่นสาร imidacloprid 70%WG ,thiamethoxam 25%WG และbuprofezin 25%WP ที่พบแมลงหวี่ขาวเฉลี่ย 19.25, 19.25 และ 15.75 ตัว/10 ต้น

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว แล้ว 7 วัน พบแมลงหวี่ขาวเฉลี่ยระหว่าง 8.25 – 15.25 ตัว/10 ต้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ผลการทดลองในปี 2554 พบว่ากรรมวิธีการพ่นสารทุกกรรมวิธีมีแนวโน้มในการควบคุมประชากรของแมลงหวี่ขาวในถั่วเหลืองได้ โดยเฉพาะสาร white oil 67%EC อย่างไรก็ตาม จำเป็นต้องทดลองซ้ำเพื่อยืนยันผลการทดลองก่อนทำการแนะนำต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

-

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นางประไม จำปาเงิน นางสาวกัญญาภัค ตาแก้วและนางสาววีณา ทิพย์สุขุม ที่ช่วยดำเนินการทดลองและรวบรวมข้อมูลจนผลงานสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ตารางที่ 1 จำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบ ; *Bemisia tabaci* Gennadius ในถั่วเหลือง จากการพ่นสารกรรมวิธีต่างๆ ที่ อ.ตากฟ้า จ.นครสวรรค์ ปี 2554

กรรมวิธี	อัตราการใช้ (ก/มล ต่อน้ำ 20 ลิตร	จำนวนตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาว (ตัว/10 ต้น)[1/]						
		ก่อนพ่น	หลังพ่นสารครั้งที่ 1			หลังพ่นสารครั้งที่ 2		
			3 วัน	5 วัน	7 วัน	3 วัน	5 วัน	7 วัน*
Imidacloprid 70%WG	10	12.50	4.78 b	21.50 b	19.25 ab	9.75 a	19.25 ab	12.75
Thiamethoxam 25%WG	10	12.00	2.50 ab	9.00 a	8.00 a	13.20 a	19.25 ab	10.00
Buprofezin 25%WP	40	15.75	2.25 ab	11.75 a	20.00 b	16.50 ab	15.75 ab	12.75
Bupro.25%WP+W. oil 67%EC	20+50	12.75	2.75 ab	15.00 ab	17.75 ab	22.50 b	25.00 b	10.50
White oil 67%EC	100	13.75	1.75 a	9.25 a	10.00 ab	13.20 a	14.50 a	8.25
ไม่พ่นสาร	-	15.00	13.00 c	22.50 c	19.75 ab	34.50 c	36.00 c	15.25
CV (%)		76.8**	80.4**	36.5	47.4	22.3	28.4	51.7**
RE (%)		-	63.5	43.9	45.2	73.0	46.4	55.1

1/ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % วิเคราะห์โดย วิธี Duncan ' S New Multiple Range Test

* หลังพ่นสาร 5 วัน มีฝนตกหนัก

* *ข้อมูลถูกแปลงค่าด้วย Square root X + 0.5 ก่อนวิเคราะห์ผลทางสถิติ

2155

การทดสอบประสิทธิภาพสารประเภทคลุกเมล็ดป้องกันกำจัดแมลงศัตรูที่สำคัญในถั่วเหลือง

Field Trial on Effectiveness of Some Insecticides for Controlling Soybean Insect Pests By Seed Treatment

สุเทพ สหายา[1/] **บุญทิวา วาทิรอยรัมย์**[2/]

พวงผกา อ่างมณี[1/] **อมรา ไตรศิริ**[3/]

[1/]**กลุ่มกีฏและสัตววิทยา** [2/]**กลุ่มบริหารโครงการวิจัย** **สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

[3/] **ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ สถาบันวิจัยพืชไร่**

.....

รายงานความก้าวหน้า

การทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูที่สำคัญในถั่วเหลือง โดยวิธีคลุกเมล็ดพันธุ์ก่อนปลูก ดำเนินการที่แปลงศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ อำเภอตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์ ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 – กันยายน 2555 ในปี 2554 วางแผนการทดลองแบบ RCB 5 ซ้ำ 4 กรรมวิธี ได้แก่การคลุกเมล็ดด้วยสาร imidacloprid(Provado 60%FS) imidacloprid(Gaucho 70%WS) และ thiamethoxam (Cruiser 35%FS) อัตรา 10, 5, และ 10 กรัมหรือมิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม ตามลำดับ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่ใช้สาร สุ่มนับจำนวนตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาว เพลี้ยอ่อน เพลี้ยไฟ และด้วงหมัดผัก 10 ต้น/แปลงย่อย ตรวจนับแมลงหลังงอก 7, 14, 21, 28 และ 35 วัน ผลการทดลองมีแนวโน้มว่าการคลุกเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองด้วยสารฆ่าแมลงทุกชนิดมีประสิทธิภาพป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวยาสูบ ส่วนแมลงศัตรูพืชชนิดอื่นมีการระบาดค่อนข้างต่ำ และจะทำการทดลองซ้ำในฤดูกาลปลูกปี 2555 ต่อไป

คำค้น : ถั่วเหลือง แมลงศัตรูที่สำคัญ สารฆ่าแมลง การคลุกเมล็ด

Keywords : Soybean, Key insect pest, Seed treatment

รหัสการทดลอง 01-12-54-01-02-01-02-54

คำนำ

ถั่วเหลือง (Soybean : *Glycine nae* (L) Mersill) เป็นพืชน้ำมันที่สำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของประเทศไทย ผลผลิตที่ผลิตได้ไม่เพียงพอกับการใช้ในประเทศ ต้องนำเข้าจากต่างประเทศตั้งในรูปของเมล็ดและกากถั่วเหลือง ผลผลิตส่วนใหญ่นำไปใช้ในอุตสาหกรรมหลายชนิด และผลผลิตบางส่วนนำมาบริโภคสด

แมลงศัตรูถั่วเหลือง เป็นอุปสรรคสำคัญหนึ่งในการเพิ่มผลผลิตถั่วเหลือง แมลงศัตรูพบเข้าทำลายทุกระยะการเจริญเติบโตของถั่วเหลือง บางชนิดทำความเสียหายให้กับถั่วเหลืองโดยตรง บางชนิดเป็นพาหะนำโรคโดยเฉพาะแมลงหวี่ขาวยาสูบ ซึ่งเป็นแมลงพาหะนำเชื้อไวรัสสาเหตุโรคใบยอดย่น หรือใบคลื่นมาสู่ต้นถั่วเหลือง ถ้าระบาดในช่วงถั่วเหลืองต้นเล็ก จะทำให้ไม่ได้ผลผลิตเลย การคลุกเมล็ดพันธุ์ก่อนปลูกเป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถป้องกันแมลงศัตรูถั่วเหลืองทั้งแมลงที่ทำลายโดยตรง และแมลงพาหะดังนั้นจึงดำเนินการทดสอบเพื่อหาชนิดและอัตราที่เหมาะสม เพื่อให้ได้วิธีการป้องกันกำจัดโรคและแมลงศัตรูแมลงศัตรูถั่วเหลืองแบบผสมผสานเหมาะสมสำหรับพื้นที่ทั้งถั่วเหลืองฝักแห้ง และถั่วเหลืองฝักสด

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60
2. สารป้องกันกำจัดแมลง ได้แก่ imidacloprid(Provado X 60%FS), imidacloprid(Gaucho 70%WS) และ thiamethoxam (Cruiser 35%FS)
3. เครื่องชั่งละเอียด กระบอกตวงสาร และถุงพลาสติกสำหรับคลุกเมล็ด
4. ไม้หลักและป้ายสำหรับทำเครื่องหมายแปลงทดลอง

วิธีการ

แบบการวิจัย วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 5 ซ้ำ 4 กรรมวิธี คือการพ่นสารทางใบ (Foliage spray) ด้วยสารฆ่าแมลงชนิดต่าง ๆ ดังนี้

1. imidacloprid 60 % FS	อัตรา 10 มิลลิลิตร/เมล็ด 1 กก.
2. imidacloprid 70 % WS	อัตรา 5 กรัม/เมล็ด 1 กก.
3. thiamethoxam 35% FS	อัตรา 10 มิลลิลิตร/เมล็ด 1 กก.
4. ไม่ใช้สารฆ่าแมลง	

คลุกเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 แล้วปลูกขนาดแปลงย่อย 5 x 5 เมตรระยะระหว่างต้นและแถว 0.25 x 0.50 เมตร จำนวน 20 แปลงย่อย ทำการตรวจนับเพลี้ยอ่อน เพลี้ยไฟแมลงหวี่ขาว และแมลงชนิดอื่น โดยวิธีสุ่มนับจากถั่วเหลืองบริเวณ 4 แถวกลางแปลงย่อย ๆ ละ 10 ต้น ไม่ตรวจนับแถวริม ทำการตรวจนับแมลงหลังงอก 7, 14, 21, 28 และ 35 วัน

การบันทึกข้อมูล บันทึกจำนวนแมลงที่พบแต่ละกรรมวิธี บันทึกผลกระทบของสารทดลองที่มีต่อต้นถั่วเหลือง (phytotoxicity) เปรียบเทียบผลการทดลองพ่นสารตามกรรมวิธีต่างๆ โดยวิเคราะห์ผลทางสถิติจำนวนแมลงในแต่ละครั้งที่ตรวจนับด้วยโปรแกรม IRRISTAT โดยแปลงค่าข้อมูลจำนวนแมลงที่ตรวจนับได้ ด้วยค่า sqaure root (x + 0.5) ก่อนวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ระยะเวลาและสถานที่ดำเนินการ เริ่มต้น ตุลาคม 2553 สิ้นสุด กันยายน 2555 ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ อำเภอตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลอง ปี 2554

จำนวนตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาว (ตารางที่ 1)

หลังงอก 7 วัน พบจำนวนแมลงหวี่ขาวอยู่ระหว่าง 1.4 -13.0 ตัว/10 ต้น ซึ่งมีความแตกต่างกันในทางสถิติ กรรมวิธีที่มีการคลุกเมล็ดพบแมลงหวี่ขาวเฉลี่ย 1.4 – 4.8 ตัว/10 ต้น น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พนสารที่พบแมลงหวี่ขาวเฉลี่ย 13.0 ตัว/10 ต้น กรรมวิธีคลุกเมล็ดด้วยสาร thiamethoxam 35%FS พบแมลงหวี่ขาวน้อยที่สุด 1.4 ตัว/10 ต้น รองลงมาคือการคลุกเมล็ดด้วยสาร imidacloprid 60%FS ซึ่งพบเฉลี่ย 3.0 ตัว/10 ต้น และไม่แตกต่างกันทางสถิติ กรรมวิธีการคลุกเมล็ดด้วยสาร imidacloprid 70%WS พบเฉลี่ย 4.8 ตัว/10 ต้น มากกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีใช้สาร thiamethoxam 35%FS แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับ imidacloprid 60%FS

หลังงอก 14 วัน พบจำนวนแมลงหวี่ขาวอยู่ระหว่าง 3.8 -12.6 ตัว/10 ต้น ซึ่งมีความแตกต่างกันในทางสถิติ กรรมวิธีที่มีการคลุกเมล็ดพบแมลงหวี่ขาวเฉลี่ย 3.8 – 4.6 ตัว/10 ต้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย thiamethoxam 35%FS , imidacloprid 60%FS และ imidacloprid 70%WS พบแมลงหวี่ขาวเฉลี่ย 3.8, 3.8 และ 4.6 ตัว/10 ต้น ตามลำดับ

หลังงอก 21 วัน พบจำนวนแมลงหวี่ขาวอยู่ระหว่าง 6.4 -14.8 ตัว/10 ต้น ซึ่งมีความแตกต่างกันในทางสถิติ กรรมวิธีที่มีการคลุกเมล็ดพบแมลงหวี่ขาวเฉลี่ย 6.4 – 8.6 ตัว/10 ต้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย thiamethoxam 35%FS , imidacloprid 60%FS และ imidacloprid 70%WS พบแมลงหวี่ขาวเฉลี่ย 6.4, 6.8 และ 8.6 ตัว/10 ต้น ตามลำดับ

หลังงอก 28 วัน พบจำนวนแมลงหวี่ขาวอยู่ระหว่าง 15.0 -17.6 ตัว/10 ต้น ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติระหว่างกรรมวิธี

หลังงอก 35 วัน พบจำนวนแมลงหวี่ขาวอยู่ระหว่าง 6.6 -14.6 ตัว/10 ต้น ซึ่งมีความแตกต่างกันในทางสถิติ กรรมวิธีการคลุกเมล็ดด้วยสาร thiamethoxam 35%FS , imidacloprid 60%FS และ imidacloprid 70%WS พบแมลงหวี่ขาวเฉลี่ย 6.6, 6.6 และ 11.4 ตัว/10 ต้น ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่การคลุกเมล็ดด้วยสาร imidacloprid 70%WS พบแมลงหวี่ขาวไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สาร

ผลการทดลองในปี 2554 พบว่ากรรมวิธีการคลุกเมล็ดด้วยสารทุกกรรมวิธีมีแนวโน้มในการควบคุมประชากรของแมลงหวี่ขาวในถั่วเหลืองได้ อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องทดลองซ้ำเพื่อยืนยันผลการทดลองก่อนทำการแนะนำต่อไป

สำหรับแมลงชนิดอื่นๆ พบด้วงหมัดผัก แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

-

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นางประไม จำปาเงิน นางสาวกัญญาภัค ตาแก้วและนางสาววีณา ทิพย์สุขุม ที่ช่วยดำเนินการทดลองและรวบรวมข้อมูลจนผลงานสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ตารางที่ 1 จำนวนแมลงหวี่ขาวในถั่วเหลือง จากการคลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสารกรรมวิธีต่างๆ ที่ อ.ตากฟ้า จ. นครสวรรค์ ปี 2554

กรรมวิธี	อัตราการใช้ (กรัม หรือ มล ต่อ เมล็ดพันธุ์ 1 กก	จำนวนแมลงหวี่ขาว (ตัว/10 ต้น)[1/]				
		หลังงอก (วัน)				
		7	14	21	28	35
Imidacloprid 60%FS	10	3.0 ab	3.8 a	6.8 a	17.6	6.6 a
Imidacloprid 70%WS	5	4.8 b	4.6 a	8.6 a	16.8	11.4 ab
Thiamethoxam 35%FS	10	1.4 a	3.8 a	6.4 a	15.0	6.6 a
ไม่ใช้สาร	-	13.0 c	12.6 b	14.8 b	17.0	14.6 b
CV (%)		108.6*	95.7*	87.0*	77.4.*	60.5*

1/ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % วิเคราะห์โดย วิธี Duncan ' S New Multiple Range Test

* ข้อมูลถูกแปลงค่าด้วย Square root X + 0.5 ก่อนวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ตารางที่ 2 จำนวนด้วงหมัดผักในถั่วเหลือง จากการคลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสารกรรมวิธีต่างๆ ที่ อ.ตากฟ้า จ. นครสวรรค์ ปี 2554

กรรมวิธี	อัตราการใช้ (กรัม หรือ มล ต่อ เมล็ดพันธุ์ 1 กก	จำนวนด้วงหมัดผัก (ตัว/10 ต้น)[1/]				
		หลังงอก (วัน)				
		7	14	21	28**	35
Imidacloprid 60%FS	10	6.0	2.4	0.8	-	1.2
Imidacloprid 70%WS	5	6.4	1.0	0.6	-	1.0
Thiamethoxam 35%FS	10	10.0	2.5	1.0	-	1.4
ไม่ใช้สาร	-	9.0	2.4	0.4	-	0.8
CV (%)		97.2*	78.6*	77.4*		270.7*

1/ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % วิเคราะห์โดย วิธี Duncan ' S New Multiple Range Test

* ข้อมูลถูกแปลงค่าด้วย Square root X + 0.5 ก่อนวิเคราะห์ผลทางสถิติ

** มีฝนตกหนัก

ทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงในการคลุกเมล็ดในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสำคัญของถั่วเขียว

Field Trial on Effectiveness of Some Insecticides for Controlling Mungbean Insect Pests By Seed Treatment

สุเทพ สหายา[1/] **บุญทิวา วาทิรอยรัมย์**[2/]
พวงผกา อ่างมณี[1/] **อมรา ไตรศิริ**[3/]
[1/]**กลุ่มกีฏและสัตววิทยา** [2/]**กลุ่มบริหารโครงการวิจัย** **สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**
[3/] **ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ สถาบันวิจัยพืชไร่**

.....

รายงานความก้าวหน้า

การทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูที่สำคัญในถั่วเขียวโดยวิธีคลุกเมล็ดพันธุ์ก่อนปลูก ดำเนินการที่แปลงศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ อำเภอตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์ ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 – กันยายน 2555 ในปี 2554 วางแผนการทดลองแบบ RCB 5 ซ้ำ 4 กรรมวิธี ได้แก่การคลุกเมล็ดด้วยสาร imidacloprid(Provado 60%FS) imidacloprid(Gaucho 70%WS) และ thiamethoxam (Cruiser 35%FS) อัตรา 10, 5, และ 10 กรัมหรือมิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม ตามลำดับ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่ใช้สาร สุ่มนับจำนวนตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาว เพลี้ยอ่อน เพลี้ยไฟ และด้วงหมัดผัก 10 ต้น/แปลงย่อย ตรวจนับแมลงหลังงอก 7, 14, 21, 28 และ 35 วัน ผลการทดลองมีแนวโน้มว่าการคลุกเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวด้วยสารฆ่าแมลงทุกชนิดมีประสิทธิภาพป้องกันกำจัดด้วงหมัดผัก ส่วนแมลงศัตรูพืชชนิดอื่นมีการระบาดค่อนข้างต่ำ และจะทำการทดลองซ้ำในฤดูกาลปลูกปี 2555 ต่อไป

คำค้น : ถั่วเขียว แมลงศัตรูที่สำคัญ สารฆ่าแมลง การคลุกเมล็ด

Keywords : Mungbean, Key insect pest, Seed treatment

รหัสการทดลอง 01-13-54-02-01-03-02-54

คำนำ

ถั่วเขียว มีแมลงศัตรูที่สำคัญหลายชนิด เช่น เพลี้ยไฟ;*Caliothrips indicus* Bagnal) เพลี้ยอ่อน;*Aphis craccivora* Koch ไรขาว;*Polyphagotarsonemus latus* (Banks)) หนอนม้วนใบ;*Archips micaceana* (Walker) หนอนกระทู้ผัก;*Spodoptera litura* Fabricius หนอนกระทู้หอม ; *Spodoptera exigua*(Hubner)) หนอนเจาะสมอฝ้าย; *Helicoverpa armigera*(Hubner) หนอนเจาะฝักมารูค่า; *Maruca vitrata* Fab. ; *M. testulalis* (Geyer) (Wongsiri, 2534.) โดยเฉพาะหนอนเจาะฝักมารูค่า และหนอนผีเสื้อสีน้ำเงิน จะทำลายส่วนของดอก และเจาะฝักทำให้สูญเสียผลผลิตได้ถึง 49 %(วิเชียร และคณะ, 2543)ในการป้องกันกำจัดหนอนเจาะฝักถั่วเขียวโดยสารเคมี ในอดีตได้แนะนำให้พ่นสาร methamidophos ซึ่งสารฆ่าแมลงดังกล่าวเป็นสารต้องห้ามตามประกาศ และขณะนี้สารแนะนำมีเพียง 2 ชนิด คือ lambdacyhalothrin และ triazophos (กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา, 2551)

การคลุกเมล็ดพันธุ์ก่อนปลูกเป็นแนวทางหนึ่งในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช เนื่องจากถั่วเขียวมีแมลงศัตรูมากตั้งแต่เริ่มปลูก ดังนั้นจึงดำเนินการทดสอบสารประเภทคลุกเมล็ด เพื่อหาสารแนะนำเกษตรกรให้ใช้วิธีการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูถั่วเขียวผสมผสานกับวิธีการอื่น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียว
2. สารป้องกันกำจัดแมลง ได้แก่ imidacloprid(Provado X 60%FS), imidacloprid(Gaucho 70%WS) และ thiamethoxam (Cruiser 35%FS)
3. เครื่องชั่งละเอียด กระบอกตวงสาร และถุงพลาสติกสำหรับคลุกเมล็ด
4. ไม้หลักและป้ายสำหรับทำเครื่องหมายแปลงทดลอง

วิธีการ

แบบการวิจัย วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 5 ซ้ำ 4 กรรมวิธี คือการพ่นสารทางใบ (Foliage spray) ด้วยสารฆ่าแมลงชนิดต่าง ๆ ดังนี้

1. imidacloprid 60 % FS	อัตรา 10 มิลลิลิตร/เมล็ด 1 กก.
2. imidacloprid 70 % WS	อัตรา 5 กรัม/เมล็ด 1 กก.
3. thiamethoxam 35% FS	อัตรา 10 มิลลิลิตร/เมล็ด 1 กก.

4. ไม่ใช้สารฆ่าแมลง

คลุกเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียว ตามกรรมวิธี แล้วปลูกขนาดแปลงย่อย 5 x 5 เมตรระยะระหว่างต้นและแถว 0.25 x 0.50 เมตร จำนวน 20 แปลงย่อย ทำการตรวจนับเพลี้ยอ่อน เพลี้ยไฟแมลงหวี่ขาว และแมลงชนิดอื่น โดยวิธีสุ่มนับจากถั่วเหลืองบริเวณ 4 แถวกลางแปลงย่อย ๆ ละ 10 ต้น ไม่ตรวจนับแถวริม ทำการตรวจนับแมลงหลังงอก 7, 14, 21, 28 และ 35 วัน

การบันทึกข้อมูล บันทึกจำนวนแมลงที่พบแต่ละกรรมวิธี บันทึกผลกระทบของสารทดลองที่มีต่อต้นถั่วเขียว (phytotoxicity) เปรียบเทียบผลการทดลองพ่นสารตามกรรมวิธีต่างๆ โดยวิเคราะห์ผลทางสถิติจำนวนแมลงในแต่ละครั้งที่ตรวจนับด้วยโปรแกรม IRRISTAT โดยแปลงค่าข้อมูลจำนวนแมลงที่ตรวจนับได้ ด้วยค่า sqaure root (x + 0.5) ก่อนวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ระยะเวลาและสถานที่ดำเนินการ เริ่มต้น ตุลาคม 2553 สิ้นสุด กันยายน 2555 ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ อำเภอตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลอง ปี 2554

จำนวนตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาว (ตารางที่ 1)

หลังงอก 7, 14, 21 28 และ 35 วัน พบจำนวนแมลงหวี่ขาวอยู่ระหว่าง 0 - 1.00, 0 – 0.40, 0.60 – 1.20, 1.00 – 2.00 และ 1.00 – 2.40 ตัว/10 ต้น ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติในแต่ละกรรมวิธี แต่กรรมวิธีที่มีการคลุกเมล็ดมีแนวโน้มของจำนวนแมลงหวี่ขาวน้อยกว่าการไม่ใช้สาร

จำนวนด้วงหมัดผัก (ตารางที่ 2)

หลังงอก 7 วัน กรรมวิธีที่คลุกเมล็ดด้วยสาร imidacloprid 60%FS, imidacloprid 70%WS และ thiamethoxam 35%FS พบด้วงหมัดผักเฉลี่ย 0.20, 0.40 และ 0.40 ตัว/10 ต้น ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ กรรมวิธีไม่ใช้สารที่พบเฉลี่ย 1.00 ตัว/ 10 ต้น

หลังงอก 14 วัน กรรมวิธีที่คลุกเมล็ดด้วยสาร imidacloprid 60%FS, imidacloprid 70%WS และ thiamethoxam 35%FS พบด้วงหมัดผักเฉลี่ย 1.60, 3.20 และ 2.20 ตัว/10 ต้น ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ กรรมวิธีไม่ใช้สารพบเฉลี่ย 3.80 ตัว/10 ต้น มากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ทางสถิติกับกรรมวิธีใช้สาร imidacloprid 60%FS และ thiamethoxam 35%FS แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีใช้สาร imidacloprid 70%WS

หลังงอก 21 วัน กรรมวิธีที่คลุกเมล็ดด้วยสาร imidacloprid 60%FS, imidacloprid 70%WS และ thiamethoxam 35%FS พบด้วงหมัดผักเฉลี่ย 1.80, 1.20 และ 1.20 ตัว/10 ต้น ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ กรรมวิธีไม่ใช้สารที่พบเฉลี่ย 4.20 ตัว/ 10 ต้น

หลังงอก 28 และ 35 วัน กรรมวิธีที่คลุกเมล็ดด้วยสาร imidacloprid 60%FS, imidacloprid 70%WS และ thiamethoxam 35%FS ไม่พบด้วงหมัดผัก ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับการไม่ใช้สารที่พบด้วงหมัดผักที่ 28 และ 35 วัน เฉลี่ย 0.60 และ 0.40 ตัว/10 ต้น ตามลำดับ

ผลการทดลองในปี 2554 พบว่ากรรมวิธีการคลุกเมล็ดด้วยสารทุกกรรมวิธีมีแนวโน้มในการควบคุมประชากรของด้วงหมัดผักในถั่วเขียว ส่วนแมลงอื่นๆ ระบาดค่อนข้างต่ำ อาจเป็นเพราะมีฝนตกหนัก อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องทดลองซ้ำเพื่อยืนยันผลการทดลองก่อนทำการแนะนำต่อไป

สำหรับแมลงชนิดอื่นๆ พบด้วงหมัดผัก แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

-

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นางประไม จำปาเงิน นางสาวกัญญาภัค ตาแก้วและนางสาววีณา ทิพย์สุขุม ที่ช่วยดำเนินการทดลองและรวบรวมข้อมูลจนผลงานสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ตารางที่ 1 จำนวนแมลงหวี่ขาวในถั่วเขียว จากการคลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสารกรรมวิธีต่างๆ ที่ อ.ตากฟ้า จ. นครสวรรค์ปี 2554

กรรมวิธี	อัตราการใช้ (กรัม หรือ มล ต่อ เมล็ดพันธุ์ 1 กก	จำนวนแมลงหวี่ขาว (ตัว/10 ต้น)[1/]				
		หลังงอก (วัน)				
		7	14	21	28	35
Imidacloprid 60%FS	10	0.60	0.20	0.80	2.00	1.00
Imidacloprid 70%WS	5	0.60	0	1.00	2.00	2.20
Thiamethoxam 35%FS	10	0	0	0.60	1.00	1.80
ไม่ใช้สาร	-	1.00	0.40	1.20	2.00	2.40
CV (%)		83.4*	281.7*	90.7*	74.7*	35.4

1/ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % วิเคราะห์โดย วิธี Duncan ' S New Multiple Range Test

* ข้อมูลถูกแปลงค่าด้วย Square root X + 0.5 ก่อนวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ตารางที่ 2 จำนวนด้วงหมัดผักในถั่วเขียว จากการคลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสารกรรมวิธีต่างๆ ที่ อ.ตากฟ้า จ. นครสวรรค์ ปี 2554

กรรมวิธี	อัตราการใช้ (กรัม หรือ มล ต่อ เมล็ดพันธุ์ 1 กก	จำนวนด้วงหมัดผัก (ตัว/10 ต้น)[1/]				
		หลังงอก (วัน)				
		7	14	21	28	35
Imidacloprid 60%FS	10	0.20 a	1.60 a	1.80 a	0 a	0 a
Imidacloprid 70%WS	5	0.40 a	3.20 ab	1.20 a	0 a	0 a
Thiamethoxam 35%FS	10	0.40 a	2.20 a	1.20 a	0 a	0 a
ไม่ใช้สาร	-	1.00 b	3.80 b	4.20 b	0.60 b	0.40 b
CV (%)		97.2*	78.6*	77.4*	157.9*	270.7*

1/ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % วิเคราะห์โดย วิธี Duncan ' S New Multiple Range Test

* ข้อมูลถูกแปลงค่าด้วย Square root X + 0.5 ก่อนวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงประเภทพ่นทางใบในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสำคัญของถั่วเขียว

Field Trial on Effectiveness of Some Insecticides for Controlling Mungbean Insect Pests By Foliar Spray

สุเทพ สหายา[1/] บุญทิวา วาทิรอยรัมย์[2/]

พวงผกา อ่างมณี[1/] อมรา ไตรศิริ[3/]

[1/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา [2/]กลุ่มบริหารดครงการวิจัย สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[3/] ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ สถาบันวิจัยพืชไร่

.....

รายงานความก้าวหน้า

การทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูที่สำคัญในถั่วเขียวโดยวิธีการพ่นสารทางใบ ดำเนินการที่แปลงศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ อำเภอตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์ ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 – กันยายน 2555 สำรวจพบการระบาดของหนอนม้วนใบ ช่วงเดือนกรกฎาคม 2554 วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ได้แก่การพ่นสาร lambdacyhalothrin(Karate 2.5%EC), lufenuron (Math 5%EC), methoxyfenozide (Prodigy 24%SC) , indoxacarb(Ammate 15%EC) และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* (Bactospene FC) อัตรา 20, 10, 10, 10 และ 100 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ตามลำดับ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร สุ่มนับจำนวนหนอนม้วนใบ 10 ต้น/แปลงย่อย ทำการพ่นสารตามกรรมวิธี 2 ครั้งห่างกัน 7 วัน ผลการทดลองมีแนวโน้มว่าการพ่นสารทุกกรรมวิธีมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดหนอนม้วนใบในถั่วเขียว และจะทำการทดลองซ้ำในฤดูกาลปลูกปี 2555 ต่อไป

คำค้น : ถั่วเขียว แมลงศัตรูที่สำคัญ สารฆ่าแมลง การพ่นสารทางใบ

Keywords : Mungbean, Key insect pest, Foliar spray

รหัสการทดลอง 01-13-54-02-01-03-03-54

คำนำ

ถั่วเขียว มีแมลงศัตรูที่สำคัญหลายชนิด เช่น เพลี้ยไฟ;*Caliothrips indicus* Bagnal) เพลี้ยอ่อน;*Aphis craccivora* Koch ไรขาว;*Polyphagotarsonemus latus* (Banks)) หนอนม้วนใบ;*Archips micaceana* (Walker) หนอนกระทู้ผัก;*Spodoptera litura* Fabricius หนอนกระทู้หอม ; *Spodoptera exigua*(Hubner)) หนอนเจาะสมอฝ้าย; *Helicoverpa armigera*(Hubner) หนอนเจาะฝักมารูค่า; *Maruca vitrata* Fab. ; *M. testulalis* (Geyer) (Wongsiri, 2534.) โดยเฉพาะหนอนเจาะฝักมารูค่า และหนอนผีเสื้อสีน้ำเงิน จะทำลายส่วนของดอก และเจาะฝักทำให้สูญเสียผลผลิตได้ถึง 49 %(วิเชียร และคณะ, 2543)ในการป้องกันกำจัดหนอนเจาะฝักถั่วเขียวโดยสารเคมี ในอดีตได้แนะนำให้พ่นสาร methamidophos ซึ่งสารฆ่าแมลงดังกล่าวเป็นสารต้องห้ามตามประกาศ และขณะนี้สารแนะนำมีเพียง 2 ชนิด คือ lambdacyhalothrin และ triazophos (กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา, 2551)

ปัจจุบันมีการปรับปรุงการแบ่งกลุ่มของสารป้องกันกำจัดแมลงไว้ตามกลไกการออกฤทธิ์หรือตำแหน่งของการออกฤทธิ์ (Mode of Action หรือ Site of Action) ซึ่งจัดกลุ่มโดย Insecticide Resistance Action Committee (IRAC) ซึ่งมีวัตถุประสงค์เพื่อให้เกษตรกร นักวิชาการ นักส่งเสริมเกษตร และธุรกิจเคมีเกษตร มีการแนะนำการใช้สารป้องกันกำจัดแมลงและไร อย่างมีประสิทธิภาพและยั้งยืน และเป็นกลยุทธ์ในการจัดการความต้านทานของแมลงไรต่อสารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช นอกจากนี้แล้วปัจจุบันมีสารเคมีชนิดใหม่ๆที่ขึ้นทะเบียน รวมทั้งสารชีวินทรีย์ สารสกัดจากพืช ซึ่งค่อนข้างมีความเฉพาะเจาะจงต่อชนิดของแมลงศัตรูพืช ขณะเดียวกันก็มีความปลอดภัยต่อมนุษย์ สภาพแวดล้อม และศัตรูธรรมชาติ (สุเทพ , 2552) วิเชียร (2539) รายงานว่าวิธีการตรวจนับแมลงศัตรูถั่วเขียวก่อนพ่นสารพบว่าลดจำนวนครั้งการพ่นสารน้อยกว่าวิธีปฏิบัติของเกษตรกรถึง 50% คำแนะนำในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูถั่วเขียว มีมานานแล้ว ดังนั้นจึงทำการทดสอบเพื่อให้ได้ข้อมูลที่เป็นปัจจุบัน ตลอดจนหาสารชนิดใหม่ที่อันตรายน้อยต่อเกษตรกร และได้วิธีการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูถั่วเขียวแบบผสมผสานเหมาะสมเกษตรกร

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แปลงถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60
2. สารป้องกันกำจัดแมลง ได้แก่ lambdacyhalothrin(Karate 2.5%EC), lufenuron (Math 5%EC), methoxyfenozide (Prodigy 24%SC) , indoxacarb(Ammate 15%EC) และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* (Bactospene FC)
3. เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง

4. กระบอกตวงสาร และถังน้ำสำหรับผสมสารฯ
5. ไม้หลักและป้ายสำหรับทำเครื่องหมายแปลงทดลอง

วิธีการ

แบบการวิจัย วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี คือการพ่นสารทางใบ (Foliage spray) ด้วยสารฆ่าแมลงชนิดต่าง ๆ ดังนี้

1. lambdacyhalothrin 2.5%EC	อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
2. lufenuron 5%EC	อัตรา 10 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
3. methoxyfenozide 24%SC	อัตรา 10 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
4. indoxacarb 15%EC	อัตรา 10 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
5. *Bacillus thuringiensis*	อัตรา 100 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
6. ไม่ใช้สารฆ่าแมลง	

ปลูกถั่วเขียว ขนาดแปลงย่อย 5 x 5 เมตรระยะระหว่างต้นและแถว 0.25 x 0.50 เมตร จำนวน 24 แปลงย่อย ทำการตรวจนับเพลี้ยอ่อน เพลี้ยไฟแมลงหวี่ขาว หนอนม้วนใบและหนอนเจาะฝักโดยวิธีสุ่มนับจากถั่วเขียวบริเวณ 4 แถวกลางแปลงย่อย ๆ ละ 10 ต้น ไม่ตรวจนับแถวริม พ่นสารตามกรรมวิธีเมื่อพบแมลงชนิดใดชนิดหนึ่งระบาด ทำการตรวจนับแมลงก่อนพ่นสารและหลังพ่นสาร 3, 5 และ 7 วัน พ่นซ้ำเมื่อพบการระบาดของแมลง

การบันทึกข้อมูล บันทึกจำนวนแมลงที่พบแต่ละกรรมวิธี บันทึกผลกระทบของสารทดลองที่มีต่อต้นถั่วเขียว (phytotoxicity) เปรียบเทียบผลการทดลองพ่นสารตามกรรมวิธีต่างๆ โดยวิเคราะห์ผลทางสถิติจำนวนแมลงในแต่ละครั้งที่ตรวจนับด้วยโปรแกรม IRRISTAT โดยแปลงค่าข้อมูลจำนวนแมลงที่ตรวจนับได้ ด้วยค่า sqaure root (x + 0.5) ก่อนวิเคราะห์ผลทางสถิติ ถ้าจำนวนแมลงก่อนพ่นสารไม่แตกต่างกันทางสถิติวิเคราะห์ความแปรปรวนหลังพ่นสารด้วยวิธี analysis of variance ถ้าจำนวนแมลงก่อนพ่นสารแตกต่างกันทางสถิติวิเคราะห์ความแปรปรวนหลังพ่นสารด้วยวิธี analysis of covariance จากนั้นเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT คำนวณเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัด (% Efficacy) ตามวิธีการของ Henderson – Tilton (Puntener, 1992)

ระยะเวลาและสถานที่ดำเนินการ เริ่มต้น ตุลาคม 2553 สิ้นสุด กันยายน 2555 ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ อำเภอตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลอง ปี 2554

ก่อนพ่นสารพบการระบาดของเพลี้ยอ่อน เพลี้ยไฟเพียงเล็กน้อยและมีการกระจายตัวไม่สม่ำเสมอ แต่พบการระบาดของหนอนม้วนใบ และระบาดค่อนข้างสม่ำเสมอจึงทำการพ่นสารเพื่อทดสอบประสิทธิภาพกับหนอนม้วนใบ

จำนวนหนอนม้วนใบ (ตารางที่ 1)

ก่อนพ่นสารพบจำนวนหนอนม้วนใบเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 8.25 – 14.25 ตัว/10ต้น ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จึงวิเคราะห์ข้อมูลหลังพ่นสารด้วยวิธี Analysis of variance

หลังพ่นสารครั้งแรกแล้ว 3 วัน พบจำนวนหนอนม้วนใบอยู่ระหว่าง 1.00 - 6.75 ตัว/10 ต้น ซึ่งมีความแตกต่างกันในทางสถิติ กรรมวิธีที่มีการพ่นสารพบหนอนม้วนใบเฉลี่ย 1.00 – 3.25 ตัว/10 ต้น น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พนสารที่พบหนอนม้วนใบเฉลี่ย 6.75 ตัว/10 ต้น กรรมวิธีพ่นสาร methoxyfenozide พบจำนวนหนอนม้วนใบน้อยที่สุดเฉลี่ย 1.00 ตัว/10 ต้น น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสาร *Bacillus thuringiensis* ที่พบเฉลี่ย 3.25 ตัว/10 ต้น การพ่นสาร lambdacyhalothrin, lufenuron และ indoxacarb พบหนอนม้วนใบเฉลี่ย 2.00, 2.25 และ 1.50 ตัว/10 ต้น ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และไม่แตกต่างทางสถิติกับการพ่นสาร methoxyfenozide และ *Bacillus thuringiensis*

หลังพ่นสารครั้งแรกแล้ว 5 วัน กรรมวิธีที่มีการพ่นสารพบหนอนม้วนใบเฉลี่ย 0.25 – 2.50 ตัว/10 ต้น น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พนสารที่พบหนอนม้วนใบเฉลี่ย 7.25 ตัว/10 ต้น การพ่นสาร lambdacyhalothrin, lufenuron, methoxyfenozide และ indoxacarb พบหนอนม้วนใบเฉลี่ย 1.25, 0.50, 0.25 และ 0.25 ตัว/10 ต้น ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสาร *Bacillus thuringiensis* ที่พบเฉลี่ย 2.50 ตัว/10 ต้น

หลังพ่นสารครั้งแรกแล้ว 7 วัน กรรมวิธีที่มีการพ่นสารพบหนอนม้วนใบเฉลี่ย 0.50 – 3.00 ตัว/10 ต้น น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พนสารที่พบหนอนม้วนใบเฉลี่ย 6.50 ตัว/10 ต้น การพ่นสาร lufenuron, methoxyfenozide และ indoxacarb พบหนอนม้วนใบเฉลี่ย 1.75, 0.50 และ 0.75 ตัว/10 ต้น ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสาร *Bacillus thuringiensis* ที่พบเฉลี่ย 3.00 ตัว/10 ต้น การพ่นสาร lambdacyhalothrin พบหนอนม้วนใบเฉลี่ย 2.50 ตัว/10 ต้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับวิธีการพ่นสารอื่นๆ

หลังการพ่นสารครั้งแรก แล้ว 7 วัน ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารยังคงพบ หนอนม้วนใบจึงทำการพ่นสารครั้งที่ 2โดยใช้ข้อมูลจำนวนหนอนม้วนใบที่หลังพ่นสารครั้งแรกแล้ว 7 วัน เป็นข้อมูลก่อนพ่น ซึ่งมีความแตกต่างกันในทางสถิติ จึงวิเคราะห์ข้อมูลหลังพ่นสารด้วยวิธี Analysis of covariance

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 3 วัน กรรมวิธีที่มีการพ่นสารพบหนอนม้วนใบเฉลี่ย 0 – 2.00 ตัว/10 ต้น น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พนสารที่พบหนอนม้วนใบเฉลี่ย 4.50 ตัว/10 ต้น การพ่นสาร methoxyfenozide ไม่พบหนอนม้วนใบ ส่วนการพ่น lambdacyhalothrin, lufenuron, และ indoxacarb พบหนอนม้วนใบเฉลี่ยเท่ากันคือ 0.50 ตัว/10 ต้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการพ่นสาร methoxyfenozide กรรมวิธีพ่นสาร *Bacillus thuringiensis* พบหนอนเฉลี่ย 2.00 ตัว/10 ต้น น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับการพ่นสาร methoxyfenozide แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับวิธีการพ่นสารอื่นๆ

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 5 วัน กรรมวิธีที่มีการพ่นสารพบหนอนม้วนใบเฉลี่ย 0 – 2.25 ตัว/10 ต้น น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารที่พบหนอนม้วนใบเฉลี่ย 4.25 ตัว/10 ต้น การพ่นสาร methoxyfenozide และ indoxacarb ไม่พบหนอนม้วนใบ ส่วนการพ่น lufenuron พบหนอนม้วนใบ 0.50 ตัว/10 ต้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการพ่นสาร methoxyfenozide และ indoxacarb กรรมวิธีพ่นสาร lambdacyhalothrin และ*Bacillus thuringiensis* พบหนอนไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยพบหนอนเฉลี่ย 2.25 ตัว/10 ต้น เท่ากัน ซึ่งมากกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับวิธีการพ่นสารอื่นๆ

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว แล้ว 7 กรรมวิธีที่มีการพ่นสารพบหนอนม้วนใบเฉลี่ย 1.00 – 1.75 ตัว/10 ต้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารที่พบหนอนม้วนใบเฉลี่ย 4.75 ตัว/10 ต้น

ผลการทดลองในปี 2554 พบว่ากรรมวิธีการพ่นสารทุกกรรมวิธีมีแนวโน้มในการควบคุมประชากรของหนอนม้วนใบในถั่วเขียวได้ อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องทดลองซ้ำเพื่อยืนยันผลการทดลองก่อนทำการแนะนำต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

-

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นางประไม จำปาเงิน นางสาวกัญญาภัค ตาแก้วและนางสาววีณา ทิพย์สุขุม ที่ช่วยดำเนินการทดลองและรวบรวมข้อมูลจนผลงานสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ตารางที่ 1 จำนวนหนอนม้วนใบในถั่วเขียว จากการพ่นสารกรรมวิธีต่างๆ ที่ อ.ตากฟ้า จ.นครสวรรค์ ปี 2554

กรรมวิธี	อัตราการใช้ (มล ต่อน้ำ 20 ลิตร	จำนวนหนอนม้วนใบ (ตัว/10 ต้น)[1/]						
		ก่อนพ่น	หลังพ่นสารครั้งที่ 1			หลังพ่นสารครั้งที่ 2		
			3 วัน	5 วัน	7 วัน	3 วัน	5 วัน	7 วัน
Lambdacyhalothrin 2.5%EC	20	8.25	2.00 ab	1.25 a	2.50 ab	0.50 ab	2.25 b	2.00 a
Lufenuron 5%EC	10	11.00	2.25 ab	0.50 a	1.75 a	0.50 ab	0.50 a	1.00 a
Methoxyfenozide 24%SC	10	13.75	1.00 a	0.25 a	0.50 a	0 a	0 a	1.00 a
Indoxacarb 15%EC	10	14.00	1.50 ab	0.25 a	0.75 a	0.50 ab	0 a	1.00 a
Bacillus thuringiensis	100	14.25	3.25 b	2.50 b	3.00 b	2.00 b	2.25 b	1.75 a
ไม่พ่นสาร	-	14.25	6.75 c	7.25 c	6.50 c	4.50 c	4.25 c	4.75 b
CV (%)		64.1**	107.4**	148.3**	74.3**	102.8**	116.5**	58.4**
RE (%)		-	-	-	-	73.0	46.4	55.1

1/ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % วิเคราะห์โดย วิธี Duncan ' S New Multiple Range Test

* *ข้อมูลถูกแปลงค่าด้วย Square root X + 0.5 ก่อนวิเคราะห์ผลทางสถิติ

2171

ทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวในมะเขือเทศโดยใช้กับถาดเพาะชำ ราดทางดินและรองก้นหลุมในแปลงทดสอบ

Field Trial on Effectiveness of Some Insecticides for Controlling Whitefly; *Bemisia tabaci* Gennadius on Tomato By Seedling Tray, Soil Drenching or Soil Treatment

สุเทพ สหายา[1/] บุญทิวา วาทิรอยรัมย์[2/] พวงผกา อ่างมณี[1/]

[1/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา [2/]กลุ่มบริหารโครงการวิจัย สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

.....

รายงานความก้าวหน้า

การทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดแมลงแมลงหวี่ขาวในมะเขือเทศโดยวิธีการใช้กับกระบะเพาะชำ ราดทางดิน หรือรองก้นหลุมก่อนย้ายกล้า ดำเนินการที่แปลงเกษตรกร อำเภอลาดหลุมแก้ว จังหวัดปทุมธานี ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 – กันยายน 2555 ในปี 2554 ทดสอบวิธีการแช่กระบะเพาะกล้า วางแผนการทดลองแบบ RCB 5 ซ้ำ 4 กรรมวิธี ได้แก่การแช่กระบะเพาะกล้ามะเขือเทศก่อนย้ายกล้าด้วยสาร imidacloprid(Provado 70%WG),thiamethoxam (Actara 25%WG), clothianidin (Dantoz 16%SG) dinotefuran (Starkle 10%WP) อัตรา 8, 8, 15, และ 30 กรัมหรือมิลลิลิตร/น้ำ 1 ลิตร ตามลำดับ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่ใช้สาร สุ่มนับจำนวนตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวและหนอนชอนใบ 10 ต้น/แปลงย่อย ตรวจนับแมลงหลังงอก 7, 14, 21, 28 และ 35 วัน ผลการทดลองมีแนวโน้มว่าการแช่กระบะเพาะกล้าด้วยสาร imidacloprid(Provado 70%WG) มีประสิทธิภาพป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวยาสูบในมะเขือเทศ ส่วนสารชนิดอื่นผลยังไม่ชัดเจน และจะทำการทดลองซ้ำในฤดูกาลปลูกปี 2555 ต่อไป

คำค้น : มะเขือเทศ แมลงหวี่ขาวยาสูบ สารฆ่าแมลง การแช่กระบะเพาะกล้า การราดโคนต้น การรองก้นหลุม

Keywords : Tomato, Tobacco whitefly, Seedling tray treatment, Soil drenching, Soil treatment

---

รหัสการทดลอง 03-04-54-02-05-01-01-54

คำนำ

ไวรัสโรคใบหงิกเหลือง (tomato yellow leaf curl geminivirus, TYLCV) เป็นไวรัสมี่สำคัญที่ก่อให้เกิดโรคในมะเขือเทศ โดยมีอาการใบหงิกม้วนงอ ใบยอดมีขนาดเล็กและมีสีเหลือง เชื้อไวรัสใบหงิกเหลืองมีแมลงหวี่ขาวยาสูบ (tobacco whitefly, *Bemisia tabaci* (Gennadius) เป็นพาหะ โดยแมลงหวี่ขาวจะได้รับเชื้อไวรัสจากการดูดกินต้นมะเขือเทศที่เป็นโรคนาน 5 – 10 นาที หลังจากนั้นเชื้อจะมีระยะพักตัวในแมลงหวี่ขาวประมาณ 10 ชั่วโมง จากนั้นแมลงหวี่ขาวจึงจะถ่ายทอดเชื้อไวรัสไปสู่ต้นมะเขือเทศต้นอื่น โดยใช้เวลาดูดกิน 5 – 10 นาที เช่นเดียวกับการได้รับเชื้อ แมลงหวี่ขาวสามารถบินได้ไกลโดยเฉพาะไปตามลม นอกจากนี้ยังสามารถติดไปกับชิ้นส่วนของพืช หรือติดไปกับมนุษย์ ไวรัสโรคใบหงิกเหลืองไม่สามารถถ่ายทอดเชื้อโดยวิธีกล หรือติดไปกับเมล็ดได้ แต่มีพืชอาศัยมากมายโดยเฉพาะพืชในตระกูล Solanaceae (พริก มะเขือเทศ ยาสูบ) พืชตระกูลถั่ว วัชพืชหลายชนิด ซึ่งพืชหลายชนิดอาจไม่แสดงอาการของเชื้อไวรัส (Henderson , 2009) วิธีการป้องกันกำจัดโรคไวรัสโรคใบหงิกเหลือง ต้องใช้วิธีการผสมผสาน เช่น วิธีกล(เก็บต้นเป็นโรค และพืชอาศัยทำลาย) และการป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาว ปัจจุบันกรมวิชาการเกษตรมีคำแนะนำในการป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวยาสูบในมะเขือเทศโดยวิธีพ่นสารทางใบด้วยสารเคมีหลายชนิด เช่น carbosulfan, imidacloprid, fipronil, bifenthrin หรือการรองก้นหลุมด้วยสาร carbofuran และ carbofuran (กลุ่มกีฏและสัตววิทยา, 2551) แต่ปัจจุบันมีสารหลายชนิดที่มีคุณสมบัติดูดซึมได้ทางรากพืช ซึ่งในหลายประเทศมีการใช้ในรูปแบบการใช้ทางดินทั้งคลุกเมล็ด (seed treatment) หรือใช้ทางดิน (soil treatment) โดยเฉพาะสารในกลุ่ม neonicotinoids เช่น thiamethoxam, imidacloprid, dinotefuran, acetamiprid และ clothianidin ดังนั้นจึงทำการวิจัยวิธีการใช้สารดังกล่าวป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวโดยวิธีการใช้กับถาดเพาะกล้า หรือราดทางดินบริเวณโคนต้น ซึ่งวิธีการดังกล่าวนอกจากจะมีประสิทธิภาพแล้ว ยังมีผลกระทบน้อยต่อเกษตรกร และศัตรูธรรมชาติอีกด้วย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. กล้ามะเขือเทศที่เพาะในกระบะเพาะกล้า 200 ต้น/กระบะ
2. สารป้องกันกำจัดแมลง ได้แก่ imidacloprid(Provado 70%WG), clothianidin (Dantoz 16%SG) dinotefuran(Starkle 10%WP) และ thiamethoxam (Actara 25%WG)
3. เครื่องชั่งละเอียด กระบอกตวงสาร และกระบะพลาสติกขนาด 20 x 40 x 5 นิ้ว

4. ไม้หลักและป้ายสำหรับทำเครื่องหมายแปลงทดลอง

วิธีการ

แบบการวิจัย วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี คือการแช่กระบะเพาะกล้าด้วยสารฆ่าแมลงชนิดต่าง ๆ ดังนี้

1. imidacloprid 70 % WG	อัตรา 8 กรัม/น้ำ 1 ลิตร
2. thiamethoxam 25% WG	อัตรา 8 กรัม/น้ำ 1 ลิตร
3. clothianidin 16%SG	อัตรา 15 กรัม/น้ำ 1 ลิตร
4. dinotefuran 10%WP	อัตรา 30 กรัม/น้ำ 1 ลิตร
5. ไม่ใช้สารฆ่าแมลง (แช่น้ำเปล่า)	

เริ่มทำการทดลองก่อนย้ายกล้ามะเขือเทศ ผสมสารตามกรรมวิธีแล้วแช่กระบะเพาะกล้าโดยให้สารละลายท่วมบริเวณส่วนราก นาน 30 นาที แล้วปลูกขนาดแปลงย่อย 4 x 4 เมตรระยะระหว่างต้นและแถว 0.50 x 1.00 เมตร จำนวน 20 แปลงย่อย ทำการตรวจนับแมลงหวี่ขาว และแมลงชนิดอื่น โดยวิธีสุ่มนับจากมะเขือเทศ แปลงย่อยละ 10 ต้น ไม่ตรวจนับแถวริม ทำการตรวจนับแมลงหลังงอก 7, 14, 21, 28 และ 35 วัน

การบันทึกข้อมูล บันทึกจำนวนแมลงที่พบแต่ละกรรมวิธี บันทึกผลกระทบของสารทดลองที่มีต่อต้นมะเขือเทศ (phytotoxicity) บันทึกจำนวนต้นเก็บเกี่ยว และจำนวนต้นเป็นโรคใบหงิก เปรียบเทียบผลการทดลองพ่นสารตามกรรมวิธีต่างๆ โดยวิเคราะห์ผลทางสถิติจำนวนแมลงในแต่ละครั้งที่ตรวจนับด้วยโปรแกรม IRRISTAT โดยแปลงค่าข้อมูลจำนวนแมลงที่ตรวจนับได้ ด้วยค่า sqaure root (x + 0.5) ก่อนวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ระยะเวลาและสถานที่ดำเนินการ เริ่มต้น ตุลาคม 2553 สิ้นสุด กันยายน 2555 ที่แปลงเกษตรกร อ.ลาดหลุมแก้ว จ.ปทุมธานี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลอง ปี 2554

จำนวนตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาว (ตารางที่ 1)

หลังย้ายกล้า 7วัน พบจำนวนตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวในกรรมวิธีใช้สาร imidacloprid 70%WG เฉลี่ย 0.25 ตัว/10 ต้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีการใช้สารวิธีการอื่น แต่น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สารที่พบเฉลี่ย 3.00 ตัว/10 ต้น การใช้สาร thiamethoxam 25%WG, clothianidin 16%SG และ dinotefuran 10%WP พบเฉลี่ย 1.50, 0.75 และ 0.75 ตัว/10 ต้น ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สาร

หลังย้ายกล้า 14 วัน พบจำนวนตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวในกรรมวิธีใช้สาร imidacloprid 70%WG และ clothianidin 16%SG เฉลี่ย 0.50 และ 1.50 ตัว/10 ต้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีการใช้สารวิธีการอื่น แต่น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สารที่พบเฉลี่ย 3.50 ตัว/10 ต้น การใช้สาร thiamethoxam 25%WG, และ dinotefuran 10%WP พบเฉลี่ย 2.75 และ 2.50 ตัว/10 ต้น ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สาร

หลังย้ายกล้า 21 วัน กรรมวิธีที่มีการใช้สารพบจำนวนตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวเฉลี่ย 8.50-19.75 ตัว/10 ต้น น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สารที่พบเฉลี่ย 24.50 ตัว/10 ต้น การใช้สาร imidacloprid 70%WG พบแมลงหวี่ขาวน้อยที่สุดเฉลี่ย 8.50 ตัว/10 ต้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการใช้สาร dinotefuran 10%WP ที่พบเฉลี่ย 15.00 ตัว/10 ต้น การใช้สาร thiamethoxam 25%WG, และ clothianidin 16%SG พบเฉลี่ย 19.75 และ 18.75 ตัว/10 ต้น ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีใช้สาร dinotefuran 10%WP แต่มากกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับการใช้สาร imidacloprid 70%WG

หลังย้ายกล้า 28 วัน พบจำนวนตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวในกรรมวิธีใช้สาร imidacloprid 70%WG และ dinotefuran 10%WP เฉลี่ย 1.50 และ 3.25 ตัว/10 ต้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีการใช้สารวิธีการอื่น แต่น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สารที่พบเฉลี่ย 8.75 ตัว/10 ต้น การใช้สาร thiamethoxam 25%WG และ clothianidin 16%SG พบเฉลี่ย 4.25 และ 4.00 ตัว/10 ต้น ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สาร

หลังย้ายกล้า 35 วัน พบจำนวนตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวในกรรมวิธีต่างๆ ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ

จำนวนต้นเก็บเกี่ยว (ตารางที่ 1)

การใช้สาร thiamethoxam 25%WG มีจำนวนต้นเก็บเกี่ยวมากที่สุดเฉลี่ย 30.75 ต้น/16 ตารางเมตร รองลงมาคือ imidacloprid 70%WG และ dinotefuran 10%WP ซึ่งมีจำนวนต้นเก็บเกี่ยวเฉลี่ย 25.50 และ 25.25 ต้น/16 ตารางเมตร ตามลำดับ ทั้ง 3 กรรมวิธีดังกล่าวข้างต้น มีจำนวนต้นเก็บเกี่ยวมากกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับการไม่ใช้สาร การใช้สาร clothianidin 16%SG มีจำนวนต้นเก็บเกี่ยว

เพียง 14.50 ต้น/16 ตารางเมตร ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สารที่มีจำนวนต้นเก็บเกี่ยว 17.75 ต้น/16 ตารางเมตร

จำนวนต้นเป็นโรคใบหงิก (ตารางที่ 1)

กรรมวิธีที่มีไม่ใช้สารพบต้นเป็นโรคใบหงิกมากที่สุดเฉลี่ย 18.50 ต้น/16 ตารางเมตร มากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่มีการใช้สาร การใช้สาร clothianidin 16%SG มีจำนวนต้นเป็นโรคใบหงิกน้อยที่สุดเฉลี่ย 6.75 ต้น/16 ตารางเมตร รองลงมาคือ การใช้สาร imidacloprid 70%WG และ dinotefuran 10%WP เฉลี่ย 7.00 และ 9.25 ต้น/16 ตารางเมตร ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ การใช้สาร thiamethoxam 25%WG พบต้นเป็นโรคใบหงิกเฉลี่ย 14.50 ต้น/16 ตารางเมตร ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการใช้สาร dinotefuran 10%WP แต่มากกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับการใช้สาร clothianidin 16%SG และ imidacloprid 70%WG

การทดลองในปี 2554 พบการระบาดของแมลงหวี่ขาวค่อนข้างน้อยทำให้สารที่มีแนวโน้มในการป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวในมะเขือเทศโดยวิธีแช่กระบะเพาะกล้า และลดการเป็นโรคใบหงิกได้คือ การใช้สาร imidacloprid 70%WG ส่วนวิธีการอื่นๆ ผลยังไม่ชัดเจน ควรทำการทดลองซ้ำ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

-

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นางประไม จำปาเงิน นางสาวกัญญาภัค ตาแก้วและนางสาววีณา ทิพย์สุขุม ที่ช่วยดำเนินการทดลองและรวบรวมข้อมูลจนผลงานสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ตารางที่ 1 จำนวนแมลงหวี่ขาวบนต้นมะเขือเทศ จำนวนต้นเก็บเกี่ยว ต้นเป็นโรคใบหงิกจากการทดลองแช่ถาดเพาะกล้าด้วยสารฆ่าแมลง ที่ อ.ลาดหลุมแก้ว จ.ปทุมธานี ปี 2554

กรรมวิธี	อัตราการใช้ (กรัม/น้ำ 1 ลิตร	จำนวนตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาว (ตัว/10 ต้น)					จำนวนต้นเก็บเกี่ยว (ต้น/16 ตรม.)	จำนวนต้นเป็นโรคใบหงิก (ต้น/แปลงย่อย)
		หลังย้ายกล้า (วัน)						
		7	14	21	28	35		
Imidacloprid 70%WG	8	0.25 a	0.50 a	8.50 a	1.50 a	1.25	25.50 ab	7.00 a
Thiamethoxam 25%WG	8	1.50 ab	2.75 ab	19.75 b	4.25 ab	1.00	30.75 a	14.50 b
Clothianidin 16%SG	16	0.75 ab	1.50 a	18.75 b	4.00 ab	2.00	14.50 c	6.75 a
Dinotefuran 10%WP	30	0.75 ab	2.50 ab	15.00 ab	3.25 a	1.25	25.25 ab	9.25 ab
ไม่ใช้สาร	-	3.00 b	3.50 b	24.50 c	8.75 b	0.75	17.75 c	18.50 c
CV (%)		119.3	114.1	35.4	67.4	46.8	23.0	54.0

1/ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % วิเคราะห์โดย วิธี Duncan ' S New Multiple Range Test

2177

วิจัยและพัฒนาการผลิตขยายไส้เดือนฝอย *Steinernema glaseri* เพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืช

สาทิพย์ มาลี วิไลวรรณ เวชยันต์

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ศึกษาปริมาณ inoculum ไส้เดือนฝอยที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงไส้เดือนฝอย *Steinernema glaseri* ด้วยหนอนกินรังผึ้ง โดยใช้ปริมาณ inoculum ไส้เดือนฝอย *Steinernema glaseri* 3,000 2,000 1,000 200 100 และ 10 ตัว/น้ำ 0.4 มล.ตัว ในสภาพอุณหภูมิห้อง พบว่าการใช้ปริมาณ inoculum ไส้เดือนฝอย 2,000 ตัวต่อหนอน 10 ตัว จะได้ปริมาณไส้เดือนฝอย *S. glaseri* ระยะเข้าทำลายแมลงมากที่สุด

คำนำ

“การควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี” เป็นทางเลือกที่สำคัญในการจัดการศัตรูพืชโดยวิธีผสมผสาน (IPM) ซึ่งมีองค์ประกอบของเทคโนโลยีหลายประการ หลักการสำคัญประกอบด้วยการอนุรักษ์ชีวินทรีย์ (Bio-agents) ได้แก่ ตัวห้ำ ตัวเบียน จุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ และไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง ไว้ให้มากที่สุดเพื่อรักษาสมดุลในธรรมชาติ นอกจากนั้นยังสามารถทำได้โดยวิธีการนำชีวินทรีย์ชนิดต่าง ๆ เหล่านี้เพาะเลี้ยงและผลิตขยายให้ได้ปริมาณมาก และนำไปใช้ควบคุมศัตรูพืชโดยตรง หรือใช้ร่วมกันกับสารเคมีที่เหมาะสม จะสามารถควบคุมศัตรูพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพและยั่งยืน หากมีการจัดการที่ดีและถูกต้อง ชีวินทรีย์ชนิดต่าง ๆ เหล่านี้นับเป็นทรัพยากรธรรมชาติที่มีอยู่แล้วในธรรมชาติ การวิจัยและพัฒนาเพื่อใช้ประโยชน์จากชีวินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในเวลาที่เหมาะสม จะสามารถเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร ไม่มีพิษตกค้างในผลผลิต และไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม หากบรรลุตามเป้าหมายที่วางไว้จะสามารถนำมาใช้ทดแทนการใช้สารเคมีที่ต้องนำเข้ามาจากต่างประเทศ รวมทั้งเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับทรัพยากรธรรมชาติด้วย

การผลิตขยายและการนำชีวินทรีย์ชนิดต่าง ๆ มาใช้ประโยชน์เป็นงานวิจัยและพัฒนาที่ต้องอาศัยข้อมูลพื้นฐานที่ได้จากการศึกษาชีวินทรีย์ทั้งที่มีอยู่ในประเทศ หรือชนิดใหม่ๆ ที่นำเข้าจากต่างประเทศ ต้องวิจัยพัฒนาขบวนการที่เหมาะสมในการผลิตและการนำไปใช้ประโยชน์ในสภาพไร่ หากพบว่ามีศักยภาพที่สามารถนำมาผลิตขยายให้ได้ปริมาณมาก มีรูปแบบการผลิตที่เป็นระบบที่สามารถ

รหัสการทดลอง 03-04-54-01-02-04-03-54

ผลิตได้อย่างต่อเนื่อง จะต้องมีการศึกษาประสิทธิภาพ อัตราการใช้ เวลาที่เหมาะสม ตลอดจนมีบรรจุภัณฑ์ที่สามารถรักษาคุณภาพชีวินทรีย์ที่ผลิตได้ และนำไปใช้ได้สะดวก และ เป็นงานวิจัยที่ต้องเร่งวิจัยอย่างครบวงจร เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ชีวินทรีย์ที่ดี มีคุณภาพ สามารถนำไปใช้ควบคุมศัตรูพืชได้ดี

ไส้เดือนฝอยในวงศ์ Steinernematidae และ Heterorhabditidae เป็นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง ที่มีศักยภาพสูงในการควบคุมแมลงศัตรูพืชได้หลายชนิด โดยเฉพาะแมลงที่อาศัยในดินหรือที่ที่มีสภาพแวดล้อมเหมาะสม (Poinar, 1979; Kaya, 1995; Klein, 1990) ในประเทศไทย วัชรี (2544)ได้รายงานความก้าวหน้าการวิจัยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง โดยนำไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ไปทดสอบควบคุมหนอนกินใต้ผิวเปลือกลองกอง ลางสาด ตัวอ่อนหนอนด้วงหมัดผักในผักกาดหัว ด้วงงวงมันเทศ และหนอนกระทู้หอมในดาวเรือง (2534ก,2534ข, 2537,2539) รวมทั้งได้พัฒนานาเทคโนโลยีการผลิตไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ด้วยอาหารเหลวในระดับการค้า จนสามารถถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่ภาคเอกชนเพื่อผลิตเป็นการค้าไปแล้ว นอกจาก ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* แล้ว ยังมีไส้เดือนฝอยอีกหลายชนิด เช่น *S. glaseri* *S. riobrave* และ *S. siamkayai* ที่มีศักยภาพในการควบคุมแมลงศัตรูพืช แต่ขาดข้อมูลพื้นฐานทางชีววิทยา นิเวศวิทยา และปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงชนิดนั้นๆ เพื่อนำไปสู่การผลิตขยายให้มีปริมาณมาก รวมทั้งเทคนิคการใช้ไส้เดือนฝอยจนสามารถพัฒนาเป็นสารชีวภัณฑ์ทดแทนหรือลดลงการใช้สารเคมีทางการเกษตรต่อไป

ไส้เดือนฝอย *S. glaseri* เป็นไส้เดือนฝอยอีกชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพในการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยเฉพาะแมลงศัตรูพืชในอันดับ coleoptera ในประเทศไทยในปัจจุบันยังไม่ได้มีการศึกษาอย่างจริงจัง โดยเฉพาะการผลิตขยายยังดำเนินการได้ไม่เต็มที่ เนื่องจากยังขาดข้อมูลสนับสนุนในหลายๆ ด้าน ดังนั้นจึงต้องศึกษาข้อมูลพื้นฐานต่างๆของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* เพื่อนำไปการผลิตขยายให้มีปริมาณมากและพัฒนาเป็นสารชีวภัณฑ์ทดแทนหรือลดลงการใช้สารเคมีทางการเกษตรต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1.ไส้เดือนฝอย *Steinernema glaseri*

2.หนอนกินรังผึ้ง *Galleria mellonella* วัย 5-6

3.กระดาษกรอง

4.จานพลาสติกขนาด 9 เซ็นติเมตร

5.ผ้ากรอง

วิธีการ

การทดลองย่อยที่ 1 ศึกษาการผลิตขยายไส้เดือนฝอย *Steinernema glaseri* ด้วยแมลงอาศัย

1.ศึกษาปริมาณ inoculum ไส้เดือนฝอยที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงไส้เดือนฝอย *Steinernema glaseri* ด้วยแมลงอาศัย

-นำไส้เดือนฝอย *Steinernema glaseri* 3 ระยะเข้าทำลายแมลง มาเจือจางในน้ำกลั่นอบนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ให้ได้อัตราความหนาแน่นประมาณ 3000 2000 1000 200 100 และ 10 ตัว/น้ำ 0.4 มล. หยดลงบนกระดาษกรองในจานพลาสติก

-จากนั้นนำหนอนกินรังผึ้ง *Galleria mellonella* (วัย 5 - 6) ที่เลี้ยงด้วยอาหารเทียม ในห้องปฏิบัติการ จำนวน 10 ตัว ปล่อยลงไปในจานพลาสติกที่หยดไส้เดือนฝอยแล้ว ปิดฝานำเก็บที่อุณหภูมิ 25°ซ

-หลังจากนั้น 24-48 ชั่วโมง หนอนจะตาย จึงเก็บหนอนมาล้างด้วยน้ำสะอาด

-นำซากหนอนเหล่านั้น มาวางบนจานแก้วปูด้วยผ้ากรอง

-นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 °ซ ทิ้งไว้ประมาณ 7-10 วัน ไส้เดือนฝอยจะเจริญเติบโต อยู่ภายในตัวหนอนจนกระทั่งพัฒนาเป็นไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลายแมลง (IJ) จึงออกจากซากหนอนลงสู่น้ำที่หล่อไว้

-ทำการเก็บไส้เดือนฝอยที่ได้จากน้ำที่หล่อไว้นั้น โดยเทเก็บวันเว้นวันใส่ในภาชนะ และเติมน้ำสะอาดหล่อไว้ใหม่จนซากหนอนแห้ง ประมาณ 4-5 ครั้ง

บันทึกผล

- ปริมาณหนอนที่ตายในแต่ละอัตราความหนาแน่น
- ปริมาณไส้เดือนฝอยที่ผลิตได้จากหนอน1 ตัว
- คุณภาพของไส้เดือนฝอยที่ผลิตได้ในแต่ละความหนาแน่น

การทดลองย่อยที่ 2 ศึกษาการผลิตขยายไส้เดือนฝอย *Steinernema glaseri* ด้วยอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลว

-ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงไส้เดือนฝอย *Steinernema glaseri* ด้วยอาหารอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลว

เลี้ยงไส้เดือยฝอย *Steinernema glaseri* ด้วยอาหารอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลว โดยใช้สูตรอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลวที่ใช้เลี้ยงไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* และวิธีการเลี้ยงของวัชรี (2544)

บันทึกผล

- ปริมาณไส้เดือนฝอยที่ผลิตได้
- คุณภาพของไส้เดือนฝอยที่ผลิตได้ในแต่รอบการผลิต
- ข้อมูลต้นทุนการผลิต

-ศึกษาปริมาณ inoculum ไส้เดือนฝอยและแบคทีเรียต่อการเลี้ยงไส้เดือนฝอย *Steinernema glaseri* ด้วยอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลว

เลี้ยงไส้เดือยฝอย *Steinernema glaseri* ด้วยอาหารอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลว โดยใช้สูตรอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลวที่ใช้เลี้ยงไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* วัชรี (2544) โดยใช้ปริมาณ inoculum ไส้เดือนฝอยและแบคทีเรียในอัตราต่างๆ กัน

บันทึกผล

- ปริมาณไส้เดือนฝอยที่ผลิตได้
- คุณภาพของไส้เดือนฝอยที่ผลิตได้ในแต่รอบการผลิต
- ข้อมูลต้นทุนการผลิต

-ศึกษาผลของแบคทีเรียร่วมอาศัยต่อการเลี้ยงไส้เดือนฝอย *Steinernema glaseri* ด้วยอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลว

เลี้ยงไส้เดือยฝอย *Steinernema glaseri* ด้วยอาหารอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลว โดยใช้สูตรอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลวโดยเปรียบเทียบผลของการใส่และไม่ใส่แบคทีเรียร่วมอาศัยในอาหาร

บันทึกผล

- ปริมาณไส้เดือนฝอยที่ผลิตได้
- คุณภาพของไส้เดือนฝอยที่ผลิตได้ในแต่รอบการผลิต
- ข้อมูลต้นทุนการผลิต

การทดลองย่อยที่ 3 ศึกษาการผลิตขยายไส้เดือนฝอย *Steinernema glaseri* ด้วยอาหารเหลวในระดับขวดเขย่า

-ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงไส้เดือนฝอย *Steinernema glaseri* ด้วยอาหารเหลวในระดับขวดเขย่า

เลี้ยงไส้เดือยฝอย *Steinernema glaseri* ด้วยอาหารอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลว โดยใช้สูตรอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* และวิธีการเลี้ยงของวัชรี (2544)

บันทึกผล

- ปริมาณไส้เดือนฝอยที่ผลิตได้
- คุณภาพของไส้เดือนฝอยที่ผลิตได้ในแต่รอบการผลิต
- ข้อมูลต้นทุนการผลิต

-ศึกษาผลของปริมาณ inoculum ไส้เดือนฝอยและแบคทีเรียต่อการเลี้ยงไส้เดือนฝอย *Steinernema glaseri* ด้วยอาหารเหลวในระดับขวดเขย่า

เลี้ยงไส้เดือยฝอย *Steinernema glaseri* ด้วยอาหารอาหารเหลว โดยใช้สูตรอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* วัชรี (2544) โดยใช้ปริมาณ inoculum ไส้เดือนฝอยและแบคทีเรียในอัตราต่างๆ กัน

บันทึกผล

- ปริมาณไส้เดือนฝอยที่ผลิตได้
- คุณภาพของไส้เดือนฝอยที่ผลิตได้ในแต่รอบการผลิต
- ข้อมูลต้นทุนการผลิต

-ศึกษาผลของแบคทีเรียร่วมอาศัยต่อการเลี้ยงไส้เดือนฝอย *Steinernema glaseri* ด้วยอาหารเหลวในระดับขวดเขย่า

เลี้ยงไส้เดือยฝอย *Steinernema glaseri* ด้วยอาหารอาหารเหลว โดยเปรียบเทียบผลของการใส่และไม่ใส่แบคทีเรียร่วมอาศัยในอาหาร

บันทึกผล

- ปริมาณไส้เดือนฝอยที่ผลิตได้
- คุณภาพของไส้เดือนฝอยที่ผลิตได้ในแต่รอบการผลิต
- ข้อมูลต้นทุนการผลิต

ระยะเวลาและสถานที่ดำเนินการการทดลอง

-เริ่มต้น ตุลาคม 2554 สิ้นสุด กันยายน 2558

-ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1.ศึกษาปริมาณ inoculum ไส้เดือนฝอยที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงไส้เดือนฝอย *Steinernema glaseri* ด้วยแมลงอาศัย

นำไส้เดือนฝอย *Steinernema glaseri* ระยะเข้าทำลายแมลง มาเจือจางในน้ำกลั่นอบนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ให้ได้อัตราความหนาแน่นประมาณ 3,000 2,000 1,000 200 100 และ 10 ตัว/น้ำ 0.4 มล. หยดลงบนกระดาษกรองในจานพลาสติกจากนั้นนำหนอนกินรังผึ้ง *Galleria mellonella* (วัย 5 - 6) ที่เลี้ยงด้วยอาหารเทียม ในห้องปฏิบัติการ จำนวน 10 ตัว ปล่อยลงไปในจานพลาสติกที่หยดไส้เดือนฝอยแล้ว ปิดฝานำเก็บที่อุณหภูมิ 25°ซ นาน 48 ชั่วโมง หนอนจะตาย ลักษณะการตายของหนอนกินรังผึ้งด้วย ไส้เดือยฝอย *S.glaseri* นั้น ลำตัวจะเป็นสีดำ นิ่ม ไม่เละ จากการตรวจนับการตายของหนอนกินรังผึ้งในแต่ละความเข้มข้น พบว่าที่อัตราความหนาแน่นของไส้เดือนฝอย *S.glaseri* 2,000 ตัว มีเปอร์เซ็นต์หนอนกินรังผึ้งตายสูงที่สุด 84.20 % รองลงมาได้แก่ อัตราความหนาแน่น 3,000 1,000 200 100 ตัว มีเปอร์เซ็นต์หนอนกินรังผึ้งตาย 70.40 51.25 16.31 และ 11.17 % ตามลำดับ ส่วนการใช้ไส้เดือนฝอย *S.glaseri* 10 ตัว ไม่พบการตายของกินรังผึ้งแต่อย่างใด ปริมาณไส้เดือนฝอยที่ได้จากหนอนกินรังผึ้งที่ตายในแต่ละอัตราความหนาแน่นนั้นอยู่ระหว่าง 5,250-6,500 ตัวต่อหนอนกินรังผึ้ง 1 ตัว (ตารางที่ 1)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การเลี้ยงไส้เดือนฝอย *Steinernema glaseri* ด้วยหนอนกินรังผึ้ง โดยใช้ปริมาณ inoculum ไส้เดือนฝอย *Steinernema glaseri* 2,000 ตัว/น้ำ 0.4 มล.ตัว ตัวต่อหนอน 10 ตัว ในสภาพอุณหภูมิห้อง จะได้ปริมาณไส้เดือนฝอย *S. glaseri* ระยะเข้าทำลายแมลง(IJ) มากที่สุด

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูผักไม้ดอกและไม้ประดับ. 2542. แมลงศัตรูผัก. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 97 หน้า.

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

วัชรี สมสุข และ วิไลวรรณ เวชยันต์. 2547. ประสิทธิภาพการเข้าทำลายหนอนผีเสื้อของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง. ใน การประชุมวิชาการประจำปี 2547 ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ. 22-25 มิถุนายน 2547 ณ โรงแรมโนโวเทล โคลาเรีย ริมเพ อ.แกลง จ.ระยอง.

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

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

วัชรี สมสุข, อัจฉรา ตันติโชดก และอุทัย เกตุนุติ. 2529. ไส้เดือนฝอยควบคุมหนอนกินใต้ผิวเปลือกไม้สกุลลางสาด. *ว. กีฏ. สัตว์.* 8(3): 115-119.

Cabanillas, H.E., Poinar, G.O., Raulason, J.R. 1994. *Steinernema riobravis* n. sp. (Rhabditida : Steinernematidae) from Texas. Fundam. Appl. Nematol; 17 (2), 123-131.

Dutky, S.R., J.V. Thomson and G.W. Cantwell. 1964. Technique for the propagation of the DD-136 nematode. Journal of Insect Pathology 6 ; 417-422.

Friendman, M.J. 1990. Commercial production and development, pp. 153-173. *In*: Gaugler, R.A., and Kaya, H.K. (eds.) Entomopathogenic Nematodes in Biological control. Boca Raton, Florida CRC Press

Goodey, J.B. 1963. Laboratory Methods for Work with Plant and Soil Nematodes. Tech. Bull. No. 2. Her Majesty^s Stationary Office, London. 72 p.

Grewal. P.S. and P.N. Richardson. 1993. Effect of application rate of *Steinernema feltiae* (Nematoda : Steinernematidae) on control of the mushroom sciarid fly *Lycoriella auripila.* Biocontrol Science and Technology 3:29-40

Grewal. P.S. and P.N. Richardson. 1993. Effect of application rate of *Steinernema feltiae* (Nematoda : Steinernematidae) on control of the mushroom sciarid fly *Lycoriella auripila.* Biocontrol Science and Technology 3:29-40.

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

Grewal. P.S., P.M. Tomalak., C.B.O. Keil and Gaugler. 1993. Evaluation of generally selected strain of *Steinernema feltiae* against the mushroom *Lycoriella auripila.* sciarid. Ann. appl. Biol. 123:695-702

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

Hazir S., S.P. Stock, H. K. Kaya, A.M. Koppenhofer, and N. Keshin. 2001. Developmental temperature effects on five geographic isolates of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae). Journal of Invertebrate Pathology 77 : 243-250.

Kaya, H.K. 1990. Soil ecology, pp. 93-111 *In*: Gaugler, R.A., and Kaya, H.K. (eds.) Entomopathogenic Nematodes in Biological control. Boca Raton, Florida CRC Press.

Kerry, B.R. 1987. Biological Control. pp. 233-263. *In* R.H. Brown and B.R. Kerry. (eds.). Principle and Practice of Nematode Control in Crop. Academic Press, Sydney.

Klein, Michael. G., 1990. Efficacy against soil-inhabiting insect pest. , pp. 195-210. *In*: Gaugler, R.A., and Kaya, H.K. (eds.) Entomopathogenic Nematodes in Biological control. Boca Raton, Florida CRC Press

Kung, S.P., R. Gaugler, and H.K. Kaya. 1991. Effect of soil tempeature,moisture and rerative humidity on entomopathogenic nematode persistance. Journal of Invertebrate Pathology 57: 242-249.

Molyneux, A.S. 1985. Survival of infective juveniles of *Heterorhabditis* spp. and *Steinernema* spp. at various temperature and their subsequent infectivity for insect. Rev. Nematol. 8 : 165 – 170.

Richardson. P.N. and P.S. Grewal. 1991. Comparative assessment of biological (Nematoda: *Steinernema feltiae*) and chemical methods of control for the mushroom fly *Lycoriella auripila* (Diptera: Sciaridae). Biocontrol Science and Technology. 1:217-228.

Sasnarukkit, A., R. Gaugler and S. Sontirat. 2002. Effects of the entomopathogenic nematode,*Steinernema siamkayai* and its bacterial symbiont's metabolites on root knot nematode, *Meloidogyne incognita.* The First International Conference on Tropical and SubtropicalPlant Diseases, November 5-8, 2002. The Imperial Mae Ping Hotel, Chiang Mai, Thailand.

Stock, S.P., V. Somsook and A.P. Reed. 1998. *Steinernema siamkayai* n. sp. Rhabditida : Steinernematidae), an entomopathogenic nematode from Thailand. Systematic Parasitology 91 : 105-113.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกินรังผึ้งและปริมาณไส้เดือนฝอย *steinernema glaseri* ระยะเข้าทำลายแมลงที่ได้จากการใช้อัตรา innoculum ต่างกัน

ปริมาณ innoculum ไส้เดือนฝอย *S.glaseri*	เปอร์เซ็นต์หนอนตายด้วยไส้เดือนฝอย *S.glaseri* (%)	ปริมาณไส้เดือนฝอย *S. glaseri* ระยะ IJ ที่ได้จากหนอน 1 ตัว(ตัว)
3000 ตัว	70.40a	6,125
2000 ตัว	84.20a	6,500
1000 ตัว	51.25b	6,000
200 ตัว	16.31c	5,750
100 ตัว	11.17c	5,250
10 ตัว	0c	0

การทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* สูตรผงในการควบคุมแมลงศัตรูพืช

สาทิพย์ มาลี วิไลวรรณ เวชยันต์

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* สูตรผงในการควบคุมแมลงศัตรูพืช โดยปี 2554 ดำเนินการทดลองในมะลิ เพื่อควบคุมหนอนเจาะดอกมะลิ จากการทดสอบประสิทธิภาพไส้เดือนฝอยควบคุมหนอนเจาะดอกมะลิอัตรา 500 1000 และ 2000 ตัว/มล. ในห้องปฏิบัติการพบว่า การใช้ไส้เดือนฝอยอัตรา1000 และ 2000 ตัว/มล. หนอนเจาะดอกมะลิมีอัตราการตาย 100 เปอร์เซ็นต์ หลังทำการทดลอง24 ชั่วโมง ส่วนการใช้ไส้เดือนฝอยอัตรา 500 ตัว/มล หนอนเจาะดอกมะลิมีอัตราการตาย 100 เปอร์เซ็นต์ หลังทำการทดลอง 48 ชั่วโมง อัตราการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยบนต้นมะลิ หลังจากพ่นไส้เดือนฝอย ในสภาพโรงเรือน ที่โรงเรือนกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช พบว่าไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* สูตรผง อัตรา 50 ล้านตัวต่อน้ำ 20 ลิตร สามารถคงอยู่บนต้นมะลิได้ประมาณ 67.69 27.36 และ 6.72 เปอร์เซ็นต์หลังจากพ่นไส้เดือนฝอย 24 48 และ 72 ชั่วโมง

คำนำ

ไส้เดือนฝอยกลุ่ม *Steinernema* และ *Heterorhabditid* เป็นสิ่งมีชีวิตที่นำมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชกันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากข้อดีคือสามารถเข้าทำลายแมลงศัตรูได้หลายชนิด เช่น หนอนด้วง หนอนผีเสื้อ และหนอนแมลงวัน sciarid ในเห็ด (Gerogis and Gaugler , 1991; Grewal and Smith; 1995; Hatsukade , 1994) โดยเข้าทำลายทั้งระยะตัวอ่อน ระยะก่อนเข้าดักแด้ และระยะตัวเต็มวัยที่เพิ่งฟัก (Kaya and Arnold, 1981; Kaya and Grieve, 1982; Lindegren and Patrick,1986 ; Lindegren et *al.,*1990) แต่การนำไส้เดือนฝอยไปใช้ในสภาพไร่จะขึ้นอยู่กับชนิด พฤติกรรม และสภาพแวดล้อมโดยเฉพาะอุณหภูมิซึ่งมีผลต่อการเข้าทำลายแมลงการอยู่รอดและการพัฒนาการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอย (Georgis and Gaugler, 1991; Kaya and Gaugler,1993) ไส้เดือนฝอยสามารถเลี้ยงเพิ่มปริมาณด้วยแมลงอาศัยและอาหารเทียม

รหัสการทดลอง 03-04-54-01-02-04-04-54

ทั้งอาหารแข็งและอาหารเหลวในถังหมัก(Bedding, 1981, 1984; Buecher and Popiel,1989; Friedman, 1990) การเลี้ยงเพิ่มปริมาณด้วยอาหารเหลวมีความสะดวกที่สุด ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดและองค์ประกอบของอาหาร (Gaugler and Geogis, 1991; Yang และคณะ, 1997) ในประเทศไทย กรมวิชาการเกษตร ได้ทำการทดลองนำไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ไปควบคุมแมลงศัตรูพืชต่างๆ หลายชนิดได้เป็นผลสำเร็จคือ หนอนกินใต้ผิวเปลือกลองกอง หนอนกระทู้หอมในดาวเรือง (วัชรี และคณะ, 2537) ตัวอ่อนของด้วงหมัดผักในผักกาดหัว (วัชรี และคณะ, 2534ก.) ด้วงงวงมันเทศ (วัชรี และคณะ, 2534ข.) นอกจากนี้ยังได้มีการวิจัยและพัฒนาการเลี้ยงขยายปริมาณมากด้วยอาหารเทียม ทั้งชนิดกึ่งแข็งกึ่งเหลว (วัชรี และพิมลพร, 2535; วัชรี และคณะ, 2539) และอาหารเหลว (วัชรี และสุทธิชัย, 2544)

จากการที่ได้พัฒนานาเทคโนโลยีการผลิตไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ด้วยอาหารเหลวในระดับการค้า จนสามารถถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่ภาคเอกชนเพื่อผลิตเป็นการค้าและพัฒนารูปแบบการเก็บรักษาให้อยู่ในรูปแบบผง เพื่อสะดวกในการนำไปใช้แล้วนั้น จึงทำการศึกษาประสิทธิภาพและเทคนิควิธีการใช้ไส้เดือนฝอยในการควบคุมแมลงศัตรูพืชที่สำคัญอื่นๆ เพื่อนำไปสู่การนำไปใช้ให้แพร่หลายมากขึ้น ซึ่งจะทำให้สามารถลดการใช้สารเคมีทางการเกษตรลงได้ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1.ต้นมะลิ

2.หนอนเจาะดอกมะลิ *Hendecasis duplifascialis*

3.ไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* สูตรผง

4.ถังพ่นสารกำจัดศัตรูพืช

5.จานพลาสติก

6.กระดาษกรอง

วิธีการ

การทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* สูตรผงในการควบคุมแมลงศัตรูพืช

การทดลองย่อยที่ 1. ทดสอบประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* สูตรผงในการควบคุมหนอนเจาะดอกมะลิ

-ทดสอบประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยในการเข้าทำลายหนอนเจาะดอกมะลิ ในห้องปฏิบัติการ

นำไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* ระยะเข้าทำลายแมลง มาเจือจางในน้ำกลั่นอบนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ให้ได้อัตราความหนาแน่นประมาณ 500 1000 และ 2000 ตัว/น้ำ 1 มล. หยดลงบนกระดาษกรองในจานพลาสติกจากนั้นนำหนอนเจาะดอกมะลิ จำนวน 20 ตัว ปล่อยลงไปในจานพลาสติกที่หยดไส้เดือนฝอยแล้ว ปิดฝานำเก็บที่อุณหภูมิ 25°ซหลังจากนั้น 24-48 ชั่วโมง บันทึกผลปริมาณหนอนที่ตายในแต่ละอัตราความหนาแน่น

-ทดสอบอัตราการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยบนต้นมะลิ หลังจากพ่นไส้เดือนฝอย ในสภาพโรงเรือน

ปลูกมะลิในกระถางกระถางละ 3 ต้น จนมะลิเริ่มออกช่อดอก ทำการพ่นไส้เดือยฝอยสูตรผงอัตรา 50 ล้านตัวต่อน้ำ 20 ลิตร เก็บช่อดอกมะลิจำนวน 10 ช่อดอก มาตรวจนับปริมาณไส้เดือนฝอยหลังจากพ่น 1 2 และ3 วัน บันทึกจำนวนไส้เดือนฝอยที่ยังมีชีวิตอยู่

-ทดสอบประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* สูตรผงในการควบคุมหนอนเจาะดอกมะลิในสภาพไร่

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 พ่นไส้เดือยฝอยสูตรผงอัตรา 10 ล้านตัวต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 พ่นไส้เดือยฝอยสูตรผงอัตรา 20 ล้านตัวต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 พ่นไส้เดือยฝอยสูตรผงอัตรา 40 ล้านตัวต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 พ่นไส้เดือยฝอยสูตรผงอัตรา 50 ล้านตัวต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 ไม่ควบคุมศัตรูพืช(control)

พ่นไส้เดือนฝอย ในแปลงปลูกมะลิอัตราความเข้มข้นต่างๆ ตามกรรมวิธีที่กำหนด โดยพ่นในระยะที่มะลิติดดอก จำนวน 5 ครั้ง ตรวจนับปริมาณหนอนที่พบทั้งก่อนและหลังพ่นไส้เดือนฝอยในแต่กรรมวิธีเพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติ

การบันทึกผลการทดลอง

-บันทึกจำนวนแมลงที่พบทั้งก่อนและหลังพ่นไส้เดือนฝอย

-บันทึกผลกระทบต่อพืชทดลอง

-บันทึกผลกระทบต่อศัตรูพืชอื่น

-บันทึกผลกระทบต่อแมลงศัตรูธรรมชาติ

การทดลองย่อยที่ 2 ทดสอบประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* สูตรผงในการควบคุมด้วงหมัดผักในผักกาดหัวหรือพืชตระกูลกะหล่ำ

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 พ่นไส้เดือยฝอยสูตรผงอัตรา 20 ล้านตัวต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 พ่นไส้เดือยฝอยสูตรผงอัตรา 40 ล้านตัวต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 พ่นไส้เดือยฝอยชนิดบรรจุในชิ้นฟองน้ำอัตรา 40 ล้านตัวต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 พ่นไส้เดือยฝอยสูตรผงอัตรา 50 ล้านตัวต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 ไม่ควบคุมศัตรูพืช(control)

พ่นไส้เดือนฝอย ในแปลงปลูกเมื่อผักกาดหัวอายุ 0, 10, 20 และ 30 วัน อัตราความเข้มข้นต่างๆ ตามกรรมวิธีที่กำหนด ตรวจนับปริมาณด้วงหมัดผักที่พบทั้งก่อนและหลังพ่นไส้เดือนฝอยในแต่กรรมวิธีเพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติ

การบันทึกผลการทดลอง

-บันทึกจำนวนแมลงที่พบทั้งก่อนและหลังพ่นไส้เดือนฝอย

-บันทึกผลกระทบต่อพืชทดลอง

-บันทึกผลกระทบต่อศัตรูพืชอื่น

-บันทึกผลกระทบต่อแมลงศัตรูธรรมชาติ

ระยะเวลาและสถานที่ดำเนินการการทดลอง

-เริ่มต้น ตุลาคม 2554 สิ้นสุด กันยายน 2558

-ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

-โรงเรือนกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* สูตรผงในการควบคุมแมลงศัตรูพืช ดำเนินการทดลองในมะลิเพื่อควบคุมหนอนเจาะดอกมะลิ

ทดสอบประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยในการเข้าทำลายหนอนเจาะดอกมะลิ ในห้องปฏิบัติการ

จากการทดสอบประสิทธิภาพไส้เดือนฝอยควบคุมหนอนเจาะดอกมะลิอัตรา 500 1,000 และ 2,000 ตัว/มล. ในห้องปฏิบัติการพบว่า การใช้ไส้เดือนฝอยอัตรา 1,000 และ 2,000 ตัว/มล. หนอนเจาะดอกมะลิมีอัตราการตาย 100 เปอร์เซ็นต์ หลังทำการทดลอง24 ชั่วโมง ส่วนการใช้ไส้เดือนฝอย

อัตรา 500 ตัว/มล หนอนเจาะดอกมะลิมีอัตราการตาย 100 เปอร์เซ็นต์ หลังทำการทดลอง 48 ชั่วโมง ส่วนในกรรมวิธีไม่ใช้ไส้เดือนฝอยไม่พบการตายของหนอนเจาะดอกมะลิแต่อย่างใด (ตารางที่ 1)

ทดสอบอัตราการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยบนต้นมะลิ หลังจากพ่นไส้เดือนฝอย ในสภาพโรงเรือน

อัตราการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยบนต้นมะลิ หลังจากพ่นไส้เดือนฝอย ในสภาพโรงเรือน ที่โรงเรือนกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช พบว่าไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* สูตรผง อัตรา 50 ล้านตัวต่อน้ำ 20 ลิตร สามารถคงอยู่บนต้นมะลิได้ประมาณ 67.69 27.36 และ 6.72 เปอร์เซ็นต์หลังจากพ่นไส้เดือนฝอย 24 48 และ 72 ชั่วโมงตามลำดับ (ตารางที่2)

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูผักไม้ดอกและไม้ประดับ. 2542. แมลงศัตรูผัก. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 97 หน้า.

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

วัชรี สมสุข และ วิไลวรรณ เวชยันต์. 2547. ประสิทธิภาพการเข้าทำลายหนอนผีเสื้อของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง. ใน การประชุมวิชาการประจำปี 2547 ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ. 22-25 มิถุนายน 2547 ณ โรงแรมโนโวเทล โคลาเรีย ริมเพ อ.แกลง จ.ระยอง.

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

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

วัชรี สมสุข, อัจฉรา ตันติโชดก และอุทัย เกตุนุติ. 2529. ไส้เดือนฝอยควบคุมหนอนกินใต้ผิวเปลือกไม้สกุลลางสาด. *ว. กีฏ. สัตว์.* 8(3): 115-119.

Cabanillas, H.E., Poinar, G.O., Raulason, J.R. 1994. *Steinernema riobravis* n. sp. (Rhabditida : Steinernematidae) from Texas. Fundam. Appl. Nematol; 17 (2), 123-131.

Dutky, S.R., J.V. Thomson and G.W. Cantwell. 1964. Technique for the propagation of the DD-136 nematode. Journal of Insect Pathology 6 ; 417-422.

Friendman, M.J. 1990. Commercial production and development, pp. 153-173. *In*: Gaugler, R.A., and Kaya, H.K. (eds.) Entomopathogenic Nematodes in Biological control. Boca Raton, Florida CRC Press

Goodey, J.B. 1963. Laboratory Methods for Work with Plant and Soil Nematodes. Tech. Bull. No. 2. Her Majesty^s Stationary Office, London. 72 p.

Grewal. P.S. and P.N. Richardson. 1993. Effect of application rate of *Steinernema feltiae* (Nematoda : Steinernematidae) on control of the mushroom sciarid fly *Lycoriella auripila.* Biocontrol Science and Technology 3:29-40

Grewal. P.S. and P.N. Richardson. 1993. Effect of application rate of *Steinernema feltiae* (Nematoda : Steinernematidae) on control of the mushroom sciarid fly *Lycoriella auripila.* Biocontrol Science and Technology 3:29-40.

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

Grewal. P.S., P.M. Tomalak., C.B.O. Keil and Gaugler. 1993. Evaluation of generally selected strain of *Steinernema feltiae* against the mushroom *Lycoriella auripila.* sciarid. Ann. appl. Biol. 123:695-702

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

Hazir S., S.P. Stock, H. K. Kaya, A.M. Koppenhofer, and N. Keshin. 2001. Developmental temperature effects on five geographic isolates of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae). Journal of Invertebrate Pathology 77 : 243-250.

Kaya, H.K. 1990. Soil ecology, pp. 93-111 *In*: Gaugler, R.A., and Kaya, H.K. (eds.) Entomopathogenic Nematodes in Biological control. Boca Raton, Florida CRC Press.

Kerry, B.R. 1987. Biological Control. pp. 233-263. *In* R.H. Brown and B.R. Kerry. (eds.). Principle and Practice of Nematode Control in Crop. Academic Press, Sydney.

Klein, Michael. G., 1990. Efficacy against soil-inhabiting insect pest. , pp. 195-210. *In*: Gaugler, R.A., and Kaya, H.K. (eds.) Entomopathogenic Nematodes in Biological control. Boca Raton, Florida CRC Press

Kung, S.P., R. Gaugler, and H.K. Kaya. 1991. Effect of soil tempeature,moisture and rerative humidity on entomopathogenic nematode persistance. Journal of Invertebrate Pathology 57: 242-249.

Macvean, C.M., J.L. Capimera. 1982. Field test of antidescants to extend the infection period of an entomogenous nematode;*Neoapleetana carpoeapsac*, against the Colorado potato beetle Econ-Entomol. 75:97-101.

Molyneux, A.S. 1985. Survival of infective juveniles of *Heterorhabditis* spp. and *Steinernema* spp. at various temperature and their subsequent infectivity for insect. Rev. Nematol. 8 : 165 – 170.

Sasnarukkit, A., R. Gaugler and S. Sontirat. 2002. Effects of the entomopathogenic nematode,*Steinernema siamkayai* and its bacterial symbiont's metabolites on root knot nematode, *Meloidogyne incognita.* The First International Conference on Tropical and SubtropicalPlant Diseases, November 5-8, 2002. The Imperial Mae Ping Hotel, Chiang Mai, Thailand.

Stock, S.P., V. Somsook and A.P. Reed. 1998. *Steinernema siamkayai* n. sp. Rhabditida : Steinernematidae), an entomopathogenic nematode from Thailand. Systematic Parasitology 91 : 105-113.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนเจาะดอกมะลิเนื่องจากไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* อัตราต่างๆ

	เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนเจาะดอกมะลิ(%)	
	หลังทำการทดลอง24ชั่วโมง	หลังทำการทดลอง48ชั่วโมง
ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* 500 ตัว/มล.	71.67	100
ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* 1000 ตัว/มล.	100	100
ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* 2000 ตัว/มล.	100	100
ไม่ใช้ไส้เดือนฝอย	0	0

ตารางที่ 2 อัตราการอยู่รอดของไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* บนช่อดอกมะลิหลังพ่นทดลอง

	จำนวนไส้เดือนฝอย/ช่อดอก (ตัว)	อัตราการอยู่รอดของไส้เดือนฝอย (%)
หลังพ่น	20.83	100
หลังพ่น 24 ชั่วโมง	14.1	67.69
หลังพ่น 48 ชั่วโมง	5.7	27.36
หลังพ่น่ 72 ชั่วโมง	1.4	6.72
หลังพ่น 96 ชั่วโมง	0	0

การคัดเลือกต้นตอทุเรียนพันพื้นเมืองที่ทนทานหรือต้านทานต่อเชื้อรา *Phytopthora* sp. สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียน

Seelection of Durian Resistane or Tolerance Rootstocks for Durian *Phytopthora* sp. Root and Foot Rot

สุพัตรา อินทวิมลศรี ศิริพร วรกุลดำรงชัย มาลัยพร เชื้อบัณฑิต

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ทุเรียนพันธุ์พื้นเมืองประเทศไทย ที่พอหาได้ในภาคตะวันออก คือ เกาะช้าง จ. ตราด ภาคเหนือตอนล่างมีมาก ที่ อ. ลับแล จ. อุตรดิตถ์ ภาคใต้มีความหลากหลายของทุเรียนพันธุ์เรียนมากที่สุดได้แก่ อ. หลังสวน อ. ทุ่งตะโก จ. ชุมพร อ. ลานสกา อ. ท่าศาลา อ. นบพิตำ จ. นครศรีธรรมราช จ.ยะลา จ.กระบี่ การรวบรวมเม็ดทุเรียนพันธุ์พื้นเมืองจึงได้จาก จ.ตราด 50 ต้น จ. อุตรดิตถ์ 300 ต้น , จ. ชุมพร 300 ต้น , จ. นครศรีธรรมราช 300 ต้น , จ.ยะลา 100 ต้น , จ.กระบี่ 100 ต้น นำมาเพาะเป็นต้นกล้า อายุประมาณ 3 เดือน ถูกน้ำท่วมต้นกล้าเสียหาย 100 % จึงจัดหาต้นกล้าทุเรียนจาก จ. นครศรีธรรมราช ,จ. ชุมพร รวม 500ต้นมาทดแทนเพื่อเตรียมการทดสอบความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคต่อไป

รหัสการทดลอง 01-21-54-02-03-00-01-54

คำนำ

ชมพู่ หรือ Rose apple มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Syzygium jambos* Alston อยู่ใน Family Myrtaceae เป็นไม้ผลเจริญได้ดีในเขตร้อนแบบ Tropical (Nakasone and Paull, 1998) ปลูกมากในเขตจังหวัดนครปฐม ราชบุรี เพชรบุรี และสมุทรสาคร มีรายงานว่าโรคผลเน่าในสวนเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (นิพนธ์, 2542; วิรัชและคณะ, 2528) และอาการที่เกิดภายหลังจากเก็บผลผลิตแล้วเกิดจากเชื้อราหลายชนิด เช่น *Aspergillus* sp., *Rhizopus stolonifer*, และ *Pestaliopsis* sp. (นิพนธ์, 2542) การศึกษาเพื่อสาเหตุการเกิดโรค การหาวิธีป้องกันโดยการใช้สารเคมีที่ถูกต้อง และหาชนิดของสารอินทรีย์ที่ไม่มีผลตกค้างต่อผู้บริโภคเพื่อใช้ควบคุมโรคอย่างมีประสิทธิภาพ จึงเป็นเรื่องที่มีความสำคัญต่อกระบวนการผลิตชมพู่เพื่อให้เกิดความปลอดภัยสูงสุดต่อผู้บริโภค เป็นการลดปัญหาการสูญเสียทั้งปริมาณและผลผลิตของเกษตรกรผู้ปลูกชมพู่ต่อไป

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาลักษณะอาการ สาเหตุและการแพร่ระบาดของโรคผลเน่าชมพู่ในแหล่งปลูกพื้นที่ต่างๆ สำหรับเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาหาวิธีการป้องกันกำจัดอย่างมีประสิทธิภาพ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างชมพู่เป็นโรคผลเน่าที่เก็บรวมรวมจากแปลงปลูกของเกษตรกร
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA)
3. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างในแปลง
4. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการและเครื่องแก้ว
5. อุปกรณ์บันทึกผลการทดลองได้แก่ กล้องถ่ายภาพ และสมุดบันทึก

วิธีการ

1. สำรวจ เก็บตัวอย่างโรคผลเน่า

เก็บตัวอย่างชมพู่เป็นโรคผลเน่าจากพื้นที่ปลูกในเขตจังหวัดเพชรบุรี และนครปฐม ในช่วงระหว่างเดือนธันวาคม 2553 – กุมภาพันธ์ 2554 บันทึกลักษณะอาการที่พบในแปลง สภาพแปลงที่พบโรค ห่อตัวอย่างผลชมพู่แต่ละผลด้วยกระดาษเก็บตัวอย่าง ก่อนนำใส่ถุงพลาสติกใส

2. แยกและเลี้ยงเชื้อสาเหตุบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

นำตัวอย่างชมพู่เป็นโรคมาแยกหาเชื้อราสาเหตุโรคโดยวิธีใช้เข็มเขี่ยปลายแหลมเขี่ยเส้นใยหรือกลุ่ม spore (spore mass) ที่เจริญอยู่บนเนื้อเยื่อผลชมพู่เน่ามาวางบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง จนเชื้อราสร้างโคโลนี บันทึกลักษณะและสี

3. ตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ

การตรวจสอบลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา โดยใช้เข็มเขี่ยปลายแหลมเขี่ยเส้นใยและกลุ่ม spore (spore mass) จากเนื้อเยื่อพืชบริเวณที่เป็นโรค วางบนแผ่นสไลด์ หยดสารละลาย lactic acid บนแผ่นสไลด์ ปิดทับด้วยแผ่น cover slip นำแผ่นสไลด์ไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์ บันทึกรูปร่างลักษณะเส้นใยและสปอร์ขยายพันธุ์ที่พบ

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2553 สิ้นสุด กันยายน 2554

ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช และสวนชมพู่ในเขตจังหวัดเพชรบุรีและนครปฐม

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สำรวจ เก็บตัวอย่างโรคผลเน่า

ผลการสำรวจพื้นที่ปลูกชมพู่ในแหล่งปลูกในเขตจังหวัดเพชรบุรีและนครปฐม จำนวน 22 สวน พบตัวอย่างชมพู่เป็นโรคผลเน่าทั้งหมด 15 ตัวอย่าง สภาพของสวนและการแพร่ระบาดของโรคในแต่ละจังหวัดมีความแตกต่างกันดังนี้

สวนในเขตจังหวัดเพชรบุรี ระบบการปลูกจะใช้การปลูกในพื้นระนาบเดียวกัน ไม่มีการยกร่อง การให้น้ำ บางสวนเป็นแบบระบบปล่อยน้ำเป็นช่วงเวลา และไขน้ำออก บางสวนจะให้แบบน้ำขังและปล่อยให้น้ำซึมไปกับพื้นดินจนแห้ง พันธุ์ชมพู่ที่ปลูกเป็นสวนใหญ่คือ เพชรสายรุ้ง เพชรบ้านลาด ซึ่งให้ผลเป็นสีเขียว และทับทิมจันทร์ที่ให้ผลเป็นสีแดงมีปลูกเล็กน้อย มีการใช้ถุงกระดาษห่อผลหลังจากที่เกสรชมพู่ร่วง จึงไม่พบปัญหาเรื่องน้ำที่ขังอยู่ในถุง สวนที่มีการระบาดของโรคเป็นสวนที่ไม่มีการตัดแต่งกิ่งและปล่อยให้มีลูกมากเกินไปในแต่ละช่อ และปลูกต้นชมพู่ในระยะชิดกันมากจนกิ่งแต่ละต้นเกยกันทำให้แสงแดดไม่สามารถส่องลงมาถึงพื้นดินได้ นอกจากนี้ยังปล่อยให้สวนค่อนข้างรกวัชพืชขึ้นสูง ความชื้นบริเวณโคนต้นมีสูงมาก

สวนในเขตจังหวัดนครปฐม ระบบการปลูกจะใช้การปลูกแบบยกร่องสวน และปล่อยให้น้ำขังอยู่ในร่องตลอดเวลา การให้น้ำจึงเป็นแบบน้ำขังและใช้ภาชนะตักน้ำในร่องขึ้นมารดต้น พันธุ์ชมพู่ที่ปลูกมากคือทับทิมจันทร์ที่ให้ผลเป็นสีแดง และมีการห่อผลโดยใช้ถุงพลาสติกแบบมีหูหิ้วตัดที่ก้นถุงทำให้พบปัญหาเรื่องน้ำที่ขังอยู่ในถุง สวนที่มีการระบาดของโรคมีสภาพสวนเช่นเดียวกับสวนในเขตจังหวัดเพชรบุรีคือไม่มีการตัดแต่งกิ่งและปล่อยให้มีลูกมากเกินไปในแต่ละช่อ และปลูกต้นชมพู่ในระยะชิดกันมากจนกิ่งแต่ละต้นเกยกัน จนแสงแดดไม่สามารถส่องลงมาถึงพื้นดินได้ นอกจากนี้ยังปล่อยให้สวนค่อนข้างรกวัชพืชขึ้นสูง ความชื้นบริเวณโคนต้นมีสูงมาก และสวนที่ไม่มีการระบายเปลี่ยนน้ำที่ขังอยู่ในร่องสวนใหม่ ทำให้น้ำเป็นน้ำเก่าที่สกปรกมากและเป็นแหล่งสะสมของเชื้อ ในสวนที่มีการกำจัดวัชพืชแต่ยังคงมีการระบาดอยู่พบว่าเกิดจากถุงพลาสติกที่ใช้ห่อผลมีรอยตัดสั้นทำให้

น้ำระเหยได้ยาก จึงทำให้มีน้ำขังอยู่ในถุงที่ห่อผลในปริมาณมาก เนื้อเยื่อผลจึงอ่อนแอและเกิดแผลได้ง่าย

2. แยกและเลี้ยงเชื้อสาเหตุบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

ลักษณะแผลที่พบบนผลชมพู่เป็นโรคผลเน่าพบทั้งบริเวณปลายผลและใกล้ขั้วผล แต่พบที่บริเวณปลายผลมากกว่า แผลมี 3 ลักษณะคือ

- แผลเป็นรอยช้ำขนาดใหญ่ เนื้อเยื่อผลใสฉ่ำน้ำ พบจุดสีดำขนาดเล็กฝังตัวอยู่ในเนื้อเยื่อกระจายอยู่ทั่วแผล บางตำแหน่งจุดสีดำจะขยายใหญ่มารวมกันเป็นจุดเยิ้มมันวาว เมื่อส่องดูใต้กล้องจุลทรรศน์ พบ สปอร์ขยายพันธุ์เป็นเม็ดสีดำอยู่รวมกันเป็นจำนวนมากในตำแหน่งดังกล่าว

- แผลเป็นรอยช้ำขนาดใหญ่เช่นเดียวกัน แต่จุดสีดำที่รวมตัวกันมีลักษณะเป็นวงซ้อนกันเป็นชั้นๆ บางผลมีเส้นใยสีขาวครีมแทรกอยู่ระหว่างชั้น พบสปอร์ขยายพันธุ์เป็นเม็ดสีดำอยู่รวมกันเป็นจำนวนมากในตำแหน่งดังกล่าว

- แผลเป็นรอยช้ำขนาดใหญ่ พบกลุ่มสปอร์ขยายพันธุ์สีส้มขึ้นบนแผล บางผลมีเส้นใยสีขาวขึ้นรอบกลุ่มสปอร์ดังกล่าว

ลักษณะโคโลนีที่แยกได้มี 2 ลักษณะคือ

- โคโลนีสีเทาถึงเทาเข้ม เริ่มแรกเส้นใยเป็นสีขาวทั้งหมด ขึ้นฟูเหนือผิวหน้าอาหาร เส้นใยฟูเล็กน้อยแต่ไม่เป็นปุย ต่อมาเส้นใยเปลี่ยนเป็นสีเทา สีเทาดำ เมื่อโคโลนีอายุมากขึ้น พบกลุ่มสปอร์ (spore mass) สีส้มขึ้นกระจายแทรกอยู่ตามเส้นใย

- โคโลนีสีขาว เริ่มแรกเส้นใยเป็นสีขาวทั้งหมดและไม่เปลี่ยนสีเมื่ออายุมากขึ้น เส้นใยมีลักษณะละเอียดเป็นปุยขึ้นฟูเหนือผิวหน้าอาหาร พบกลุ่มสปอร์ (spore mass) สีดำขึ้นแทรกเป็นวงขนาดใหญ่ซ้อนกันในเส้นใย

3. ตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ

ตรวจสอบเชื้อราสาเหตุโรคจากโคโลนีสีเทาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ใช้แสงชนิด stereo พบว่าสปอร์ขยายพันธุ์เรียกว่าโคนิเดีย เป็นเซลเดี่ยวใสไม่มีสี มีลักษณะเป็นท่อนทรงกระบอกยาวรี หัว-ท้ายมน บางโคนีเดียมีปลายมนด้านเดียวอีกด้านค่อนข้างแหลม เส้นใยใสไม่มีมีผนังกั้น ปลายเส้นใยมีอวัยวะลักษณะบวมพองเป็นกระเปาะที่เรียกว่า appressoria สีน้ำตาลเข้ม เส้นใยที่สร้าง appressoria จะมาเกาะรวมกันเป็นก้อนเส้นใยหลวมก่อนอัดตัวกันแน่นสร้างเป็น sclerotia สีดำ ลักษณะค่อนข้างกลม ซึ่งเป็นลักษณะของเชื้อราในกลุ่ม *Colletotrichum* spp. ตรวจสอบเชื้อราสาเหตุโรคจากโคโลนีสีขาว พบว่าสปอร์ขยายพันธุ์เรียกว่าโคนิเดีย เป็นรูปกระสวยหัวท้ายแหลมมี 5 เซล เซลหัวท้ายใสไม่มีสี เซลตรงกลางเป็นสีน้ำตาลเข้ม มีหางขนาดยาวจำนวน 2-3 เส้นที่ปลายด้านหนึ่งปลายหางตรงไม่ม้วนงอ อีกด้านมีหางขนาดสั้นกว่ามากจำนวน 1 เส้น เส้นใยใสไม่มีสีมีผนังกั้น ซึ่งลักษณะโคนิเดียที่มี 5 เซลและมีหางเป็นลักษณะเฉพาะของเชื้อราในกลุ่ม *Pestaliotia* spp.

สรุปการทดลองและคำแนะนำ

ผลการสำรวจและเก็บรวบรวมสวนชมพู่ในเขตจังหวัดเพชรบุรีและนครปฐม จำนวน 22 สวน พบตัวอย่างชมพู่เป็นโรคผลเน่าทั้งหมด 15 ตัวอย่าง สภาพสวนที่พบโรคจะไม่มีการตัดแต่งกิ่ง ปลูกชิด ไว้ลูกต่อช่อมากและมีสภาพรก การระบายน้ำไม่ค่อยดี พบแผลเน่าเกิดบริเวณปลายผลมากกว่าบริเวณใกล้ขั้วผล แผลที่พบบนผล 3 ลักษณะ แยกเชื้อและนำไปเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ได้โคโลนี 2 แบบ ตรวจสอบลักษณะเส้นใยและสปอร์ขยายพันธุ์ใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเป็นเชื้อราในกลุ่ม *Colletotrichum* spp. และ *Pestaliotia* spp.

เอกสารอ้างอิง

นิพนธ์ วิสารธานนท์. 2542. โรคไม้ผลเขตร้อนและการป้องกันกำจัด. เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์หลักสูตร “หมอพืช-ไม้ผล” ฉบับที่ 1. บริษัท เจ ฟิล์ม โปรเซส จำกัด. กรุงเทพฯ. 172 หน้า.

วิรัช ชูบำรุง ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน และพัฒนา สนธิรัตน. 2528. ศึกษาเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ในประเทศไทย. หน้า 128-140 ใน รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2528 เล่ม 1. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

Nakasone, H.Y. and R.E. Paull. 1998. Tropical Fruits. CAB Intl., U.K. 445 pp.

การจัดการโรคต้นเหี่ยวของฝรั่ง

Management of Guava Wilt Disease

สุพัตรา อินทวิมลศรี นางนลินี ศิวากรณ์

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

โรคเหี่ยวฝรั่งระบาดอย่างรุนแรง ที่ อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี ,อ.บ้านแพ้ว จ.สมุทรสาคร และ อ.สามพราน จ.นครปฐม ซึ่งเป็นแหล่งปลูกฝรั่งที่สำคัญของภาคกลาง นอกจากนี้ยังพบโรคเหี่ยวฝรั่งที่ จ.ชลบุรี , กาญจนบุรี แยกเชื้อราสาเหตุได้เชื้อรา *Nalanthamala* sp. 4 ไอโซเลท และ *Phytopthora* sp. 1 ไอโซเลท เชื้อทั้ง 2 มีลักษณะการทำลายคล้ายคลึงกันมาก คือ ทำลายโคนต้น และราก ทำให้เกิดอาการเหี่ยวบางส่วนหรือทั้งต้น และตายในที่สุด สารป้องกันกำจัดเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Nalanthamala* sp. ได้ดีทุกความเข้มข้นที่ 500, 1,000 ,1,500 และ 2,000 ppm จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ สารไตรดีมอฟ (คาลิกซิน),คาร์เบนดาซิม(บาวิสติน) และไมโครบิวทานิล(ซีสเทน-อี)

ได้ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *(Bacillas subtilis)* จำนวน 50 ไอโซเลท ได้พบว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์ จำนวน 5 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวได้ดี ซึ่งจะนำไปทดสอบประสิทธิภาพในแปลงทดลองที่สวนเกษตรกร ต.บัวงาม อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี ร่วมกับกรรมวิธีอื่นๆ

รหัสโครงการ 02-05-54-01-01-00-01-54

คำนำ

ฝรั่ง (Guava : *Psidium guajava* L.) เป็นไม้ผลเศรษฐกิจที่ทำรายได้ดีให้ผลผลิตสูง มีคุณค่าทางอาหารสูง ผลฝรั่งมีศักยภาพในการส่งออกมาก มีผู้บริโภคทั้งผลสด เป็นเครื่องดื่ม และเป็นไม้ผลอุตสาหกรรมบรรจุกระป๋องโดยนำไปผสมกับผลไม้ชนิดอื่นๆ ด้วยเหตุนี้ฝรั่งจึงมีความสำคัญต่อเกษตรกรไทย

ปัญหาการผลิตฝรั่งด้านโรคพืช พบว่ามีเชื้อโรคเข้าทำลายที่ใบ,ผล,ทั้งผลอ่อน และผลแก่ ซึ่งเกษตรกรสามารถจัดการได้ โรคที่ทำให้ต้นฝรั่งทรุดโทรมและตาย ที่เรียกว่าโรคเหี่ยว มีการศึกษาแล้วในปีพ.ศ. 2541 (พรพิมล และคณะ) ได้ศึกษาโรคเหี่ยวฝรั่งของประเทศไทย ซึ่งมีการระบาด และทำลายหลายจังหวัด สรุปได้ว่าเชื้อรา *Nalanthamala* psidii เป็นเชื้อสาเหตุของโรค ในปีพ.ศ. 2552 เกษตรผู้ปลูกฝรั่ง อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี, อ.บ้านแพ้ว จ. สมุทรสาคร ซึ่งเป็นเขตติดต่อกัน ได้ขอความช่วยเหลือให้หาคำตอบ ในการป้องกันกำจัดโรคที่ทำให้ต้นฝรั่งตาย และได้ส่งตัวอย่างโรคจากสวนต่างๆ ทั้งต้นเหี่ยวขนาดใหญ่ติดผลแล้ว ต้นขนาดกลาง และต้นขนาดเล็ก ที่ใช้ปลูกซ่อม ก็มีอาการเหี่ยวเป็นกิ่งๆ ใบสีเขียวซีด วินิจฉัยแล้วพบว่าเกิดการทำลายที่โคนต้น และราก เกษตรกรต้องการทราบชนิด ของสารป้องกันกำจัดโรคพืชที่มีประสิทธิภาพ อัตราความเข้มข้นที่เหมาะสม และวิธีการใช้อย่างเร่งด่วน เพราะโรคลุกลามอย่างต่อเนื่อง จนเกษตรกรยอมแพ้หันมาปลูกพืชชนิดอื่นทดแทนฝรั่ง นอกจากใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืชแล้ว จะต้องใช้วิธีอื่นๆ ร่วมด้วย เพื่อจัดการโรค ที่มีเชื้อราสาเหตุอยู่ในดินให้ได้ผล

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ต้นฝรั่งที่เป็นโรคเหี่ยว
2. เครื่องมือเครื่องใช้ในห้องปฏิบัติการโรคพืช
3. สารป้องกันกำจัดเชื้อรา
4. เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

วิธีการ

1. สำรวจโรคเหี่ยวฝรั่งเกษตรกร จังหวัดต่างๆ เก็บตัวอย่างโรคมาศึกษา แยกเชื้อในห้องปฏิบัติการเพื่อให้ได้เชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยว

2. ทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อรากับเชื้อราสาเหตูโรคเหี่ยวในห้องปฏิบัติการ ที่ความเข็มข้น 500, 1,000 ,1,500 และ 2,000 ppm. เปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่ใช้สาร ฯ
3. ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์กับเชื้อราสาเหตูโรคเหี่ยวในห้องปฏิบัติการ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

ระยะเวลา

ดำเนินการทดลองระหว่าง เดือนตุลาคม 2553– กันยายน 2556

.สถานที่ดำเนินการ

กลุ่มวิจัยโรคพืช สอพ. และสวนเกษตรกร

ผลการทดลองและวิจารณ์

สำรวจโรคเหี่ยวที่สวนเกษตรกรที่ อ.สามพราน จ.นครปฐม เก็บตัวอย่างโรคแยกเชื้อ พบ เชื้อรา *Phytopthora* sp. 1 ไอโซเลท เข้าทำลายโคนต้น และราก ทำให้ต้นฝรั่งแสดงอาการเหี่ยวไม่มีการเจริญเติบโต และตายในที่สุด เช่นเดียวกับการเก็บตัวอย่างโรคเหี่ยวฝรั่งที่สวนเกษตรกรอ.ดำเนินสะดวก จ. ราชบุรี ,สมุทรสาคร กาญจนบุรี ,ชลบุรี ได้เชื้อรา *Nalanthamala* sp. 4 ไอโซเลท ลักษณะการทำลายที่โคนต้นและรากเช่นเดียวกับโรคเหี่ยวที่สวนเกษตรกรที่ อ.สามพราน จ.นครปฐม ทำให้เกิดอาการเหี่ยวเป็นบางกิ่งหรือทั้งต้นเมื่ออาการรุนแรงจะทำให้ต้นตาย

การทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อรา 10 ชนิด ต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *Nalanthamala* sp. ในห้องปฏิบัติการ ที่ความเข็มข้น 500, 1,000 ,1,500 และ 2,000 ppm. พบว่าสารสารไตรดีมอฟ (คาลิกซิน),คาร์เบนดาซิม(บาวิสติน) และไมโครบิวทานิล(ซีสเทน-อี) ทุกความเข็มข้นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ดี

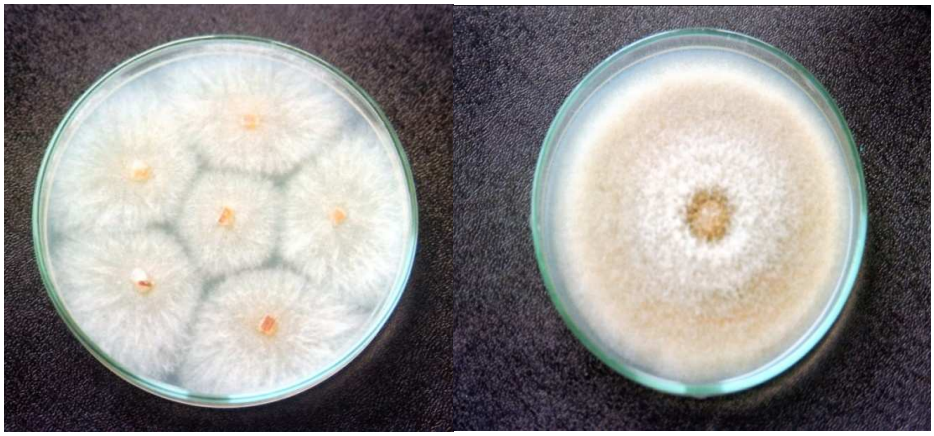
การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 50 ไอโซเลท ต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *Nalanthamala* sp. ในห้องปฏิบัติการ พบว่าได้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 5 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ดี

เนื่องจากการเสนองานวิจัยกล่าวถึงเฉพาะโรคเหี่ยวฝรั่งที่มีเชื้อรา *Nalanthamala* sp. เป็นสาเหตุของโรคดังนั้นเมื่อพบว่ามีเชื่อรา *Phytopthora* sp. เป็นเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวอีกชนิดหนึ่งที่สามารถทำให้เกิด

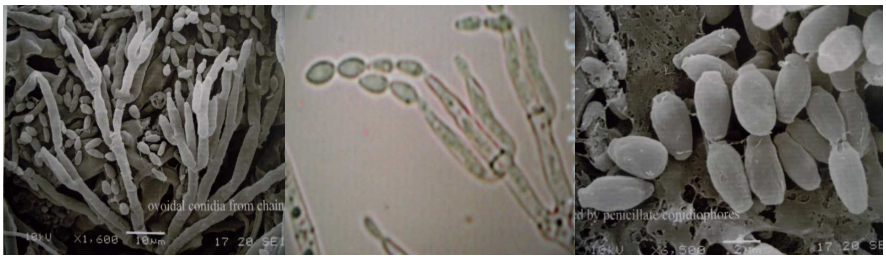
ความเสียหายในลักษณะเดียวกัน การทดลองครั้งนี้จะศึกษาเฉพาะโรคเหี่ยวที่เกิดจาก *Nalanthamrla* sp. เพียงอย่างเดียวเท่านั้น

ลักษณะอาการของต้นฝรั่งที่เป็นโรค

รากฝอยเน่าถอดปลอก แผลเน่าที่โคนต้น

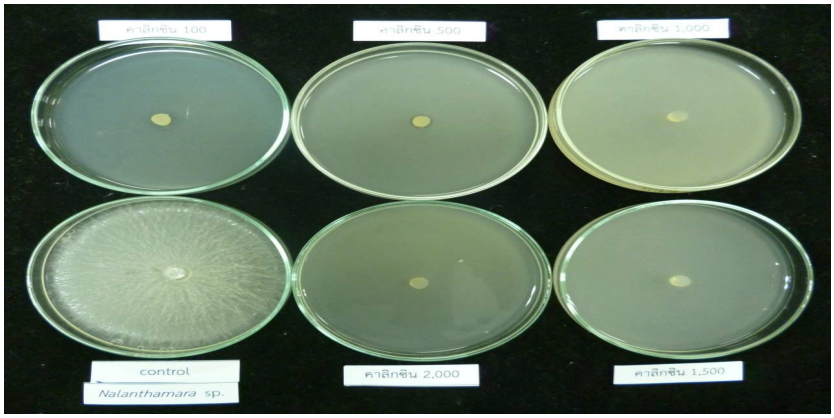


เส้นใยสีเหลืองอ่อนของเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวฝรั่ง *Nalanthamala* sp. ในอาหาร PDA

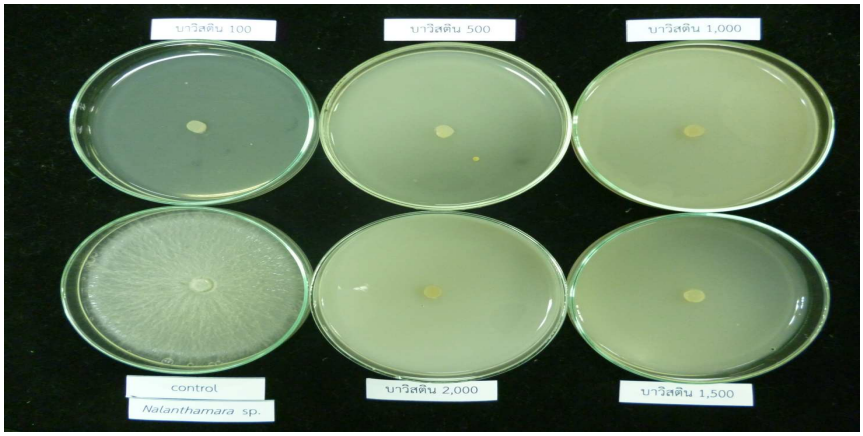


สปอร์เชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวฝรั่ง *Nalanthamala* sp.

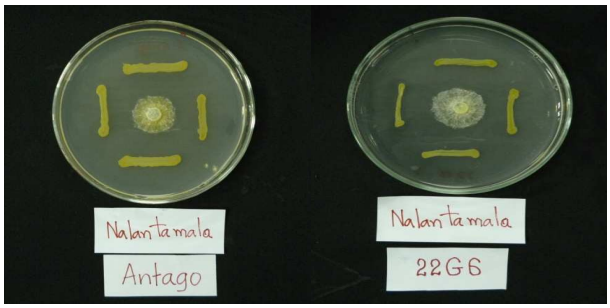
สารเคมีกับเชื้อรา Nalanthamala sp.

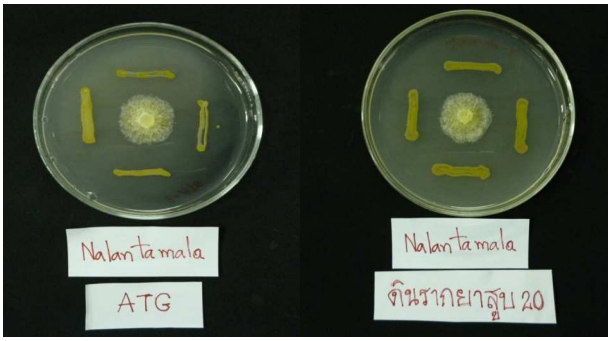


ทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืช ไตรมอฟ(คาลิกซิน)



ทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืช บาวิสติน(คาร์เบนดาซิม)





ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

ตรงกลาง เชื้อ *Nalanthamala* sp. , รอบนอก เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

โรคเหี่ยวของฝรั่งเกิดจากเชื้อราเข้าทำลายโคนต้น และ รากทำให้เกิดอาการ ใบไหม้ , ยอดเหี่ยวบาง กิ่งหรือทั้งต้นเมื่อรุนแรงขึ้นทำให้ต้นตาย พบเชื้อรา 2 ชนิด เข้าทำลายต้นฝรั่ง และมีอาการคล้ายคลึงกัน มากได้เชื้อรา *Nalanthamala* sp. 4 ไอโซเลท และ *Phytopthora* sp. 1 ไอโซเลท การทดลองประสิทธิภาพ ของสารป้องกันกำจัดเชื้อราพบว่า ไตรดีมอฟ, ไมโครบิวทานิล และคาเบนดาซิม ให้ผลในการยับยั้งเชื้อราได้ดี เช่นเดียวกับกับเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 5 ไอโซเลท จึงควรที่จะได้นำมาทดสอบประสิทธิภาพในแปลงทดลอง และมีการใช้กับกรรมวิธีอื่นๆร่วมด้วย เพื่อจะได้ลดการทำลายของโรคได้อย่างถาวร

นอกจากสารป้องกันกำจัดโรคพืชที่ได้ทดสอบประสิทธิภาพไปแล้วส่วนหนึ่งยังมีสารป้องกันกำจัดเชื้อ ราที่น่าสนใจอีกหลายชนิดและอยู่ในระหว่างการดำเนินงานครั้งต่อไป

.การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

เมื่อทราบว่าโรคเหี่ยวฝรั่งมีเชื้อราสาเหตุ 2 ชนิด คือ *Nalanthamala* sp. และ *Phytopthora* sp. เกษตรกรที่ได้รับความเสียหายจากโรคนี้ ต้องทราบให้แน่ชัดว่าเกิดจากเชื้อราชนิดใด เพราะการใช้สารป้องกัน กำจัดเชื้อรา จะต้องเลือกใช้ให้ตรงกับเชื้อโรค จึงจะควบคุมโรคได้ดี ดังนั้นผลงานการวิจัยครั้งนี้แม้จะยังไม่ สิ้นสุด แต่ก็น่าจะนำไปถ่ายทอด เผยแพร่ให้เกษตรกรผู้ปลูกฝรั่ง หรือผู้ที่เกี่ยวข้องทราบ เพื่อจะได้จัดการโรคได้ อย่างและมีประสิทธิภาพ

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเกษตรกรผู้ปลูกฝรั่งที่ให้ความร่วมมือ ในการเก็บตัวอย่าง เพื่อนำมาศึกษา

เอกสารอ้างอิง

นิพนธ์ วิสารธานนท์ กิติพงษ์ ชีวศุภกร และวิจัย รักวิทยาศาสตร์. 2540. โรคลำต้นเหี่ยวตายของฝรั่งและการทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีบางชนิดต่อเชื้อสาเหตุ. *ใน* เอกสารประกอบการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่3 (18-20 พฤศจิกายน 2540) กรุงเทพฯ.

พรพิมล อธิปัญญาคม และเลขา มาโนช. 2541. โรคเหี่ยวของฝรั่ง. *ใน* การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 36, 3-5 กุมภาพันธ์ 2541 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

พรพิมล อธิปัญญาคม และ ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช. 2538. โรคผลเน่าของฝรั่ง. หน้า 600-601. *ใน* เอกสารการ ประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 21 (25-27 ตุลาคม) ชลบุรี.

Dwivedi, S.K. 1990. Guava wilt incited by *Macrophomina phaseolina*. Acad. Sci. Lett. 13: 301-303.

Grech, N.M. 1987. Guava wilting disease: The Cape Scenario. CSFRI Info. Bull. 179: 1-2.

Leu, L.S., C.W. Kao, W.J. Liang, and S.P.Y. Hsieh. 1979. *Myxosporium* wilt of guava and its control. Plant Dis.Rep. 63: 1075-1080.

Pandy, R.R. and R.S. Dwivedi. 1985. *Fusarium oxysporum* f. sp. *psidii* as a pathogen causing wilt of guava in Varanasi District, India. Ohytopath. Z. 114: 243-248.

Schoeman,M.H.1996.Guava wilt disease and other guava disease. ITSC Info. Bull. 280: 1-3.

Schoeman, M.H., E. Benade, and M.J. Wingfield. 1997. The symptoms and cause of guava wilt in South Africa. J. Phytopath. 145: 37-41.

Schroers, H.J., M.M. Geldenhuis, M.J. Wingfield, M.H. Schoeman, Y.F. Yen, W.C. Shen and B.D. Wingfield.

2005. Classification of the guava wilt fungus *Myxosporium psidii*, th palm pathogen *Gliocladium vermoesenii* and the persimmon wilt fungus *Acremonium diospyri* in *Nalanthamala*. Mycologia 97 (2):375-395.

การคัดเลือกต้นตอฝรั่งที่ทนทานหรือต้านทาน ต่อโรคเหี่ยวฝรั่งพันธุ์การค้า

Seelection of Guava Resistane or Tolerance Rootstocks for Commercial Guava Wilt Disease

สุพัตรา อินทวิมลศรี ธิติยา สารพัฒน์

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ฝรั่งพันธุ์การค้า เช่น กิมจู และแป้นสีทอง ที่แสดงอาการใบไหม้ ยอดเหี่ยว ต้นทรุดโทรม และตาย เป็นจำนวนมากในจังหวัดนครปฐม , สมุทรสาคร และราชบุรี ซึ่งเป็นแหล่งสำคัญในการผลิตฝรั่งเพื่อการส่งออกและการบริโภคในประเทศไทย จากการศึกษาพบว่าต้นฝรั่งที่แสดงอาการเหี่ยวที่จริงแล้ว โคนต้นและรากถูกทำลายโดยเชื้อรา เชื้อรา *Nalanthamala paidii* ซึ่งเป็นเชื้อราที่อยู่ในดิน การแก้ไขที่ยั้งยืนคือการหาต้นตอฝรั่งพันธุ์พื้นเมืองที่ทนทานหรือต้านทานต่อโรคจากการรวบรวมฝรั่งพันธุ์พื้นเมืองจากจังหวัดต่างๆ เช่น ชัยนาท , สมุทรสงคราม ,นครปฐม , พิจิตร , เพชรบูรณ์ , เชียงใหม่ , ปราจีนบุรี , นครนายก , และนครศรีธรรมราช เป็นต้น นำมาเพาะเมล็ดเป็นต้นกล้า และเจริญเติบโตพร้อมที่จะทดสอบความต้านทาน

รหัสโครงการ 02-05-54-01-02-00-03-54

คำนำ

ในอดีตการปลูกฝรั่งสามารถทำรายได้ที่มั่นคง และสม่ำเสมอแก่เกษตรกรแต่วันนี้ฝรั่งเป็นที่พึ่งของเกษตรกรไม่ได้แล้ว ปลูกในปีแรกๆ ยังไม่พบปัญหา เมื่อต้นฝรั่งให้ผลผลิต ในปีที่ 2 ที่ 3 ก็พบปัญหาตายมาเรื่อยๆ เกษตรกรไม่อยู่ในภาวะที่จะแก้ไขด้วยตัวเอง เพราะไม่ทราบต้นเหตุแห่งปัญหา เมื่อฝรั่งเกิดอาการทรุดโทรม และตายไปเรื่อยๆ แม้จะปลูกซ่อมก็ตายอีก พบมากในพันธุ์การค้าเช่น กิมจู แป้นสีทอง , เย็น 2 จะใช้สารเคมีก็ไม่รู้ว่าชนิดไหนจะถูกต้องและตรงกับโรค การแก้ปัญหาเร่งด่วนคือ การใช้สารเคมี การแก้ปัญหาในระยะยาวคือ ใช้ต้นตอต้านทานโรคเหี่ยว ข้อมูลทั้งหมดจะต้องเกิดจากการศึกษาค้นคว้าวิจัยของนักวิชาการ ขณะที่เกษตรกรก็หันไปปลูกพืชอื่นทดแทนฝรั่งไปตลอดเวลา

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ต้นฝรั่งพันธุ์พื้นเมือง จากแหล่งปลูกต่างๆ
2. วัสดุเพาะชำ, กระถาง และอุปกรณ์ในการเพาะชำอื่นๆ

วิธีการ

1. สำรวจและรวบรวมต้นฝรั่งพันธุ์พื้นเมืองจากแหล่งปลูกต่างๆ
2. เก็บผลฝรั่งสุกและนำมาล้าง เพื่อนำเมล็ดฝรั่ง เพาะในวัสดุปลูก ติดป้ายแหล่งกำเนิดของต้นฝรั่งแต่ละสายต้น
3. เมื่อต้นกล้าฝรั่ง งอก เจริญเติบโตประมาณ 3-4 เดือน แยกปลูกเพื่อให้มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว
4. ได้ต้นกล้าฝรั่ง จำนวนละ ๕๐ ต้น/สายต้น

ระยะเวลา

ดำเนินการทดลองระหว่าง เดือนตุลาคม 2553– กันยายน 2558

สถานที่ดำเนินการ

กลุ่มวิจัยโรคพืช สอพ. กรมวิชาการเกษตร และสวนเกษตรกรผู้ปลูกฝรั่งพันธุ์พื้นเมือง พันธุ์การค้า ในจังหวัดต่างๆ

ผลการทดลองและวิจารณ์

การสำรวจและรวบรวมผลฝรั่งสุกพันธุ์พื้นเมืองจากจังหวัดต่างๆ มีดังนี้

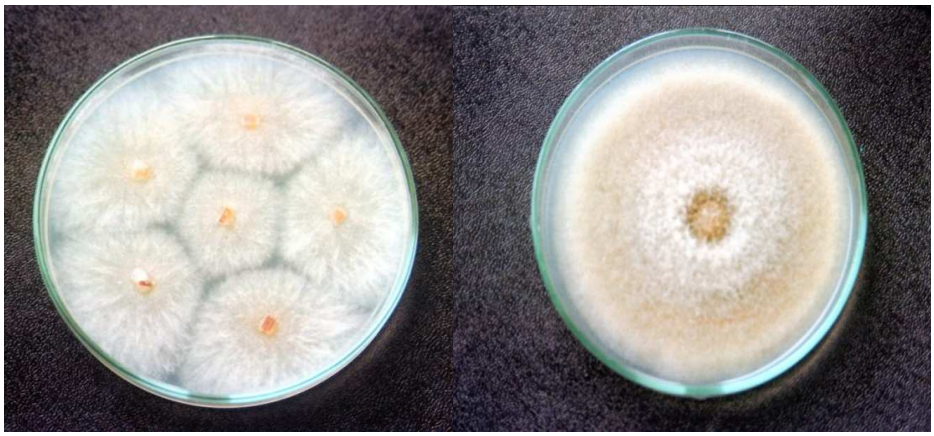
เมล็ดฝรั่งพันธุ์พื้นเมืองจากจังหวัดสมุทรสงคราม	3	สายต้น
เมล็ดฝรั่งพันธุ์พื้นเมืองจากจังหวัดนครปฐม	1	สายต้น
เมล็ดฝรั่งพันธุ์พื้นเมืองจากจังหวัดนนทบุรี	1	สายต้น
เมล็ดฝรั่งพันธุ์พื้นเมืองจากจังหวัดเพชรบุรี	3	สายต้น
เมล็ดฝรั่งพันธุ์พื้นเมืองจากจังหวัดนครศรีธรรมราช	1	สายต้น
เมล็ดฝรั่งพันธุ์พื้นเมืองจากจังหวัดชัยนาท	2	สายต้น
เมล็ดฝรั่งพันธุ์พื้นเมืองจากจังหวัดพิจิตร	2	สายต้น
เมล็ดฝรั่งพันธุ์พื้นเมืองจากจังหวัดเพชรบูรณ์	3	สายต้น
เมล็ดฝรั่งพันธุ์พื้นเมืองจากจังหวัดนครนายก	1	สายต้น
เมล็ดฝรั่งพันธุ์พื้นเมืองจากจังหวัดปราจีน	2	สายต้น
เมล็ดฝรั่งพันธุ์พื้นเมืองจากจังหวัดตาก	1	สายต้น
เมล็ดฝรั่งพันธุ์พื้นเมืองจากจังหวัดเชียงใหม่	1	สายต้น

การนำเมล็ดฝรั่งมาเพาะเป็นต้นกล้าต้องใช้เวลาและการที่จะได้เมล็ดฝรั่งพันธุ์พื้นเมืองแต่ละสายต้นจะได้ไม่พร้อมกันจึงทำให้ต้นกล้าฝรั่งที่ได้มีอายุไม่เท่ากันการปลูกเชื้อเพื่อทดสอบความต้านทานก็ไม่สามารถทำได้พร้อมกันแต่อย่างไรก็ตามในปรายเดือนสิงหาคม ถึง ต้น พฤศจิกายน ๒๕๕๔ ต้นกล้าฝรั่งทดลองได้ถูกน้ำท่วมฝรั่งตายไป ๙๐% ที่เหลือ ๑๐% ก็ไม่สมบูรณ์ จึงได้จัดหาต้นกล้าฝรั่งพันธุ์พื้นเมืองชุดใหม่เพื่อจะได้ทดสอบความทนทานหรือต้านทานโรคเหี่ยวต่อไป

ลักษณะอาการของต้นฝรั่งที่เป็นโรค

รากฝอยเน่าถอดปลอก

แผลเน่าที่โคนต้น



เส้นใยสีเหลืองอ่อนของเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวฝรั่ง *Nalanthamala* sp. ในอาหาร PDA

สปอร์เชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวฝรั่ง *Nalanthamala* sp.

ภาพผลของฝรั่งขี้นกพันธุ์พื้นเมือง

ต้นกล้าเพาะเมล็ดในกระถางอายุ 3 เดือน

ต้นกล้าฝรั่งอายุ 6 เดือน

ต้นกล้าฝรั่งอายุ 9 เดือน

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ต้นกล้าฝรั่งพันธุ์พื้นเมืองจากแหล่งปลูกต่างๆ เช่น ชัยนาท , สมุทรสงคราม ,นครปฐม , พิจิตร , เพชรบูรณ์ , เชียงใหม่ , ปราจีนบุรี , นครนายก , และนครศรีธรรมราช เป็นต้น ยังมีต้นแม่ฝรั่งพันธุ์พื้นเมืองหลงเหลืออยู่มากพอสมควร เพียงแต่ต้องทราบและค้นหาว่าอยู่ตรงไหน และเก็บมาทำงานวิจัยให้ได้มากที่สุด การเพิ่มปริมาณและการเจริญเติบโตต้นตอฝรั่งไม่เร็วมากนัก แต่ก็ไม่ช้าจนเกินไป ต้องใช้เวลาเป็นปีจึงจะนำมาทดสอบความต้านทานกับเชื้อราได้ ความหลากหลายทางพันธุกรรมของฝรั่งพันธุ์พื้นเมืองยังมีเหลือเฟือที่นักวิชาการน่าจะนำไปใช้ประโยชน์ให้มากที่สุด

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ทุกคนที่ได้แนะนำ และแสวงหาต้นฝรั่งพันธุ์พื้นเมืองให้แก่ข้าพเจ้า จึงทำให้ได้ต้นแม่พันธุ์ฝรั่งพันธุ์พื้นเมือจำนวนมาก และหลากหลายสายต้น

เอกสารอ้างอิง

พรพิมล อธิปัญญาคม และเลขา มาโนช. 2541. โรคเหี่ยวของฝรั่ง. *ใน* การประชุมทางวิชาการของ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 36, 3-5 กุมภาพันธ์ 2541 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

Dwivedi, S.K. 1990. Guava wilt incited by *Macrophomina phaseolina*. Acad. Sci. Lett. 13: 301-303.

Grech, N.M. 1987. Guava wilting disease: The Cape Scenario. CSFRI Info. Bull. 179: 1-2.

Leu, L.S., C.W. Kao, W.J. Liang, and S.P.Y. Hsieh. 1979. *Myxosporium* wilt of guava and its control. Plant Dis.Rep. 63: 1075-108

Niir Board .2005 . Tropical, subtropical fruits and flowers cultivation. Technology & Engineering . 590 หน้า

การคัดเลือกสารป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวและหนอนชอนใบในผักสวนครัว (กะเพรา โหระพา และแมงลัก)

Field Trial on Effectiveness of Some Insecticides for Controlling White Fly and Leaf miner on Holy Basil, Sweet Basil and Hairy Basil

สุเทพ สหายา พวงผกา อ่างมณี
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวและหนอนชอนใบในผักสวนครัว ดำเนินการที่แปลงเกษตรกรอำเภอลาดหลุมแก้ว จังหวัดปทุมธานีระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงกันยายน 2555 ดำเนินการในแปลงปลูกกะเพราของเกษตรกรที่ปลูกบนร่องกว้าง 4 เมตร สำรวจการระบาดของแมลงศัตรูชนิดต่างๆ บนกะเพราหลังตัดยอดประมาณ 7 วัน ไม่พบการระบาดของแมลงศัตรูเป้าหมายทั้งแมลงหวี่ขาวและหนอนชอนใบ แต่พบการระบาดของเพลี้ยไฟ จึงปรับแผนการทดลองทดสอบกับเพลี้ยไฟ ทำการแบ่งเป็นแปลงย่อยขนาด 2 x 4 เมตร จำนวน 24 แปลงย่อย วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ มี 6 กรรมวิธี ได้แก่การพ่นสารชนิดและอัตราดังนี้ thiamethoxam(Actara 25%WG) อัตรา 12 กรัม / น้ำ 20 ลิตร imidacloprid (Provado 70 %WG) อัตรา 12 กรัม / น้ำ 20 ลิตร clothianidin (Dantoz 16%SG) อัตรา 15 กรัม / น้ำ 20 ลิตร spiromesifen (Oberon 24%SC) อัตรา 10 มิลลิลิตร / น้ำ 20 ลิตร spinosad (Success 12%SC) อัตรา 15 มิลลิลิตร / น้ำ 20 ลิตร และ ไม่พ่นสารฆ่าแมลง ทำการพ่นสาร 2 ครั้งห่างกัน 7 วัน พบว่าทุกกรรมวิธีสามารถลดประชากรเพลี้ยไฟในกะเพราได้ แต่กรรมวิธีที่มีแนวโน้มประสิทธิภาพดี ได้แก่ spiromesifen และ spinosad อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องมีการทดลองซ้ำเพื่อยืนยันผลก่อนทำการแนะนำ

คำค้น : กะเพรา โหระพา แมลงหวี่ขาว หนอนชอนใบ สารฆ่าแมลง

Keywords : Holy basil, Sweet basil , Hairy Basil, White Fly, Leaf miner , Insecticides

---

รหัสการทดลอง 03-04-54-02-04-01-07-54

คำนำ

โหระพา กะเพรา แมงลัก ผักชีและผักชีฝรั่ง เดิมพืชเหล่านี้ปลูกเป็นผักสวนครัว แต่ปัจจุบันมีการส่งออกไปจำหน่ายในต่างประเทศหลายประเทศ เตือนจิตต์และคณะ (2548) รายงานว่าประเทศญี่ปุ่นนำเข้าพืชผักสวนครัวมีปริมาณรวมทั้งสิ้นมากกว่า 200 ตัน ต่อปี แต่การนำเข้าส่วนมากเป็นประเทศสมาชิกสหภาพ ยุโรป (EU) ซึ่งประเทศเดนมาร์ก เคยรายงานเกี่ยวกับปัญหาการนำเข้าสินค้าประเภทพืชสมุนไพรจากประเทศไทย เฉพาะในช่วงเดือนสิงหาคม 2545 ถึงเดือนพฤษภาคม 2546 มีการตรวจยึด/ปฏิเสธการนำเข้า/ทำลายสินค้า เนื่องจากพบหนอนชอนใบ (*Liriomyza* sp.)ในโหระพาและแมลงหวี่ขาวยาสูบ (*Bemisia tabaci* Gennadius) ในผักชีสด จำนวน 11 รายการจาก 124 รายการ หรือ 8.87 เปอร์เซ็นต์ ของสินค้าทั้งหมดที่ถูกกัก/ทำลาย นอกจากนั้นยังตรวจพบสารพิษตกค้างชนิดที่ไม่เหมาะสมในการใช้กับพืชดังกล่าว ในปริมาณตั้งแต่ 15 –100 % ในพืชผักสวนครัวเพื่อการส่งออก จากข้อมูลการตรวจพืชส่งออกของ กรมวิชาการเกษตรแมลงศัตรูพืชที่พบในพืชผักสวนครัวส่งออก ได้แก่หนอนชอนใบ แมลงหวี่ขาวยาสูบ และเพลี้ยไฟ ต้นปี 2554 สหภาพยุโรปห้ามนำเข้าพืชผักหลายชนิดรวมทั้งกะเพรา และโหระพา เนื่องจากมีปัญหาพบแมลงหวี่ขาวติดไป ปัจจุบันยังไม่สามารถแก้ไขปัญหาได้ เนื่องจากยังไม่มีวิธีการที่จะป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวได้ 100% การใช้สารเคมีเป็นเพียงแนวทางหนึ่งที่จะนำไปใช้ป้องกันกำจัดแมลงศัตรูแบบผสมผสาน ดังนั้นจึงดำเนินการทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสำคัญในกะเพราและโหระพา โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อทราบชนิดและอัตราที่เหมาะสมของสารฆ่าแมลงแนะนำในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูที่สำคัญ คุ้มค่าต่อการลงทุน ปลอดภัยต่อผู้บริโภคและไม่มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม รวมทั้งให้มีความยั่งยืนในการผลิตพืชผักสวนครัวเพื่อการส่งออก

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แปลงกะเพรา และโหระพา ของเกษตรกร อ.ลาดหลุมแก้ว จ.ปทุมธานี
2. ปุ๋ยเคมีสูตร 25 – 7 – 7
3. เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง
4. สารฆ่าแมลง imidacloprid(Provado70%WG) thiamethoxam (Actara 25%WG) clothianidin(Dantoz 16%SG) spiromesifen (Oberon 24%SC) และ spinosad (Success 12%SC)
5. ป้ายแสดงกรรมวิธีทดลอง
6. ตาชั่งละเอียดทศนิยม 2 ตำแหน่ง
7. กระบอกตวงสารขนาด 100 มิลลิลิตร และถังน้ำพลาสติกขนาด 20 ลิตร
8. กระดาษบันทึกผลการทดลอง

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block 4 ซ้ำ มี 6 กรรมวิธี

1. imidacloprid 70 %WG อัตรา 12 กรัม / น้ำ 20 ลิตร
2. thiamethoxam 25%WG อัตรา 12 กรัม / น้ำ 20 ลิตร
3. clothianidin 16%SG อัตรา 15 กรัม / น้ำ 20 ลิตร
4. spiromesifen 24%SC อัตรา 10 มิลลิลิตร / น้ำ 20 ลิตร
5 . spinosad 12%SC อัตรา 15 มิลลิลิตร / น้ำ 20 ลิตร
6. ไม่พ่นสารฆ่าแมลง

แบ่งแปลงกะเพราของเกษตรกรที่ปลูกบนร่องกว้าง 4 เมตร เป็นแปลงย่อยขนาดแปลงย่อย 2x4 เมตร สุ่มตรวจนับแมลงปากกัด ได้แก่ หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนกระทู้ผัก หนอนกระทู้หอม หนอนม้วนใบ หรือหนอนชอนใบ จาก 10 ต้น ตรวจนับทั้งต้น ส่วนแมลงปากดูด สุ่มตรวจนับเพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน เพลี้ยแป้ง หรือแมลงหวี่ขาว จาก 10 ต้น ๆ ละ 5 ใบ พ่นสารฆ่าแมลงตามกรรมวิธี เมื่อพบการระบาดของแมลงชนิดใดชนิดหนึ่งระบาด สุ่มนับแมลงหลังการพ่นสาร 3, 5 และ 7 วัน การพ่นสารใช้อัตราน้ำในการพ่น 100 ลิตร/ไร่

การบันทึกข้อมูล บันทึกจำนวนแมลงศัตรูที่พบแต่ละกรรมวิธี บันทึกบันทึกผลกระทบของสารทดลองที่มีกะเพราและโหระพา (phytotoxicity วิเคราะห์ผลทางสถิติของจำนวนแมลงศัตรูในแต่ละครั้งที่ตรวจนับด้วยโปรแกรม IRRISTAT วิเคราะห์ความแปรปรวนหลังพ่นสารด้วยวิธี analysis of variance จากนั้นเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT คำนวณเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัด (% Efficacy) ตามวิธีการของ Henderson – Tilton (Puntener, 1992)

ระยะเวลาและสถานที่ดำเนินการ เริ่มต้น ตุลาคม 2553 สิ้นสุด กันยายน 2555ที่แปลงเกษตรกร อ. ลาดหลุมแก้ว จ.ปทุมธานี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ก่อนพ่นสารมีการตรวจนับแมลงศัตรูทุกชนิด พบการระบาดของเพลี้ยไฟ 2 ชนิด ได้แก่ *Bathrips melanicornis* และ *Dorcadothrips* sp ในเพลี้ยไฟ ซึ่งพบมากและสามารถวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติได้ ส่วนแมลงศัตรูที่พบชนิดอื่นๆ ได้แก่ แมลงหวี่ขาว และหนอนชอนใบ ซึ่งเป็นศัตรูเป้าหมายของการทดลองนี้ รวมทั้ง หนอนม้วนใบ และหนอนคืบ ส่วนศัตรูธรรมชาติ ได้แก่ แตนเบียน และแมงมุมหลายชนิด พบน้อยมากและมีความแปรปรวนสูงไม่สามารถวิเคราะห์ผลทางสถิติได้

จำนวนเพลี้ยไฟ (ตารางที่ 1)

ก่อนพ่นสารพบจำนวนเพลี้ยไฟในกรรมวิธีต่างๆ เฉลี่ย อยู่ระหว่าง 5.98 – 9.55 ตัว/ 5 ใบ มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างกรรมวิธี จึงวิเคราะห์ข้อมูลหลังพ่นสารด้วยวิธี analysis of Covariance

หลังพ่นสารแล้ว 3 วัน พบจำนวนเพลี้ยไฟในกรรมวิธีไม่พ่นสารมากที่สุดเฉลี่ย 13.67 ตัว/5 ใบ มากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกกรรมวิธีที่มีการพ่นสาร กรรมวิธีพ่นสาร spinosad มีจำนวนเพลี้ยไฟน้อยที่สุดเฉลี่ย 4.10 ตัว/ 5ใบ รองลงมาคือการพ่นสาร spiromesifen ที่พบเฉลี่ย 6.07ตัว/ 5ใบ ซึ่งไม่แตกต่างกันในทางสถิติ การพ่นสาร clothianidin, thiamethoxam และ imidacloprid พบจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 7.90, 8.55 และ 8.76 ตัว/5 ใบ ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และไม่แตกต่างกับกรรมวิธีพ่นสาร spiromesifen แต่มากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสาร spinosad

หลังพ่นสารแล้ว 5 วัน พบจำนวนเพลี้ยไฟในกรรมวิธีไม่พ่นสารมากที่สุดเฉลี่ย 19.95 ตัว/5 ใบ มากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกกรรมวิธีที่มีการพ่นสาร พบว่ากรรมวิธีพ่นสาร spiromesifen มีจำนวนเพลี้ยไฟน้อยที่สุดเฉลี่ย 6.65 ตัว/ 5ใบ รองลงมาคือการพ่นสาร spinosad ที่พบเฉลี่ย 7.65 ตัว/ 5ใบ ซึ่งไม่แตกต่างกันในทางสถิติ การพ่นสาร clothianidin, imidacloprid และ thiamethoxam พบจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 12.85, 13.56 และ 14.47 ตัว/5 ใบ ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสาร spinosad และ spiromesifen

หลังพ่นสารแล้ว 7 วัน พบจำนวนเพลี้ยไฟในกรรมวิธีไม่พ่นสารมากที่สุดเฉลี่ย 19.62 ตัว/5 ใบ มากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกกรรมวิธีที่มีการพ่นสาร พบว่ากรรมวิธีพ่นสาร spiromesifen มีจำนวนเพลี้ยไฟน้อยที่สุดเฉลี่ย 3.55 ตัว/ 5ใบ น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการพ่นสารวิธีการอื่นๆ การพ่นสาร spinosad, imidacloprid , clothianidin และ thiamethoxam พบจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 9.25, 11.42, 12.37 และ 13.55 ตัว/5 ใบ ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสาร spiromesifen

หลังการพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 3 วันพบจำนวนเพลี้ยไฟในกรรมวิธีไม่พ่นสารมากที่สุดเฉลี่ย 13.85 ตัว/5 ใบ มากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกกรรมวิธีที่มีการพ่นสาร พบว่ากรรมวิธีพ่นสาร spinosad มีจำนวนเพลี้ยไฟน้อยที่สุดเฉลี่ย 0.47 ตัว/ 5ใบ รองลงมาคือการพ่นสาร spiromesifen ที่พบเฉลี่ย 3.00 ตัว/ 5ใบ ซึ่งไม่แตกต่างกันในทางสถิติ การพ่นสาร imidacloprid, clothianidin และ thiamethoxam พบจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 4.68, 4.78 และ 5.05 ตัว/5 ใบ ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสาร spinosad และ spiromesifen

หลังการพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 5 วันพบจำนวนเพลี้ยไฟในกรรมวิธีไม่พ่นสารมากที่สุดเฉลี่ย 19.90 ตัว/5 ใบ มากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกกรรมวิธีที่มีการพ่นสาร พบว่ากรรมวิธีพ่นสาร spinosad มีจำนวนเพลี้ยไฟน้อยที่สุดเฉลี่ย 0.97 ตัว/ 5ใบ รองลงมาคือการพ่นสาร spiromesifen ที่พบเฉลี่ย 1.35 ตัว/ 5ใบ ซึ่งไม่แตกต่างกันในทางสถิติ การพ่นสาร imidacloprid,

thiamethoxam และ clothianidin พบจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 6.75, 8.22 และ 13.32 ตัว/5 ใบ ตามลำดับ มากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสาร spinosad และ spiromesifen ทั้งนี้จำนวนเพลี้ยไฟในกรรมวิธีพ่นสาร clothianidin พบเพลี้ยไฟมากกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับการพ่นสารวิธีการอื่นๆ ส่วน imidacloprid และ thiamethoxam พบเพลี้ยไฟไม่แตกต่างกันทางสถิติ

หลังการพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 7 วันพบจำนวนเพลี้ยไฟในกรรมวิธีไม่พ่นสารมากที่สุดเฉลี่ย 18.02 ตัว/5 ใบ มากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกกรรมวิธีที่มีการพ่นสาร ยกเว้นการพ่นสาร clothianidin ที่พบเพลี้ยไฟเฉลี่ย 15.20 ตัว/ 5 ใบ พบว่ากรรมวิธีพ่นสาร spiromesifen มีจำนวนเพลี้ยไฟน้อยที่สุดเฉลี่ย 1.02 ตัว/ 5ใบ รองลงมาคือการพ่นสาร spinosad ที่พบเฉลี่ย 3.10 ตัว/ 5ใบ ซึ่งไม่แตกต่างกันในทางสถิติ การพ่นสาร thiamethoxam และ imidacloprid พบจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 10.20 และ 10.42 ตัว/5 ใบ ตามลำดับ มากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสาร spiromesifen แต่ไม่แตกต่างกับ spinosad กรรมวิธีพ่นสาร clothianidin แม้จะพบเพลี้ยไฟไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการพ่นสาร spinosad, thiamethoxam และ imidacloprid แต่จำนวนเพลี้ยไฟไม่แตกต่างจากกรรมวิธีไม่ใช้สาร

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นางประไม จำปาเงิน นางสาวกัญญาภัค ตาแก้ว และนางสาววีณา ทิพย์สุขุม ที่ช่วยดำเนินการทดลองและรวบรวมข้อมูลจนผลงานสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ตารางที่1 แสดงจำนวนเพลี้ยไฟ, *Bathrips melanicornis* และ *Dorcadothrips* sp. ที่พบในโหระพาก่อนและหลังการพ่นสารกรรมวิธีต่างๆที่แปลงเกษตรกร อ.ลาดหลุมแก้ว จ.ปทุมธานี ปี 2554

กรรมวิธี	อัตราการใช้ (ก/มล ต่อน้ำ 20 ลิตร	จำนวนเพลี้ยไฟ (ตัว/5 ใบ)						
		ก่อนพ่น	หลังพ่นสารครั้งที่ 1			หลังพ่นสารครั้งที่ 2		
			3 วัน	5 วัน	7 วัน	3 วัน	5 วัน	7 วัน
Imidacloprid 70%WG	12	5.98 a	8.76 b	13.56 b	11.42 b	4.68 b	6.75 b	10.42 b
Clothianidin 16%SG	15	6.62 a	7.90 b	12.85 b	12.37 b	4.78 b	13.32 c	15.20 bc
Thiamethoxam 25%WG	12	9.55 b	8.55 b	14.47 b	13.55 b	5.05 b	8.22 b	10.20 b
Spiromesifen 24%SC	10	7.35 ab	6.07 ab	6.65 a	3.55 a	3.00 a	1.35 a	1.02 a
Spinosad 12%SC	15	9.72 b	4.10 a	7.65 a	9.25 b	0.47 a	0.97 a	3.10 ab
ไม่พ่นสาร	-	7.50 ab	13.67 c	19.95 c	19.62 c	13.85 c	19.90 d	18.02 c
CV (%)		19.1	16.7	24.9	24.6	23.5	26.8	28.2
RE (%)		-	36.5	34.9	54.2	37.0	44.6	52.1

1/ ค่าเฉลี่ยที่ตัวอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 5 % โดยวิธี DMRT

2221

ทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงประเภทพ่นทางใบป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งในมันสำปะหลัง

Field Trial on Effectiveness of Some Insecticides for Controlling Mealybug on Cassava by Foliar Spray

สุเทพ สหายา พวงผกา อ่างมณี

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังโดยวิธีพ่นทางใบ ดำเนินการที่แปลงเกษตรกร อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 – กันยายน 2554 วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ได้แก่ การพ่นสารฆ่าแมลง thiamethoxam 25%WG, imidacloprid 70%WG, clothianidin 16%SG, white oil 67%EC และ petroleum oil 83.9%EC อัตรา 4 กรัม 4 กรัม 10 กรัม 150 มิลลิลิตร และ 150 มิลลิลิตร ตามลำดับ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร หลังปลูกมันสำปะหลัง 4 เดือน ทำการระบาดเทียมเพลี้ยแป้งแบบท่วมท้น (มากกว่า 100 ตัว/ต้น) ปล่อยให้เพลี้ยแป้งระบาดและกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ ตรวจนับเพลี้ยแป้งจำนวน 10 ยอด/แปลงย่อย ตรวจนับก่อนพ่นสาร และหลังพ่นสาร 5 และ 7วัน ทำการพ่นสาร 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน ผลการทดลองพบว่าการพ่นสารที่มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับ สาร thiamethoxam 25%WG อัตรา 4 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ซึ่งเป็นอัตราแนะนำในการป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งในมันสำปะหลัง คือ imidacloprid 70%WG และ clothianidin 16%SG

คำค้น : มันสำปะหลัง เพลี้ยแป้ง สารฆ่าแมลง การพ่นสารทางใบ

Keywords : Cassava, Cassava mealybug, Insecticides, Foliar spray

---

รหัสการทดลอง 01-07-54-03-01-02-02-54

คำนำ

มันสำปะหลังเป็นพืชอาหารที่สำคัญของโลกเป็นอันดับที่ 5 รองจาก ข้าวสาลี ข้าวโพด ข้าว และมันฝรั่ง สำหรับประเทศไทยมันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ(สถาบันวิจัยพืชไร่, 2547) ประเทศไทยเป็นผู้ผลิตมันสำปะหลังรายใหญ่เป็นอันดับ 3 ของโลก รองจากไนจีเรียและบราซิล แต่ไทยเป็นผู้ส่งออกมันสำปะหลังรายใหญ่ที่สุด ในช่วงปี 2547 – 2551 พื้นที่เก็บเกี่ยวและผลผลิตต่อไร่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในอัตราร้อยละ 4.09, 8.15 และ 3.93 ตามลำดับ เนื่องจากราคาจูงใจให้ขยายพื้นที่ปลูกเพิ่มขึ้น ประกอบกับมีการใช้พันธุ์ดีกระจายไปทั่วพื้นที่ปลูก นอกจากนี้สภาพอากาศที่เอื้ออำนวยและมีการปรับปรุงบำรุงดินการดูแลรักษาที่ดี จึงทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น ปีการผลิต 2551 ไทยมีพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังประมาณ 7.7 ล้านไร่ มีเกษตรกรผู้ปลูกมันสำปะหลัง ประมาณ 480,000 ครัวเรือน ผลผลิตมันหัวสด ประมาณ 25 ล้านตัน จังหวัดที่มีพื้นที่ปลูกมากที่สุดคือ นครราชสีมาประมาณ 1.9 ล้าน การส่งออกระหว่างเดือนมกราคม – ตุลาคม 2551 มีมูลค่าของการส่งออกผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังทั้งมันเส้น มันอัดเม็ดและแป้งมันสำปะหลังดิบ มีมูลค่า 27,123 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจ, 2552)

หลังจากพบการระบาดของเพลี้ยแป้งในมันสำปะหลัง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ได้ดำเนินการวิจัยและมีคำแนะนำในการป้องกันกำจัดแบบผสมผสาน ทั้งการแช่ท่อนพันธุ์ ปล่อยแตนเบียน และพ่นสารรเฉพาะจุดหรือตามแนวขอบแปลงที่พบเพลี้ยแป้ง จึงดำเนินการวิจัยเพิ่มเติมในส่วนของสารประเภทพ่นทางใบ เพื่อให้เกษตรกรมีทางเลือก และเพื่อเป็นข้อมูลสำหรับหาคำแนะนำให้เกษตรกรผู้ปลูกมันสำปะหลัง และปรับปรุงเอกสารวิชาการและคู่มือเกษตรดีที่เหมาะสมสำหรับมันสำปะหลัง ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ท่อนพันธุ์มันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 9
2. แปลงปลูกมันสำปะหลังของแปลงศูนย์วิจัย อ.เมือง จ.สุพรรณบุรี
3. สารป้องกันกำจัดแมลง ได้แก่ thiamethoxam (Actara 25% WG) imidacloprid(Provado 70%WG), clothianidin (Dantoz 16%SG), white oil (Vite oil 67%EC)และpetroleum oil (SK 99 83.9%EC)
4. ถังพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง
5. กระบอกตวงสาร และถังน้ำสำหรับผสมสารฯ
6. ไม้หลักและป้ายสำหรับทำเครื่องหมายแปลงทดลอง

วิธีการ

วางแผนแบบ RCB 4 ซ้ำ มี 6 กรรมวิธี คือแช่ท่อนพันธุ์มันสำปะหลังที่ตัดพร้อมปลูกด้วยสารดังต่อไปนี้

1. thiamethoxam 25% WG	อัตรา 4 กรัม / น้ำ 20 ลิตร
2. imidacloprid 70%WG	อัตรา 4 กรัม / น้ำ 20 ลิตร
3. clothianidin 16%SG	อัตรา 10 กรัม / น้ำ 20 ลิตร
4. white oil 67%EC	อัตรา 150 มิลลิลิตร / น้ำ 20 ลิตร
5. petroleum oil 83.9%EC	อัตรา 150 มิลลิลิตร / น้ำ 20 ลิตร
6. ไม่พ่นสาร(Control)	

ทำการทดลองกับมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 9 อายุประมาณ 6 เดือน ความสูงประมาณ 1 เมตร ขนาดแปลงย่อย 5X5 เมตร สำรวจแปลงมันสำปะหลังที่ระบาดเทียมเพลี้ยแป้งแบบท่วมท้น (มากกว่า 100 ตัว/ต้น) ปล่อยให้มีการแพร่กระจายอย่างสม่ำเสมอ ตรวจนับเพลี้ยแป้งทั้งระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัยด้วยแว่นขยาย 3X ก่อนพ่นสาร และหลังพ่นสารแล้ว 5 และ 7 วัน โดยสุ่มนับจาก 2 แถวกลางของแต่ละแปลงย่อย ๆ 10 ต้น ตรวจนับเพลี้ยแป้งบริเวณกิ่ง ข้อ และใบจากยอดลงมาประมาณ 10 นิ้ว ทำการพ่นสารฆ่าแมลงซ้ำ ห่างจากการพ่นครั้งแรก 7 วัน เปรียบเทียบการทดลองตามกรรมวิธีต่างๆ โดยวิเคราะห์ผลทางสถิติจำนวนเพลี้ยแป้งในแต่ละครั้งที่ตรวจนับด้วยโปรแกรม IRRISTAT โดยแปลงค่าข้อมูลจำนวนเพลี้ยแป้งที่ตรวจนับได้ ด้วยค่า sqaure root (x + 0.5) ก่อนวิเคราะห์ผลทางสถิติ ถ้าจำนวนเพลี้ยแป้งก่อนพ่นสารไม่แตกต่างกันทางสถิติวิเคราะห์ความแปรปรวนหลังพ่นสารด้วยวิธี analysis of variance ถ้าจำนวนเพลี้ยแป้งก่อนพ่นสารแตกต่างกันทางสถิติวิเคราะห์ความแปรปรวนหลังพ่นสารด้วยวิธี analysis of covariance จากนั้นเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT บันทึกผลกระทบของสารทดลองที่มีต่อต้นมันสำปะหลัง (phytotoxicity)

ระยะเวลาและสถานที่ดำเนินการ เริ่มต้น ตุลาคม 2553 – กันยายน 2555 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช แปลงเกษตรกร อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จำนวนเพลี้ยแป้ง (ตารางที่ 1)

ก่อนพ่นสารพบเพลี้ยแป้งในกรรมวิธีต่างๆ เฉลี่ย 76.82 – 93.15 ตัว/ต้น ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างกรรมวิธี

หลังพ่นสารครั้งแรก 5 วัน กรรมวิธีการพ่นสาร thiamethoxam และ clothianidin พบเพลี้ยแป้งเฉลี่ย 62.95 และ 49.15 ตัว/ต้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมี

นัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารที่พบเฉลี่ย 98.07 ตัว/ต้น ส่วนกรรมวิธีการพ่นสาร วิธีการอื่นๆ พบเพลี้ยแป้งเฉลี่ย 78.65 – 91.42 ตัว/ต้น ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร

หลังพ่นสารครั้งแรก 7 วัน กรรมวิธีการพ่นสาร thiamethoxam และ clothianidin พบเพลี้ยแป้งเฉลี่ย 49.97 และ 48.12 ตัว/ต้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารที่พบเฉลี่ย 96.07 ตัว/ต้น กรรมวิธีการพ่นสาร imidacloprid พบเพลี้ยแป้งเฉลี่ย 80.07 ตัว/ต้น มากกว่าและแตกต่างทางสถิติกับการพ่นสาร thiamethoxam และ clothianidin แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ส่วนกรรมวิธีการพ่นสาร white oil และ petroleum oil พบเพลี้ยแป้งเฉลี่ย 86.20 และ 85.37 ตัว/ต้น ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสาร imidacloprid และกรรมวิธีไม่พ่นสาร

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 5 วัน กรรมวิธีพ่นสารทุกกรรมวิธีพบเพลี้ยแป้งเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 11.52 –87.37 ตัว/ต้น น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารที่พบเฉลี่ย 93.12 ตัว/ต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสาร พบว่ากรรมวิธีการพ่นสาร clothianidin พบเพลี้ยแป้งน้อยที่สุดเฉลี่ย 11.52 ตัว/ต้น รองลงมาคือ thiamethoxam ที่พบเพลี้ยแป้งเฉลี่ย 13.80 ตัว/ต้น ทั้งสองกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ กรรมวิธีพ่นสาร imidacloprid พบเพลี้ยแป้งเฉลี่ย 44.05 ตัว/ต้น มากกว่าและแตกต่างทางสถิติกับ clothianidin และ thiamethoxam ส่วนการพ่นสารที่เป็นผลพลอยได้จากน้ำมันปิโตรเลียม ทั้งwhite oil petroleum oil พบเพลี้ยแป้งเฉลี่ย 87.37 และ 85.85 ตัว/ต้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสารเคมีสังเคราะห์

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 7 วัน กรรมวิธีพ่นสารทุกกรรมวิธีพบเพลี้ยแป้งเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 5.10 –11.90 ตัว/ต้น น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารที่พบเฉลี่ย 91.27 ตัว/ต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสาร พบว่ากรรมวิธีการพ่นสาร clothianidin พบเพลี้ยแป้งน้อยที่สุดเฉลี่ย 5.10 ตัว/ต้น รองลงมาคือ thiamethoxam ที่พบเพลี้ยแป้งเฉลี่ย 11.90 ตัว/ต้น ทั้งสองกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ กรรมวิธีพ่นสาร imidacloprid พบเพลี้ยแป้งเฉลี่ย 38.70 ตัว/ต้น มากกว่าและแตกต่างทางสถิติกับ clothianidin และ thiamethoxam ส่วนการพ่นสารที่เป็นผลพลอยได้จากน้ำมันปิโตรเลียม ทั้งwhite oil petroleum oil พบเพลี้ยแป้งเฉลี่ย 84.80 และ 85.95 ตัว/ต้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสารเคมีสังเคราะห์

ตารางที่ 1 จำนวนเพลี้ยแป้งที่พบในมันสำปะหลังจากการพ่นทางใบด้วยสารชนิดต่างๆ ที่ อ.เมือง จ. สุพรรณบุรี ปี 2554

กรรมวิธี	อัตราการใช้ (ก/มล ต่อน้ำ 20 ลิตร	จำนวนเพลี้ยแป้ง (ตัว/ ต้น) 1/				
		ก่อนพ่น	หลังพ่นสารครั้งที่ 1		หลังพ่นสารครั้งที่ 2	
			5 วัน	7 วัน	5 วัน	7 วัน
Thiamethoxam 25%WG	4	90.85	62.95 ab	49.97 a	13.80 a	11.90 a
Clothianidin 16%SG	10	76.82	49.15 a	48.12 a	11.52 a	5.10 a
Imidacloprid 70%WG	4	86.15	78.65 bc	80.07 b	44.05 b	38.70 b
White oil 67%EC	150	88.95	84.90 bc	86.20 bc	87.37 c	84.80 c
petroleum oil 83.9%EC	150	93.15	91.42 bc	85.37 bc	85.85 c	85.95 c
ไม่ใช้สาร	-	88.92	98.07 c	96.07 c	93.12 d	91.27 d
CV (%)		13.5	23.5	40.1	28.2	34.9
RE (%)		-			65.4	44.5

1/ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % วิเคราะห์โดย วิธี Duncan ' S New Multiple Range Test

* ข้อมูลถูกแปลงค่าด้วย Square root X + 0.5 ก่อนวิเคราะห์ผลทางสถิติ

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นางประไม จำปาเงิน นางสาววีณา ทิพย์สุขุม นางสาวกัญญาภัค ตาแก้ว ที่ช่วยดำเนินการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2551. คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืชปี 2551. เอกสารวิชาการสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 295 หน้า.

สถาบันวิจัยพืชไร่. 2547. มันสำปะหลัง. ใน สรุปรายงานผลงานวิจัยพืชไร่ 2547. หน้า 93 – 108.

สุเทพ สหายา. 2552. สารป้องกันกำจัดแมลงและไรศัตรูพืช. เอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตรแมลงสัตว์ศัตรูพืชและการป้องกันกำจัด ครั้งที่ 14. กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 48 หน้า.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2552. ภาวะเศรษฐกิจการเกษตร. http://www.oae.go.th. (22 เม.ย.2552)

ทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งในมันสำปะหลังด้วยวิธีราดโคนต้น

Field Trial on Effectiveness of Some Insecticides for Controlling Mealybug on Cassava By Soil Drenching

สุเทพ สหายา พวงผกา อ่างมณี

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งในมันสำปะหลังด้วยวิธีราดโคนต้น ดำเนินการที่กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และแปลงเกษตรกร อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 – กันยายน 2554 วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ มี 6 กรรมวิธี ได้แก่ การราดโคนต้นด้วยสาร imidacloprid 70%WG , clothianidin 16%SG, dinotefuran 10%WP อัตรา 32, 60 80 กรัม/ไร่ สาร thiamethoxam 25%WG 2 อัตราคือ 32 และ 64 กรัม/ไร่ และไม่ใช้สาร (ราดน้ำเปล่า) โดยผสมสารตามอัตราที่กำหนดผสมกับน้ำ 80 ลิตร/ไร่ แบ่งราดโคนต้นๆ ละ 50 มิลลิลิตร (คำนวณจาก 1 ไร่ มีมันสำปะหลัง 1,600 ต้น) ตรวจนับจำนวนเพลี้ยแป้งก่อนราดสาร และหลังราดสาร 3, 10 และ 17 วัน ผลการทดลองพบว่ากรรมวิธีการราดสาร thiamethoxam 25%WG อัตรา 32 และ 64 กรัม/ไร่ มีประสิทธิภาพในการกำจัดเพลี้ยแป้ง โดยพบจำนวนเพลี้ยแป้งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สาร (ราดน้ำเปล่า) ส่วนวิธีการอื่นๆยังให้ผลไม่ชัดเจน

คำค้น : มันสำปะหลัง เพลี้ยแป้ง สารฆ่าแมลง

Keywords : Cassava, Cassava mealybug, Insecticides, Soil drenching

---

รหัสการทดลอง 01-07-54-03-01-02-01-54

คำนำ

มันสำปะหลังเป็นพืชอาหารที่สำคัญของโลกเป็นอันดับที่ 5 รองจาก ข้าวสาลี ข้าวโพด ข้าว และมันฝรั่ง สำหรับประเทศไทยมันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ(สถาบันวิจัยพืชไร่, 2547) ประเทศไทยเป็นผู้ผลิตมันสำปะหลังรายใหญ่เป็นอันดับ 3 ของโลก รองจากไนจีเรียและบราซิล แต่ไทยเป็นผู้ส่งออกมันสำปะหลังรายใหญ่ที่สุด ในช่วงปี 2547 – 2551 พื้นที่เก็บเกี่ยวและผลผลิตต่อไร่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในอัตราร้อยละ 4.09, 8.15 และ 3.93 ตามลำดับ เนื่องจากราคาจูงใจให้ขยายพื้นที่ปลูกเพิ่มขึ้น ประกอบกับมีการใช้พันธุ์ดีกระจายไปทั่วพื้นที่ปลูก นอกจากนี้สภาพอากาศที่เอื้ออำนวยและมีการปรับปรุงบำรุงดินการดูแลรักษาที่ดี จึงทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น ปีการผลิต 2551 ไทยมีพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังประมาณ 7.7 ล้านไร่ มีเกษตรกรผู้ปลูกมันสำปะหลัง ประมาณ 480,000 ครัวเรือน ผลผลิตมันหัวสด ประมาณ 25 ล้านตัน จังหวัดที่มีพื้นที่ปลูกมากที่สุดคือ นครราชสีมาประมาณ 1.9 ล้าน การส่งออกระหว่างเดือนมกราคม – ตุลาคม 2551 มีมูลค่าของการส่งออกผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังทั้งมันเส้น มันอัดเม็ดและแป้งมันสำปะหลังดิบ มีมูลค่า 27,123 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจ, 2552)

เพลี้ยแป้งในมันสำปะหลัง เริ่มระบาดมาตั้งแต่ปี 2551 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชได้ทำการแนะนำวิธีการป้องกันกำจัดแบบวิธีผสมผสานทั้งการแช่ท่อนพันธุ์ก่อนปลูก การปล่อยแตนเบียนที่มีความเฉพาะเจาะจงกับเพลี้ยแป้งสีชมพู และการพ่นสารเฉพาะบริเวณที่พบเพลี้ยแป้ง (Spot treatment) ซึ่งการพ่นสารทางใบอาจมีผลต่อตัวห้ำตัวเบียนโดยเฉพาะแตนเบียนที่มีการปล่อยในหลายพื้นที่ ดังนั้น การใช้สารแบบราดลงพื้นดินบริเวณโคนต้น (Soil drenching) เป็นเทคนิคการใช้สารแบบใหม่ที่เป็นวิธีการที่จะไม่ส่งผลโดยตรงต่อศัตรูธรรมชาติ การใช้สารวิธีนี้ต้องใช้สารที่มีคุณสมบัติดูดซึม (Systemic insecticides) โดยเฉพาะสารในกลุ่มนีโอนิโคตินอยด์ เช่น imidacloprid, clothianidin, dinotefuran thiamethoxam (สุเทพ, 2552) ดังนั้นจึงดำเนินการวิจัยหาเทคนิคการใช้สารด้วยวิธีราดโคนต้น เพื่อหาวิธีการใช้สารเคมีร่วมกับการปล่อยศัตรูธรรมชาติ เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับแนะนำให้เกษตรกรผู้ปลูกมันสำปะหลัง และปรับปรุงเอกสารวิชาการและคู่มือเกษตรดีที่เหมาะสมสำหรับมันสำปะหลัง ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ท่อนพันธุ์มันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 9
2. แปลงปลูกมันสำปะหลังของเกษตรกร อ.เมือง จ.สุพรรณบุรี
3. สารป้องกันกำจัดแมลง ได้แก่ thiamethoxam (Actara 25% WG) imidacloprid(Provado 70%WG), dinotefuran (Stakle 10% WP), clotianidin (Dantoz 16%SG)

4. เครื่องชั่งละเอียด กระบอกตวงสาร ขนาด 50 และ 100 มิลลิลิตร
5. ไม้หลักและป้ายสำหรับทำเครื่องหมายแปลงทดลอง

วิธีการ

วางแผนแบบ RCB 4 ซ้ำ มี 6 กรรมวิธี คือราดโคนต้นมันสำปะหลัง

1. imidacloprid 70%WG อัตรา 32 กรัม / ไร่
2. clotianidin 16%SG อัตรา 60 กรัม / ไร่
3. dinotefuran 10%WP อัตรา 80 กรัม / ไร่
4. thiamethoxam 25% WG อัตรา 32 กรัม / ไร่
5. thiamethoxam 25% WG อัตรา 64 กรัม / ไร่
6. ราดโคนต้นน้ำเปล่า 50 มิลลิลิตร(Control)

ปลูกมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 9 ในแปลงเกษตรกร พื้นที่ 25 ตารางเมตร หลังปลูก 4 เดือน ทำการระบาดเทียม โดยเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังที่บริเวณยอด โดยปล่อยแบบท่วมท้น (มากกว่า 100 ตัว/ต้น) หลังจากปล่อย 14 วัน ทำการตรวจนับเพลี้ยแป้ง 10 ต้น/แปลงย่อย ตรวจนับทั่วทั้งต้น

ทำการผสมสารตามอัตราที่กำหนดโดยคำนวณอัตราการใช้น้ำ 80 ลิตร/ไร่ (1,600 ต้น/ไร่) ราดสารต้นละ 50 มิลลิลิตร ตรวจนับเพลี้ยแป้งหลังการราดสารที่ 3, 10 และ 17 วัน

นำข้อมูลจำนวนเพลี้ยแป้งมาวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยโปรแกรม IRIRISTAT เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

. **ระยะเวลาและสถานที่ดำเนินการ** เริ่มต้น ตุลาคม 2553 – กันยายน 2555 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และแปลงเกษตรกร อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จำนวนเพลี้ยแป้ง (ตารางที่ 1)

ก่อนใช้สารภายหลังการระบาดเทียมเพลี้ยแป้ง 14 วัน พบเพลี้ยแป้งอยู่ระหว่าง 192.06 – 349.18 ตัว/ต้น ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ

หลังใช้สาร 3 วัน พบเพลี้ยแป้งในกรรมวิธีใช้สารอยู่ระหว่าง 54.58 – 111.05 ตัว/ต้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สารที่พบเฉลี่ย 83.81 ตัว/ต้น

หลังการใช้สาร 10 วัน กรรมวิธีที่ใช้สาร thiamethoxam อัตรา 64 กรัม/ไร่และ clothianidin อัตรา 60 กรัม/ไร่ พบเพลี้ยแป้งเฉลี่ย 13.52 และ 15.72 ตัว/ต้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สารที่พบเฉลี่ย 73.62 ตัว/ต้น การใช้สาร imidacloprid , dinotefuran และ thiamethoxam อัตรา 32, 80 และ 32 กรัม/ไร่ พบเพลี้ยแป้งเฉลี่ย 25.85, 55.89 และ 80.31 ตัว/ต้น ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สาร

หลังการใช้สาร 17 วัน พบแมลงช้างปีกใสซึ่งเป็นตัวห้ำเข้าทำลายเพลี้ยแป้งในทุกกรรมวิธี อย่างไรก็ตามกรรมวิธีที่ใช้สาร thiamethoxam อัตรา 32 และ 64 กรัม/ไร่ พบจำนวนเพลี้ยแป้งเฉลี่ย 4.23 และ 0.25 ตัว/ต้น ตามลำดับ น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สารที่พบเฉลี่ย 27.93 ตัว/ต้น การใช้สาร clothianidin , imidacloprid และ dinotefuran อัตรา 60, 32 และ 80 กรัม/ไร่ พบเพลี้ยแป้งเฉลี่ย 8.79, 24.53 และ 24.85 ตัว/ต้น ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สาร

ตารางที่ 1 จำนวนเพลี้ยแป้งที่พบในมันสำปะหลังจากการราดสารบริเวณโคนต้นด้วยสารชนิดต่างๆ ที่ อ.เมือง จ.สุพรรณบุรี ปี 2554

	อัตราการใช้ (กรัม ต่อไร่)	จำนวนเพลี้ยแป้ง (ตัว/ ต้น) 1/			
		ก่อนใช้สาร	หลังการราดสาร		
			3 วัน	10 วัน	17 วัน
Imidacloprid 70%WG	32	205.35	111.05 b	25.85 ab	24.53 b
Clothianidin 16%SG	60	263.21	80.60 ab	15.72 a	8.79 ab
Dinotefuran 10%WP	80	192.06	74.50 ab	55.89 ab	24.85 b
Thiamethoxam 25%WG	32	349.60	101.18 ab	80.31 b	4.23 a
Thiamethoxam 25%WG	64	206.24	54.58 a	13.52 a	0.25 a
ไม่ใช้สาร (ราดน้ำเปล่า)	-	313.18	83.81 ab	73.62 b	27.93 b
CV (%)		49.7	34.5	23.1	43.1

1/ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % วิเคราะห์โดย วิธี Duncan ' S New Multiple Range Test

หมายเหตุ : ใช้สารผสมอัตรา 50 มิลลิลิตร/ต้น

* จำนวนเพลี้ยแป้งในกรรมวิธีไม่ใช้สารลดลงเนื่องจากมีแมลงช้างปีกใส, *Plesiochrysa ramburi* ซึ่งเป็นแมลงตัวห้ำ

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นางประไม จำปาเงิน นางสาวกัญญาภัค ตาแก้วและนางสาววีณา ทิพย์สุขุม ที่ช่วยดำเนินการทดลองและรวบรวมข้อมูลจนผลงานสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

สุเทพ สหายา. 2552. สารป้องกันกำจัดแมลงและไรศัตรูพืช. เอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตรแมลงสัตว์ศัตรูพืชและการป้องกันกำจัด ครั้งที่ 14. กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 48 หน้า.

การทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลง สารชีวินทรีย์ และสารสกัดจากพืช ในการป้องกันกำจัดหนอนแมลงวันศัตรูเห็ดที่สำคัญในเห็ด

Efficacy test of Bioinsecticide and plant extract for controlling insect pest of mushroom

อุราพร หนูนารถ พิเชษฐ์ เชาววัฒนวงศ์

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลง สารชีวินทรีย์ และสารสกัดจากพืชในการป้องกันกำจัดหนอนแมลงวันศัตรูเห็ดที่สำคัญในเห็ด โดยดำเนินการทดลองที่โรงเพาะเห็ดของเกษตรกร อำเภอบางเลน จังหวัดนครปฐม และ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ระหว่างเดือน ธันวาคม 2553 – มีนาคม 2554 วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ 8 กรรมวิธี คือกรรมวิธีพ่นสารสกัดจากสะเดา (สะเดาไทย), สารสกัดจากขมิ้นชัน, น้ำส้มควันไม้,Diflubenzuron (Dimilin) , ไส้เดือนฝอย, เชื้อแบคทีเรีย (Bacillus thuringensis,เชื้อแบคทีเรีย (Xentari)และกรรมวิธีไม่พ่นสาร

ทดลอง จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดจากสะเดา (สะเดาไทย), สารสกัดจากขมิ้นชัน, ,Diflubenzuron (Dimilin) , ไส้เดือนฝอย, เชื้อแบคทีเรีย (Bacillus thuringensis,เชื้อแบคทีเรีย (Xentari) มีแนวโน้มว่าสามารถป้องกันกำจัดหนอนแมลงวันศัตรูเห็ด

รหัสการทดลอง 01-39-54-02-02-00-02-54

คำนำ

เห็ดภูฏานเป็นเห็ดที่มีคุณค่าทางด้านโภชนาการ และสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่ง เห็ดภูฏานใช้เพาะเป็นการค้ากันอย่างกว้างขวาง ในทุกสภาพอากาศ และได้ขยายพื้นที่ปลูกทั่วประเทศ เนื่องจากได้มีการตื่นตัวเพาะเห็ดกันมาก จึงมีการขยายกิจการเพาะเห็ดอย่างกว้างขวางและรวดเร็ว ต่อมาได้เกิดปัญหาการระบาดของแมลงศัตรูเห็ดชนิดต่างๆเพิ่มขึ้น จากการศึกษาของกอบเกียรติ์ และคณะ (2544) พบหนอนแมลงวัน 4 ชนิด คือ หนอนแมลงวันเซียริด (*Lycoriella* sp.) หนอนแมลงวันฟอริค (*Megaselia* sp.) หนอนแมลงวันซีซิด (*Heteropeza* sp.) และแมลงหวี่ดำ (*Scatopse* sp.) เข้าทำลายก้อนเชื้อเห็ด และดอกเห็ด หนอนผีเสื้อ 2 ชนิด เพลี้ยไฟ แมลงหางดีด และด้วง แต่ในปัจจุบันพบมีการระบาดของหนอนแมลงวันศัตรูเห็ดในโรงเพาะเห็ดเกือบทุกภาคของประเทศ จึงทำการทดสอบประสิทธิภาพสารชีวินทรีย์และสารสกัดจากพืช ในการป้องกันกำจัดหนอนแมลงวันศัตรูเห็ด สำหรับการวางแผนการป้องกันกำจัดทั้งระยะสั้นและระยะยาวต่อไปได้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ก้อนเชื้อเห็ด

2. โรงเพาะเห็ดเกษตรกร

3. ถุงพลาสติก กล่องพลาสติก และชั้นเลี้ยงแมลง

4. แว่นขยาย และกล้องจุลทรรศน์

5. อุปกรณ์อื่นๆที่จำเป็น เช่น แอลกอฮอล์ พู่กัน มีด คีมคีบ ที่นับแมลง เครื่องชั่งน้ำหนัก และกระดาษทิชชู

วิธีการ

วิธีปฏิบัติการทดลอง

สำรวจและเลือกโรงเรือนเพาะเห็ด ทำความสะอาดด้วยน้ำยา Chlorox เพื่อป้องกันกำจัดเชื้อรา หรือพ่น diazion อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นให้ทั่งโรงเรือน นำก้อนเชื้อที่บรรจุเสร็จแล้ว พร้อมใส่หัวเชื้อ เข้าไปในโรงเรือน วางบนแผงซ้อนทับกัน แบ่งเป็นช่อง ๆ บ่มก้อนเชื้อทิ้งไว้ประมาณ 1 เดือน ก่อนเปิดดอกเริ่มพ่นสารตามกรรมวิธีทดลอง ทุก 7 วัน ทำการเช็ดก้อนเชื้อเพื่อ

ตรวจปริมาณก้อนเชื้อที่ถูกทำลาย โดยแมลงศัตรูเห็ด ทั้งจากหนอนแมลงวัน บันทึกจำนวนก้อนเชื้อที่ถูกทำลาย พร้อมกับเก็บผลผลิตเห็ดมาทดสอบพิษตกค้าง บันทึกปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์

ผลและสรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดจากสะเดา (สะเดาไทย), สารสกัดจากขมิ้นชัน, ,Diflubenzuron (Dimilin) , ไส้เดือนฝอย, เชื้อแบคทีเรีย (Bacillus thuringensis,เชื้อแบคทีเรีย (Xentari) มีแนวโน้มว่าสามารถป้องกันกำจัดหนอนแมลงวันศัตรูเห็ด

เอกสารอ้างอิง

กอบเกียรติ์ บันสิทธิ์ พรทิพย์ วิสารทานนท์ ฉัตรไชย ศฤงฆไพบูลย์ และสัจจะ ประสงค์ทรัพย์. 2544. แมลง-ไรศัตรูเห็ดในประเทศไทย. โรงพิมพ์คุรุสภาลาดพร้าว กรุงเทพมหานคร. 80 หน้า.

ประสิทธิภาพสารฆ่าแมลง และสารสกัดจากสะเดาในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ (*Thrips tabaci* Lindeman), แมลงหวี่ขาว (*Bemisia tabaci* Gennadius)

อุราพร หนูนารถ สมรวย รวมชัยอภิกุล รัตนา นชะพงษ์

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การทดสอบประสิทธิภาพสารในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟในหน่อไม่ฝรั่ง ที่แปลงหน่อไม้ฝรั่งของเกษตรกร ที่ อ. ท่ามะกา จ. กาญจนบุรี โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ 8 กรรมวิธี ดังนี้ กรรมวิธีพ่นสาร etofenprox อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ,กรรมวิธพ่นสาร fipronil อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ,กรรมวิธีพ่นสาร imidacloprid 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ,กรรมวิธี พ่น dinotefuran อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ,กรรมวิธีพ่นสาร buprofezin อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร , กรรมวิธี พ่นสาร acetamiprid อัตรา 5 กรัม/น้ำ 20 ลิตร,กรรมวิธีพ่นสาร spinosad 12% SC (Success 120 SC) อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลอง พบว่า กรรมวิธีพ่นสาร spinosad 12 %SC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร และ กรรมวิธีพ่นสาร fipronil 5%SC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟในหน่อไม้ฝรั่ง

รหัสการทดลอง 03-04-54-02-01-01-02-54

คำนำ

หน่อไม้ฝรั่ง (Asparagus)เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ ผลิตเพื่อการส่งออกทั้งในรูปบริโภคสดและผลิตเพื่อแปรรูปทางอุตสาหกรรม ปัญหาสำคัญที่ทำให้ผลผลิตของหน่อไม้ฝรั่งไม่ได้มาตรฐานส่งออกคือศัตรูพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งเพลี้ยไฟ และแมลงหวี่ขาว เป็นแมลงศัตรูที่สำคัญต่อพืชผักเศรษฐกิจหลายชนิด ก่อให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิต ซึ่งเกษตรกรมีการพ่นสารฆ่าแมลง 8 กลุ่ม และ นิยมใช้สารฆ่าแมลงในกลุ่ม Orgonophosphate มากที่สุด จากปัญหาดังกล่าวจึงทำการทดสอบประสิทธิภาพสารเคมีในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ และแมลงหวี่ขาว เพื่อให้ได้สารที่มีประสิทธิภาพดีและปลอดภัยต่อผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม เพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพ เพลี้ยไฟ เป็นแมลงศัตรูที่สำคัญมาก เนื่องจากทำลายพืชผักหลายชนิด ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยทำลายส่วนต่าง ๆ ของพืช โดยดูดกินน้ำเลี้ยงจากเซลล์พืช ทำให้บริเวณที่ถูกดูดมีลักษณะอาการที่แตกต่างกัน เช่นในมะเขือเทศทำให้เกิดรอยด้านที่ผล ทำให้ผลผลิตมีคุณภาพต่ำ การทำลายของเพลี้ยไฟต่อส่วนการเจริญเติบโต ทำให้ยอดดอก ตาอ่อน ไม่เจริญเติบโต ในกรณีของพืชผักที่ส่งออกถึงจะมีความเสียหายไม่ชัดเจนแต่การติดไปของเพลี้ยไฟมีผลกระทบต่อการส่งออกทันที จึงทำการทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงที่มีประสิทธิภาพ ปลอดภัย และผลผลิตปลอดจากศัตรูพืช ได้ดำเนินการทดสอบการป้องกันกำจัด เพลี้ยไฟในหน่อไม้ฝรั่ง เพื่อช่วยลดการระบาดของเพลี้ยไฟได้อย่างมีประสิทธิภาพและแก้ไขปัญหาการส่งออก ได้อีกทางหนึ่ง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- แปลงหน่อไม้ฝรั่ง
- เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง
- สารฆ่าแมลง (etofenprox , fipronil , imidacloprid ,dinotefuran , buprofezin, acetamiprid spinosad 12% SC
- สารป้องกันกำจัดโรคพืช
- ปุ๋ยเคมี

วิธีการ วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ 8 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 พ่นสาร etofenprox อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธที่ 2 พ่นสาร fipronil อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 พ่นสาร imidacloprid อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 พ่นสาร dinotefuran อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 5 พ่นสาร buprofezin อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 6 พ่นสาร acetamiprid อัตรา 5 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 7 พ่นสาร spinosad 12% SC (Success 120 SC) อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 8ไม่พ่นสาร

วิธีปฏิบัติการทดลอง

แปลงหน่อไม้ฝรั่งเกษตรกร ในพื้นที่ 1 ไร่ ขนาดแปลงย่อย 30 ตารางเมตร ปฏิบัติดูแลแปลงหน่อไม้ฝรั่งตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร เริ่มปฏิบัติการทดลองตามกรรมวิธีเมื่อพบการระบาดเข้าทำลายของเพลี้ยไฟสม่ำเสมอทั่วแปลง และทำการพ่นสารทดลองทุก 7 วัน โดยใช้อัตราพ่น 120 ลิตร/ไร่

การบันทึกข้อมูล

ดำเนินการตรวจนับจำนวนเพลี้ยไฟ จำนวน 10 กอ/แปลงย่อย ก่อนพ่นสารทดลองทุกครั้ง และนำข้อมูลที่ได้จากการดำเนินการทดลองตามแผนปฏิบัติงานมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

เวลาและสถานที่

เวลา เดือน มีนาคม –มิถุนายน พ.ศ. 2554
สถานที่ อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี

ผลการทดลอง

<u>การพ่นสารทดลองทดลอง</u> (ตารางที่ 1)

ก่อนการพ่นสารทดลอง พบจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 42.67-55.00 ตัวต่อ 10 กอไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติระหว่างกรรมวิธี จึงวิเคราะห์ข้อมูลเพลี้ยไฟฝ้ายหลังพ่นสารด้วยวิธี Analysis of variance

หลังพ่นสารทดลองครั้งที่ 1

พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสาร มีจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 23.33- 40.67 ตัวต่อ 10 กอ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลอง ซึ่งพบจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 62.67 ตัวต่อ 10 กอ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีพบว่า กรรมวิธีพ่นสาร spinosad 12% SC (Success 120 SC) อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยไฟน้อยที่สุด คือ 13.33 ตัวต่อ 10 กอ รองลงมาคือกรรมวิธีพ่นสาร fipronil อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร,กรรมวิธีพ่นสาร dinotefuran 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร, กรรมวิธีพ่น สาร etofenprox อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร , กรรมวิธีพ่นสาร acetamiprid อัตรา 5 กรัม/น้ำ 20

ลิตร , กรรมวิธีพ่นสาร imidacloprid 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่นสาร buprofezin อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ซึ่งพบเพลี้ยไฟ 23.33,26.33,30.00,34.00, 34.67 และ 40.67 ตัวต่อ 10 กอ ตามลำดับ ซึ่งทุกกรรมวิธีที่ใช้สารมีจำนวนเพลี้ยไฟน้อยกว่าและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่พ่นสารกำจัดแมลง

หลังพ่นสารทดลองครั้งที่ 2

พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสาร มีจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 16.67-32.67 ตัวต่อ 10 กอ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลอง ซึ่งพบจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 72.33 ตัวต่อ 10 กอ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีพบว่ากรรมวิธีพ่นสาร fipronil อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร , กรรมวิธีพ่นสาร dinotefuran 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่น สาร etofenprox อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร พบจำนวนเพลี้ยไฟน้อยที่สุดคือ 16.67,17.67 และ 21.67 ตัวต่อ 10 กอ ตามลำดับ รองลงมาคือกรรมวิธีพ่นสาร spinosad 12% SC (Success 120 SC) อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ,กรรมวิธีพ่นสาร acetamiprid อัตรา 5 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และ กรรมวิธีพ่นสาร imidacloprid 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ซึ่งมีจำนวนเพลี้ยไฟ25.67,28.33 และ 32.67 ตัวต่อ 10 กอ ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีพ่นสาร buprofezin อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยไฟ 43.00 ตัวต่อ 10 กอ ซึ่งทุกกรรมวิธีที่ใช้สารมีจำนวนเพลี้ยไฟน้อยกว่าและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่พ่นสารกำจัดแมลง

หลังพ่นสารทดลองครั้งที่ 3

พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสาร มีจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 32.00-105.00 ตัวต่อ 10 กอ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลอง ซึ่งพบจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 138.33 ตัวต่อ 10 กอ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีพบว่ากรรมวิธีพ่นสาร fipronil อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ,กรรมวิธีพ่นสาร spinosad 12% SC (Success 120 SC) อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ,กรรมวิธีพ่นสาร dinotefuran อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่นสาร imidacloprid อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร พบจำนวนเพลี้ยไฟน้อยที่สุดคือ 32.00,33.67,40.33 และ 46.67 ตัวต่อ 10 กอ ตามลำดับ รองลงมาคือ กรรมวิธีพ่นสาร acetamiprid อัตรา 5 กรัม/น้ำ 20 ลิตรและกรรมวิธีพ่น สาร etofenprox อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร พบจำนวนเพลี้ยไฟ54.67 และ 71.67 ตัวต่อ 10 กอ ส่วนกรรมวิธีพ่นสาร buprofezin อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยไฟ 105.00 ตัวต่อ 10 กอ ซึ่งทุกกรรมวิธีที่ใช้สารมีจำนวนเพลี้ยไฟน้อยกว่าและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่พ่นสารกำจัดแมลง

หลังพ่นสารทดลองครั้งที่ 4

พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสาร มีจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 24.33-55.00 ตัวต่อ 10 กอ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลอง ซึ่งพบจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 158.00 ตัวต่อ 10 กอ เมื่อเปรียบเทียบ

ระหว่างกรรมวิธีพบว่ากรรมวิธีพ่นสาร fipronil อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยไฟน้อยที่สุด คือ 24.33 ตัวต่อ 10 กอ รองลงมาคือ กรรมวิธีพ่นสาร spinosad 12% SC (Success 120 SC) อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร,กรรมวิธีพ่นสาร imidacloprid อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร, กรรมวิธีพ่นสาร acetamiprid อัตรา 5 กรัม/น้ำ 20 ลิตร,กรรมวิธีพ่น สาร etofenprox อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีพ่นสาร buprofezin อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และ กรรมวิธีพ่นสาร dinotefuran อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ซึ่งมีจำนวนเพลี้ยไฟ 30.67, 33.00 ,33.67,45.00,46.33 และ 55.00 ตัวต่อ 10 กอ ซึ่งทุกกรรมวิธีที่ใช้สารมีจำนวนเพลี้ยไฟน้อยกว่าและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่พ่นสารกำจัดแมลง

หลังพ่นสารทดลองครั้งที่ 5

พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสาร มีจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 159.33-455.00 ตัวต่อ 10 กอ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลอง ซึ่งพบจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 527.67 ตัวต่อ 10 กอ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีพบว่า spinosad 12% SC (Success 120 SC) อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตรและกรรมวิธีพ่นสาร fipronil อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยไฟน้อยที่สุดคือ 159.33 และ 175.00 ตัวต่อ 10 กอ ตามลำดับ รองลงมาคือกรรมวิธีพ่นสาร acetamiprid อัตรา 5 กรัม/น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีพ่นสาร imidacloprid 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่นสาร dinotefuran 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ซึ่งพบจำนวนเพลี้ยไฟ 217.00 ,262.67 และ 307.33 ตัวต่อ 10 กอ ส่วนกรรมวิธีพ่นสาร กรรมวิธีพ่นสาร buprofezin อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยไฟ 403.00 ตัวต่อ 10 กอ และกรรมวิธีพ่นสาร etofenprox อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร พบจำนวนเพลี้ยไฟ 455.00 ตัวต่อ 10 กอ ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่พ่นสารกำจัดแมลง

สรุปผลการทดลอง

การทดสอบประสิทธิภาพสารในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟในหน่อไม้ฝรั่ง ที่แปลงหน่อไม้ฝรั่งของเกษตรกร ที่ อ. ท่ามะกา จ. กาญจนบุรี โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ 8 กรรมวิธี ดังนี้ กรรมวิธีพ่นสาร etofenprox อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ,กรรมวิธพ่นสาร fipronil อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ,กรรมวิธีพ่นสาร imidacloprid 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ,กรรมวิธี พ่น dinotefuran อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ,กรรมวิธีพ่นสาร buprofezin อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร , กรรมวิธี พ่นสาร acetamiprid อัตรา 5 กรัม/น้ำ 20 ลิตร,กรรมวิธีพ่นสาร spinosad 12% SC (Success 120 SC) อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลอง พบว่า กรรมวิธีพ่นสาร spinosad 12 %SC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร และ กรรมวิธีพ่นสาร fipronil 5%SC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟในหน่อไม้ฝรั่ง

ตาราง แสดงจำนวนเพลี้ยไฟที่พบในมะระ ก่อนและหลังพ่นสารทดลองตามกรรมวิธีต่างๆ ที่ อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี

กรรมวิธี	อัตราการใช้(กรัม, มล. /น้ำ 20 ลิตร)	ค่าเฉลี่ยจำนวนเพลี้ยไฟ (ตัวต่อ 10 ยอด)					
		ก่อนพ่นสาร ทดลอง	หลังพ่นสารครั้งที่				
			1	2	3	4	5
1.etofenprox	50	57.00	30.00 b	21.67 abc	71.67 c	45.00 b	455.00 cd
2. fipronil	20	54.33	23.33 ab	16.67 a	32.00 a	24.33 a	175.00 a
3. imidacloprid	20	48.67	34.67 b	32.67 cd	46.67 ab	33.00 ab	262.67 ab
4. dinotefuran	20	42.67	26.33 ab	17.67 ab	40.33 ab	55.00 ab	307.33 b
5. buprofezin	20	44.67	40.67 b	43.00 d	1.5.00 d	46.33 b	403.00 c
6. acetamiprid	5	51.33	34.00 b	27.33 c	54.67 bc	33.67 ab	217.00 ab
7. spinosad	20	46.67	33.33 a	25.67 bc	33.67 a	30.67 ab	159.33 a
8.ไม่พ่นสารทดลอง		51.33	62.67 c	72.33 e	138.33 e	158.00 c	527.67 d
CV		26.2	28.8	15.2	15.2	16.0	20.1
RE				25.1	25.1	74.7	64.9

[1] ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

2240

การใช้สารเสริมประสิทธิภาพความแข็งแรงในการป้องกันกำจัดโรคที่เกิดจากแบคทีเรียของกล้วยไม้แวนดาแอสโคเซนดา

ดารุณี ปุญญพิทักษ์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล
ทัศนาพร ทัศคร วิภาดา ทองทักษิณ
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช สถาบันวิจัยพืชสวน

รายงานความก้าวหน้า

กล้วยไม้แวนดาแอสโคเซนดา เป็นกล้วยไม้ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งเนื่องจากมีการส่งออกเป็นจำนวนมากแต่การผลิตกล้วยไม้แวนดาแอสโคเซนดา เพื่อการส่งออกมักพบปัญหากล้วยไม้เป็นโรคซึ่งโรคที่สำคัญ คือ โรคแบคทีเรียได้แก่ โรคเน่าสีน้ำตาล และโรคใบจุด การป้องกันกำจัดโรคใบจุดกล้วยไม้ที่เกิดจากแบคทีเรียทำได้ยากมีสารเคมีเพียงไม่กี่ชนิดที่สามารถใช้ป้องกันกำจัดโรคได้ ได้แก่ สารประกอบทองแดง(copper compounds) และสารแอนติไบโอติก (antibiotic) อย่างไรก็ตามกล้วยไม้บางชนิดอ่อนแอต่อสารประกอบทองแดงและ การใช้สารแอนติไบโอติกมีค่าใช้จ่ายสูงและทำให้แบคทีเรียสาเหตุโรคเกิดการดื้อต่อสารแอนติไบโอติกได้ ดังนั้นการควบคุมโรคกล้วยไม้ที่เกิดจากแบคทีเรียควรใช้วิธีป้องกันการเกิดโรค ถ้าพบการเกิดโรคต้องรีบทำลายทันที ได้มีรายงานการใช้สารเสริมความแข็งแรง เช่น ใช้น้ำปูนใสในการป้องกันกำจัดโรคใบไหม้ที่เกิดจากแบคทีเรียในหอมและกระเทียม การใช้ซิลิคอนในการกำจัดโรคราน้ำค้าง (powdery mildew) ของแตงในระดับเรือนปลูกพืชทดลอง และ ในกล้วยไม้เองนั้นการฉีดพ่นไคโตซานที่รากจะช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโต กระตุ้นการออกดอก และสามารถต้านทานเชื้อราและไวรัส เป็นต้น ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้จึงได้นำสารเสริมต่างๆมาทดสอบกับโรคแบคทีเรียของกล้วยไม้แวนดาแอสโคเซนดา ซึ่งผลการทดลองพบว่ายังไม่สามารถคัดเลือกสารที่มีประสิทธิภาพที่ดีที่สุดได้เนื่องจากกล้วยไม้แวนดาแอสโคเซนดา มีอาการรุนแรงของโรคใกล้เคียงกัน ซึ่งคาดว่าในการทดลองครั้งต่อไปควรปรับปริมาณสารเสริมที่ใช้ให้เหมาะสมและต้องปรับช่วงระยะเวลาการฉีดพ่น ต่อไป

รหัสการทดลอง 01-29-54-02-03-01-01-54

คำนำ

กล้วยไม้เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ไทยครองสัดส่วนการส่งออกกล้วยไม้อันดับหนึ่งของโลก สำหรับมูลค่าการค้ากล้วยไม้ของโลกปี พ.ศ. 2550 สูงกว่า 155 ล้านดอลลาร์สหรัฐ (คิดเป็นมูลค่าประมาณ 5,337 ล้านบาท) โดยไทยเป็นประเทศผู้ส่งออกกล้วยไม้อันดับหนึ่งของโลก โดยเฉพาะกล้วยไม้เมืองร้อน และในปี พ.ศ. 2550 ไทยมีสัดส่วนส่งออกกล้วยไม้ตัดดอกสูงถึงร้อยละ 70 ของตลาดโลก รองลงมาได้แก่ สิงคโปร์ นิวซีแลนด์ เกาหลีใต้ และออสเตรเลียเป็นต้น แต่การผลิตกล้วยไม้ประสบปัญหาการระบาดของศัตรูพืชตลอดปีที่สำคัญได้แก่ เพลี้ยไฟ บั่วหนอน ไรแมงมุมเทียม ไรกาบใบ ทาก หอยทาก โรคใบจุด เส้าเกสรดำ โรคเน่าดำ โรค-กลีบดอกไหม้ และโรคใบปื้นเหลือง ไวรัสที่ติดไปกับต้นพันธุ์ อีกทั้งวัชพืชบางชนิดที่ติดไปกับกล้วยไม้กระถาง นอกจากนี้ในปัจจุบันได้มีการปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้ชนิดใหม่ๆขึ้นมาที่อ่อนแอต่อศัตรูพืช ทำให้แต่การผลิตกล้วยไม้ประสบปัญหามากขึ้น โดยเฉพาะโรคกล้วยไม้ที่เกิดจากแบคทีเรีย แต่เดิมพบเป็นเพียงเล็กน้อย แต่ในปัจจุบันพบปัญหาโรคที่เกิดจากแบคทีเรียระบาดอย่างมาก และด้วยสภาพภูมิอากาศปัจจุบัน ภาวะโลกร้อนได้ส่งผลกระทบโดยทางตรงและทางอ้อมต่อ สภาพแวดล้อมและมนุษย์ และ สิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ โดยเฉพาะจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช ทำมีการปรับสภาพให้มีกิจกรรมต่างๆเปลี่ยนแปลงไป จุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชในเขตร้อน ที่มีการปรับตัวให้รุนแรงขึ้น สามารถเข้าทำลายพืชอาศัยเพิ่มมากขึ้น แบคทีเรีย *Acidovorax avenae pv. cattleyae* สาเหตุโรคใบจุด (leaf spot) ของกล้วยไม้ และ โรคเน่าสีน้ำตาล (brown rot) เกิดจากแบคทีเรีย *Burkholderia gladioli* (*Pseudomonas gladioli)* เช่นกันในช่วง 1-2 ปีที่ผ่านมาพบระบาดเพิ่มมากขึ้น เชื้อแบคทีเรียดังกล่าวเป็นแบคทีเรียที่ชอบอากาศร้อน จึงทำให้มีการปรับตัวให้มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายรุนแรงขึ้น (ปิยะรัตน์ และจงวัฒนา, 2551)

การป้องกันกำจัดโรคใบจุดกล้วยไม้ที่เกิดจากแบคทีเรียทำได้ยาก มีสารเคมีเพียงไม่กี่ชนิดที่สามารถใช้ป้องกันกำจัดโรคได้ ได้แก่ สารประกอบทองแดง(copper compounds) และสารแอนติไบโอติก (antibiotic) อย่างไรก็ตามกล้วยไม้บางชนิดอ่อนแอต่อสารประกอบทองแดง และการใช้สารแอนติไบโอติกมีค่าใช้จ่ายสูง และทำให้แบคทีเรียสาเหตุโรคเกิดการดื้อต่อสารแอนติไบโอติกได้ ดังนั้นการควบคุมโรคกล้วยไม้ที่เกิดจากแบคทีเรียควรใช้วิธีป้องกันการเกิดโรค ถ้าพบการเกิดโรคต้องรีบทำลายทันที ได้มีรายงานการใช้สารเสริมความแข็งแรง เช่น การใช้น้ำปูนใสในการป้องกันกำจัดโรคใบไหม้ที่เกิดจากแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis pv. allii* ของหอมและกระเทียม (นิตยา, 2545) ใช้ ซิลิคอน (silicon) ในการป้องกันการเข้าทำลายของรา *Magnaporthe grisea* สาเหตุโรคไหม้ของข้าว (Hayasaka *et al.* 2008) การใช้ซิลิคอนในการกำจัดโรคราน้ำค้าง (powdery mildew) ของแตงในระดับเรือนปลูกพืชทดลอง (Schuerger and Hammer, 2003)

ได้มีรายงานการใช้ซิลิคอนชักนำให้ผนังเซล (cell wall) ของใบข้าวแข็งแรงซึ่งเป็นกลไกลการต้านทานต่อโรคไหม้ของข้าวที่เป็นไปได้ (Gyu Kim *et al.* 2002) ไคโตซานได้จากไคตินเป็นโพลีแซคคาไรด์ที่พบได้ในธรรมชาติ ตัวอย่างเช่นในเปลือกกุ้ง ปู แมลง ผนังเซลล์ของเชื้อรา และสาหร่ายบางชนิด สำหรับในกล้วยไม้เองนั้นการฉีดพ่นไคโตซานที่รากจะช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโต กระตุ้นการออกดอก และสามารถต้านทานเชื้อราและไวรัสได้อีกด้วย (Chandrkrachang, 2002)

Nge *et al.* (2006) ได้ศึกษาเปรียบเทียบการใช้ไคโตซานที่ระดับต่างๆ กัน ที่มาของไคโตซานจากแหล่งต่างๆกันได้แก่ ไคโตซานจากสัตว์จำพวกครัสเตเชี่ยน (crustacean) หรือพวกปู และกุ้ง และที่มาจากผนังเซลล์ของเชื้อรา นำมาทดสอบผลการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์มในกล้วยไม้ ผลพบว่าไคโตซานสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชบางชนิดได้ เช่น กล้วยไม้ (*Dendrobium phalaenopsis*) โดยพบว่าน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานน้อยส่งผลให้โปรโตคอร์มเจริญได้ผลดีกว่าน้ำหนักโมเลกุลมาก และ ปริมาณที่ใช้ไคโตซานแล้วได้ผลดีอยู่ในช่วง 10-15 ppm (อาหารเหลว) 15-20 ppm (อาหารแข็ง) และพบว่าแหล่งของไคโตซานที่ได้จากผนังเซลล์ของเชื้อราใช้ได้ผลดีกว่าที่ได้จากเปลือกกุ้ง

การใช้คลอรีนทางการเกษตรโดยใช้ในการป้องกันกำจัดโรคพบว่าการใช้คลอรีนสำหรับฆ่าเชื้อโรค จะมีประสิทธิภาพเมื่อใช้ตามอัตราส่วนที่ถูกต้อง และระยะเวลาเหมาะสม ถ้าไม่เหมาะสมอาจเป็นพิษกับพืชได้ (อนุพันธ์, 2542)

ซึ่งสารเสริมดังกล่าวใช้ในการป้องกันกำจัดโรคที่เกิดจากแบคทีเรียที่ได้ผลดีไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม เกษตรกรสามารถใช้ได้ง่ายไม่ยุ่งยาก นอกจากนี้ยังมีการแนะนำให้ใช้คลอรีนในการป้องกันกำจัดอีกด้วยแต่การใช้คลอรีนมีข้อจำกัดในการใช้ถ้าใช้ความเข้มข้นของคลอรีนมากเกินไปทำให้เป็นพิษกับพืชได้ ดังนั้นการทดลองในครั้งนี้มุ่งเน้นการทดลองใช้สารเสริมความแข็งแรงได้แก่ ไคโตซาน ซิลิกอน การใช้น้ำปูนใส และคลอรีนใน การป้องกันกำจัดโรคใบจุดของกล้วยไม้ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae pv. Cattleyae* และ *Burkholderia gladioli* (*Pseudomonas gladioli*)เพื่อเป็นทางเลือกให้กับเกษตรกรในการควบคุมศัตรูพืช

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. กล้วยไม้แวนดาแอสโคเซนดา
2. เชื้อแบคทีเรีย *A. avenae pv. cattleyae และ B. gladioli*
3. สารเสริมประสิทธิภาพต่างๆ ซึ่งได้แก่ ซิลิคอน ไดออกไซด์ แคลเซียม ซิลิเกต ไคโตซาน ปูนแดง ปูนขาว และ คลอรีนผง
4. อุปกรณ์ใช้ในการฉีดพ่นสาร

วิธีการ

1. การทดสอบประสิทธิภาพสารเสริมความแข็งแรงในการป้องกันกำจัดโรคใบจุดของกล้วยไม้ในเรือนปลูกพืชทดลอง

แบบการวิจัย เป็นการทดลองการใช้ชนิดและความเข้มข้นของสารชนิดต่างๆ เช่น ซิลิคอน ไคโตซาน น้ำปูนใส และคลอรีน ในการป้องกันกำจัดโรคแบคทีเรียของกล้วยไม้ โดยทำการทดลองโดยใช้สารก่อนกล้วยไม้เกิดโรคซึ่งเป็นการป้องกันและแบบการใช้สารหลังจากกล้วยไม้เป็นโรคแล้วซึ่งเป็นการรักษา วางแผนการทดลองแบบ Factorial in RCB มี 2 ปัจจัย 12 กรรมวิธี 4 ซ้ำ

ปัจจัย

1. ใช้สารพ่นก่อนกล้วยไม้เกิดโรคซึ่งเป็นการป้องกัน
2. การใช้สารหลังจากกล้วยไม้เป็นโรคแล้ว

กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 ซิลิคอน ไดออกไซด์ ความเข้มข้น 50 กรัมต่อน้ำ 10 ลิตร รดทุก 14 วัน

กรรมวิธีที่ 2 แคลเซียม ซิลิเกต ความเข้มข้น 50 กรัมต่อน้ำ 10 ลิตร รดทุก 14 วัน

กรรมวิธีที่ 3 ไคโตซาน (ออร์คิด 80) ความเข้มข้น 1 ซีซีต่อน้ำ 1 ลิตร รดทุก 14 วัน

กรรมวิธีที่ 4 ปูนแดง จำนวน 1 กิโลกรัม ผสมกับน้ำ 10 ลิตร กวนให้เข้ากันทิ้งไว้ 1 วันใช้เฉพาะน้ำใสจำนวน 1 ส่วนผสมกับน้ำ 4 ส่วน รดต้นกล้วยไม้ทุกวัน

กรรมวิธีที่ 5 ปูนขาว จำนวน 1 กิโลกรัม ผสมกับน้ำ 10 ลิตร กวนให้เข้ากันทิ้งไว้ 2 วันใช้เฉพาะน้ำใสจำนวน 1 ส่วนผสมกับน้ำ 4 ส่วน รดต้นกล้วยไม้ทุกวัน

กรรมวิธีที่ 6 ปูนแดง จำนวน 1 กิโลกรัม ผสมกับน้ำ 20 ลิตร กวนให้เข้ากันทิ้งไว้ 1 วันใช้เฉพาะน้ำใสจำนวน 1 ส่วนผสมกับน้ำ 4 ส่วน รดต้นกล้วยไม้ทุกวัน

กรรมวิธีที่ 7 ปูนขาว จำนวน 1 กิโลกรัม ผสมกับน้ำ 20 ลิตร กวนให้เข้ากันทิ้งไว้ 2 วันใช้เฉพาะน้ำใสจำนวน 1 ส่วนผสมกับน้ำ 4 ส่วน รดต้นกล้วยไม้ทุกวัน

กรรมวิธีที่ 8 คลอรีนผง (แคลเซียมไฮโปรคลอไรต์) ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร รดทุก 14 วัน

กรรมวิธีที่ 9 คลอรีนผง (แคลเซียมไฮโปรคลอไรต์) ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร รดทุก 14 วัน

กรรมวิธีที่ 10 คลอรีนผง (แคลเซียมไฮโปรคลอไรต์) ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร รดทุก 14 วัน

กรรมวิธีที่ 11 สารเคมีคอปเปอร์อ๊อกไซด์ ความเข้มข้น 30 กรัมต่อ 20 ลิตร รดทุก 14 วัน

กรรมวิธีที่ 12 น้ำนึ่งฆ่าเชื้อ

ขั้นตอนและวิธีการวิจัย ดำเนินการตามขั้นตอนต่อไปนี้

1. จัดหาต้นกล้าของกล้วยไม้ พันธุ์แวนดาแอสโคเซนดา ดูแลให้ต้นแข็งแรงในเรือนปลูกพืชทดลอง

2. เตรียมแบคทีเรีย *A. avenae pv. cattleyae* และ *B. gladioli* ที่เก็บรักษาไว้ที่แหล่งเก็บจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร มากระตุ้นให้แข็งแรงพร้อมที่จะปลูกเชื้อบนต้นกล้วยไม้

3. เตรียมสารชนิดต่างๆที่ใช้ในการทดลองตามกรรมวิธี

4. ทดสอบประสิทธิภาพของสารเสริมในสภาพโรงเรือนทดลอง โดยปฏิบัติตามแผนการทดลอง

<u>ปัจจัยที่ 1</u>

1. พ่นสารต่างๆตามกรรมวิธี ทั้ง 12 กรรมวิธี ลงบนต้นกล้วยไม้ ทิ้งไว้ 1 วัน
2. การปลูกเชื้อแบคทีเรีย *A. avenae pv. cattleyae* ใช้วิธีพ่นสารละลายแบคทีเรียที่ความเข้มข้น 10^{4}-10^{5} cfu/ml โดยไม่ทำแผลให้แบคทีเรียเข้าตามธรรมชาติ
3. พ่นสารต่างๆซ้ำ ตามกรรมวิธี ที่วางไว้
4. ตรวจผลการทดลอง โดยการบันทึกอาการของโรคใบจุดหลังปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคทุก 3 วัน โดยการวัดขนาดของแผลและนับจำนวนจุดแผลที่เกิดขึ้น

<u>ปัจจัยที่ 2</u>

1. การปลูกเชื้อแบคทีเรีย *A. avenae* pv. *cattleyae* ใช้วิธีพ่นสารละลายแบคทีเรียที่ความเข้มข้น 10 4-105 cfu/ml โดยไม่ทำแผลให้แบคทีเรียเข้าตามธรรมชาติ ทิ้งไว้ 1 วัน
2. พ่นสารต่างๆตามกรรมวิธี ทั้ง 12 กรรมวิธี ลงบนต้นกล้วยไม้
3. พ่นสารต่างๆซ้ำ ตามกรรมวิธี ที่วางไว้
4. ตรวจผลการทดลอง โดยการบันทึกอาการของโรคใบจุดหลังปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคทุก 3 วัน โดยการวัดขนาดของแผลและนับจำนวนจุดแผลที่เกิดขึ้น

2. การทดสอบประสิทธิภาพสารเสริมความแข็งแรงในการป้องกันกำจัดโรคใบจุดของกล้วยไม้ในแปลงปลูกแวนดาแอสโคเซนดา ตัดดอก

โดยนำผลการทดสอบจากข้อ 13.1 ที่ทดสอบแล้วว่า มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคใบจุดของกล้วยไม้ได้ผลดีที่สุด อย่างน้อย 4 กรรมวิธี มาทดสอบในสภาพแปลงปลูกกล้วยไม้แวนดาแอสโคเซนดา วางแผนการทดลองแบบ RCB ประกอบด้วยอย่างน้อย 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำ_โดยมีสารป้องกันกำจัดโรคพืช คอปเปอร์อ๊อกไซด์ ความเข้มข้น 30 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ

บันทึกผลการทดลอง โดยการบันทึกจำนวนต้นที่เป็นโรค จำนวนแผลและขนาดแผลที่เกิดขึ้นบนกล้วยไม้ทุก 7 วันหลังพ่นสารครั้งแรก

ระยะเวลา ตุลาคม 2553 – กันยายน 2556

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

สำรวจหาแปลงปลูกกล้วยไม้สำรวจหาแปลงปลูกกล้วยไม้แวนดาแอสโคเซนดาใน จ. กาญจนบุรี ราชบุรี เพื่อนำมาใช้ในการทดลอง และเตรียมอุปกรณ์เพื่อใช้ในการฉีดพ่นสารเสริมและซื้อสาร เสริม เช่น ซิลิคอน แคลเซียมซิลิเกต ไคโตซาน น้ำปูนใส และคลอรีน เป็นต้น และทำการวางแผนการทดลอง แบบ Factorial in RCB มี 2 ปัจจัย 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำ จากนั้นเตรียมเชื้อแบคทีเรีย *A. avenae pv. cattleyae* และ *B. gladioli* และทดสอบความรุนแรงของเชื้อ โดยการปลูกเชื้อ *A. avenae pv. cattleyae* และ *B. gladioli* กับกล้วยไม้แวนดาแอสโคเซนดา ก่อนการทดลอง ซึ่งพบว่าเชื้อทั้งสองมีความรุนแรงที่สามารถก่อให้เกิดโรคได้ ทำการปลูกเชื้อและฉีดพ่นสารเสริมต่างๆตามวิธีการทดลอง ซึ่งพบว่า ในการทดลองครั้งแรกยังไม่สามารถคัดเลือกสารที่มีประสิทธิภาพที่ดีที่สุดได้เนื่องจากกล้วยไม้แวนดาแอสโคเซนดา มีอาการรุนแรงของโรคใกล้เคียงกัน ซึ่งคาดว่าในการทดลองครั้งต่อไปควรปรับปริมาณสารเสริมที่ใช้ให้เหมาะสมและต้องปรับช่วงระยะเวลาการฉีดพ่น ต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบประสิทธิภาพสารเสริมความแข็งแรงในการป้องกันกำจัดโรคใบจุดของกล้วยไม้แวนดาแอสโคเซนดา ยังไม่สามารถคัดเลือกสารที่มีประสิทธิภาพที่ดีที่สุดได้เนื่องจากกล้วยไม้แวนดาแอสโคเซนดา มีอาการรุนแรงของโรคใกล้เคียงกัน ซึ่งคาดว่าในการทดลองครั้งต่อไปควรปรับปริมาณสารเสริมที่ใช้ให้เหมาะสมและต้องปรับช่วงระยะเวลาการฉีดพ่น ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

นิตยา กันหลง. 2544. เอกสารวิชาการโรคสำคัญของพืชสกุลหอม กระเทียมในประเทศไทย. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.96 หน้า.

นิยมรัฐ ไตรศรี. 2544. คู่มือโรคไม้ดอกไม้ประดับและการป้องกันกำจัด. กลุ่มวิจัยโรคพืชผักไม้ดอกและไม้ประดับ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพมหานคร. 50 หน้า.

นิยมรัฐ ไตรศรี. 2547. โรคของกล้วยไม้และการป้องกันกำจัด.หน้า 47-74. *ใน* เอกสารวิชาการกล้วยไม้. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และจงวัฒนา พุ่มหิรัญ 2551. การศึกษาโรคกล้วยไม้ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย.รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2551 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

สุเนตรา ภาวิจิตร สุทธิพงษ์ ญาณวารี และ ศิริลักษณ์ โล่สวัสดิ์. 2532. การศึกษาสาเหตุโรคเน่าของกล้วยไม้สกุลหวายทางเคมีและฟิสิกส์. รายงานความก้าวหน้าผลงานวิจัย กลุ่มงานบักเตรีวิทยา กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร หน้า 30-40.

อนุพันธ์ อิฐรัตน์ .2542. ภัยเงียบจากคลอรีน. เอกสารประกอบการบรรยาย ณ ห้องประชุมกำธรสุวรรณกิจ กรมอนามัย.

Chandrkrachang, S.2002. The applications of chitin and chitosan in agriculture in Thailand, in: K. Suchiva, S. Chandrkrachang, P. Methacanon, M.G. Peter (Eds.), Advances in Chitin Science, vol. 5:458-462.

Chuenchitt, S. 1982. A new bacterial disease on orchids Dendrobium sp. caused by Pseudomonas gladioli. Kasetsart J. (Sci) 17 : 27-32.

Hayasaka, T., H. Fujii, and K. Ishiguro. 2008. The Role of Silicon in Preventing Appressorial Penetration by the Rice Blast Fungus. Phytopathology V 98, Number 9: 1038-1044.

Nge, K. L., N. New, S. Chandrkrachang and W. F. Stevens. 2006. Chitosan as a growth stimulator in orchid tissue culture. Plant Science, 170: 1185-1190.

Schuerger, A. and W. Hammer. 2003. Suppression of Powdery Mildew on Greenhouse-Grown Cucumber by Addition of Silicon to Hydroponic Nutrient Solution Is Inhibited at High Temperature. Plant Disease, V 87, Number 2: 177-185.

Gyu Kim, S., K. Woo Kim, E. Woo Park and D. Choi. 2002. Silicon-Induced Cell Wall Fortification of Rice Leaves: A Possible Cellular Mechanism of Enhanced Host Resistance to Blast. Phytopathology V 92, Number 10: 1095-1103.

การใช้สารเสริมความแข็งแรงในการป้องกันกำจัดโรคใบจุดที่เกิดจากแบคทีเรียของกล้วยไม้ (ออนซิเดียม)

ดารุณี ปุญญพิทักษ์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล
ทัศนาพร ทัศคร วิภาดา ทองทักษิณ
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช สถาบันวิจัยพืชสวน

รายงานความก้าวหน้า

กล้วยไม้ออนซิเดียม เป็นกล้วยไม้อีกชนิดหนึ่งที่มักพบมีโรคแบคทีเรียเข้าทำลาย ซึ่งโรคที่สำคัญ โรคใบจุด การป้องกันกำจัดโรคใบจุดกล้วยไม้ที่เกิดจากแบคทีเรียทำได้ยากมีสารเคมีเพียงไม่กี่ชนิดที่สามารถใช้ป้องกันกำจัดโรคได้ ได้แก่ สารประกอบทองแดง(copper compounds) และสารแอนติไบโอติก (antibiotic) อย่างไรก็ตามกล้วยไม้บางชนิดอ่อนแอต่อสารประกอบทองแดงและ การใช้สารแอนติไบโอติกมีค่าใช้จ่ายสูงและทำให้แบคทีเรียสาเหตุโรคเกิดการดื้อต่อสารแอนติไบโอติกได้ ดังนั้นการควบคุมโรคกล้วยไม้ที่เกิดจากแบคทีเรียควรใช้วิธีป้องกันการเกิดโรค ถ้าพบการเกิดโรคต้องรีบทำลายทันที ได้มีรายงานการใช้สารเสริมความแข็งแรง เช่น ใช้น้ำปูนใสในการป้องกันกำจัดโรคใบไหม้ที่เกิดจากแบคทีเรียในหอมและกระเทียม การใช้ซิลิคอนในการกำจัดโรคราน้ำค้าง (powdery mildew) ของแตงในระดับเรือนปลูกพืชทดลอง และ ในกล้วยไม้เองนั้นการฉีดพ่นไคโตซานที่รากจะช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโต กระตุ้นการออกดอก และสามารถต้านทานเชื้อราและไวรัส เป็นต้น ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้จึงได้นำสารเสริมต่างๆมาทดสอบกับโรคแบคทีเรียของกล้วยไม้ออนซิเดียม ซึ่งผลการทดลองพบว่ายังไม่สามารถคัดเลือกสารที่มีประสิทธิภาพที่ดีที่สุดได้เนื่องจากกล้วยไม้ออนซิเดียมมีอาการรุนแรงของโรคใกล้เคียงกัน ซึ่งคาดว่าในการทดลองครั้งต่อไปควรปรับปริมาณสารเสริมที่ใช้ให้เหมาะสมและต้องปรับช่วงระยะเวลาการฉีดพ่น ต่อไป

รหัสการทดลอง 01-29-54-05-01-02-01-54

คำนำ

กล้วยไม้เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ไทยครองสัดส่วนการส่งออกกล้วยไม้อันดับหนึ่งของโลก สำหรับมูลค่าการค้ากล้วยไม้ของโลกปี พ.ศ. 2550 สูงกว่า 155 ล้านดอลลาร์สหรัฐ (คิดเป็นมูลค่าประมาณ 5,337 ล้านบาท) โดยไทยเป็นประเทศผู้ส่งออกกล้วยไม้อันดับหนึ่งของโลก โดยเฉพาะกล้วยไม้เมืองร้อน และในปี พ.ศ. 2550 ไทยมีสัดส่วนส่งออกกล้วยไม้ตัดดอกสูงถึงร้อยละ 70 ของตลาดโลก รองลงมาได้แก่ สิงคโปร์ นิวซีแลนด์ เกาหลีใต้ และออสเตรเลียเป็นต้น แต่การผลิตกล้วยไม้ประสบปัญหาการระบาดของศัตรูพืชตลอดปีที่สำคัญได้แก่ เพลี้ยไฟ บั่ว หนอน ไรแมงมุมเทียม ไรกาบใบ ทาก หอยทาก โรคใบจุด เส้าเกสรดำ โรคเน่าดำ โรค-กลีบดอกไหม้ และโรคใบปื้นเหลือง ไวรัสที่ติดไปกับต้นพันธุ์ อีกทั้งวัชพืชบางชนิดที่ติดไปกับกล้วยไม้กระถาง นอกจากนี้ในปัจจุบันได้มีการปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้ชนิดใหม่ๆขึ้นมาที่อ่อนแอต่อศัตรูพืช ทำให้แต่การผลิตกล้วยไม้ประสบปัญหามากขึ้น โดยเฉพาะโรคกล้วยไม้ที่เกิดจากแบคทีเรีย แต่เดิมพบเป็นเพียงเล็กน้อย แต่ในปัจจุบันพบปัญหาโรคที่เกิดจากแบคทีเรียระบาดอย่างมาก และด้วยสภาพภูมิอากาศปัจจุบัน ภาวะโลกร้อนได้ส่งผลกระทบโดยทางตรงและทางอ้อมต่อ สภาพแวดล้อมและมนุษย์ และ สิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ โดยเฉพาะจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช ทำมีการปรับสภาพให้มีกิจกรรมต่างๆเปลี่ยนแปลงไป จุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชในเขตร้อน ที่มีการปรับตัวให้รุนแรงขึ้น สามารถเข้าทำลายพืชอาศัยเพิ่มมากขึ้น แบคทีเรีย *Acidovorax avenae pv. cattleyae* สาเหตุโรคใบจุด (leaf spot) ของกล้วยไม้ เช่นกันในช่วง 1-2 ปีที่ผ่านมาพบระบาดเพิ่มมากขึ้น เชื้อแบคทีเรียดังกล่าวเป็นแบคทีเรียที่ชอบอากาศร้อน จึงทำให้มีการปรับตัวให้มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายรุนแรงขึ้น (ปิยะรัตน์ และจงวัฒนา, 2551)

การป้องกันกำจัดโรคใบจุดกล้วยไม้ที่เกิดจากแบคทีเรียทำได้ยาก มีสารเคมีเพียงไม่กี่ชนิดที่สามารถใช้ป้องกันกำจัดโรคได้ ได้แก่ สารประกอบทองแดง(copper compounds) และสารแอนติไบโอติก (antibiotic) อย่างไรก็ตามกล้วยไม้บางชนิดอ่อนแอต่อสารประกอบทองแดง และการใช้สารแอนติไบโอติกมีค่าใช้จ่ายสูง และทำให้แบคทีเรียสาเหตุโรคเกิดการดื้อต่อสารแอนติไบโอติกได้ ดังนั้นการควบคุมโรคกล้วยไม้ที่เกิดจากแบคทีเรียควรใช้วิธีป้องกันการเกิดโรค ถ้าพบการเกิดโรคต้องรีบทำลายทันที ได้มีรายงานการใช้สารเสริมความแข็งแรง เช่น การใช้น้ำปูนใสในการป้องกันกำจัดโรคใบไหม้ที่เกิดจากแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis pv. allii* ของหอมและกระเทียม (นิตยา, 2545) ใช้ ซิลิคอน (silicon) ในการป้องกันการเข้าทำลายของรา *Magnaporthe grisea* สาเหตุโรคไหม้ของข้าว (Hayasaka *et al.* 2008) การใช้ซิลิคอนในการกำจัดโรคราน้ำค้าง (powdery mildew) ของแตงในระดับเรือนปลูกพืชทดลอง (Schuerger and Hammer, 2003)

ได้มีรายงานการใช้ซิลิคอนชักนำให้ผนังเซล (cell wall) ของใบข้าวแข็งแรงซึ่งเป็นกลไกลการต้านทานต่อโรคไหม้ของข้าวที่เป็นไปได้ (Gyu Kim *et al.* 2002) ไคโตซานได้จากไคติน

เป็นโพลีแซคคาไรด์ที่พบได้ในธรรมชาติ ตัวอย่างเช่นในเปลือกกุ้ง ปู แมลง ผนังเซลล์ของเชื้อรา และสาหร่ายบางชนิด สำหรับในกล้วยไม้เองนั้นการฉีดพ่นไคโตซานที่รากจะช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโต กระตุ้นการออกดอก และสามารถต้านทานเชื้อราและไวรัสได้อีกด้วย (Chandrkrachang, 2002)

Nge *et al.* (2006) ได้ศึกษาเปรียบเทียบการใช้ไคโตซานที่ระดับต่างๆ กัน ที่มาของไคโตซานจากแหล่งต่างๆกันได้แก่ ไคโตซานจากสัตว์จำพวกครัสเตเชี่ยน (crustacean) หรือพวกปูและกุ้ง และที่มาจากผนังเซลล์ของเชื้อรา นำมาทดสอบผลการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์มในกล้วยไม้ ผลพบว่าไคโตซานสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชบางชนิดได้ เช่น กล้วยไม้ (*Dendrobium phalaenopsis*) โดยพบว่าน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานน้อยส่งผลให้โปรโตคอร์มเจริญได้ผลดีกว่าน้ำหนักโมเลกุลมาก และ ปริมาณที่ใช้ไคโตซานแล้วได้ผลดีอยู่ในช่วง 10-15 ppm (อาหารเหลว) 15-20 ppm (อาหารแข็ง) และพบว่าแหล่งของไคโตซานที่ได้จากผนังเซลล์ของเชื้อราใช้ได้ผลดีกว่าที่ได้จากเปลือกกุ้ง

การใช้คลอรีนทางการเกษตรโดยใช้ในการป้องกันกำจัดโรคพบว่าการใช้คลอรีนสำหรับฆ่าเชื้อโรค จะมีประสิทธิภาพเมื่อใช้ตามอัตราส่วนที่ถูกต้อง และระยะเวลาเหมาะสม ถ้าไม่เหมาะสมอาจเป็นพิษกับพืชได้ (อนุพันธ์, 2542)

ซึ่งสารเสริมดังกล่าวใช้ในการป้องกันกำจัดโรคที่เกิดจากแบคทีเรียที่ได้ผลดีไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม เกษตรกรสามารถใช้ได้ง่ายไม่ยุ่งยาก นอกจากนี้ยังมีการแนะนำให้ใช้คลอรีนในการป้องกันกำจัดอีกด้วยแต่การใช้คลอรีนมีข้อจำกัดในการใช้ถ้าใช้ความเข้มข้นของคลอรีนมากเกินไปทำให้เป็นพิษกับพืชได้ ดังนั้นการทดลองในครั้งนี้มุ่งเน้นการทดลองใช้สารเสริมความแข็งแรงได้แก่ ไคโตซาน ซิลิกอน การใช้น้ำปูนใส และคลอรีนใน การป้องกันกำจัดโรคใบจุดของกล้วยไม้ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae pv. Cattleyae* เพื่อเป็นทางเลือกให้กับเกษตรกรในการควบคุมศัตรูพืช

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. กล้วยไม้ออนซิเดียม
2. เชื้อแบคทีเรีย *A. avenae pv. cattleyae*
3. สารเสริมประสิทธิภาพต่างๆ ซึ่งได้แก่ ซิลิคอน ไดออกไซด์ แคลเซียม ซิลิเกต ไคโตซาน ปูนแดง ปูนขาว และ คลอรีนผง
4. อุปกรณ์ใช้ในการฉีดพ่นสาร

วิธีการ

1. การทดสอบประสิทธิภาพสารเสริมความแข็งแรงในการป้องกันกำจัดโรคใบจุดของกล้วยไม้ในเรือนปลูกพืชทดลอง

แบบการวิจัย เป็นการทดลองการใช้ชนิดและความเข้มข้นของสารชนิดต่างๆ เช่น ซิลิคอน ไคโตซาน น้ำปูนใส และคลอรีน ในการป้องกันกำจัดโรคแบคทีเรียของกล้วยไม้ โดยทำการทดลองโดยใช้สารก่อนกล้วยไม้เกิดโรคซึ่งเป็นการป้องกันและแบบการใช้สารหลังจากกล้วยไม้เป็นโรคแล้วซึ่งเป็นการรักษา วางแผนการทดลองแบบ Factorial in RCB มี 2 ปัจจัย 12 กรรมวิธี 4 ซ้ำ

ปัจจัย

1. ใช้สารพ่นก่อนกล้วยไม้เกิดโรคซึ่งเป็นการป้องกัน
2. การใช้สารหลังจากกล้วยไม้เป็นโรคแล้ว

กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 ซิลิคอน ไดออกไซด์ ความเข้มข้น 50 กรัมต่อน้ำ 10 ลิตร รดทุก 14 วัน

กรรมวิธีที่ 2 แคลเซียม ซิลิเกต ความเข้มข้น 50 กรัมต่อน้ำ 10 ลิตร รดทุก 14 วัน

กรรมวิธีที่ 3 ไคโตซาน (ออร์คิด 80) ความเข้มข้น 1 ซีซีต่อน้ำ 1 ลิตร รดทุก 14 วัน

กรรมวิธีที่ 4 ปูนแดง จำนวน 1 กิโลกรัม ผสมกับน้ำ 10 ลิตร กวนให้เข้ากันทิ้งไว้ 1 วันใช้เฉพาะน้ำใสจำนวน 1 ส่วนผสมกับน้ำ 4 ส่วน รดต้นกล้วยไม้ทุกวัน

กรรมวิธีที่ 5 ปูนขาว จำนวน 1 กิโลกรัม ผสมกับน้ำ 10 ลิตร กวนให้เข้ากันทิ้งไว้ 2 วันใช้เฉพาะน้ำใสจำนวน 1 ส่วนผสมกับน้ำ 4 ส่วน รดต้นกล้วยไม้ทุกวัน

กรรมวิธีที่ 6 ปูนแดง จำนวน 1 กิโลกรัม ผสมกับน้ำ 20 ลิตร กวนให้เข้ากันทิ้งไว้ 1 วันใช้เฉพาะน้ำใสจำนวน 1 ส่วนผสมกับน้ำ 4 ส่วน รดต้นกล้วยไม้ทุกวัน

กรรมวิธีที่ 7 ปูนขาว จำนวน 1 กิโลกรัม ผสมกับน้ำ 20 ลิตร กวนให้เข้ากันทิ้งไว้ 2 วันใช้เฉพาะน้ำใสจำนวน 1 ส่วนผสมกับน้ำ 4 ส่วน รดต้นกล้วยไม้ทุกวัน

กรรมวิธีที่ 8 คลอรีนผง (แคลเซียมไฮโปรคลอไรต์) ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร รดทุก 14 วัน

กรรมวิธีที่ 9 คลอรีนผง (แคลเซียมไฮโปรคลอไรต์) ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร รดทุก 14 วัน

กรรมวิธีที่ 10 คลอรีนผง (แคลเซียมไฮโปรคลอไรต์) ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร รดทุก 14 วัน

กรรมวิธีที่ 11 สารเคมีคอปเปอร์อ๊อกไซด์ ความเข้มข้น 30 กรัมต่อ 20 ลิตร รดทุก 14 วัน

กรรมวิธีที่ 12 น้ำนึ่งฆ่าเชื้อ

ขั้นตอนและวิธีการวิจัย ดำเนินการตามขั้นตอนต่อไปนี้

1. จัดหาต้นกล้าของกล้วยไม้ พันธุ์ออนซิเดียม ดูแลให้ต้นแข็งแรงในเรือนปลูกพืชทดลอง

2. เตรียมแบคทีเรีย *A. avenae pv. cattleyae* ที่เก็บรักษาไว้ที่แหล่งเก็บจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร มากระตุ้นให้แข็งแรงพร้อมที่จะปลูกเชื้อบนต้นกล้วยไม้

3. เตรียมสารชนิดต่างๆที่ใช้ในการทดลองตามกรรมวิธี

4. ทดสอบประสิทธิภาพของสารเสริมในสภาพโรงเรือนทดลอง โดยปฏิบัติตามแผนการทดลอง

ปัจจัยที่ 1

1. พ่นสารต่างๆตามกรรมวิธี ทั้ง 12 กรรมวิธี ลงบนต้นกล้วยไม้ ทิ้งไว้ 1 วัน
2. การปลูกเชื้อแบคทีเรีย *A. avenae pv. cattleyae* ใช้วิธีพ่นสารละลายแบคทีเรียที่ความเข้มข้น 10^{4}-10^{5} cfu/ml โดยไม่ทำแผลให้แบคทีเรียเข้าตามธรรมชาติ
3. พ่นสารต่างๆซ้ำ ตามกรรมวิธี ที่วางไว้
4. ตรวจผลการทดลอง โดยการบันทึกอาการของโรคใบจุดหลังปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคทุก 3 วัน โดยการวัดขนาดของแผลและนับจำนวนจุดแผลที่เกิดขึ้น

ปัจจัยที่ 2

1. การปลูกเชื้อแบคทีเรีย *A. avenae* pv. *cattleyae* ใช้วิธีพ่นสารละลายแบคทีเรียที่ความเข้มข้น 10 4-105 cfu/ml โดยไม่ทำแผลให้แบคทีเรียเข้าตามธรรมชาติ ทิ้งไว้ 1 วัน
2. พ่นสารต่างๆตามกรรมวิธี ทั้ง 12 กรรมวิธี ลงบนต้นกล้วยไม้
3. พ่นสารต่างๆซ้ำ ตามกรรมวิธี ที่วางไว้
4. ตรวจผลการทดลอง โดยการบันทึกอาการของโรคใบจุดหลังปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคทุก 3 วัน โดยการวัดขนาดของแผลและนับจำนวนจุดแผลที่เกิดขึ้น

2. การทดสอบประสิทธิภาพสารเสริมความแข็งแรงในการป้องกันกำจัดโรคใบจุดของกล้วยไม้ในแปลงปลูกออนซิเดียม

โดยนำผลการทดสอบจากข้อ 13.1 ที่ทดสอบแล้วว่า มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคใบจุดของกล้วยไม้ได้ผลดีที่สุด อย่างน้อย 4 กรรมวิธี มาทดสอบในสภาพแปลงปลูกกล้วยไม้ออนซิเดียม วางแผนการทดลองแบบ RCB ประกอบด้วยอย่างน้อย 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำ โดยมีสารป้องกันกำจัดโรคพืช คอปเปอร์อ๊อกไซด์ ความเข้มข้น 30 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ

บันทึกผลการทดลอง โดยการบันทึกจำนวนต้นที่เป็นโรค จำนวนแผลและขนาดแผลที่เกิดขึ้นบนกล้วยไม้ทุก 7 วันหลังพ่นสารครั้งแรก

ระยะเวลา ตุลาคม 2553 – กันยายน 2556

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

สำรวจหาแปลงปลูกกล้วยไม้สำรวจหาแปลงปลูกกล้วยไม้ออนซิเดียม ใน จ. กาญจนบุรี ราชบุรี เพื่อนำมาใช้ในการทดลอง และเตรียมอุปกรณ์เพื่อใช้ในการฉีดพ่นสารเสริมและซื้อสาร เสริม เช่น ซิลิคอน แคลเซียมซิลิเกต ไคโตซาน น้ำปูนใส และคลอรีน เป็นต้น และทำการวางแผนการทดลอง แบบ Factorial in RCB มี 2 ปัจจัย 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำ จากนั้นเตรียมเชื้อแบคทีเรีย *A. avenae pv. cattleyae* และทดสอบความรุนแรงของเชื้อ โดยการปลูกเชื้อ *A. avenae pv. cattleyae* กับกล้วยไม้ออนซิเดียม ก่อนการทดลอง ซึ่งพบว่าเชื้อมีความรุนแรงที่สามารถก่อให้เกิดโรคได้ ทำการปลูกเชื้อและฉีดพ่นสารเสริมต่างๆตามวิธีการทดลอง ซึ่งพบว่า ในการทดลองครั้งแรกยังไม่สามารถคัดเลือกสารที่มีประสิทธิภาพที่ดีที่สุดได้เนื่องจากกล้วยไม้ออนซิเดียมอาการรุนแรงของโรคใกล้เคียงกัน ซึ่งคาดว่าในการทดลองครั้งต่อไปควรปรับปริมาณสารเสริมที่ใช้ให้เหมาะสมและต้องปรับช่วงระยะเวลาการฉีดพ่น ต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบประสิทธิภาพสารเสริมความแข็งแรงในการป้องกันกำจัดโรคใบจุดของกล้วยไม้ออนซิเดียม ยังไม่สามารถคัดเลือกสารที่มีประสิทธิภาพที่ดีที่สุดได้เนื่องจากกล้วยไม้ออนซิเดียม มีอาการรุนแรงของโรคใกล้เคียงกัน ซึ่งคาดว่าในการทดลองครั้งต่อไปควรปรับปริมาณสารเสริมที่ใช้ให้เหมาะสมและต้องปรับช่วงระยะเวลาการฉีดพ่น ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

นิตยา กันหลง. 2544. เอกสารวิชาการโรคสำคัญของพืชสกุลหอม กระเทียมในประเทศไทย. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.96 หน้า.

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และจงวัฒนา พุ่มหิรัญ 2551. การศึกษาโรคกล้วยไม้ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย.รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2551 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

อนุพันธ์ อิฐรัตน์ .2542. ภัยเงียบจากคลอรีน. เอกสารประกอบการบรรยาย ณ ห้องประชุมกำธรสุวรรณกิจ กรมอนามัย.

Chandrkrachang, S.2002. The applications of chitin and chitosan in agriculture in Thailand, in: K. Suchiva, S. Chandrkrachang, P. Methacanon, M.G. Peter (Eds.), Advances in Chitin Science, vol. 5:458-462.

Hayasaka, T., H. Fujii, and K. Ishiguro. 2008. The Role of Silicon in Preventing Appressorial Penetration by the Rice Blast Fungus. Phytopathology V 98, Number 9: 1038-1044.

Nge, K. L., N. New, S. Chandrkrachang and W. F. Stevens. 2006. Chitosan as a growth stimulator in orchid tissue culture. Plant Science, 170: 1185-1190.

Schuerger, A. and W. Hammer. 2003. Suppression of Powdery Mildew on Greenhouse-Grown Cucumber by Addition of Silicon to Hydroponic Nutrient Solution Is Inhibited at High Temperature. Plant Disease, V 87, Number 2: 177-185.

Gyu Kim, S., K. Woo Kim, E. Woo Park and D. Choi. 2002. Silicon-Induced Cell Wall Fortification of Rice Leaves: A Possible Cellular Mechanism of Enhanced Host Resistance to Blast. Phytopathology V 92, Number 10: 1095-1103.

การตรวจสอบเชื้อ *Candidatus* Liberibacter species สาเหตุโรคฮวงลองบิง (กรีนนิ่ง) ด้วยเทคนิค Real-time PCR

Detection *Candidatus* Liberibacter species cause of Huanglongbing (Greening) disease by Real-time PCR

ดารุณี ปุญญพิทักษ์ เยาวภา ตันติวานิช ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานก้าวหน้า

โรคฮวงลองบิง (Citrus Huanglongbing, HLB) หรือ ที่ประเทศไทยนิยม เรียกว่า โรคกรีนนิ่ง (Citrus greening) เป็นโรคที่สำคัญที่สุดของพืชตระกูลส้ม โรคนี้เกิดจากเชื้อแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในท่ออาหาร Fastidious phloem-limited bacteria (FLB) หรือ Bacteria-like organism (BLO) ที่มีชื่อว่า *Candidatus* Liberibacter species เมื่อส้มถูกเชื้อ *Ca.* Liberibacter เข้าทำลายจะแสดงอาการใบเล็กเหลืองคล้ายอาการโรคใบแก้วซึ่งเกิดจากการขาดธาตุสังกะสี ใบด่าง ใบด่างเส้น ใบเขียว ใบแก่หนา และหยาบโค้งเส้นใบแตก กิ่งแห้ง ผลร่วง ต้นส้มแสดงอาการทรุดโทรม เนื่องจากอาการของโรคมีความหลากหลาย และ มีอาการคล้ายขาดธาตุอาหารทำให้การวินิจฉัยโรคทางสายตาไม่สามารถยืนยันการเป็นโรคได้ การตรวจสอบโรคฮวงลองบิง มีหลายวิธี เช่น การตรวจสอบด้วยพืชอาศัย วิธี ELISA วิธี IF และวิธี PCR แต่วิธีการทั้งหมดที่กล่าวมาต้องใช้ระยะเวลานานกว่าจะทราบผลการตรวจสอบ อีกทั้งเชื้อต้องมีปริมาณมากจึงจะสามารถตรวจสอบได้ ดังนั้นจึงได้นำเทคนิค Real-time PCR ซึ่งเป็นวิธีที่ได้พัฒนามาจากวิธี PCR สามารถตรวจสอบโรคได้อย่างรวดเร็ว ถูกต้องแม่นยำ แม้ว่าจะมีปริมาณเชื้อเพียงเล็กน้อย หรือ แม้กระทั่งต้นส้มไม่แสดงอาการของโรค แต่ซึจากการการทดลอง พบว่าผลการทดสอบด้วยเทคนิค Real-time PCR ที่ได้ในแต่ละครั้งที่ทำการทดลองยังไม่แน่นอน และไม่ชัดเจน คาดว่าต้องทำการออกแบบไพรเมอร์ใหม่และปรับสภาพอุณหภูมิ

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-03-02-01-54

คำนำ

โรคฮวงลองบิง (Citrus Huanglongbing, HLB) หรือ ที่ประเทศไทยนิยม เรียกว่า โรคกรีนนิ่ง (Citrus greening) เป็นโรคที่สำคัญที่สุดของพืชตระกูลส้ม เนื่องจากโรคนี้สามารถเข้าทำลายส้มทุกพื้นที่ที่มีการปลูกส้มทั่วโลก เช่น ประเทศในทวีปเอเชีย อนุทวีปอินเดีย แอฟริกา เอมริกาเหนือ และอเมริกาใต้ โรคนี้เกิดจากเชื้อแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในท่ออาหาร Fastidious phloem-limited bacteria (FLB) หรือ Bacteria-like organism (BLO) ที่มีชื่อว่า *Candidatus* Liberibacter species ซึ่งมีแมลงเพลี้ยไก่แจ้ส้มเป็นพาหะนำโรค (Bove', 2006; Li *et al*.,, 2007; Tatineni *et al*., 2008) สำหรับประเทศไทยมีรายงานว่า พบโรคฮวงลองบินเมื่อ พ.ศ. 2516 โดยกลุ่มงานไวรัสวิทยา กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร สัณนิษฐานว่าน่าจะถูกนำเข้าจากประเทศจีน โดยการลักลอบนำเข้าพันธุ์ส้มต่างๆ จากประเทศจีน (ไมตรี, 2548) เมื่อส้มถูกเชื้อ *Ca.* Liberibacter เข้าทำลายจะแสดงอาการใบเล็กเหลืองคล้ายอาการโรคใบแก้วซึ่งเกิดจากการขาดธาตุสังกะสี ใบด่าง ใบด่างเส้น ใบเขียว ใบแก่หนาและหยาบโค้งเส้นใบแตก กิ่งแห้ง ผลร่วง ต้นส้มแสดงอาการทรุดโทรม (ไมตรี, 2548; Nakashima *et al*.,1998;Ohutsu *et at*., 1998; Bove, 2006; Li *et al*., 2007) เนื่องจากอาการของโรคมีความหลากหลาย และ มีอาการคล้ายขาดธาตุอาหารทำให้การวินิจฉัยโรคทางสายตาไม่สามารถยืนยันการเป็นโรคได้ การตรวจสอบโรคฮวงลองบิง มีหลายวิธี เช่น การตรวจสอบด้วยพืชอาศัย วิธี ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay) วิธี IF (Immuno fluorescence test) และวิธี PCR (Polymerase chain reaction) แต่วิธีการทั้งหมดที่กล่าวมาต้องใช้ระยะเวลานานกว่าจะทราบผลการตรวจสอบ อีกทั้งเชื้อต้องมีปริมาณมากจึงจะสามารถตรวจสอบได้ ส่วนวิธี Real-time PCR เป็นวิธีที่ได้พัฒนามาจากวิธี PCR สามารถตรวจสอบโรคได้อย่างรวดเร็ว ถูกต้องแม่นยำ แม้ว่าจะมีปริมาณเชื้อเพียงเล็กน้อย หรือ แม้กระทั่งต้นส้มไม่แสดงอาการของโรค ทำให้สามารถกำจัดต้นส้มที่เป็นโรคได้อย่างรวดเร็วและลดการแพร่ระบาดของโรค

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่อง Real-time PCR
2. เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง
3. สารเคมีที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ
4. เอ็นไซม์ต่างๆ ใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ

วิธีการ

1. สืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับการตรวจสอบเชื้อ *Ca.* Liberibacter species ด้วยเทคนิค Real-time PC R เตรียมสารเคมีและอุปกรณ์สำหรับใช้ในการสกัดดีเอ็นเอและตรวจสอบเชื้อ *Ca.* Liberibacter species

2. เตรียมสารเคมีและอุปกรณ์สำหรับใช้ในการสกัดดีเอ็นเอและตรวจสอบเชื้อ *Ca.* Liberibacter species จากนั้นทำการออกแบบ probe และ primer ให้มีความเฉพาะเจาะจง ต่อเชื้อ *Ca.* Liberibacter species

2. สกัดดีเอ็นเอจากเส้นกลางใบส้มด้วย CTAB buffer

3. ทดสอบหาสภาพที่เหมาะสมของปฏิกิริยา Real time PCR โดยการหา Tm ที่เหมาะสมของไพรเมอร์ เพื่อนำมาทำการทดสอบปฏิกิริยา Real time PCR จะได้อุณหภูมิในการจับคู่ไพรเมอร์กับดีเอ็นเอต้นแบบ (annealing temperature) ที่เหมาะสม ตลอดจนทดสอบหาเวลาที่เหมาะสมในการทำปฏิกริยาในแต่ละช่วงเวลา

4. ทดสอบสภาวะที่เหมาะสมของ Real time PCR เพื่อหา crossing point และ วิเคราะห์หา melting curve

5. ทดสอบความจำเพาะ (specificity) และความไว (sensitivity) ของปฏิกิริยา Real time PCR ในการตรวจเชื้อ *Ca.* Liberibacter species

6. ทดสอบเทคนิค Real time PCR ในการตรวจหาเชื้อ *Ca.* Liberibacter species จากตัวอย่างโรคฮวงลองบิง ที่เก็บจากแปลงปลูก โดยสุ่มเก็บตัวอย่างที่แสดงอาการโรคฮวงลองบิงจำนวน 10 % จากตัวอย่างส้มทั้งหมดในแปลงปลูก

7. การใช้วิธี Real-time PCR ในการตรวจวินิจฉัยโรคฮวงลองบิง ในแปลงปลูก

ระยะเวลา	ตุลาคม 2553 – กันยายน 2556
สถานที่	กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช สวนส้มของเกษตรกร จากจังหวัดต่างๆใน ภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉลียงเหนือ ภาคตะวันตก และภาคใต้

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

สืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับการตรวจสอบเชื้อ *Ca.* Liberibacter species ด้วยเทคนิค Real-time PCR พบว่าไพรเมอร์จากลำดับเบสในช่วง 16S rDNA ของเชื้อ *Ca.* Liberibacter species มีความเฉพาะเจาะจงกับเชื้อ *Ca.* Liberibacter species จึงได้ทำการออกแบบ probe และ primer ให้มีความเฉพาะเจาะจง ต่อเชื้อ *Ca.* Liberibacter species ในช่วงนี้ พร้อมทั้งเตรียม

สารเคมีและอุปกรณ์สำหรับใช้ในการสกัดดีเอ็นเอและตรวจสอบเชื้อ *Ca.*Liberibacter species จากนั้นทำการสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างส้ม นำตัวอย่างดีเอ็นเอที่สกัดได้มาทดสอบหาสภาพที่เหมาะสมของปฏิกิริยา Real-time PCR และทดสอบความจำเพาะ และความไวของปฏิกิริยา Real-time PCR ซึ่งจากการทดลองพบว่าผล Real-time PCR ที่ได้ในแต่ละครั้งที่ทำการทดลองยังไม่แน่นอน และไม่ชัดเจน คาดว่าต้องทำการออกแบบไพรเมอร์ใหม่ และปรับสภาพอุณหภูมิ เพื่อให้การตรวจสอบมีความชัดเจนและแม่นยำมากยิ่งขึ้น

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการการใช้เทคนิค Real-time PCR นำมาตรวจสอบโรคฮวงลองบิง ซึ่งเชื้อสาเหตุคือ *Ca.* Liberibacter species โดยทำการออกแบบ probe และ primerให้มีความเฉพาะเจาะจง ต่อเชื้อ *Ca.* Liberibacter species และทดสอบหาสภาพที่เหมาะสมของปฏิกิริยา Real-time PCR และทดสอบความจำเพาะ และความไวของปฏิกิริยา Real-time PCR พบว่าผล Real-time PCR ที่ได้ในแต่ละครั้งที่ทำการทดลองยังไม่แน่นอน และไม่ชัดเจน คาดว่าต้องทำการออกแบบไพรเมอร์ใหม่และปรับสภาพอุณหภูมิ ดังนั้นเพื่อให้การตรวจสอบมีความชัดเจนและแม่นยำมากยิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

ไมตรี พรหมมินทร์. 2548. เอกสารวิชาการ โรคทรุดโทรมของส้มและแนวทางฟื้นฟูการทำสวนส้มในประเทศไทย. กรมวิชาการเกษตร. 88 น.

Bové, J. M. 2006. Huanglongbing: A destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. J. Plant Patho. 88: 7-37.

Li, W. B., J.S. Hartung and L. Levy. 2006. Quantitative real-time PCR for detection and identification of *Candidatus* Liberibacter species asscociated with citrus huanglongbing. J. Microbiol. Methods. 66: 104-115.

Li, W. B., J.S. Hartung and L. Levy. 2007. Evalution of DNA amplification methods for improved detection of "*Candidatus* Liberibacter species" asscociated with citrus huanglongbing. Plant Dis. 91: 51-58.

Nakashima, K., M. Prommintara and Y. Ohtsu. 1998. Detection of citrus greening organism in citrus plants and psylla diaphorina citri in Thailand. Annals of the Phytopathological Society of Japan. Vol. 64, No. 3 p.153-159.

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.

Tatineni, S. U.S. Shankar, S. Gowda, C. J. Robertson, W.D. Dawson, T. Iwannami and N. Wang. 2008. In planta distribution of '*Candidatus* Liberibacter asiaticus' as revealed by polymerase chain reaction (PCR) and real- time PCR. Phytopathology. 98: 592-599.