

Annual Report



2012



กรมวิชาการเกษตร
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

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



เล่ม ๔

ผลงานวิจัย

ประจำปี **๒๕๕๔**

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Plant Protection Research and Development Office

เอกสารวิชาการเลขที่ ๑/๒๕๕๖

Annual Report

2012

กรมวิชาการเกษตร
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์





รายงาน
ผลงานวิจัยประจำปี ๒๕๕๕
เล่ม ๔

เอกสารวิชาการเลขที่ ๑/๒๕๕๖

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

คำนำ

“รายงานผลงานวิจัย ประจำปี ๒๕๕๕” เป็นเอกสารวิชาการที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จัดทำต่อเนื่องติดต่อกัน ๑๐ ปี จากผลงานวิจัยของนักวิจัย จากกลุ่มกีฏและสัตววิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช กลุ่มวิจัยวัชพืช กลุ่มวิจัยการกักกันพืช และกลุ่มบริหารศัตรูพืช ที่ดำเนินงานด้วยงบประมาณ ภายใต้ **แผนงานวิจัยและพัฒนา กรมวิชาการเกษตร ปี ๒๕๕๔ - ๒๕๕๘** ประกอบด้วยผลงานวิจัยชุดโครงการวิจัย พัฒนาการอารักขาพืชที่ครอบคลุม ๕ โครงการวิจัย ได้แก่ วิจัยและพัฒนาระบบควบคุมศัตรูพืชทางการเกษตรโดยชีววิธี การศึกษาและพัฒนาประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช วิจัยการกักกันพืช และอนุกรมวิธานชีววิทยาและเทคนิคการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ และวิจัยมาตรการสุขอนามัยพืชในการนำเข้าสินค้าเกษตร และชุดโครงการวิจัยด้านอื่น ๆ ได้แก่ การคุ้มครองพันธุ์พืช พืชผัก เห็ด ไม้ดอกไม้ประดับ พืชไร่เศรษฐกิจ ไม้ผลเศรษฐกิจ และพืชเศรษฐกิจเฉพาะพื้นที่ เป็นการรวมการดำเนินงานจาก ๒๘ ชุดโครงการวิจัย ๔๓ โครงการวิจัย ๖๕ กิจกรรม ที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชต้องรับผิดชอบ ในฐานะหัวหน้าการทดลอง รวมจำนวนการทดลองทั้งสิ้น ๓๐๘ การทดลอง เป็นการทดลองร่วม ๒ การทดลอง

การจัดทำรายงานผลงานวิจัยเล่มนี้ เสร็จสมบูรณ์ เพราะนักวิจัยทุกท่าน จากกลุ่มวิชาการของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช มุ่งหวังจะเผยแพร่ผลงานด้านอารักขาพืชที่ตนได้วิจัยด้วยความภาคภูมิใจ และมุ่งมั่น ให้ผู้สนใจได้นำข้อมูลไปใช้ประโยชน์ ทั้งการอ้างอิง การประยุกต์เพื่อขยายผล ตลอดจนการต่อยอดผลงานวิจัย สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จึงขอขอบคุณผู้เกี่ยวข้องทุกท่านไว้ในโอกาสนี้ด้วย

(นายสุจินต์ แม้นเหมือน)

ผู้อำนวยการสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

สิงหาคม ๒๕๕๖

สารบัญ

หน้า

รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2555 เล่มที่ 1.....	1 - 683
รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2555 เล่มที่ 2.....	684 - 1450
รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2555 เล่มที่ 3.....	1451 - 2218
รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2555 เล่มที่ 4.....	2219 - 2997

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการเพิ่มผลผลิตอ้อย

โครงการวิจัย การบริหารจัดการศัตรูอ้อย 01-05-54-02

กิจกรรม การเพิ่มประสิทธิภาพการจัดการวัชพืชในอ้อยเพื่อลดต้นทุนการผลิต

กิจกรรมย่อย -

- การทดลอง ➤ ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของ.....2861
สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอก (pre-emergence)
ในอ้อยปลูกใหม่
01-05-54-02-01-00-01-54
- ❖ สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ
- ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของ.....2871
สารกำจัดวัชพืชประเภทหลังงอก (post-emergence)
ในอ้อยปลูกใหม่ และอ้อยต่อ
01-05-54-02-01-00-02-54
- ❖ สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ
- ศึกษาการจัดการวัชพืชประเภทเถาเลื้อยในอ้อย.....2886
01-05-54-02-01-00-03-54
- ❖ สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ
- ศึกษาสถานการณ์การระบาดของและการจัดการ.....2817
ปัญหาวัชพืชด้านทานสารกำจัดวัชพืชในอ้อย
01-05-54-02-01-00-06-55
- ❖ จรรยา มณีโชติ และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาไขมันสำปะหลัง

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการอารักขาพืชในมันสำปะหลัง 01-07-54-03

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาวิธีการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูมันสำปะหลัง

กิจกรรมย่อย การศึกษาอนุกรมวิธาน นิเวศวิทยาของแมลงและไรศัตรูมันสำปะหลัง

การทดลอง ➤ อนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้งในมันสำปะหลัง.....2642

01-07-54-03-01-01-01-54.

❖ ชมัยพร บัวมาศ และคณะ

➤ ศึกษาอนุกรมวิธานแมลงหริ่งขาวในมันสำปะหลัง.....2654

01-07-54-03-01-01-02-54

❖ สุนัดดา เขาวลิต และคณะ

กิจกรรมย่อย การจัดการแมลงและไรศัตรูมันสำปะหลัง

การทดลอง ➤ ทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงป้องกันกำจัด.....1

เพลี้ยแป้งในมันสำปะหลัง ด้วยวิธีราดโคนต้น

01-07-54-03-01-02-01-54

❖ สุเทพ สหายา และพวงผกา อ่างมณี

➤ ทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงประเภทพ่น.....8

ทางใบป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งในมันสำปะหลัง

01-07-54-03-01-02-02-54

❖ สุเทพ สหายา และพวงผกา อ่างมณี

➤ ทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดไรศัตรูสำคัญ.....16

ในมันสำปะหลัง

01-07-54-03-01-02-03-54

❖ พิเชฐ เขาวนวัฒนวนวงศ์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูมันสำปะหลังโดยชีววิธี

การทดลอง ➤ การใช้แมลงช้างปีกใส *Plesiochrysa ramburi*.....25

ในการควบคุมเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังในสภาพไร่

01-07-54-03-01-05-01-55

❖ ประภัสสร เขยคำแหง และคณะ

➤ การควบคุมไรศัตรูมันสำปะหลังโดยชีววิธี.....29

01-07-54-03-01-05-02-55

❖ มานิตา คงชื่นสิน

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาการป้องกันกำจัดวัชพืชมันสำปะหลัง

กิจกรรมย่อย -

- การทดลอง ➤ ประสิทธิภาพของสารกำจัดวัชพืชแบบ.....37
pre-emergence ในแปลงมันสำปะหลัง
01-07-54-03-03-00-01-54
- ❖ จรรยา มณีโชติ และคณะ
- การเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช.....68
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**
- การควบคุมโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันโดยชีววิธี.....94
01-09-54-02-02-00-01-54 (1)
- ❖ ชนินทร ดวงสอด และคณะ
- การควบคุมโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันโดยชีววิธี.....107
01-09-54-02-02-00-01-54 (2)
- ❖ พรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ
- ศักยภาพการจัดการวัชพืชในสวนปาล์มน้ำมัน.....116
01-09-54-02-02-00-05-54
- ❖ จริญญา ปิ่นสุภา และคณะ

ชุดโครงการวิจัย การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแห้งแล้ง

โครงการวิจัย เทคโนโลยีการผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่เหมาะสมในสภาพแห้งแล้ง

01-10-54-02

กิจกรรม การลดความสูญเสียผลผลิตจากศัตรูข้าวโพด

กิจกรรมย่อย การลดความสูญเสียผลผลิตจากโรคพืช

- การทดลอง ➤ การสำรวจและจำแนกเชื้อไวรัสสาเหตุโรคข้าวโพด
01-10-54-02-04-01-04-55
- ❖ เยวภา ต้นติวานิช และคณะ

กิจกรรมย่อย การลดความสูญเสียผลผลิตจากแมลงศัตรูพืช

การทดลอง ➤ ทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงประเภท.....133

คลุกเมล็ดในการป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนและเพลี้ยไฟ
ในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

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

❖ สุเทพ สหยา และคณะ

➤ ทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงประเภท.....141

พ่นทางใบในการป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนและเพลี้ยไฟ
ในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

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

❖ สุเทพ สหยา และคณะ

กิจกรรมย่อย การลดความสูญเสียผลผลิตจากวัชพืช

การทดลอง ➤ ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสาร.....2895

กำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอก (pre-emergence)
ในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

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

❖ สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ

➤ ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสาร.....2905

กำจัดวัชพืชประเภทหลังงอก (post-emergence)
ในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

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

❖ สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาถั่วเหลือง

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตและการนำไปใช้ประโยชน์

ของถั่วเหลือง 01-12-54-01

กิจกรรม เทคโนโลยีการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิต

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➤ การทดสอบประสิทธิภาพสารประเภทพ่น.....150

ทางใบในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูที่สำคัญ
ในถั่วเหลือง

01-12-54-01-02-01-01-54

❖ สุเทพ สหยา และคณะ

- การทดสอบประสิทธิภาพสารประเภทคลุกเมล็ด.....162
- ป้องกันกำจัดแมลงศัตรูที่สำคัญในถั่วเหลือง
- 01-12-54-01-02-01-02-54

❖ สุเทพ สหยา และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนการผลิตถั่วเหลืองฝักสดเพื่อการส่งออก 01-12-54-02

กิจกรรม เทคโนโลยีการผลิตถั่วเหลืองฝักสด

กิจกรรมย่อย เทคโนโลยีการผลิตถั่วเหลืองฝักสด

- การทดลอง ➤ การจัดการวัชพืชและผลของสารกำจัดวัชพืช.....169
- ตกค้างในถั่วเหลืองฝักสด
- 01-12-54-02-02-01-13-55

❖ คมสัน นครศรี และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาถั่วเขียว

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพันธุ์ถั่วเขียว 01-13-54-01

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวผิวมัน

**กิจกรรมย่อย การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันเพื่อต้านทานโรค/
สภาพแวดล้อม/สรีรวิทยา**

- การทดลอง ➤ การคัดเลือกพันธุ์ถั่วเขียวเพื่อต้านทานโรค.....177
- ไวรัสใบด่างเหลืองโดยใช้เทคนิคอณูชีววิทยา
- 01-13-54-01-01-01-04-54

❖ กาญจนา วาระวิชนี และคณะ

โครงการวิจัย เทคโนโลยีการผลิตถั่วเขียวให้มีคุณภาพ

กิจกรรม การวิจัยเทคโนโลยีการผลิตถั่วเขียวผิวมัน 01-13-54-02

กิจกรรมย่อย เทคโนโลยีการผลิตถั่วเขียวผิวมัน

- การทดลอง ➤ การจัดการวัชพืชเพื่อการผลิตถั่วเขียว.....2787
- 01-13-54-02-01-01-04-54

❖ คมสัน นครศรี และคณะ

กิจกรรมย่อย อารักขาพืช

- การทดลอง ➤ ทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงในการคลุกเมล็ด.....184
- ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสำคัญของถั่วเขียว
- 01-13-54-02-01-03-02-54

❖ สุเทพ สหยา และคณะ

- ทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงประเภท.....190
พ่นทางใบในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสำคัญของถั่วเขียว
01-13-54-02-01-03-03-54

❖ สุเทพ สหายา และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาข้าวฟ่าง

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาข้าวฟ่าง 01-17-54-01

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์ข้าวฟ่างหวาน

กิจกรรมย่อย -

- การทดลอง ➤ การปรับปรุงพันธุ์ข้าวฟ่างหวานให้ต้านทานโรครำต้นเน่าดำ : การผสมพันธุ์
01-17-54-01-01-00-02-54
(การทดลองร่วม)

❖ พจนา ตระกูลสุจริตน์ และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาสับปะรด

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตสับปะรด

01-18-54-02

กิจกรรม -

กิจกรรมย่อย -

- การทดลอง ➤ ความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของไวรัส.....199
Pineapple mealybug wilt-associated virus
กับชนิดของเพลี้ยแป้งในการก่อให้เกิดความรุนแรงของโรคเหี่ยวในสับปะรด
01-18-54-02-00-00-01-54

❖ วันเพ็ญ ศรีทองชัย และคณะ

- ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของ.....2915
สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอก (pre-emergence)
และหลังงอก (post-emergence) ในสับปะรด
01-18-54-02-00-00-02-54

❖ สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ

- ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของ
สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอก (pre-emergence)
ในสับปะรด

01-18-54-02-00-00-02-54

❖ สิริชัย สาธุวิจารณ์ และวนิดา ธารณวิไล

- ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังออก (post-emergence) ในสับปะรด

01-18-54-02-00-00-02-54

❖ สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ

- การจัดการวัชพืชบาหยา (หรือหญ้าดอกขาว).....2928
- ในสับปะรด

01-18-54-02-00-00-04-54

❖ สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ

- ทดสอบสารกำจัดวัชพืชที่มีประสิทธิภาพ.....2941
- ในการฆ่าตอสับปะรด

01-18-54-02-00-00-03-54

❖ สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาทุเรียน

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพันธุ์ทุเรียน 01-21-54-01

กิจกรรม วิจัยการปรับปรุงพันธุ์ทุเรียนลูกผสม

กิจกรรมย่อย ศึกษาความสามารถในการทนทานต่อโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนลูกผสมที่คัดเลือกแล้ว

- การทดลอง ➤ ศึกษาปฏิกิริยาของทุเรียนพันธุ์ลูกผสมต่อเชื้อรา [♣].....209
- Phytophthora palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียน
- 01-21-54-01-02-05-01-54

❖ นลินี ศิวาภรณ์ และคณะ

โครงการวิจัย การเพิ่มประสิทธิภาพด้านการผลิตทุเรียนคุณภาพและการกระจายการผลิต

01-21-54-02

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการจัดการด้านเขตกรรมและการอารักขาพืช

เพื่อเสริมประสิทธิภาพการผลิตทุเรียนคุณภาพ

กิจกรรมย่อย -

- การทดลอง ➤ คัดเลือกต้นต่อทุเรียนพันธุ์พื้นเมืองที่ทนทาน.....214
- หรือต้านทานต่อเชื้อรา *Phytophthora* sp.



สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียน

01-21-54-02-03-00-01-54

❖ สุพัตรา อินทวิมลศรี และคณะ

➤ การควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียน.....221

โดยใช้ชีวภัณฑ์ที่ผลิตได้จากเชื้อ *Bacillus subtilis*

01-21-54-02-03-00-03-54

❖ นลินี ศิวาภรณ์ และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพันธุ์มะละกอ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพันธุ์มะละกอ 01-23-54-01

กิจกรรม -

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

➤ การปรับปรุงพันธุ์มะละกอให้ต้านทานต่อ

ไวรัสจุดวงแหวนมะละกอด้วยการฉายรังสี

01-23-54-01-00-00-11-54

(การทดลองร่วม)

❖ ปรีเชษฐ์ ตั้งกาญจนภาสน์ และคณะ

➤ การทดสอบความต้านทานต่อโรคจุดวงแหวน^{*}.....226

ในมะละกอพันธุ์ต่างๆ

01-23-54-01-00-00-11-54

❖ ปรีเชษฐ์ ตั้งกาญจนภาสน์ และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการผลิตมะม่วง 01-25-54-02

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการป้องกันกำจัดโรคแมลงศัตรูมะม่วงอย่างเหมาะสม

กิจกรรม -

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

➤ การจัดการด้วงวงเจาะเมล็ดมะม่วง และการ.....237

ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชต่อ

เพลี้ยแป้งในแปลงมะม่วงอินทรีย์

01-25-54-02-00-00-01-54

❖ สราวุฒิจิต ไกรฤกษ์ และคณะ

➤ เทคโนโลยีการป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้โดยวิธี.....2571

ผสมผสานในมะม่วง

01-25-54-02-00-00-02-54

❖ เกรียงไกร จำเริญมา และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนากล้วยไม้

โครงการวิจัย การจัดการคุณภาพกล้วยไม้สกุลหวายเพื่อการส่งออก 01-29-54-01

กิจกรรม การวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืชในกล้วยไม้สกุลหวาย

กิจกรรมย่อย –

- การทดลอง ➤ การป้องกันกำจัดวัชพืช.....244
01-29-54-01-01-00-01-54
- การใช้สารกำจัดวัชพืชกำจัดวัชพืชที่ขึ้นใต้โต๊ะกล้วยไม้
 - การใช้สารกำจัดวัชพืชกำจัดวัชพืชที่ขึ้นบนวัสดุปลูกในกล้วยไม้
 - การใช้สารเคมีกำจัดตะไคร่น้ำที่ขึ้นบนวัสดุปลูกกล้วยไม้
- ❖ เสริมศิริ คงแสงดาว และคณะ
- การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช.....265
01-29-54-01-01-00-02-54
- ทดสอบประสิทธิภาพเชื้อจุลินทรีย์ในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอมในกล้วยไม้
 - ทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอมในกล้วยไม้
- ❖ สมรวัย รวมชัยภิกกุล และอุราพร หนูนารถ
- การใช้ตัวห้ำตัวเบียนในการกำจัดศัตรูพืช.....271
01-29-54-01-01-00-03-54
- การใช้และอนุรักษ์ไรตัวห้ำ *Amblyseius cinctus* เพื่อควบคุมไรแมงมุมเทียมกล้วยไม้ *Tenuipalpus pacificus* มานิตา คงชื่นสิน และคณะ
- การป้องกันกำจัดสัตว์ศัตรูพืช.....278
01-29-54-01-01-00-04-54
- การควบคุมหอยชัคซีเนีย *Succinea* sp. ในสวนกล้วยไม้โดยวิธีผสมผสาน
- ❖ ปราสาททอง พรหมเกิด และคณะ
- การป้องกันกำจัดโรคดอกจุดสนิมของกล้วยไม้.....284
ที่มีสาเหตุจากเชื้อ *Curvularia* sp. โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และสารเคมี

01-29-54-01-01-00-05-54

❖ พีระวรรณ พัฒนวิภาส และคณะ

➤ การศึกษาวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการ.....294

ป้องกันกำจัดเชื้อรา *Fusarium* spp. สาเหตุโรค
ในกล้วยไม้ที่ปลูกเป็นการค้า โดยใช้สารสกัดจากพืช
Bacillus subtilis และสารเคมี

01-29-54-01-01-00-06-54

❖ อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และคณะ

➤ ศึกษาการป้องกันกำจัดทาก.....303

Parmarion siamensis ในสวนกล้วยไม้

01-29-54-01-01-00-07-55

❖ ปิยาณี หนูกาฬ และคณะ

➤ การทดสอบประสิทธิภาพของ.....307

สารป้องกันกำจัดโรคพืชในการควบคุมโรค
ใบขึ้นเหลืองของกล้วยไม้ที่เกิดจากเชื้อรา
Pseudocercospora dendrobii Deighton

01-29-54-01-01-00-08-55

❖ วรางคณา แซ่อ้วง และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนากล้วยไม้สกุลแวนด้าเพื่อการค้า 01-29-54-02

กิจกรรม การอารักขาพืชในกล้วยไม้

กิจกรรมย่อย การป้องกันกำจัดโรคที่เกิดจากแบคทีเรียของกล้วยไม้

การทดลอง

➤ การใช้สารเสริมประสิทธิภาพความแข็งแรง.....315

ในการป้องกันกำจัดโรคที่เกิดจากแบคทีเรีย
ของกล้วยไม้แวนดาแอสโคเซนดา

01-29-54-02-03-01-01-54

❖ ดารุณี ปุญญพิทักษ์ และคณะ

➤ การใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัด.....322

โรคกล้วยไม้สกุลแวนดาที่เกิดจากแบคทีเรีย

01-29-54-02-03-01-02-54

- การคัดเลือกและทดสอบทดสอบประสิทธิภาพ
สารเคมีควบคุมโรคกล้วยไม้สกุลแวนดา
ที่เกิดจากแบคทีเรีย



❖ ศรีสุข พูนผลกุล และคณะ

➤ การควบคุมโรคเน่าดำของกล้วยไม้.....327

โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจาก

เห็ดเรืองแสง (*Neonothopanus nambii*)

01-29-54-02-03-01-03-55

❖ สุรีย์พร บัวอาจ และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนากล้วยไม้สกุลรองเท้านารีเพื่อการค้า 01-29-54-03

กิจกรรม การเพิ่มประสิทธิภาพการขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลรองเท้านารี

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

➤ การศึกษาชนิดราไมโครไรซากล้วยไม้ใกล้สูญพันธุ์.....336

และการใช้ประโยชน์ราในการเพาะเมล็ดกล้วยไม้

01-29-54-03-02-00-03-54

❖ พรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยแก้ไขปัญหาการผลิตกล้วยไม้การค้าสกุลอื่นๆ 01-29-54-05

กิจกรรม การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิต

กิจกรรมย่อย การจัดการศัตรูพืช

การทดลอง

➤ การป้องกันกำจัดโรคกล้วยไม้ในกล้วยไม้.....356

สกุลม็อคคาร่า โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

และสารเคมี

01-29-54-05-01-02-02-54

❖ ทศนาพร ทศคร และคณะ

➤ การศึกษาการป้องกันกำจัดโรคสำคัญของกล้วยไม้ดิน.....366

โดยวิธีที่เหมาะสม

01-29-54-05-01-02-03-54

❖ ทศนาพร ทศคร และคณะ

➤ การจัดการโรคที่เกิดจากเชื้อราของ

กล้วยไม้สกุลสไปโทกลอททิสและสกุลแกรมมะโตฟิลล์

01-29-54-05-01-02-04-54

❖ สุพัตรา อินทวิมลศรี และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพริก

โครงการวิจัย ปรับปรุงพันธุ์เพื่อเพิ่มผลผลิตพริก 01-30-54-01

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์พริกให้ต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนสและโรคอื่นๆ

กิจกรรมย่อย การปรับปรุงพันธุ์พริกให้ต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนส

การทดลอง ➤ การผสมและการคัดเลือกพันธุ์พริกชี้หนูใหญ่
พันธุ์จินดาให้ต้านทานโรคแอนแทรกโนส
01-30-54-01-02-01-03-55
(การทดลองร่วม)

❖ ธารทิพย์ ภาสบุตร และคณะ

กิจกรรมย่อย การปรับปรุงพันธุ์พริกให้ต้านทานต่อโรคอื่นๆ

การทดลอง ➤ การคัดเลือกและประเมินพันธุ์พริก.....2837
ต้านทานไส้เดือนฝอยรากปม
01-30-54-01-02-02-02-54
(การทดลองร่วม)

❖ นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และคณะ

➤ การผสมและคัดเลือกพันธุ์พริกชี้ฟ้า
ให้ต้านทานโรคใบด่างแดง (CMV)
01-30-54-01-02-02-04-54
(การทดลองร่วม)

❖ วันเพ็ญ ศรีทองชัย และคณะ

➤ การผสมและคัดเลือกพันธุ์พริกชี้หนู
ต้านทานโรคใบด่างประพริก (ChiVMV)
และโรคเหี่ยวเหี่ยว
01-30-54-01-02-02-05-54
(การทดลองร่วม)

❖ วันเพ็ญ ศรีทองชัย และคณะ

➤ การผสมและคัดเลือกพันธุ์พริกชี้หนู
ต้านทานโรคใบด่างแดง (CMV)
01-30-54-01-02-02-06-54
(การทดลองร่วม)

❖ วันเพ็ญ ศรีทองชัย และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตพริก 01-30-54-03

กิจกรรม การพัฒนาเทคโนโลยีเพื่อเพิ่มผลผลิตต่อไร่และลดสารพิษตกค้าง

กิจกรรมย่อย การพัฒนาเทคโนโลยีเพื่อเพิ่มลดสารพิษตกค้าง

➤ ประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ.....375



จากเห็ดเรืองแสง *Neonothopanus nambi*
ต่อไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*)
ในพริก

01-30-54-03-01-01-01-54

❖ สุรียพร บัวอาจ และคณะ

➤ เทคโนโลยีการป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้.....2977

ในพริกโดยวิธีผสมผสาน

01-30-54-03-01-01-02-54

❖ วิภาดา ปลอดครบุรี และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพืชสมุนไพรและเครื่องเทศ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตไหลอย่างยั่งยืน 01-31-54-01

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาวิธีการควบคุมศัตรูพืชในการผลิตไหลที่มีคุณภาพ

กิจกรรมย่อย –

การทดลอง

➤ คัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพ

จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวของไหล

01-31-54-01-01-00-04-55

(การทดลองร่วม)

รุ่งนภา คงสุวรรณ และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาไม้ดอกไม้ประดับ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาปทุมมาและกระเจียว 01-32-54-01

กิจกรรม การวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืชกลุ่มปทุมมาและกระเจียว

กิจกรรมย่อย การบริหารจัดการโรคเหี่ยวของปทุมมาและกระเจียวโดยวิธีผสมผสาน

การทดลอง

➤ การพัฒนาผลิตภัณฑ์เชื้อปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis*398

สายพันธุ์ 4415 และสายพันธุ์ดินอ้อย no. 6

และการขยายผลเพื่อควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมา

โดยวิธีผสมผสาน

01-32-54-01-01-01-01-54

❖ ณัฐริมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ

➤ การปรับปรุงวิธีการตรวจหาแบคทีเรีย406

Ralstonia solanacearum ในหัวพันธุ์ปทุมมา

โดยใช้ชุดตรวจสอบ (GLIFT kit) โรคเหี่ยวของปทุมมา

และการขยายผลการใช้ชุดตรวจสอบในกระบวนการ

ผลิตหัวพันธุ์เพื่อส่งออก

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

❖ ผนัญฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ

กิจกรรมย่อย การจัดการโรคใบไหม้และใบจุดของปทุมมาและกระเจียว

การทดลอง ➤ การศึกษาเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้และใบจุด.....412

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

❖ ธารทิพย ภาสบุตร และคณะ

➤ ทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัด.....419

โรคพืชในการควบคุมโรคใบไหม้และใบจุด

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

(การทดลองร่วม)

❖ ทศนาพร ทศคร และคณะ

กิจกรรมย่อย การจัดการโรครากปมของปทุมมาและกระเจียว

การทดลอง ➤ ทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมี.....2732

สารอินทรีย์และเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ชนิดต่างๆ

ในการควบคุมโรครากปม

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

❖ มนตรี เอี่ยมวิม้งสา และคณะ

➤ ประสิทธิภาพสารในการป้องกันกำจัดเพลี้ยหอย.....2849

และเพลี้ยแป้งในปทุมมา

01-32-54-01-01-04-01-55

❖ อูราพร หนูนารถ และคณะ

➤ ประสิทธิภาพสารในการป้องกันกำจัดด้วงกาแฟ.....427

ในปทุมมา

01-32-54-01-01-04-02-55

❖ อูราพร หนูนารถ และคณะ

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์ปทุมมาและกระเจียว

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➤ สร้างลูกผสมปทุมมาสายพันธุ์ต้านทานต่อโรคเหี่ยว
ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย

01-32-54-01-02-00-02-54

(การทดลองร่วม)

❖ ผนัญฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ

- การปรับปรุงพันธุ์ปทุมมาให้ทนทาน
หรือต้านทานต่อโรคเหี่ยวโดยใช้รังสี
ร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
01-32-54-01-02-00-03-54
(การทดลองร่วม)

❖ ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเบญจมาศ 01-32-54-03

กิจกรรม ศึกษาการอารักขาที่เหมาะสมในเบญจมาศ

กิจกรรมย่อย ศึกษาการป้องกันและกำจัดโรคสำคัญในเบญจมาศ

- การทดลอง ➤ การจัดการโรคราสนิมขาวของเบญจมาศ.....431
01-32-54-03-02-01-01-54

❖ อมรรัตน์ ภูไพบูลย์ และคณะ

- การศึกษาประสิทธิภาพสารป้องกัน*439
กำจัดโรคพืชในการป้องกันกำจัดโรคใบจุด
01-32-54-03-02-01-02-55

❖ ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี และคณะ

กิจกรรมย่อย การป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูที่สำคัญในเบญจมาศ

- การทดลอง ➤ การจัดการแมลงศัตรูเบญจมาศ.....442
01-32-54-03-02-02-01-55

❖ อุราพร หนูนารถ และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาหน้าวัว 01-32-54-04

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์หน้าวัว

กิจกรรม -

- การทดลอง ➤ ปฏิกริยาของพันธุ์หน้าวัวลูก*448
ผสมต่อโรคเน่าดำที่มีสาเหตุจาก
รา *Phytophthora parasitica*
01-32-54-04-01-00-04-54

❖ อมรรัตน์ ภูไพบูลย์ และคณะ

กิจกรรม การวิจัยและพัฒนาเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตดอกคุณภาพดี

กิจกรรมย่อย -

- การทดลอง ➤ การจัดการโรครากโพรงของหน้าวัว.....2725
01-32-54-04-03-00-02-54

- สำรวจและประเมินความเสียหายที่เกิดจาก

โรครากโพรงของหน้าวัว

- ทดสอบประสิทธิภาพของ สารเคมี การจุ่มราก
ในน้ำร้อนและการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์
ที่มีผลต่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากโพรง
ในสภาพเรือนทดลองและในแปลง

❖ อติยา สารพัฒน์ และคณะ

ชุดโครงการวิจัย การปรับปรุงและพัฒนาพันธุ์ส้มเปลือกอ่อน

โครงการวิจัย การปรับปรุงและพัฒนาพันธุ์ส้มเปลือกอ่อน 01-33-54-01

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์ส้มเปลือกอ่อนให้ทนทานต่อโรครินนิง

กิจกรรมย่อย การผสมพันธุ์ส้มเขียวหวานและสายน้ำผึ้ง กับ ส้มพันธุ์ที่มีความทนทาน/
ต้านทานต่อ โรครินนิง

การทดลอง ➤ การคัดเลือกสายต้นส้มเขียวหวาน
และสายน้ำผึ้งที่ทนทานต่อโรครินนิง
ในสภาพสวนที่มีการระบาดของโรค
01-33-54-01-01-02-54
(การทดลองร่วม)

❖ วันเพ็ญ ศรีทองชัย และคณะ

➤ การเปรียบเทียบพันธุ์ส้มลูกผสมระหว่าง
ส้มเขียวหวานและสายน้ำผึ้ง กับส้มแป้นและลาดู
ที่ผ่านการคัดเลือกแล้ว
01-33-54-01-01-02-02-54
(การทดลองร่วม)

❖ วันเพ็ญ ศรีทองชัย และคณะ

ชุดโครงการวิจัย การปรับปรุงพันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตมะนาว

โครงการวิจัย การปรับปรุงพันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตมะนาว 01-35-54-01

กิจกรรม การศึกษาการใช้สารชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืชในการควบคุมโรคแคงเกอร์ของมะนาว

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➤ ศึกษาอัตราและระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้.....460
ชีวภัณฑ์ที่ผลิตได้จากเชื้อ *Bacillus subtilis*
เพื่อป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของมะนาว
01-35-54-01-03-00-01-54

❖ นลินี ศิวากรณ์ และคณะ

➤ การพัฒนาสารสกัดกระเทียมร่วมกับสมุนไพรอื่น.....466
เพื่อควบคุมโรคแคงเกอร์ของมะนาว

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

❖ นลินี ศิวากรณ์ และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาไม้ฝรั่ง

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการจัดการศัตรูที่สำคัญของไม้ฝรั่ง 01-36-54-03

กิจกรรม การจัดการไส้เดือนฝอยรากปมในไม้ฝรั่ง

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➤ การใช้ปุ๋ยเพื่อควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมในไม้ฝรั่ง.....472

01-36-54-03-01-00-01-54

❖ ไตรเดช ช่างทอง และคณะ

➤ การจัดการโรคไหม้ของไม้ฝรั่งที่มีสาเหตุ.....482

จากโรค *Phytophthora infestant* (mont.) de Bary

01-36-54-03-01-00-02-55

❖ อมรรัตน์ ภูไพบูรณ์ และคณะ

➤ การพัฒนาเทคนิคการใช้เชื้อแบคทีเรีย.....488

ปฏิปักษ์ควบคุมโรคเหี่ยวเหี่ยวของไม้ฝรั่ง

ในระดับเกษตรกร

01-36-54-03-01-00-04-55

❖ บุรณี พัววงษ์แพทย์ และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตชิงคุณภาพ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตชิงคุณภาพ 01-37-54-01

กิจกรรม -

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➤ การจัดการโรคเหี่ยวของชิงที่เกิดจากแบคทีเรีย.....497

Ralstonia solanacearum แบบผสมผสาน

01-37-54-01-00-00-01-54

❖ บุรณี พัววงษ์แพทย์ และคณะ

➤ การสำรวจ รวบรวม และจัดการแมลงศัตรูชิง

01-37-54-01-00-00-04-54

❖ สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการผลิตพืชหัว

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการผลิตมันเทศ 01-38-54-01

กิจกรรม การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิต วิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว
และการแปรรูปผลผลิตพืชหัวเพื่อเพิ่มมูลค่าผลผลิต

กิจกรรมย่อย -

- การทดลอง ➤ ประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกัน.....506
กำจัดด้วงงวงมันเทศ (sweet potato weevil ;
Cylas formicarius Fabricius) ในมันเทศ
เพื่อทดแทนการใช้ฟูราดาน
01-38-54-01-02-00-04-55

❖ อรุพร หนูนารถ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเห็ด

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการอารักขาเห็ด 01-39-54-02

กิจกรรม วิจัยเทคโนโลยีการจัดการโรคเห็ด

กิจกรรมย่อย -

- การทดลอง ➤ การศึกษาวิธีการป้องกันกำจัดราเมือก (slime mould).....512
ที่ทำความเสียหายในการเพาะเห็ดถั่งเพื่อการค้า
01-39-54-02-01-00-01-54

❖ อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และคณะ

- ชนิด และแหล่งอาศัยของเชื้อรา *Papulaspora* sp.....527
และระดับความเสียหายที่พบปนเปื้อนในการเพาะเห็ดฟาง
(*Volvariella volvacea*) เป็นการค้า
01-39-54-02-01-00-02-54

❖ อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และคณะ

กิจกรรม วิจัยเทคโนโลยีการจัดการแมลงและไรศัตรูเห็ด

กิจกรรมย่อย -

- การทดลอง ➤ การป้องกันกำจัดไรไข่ปลาบนเห็ดหูหนู.....534
โดยการใช้สารสกัดจากพืช
01-39-54-02-02-00-01-54

❖ พิเชฐ เชาวนวัฒมนวงศ์ และคณะ

- การทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลง สารชีวอินทรีย์.....2741
และสารสกัดจากพืชในการป้องกันกำจัดหนอนแมลงวัน

ศัตรูเห็ดที่สำคัญในเห็ด

01-39-54-02-02-00-02-54

❖ อรุอาพร หนูนารถ และคณะ

➤ การศึกษาชีววิทยานิวเคลียสวิทยาและการป้องกันกำจัด2857

ด้วงเจาะเห็ดแมลงศัตรูเห็ดที่สำคัญ

01-39-54-02-02-00-03-54

❖ อรุอาพร หนูนารถ และคณะ

➤ เทคโนโลยี การป้องกันกำจัดหนอนแมลงวันศัตรูเห็ด.....544

สำหรับเห็ดเพาะถุง

01-39-54-02-02-00-04-54

❖ สัณญญาณี ศรีรักษา และอรุอาพร หนูนารถ

➤ การแก้ปัญหาในโรงเพาะเห็ดของเกษตรกร

ในเขตภาคกลาง

01-39-54-02-02-00-06-55

❖ อรุอาพร หนูนารถ และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพืชผัก

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการอารักขาพืชผัก 01-40-54-02

กิจกรรม การอารักขาพืชตระกูลกะหล่ำ

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

➤ การทดสอบประสิทธิภาพ *Bacillus subtilis*.....551

ในการควบคุมโรคใบจุดคะน้าสาเหตุจากเชื้อรา

Alternaria brassicicola ;การทดสอบ

อัตราที่เหมาะสมของสารชีวภัณฑ์ *B. subtilis*

01-40-54-02-01-00-01-54

❖ บุษราคัม อุดมศักดิ์ และคณะ

➤ ศึกษาการใช้เชื้อไวรัส NPV เพื่อการควบคุม

หนอนคืบกะหล่ำ *Trichoplusia ni* Hubner.

01-40-54-02-01-00-02-54

(การทดลองร่วม)

❖ สุชลวิจน์ ว่องไวลิขิต และคณะ

➤ เปรียบเทียบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์561

ในการควบคุมด้วงหมัดผักในคะน้า

01-40-54-02-01-00-03-55



❖ วิไลวรรณ เวชยันต์ และคณะ

- ศึกษาหาระยะเวลาหรือความถี่ในการพ่นจุลินทรีย์.....2812
01-40-54-02-01-00-04-55

❖ วิไลวรรณ เวชยันต์ และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาหน่อไม้ฝรั่งและกระเจี๊ยบเขียว

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตหน่อไม้ฝรั่ง 01-41-54-01

กิจกรรม เทคโนโลยีการอารักขาหน่อไม้ฝรั่ง

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

- การใช้หมวนเพชฌฆาต *Sycanus versicolor* Dohrn.....566
ควบคุมแมลงศัตรูพืชในหน่อไม้ฝรั่ง
01-41-54-01-01-00-01-54

❖ รัตนา นชະพงษ์ และอุราพร หนูนารถ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตกระเจี๊ยบเขียว 01-41-54-02

กิจกรรม การวิจัยและพัฒนาพันธุ์กระเจี๊ยบเขียว

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

- การเปรียบเทียบพันธุ์กระเจี๊ยบเขียว
ที่ต้านทานต่อโรคเส้นใบเหลือง
01-41-54-02-01-00-01-54
(การทดลองร่วม)

❖ วันเพ็ญ ศรีทองชัย และคณะ

- ผสมและคัดเลือกพันธุ์กระเจี๊ยบเขียว
ให้ต้านทานต่อโรคเส้นใบเหลืองและฝักมีคุณภาพส่งออก
01-41-54-02-01-00-02-54
(การทดลองร่วม)

❖ วันเพ็ญ ศรีทองชัย และคณะ

กิจกรรม เทคโนโลยีการอารักขากระเจี๊ยบเขียว

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

- ทดสอบประสิทธิภาพเชื้อจุลินทรีย์ และสารฆ่าแมลง.....576
ในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอมในกระเจี๊ยบเขียว
01-41-54-01-02-00-01-54

❖ สมรวย รวมชัยอภิกุล และคณะ

- การบริหารศัตรูกระเจี๊ยบเขียวแบบผสมผสาน
01-41-54-01-02-00-02-55

❖ สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพืชเศรษฐกิจเฉพาะพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน
โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการผลิตมะเเฒ่าในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน

02-03-54-01

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยี

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➤ วิจัยและพัฒนาการจัดการโรคและแมลงศัตรูมะเเฒ่า.....584
02-03-54-01-02-00-02-54

- วิจัยและพัฒนาการจัดการโรคมะเเฒ่า

❖ พรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ

➤ วิจัยและพัฒนาการจัดการโรคและแมลงศัตรูมะเเฒ่า.....590
02-03-54-01-02-00-03-54

- การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสำคัญในมะเเฒ่า

❖ วิภาดา ปลอดครบุรี และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพืชเศรษฐกิจเฉพาะพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตผักหวานบ้านในพื้นที่จังหวัดอุบลราชธานี

02-04-54-01

กิจกรรม การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตผักหวานบ้านในพื้นที่จังหวัดอุบลราชธานี

กิจกรรมย่อย การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตผักหวานบ้านในพื้นที่จังหวัดอุบลราชธานี

การทดลอง ➤ การทดสอบเทคโนโลยีการแก้ปัญหาอาการต้นโทรม
ในผักหวานบ้านพื้นที่จังหวัดอุบลราชธานี
02-04-54-01-01-01-54
(การทดลองร่วม)

❖ อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตน้อยหน่าคุณภาพในพื้นที่จังหวัดนครราชสีมา

02-04-54-03

กิจกรรม การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตน้อยหน่าคุณภาพ

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➤ สำรวจและจำแนกชนิดของเพลี้ยแป้งและ.....2636
แมลงศัตรูน้อยหน่าในเขตพื้นที่จังหวัดนครราชสีมา
02-04-54-03-01-00-03-54

❖ ชมัยพร บัวมาศ และคณะ

➤ ศึกษาการใช้สารสกัดจากธรรมชาติในการควบคุม.....599

เพลี้ยแป้งน้อยหน้าในเขตพื้นที่จังหวัดนครราชสีมา

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

❖ พวงผกา อ่างมณี และคณะ

➤ การใช้แมลงช้างปีกใสควบคุมเพลี้ยแป้งในน้อยหน้า.....2958

02-04-54-03-01-00-05-55

❖ ประภัสสร เขยคำแหง และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการผลิตพืชเศรษฐกิจเฉพาะพื้นที่อย่างมีคุณภาพในเขตภาคกลาง

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตฝรั่ง 02-05-54-01

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตฝรั่ง

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

➤ การจัดการโรคต้นเหี่ยวของฝรั่ง.....603

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

❖ สุพัตรา อินทวิมลศรี และนลินี ศิวากรณ์

➤ การจัดการโรครากปมของฝรั่ง.....611

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

- ทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีต่างๆ
ในการควบคุมโรครากปมของฝรั่ง

❖ ธิติยา สารพัฒน์ และคณะ

- ทดสอบประสิทธิภาพของวัสดุปรับปรุงดินชนิดต่างๆ
ที่มีผลต่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมฝรั่ง
ในสภาพเรือนทดลองและแปลง

❖ ธิติยา สารพัฒน์ และคณะ

- ทดสอบประสิทธิภาพเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุม
ไส้เดือนฝอยรากปมฝรั่งในสภาพเรือนทดลองและแปลง

❖ ธิติยา สารพัฒน์ และคณะ

- การพัฒนารูปแบบการจัดการโรครากปมของฝรั่ง
แบบผสมผสาน

❖ ธิติยา สารพัฒน์ และคณะ

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์ฝรั่ง

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

➤ การคัดเลือกต้นตอที่ต้านทานหรือทนทานต่อโรคเหี่ยว*617

และโรครากปมของฝรั่ง

02-05-54-01-02-00-03-54

❖ สุพัตรา อินทวิมลศรี และมนตรี เอี่ยมวิม้งสา

โครงการวิจัย การพัฒนาและทดสอบเทคโนโลยีการผลิตชมพู 02-05-54-02

กิจกรรม การป้องกันกำจัดโรคแมลงศัตรูชมพู

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➤ ศึกษาลักษณะอาการ สาเหตุและ
การแพร่ระบาดของโรคผลเน่าชมพู

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.....621

โรคผลเน่าของสละ

02-06-54-03-01-01-01-54

❖ ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี และคณะ

➤ ศึกษาการจัดการโรคผลเน่าของสละ.....626

02-06-54-03-01-01-02-55

❖ ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี และคณะ

กิจกรรม ศึกษาสาเหตุและการป้องกันและกำจัดแมลงในสละ

กิจกรรมย่อย ศึกษาสาเหตุและการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูในสละ

การทดลอง ➤ การศึกษาชนิดชีววิทยาและนิเวศวิทยาของ.....630

แมลงศัตรูในสละ

02-06-54-03-02-01-01-54

❖ วณาพร วงษ์นิตย และคณะ

➤ การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสละ.....637

02-06-54-03-02-01-02-55

❖ วณาพร วงษ์นิตย และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตแก้วมังกร 02-06-55-02

กิจกรรม การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสำคัญในแก้วมังกร

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➤ ศึกษาปริมาณความหนาแน่นและช่วงฤดูกาลระบาดของ.....649
ของแมลงวันผลไม้ในแก้วมังกร
02-06-55-02-01-00-01-55

❖ ศรุต สุทธิอารมณ์ และคณะ

➤ เทคโนโลยีการห่อผลเพื่อป้องกันการทำลาย.....654
ของแมลงศัตรูพืชในแก้วมังกร
02-06-55-02-01-00-02-55

❖ ศรุต สุทธิอารมณ์ และคณะ

กิจกรรม การป้องกันกำจัดโรคสำคัญในแก้วมังกร

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➤ การศึกษาประสิทธิภาพของสารป้องกัน.....661
กำจัดโรคลำต้นแผลจุดสีน้ำตาลและผลเน่า
ของแก้วมังกร
02-06-55-02-02-00-01-55

❖ พรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพืชเศรษฐกิจเฉพาะพื้นที่ภาคใต้ตอนล่าง

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตมันขี้หนู 02-08-54-05

กิจกรรม การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตมันขี้หนู

กิจกรรมย่อย การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตมันขี้หนู

การทดลอง ➤ วิธีการที่เหมาะสมในการป้องกันกำจัด.....670
ไส้เดือนฝอยศัตรูมันขี้หนู
02-08-54-05-01-01-03-54

❖ มนต์รี เอี่ยมวิมังสา และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาระบบการผลิตเกษตรอินทรีย์

โครงการวิจัย การศึกษาผลของระบบการปลูกพืชร่วมเพื่อจัดการระบบสมดุลในห่วงโซ่อาหาร
ในระบบเกษตรอินทรีย์ 03-02-54-02

กิจกรรม ศึกษาชนิดของพืชกับดักที่มีประสิทธิภาพในระบบการปลูกพืชอินทรีย์

กิจกรรมย่อย ศึกษาชนิดของพืชกับดักและพืชอาศัยศัตรูธรรมชาติที่มีประสิทธิภาพ
ในระบบการปลูกพืชอินทรีย์

การทดลอง ➤ ศึกษาชนิดของพืชกับดัก และพืชอาศัยของแมลง.....2963
ที่มีประโยชน์ในระบบการปลูกพืชผักอินทรีย์ภาคกลาง
03-02-54-02-01-01-54

❖ พืชไร่วรรณ มณีสาคร และคณะ

กิจกรรม ศึกษารูปแบบการป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสานในระบบการปลูกพืชอินทรีย์
กิจกรรมย่อย ศึกษารูปแบบการป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน
ในระบบการปลูกพืชอินทรีย์

การทดลอง ➤ ศึกษารูปแบบการป้องกันกำจัดศัตรูพืช.....677
แบบผสมผสานในระบบการผลิตพืชผักอินทรีย์
ภาคกลาง
03-02-54-02-02-01-01-54

❖ พืชไร่วรรณ มณีสาคร และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการควบคุมศัตรูพืชทางการเกษตรโดยชีววิธี 03-04-54-01

กิจกรรม การผลิตและการใช้แมลงและไรควบคุมศัตรูพืช

กิจกรรมย่อย การควบคุมแมลงหวี่ขาวโดยชีววิธี

การทดลอง ➤ เทคโนโลยีการผลิตขยายและการใช้แตนเบียนสกุล
Eretmocerus sp. เพื่อควบคุมแมลงหวี่ขาว
03-04-54-01-01-01-54

❖ อัมพร วิโนทัย และคณะ

➤ เทคโนโลยีการผลิตขยายและการใช้แตนเบียน.....684
Encarsia sp. เพื่อควบคุมแมลงหวี่ขาว
03-04-54-01-01-01-02-54

❖ รจนา ไวยเจริญ และคณะ

➤ การทดสอบประสิทธิภาพของแมลงช้างปีกใส.....695
ในการควบคุมแมลงหวี่ขาวไยเกลียว
03-04-54-01-01-01-03-54

❖ ประภัสสร เขยคำแหง และคณะ

กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้แมลงและไรควบคุมศัตรูพืช

การทดลอง ➤ พัฒนาการผลิตมวนเพศเมีย.....699
Sycanus versicolor Dohrn

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

❖ รัตนา นชะพงษ์ และคณะ

➤ การผลิตและการใช้ไรตัวห้ำควบคุมเพลี้ยไฟ

Sycanus versicolor Dohrn

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

❖ มานิตา คงชื่นสิน และคณะ

➤ พัฒนาการเพาะเลี้ยงและศักยภาพการเป็นตัวห้ำ.....705

ของผีเสื้อตัวห้ำ *Spalgis* sp. (Lepidoptera: Lycaenidae)

03-04-54-01-01-02-03-55

❖ ประภัสสร เขยคำแหง และคณะ

➤ วิจัยและพัฒนารูปแบบการเพาะเลี้ยงด้วงเต่า.....710

Cryptolaemus montrouzieri Mulsant

เป็นปริมาณมากเพื่อควบคุมเพลี้ยแป้ง

03-04-54-01-01-02-04-55

❖ รจนา ไวยเจริญ และคณะ

กิจกรรม การผลิตและการใช้เชื้อจุลินทรีย์และไส้เดือนฝอยควบคุมแมลงศัตรูพืช

กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้ไวรัส NPV ควบคุมแมลงศัตรูพืช

การทดลอง ➤ พัฒนาเทคโนโลยีการผลิตไวรัส NPV.....721

จากเซลล์เพาะเลี้ยง

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

❖ สุชลวิจน์ ว่องไวลิขิต และคณะ

➤ พัฒนารูปแบบการเก็บรักษาเซลล์แมลงเพาะเลี้ยงต้นแบบ.....729

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

❖ สุชลวิจน์ ว่องไวลิขิต และคณะ

➤ การใช้สูตรผสมไวรัส NPV และแบคทีเรีย Bt⁺.....734

ในการควบคุมหนอนผีเสื้อศัตรูกุหลาบ

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

❖ อิศเรศ เทียนทัด และคณะ

➤ การเพิ่มประสิทธิภาพของเชื้อไวรัส เอ็นพีวี.....747

ชนิดต่าง ๆ ด้วยเทคนิค Microencapsulation

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

❖ สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี และคณะ

➤ การพัฒนารูปแบบชีวผลิตภัณฑ์ไวรัส เอ็นพีวี.....752
 สำเร็จรูปเพื่อกำจัดหนอนกระทู้หอม
 03-04-54-01-02-01-05-54

❖ สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี และคณะ

➤ ศึกษาชีววิทยาของโปรโตซัวที่เข้าทำลายระบบ.....756
 การเลี้ยงหนอนกระทู้ฝักเพื่อผลิตไวรัส
 Nucleopolyhedrovirus และการควบคุม
 03-04-54-01-02-01-06-54

❖ ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis*

ควบคุมแมลงศัตรูพืช

การทดลอง ➤ ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย.....765
Bacillus thuringiensis ที่ผลิตด้วยวิธีต่างๆ
 03-04-54-01-02-02-01-54

❖ สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี และคณะ

➤ การศึกษาผลของสารกำจัดศัตรูพืชต่อประสิทธิภาพ.....772
 ของแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* และไวรัส NPV
 03-04-54-01-02-02-02-54

❖ อิศเรศ เทียนทัด และคณะ

กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้เชื้อราควบคุมแมลงศัตรูพืช

การทดลอง ➤ การคัดเลือกและพัฒนาวิธีการเลี้ยง.....786
 เชื้อราบิวเวอเรีย (white muscardine fungus);
Beauveria bassiana (Balsamo)
 เพื่อใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืช
 03-04-54-01-02-03-01-54

❖ เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ และคณะ

➤ การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียว.....793
 เมตาไรเซียม (green muscardine fungus);
Metarhizium anisopliae (Metsch) Sorokin
 เพื่อป้องกันกำจัดแมลงในอันดับด้วงและผีเสื้อ
 03-04-54-01-02-03-02-55

❖ เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ และคณะ



กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้ไส้เดือนฝอยควบคุมแมลงศัตรูพืช

- การทดลอง ➤ เทคนิคการผลิตขยายไส้เดือนฝอย.....799
Steinernema riobrave
03-04-54-01-02-04-01-54
❖ วิไลวรรณ เวชยันต์ และคณะ
- ศึกษาประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอย.....807
Steinernema riobrave ในการควบคุมด้วงหมัดผัก
03-04-54-01-02-04-02-54
❖ วิไลวรรณ เวชยันต์ และคณะ
- วิจัยและพัฒนาการผลิตขยายไส้เดือนฝอย.....821
Steinernema glaseri เพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืช
03-04-54-01-02-04-03-54
❖ สาทิพย์ มาลี และวิไลวรรณ เวชยันต์
- การทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ไส้เดือนฝอย.....833
Steinernema carpocapsae สูตรผงในการควบคุม
แมลงศัตรูพืช
03-04-54-01-02-04-04-54
❖ สาทิพย์ มาลี และวิไลวรรณ เวชยันต์
- ปัจจัยที่มีผลต่อการมีชีวิตรอดและประสิทธิภาพ
ของผลิตภัณฑ์ไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae*
ชนิดผง
03-04-54-01-02-04-05-55
❖ วิไลวรรณ เวชยันต์ และคณะ

กิจกรรม การผลิตและการใช้เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมโรคพืช

กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้แบคทีเรียควบคุมโรคพืช

- การทดลอง ➤ การพัฒนาผลิตภัณฑ์ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์.....842
DOA-WB4 แบบผงเพื่อควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจาก
แบคทีเรียของมันฝรั่ง
03-04-54-01-03-01-01-54
❖ บุรณี พัวพงษ์แพทย์ และคณะ
- การพัฒนาผลิตภัณฑ์ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์.....851
ดินรอกยาสูบ No. 4 แบบเม็ดเพื่อควบคุมโรคเหี่ยว

ที่เกิดจากแบคทีเรียของจีน

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

❖ ณัฐริมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ

➤ คัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีศักยภาพในการ.....857

ควบคุมเชื้อแบคทีเรีย *Erwinia carotovora* subsp.

carotovora และ *E. chrysanthemi* สาเหตุโรค

เน่าและกล้วยไม้

03-04-54-01-03-01-03-54

❖ สุรีย์พร บัวอาจ และคณะ

➤ การคัดเลือกแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus*885

ที่มีศักยภาพในการควบคุมเชื้อรา

Phytophthora parasitica

03-04-54-01-03-01-04-54

❖ บุษราคัม อุดมศักดิ์ และคณะ

➤ การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีศักยภาพ.....899

ในการควบคุมเชื้อรา *Didymella bryoniae*

สาเหตุโรคนางไหล

03-04-54-01-03-01-05-54

❖ ทศนาพร ทศคร และคณะ

➤ การคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุม.....920

เชื้อรา *Rhizoctonia solani*

03-04-54-01-03-01-06-54

❖ พิระวรรณ พัฒนวิภาส และคณะ

➤ การคัดเลือกแบคทีเรีย *Pasteuria penetrans*.....934

ที่มีศักยภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม

Meloidogyne spp.

03-04-54-01-03-01-07-54

❖ ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ



กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้เชื้อราควบคุมโรคพืช

การทดลอง

- การคัดเลือกเชื้อรา *Oudemansiella* spp. ที่มีศักยภาพในการควบคุมเชื้อรา

Colletotrichum gloeosporioides และ *C. capsici* ในพริก

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

❖ พงนา ตระกูลสุขรัตน์ และคณะ

- การคัดเลือกเชื้อราเอ็นโดไฟท์ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Sclerotium rolfsii*

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

❖ ชนินทร ดวงสอาด และคณะ

- การคัดเลือกเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีศักยภาพ^๑940 ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม

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

❖ อธิยา สารพัฒน์ และคณะ

- การคัดเลือกและทดสอบศักยภาพของ^๑945 เชื้อรา *Fusarium oxysporum* สายพันธุ์ที่

ไม่ก่อให้เกิดโรคพืช (non-pathogenic *Fusarium*)

ในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium oxysporum*

สาเหตุโรคพืช

03-04-54-01-03-02-04-55

❖ อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และคณะ

กิจกรรม การควบคุมสัตว์ศัตรูพืช และวัชพืชโดยชีววิธี

กิจกรรมย่อย การควบคุมสัตว์ศัตรูพืชโดยชีววิธี

การทดลอง

- ศึกษาวิธีเก็บรักษาสปอร์โรซีสต์ของค็อคซิเดียน.....953 โปรโตซัว *S. singaporensis* เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการผลิต

สารชีวอินทรีย์กำจัดหนู

03-04-54-01-04-01-01-54

❖ ยวลักษณ์ ขอประเสริฐ และคณะ

- ศึกษาประสิทธิภาพไส้เดือนฝอย (*Steinernema* sp.).....962 ควบคุมทาก *Parmarion* sp.

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

❖ ปราสาททอง พรหมเกิด และคณะ



- คัดเลือกชนิด และศึกษาพฤติกรรมการกินหอยทาก.....969
ของหอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae ในประเทศไทย
03-04-54-01-04-01-03-54

❖ ดาราพร รินทะรักษ์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การควบคุมวัชพืชโดยชีววิธี

- การทดลอง ➤ ประสิทธิภาพของถั่ว ซีรูลีเยม (caeruleum :2771
Calopogonium caeruleum (Benth.) Sauvalle)
ต่อการควบคุมหญ้าคา
(cogongrass: *Imperata cylindrical* Beauv.)
03-04-54-01-04-02-01-54

❖ คมสัน นครศรี และคณะ

- ศักยภาพของฝอยทอง (Chinese dodder:977
Cuscuta chinensis Lam.) ในการควบคุม
ซีไถ่ย่าน (Mile a minute : *Mikania micrantha* H.B.K.)
03-04-54-01-04-02-03-54

❖ เสริมศิริ คงแสงดาว และกลอยใจ คงเจี้ยง

กิจกรรม ศูนย์ต้นแบบการผลิตขยายศัตรูธรรมชาติเป็นปริมาณมาก

กิจกรรมย่อย -

- การทดลอง ➤ ศูนย์ต้นแบบการผลิตขยายแตนเบียน ☼986
เพี้ยแป้งมันสำปะหลังเป็นปริมาณมาก
03-04-54-01-05-00-01-55

❖ พัชรวิพรรณ มณีสาคร และคณะ

- การผลิตขยายมวนพิฆาตเพื่อควบคุม ☼993
แมลงศัตรูพืช
03-04-54-01-05-00-02-55

❖ รัตนา นชะพงษ์

- ศูนย์ต้นแบบการผลิตขยายไรตัวห้ำ.....1004
เป็นปริมาณมาก
03-04-54-01-05-00-03-55

❖ มานิตา คงชื่นสิน

โครงการวิจัย การศึกษาและพัฒนาประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช 03-04-54-02

กิจกรรม การศึกษาประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชเพื่อหาสารทดแทนสารเฝ้าระวัง และสารที่มีพืชตกค้าง

กิจกรรมย่อย การศึกษาประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดแมลงไรและสัตว์ศัตรูพืช

การทดลอง ➤ การคัดเลือกสารฆ่าแมลงกลุ่มต่างๆ ในการป้องกัน.....1028

กำจัดหนอนใยผัก (Diamond back moth);

Plutella xylostella Linnaeus

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

❖ สุภาพคนา ถีรฐ และคณะ

➤ การคัดเลือกสารฆ่าแมลงและสารสกัดจากสะเดา.....2831

ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ *Thrips tabaci* Lindeman

และแมลงหิวข้าว *Bemisia tabaci* Gennadius

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

❖ อุราพร หนูนารถ และคณะ

➤ การคัดเลือกสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัด.....2826

เพลี้ยไฟ (Cotton thrips) *Thrips palmi* Karny

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

❖ อุราพร หนูนารถ และคณะ

➤ การคัดเลือกสารป้องกันกำจัดเพลี้ยไก่แจ้ทุเรียน.....1036

Allocaridara malayensis

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

❖ ศรุต สุทธิอารมณ และคณะ

➤ การคัดเลือกสารฆ่าแมลงและน้ำมันปิโตรเลียม.....1045

ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ (Chilli Thrip);

Scirtothrips dorsalis และเพลี้ยจักจั่นมะม่วง

(Mango Hopper); *Idioscopus clypealis*

03-04-54-02-01-01-05-54

❖ สราญจิต ไกรฤกษ์ และคณะ

➤ การคัดเลือกสารป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้ง.....1057

(Striped Mealybug); *Ferrissia virgata* (Cockerell)

03-04-54-02-01-01-06-54

❖ พวงผกา อ่างมณี และคณะ



- ประสิทธิภาพสารสกัดสะเดา เชื้อแบคทีเรีย^๕1061
และสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดหนอน
กระทู้หอม หนอนชอนใบและเพลี้ยไฟหอม
และผลกระทบต่อแมลงศัตรูธรรมชาติในแปลงทดสอบ
03-04-54-02-01-01-07-54

❖ สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น

- ประสิทธิภาพแบคทีเรีย และสารฆ่าแมลง.....1069
ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผักหนอนกระทู้ผัก
และหนอนเจาะยอดกะหล่ำและผลกระทบต่อแมลง
ศัตรูธรรมชาติ ในแปลงทดสอบ
03-04-54-02-01-01-08-54

❖ สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น

- การคัดเลือกสารฆ่าไรบางชนิดในการป้องกันกำจัด.....1080
ไรแดงแอฟริกัน (African red mite);
Entetranychus africanus (Tucker) ในแปลงทดสอบ
03-04-54-02-01-01-09-54

❖ พิเชฐ เขาวนวิฒนวงศ์ และคณะ

- การคัดเลือกสารฆ่าไรในการป้องกันกำจัดไรแดง.....1087
ในแปลงทดสอบ.
03-04-54-02-01-01-10-54

❖ พิเชฐ เขาวนวิฒนวงศ์ และคณะ

- ศึกษาความเป็นพิษและประสิทธิภาพของสปู่ดำ.....1092
และมะค้ำตีควาย เพื่อใช้เป็นสารกำจัดหอยสาลิกา
และหอยดักดาน
03-04-54-02-01-01-12-54

❖ ปราสาททอง พรหมเกิด และคณะ

- ประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการ.....1099
ป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟในมะเขือเทศ
03-04-54-02-01-01-13-55

❖ อูราพร หนูนารถ

- ประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้ง1105
และเพลี้ยหอยศัตรูเงาะ

03-04-54-02-01-01-14-55

❖ นายยุทธนา แสงโชติ

➤ ประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกัน.....2745

กำจัดหนอนแมลงวันชอนใบ เพลี้ยไฟหนอน

ผีเสื้อในดาวเรือง

03-04-54-02-01-01-15-55

❖ อูราพร หนูนารถ

➤ ประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการ.....1110

ป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟกุหลาบ

03-04-54-02-01-01-16-55

❖ ศรีจันทร์ ศรีจันทร์

กิจกรรมย่อย การศึกษาประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดโรคพืช

การทดลอง

➤ การศึกษาประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัด.....1127

โรคพืชในการป้องกันกำจัดเชื้อรา *Rhizoctonia solani*

สาเหตุโรคพืช

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

❖ พิระวรรณ พัฒนวิภาส และคณะ

➤ การศึกษาประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัด.....1137

โรคพืชในการป้องกันกำจัดเชื้อรา *Alternaria*

สาเหตุโรคพืช

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

❖ ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี และคณะ

➤ การศึกษาประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัด.....1141

โรคพืชในการป้องกันกำจัดเชื้อราสกุล *Pythium*

สาเหตุโรคพืช

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

❖ ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี และคณะ

➤ การศึกษาประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืช.....1145

ในการป้องกันกำจัดเชื้อรา *Curvularia eragrostidis*

สาเหตุโรคพืช

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

❖ สุณิรัตน์ สิมะเตือ และคณะ

➤ การศึกษาประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดโรคพืช.....1154

ในการป้องกันกำจัดเชื้อรา *Diplodia maydis*
สาเหตุโรคพืช

03-04-54-02-01-02-05-54

❖ วรางคณา แซ่อ้วง และคณะ

➤ ผลกระทบของสารป้องกันกำจัดรา metalaxyl[®]1163

ต่อการเจริญของรา *Phytophthora palmivora*
สาเหตุโรคเน่าของไม้ผล

03-04-54-02-01-02-06-54

❖ อมรรัตน์ ภูไพบูลย์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การศึกษาประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดวัชพืช

การทดลอง ➤ การทดสอบประสิทธิภาพของ.....2796

สารกำจัดวัชพืชเพื่อควบคุมธูปฤาษี
(Cattil) ; *Typha angustifolia* Linn.

ในเรือนทดลอง

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

❖ คมสัน นครศรี และคณะ

➤ การทดสอบประสิทธิภาพของ.....2751

สารกำจัดวัชพืชเพื่อควบคุมแห้วหมู
Cyperus rotundus Linn ในแปลงทดลอง

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

❖ คมสัน นครศรี และคณะ

➤ การศึกษาประสิทธิภาพของ[®]2761

สารกำจัดวัชพืช paraquat ในการควบคุมวัชพืช
ประเภทใบแคบและใบกว้างในแปลงทดลอง

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

❖ คมสัน นครศรี และคณะ

➤ ทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภท.....1175

ใช้ก่อนและหลังการงอกของวัชพืชเพื่อกำจัด
วัชพืชประเภทใบแคบและใบกว้างในแปลงทดลอง

03-04-54-02-01-03-05-54

❖ จริญญา ปิ่นสุภา และคณะ

- การศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืช.....1188
เพื่อควบคุมหญ้าสาบในแปลงทดลอง
03-04-54-02-01-03-06-54

❖ เพ็ญศรี นันทสมสรานู และคณะ

- การศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืช.....1206
เพื่อควบคุมวัชพืชเถาเลื้อยในแปลงทดลอง
03-04-54-02-01-03-07-54

❖ จริญญา ปิ่นสุภา และคมสัน นครศรี

กิจกรรม การศึกษาความต้านทานของศัตรูพืชต่อสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช

กิจกรรมย่อย การศึกษาความต้านทานของแมลงและไรศัตรูพืชต่อสารป้องกันกำจัด

- การทดลอง ➤ ความผันแปรของความต้านทานต่อสาร.....1223
ฆ่าแมลงในหนอนใยผัก (diamondback moth,
Plutella xylostella (L.)) จากพื้นที่ปลูกต่างๆ
03-04-54-02-02-01-01-54

❖ สุภรดา สุคนธาภิรมย์ ณ พัทลุง และคณะ

- กลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงในหนอนใยผัก.....1232
(diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.))
03-04-54-02-02-01-02-54

❖ สุภรดา สุคนธาภิรมย์ ณ พัทลุง และคณะ

- ความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงในเพลี้ยไฟฝ้าย.....1240
(cotton thrips, *Thrips palmi* Karny)
03-04-54-02-02-01-03-54

❖ สุภรดา สุคนธาภิรมย์ ณ พัทลุง และคณะ

- กลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงในเพลี้ยไฟฝ้าย.....1249
(cotton thrips,) : *Thrips palmi* Karny
03-04-54-02-02-01-04-54

❖ สุภรดา สุคนธาภิรมย์ ณ พัทลุง และคณะ

- ความต้านทานต่อสารฆ่าไรบางชนิด.....2804
ของไรแดงแอฟริกัน (African red mite);
Eutetranychus africanus (Tucker) ในสวนส้ม



03-04-54-02-02-01-05-55

❖ อัจฉราภรณ์ ประเสริฐผล

➤ ความต้านทานของเชื้อแบคทีเรีย.....1256

Bacillus thuringiensis ของหนอนกระทู้หอม

03-04-54-02-02-01-06-55

❖ อิศเรศ เทียนทัต

กิจกรรมย่อย การศึกษาความต้านทานของวัชพืชต่อสารป้องกันกำจัด

การทดลอง ➤ ศึกษาสถานการณ์การระบาดและการจัดการวัชพืช.....1264

ต้านทานสารกำจัดวัชพืชกลุ่มยับยั้งการสังเคราะห์แสง

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

❖ จรรยา มณีโชติ และคณะ

➤ ศึกษาสถานการณ์การระบาดและการจัดการวัชพืช.....1284

ต้านทานสารกำจัดวัชพืชกลุ่มยับยั้งการทำงาน

ของเอนไซม์ ACCase

03-04-54-02-02-02-02-54

❖ จรรยา มณีโชติ และคณะ

➤ ศึกษาสถานการณ์การระบาดและการจัดการวัชพืช.....2987

ต้านทานสารกำจัดวัชพืชไกลโฟเสท

03-04-54-02-02-02-03-54

❖ จรรยา มณีโชติ และคณะ

กิจกรรม การศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชต่อศัตรูธรรมชาติและสัตว์น้ำ

กิจกรรมย่อย การศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชต่อศัตรูธรรมชาติและ

การทดลอง ➤ ผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช.....1307

ที่มีต่อมวนเพศเมียในสภาพห้องปฏิบัติการ

และแปลงทดสอบ

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

❖ รัตนา นชะพงษ์ และคณะ

➤ การศึกษาผลกระทบของสารฆ่าแมลงปากดูด.....1314

ต่อแมลงข้างปีกใส : *Plesiochrysa ramburi*

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

❖ ประภัสสร เขยคำแหง และคณะ



➤ ทดสอบผลของสารป้องกันกำจัดศัตรูอ้อย.....1319

ต่อแตนเบียนไข่ *Trichogramma confusum*

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

❖ รจนา ไวยเจริญ และคณะ

➤ การศึกษาผลกระทบของสารฆ่าแมลง.....1331

ต่อประชากรแมงมุมตัวห้ำ

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

❖ วิมลวรรณ โชติวงศ์ และคณะ

➤ สารฆ่าไรบางชนิดที่ก่อให้เกิดการระบาดมากขึ้น.....2808

ของไรแดงแอฟริกัน(African red mite) ;

Eutetranychus africanus (Tucker)

03-04-54-02-03-01-05-54

❖ อัจฉราภรณ์ ประเสริฐผล และคณะ

กิจกรรมย่อย การศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชต่อสัตว์น้ำ

การทดลอง

➤ ผลกิ่งเรื้อรังของสารสกัดจากกากเมล็ดชากำจัด.....1381

หอย *Camellia sinensis* L. ที่มีต่อเห็บอกและ

เนื้อเยื่อตับของปลานิล

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

❖ ดาราพร รินทะรักษ์ และคณะ

➤ ประสิทธิภาพของสารกำจัดวัชพืชในการกำจัด.....1394

สาหร่ายหางกระรอก (Hydrill);

Mydrilla verticillata (Linn.f) Royle

และสาหร่ายพวงชะโด (Common Coontail);

Ceratophyllum demersum Linn

และผลกระทบต่อสัตว์น้ำในเรือนทดลอง

03-04-54-02-03-02-02-55

❖ คมสัน นครศรี และคณะ

กิจกรรมย่อย การศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดวัชพืช

การทดลอง

➤ ผลของสารไกลโฟเสท ต่อการเปลี่ยนแปลง.....1403

ชนิดวัชพืช

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

❖ จริญญา ปิ่นสุภา และคณะ

➤ ผลของสารพาราควอทต่อการเปลี่ยนแปลง.....1420

ประชากรวัชพืช

03-04-54-02-03-03-02-54

❖ จรรย์ญา ปิ่นสุภา และคณะ

กิจกรรม เทคนิคการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช

กิจกรรมย่อย เทคนิคการใช้สารป้องกันกำจัดแมลง

การทดลอง

➤ ศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการ.....1431

พ่นสารป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟฝ้าย

(Cotton thrips) ; *Thrips palmi* Karny

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

❖ สิริกัญญา ขุนวิเศษ และคณะ

➤ ศึกษาประสิทธิภาพของหัวฉีดชนิดต่างๆ.....1443

ประกอบเครื่องยนต์พ่นสารสะพายนั่ง

แบบใช้แรงลมในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟศัตรูพริก

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

❖ วรวิษ สุตจจริตธรรมจริยางกูร และคณะ

➤ ศึกษาประสิทธิภาพสารกลุ่มต่างๆ.....1451

ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก (Diamond back moth);

Plutella xylostella Linnaeus

ด้วยวิธีการพ่นสารแบบน้ำน้อย

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

❖ สุภางคณา ธีรวิธ และคณะ

➤ ศึกษาอัตราสารออกฤทธิ์ของสารฆ่าแมลง.....1460

กลุ่ม diamide ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก

(Diamond back moth); *Plutella xylostella* Linnaeus

ด้วยวิธีการพ่นสารแบบน้ำน้อย

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

❖ สุชาติดา สุพรศิลป์ และคณะ

➤ ศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงบางชนิดในการ.....1470

ป้องกันกำจัดเพลี้ยจักจั่นฝ้ายและเพลี้ยไฟพริก

โดยวิธีการราดโคน

03-04-54-02-04-01-05-54

❖ สมรวย รวมชัยอภิกุล และอุราพร หนูนารถ

- การศึกษาและพัฒนาวิธีการพ่นสารเพื่อ.....1479
ป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้ง
03-04-54-02-04-01-06-54

❖ สมรวย รวมชัยอภิกุล และคณะ

- ทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาว.....1483
ในมะเขือเทศโดยใช้กับถาดเพาะชำ รางทางดินและ
ร่องกันหลุมในแปลงทดสอบ
03-04-54-02-04-01-07-54

❖ สุเทพ สหายา และคณะ

กิจกรรมย่อย เทคนิคการใช้สารป้องกันกำจัดวัชพืช

- การทดลอง ➤ การใช้เครื่องลูบรวมกับการใช้สาร.....1495
กำจัดวัชพืชชนิดใช้ทางใบเพื่อลดความเป็นพิษต่อพืชปลูก
03-04-54-02-04-02-01-54

❖ จรรยา มณีโชติ และคณะ

- ศึกษาเทคนิคการใช้สารกำจัดวัชพืช.....1506
เพื่อควบคุมผักปราบในสวนส้ม
03-04-54-02-04-02-02-54

❖ จรรยา มณีโชติ และคณะ

- ผลของความเข้มข้นสารกำจัดวัชพืช.....2777
และปริมาณน้ำต่อการควบคุมวัชพืชโดยใช้เทคนิคการลูบ
03-04-54-02-04-02-03-54

❖ คมสัน นครศรี และคณะ

กิจกรรม การศึกษาประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชชนิดใหม่เพื่อคำแนะนำในพืชส่งออก

กิจกรรมย่อย การศึกษาประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชเพื่อคำแนะนำในพืชผักสวนครัว

- การทดลอง ➤ การคัดเลือกสารป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาว.....1517
และหนอนขนใบในผักสวนครัว
(กะเพรา โหระพา และแมงลัก)
03-04-54-02-05-01-01-54

❖ สุเทพ สหายา และคณะ

- การคัดเลือกสารเคมีและสารสกัดจากพืช.....1527
ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูที่สำคัญในมะเขือเปราะ

03-04-54-02-05-01-02-54

❖ สัณฐาน ศรีคชา และคณะ

➤ การคัดเลือกของสารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสำคัญ^๑1532
ในผักแพวและผักแขยง

03-04-54-02-05-01-03-54

❖ วิภาดา ปลอดภัย และคณะ

➤ การคัดเลือกสารป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาว^๑1541
ในผักชีเพื่อการส่งออก

03-04-54-02-05-01-04-54

❖ ยุทธนา แสงโชติ และคณะ

➤ การทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดแมลง.....1551
ศัตรูสำคัญในสระแห่

03-04-54-02-05-01-05-54

❖ พวงพกา อ่างมณี และคณะ

➤ การศึกษาชนิดและทดสอบประสิทธิภาพสาร.....1555
ป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสำคัญในชะพลู

03-04-54-02-05-01-06-54

❖ ศรุต สุทธิอารมณ และคณะ

กิจกรรมย่อย การศึกษาประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชเพื่อคำแนะนำ
ในไม้ดอกไม้ประดับ

การทดลอง ➤ การศึกษาชนิดและทดสอบประสิทธิภาพ.....1560
สารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพรรณไม้น้ำ

03-04-54-02-05-02-01-54

❖ วณาพร วงษ์นิตย และคณะ

➤ การทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัด.....1570
ศัตรูที่สำคัญในไม้ประดับสกุล Hoya

03-04-54-02-05-02-02-54

❖ ยุทธนา แสงโชติ และคณะ

➤ ศึกษาชนิดและการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสำคัญ.....1575
ในไม้ประดับสกุล Euphorbia เพื่อการส่งออก

03-04-54-02-05-02-03-54

❖ บุชบง มั่นสมั่นคง และคณะ



➤ การคัดเลือกสารในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรู.....1586

ที่สำคัญในไม้ประดับสกุล Hibiscus สำหรับ

การปลูกต่อเพื่อการส่งออก

03-04-54-02-05-02-04-54

❖ สราวุฒิต ไกรฤกษ์ และคณะ

➤ การคัดเลือกสารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสำคัญ.....1592

ในไม้ประดับสกุล Plumeria เพื่อการส่งออก

03-04-54-02-05-02-05-54

❖ วิภาดา ปลอดภัย และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยการกักกันพืช 03-04-54-03

กิจกรรม การศึกษาศัตรูพืชในประเทศเพื่อการค้าระหว่างประเทศ

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

➤ การศึกษาชนิดของแมลง/ไร/สัตว์ศัตรูพืช.....2718

ของพืชส่งออก ได้แก่ ข้าวโพดฝักอ่อนและมะม่วง

พืชนำเข้า ได้แก่ อ้อยและข้าวฟ่าง

03-04-54-03-01-00-04-55

❖ ลักษณ์ บำรุงศรี และคณะ

➤ การศึกษาชนิดของโรคพืชของพืชส่งออก.....1602

ได้แก่ ข้าวโพดฝักอ่อนและมะม่วง

พืชนำเข้า ได้แก่ อ้อยและข้าวฟ่าง

03-04-54-03-01-00-05-55

❖ พรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ

➤ การศึกษาชนิดของวัชพืชของพืชส่งออก.....1607

ได้แก่ ข้าวโพดฝักอ่อนและมะม่วง

พืชนำเข้า ได้แก่ อ้อยและข้าวฟ่าง

03-04-54-03-01-00-06-54

❖ ศิริพร ชิ่งสนธิพร และคณะ

กิจกรรม การศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

กิจกรรมย่อย การศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของพืชตามบพเฉพาะกาล

การทดลอง

➤ การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยง.....2688

ศัตรูพืชของผลพลัมสดนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา

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

❖ วลัยกร รัตนเดชากุล และคณะ

- การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช.....1620
ของผลมะม่วงสดนำเข้าจากสาธารณรัฐอินเดีย
03-04-54-03-02-01-03-54

❖ วรัญญา มาลี และคณะ

- การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยง.....1647
ศัตรูพืชของผลพลับสดนำเข้าจากออสเตรเลีย
03-04-54-03-02-01-04-54

❖ วรัญญา มาลี และคณะ

- การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยง.....1662
ศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์พื้ญ่นำเข้าจากญี่ปุ่น
03-04-54-03-02-01-05-54

❖ สุคนธ์ทิพย์ สมบัติ และคณะ

- การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยง.....1675
ศัตรูพืชของผลอะโวคาโดสดนำเข้าจากเครือรัฐออสเตรเลีย
03-04-54-03-02-01-06-54

❖ อลงกต โพธิ์ดี และคณะ

- การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยง.....1688
ศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากอินโดนีเซีย
03-04-54-03-02-01-07-54

❖ วาสนา ฤทธิ์ไธสง และคณะ

- การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยง.....1739
ศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์ส้มนำเข้าจากสาธารณรัฐแอฟริกาใต้
03-04-54-03-02-01-08-5

❖ ณัฏฐพร อุทัยมงคล และคณะ

- การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยง.....1755
ศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์ยาสูบนำเข้าจากบราซิล
03-04-54-03-02-01-09-55

❖ ปรียพรรณ พงศาพิชณ์ และคณะ

กิจกรรม การศึกษาศัตรูพืชที่ติดมากับพืชนำเข้า

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

➤ การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์.....1762

ปาล์มน้ำมันนำเข้าจากต่างประเทศ

03-04-54-03-03-00-01-54

❖ สุรพล ยินอัสวพรรณ และคณะ

➤ การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์.....1770

พริกนำเข้าจากต่างประเทศ

03-04-54-03-03-00-02-54

❖ ชลธิชา รักใคร่ และคณะ

➤ การศึกษาชนิดศัตรูพืชที่ติดมากับหัวพันธุ์.....1778

ทิวลิปนำเข้าจากต่างประเทศ

03-04-54-03-03-00-03-54

❖ วานิช คำพานิช และคณะ

➤ การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์.....1789

พืชวงศ์กระหล่ำนำเข้าจากต่างประเทศ

(กะหล่ำปลี กวางตุ้ง และ กะหล่ำดอก)

03-04-54-03-03-00-04-54

❖ ศรีวิเศษ เกษสังข์ และคณะ

➤ การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์.....1800

มะเขือยาวนำเข้าจากต่างประเทศ

03-04-54-03-03-00-05-54

❖ ศรีวิเศษ เกษสังข์ และคณะ

➤ การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์.....1808

ถั่วฝักยาวที่นำเข้าจากต่างประเทศ

03-04-54-03-03-00-06-54

❖ ศรีวิเศษ เกษสังข์ และคณะ

➤ การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ด.....1816

ผักชีนำเข้าจากต่างประเทศ

03-04-54-03-03-00-07-54

❖ นงพร มาอยู่ดี และคณะ

➤ การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ด.....1825

ข้าวสาธิตนำเข้าจากต่างประเทศ

03-04-54-03-03-00-08-54

❖ นงพร มาอยู่ดี และคณะ

➤ การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับ.....1834

เมล็ดพันธุ์วงศ์แตงที่นำเข้าจากต่างประเทศ

(เมล็ดพันธุ์แตงกวา)

03-04-54-03-03-00-09-54

❖ วันเพ็ญ ศรีชาติ และคณะ

➤ การตรวจติดตามเชื้อ Columnea latent viroid.....1859

(CLVd) ที่ติดเข้ามาพร้อมกับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่นำเข้า

จากต่างประเทศ

03-04-54-03-03-00-10-54

❖ ปรีเชษฐ์ ตั้งกาญจนภาสน์ และคณะ

➤ การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับ.....1890

หัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจากต่างประเทศ

03-04-54-03-03-00-11-54

❖ ปรียพรรณ พงศาพิชณ์ และคณะ

➤ การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์.....1902

ฟักทองที่นำเข้าจากต่างประเทศ

03-04-54-03-03-00-12-55

❖ วันเพ็ญ ศรีทองชัย และคณะ

➤ การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์.....1920

ทานตะวัน

03-04-54-03-03-00-13-55

❖ ศรีวิเศษ เกษสังข์ และคณะ

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบศัตรูพืชกักกัน

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

➤ การผลิตชุดตรวจสอบ Potato virus A.....1928

สำเร็จรูปโดยเทคนิค Gold labeling IgG flow test

03-04-54-03-04-00-01-54

❖ สิทธิศักดิ์ แสนไพศาล และคณะ

❖



กิจกรรม วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดศัตรูพืชด้วยกันเพื่อการส่งออก

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➤ วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อน.....1939
สำหรับกำจัดแมลงวันทองในผลแก้วมังกร
เพื่อการส่งออก
03-04-54-03-05-00-01-54

❖ รัชฎา อินทรกำแหง และคณะ

➤ วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อน.....1952
สำหรับกำจัดแมลงวันทองในผลลองกอง
เพื่อการส่งออก
03-04-54-03-05-00-02-54

❖ รัชฎา อินทรกำแหง และคณะ

➤ วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วย.....1967
ความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันทองในผลมะนาว
เพื่อการส่งออก
03-04-54-03-05-00-03-54

❖ สลักจิต พานคำ และคณะ

➤ วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับ.....1978
กำจัดแมลงวันทองในผลมะละกอเพื่อการส่งออก
03-04-54-03-05-00-04-54

❖ มลนิภา ศรีมาตริภิมย์ และคณะ

➤ วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อน.....1995
สำหรับกำจัดแมลงวันทองในผลลำไยเพื่อการส่งออก
03-04-54-03-05-00-05-54

❖ ชัยณรัตน์ สนศิริ และคณะ

กิจกรรม การเฝ้าระวังศัตรูพืชด้วยกัน

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➤ การเฝ้าระวังไรแดง.....2012
Amphitetranychus viennensis (Zacher)
ศัตรูพืชด้วยกันของแอปเปิ้ล
03-04-54-03-06-00-01-54

❖ พิเชฐ เขาวนวิฒนวงศ์ และคณะ

➤ การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของเพี้ยแป้ง.....2016

Cataenococcus hispidus Green และ

Planococcus lichi Cox ในลั่นจี่

03-04-54-03-06-00-02-54

❖ ศรีจันทร์ ศรีจันทร์ และคณะ

➤ การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของหนอนเจาะผล.....2023

Cryptophlebia ombrodelta (lower) ในลั่นจี่

03-04-54-03-06-00-03-54

❖ บุชบง มั่นมั่นคง และคณะ

➤ การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของเพี้ยไก่แจ้.....2030

Trioza erytrae (Del Guercio) ในแหล่ง

ปลูกส้มจังหวัดเชียงใหม่

03-04-54-03-06-00-04-54

❖ ศรีจันทร์ ศรีจันทร์ และคณะ

➤ การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของราเขม่าดำ*2037

Urocystis cepulae ในพื้นที่ปลูกหอมแดงและกระเทียม

เพื่อการส่งออก

03-04-54-03-06-00-05-54

❖ พรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ

➤ การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของราสนิมข้าวโพด*2054

Puccinia polysora และ *P. sorghi*

03-04-54-03-06-00-06-54

❖ สุณีรัตน์ สีมะเต็อ และคณะ

➤ การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของราน้ำค้างข้าวโพด.....2060

Peronosclerospora philippinensis

03-04-54-03-06-00-07-54

❖ ชนินทร ดวงสอด และคณะ

➤ การเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของแบคทีเรีย2066

Pseudomonas syringae pv. *syringae*

ในพื้นที่ปลูกหอม กระเทียม เพื่อการส่งออก

03-04-54-03-06-00-08-54

❖ ทิพวรรณ กันหาญาติ และคณะ

➤ การเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของ.....2567

Pantoea agglomerans ในพื้นที่ผลิตเมล็ดพันธุ์

ข้าวโพดเพื่อการส่งออก

03-04-54-03-06-00-09-54

❖ ญัฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ

➤ การเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของโรคไวรัสของ2071

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 นิเวศวิทยาของแมลงไร สัตว์ศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติ

การทดลอง ➤ อนุกรมวิธานเพลี้ยอ่อนวงศ์ย่อย Hormaphidinae.....2076

03-04-54-04-01-01-01-54

❖ ลักขณา บำรุงศรี และคณะ

➤ อนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนเผ่า Macrosiphini.....2087

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

❖ ลักขณา บำรุงศรี และคณะ

➤ อนุกรมวิธานเพลี้ยแป้งสกุล Phenacoccus.....2099

03-04-54-04-01-01-03-54

❖ ชลิตา อุณหวุฒิ และคณะ

➤ อนุกรมวิธานเพลี้ยหอยสกุล Pulvinaria.....2117

03-04-54-04-01-01-04-54

❖ ชมัยพร บัวมาศ และคณะ

➤ อนุกรมวิธานแมลงหิวข้าวในวงศ์ย่อย Aleurodicinae.....2130

03-04-54-04-01-01-05-54

❖ สุนัดดา เขาวลิต และคณะ

➤ อนุกรมวิธานเพลี้ยไฟวงศ์ย่อย Panchaetothripinae.....2148

03-04-54-04-01-01-06-54

❖ อิทธิพล บรรณาการ และคณะ

➤ อนุกรมวิธานผีเสื้อกลางคืนวงศ์ย่อย Pyraustinae.....2615

03-04-54-04-01-01-07-54

❖ สุนัดดา เชาวลิต และคณะ

➤ อนุกรมวิธานของตัวอ่อนแมลงวันทองสกุล *Bactrocera*.....2166

03-04-54-04-01-01-09-54

❖ ชฎาภรณ์ คงแก้วศรี และคณะ

➤ อนุกรมวิธานและชีววิทยาเพลี้ยแป้ง2176

Pseudococcus jackbeardsleyi Gimpel & Miller

03-04-54-04-01-01-11-54

❖ ชลิตา อุณหวุฒิ และคณะ

➤ การศึกษาอนุกรมวิธานแมงมุมสกุล *Argiope*.....2608

03-04-54-04-01-01-12-54

❖ วิมลวรรณ โชติวงค์ และคณะ

➤ อนุกรมวิธานแมงมุมวงศ์ *Tetragnathidae*.....2612

03-04-54-04-01-01-21-55

❖ วิมลวรรณ โชติวงค์ และคณะ

➤ ชนิดของมดที่อาศัยร่วมกับเพลี้ยแป้งสกุล.....2187

Phenacoccus

03-04-54-04-01-01-13-54

❖ ชมัยพร บัวมาศ และคณะ

➤ ชีววิทยา การเข้าทำลาย ฤดูกาลระบาดของ.....2196

แมลงวันทองชนิด *Bactrocera cucurbitae* (Coquillet)

03-04-54-04-01-01-14-54

❖ สัญญาณี ศรีคชา และคณะ

➤ สันฐานวิทยาของเปลือกและกายวิภาคศาสตร์.....2201

ระบบสืบพันธุ์ของหอยเจดีย์เล็ก *Lamellaxis gracillis*

และหอยเจดีย์ใหญ่ *Prosopea walkeri* (Benson)

03-04-54-04-01-01-15-54

❖ ดาราพร รินทะรักษ์ และคณะ

➤ ความชุกชุมและแหล่งอาศัยของนกแสก.....2211

(*Tytoalba javanica* (Gmelin, 1788)) ในพื้นที่

ภาคกลาง ภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

03-04-54-04-01-01-16-54



❖ เกรียงศักดิ์ หามะฤทธิ์ และคณะ

➤ อนุกรมวิธานไส้เดือนฝอย สกุล Steinernema.....2581
และ Heterorhabditis
03-04-54-04-01-01-17-54

❖ นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และณัฐริมา ไชยิตเจริญกุล

➤ ความหลากหลายชนิดของสัตว์ศัตรูธรรมชาติของ
สัตว์ฟันแทะในพื้นที่เกษตรที่สูง
03-04-54-04-01-01-18-54

❖ เกรียงศักดิ์ หามะฤทธิ์ และคณะ

➤ ความหลากหลายชนิดและประชากรของหอยทากและ*2219
ทากในโรงเรือน
03-04-54-04-01-01-19-54

❖ ปราสาททอง พรหมเกิด และคณะ

➤ ศึกษาชีววิทยาหอยดักดาน.....2233
Cryptozonia siamensis (Pfeiffer)
03-04-54-04-01-01-22-55

❖ สมเกียรติ กล้าแข็ง และคณะ

➤ การแพร่กระจายและความหลากหลาย.....2238
ทางชีวภาพของหนูนาใหญ่ *Rattus argentiventer*
(Robinson & Kloss,1916) ในประเทศไทย
03-04-54-04-01-01-23-55

❖ สมเกียรติ กล้าแข็ง และคณะ

กิจกรรมย่อย อนุกรมวิธาน ชีววิทยา นิเวศวิทยาของจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช

การทดลอง ➤ อนุกรมวิธานและชีววิทยาของรา*2251
Cladosporium สาเหตุโรคพืช
03-04-54-04-01-02-01-54

❖ ชนินทร ดวงสอาด และคณะ

➤ อนุกรมวิธานและพืชอาศัยของรา *Alternaria*.....2256
และ *Stemphylium* สาเหตุโรคพืช
03-04-54-04-01-02-02-54

❖ สุณิรัตน์ สีมะเต็อ และคณะ

➤ อนุกรมวิธานและชีววิทยาของราสกุล2265



Choanephora สาเหตุโรคเน่าเปียก (Wet rot)

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

❖ ธารทึบย ภาสบุตร และคณะ

➤ การจำแนกชนิดของราสกุล *Botryosphaeria*.....2272

สาเหตุโรคพืชโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและ
ลักษณะทางพันธุกรรม

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

❖ พรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ

➤ การศึกษาชีววิทยาและนิเวศวิทยาของรา2281

Phytophthora capsici

03-04-54-04-01-02-05-54

❖ อมรรัตน์ ภูไพบูลย์ และคณะ

➤ การศึกษาชีววิทยาและนิเวศวิทยาของรา.....2293

Didymella bryoniae (Auersw.) Rehm.

03-04-54-04-01-02-06-54

❖ ทศนาพร ทศคร และคณะ

➤ การจำแนกชนิดและเอกลักษณ์ทางพันธุกรรม.....2302

ของ Raceแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum*

ที่พบในประเทศไทย

03-04-54-04-01-02-07-54

❖ ณัฐริมา โขจิตเจริญกุล และคณะ

➤ การจำแนกชนิดแบคทีเรีย *Erwinia* สาเหตุโรคเน่าเละ.....2310

โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและความสัมพันธ์
ทางพันธุกรรม

● อนุกรมวิธานและชีววิทยาของ

เชื้อแบคทีเรีย *Erwinia* สาเหตุโรคเน่าเละ ในประเทศไทย

03-04-54-04-01-02-08-54

❖ รุ่งนภา คงสุวรรณ และคณะ

➤ อนุกรมวิธานและชีววิทยาของไส้เดือนฝอย.....2314

migratory endoparasitic nematodes

03-04-54-04-01-02-09-54

❖ ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ

➤ อนุกรมวิธานและชีววิทยาของไส้เดือนฝอยสกุล.....2594

Radopholus

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

❖ นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และคณะ

➤ การจำแนกชนิดของไวรัสกลุ่ม Tospovirus

สาเหตุโรคพืชที่สำคัญในประเทศไทย

03-04-54-04-01-02-11-54

❖ เยาวภา ตันติวานิช และคณะ

➤ การจำแนกชนิดของราสกุล Colletotrichum2319

สาเหตุโรคพืชโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและ

ลักษณะทางพันธุกรรม

03-04-54-04-01-02-12-54

❖ พรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ

กิจกรรมย่อย อนุกรมวิธาน ชีววิทยา นิเวศวิทยาของวัชพืช

การทดลอง

➤ ชีววิทยาและ การแพร่กระจายของวัชพืชสกุล.....2331

ผักแว่น (Marsilea) และศักยภาพการเป็นวัชพืช

ของผักแว่นต่างถิ่น

03-04-54-04-01-03-01-54

❖ ศิริพร ชิ่งสนธิพร และคณะ

➤ ชีววิทยาและการแพร่ระบาดของหญ้าอีห่านาว.....2338

Digera muricata (L.) Mart.

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

❖ ศิริพร ชิ่งสนธิพร และคณะ

➤ สัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชวงศ์ผักโขม.....2784

Amaranthaceae

03-04-54-04-01-03-03-54

❖ ภัทร์พิชชา รุจิรพงศ์ชัย และคณะ

➤ สัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชสกุลน้ำนมราชสีห์.....2342

Euphorbia

03-04-54-04-01-03-04-54

❖ ธัญชนก จงรักไทย และคณะ

➤ จำแนกชนิดวัชพืชในพืชสมุนไพร 10 พืช.....2346

03-04-54-04-01-03-05-54

❖ เพ็ญศรี นันทสมสรอายุ และคณะ

➤ ศึกษาชนิดด้วงพืชที่เป็นพืชอาศัยของเพลี้ยแป้ง.....2399

สกุล Phenacoccus

03-04-54-04-01-03-06-54

❖ จรรยา มณีโชติ และคณะ

➤ ชีววิทยาและการแพร่กระจายของดาตตะแก้ว.....2367

03-04-54-04-01-03-07-54

❖ เสริมศิริ คงแสงดาว และคณะ

➤ ชีววิทยาและนิเวศวิทยาของสาบม่วง.....2384

03-04-54-04-01-03-08-54

❖ ยุรวรรณ อนันตมณี และคณะ

➤ ศักยภาพในการแข่งขันของจิ้งจ้อในพืชหลัก.....2950

03-04-54-04-01-03-09-54

❖ สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ

➤ สันฐานวิทยาของแมลงด้วงพืชวงศ์ห้ำงช้าง.....2392

03-04-54-04-01-03-02-55

❖ ศิริพร ชิ่งสนธิพร และคณะ

กิจกรรม วิจัยความหลากหลายชนิดของแมลงเพื่อเก็บ - รักษาในพิพิธภัณฑ์

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

➤ ชนิดของแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์.....2627

ในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย

03-04-54-04-02-00-02-54

❖ สุนัดดา เชาวลิต และคณะ

➤ ความหลากหลายของแมลงปออันดับโอดอนาธา.....2665

(Odonata) ในภาคเหนือของประเทศไทย

03-04-54-04-02-00-03-54

❖ อธิธิพล บรรณาการ และคณะ

➤ ความหลากหลายของด้กแตนหนวดสั้นวงศ์ Acrididae.....2670

ในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย

03-04-54-04-02-00-04-54

❖ สุนัดดา เชาวลิต และคณะ

➤ ความหลากหลายชนิดของมดในพื้นที่ศูนย์วิจัยและ.....2677
 พัฒนาการเกษตรตาก และป้าธรรมชาติของจังหวัดตาก
 03-04-54-04-02-00-05-54

❖ ชมัยพร บัวมาศ และคณะ

➤ ความหลากหลายชนิดของด้วงงวงในเขตสงวน.....2683
 เขียวมณฑลสะแกกราช
 03-04-54-04-02-00-06-54

❖ อิทธิพล บรรณาการ และคณะ

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการวินิจฉัยและตรวจสอบศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ
 กิจกรรมย่อย การพัฒนาเทคโนโลยีการตรวจสอบศัตรูพืชโดยชุมชนวิทยา

การทดลอง ➤ การผลิตแอนติซีรัมของไวรัส2417
Pineapple mealybug wilt-associated virus-1
 สาเหตุโรคเหี่ยวสับปะรดโดยใช้
 ระบบเซลล์แบคทีเรีย
 03-04-54-04-03-01-01-54

❖ วันเพ็ญ ศรีทองชัย และคณะ

➤ การผลิตแอนติซีรัมของเชื้อไวรัส Bean yellow.....2433
 mosaic virus
 03-04-54-04-03-01-02-54

❖ สิทธิศักดิ์ แสนไพศาล และคณะ

➤ พัฒนาชุดตรวจสอบแบบ Lateral flow test strip.....2441
 เพื่อตรวจสอบไวรัส Cucumber mosaic virus
 03-04-54-04-03-01-03-54

❖ สิทธิศักดิ์ แสนไพศาล และคณะ

➤ การวิจัยและพัฒนา การผลิตชุดตรวจสอบ
 เชื้อไวรัส Sugarcane mosaic virus subgroup
 Maize dwarf mosaic virus
 03-04-54-04-03-01-04-54

❖ เขาวภา ตันติวานิช และศิริไล ลาภบรรจบ

➤ การพัฒนาชุดตรวจสอบแบบ2453
 Lateral flow test strip เพื่อตรวจสอบแบคทีเรีย
Burkholderia gladioli pv. *gladioli*



กิจกรรมย่อย การพัฒนาเทคนิคอย่างง่ายและรวดเร็วในการแยกศัตรูพืชเพื่อการวินิจฉัย

การทดลอง ➤ การพัฒนาชุดตรวจสอบและเทคนิคการแยก.....2601

ใส่เดือนฝอยในรากพืช

03-04-54-04-03-04-01-54

❖ นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

โครงการวิจัย วิจัยมาตรการสุขอนามัยพืชในการนำเข้าสินค้าเกษตร 03-04-55-01

กิจกรรม การศึกษาการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าสินค้าเกษตร

กิจกรรมย่อย ศึกษาการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าสินค้า

เกษตร จากประเทศในเขตโอเชียเนีย

การทดลอง ➤ ศึกษาการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืช.....2511

สำหรับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์พืชจากเครือรัฐออสเตรเลีย

03-04-55-01-01-01-01-55

❖ วาสนา ฤทธิ์ไธสง

➤ ศึกษาการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืช.....2519

สำหรับการนำเข้าผลพลับสดจากนิวซีแลนด์

03-04-55-01-01-01-02-55

❖ วรรณญา มาลี

➤ ศึกษาการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืช.....2526

สำหรับการนำเข้าผลแอปเปิลสดจากนิวซีแลนด์

03-04-55-01-01-01-03-55

❖ อลงกต โพธิ์ดี

➤ ศึกษาการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืช.....2532

สำหรับการนำเข้าผลสตรอเบอรี่เทศจากนิวซีแลนด์

03-04-55-01-01-01-04-55

❖ สุคนธ์ทิพย์ สมบัติ

กิจกรรมย่อย ศึกษาการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าสินค้า

เกษตร จากประเทศในทวีปอเมริกาเหนือ

การทดลอง ➤ ศึกษาการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืช.....2706

สำหรับการนำเข้าผลพืชสดจากสหรัฐอเมริกา

03-04-55-01-01-02-01-55

❖ วลัยกร รัตนเดชากุล

กิจกรรมย่อย ศึกษาประสิทธิภาพมาตรการสุขอนามัยพืชกับสินค้าเกษตร

นำเข้าจากประเทศในเขตโอเชียเนีย

- การทดลอง ➤ ศึกษาประสิทธิภาพมาตรการสุขอนามัยพืช.....2546
กับผลอ่อนสดนำเข้าจากเครือรัฐออสเตรเลีย
03-04-55-01-02-01-01-55
- ❖ วรรณญา มาลี
- ศึกษาประสิทธิภาพมาตรการสุขอนามัยพืช.....2713
กับผลส้มสดนำเข้าจากเครือรัฐออสเตรเลีย
03-04-55-01-02-01-02-55
- ❖ วลัยกร รัตนเดชากุล
- ศึกษาประสิทธิภาพมาตรการสุขอนามัยพืช.....2553
กับผลอ่อนสดนำเข้าจากสาธารณรัฐเปรู
03-04-55-01-02-02-01-55
- ❖ อลงกต โพธิ์ดี

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการคุ้มครองพันธุ์พืช

โครงการวิจัย การศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์เพื่อบันทึกลักษณะเพื่อประโยชน์

ในการคุ้มครองพันธุ์พืชตามกฎหมายคุ้มครองพันธุ์พืช พ.ศ. 2542 03-11-54-02

กิจกรรม -

กิจกรรมย่อย -

- การทดลอง ➤ ศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์2559
และการจำแนกพรรณไม้
03-11-54-02-00-03-03-54
- ❖ ศิริพร ชิงสนธิพร และธัญชนก จงรักไทย
- สัณฐานวิทยาของเมล็ดพืชสกุล.....2562
03-11-54-02-00-02-03-54
- ❖ ศิริพร ชิงสนธิพร และธัญชนก จงรักไทย

หมายเหตุ : * ชื่อการทดลองที่นักวิจัยแจ้งไม่ตรงกับชื่อการทดลองจากกองแผนงาน

** มีเพียงการทดลองเดียวแต่นักวิจัยส่งรายงานผลงานวิจัยเข้ากันสองเรื่องจึงกำหนดเพิ่มเติม
การทดลองในรหัส 8 คู่ด้วยตัวเลข (1) และ (2)

ผู้รวบรวม

นางสาวภัทรพร	สรรพนุเคราะห์
นางสาวดารารพร	รินทะรักษ์
นางณัฐริมา	โฆษิตเจริญกุล
นางสาวกาญจนา	วาระวิชนี
นางสาวธัญชนก	จงรักไทย
นางสาวภัทร์พิชชา	รุจิระพงศ์ชัย
นางสาวชลธิชา	รักไคร้
นางวรัญญา	มาลี
นางศรีจันทรรจ	ศรีจันทร์
นางสาววิภาดา	ปลอดครบุรี

ผู้สอบทาน

นางสาวจิตติรัตน์	ชูชาติ
นางสาวพจนันต์	ประภัสสร

ความหลากหลายชนิดและประชากรของหอยทากและทากในโรงเรือนปลูกพืช

Survey of Snails and Slugs in Green House

ปราสาททอง พรหมเกิด ปิยาณี หนูกาฬ ดารารพร รินทะรักษ์

สมเกียรติ กล้าแข็ง ทรงทัฬ แก้วตา

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การสำรวจชนิดและประชากร หอยทากและทากในโรงเรือนปลูกพืช ได้แก่ โรงเรือนไม้ดอกไม้ประดับ เช่นกล้วยไม้ ดอกเบญจมาศ ดอกหน้าวัว โรงเรือนปลูกผัก เช่น ผักชีฝรั่ง ผักกาด ผักคะน้า โรงเรือนเพาะชำกล้าไม้ เช่น เพาะชำกล้าไม้ยืนต้นของกรมป่าไม้ เพาะชำกล้าไม้สำหรับขาย เพาะชำกล้าต้นหม่อน เพาะชำกล้าไม้ยางพารา และโรงเรือนสัมปลดโรค พื้นที่จังหวัดต่างๆในภาคกลาง ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันออก และภาคใต้ของประเทศ ด้วยการใช้ตารางสุ่มขนาด 1 ตารางเมตร สุ่มนับประมาณ 10จุดต่อไร่ให้กระจายทั่วพื้นที่ อาจเดินสุ่มตามแนวเส้นทแยงมุมทั้งสองด้านหรือแนวขนานกับพื้นที่ พร้อมทั้งเก็บหอยที่มีชีวิตอยู่มาเลี้ยงที่กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตรและเก็บรวบรวมเปลือกหอยมาทำความสะอาดเพื่อชั่งน้ำหนักและวัดขนาดแล้วเก็บไว้เป็นตัวอย่างใช้จำแนกชนิดของหอยพร้อมทั้งเก็บดินหรือวัสดุปลูกจากแปลงมาวัดความชื้นและความเป็นกรด-ด่าง และบันทึกสภาพแวดล้อมในโรงเรือน จากการสำรวจพบว่าหอยและทากหลายชนิดในโรงเรือน ปลูกพืชต่างๆ จำแนกเป็นชนิด (ช่วงจำนวนประชากรหอยทากหรือทากเฉลี่ย ตัว/ม²) ได้แก่ชนิดที่เป็นศัตรูพืชที่สำคัญ พบ ทากเล็บมือนาง (0.1 - 2.9) หอยดักดาน (0.1 - 12.2) หอยสาริกา (0.1 - 4.3) หอยทากยักษ์แอฟริกา (0.2 - 5.3) หอยเจดีย์เล็ก (0.1 - 4.3) หอยเจดีย์ใหญ่ (0.2- 3.4) หอยเรบบิดินา (4.2) และหอยซัคซีเนีย(0.3 - 45.0)

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-19-54

ชนิดที่กินซากพืชและซากสัตว์ พบ ทากกล้วยตาก (0.1- 0.3) ชนิดที่กินตระไคร่น้ำหรือมอสส์ พบ หอยไซโคลโตพีส (3.5 – 9.2) หอยหอม (1.0) หอยหางดิน (0.2) และชนิดที่เป็นผู้ล่าหอย พบ ทากซาราซิน (0.1) เป็นต้น และพบความเสียหายต่อพืชในโรงเรือนเฉลี่ยดังนี้ ภาคกลาง 0.61% (0.1- 1.0%) ภาคเหนือ 1.67% (0.2- 2.5%) ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 2.6% (0.5- 8.1%) ภาคตะวันออก 1.16% (0.6- 1.7%)และ ภาคใต้ 4.52%(0.4- 16,1%) ดินมีความเป็นกรด- ด่าง อยู่ในช่วง 6 - 7.5 และความชื้น 49.30 – 90.60 %

คำนำ

หอยทากและทากที่อาศัยอยู่บนบกมีหลายชนิดที่เป็นศัตรูพืช จะกัดกินพืชผลทางการเกษตรได้แก่ราก ต้นอ่อน ใบ ดอก และ ผล เป็นต้น ของพืชเหล่านั้นเป็นอาหาร ทำให้ได้รับความเสียหายทั้งในพืชไร่ พืชผัก ไม้ดอกและไม้ประดับตลอดจนป่าไม้ นอกจากนี้จะเป็นศัตรูพืชแล้วยังเป็นพาหะนำโรคมานสู่พืชและมนุษย์ด้วย ดังเช่นกล้วยจะถูกกัดกินตั้งแต่ระยะผลอ่อน ทำให้เกิดแผลและมีผิวสีน้ำตาลบางครั้งอาจเน่าเสีย เนื่องจากถูกแบคทีเรียเข้าทำลาย (Dawkins et.al.,1985)

หอยทากและทากมีรูปร่างลักษณะภายนอกแตกต่างกันคือ หอยจะมีเปลือกปกคลุมลำตัวไว้ ส่วนทากไม่มีหรือมีเปลือกขนาดเล็กปกคลุมลำตัว เปลือกหอยทำหน้าที่ป้องกันศัตรูและความชื้นที่ผิวลำตัวและน้ำภายในลำตัวให้คงอยู่ได้นาน เมื่ออยู่ในสภาพแห้งแล้ง ดังนั้นหอยทากและทากจึงชอบที่จะอาศัยอยู่ในที่ชุ่มชื้น โดยเฉพาะในแปลงที่เป็นโรงเรือนปลูกพืช เช่นโรงเรือนไม้ดอกและไม้ประดับ โรงเรือนปลูกพืชผัก โรงเรือนแปลงเพาะชำกล้าไม้ เป็นต้น ชมพูนุทและคณะ(2545) ได้ศึกษาชีววิทยาหอยซัคซิเนียเป็นศัตรูที่สำคัญในโรงเรือนปลูกกล้วยไม้ พบว่า หอยชอบอาศัยอยู่ในที่มีความชื้นสูง หอยจะไต่ตามพื้นดิน และกาบมะพร้าวที่เป็นวัสดุปลูกเป็นกลุ่ม ๆ ละ 4-10 ฟอง ไต่จะพักภายใน 5-7 วัน ชมพูนุท (2546) ได้มีการสำรวจหอยและทากในประเทศไทยใน 24 จังหวัด พบว่าทั้งหอยทากและทากที่สำรวจทั้งที่อาศัยอยู่ในน้ำและบนบก มีรูปร่างลักษณะของหอยและทากแตกต่างกัน ทั้งที่พบหอยและทากในแปลง ไม้ผล ไม้ดอกไม้ประดับ พืชผัก พืชสมุนไพรและเครื่องเทศ เป็นต้น โดยเฉพาะโรงเรือนเพาะชำกล้าไม้ที่มีการเพาะปลูกต้นกล้าพืชเล็กๆ หอยทากและทากจึงชอบเข้ามากัดกินกล้าพืชเหล่านั้นเป็นอาหารจนได้รับความเสียหายได้ต้องทำการปลูกใหม่ หลังจากทำการกำจัดหอย และทากเหล่านั้นแล้ว (Jahan and Raut, 1994) ดังนั้นจึงควรมีการศึกษา สำรวจชนิดของหอยทากและทากในโรงเรือนปลูกพืชพื้นที่ต่างๆตลอดจนสภาพทางนิเวศวิทยาที่เอื้ออำนวยต่อการอาศัยอยู่ของหอย

ทากและทากเหล่านั้นเพื่อทราบชนิดและเป็นฐานข้อมูลสำหรับอ้างอิง และสำหรับเตือนภัยตลอดจนหาวิธีการป้องกันกำจัดต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สัตว์ทดลอง
หอยทาก และทากบก
2. อุปกรณ์
 - 2.1 แปลงโรงเรือนปลูกพืชชนิดต่างๆ
 - 2.2 กรอบตารางส้อมนับประชากรหอยและทาก ขนาด 1 ตารางเมตร
 - 2.3 กล้องถ่ายรูป กระจกพลาสติกเก็บตัวอย่าง
 - 2.4 ปีกเกอร์ กระดาษวัดความเป็นกรด ต่าง
 - 2.5 ตู้อบความร้อน เครื่องวัดพิกัดพื้นที่
 - 2.6 เครื่องชั่งน้ำหนัก

วิธีการทดลอง

1.สำรวจ ชนิด และประชากรหอยทากและทากในโรงเรือนปลูกพืชได้แก่ ไม้ดอกและไม้ประดับ พืชผัก เรือนเพาะชำกล้าไม้ เป็นต้น ของแต่ละจังหวัดในแต่ละภาคของประเทศ

2.สำรวจ ชนิด และประชากรหอยทากและทากด้วยการใช้ตารางส้อมขนาด 1 ตารางเมตร โดยส้อมนับประมาณ 10จุดต่อไร่ให้กระจายทั่วพื้นที่ด้วยการเดินส้อมตามแนวเส้นทแยงมุมทั้งสองด้าน พร้อมทั้งเก็บหอยที่มีชีวิตอยู่มาเลี้ยงที่กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตรและเก็บรวบรวมเปลือกหอยมาทำความสะอาดเพื่อชั่งน้ำหนักและวัดขนาดแล้วเก็บไว้เป็นตัวอย่างใช้จำแนกชนิดของหอย

3.สำรวจความเสียหายของพืชที่ปลูกด้วยตารางส้อมขนาด 1 ตารางเมตรซึ่งเป็นจุดเดียวกันกับที่นับประชากรหอย ส้อมนับประมาณ10จุดต่อไร่โดยนับจำนวนต้นพืชที่ถูกทำลายและต้นพืชทั้งหมดในแต่ละกรอบตารางส้อม

4.เก็บดินหรือวัสดุปลูกจากแปลงมาวัดความชื้นและความเป็นกรด-ด่าง และบันทึกสภาพแวดล้อมของพื้นที่ในโรงเรือน

5. วัดพิกัดตำแหน่งโรงเรือนแปลงปลูกพืช

เวลาและสถานที่

เริ่มตั้งแต่ ตุลาคม 2553 ถึง กันยายน 2555 รวมเวลา 2 ปี

สถานที่ ในโรงเรือนปลูกพืชจังหวัดต่างๆทั้ง ในภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก และ ภาคใต้

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การสำรวจชนิดและประชากรหอยและทากในโรงเรือนปลูกพืช ตามพื้นที่จังหวัดต่างๆในแต่ละภาคของประเทศ ได้แก่ ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก และ ภาคใต้ พร้อมทั้งเก็บดินหรือวัสดุปลูกจากแปลงมาวัดความชื้นและความเป็นกรด-ด่าง พบว่าดินมีความชื้นเป็นกรดต่าง อยู่ในช่วง 6 - 7.5 และความชื้น 49.30 - 90.60 %

พื้นที่จังหวัดภาคกลาง ได้สำรวจ 10 จุด (อำเภอ) 7 จังหวัด ดังนี้

จังหวัดสุพรรณบุรี อำเภอ เดิมบางนางบวช เป็นโรงเรือนปลูกกล้วยไม้ พบหอยซัคซิเนีย *Succinea* sp. เฉลี่ย 3 ตัว/ม² หอยเจดีย์ใหญ่ *Prosopaea walkeri* หอยเจดีย์เล็ก *Lamellaxis gracilis* หอยสาริกา *Sarika* sp. และหอยทากยักษ์แอฟริกา *Achatina fulica* เฉลี่ยชนิดละ 1 ตัว/ม² และความเสียหายเฉลี่ย 0.5%

จังหวัดกาญจนบุรี อำเภอ ท่าม่วง เป็นโรงเรือนปลูกผักคะน้า พบหอยอัมพัน เฉลี่ย 45.18 ตัว/ม² และความเสียหายเฉลี่ย 0.1%

จังหวัดอุทัยธานี อำเภอหนองฉาง เป็นโรงเรือนเพาะชำชายพันธุ์ไม้ พบหอยไซโคลโตพีส *Cyclotopsis* sp. หอยเจดีย์เล็ก หอยอำพันและหอยสาริกา เฉลี่ย 2.0, 1.5, 2.5 และ 1.0 ตัว/ม² ตามลำดับความเสียหายเฉลี่ย 0.75%

จังหวัดชัยนาท อำเภอเมือง เป็นโรงเรือนเพาะชำกล้าหม่อน พบหอยเจดีย์เล็ก หอยดักดาน *Cryptozonia siammensis* และหอยสาริกา เฉลี่ย 3.3, 2.0 และ 1.0 ตัว/ม²ตามลำดับ และอำเภอหันคา จังหวัด ชัยนาท เป็นโรงเรือนปลูกผักกาด พบ หอยเจดีย์เล็กเฉลี่ย 2.0 ตัว/ม² พบความเสียหายเฉลี่ย 1.0%

จังหวัดสิงห์บุรี อำเภอเมือง เป็นโรงเรือนสวนกล้วยไม้ พบทากเล็บมือนาง และหอยอำพัน เฉลี่ย 1.0 และ 1.0 ตัว/ม²ตามลำดับ และอำเภออินทร์บุรี จังหวัดสิงห์บุรี เป็นโรงเรือนเพาะชำกล้าไม้ พบหอยดักดาน เฉลี่ย 1.1 ตัว/ม² และความเสียหายเฉลี่ย 1.0%

จังหวัดลพบุรี อำเภอเมือง เป็นโรงเรือนเพาะชำกล้าไม้ พบหอยดักดาน หอยหอม *Cyclophorus* sp. และหอยทากยักษ์แอฟริกาและ โรงเรือนเพาะชำชายพันธุ์ไม้ พบหอยไซโคลโตพีส หอยเจดีย์เล็ก และหอยดักดาน เฉลี่ย 5.5, 1.0, 1.0, 20.0, 10.0 และ 1.5 ตัว/ม² ตามลำดับ และความเสียหายเฉลี่ย 0.1%

จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ เป็นโรงเรือนเพาะชำกล้ายางพารา 2 แห่งคือ ต.แสงอรุณ อ.ทับสะแก และต.ทองมงคล อ.บางสะพาน พบหอยดักดาน เฉลี่ย 3.0 และ 0.2 ตัว/ม² ตามลำดับ และความเสียหายเฉลี่ย 0.1%

พื้นที่จังหวัดภาคเหนือ ได้สำรวจ 14 จุด (ตำบล) 8 จังหวัด ดังนี้

จังหวัดลำปาง อำเภอห้างฉัตร เป็นโรงเรือนปลูกหน้าวัว พบหอยดักดาน หอยสาริกา หอยทากยักษ์แอฟริกา และทากเล็บมือนาง *Pamarion siammensis* เฉลี่ย 4.6, 0.4, 0.4 และ 1.2 ตัว/ม² ตามลำดับและความเสียหายเฉลี่ย 2.1%

จังหวัดเชียงใหม่ อำเภอฝาง เป็นโรงเรือนปลูกหน้าวัวพบ หอยดักดาน หอยสาริกา หอยทากยักษ์แอฟริกาทากเล็บมือนาง ทากกล้วยตาก *Semperula siamensis* และ ทากซาราซิน *Atopos sarasini* เฉลี่ย 0.1, 0.2, 4.1, 0.1, 0.1 และ 0.1 ตัว/ม² ตามลำดับ อำเภอจอมทอง เป็นโรงเรือนปลูกเบญจมาศ พบหอยแรบบิดินา *Rhabidina* sp. หอยหางดิน *Durgella* sp. และทากเล็บมือนาง เฉลี่ย 4.2, 0.2, และ 2.9 ตัว/ม² ตามลำดับ และ อำเภอหางดง เป็นโรงเรือนปลูกเบญจมาศ พบหอยดักดาน และหอยทากยักษ์แอฟริกา เฉลี่ย 0.8 และ 0.2 ตัว/ม² ตามลำดับ และความเสียหายเฉลี่ย 2.5%

จังหวัดตาก อำเภอแม่สอด เป็นโรงเรือนปลูกหน้าวัว พบหอยดักดานและ หอยสาริกาเฉลี่ย ชนิดละ 1 ตัว/ม² อำเภอเมือง เป็นโรงเรือนเพาะชำกล้าหม่อน พบหอยดักดานและหอยสาริกา เฉลี่ย 3.6 และ 2.5 ตัว/ม² ตามลำดับ โรงเรือนส้มปลอดโรค พบทากเล็บมือนาง หอยดักดานและหอยสาริกา เฉลี่ย 1.0, 12.6 และ 3.0 ตัว/ม² ตามลำดับ และความเสียหายเฉลี่ย 0.2%

จังหวัดน่าน อำเภอเวียงสา เป็นโรงเรือนขายกล้ายางพารา พบหอยดักดาน เฉลี่ย 0.2 ตัว/ม² และอำเภอเมือง เป็นโรงเรือนส้มปลอดโรค พบหอยดักดานและหอยเจดีย์เล็ก โรงเรือนปลูกหน้าวัว พบทากเล็บมือนาง และหอยดักดานเฉลี่ย 7.8, 1.5, 1.0 และ 1.4 ตัว/ม² ตามลำดับ และความเสียหายเฉลี่ย 0.5%

จังหวัดแพร่ อำเภอเด่นชัย เป็นโรงเรือนเพาะชำกล้าไม้ พบทากเล็บมือนาง หอยดักดานและ หอยสาริกา และอำเภอร้องกวาง เป็นโรงเรือนเพาะชำกล้าไม้ พบหอยดักดาน เฉลี่ย 2.0, 2.3, 1.0 และ 2.2 ตัว/ม² ตามลำดับและความเสียหายเฉลี่ย 2.5%

จังหวัดอุตรดิตถ์ อำเภอเมือง เป็นโรงเรือนเพาะชำกล้าไม้ พบหอยดักดาน โรงเรือนขายพันธุ์ ไม้ พบหอยดักดานและหอยสาริกา เฉลี่ย 13.1, 3.5 และ 1.0 ตัว/ม² ตามลำดับ และความเสียหายเฉลี่ย 2.0%

จังหวัดพิษณุโลก อำเภอเมือง เป็นโรงเรือนปลูกผักซีฝรั่ง พบหอยดักดาน และอำเภอวังทอง พบทากเล็บมือนาง หอยดักดานและหอยสาริกาเฉลี่ย1.2,1.0,3.3และ/2.5 ตัว/ม² ตามลำดับและความเสียหายเฉลี่ย2.0%

จังหวัดพิจิตร อำเภอเมือง เป็นโรงเรือนสั้มปลอดโรค พบหอยดักดาน ไชโคโตพีส และหอยเจดีย์เล็ก โรงเรือนปลูกหน้วว พบทากเล็บมือนาง ไชโคโตพีส และหอยดักดานเฉลี่ย 1.0, 9.2, 7.2, 1.0, 3.5 และ1.0 ตัว/ม² ตามลำดับ และความเสียหายเฉลี่ย1.9%

พื้นที่จังหวัดภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้สำรวจ 48 จุด (ตำบล) 16 จังหวัด ดังนี้

จังหวัดนครราชสีมา เป็นโรงเรือนเพาะชำไม้ประดับจำหน่าย ทั้ง 3 แห่งคือที่ ต.หนองจบก อ.เมือง พบ หอยดักดาน และหอยเจดีย์เล็ก 1.3 และ4.3 ตัว/ม² ตามลำดับ ต.พญาเย็น อ.ปากช่อง พบหอยดักดาน 4.7ตัว/ม² และ ต.ด่านขุนทด อ. ด่านขุนทด พบหอยดักดาน หอยเจดีย์ใหญ่ และหอยทากยักษ์แอฟริกา 2.0, 0.3 และ 0.4 ตัว/ม² ตามลำดับ และความเสียหายเฉลี่ย1.5%

จังหวัดชัยภูมิ เป็นโรงเรือนเพาะชำไม้ประดับจำหน่าย ทั้ง 3 แห่งคือ ต.บัวใหญ่ อ.จตุรัส พบหอยดักดาน และหอยทากยักษ์แอฟริกา 3.2 และ 0.2 ตัว/ม² ตามลำดับ ต.ช่องสามหมอ อ.แก้งคร้อ พบหอยดักดาน และหอยทากยักษ์แอฟริกา 0.3 และ 0.3 ตัว/ม² ตามลำดับ และ ต.ผักปัง อ.ภูเขียว พบหอยดักดาน 3.0,ตัว/ม² ส่วนที่ ต.บึงคล้า อ.เมือง เป็นโรงเรือนกล้วยไม้จำหน่าย พบหอยดักดาน หอยซัคซีเนียและหอยทากยักษ์แอฟริกา 1.0, 0.3และ 0.6 ตัว/ม² ตามลำดับ และความเสียหายเฉลี่ย 2.2%

จังหวัดขอนแก่น เป็นโรงเรือนเพาะชำไม้ประดับจำหน่าย ทั้ง 4 แห่ง คือ ต.โนนสะอาด อ.ชุมแพ พบหอยดักดาน 3.8 ตัว/ม² ต.โนนสมบูรณ์ อ.บ้านแฮด พบหอยดักดาน 0.7 ตัว/ม² ต.บ้านไผ่ อ.บ้านไผ่ พบหอยดักดาน 1.8 ตัว/ม² และ ต.โจดหนองแก อ.พล พบหอยดักดาน ทากกล้วยตาก และหอยทากยักษ์แอฟริกา 1.7, 0.1และ 0.1 ตัว/ม² ตามลำดับ และความเสียหายเฉลี่ย2.1%

จังหวัดเลย เป็นโรงเรือนเพาะชำไม้ประดับจำหน่าย ต.ห้วยสั้ม อ.ภูกระดึง พบ หอยดักดาน 5.0ตัว/ม² ต. สีสงคราม อ.วังสะพุง พบหอยดักดาน 2.8 ตัว/ม² และ ต.ผาอินทร์แปลง อ.หนองหญ้าปล้อง เป็นโรงเรือนเพาะชำกล้วยพาราจำหน่าย พบหอยดักดาน 0.4 ตัว/ม² และความเสียหายเฉลี่ย 3.7%

จังหวัดหนองบัวลำภู เป็นโรงเรือนเพาะชำไม้ประดับจำหน่าย ทั้ง 3 แห่งคือที่ ต.นาวังทอง อ.นาวัง พบ หอยดักดาน 6.0 ตัว/ม² ต.โนนทัน อ.เมือง พบหอยดักดาน 6.2 ตัว/ม² ต.โคกสะอาด อ.

หนองวัวซอ พบหอยหอยเจดีย์เล็ก 0.3 ตัว/ม² และ อ. นากลาง เป็นโรงเรือนเพาะชำกล้าอย่างจำหน่าย พบหอยดักดาน 0.1 ตัว/ม² และความเสียหายเฉลี่ย 1.7%

จังหวัดอุดรธานี เป็นโรงเรือนเพาะชำไม้ประดับจำหน่าย ทั้ง 2 แห่งคือ ต.บ้านเหลื่อม อ.เมือง พบ หอยดักดาน และหอยสาริกา 1.5 และ 0.2 ตัว/ม² ตามลำดับ ต.บ้านธาตุ อ.เพ็ญ พบหอยดักดาน และหอยซัคซีเนีย 2.5 และ 1.9 ตัว/ม² ตามลำดับและความเสียหายเฉลี่ย 1.0%

จังหวัดหนองคาย เป็นโรงเรือนเพาะชำไม้ประดับจำหน่าย ทั้ง 3 แห่ง คือ ต.บ้านเดื่อ และต.สี ภาย อ.เมือง พบหอยดักดาน และหอยสาริกา 4.5 และ 0.1 และ 4.0 และ 0.2 ตัว/ม² ตามลำดับ ต.รัตนวาปี อ.รัตนวาปี พบหอยดักดาน และทากกล้วยตาก 5.3 และ 0.2 ตัว/ม² ตามลำดับ และความเสียหายเฉลี่ย 2.3%

จังหวัดบุรีรัมย์ เป็นโรงเรือนเพาะชำกล้าไม้จำหน่าย ทั้ง 3 แห่งคือ ต.ลำนางรอง อ.โนนดิน แดง พบ หอยดักดาน และหอยสาริกา 0.8 และ 0.5 ตัว/ม² ตามลำดับ ต.ราเวียร์ อ.ประโคนชัย พบ หอยดักดาน หอยสาริกา และหอยทากยักษ์แอฟริกา 4.0, 0.3 และ 0.2 ตัว/ม² ตามลำดับ ต.กระจง อ.ระหารทราย เป็นโรงเรือนศูนย์เพาะชำกล้าไม้พบหอยดักดานและ หอยสาริกา 10.9 และ 0.3 ตัว/ม² ตามลำดับ และความเสียหายเฉลี่ย 1.4%

จังหวัดศรีสะเกษ เป็นโรงเรือนเพาะชำกล้าอย่างจำหน่าย ทั้ง 2 แห่ง คือ ต.ภูสิงห์ อ. ขุขันธ์ ไม้ พบหอย ต.จารย์ใหญ่ อ.กันทรลักษณ์ พบหอยดักดาน 0.3 ตัว/ม² และความเสียหายเฉลี่ย 0.05%

จังหวัดอุบลราชธานี เป็นโรงเรือนเพาะชำไม้ประดับจำหน่าย ทั้ง 3 แห่งคือ ต.เดชอุดม อ.เดช อุดม พบ หอยดักดาน 5.4 ตัว/ม² ต.พิบูลย์ อ.พิบูลย์มังสาหาร พบหอยดักดาน และหอยทากยักษ์ แอฟริกา 8.0 และ 0.3 ตัว/ม² ตามลำดับ และต.นิคมลำโดมน้อย อ.สิรินธร พบหอยดักดาน 0.8 ตัว/ม² และความเสียหายเฉลี่ย 1.3%

จังหวัดกาฬสินธุ์ เป็นโรงเรือนเพาะชำกล้าไม้จำหน่าย ทั้ง 4 แห่ง คือ ต.หนองแวง อ.สมเด็จ พบ หอยดักดาน และหอยทากยักษ์แอฟริกา 1.8 และ 0.6 ตัว/ม² ตามลำดับ ต.กาฬสินธุ์ อ.เมือง พบ หอยดักดาน 1.8 ตัว/ม² ต.บัวบาง อ.กุฉินารายณ์ พบ หอยดักดาน 1.0 ตัว/ม² และ ต.ธัญญา อ.กัมม ลาไสย พบหอยดักดาน 0.1 ตัว/ม² และความเสียหายเฉลี่ย 3.3%

จังหวัดมหาสารคาม เป็นโรงเรือนเพาะชำกล้าไม้ประดับจำหน่าย ทั้ง 4 แห่ง คือ ต.กุดรัง อ. กุดรัง พบ หอยดักดาน 0.1 ตัว/ม² ต.หนองไธ อ.บรบือ พบหอยดักดาน และหอยทากยักษ์แอฟริกา 1.3 และ 2.2 ตัว/ม² ตามลำดับ ต.แก่งเลิงจาน อ.เมือง พบหอยดักดาน และหอยทากยักษ์แอฟริกา 1.8

และ 0.5 ตัว/ม² ตามลำดับ และ ต.แพง อ.โกสุมพิสัย พบหอยดักดาน และหอยเจดีย์เล็ก 0.6 และ 0.5 ตัว/ม² ตามลำดับและความเสียหายเฉลี่ย 4.0%

จังหวัด สกลนคร เป็นโรงเรือนเพาะชำกล้าไม้จำหน่าย ทั้ง 3 แห่ง คือ ต.สร้างศรี อ.ภูพาน พบหอยดักดาน 0.7 ตัว/ม² ต.เชียงเครือ อ.เมือง พบหอยดักดาน 1.4 ตัว/ม² ต.กสมาลัย อ.กสมาลัย พบหอยดักดาน และทากกล้วยตาก 1.0 และ 0.1 ตัว/ม² ตามลำดับและความเสียหายเฉลี่ย 3.9%

จังหวัด นครพนม เป็นโรงเรือนเพาะชำไม้ประดับจำหน่าย ทั้ง 3 แห่ง คือ ต.หนองญาติ อ.เมือง พบหอยดักดาน หอยสาริกา และทากกล้วยตาก 10.2, 0.3 และ 0.1 ตัว/ม² ตามลำดับ ต.โนนตาล อ.ท่าอุเทน พบหอยดักดาน หอยเจดีย์ใหญ่ และทากเล็บมือ นาง 0.2, 0.1 และ 0.5 ตัว/ม² ตามลำดับและ ต.ดอนนางหงส์ อ.ธาตุพนม พบหอยดักดาน 4.1 ตัว/ม² และความเสียหายเฉลี่ย 8.1%

จังหวัด มุกดาหาร เป็นโรงเรือนเพาะชำกล้าไม้จำหน่าย ทั้ง 3 แห่ง คือ ต.บางทรายใหญ่ อ.เมือง พบหอยดักดาน และทากเล็บมือ นาง 3.4 และ 0.1 ตัว/ม² ตามลำดับ ต.คำป่าหลาย อ.เมือง พบหอยดักดาน 1.3 ตัว/ม² ต.น้ำเที่ยง อ.คำชะอี พบหอยดักดาน และหอยเจดีย์ใหญ่ 1.3 และ 0.2 ตัว/ม² ตามลำดับ และความเสียหายเฉลี่ย 2.5%

จังหวัด ร้อยเอ็ด เป็นโรงเรือนเพาะชำกล้าไม้จำหน่าย ทั้ง 2 แห่ง คือ อ.เมือง พบหอยดักดาน หอยเจดีย์ใหญ่ ทากเล็บมือ นาง และทากกล้วยตาก 0.5, 0.1, 0.4 และ 0.1 ตัว/ม² ตามลำดับ ต.โพนทอง อ.โพนทอง พบหอยดักดาน และทากกล้วยตาก 0.2 และ 0.2 ตัว/ม² ตามลำดับ ต.บัวคำ อ.โพธิ์ชัย เป็นโรงเรือนเพาะชำกล้าไม้ พาราจำหน่าย พบหอยดักดาน 1.2 ตัว/ม² และความเสียหายเฉลี่ย 3.3%

พื้นที่จังหวัดภาคตะวันออก ได้สำรวจ 9 จุด (ตำบล) 5 จังหวัด ดังนี้

จังหวัด ปราจีนบุรี เป็นโรงเรือนเพาะชำกล้าไม้จำหน่าย ทั้ง 3 แห่ง คือ ต.โคกไม้ลาย อ.เมือง พบหอยดักดานและสาริกา 0.6 และ 0.1 ตัว/ม² ตามลำดับ ต.บ้านสร้าง อ.บ้านสร้าง พบหอยดักดาน เจดีย์เล็กและหอยทากยักษ์ แอฟริกา 0.8, 0.1 และ 0.1 ตัว/ม² ตามลำดับ ต.บ้านพระ อ.เมือง พบหอยดักดานและหอยสาริกา 0.4 และ 0.1 ตัว/ม² ตามลำดับ และความเสียหายเฉลี่ย 0.6%

จังหวัด สระแก้ว เป็นโรงเรือนเพาะชำกล้าไม้จำหน่าย ต.ศาลาลำดวน อ.เมือง พบหอยดักดาน และหอยเจดีย์ใหญ่ 2.6 และ 0.4 ตัว/ม² ตามลำดับ และความเสียหายเฉลี่ย 1.0%

จังหวัด ชลบุรี เป็นโรงเรือนเพาะชำกล้าไม้จำหน่าย ตำบลห้างสูง และตำบลหนองใหญ่ อำเภอหนองใหญ่ พบทากเล็บมือ นาง ทากกล้วยตาก หอยดักดาน หอยเจดีย์เล็ก 0.2, 0.3, 2.0, 0.1 และ หอยสาริกา หอยดักดาน หอยเจดีย์ใหญ่ 0.9, 0.1, 3.4 ตัว/ม² ตามลำดับและความเสียหายเฉลี่ย 1.0%

จังหวัดระยอง เป็นโรงเรือนเพาะชำกล้าไม้จำหน่าย อ. แกลง พบ หอยดักดาน หอยสาริกา หอยทากยักษ์แอฟริกา 2, 1 และ 1 ตัว/ม² ตามลำดับและความเสียหายเฉลี่ย1.5%

จังหวัดจันทบุรี เป็นโรงเรือนปลูกกล้วยไม้ ต.วังใหม่ และโรงเรือนเพาะชำกล้าไม้ ต.พลั่ว อ.ท่าใหม่ พบหอยดักดาน หอยเจดีย์ใหญ่ หอยอำพัน และหอยสาริกา หอยดักดาน หอยเจดีย์ใหญ่ 1.1, 1.9, 1.7 และ 0.2, 0.9, 0.7 ตัว/ม² ตามลำดับ และความเสียหายเฉลี่ย1.7%

พื้นที่จังหวัดภาคใต้ ได้สำรวจ 15 จุด (ตำบล) 7 จังหวัดดังนี้

จังหวัดชุมพร เป็นโรงเรือนศูนย์เพาะชำกล้าไม้ ต.หงส์เจริญ อ.ท่าแซะ พบหอยดักดาน 0.8 ตัว/ม² ต.ตาซา อ.หลังสวน เป็น โรงเรือนเพาะชำกล้าไม้จำหน่าย พบหอยดักดาน หอยทากยักษ์แอฟริกา ทากเล็บมือนาง และทากกล้วยตาก 3.6, 0.2, 0.3 และ0.1ตัว/ม² ตามลำดับ และความเสียหายเฉลี่ย0.5%

จังหวัดสุราษฎร์ธานี เป็นโรงเรือนปลูกกล้วยไม้และไม้ดอกไม้ประดับ ต.คันธูรี อ.ท่าชนะ และต.คลองน้อย อ.เมือง พบหอยดักดาน 1.5และ 0.2 ตัว/ม² ตามลำดับ ต.ปากแพรก อ.ดอนสัก เป็น โรงเรือนเพาะชำกล้าไม้จำหน่าย พบหอยดักดาน 1.2 ตัว/ม² และความเสียหายเฉลี่ย2.2%

จังหวัดนครศรีธรรมราช เป็นโรงเรือนเพาะชำกล้าไม้ประดับจำหน่าย ต.ปากคูณ อ.เมือง และต.เสาชิง อ.ร่อนพิบูลย์ พบหอยดักดาน และหอยทากยักษ์แอฟริกา ทั้ง2 แห่ง 2.0, 0.8 และ 1.5, 1.2 ตัว/ม² ตามลำดับและความเสียหายเฉลี่ย16.1%

จังหวัดพัทลุง เป็นโรงเรือนเพาะชำกล้าไม้ประดับจำหน่าย ทั้ง 2 แห่ง คือ ต.ชะมวง อ.ควนขนุน พบ หอยดักดาน และหอยทากยักษ์แอฟริกา 0.3 และ 5.3 ตัว/ม²ตามลำดับ ต.ท่ามิหรำ อ.เมือง พบหอยดักดาน หอยสาริกาและหอยทากยักษ์แอฟริกา 2.1, 0.1 และ 0.1 ตัว/ม² ตามลำดับ และความเสียหายเฉลี่ย7.3%

จังหวัดกระบี่ เป็นโรงเรือนเพาะชำกล้าไม้ประดับจำหน่าย ทั้ง 2 แห่งคือ ต.สายทับปrik อ.เมือง พบ หอยดักดาน และหอยเจดีย์ใหญ่ 1.9 และ 0.2 ตัว/ม² ตามลำดับ ต.อ่าวลึกเหนือ อ.อ่าวลึก พบหอยดักดาน และหอยทากยักษ์ 3.3และ 0.5 ตัว/ม² ตามลำดับ และความเสียหายเฉลี่ย2.0%

จังหวัดพังงา เป็นโรงเรือนเพาะชำกล้าไม้พาราจำหน่าย ทั้ง 2 แห่งคือ ต.นบปรัง อ.เมือง ไม้พบหอยในแปลงที่สำรวจ ต.บางวัน อ.คุระบุรี พบหอยดักดาน และหอยทากยักษ์ 1.2และ 0.2 ตัว/ม² ตามลำดับและความเสียหายเฉลี่ย0.4%

จังหวัดระนอง เป็นโรงเรือนเพาะชำกล้าไม้พาราจำหน่าย ทั้ง 2 แห่งคือ ต.ราชภูต อ.เมือง พบ หอยดักดาน และทากเล็บมือนาง 2.0และ0.4 ตัว/ม² ตามลำดับ ต.กระเปอร์ อ.กระเปอร์ พบหอย

ดักดาน หอยเจดีย์ใหญ่ ทากเล็บมือนาง และหอยทากยักษ์แอฟริกา 1.4, 0.2, 0.1 และ 0.2 ตัว/ม² ตามลำดับ ความเสียหายเฉลี่ย 3.2%

จากการสำรวจพบว่าเกือบทุกโรงเรือนมีหอยศัตรูพืชอาศัยอยู่มากน้อยต่างกัน เนื่องจากภายในโรงเรือนมีความชื้นสูงเหมาะต่อการอยู่อาศัยของหอยและทาก โดยเฉพาะโรงเรือนที่เก่าและรกจะพบมาก บางแห่ง มีหอยที่เป็นศัตรูพืชสูงได้แก่หอยดักดาน และหอยซัคซิเนีย มีจำนวน 12.2 และ 45.0 ตัว/ม² ตามลำดับ จะต้องทำการกำจัด และโดยเฉพาะโรงเรือนเพาะชำกล้าไม้ ซึ่งเป็นที่จำหน่าย หรือแจกจ่ายกระจายต้นไม้ออกไป สถานที่ต่างๆ ก็จะมีหอยและทากติดไปกับต้นพันธุ์กล้าไม้เหล่านั้นด้วย ทำให้หอยและทากแพร่ระบาดไปในที่ต่างๆอย่างรวดเร็ว จะต้องทำการประชาสัมพันธ์ให้กับเจ้าของโรงเรือนเพาะชำกล้าไม้เหล่านั้นให้ระวังเรื่องหอยและทากด้วย

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากผลการสำรวจชนิดและประชากรหอยและทากในโรงเรือนปลูกพืช ตามพื้นที่จังหวัดต่างๆในภาคกลาง ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันออก และ ภาคใต้ ของประเทศ ในโรงเรือนปลูกพืชต่างๆ คือ โรงเรือนปลูกไม้ดอกไม้ประดับ ได้แก่ กล้วยไม้ ดอกเบญจมาศ ดอกหน้าวัว โรงเรือนปลูกผัก ได้แก่ ผักชีฝรั่ง ผักกาด ผักคะน้า โรงเรือนเพาะชำกล้าไม้ ได้แก่ เพาะชำกล้าไม้ยืนต้นของกรมป่าไม้ เพาะชำกล้าไม้สำหรับขาย เพาะชำกล้าต้นหม่อน เพาะชำกล้าไม้ยางพารา และ โรงเรือนสั้มปลอดโรค พบหอยและทากหลายชนิดในโรงเรือนปลูกพืชต่างๆ จำแนกเป็นชนิด (ช่วงจำนวนประชากรหอยหรือทากเฉลี่ย ตัว/ม²) ได้แก่ชนิดที่เป็นศัตรูพืชที่สำคัญ พบ ทากเล็บมือนาง (0.1 - 2.9) หอยดักดาน (0.1 - 12.2) หอยสาริกา (0.1 - 4.3) หอยทากยักษ์แอฟริกา (0.2 - 5.3) หอยเจดีย์เล็ก (0.1 - 4.3) หอยเจดีย์ใหญ่ (0.2- 3.4) หอยเรอบิตินา (4.2) และหอยซัคซิเนีย(0.3 - 45.0) ชนิดที่ชากพืชและสัตว์ พบ ทากกล้วยตาก(0.1- 0.3) ชนิดที่กินตระไคร่น้ำหรือมอสส์ พบ หอยไซโคลโตพีส (3.5 - 9.2) หอยหอม (1.0) หอยหางดิน (0.2) และชนิดที่เป็นผู้ล่าหอย พบ ทากซาราซิน (0.1) เป็นต้น ซึ่งมีโรงเรือนบางแห่งมีหอยที่เป็นศัตรูพืชสูงได้แก่หอยดักดาน และหอยซัคซิเนีย มีจำนวน 12.2 และ 45.0 ตัว/ม² ซึ่งจะต้องทำการกำจัด และโดยเฉพาะโรงเรือนเพาะชำกล้าไม้ ซึ่งเป็นที่จำหน่าย หรือแจกจ่ายกระจายต้นไม้ออกไปสถานที่ต่างๆ ก็จะมีหอยและทากติดไปกับต้นพันธุ์กล้าไม้เหล่านั้นด้วย ทำให้หอยและทากแพร่ระบาดไปในที่ต่างๆอย่างรวดเร็ว จะต้องประชาสัมพันธ์ให้ระวัง และพบความเสียหายต่อพืชในโรงเรือนเฉลี่ย ดังนี้ ภาคกลาง 0.61% (0.1- 1.0%) ภาคเหนือ 1.67% (0.2- 2.5%) ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 2.6%

(0.5- 8.1%) ภาคตะวันออก 1.16% (0.6- 1.7%)และ ภาคใต้ 4.52%(0.4- 16.1%) ดินมีความเป็นกรด- ต่าง อยู่ในช่วง 6 - 7.5 และความชื้น 49.30 – 90.60 %

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ได้ชนิด และประชากรหอย ข้อมูลการระบาดของหอย และข้อมูลทางนิเวศวิทยา ตลอดจนแหล่งพื้นที่ปลูกไม้ดอกไม้ประดับ เพื่อใช้สำหรับการศึกษาค้นคว้าและการป้องกันกำจัด ในจังหวัดของแต่ละภาค

คำขอบคุณ

เจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาเกษตรจังหวัด สำนักวิจัยและพัฒนาเขต 1 – 8 เจ้าหน้าที่โรงเรียนเพาะชำกล้าไม้ทุกแห่ง และ เจ้าของโรงเรียนเพาะชำทุกแห่งที่ให้ความเอื้อเฟื้อพาเข้าสำรวจหอยและทากเป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

- ชมพูนุท จรรยาเพศ, ปิยาณี หนูกาฬ. 2545.ชีววิทยาหอยทากซัคซีเนียศัตรูกล้วยไม้. รายงานผลการวิจัย กลุ่มงาน สัตววิทยาการเกษตร กองกัญและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร หน้า 304.
- ชมพูนุท จรรยาเพศ 2546. ทากและหอยทาก.ในเอกสารประกอบการฝึกอบรมแมลงและสัตว์ศัตรูพืชและการป้องกันกำจัด ครั้งที่ 12 กลุ่มกัญและสัตววิทยา 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
- Hermida, J.,Ondina, P. and A. Outeiro. 1995. Influence of soil characteristics on the distribution of terrestrial gastropods in northwest Spain. Europ. J.of Soil Bio.31:29-38.
- Jahan, M. S. and S.K. Raut. 1994. Distribution and food preference of the giant African snail, *Achatina fulica* Bowdich in Bangladesh J. Asia. Soci. Banglad. Sci. 20: 111 – 115.
- Jones, J.S., Leith, B.H. and P. Rawlings. 1977. Polymorphism in *Cepaea*: a problem with many solution. Annual Review of Ecology and Systematics 8: 109-143.
- Negovetic, S. and J. Jokela. 2000. Food choice behaviour may promote habitat specificity in mixed populations of clonal and sexual *Potamopyrgus antipodarum*, Animal Behaviour. 60: 435 - 441.

Nekola, J.C. and T.M. Smith. 1999. Terrestrial gastropod richness patterns in Wisconsin carbonate cliff communities. *Malacologia*. 41: 253 – 269.

ตาราง ชนิด และประชากรหอย ความเสียหาย ในโรงเรือนปลูกพืชที่สำรวจในแต่ละภาคของประเทศ

ภาค	ชนิดหอยและทาก			ประชากร เฉลี่ย (ตัว/ม ²)	ความ เสียหาย เฉลี่ย(%)	ความชื้น ของดิน เฉลี่ย(%)	ความเป็น กรด-ต่าง ของดิน เฉลี่ย
	ศัตรูพืช	กินซากหรือ มอสส์	น้กล่า				
เหนือ	ด้กดาน สาริกา ทากยักษ์ เจดีย์เล็ก เล็บมือนาง แรบปีติน่า	กล้วยตาก ทางดิน ไซโคโตพิส	ชาราซิน	3.5, 1.4 1.5, 4.3 1.2, 4.2 0.1 0.2 6.3 0.1	1.67	78.23	6.68
ตะวันออก เฉียงเหนือ	ด้กดาน สาริกา ทากยักษ์ เจดีย์เล็ก เล็บมือนาง ชัคซิเนีย เจดีย์ใหญ่	กล้วยตาก		2.2, 0.25 0.54, 1.7 0.5, 1.1 0.15 0.1	2.6	63.94	6.56
กลาง	ด้กดาน สาริกา ทากยักษ์ เจดีย์เล็ก เล็บมือนาง ชัคซิเนีย เจดีย์ใหญ่	ไซโคโตพิส หอยหอม		2.2, 1.05 1.0, 3.56 1.0, 10.3 1.0 11.0 1.0	0.61	75.75	6.64
ตะวันออก	ด้กดาน สาริกา ทากยักษ์ เจดีย์เล็ก เล็บมือนาง ชัคซิเนีย เจดีย์ใหญ่	กล้วยตาก		1.07, 0.4 0.55, 0.1 0.2, 1.7 1.6 0.3	1.16	74.55	6.61
ใต้	ด้กดาน สาริกา ทากยักษ์ เล็บมือนาง เจดีย์ใหญ่	กล้วยตาก		1.56, 0.1 1.06 0.26 0.2 0.1	4.52	82.68	6.25

รูปภาพ โรงเรือนปลูกพืช สภาพการอาศัยอยู่ของหอยและทาก และต้นพืชถูกทำลาย



โรงเรือนเพาะชำไม้ประดับ



โรงเรือนเพาะชำกล้าไม้



โรงเรือนปลูกไม้ดอก



หอยด้งคานหลบซ่อนและทำลายใบพืช



ต้นกล้าพืชถูกหอยทำลาย



หอยด้งคานหลบซ่อนและทำลาย



หอยด้งคานหลบซ่อนตัว



ทากเล็บมีองนาง หลบซ่อนและทำลาย

ศึกษาชีววิทยาหอยดักดาน *Cryptozona siamensis* (Pfeiffer)
Biological studies of Land snail *Cryptozona siamensis* (Pfeiffer)

สมเกียรติ กล้าแข็ง ดาราพร รินทะรักษ์ ปราสาททอง พรหมเกิด ปิยาณี หนูภาพ
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

หอยดักดาน หรือบางครั้งเรียกว่า หอยทากสยาม (*Cryptozona siamensis*, Pfeiffer) เป็นศัตรูพืชที่สำคัญเพราะกินและทำลายพืชผักได้เกือบทุกชนิด และมีเขตการแพร่กระจายทั่วประเทศ ไทย ไม่ว่าจะเป็นพื้นที่เกษตรกรรม ตามป่าเขา หรือแม้กระทั่งตามเกาะต่าง ๆ จากการศึกษาเกี่ยวกับชีววิทยาในห้องปฏิบัติการ โดยการนำหอยทากดักดาน เลี้ยงไว้ในตู้ปลาและกล่องพลาสติก ที่ใส่ขุยมะพร้าวผสมกับดิน ให้ผักต่างๆ รวมทั้งอาหารปลาอัดเม็ดเป็นอาหาร โดยทำการฉีดพ่นน้ำให้ความชื้นทุกวัน พบว่า หอยทากดักดานซึ่งมีสองเพศในตัวเดียวกันนั้น มีการผสมพันธุ์ข้าม โดยถ่าย sperm ให้แก่กันและกัน การผสมพันธุ์ของหอยทากดักดานใช้เวลาโดยเฉลี่ย 1-1.5 ชั่วโมง และจะวางไข่เป็นกลุ่ม เฉลี่ย 57 ฟอง/กลุ่ม (N = 60) โดยหอยจะทำโพรงเล็กๆ ลึกลงไปได้ผิวดินประมาณ 3-5 เซนติเมตร ลักษณะของไข่เป็นสีขาวขุ่น นิ่ม รูปทรงกลม หัวท้ายบวม ขนาดเฉลี่ย 3.1 x 3.5 มิลลิเมตร และหนักเฉลี่ย 0.028 กรัม เมื่อได้รับความชื้น ลักษณะของไข่จะเป็รทรงกลมรี ใช้เวลาในการฟักประมาณ 7-20 วัน ลูกหอยหนักเฉลี่ย 0.0187 กรัม มีขนาดเฉลี่ย 3.7982 มิลลิเมตร โดยมีอัตราการฟักเป็นตัว 60.72 % อุณหภูมิ 27±3 องศาเซลเซียส การศึกษาครั้งนี้ยังไม่แล้วเสร็จ ยังต้องศึกษาพฤติกรรมบางประการในปีถัดไป

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-22-55

คำนำ

หอยทาก เป็นหอยฝาเดียวที่มีเปลือกห่อหุ้ม ลำตัวอ่อนนุ่ม มีเมือก อาศัยอยู่ในบริเวณที่มีความชื้นสูงจึงออกหากินเวลากลางคืน ในเวลากลางวันจะหลบซ่อนตัวใต้กองวัสดุ ขอนไม้หรือฝังตัวใต้ผิวดิน ในประเทศไทย เริ่มมีรายงานหอยทากบกมาตั้งแต่ทศวรรษที่ 19 โดย Martens (1860) ได้รายงานว่าในประเทศไทย มีหอยทากบกกลุ่มที่ไม่มีฝาปิด หรือหอยทากกลุ่มพัลโมเนต (pulmonate snail) จำนวน 17 ชนิด (species) จากการศึกษาของ Panha (1996) พบว่าปัจจุบันประเทศไทยมีหอยทากบกกลุ่มที่ไม่มีฝาปิด มากถึง 15 วงศ์ (family) 50 สกุล (genus) และมีจำนวนมากกว่า 136 ชนิด มีทั้งชนิดที่อยู่ตามพื้นและชนิดที่อยู่บนต้นไม้ ทักซิณและคณะ (2532) ได้สำรวจชนิดหอยทากและทากในพืชชนิดต่างๆ พบหอยทาก 11 ชนิดที่เป็นศัตรูพืช ชมพูนุทและคณะ (2542) พบว่าหอยทาก ชนิดที่เป็นศัตรูพืชในประเทศไทย มีอยู่ 6 ชนิด ได้แก่หอยทากยักษ์แอฟริกา (*Achatina fulica*) หอยตักดาน (*Cryptozonia siamensis*) หอยทากสาริกา (*Sarika* sp.) นอกจากนี้ยังมีหอยทากขนาดเล็ก ได้แก่หอยเจดีย์ (*Lamellaxis gracilis*) หอยอำพัน, (*Succinea* sp.) และหอยเลขหนึ่ง (*Ovachlamys fulgens*)

ประเทศไทยจัดได้ว่าเป็นประเทศที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูง และเป็นประเทศเกษตรกรรมที่มีการปลูกพืชหลายชนิด เพื่อบริโภคภายในประเทศและเพื่อส่งออกทำรายได้ให้แก่ประเทศ เช่น พืชไร่ ไม้ผล ไม้ดอกไม้ประดับ ตลอดจนผักต่าง ๆ เป็นต้น และเนื่องจากประเทศไทย มีลักษณะทางภูมิประเทศและภูมิอากาศที่หลากหลาย อุดมสมบูรณ์ แต่การศึกษาข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับสิ่งมีชีวิตในหลายๆ ชนิด โดยเฉพาะสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังนั้นยังมีน้อย โดยเฉพาะหอยทากบก (land snail) พบว่าข้อมูลทั้งด้านชนิด ชีววิทยา อนุกรมวิธาน และนิเวศวิทยาของหอยทากในประเทศไทยยังมีน้อย รวมถึงการศึกษาถึงความหลากหลาย ชนิด ชีววิทยา ขอบเขตการแพร่กระจาย และข้อมูลในด้านทำลายพืชยังมีน้อยมากเช่นกัน ทั้งที่สัตว์กลุ่มนี้เป็นสัตว์อาศัยอยู่ร่วมกับมนุษย์มายาวนาน และยังสามารถพบเห็นได้ทั่วไป ทั้งตามแหล่งเกษตรกรรม สถานที่ท่องเที่ยวตามธรรมชาติ ป่าไม้ หรือแม้กระทั่งตามบ้านเรือน หอยทากตักดาน *Cryptozonia siamensis* (Pfeiffer) เป็นศัตรูพืชสำคัญชนิดหนึ่งที่พบระบาดทำความเสียหายแก่เกษตรกรอย่างรุนแรง โดยเฉพาะในพื้นที่ที่มีความชื้นสูง เช่น แปลงไม้ดอกไม้ประดับ พืชผักต่างๆ และสวนกล้วยไม้ เป็นต้น โดยจะกัดทำลายต้นพืช ทั้งราก ลำต้น ใบ และดอก ทำให้เสียหาย หรือผลผลิตลดลง

ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษา เพื่อให้รู้ถึงข้อมูลพื้นฐานด้านชีววิทยาต่างๆ ของหอยทากตักดาน เช่น ข้อมูลทางด้านชีววิทยา นิเวศวิทยา เพื่อประโยชน์ในการเป็นแหล่งสืบค้นข้อมูลและเป็นแนวทางในการนำไปใช้วางแผนการจัดการหอยทากศัตรูพืชต่อไป

วิธีการดำเนินการ

อุปกรณ์

1. หอยทากดักดาน *Cryptozonia siamensis*
2. กล่องพลาสติกขนาด 15 x 22 x 7.5 เซนติเมตรและขนาด 6.5 x 9.5 x 2 เซนติเมตร
3. ตู้กระจกขนาด 25 x 40 x 26 เซนติเมตร สำลี ขุยมะพร้าว ดิน สเปรย์ฉีดน้ำ ถังมือแพทย์ คีมคีบ ฟู่กัน กระดาษทิชชู
4. เครื่องชั่งน้ำหนัก เวอร์เนีย ไม้บรรทัด ไฟฉายและแบตเตอรี่ กล้องถ่ายรูป เครื่องวัดพิกัดตำแหน่งภูมิประเทศ (GPS)
5. อาหารเลี้ยงหอยทากดักดาน เช่น อาหารสำเร็จรูปชนิดเม็ด แดงกวาง ผักกาดขาว ผักกาดหอม เป็นต้น

วิธีดำเนินการ

1. สำรวจและรวบรวม พร้อมเก็บตัวอย่างหอยทากดักดานที่พบในพื้นที่เพาะปลูกในสวนผัก สวนผลไม้ของเกษตรกร ตลอดจนแหล่งที่พบการแพร่ระบาด แล้วนำมาเพาะเลี้ยงในตู้กระจกขนาด 25 x 40 x 26 เซนติเมตร รองพื้นตู้กระจก ด้วยดินผสมขุยมะพร้าว อัตรา 1 : 1 ให้สูงจากพื้นตู้กระจกประมาณ 5 เซนติเมตร ในห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานวิจัยสัตววิทยาการเกษตร และให้ความชื้นโดยฉีดพ่นน้ำทุกวัน ให้ผักต่างๆ และอาหารปลาอัดเม็ดเป็นอาหาร
2. ศึกษาการผสมพันธุ์ของหอย โดยเลือกหอยตัวเต็มวัย มาแยกเลี้ยงในกล่องพลาสติกขนาด 15 x 22 x 7.5 เซนติเมตร 2 ตัว/ กล่อง จำนวน 20 กล่อง เมื่อหอยผสมพันธุ์กันแล้ว แยกหอยใส่กล่อง ๆ ละ หนึ่งตัว เพื่อสังเกตการออกไข่
3. ศึกษาการวางไข่ และจำนวนไข่จากตัวแม่ 30 ตัว นำไข่ที่ได้มาเลี้ยงในกล่องพลาสติก ที่มีขนาดกล่อง 6.5 x 9.5 x 2 เซนติเมตร บันทึกขนาดไข่ จำนวนไข่หอยในแต่ละกลุ่ม และลักษณะของไข่ พร้อมถ่ายภาพ
4. ศึกษาระยะเวลาการฟักจากไข่ของหอยดักดาน โดยแยกไข่หอยแต่ละกลุ่มมาเลี้ยงในกล่องพลาสติก ขนาด 6.5 x 9.5 x 2 เซนติเมตร ที่รองด้วยดินผสมขุยมะพร้าว อัตรา 1 : 1 สูง 1.5 เซนติเมตร ฉีดพ่นน้ำ เพื่อให้ความชื้น บันทึกระยะเวลาที่ลูกหอยฟักออกจากไข่ วัดขนาดลูกหอยและถ่ายภาพ
5. ศึกษาการเจริญเติบโต โดยแยกลูกหอยมาเลี้ยงในกล่องพลาสติกและให้ความชื้นโดยฉีดพ่นน้ำทุกวัน ให้อาหารปลาอัดเม็ดและผักต่าง ๆ เป็นอาหาร

เวลาและสถานที่

- ระยะเวลาดำเนินการวิจัย เริ่มต้น ตุลาคม 2554 สิ้นสุด กันยายน 2556
- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และแปลงเกษตรกรกรมของเกษตรกรทั่วทุกภาคของประเทศไทย

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างหอยทากดักดาน นำมาเลี้ยงไว้ในกล่องพลาสติกและตู้เลี้ยงปลา โดยปูพื้นด้วยขุยมะพร้าวและดิน ให้ความชื้นและผักต่างๆ เป็นอาหารนั้น พบว่า หอยทากดักดานที่เลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการจะชอบหลบอยู่ตามเศษของวัสดุ เช่น ขอนไม้ ใบไม้ต่างๆ เมื่อได้รับความชื้น ตัวหอยจะออกมาเดินและหาอาหารกิน และจากการสังเกตและศึกษาในห้องปฏิบัติการได้ผลดังนี้

การผสมพันธุ์ หอยทากดักดาน เป็นหอยที่มีเพศ 2 เพศ ในตัวเดียวกัน (hermaphrodite) แต่จำเป็นต้องอาศัย sperm จากอีกตัวหนึ่ง โดยการผสมพันธุ์จับคู่กันถ่าย sperm (copulation) ให้แก่กันและกันนั้น โดยหอยเริ่มจับคู่และผสมพันธุ์กันนั้น ใช้เวลาประมาณ 1-1.5 ชั่วโมง การจับคู่ผสมพันธุ์กันนั้นอาจจะเป็นช่วงกลางวันหรือกลางคืนก็ได้ ขึ้นอยู่กับสภาพความชื้นและอากาศ โดยในธรรมชาตินั้น หอยทากดักดานจะเริ่มผสมพันธุ์ในช่วงฤดูฝนหรือในช่วงที่มีความชื้นหลังจากนั้น หอยจะเริ่มวางไข่

การวางไข่ เมื่อหอยทากดักดานมีการจับคู่และผสมพันธุ์กันแล้วนั้น หอยจะเริ่มวางไข่ โดยตัวแม่จะทำโพรงเล็กๆ และวางลึกลงไปใต้ผิวดินประมาณ 3-5 เซนติเมตร หรือวางใต้เศษวัสดุต่างๆ เช่นใบไม้ โดยที่หอยทากดักดานจะวางไข่เป็นกลุ่ม เฉลี่ย 57 ฟอง (N = 60) ปริมาณของไข่หอยนั้นจะมากหรือน้อยจะขึ้นอยู่กับขนาดของตัวแม่ที่วางไข่ ถ้าขนาดใหญ่ ปริมาณไข่ก็จะมากกว่าตัวแม่ที่มีขนาดเล็ก ไข่หอยมีลักษณะ นิ่ม ขาวขุ่น รูปทรงกลม หัวท้ายบวม ขนาดเฉลี่ย 3.1×3.5 มิลลิเมตร หนักเฉลี่ย 0.028 กรัม เมื่อไข่ได้รับความชื้น ลักษณะของไข่จะเป็นรูปทรงกลมรี เมื่อใกล้ฟักเป็นตัว ไข่จะเริ่มเป็นสีขุ่นเข้มขึ้นและมีลักษณะบวม ใช้เวลาในการฟักเป็นตัว 7-20 วัน อุณหภูมิเฉลี่ย 27 ± 3 องศาเซลเซียส

การเจริญเติบโต ลักษณะของลูกหอยเมื่อฟักออกมาแล้วจะมีลักษณะที่เหมือนกับตัวแม่เพียงแต่มีขนาดเล็กกว่า โดยลูกหอย หนักเฉลี่ย 0.0187 กรัม และมีขนาดเฉลี่ย 3.7982 มิลลิเมตร และสามารถกินพืชผักต่างๆ ได้ เช่น ผักกาดหอม ผักกาดขาว รวมทั้งอาหารเม็ดที่ใช้เลี้ยงปลาได้ การเจริญเติบโตของลูกหอยจะเพิ่มขนาดโดยการสร้างเปลือกวงสุดท้ายเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ โดยลูกหอยต้องการแคลเซียมจากอาหารเพื่อการสร้างเปลือก และถ้าเปลือกแตกก็จะสามารถสร้างขึ้นมาใหม่ได้จากการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ พบว่า ในระยะเวลา 1 เดือน ลูกหอยสามารถเจริญเติบโต เฉลี่ย 6.9833 มิลลิเมตร (N = 50) หนักเฉลี่ย 0.1230 กรัม (N = 50) และภายในระยะเวลา 4 เดือน ลูกหอยสามารถเจริญเติบโต เฉลี่ย 20.2733 มิลลิเมตร (N = 30) หนักเฉลี่ย 2.3949 กรัม (N = 30)

การกินอาหาร หอยทากดักดาน สามารถกินพืชได้เกือบทุกชนิด ที่มีลักษณะที่อ่อนนุ่มและสามารถกินได้ทั้งกลางวันและกลางคืน ขึ้นอยู่กับสภาพของอากาศที่มีความชื้นที่เพียงพอหรือไม่ แต่โดยส่วนมากหอยมักจะออกหาอาหารตอนกลางคืน เนื่องจากมีสภาพของอากาศที่เย็น ไม้ร้อน ส่วนในตอนกลางวันนั้น หอยยังสามารถที่จะออกหาอาหารกินได้เช่นกัน ถ้าหากสภาพอากาศในขณะนั้นมีความชื้น หรือมีฝนตก จากการเลี้ยงหอยในห้องปฏิบัติการ

ในหนึ่งคืนหอยหนึ่งตัวสามารถที่จะกินผักกาดขาว เฉลี่ย 0.2821 กรัม ผักกาดหอม 0.1156 กรัม และผักคะน้า 0.1362 กรัม การศึกษาครั้งนี้ยังไม่แล้วเสร็จ ยังต้องศึกษาพฤติกรรมบางประการในปีถัดไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นางทัศนวรรณ พุ่มกาหลง นายปรีชา มีนาค ที่ช่วยเลี้ยงและบันทึกข้อมูลบางประการของหอยดักดานในห้องปฏิบัติการ รวมทั้งพนักงานและเจ้าหน้าที่ของกลุ่มงานสัตววิทยา การเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จึงขอขอบคุณไว้ ณ ที่นี้

เอกสารอ้างอิง

- ชมพูนุท จรรยาเพศ ปราสาททอง พรหมเกิด ธีระเดช เจริญรัฐรักษ์ เสริมศักดิ์ หงส์นาค และ ปิยาณีหนูภาพ. 2542. ชีววิทยา การแพร่กระจายและการป้องกันกำจัดหอยทากและทากไม้ผลส่งออก ใน รายงานผลการค้นคว้าวิจัยประจำปี 2542 . กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.
- ดารารพร รินทะรักษ์ ชมพูนุท จรรยาเพศ ปิยาณี หนูภาพ. 2548. ชีววิทยาหอยเลขหนึ่ง . ใน รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2550 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เล่ม 3. หน้า 1500 - 1505
- ทักษิณ อาชวาคม ชมพูนุท จรรยาเพศ ยวลักษณ์ ขอประเสริฐและ เกษม ทองทวี. 2532. สำรวจชนิดหอยทากศัตรูพืช. ใน รายงานผลการค้นคว้าและวิจัย กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 101-114.
- 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) : 11 - 64.

การแพร่กระจายและความหลากหลายทางชีวภาพของหนูนาใหญ่
Rattus argentiventer (Robinson and Kloss, 1916) ในประเทศไทย
 Distribution and Biodiversity of Ricefield Rat, *Rattus argentiventer*
 (Robinson and Kloss, 1916) in Thailand

สมเกียรติ กล้าแข็ง วิชาญ วรรณะไกววัล
 เกียรติศักดิ์ หามะฤทธิ์ ปราสาททอง พรหมเกิด ทรงทัฬห แก้วตา
 กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาการแพร่กระจายและความหลากหลายทางชีวภาพของหนูนาใหญ่ (*Rattus argentiventer*) ในประเทศไทย ได้ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างหนูนาใหญ่ ในพื้นที่ทำนาของเกษตรกรภาคกลางในปี 2555 จากการศึกษา พบว่า หนูนาใหญ่จะชุกชุมอาศัยอยู่ตามคันนาที่ใหญ่หรือที่มีวัชพืชปกคลุม ชุกดินที่บริเวณทางเข้ารูมีขนาดเล็กละเอียดกว่าหนูพุกใหญ่และหนูพุกเล็ก มีนิสัยที่ระวังตัวขณะออกหากิน จากการศึกษาหนูนาใหญ่ที่ศึกษาเป็นตัวเต็มวัย (N = 55, เพศผู้ 31 ตัว เพศเมีย 24 ตัว) พบว่า ลักษณะสีขนบริเวณส่วนท้องสีขาวนวล และขนท้องขาวนวลมีแถบเส้นน้ำตาลถึงสีดำพาดกลางอก สีขาวเงิน 31, 31 และ 38 % ตามลำดับ ส่วนหนูเพศเมียมีนมที่หน้าอก 3 คู่ และที่หน้าท้อง 3 คู่ เหมือนกัน และน้ำหนัก (Wt.) เฉลี่ย 204.38 กรัม ความยาวหัวลำตัว (HB) เฉลี่ย 197.67 มิลลิเมตร ความยาวหาง (T) เฉลี่ย 182.59 มิลลิเมตร ความยาวตีนหลัง (HF) เฉลี่ย 36.31 มิลลิเมตร ความยาวหู (E) เฉลี่ย 23.06 มิลลิเมตร และจากการศึกษาลักษณะสัณฐานของกะโหลกและกระดูกซี่โครง ทั้ง 24 ลักษณะ มีค่าเฉลี่ย (มิลลิเมตร) ดังนี้ BR 8.57 LR 14.23 ONL 43.62 IB 5.67 BBC 16.47 ZB 20.65 BIF 2.97 BM1 2.04 LD 12.06 LIF 8.41 LBP 8.28 PPL 15.16 LB 7.82 BMF 3.18 BBP 4.25 CLM1-3 7.32 HBC 12.36 BZP 5.36 LM 23.18 HM 13.80 LLM 6.65 HL 25.67 FL 34.20 TL 36.99 มิลลิเมตร ตามลำดับ การศึกษาครั้งนี้ยังไม่เสร็จ ยังต้องดำเนินการศึกษาและวิเคราะห์ทางสถิติ รวมทั้งศึกษาและเก็บตัวอย่างหนูนาใหญ่ในภาคต่างๆ ในปีถัดไป

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-23-55

คำนำ

หนู เป็นสัตว์ที่มีวิวัฒนาการมาช้านาน ตั้งแต่ยุคไมโอซีนตอนปลาย มีถิ่นกำเนิดในประเทศจีนตอนใต้ และแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดย Lekagul and Jeffrey (1977) รายงานว่า หนูจัดอยู่ใน Phylum Chordata , Subphylum Vertebrata , Class Mammalia , Order Rodentia , Family Muridae (Rats and Mice) โดยกินพืชเป็นอาหารหลัก เช่น ข้าว ข้าวโพด ไม้ผล ปาล์ม น้ำมัน มะพร้าว และธัญพืชต่าง ๆ เป็นต้น ทำให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตต่างๆ มากมาย และเป็นสัตว์ที่พบมากทั้งจำนวนและชนิด คือประมาณ 65 % ของสัตว์ฟันแทะทั้งหมด

หนูนาใหญ่ Ricefield Rat; *Rattus argentiventer* (Robinson and Kloss, 1916) จัดเป็นหนูศัตรูพืชที่สำคัญในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น ข้าว อ้อย ข้าวโพด ถั่วเหลือง ถั่วลิสง โกโก้ ปาล์ม น้ำมัน เป็นต้น นอกจากเป็นศัตรูพืชแล้ว หนูนาใหญ่ ยังเป็นที่นิยมบริโภคเป็นอาหารของเกษตรกรทั่วทั้งเอเชียอาคเนย์ และมีเขตการแพร่กระจายตั้งแต่ เวียดนาม กัมพูชา ไทย ลาว มาเลเซีย หมู่เกาะสุมาตรา อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ ตลอดจนถึงนิวกินี (Suyanto *et al*, 1998) ในประเทศไทยมีรายงานว่า หนูนาใหญ่ พบเฉพาะในแหล่งปลูกพืชในภาคกลางและภาคใต้ และส่วนใหญ่พบในนาข้าว ได้แก่ สุพรรณบุรี นครปฐม ลพบุรี สิงห์บุรี อ่างทอง ออยุธยา ปทุมธานี ชุมพร นครศรีธรรมราช ปัตตานี ฯลฯ (Lekagul and Jeffrey, 1977) แต่จากรายงานข่าวหนูที่เข้าทำลายข้าวและธัญพืชอื่นๆ ที่ปลูกตั้งแต่ปี พ.ศ. 2552 เป็นต้นมา โดยเฉพาะภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ในพื้นที่ที่มีการทำเกษตรกรรมและมีการทำนาปรัง ในจังหวัดแถบลุ่มน้ำชี เช่นจังหวัดร้อยเอ็ด มหาสารคาม กาฬสินธุ์ (วัชรินทร์, 2553) พบว่า ส่วนใหญ่เป็นหนูนาใหญ่ แต่ลักษณะภายนอกและขนาดของตัวหนูนั้น มีความแตกต่างกัน จึงอาจเป็นไปได้ว่าในแต่ละสภาพแวดล้อม อาจทำให้ลักษณะภายนอกของหนูนาใหญ่เกิดการเปลี่ยนแปลงได้ โดยหนูนาใหญ่เป็นหนูขนาดกลาง มีความยาวหางสั้นกว่าความยาวหัวรวมกับลำตัว สีขนลำตัวด้านบนมีน้ำตาลเหลืองปนดำ มีขนแข็งสีขาวแทรก ด้านท้องสีขาวเงินและบางตัวมีสีเทาจนถึงสีน้ำตาลเป็นแถบเล็ก ๆ สั้น ๆ จากใต้คอลงมาจนถึงท้อง การขยายพันธุ์ค่อนข้างรวดเร็วและมีจำนวนลูกต่อครอกมากกว่าหนูนาชนิดอื่น ๆ ประมาณ 8-13 ตัว/ครอก (เสริมศักดิ์, 2543) และประเทศไทย จัดได้ว่าเป็นประเทศที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูง และเป็นประเทศเกษตรกรรมที่มีการปลูกพืชหลายชนิด เพื่อบริโภคภายในประเทศและเพื่อส่งออกทำรายได้ให้แก่ประเทศ เช่น ข้าว พืชไร่ ไม้ผล ไม้ดอกไม้ประดับ ตลอดจนผักต่าง ๆ เป็นต้น เนื่องจากมีลักษณะทางภูมิประเทศและภูมิอากาศที่หลากหลาย อุดมสมบูรณ์ แต่การศึกษาข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับสิ่งมีชีวิตหลาย ๆ ชนิด โดยเฉพาะหนูนาใหญ่มิมีน้อย พบว่าข้อมูลทั้งด้านชนิดย่อย

อนุกรมวิธาน ชีววิทยาและนิเวศวิทยาของหนูนาใหญ่ในประเทศไทย รวมถึงการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพทางด้านอนุกรมวิธาน ขอบเขตการแพร่กระจายยังมีไม่เพียงพอเช่นกัน ทั้งที่หนูชนิดนี้อาศัยอยู่ร่วมกับมนุษย์มายาวนาน และยังทำลายพืชผลเกษตรกรรมทุกครั้ง ดังนั้น จึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษา เพื่อให้รู้ถึงข้อมูลพื้นฐานด้านนิเวศวิทยา เช่น การแพร่กระจาย พฤติกรรมการดำรงชีวิต ตลอดจนความหลากหลายทางชีวภาพทางด้านอนุกรมวิธานของหนูนาใหญ่ เพื่อประโยชน์ในการเป็นแหล่งสืบค้นข้อมูลด้านนิเวศวิทยา และอนุกรมวิธานต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. หนูนาใหญ่ Ricefield Rat; *Rattus argentiventer* (Robinson and Kloss, 1916)
2. กรงดักหนู กรงเลี้ยงหนูสเตนเลส ขนาด 40 x 26 x 15 เซนติเมตร
3. ซีลี้อยสำหรับรองพื้นกรงเลี้ยงหนู สำลี ถังหรือขวดดองตัวอย่างหนู ลวดดักหนู เข็มเย็บผ้า และด้ายเย็บผ้า
4. ขวดพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่างกะโหลกหนู ถังพลาสติกขนาดต่าง ๆ
5. เครื่องชั่งน้ำหนัก เครื่องมือผ่าตัด เวอร์เนีย ไม้บรรทัด ไฟฉายและแบตเตอรี่ ถังมือแพทย์ ผ้าปิดจมูก กระดาษทิชชู ถังผ้าดิบสำหรับจับหนู ขนาด 20 x 30 เซนติเมตร หม้อสเตนเลสสำหรับต้มกะโหลกหนู
6. สารเคมี เช่นบอแรกซ์ ไดเอทิลอีเทอร์ โซเดียมไฮไดรอกไซด์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และแอลกอฮอล์ 70 %
7. เครื่องวัดพิกัดตำแหน่งภูมิประเทศ (GPS) และแผนที่จังหวัดที่ทำการสำรวจเก็บตัวอย่าง
8. อาหารเลี้ยงหนู เช่น อาหารสำเร็จรูปชนิดเม็ด แดงกวาง มันแกว และเหยื่อดักหนู เช่น ปลาช่อนสด ซีโต้ ข้าวโพดหวานสด เป็นต้น

วิธีการ

1. การดักหนู โดยใช้กรงดักชนิดจับเป็น บ่วงลวดดักหนูและตัวอย่างหนูนาใหญ่ที่เกษตรกรซื้อตัดด้วยไฟฟ้า จำนวนไม่น้อยกว่า 50 ตัว ที่สำรวจเป็นตัวแทนหนูนาใหญ่ของแต่ละภาค โดยใน ปี 2555 สำรวจและเก็บตัวอย่างภาคกลาง ในจังหวัดสุพรรณบุรี ลพบุรี กาญจนบุรี ออยุธยา ชัยนาท อ่างทอง สิงห์บุรี ปทุมธานี นครนายกและกรุงเทพมหานคร เป็นต้น
2. ศึกษาพฤติกรรมบางประการของหนูนาใหญ่ในสภาพธรรมชาติ
 - 2.1 ขนาดขุยดินของรูหนูนาใหญ่ ทำการสุ่มวัดขนาดของขุยดิน โดยสุ่มวัดขนาด กว้าง x ยาว จำนวน 30 ก้อน ต่อ 1 รู มีหน่วยวัดเป็นมิลลิเมตร

2.2 ทำการบันทึกการหากิน เวลาออกหาอาหาร ลักษณะการกัดกินและการทำลายของต้นพืช เป็นต้น

3. ศึกษาลักษณะภายนอกของหนูนาใหญ่ (external characters) ดังนี้

3.1 เตรียมสัตว์ทดลอง

สำรวจและดักจับหนูนาใหญ่ ด้วยกรงดักชนิดจับเป็น (Life trap) และบ่วงลวดดักหนู จากแปลงนาเกษตรกร ในแต่ละภาค นำมาเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร แล้วคัดเลือกหนูนาใหญ่ที่โตเต็มวัย ภาคละไม่น้อยกว่า 50 ตัว และที่จากเกษตรกรทำการช็อตด้วยไฟฟ้า บันทึกลักษณะของสีขน นำมาชั่งน้ำหนัก วัดขนาด ความยาวหัวลำตัว (Head Body Length : HB) โดยวัดตั้งแต่ปลายสุดของหัว คือ ตั้งแต่ปลายจมูกถึงช่องอวัยวะขับถ่าย ความยาวหาง (Tail Length : T) วัดตั้งแต่ช่องเปิดของอวัยวะขับถ่ายจนถึงปลายสุดของหาง ความยาวตีนหลัง (Hind Foot Length : HF) วัดตั้งแต่ปลายสุดของตีนหลังจนถึงเนื้อปลายของนิ้วที่ยาวที่สุดไม่รวมเล็บ ความยาวหู (Ear Length : E) วัดตั้งแต่ขอบหูกลางถึงปลายสุดของหู หน่วยการวัดเป็นมิลลิเมตร เป็นต้น (รูปที่ 1)

3.2 การเก็บโครงร่างสัตว์ทดลอง (Specimen)

นำหนูนาใหญ่ตัวเต็มวัย มาทำให้สลบด้วยไดเอธิลอีเทอร์ และบันทึกลักษณะภายนอก เช่น น้ำหนัก ลักษณะสีขน วัดขนาดความยาวหัวลำตัว (Head Body Length : HB) ความยาวหาง (Tail Length : T) ความยาวตีนหลัง (Hind Foot Length : HF) ความยาวหู (Ear Length : E) ทำการผ่าตัดเก็บส่วนโครงร่างของหนูนาใหญ่ ทั้งส่วนที่เป็นหนัง (strave) และกระดูก (skeleton)

3.2.1 การเก็บส่วนที่เป็นหนัง โดยลอกส่วนของหนังออกจากลำตัวให้มี ขน หาง และหู ติดอยู่อย่างสมบูรณ์ ใช้บอแรกซ์ทาผนังด้านในของหนังจนทั่ว จึงนำสำลีมาปั่นเป็นฟูนใส่ข้างในหนังหนูที่ลอกออก เพื่อตรึงและคงสภาพของตัวหนู และเย็บให้สนิท ตีตรหัสที่ตัวหนู แล้วนำไปอบในตู้อบความร้อน ที่อุณหภูมิ 70 °C นาน 2 – 3 วัน จนหนังแห้งจึงเก็บใส่กล่องเก็บตัวอย่างที่บรรจุ แบนทาสีนป้องกันแมลงทำลาย

3.2.2 การเก็บชิ้นส่วนกระดูกหนูนาใหญ่ หลังจากลอกเอาหนังออกไปแล้ว นำส่วนลำตัวมาตัดเอากระดูกรยางค์ คือ กระดูกท่อนบนของขาหน้า (Humerus) กระดูกขาหลังท่อนบน (Femur) และท่อนล่าง (Tibia) ตัดส่วนของกระดูกกะโหลกมาชำแหละเอาเนื้อออก แล้วนำไปต้มด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ จนได้ชิ้นส่วนของกระดูกที่ขาวสะอาด และครบสมบูรณ์ ตีตรหัสเดียวกับส่วนของหนังที่เป็นตัวเดียวกัน แล้วจึงนำไปอบจนแห้ง เพื่อนำไปศึกษาลักษณะสัณฐานของกะโหลกต่อไป

4. การวัดขนาดกระดูกกรยางค์และกระดูกกะโหลก (รูปที่ 2, 3)

การวัดขนาดกระดูกทั้งความยาวและความกว้างของกระดูกกรยางค์และกระดูกกะโหลก รวมทั้งสิ้น 24 ลักษณะ ด้วยเวอร์เนีย โดยมีหน่วยวัดเป็นมิลลิเมตร (millimeter) ตามวิธีการของ Musser *et. al* (2006) และ Lin L. *et. al* (1992) ดังนี้

4.1 วัดขนาดกระดูกกรยางค์ (Appendage bone)

1. ความยาวกระดูกขาหน้าท่อนบน (Humerus length ; HL.)
2. ความยาวกระดูกขาหลังท่อนบน (Femur length ; FL.)
3. ความยาวกระดูกขาหลังท่อนล่าง (Tibia length ; TL.)

4.2 ศึกษาลักษณะสัณฐานของกะโหลก (Skull bone) 21 ลักษณะ

1. Breadth of Rostrum (BR)
2. Length of Rostrum (LR)
3. Occipitonasal Length (ONL)
4. Interorbital Breadth (IB)
5. Breadth of Brain Case (BBC)
6. Zygomatic Breadth (ZB)
7. Breadth of Incisive Foramina (BIF)
8. Breadth of First Upper Molar (BM1)
9. Length of Diastema (LD)
10. Length of Incisive Foramina (LIF).
11. Length of Bony Palate (LBP).
12. Postpalatal Length (PPL)
13. Length of Auditory Bulla (LB)
14. Breadth of Mesopterygoid Fossa (BMF)
15. Breadth of Bony Palate at First Molars (BBP)
16. Crown Length of Maxillary Molar Row (CLM1-3)
17. Height of Brain Case (HBC)
18. Breadth of Zygomatic (BZP)
19. Length of Mandible (LM).
20. Height of Mandible (HM)
21. Length of Lower Molar Series (LLM)

เวลาและสถานที่ เริ่ม ตุลาคม 2554 ถึง กันยายน 2558

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร และแปลงนาเกษตรกรภาคต่างๆ

การบันทึกข้อมูล

1. ตำแหน่งและแหล่งที่ได้หามาใหญ่ด้วยเครื่อง GPS
2. ขนาดขูดิน การหากิน เวลาการออกหาอาหาร ลักษณะการกัดกินและทำลายพืช
3. ลักษณะของขน และสีขน น้ำหนักตัว ความยาวหัว-ลำตัว หาง หู และเท้าหลัง ความยาวและความกว้างของกระดูกกรยางค์และกระดูกกะโหลก รวม 24 ลักษณะ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาการแพร่กระจายและความหลากหลายทางชีวภาพของหนูนาใหญ่ (*Rattus argentiventer*) ในประเทศไทย จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างหนูนาใหญ่พื้นที่ทำนาของเกษตรกรภาคกลาง ในจังหวัดลพบุรี สุพรรณบุรี กาญจนบุรี อยุธยา ชัยนาท อ่างทอง สิงห์บุรี อยุธยา ปทุมธานี นครนายก และจังหวัดกรุงเทพมหานคร ในเขตหนองจอกและมีนบุรี (รูปที่ 4) ทำการบันทึกสภาพนิเวศ พิกัดทางภูมิศาสตร์ ศึกษาพฤติกรรมบางประการของหนูนาใหญ่ ลักษณะภายนอกของหนูที่โตเต็มวัย และศึกษาลักษณะสัณฐานกระดูกยางค์และกะโหลก ส่วนหนูนาใหญ่ที่ยังไม่เป็นตัวเต็มวัย จะนำมาเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการเพื่อให้เจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัย และนำมาศึกษาลักษณะกะโหลกและกระดูกยางค์ต่อไป

จากการศึกษา พบว่า หนูนาใหญ่ชุดรูอาศัยอยู่ตามคันนาที่ใหญ่ หรือที่มีวัชพืชปกคลุม ขุดดินที่บริเวณทางเข้ารูมีขนาดเล็กละเอียดกว่าหนูทุกใหญ่และหนูทุกเล็ก มีนิสัยที่ระวังตัวขณะออกหากิน จากการสังเกตเสียงร้อง พบว่า หนูนาใหญ่จะส่งเสียงดัง “ก๊ิก ก๊ิก” หรือ “อืด อืด” อยู่ในพื้นที่ระหว่างการหากินหรือก่อนออกหากิน เพื่อเตือนภัยหรือบอกแหล่งอาหารให้หนูตัวอื่นรู้

จากตัวอย่างหนูนาใหญ่ที่ศึกษา (N= 55, เพศผู้ 31 ตัว เพศเมีย 24 ตัว) ทำการบันทึกลักษณะภายนอก พบว่า ลูกหนูหรือหนูที่ยังไม่เจริญเป็นตัวเต็มวัย จะมีลักษณะสีขนบริเวณโคนหูเป็นสีส้มอ่อนๆ และตัวเต็มวัย ลักษณะสีขนลำตัวด้านบนมีน้ำตาลเหลืองปนดำ มีขนแข็งสีขาวแทรก จากตัวอย่างลักษณะของสีขนของหนูที่เจริญเป็นตัวเต็มวัย พบว่า สีของขนบริเวณท้องเป็นสีขาวนวล สีของขนบริเวณท้องสีขาวนวลมีแถบเส้นสีน้ำตาลถึงสีดำพาดกลางอก และสีของขนบริเวณท้องสีขาวเงิน 31, 31, 38 % ตามลำดับ มีความยาวของหัวและลำตัว (HB) จะยาวกว่าความยาวของหาง (T) ตัวเมียจะมีนม 3 คู่ ที่บริเวณส่วนนอก และ 3 คู่ ที่บริเวณส่วนท้อง และมีน้ำหนัก (Wt.) เฉลี่ย 204.38 กรัม ความยาวหัวลำตัว (HB) เฉลี่ย 197.67 มิลลิเมตร ความยาวหาง (T) เฉลี่ย 182.59 มิลลิเมตร ความยาวตีนหลัง (HF) เฉลี่ย 36.31 มิลลิเมตร ความยาวหู (E) เฉลี่ย 23.06 มิลลิเมตร

หนูนาใหญ่เพศผู้ (N= 31) มีน้ำหนัก (Wt.) เฉลี่ย 223.16 กรัม ความยาวหัวลำตัว (HB) เฉลี่ย 204.03 มิลลิเมตร ความยาวหาง (T) เฉลี่ย 187.42 มิลลิเมตร ความยาวตีนหลัง (HF) เฉลี่ย 37.13 มิลลิเมตร ความยาวหู (E) เฉลี่ย 23.58 มิลลิเมตร

หนูนาใหญ่เพศเมีย (N= 24) มีน้ำหนัก (Wt.) เฉลี่ย 180.11 กรัม ความยาวหัวลำตัว (HB) เฉลี่ย 189.09 มิลลิเมตร ความยาวหาง (T) เฉลี่ย 176.09 มิลลิเมตร ความยาวตีนหลัง (HF) เฉลี่ย 35.22 มิลลิเมตร ความยาวหู (E) เฉลี่ย 22.35 มิลลิเมตร

จากการศึกษาลักษณะสัณฐานของกระดูกยางค์และกะโหลกของหนูนาใหญ่ (รูปที่ 2, 3) ได้ผลดังตาราง การศึกษาครั้งนี้ยังไม่แล้วเสร็จ ยังต้องศึกษาพฤติกรรมบางประการ ระบบนิเวศ ตลอดจนการทำลายพืชและการแพร่กระจายในภูมิภาคอื่นๆ อีก ในปีถัดไป

Table 1 : Cranial Measurements (In Millimeters) of The Holotype of Ricefield Rat;
Rattus argentiventer (N = 55)

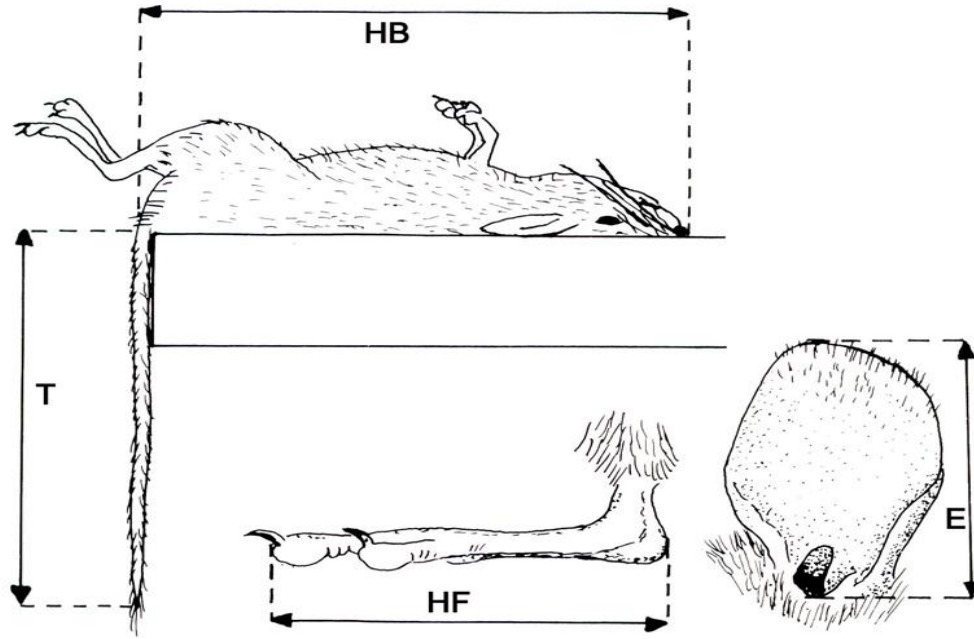
Characters	Max.	Min.	Mean	SD.
Weight (Wt.)	322.00	135.00	204.38	42.93
Head Body Length (HB)	235.00	170.00	197.67	15.12
Tail Length (T)	215.00	155.00	182.59	13.84
Hind Foot Length (HF)	42.00	32.00	36.31	2.21
Ear Length (E)	26.00	20.00	23.06	1.60
Breadth of Rostrum (BR)	10.10	6.88	8.57	0.74
Length of Rostrum (LR)	16.51	11.43	14.23	1.14
Occipitonasal Length (ONL)	47.83	37.92	43.62	2.28
Interorbital Breadth (IB)	6.32	4.77	5.67	0.27
Breadth of Brain Case (BBC)	18.13	14.86	16.47	0.70
Zygomatic Breadth (ZB)	22.85	17.08	20.65	1.10
Breadth of Incisive Foramina (BIF)	3.87	2.06	2.97	0.44
Breadth of First Upper Molar (BM1)	2.33	1.28	2.04	0.14
Length of Diastema (LD)	13.68	10.00	12.06	0.86
Length of Incisive Foramina (LIF)	9.24	7.17	8.41	0.52
Length of Bony Palate (LBP)	9.42	7.10	8.28	0.55
Postpalatal Length (PPL)	17.94	12.51	15.16	1.15
Length of Auditory Bulla (LB)	8.81	6.68	7.82	0.48
Breadth of Mesopterygoid Fossa (BMF)	3.75	2.51	3.18	0.30
Breadth of Bony Palate at First Molars (BBP)	4.93	3.34	4.25	0.37
Crown Length of Maxillary Molar Row (CLM1-3)	8.22	6.54	7.32	0.34
Height of Brain Case (HBC)	13.42	11.47	12.36	0.52
Breadth of Zygomatic (BZP)	6.47	4.22	5.36	0.57
Length of Mandible (LM)	25.62	20.20	23.18	1.35
Height of Mandible (HM)	16.63	11.58	13.80	0.99
Length of Lower Molar Series (LLM)	7.28	5.94	6.65	0.24
Humerous Length (HL)	37.30	19.38	25.67	2.52
Femur Length (FL)	40.57	27.62	34.20	2.51
Tibia Length (TL)	41.85	31.08	36.99	2.33

Table 2 : Cranial Measurements (In Millimeters) of The Holotype of Ricefield Rat;
Rattus argentiventer (♂ = 31)

Characters	Max.	Min.	Mean	SD.
Weight (Wt.)	322.00	164.00	223.16	41.91
Head Body Length (HB)	235.00	180.00	204.03	14.77
Tail Length (T)	215.00	155.00	187.42	14.94
Hind Foot Length (HF)	42.00	33.00	37.13	2.35
Ear Length (E)	26.00	20.00	23.58	1.54
Breadth of Rostrum (BR)	10.10	7.61	8.78	0.66
Length of Rostrum (LR)	16.51	12.63	14.61	1.07
Occipitonasal Length (ONL)	47.83	39.91	44.58	1.94
Interorbital Breadth (IB)	6.32	5.34	5.74	0.20
Breadth of Brain Case (BBC)	17.39	15.41	16.51	0.62
Zygomatic Breadth (ZB)	22.85	17.08	20.95	1.11
Breadth of Incisive Foramina (BIF)	3.87	2.06	3.11	0.44
Breadth of First Upper Molar (BM1)	2.33	1.70	2.05	0.11
Length of Diastema (LD)	13.68	10.54	12.39	0.71
Length of Incisive Foramina (LIF)	9.24	7.17	8.53	0.50
Length of Bony Palate (LBP)	9.42	7.10	8.46	0.56
Postpalatal Length (PPL)	17.24	13.46	15.63	0.90
Length of Auditory Bulla (LB)	8.81	7.03	7.95	0.45
Breadth of Mesopterygoid Fossa (BMF)	3.75	2.72	3.21	0.29
Breadth of Bony Palate at First Molars (BBP)	4.93	3.57	4.31	0.34
Crown Length of Maxillary Molar Row (CLM1-3)	8.22	6.72	7.38	0.38
Height of Brain Case (HBC)	13.42	11.47	12.50	0.54
Breadth of Zygomatic (BZP)	6.47	4.54	5.54	0.57
Length of Mandible (LM)	25.20	20.54	23.60	1.18
Height of Mandible (HM)	16.63	11.99	14.11	0.96
Length of Lower Molar Series (LLM)	7.28	6.22	6.67	0.25
Humerous Length (HL)	30.16	23.34	26.56	1.27
Femur Length (FL)	40.57	30.60	35.58	1.92
Tibia Length (TL)	41.85	33.53	38.26	1.52

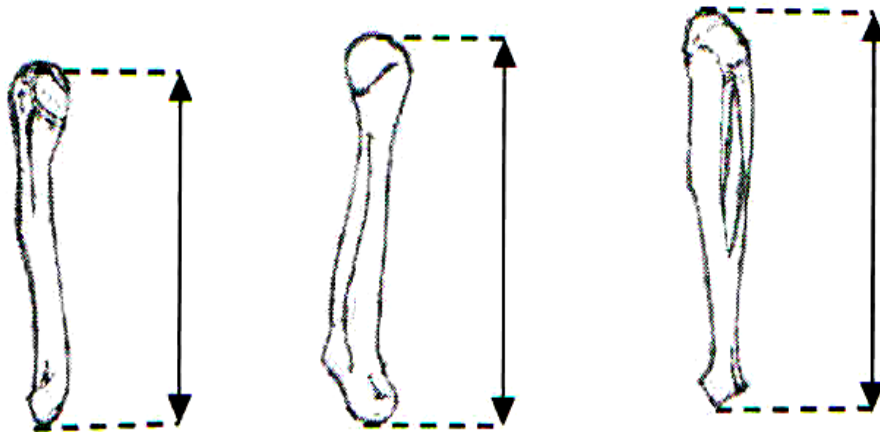
Table 3 : Cranial Measurements (In Millimeters) of The Holotype of Ricefield Rat;
Rattus argentiventer (♀ = 24)

Characters	Max.	Min.	Mean	SD.
Weight (Wt.)	235.00	120.00	172.82	39.21
Head Body Length (HB)	217.00	170.00	189.09	10.92
Tail Length (T)	198.00	160.00	176.09	8.95
Hind Foot Length (HF)	38.00	32.00	35.22	1.44
Ear Length (E)	24.00	20.00	22.35	1.40
Breadth of Rostrum (BR)	9.58	6.88	8.28	0.75
Length of Rostrum (LR)	15.59	11.43	13.72	1.06
Occipitonasal Length (ONL)	46.64	37.92	42.34	2.10
Interorbital Breadth (IB)	6.04	4.77	5.58	0.33
Breadth of Brain Case (BBC)	18.13	14.86	16.41	0.80
Zygomatic Breadth (ZB)	22.06	17.73	20.24	0.97
Breadth of Incisive Foramina (BIF)	3.77	2.14	2.77	0.36
Breadth of First Upper Molar (BM1)	2.18	1.28	2.02	0.18
Length of Diastema (LD)	13.32	10.00	11.63	0.85
Length of Incisive Foramina (LIF)	8.97	7.19	8.24	0.50
Length of Bony Palate (LBP)	8.85	7.37	8.03	0.44
Postpalatal Length (PPL)	17.94	12.51	14.52	1.16
Length of Auditory Bulla (LB)	8.81	6.68	7.65	0.48
Breadth of Mesopterygoid Fossa (BMF)	3.56	2.51	3.13	0.31
Breadth of Bony Palate at First Molars (BBP)	4.85	3.34	4.17	0.40
Crown Length of Maxillary Molar Row (CLM1-3)	7.72	6.54	7.24	0.28
Height of Brain Case (HBC)	13.17	11.50	12.17	0.44
Breadth of Zygomatic (BZP)	5.94	4.22	5.10	0.47
Length of Mandible (LM)	25.62	20.20	22.63	1.38
Height of Mandible (HM)	15.09	11.58	13.39	0.89
Length of Lower Molar Series (LLM)	6.96	5.94	6.64	0.24
Humerous Length (HL)	37.30	19.38	24.51	3.20
Femur Length (FL)	37.58	27.62	32.43	2.04
Tibia Length (TL)	40.77	31.08	35.35	2.17



รูปที่ 1 แสดงการวัดลักษณะภายนอกของหนูนาใหญ่ : HB = ความยาวของหัวและลำตัวรวมกัน

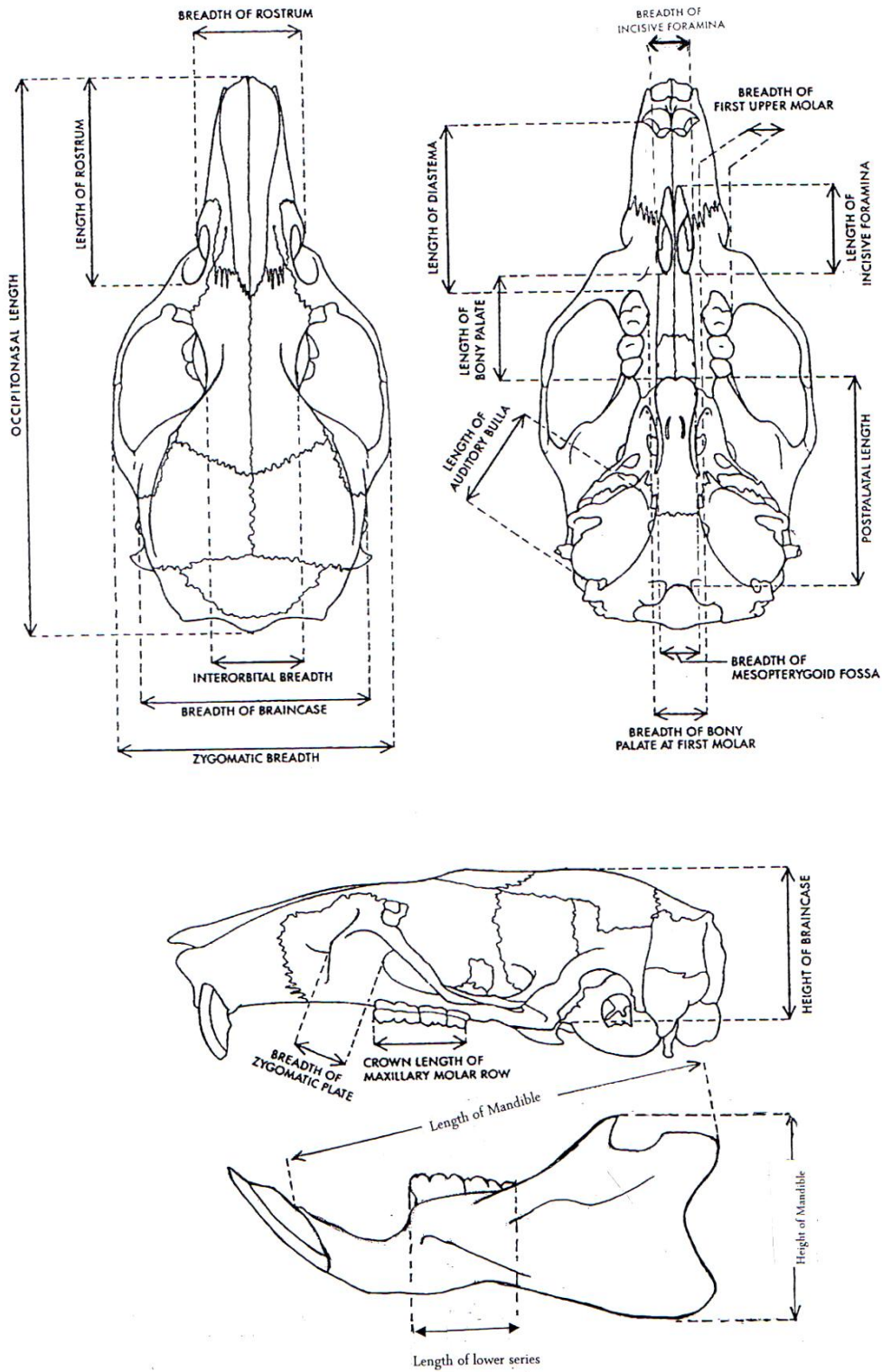
T = ความยาวของหาง, HF = ความยาวของตีนหลัง, E = ความยาวของใบหู



1. Humerus Length ; HL. 2. Femur Length ; FL. 3. Tibia Length ; TL.

รูปที่ 2 แสดงการวัดขนาดกระดูกยางค์ (Appendage bone)

1. ความยาวกระดูกขาหน้าท่อนบน (Humerus length ; HL.)
2. ความยาวกระดูกขาหลังท่อนบน (Femur length ; FL.)
3. ความยาวกระดูกขาหลังท่อนล่าง (Tibia length ; TL.)



รูปที่ 3 แสดงการวัดขนาดกะโหลกของหนูนาใหญ่
 (ที่มา : Musser *et. al* (2006) และ Lin L. *et. al* (1992))



รูปที่ 4 แสดงการแพร่กระจายของหมูนาใหญ่ในภาคกลาง (จากการเก็บตัวอย่าง)

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นายชาติศักดิ์ สังข์วัฒน์และนายโยชินทร์ โพธิ์ศรี ที่ช่วยเลี้ยงและดูแลหนูนาใหญ่ในห้องปฏิบัติการ รวมทั้งพนักงานและเจ้าหน้าที่ทุกท่าน ของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จึงขอขอบคุณไว้ ณ ที่นี้

เอกสารอ้างอิง

- วัชรินทร์ เจริญวงศ์. 2553. การป้องกันกำจัดหนูในนาข้าวได้ผลเกือบร้อยเปอร์เซ็นต์โดยวิธีล้อมหนูตกถึงที่ร้อยเอ็ด. [ออนไลน์]. แหล่งข้อมูล : <http://76.nationchannel.com/playvideo.php?id=82404> (1 มีนาคม 2553)
- เสริมศักดิ์ หงส์นาค. 2543 ประวัติการป้องกันกำจัดหนูในประเทศไทย. หน้า 1-35. ใน เอกสารประกอบการประชุมสัมมนาเรื่องหนูศัตรูพืชและมนุษย์ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.
- Lekagul, B., and Jeffery A. M.. 1977. Mammal of Thailand. Printed at Kurusapha Ladprao Press by Nai kamthon Sathirakul, Bangkok. 758 p.
- Lin. L. and Shiraishi S.. 1992. Skull Growth and Variation in the Formosan Wood Mouse, *Apodemus semotus* J. fac. Agr., Kyushu Univ., 37(l), 51-69 p.
- Musser G.G., and Lunde D. P., and Son N. T., 2006. Description of a New Genus and Species of Rodent (Murinae, Muridae, Rodentia) from the Tower Karst Region of Northeastern Vietnam. American Museum Novitates. 1-41 p.
- Suyanto, A., Yoneda, M., Maryanto, I., Maharadatunkamsi, and Sugarjito, J. (1998). Checklist of the Mammals of Indonesia. Scitific name and Distribution area table in Indonesia including CITES, IUCN and Indonesia category for conservation. LIPI-JICA 34 p.

อนุกรมวิธานและชีววิทยาของรา *Cladosporium*
 สาเหตุโรคพืช Identification and Biology of *Cladosporium*

ชนินทร์ ดวงสอดา พรพิมล อธิปัญญาคม สุณิรัตน์ สิมะเตือ^{1/}
 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* โดยตัวอย่างพืชที่แสดงอาการใหม่โดยมีเชื้อรา *Cladosporium* เป็นเชื้อราสาเหตุคือ ไฮเดรนเยียและช่อดอกมะม่วง และเมื่อจำแนกพบว่าเชื้อรา *Cladosporium* ที่แยกได้คือ เชื้อรา *Cladosporium cladosporioides* ศีกษารา *Cladosporium* 5 ชนิด ที่เจริญอยู่บนใบแตง มะเขือ ผักกาดขาว แก้วมังกร และพริก พบว่าเชื้อเจริญได้ดีที่สุดบนอาหาร PDA

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 โคลนีสีเขียวมะกอกเข้ม รา *Cladosporium* มีจำนวนชนิดมากกว่า 700 ชนิด เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคได้ทั้งกับคนและพืช ซึ่งราชนิดนี้ก่อให้เกิดโรคสำคัญกับพืชหลายชนิด เช่น *Cladosporium capsici* สาเหตุโรครดดอกไหม้ (flower blight) เบนูจมาศ *C.cucumerinum* สาเหตุโรคราดำ (leaf mold) แดงโมและสแคป (scab) ในแตงกวา *C.allii-cepae* สาเหตุโรคใบจุด (leaf blotch) หอม กระเทียม *C. fulvum* สาเหตุโรคกำมะหยี่และใบจุดมะเขือเทศ *C. musae* สาเหตุโรคใบลาย ใบจุดต่าง (leaf speckle) กล้วย *C. cladosporioides* และ *C. herbarum* สาเหตุโรคใบจุดสีน้ำตาล (brown spot) ในองุ่น และยังมีพืชอื่นที่แสดงอาการของโรคพืชที่มีเชื้อสาเหตุจาก genus *Cladosporium* เช่นโรคราดำในกล้วยไม้ ทุเรียน ลำไย โรคฝักจุด ฝักลาย ในกระเจี๊ยบเขียว โรคใบจุดในมะละกอ และอื่นๆ ที่ยังไม่ระบุชนิดของรา *Cladosporium* และยังพบว่า รา *Cladosporium* เป็นราในระยะสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (anamorph) ของรา *Mycosphaerella* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคใบจุดของพืชสำคัญหลายชนิด ดังนั้นการจำแนกชนิดของรา *Cladosporium* นี้จึงมีความสำคัญ ซึ่งรา *Cladosporium* หลายชนิดที่เป็นสาเหตุโรคพืชที่นำเข้าหรือส่งออก ดังนั้นหากทราบถึง ชนิดของรา *Cladosporium* บนพืชอาศัยต่าง ๆ จึงเป็นข้อมูลที่จะเป็นประโยชน์ในทางด้านโรคพืชและการเกษตรทั่วไป และการรวบรวมเก็บรักษาสายพันธุ์บริสุทธิ์ของเชื้อราดังกล่าวเข้าไปใน culture collection จะเป็นแหล่งเก็บรักษาพันธุกรรมเชื้อราเพื่อการนำไปใช้ศึกษาค้นคว้าเรื่องสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่จะเป็นประโยชน์การเกษตร การแพทย์ และอุตสาหกรรมต่อไปในอนาคต และเป็นข้อมูลพื้นฐานในด้านการจำแนกชนิดของเชื้อราและยังเป็นข้อมูลอ้างอิงในการจัดทำบัญชีรายชื่อ เพื่อประโยชน์ในการนำเข้าและส่งออกสินค้า

ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้ จึงทำการศึกษานิตของราสกุล *Cladosporium* สาเหตุโรคพืช

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างได้แก่ ถุงพลาสติก กรรไกร กรรไกรตัดแต่งกิ่ง กระดาษฟาง ไม้อัดทับตัวอย่าง
2. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ตู้เชื้อเชื้อ หม้อนึ่งความดัน ตู้บ่มเชื้อ
3. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดทดลอง ขวดดูแรน บีกเกอร์ สไลด์และแผ่นแก้วปิดสไลด์ กระบอกตวง แท่งแก้ว ตะเกียงแอลกอฮอล์
4. เข็มเขี่ยปลายแหลม หัวง่ายเชื้อ ปากคืบ 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 สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ และ เอธิลแอลกอฮอล์

75%

วิธีการ

1. สืบค้นเอกสารและเตรียมอุปกรณ์การทดลอง

สืบค้น ตรวจสอบเอกสารที่เกี่ยวข้อง และเตรียมวัสดุอุปกรณ์ที่ต้องใช้ในการทดลอง

2. สํารวจและเก็บตัวอย่างโรคพืช

เก็บตัวอย่างโรคพืช ได้แก่ ใบ ดอก ผล กิ่ง ลำต้น และราก จากแหล่งปลูกพืชในประเทศไทย ห่อด้วยกระดาษ ใส่ถุงพลาสติก และบันทึกรายละเอียด ชนิดพืช แหล่งที่เก็บ วันที่เก็บ ผู้เก็บ และแบ่งตัวอย่างโรคพืชมาอัดทับตัวอย่างแห้ง จัดเก็บในพิพิธภัณฑ์โรคพืช ตึกอภิศรีศรีการ กลุ่มวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร

3. การแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืช

- ศึกษาลักษณะอาการของโรคและแยกเชื้อราโดยตรง

ศึกษาลักษณะอาการของโรคและแยกเชื้อราโดยตรงจากชิ้นส่วนพืช ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo หรือ ทำ moist chamber บ่มที่อุณหภูมิ 32 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน เมื่อพบเชื้อราสร้างเส้นใยหรือ conidium ตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และใช้เข็มเขี่ยส่วนของเชื้อรามาวางบนสไลด์ หรือใช้ใบมีดตัดขวางชิ้นส่วนพืชให้บาง ๆ และตรวจสอบดูลักษณะต่าง ๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound ถ่ายรูปลักษณะเชื้อและบันทึกลักษณะต่าง ๆ ของเชื้อ

- แยกเชื้อราโดยวิธี Tissue transplant

นำส่วนของพืชที่เป็นโรคมามาตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 0.5×0.5 มิลลิเมตร ให้คาบต่อส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 10 % เป็นเวลา 3-5 นาที ล้างในน้ำนิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำไปซบบนกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้แห้ง แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหาร $\frac{1}{2}$ Potato 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 $\frac{1}{2}$ Potato 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 บันทึกรูปภาพ วาดภาพ และบันทึกภาพด้วยกล้องถ่ายภาพ และถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Scanning Electron Microscope)

5. การพิสูจน์โรค

นำรา *Cladosporium* แต่ละไอโซเลทที่แยกได้จากตัวอย่างพืชแต่ละชนิด ทำการปลูกเชื้อบนพืชชนิดเดียวกับตัวอย่างพืชที่แยกมาได้ โดยวิธี detach leaf เพื่อพิสูจน์ความเป็นสาเหตุโรคของพืชชนิดนั้นๆ

6. เก็บรักษาสายพันธุ์เชื้อรา

เชื้อราที่แยกได้นั้น เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และเก็บรักษาไว้ใน Culture Collection และเก็บตัวอย่างแห้งโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช ตึกอภิศรีศรีการ 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 ศึกษาเชื้อรา *Cladosporium* 5 ชนิด ที่เจริญอยู่บนใบแตง มะเขือ ผักกาดขาว แก้วมังกร และพริก พบว่าเชื้อเจริญได้ดีที่สุดบนอาหาร PDA

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างของพืชที่แสดงอาการของโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Cladosporium* จากแหล่งปลูกพืชในประเทศไทย ระหว่าง ตุลาคม 2553-กันยายน 2555 ได้ตัวอย่างเชื้อรา *Cladosporium cladosporioides* และศึกษา *Cladosporium* 5 ชนิด ที่เจริญอยู่บนใบแดง มะเขือ ผักกาดขาว แก้วมังกร และพริก พบว่าเชื้อเจริญได้ดีที่สุดบนอาหาร PDA

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

การทราบชนิดและวิธีการจำแนกชนิดของรา *Cladosporium* บนพืชอาศัยต่าง ๆ เป็นข้อมูลที่จะเป็นประโยชน์ในทางด้านโรคพืชและการเกษตรทั่วไป และการรวบรวมเก็บรักษาสายพันธุ์บริสุทธิ์ของเชื้อราดังกล่าวเข้าไปใน culture collection จะเป็นแหล่งเก็บรักษาพันธุกรรมเชื้อราเพื่อนำไปใช้ศึกษาค้นคว้าเรื่องสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่จะเป็นประโยชน์การเกษตร การแพทย์อุตสาหกรรมต่อไปในอนาคต และเป็นข้อมูลพื้นฐานในด้านการจำแนกชนิดของเชื้อรา และยังเป็นข้อมูลอ้างอิงในการจัดทำบัญชีรายชื่อเพื่อประโยชน์ในการนำเข้าและส่งออกสินค้า

เอกสารอ้างอิง

- ชลธิชา รักใคร่ อุดร อุณหวุฒิ สุรพล ยินอัศวพรรณ จำลอง ลภสาธิตกุล และ ญญฐพร อุทัยมงคล. 2550. การศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้างุ่นผลสดจากประเทศสหรัฐอเมริกา. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2550. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. เล่ม 2: หน้า 1084-1096.
- พัฒนา สนธิรัตน์ ประไพศรี พิทักษ์ไพรวิน ธนวัฒน์ กำแพงฤทธิ์รงค์ วิรัช ชูบำรุง และ อุบล คือประโคน. 2537. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย. กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร.
- วิจัย รักวิทยาศาสตร์. 2551. ราวิทยาเบื้องต้น. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.
- Ellis, M. B. 1971. Demateceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 698 p.
- Ellis, M. B. 1976. More Demateceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 507 p.

อนุกรมวิธานและชีววิทยาของรา *Alternaria* และ *Stemphylium*
 สาเหตุโรคพืช Taxonomy and Biology of Plant Pathogenic Fungi :
 Genus *Alternaria* and *Stemphylium*

สุณิรัตน์ สิมะเต็อ

พรพิมล อธิปัญญาคม ชนินทร ดวงสอาด อภิรัชต์ สมฤทธิ์
 กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

สำรวจ และเก็บตัวอย่างโรคพืช ในช่วงตุลาคม 2554 ถึง กันยายน 2555 จากแปลงปลูกพืชในพื้นที่ 15 จังหวัด ได้ตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากรา *Alternaria* spp. จำนวน 65 ตัวอย่าง บนพืช 13 ชนิด และ *Stemphylium* sp. จำนวน 3 ตัวอย่าง บนพืช 3 ชนิด และจากการจำแนกชนิด พบว่า โรคใบจุดค่น้ำ เกิดจากรา *A. brassicicola* โรคใบจุดสีม่วงของหอมแดง หอมหัวใหญ่ และ กระเทียม เกิดจากรา *A. porri* โรคใบจุดของบานไม่รู้รุ่ย เกิดจากรา *A. gomphrenae* โรคใบไหม้ของหอมแดง และ หอมหัวใหญ่ เกิดจากรา *S. vesicarium* เก็บเชื้อบริสุทธิ์ จำนวน 68 ไอโซเลท รวบรวมไว้ในศูนย์รวบรวมเชื้อราสาเหตุโรคพืช ของกลุ่มวิจัยโรคพืช รวมทั้งจัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืช พร้อมลงรายละเอียดข้อมูลตัวอย่าง เก็บในพิพิธภัณฑ์โรคพืช จำนวน 68 ตัวอย่าง และศึกษาชนิดอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญและสร้างสปอร์ของรา *A. brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดค่น้ำ *A. gomphrenae* สาเหตุโรคใบจุดบานไม่รู้รุ่ย และ *Alternaria* sp. สาเหตุโรคใบจุดดาวเรือง พบว่า *Alternaria* spp. ทั้ง 3 ชนิด เจริญได้ดีที่สุดบนอาหาร V8 รองลงมาได้แก่ PDA ½ PDA เต็ม CaCo3 PCA ½ PDA WA และ CZA ตามลำดับ และสร้างสปอร์ได้ดีที่สุด บนอาหาร ½ PDA เต็ม CaCo3 รองลงมา ได้แก่ ½ PDA WA PCA V8 PDA และ CZA ตามลำดับ

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-02-02-54

คำนำ

ราสกุล *Alternaria* และ *Stemphylium* เป็นสาเหตุโรคทำความเสียหายต่อผลผลิตของพืชเศรษฐกิจหลายชนิด ทั้งพืชผัก ไม้ผล ไม้ดอก ไม้ประดับ รวมทั้งวัชพืช รา *Alternaria* ที่ขึ้นสาเหตุโรคพืช ได้แก่ *Alternaria dauci* สาเหตุโรคใบไหม้ของแครอท *A. radicina* สาเหตุโรคเน่าดำของแครอท *A. brassicae* และ *A. brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดของพืชตระกูลกะหล่ำ และโรคเน่า (head rot) ของบรอกโคลี *A. solani* สาเหตุโรคใบไหม้ 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. tenuissima* สาเหตุโรคใบจุดของแพนซี *A. citri* สาเหตุโรคเน่าดำ ซึ่งเป็นโรคหลังการเก็บเกี่ยวของผลส้ม (พัฒนา และคณะ, 2526, 2537 ; Katoh et al., 2005 ; Chase, 1998 : Laemmlen, 2009) รา *Stemphylium* ที่ขึ้นสาเหตุโรคพืช ได้แก่ *Stemphylium botryosum* สาเหตุโรค black leaf mold ของหอมหัวใหญ่ ใบจุดของอัลฟาฟ่า และใบจุดของหน่อไม้ฝรั่ง (Gonsalves and Ferreira., 2009 ; Takahito ,1973) *S. solani* สาเหตุโรคใบไหม้ หรือใบจุดสีเทาของมะเขือเทศ และโรคใบจุดของพริกหวาน (พัฒนา และคณะ, 2537 กรรณิการ์, 2552 ; Pairoj and Nopporn,1978 ; Gonsalves and Ferreira, 2009) *S. vesicarium* สาเหตุโรคใบไหม้ของพืชสกุลหอม กระเทียม (นิตยา, 2545 ; Gonsalves and Ferreira, 2009) โรคจุดสีน้ำตาลของแพร์ (brown spot of pear)(de Jong, 2009) *S. lycopersici* สาเหตุโรคใบจุดสีเทาของพริก (กรรณิการ์, 2552) ray speck disease ของเบญจมาศ (Nishi et al., 2009) *S. polymorphum* สาเหตุโรคใบไหม้ของถั่วลิ้นเต่า (พัฒนา และคณะ, 2537) *Stemphylium* sp สาเหตุโรคใบไหม้เบญจมาศ และ ผักเบี้ยหิน (พัฒนา และคณะ, 2537) เป็นต้น

เนื่องจากราทั้ง 2 สกุล เป็นสาเหตุโรคพืชทำความเสียหายต่อผลผลิตของพืชเศรษฐกิจหลายชนิด และเชื่อมีลักษณะที่คล้ายคลึงกันมาก รวมทั้งในประเทศไทยยังมีรายงานในด้านการศึกษาชีววิทยา และจัดจำแนกชนิด ของราทั้ง 2 สกุลนี้ไม่มาก ดังนั้นจึงควรที่จะทำการศึกษาชีววิทยาและจำแนกชนิดของเชื้อรา *Alternaria* spp. และ *Stemphylium* spp. สาเหตุโรคพืช เพื่อให้ได้ทราบชนิด และลักษณะประจำพันธุ์ ซึ่งเป็นข้อมูลพื้นฐานในการหาวิธีการป้องกันกำจัดโรค เพื่อเตรียมพร้อมสำหรับนำมาใช้กำหนดแผนการ ป้องกันกำจัดได้รวดเร็วทันเหตุการณ์ และยังเป็นข้อมูลอ้างอิงในการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช เพื่อประโยชน์ในการนำเข้าและส่งออกสินค้า และได้เชื้อรา *Alternaria* spp. และ *Stemphylium* spp สาเหตุโรคพืช เพื่อเก็บในศูนย์รวบรวมเชื้อราสาเหตุโรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช และตัวอย่างแห้งโรคพืชเก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- ตัวอย่างโรคพืชที่คาดว่าเกิดจากรา *Alternaria* spp. และ *Stemphylium* spp. จากแหล่งปลูกพืชในประเทศไทย ระหว่าง ตุลาคม 2554 ถึง กันยายน 2555
- อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างโรคพืช เช่น กรรไกร คัตเตอร์ ถุงพลาสติก กระดาษหนังสือพิมพ์ กล่องเก็บความเย็น ปากกา กระดาษบันทึกข้อมูล
- เครื่องวัดพิกัด
- แผงไม้อัดตัวอย่างโรคพืช กระดาษฟางและกระดาษหนังสือพิมพ์
- วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเชื้อรา เช่น จานเลี้ยงเชื้อ หลอดแก้ว ฟอล์ค เข็มเขี่ย มีดโกน มีดผ่าตัด แผ่นแก้วสไลด์พร้อมแผ่นปิดสไลด์ ตะเกียงแอลกอฮอล์ และ cork boror
- สารเคมี ได้แก่ sodium hypochlorite shear's solution calcium carbonate (CaCO₃) และ oil immersion
- อาหารเลี้ยงเชื้อรา ได้แก่ Potato Dextrose Agar (PDA) half strength Potato Dextrose Agar (½ PDA) Potato Carrot Agar (PCA) V8-Juice agar (V8) Water Agar (WA) และ Czapek Agar (CZA)
- กล้องจุลทรรศน์ พร้อมกล้องถ่ายภาพ
- ตำราสำหรับใช้ในการจัดจำแนกรา *Alternaria* spp. และ *Stemphylium* spp.
- วัสดุ อุปกรณ์ในเรือนปลูกพืชทดลอง ได้แก่ เมล็ดพันธุ์พืช ดิน ปุ๋ย กระจก บัวรดน้ำ พลั่วมือ แผ่นเลเบล

วิธีการ

1. เก็บและรวบรวมตัวอย่างโรคพืช

เก็บตัวอย่างพืชที่แสดงอาการเป็นโรคซึ่งคาดว่าเกิดจากรา *Alternaria* spp. และ *Stemphylium* spp. จากแหล่งปลูกพืชในประเทศไทย โดยเลือกเก็บส่วนของพืชที่แสดงอาการของโรค ได้แก่ ใบ ดอก ผล กิ่ง และลำต้น ห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ ใส่ในถุงพลาสติก พร้อมแนบกระดาษบันทึกรายละเอียด ชื่อพืช สถานที่เก็บ วันที่เก็บ และลักษณะอาการของโรค บรรจุห่อตัวอย่างโรคพืชลงในกล่องเก็บความเย็น เพื่อนำมาจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุโรคในห้องปฏิบัติการ

2. ศึกษา และจำแนกชนิดของรา *Alternaria* spp. และ *Stemphylium* spp.

- ศึกษาลักษณะอาการของโรคและเชื้อสาเหตุโรคโดยตรงจากพืช

ศึกษาลักษณะอาการของโรคและเชื้อสาเหตุโรคโดยตรงจากพืชภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo microscope หรือ ทำ moist chamber บ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน เมื่อพบเชื้อราสร้างเส้นใยหรือ conidium นำมาตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยใช้เข็มเขี่ยส่วนของเชื้อ

รวางบนสไลด์ หรือใช้ใบมีดตัดขวางชิ้นส่วนพืช (cross section) ให้บาง ๆ และนำมาตรวจดูลักษณะต่าง ๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ compound microscope ถ่ายรูปและบันทึกลักษณะต่าง ๆ ของเชื้อ

- แยกเชื้อรา และเก็บเชื้อบริสุทธิ์

แยกเชื้อราโดยวิธี Tissue transplant โดยนำส่วนของพืชที่เป็นโรคมัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 0.5x0.5 มิลลิเมตร ให้คาบต่อส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แช่ในสารละลายโซเดียมไฮเพอร์คลอไรท์ 10 % เป็นเวลา 3-5 นาที ล้างในน้ำนิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อ แล้วนำไปวางบนอาหาร 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. และ *Stemphylium* spp. บริสุทธิ์ที่แยกได้ มาเลี้ยงบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน จากนั้นใช้ cork boror ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ตัดวงอาหารบริเวณส่วนปลายเส้นใยของเชื้อรา นำไปปลูกเชื้อบนพืชชนิดเดิม สำหรับกรรมวิธีเปรียบเทียบปลูกเชื้อด้วยชิ้นวงอาหาร PDA ที่ปราศจากเชื้อสาเหตุโรค เมื่อพืชเป็นโรคนำส่วนที่แสดงอาการเป็นโรคมามาแยกเชื้อบริสุทธิ์ตรวจดู 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. และ *Stemphylium* spp. สาเหตุโรคพืช

โดยเปรียบเทียบลักษณะของรา *Alternaria* spp. และ *Stemphylium* spp. ที่ศึกษากับเอกสารการจัดจำแนกร *Alternaria* spp. และ *Stemphylium* spp.

3. เก็บรักษาสายพันธุ์เชื้อรา

เชื้อราที่แยกได้เก็บรักษาไว้ใน Culture Collection ของกลุ่มวิจัยโรคพืช โดยเลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส

4. จัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืช

ตัวอย่างโรคพืชที่เก็บมาได้ ส่วนหนึ่งนำมาจัดทำตัวอย่างแห้ง โดยตัดส่วนของพืชบริเวณที่แสดงอาการโรค วางบนกระดาษฟาง พร้อมแนบกระดาษบันทึกข้อมูลพืช แล้วปิดทับด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ อัดทับด้วยแผ่นไม้อัดตัวอย่างโรคพืช นำไปวางผึ่งลม ไม่ให้ถูกแดด เปลี่ยนกระดาษทุกวัน

จนกระทั่งตัวอย่างพืชแห้ง จึงนำมาเก็บในถุงกระดาษสำหรับเก็บตัวอย่างแห้ง พร้อมลงรายละเอียด ข้อมูลตัวอย่างตามระบบสากล (Anonymous, 2005) ได้แก่ ชื่อพืช ลักษณะอาการโรค สถานที่เก็บ ชนิดของราสาเหตุโรคพืช วันที่เก็บ ชื่อผู้เก็บ และชื่อผู้จัดจำแนกชนิดรา เป็นต้น แล้วส่งเก็บใน พิพิธภัณฑตัวอย่างแห้งโรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

5. ศึกษาชีววิทยาของราสกุล *Alternaria* และ *Stemphylium*

- ศึกษาชนิดอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญและสร้างสปอร์ของเชื้อรา

นำเชื้อรา *A. brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดคะน้า *A. gomphrenae* สาเหตุโรคใบจุด บานไม่รู้โรย และ *Alternaria* sp. สาเหตุโรคใบจุดดาวเรือง บริสุทธิ์ที่แยกได้ มาเลี้ยงบนอาหาร ทดสอบ 7 ชนิด คือ PDA ½ PDA ½ PDA เต็ม CaCo3 PCA V8 WA และ CZA ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส จนกระทั่งเชื้อราเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ บันทึกการเจริญ และการสร้างสปอร์ของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2554 สิ้นสุด กันยายน 2555

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และแปลงปลูกพืชของ

เกษตรกร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. เก็บและรวบรวมตัวอย่างโรคพืช

สำรวจ และเก็บตัวอย่างโรคพืช ที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria* และ *Stemphylium* ในช่วง ตุลาคม 2554 ถึง กันยายน 2555 จากแปลงปลูกพืชในพื้นที่ 15 จังหวัด ได้ตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากรา *Alternaria* spp. และ *Stemphylium* sp. จำนวน 68 ตัวอย่าง บนพืช 13 ชนิด (ตารางที่ 1)

2. ศึกษา และจำแนกชนิดของรา *Alternaria* spp. และ *Stemphylium* sp.

นำรา *Alternaria* spp. และ *Stemphylium* sp. บริสุทธิ์ที่แยกได้ มาพิสูจน์โรคตามวิธีการ Koch's postulate โดยเลี้ยงบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน แล้วนำไปปลูกเชื้อบนพืชชนิดเดิม พบว่าพืชแสดงอาการโรค และเมื่อนำส่วนของพืชที่เป็นโรคมานำแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อยืนยันเชื้อสาเหตุ พบว่าเชื้อรา *Alternaria* spp. และ *Stemphylium* sp. ทั้ง 68 ไอโซเลท เป็นสาเหตุโรคพืช

นำเชื้อรา *Alternaria* spp. และ *Stemphylium* sp. จำนวน 68 ตัวอย่าง บริสุทธิ์ที่รวบรวมได้ มาจำแนกชนิดเบื้องต้น โดยศึกษาลักษณะอาการของโรคและเชื้อสาเหตุโรคโดยตรงจากพืช ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo microscope หรือ ทำ moist chamber บ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน เมื่อพบเชื้อราสร้างเส้นใยหรือ conidium นำมาตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า เกิดจาก *Alternaria* spp. จำนวน 65 ตัวอย่าง และ *Stemphylium* sp. จำนวน 3 ตัวอย่าง

และได้นำเชื้อ *Alternaria* ที่เป็นสาเหตุโรคใบจุดคะน้า โรคใบจุดสีม่วงของหอมแดง หอมหัวใหญ่ และกระเทียม โรคใบจุดของบานไม่รู้โรย โรคใบไหม้ของหอมแดง และหอมหัวใหญ่ มาศึกษาลักษณะทางสัณฐาน โดยศึกษาลักษณะโคโลนีของเชื้อบนอาหาร PDA และ รูปร่าง ลักษณะ ขนาด สี ของเส้นใย conidia conidiophore และโครงสร้างอื่นๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ได้ผลดังนี้ คือ โรคใบจุดคะน้าเกิดจาก รา *Alternaria brassicicola* โรคใบจุดสีม่วงของหอมแดง หอมหัวใหญ่ และกระเทียม เกิดจากรา *A. porri* โรคใบจุดของบานไม่รู้โรย เกิดจากรา *Alternaria gomphrenae* (Synonym : *Nimbya gomphrenae*) และ โรคใบไหม้ของหอมแดง และหอมหัวใหญ่ เกิดจากรา *Stemphylium vesicarium* (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ผลการสำรวจ เก็บตัวอย่าง และการจำแนกชนิดเชื้อราสาเหตุโรคพืช ที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria* และ *Stemphylium* ในช่วงตุลาคม 2554 ถึง กันยายน 2555

ลำดับที่	พืช	โรค	จำนวน ตัวอย่าง	เชื้อสาเหตุ	จังหวัด
1	คะน้า	โรคใบจุด	14	<i>A. brassicicola</i>	กาญจนบุรี เชียงราย เชียงใหม่
2	ผักกาดขาว	โรคใบจุด	4	<i>Alternaria</i> sp.	กาญจนบุรี แม่ฮ่องสอน
3	กวางตุ้ง	โรคใบจุด	3	<i>Alternaria</i> sp.	แม่ฮ่องสอน ประจวบคีรีขันธ์
4	ผักกาดแก้ว	โรคใบจุด	1	<i>Alternaria</i> sp.	แม่ฮ่องสอน
5	กะหล่ำดอก	โรคใบจุด	1	<i>Alternaria</i> sp.	แม่ฮ่องสอน
6	กะหล่ำปลี	โรคใบจุด	1	<i>Alternaria</i> sp.	เพชรบูรณ์
7	หอมแดง	โรคใบจุดสีม่วง	14	<i>A. porri</i>	แม่ฮ่องสอน เชียงใหม่ ศรีสะเกษ บุรีรัมย์
		โรคใบไหม้	1	<i>S. vesicarium</i>	กาญจนบุรี
8	หอมหัวใหญ่	โรคใบจุดสีม่วง	10	<i>A. porri</i>	เชียงใหม่ ลำพูน
		โรคใบไหม้	2	<i>S. vesicarium</i>	เชียงใหม่
9	กระเทียม	โรคใบจุดสีม่วง	6	<i>A. porri</i>	เชียงใหม่
10	ทานตะวัน	โรคใบไหม้	1	<i>Alternaria</i> sp.	ประจวบคีรีขันธ์
11	ดาวเรือง	โรคใบไหม้	7	<i>Alternaria</i> sp.	ประจวบคีรีขันธ์ ศรีสะเกษ บุรีรัมย์
12	บานไม่รู้โรย	โรคใบจุด	2	<i>A. gomphrenae</i>	สุราษฎร์ธานี บุรีรัมย์
13	มันฝรั่ง	โรคใบไหม้	1	<i>Alternaria</i> sp.	ตาก

3. เก็บรักษาสายพันธุ์เชื้อรา

เชื้อรา *Alternaria* spp. จำนวน 65 ไอโซเลท และ *S. vesicarium* จำนวน 3 ไอโซเลท เก็บเข้าสู่ศูนย์รวบรวมเชื้อราสาเหตุโรคพืช ของกลุ่มวิจัยโรคพืช โดยเลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ในตู้อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส โดยส่วนหนึ่งเก็บไว้เพื่อศึกษาต่อ

4. จัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืช

ได้จัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืชที่เกิดจากรา *Alternaria* spp. จำนวน 65 ตัวอย่าง และ *S. vesicarium* จำนวน 3 ตัวอย่าง เพื่อส่งเข้าพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช

5. ศึกษาชีววิทยาของราสกุล *Alternaria* และ *Stemphylium*

- ศึกษาชนิดอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญและสร้างสปอร์ของเชื้อรา

นำเชื้อรา *A. brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดคะน้า *A. gomphrenae* สาเหตุโรคใบจุดบานไม่รู้โรย และ *Alternaria* sp. สาเหตุโรคใบจุดดาวเรืองมาเลี้ยงบนอาหารทดสอบ 7 ชนิด คือ PDA 1/2 PDA 1/2 PDA เติม CaCo₃ PCA V8, WA และ CZA ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลา 9 วัน พบว่า *Alternaria* spp. ทั้ง 3 ชนิด เจริญได้ดีที่สุดบนอาหาร V8 รองลงมาได้แก่ PDA 1/2 PDA เติม CaCo₃ PCA 1/2 PDA WA และ CZA ตามลำดับ และสร้างสปอร์ได้ดีที่สุด บนอาหาร 1/2 PDA เติม CaCo₃ รองลงมา ได้แก่ 1/2 PDA WA PCA V8 PDA และ CZA ตามลำดับ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจ และเก็บตัวอย่างโรคพืช ที่เกิดจากรา *Alternaria* และ *Stemphylium* ในช่วง ตุลาคม 2554 ถึง กันยายน 2555 จากแปลงปลูกพืชในพื้นที่ 15 จังหวัด ได้ตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากรา *Alternaria* spp. และ *Stemphylium* sp. จำนวน 68 ตัวอย่าง บนพืช 13 ชนิด จากการจัดจำแนกชนิดเบื้องต้น พบว่าโรคใบจุดคะน้า เกิดจากรา *A. brassicicola* โรคใบจุดสีม่วงของหอมแดง หอมหัวใหญ่ และ กระเทียม เกิดจากรา *A. porri* โรคใบจุดของบานไม่รู้โรย เกิดจากรา *A. gomphrenae* โรคใบไหม้ของหอมแดง และหอมหัวใหญ่ เกิดจากเชื้อรา *S. vesicarium* เก็บเชื้อบริสุทธิ์ จำนวน 68 ไอโซเลท รวบรวมไว้ในศูนย์รวบรวมเชื้อราสาเหตุโรคพืช ของกลุ่มวิจัยโรคพืช รวมทั้งจัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืช พร้อมลงรายละเอียดข้อมูลตัวอย่าง เก็บในพิพิธภัณฑ์โรคพืช จำนวน 68 ตัวอย่าง และศึกษาชนิดอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญและสร้างสปอร์ของรา *A. brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดคะน้า *A. gomphrenae* สาเหตุโรคใบจุดบานไม่รู้โรย และ *Alternaria* sp. สาเหตุโรคใบจุดดาวเรือง พบว่า *Alternaria* spp. ทั้ง 3 ชนิด เจริญได้ดีที่สุดบนอาหาร V8 รองลงมาได้แก่ PDA 1/2 PDA เติม CaCo₃ PCA 1/2 PDA WA และ CZA ตามลำดับ และสร้างสปอร์ได้ดีที่สุด บนอาหาร 1/2 PDA เติม CaCo₃ รองลงมา ได้แก่ 1/2 PDA WA PCA V8 PDA และ CZA ตามลำดับ

เอกสารอ้างอิง

- กรรมธิการ์ लाखโรจน์ 2552. โรคใบจุดสีเทาของพริก. Available at <http://www.oard1.org/techniquetory/28052552/oksite1/Index4.htm> (Access date : August 24, 2009).
- นิตยา กั้นหลง. 2545. โรคสำคัญของพืชสกุลหอมและกระเทียมในประเทศไทย. เอกสารวิชาการกองโรคพืชและจุลชีววิทยา. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 96 หน้า
- พัฒนา สนธิรัตน์ วิรัช ชูบำรุง ประไพศรี พิทักษ์ไพรวรรณ และปิยะ เกียรติก้อง. 2526. เชื้อรา *Alternaria* ที่เป็นสาเหตุโรคใบจุดของพืชผักบางชนิด. *วารสารโรคพืช* ปีที่ 3 เล่มที่ 4. ต.ค.-ธ.ค. 2526. น. 154-167.
- พัฒนา สนธิรัตน์ ประไพศรี พิทักษ์ไพรวรรณ ธนวัฒน์ กำแพงฤทธิรงค์ 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
- de Jong , P.F. and B. Heijne 2009. Exclusion of of the inoculum Source of Brown spot (*Stemphylium vesicarium*). International Society for Horticultural Science. Available at http://www.pubhort.org/members/showdocument?booknrnrnr=800_113 (Access date : August 29, 2009).
- Gonsalves, A.K. and S.A. Ferreira. 2009. *Stemphylium* Primer. Available at http://www.extento.hawaii.edu/Kbase/crop/Type/stem_prim.htm (Access date : July 2, 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.
- Laemmlen, F. 2009. *Alternaria Diseases*. Publication 8040. Available at <http://ucanr.org/freepubs/docs/8040.pdf>. (Access date : August 24, 2009).
- Nish, N., T. Muta, Y. Ito, M. Nakamura and T. Tsukiboshi. 2009. Ray speck of chrysanthemum caused by *Stemphylium lycopersici* in Japan *Journal of*

General Plant Pathology Available at <http://www.citeulike.org/article/3617705>.
(Access date : August 24, 2009).

Takahito, S. 1973. Stemphylium leaf spot (*Stemphylium botryosum* Wallr.) on asparagus plants [in Japanese] *Annals of the Phytopathological Society of Japan* 39(4) : 364-366. Available at <http://ci.nii.ac.jp/naid/110002760797/en>
(Access date : August 30, 2009).

อนุกรมวิธานและชีววิทยาของราสกุล *Choanephora* สาเหตุโรคเน่าเปียก (Wet rot)

Taxonomic and Biological Study on *Choanephora*

Causal Agent of Wet Rot Disease

ธารทิพย์ ภาสบุตร

อภิรัชต์ สมฤทธิ์ ทศนาพร ทศคร

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

จากการเก็บตัวอย่างพืชที่เป็นโรค ในพื้นที่ 12 จังหวัด ได้แก่ กาญจนบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี ราชบุรี ลพบุรี เชียงใหม่ เชียงราย ตาก เพชรบูรณ์ อุบลราชธานี ชลบุรีและจันทบุรี ระหว่างเดือน พฤษภาคม ถึง สิงหาคม ของปีพ.ศ.2554 และพ.ศ.2555 ซึ่งเป็นช่วงที่มีการระบาดของโรค ได้ ตัวอย่างพืชที่เป็นโรคเน่าเปียก (wet rot) ทั้งหมดจำนวน 28 ตัวอย่าง พืช 11 ชนิด ได้แก่ พริก 10 ตัวอย่าง มะเขือเปราะ 2 ตัวอย่าง ถั่วพู 1 ตัวอย่าง ถั่วฝักยาว 2 ตัวอย่าง โทงเทง (วัชพืช) 2 ตัวอย่าง ผักโขม(วัชพืช) 2 ตัวอย่าง ถั่วลันเตา 3 ตัวอย่าง คენห่า 2 ตัวอย่าง ขบ่า 1 ตัวอย่าง มะเขือยาว 1 ตัวอย่าง ฟักทอง 2 ตัวอย่าง จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานและจำแนกชนิดรา *Choanephora* sp. สาเหตุโรค จำแนกได้เป็นรา *Choanephora cucurbitarum* (Berk. & Rav.) Thaxt. ซึ่งรานี้ สร้าง conidiophore มีลักษณะตั้งตรง ที่ปลายก้านขยายโป่งออกเรียกว่า primary vesicle รอบๆ primary vesicle จะมีก้านสั้นๆ ที่ปลายก้านเหล่านี้มีลักษณะโป่งกลมเรียกว่า secondary vesicle สร้าง conidium รูปร่างยาวรี หัวท้ายเรียวแหลม ตรงกลางโป่งออก (ellipsoid) สีน้ำตาล เซลล์เดี่ยว บนผนังมีเส้นขีดตามแนวยาว ที่ปลาย conidium ด้านที่ติดบน vesicle มีติ่งสั้นๆ (papilla) ไม่มีสี *Ch. cucurbitarum* สร้าง columellate sporangium บนก้าน sporangiophore ปลายโป่งเป็น colummella ลักษณะกลม sporangium มีสีน้ำตาล รูปร่างกลม ภายในมี sporangiospore จำนวน มาก รูปร่างยาวรี หัวท้ายเรียวแหลม ตรงกลางโป่งออก สีน้ำตาล เซลล์เดี่ยวบนผนังมีเส้นขีดตามแนว ยาว ปลายทั้งสองข้างมี appendage หลายเส้น การเจริญของเส้นใยรา *Ch. cucurbitarum* บน อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA, Half PDA, PCA, CA และ MEA ที่อุณหภูมิ 20 25 และ 30 องศาเซลเซียส พบว่าเส้นใยรา *Ch. cucurbitarum* มีลักษณะฟูสูงขึ้นจากผิวอาหาร

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-02-03-54

แต่มีบางส่วนที่เจริญแบนราบไปกับผิวอาหาร เมื่อมีอายุได้ 1 วัน เส้นใยยังไม่มีโครงสร้างโคนิเดียม เมื่อโคโลนีมีอายุได้ 2 วัน และเห็นเป็นจุดๆของ sporangium และ conidium เมื่อโคโลนีมีอายุได้ 4-5 วัน เส้นใยจะมีลักษณะเหนียวและยุบเมื่อถูกสัมผัส ที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส เส้นใยรา *Ch. cucurbitarum* เจริญอย่างรวดเร็วเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 2 วัน ที่อุณหภูมิ 20 และ 25 องศาเซลเซียส บนอาหาร PDA และ Half PDA เส้นใยรา *Ch. cucurbitarum* สร้าง conidium ได้มากกว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

คำนำ

โรคเน่าเปียก (wet rot) หรือโรคยอดและดอกเน่าของพืชที่เกิดจากราสกุล *Choanephora* เป็นโรคซึ่งระบาดทำความเสียหายแก่พืชเศรษฐกิจหลายชนิด เช่น หน่อไม้ฝรั่ง ถั่วลันเตา พริก กระจับเขียว 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 ซึ่งเกิดแยกกัน 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 แยกออกไปโดยรอบหลายก้าน 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 การเกิดและการ

ระบาดของโรค รวมทั้งแหล่งแพร่กระจายของราที่เป็นข้อมูลปัจจุบัน ซึ่งข้อมูลดังกล่าวเป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญสำหรับงานด้านอารักขาพืช เพื่อการศึกษาวิจัยในด้านต่างๆ เช่น การทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการป้องกันกำจัดโรคเน่าเปียกของพืชชนิดต่างๆ การศึกษาทางด้านอนุชีววิทยาและการศึกษาการสร้างสารทุติยภูมิของเชื้อรา เป็นต้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างพืชเป็นโรคที่คาดว่าเกิดจากเชื้อรา *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
6. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง ตู้อึ่งเชื้อ กล้องถ่ายภาพ
7. ตำราสำหรับใช้ในการจัดจำแนกชนิดรา *Choanephora* sp.

วิธีการ

1. สืบค้นข้อมูล

สืบค้นข้อมูลโรคเน่าเปียกหรือโรคยอดและดอกเน่าที่เกิดจากรา *Choanephora* sp. ของพืชในประเทศไทยจากเอกสารต่าง ๆ หรือจากข้อมูลอิเล็กทรอนิกส์

2. สรรวจรวบรวมเก็บตัวอย่างพืชเป็นโรคและศึกษาลักษณะอาการ

เก็บตัวอย่างพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจและวัชพืช ที่แสดงอาการของโรคที่คาดว่าเกิดจากเชื้อรา *Choanephora* sp. จากแหล่งปลูกพืชในประเทศไทย โดยเลือกเก็บส่วนของพืชที่แสดงอาการของโรคห่อตัวอย่างพืชที่เก็บมาด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ ใส่ในถุงพลาสติก พร้อมแนบกระดาษบันทึกรายละเอียด ชื่อพืช สถานที่เก็บ วันที่เก็บ เพื่อนำตัวอย่างพืชที่ได้มาศึกษาลักษณะอาการและจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุโรคในห้องปฏิบัติการ

3. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานของราสาเหตุโรคจากตัวอย่างพืชเป็นโรคโดยตรง

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานของราโดยตรงจากชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรคภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo โดยใช้เข็มเขี่ยย้าย fruiting body ที่เชื้อราสร้างขึ้น วางลงบนแผ่นกระจกสไลด์ แล้วหยด lactophenol ปิดด้วยแผ่นปิดสไลด์ ตรวจสอบดูลักษณะทางสัณฐานของเส้นใยและโครงสร้างต่างๆ ภายใต

กล้องจุลทรรศน์ ด้วยกำลังขยาย 400 และ 1,000 เท่า วัดขนาดเส้นใย และโครงสร้างอื่นๆ ที่สำคัญโดยใช้ calibrated micrometer แล้วตรวจเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ศึกษาลักษณะทางสัณฐานของเชื้อรา จัดจำแนกชนิดเชื้อรา *Choanephora* sp. สาเหตุโรคพืชโดยเปรียบเทียบลักษณะของรา *Choanephora* sp. ที่ศึกษากับคู่มือการจัดจำแนกรรา *Choanephora* sp.

จากนั้นแยกเชื้อราโดยใช้เข็มเขี่ยย้าย fruiting body ของเชื้อรามาวางบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ จากนั้นนำเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้เลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ศึกษาต่อไป

4. ศึกษาสาเหตุโรคโดยวิธีแยกเชื้อจากเนื้อเยื่อพืชเป็นโรค (Tissue transplant)

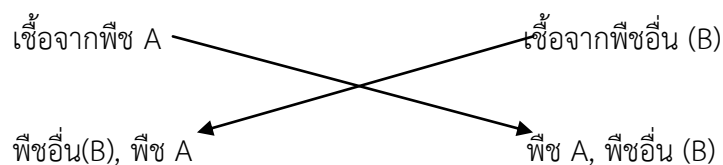
แยกเชื้อราโดยนำส่วนของพืชที่เป็นโรคมามาตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 0.5x0.5 มิลลิเมตร ให้ได้รอยต่อของส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แخذในสารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ 10 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 3 นาที ล้างในน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อ แล้วนำไปวางบนอาหาร water agar ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน ตรวจดูเส้นใยราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ ตัด hyphal tip ของราที่เจริญออกมาจากชิ้นตัวอย่างพืช ย้ายไปวางบนอาหาร PDA เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นนำเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้เลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาต่อไป

5. ศึกษาอาหารเลี้ยงเชื้อและอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญของรา *Choanephora* sp.

นำเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้และจำแนกชนิดแล้วมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 5 ชนิด ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ นำไปวางในตู้ควบคุมอุณหภูมิ ที่ระดับอุณหภูมิ 20 25 และ 30 องศาเซลเซียส วางแผนการทดลองแบบ CRD กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ตรวจผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีในแนวราบทุกวัน จนกว่าเชื้อราจะเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อ

6. ศึกษาชนิดพืชอาศัยของรา *Choanephora* sp.

โดยการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคของพืชชนิดหนึ่งไปยังพืชทดสอบอีกชนิดหนึ่ง (cross inoculation) ดังแผนผัง



การเตรียมรา *Choanephora* sp.

เตรียมสารแขวนลอยสปอร์โดย นำรา *Choanephora* spp. ที่แยกได้จากพืชเศรษฐกิจที่สำคัญมาเลี้ยงบนอาหารที่ทดสอบแล้วว่ารามีการเจริญและสร้างสปอร์ดี ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นล้างสปอร์บนผิวหน้าอาหารด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว นำมารวมกัน แล้วนำไป

เขย่าด้วยเครื่องเขย่าความเร็ว 100 รอบต่อนาที นาน 20 นาที เพื่อให้สปอร์กระจายออกจากกันอย่างสม่ำเสมอ ตรวจสอบนับสปอร์ด้วย haemocytometer

การปลูกเชื้อลงบนต้นพืชทดสอบ

ปลูกพืชชนิดต่างๆ ที่จะใช้ทดสอบในกระถาง เมื่อพืชมีอายุประมาณ 3 สัปดาห์ นำสารแขวนลอยสปอร์รา *Choanephora* sp. ที่เตรียมไว้ พ่นลงบนพืชทดสอบ คลุมด้วยถุงพลาสติกใส เพื่อให้พืชได้รับความชื้นสูง หลังจากนั้น 24 ชั่วโมง เปิดถุงพลาสติก ตรวจสอบผลการเกิดโรคหลังจากปลูกเชื้อ 5-7 วัน แล้วทำการแยกเชื้ออีกครั้งหนึ่งและตรวจสอบว่าเป็นเชื้อชนิดเดียวกันหรือไม่ โดยประเมินระดับความรุนแรงของโรค เป็น 5 ระดับ

ระดับ 1 พืชไม่แสดงอาการเป็นโรค

ระดับ 2 พืชแสดงอาการเป็นโรค 1-10 เปอร์เซ็นต์

ระดับ 3 พืชแสดงอาการเป็นโรค 11-25 เปอร์เซ็นต์ และมีสปอร์ของราอยู่บ้าง

ระดับ 4 พืชแสดงอาการเป็นโรค 26-50 เปอร์เซ็นต์ และมีสปอร์ของราทั้งสปอร์แก่และสปอร์อ่อน

ระดับ 5 พืชแสดงอาการเป็นโรคมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ และมีสปอร์แก่สีน้ำตาลเข้ม ลักษณะแผลชำจันยุบหรือยอดหักพับ

การปลูกเชื้อลงบนผลของพืชทดสอบ

นำผลของพืชที่ทดสอบมาพืชละ 10 ผล นำราที่เตรียมไว้ มาปลูกเชื้อลงบนผลของพืช โดยวิธีทำแผล นำผลพืชที่ทดสอบไปไว้ที่ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ตรวจสอบผลการเกิดโรคหลังจากปลูกเชื้อ ทุกวัน จนครบ 10 วัน ประเมินระดับความรุนแรงของโรค

ระดับ 1 พืชไม่แสดงอาการเป็นโรค

ระดับ 2 พืชแสดงอาการเป็นโรค 1-10 เปอร์เซ็นต์

ระดับ 3 พืชแสดงอาการเป็นโรค 11-25 เปอร์เซ็นต์ และมีสปอร์ของราอยู่บ้าง

ระดับ 4 พืชแสดงอาการเป็นโรค 26-50 เปอร์เซ็นต์ และมีสปอร์ของราทั้งสปอร์แก่และสปอร์อ่อน

ระดับ 5 พืชแสดงอาการเป็นโรคมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ และมีสปอร์แก่สีน้ำตาลเข้ม ลักษณะแผลชำจันยุบและมีขนาดใหญ่

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มต้น เดือน ตุลาคม พ.ศ. 2553

สิ้นสุด เดือน กันยายน พ.ศ. 2556

สถานที่ทำการทดลอง แปลงปลูกพืชของเกษตรกร

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการเก็บตัวอย่างพืชที่เป็นโรค ในพื้นที่ 12 จังหวัด ได้แก่ กาญจนบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี ราชบุรี ลพบุรี เชียงใหม่ เชียงราย ตาก เพชรบูรณ์ อุบลราชธานี ชลบุรีและจันทบุรี ระหว่างเดือน พฤษภาคม ถึง สิงหาคม ของปีพ.ศ.2554 และพ.ศ.2555 ซึ่งเป็นช่วงที่มีการระบาดของโรค ได้ ตัวอย่างพืชที่เป็นโรคน้ำเปือก (wet rot) ทั้งหมดจำนวน 28 ตัวอย่าง พืช 11 ชนิด ได้แก่ พริก 10 ตัวอย่าง มะเขือเปราะ 2 ตัวอย่าง ถั่วพู 1 ตัวอย่าง ถั่วฝักยาว 2 ตัวอย่าง โทงเทง (วักพืช) 2 ตัวอย่าง ผักโขม(วักพืช) 2 ตัวอย่าง ถั่วลันเตา 3 ตัวอย่าง คენห่า 2 ตัวอย่าง ขบา 1 ตัวอย่าง มะเขือยาว 1 ตัวอย่าง ฟักทอง 2 ตัวอย่าง จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานและจำแนกชนิดรา *Choanephora* sp. สาเหตุโรค จำแนกได้เป็นรา *Choanephora cucurbitarum* (Berk. & Rav.) Thaxt. ซึ่งรานี้ สร้าง conidiophore มีลักษณะตั้งตรง ที่ปลายก้านขยายไปออกเรียกว่า primary vesicle รอบๆ primary vesicle จะมีก้านสั้นๆ ที่ปลายก้านเหล่านี้มีลักษณะโป่งกลมเรียกว่า secondary vesicle สร้าง conidium รูปร่างยาวรี หัวท้ายเรียวแหลม ตรงกลางโป่งออก (ellipsoid) สีน้ำตาล เซลล์เดี่ยว บนผนังมีเส้นขีดตามแนวยาว ที่ปลาย conidium ด้านที่ติดบน vesicle มีติ่งสั้นๆ (papilla) ไม่มีสี *Ch. cucurbitarum* สร้าง columellate sporangium บนก้าน sporangiophore ปลายโป่งเป็น colummella ลักษณะกลม sporangium มีสีน้ำตาล รูปร่างกลม ภายในมี sporangiospore จำนวนมาก รูปร่างยาวรี หัวท้ายเรียวแหลม ตรงกลางโป่งออก สีน้ำตาล เซลล์เดี่ยวบนผนังมีเส้นขีดตามแนวยาว ปลายทั้งสองข้างมี appendage หลายเส้น ผลการศึกษาอาหารเลี้ยงเชื้อและอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญของรา *Choanephora* sp. พบว่า บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA, Half PDA, PCA, CA และ MEA ที่อุณหภูมิ 20 25 และ 30 องศาเซลเซียส เส้นใยรา *Ch. cucurbitarum* เจริญในลักษณะฟู สูงขึ้นจากผิวอาหาร แต่มีบางส่วนที่เจริญแบนราบไปกับผิวอาหาร เมื่อมีอายุได้ 1 วัน เส้นใยยังไม่มีการสร้างโคนิเดีย เมื่อโคโลนีมีอายุได้ 2 วัน และเห็นเป็นจุดๆของ sporangium และ conidium เมื่อโคโลนีมีอายุได้ 4-5 วัน เส้นใยจะมีลักษณะเหนียวและยุบเมื่อถูกสัมผัส ที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส เส้นใยรา *Ch. cucurbitarum* เจริญอย่างรวดเร็วเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 2 วัน ที่อุณหภูมิ 20 และ 25 องศาเซลเซียส บนอาหาร PDA และ Half PDA เส้นใยรา *Ch. cucurbitarum* สร้าง conidium ได้มากกว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (ตารางที่1)

งานที่จะดำเนินการต่อไป คือ การศึกษาชนิดพืชอาศัยของรา *Ch. cucurbitarum* ซึ่งขณะนี้ กำลังปลูกพืชที่จะต้องใช้ทดสอบและเตรียมรา *Ch. cucurbitarum*

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของรา *Choanephora cucurbitarum* สาเหตุโรคเน่าเปียก บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA, half PDA, PCA, CA และ MEA ที่อุณหภูมิ 20 25 และ 30 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	อายุเชื้อ (วัน)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (ซม.)				
		PDA	Half PDA	PCA	CA	MEA
20	1	5.21	4.90	3.84	3.99	3.76
	2	8.56	7.47	7.17	7.65	7.33
25	1	7.52	5.27	5.40	5.71	4.60
	2	9.00	7.22	9.00	9.00	9.00
30	1	8.15	5.52	5.68	6.50	5.65
	2	9.00	9.00	9.00	9.00	9.00

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ได้ตัวอย่างพืชที่เป็นโรคเน่าเปียก (wet rot) ระหว่างเดือน พฤษภาคม ถึง สิงหาคม ของปี พ.ศ.2554 และ พ.ศ.2555 ซึ่งเป็นช่วงที่มีการระบาดของโรคทั้งหมดจำนวน 28 ตัวอย่าง บนพืช 11 ชนิด ในพื้นที่ 12 จังหวัด ได้แก่ กาญจนบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี ราชบุรี ลพบุรี เชียงใหม่ เชียงราย ตาก เพชรบูรณ์ อุบลราชธานี ชลบุรีและจันทบุรี จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานและจำแนกชนิดรา *Choanephora* sp. สาเหตุโรค จำแนกได้เป็นรา *Choanephora cucurbitarum* (Berk. & Rav.) Thaxt. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA, Half PDA, PCA, CA และ MEA ที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส เส้นใยรา *Ch. cucurbitarum* เจริญอย่างรวดเร็วเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 2 วัน ที่อุณหภูมิ 20 และ 25 องศาเซลเซียส บนอาหาร PDA และ Half PDA เส้นใยรา *Ch. cucurbitarum* สร้าง conidium ได้มากกว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

-

คำขอบคุณ

เอกสารอ้างอิง

- วิจัย รักรักษาศาสตร์. 2546. ราวิทยาเบื้องต้น. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม. 351 หน้า
- ศศิธร วุฒินิชย์. 2545. โรคของผักและการควบคุมโรค. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 182 หน้า

การจำแนกชนิดของราสกุล *Botryosphaeria* สาเหตุโรคพืช
โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะทางพันธุกรรม
Identification of *Botryosphaeria* Plant Pathogenic Fungi Using
Morphological and Molecular Characteristics

พรพิมล อธิปัญญาคม สุณีรัตน์ สิมะเดื่อ และ ชนินทร ดวงสอาด
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ผลการรวบรวมและเก็บตัวอย่างสาเหตุโรคพืชที่เกิดจากรา *Botryosphaeria* ได้ตัวอย่างโรคพืชทั้งหมด 26 ตัวอย่าง จากพืชทั้งหมด 6 ชนิด ในจังหวัดกำแพงเพชร กรุงเทพฯ จันทบุรี ฉะเชิงเทรา เชียงใหม่ ชลบุรี นครปฐม นครราชสีมา เพชรบุรี ปทุมธานี ประจวบคีรีขันธ์ ระยอง ราชบุรี สกลนคร สมุทรปราการ สมุทรสาคร สมุทรสงคราม และ สุโขทัย ผลจากการศึกษาแยกเราได้ทั้งหมดจำนวน 37 ไอโซเลท และจำแนกชนิดเชื้อโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำแนกได้รา *Lasiodiplodia theobromae* จากมังคุด (2 ไอโซเลท) องุ่น (2 ไอโซเลท) มะม่วง (4 ไอโซเลท) กล้วย (4 ไอโซเลท) และมะเมี (1 ไอโซเลท), *Dothiorella mangiferae* จากมะม่วง (4 ไอโซเลท) และ *Botryosphaeria* จากกิง (15 ไอโซเลท) และผลแก้วมังกร (5 ไอโซเลท) (ตารางที่ 1) แยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และสกัด DNA ของรา *Botryosphaeria* จำนวน 10 ไอโซเลท เก็บรักษา DNA ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษาการจำแนกชนิดของเชื้อในระดับ species และศึกษาความสัมพันธ์ทาง พันธุกรรมของเชื้อต่อไป และจัดเก็บตัวอย่างแห่งโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืชที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช ตึกอภิศรีกสิการ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-02-04-54

คำนำ

ราสกุล *Botryosphaeria* Ces. And De Npt พบแพร่กระจายอยู่ทั่วไป มักพบเป็นสาเหตุโรคแคงเกอร์ของพืชที่เป็นไม้เนื้อแข็ง ราเข้าทำลายพืชทางผลจากการตัดแต่งกิ่งและทางเนื้อเยื่อที่ถูกทำลาย แต่ราก็สามารถเข้าทำลายพืชโดยตรงทางกลุ่มเซลล์ของพืชและพักตัวอยู่ที่ส่วนของตา บางครั้งมักพบว่ารามีลักษณะเป็นเอ็นโดไฟท์โดยไม่แสดงอาการบนเนื้อเยื่อพืช (Smith *et al.*, 1996) รากลุ่มนี้ก่อให้เกิดโรคพืชที่สำคัญของพืชหลายชนิด ได้แก่ พืชวงศ์แอบเปิ้ล ไม้ผลชนิดเมล็ดแข็ง สาเหตุโรคผลเน่า ใบจุดตากบ โรคแคงเกอร์บนลำต้นและกิ่ง 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 ถุงพลาสติก 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 solution
5. สารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ : สารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ แอซิดแอลกอฮอล์ 75%

6. อาหารวุ้นสังเคราะห์ corn meal agar (CMA), potato dextrose agar (PDA)
7. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ ขวดดูแรน ปีกเกอร์ เป็นต้น
8. วัสดุอุปกรณ์อื่นๆ ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อ หม้อนึ่งความดัน ตู้อบฆ่าเชื้อเครื่องแก้ว เป็นต้น
9. กล้องจุลทรรศน์ compound microscope และ stereo microscope พร้อมกล้องถ่ายรูปและ camera lucida สำหรับวาดภาพจากกล้องจุลทรรศน์

วิธีการ

1. เก็บรวบรวมตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากรา *Botryosphaeria*

เก็บตัวอย่างโรคพืชจากส่วนของใบ ดอก ผล กิ่ง ลำต้น และรากของพืช จากแหล่งปลูกพืชต่าง ๆ บันทึกรายละเอียด ชนิดพืช แหล่งที่เก็บ วันที่เก็บ และลักษณะอาการของโรค ห่อตัวอย่างพืชด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ ใส่ในถุงพลาสติก บรรจุห่อตัวอย่างลงในกล่องเก็บความเย็น เพื่อนำมาทำศึกษาชนิดและแยกเชื้อสาเหตุในห้องปฏิบัติการ และจัดเก็บตัวอย่างแห้งของพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช ตีพิมพ์คสรึกสิการ 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 ของร่าภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound

ถ้าไม่พบสปอร์ของร่าบนชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรคหลังจากตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และเมื่อเขี่ยเชื้อดูแล้ว ไม่พบร่าบนชิ้นส่วนพืชให้ทำ moist chamber โดยนำตัวอย่างพืชมาบ่มไว้ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว วางชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรคไว้บนกระดาษกรองที่หนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว และหยดน้ำที่ฆ่าเชื้อแล้วบนกระดาษกรองเพื่อให้ความชื้น บ่มไว้ในอุณหภูมิห้องปฏิบัติการ นาน 3-7 วัน ใช้เข็มปลายแหลมเขี่ยร่าที่เจริญอยู่บนชิ้นส่วนพืชมาตรวจดูใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound บันทึกลักษณะต่าง ๆ วัดขนาดส่วนต่าง ๆ ของร่าและถ่ายภาพจากกล้องจุลทรรศน์

2.2 การศึกษาเชื้อสาเหตุโดยวิธีแยกเชื้อจากเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรค (Tissue transplanting)

ตัดตัวอย่างพืชที่เป็นโรควัสดุที่เป็นรอยต่อของส่วนที่เป็นโรคและส่วนปกติขนาดประมาณ 2x2 มิลลิเมตร ทำการฆ่าเชื้อที่ผิวพืช โดยแช่ชิ้นส่วนพืชลงในสารละลายคลอรีน 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) เก็บไว้ในที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ จนเชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และนำไปศึกษารายละเอียดของราเพื่อการจำแนกชนิดของราต่อไป เก็บรักษาสายพันธุ์ราไว้ในอุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส

2.3 ศึกษาลักษณะของเชื้อบนอาหารชนิดต่าง ๆ

นำรา *Botryosphaeria* ที่แยกได้มาเลี้ยงบนอาหาร ½ Potato Dextrose Agar, Potato Dextrose Agar, Malt Extract Agar, Corn Meal Agar, Oat meal agar หรือ water agar โดยบันทึกลักษณะต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

บันทึกอัตราการเจริญของเชื้อบนอาหารชนิดต่าง 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 และถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Scanning Electron Microscope)

4. เก็บรักษาสายพันธุ์ราและตัวอย่างแห้ง

เก็บรักษาราดที่แยกได้ไว้ในที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และเก็บรักษาไว้ใน Culture Collection และเก็บตัวอย่างแห้งโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช ตึกอภิศรีศรีการ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

5. การพิสูจน์การเกิดโรค

ทำการพิสูจน์การเกิดโรค โดยทำการปลูกเชื้อส่วนของพืช โดยทำแผลและไม่ทำแผลอย่างละ 10 ซ้ำ เปรียบเทียบกับการเกิดโรคบนส่วนที่ไม่ปลูกเชื้อด้วยวิธีเดียวกัน แยกเชื้อสาเหตุจากต้นที่แสดงอาการโรค เปรียบเทียบชนิดของราสาเหตุโรคใช้ในการปลูกเชื้อ

6. การศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของรา *Botryosphaeria*

6.1 การเตรียมรา *Botryosphaeria*

เลี้ยงรา *Botryosphaeria* บนอาหาร MEA (Malt extract agar) นาน 7-10 วัน หลังจากนั้นใช้เข็มเขี่ยเอาเส้นใยของรามาล้างในอาหารเหลว PDB (Potato dextrose broth) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ใน flask 250 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ นาน 7 วัน หลังจากนั้นนำราในอาหารเหลวมากรองด้วยกระดาษกรองนึ่งฆ่าเชื้อ และ

ทำให้แห้งด้วยการดูดอากาศออกด้วยเครื่องดูดสูญญากาศ 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 โดยใช้ไพรเมอร์ 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 โดยใช้คู่ไพรเมอร์ ITS1 และ ITS4 ด้วยวิธี PCR ประกอบด้วยส่วนผสมดังนี้

10X PCR buffer	6 ไมโครลิตร
25 mM MgCl ₂	3 ไมโครลิตร
10 mM dNTP	1 ไมโครลิตร
ไพรเมอร์ ITS1 (50 พิโคโมล / ไมโครลิตร)	1 ไมโครลิตร
ไพรเมอร์ ITS4 (50 พิโคโมล / ไมโครลิตร)	1 ไมโครลิตร
Taq DNA Polymerase (5 ยูนิต / ไมโครลิตร)	0.25 ไมโครลิตร
น้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ	28.75 ไมโครลิตร
สารละลาย DNA (50 นาโนกรัม / ไมโครลิตร)	10 ไมโครลิตร
รวมปริมาตร	50 ไมโครลิตร

- ส่วนของ β -tubulin นั้นเพิ่มปริมาณโดยใช้คู่ไพรเมอร์ 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 26 ตัวอย่าง จากพืชทั้งหมด 6 ชนิด ในจังหวัดกำแพงเพชร กรุงเทพฯ จันทบุรี ฉะเชิงเทรา เชียงใหม่ ชลบุรี นครปฐม นครราชสีมา เพชรบุรี ปทุมธานี ประจวบคีรีขันธ์ ระยอง ราชบุรี สกลนคร สมุทรปราการ สมุทรสาคร สมุทรสงคราม และ สุโขทัย ตัวอย่างโรคพืชที่รวบรวมได้ทั้งหมดนำมาศึกษาในห้องปฏิบัติการโดยการศึกษาจากเนื้อเยื่อพืชโดยตรง การทำ moist chamber และโดยวิธีการแยกราจากเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรค

แก้วมังกร	กิ่ง (ลำต้นจุด)	จันทบุรี ราชบุรี สมุทรสาคร สมุทรสงคราม ระยอง สมุทรปราการ กรุงเทพฯ นครราชสีมา เชียงใหม่ นครปฐม
แก้วมังกร	ผล (ผลเน่า)	จันทบุรี ราชบุรี สมุทรสาคร ปทุมธานี
มังคุด	ผล (ผลเน่า)	จันทบุรี
องุ่น	ลำต้น (ต้นเหี่ยว)	ประจวบคีรีขันธ์ นครราชสีมา
มะม่วง	ลำต้น (อาการยางไหล)	นครราชสีมา จันทบุรี ชลบุรี ฉะเชิงเทรา
มะม่วง	ผล (ขั้วผลเน่า)	ฉะเชิงเทรา จันทบุรี ระยอง ฉะเชิงเทรา
กล้วย	ผล (ขั้วผลเน่า)	สุโขทัย กำแพงเพชร เพชรบุรี ปทุมธานี
มะเเฒ่า	ลำต้น (อาการยางไหล)	สกลนคร

2. การศึกษาราก *Botryosphaeria* จากส่วนที่เป็นโรค และการจำแนกชนิด

ผลจากการศึกษาแยกรากได้ทั้งหมด 37 ไอโซเลท และจำแนกชนิดเชื้อโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำแนกได้รา *Lasiodiplodia theobromae* จากมังคุด (2 ไอโซเลท) องุ่น (2 ไอโซเลท) มะม่วง (4 ไอโซเลท) กล้วย (4 ไอโซเลท) และมะเฒ่า (1 ไอโซเลท), *Dothiorella mangiferae* จากมะม่วง (4 ไอโซเลท) และ *Botryosphaeria* จากกิ่ง (15 ไอโซเลท) และผลแก้วมังกร (5 ไอโซเลท) (ตารางที่ 1) แยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษาการจำแนกชนิดของเชื้อในระดับ species และศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อต่อไป และตัวอย่างแห้งโรครากพืชเก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์โรคพืชที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช ตึกอภิศรีศรีการ

3. การสกัด DNA จากเส้นใยของรา

จากการนำเส้นใยของรา *Botryosphaeria* จำนวน 10 ไอโซเลท มาสกัด DNA โดยวิธีการที่ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Crous *et al.* (2000) เมื่อทำการตรวจสอบปริมาณ DNA ด้วยวิธีการ agarose gel electrophoresis พบว่าทุกไอโซเลทของราปรากฏแถบ DNA ชัดเจน โดยเปรียบเทียบกับแถบ DNA มาตรฐาน เก็บรักษา DNA ที่สกัดได้ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำมาเพิ่มปริมาณและศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมเปรียบเทียบกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลการรวบรวมและเก็บตัวอย่างสาเหตุโรคพืชที่เกิดจากราก *Botryosphaeria* ได้ตัวอย่างโรครากพืชทั้งหมด 26 ตัวอย่าง จากพืชทั้งหมด 6 ชนิด ผลจากการศึกษาแยกรากได้ทั้งหมดจำนวน 37 ไอโซเลท และจำแนกชนิดเชื้อโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำแนกได้รา *Lasiodiplodia theobromae* จากมังคุด (2 ไอโซเลท) องุ่น (2 ไอโซเลท) มะม่วง (4 ไอโซเลท) กล้วย (4 ไอโซเลท) และมะเฒ่า (1 ไอโซเลท), *Dothiorella mangiferae* จากมะม่วง (4 ไอโซเลท) และ *Botryosphaeria* จากกิ่ง (15 ไอโซเลท) และผลแก้วมังกร (5 ไอโซเลท) (ตารางที่ 1) แยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และสกัด DNA ของรา *Botryosphaeria* จำนวน 10 ไอโซเลท เก็บรักษา DNA ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษาการจำแนกชนิดของเชื้อในระดับ species และศึกษาความสัมพันธ์ทาง พันธุกรรมของเชื้อต่อไป และจัดเก็บตัวอย่างแห้งโรครากพืชไว้ที่พิพิธภัณฑ์โรคพืชที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช ตึกอภิศรีศรีการ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

เอกสารอ้างอิง

- Britton, KO., FF. Hendrik, PL. Pusey, Okie WR., Reilly, and JW. Daniell. 1990. Evaluating the reaction of peach cultivars to infection by three *Botryosphaeria* 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: ชนิดของเชื้อสาเหตุโรคนบนพืชอาศัยต่าง ๆ ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 – เดือนกันยายน 2555

ชนิดของเชื้อ	พืช	ส่วนของพืชที่เป็นโรค
<i>Botryosphaeria</i>	แก้วมังกร	กิ่ง (ลำต้นจุด)
<i>Botryosphaeria</i>	แก้วมังกร	ผล (ผลเน่า)
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	มังคุด	ผล (ผลเน่า)
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	องุ่น	ลำต้น (ต้นเหี่ยว)
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	มะม่วง	ลำต้น (อาการยางไหล)
<i>Dothiorella mangiferae</i>	มะม่วง	ผล (ขั้วผลเน่า)
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	กล้วย	ผล (ขั้วผลเน่า)
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	มะเเฒ่า	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 ภูไพบูลย์^{1/} ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี^{2/} พีระวรรณ พัฒนวิภาส^{2/}

^{1/}ผู้เชี่ยวชาญ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/}กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ได้เก็บรวบรวมตัวอย่างโรคเหี่ยวของพริก ระหว่าง เดือนตุลาคม 2553 - เดือนกันยายน 2555 จาก จังหวัดเชียงใหม่ ลำปาง ลำพูน เพชรบูรณ์ ตากและศรีสะเกษ เพื่อศึกษาชีววิทยาและนิเวศวิทยาของรา *Phytophthora capsici* พบโรครากเน่าโคนเน่าพริกหวานหรือพริกยักษ์ โรครากเน่าโคนเน่าพริกชี้หู โรครากเน่าโคนเน่ามะเขือยาว โรครากเน่าโคนเน่าพริกชี้หู และโรครากเน่าโคนเน่าพริกหนุ่ม เมื่อแยกเชื้อบริสุทธิ์ได้รา *Phytophthora* sp. จำนวน 14 ไอโซเลท ราทำให้พืชแสดงอาการเหี่ยวทั้งต้น ตั้งแต่ยอด ใบ และผล รากและโคนต้นถูกทำลาย เกิดอาการรากเน่า โคนเน่า และทำให้เกิดอาการเน่าคอดิน ราสร้างเส้นใยที่เจริญได้ดีบนอาหารวุ้นแครอท และ สร้างสปอร์จำนวนมากบนอาหารแข็ง เมื่อสปอร์มีอายุมากขึ้นจะหลุดออกจากก้านชูสปอร์ได้ง่าย โดยมีก้านสปอร์ขนาดยาวติดอยู่ด้านบนของสปอร์มีส่วนเปิดสำหรับเป็นทางออกของสปอร์ที่มีหางและว่ายน้ำได้ เด่นชัด รา *P. capsici* ทำให้พืชทดสอบ ได้แก่ พริกหวาน พริกหยวก พริกชี้ฟ้า พริกชี้หู มะเขือเทศ ตำลึง และเสี้ง เป็นโรคแผลขยาย 10-20 มิลลิเมตร แสดงอาการแผลเน่าสีน้ำตาลดำ ถึงสีดำ

คำหลัก : ชีววิทยา, นิเวศวิทยา, รา *Phytophthora capsici*, พืชอาศัย

คำนำ

พริกเป็นพืชที่มีความสำคัญทั้งในทางเศรษฐกิจ และวิถีชีวิตของไทย สามารถปลูกได้ทุกภาคของประเทศ ในประเทศไทยนิยมปลูกพริก 2 กลุ่ม คือ กลุ่ม *Capsicum annum* เช่น พริกหวาน พริกหยวก พริกชี้ฟ้า และกลุ่ม *C. frutescens* ที่เป็นกลุ่มพริกชี้หู เช่น พริกชี้หูสวน และพริกชี้หูใหญ่

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-02-05-54

รา *Phytophthora capsici* ได้รับการรายงานครั้งแรกโดย Leonian ในปี ค.ศ. 1922 เป็นสาเหตุโรครไหม้ของพริก (*Capsicum annuum* L.- Chilli peppers, chili, chile หรือ chilli) ในรัฐนิวเม็กซิโก สหรัฐอเมริกา และเป็นสาเหตุโรครอื่น ๆ ซึ่งเรียกตามอาการของพืชที่ผิดปกติไป เช่น โรครค้ำเหี่ยว (*Phytophthora blight*) เน่าคอดิน (*damping-off*) รากเน่า โคนเน่า ผลเน่า (*Phytophthora root rot, crown rot* และ *stem and fruit rot*) มีรายงานว่าเป็นสาเหตุของโรครพืชอีกหลายชนิดคือ พริกหวาน หรือ พริกยักษ์ (*sweet pepper* หรือ *bell pepper*) มะเขือ ผ่าฝาย พริกไทยดำ โกโก้ มะเขือเทศ ผลมะเขือ สมอผ่าฝาย พริกไทยดำ โกโก้ มะเขือเทศ เป็นต้น (Erwin and Ribeiro, 1996)

โรครเหี่ยวในพริกที่เกิดจากรา *P. capsici* เป็นโรครที่สำคัญ เข้าทำลายและทำให้สูญเสียผลผลิตเป็นจำนวนมากในแต่ละปี การจัดการป้องกันและกำจัดโรครเป็นผลให้เกษตรกรต้องใช้สารเคมีและแรงงานในการผลิตเพิ่มขึ้น เกิดผลเสียต่อสุขภาพสิ่งแวดล้อม และเพิ่มต้นทุนในการผลิต ทำให้ได้ผลตอบแทนลดลง และยังส่งผลกระทบต่อผู้บริโภคที่มีความเสี่ยงต่อการได้รับสารพิษตกค้างจากผลิตผล ตลอดระยะเวลากว่า 30 ปีที่มีการรายงานและศึกษาวิจัยเพื่อแก้ไขปัญหาโรครนี้ในประเทศไทยพบว่าข้อมูลทางชีววิทยาและนิเวศวิทยาของรามีน้อย หรือแทบไม่มีเลย ข้อมูลส่วนใหญ่มักเป็นการศึกษาการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดโรคร ซึ่งเป็นการแก้ไขที่ปลายเหตุทำให้การป้องกันกำจัดโรครไม่ประสบผลสำเร็จเท่าที่ควร การศึกษาวิจัยทางด้านชีววิทยาและวงจรชีวิตของรามีนจึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง เพื่อให้สามารถติดตามหาแหล่งที่อยู่อาศัยเริ่มแรก (อาศัยข้ามฤดู) ของรามิที่เป็นต้นกำเนิดการแพร่กระจายของรามิ จากจุดเล็กๆ ที่จะนำไปสู่การแพร่ระบาด ทำลายผลิตผลของพืชอย่างรุนแรงในเวลาต่อมาได้ และรามิอยู่ในสภาพอย่างไรบนเศษซากของ ใบ กิ่ง ผล ที่เป็นโรคร หรืออาจอยู่ในพืชอาศัย ทั้งที่เป็นพืชเศรษฐกิจ หรือ/และวัชพืชที่เกิดบริเวณสวนลำไย จึงควรมีการศึกษาชีววิทยาและนิเวศวิทยา รา *P. capsici* สาเหตุของโรครเพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาการป้องกันกำจัดโรครอย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

วิธีดำเนินการ

1. การเก็บ รวบรวมตัวอย่างโรครเหี่ยวของพริกและการแยกเชื้อสาเหตุ

ได้เก็บและรวบรวม และเก็บตัวอย่างโรครเหี่ยวของพริกระหว่าง ตุลาคม 2553 - กันยายน 2555 นำตัวอย่างโรครพืชเหล่านั้นมาแยกเชื้อบริสุทธิ์ในวันเดียวกัน โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (*Tissue transplanting*) ตัดบริเวณรอยต่อเนื้อเยื่อที่เป็นโรครกับเนื้อเยื่อปกติ เป็นชิ้นส่วนขนาด 2x2 มิลลิเมตร ตัวอย่างละ 15-20 ชิ้น เลี้ยงบนอาหารวุ้นมันฝรั่งผสม พี อาร์ เอ็น เอ พี (PDA + BRNAP) ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อเฉพาะ (*Selective media*) (Masago *et al.*, 1972) เพาะเชื้อในอุณหภูมิห้อง (25 ± 2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง ตัดขอบโคโลนีของเส้นใยเชื้อที่เจริญออกจากชิ้นตัวอย่างเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อเฉพาะอีกครั้ง เพาะเชื้อในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง ตัดขอบโคโลนีของเส้นใยเชื้อที่เจริญออกจากชิ้นเชื้อ 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 นำไปบ่มในตู้บ่มมีอุณหภูมิห้อง จนเชื้อเจริญเติบโตเต็มจานเลี้ยงเชื้อ ศึกษาบันทึกลักษณะการเจริญที่ผิวหน้าอาหารและความหนาแน่นของเส้นใย

3.2 ศึกษาลักษณะรูปร่างและขนาดสปอร์ของรา

นำรา *Phytophthora* ในจานเลี้ยงเชื้อ ที่มีอาหารวุ้นแครอท จำนวน 15 มิลลิเมตร ที่บ่มในตู้บ่มมีดนาน 72 ชั่วโมง นำไปไว้ใต้แสงนีออน (White cool) 40 วัตต์ 2 หลอดระยะ 30 เซนติเมตรที่ให้แสง 200 แสงเทียน (Foot candle ftc) ที่อุณหภูมิห้อง ปล่อยให้โตแสงนาน 48 ชั่วโมง เพื่อให้เชื้อสร้าง สปอร์แรงเจีย (Sporangia) ศึกษาและบันทึกลักษณะการแตกแขนงของก้านสปอร์ (Sporangiophores) วัดความยาว (Length) และความกว้าง (Breadth) ของ สปอร์แรงเจีย เพื่อหาอัตราส่วนความยาวต่อความกว้าง วัดความยาวของก้านสปอร์ (Pedicel หรือ Stalk) ความยาวของปาปิลลา (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* สาเหตุโรคเน่าแก้วหน้้า) เพื่อหา แบบคู่ผสม ของราทุกไอโซเลท นำเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง ในที่มีดนาน 7-10 วัน ศึกษาและบันทึกการสร้าง Sexual structure ของเชื้อ Unknown กับ A1 หรือ A2

มาตรฐาน วัดขนาด (ความยาวและความกว้าง) ของ โอโอโกเนีย (Oogonia), โอโอสปอร์ (Oospores) และ แอนเธอริเดีย (Antheridia) จำนวนโอโอไซเลทละ 50 สปอร์ ศึกษาตำแหน่งของ แอนเธอริเดีย บน ผิวของ โอโอโกเนียม (Oogonium) และลักษณะของ โอโอสปอร์ (Oospore) ที่อยู่ภายในแต่ละ โอโอโกเนียม

4. การตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสายพันธุ์เชื้อ โดยวิธีการทำสปอร์แรงเจียมเดี่ยว (Single sporangium culture)

นำรา *Phytophthora* บริสุทธิ์จากตัวอย่างโรคที่เก็บจากแหล่งต่างๆ ในข้อ 1 แต่ละตัวอย่าง ในหลอดทดลอง มาเลี้ยงบนอาหารวุ้นแครอท ตัวอย่างละ 3 ซ้ำเก็บไว้ในที่มืด 72 ชั่วโมง นำไปไว้ใต้ แสงนีออน ที่อุณหภูมิห้อง ปล่อยให้แห้ง 24-48 ชั่วโมง ใช้เข็มเย็บ (Loop) ลนไฟฟ้าเชื้อ แช่ใน น้ำกลั่นหนึ่ง นำมาแตะบนปลายเส้นใย ซึ่งได้ สปอร์แรงเจียม จำนวนมาก นำไปเปียให้กระจาย (Streak) บนอาหารวุ้น (WA) แล้วส่องดูใต้กล้องจุลทรรศน์ขนาดกำลังขยาย 10 x 10 เพื่อหา สปอร์แรงเจียม เดี่ยว (Single sporangium) ตักสปอร์เดี่ยวดังกล่าววางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 5 จุดต่อ 1 จาน เลี้ยงบน อาหารวุ้นแครอท ปริมาณ 15 มิลลิเมตรในจานเลี้ยงเชื้อ ป่มไว้ในอุณหภูมิห้องนาน 72 ชั่วโมง ตัดขอบ โคลนินของเส้นใยเชื้อที่เจริญออกจากสปอร์เดี่ยวนั้น นำไปเลี้ยงบนอาหารวุ้นแครอท แยกเก็บเชื้อ บริสุทธิ์แต่ละตัวอย่างในหลอดทดลอง

5. การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของรา *Phytophthora* sp. สาเหตุโรค เหี่ยว

ของพริกที่แยกได้

เลี้ยงราบริสุทธิ์ที่แยกได้จากแต่ละพื้นที่ บนอาหารวุ้นแครอท ที่อุณหภูมิห้อง ใช้ เครื่องเจาะรู ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ที่ลนไฟฟ้าเชื้อแล้ว ตัดเส้นใยบริเวณขอบโคลนินของเชื้อ นำไปปลูก เชื้อ โดยวิธีเด็ดใบ (Detached leaf) ใช้ใบพริกกระยะใบเพสลาด ที่ปลายของก้านใบพันด้วยสำลีชุบน้ำ กลั่น เพื่อให้ใบสดอยู่เสมอ ปลูกเชื้อที่แยกได้ ใช้ เครื่องเจาะรู ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ที่ ลนไฟฟ้าเชื้อแล้ว เจาะทำแผลบนบริเวณกลางใบพริก วางเส้นใยบนอาหารวุ้นคว่ำลงบนใบที่ทำแผล จากนั้นใช้สำลีชุบน้ำวางบนชิ้นอาหารวุ้นดังกล่าวเพื่อให้ความชื้น วางใบพริกในกล่องพลาสติกปิดฝา เก็บไว้ในอุณหภูมิห้องนาน 3 วัน นำใบพริกที่แสดงอาการเป็นโรค ตัดบริเวณรอยต่อเนื้อเยื่อที่เป็นโรค กับเนื้อเยื่อปกติไปแยกเชื้อบริสุทธิ์อีกครั้งหนึ่ง แยกเก็บเชื้อบริสุทธิ์แต่ละไอโซเลทในหลอดทดลอง

6. ศึกษาความรุนแรงของรา *P. capsici* บนพืชชนิดต่างๆ

เลี้ยงรา *Phytophthora* บริสุทธิ์ที่แยกได้จากแต่ละพื้นที่ บนอาหารวุ้นแครอท ที่ อุณหภูมิห้อง ปลูกเชื้อบนพืชชนิดต่างๆ คือปลูกเชื้อแก่ ใบพืชทดสอบ 14 ชนิด ซึ่งเป็นพืชที่ปลูกใน บริเวณที่ปลูกพริก และพืชอื่นได้แก่ ทุเรียน (หมอนทอง) มะละกอ (แขกดำ) มะเขือเปราะ มะเขือพวง มะเขือยาว มะเขือม่วง พริกหวาน พริกหยวก พริกชี้ฟ้า พริกชี้หนู มะเขือเทศ กระเจี๊ยบ และวัชพืชที่

พบในบริเวณปลูกพริก ได้แก่ เสิ้ง และตำลึง ทดสอบกับใบพืชชนิดละ 10 ใบ หลังจากปลูกเชื้อแล้ว 3 วัน วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลบนใบพืชที่แสดงอาการเป็นโรค แล้วตัดบริเวณรอยต่อเนื้อเยื่อที่เป็นโรคร่วมกับเนื้อเยื่อปกติไปแยกเชื้อบริสุทธิ์อีกครั้งหนึ่ง

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การเก็บ รวบรวมตัวอย่างโรคเหี่ยวของพริกและการแยกเชื้อสาเหตุ

ผลการเก็บและรวบรวมตัวอย่างโรคเหี่ยวของพริกระหว่าง ตุลาคม 2553 - กันยายน 2555 พบโรคพืชที่มีสาเหตุจากรา *Phytophthora* spp. แยกเชื้อบริสุทธิ์ ได้รา *P. capsici* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าพริกหวานหรือพริกยักษ์ 4 ไอโซเลท สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าพริกชี้หู 1 ไอโซเลท สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่ามะเขือยาว 1 ไอโซเลท จากเชียงใหม่ สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าพริกชี้หู จากจังหวัดลำปาง และลำพูน จังหวัดละ 1 ไอโซเลท สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าพริกหนุ่ม 2 ไอโซเลท จากเพชรบูรณ์ สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าพริกหนุ่ม 2 ไอโซเลท จากจังหวัดตาก สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าพริกหนุ่ม และพริกชี้หู อย่างละ 1 ไอโซเลท จากจังหวัดศรีสะเกษ รวมทั้งหมด 14 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 มูลป้านัน
2.	53-Bp-CM 2 R		หมู่ 3 บ้านม่วงคำ อำเภอมะริม จังหวัดเชียงใหม่
3.	53-Bp-CM 3 S	พริกหวาน	นายต่อม เหล่าเสื่อ บ้านเลขที่ 4 หมู่ 3 บ้านม่วงคำ
4.	53-Bp-CM 4 R		ตำบลโป่งแยง อำเภอมะริม จังหวัดเชียงใหม่
5.	54-Ch-CM 1 S	พริกชี้หู	ตำบลสบเมิง อำเภอมะแตง จังหวัดเชียงใหม่
6.	54-Ep-CM 1 F	มะเขือยาว	ตำบลช่างเคิ่ง อำเภอมะแจ่ม จังหวัดเชียงใหม่
7.	54-Ch-Lp 1 S	พริกชี้หู	อำเภอมือง จังหวัดลำพูน
8.	54-Ch-Lpa 1 S	พริกชี้หู	อำเภอมือง จังหวัดลำปาง
9.	54-Ch-PB 1 S	พริกหนุ่ม	อำเภอมือง จังหวัดเพชรบูรณ์
10.	54-Ch-PB 2 S	พริกหนุ่ม	อำเภอมือง จังหวัดเพชรบูรณ์
11.	55 Ch Tak 1 S	พริกหนุ่ม	อำเภอมะสอด จังหวัดตาก
12.	55 Ch Tak 2 S	พริกหนุ่ม	อำเภอบพพระ จังหวัดตาก
13.	55 Ch Sk 1 S	พริกชี้หู	อำเภอมือง จังหวัดศรีสะเกษ
14.	55 Ch Sk 2 S	พริกหนุ่ม	อำเภอบพพระ จังหวัดศรีสะเกษ

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 = พริกชี้หู พริกหนุ่ม (Chili)
- Eg = มะเขือ (Egg-plant)
- 3 อักษร 2/3 ตัวถัดมา = อักษรย่อชื่อจังหวัดภาษาอังกฤษที่เก็บไอโซเลทเชื้อ
- CM = เชียงใหม่ (Chiang Mai)
- LP = ลำพูน (LamPung)
- LPa = ลำปาง (Lam Pang)
- PhB = เพชรบูรณ์ (PhetchaBun)
- Tak = ตาก (Tak)
- Sk = ศรีสะเกษ (Sisaket)
- 4 ตัวเลข = ไอโซเลทของเชื้อที่เก็บได้ในจังหวัดนั้น
- 5 อักษร 1 ตัวหลัง = ส่วนของพืชที่แยกเชื้อสาเหตุได้
- S = ลำต้น (Stem)
- R = ราก (Root)
- F = Fruit

เช่น 53¹-Bp²-CM³ 1⁴ S⁵ คือ รา *P. capsici* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าพริกหวานจากจากจังหวัดเชียงใหม่ ไอโซเลทที่ 1 แยกได้จากลำต้น

2. การศึกษาลักษณะอาการของโรคเหี่ยวของพริกและการเกิดโรค

2.1 พริกที่ปลูกในสภาพโรงเรือน

พบพริกที่ปลูกในสภาพโรงเรือน ได้แก่ พริกหวานหรือพริกยักษ์ ที่อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งปลูกบริเวณหุบเขา เกษตรกรส่วนใหญ่เป็นชาวเขา เข้าโรงเรือนกางมุ้งสำหรับปลูกพริกหวาน มีรายได้ดี เพราะพริกหวานมีราคาน่าพอใจ การปลูกทำโดยเพาะกล้าประมาณ 1 เดือน จึงแยกลงปลูกในถุงดำสำหรับเพาะชำ วางเรียงเป็นแถวในโรงเรือน การให้น้ำใช้ระบบน้ำหยด พริกหวานจะเริ่มติดผลหลังปลูก 45-60 วัน จึงเก็บเกี่ยวผลภายหลังติดผล มีอายุการเก็บเกี่ยวรวม 6 เดือน ในพื้นที่ 1 ไร่ ปลูกได้ประมาณ 4000 ต้น ช่วงเวลาที่ไปเก็บตัวอย่างประมาณเดือนสิงหาคม เกษตรกรกำลังทยอยเก็บเกี่ยวผลผลิต ได้พบพริกหวานผลโต สีสวย ติดอยู่บนต้น ส่วนด้านในโรงเรือน พบพริกหวานต้นโตแสดงลักษณะอาการเหี่ยวทั้งต้น ตั้งแต่ยอด ใบ และผลจำนวนมากหลายสิบต้น เมื่อถอนลำต้นพริกหวานที่เป็นโรคขึ้นดู พบว่าบริเวณรากและโคนต้นถูกทำลาย เกิดอาการรากเน่า โคนเน่า เมื่อผ่าดูลำต้นตามยาวบริเวณโคนที่เน่า พบว่าเนื้อเยื่อของลำต้นเป็นสีน้ำตาล เกิดการเน่าแบบไม่มีกลิ่น พริกหวานนี้ น่าจะเกิดโรครากเน่าโคนเน่าจากรา *Phytophthora* ซึ่งมักพบอาการของโรคเกิดขึ้นที่โคนลำต้นบริเวณติดกับดินก่อน เกิดเป็นแผลสีน้ำตาลดำขยายลุกลามขึ้นไปตามลำต้น การปฏิบัติดูแลของเกษตรกร นั้น ได้ทิ้งต้นพริกเป็นโรคไว้ในโรงเรือน โดยเฉพาะบริเวณด้านริมของโรงเรือน ที่มีการกระเซ็นของน้ำฝนจากหลังคาโรงเรือน และนำเศษซากพริกที่เป็นโรคไปกองสุมไว้ข้างโรงเรือน ทำให้เป็นแหล่งสะสมเชื้อและแหล่งแพร่ระบาดของโรค

2.2 พริกที่ปลูกในสภาพไร่

พบว่า รา *P. capsici* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าพริก หรือ *Phytophthora blight* สามารถเข้าทำลายพืชที่ปลูกในสภาพไร่ ได้แก่ พริกขี้หนู ในระยะกล้า ที่จังหวัดลำพูน ลำปาง และศรีสะเกษ ทำให้เกิดโรคเน่าคอดิน และเข้าทำลายพริกหนุ่ม ที่จังหวัดเพชรบูรณ์ ตาก และศรีสะเกษ 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* เป็นสาเหตุโรคใหม่ของพริก (*Capsicum annum* L.-Chili pepper) ในรัฐนิวเม็กซิโก สหรัฐอเมริกา และต่อมามีรายงานการเป็นสาเหตุของโรคพืชอีกหลายชนิด เช่น ผลมะเขือ สมอฝ้าย พริกไทยดำ โกโก้ มะเขือเทศ เป็นต้น (Erwin and Ribeiro, 1996) สำหรับในประเทศไทย ในปี ค.ศ. 1977 Tsao และ Tummakate รายงานการจำแนกชนิดรา *Phytophthora* บน พริกไทยดำ (Black pepper) ต่อมา Kobayashi และคณะ (1978) ได้ศึกษาราสเหตุโรคพืชเศรษฐกิจ (Economic plants) ของประเทศไทย ที่อาศัยอยู่ในดิน (Soil borne diseases) โดยเฉพาะ รา *Phytophthora* รายงานการพบ การระบาดของ รา *P. capsici* บนพริกและพริกไทย ในปี พ.ศ. 2548 อมรรรัตน์ และ

คณะ พบการระบาดของโรคเหี่ยวของพริกหวาน หรือพริกยักษ์ มีสาเหตุจาก รา *P. capsici* และพบยัง การระบาดของโรคบน พริกขี้หนูและพริกหนุ่ม อีกด้วย (อมรรัตน์, 2552)

3. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาของ รา *Phytophthora* sp. โรคเหี่ยวของ พริก

3.1 ศึกษาลักษณะการเจริญของเส้นใย (ลักษณะโคโลนี) ของเชื้อ

ลักษณะการเจริญเติบโตของ รา *P. capsici* ในระยะการสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ การเจริญของ เส้นใย (Culture pattern หรือ Colony pattern) บนอาหารแข็ง คืออาหารวุ้นมันฝรั่ง และอาหารวุ้น แครอท ซึ่งบ่มในตู้บ่มมีอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่าการสร้างเส้นใยบนอาหารแข็ง มีลักษณะ การเจริญเป็นเส้นตรง มีกิ่งก้านแยกออกไปสมำเสมอค่อนข้างเป็นระเบียบ เส้นใยค่อนข้างฟูลักษณะใส ไม่มีสี ไม่มีผนังกันเส้นใย ผิวผนังเส้นใยเรียบ (Smooth) ไม่มีการโป่งพอง ทำให้เกิดลักษณะรูปแบบเป็น แฉกคล้ายเส้นใยแมงมุม เชื้อเจริญบนอาหารวุ้นแครอท เต็มจานเลี้ยงเชื้อเมื่ออายุ 5 วัน แต่บนอาหาร วุ้นมันฝรั่ง เชื้อเจริญเติบโตได้ช้ากว่า เจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อเมื่ออายุ 7 วัน นอกจากนี้ บนอาหารวุ้น แครอท ราสร้างเส้นใยหนาแน่นกว่าและสร้าง สปอร์แรนเจีย (Sporangia) จำนวนมากกว่าบนอาหาร วุ้นมันฝรั่งอีกด้วย

3.2 ศึกษาลักษณะรูปร่างและขนาดสปอร์ของรา

รา *P. capsici* สร้างสปอร์แรนเจียจำนวนมาก มีรูปร่างแตกต่างหลายแบบ ทั้งเป็นรูปไข่ หรือ รูปค่อนข้างยาว หรือรูปร่างคล้ายไส้เดือนฝอยรากปม ขนาดแตกต่างกัน มีความยาวเฉลี่ย $46.58 \pm 10.58 \mu\text{m}$ ความกว้างเฉลี่ย $37.00 \pm 8.50 \mu\text{m}$ อัตราส่วนความยาวต่อความกว้าง เท่ากับ 1.26 ต่อ 1 เมื่อสปอร์มีอายุมากขึ้นจะหลุดออกจากก้านชูสปอร์ได้ง่าย โดยมีก้านสปอร์ยาวติดอยู่ ความยาวของ ก้านสปอร์เฉลี่ย $53.33 \pm 58.12 \mu\text{m}$ ด้านบนของสปอร์มีส่วนเปิดสำหรับเป็นทางออกของสปอร์ที่มี ทางและว่ายน้ำได้ เต็มชัด ราสร้างคลามายโดสปอร์จำนวนน้อย บนอาหารวุ้นแครอท มีขนาด เส้นผ่าศูนย์กลาง เฉลี่ย $25.58 \pm 26.45 \mu\text{m}$

3.3 ศึกษา แบบคู่ผสม (Mating type) ของรา

ยังไม่ทำการทดลอง

4. การตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสายพันธุ์เชื้อ โดยวิธีการทำสปอร์แรงเจียมเดี่ยว (Single sporangium culture)

ผลการทำเชื้อบริสุทธิ์จากสปอร์แรงเจียมเดี่ยว (Single sporangium culture) ของรา *Phytophthora* ที่แยกได้ เพื่อหาลักษณะการเจริญของเส้นใยบนอาหารวุ้นมันฝรั่ง และอาหารวุ้น แครอท ทำให้ได้เชื้อบริสุทธิ์เพื่อใช้ในงานทดลอง พบว่าลักษณะการเจริญของเชื้อบริสุทธิ์จากสปอร์ เดี่ยว เหมือนกับที่แยกได้จากลำไยที่เป็นโรคโดยตรงทุกประการ

การทำเชื้อบริสุทธิ์จากสปอร์แรงเจียมเดี่ยว เป็นวิธีการที่ทำได้ง่ายกว่า การทำเชื้อบริสุทธิ์ จากชูสปอร์เดี่ยว (Single zoospore) เนื่องจาก *Phytophthora* ที่แยกได้ มีการผลิต หรือสร้าง

สปอร์แรนเจีย บนผิวอาหารแข็ง โดยเฉพาะบนอาหารวุ้นแครอท และ สปอร์แรนเจีย ที่สร้างบนอาหารวุ้นแครอท หลุดจากก้านชูสปอร์ได้ง่ายและมีก้านสปอร์ยาวอยู่ด้วย ซึ่งตรงกับการทดลองของ Kaosiri et al. (1980) ที่แยก สปอร์แรงเจียมเดี่ยว จากราก *P. palmivora* สาเหตุโรคเน่าของโกโก้

5. การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของรา *Phytophthora* sp. สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของพริกที่แยกได้

ผลการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของ รา *Phytophthora* sp. สาเหตุโรคพริกและมะเขือที่แยกได้ พบว่ารา *Phytophthora* บริสุทธิ์ที่แยกได้จากโรคพริก ภายหลังจากปลูกเขื่อนาน 7 วัน ทำให้ใบพริกกระยะเพลลาดเป็นโรค แสดงอาการแผลเน่าสีน้ำตาลดำ ถึงสีดำ บนเนื้อเยื่อใบทั้งด้านหลังใบและท้องใบ หลังจากนั้น แผลจะลุกลามไปตาม เส้นใบ มีขนาด และรูปร่างไม่แน่นอน แต่ขยายขึ้นไปตามความยาวของใบมากกว่าความกว้าง

การทดสอบความสามารถทำให้เกิดโรคโดยใช้ใบพริกครั้งนี้ ได้ผลการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองของ อมรรัตน์และคณะ (2546) ที่ได้ทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของรา *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียนที่แยกได้จากแต่ละพื้นที่ปลูก ทดสอบโดยวิธีเด็ดใบ ภายหลังจากปลูกเชื้อโดยการทำแผลเป็นเวลา 3 วัน ทำให้ใบทุเรียนพันธุ์หมอนทองระยะเพลลาด เป็นโรค และการทดลองของ พจนาและอมรรัตน์ (2546) ที่ทดสอบการปลูกเชื้อ *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียนในห้องปฏิบัติการ เพื่อหาวิธีการที่เหมาะสมสำหรับจำแนกระดับความรุนแรงของโรค โดยวิธีเด็ดใบ และได้ผลดีเช่นเดียวกับ การทดลองของ อมรรัตน์และคณะ (2553) ที่ทดสอบปฏิบัติการของพันธุ์หน้าวัวลูกผสมต่อโรคเน่าดำ พบว่าเป็นวิธีการที่เหมาะสม สามารถทดสอบหาพันธุ์/สายพันธุ์หน้าวัวได้เป็นจำนวนมาก ดังนั้นการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคควรทำการทดสอบโดยใช้วิธีเด็ดใบ ซึ่งเป็นวิธีการที่สะดวกและประหยัดเวลาในการศึกษาได้มาก

6. ศึกษาความรุนแรงของรา *P. capsici* บนพืชชนิดต่างๆ

การศึกษาความรุนแรงของรา *P. capsici* บนพืชชนิดต่างๆ พบว่ารา *Phytophthora* บริสุทธิ์ที่แยกได้จากแต่ละพื้นที่ทุกไอโซเลท หลังจากปลูกเชื้อแล้ว 3 วัน ทำให้ใบทุเรียนพันธุ์หมอนทอง ใบมะละกอพันธุ์แขกดำ มะเขือเปราะ และมะเขือพวงเป็นโรคน้อย พืชแสดงอาการค่อนข้างต้านทาน แผลขยายน้อยกว่า 10 มิลลิเมตร ทำให้ใบกระเจี๊ยบ มะเขือยาว และมะเขือม่วง เป็นโรคแผลขยาย 10-20 มิลลิเมตร แต่ทำให้พืชทดสอบ 7 ชนิด ได้แก่ พริกหวาน พริกหยวก พริกชี้ฟ้า พริกชี้หนู มะเขือเทศ ตำลึง และเส้ง เกิดแผลขนาดใหญ่ แผลขยายมากกว่า 20 มิลลิเมตร แสดงอาการแผลเน่าสีน้ำตาลดำ ถึงสีดำ บางแผลแผลขยายใหญ่จนเต็มใบ ด้านหลังใบและท้องใบ แผลขยายใหญ่ขึ้นไปตามความกว้างและความยาวของใบ ลุกลามไปตามเส้นใบ มีขนาดและรูปร่างไม่แน่นอน ดังนั้นพืชทั้ง 7 ชนิดจึงน่าจะเป็นพืชอาศัยของรานี้ได้ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ความรุนแรงของรา *Phytophthora capsici* สาเหตุโรครเหี่ยวพริกบนพืชต่างชนิด

วงศ์/พืช	ความรุนแรงของ รา <i>Phytophthora capsici</i>
BOMBACACEAE (สอาดและคณะ, 2543)	
ทุเรียน (หมอนทอง) <i>Durio zibethinus</i> Linn.	+
CARICACEAE	
มะละกอ (แขกดำ) <i>Carica papaya</i>	+
SOLANACEAE.	
มะเขือเปราะ <i>Solanum xanthocarpum</i> Schrad. & Wendl	+
มะเขือพวง <i>Solanum torvum</i> sw.	+
กระเจี๊ยบแดง <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.	++
มะเขือยาว <i>Solanum melongena</i> L.	++
มะเขือม่วง <i>Solanum melongena</i>	++
พริกหวาน <i>Capsicum annuum</i> L. var. <i>longum</i>	+++
พริกหยวก <i>Capsicum annuum</i> L.	+++
พริกชี้ฟ้า <i>Capsicum annuum</i> Linn. Var <i>acuminatum</i> Fingerh.	+++
พริกชี้หนู <i>Capsicum frutescens</i> Linn.	+++
มะเขือเทศ <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	+++
Cucurbitaceae	
ตำลึง <i>Coccinia grandis</i> Voigt.	+++
MALVACEAE	
เสี้ง, <i>Urena lobata</i> Linn L.	+++

หมายเหตุ

1	—	=	ไม่มีแผล
	±	=	แผลขยาย 1-5 มิลลิเมตร
	+	=	แผลขยาย 5-10 มิลลิเมตร
	++	=	แผลขยาย 10-20 มิลลิเมตร
	+++	=	แผลขยาย 20 มิลลิเมตรขึ้นไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลการเก็บรวบรวมตัวอย่างโรคเหี่ยวของพริก พบโรครากเน่าโคนเน่าพริกหวานหรือพริกยักษ์ โรครากเน่าโคนเน่าพริกชี้หนู โรครากเน่าโคนเน่ามะเขือยาว โรครากเน่าโคนเน่าพริกชี้หนู และโรครากเน่าโคนเน่าพริกหนุ่ม จาก จังหวัดเชียงใหม่ ลำปาง ลำพูน เพชรบูรณ์ ตากและศรีสะเกษ แยกเชื้อบริสุทธิ์ได้รา *Phytophthora* sp. จำนวน 14 ไอโซเลท ราทำให้พืชแสดงอาการเหี่ยวทั้งต้น ตั้งแต่ยอด ใบ และผล รากและโคนต้นถูกทำลาย เกิดอาการรากเน่า โคนเน่า ทำให้เกิดโรคเน่าคอดิน มักทำให้เกิดอาการเหี่ยวของพริกในระยะกำลังออกผลแล้วตายทั้งต้น ใบที่เกิดโรคแสดงอาการจุดเล็กๆ สีเขียวเข้ม ลำต้นที่ถูกทำลายแสดงอาการใบเหี่ยว ผลมีลักษณะฉ่ำน้ำ เนื้อผลเป็นสีเข้มดำ หากเกิดรุนแรงเชื้อเข้าทำลายเมล็ดได้ด้วย ราสร้างเส้นใยที่เจริญได้ดีบนอาหารร่วนแฉะ ลักษณะคล้ายเส้นใยแมงมุม สร้างสปอร์จำนวนมากบนอาหารแข็ง เมื่อสปอร์มีอายุมากขึ้นจะหลุดออกจากก้านสปอร์ได้ง่าย โดยมีก้านสปอร์ยาวติดอยู่ ด้านบนของสปอร์มีส่วนเปิดสำหรับเป็นทางออกของสปอร์ที่มีหางและว่ายน้ำได้เด่นชัด สรุปว่าราสาเหตุโรคเหี่ยวพริกที่ศึกษา คือ รา *P. capsici* ราทำให้ใบพืชทดสอบ 7 ชนิด ได้แก่ พริกหวาน พริกหยวก พริกชี้ฟ้า พริกชี้หนู มะเขือเทศ ตำลึง และเสีง เกิดแผลขนาดใหญ่ แผลขยายมากกว่า 20 มิลลิเมตร พืชทั้ง 7 ชนิดนี้จึงอาจจะเป็นพืชอาศัยของรานี้ได้

การศึกษาชีววิทยาและนิเวศวิทยาของรา *P. capsici* นี้ยังไม่จบ จึงควรมีการทดสอบพืชอาศัยอื่นๆ ให้มากขึ้น และต้องมีการแยกเชื้อบริสุทธิ์จากแหล่งอาศัยของเชื้อ เช่น จากดินในแหล่งระบาดของโรค หรือจากแหล่งน้ำ เป็นต้น เพื่อหาแหล่งกำเนิด หรือแหล่งอาศัยของเชื้อ ในโอกาสต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- พจนาน ตระกูลสุขรัตน์และอมรรัตน์ ภูไพบูลย์. 2546. เทคนิคการปลูกเชื้อ *Phytophthora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียนในห้องปฏิบัติการ. หน้า 135-145 ใน รายงานประจำปี 2546 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ.
- อมรรัตน์ ภูไพบูลย์. 2552. รา *Phytophthora* สาเหตุโรคพืชในประเทศไทย. เอกสารประกอบการฝึกอบรม หลักสูตร การวินิจฉัยโรคพืชที่เกิดจากราสกุล PHYTOPHTHORA และ PYTHIUM ระหว่างวันที่ 19-21 พฤษภาคม 2552. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 74 หน้า.
- อมรรัตน์ ภูไพบูลย์ พจนาน ตระกูลสุขรัตน์และทวี เก้าศิริ. 2546. ความผันแปรใน *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl. ทุเรียน : ลักษณะรูปร่างและแบบคู่ผสม. วารสารวิชาการเกษตร 21 (1) : 72-89.
- อมรรัตน์ ภูไพบูลย์ ทวี เก้าศิริ และพัชราภรณ์ ลีลาภิรมย์กุล. 2548. พริกหวานที่อำเภอแม่ริม.....เหี่ยว. กสิกร 78 (6) : 63-67.

- อมรรัตน์ ภูไพบูลย์ พจนา ตระกูลสุขรัตน์ และพีระวรรณ พัฒนวิภาส. 2553. ปฏิกริยาของพันธุ์หน้าวัวลูกผสมต่อโรคเน่าดำ. รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (เอกสารกำลังจัดพิมพ์)
- 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 *Phytophthora palmivora* isolates from cacao. Canada Journal of Botany 56:1730-1738.
- Kaosiri, T; G. A. Zentmyer and D. C. Erwin. 1980. Oospore morphology and germination in the *Phytophthora 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.

ทัศนาวพร ทัศนกร ธารทิพย์ ภาสบุตร พิระวรรณ พัฒนวิภาส อภิรัชต์ สมฤทธิ

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

สำรวจและเก็บตัวอย่างแตงกวา แตงร้าน แตงแคนตาลูป และแตงเมล่อนที่แสดงอาการโรคยางไหล ที่ จ.สุพรรณบุรี แพร่ สระแก้ว และพะเยา เพื่อแยกหาเชื้อสาเหตุในห้องปฏิบัติการ สามารถแยกได้รา *D. bryoniae* จำนวน 3 ไอโซเลท ทดสอบการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคจำนวน 3 ไอโซเลทบนอาหารสูตรต่างๆ จำนวน 7 สูตรที่เตรียมไว้ ได้แก่ PDA PSA PCA MEA CMA OMA และ V8 agar ทำการบันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตของเชื้อและลักษณะของเส้นใยทุกวัน ผลการทดลอง ที่ 9 วัน พบว่า เชื้อราสาเหตุโรค *D. bryoniae* ทั้ง 3 ไอโซเลท สามารถเจริญได้ดีที่สุดบนสูตรอาหาร PDA OMA และ V8 agar และจากการทดสอบเลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคจำนวน 3 ไอโซเลท ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรจำนวน 7 สูตร ได้แก่ PDA PSA PCA MEA CMA OMA และ V8 agar สูตรละ 10 จานอาหารเลี้ยงเชื้อ และนำไปบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 10, 20 และ 25 องศาเซลเซียส ทำการบันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตของเชื้อและลักษณะของเส้นใยทุกวัน ผลการทดลองที่ 9 วัน พบว่า เชื้อราสาเหตุโรคสามารถเจริญได้ดีทั้ง 3 ไอโซเลท ในทุกสูตรอาหาร ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-02-06-54

คำนำ

โรคนยางไหล (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 โรคนยางไหล ถ้าโรคมีการระบาดในระยะที่ติดผล จะทำให้ต้นแตงมีการเจริญเติบโตช้า ผลโตไม่เต็มที่ และในต้นที่อาการรุนแรงมาก ต้นจะเหี่ยวแห้งและยืนต้นตาย ทำให้ผลผลิตที่ได้ลดลง บางครั้งเกษตรกรจึงรีบเก็บผลผลิตก่อน ทั้งที่แตงยังสุกไม่เต็มที่ ทำให้ผลผลิตของแตงไม่ได้คุณภาพ (ทัศนาวพรและพีระวรรณ, 2552)

ลักษณะอาการของโรคนยางไหล เริ่มแรกจะพบแผลฉ่ำน้ำที่บริเวณ ลำต้น กิ่ง ก้าน และใบ โดยเฉพาะบริเวณข้อต่อของลำต้นกับกิ่ง หลังจากนั้นส่วนที่เป็นแผลจะบวมลึก และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหรือน้ำตาลแดง ลักษณะสำคัญของโรคคือ ที่แผลจะมียางเหนียวสีแดง (gummy ooze) ไหลเยิ้มออกมาจากแผล และเกาะแห้งอยู่ที่บริเวณแผล ส่วนอาการที่ใบก็จะพบใบเป็นแผลฉ่ำน้ำก่อน จากนั้นแผลที่ใบจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ลูกกลมไปตามเส้นกลางใบทำให้ใบไหม้ วงจรการเกิดโรคของเชื้อรา *D. bryoniae* สามารถอาศัยและติดไปได้ทั้งในเมล็ดพันธุ์และดิน (seed borne , soil borne) และอยู่ข้ามฤดูได้เป็นเวลานานในเศษซากพืชที่เป็นโรค โดยอาศัยอยู่ใน perithecium เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมคือ มีความชื้นสูง perithecium ที่อยู่บนเศษซากพืชก็จะเจริญแล้วสร้าง และปล่อย conidia ออกมา และ conidia นี้สามารถแพร่กระจายไปกับน้ำฝน หรือระบบการให้น้ำ

เนื่องจากเชื้อรา *D. bryoniae* เป็นเชื้อราที่สามารถอาศัยและติดไปได้ทั้งในเมล็ดพันธุ์และดิน (seed borne , soil borne) และอยู่ข้ามฤดูได้เป็นเวลานานในเศษซากพืชเพื่อแพร่กระจายโรคได้ในฤดูปลูกถัดไป ดังนั้นเพื่อหลีกเลี่ยงการเกิดโรคในแปลงเกษตรกรจึงต้องมีการย้ายพื้นที่ปลูกไปเรื่อย ๆ เพราะถ้าปลูกซ้ำที่ติดต่อกัน 2-3 ปี โรคในแปลงจะมีการระบาดที่รุนแรงขึ้น การแก้ปัญหานี้ด้วยการจัดการโรคทั้งระบบการปลูกจึงเป็นสิ่งที่สำคัญ เพราะถ้ามีการจัดการโรคที่ถูกต้องเหมาะสมเกษตรกรสามารถควบคุมการเกิดโรคในแปลงได้ และลดการสะสมเชื้อสาเหตุโรคในแปลงปลูกได้

ในการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับเชื้อรา *D. bryoniae* สาเหตุโรคนยางไหลนี้ยังขาดข้อมูลทางด้านชีววิทยา การเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ การเข้าทำลายพืชอาศัยของเชื้อสาเหตุโรค และการถ่ายโรคทางเมล็ดพันธุ์ ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดการแพร่ระบาดของโรค ดังนั้นเพื่อให้การ

ป้องกันกำจัดโรครอยางไหลมีประสิทธิภาพและสามารถนำไปสู่การจัดการโรคแบบผสมผสานได้ จึงมีความจำเป็นที่จะต้องศึกษาข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับเชื้อสาเหตุโรครอยางไหลเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการป้องกันกำจัดโรคต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ
2. กล้องจุลทรรศน์
3. อุปกรณ์เครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการ
4. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติก กล่องเก็บความเย็น ปากกา กรรไกร ฯลฯ
5. กล้องถ่ายภาพ
- 6.วัสดุการเกษตร ดิน กระจ่าง เมล็ดพันธุ์ กระจับเพาะกล้า

วิธีการ

1.การสำรวจและเก็บตัวอย่างโรครอยางไหลของพืชตระกูลแตง

สำรวจและเก็บตัวอย่างโรครอยางไหลจากแหล่งปลูกพืชตระกูลแตงที่สำคัญ บันทึกข้อมูลต่างๆที่สำคัญในพื้นที่ปลูก ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ และภาคกลาง ที่เป็นแหล่งปลูกสำคัญ โดยสุ่มเก็บตัวอย่างในลักษณะการเดินซิกแซกตามแบบของ Barker (1985) จำนวน 10 % ต่อพื้นที่เพาะปลูก เมื่อพบต้นที่เป็นโรค ควรเก็บตัวอย่างโรคในระยะต่างๆ โดยห่อตัวอย่างด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์และใส่ในถุงพลาสติก บรรจุลงในกล่องเก็บความเย็นเพื่อนำกลับไปศึกษาแยกเชื้อสาเหตุและจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุของโรคในห้องปฏิบัติการ บันทึกข้อมูลตามลักษณะอาการของโรคและถ่ายภาพส่วนที่เป็นโรค ประเมินเปอร์เซ็นต์การเป็นโรค (disease incidence)

2. การศึกษาชนิดเชื้อสาเหตุโรครอยางไหล

2.1 การศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ศึกษาลักษณะของเชื้อสาเหตุโรค โดยทำการตัดชิ้นส่วนพืชบริเวณที่แสดงอาการโรค (section) และทำสไลด์ เพื่อตรวจดูลักษณะต่าง ๆ ของเชื้อราที่สำคัญเพื่อใช้ในการจำแนกชนิดของ

เชื้อรา เช่น ลักษณะของเส้นใย และสปอร์ ภายใต้กล้อง Compound microscope และเปรียบเทียบลักษณะของเชื้อราที่พบกับเอกสารที่ใช้ในการจำแนกชนิดเชื้อรา ILLUSTRATED GENERA of IMPERFECT FUNGI และหนังสือดรชนิโรคพืชในประเทศไทย

2.2 การแยกเชื้อสาเหตุโรคโดยวิธี Tissue transplanting

แยกเชื้อสาเหตุโรคจากตัวอย่างพืชที่แสดงอาการของโรคนานาชนิดที่พบ โดยตัดชิ้นตัวอย่างที่บริเวณส่วนที่เป็นโรคและส่วนปกติขนาดประมาณ 2x2 มิลลิเมตร จากนั้นฆ่าเชื้อที่ผิวพืชโดยแช่ชิ้นส่วนพืชลงในสารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที ซับให้แห้งด้วยกระดาษกรองที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วจนแห้งสนิท นำชิ้นส่วนพืชมาวางบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) แล้วบ่มไว้ในห้องปฏิบัติการ อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-3 วัน ตรวจสอบเส้นใยเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereomicroscope แยก hyphal tip ของเชื้อราที่เจริญออกมาจากชิ้นตัวอย่างพืช วางลงบนอาหาร PDA เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อเก็บไว้เพื่อศึกษาลักษณะรายละเอียดของเชื้อประกอบกับเอกสารอ้างอิงเพื่อการจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุโรค

2.3 การศึกษาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญเส้นใยและการสร้าง

perithecium ของรา *D. bryoniae*

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

2.4 การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเส้นใยและการสร้าง perithecium ของรา *D. bryoniae*

ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อราและการสร้าง perithecium ของรา *D. bryoniae* 3 ไอโซเลท คือ สระแก้ว สุพรรณบุรี และพะเยา

โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD กรรมวิธีคือ อุณหภูมิ 10, 20 และ 25 องศาเซลเซียส และทดสอบกับสูตรอาหาร 7 ชนิด คือ Potato Dextrose Agar (PDA), Corn Meal Agar (CMA) Oat Meal Agar (OMA) Malt Extract Agar (MEA) Potato Sucrose Agar และ V-8 Agar Potato Dextrose เมื่อเตรียมอาหารตามสูตรต่างๆแล้ว จึงย้ายเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้จากข้อ 2.2 มาเลี้ยงบนอาหารที่เตรียมไว้ จำนวน 10 จานอาหารเลี้ยงเชื้อต่ออาหาร 1 ชนิด และนำจานเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ไปบ่มเชื้อที่ตู้ควบคุมอุณหภูมิโดยทำการทดสอบได้ที่อุณหภูมิ 10, 20 และ 25 องศาเซลเซียส จากนั้นบันทึกข้อมูลโดยวัดขนาดโคโลนีเมื่อเชื้อราอายุ 9 วัน บันทึกลักษณะสีของเส้นใย การเจริญของเส้นใย การสร้าง perithecium เพื่อเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรต่างๆ

เวลาสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2553 สิ้นสุด กันยายน 2558

สถานที่ทดลอง

ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

แปลงเกษตรกรปลูกแตงที่สำคัญ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคน้ำตาลของพืชตระกูลแตง

ในปี 2554 ได้สำรวจและเก็บตัวอย่างแตงกวา แตงร้าน แตงแคนตาลูป และแตงเมล่อนที่แสดงอาการโรคในพื้นที่ปลูกแตง จ. กาญจนบุรี สุพรรณบุรี สระแก้ว และพะเยา เพื่อแยกหาเชื้อสาเหตุในห้องปฏิบัติการ จากการเก็บตัวอย่างโรคในแตงแคนตาลูป และแตงเมล่อนนั้น พบว่าลักษณะอาการของโรคน้ำตาล เริ่มแรกจะพบแผลฉ่ำน้ำที่บริเวณ ลำต้น กิ่ง ก้าน และใบ โดยเฉพาะบริเวณข้อต่อของลำต้นกับกิ่ง หลังจากนั้นส่วนที่เป็นแผลจะบวมลึก และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล หรือน้ำตาลแดง ลักษณะสำคัญของโรคคือ ที่แผลจะมียางเหนียวสีแดง (gummy ooze) ไหลเยิ้มออกมาจากแผล และเกาะแห้งอยู่ที่บริเวณแผล ส่วนอาการที่ใบก็จะพบใบเป็นแผลฉ่ำน้ำก่อน จากนั้นแผลที่ใบจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ลูกกลมไปตามเส้นกลางใบทำให้ใบไหม้ และที่บริเวณแผลที่แห้ง จะพบเชื้อราสร้างเม็ดสีดำ ขนาดเล็กกระจายอยู่ทั่วแผล ซึ่งถ้าพบลักษณะอาการของโรคในช่วงระยะที่แตงติดผลหรือระยะที่กำลังเก็บเกี่ยวจะทำให้เกิดความเสียหายกับผลผลิตของเกษตรกรเป็นอย่างมาก

2. การศึกษาชนิดเชื้อสาเหตุโรครอยางไหล

จากการแยกเชื้อสาเหตุจากลักษณะอาการดังกล่าวโดยวิธี Tissue transplanting ซึ่งเมื่อศึกษาเส้นใยเชื้อราที่แยกได้นออาหารเลี้ยงเชื้อ PDA พบว่า สามารถแยกได้เชื้อราที่มีลักษณะเส้นใยเชื้อรามีสีขาว พู ละเอียดในช่วง 3 วันแรก จากนั้นเส้นใยเชื้อราจะเปลี่ยนเป็นสีเข้มขึ้นเมื่อเชื้อรามีอายุมากขึ้น และการเจริญของโคโคนีเชื้อราจะพบมีการเจริญของเส้นใยไม่เท่ากัน ทำให้ขอบโคโคนีเกิดเป็นขอบหยัก เมื่อศึกษาและจำแนกชนิดของเชื้อจากชิ้นส่วนพืชที่มีการสร้างส่วนขยายพันธุ์สีดำที่เชื้อสร้างขึ้น ก็พบว่าเชื้อรามีการสร้าง perithium ขนาดเล็กสีดำ ฝังที่บริเวณแผล และภายใน perithium มีสปอร์ขนาดเล็กบรรจุอยู่ มีลักษณะรูปร่าง กลมรี เล็ก ใส มี 1-2 septate เมื่อเปรียบลักษณะเชื้อราดังกล่าวที่แยกได้กับเอกสารที่ใช้ในการจำแนกชนิดเชื้อรา ILLUSTRATED GENERA of IMPERFECT FUNGI และหนังสือดรชนีโรคพืชในประเทศไทย ก็พบว่า โรครอยางไหลจากแตงแคนตาลูป และแตงเมล่อนที่เก็บตัวอย่างได้จาก จ. พะเยา จ. สระแก้ว และ จ. สุพรรณบุรี จำนวน 3 ไอโซเลท นั้น คือเชื้อรา *D. bryoniae* ซึ่งเชื้อสาเหตุโรครอยางไหล (Gummy Stem Blight) ในประเทศไทยมีรายงานว่าเกิดจากเชื้อรา *Didymella bryoniae* (Auersw.) Rehm. ซึ่งเป็นราชชั้นสูง มีการระยะการสืบพันธุ์ 2 แบบ คือ ในระยะที่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (sexual stage, teleomorph) 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 ๆ ครั้ง ซึ่งพบว่าเชื้อราสาเหตุโรครามีการเจริญที่ช้าเมื่อเทียบกับเชื้อราที่แยกได้จากชิ้นส่วนพืชครั้งแรก ทำให้ในการศึกษาลักษณะต่างๆ และการปลูกเชื้อสาเหตุโรคต้องใช้เวลาในการเลี้ยงเชื้อ 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 งานอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง และทำการบันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตของเชื้อและลักษณะของเส้นใยทุกวัน เป็นเวลา 9 วัน ผลการทดลองพบว่า เชื้อราสาเหตุโรคสามารถเจริญได้ดีทั้ง 3 ไอโซเลท ในสูตรอาหาร PDA OMA และ V8 agar ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบการเจริญแต่ละไอโซเลทแล้วพบว่า ไอโซเลทสุพรรณบุรี มีการเจริญของเส้นใยได้ดีกว่าไอโซเลทสระแก้ว และ พะเยา (ตารางที่ 1)

สำหรับผลการทดลองการศึกษาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการสร้าง perithecium ของเชื้อรา *D. bryoniae* นั้น เนื่องจากห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืชประสบภัยน้ำท่วมในปี 2554 ทำให้ไม่สามารถเก็บผลการทดลองได้ จึงต้องทำการทดลองซ้ำในปี 2555 ต่อไป

ตารางที่ 1 การศึกษาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *D. bryoniae* สาเหตุโรคยางไหล จำนวน 3 ไอโซเลท ที่อุณหภูมิห้อง หลังการทดลอง 9 วัน

สูตรอาหาร	Isolate		
	สระแก้ว	พะเยา	สุพรรณบุรี
PDA	6.75	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
PSA	5.90	4.95	6.64

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่ได้จากอาหารแต่ละสูตรๆละ 10 ซ้ำ

4 การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเส้นใยและการสร้าง perithecium ของรา *D. bryoniae*

จากการทดสอบเลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคจำนวน 3 ไอโซเลท ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร จำนวน 7 สูตร ได้แก่ PDA PSA PCA MEA CMA OMA และ V8 agar สูตรๆละ 10 งานอาหารเลี้ยงเชื้อ และนำไปบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 10, 20 และ 25 องศาเซลเซียส ทำการบันทึกข้อมูลการเจริญเติบโต

ของเชื้อและลักษณะของเส้นใยทุกวัน เป็นเวลา 9 วัน ผลการทดลองพบว่า เชื้อราสาเหตุโรคสามารถเจริญได้ดีทั้ง 3 ไอโซเลท ในทุกสูตรอาหารที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *D. bryoniae* สาเหตุโรคยางไหล จำนวน 3 ไอโซเลท ที่อุณหภูมิห้อง หลังการทดลอง 9 วัน

สูตรอาหาร	10 °C			20 °C			25 °C		
	สระแก้ว	พะเยา	สุพรรณบุรี	สระแก้ว	พะเยา	สุพรรณบุรี	สระแก้ว	พะเยา	สุพรรณบุรี
PDA	1.64	4.34	1.83	9.00	8.93	9.00	6.08	5.76	8.20
V8	1.85	2.30	2.08	8.28	8.60	9.00	5.41	6.66	6.38
MEA	2.71	1.89	1.04	7.73	8.10	8.28	6.16	6.19	7.01
OMA	2.11	2.30	2.30	8.27	8.07	8.83	7.70	6.95	7.85
PCA	1.64	1.60	0.98	8.48	6.36	8.75	5.73	6.04	7.02
CMA	1.85	1.57	1.14	6.35	7.45	8.92	4.42	3.59	5.71
PSA	1.59	1.41	0.96	9.00	9.00	8.73	6.65	6.70	7.86

สรุปผลการทดลอง

สำรวจและเก็บตัวอย่างแดงกวา แดงร้าน แดงแคนตาลูป และแดงเมล่อนที่แสดงอาการโรคยางไหล ที่ จ.สุพรรณบุรี แพร์ สระแก้ว และพะเยา เพื่อแยกหาเชื้อสาเหตุในห้องปฏิบัติการ สามารถแยกได้รา *D. bryoniae* จำนวน 3 ไอโซเลท ทดสอบการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคจำนวน 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

จากการทดสอบเลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคจำนวน 3 ไอโซเลท ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร จำนวน 7 สูตร ได้แก่ PDA PSA PCA MEA CMA OMA และ V8 agar สูตรๆละ 10 จานอาหารเลี้ยงเชื้อ และนำไปป่มเชื้อที่อุณหภูมิ 10, 20 และ 25 องศาเซลเซียส ทำการบันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตของ

เชื้อและลักษณะของเส้นใยทุกวัน เป็นเวลา 9 วัน ผลการทดลองพบว่า เชื้อราสาเหตุโรคสามารถเจริญได้ดีทั้ง 3 ไอโซเลท ในทุกสูตรอาหารที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

เอกสารอ้างอิง

ทัศนพร ทศคร 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 โรงแรม

เมธาวลัย 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.

การจำแนกชนิดและเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมของ Race
 แบคทีเรีย *Ralsonia solanacearum* ที่พบในประเทศไทย
 Identification and DNA Fingerprint of Race
 of *Ralsonia solanacearum* in Thailand

ณัฐริมา โฆษิตเจริญกุล ทิพวรรณ กันหาญาติ บุรณี พัววงศ์แพทย์ รุ่งนภา ทองเครื่อง
 กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การจำแนกชนิด Race แบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ที่พบในประเทศไทย โดยทำการฟื้นฟูการมีชีวิตของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของพืชตระกูลมะเขือและขิง ที่เก็บรักษาไว้ใน culture collection จำนวน 15 ไอโซเลท คัดเลือกโคโลนีที่รุนแรงบนอาหาร TZC เพื่อใช้ในการทดสอบ ทำการปลูกพืชอาศัยของ แบคทีเรีย *R. solanacearum* ได้แก่ พริก มะเขือเทศ มะเขือเปราะ อายุ 1 เดือน จากนั้นทำการทดสอบการเกิดโรคและชนิดของ race โดยนำแบคทีเรีย *R. Solanacearum* ที่คัดเลือกไว้ ที่ความเข้มข้น 10^8 cfu/ml มาปลูกเชื้อลงบนพืชอาศัยที่เตรียมไว้ ผลการทดสอบพบว่า พืชอาศัยทั้งหมดแสดงอาการของโรคเหี่ยวภายใน 14-28 วัน ยืนยันการเกิดโรค โดยสามารถแยกเชื้อ *R. solanacearum* ได้จากต้นพืชทดสอบที่แสดงอาการเหี่ยวทุกต้น ผลการจัดจำแนก Race ของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของพืชตระกูลมะเขือและขิง คือ Race 1 อยู่ในระหว่างการจำแนกชนิด Biovar ของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของพืชตระกูลมะเขือและขิง

รหัสการทดลอง 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 ชিং และ ปทุมมา เป็นต้น เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้สามารถอาศัยอยู่ในดินได้เป็นเวลานาน สามารถเข้าทำลายพืชทางรากโดยเข้าตามรอยแผลที่เกิดจากการทำลายของแมลง ไล่เดือนฝอย รอยฉีกขาดของรากหรือแผลที่เกิดในธรรมชาติ สามารถแพร่ระบาดไปกับน้ำได้ดีโดยเฉพาะในช่วงฤดูฝนที่มีฝนตกชุกจะมีการระบาดของโรครุนแรงและรวดเร็ว เชื้อนี้สามารถติดไปกับหัวพันธุ์โดยสามารถแอบแฝงอยู่ในหัวพันธุ์ (Latent infection) เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมและปริมาณของเชื้อโรคมักพอที่จะแสดงอาการของโรคออกมา 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) ลักษณะของเชื้อแบคทีเรียตามการกระจายตามภูมิประเทศและการเกิดโรคบนพืชอาศัยไว้ดังนี้

- Race 1: มีผลกระทบกับยาสูบ, มะเขือเทศ, มันฝรั่ง, มะเขือยาว, กล้าย diploid และพืชในกลุ่มมะเขืออื่นๆ และ วัชพืช มีการเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิสูง โดยมีอุณหภูมิสูงสุด (35-37 ° C).
- Race 2: มีผลกระทบกับกล้าย triploid (ก่อให้เกิดโรค Moko) และ เฮลิโคเนีย มีการเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิสูง โดยมีอุณหภูมิสูงสุด (35-37 ° C).
- Race 3: มีผลกระทบส่วนใหญ่กับมันฝรั่งและมะเขือเทศ ไม่มีผลกระทบกับพืชกลุ่มมะเขืออื่นๆ มีการเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิต่ำ อุณหภูมิสูงสุด (27 ° C).
- Race 4: มีผลกระทบกับพืชตระกูลขิง (*Zingiber officinale*) มีการเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิสูง โดยมีอุณหภูมิสูงสุด (35-37 ° C).

Race 5: มีผลกระทบต่อพืชตระกูลหม่อน (*Morus spp.*) ที่พบที่ประเทศจีน มีการเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิสูง โดยมีอุณหภูมิสูงสุด (35-37 ° C).

บางสายพันธุ์สามารถเกิดโรคกับพืชอาศัยได้กว้างแต่บางสายพันธุ์เกิดโรคกับพืชในวงศ์จำกัด เช่น สายพันธุ์ที่พบในแถบเขตกึ่งหนาวเช่นในแถบประเทศยุโรป เรียกว่าเป็นสายพันธุ์ที่เรียกว่า low temperature จัดอยู่ใน race 3 ซึ่งทำให้เกิดโรคกับมันฝรั่ง และมะเขือเทศในเขตพื้นที่สูงที่มีอากาศหนาวเย็นเท่านั้น นอกจากนี้ยังมีสายพันธุ์ที่เข้าทำลายพืชตระกูลกล้วยเท่านั้น จัดอยู่ใน race 2 (ก่อให้เกิดโรค Moko disease) ในประเทศไทยได้มีการจัดจำแนกชนิดของเชื้อ *R. solanacearum* ไว้บ้างแต่ยังไม่มีการศึกษาและรายงานชนิดของrace ที่พบในประเทศไทย ทำให้ขาดข้อมูลการเกิดโรค ความรุนแรง ตลอดจนพืชอาศัยที่พบในประเทศไทย ซึ่งถ้าทราบถึงชนิดของrace ของเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* จะทำให้หาวิธีการป้องกันกำจัดได้อย่างถูกต้องต่อไป และเป็นการรายงานชนิดของ race ของเชื้อ *R. solanacearum* ในประเทศไทย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อชนิดปลอดเชื้อ อุปกรณ์การแยกเชื้อแบคทีเรีย
2. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ตู้เย็นสำหรับเก็บตัวอย่าง หม้อนึ่งความดันไอน้ำ เครื่องเขย่าชนิดควบคุมอุณหภูมิ เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ตู้อบ (oven)
3. เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่นๆที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องชั่ง, pH meter เป็นต้น
4. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ
5. วัสดุการเกษตร ได้แก่ ดิน กระจ่างต้นไม้ 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 กระเทียม) หน้าวัว ฤาษีผสม กล้วยชนิดต่างๆ เป็นต้น

2. การเตรียมเชื้อ *Ralstonia solanacearum* นำเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* ที่เก็บรักษาไว้ในแหล่งเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมโรคพืช จำนวน 300 ไอโซเลท มาเลี้ยงในอาหาร TTC ที่

อุณหภูมิ 30 °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 ทำการละลายเชื้อด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ ปรับความเข้มข้นของเชื้อโดยการวัดค่าความขุ่นโดยใช้เครื่องspectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 600 นาโนเมตร ให้ได้ค่า OD เท่ากับ 0.3 มีความเข้มข้นของเชื้อประมาณ 10⁸ cfu/ml

3. การปลูกเชื้อ *R. solanacearum* บนพืชอาศัย โดยก่อนปลูกเชื้องดการให้น้ำพืชทดสอบเป็นเวลา 1 วัน ทำการปลูกพืชทดสอบโดยใช้มีดหรือคัตเตอร์ที่สะอาดตัดส่วนรากห่างจากต้น 1-2 เซนติเมตร รดด้วยสารละลายเชื้อที่เตรียมข้างต้นทันที โดยใช้อัตราส่วนสารละลายต่อดินในกระถาง 1: 10(V/V) (~ 25 มิลลิลิตร/ต้น)

4. บันทึกผล ตรวจสอบผลการทดลองทุกๆ 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 *Ralstonia 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

ใช้การแยกสกัดจีโนมิก ดีเอ็นเอ โดยตามวิธีของ Pitcher et al. (1989) ใช้เชื้อบริสุทธิ์แบคทีเรีย *R.solanacearum* ที่เลี้ยงบนอาหารแข็ง LB อายุ 48 ชั่วโมง ใช้ลูบฆ่าเชื้อ และเชื้อแบคทีเรียให้เต็มหนึ่งลูบละลายใน 1 ml ของ Resuspension buffer (0.15 M NaCl และ 0.01M EDTA, pH 8.0) นำไปปั่นตกตะกอนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง ที่ความเร็ว 12,000 g เป็นเวลา 5 นาที ที่ส่วนน้ำใสข้างบน 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 °C 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 °C 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 consensus (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 (NH₄)₂SO₄, 2.0 mM MgCl₂, 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 แล้วเติมน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อให้ได้ปริมาตรรวม 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. ไพรมเมอร์เริ่มต้นจับคู่กับดีเอ็นเอแม่แบบ (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 ตรวจสอบแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอุลตราไวโอเลต

เวลาและสถานที่

ต.ค.53 – ก.ย.58 ที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การจำแนกชนิด Race แบบที่เรีย *Ralstonia solanacearum* ที่พบในประเทศไทย โดยทำการฟื้นฟูการมีชีวิตของแบบที่เรีย *R. solanacearum* ของพืชตระกูลมะเขือและขิง ที่เก็บรักษาไว้ใน culture collection จำนวน 15 ไอโซเลท คัดเลือกโคโลนีที่รุนแรงบนอาหาร TZC เพื่อใช้ในการทดสอบ ทำการปลูกพืชอาศัยของ แบบที่เรีย *R. solanacearum* ได้แก่ พริก มะเขือเทศ มะเขือเปราะ อายุ 1 เดือน จากนั้นทำการทดสอบการเกิดโรคและชนิดของ race โดยนำแบบที่เรีย *R. Solanacearum* ที่คัดเลือกไว้ ที่ความเข้มข้น 10^8 cfu/ml มาปลูกเชื้อลงบนพืชอาศัยที่เตรียมไว้ ผลการทดสอบพบว่า พืชอาศัยทั้งหมดแสดงอาการของโรคเหี่ยวภายใน 14-28 วัน ยืนยันการเกิดโรค โดยสามารถแยกเชื้อ *R. solanacearum* ได้จากต้นพืชทดสอบที่แสดงอาการเหี่ยวทุกต้น การจัดจำแนก Race ของแบบที่เรีย *R. solanacearum* ของพืชตระกูลมะเขือและขิง คือ Race 1 อยู่ในระหว่างการจำแนกชนิด Biovar ของแบบที่เรีย *R. solanacearum* ของพืชตระกูลมะเขือและขิง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การจำแนกชนิด Race แบบที่เรีย *Ralstonia solanacearum* ที่พบในประเทศไทย โดยทำการฟื้นฟูการมีชีวิตของแบบที่เรีย *R. solanacearum* ของพืชตระกูลมะเขือและขิง ที่เก็บรักษาไว้ใน culture collection จำนวน 15 ไอโซเลท สามารถจัดจำแนก Race ของแบบที่เรีย *R. solanacearum* ของพืชตระกูลมะเขือและขิง คือ Race 1 อยู่ในระหว่างการจำแนกชนิด Biovar ของแบบที่เรีย *R. solanacearum* ของพืชตระกูลมะเขือและขิงและจัดจำแนก Race และ Biovar ของแบบที่เรีย *R. solanacearum* จากมันฝรั่ง

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.

การจำแนกชนิดแบคทีเรีย *Erwinia* สาเหตุโรคน้ำและ
โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม

Characterization of *Erwinia*

the Causal Agent of Soft Rot Diseases in Thailand

รุ่งนภา คงสุวรรณ^{1/} บุรณี พัววงศ์แพทย์^{1/} สุรีย์พร บัวอาจ^{1/} ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์^{2/}

^{1/}กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/}กลุ่มวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

บทคัดย่อ

ทำการแยกเชื้อสาเหตุโรคน้ำและจากตัวอย่างพืชและดิน นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ ไปทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี และเก็บเชื้อบริสุทธิ์ในน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ

คำนำ

โรคน้ำและของพืชผักมีสาเหตุเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย และส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม soft rot *Erwinia* โดยแบคทีเรียในกลุ่มนี้สร้างเอ็นไซม์ย่อยสลายเซลล์พืช ที่มีกพบเข้าทำลายพืชได้อย่างกว้างขวางได้แก่ *Erwinia carotovora* และ *Erwinia chrysanthemi* สำหรับเชื้อ *Erwinia carotovora* สามารถแบ่งได้เป็น 5 subspecies ได้แก่ *Erwinia carotovora* ssp. *atroseptica*, *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora*, *Erwinia carotovora* ssp. *betavasculorum*, *Erwinia carotovora* ssp. *wasabiae* และ *Erwinia carotovora* ssp. *odorifera*. (Goto and Matsumoto, 1987; Gallois et al., 1992) อาการเน่าและสามารถเกิดขึ้นได้ทั้งบนต้นพืชที่กำลังเจริญเติบโต และเก็บเกี่ยวแล้ว รวมทั้งพืชหรือส่วนของพืชที่เก็บไว้ในตู้ฉาง หรือระหว่างการขนส่ง โดยสภาพอากาศที่ร้อนและมีความชื้นสูงจะเหมาะแก่การเกิดโรคนี้

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-02-08-54

ความเสียหายทางเศรษฐกิจที่เกิดจากโรคนี้นั้นขึ้นอยู่กับมูลค่าของพืชที่เชื้่นนี้เข้าทำลาย ความเสียหายที่เกิดจากโรคนี้นี้จะแตกต่างกันไปในแต่ละพื้นที่ และสภาพอากาศ

ทั้งนี้แบคทีเรียสาเหตุโรคน้และ เป็นเชื้อที่ทนร้อนได้ถึง 37 องศาเซลเซียส จึงเป็นปัญหาที่สำคัญของพืชเศรษฐกิจในประเทศไทยหลายชนิด โดยเฉพาะในพืชผักซึ่งพบการระบาดของแพร่หลายในทุกพื้นที่ที่มีการปลูกผัก เช่น กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก กะหล่ำปม ผักกาดขาว ผักกวางตุ้ง ผักกาดเขียวปลี บรอกโคลี คื่นช่าย แครอท ผักกาดหัว พริกหยวก พริกยักษ์ พริกชี้หนู พริกจินดา ผักชี ผักกาดหอม ผักกาดทางหงส์ ผักกาดฮ่องเต้ มันฝรั่ง มันเทศ มะเขือเทศ ถั่วแขก ถั่วลันเตา ถั่วฝักยาว ข้าวโพดหวาน หน่อไม้ฝรั่ง หอม กระเทียม และ พืชผักอื่นๆอีกหลายชนิด นอกจากนี้ยังมีรายงานการเกิดโรคน้จากเชื้อ *Erwinia* ในพืชอื่นๆอีก เช่น บุก กล้วยไม้ (พัฒนาและคณะ, 2537; ศักดิ์, 2537; นิตยา, 2545; วงศ์และคณะ, 2538; วิชัย, 2531) ปัจจุบันในยุคการค้าเสรี การเตรียมความพร้อมของข้อมูลเป็นสิ่งสำคัญ *Erwinia* จัดเป็นเชื้อที่สำคัญชนิดหนึ่ง จึงควรมีการสำรวจ รวบรวม ศึกษาคุณสมบัติทางชีววิทยาและการอยู่ข้ามฤดูปลูกของเชื้อ ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อกับพืชอาศัย สำหรับเป็นข้อมูลพื้นฐานการเกิดโรค การแพร่ระบาด การจัดการโรคและเป็นฐานข้อมูลสำหรับงานกักกันพืชต่อไป

วิธีดำเนินการ

การทดลองย่อยที่ 1 อนุกรมวิธานและชีววิทยาของเชื้อแบคทีเรีย *Erwinia* สาเหตุโรคน้และในประเทศไทย

อุปกรณ์

อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างโรคพืช ดินและน้ำที่ใช้เพาะปลูก, กล้องถ่ายภาพ, วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการแยกตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียจากตัวอย่างโรคพืช, อาหารเลี้ยงเชื้อ, สารเคมีและอาหารสำหรับทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ, เครื่องแก้วและอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องทดลอง, ตู้บ่มเชื้อ, ขวดสำหรับเก็บเชื้อบริสุทธิ์

วิธีการ

1. รวบรวมข้อมูลการเกิดโรคน้และในพืชต่างๆที่มีรายงานใหม่ วางแผนการสำรวจโรคในพื้นที่ปลูกพืชต่างๆ และจัดเตรียมอุปกรณ์สารเคมีที่จะใช้ในการทดลอง

2. สำรวจโรค เก็บตัวอย่างโรคจากแหล่งปลูกพืชต่างๆ เก็บตัวอย่างวัชพืชและดินในแปลงที่พบโรค และน้ำที่ใช้ในการเพาะปลูก

3. แยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคน้ำและบนอาหารเลี้ยงเชื้อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์
4. ทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ การใช้แหล่งคาร์บอน
5. เก็บเชื้อแบคทีเรียที่บริสุทธิ์ใน culture collection ของกลุ่มวิจัยโรคพืชเพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป
6. รวบรวมข้อมูลและเขียนรายงานความก้าวหน้าของการทดลอง

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2554-กันยายน 2555 กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และแปลงปลูกพืชของเกษตรกร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคน้ำและของพืชผักในพื้นที่จังหวัด ขอนแก่น อุดรธานี สกลนคร อุดรดิตถ์ ลำปาง ลำพูน แม่ฮ่องสอน เชียงใหม่ เพชรบุรี และ ประจวบคีรีขันธ์ พบพืชผักที่มีอาการเน่า 34 ตัวอย่าง คือ ผักกาดขาวปลี 4 ตัวอย่าง ผักกวางตุ้ง 3 ตัวอย่าง ผักคะน้า 1 ตัวอย่าง กระเทียม 3 ตัวอย่าง กะหล่ำปลี 4 ตัวอย่าง กะหล่ำดอก 4 ตัวอย่าง หอมแดง 3 ตัวอย่าง ผักกาดเขียวปลี 3 ตัวอย่าง มันฝรั่ง 5 ตัวอย่าง หอมแดงพม่า 1 ตัวอย่าง ผักกาดแก้ว 1 ตัวอย่าง ว่านหางจระเข้ 2 ตัวอย่าง และเก็บตัวอย่างดิน 4 ตัวอย่าง แยกเชื้อสาเหตุโรคน้ำและจากตัวอย่างพืชและดิน ทดสอบการสร้าง pectolytic enzyme ของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้บนชิ้นมันฝรั่ง ได้เชื้อที่ทำให้ขึ้นมันฝรั่งเน่า จำนวน 22 ไอโซเลท นำไปทดสอบแกรม ปฏิกริยา catalase, oxidation/fermentation, oxidase, lecithinase, การสร้างกรดจากน้ำตาล lactose, maltose และ trehalose การทนต่อเกลือ 5% การใช้ citrate และ malonate การสร้าง indole การไวต่อสาร erythromycin การเจริญของเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °C และ ที่ ความเป็นกรด-ด่าง 5, 6 และ 8 และเก็บเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้ในน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการแยกเชื้อสาเหตุโรคน้ำและจากตัวอย่างพืชและดิน ได้เชื้อที่สร้าง pectolytic enzyme ทำให้ขึ้นมันฝรั่งเน่าได้ 22 ไอโซเลท สำหรับใช้ในการทดลองการจัดจำแนกและศึกษา ลักษณะทางพันธุกรรมต่อไป

คำขอบคุณ (ถ้ามี)

เอกสารอ้างอิง

- พัฒนา สนธิรัตน์ ประไพศรี พิทักษ์ไพรวรรณ ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์ วิรัช อยู่บำรุง และ อุบล คือ ประโคน. 2537. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย. กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร สหมิตรพรีนติ้ง นนทบุรี 285 หน้า.
- นิตยา ก้นหลง. 2545. สมุดภาพโรคสำคัญของพืชสกุลหอมกระเทียมในประเทศไทย เอกสารวิชาการ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา ปี พ.ศ. 2545 31หน้า
- ศักดิ์ สุนทรสิงห์. 2537. โรคของผักและการป้องกันกำจัด. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 198 หน้า.
- วงศ์ บุญสืบสกุล ณีฐิมา บุญวัฒน์ สุทธิพงษ์ ญาณวารี สุเนตรา ภาวิจิตร. 2538. การศึกษาสาเหตุโรคเน่าของบวบที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย หน้า 82-92 ใน: รายงานผลวิจัย พ.ศ. 2538 กลุ่มงานแบคทีเรียวิทยา กองโรคพืชและจุลชีววิทยา
- วิชัย โฆษิตรัตน์. 2531. โรคพืชที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 133 หน้า
- Gallois A, R. Samson and P.A.D. Grimont. 1992. *Erwinia carotovora* subsp. *odorifera*, subsp. *nov.*, associated with odorous soft rot chicory (*Cichorium intybus* L.). *International Journal of Systematic Bacteriology* 42: 582-588.
- Goto M. and K. Matsumoto. 1987. *Erwinia carotovora* subsp. *wasabiae* subsp. *nov.* isolated from diseased rhizomes and fibrous roots of Japanese horseradish (*Eutrema wasabi* Maxim). *International Journal of Systematic Bacteriology* 37: 130-135.

ภาคผนวก (ถ้ามี)

อนุกรมวิธานและความสามารถในการทำให้เกิดโรคของไส้เดือนฝอย migratory
endoparasitic nematodes
Taxonomy and pathogenicity of migratory endoparasitic nematodes

ไตรเดช ข่ายทอง ธิติยา สารพัฒน์ มนตรี เอี่ยมวิม้งสา
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ในปี 2554 เก็บตัวอย่างดินบริเวณรากพืชในพื้นที่ปลูกพืชภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคใต้ จำนวน 113 ตัวอย่างตรวจพบไส้เดือนฝอยสกุล *Pratylenchus* จำนวน 34 ตัวอย่าง ในปี 2555 เลี้ยงไส้เดือนฝอยบนรากข้าวโพดในสภาพปลอดเชื้อ ทำการคงสภาพไส้เดือนฝอย ทำสไลด์ถาวรและจำแนกชนิดได้เป็นไส้เดือนฝอย *P. coffeae* จากตัวอย่างดิน 20 แห่ง *P. brachyurus* จากตัวอย่างดิน 1 แห่ง และยังจำแนกชนิดที่ชัดเจนไม่ได้ จากตัวอย่างดิน 2 แห่ง

คำนำ

Migratory endoparasitic nematodes เป็นไส้เดือนฝอยชนิดที่เข้าสู่รากพืช ดูดกินอาหาร และเคลื่อนที่ภายในรากพืช ไส้เดือนฝอยกลุ่มนี้ไม่ชักนำให้เซลล์รากพืชเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นแหล่งอาหาร (Feeding Site) เหมือนกับไส้เดือนฝอยรากปม (Root-knot Nematodes) หรือไส้เดือนฝอยซิสต์ (Cyst Nematodes) แต่จะเข้าทำลายเนื้อเยื่อของรากในส่วน Cortex Parenchyma เป็นหลัก โดยดูดกินอาหารจากเซลล์และเคลื่อนที่ภายในรากพืช การเคลื่อนที่และดูดกินอาหารดังกล่าวทำให้รากเป็นโพรง เกิดแผลสีน้ำตาล ในบางกรณีรากอาจถูกเชื้อโรคอื่นๆ เข้าทำลายซ้ำเติม ต้นพืชที่ระบบรากถูกไส้เดือนฝอยเข้าทำลายจะมีอาการแคระแกรน ต้นโทรม ใบเหลือง ผลผลิตลดลง *Pratylenchus* และ *Radopholus* เป็นไส้เดือนฝอยสกุลที่สำคัญของไส้เดือนฝอยกลุ่มนี้ ซึ่งโดยทั่วไปเป็นไส้เดือนฝอยที่มีพืชอาศัยกว้าง อย่างไรก็ตามไส้เดือนฝอยชนิดต่างๆ จะมีความสำคัญ และทำความเสียหายต่อพืชแต่ละชนิดแตกต่างกันออกไป เช่น *P. coffeae* และ *P. goodeyi* เป็นศัตรูที่สำคัญของกล้วย (Gowen et al., 2005) *P. coffeae*, *P. brachyurus*, *P. goodeyi*, *P. pratensis*, *P. loosi*, *P. panamaensis*, *P. zae* and *P. vulnus* เป็นศัตรูของกาแฟ (Campos and Villain, 2005) *P. penetrans* ทำลาย

พืชได้มากถึง 400 ชนิด (Evans et al., 1993) ไส้เดือนฝอยรากโพรง *Radopholus similis* สามารถทำลายพืชได้มากกว่า 250 ชนิด (O'Bannon, 1977) จำนวนไส้เดือนฝอย *R. similis* เริ่มต้น

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-02-09-54

เพียง 10 ตัว สามารถสร้างความเสียหายแก่ต้นหน้าวัวได้ (Sipes and Lichty, 2002) การทดลองนี้เป็นการรวบรวมไส้เดือนฝอยสกุล *Pratylenchus* เป็นหลัก ปัจจุบันไส้เดือนฝอยรากแผลได้ถูกจำแนกแล้วมากกว่า 60 ชนิด มีรายงานการพบไส้เดือนฝอยรากแผล *P. brachyurus*, *P. coffeae*, *P. zaeae*, *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 การดำเนินงานในปีงบประมาณ 2555 ทำการจำแนกไส้เดือนฝอยรากแผล *Pratylenchus* spp. โดยใช้ลักษณะทางสัณฐาน เพื่อทราบชนิดของไส้เดือนฝอยที่ชัดเจน

การเก็บตัวอย่างดิน

เก็บตัวอย่างดินและรากพืชจากแปลงปลูกพืชในจังหวัดต่างๆ โดยใช้ท่อเก็บตัวอย่างดินขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 นิ้ว เก็บดินลึกประมาณ 20 เซนติเมตร โดยสุ่มเก็บจำนวน 20 จุดต่อ 1 ตัวอย่าง บันทึกวันที่เก็บตัวอย่าง ชนิดพืช บันทึกพิกัดทางภูมิศาสตร์

การแยกไส้เดือนฝอยจากตัวอย่างดินและการเลี้ยงเพิ่มจำนวนไส้เดือนฝอย

แยกไส้เดือนฝอยออกจากตัวอย่างดินโดยวิธีการล้างตัวอย่างดิน และกรองน้ำส่วนบนผ่านตะแกรงโลหะที่มีขนาดช่อง 850 ไมโครเมตร วางบนตะแกรงที่มีขนาดช่อง 38 ไมโครเมตร ล้างตัวอย่างดินที่ค้างอยู่บนตะแกรงอันล่าง และนำตัวอย่างไส้เดือนฝอยบนกระดาษกรอง ที่วางอยู่บนตะแกรงไนลอน วางลงในจานรองที่มีน้ำสะอาด (Decanting and Sieving with Baermann's Tray Technique) ตรวจไส้เดือนฝอยภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ โดยการเขี่ยตัวเต็มวัยเพศเมียของไส้เดือนฝอยที่มีไข่ใส่ลงใน streptomycin sulfate ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทิ้งไว้ 3

ชั่วโมง จากนั้นใช้เข็มเย็บที่สะอาด เขี่ยตัวเต็มวัยเพศเมียของไส้เดือนฝอย 1 ตัว วางลงบนรากข้าวโพดที่เลี้ยงบนอาหาร B5 ในจานเลี้ยงเชื้อ เลี้ยงเพิ่มจำนวนไส้เดือนฝอยจนได้ไส้เดือนฝอยจำนวนมาก และแยกไส้เดือนฝอยโดยการแช่รากข้าวโพดในน้ำกลั่น นำไส้เดือนฝอยที่ได้ไปคงสภาพและทำสไลด์ถาวร

การคงสภาพไส้เดือนฝอยทำสไลด์ถาวร และจำแนกชนิดไส้เดือนฝอย

ทำการคงสภาพไส้เดือนฝอยและทำสไลด์ถาวร โดยวิธีของ Ryss (2003) จำแนกชนิดไส้เดือนฝอย *Pratylenchus* spp. โดยใช้คู่มือการจัดจำแนกของ Castillo, P., and N. Vovlas (2007)

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2554 สิ้นสุด กันยายน 2558

กลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในปี 2554 ทำการเก็บตัวอย่างดินจำนวนทั้งสิ้น 113 ตัวอย่าง ตรวจสอบไส้เดือนฝอยสกุล *Pratylenchus* 34 ตัวอย่าง เลี้ยงไส้เดือนฝอยจากตัวเต็มวัยเพศเมียที่มีไข่ 1 ตัวบนชิ้นแครอทได้สำเร็จ 6 ตัวอย่าง ซึ่งการเลี้ยงไส้เดือนฝอยบนชิ้นแครอทประสบปัญหาในการเตรียมชิ้นแครอทที่ปลอดเชื้อ เนื่องจากแครอทที่ซื้อมาจากตลาดส่วนใหญ่มีแบคทีเรียอยู่ภายใน ทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อขึ้นในภายหลัง นอกจากนี้การเลี้ยงไส้เดือนฝอยจากตัวเต็มวัยเพียง 1 ตัว ใช้เวลานาน สภาพของชิ้นแครอทที่อยู่ในจานเลี้ยงเชื้ออาจเปลี่ยนไป ซึ่งอาจไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอย ทำให้ไส้เดือนฝอยตายในที่สุด การเลี้ยงไส้เดือนฝอยบนชิ้นแครอทตรวจสอบการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอยได้ยาก ต้องรอจนกระทั่งไส้เดือนฝอยมีจำนวนมากพอที่จะสังเกตเห็นได้ ได้แก่ปัญหาโดยการเลี้ยงไส้เดือนฝอยบนรากข้าวโพด บนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในสภาพปลอดเชื้อ ซึ่งประสบผลสำเร็จมากกว่า และสามารถตรวจสอบการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอยและ sub-culture ได้ง่าย

ในปี 2555 ได้เลี้ยงไส้เดือนฝอย *Pratylenchus* บนรากข้าวโพด แยกไส้เดือนฝอยจากรากข้าวโพด ทำการคงสภาพไส้เดือนฝอยและทำสไลด์ถาวร จำแนกไส้เดือนฝอยโดยใช้คู่มือการจัดจำแนกของ Castillo, P., and N. Vovlas (2007) โดยจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยจากผลจากตัวอย่างดิน 23 แห่ง (38 ตัวอย่าง) จำแนกได้ไส้เดือนฝอย *P. coffeae* จากตัวอย่างดิน 20 แห่ง *P. brachyurus* จากตัวอย่างดิน 1 แห่ง และยังมีจำแนกชนิดที่ชัดเจนไม่ได้จากตัวอย่างดิน 2 แห่ง (ตารางที่ 1)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จำแนกชนิดไส้เดือนฝอยจากผลจากตัวอย่างดิน 23 แห่ง (38 ตัวอย่าง) จำแนกได้ไส้เดือนฝอย *P. coffeae* จากตัวอย่างดิน 20 แห่ง *P. brachyurus* จากตัวอย่างดิน 1 แห่ง และยังมีจำแนกชนิดที่ชัดเจนไม่ได้ จากตัวอย่างดิน 2 แห่ง

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.
- Castillo, P., and N. Vovlas. 2007. *Pratylenchus* (Nematoda: Pratylenchidae): Diagnosis, Biology, Pathogenicity and Management. Brill Leiden, Boston.
- 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.
- Ryss A.Y. 2003. Express technique to prepare permanent collection slides of nematodes. *Zoosystematica Rossica* 11(2): 257-260.
- Sipes, B.S., and J.S. Lichty. 2002. *Radopholus similis* damage to *Anthurium andraeanum*. *Nematropica* 32:77-81.

ตารางที่ 1 ชนิดไส้เดือนฝอยรากแผลที่จำแนกได้จากตัวอย่างดินจากพืชและสถานที่ต่างๆ

ลำดับที่	ชื่อตัวอย่าง	พืช	สถานที่เก็บตัวอย่าง	จำแนกชนิดได้เป็น
1	P200	กล้วย	อ.สวี จ.ชุมพร	<i>P. coffeae</i>
2	P263	กล้วย	อ.แมริม เชียงใหม่	<i>P. coffeae</i>
3	P171	ข้าวโพด	อ.อุ้มทอง จ.สุพรรณบุรี	-
4	P258	กล้วย	อ.แมริม เชียงใหม่	<i>P. coffeae</i>
5	PKK	กล้วย	อ. คลองขลุง จ. กำแพงเพชร	<i>P. coffeae</i>
6	P148	กล้วย	อ.สรรพยา จ.ชัยนาท	<i>P. coffeae</i>
7	P272	กล้วย	อ.แม่วาง จ.เชียงใหม่	<i>P. coffeae</i>
8	P268	กล้วย	อ.แมริม จ.เชียงใหม่	<i>P. coffeae</i>
9	PTS	มะเขือเปราะ	อ. สามพราน จ. นครปฐม	<i>P. coffeae</i>
10	P177	กล้วย	อ.ชะอำ จ.เพชรบุรี	<i>P. coffeae</i>
11	P247	กล้วย	จ. สิงห์บุรี	<i>P. coffeae</i>
12	PCR	กาแฟ	อ.สวี จ.ชุมพร	<i>P. coffeae</i>
13	P181	กล้วย	อ.บ้านนาเดิม จ.สุราษฎร์ธานี	<i>P. coffeae</i>
14	P226	กล้วย	อ.แมริม เชียงใหม่	<i>P. coffeae</i>
15	P262	กล้วย	อ.แมริม เชียงใหม่	<i>P. coffeae</i>
16	P252	กล้วย	จ. เชียงราย	<i>P. coffeae</i>
17	P227	ข้าวโพด	อ.แมริม เชียงใหม่	-
18	P192	กล้วย	อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา	<i>P. coffeae</i>
19	P193	กล้วย	อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา	<i>P. brachyurus</i>
20	P271	กล้วย	อ.แม่วาง จ.เชียงใหม่	<i>P. coffeae</i>
21	P154	กล้วย	อ.แม่วาง จ.เชียงใหม่	<i>P. coffeae</i>
22	P265	กล้วย	อ.แมริม เชียงใหม่	<i>P. coffeae</i>
23	P233	กล้วย	อ.แมริม เชียงใหม่	<i>P. coffeae</i>

การจำแนกชนิดของราสกุล *Colletotrichum*
 สาเหตุโรคพืช โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะทางพันธุกรรม
 Identification of *Colletotrichum* Plant Pathogenic Fungi Using
 Morphological and Molecular Characteristics

พรพิมล อธิปัญญาคม สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และ ชนินทร ดวงสอาด
 กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ผลการสำรวจรวบรวมและเก็บตัวอย่างสาเหตุโรคพืชที่เกิดจากรา *Colletotrichum* ได้ตัวอย่างโรคพืชทั้งหมด 93 ตัวอย่าง จากพืชอาศัยจำนวน 21 ชนิด ในจังหวัดกำแพงเพชร กาญจนบุรี กรุงเทพฯ จันทบุรี ฉะเชิงเทรา ชุมพร เชียงใหม่ เชียงราย นครปฐม นครนายก นครราชสีมา ตราดบุรีรัมย์ ปทุมธานี เพชรบูรณ์ เพชรบุรี พะเยา แม่ฮ่องสอน ระยอง ราชบุรี ลำพูน ศรีสะเกษ สระบุรี สมุทรสาคร สมุทรสงคราม สุโขทัย สุราษฎร์ธานี อุบลราชธานี และ อุตรดิตถ์ ตัวอย่างโรคพืชที่รวบรวมได้ทั้งหมดนำมาศึกษาในห้องปฏิบัติการโดยการศึกษาจากเนื้อเยื่อพืชโดยตรง การทำ moist chamber แยกจากเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรค และศึกษาจำแนกชนิดเชื้อโดยศึกษา ลักษณะทางสัณฐานวิทยา จากการศึกษาจำแนกได้รา *Colletotrichum* จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ *Colletotrichum capsici*, *C. falcatum*, *C. gloeosporioides*, *C. musae* และ unidentified species *Colletotrichum* spp. 10 ชนิด ซึ่งมีลักษณะของสปอร์คล้าย ๆ กัน ยังไม่สามารถจำแนก ชนิดได้แยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ และพบว่า *C. musae* เจริญได้ดีที่สุดบนอาหาร Oat Meal agar รองลงมาได้แก่ Potato Dextrose Agar และ Czapek Dox Agar จากการศึกษาครั้งนี้ได้เก็บเชื้อไว้ที่ อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษาการจำแนกชนิดของเชื้อในระดับ species และสกัด DNA ของ รา *Colletotrichum* จำนวน 15 ไอโซเลท เก็บรักษา DNA ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส และ จัดเก็บตัวอย่างแห้งโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืชที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช ตึกอภิศรีกสิการ สำนักวิจัย พัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-02-12-54

คำนำ

ราสกุล *Colletotrichum* พบแพร่กระจายอยู่ทั่วโลก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเขตร้อนและกึ่งเขตร้อน ดำรงชีวิตแบบ saprophyte และ parasite จัดเป็นราที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เนื่องจากเป็นสาเหตุของพืชเศรษฐกิจหลายชนิด สามารถเข้าทำลายพืชได้ทุกระยะการเจริญเติบโตของพืช ตั้งแต่ก่อนออกดอกจนถึงระยะหลังการเก็บเกี่ยว 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 ถุงพลาสติก 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 solution
5. สารเคมี ได้แก่ สารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ : สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ แอซิด แอลกอฮอล์ 75%
6. อาหารวุ้นสังเคราะห์ corn meal agar (CMA), potato dextrose agar (PDA)
7. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ ขวดดูแรน ปีกเกอร์ เป็นต้น
8. วัสดุอุปกรณ์อื่นๆ ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อ หม้อนึ่งความดัน ตู้อบฆ่าเชื้อเครื่องแก้ว เป็นต้น
9. กล้องจุลทรรศน์ compound microscope และ stereo microscope พร้อมกล้องถ่ายรูปและ camera lucida สำหรับวาดภาพจากกล้องจุลทรรศน์

วิธีการ

1. สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคพืช

เก็บตัวอย่างโรคพืช ได้แก่ ใบ ดอก ผล กิ่ง ลำต้น และราก จากแหล่งปลูกพืชในประเทศไทย ห่อด้วยกระดาษใสถุงพลาสติก และบันทึกรายละเอียด ชนิดพืช แหล่งที่เก็บ วันที่เก็บ ผู้เก็บ และแบ่งตัวอย่างโรคพืชมาอัดทับตัวอย่างแห้ง จัดเก็บในพิพิธภัณฑ์โรคพืช ตึกอสังคศรีศึกษา กลุ่มวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร

2. การแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืช

- ศึกษาลักษณะอาการของโรคและแยกเชื้อราโดยตรงจากเนื้อเยื่อพืช

ศึกษาลักษณะอาการของโรคและแยกเชื้อราโดยตรงจากชิ้นส่วนพืช ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo หรือ ทำ moist chamber บ่มที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ นาน 5-10 วัน เมื่อพบเชื้อราสร้างเส้นใยหรือ conidium ตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และใช้เข็มเขี่ยส่วนของเชื้อรามาวางบนสไลด์ หรือใช้ใบมีดตัดขวางชิ้นส่วนพืชให้บาง ๆ และตรวจดูลักษณะต่าง ๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound ถ่ายรูปลักษณะเชื้อและบันทึกลักษณะต่าง ๆ ของเชื้อ

- แยกเชื้อราโดยวิธี Tissue transplant

นำส่วนของพืชที่เป็นโรคมามาตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 0.5x0.5 มิลลิเมตร ให้คาบต่อส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 10 % เป็นเวลา 3-5 นาที ล้างในน้ำนิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำไปซับบนกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้แห้ง แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหาร 1/2 Potato 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 *Colletotrichum* 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 และถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Scanning Electron Microscope)

5. เก็บรักษาสายพันธุ์ราและตัวอย่างแห้ง

เก็บรักษาราที่แยกได้ไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และเก็บรักษาไว้ใน Culture Collection และเก็บตัวอย่างแห้งโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์ โรคพืช ตึกอภิศรีศรีการ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

6. การพิสูจน์การเกิดโรค

ทำการพิสูจน์การเกิดโรค โดยทำการปลูกเชื้อส่วนของพืช โดยทำแผลและไม่ทำแผลอย่างละ 10 ซ้ำ เปรียบเทียบกับการเกิดโรคบนส่วนที่ไม่ปลูกเชื้อด้วยวิธีเดียวกัน แยกเชื้อสาเหตุจากต้นที่แสดงอาการโรค เปรียบเทียบชนิดของราสาเหตุโรคใช้ในการปลูกเชื้อ

การเตรียม DNA จากเส้นใยของรา

7. การเตรียมเส้นใยของรา

เลี้ยงรา *Colletotrichum* บนอาหาร MEA (Malt extract agar) นาน 7-10 วัน หลังจาก

นั้นใช้เข็มเขี่ยเอาเส้นใยของรามาล้างในอาหารเหลว PDB (Potato dextrose broth) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ใน flask 250 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่ อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ นาน 7 วัน หลังจากนั้นนำราในอาหารเหลวมากรองด้วยกระดาษกรองหนึ่งซ้า เชื้อ และทำให้แห้งด้วยการดูดอากาศออกด้วยเครื่องดูดสูญญากาศ 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. การเพิ่มปริมาณยีน Internal Transcribed Spacer โดยใช้เทคนิค PCR

นำ DNA ของราที่แยกได้ในข้อ 13.2.3 มาทำ PCR โดยใช้ไพรเมอร์ 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 โดยใช้คู่ไพรเมอร์ ITS1 และ ITS4 ด้วยวิธี PCR ประกอบด้วยส่วนผสมดังนี้

10X PCR buffer	6 ไมโครลิตร
25 mM MgCl ₂	3 ไมโครลิตร
10 mM dNTP	1 ไมโครลิตร
ไพรเมอร์ ITS1 (50 พิโคโมล / ไมโครลิตร)	1 ไมโครลิตร
ไพรเมอร์ ITS4 (50 พิโคโมล / ไมโครลิตร)	1 ไมโครลิตร
Taq DNA Polymerase (5 ยูนิต / ไมโครลิตร)	0.25 ไมโครลิตร
น้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ	28.75 ไมโครลิตร
สารละลาย DNA (50 นาโนกรัม / ไมโครลิตร)	10 ไมโครลิตร
รวมปริมาตร	50 ไมโครลิตร

- ส่วนของ β -tubulin นั้นเพิ่มปริมาณโดยใช้คู่ไพรเมอร์ 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 การวิเคราะห์ลำดับเบสของยีน 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 ซึ่งเป็นราในกลุ่ม *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. สุ่มและเก็บตัวอย่างโรคพืช

ผลการสำรวจรวบรวมและเก็บตัวอย่างสาเหตุโรคพืชที่เกิดจากรา *Colletotrichum* ได้ตัวอย่างโรคพืชทั้งหมด 93 ตัวอย่าง จากพืชอาศัยจำนวน 21 ชนิด ในจังหวัดกำแพงเพชร กาญจนบุรี กรุงเทพฯ จันทบุรี ฉะเชิงเทรา ชุมพร เชียงใหม่ เชียงราย นครปฐม นครนายก นครราชสีมา ตรัง บุรีรัมย์ ปทุมธานี เพชรบูรณ์ เพชรบุรี พะเยา แม่ฮ่องสอน ระยอง ราชบุรี ลำพูน ศรีสะเกษ สระบุรี สมุทรสาคร สมุทรสงคราม สุโขทัย สุราษฎร์ธานี อุบลราชธานี และ อุดรดิตถ์ ตัวอย่างโรคพืชที่รวบรวมได้ทั้งหมดนำมาศึกษาในห้องปฏิบัติการโดยการศึกษาจากเนื้อเยื่อพืชโดยตรง การทำ moist chamber และโดยวิธีการแยกรากจากเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรค เก็บตัวอย่างโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์โรค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2. การแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืช

- ศึกษาลักษณะอาการของโรคและแยกเชื้อราโดยตรงจากเนื้อเยื่อพืช

ศึกษาลักษณะอาการของโรคและแยกเชื้อราโดยตรงจากชิ้นส่วนพืช ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo หรือ ทำ moist chamber บ่มที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ นาน 5-10 วัน เมื่อพบเชื้อราสร้างเส้นใยหรือ conidium ตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และใช้เข็มเขี่ยส่วนของเชื้อรา

วางบนสไลด์ หรือใช้ใบมีดตัดขวางชิ้นส่วนพืชให้บาง ๆ และตรวจดูลักษณะต่าง ๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound ถ้ายूरูปลักษณะเชื้อและบันทึกลักษณะต่าง ๆ ของเชื้อ

- แยกเชื้อราโดยวิธี Tissue transplant

นำส่วนของพืชที่เป็นโรคมามาตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 0.5x0.5 มิลลิเมตร ให้คาบต่อส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 10 % เป็นเวลา 3-5 นาที ล้างในน้ำนิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำไปซับบนกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้แห้ง แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหาร 1/2 Potato Dextrose Agar, Potato Dextrose Agar, Malt Extract Agar, Corn Meal Agar หรือ water agar ป่มที่อุณหภูมิ 32±2 องศาเซลเซียส นาน 3-7 วัน แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ และเลี้ยงบนอาหาร PDA

3. ศึกษาลักษณะของเชื้อบนอาหารชนิดต่าง ๆ

นำรา *Colletotrichum musae* ที่แยกได้มาเลี้ยงบนอาหาร 1/2 Potato Dextrose Agar, Potato Dextrose Agar, Malt Extract Agar, Corn Meal Agar, Oat meal agar หรือ water agar พบว่าราเจริญได้ดีที่สุด Oat Meal agar รองลงมาได้แก่ Potato Dextrose Agar และ Czapek Dox Agar

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 และถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Scanning Electron Microscope)

การศึกษา *Colletotrichum* จากส่วนที่เป็นโรค และการจำแนกชนิด

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา *Colletotrichum*

ผลจากการศึกษาจำแนกชนิดเชื้อโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำแนกได้รา

Colletotrichum จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ *Colletotrichum capsici*, *C. falcatum*, *C. gloeosporioides*, *C. musae* และ unidentified species *Colletotrichum* spp. 10 ชนิด (ตารางที่ 1) ซึ่งมีลักษณะของสปอร์คล้าย ๆ กัน ยังไม่สามารถจำแนกชนิดได้แยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษาการจำแนกชนิดของเชื้อในระดับ species และศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อต่อไป

5. เก็บรักษาสายพันธุ์ราและตัวอย่างแห้ง

เก็บรักษาที่แยกได้ไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และเก็บรักษาไว้ใน Culture Collection และเก็บตัวอย่างแห้งโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช ตึกอภิศรีกสิการ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

6. การสกัด DNA จากเส้นใยของรา

จากการนำเส้นใยของรา *Colletotrichum* จำนวน 15 ไอโซเลท มาสกัด DNA โดยวิธีการที่ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Crous *et al.* (2000) เมื่อทำการตรวจสอบปริมาณ DNA ด้วยวิธีการ agarose gel electrophoresis พบว่าทุกไอโซเลทของราปรากฏแถบ DNA ชัดเจน โดยเปรียบเทียบกับแถบ DNA มาตรฐาน เก็บรักษา DNA ที่สกัดได้ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำมาเพิ่มปริมาณและศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมเปรียบเทียบกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลการสำรวจรวบรวมและเก็บตัวอย่างสาเหตุโรคพืชที่เกิดจากรา *Colletotrichum* ได้ตัวอย่างโรคพืชทั้งหมด 93 ตัวอย่าง จากพืชอาศัยจำนวน 21 ชนิด ในจังหวัดกำแพงเพชร กาญจนบุรี กรุงเทพฯ จันทบุรี ฉะเชิงเทรา ชุมพร เชียงใหม่ เชียงราย นครปฐม นครนายก นครราชสีมา ตราดบุรีรัมย์ ปทุมธานี เพชรบูรณ์ เพชรบุรี พะเยา แม่ฮ่องสอน ระยอง ราชบุรี ลำพูน ศรีสะเกษ สระบุรี สมุทรสาคร สมุทรสงคราม สุโขทัย สุราษฎร์ธานี อุบลราชธานี และ อุดรดิตถ์ จากการศึกษาจำแนกได้รา *Colletotrichum* จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ *Colletotrichum capsici*, *C. falcatum*, *C. gloeosporioides*, *C. musae* และ unidentified species *Colletotrichum* spp. 10 ชนิด ซึ่งมีลักษณะของสปอร์คล้าย ๆ กัน ยังไม่สามารถจำแนกชนิดได้แยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ และพบว่า *C. musae* เจริญได้ดีที่สุดบนอาหาร Oat Meal agar รองลงมาได้แก่ Potato Dextrose Agar และ Czapek Dox Agar จากการศึกษาครั้งนี้ได้เก็บเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษาการจำแนกชนิดของเชื้อในระดับ species และสกัด DNA ของรา *Colletotrichum* จำนวน 15 ไอโซเลท เก็บรักษา DNA ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส และจัดเก็บตัวอย่างแห้งโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืชที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช ตึกอภิศรีกสิการ สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

เอกสารอ้างอิง

นิพนธ์ วิสารทานนท์. 2535. โรคผลเน่าของมะม่วงและวิธีการควบคุมโรค. เกษตรการเกษตร. 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 Imperfect with Pynidia Acervuli and Stromata. Commonwealth Agricultural Bureaux, England. 696 p.
- Sutton, B.C. 1992. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*, 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 2555

เชื้อสาเหตุ	พืช	ส่วนของพืชที่เป็นโรค	แหล่งเก็บ
<i>C. capsici</i>	พริก	ผล (แอนแทรกโนส)	กาญจนบุรี เพชรบูรณ์ อุตรดิตถ์ อุบลราชธานี
<i>C. falcatum</i>	อ้อย	ลำต้น ใบ	ระยอง
<i>C. gloeosporioides</i>	แก้วมังกร	ลำต้น (แอนแทรกโนส) ผล (ผลเน่าแอนแทรก โนส)	กรุงเทพฯ จันทบุรี ชุมพร เชียงใหม่ นครราชสีมา ปทุมธานี ระยอง ราชบุรี ตราก สมุทรสาคร สมุทรสงคราม
<i>C. gloeosporioides</i>	มะม่วง	ใบ และผล	กาญจนบุรี กรุงเทพฯ ฉะเชิงเทรา นครราชสีมา จันทบุรี สระบุรี เชียงใหม่ ลำพูน
<i>C. gloeosporioides</i>	มะละกอ	ผล (แอนแทรกโนส)	สระบุรี ชุมพร ปทุมธานี
<i>C. gloeosporioides</i>	กล้วยไข่	ผล (แอนแทรกโนส)	กำแพงเพชร จันทบุรี สุโขทัย
<i>C. gloeosporioides</i>	กล้วยหอม	ผล (แอนแทรกโนส)	ปทุมธานี เพชรบุรี
<i>C. gloeosporioides</i>	หอมหัวใหญ่	ใบ หัว	เชียงใหม่ แม่ฮ่องสอน
<i>C. gloeosporioides</i> ,	หอมแดง	ใบ และ หัว (หอมเลื้อย แอนแทรกโนส)	เชียงใหม่ เชียงราย ศรีสะเกษ บุรีรัมย์ อุบลราชธานี อุตรดิตถ์ ลำพูน แม่ฮ่องสอน

เชื้อสาเหตุ	พืช	ส่วนของพืชที่เป็นโรค	สถานที่เก็บ
<i>C. gloeosporioides</i>	พริก	ลำต้น (แอนแทรกโนส) ผล (ผลเน่าแอนแทรก โนส)	กรุงเทพฯ จันทบุรี ชุมพร เชียงใหม่ นครราชสีมา ปทุมธานี ระยอง ราชบุรี ตราด สมุทรสาคร สมุทรสงคราม สุราษฎร์ธานี
<i>C. gloeosporioides</i>	ชมพู่	ผล (แอนแทรกโนส)	กาญจนบุรี เพชรบูรณ์ อุตรดิตถ์ อุบลราชธานี
<i>C. gloeosporioides</i>	มังคุด	ผล (แอนแทรกโนส)	จันทบุรี
<i>C. gloeosporioides</i>	ไผ่กวนอิม	ใบ	พะเยา ปทุมธานี
<i>C. gloeosporioides</i>	หน่อไม้ฝรั่ง	ลำต้น	กาญจนบุรี
<i>C. gloeosporioides</i>	กระเทียม	ใบ	เชียงใหม่
<i>C. musae</i>	กล้วยไข่	ผล (แอนแทรกโนส)	กำแพงเพชร สุโขทัย
<i>Colletotrichum</i> sp.	พริก	ใบ ผล (แอนแทรกโนส)	เพชรบูรณ์ อุตรดิตถ์
<i>Colletotrichum</i> sp	พริก	ลำต้น (แอนแทรกโนส) ผล (ผลเน่าแอนแทรก โนส)	จันทบุรี ชุมพร เชียงใหม่ นครราชสีมา ปทุมธานี ระยอง ราชบุรี ตราด สมุทรสาคร
<i>Colletotrichum</i> sp	มะม่วง	ใบ และผล	กาญจนบุรี ฉะเชิงเทรา นครราชสีมา จันทบุรี สระบุรี เชียงใหม่ ลำพูน
<i>Colletotrichum</i> sp.	เล็บครุฑ	ใบ (ใบจุด)	กรุงเทพฯ เชียงใหม่ เชียงราย
<i>Colletotrichum</i> sp.	ชะพลู	ใบ (ใบจุด)	จันทบุรี

<i>Colletotrichum</i> sp.	มะปราง	ใบ (ใบจุด)	นครนายก
<i>Colletotrichum</i> sp.	หอมหัวใหญ่	ใบ	เชียงใหม่ แม่ฮ่องสอน

เชื้อสาเหตุ	พืช	ส่วนของพืชที่เป็นโรค	แหล่งเก็บ
<i>Colletotrichum</i> sp.	กล้วยไข่	ผล (แอนแทรคโนส)	กำแพงเพชร สุโขทัย
<i>Colletotrichum</i> sp.	ว่านเศรษฐี	ใบจุด	กรุงเทพฯ
<i>Colletotrichum</i> sp.	พริกไทย	.ใบ	กรุงเทพฯ

ชีววิทยาและ การแพร่กระจายของวัชพืชสกุลผักแว่น (*Marsilea* L.)
และศักยภาพการเป็นวัชพืชของผักแว่นต่างถิ่น
Biology and Distribution of Water Clover (*Marsilea* L.)
and Weedy Potential of Alien Water Clover

ศิริพร ชิ่งสนธิพร ธีญชนก จงรักไทย
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การสำรวจ รวบรวม ผักแว่นในพื้นที่ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ได้ ตัวอย่างทั้งสิ้น 60 ตัวอย่าง มีทั้งที่สามารถระบุชนิดได้ทันทีและไม่สามารถระบุชนิดได้ นอกนั้นต้องนำมาศึกษาต่อที่กลุ่มวิจัยวัชพืช พบว่าตัวอย่างที่นำมาศึกษาลักษณะรูปร่างสปอโรคาร์ป มีการสร้างสปอโรคาร์ปแล้วทั้งสิ้น 22 ตัวอย่าง นอกนั้นยังไม่มีการสร้างสปอโรคาร์ป

บทนำ

ผักแว่นเป็นเฟิร์นน้ำในวงศ์ Marsileaceae ซึ่งพืชในวงศ์ส่วนใหญ่ขึ้นในที่น้ำท่วมขังตื้นๆ หรือที่ชื้นแฉะ มีเพียงบางชนิดที่สามารถทนแล้งได้ดี หรือขึ้นในที่ที่มีช่วงระยะเวลาแห้งแล้งมากกว่าในช่วงหนึ่งปี มีเหง้าซึ่งมีลำต้นเลื้อยตามผิวดินหรือที่ต่ำกว่าผิวดินเล็กน้อย รากเกิดตามข้อ ใบตั้งตรงสลับกันเป็นสองแถวที่ด้านบนของลำต้น แตกแขนงตามซอกใบ ใบอ่อนม้วนงอ Eames (1936) สรุปว่าพืชในวงศ์นี้มีทั้งสิ้น 4 สกุล โดยหนึ่งสกุลเป็นพอสซิล 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 ซึ่งแอฟริกาและออสเตรเลียมีความหลากหลายของพืชสกุลนี้มาก พืชในสกุลนี้มีความแตกต่างที่จำนวน รูปร่าง การเรียงตัวและการติดของส่วนขยายพันธุ์ หรือสปอโรคาร์ป

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-03-01-54

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. 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 นำมาปลูกและศึกษา ลักษณะลักษณะ รูปร่าง ลักษณะภายในหรือภายนอก นับจำนวนโครโมโซม และได้แบ่งพืชในสกุลนี้ที่นำมาศึกษาเป็น 3 หมู่ (section) ได้แก่

- หมู่ *Marsilea* พืชในกลุ่มนี้มีรากที่ข้อและปล้อง และมักมียอดเกิดที่ข้อ ที่ไม่แน่นอนหรืออาจมีเพียง 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* Goodding.

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 หรือแม่แต่นาที่ปลูกพืชอื่นเป็นพืชหลังนา 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 สัณฐานวิทยา การแพร่กระจาย การระบาด ของพืชสกุลผักแว่นในประเทศไทย
2. ศึกษาชีววิทยา นิเวศวิทยาของวัชพืชสกุลผักแว่น
3. เพื่อรวบรวมตัวอย่างวัชพืช สำหรับการอ้างอิง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- การสำรวจได้แก่ แผนที่ สมุดบันทึก กรรไกร ถุงพลาสติก ปากกาเขียนพลาสติก หรือกระดาษป้ายชื่อ และกล้องถ่ายภาพ
- อุปกรณ์สำหรับปลูกพืชทดสอบและสารเคมี ได้แก่ กระจก ดิน ป้ายกำกับการทดลอง ปุ๋ย และสารเคมีกำจัดศัตรูพืช
- การจัดทำตัวอย่างแห้ง ได้แก่ แผงอัดพรรณไม้สำหรับจัดทำตัวอย่างแห้ง กระดาษฟูก กระดาษซับ ฟองน้ำสำหรับรองตัวอย่าง กระดาษติดตัวอย่างพรรณไม้พร้อมปก พร้อมกระดาษป้ายชื่อ
- สารเคมีสำหรับกันเชื้อราและแมลง ได้แก่ เมทานอล (Methanol) คลอโรฟอร์ม และเมอคิวรี คลอไรด์ พร้อมเครื่องแก้วต่างๆ ที่จำเป็น
- การตรวจสอบชนิดพืช ได้แก่ แวนขยายขนาด 10 เท่า กล้อง กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ แบบใช้แสง เข็มเขี่ย ปากคีบ หนังสือคู่มือการจำแนกพรรณไม้ต่างๆ

วิธีการ

1. **สำรวจผักแว่นตามสภาพนิเวศน์ที่เหมาะสม** คือแหล่งน้ำ หรือที่ชื้นแฉะ ศึกษาสภาพพื้นที่ ลักษณะสเปโรรีคาร์ป และเก็บตัวอย่างสด นำมาปลูกเพื่อศึกษารายละเอียดเพิ่มเติม ที่กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร

2. **การตรวจสอบชนิด** เนื่องจากพืชในสกุลนี้จะมีลักษณะของสเปโรรีคาร์ปแตกต่างกัน เช่น ตำแหน่ง รูปร่าง จำนวน เป็นต้น ดังนั้น หากไม่สามารถระบุชนิดได้ทันที ต้องนำมาปลูกและรองจนกว่าพืชจะสร้างสเปโรรีคาร์ป จึงทำการเก็บพืชที่มีการสร้างสเปโรรีคาร์ปแล้วมาจัดทำตัวอย่างแห้ง และตรวจสอบชนิดต่อไป

3. **ชีววิทยาของพืชสกุลผักแว่น** รวบรวมตัวอย่างผักแว่นทุกชนิดมาปลูกในกระบะ ขนาด กว้าง 1 เมตร ยาว 3 เมตร บรรจุดิน และเติมน้ำให้ดินชุ่ม สภาพน้ำท่วมขัง เมื่อผักแว่นทุกชนิด เจริญเติบโตดีแล้ว เลื่อยยอดที่สมบูรณ์แต่ละชนิด จำนวน 20 ยอด ความยาว 45 เซนติเมตร นำแต่ละ ยอดมาตรวจนับจำนวนใบและชั่งน้ำหนักสด ของแต่ละยอด แล้วนำไปปลูกในกระถางปูน ขนาด 35x45x15 เซนติเมตร ซึ่งบรรจุดิน $\frac{3}{4}$ ส่วนของความสูงกระถาง ใส่น้ำจนเต็ม กระถางละ 1 ยอด ชนิด ละ 20 กระถาง รักษาระดับน้ำให้เต็ม สุ่มเก็บผักแว่นแต่ละชนิด 2 กระถาง ทุก 14 วัน จำนวน 6 ครั้ง (3 เดือน) ล้างดินออก นำตัวอย่างไปวัดความยาว จำนวนแขนง จำนวนใบ พื้นที่ใบ น้ำหนักสด และ นำไปอบที่ 50 องศาเซลเซียส นาน 3 วัน นำมาชั่งน้ำหนักแห้ง

4. **ความสามารถในการแข่งขันของผักแว่นไทยกับผักแว่นต่างถิ่น** นำยอดผักแว่นใบมัน ผักแว่นใบมันกลายพันธุ์ ผักแว่นขน และผักแว่นวง ที่มีความยาวเท่าๆ กันมาปลูกในกระถางขนาด 35x45x15 เซนติเมตร ที่บรรจุดิน $\frac{3}{4}$ ส่วนของความสูงกระถาง ใส่น้ำจนเต็ม กระถางละ 2 ชนิด โดยมี จำนวนยอดรวม 5 ยอด โดยใช้วิธีแทนที่ บันทึกผลการทดลองหลังเริ่มการทดลองได้ 2, 4 และ 6 สัปดาห์ นำผักแว่นแต่ละคู่มาล้างดินออก นำไปแยกชนิด ชั่งน้ำหนักสด วัดความยาว จำนวนใบ และ น้ำหนักแห้งของผักแว่นแต่ละชนิด ในแต่ละคู่ คู่ละ 3 ซ้ำ

5. **การศึกษาศักยภาพการเป็นวัชพืชของผักแว่นต่างถิ่น** โดยการประเมินตามวิธีการ ประเมินศักยภาพของออสเตรเลีย ซึ่งพัฒนาโดย Dr Paul Pheloung ประกอบกับข้อมูลที่สังเกตจาก เจริญเติบโตในประเทศไทย สำหรับข้อมูลที่ไม่สามารถสืบค้นได้ ทำการทดลองเพิ่มเติมได้แก่ คุณสมบัติ ทางอัลลิโลพาทิ ทำโดยนำตัวอย่างพืชแห้งของผักแว่นทุกชนิดที่พบ อบแห้งที่ 50 องศาเซลเซียส นาน 3 วัน นำใบแห้งมาชั่งน้ำหนัก 0.05, 0.1 0.3 และ 0.5 กรัม ใสลงในหลอดแก้วกันดิน เส้นผ่าน ศูนย์กลาง 29 มิลลิเมตร ความสูง 130 มิลลิเมตร ที่บรรจุสารละลายวุ้น 0.3% ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ระดับน้ำหมักละ 3 หลอด (3 ซ้ำ) เมื่อวุ้นชั้นล่างเย็น เติมน้ำลงไปอีก 10 มิลลิลิตร ให้ใบผักแว่นอยู่ กึ่งกลางระหว่างชั้นของวุ้น เมื่อวุ้นชั้นบนเย็น นำต้นอ่อนไมยราบยักษ์ที่เพิ่งเริ่มงอก (มีรากโผล่ออกมา 1-2 มิลลิเมตร) วางบนวุ้นหลอดละ 6 เมล็ด ปิดปากหลอดด้วยพลาสติกใส นำไปวางในตู้ควบคุม อุณหภูมิ ที่ 30 องศาเซลเซียส แสงตลอดเวลา นาน 7 วัน นำต้นอ่อนไมยราบยักษ์มาวัดความยาวราก และต้น และชั่งน้ำหนักสดโดยรวมของแต่ละหลอด นำค่าที่ได้ไปเปรียบเทียบกับไมยราบยักษ์ที่ เจริญเติบโตในหลอดแก้วบรรจุวุ้นที่ไม่มีใบผักแว่น

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

เวลาและสถานที่

1. **ผลการสำรวจ** จากการสำรวจในภาคเหนือ ตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลางและภาคใต้ ซึ่ง พบผักแว่นที่มีการสร้างสปอโรคาริปแล้ว ทำให้สามารถระบุชนิดได้ทันที หรือพบการสร้างสปอโรคาริป ในสภาพธรรมชาติ ของผักแว่นใบมัน (*Marsilea scalaripes* D.M.Johnson) เพียงแห่งเดียว คือที่ ตำบลบ้านเสี้ยว อำเภอนาหว้า จังหวัดนครพนม (พิกัด N 17.55125 E 104.07374) (ภาพที่ 1) ซึ่งมีส

ปอโรคาร์ปกลมดำที่ก้านใบ (ภาพที่ 2) สำหรับชนิด *M. crenata* C.Presl) L. พบหลายแห่งที่มีการสร้างสปอโรคาร์ปในสภาพธรรมชาติ เช่น ตำบลบ้านใหม่ อำเภอบางบาล จังหวัดนครราชสีมา (พิกัด N14.49342 E102.28408) (ภาพที่ 3) ซึ่งเป็นชนิด 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)

2. การตรวจสอบชนิด ตัวอย่างทั้งสิ้น 60 ตัวอย่าง เมื่อนำมาปลูกในกระถาง ในสภาพเรือนทดลองและปล่อยให้แห้ง โดยรดน้ำสัปดาห์ละ 1 ครั้ง ปรากฏว่าผักแว่นจากบางแห่งสร้างสปอโรคาร์ปได้ แต่เมื่อผ่านช่วงอุณหภูมิต่ำ (เดือนธันวาคม – มกราคม) ผักแว่นที่สร้างสปอโรคาร์ป มีจำนวนมากขึ้น จากจำนวนตัวอย่างที่เก็บมาทั้งสิ้น 60 แหล่ง ปรากฏว่ามีจำนวน 20 แห่งที่สร้างสปอโรคาร์ป ที่แสดงว่าเป็นชนิด *M. crenata* C. Presl

3. ชีวิตวิทยาของพืชสกุลผักแว่น ทำการทดลองเปรียบเทียบการเจริญของผักแว่น 4 ชนิดในสภาพเรือนทดลอง อยู่ระหว่างการวิเคราะห์ผล

4. ความสามารถในการแข่งขันของผักแว่นไทยกับผักแว่นต่างถิ่น อยู่ระหว่างการดำเนินการทดลอง

5. การศึกษาศักยภาพการเป็นวัชพืชของผักแว่นต่างถิ่น อยู่ระหว่างการศึกษเปรียบเทียบคุณสมบัติทางอัลลีโลพาธิของผักแว่นชนิดต่างๆ ในห้องปฏิบัติการ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

-

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)

ชีววิทยาและการแพร่ระบาดของหญ่้าอีหนาว *Digera muricata* (L.) Mart.
Biology and Distribution of False Amaranth (*Digera muricata* (L.) Mart.)

ศิริพร ชิ่งสนธิพร ธีญชนก จงรักไทย
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาชีววิทยาและการแพร่ของหญ่้าอีหนาว พบการแพร่ระบาดในพื้นที่จังหวัดนครพนม เพชรบูรณ์ หนองบัว และสระบุรี เมื่อนำเมล็ดมาศึกษาการงอกในจานรองแก้ว โดยการแช่น้ำ ไม่พบเมล็ดงอก และอยู่ระหว่างการทดสอบการงอกด้วยการแช่น้ำร้อน แช่กรด และการบดให้เมล็ดแตก ส่วนการงอกในดินโดยไม่มีการแช่น้ำ มีจำนวนต่ำมาก ส่วนการศึกษาการเจริญเติบโตและการแข่งขันกับพืชปลูก (ข้าวโพด และผักบุ้ง) อยู่ระหว่างการดำเนินการซ้ำ เนื่องจากการทดลองได้รับความเสียหายเนื่องจากถูกน้ำท่วม

บทนำ

วัชพืชร้ายแรงหลายชนิดสามารถสร้างเมล็ดจำนวนมาก เมล็ดมีการพักตัวเมื่อสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม หรือมีอายุยาว นอกจากนี้หลายชนิดยังมีขนาดเล็ก ยากต่อการตรวจสอบ หรือมีขนาดใกล้เคียงกับเมล็ดพืชปลูก ทำให้แยกออกจากเมล็ดพันธุ์พืชปลูกได้ยาก (Muenscher, 1980)

การปนเปื้อนของเมล็ดวัชพืชในเมล็ดพันธุ์พืช เป็นสาเหตุหนึ่งของแพร่ระบาดของวัชพืชในแปลงพืชปลูก คำแนะนำในการป้องกันวัชพืชจึงมักแนะนำให้ใช้เมล็ดพันธุ์ที่ปราศจากเมล็ดวัชพืชเจือปน เช่น เกษตรดีที่เหมาะสมสำหรับข้าวนาสวนน่าน้ำฝน การปลูกข้าวแบบบูรณาการ คำแนะนำการป้องกันกำจัดวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืช ในการค้าระหว่างประเทศก็เช่นกัน ประเทศผู้นำเข้าได้กำหนดให้มีการจัดการ หรือการตรวจรับรองว่าสินค้าที่ส่งไปนั้นไม่มีเมล็ดวัชพืชติดไป เช่น ข้อตกลงร่วมการนำเข้าลำไยและลิ้นจี่จากประเทศไทย

หญ่้าอีหนาว (*Digera muricata*) เป็นวัชพืชในวงศ์ผักโขม ที่อาจมีถิ่นกำเนิดในทวีปแอฟริกา เพิ่งพบรายงานในประเทศไทย เมื่อ 2550 ในเอเชียพบในปากีสถาน อินเดีย (ศิริพร, 2550) ยังขาดข้อมูลชีววิทยาและการแพร่กระจายในประเทศไทย

ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชีววิทยา นิเวศวิทยา การแพร่ระบาดของวัชพืชหญ่้าอีหนาว

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-03-02-54

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- การสำรวจได้แก่ แผนที่ สมุดบันทึก กรรไกร ถุงพลาสติก ปากกาเขียนพลาสติก หรือกระดาษป้ายชื่อ และกล้องถ่ายภาพ
- อุปกรณ์สำหรับปลูกพืชทดสอบและสารเคมี ได้แก่ กระจก ดิน ป้ายกำกับการทดลอง ปุ๋ย และสารเคมีกำจัดศัตรูพืช
- การจัดทำตัวอย่างแห้ง ได้แก่ แผงอัดพรรณไม้สำหรับจัดทำตัวอย่างแห้ง กระดาษฟูก กระดาษซับ ฟองน้ำสำหรับรองตัวอย่าง กระดาษติดตัวอย่างพรรณไม้พร้อมปก พร้อมกระดาษป้ายชื่อ
- สารเคมีสำหรับกันเชื้อราและแมลง ได้แก่ เมทานอล (Methanol) คลอโรฟอร์ม และเมอคิวรี คลอไรด์ พร้อมเครื่องแก้วต่างๆ ที่จำเป็น
- การตรวจสอบชนิดพืช ได้แก่ แวนขยายขนาด 10 เท่า กล้อง กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ แบบใช้แสง เข็มเขี่ย ปากคีบ หนังสือคู่มือการจำแนกพรรณไม้ต่างๆ

วิธีการ

1. **สำรวจการแพร่กระจายของหญ้าอีหนาวในพื้นที่ต่างๆ** เมื่อพบจุดบันทึกพิกัด และบันทึกรายละเอียดอื่นๆ เช่น สภาพพื้นที่ ชนิดพืชข้างเคียง เป็นต้น

2. **การงอกของเมล็ด** เก็บรวบรวมเมล็ดแก่ของหญ้าอีหนาว นำมาทดสอบการงอกในห้องปฏิบัติการ โดยการเพาะในจานแก้ว ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร และทดสอบในเรือนทดลอง และศึกษาปัจจัยต่างๆ ต่อการงอกของหญ้าอีหนาว ดังนี้

2.1 การกระตุ้นด้วยการอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เก็บเมล็ดหญ้าอีหนาวที่เก็บจากแปลงเกษตรกร เลือกลงเจอบนออก คัดเลือกเฉพาะเมล็ดที่มีความสมบูรณ์ เมล็ดเต่ง ไม่เหี่ยว ขนาดใกล้เคียงกัน นำเมล็ดหญ้าอีหนาว 50 เมล็ด ใส่ในหลอดแก้วกันแดด ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 29 มิลลิเมตร สูง 130 มิลลิเมตร ปิดด้วยอลูมิเนียมฟอยล์ นำไปวางในตู้อบที่ตั้งอุณหภูมิคงที่ 80 องศาเซลเซียส โดยนำไปวางตามระยะเวลาที่กำหนด และให้ทุกหลอดมีความร้อนครบตามระยะเวลาที่กำหนด 6, 5, 4, 3, 2, 1 ชั่วโมง 30, 15, 10, 5 และ 1 นาที พร้อมกัน ระยะเวลาละ 3 หลอด (3 ซ้ำ) นำเมล็ดที่อบแล้ว ใส่จานแก้ว (petri dish) (φ 9 เซนติเมตร) บรรจุกระดาษกรอง 1 แผ่น เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ปิดฝา นำไปวางในสภาพห้องที่ไม่มีการปรับอุณหภูมิและแสง ตรวจสอบจำนวนเมล็ดงอกทุกวัน เป็นระยะเวลา 30 วัน

2.2 การกระตุ้นด้วยการต้มในน้ำที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6, 5, 4, 3, 2, 1 ชั่วโมง 30, 15, 10, 5 และ 1 นาที ปฏิบัติเช่นเดียวกับข้อ 2.1 แต่นำหลอดแก้วกันแดดไปวางในอ่างน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิได้ และนำเมล็ดหญ้าอีหนาวใส่ในน้ำร้อนตามระยะเวลาที่กำหนด ครั้งละ 3 หลอด (3 ซ้ำ)

2.3 กระตุ้นด้วยการแสงอาทิตย์ นำเมล็ดหญ้าอีหนาว จำนวน 100 เมล็ดใส่ในจานแก้ว นำไปตากแดด ที่ระยะเวลา 45, 30, 15, 10, 5 และ 1 วัน อย่างละ 3 ซ้ำ แล้วนำไปเพาะในกระถางพลาสติก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 นิ้ว ที่บรรจุดิน โดยหน้าดินอยู่ห่างจากขอบกระถางด้านบน 1 นิ้ว บันทึกการงอกทุกวัน เป็นระยะเวลานาน 1 เดือน

2.4 การงอกของหญ้าอีหนาว ในดินที่เก็บเก็บจากแปลงเกษตร ชุดดินจากแปลงเกษตรกรที่มีหญ้าอีหนาวระบัด ที่ยังไม่ได้มีการพ่นสารกำจัดวัชพืช และแปลงที่มีการพ่นสารกำจัดวัชพืชแล้ว โดยชุดในพื้นที่ 30x30 เซนติเมตร ลึกหนึ่งหน้าพัว แปลงละ 9 จุด แต่ละจุดแบ่งเป็น 3 ถูๆ กัน นำดินไปโรยหน้ากระถางปูน ขนาด 35x45x15 เซนติเมตร ซึ่งบรรจุดิน $\frac{3}{4}$ ส่วนของความสูงกระถาง กระถางละ 1 ถู ตรวจสอบจำนวนต้นงอกทุกสัปดาห์ เป็นเวลานาน 3 เดือน

3. การเจริญเติบโต นำเมล็ดหญ้าอีหนาวมาโรยในกระถางพลาสติก (ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 25 เซนติเมตร) จำนวน 10 กระถาง เมื่องอกแล้ว ถอนออกและเหลือต้นที่แข็งแรงที่สุดไว้เพียงต้นเดียว บันทึกความสูงและจำนวนกิ่งก้านทุกสัปดาห์

4. ความสามารถในการสร้างหน่วยขยายพันธุ์ รวบรวมต้นหญ้าอีหนาวจากแปลงเกษตรกร ในจังหวัดสระบุรี เลือกต้นที่สมบูรณ์ จำนวน 15 ต้น นำมาศึกษา บันทึกจำนวนกิ่ง จำนวนใบ ความยาว จำนวนช่อดอก จำนวนดอก จำนวนผล น้ำหนักแห้ง ในห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

5. คุณสมบัติทางอัลลีโลพาธิ รวบรวมส่วนเหนือดินของหญ้าอีหนาวจากแปลงเกษตรกร นำมาตากแห้งในร่มเงา นำใบอีหนาวหนัก 0 (ชุดควบคุม) 0.5, 0.1, 0.3, 0.5 และ 1.0 กรัม ใส่ในหลอดแก้วกันตัด (ϕ 29 มิลลิเมตร สูง 130 มิลลิเมตร) ที่บรรจุสารละลายวัน 0.3% 10 มิลลิลิตร เมื่อวันเย็นแล้ว เติมน้ำลงไปอีก 10 มิลลิลิตร ให้ใบหญ้าอีหนาว อยู่ระหว่างชั้นของวัน เมื่อวันเย็นแล้ว อัตราละ 3 หลอด (3 ซ้ำ) นำเมล็ดไมยราบยักษ์ที่เริ่มงอก (มีรากโผล่มา 1-2 มิลลิเมตร) จำนวน 6 เมล็ด ใส่ด้านบน วางให้มีระยะห่างเท่าๆ กันปิดปากหลอดด้วยพลาสติกใส แล้วนำไปวางในตู้ควบคุมอุณหภูมิ ที่ 30 องศาเซลเซียส แสงตลอด 24 ชั่วโมง เมื่อครบ 7 วัน นำต้นอ่อนไมยราบยักษ์มาวัดความยาวต้น และราก และน้ำหนักสด นำค่าที่ได้มาคำนวณเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

5. การแข่งขันกับพืชปลูก นำเมล็ดข้าวโพดและหญ้าอีหนาวมาหว่านในกระถางปูนขนาด 100x100x 60 เซนติเมตร โดยมีจำนวนต้นข้าวโพดและหญ้าอีหนาวแปรเปลี่ยน แต่มีจำนวนรวมคงที่เท่ากับ 5 ต้น จัดบันทึกการเจริญเติบโตของพืชทั้งสองชนิดทุก 10 วัน จนกว่าจะเก็บเกี่ยว

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ระยะเวลาและสถานที่

1. การแพร่กระจาย ผลการสำรวจพบหญ้าอีหนาวในแปลงข้าวโพด ทานตะวัน และพืชผักในพื้นที่จังหวัดสระบุรี ลพบุรี เพชรบูรณ์และเริ่มระบาดในอำเภอพอลอย จังหวัดกาญจนบุรี สำหรับใน

ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบในแปลงผักหลายชนิดในจังหวัดนครพนม ซึ่งทั้งหมดมีสภาพเป็นไร่ มีความชื้นมาก ยกเว้นในแปลงข้าวโพดหลังเก็บเกี่ยว

2. การงอกของเมล็ด การทดสอบการงอกของหญ้าอีหนาวในห้องปฏิบัติการ โดยการแช่น้ำ และเพาะในจานแก้ว ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร จานละ 50 เมล็ด บันทึกจำนวนเมล็ดงอก ทุกสัปดาห์ ปรากฏว่าหญ้าอีหนาวไม่งอกเลย เช่นเดียวกับการกระตุ้นด้วยการอบ การต้ม ที่ 80 องศาเซลเซียส และการนำเมล็ดไปตากแดด เป็นระยะเวลาต่างๆ กัน ปรากฏว่าไม่สามารถกระตุ้นให้หญ้าอีหนาวงอกได้เช่นกัน แต่อีหนาวที่เก็บพร้อมดินจากแปลงเกษตรกร ทุกจุดทยอยงอก ทั้งจากแปลงที่มีการใช้สารกำจัดวัชพืชและไม่มีการใช้

3. การเจริญเติบโตในสภาพเรือนทดลอง อยู่ระหว่างการวิเคราะห์ผล

4. การแข่งขันกับพืชปลูก เตรียมแปลงทดลองขนาด และเตรียมพืช

5. คุณสมบัติทางอัลลีโลพาธี อยู่ระหว่างการดำเนินการทดลอง

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.

Muenschler, W.C. 1980. Weeds 2nd ed. Cornell University Press. USA. 586p.

สัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชสกุลน้ำนมราชสีห์

Euphorbia Seed Morphology of *Euphorbia* Weeds

ธัญชนก จงรักไทย^{1/} ศิริพร ชิ่งสนธิพร^{1/} กาญจนา พงกษพันธ์^{2/}

^{1/}กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/}กลุ่มสำนักคุ้มครองพันธุ์พืช

บทคัดย่อ

การศึกษาสัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชสกุลน้ำนมราชสีห์ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานเมล็ดวัชพืชชนิดต่างๆ ในสกุลน้ำนมราชสีห์ และรวบรวมตัวอย่างวัชพืช และเมล็ดวัชพืช สำหรับการอ้างอิงในการศึกษา ซึ่งอยู่ในระหว่างการทดลองซึ่งยังไม่สิ้นสุดระยะเวลา ผลที่ได้จากการศึกษา พบ ตัวอย่างแห้งในพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพสิรินธร พืชในสกุลน้ำนมราชสีห์ คือ *Euphorbia sieboldiana* Morr.et Decne ; *Euphorbia sessiliflora* Roxb ; *Euphorbia serpens* Kunth ; *Euphorbia thymilifolia* L. ; *Euphorbia tirucalli* ; *Euphorbia heterophylla* L. ; *Euphorbia hirta* L. และในพิพิธภัณฑ์พืชของมหาวิทยาลัยขอนแก่น พืชในสกุลน้ำนมราชสีห์ (*Euphorbia*) คือ *Euphorbia thymilifolia* L. ; *Euphorbia heterophylla* L. ; *Euphorbia hirta* L. ; *Euphorbia Milli* L. และจากการสำรวจวัชพืชในจังหวัดต่างๆ ทั้งในพื้นที่การเกษตร และไม่ทำการเกษตร พบ คือ *Euphorbia thymilifolia* L. ; *Euphorbia heterophylla* L. ; *Euphorbia hirta* L. ; *Euphorbia bifida* Hook. & Arn. และ *Euphorbia cyathophora* Murr และยังมีส่วนที่ยังอยู่ระหว่างการจำแนก โดยอยู่ในขั้นตอนการเก็บเมล็ดเพื่อจำแนกชื่อ และถ่ายภาพต่อไป

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-03-03-54

คำนำ

วัชพืชร้ายแรงในแต่ละประเทศ มักเป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดในประเทศนั้น และสามารถเจริญเติบโต แข่งขันเพื่อแย่งปัจจัยจำกัดได้ดีกว่าพืชอื่นๆ กลายเป็นพืชเด่นในพื้นที่นั้น เรียกพืชเหล่านี้ว่าพืชต่างถิ่นที่รุกราน ซึ่งเมื่อมีมากเกินความต้องการก็กลายเป็นวัชพืชนั่นเอง

การนำเข้าพืชต่างถิ่นที่รุกรานมีทั้งแบบตั้งใจ และไม่ตั้งใจ สาเหตุหลักของการนำเข้าแบบตั้งใจประการหนึ่งคือเพื่อใช้เป็นไม้ประดับ เช่น ผักตบชวา ฐูปฤณี ประเทศไทยมีความหลากหลายของพืชพรรณมากมาย หลายชนิดมีความสวยงาม ปลูกง่าย สามารถนำมาใช้เป็นไม้ประดับได้ แต่ไม่ได้รับความสนใจ จนบางชนิดหาพบได้ยากแล้วในปัจจุบัน ดังนั้นการนำเข้าพืชเหล่านี้มาใช้ประโยชน์ เป็นไม้ประดับ นอกจากจะเป็นการเป็นการอนุรักษ์พืชท้องถิ่นของประเทศแล้ว ยังเป็นการป้องกันไม่ให้เกิดวัชพืชร้ายแรงใหม่ๆ จากพืชต่างถิ่นที่รุกรานด้วย พืชท้องถิ่นที่สามารถปลูกเป็นไม้ประดับ

พืชวงศ์เบญจ (Euphorbiaceae) เป็นพืชบกที่มีการกระจายตัวทั่วโลก คาดว่ามีทั้งสิ้นประมาณ 300 สกุล 5,000 ชนิด ในประเทศไทยมีพืชวงศ์นี้ 87 สกุล ประมาณ 425 ชนิด (Kongkanda and Van Welzen, 2005) วัชพืชสำคัญในสกุล Euphorbia มีหลายชนิด เช่น หลู่ย่าง ใบต่างดอก ลูกเขยตาย แม่ยายทำศพ (*Euphorbia heterophylla* L.) น้ำนมราชสีห์ นมราชสีห์ ผักโขมแดง หลู่ย่างน้ำหมึก หลู่หลังอึ่ง (*Euphorbia hirta* L.) (Noda et al., 1994) น้ำนมราชสีห์ทะเล มะพร้าววงเขา (*Euphorbia atoto* G.Forst.) หลู่ราก (*Euphorbia prostrata* Aiton) น้ำนมราชสีห์เล็ก (*Euphorbia serpens* Kunth) น้ำนมราชสีห์เล็ก (*Euphorbia thymifolia* L.) (ส่วนพฤกษศาสตร์, 2544)

พืชในสกุล Euphorbia นี้ มีหลายชนิดที่เป็นไม้ประดับ เช่น สลัดได (*Euphorbia antiquorum* L.) หรือต้นคริสต์มาส (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) โปแดงใหญ่ (*Euphorbia cotinifolia* L.) สลัดไดเหลือง (*Euphorbia lactea* Haw.) สลัดไดประดับขาว (*Euphorbia leucocephala* Lotsy) โป๊ยเซียน (*Euphorbia milii* Des Moul.) สลัดไดสาละวิน (*Euphorbia parkeri* Binojkumar & N.P.Balakr.) สลัดไดขุนยวม (*Euphorbia prolifera* Buch.-Ham ex D.Don) คริสต์มาส (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch) พญาไร้ใบ (*Euphorbia tirucalli* L.) และ สลัดไดบ้าน (*Euphorbia trigona* Mill.)

การศึกษานี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาสัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชสกุลน้ำนมราชสีห์ ซึ่งมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของวัชพืชชนิดต่างๆ ในสกุลน้ำนมราชสีห์ และเพื่อรวบรวมตัวอย่างวัชพืช และเมล็ดวัชพืช สำหรับการอ้างอิง เพื่อแยกแยะให้เห็นความแตกต่าง และรวบรวมชนิดที่มีคุณสมบัติเป็นพืชสมุนไพร เพื่อเป็นตัวอย่างสดและแห้งเพื่อประโยชน์ในการสืบค้นต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- การสำรวจได้แก่ แผนที่ สมุดบันทึก กรรไกร ถุงพลาสติก ปากกาเขียนพลาสติก หรือกระดาษป้ายชื่อ และกล้องถ่ายภาพ
- การจัดทำตัวอย่างแห้ง ได้แก่ แผงอัดพรรณไม้สำหรับจัดทำตัวอย่างแห้ง กระดาษฟูก กระดาษซับ ฟองน้ำสำหรับรองตัวอย่าง กระดาษติดตัวอย่างพรรณไม้พร้อมปก พร้อมกระดาษป้ายชื่อ
- สารเคมีสำหรับกันเชื้อราและแมลง ได้แก่ เมทานอล (Methanol) คลอโรฟอร์ม และเมอคิวรี คลอไรด์ พร้อมเครื่องแก้วต่างๆ ที่จำเป็น
- การตรวจสอบชนิดพืช ได้แก่ แวนชยายขนาด 10 เท่า กล้อง กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ แบบใช้แสง เข็มเขี่ย ปากคีบ หนังสือคู่มือการจำแนกพรรณไม้ต่างๆ

วิธีการ

สำรวจวัชพืช ในพื้นที่ทำการเกษตร และนอกพื้นที่ทำการเกษตร ในพื้นที่ที่สามารถเข้าถึงโดยรถยนต์ หรืออยู่ในระยะที่สามารถเดินเข้าถึงได้ การสำรวจโดยเดินตามแนวตั้งฉากกับด้านยาวของแปลงอย่างน้อย 3 แนว หากเป็นแปลงขนาดใหญ่เดินตามแนวทแยงมุม จดบันทึกวัชพืชที่พบ จนกว่าจะไม่พบชนิดใหม่เพิ่มเติม สำหรับวัชพืชที่ไม่สามารถระบุชนิดได้นำตัวอย่างสดมาศึกษารายละเอียดเพิ่มเติม ที่กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร

การตรวจสอบชนิดพืชโดยการเทียบกับตัวอย่างพันธุ์ไม้ในพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพ อาคารพิพิธภัณฑ์พืชสิรินธร กรมวิชาการเกษตร หรือหอพรรณไม้ กรมอุทยาน วรรณพืชและสัตว์ป่า 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

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาสัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชสกุลน้ำนมราชสีห์ ระยะเวลา 1 ปี (ปีงบประมาณ 2554) พบ ตัวอย่างแห้งในพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพสิรินธร พืชในสกุลน้ำนมราชสีห์ คือ *Euphobia sieboldiana* 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. และ *Euphorbia cyathophora* Murr ส่วนการถ่ายภาพเมล็ดวัชพืชสกุลน้ำนมราชสีห์ที่รวบรวมมาได้ เพื่อศึกษาลักษณะทางกายภาพของเมล็ด เพื่อจัดทำคู่มือในการตรวจสอบต่อไป ซึ่งอยู่ในระยะดำเนินการถ่ายภาพ และการจัดทำตัวอย่างวัชพืชแห้ง เพื่อเก็บรักษาไว้ในการประกอบการตรวจสอบชนิด และศึกษาลักษณะทางสรีระวิทยาของวัชพืชสกุลน้ำนมราชสีห์ สำหรับผู้ที่สนใจต่อไป โดยขณะนี้อยู่ระหว่างการดำเนินการจัดทำ

การจัดทำคู่มือในการตรวจสอบชนิดวัชพืชสกุลน้ำนมราชสีห์ *Euphorbia* ขณะนี้อยู่ในระหว่างรวบรวมข้อมูล รายละเอียดพืช และภาพถ่าย เพื่อประกอบการจัดทำคู่มือต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ดวงพร สุวรรณกุล และรังสิต สุวรรณเขตนิคม. 2544. สันฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชในประเทศไทย.

สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 146 น.

ส่วนพฤกษศาสตร์ป่าไม้ สำนักวิชาการป่าไม้ กรมป่าไม้. 2544. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย เต็ม

สมิตินันท์ 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. 164p.

จำแนกชนิดวัชพืชในพืชสมุนไพร 10 พืช

Identification of Weed Species in 10 Medicinal Plants

เพ็ญศรี นันทสมสรานุกูล^{1/} ภัทร์พิชชา รุจิรพงศ์ชัย^{1/}

คมสัน นครศรี^{1/} วินัย สมประสงค์^{2/} บดินทร สอนสุภาพ^{2/}

^{1/}กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/}กลุ่มพฤกษศาสตร์และพิพิธภัณฑ์พืช สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช

บทคัดย่อ

การจำแนกชนิดวัชพืชในพืชสมุนไพร 10 พืช ได้แก่ กระจับแดง กวาวเครือขาว พริกไทย หม่อน บัวบก ไพล ขมิ้นชัน ฟ้าทะลายโจร กระจับดำ ชุมเห็ดเทศ โดยการสำรวจวัชพืชด้วยวิธีการแบบ Unrestricted Sampling Method (Anonymous, 1982) ในแต่ละแปลงปลูกเก็บวัชพืชอย่างน้อยจำนวน 4-8 กรอบ หรือมากกว่าโดยแต่ละกรอบมีขนาด 50X50 ซม.พบว่า โดยส่วนใหญ่วัชพืชประเภทใบกว้างมีความเด่นด้วยค่าของ sum dominant ratio เพราะในพืชสมุนไพรมีร่มเงาและมีความชื้น โดยน้านมราชสีห์(*Euphorbia hirta* L.)เป็นวัชพืชประเภทใบกว้างที่เด่นในพืชบัวบก ส่วนแห้วหมู (*Cyperus rotundus* L.)เป็นวัชพืชประเภทกกที่เด่นในกวาวเครือขาว ลูกใต้ใบ(*Phyllanthus niruri* L.)เป็นวัชพืชประเภทใบกว้างที่เด่นในกระจับแดง ผักปราบ(*Commelina diffusa* Burm.f.)เป็นวัชพืชประเภทใบกว้างที่เด่นในหม่อน และผักเสี้ยนผี(*Cleome viscosa* L.)เป็นวัชพืชประเภทใบกว้างที่เด่นในพริกไทย สาบม่วง(*Prexelis clematidea*) เป็นวัชพืชประเภทใบกว้างที่เด่นในไพล ตีนตุ๊กแก (*Tridax procumbens*) เป็นวัชพืชประเภทใบกว้างที่เด่นในขมิ้นชัน หญ้ากาบหอย (*Lindernia crustacea*) เป็นวัชพืชประเภทใบกว้างที่เด่นในฟ้าทะลายโจร กะเม็ง(*Eclipta alba*) เป็นวัชพืชประเภทใบกว้างที่เด่นในกระจับดำ ส่วนหญ้ายาง(*Euphorbia heterophylla*) เป็นวัชพืชประเภทใบกว้างที่เด่นในชุมเห็ดเทศ โดยภาพรวมวัชพืชในพืชสมุนไพรที่ทำการสำรวจมีวัชพืชใบกว้างเป็นวัชพืชที่พบมากและมีความเด่นกว่าวัชพืชประเภทอื่นๆ

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-03-05-54

คำนำ

พืชสมุนไพรเป็นพืชที่มีศักยภาพ ที่ประชาชนทุกแขนงให้ความสนใจในความรู้ มีการตื่นตัวนำมาใช้ประโยชน์อย่างมากและกว้างขวางในหลากหลายรูปแบบ (ศูนย์ศึกษาการพัฒนาเขาหินซ้อน, 2546; เพ็ญศรี, 2546 และเพ็ญศรี, 2547) ประเทศไทยเป็นประเทศที่ได้เปรียบเพราะมีความหลากหลายทางชีวภาพของพืช รวมทั้งวัชพืชหลายชนิดมีคุณสมบัติเป็นสมุนไพร(เพ็ญศรี, 2550) ประกอบกับภูมิประเทศและภูมิอากาศทำให้มีพืชสมุนไพรที่มีคุณค่ามากมายหลายชนิดที่ควรอนุรักษ์ (Horticultural Research Institute, 2003) และมีศักยภาพในการที่จะปลูกสมุนไพรในเชิงพาณิชย์ได้เป็นอย่างดี การปลูกพืชสมุนไพรต้องมีแนวทางการวิจัยเพื่อนำไปสู่การส่งเสริมให้มีการปลูกอย่างถูกต้องและเหมาะสมตามหลักวิชาการ รัฐบาลได้มีนโยบายและยุทธศาสตร์ของชาติจำนวนพืชสมุนไพร 12 ชนิด (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2547; และสมพิศ และเพ็ญศรี, 2548) ที่จะทำให้การวิจัยพืชสมุนไพรรองรับความต้องการ และส่งเสริมการใช้สมุนไพร อย่างถูกต้องและแพร่หลายมากขึ้น (สมภพ และพร้อมจิตร์, 2547)

ประโยชน์ของพืชสมุนไพรมีมากมาย สามารถจัดเป็นหมวดหมู่ได้ตามอาการของโรคได้ เช่นรสฝาดทำหน้าที่สมานใช้รักษาโรคท้องเสีย (เพ็ญศรี, 2549) พืชสมุนไพรบางชนิดมีน้ำมันหอมระเหยที่ช่วยให้คลายความเมื่อยล้า และเพิ่มพลังให้กับชีวิต (ICMAP, 2003) อย่างไรก็ตามพืชสมุนไพรควรมีมาตรฐานในการนำมาใช้ (Department of Medical Sciences, 2002) รวมทั้งให้ได้วัตถุดิบที่ดีมีคุณภาพเพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตอุตสาหกรรมยาจากพืชสมุนไพร ดังเช่นฟ้าทะลายโจรในการผลิตยามนุษย์ต้องมีคุณภาพไม่มีเมล็ดหรือต้นวัชพืชเจือปน (เพ็ญศรี และอำไพ, 2552) ดังนั้นจุดเริ่มต้นที่สำคัญคือ การเพาะปลูก

การปลูกโดยทั่วไปเป็นการปลูกแบบดั้งเดิมซึ่งผลผลิตที่ออกมาไม่สม่ำเสมอ (เพ็ญศรี, 2552) ดังนั้นหากต้องการให้ได้ผลผลิตสูงและมีคุณภาพ วัชพืชเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ผลผลิตและคุณภาพลดลง และที่สำคัญต้องทราบชนิด และความหนาแน่นของวัชพืช เพื่อใช้เป็นพื้นฐานในการจัดทำบัญชีรายชื่อวัชพืชในพืชสมุนไพร ดังนั้นการดำเนินงาน 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 พืชในแหล่งปลูกของพืชสมุนไพรแต่ละชนิดทั่วประเทศทั้งในเขตภาคเหนือ 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

$$\text{Relative density (RD)} = \frac{\text{Density for a species} \times 100}{\text{Total density for all species}}$$

$$\text{Relative frequency (RF)} = \frac{\text{Frequency value for a species} \times 100}{\text{Total frequency value for all species}}$$

$$\text{Sum dominant ratio (SDR)} = \text{RD} + \text{RF}$$

2

-การบันทึกข้อมูล

การเก็บข้อมูล จำแนกชื่อวิทยาศาสตร์ให้ถูกต้องตามหลักสากล บันทึกชนิดและปริมาณของวัชพืช หาค่า RD, RF, SDR ระยะเจริญเติบโตของพืชสมุนไพร

เวลาและสถานที่

ปี 2554-55 สำรวจในแหล่งปลูกพืชสมุนไพรทั่วประเทศทั้งในเขตภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

สำรวจวัชพืชในพืชสมุนไพร 10 พืช ดำเนินการในพื้นที่ดังนี้

บัวบก: นครปฐม

กวาวเครือขาว: กาญจนบุรี

กระเจี๊ยบแดง: ลพบุรี สุพรรณบุรี

หม่อน: นครราชสีมา ชัยภูมิ

พริกไทย: จันทบุรี ระยอง

ไพล: สระแก้ว กาญจนบุรี

ขมิ้นชัน: กาญจนบุรี นครปฐม

ฟ้าทะลายโจร: นครปฐม ราชบุรี กาญจนบุรี ฉะเชิงเทรา ปราจีนบุรี

กระชายดำ: เลย กาญจนบุรี

ชุมเห็ดเทศ: สระแก้ว นครปฐม

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 ตามลำดับด้วยผักเบี้ยใหญ่(*Portulaca oleracea*) สร้อยนกเขา(*Mollugo pentaphylla* L.) (ตารางที่1)

วัชพืชที่พบในกวาวเครือขาว หัวหมู (*Cyperus rotundus* L.)เป็นวัชพืชประเภทกกที่เด่นมีค่า SDR=51.3 รองลงมาคือตีนตุ๊กแก(*Tridax procumbens*)มีค่า SDR=30.3 (ตารางที่2)

วัชพืชที่พบในกระเจียบแดง: ลูกใต้ใบ(*Phyllanthus niruri*)เป็นวัชพืชประเภทใบกว้างที่เด่นมีค่า SDR=38.6 รองลงมาคือสะอึก(*Ipomoea gracilis*) มีค่า SDR=37.1 (ตารางที่3)

วัชพืชที่พบในหม่อน: ผักปราบ(*Commelina diffusa* Burm.f.)เป็นวัชพืชประเภทใบกว้างที่เด่นมีค่า SDR= 44.6รองลงมาคือผักเสี้ยนผี(*Cleome viscosa* L.) มีค่า SDR= 43.0(ตารางที่4)

วัชพืชที่พบในพริกไทย:ผักเสี้ยนผี(*Cleome viscosa* L.)เป็นวัชพืชประเภทใบกว้างที่เด่นในพริกไทยมีค่า SDR= 37.4รองลงมาคือหญ้าสาบ(*Prexelis clematidea*) มีค่า SDR=23.0 (ตารางที่5)

วัชพืชที่พบในไพล:สาบม่วง(*Prexelis clematidea*) เป็นวัชพืชประเภทใบกว้างที่เด่นในไพลมีค่า SDR= 67.9 รองลงมาคือ โสนดอน(*Aeschynomene americana*) มีค่า SDR=40.2 (ตารางที่6)

วัชพืชที่พบในขมิ้นชัน: ตีนตุ๊กแก (*Tridax procumbens*) เป็นวัชพืชประเภทใบกว้างที่เด่นในขมิ้นชันมีค่า SDR= 40.6 รองลงมาคือ สาบม่วง(*Prexelis clematidea*) มีค่า SDR=21.9 (ตารางที่7)

วัชพืชที่พบในฟ้าทะลายโจร: หญ้ากาบหอย(*Lindernia crustacea*) เป็นวัชพืชประเภทใบกว้างที่เด่นในฟ้าทะลายโจร มีค่า SDR=39.8 รองลงมาคือ สาบแร้งสาบกา(*Ageratum conyzoides*)มีค่า SDR=24.4 (ตารางที่8)

วัชพืชที่พบในกระชายดำ: กะเม็ง(*Eclipta alba*) เป็นวัชพืชประเภทใบกว้างที่เด่นในกระชายดำมีค่า SDR= 44.1 รองลงมาคือ ตีนตุ๊กแก (*Tridax procumbens*) มีค่า SDR=24.5 (ตารางที่9)

วัชพืชที่พบในชุมเห็ดเทศ: หญ้ายาง (*Euphorbia heterophylla*) เป็นวัชพืชประเภทใบกว้างที่เด่นในชุมเห็ดเทศมีค่า SDR= 53.4 รองลงมาคือ หญ้าตีนติด(*Brachiaria reptans*)มีค่า SDR=43.2 เนื่องจากแปลงชุมเห็ดเทศเป็นแปลงที่เปิดใหม่ ทำให้มีวัชพืชที่ชอบแสงขึ้นได้ดี (ตารางที่10)

ในพืชสมุนไพรมีรุ่มเงาและมีความชื้น วัชพืชประเภทใบกว้างเด่นกว่าวัชพืชประเภทอื่นๆในภาพรวม วัชพืชประเภทใบกว้างสามารถกำจัดได้ง่ายกว่าวัชพืชประเภทใบแคบ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

- 1.วัชพืชที่มีค่า sum dominant ratio ส่วนใหญ่เป็นประเภทใบกว้าง เนื่องจากพืชสมุนไพรมีรุ่มเงา และมีความชื้น ยกเว้นพืชที่ปลูกใหม่

- 2.ความหนาแน่น และความถี่ของวัชพืชที่พบเป็นข้อมูลพื้นฐานในการจัดทำบัญชีรายชื่อวัชพืช ใช้เป็นข้อมูลในการประเมินความเสี่ยงทั้งการนำเข้าและส่งออกพืชสมุนไพร
- 3.วัชพืชที่พบมากใช้เป็นกลยุทธ์ในการหาแนวทางป้องกันและกำจัด

เอกสารอ้างอิง

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2547. แผนยุทธศาสตร์การพัฒนาอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์สมุนไพร. คณะกรรมการพัฒนาอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์สมุนไพร. กระทรวงสาธารณสุข. 120 หน้า.

เพ็ญศรี นันทสมสราน. 2546. สมุนไพรกับคนไทย (ตอนที่ 1). กสิกร. 76(6) หน้า 97-103.

เพ็ญศรี นันทสมสราน. 2547. สมุนไพรกับคนไทย (ตอนจบ). กสิกร. 77(1) หน้า 72-81

เพ็ญศรี นันทสมสราน. 2549. สมุนไพรที่ใช้ตามอาการของโรค. กสิกร. 79(2) หน้า 43-53.

เพ็ญศรี นันทสมสราน. 2550. วัชพืชสมุนไพร. กสิกร. 80(1) หน้า 103-110.

เพ็ญศรี นันทสมสราน. 2552. การจัดการวัชพืชในพืชสมุนไพร. เอกสารประกอบการฝึกอบรมวัชพืชสำคัญและการจัดการในพืชเศรษฐกิจ หน้า 77-94.

เพ็ญศรี นันทสมสราน. อ่ำไพ ประเสริฐสุข. 2552. ศึกษา การจัดการวัชพืชในฟ้าทะลายโจร. การประชุมวิชาการอารักขาพืช “อารักขาพืช หลากผลผลิตเพื่อเศรษฐกิจยั่งยืน” หน้า 121-126.

ศูนย์ศึกษาการพัฒนาเขาหินซ้อน อันเนื่องมาจากพระราชดำริ. 2546. พืชสมุนไพรในสวนป่าสมุนไพรเขาหินซ้อน. สวนพฤกษศาสตร์ภาคตะวันออก(เขาหินซ้อน) อำเภอบ้านฉาง จันทบุรี. 101 หน้า.

สมพิศ ไม้เรียง และเพ็ญศรี นันทสมสราน. 2548. พืชสมุนไพร...ในแผนยุทธศาสตร์ชาติ. กสิกร. 78(6) หน้า 72-83.

สมภพ ประธานธรรมาภิบาล และพร้อมจิตร ศรีสัมพันธ์. 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.

ภาคผนวก

ผิดพลาด! วัตถุไม่สามารถถูกสร้างจากการแก้ไขโค้ดเขตข้อมูล

การสำรวจวัชพืชในแปลงปลูกพืช



แปลงขมิ้นชันและแปลงที่ปลูกแซมสวนยางพารา

ตารางที่ 1 ความหนาแน่น (RD) ความถี่ (RF) และอัตราความเด่น (SDR) ของวัชพืชในบัวบก

Weed species	RD	RF	SDR
น้ำนมราชสีห์(<i>Euphorbia hirta</i>)	22.7	93.7	58.2
หญ้าดอกขาว(<i>Leptochloa chinensis</i>)	16.9	68.8	42.8
ผักเบี้ยใหญ่(<i>Portulaca oleracea</i>)	16.1	68.8	42.5
สร้อยนกเขา(<i>Mollugo pentaphylla</i>)	16.1	43.8	29.9
กกขนาก(<i>Cyperus difformis</i>)	12.5	50.0	31.3
ขี้ดมอญ(<i>Sida acuta</i>)	2.8	18.8	10.8
หญ้าตีนติด(<i>Brachiaria reptans</i>)	2.4	18.8	10.6
ผักเบี้ยหิน(<i>Trianthema portulacastrum</i>)	2.0	12.5	7.3
ผักโขม(<i>Amaranthus viridis</i>)	2.0	6.3	4.2
หญ้าตีนกา(<i>Eleusine indica</i>)	1.2	6.3	3.8
หญ้ายาง(<i>Euphorbia heterophylla</i>)	1.2	6.3	3.8
แห้วหมู(<i>Cyperus rotundus</i>)	1.2	6.3	3.8
หนวดปลาชุก(<i>Fimbristylis milicea</i>)	0.8	12.2	6.5
หญ้าตีนนก(<i>Digitaria ciliaris</i>)	0.8	6.3	3.6
ต้อยติ่ง(<i>Ruellia tuberosa</i>)	0.8	6.3	3.6
หญ้านกสีชมพู(<i>Echinochloa colona</i>)	0.4	6.3	3.4
หญ้าละออง(<i>Vernonia cinerea</i>)	0.4	6.3	3.4

ตารางที่ 2 ความหนาแน่น (RD) ความถี่ (RF) และอัตราความเด่น (SDR) ของวัชพืชในกวางเครือขาว

Weed species	RD	RF	SDR
แห้วหมู(<i>Cyperus rotundus</i>)	48.8	53.8	51.3
ตีนตุ๊กแก(<i>Tridax procumbens</i>)	6.7	53.8	30.3
หญ้าขจรจบ(<i>Pennisetum pedicellatum</i>)	3.2	38.5	20.9
หญ้างามะหยี่(<i>Lagascea mollis</i>)	9.9	38.5	20.3
หญ้ายาง(<i>Euphorbia heterophylla</i>)	2.0	38.5	20.3
สามม่วง(<i>Prexelis clematidea</i>)	1.5	38.5	20.0
ถั่วลาย(<i>Centrosema pubescens</i>)	8.8	30.8	19.8
พะดอเจียว(<i>Dichanthium annulatum</i>)	4.7	30.8	17.8
ผกากรอง(<i>Lantana camara</i>)	1.7	23.1	12.4
น้ำนมราชสีห์(<i>Euphorbia hirta</i>)	2.6	15.4	9.0
สะอึก(<i>Ipomoea gracilis</i>)	1.5	15.4	8.5
สาบเสือ(<i>Eupatorium odoratum</i>)	1.2	15.4	8.3
ชุมเห็ดไทย(<i>Cassia tora</i>)	3.5	7.7	5.6
หญ้าตีนติด(<i>Brachiaria reptans</i>)	1.2	7.7	4.5
หญ้าบู่(<i>Cenchrus echinatus</i>)	1.2	7.7	4.4
หญ้าดอกแดง(<i>Rhyncherytrum repens</i>)	0.9	7.7	4.3
หญ้าปากควาย(<i>Dactyloctenium aegyptium</i>)	0.3	7.7	4.0
ลูกใต้ใบ(<i>Phyllanthus niruri</i>)	0.3	7.7	4.0

ตารางที่ 3 ความหนาแน่น (RD) ความถี่ (RF) และอัตราความเด่น (SDR) ของวัชพืชในกระเจียบแดง

Weed species	RD	RF	SDR
ลูกใต้ใบ(<i>Phyllanthus niruri</i>)	33.2	44	38.6
สะอึก(<i>Ipomoea gracilis</i>)	14.2	60	37.1
หญ้าตีนติด(<i>Brachiaria reptans</i>)	5.1	64	34.6
ปอวัชพืช(<i>Corchorus aestuan</i>)	11.2	52	31.6
กะเพราผี(<i>Hyptis suaveolens</i>)	12.1	36	24.1
โสนดอน(<i>Aeschynomene americana</i>)	4.4	40	22.2
หญ้านกสีชมพู(<i>Echinochloa colona</i>)	3.9	36	20.0
หญ้ายาง(<i>Euphorbia heterophylla</i>)	10.2	12	11.1
หญ้านก(<i>Eriochloa procerata</i>)	1.4	20	10.7
หญ้าดอกขาว(<i>Leptochloa chinensis</i>)	1.6	16	8.8
ตีนตุ๊กแก(<i>Tridax procumbens</i>)	1.2	8	4.6
น้ำนมราชสีห์(<i>Euphorbia hirta</i>)	0.9	8	4.5
ผักเสี้ยนผี(<i>Cleome viscosa</i>)	0.7	8	4.3
ผักปราบ(<i>Commelina diffusa</i>)	0.5	4	2.2
ถั่วผี(<i>Phaseolus lathyroides</i>)	0.2	4	2.1
แห้วหมู(<i>Cyperus rotundus</i>)	0.2	4	2.1
กะเม็ง(<i>Eclipta alba</i>)	0.2	4	2.1
ตดหมูตดหมา(<i>Paederia linearis</i>)	0.2	4	2.1

ตารางที่ 4 ความหนาแน่น (RD) ความถี่ (RF) และอัตราความเด่น (SDR) ของวัชพืชในหม่อน

Weed species	RD	RF	SDR
ผักปราบ(<i>Commelina diffusa</i>)	14.3	75	44.6
ผักเสี้ยนผี(<i>Cleome viscosa</i> L.)	11.0	75	43.0
ผักคราด(<i>Spilanthus acmella</i>)	11.4	50	38.7
หญ้ายาง(<i>Euphorbia heterophylla</i>)	11.4	58.3	34.9
ตำแยแมว(<i>Acalypha indica</i>)	9.8	50	29.9
หญ้าโขย่ง(<i>Rottboelia cochinchinensis</i>)	11.4	33.3	22.4
หญ้าขน(<i>Brachiaria mutica</i>)	6.9	33.3	20.1
หญ้าขจรจบ(<i>Pennisetum polystachyon</i>)	4.1	25	14.6
หญ้าเขมรเล็ก(<i>Borreria laevis</i>)	4.1	16.7	10.4
พญางิ้วขาว(<i>Starchytapheta jamicensis</i>)	3.7	16.7	10.2
ลูกใต้ใบ(<i>Phylanthus niruri</i>)	2.9	16.7	9.8
ผักโขมหนาม(<i>Amaranthus spinosus</i>)	2.9	16.7	9.8
โทงเทง(<i>Physalis minima</i>)	2.4	16.7	9.6
หญ้างำมะหยี่(<i>Lagascea mollis</i>)	2.4	16.7	9.6
หญ้าดอกห่าง(<i>Paspalidium flavidum</i>)	4.1	8.3	6.2
ต้อยติ่ง(<i>Ruellia tuberosa</i>)	2.0	8.3	5.1
หญ้าละออง(<i>Vernonia cinerea</i>)	1.6	8.3	5.0
หงอนไก่ป่า(<i>Celosia argentea</i>)	0.8	8.3	4.6

ตารางที่ 5 ความหนาแน่น (RD) ความถี่ (RF) และอัตราความเด่น (SDR) ของวัชพืชในพริกไทย

Weed species	RD	RF	SDR
ผักเสี้ยนผี(<i>Cleome viscosa</i>)	14.7	60	37.4
สาบม่วง(<i>Prexelis clematidea</i>)	16.0	30	23.0
ลูกใต้ใบ(<i>Phylanthus niruri</i>)	7.3	35	21.1
ผักปราบ(<i>Commelina diffusa</i>)	4.6	25	14.8
สร้อยนกเขา(<i>Mollugo pentaphylla</i>)	4.1	25	14.6
หญ้าหนวดข้าว(<i>Echinochloa colona</i>)	4.1	25	14.6
แห้วหมู(<i>Cyperus rotundus</i>)	6.0	20	13.0
น้ำนอมราชสีห์(<i>Euphorbia hirta</i>)	6.0	25	12.8
หญ้าตีนนก(<i>Digitaria adscendens</i>)	9.5	15	12.3
กกคุ่มหู(<i>Cyperus kyllingia</i>)	3.0	20	11.5
หญ้าละออง(<i>Vernonia cinerea</i>)	1.4	5	11.2
ผักโขม(<i>Amaranthus viridis</i>)	2.4	20	11.2
จิงจ้อ(<i>Aniscia mantinicensis</i>)	4.6	15	9.8
หญ้าดอกขาว(<i>Leptochloa chinensis</i>)	3.3	15	9.1
กระดุมใบใหญ่(<i>Borreria latifolia</i>)	3.0	15	9.0
ขี้ดมอญ(<i>Sida acuta</i>)	1.6	15	8.3
หญ้าม้าเลเชีย (<i>Axonopus compressus</i>)	1.6	10	5.8
หญ้าตีนติด(<i>Brachiaria reptans</i>)	0.5	10	5.3

ตารางที่ 5 (ต่อ) ความหนาแน่น (RD) ความถี่ (RF) และอัตราความเด่น (SDR) ของวัชพืชในพริกไทย

Weed species	RD	RF	SDR
หูลาซ็อน(<i>Emilia sonchifolia</i>)	0.5	10	5.2
ตีนตุ๊กแก(<i>Tridax procumbens</i>)	1.4	5	3.2
ผักเบี้ยใหญ่(<i>Portulaca oleracea</i>)	0.8	5	2.9
หญ้าลูกเห็บ(<i>Paspalum conjugatum</i>)	0.8	5	2.9
ผักปราบไธเร่(<i>Commelina benghalensis</i>)	0.8	5	2.9
ตำแยแมว(<i>Acalypha indica</i>)	0.8	5	2.9
หญ้ายาง(<i>Euphorbia heterophylla</i>)	0.5	5	2.7
ต้อยติ่ง(<i>Ruellia tuberosa</i>)	0.5	5	2.7

ตารางที่ 6 ความหนาแน่น (RD) ความถี่ RF) และอัตราความเด่น (SDR) ของวัชพืชในไร่

Weed species	RD	RF	SDR
สาบม่วง(<i>Prexelis clematidea</i>)	35.8	100	67.9
โสนดอน(<i>Aeschynomene americana</i>)	17.9	62.5	40.2
หญ้าตีนติด(<i>Brachiaria reptans</i>)	7.5	62.5	35.0
ตดหมูตดหมา (<i>Paedaria linearis</i>)	5.2	37.5	21.3
หญ้าคา (<i>Imperata cylindrica</i>)	7.5	25.0	16.3
ผักแครด (<i>Synedrella nodiflora</i>)	4.5	25.0	14.8
กกตั้งหู (<i>Cyperus brevifolius</i>)	4.5	25.0	14.8
หญ้ายาง(<i>Euphorbia heterophylla</i>)	3.7	25.0	14.4
ซัดมอญ(<i>Sida acuta</i>)	3.0	25.0	14.0
สาบเสือ(<i>Eupatorium odoratum</i>)	1.5	25.0	13.3
ปอวัชพืช(<i>Corchorus aestuan</i>)	4.5	12.5	8.5
ตีนตุ๊กแก(<i>Tridax procumbens</i>)	1.5	12.5	7.0
ไมยราบ(<i>Mimosa pudica</i>)	1.5	12.5	7.0
ลูกใต้ใบ(<i>Phyllanthus niruri</i>)	1.5	12.5	7.0

ตารางที่ 7 ความหนาแน่น (RD) ความถี่ (RF) และอัตราความเด่น (SDR) ของวัชพืชในขมื่นชั้น

Weed species	RD	RF	SDR
ตีนตุ๊กแก(<i>Tridax procumbens</i>)	27.6	53.6	40.6
สาบม่วง(<i>Prexelis clematidea</i>)	15.1	28.6	21.9
ผักแครด (<i>Synedrella nodiflora</i>)	9.8	32.1	20.9
หญ้าตีนนก(<i>Digitaria adscendens</i>)	9.1	28.6	18.8
โสนดอน(<i>Aeschynomene americana</i>)	4.5	25.0	14.8
กระดุมใบใหญ่(<i>Borreria latifolia</i>)	4.2	25.0	14.6
สาบแรังสาบกา(<i>Ageratum conyzoides</i>)	10.4	17.9	14.2
น้ำนมราชสีห์(<i>Euphorbia hirta</i>)	3.4	17.9	10.7
ครอบจักรวาล(<i>Abutilon hirtum</i>)	2.7	17.9	10.3
หญ้าตีนติด(<i>Brachiaria reptans</i>)	1.7	14.3	8.0
กะเพราผี(<i>Hyptis suaveolens</i>)	1.1	14.3	7.7
ไมยราบ(<i>Mimosa pudica</i>)	3.4	10.7	7.1
ลูกใต้ใบ(<i>Phyllanthus niruri</i>)	0.5	10.7	5.6
หญ้ายาง(<i>Euphorbia heterophylla</i>)	0.8	7.1	3.9
ขี้ดมอญ(<i>Sida acuta</i>)	0.8	7.1	3.9
ปอวัชพืช(<i>Corchorus aestuan</i>)	0.4	7.1	3.8
ผักโขม(<i>Amaranthus viridis</i>)	0.3	7.1	3.7
กระดุมใบเล็ก(<i>Borreria laevis</i>)	1.3	3.6	2.5
หญ้าขจรจบดอกเล็ก(<i>Pennisetum polystachyon</i>)	0.9	3.6	2.2
สร้อยนกเขา(<i>Mollugo pentaphylla</i>)	0.5	3.6	2.1

ตารางที่ 7 (ต่อ) ความหนาแน่น (RD) ความถี่ (RF) และอัตราความเด่น (SDR) ของวัชพืชในขมิ้นชัน

Weed species	RD	RF	SDR
ผักปราบ(<i>Commelina diffusa</i>)	0.4	3.6	2.0
โสนทางไก่(<i>Aeschynomene aspera</i>)	0.4	3.6	2.0
สะอึก(<i>Ipomoea gracilis</i>)	0.2	3.6	1.9
หงอนไก่ป่า(<i>Celosia argentea</i>)	0.2	3.6	1.9
สาบเสือ(<i>Eupatorium odoratum</i>)	0.3	3.6	1.9

ตารางที่ 8 ความหนาแน่น (RD) ความถี่ (RF) และอัตราความเด่น (SDR) ของวัชพืชในฟ้าทะลายโจร

Weed species	RD	RF	SDR
1. หญ้ากาบหอย(<i>Lindernia crustacea</i>)	0.7	78.9	39.8
2. สาบแรังสาบกา(<i>Ageratum conyzoides</i>)	12.0	36.8	24.4
3. ผักเสี้ยนผี(<i>Cleome viscosa</i>)	10.0	36.8	23.4
4. กระสัง(<i>Peperomia pellucida</i>)	19.5	21.1	20.3
5. หญ้าหวาย(<i>Eragrostis tenella</i>)	2.3	31.6	16.9
6. หญ้าตีนนก(<i>Digitaria adscendens</i>)	4.8	26.3	15.6
7. ตะกรับ(<i>Scleria poaeformis</i>)	6.4	21.1	13.7
8. หญ้ายาง(<i>Euphorbia heterophylla</i>)	3.4	21.1	12.3
9. ตีนตุ๊กแก(<i>Tridax procumbens</i>)	2.9	21.1	12.0
10. ผักโขม(<i>Amaranthus viridis</i>)	1.8	21.1	11.5
11. ผักโขมหนาม(<i>Amaranthus spinosus</i>)	1.8	21.1	11.5
12. กระดุมใบใหญ่(<i>Borreria latifolia</i>)	1.4	21.1	11.3

ตารางที่ 8 (ต่อ) ความหนาแน่น (RD) ความถี่ (RF) และอัตราความเด่น (SDR) ของวัชพืชในป่าทะเลสาบจร

Weed species	RD	RF	SDR
13. หูปลาช่อน(<i>Emilia sonchifolia</i>)	4.8	15.8	10.3
14. ผักปราบ(<i>Commelina diffusa</i>)	2.3	15.8	9.1
15. ผักแครด (<i>Synedrella nodiflora</i>)	2.0	15.8	8.9
16. หญ้าปากควาย(<i>Dactyloctenium aegyptium</i>)	1.8	15.8	8.8
17. เจริญป่า(<i>Lindernia ciliata</i>)	1.8	15.8	8.8
18. หญ้าตีนกา(<i>Eleusine indica</i>)	1.1	15.8	8.5
19. ตำแย(<i>Laportia bulbifera</i>)	0.7	15.8	8.3
20. หญ้าดอกขน(<i>Pomoea triloba</i>)	0.7	15.8	8.3
21. ลูกใต้ใบ(<i>Phyllanthus niruri</i>)	0.5	10.5	5.5
22. น้านมราชสีห์(<i>Euphorbia hirta</i>)	0.5	10.5	5.5
23. หญ้าละออง(<i>Vernonia cinerea</i>)	0.5	10.5	5.5
24. หญ้าปล้องหิน(<i>Paspalum scrobiculatum</i>)	0.5	10.5	5.5
25. ผักเบี้ยไทย(<i>Alternanthera sessilis</i>)	1.6	5.3	3.5
26. หญ้าแพรก(<i>Cynodon dactylon</i>)	1.1	5.3	3.2
27. เทียนนา(<i>Ludwigia hyssopifolia</i>)	1.1	5.3	2.9
28. หญ้านาก(<i>Eriochloa procer a</i>)	0.2	5.3	2.7
29. กกดอกเขียว(<i>Cyperus brevifolius</i>)	0.2	5.3	2.7
30. กิ่งกุ่มน้อย(<i>Murandia nudiflora</i>)	0.2	5.3	2.7
31. หญ้าโขย่ง(<i>Rottboellia cochinchinensis</i>)	0.2	5.3	2.7
32. หญ้าไผ่(<i>Ottochloa nodusa</i>)	0.2	5.3	2.7

ตารางที่ 8 (ต่อ) ความหนาแน่น (RD) ความถี่ (RF) และอัตราความเด่น (SDR) ของวัชพืชในป่าหลายใจ

Weed species	RD	RF	SDR
33.บาทยา(<i>Asystasia gangetica</i>)	0.2	5.3	2.7
34.กกทราย(<i>Cyperus iria</i>)	0.2	5.3	2.7
35.บานไม่รู้โรยป่า(<i>Gomphrena celosoides</i>)	0.2	5.3	2.7
36.สร้อยนกเขา(<i>Mollugo pentaphylla</i>)	0.2	5.3	2.7
37.หญ้าขจรจบดอกเล็ก(<i>Pennisetum polystachyon</i>)	0.2	5.3	2.7
38.ไมยราบ(<i>Mimosa pudica</i>)	0.2	5.3	2.7
39.สาบเสือ(<i>Eupatorium odoratum</i>)	0.2	5.3	2.7
40.หญ้าดอกแดง(<i>Rhynchelytrum repens</i>)	0.2	5.3	2.7

ตารางที่ 9 ความหนาแน่น (RD) ความถี่ (RF) และอัตราความเด่น (SDR) ของวัชพืชในกระชายดำ

Weed species	RD	RF	SDR
1.กะเม็ง(<i>Eclipta alba</i>)	26.2	62.1	44.1
2.ตีนตุ๊กแก(<i>Tridax procumbens</i>)	11.1	37.9	24.5
3.สะเดาดิน(<i>Hydrolea zeylanica</i>)	11.3	27.6	19.5
4.หญ้าตีนตีด(<i>Brachiaria reptans</i>)	3.7	27.6	15.6
5.แห้วหมู(<i>Cyperus rotundus</i>)	12.8	17.2	15.0
6.ผักเบ็ดไทย(<i>Alternanthera sessilis</i>)	4.0	20.7	12.4
7.หญ้าละออง(<i>Vernonia cinerea</i>)	1.8	20.7	11.2
8.หญ้านกสีชมพู(<i>Echinochloa colona</i>)	2.7	17.2	10.0
9.หญ้าตีนนก(<i>Digitaria adscendens</i>)	1.6	17.2	9.4

ตารางที่ 9 (ต่อ) ความหนาแน่น (RD) ความถี่ (RF) และอัตราความเด่น (SDR) ของวัชพืชในกระชายดำ

Weed species	RD	RF	SDR
10.หญ้าตีนกา(<i>Eleusine indica</i>)	4.7	13.8	9.3
11.ลูกใต้ใบ(<i>Phyllanthus niruri</i>)	1.9	13.8	7.9
12.หญ้าดอกขาว(<i>Leptochloa chinensis</i>)	1.8	13.8	7.8
13.ผักโขม(<i>Amaranthus viridis</i>)	1.5	13.8	7.7
14.พะดอเงี้ยว(<i>Dichanthium annulatum</i>)	4.8	10.3	7.6
15.หญ้ารังนก(<i>Chloris barbata</i>)	2.3	10.3	6.3
16.กระถิน(<i>Leucaena leucocephala</i>)	1.1	10.3	5.7
17.ผักบุง(<i>Ipomoea aquatica</i>)	1.3	6.9	4.1
18.ขี้กา(<i>Capparis siamensis</i>)	1.1	6.9	4.0
19.นํ้านมราชสีห์(<i>Euphorbia hirta</i>)	0.6	6.9	3.8
20.สะอึก(<i>Ipomoea gracilis</i>)	0.6	6.9	3.7
21.มะระขี้นก(<i>Monordia charantia</i>)	0.6	3.4	2.0
22.ผักเสี้ยนผี(<i>Cleome viscosa</i>)	0.5	3.4	2.0
23.ไมยราบเครือ(<i>Mimosa invisa</i>)	0.5	3.4	2.0
24.กะทกรก(<i>Passiflora foetida</i>)	0.3	3.4	1.9
25.โทงเทง(<i>Physalis minima</i>)	0.3	3.4	1.9
26.ตำลึง(<i>Coccinia grandis</i>)	0.3	3.4	1.9
27.ถั่วฝัก(<i>Phaseolus lathyroides</i>)	0.3	3.4	1.9

ตารางที่ 10 ความหนาแน่น (RD) ความถี่ (RF) และอัตราความเด่น (SDR) ของวัชพืชในชุมชนเห็ดเทศ

Weed species	RD	RF	SDR
1. หญ้ายวง(<i>Euphorbia heterophylla</i>)	19.3	87.5	53.4
2. หญ้าตีนติด(<i>Brachiaria reptans</i>)	11.3	75.0	43.2
3. หญ้านกสีชมพู(<i>Echinochloa colona</i>)	10.7	50.0	30.4
4. น้านมราชสีห์(<i>Euphorbia hirta</i>)	8.7	50.0	29.4
5. กระดุมใบใหญ่(<i>Borreria latifolia</i>)	16.7	37.5	27.1
6. ตีนตุ๊กแก(<i>Tridax procumbens</i>)	12.7	37.5	25.1
7. โสนคางคก(<i>Aeschynomene indica</i>)	10.7	37.5	24.1
8. ผักแครง (<i>Synedrella nodiflora</i>)	2.0	25.0	13.5
9. ตำแย(<i>Laportia bulbifera</i>)	2.0	12.5	7.3
10. หญ้าปากควาย(<i>Dactyloctenium aegyptium</i>)	1.3	12.5	6.9
11. สาบม่วง(<i>Prexelis clematidea</i>)	1.3	12.5	6.9
12. หญ้ารังนก(<i>Chloris barbata</i>)	1.3	12.5	6.9
13. หญ้าตีนนก(<i>Digitaria adscendens</i>)	1.3	12.5	6.9
14. ขัดมอญ(<i>Sida acuta</i>)	0.7	12.5	6.6

ชีววิทยาและการแพร่กระจายของดาตตะกั่ว

Biology and Distribution of Hemigraphis ;

(Hemigraphis reptans (G. Forst.) T. Anderson).เสริมศิริ คงแสงดาว¹ กลอยใจ คงเจียง ²ภัทร์พิชชา รุจิระพงษ์ชัย¹¹กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช²สำนักวิจัยพัฒนาการเกษตรเขตที่ 6

บทคัดย่อ

ดาตตะกั่วเป็นวัชพืชที่พบมากในสวนกล้วยไม้ กำจัดให้หมดไปทำได้ยาก ได้ทำการทดลองที่เรือนทดลองของกลุ่มวิจัยวัชพืช และแปลงกล้วยไม้ของเกษตรกรที่อำเภอสามพรานและอำเภอบางเลน จังหวัดนครปฐม ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึง เดือนกันยายน 2555 ผลการทดลอง พบว่า 1.1) เมล็ดดาตตะกั่วสามารถงอกได้ทันทีตั้งแต่เมล็ดสุกแก่แล้วติดออกจากต้น เมล็ดงอกได้ดีที่สุดในสภาพมีแสง ร่องลงมาคือเมล็ดที่อยู่ในดินงอกได้ดีกว่าเมล็ดที่ตกบนกาบมะพร้าว เมล็ดไม่งอกในสภาพมืด แต่เมื่อเมล็ดนั้นเจอแสงก็จะงอกได้ตามปกติ เมล็ดงอกได้ดีตั้งแต่เมล็ดสุกแก่จนถึงอายุ 1 เดือน และยังคงงอกได้ดีต่อไปจนถึงอายุ 4 เดือน หลังจากนั้นความงอกค่อยๆลดลงจนแทบไม่งอกเลยที่อายุ 8 เดือน 1.2) การเจริญเติบโตหลังจากดาตตะกั่วงอกจากเมล็ด ใบจริงคู่ที่ 3 แผ่ขยายเต็มที่ จะเริ่มแทงช่อดอกแรก รากแขนงทุกรากมีความแข็งแรง รากยาวและใหญ่ ยึดติดกับดินหรือกาบมะพร้าวแน่น ข้อที่โคนต้นถี่ การถอนทำให้ต้นขาด เหลือโคนต้นติดค้างอยู่ ยังคงแตกกิ่งใหม่ได้ปกติ 2) เมล็ดดาตตะกั่วที่ถูกติดออกจากต้น เมื่อบนผิวดินหรืออยู่ในดินที่ระดับความลึก 1 เซนติเมตร จะงอกได้ดีที่สุดโดยงอกได้ 75.1% และ 70.0% ตามลำดับ เมล็ดจะงอกเร็วและมีจำนวนต้นมากที่สุด ตั้งแต่ 1 สัปดาห์หลังปลูก 3) การแพร่กระจายของเมล็ดดาตตะกั่วหลังจากติดออกจากต้น (บันทึกเมื่อเมล็ดอายุ 80 วันหลังสุกแก่) พบว่าเมล็ดที่ลอยในน้ำ / เมล็ดที่อยู่บนผิวดินใต้น้ำ / เมล็ดที่จมฝังดินอยู่ในน้ำ จะสูญเสียความงอกและถูกทำลายโดยเชื้อราที่อยู่ในธรรมชาติ เมื่อนำเมล็ดมาเพาะไม่พบการงอกเลย ส่วนเมล็ดดาตตะกั่วที่อยู่ในที่แห้ง (เช่น บนใบกล้วยไม้ / บนกาบมะพร้าว) พบว่าเมล็ดที่เริ่มทดลองเมื่ออายุ 1 และ 2 สัปดาห์หลังสุกแก่ มีความงอก 79.6% และ 83.3% ตามลำดับ 4)

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-03-07-54

ความสามารถในการขยายพันธุ์ พบว่าการถอนต้นดาตตะกั่วที่ขึ้นบนดินตั้งแต่หลังออกจนถึงมีใบจริง 2 คู่ กำจัดออกได้ง่ายรากจะหลุดขึ้นมาได้สมบูรณ์ การถอนตั้งแต่ใบจริง 3 คู่ กำจัดได้ไม่สมบูรณ์ สำหรับการถอนต้นดาตตะกั่วที่ขึ้นบนกาบมะพร้าว พบว่ากำจัดได้สมบูรณ์ที่ระยะใบเลี้ยงและที่ระยะใบจริงคู่ที่ 1 ส่วนการถอนกำจัดตั้งแต่ที่ระยะใบคู่ที่ 2 กำจัดได้ไม่สมบูรณ์ แตกกิ่งใหม่จากข้อขยายพันธุ์ได้ปกติ

คำนำ

ดาตตะกั่ว (*Hemigraphis*, Redflame, Purple waffle plant); *Hemigraphis reptans* (G. Forst.) T. Anderson อยู่ในวงศ์ Acanthaceae ต้นดาตตะกั่วดูสวยงามดี เกษตรกรมักปล่อยให้วัชพืชในแปลง พบเป็นวัชพืชข้ามปีในโรงเรือนและสวนกล้วยไม้ ออกดอกผลิตเมล็ดจำนวนมาก เมล็ดติดออกไปได้ไกล ขยายพันธุ์ได้ทั้งเมล็ดและแตกกิ่งใหม่จากข้อ ทำให้กำจัดได้ไม่สมบูรณ์ ที่ฮาวายพบเป็นวัชพืชในสนามหญ้า (Anonymous, 2002) ชื่อที่เกษตรกรสวนกล้วยไม้เรียกคือ ผักแหง หญ้าบังแหง สำหรับดาตตะกั่วชนิดที่เป็นไม้ประดับ *Hemigraphis alternata* (Burm.f.) T. And. ชื่อสามัญไทย ดาตตะกั่ว, ฮ่อมครั่ง, หังจี้จี้ ไม่ค่อยพบการติดผล (วิทย์, 2009) ลำต้นเป็นข้อๆ ต้นแม่แตกกิ่งตั้งแต่โคนต้น ใบเดี่ยว ออกเป็นคู่ไปตามข้อต้น ใบรูปไข่ ปลายใบแหลม โคนใบมน ด้านบนสีเขียวอมม่วง ใต้แผ่นใบมีสีม่วงแดง ขอบใบเรียบ ดอกรูปกรวยเล็กๆสีม่วง 5 แฉก ในแต่ละช่อจะมีใบประดับเรียงซ้อนกันเป็นชั้นๆ เสริมศิริ และคณะ (2552) พบว่าการใช้สารกำจัดวัชพืชทั้งประเภทก่อนวัชพืชงอกและประเภทหลังวัชพืชงอก เพียงครั้งเดียวไม่สามารถกำจัดดาตตะกั่วได้สมบูรณ์ เนื่องจากดาตตะกั่วยังสามารถงอกขึ้นมาใหม่ได้จากข้อและเมล็ด และข้อของดาตตะกั่วที่ขึ้นอยู่ในกาบมะพร้าว กำจัดออกให้หมดได้ยาก จึงเห็นสมควรที่จะมีการศึกษาหาข้อมูลมาประกอบการวางแผนการกำจัดที่มีประสิทธิภาพต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

ต้นดาตตะกั่ว และเมล็ดดาตตะกั่วเก็บรวบรวมจากสวนกล้วยไม้จังหวัดนครปฐม จานแก้ว (petri dishes) ดิน กาบมะพร้าว กระจกพลาสติก ปากคีบปลายแหลม ไม้บรรทัด แวนขยาย พลั่ว ขุดดิน ผ้าไนลอน เชือกเอ็น ไม้เสียบอาหาร แผ่นป้ายขนาดเล็ก หลอดกาแฟ ยางวง

วิธีการ

1. ศึกษาความงอกและการเจริญเติบโตของดาตตะกั่ว

1.1. ศึกษาความงอกของเมล็ดตาดตะกั่ว

-แบบและวิธีการทดลอง และวิธีปฏิบัติการทดลอง คัดเลือกเมล็ดตาดตะกั่วที่สมบูรณ์ วางแผนการทดลองแบบ CRD แบ่งเมล็ดตาดออก 9 ชุด ชุดแรกนำมาเพาะทันทีหลังจากเก็บจากธรรมชาติ และส่วนชุดที่เหลือเก็บไว้ในสภาพอุณหภูมิห้องนำมาเพาะเดือนละครั้งเป็นเวลา 8 เดือน เพาะใน 4 สภาพ คือ ได้รับแสงแดดธรรมชาติ และในที่มืด บนดิน บนกาบมะพร้าว ใช้เมล็ดตาดตะกั่วหน่วยทดลองละ 50 เมล็ด แต่ละสภาพเพาะครั้งละ 20 หน่วยทดลอง

-การบันทึกข้อมูล เมื่อเมล็ดตาดตะกั่วงอก บันทึกความงอกของเมล็ดหลังจากปลูก 2 และ 3 สัปดาห์ สำหรับการเพาะในดินและในกาบมะพร้าวถอนให้เหลือต้นที่แข็งแรง 10 ต้น เพื่อบันทึกข้อมูลการเจริญเติบโต

1.2. ศึกษาการเจริญเติบโตของตาดตะกั่ว

-แบบและวิธีการทดลอง

1.2.1. ผิวดิน คัดเลือกพื้นที่ที่มีตาดตะกั่วขึ้นหนาแน่น สุ่ม 3 จุดพื้นที่ขนาด 50x50 เซนติเมตร

1.2.2. วัสดุปลูก (กาบมะพร้าว) คัดเลือกกระถางกล้วยไม้ที่มีต้นตาดตะกั่วขึ้นหนาแน่น จำนวน 30 กระถาง

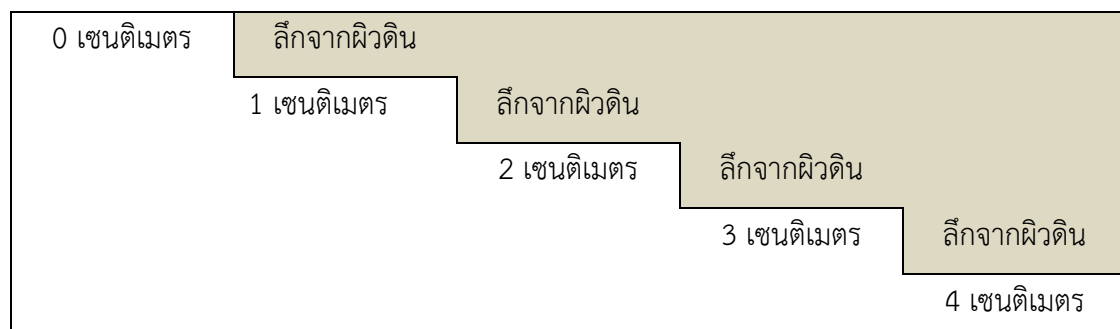
-วิธีปฏิบัติการทดลอง สุ่มต้นตาดตะกั่วที่เป็นตัวแทนออกมาจุดละ 20 ต้น บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโต ได้แก่ ความสูงต้น ขนาดใบ ความยาวกิ่ง จำนวนกิ่ง จำนวนช่อดอก ช่อดอกย่อย จำนวนฝัก จำนวนเมล็ด จำนวนรากและความยาวราก

2. ศึกษาความสามารถในการงอกของเมล็ดตาดตะกั่ว

-แบบและวิธีการทดลอง -

ปลูกตาดตะกั่วที่ระดับความลึกต่างๆจากผิวดิน 0, 1, 2, 3 และ 4 เซนติเมตร แต่ละกรรมวิธีใช้เมล็ด 100 เมล็ดต่อแปลงย่อย ระดับความลึกละ 10 ซ้ำ

ระดับผิวดิน



-วิธีปฏิบัติการทดลอง เตรียมดินบริเวณทางเดินและใต้โต๊ะกล้วยไม้โดยขุดดิน แผลงย่อยขนาด 30x30 เซนติเมตร ความลึกต่างๆกันดังภาพ โรยเมล็ดตาดตะกั่วที่คัดเลือกแต่เมล็ดที่สมบูรณ์นับเตรียมไว้สำหรับแต่ละแผลงย่อย แล้วกลบดินให้เสมอระดับผิวหน้าดิน รดน้ำทันทีหลังปลูก หลังจากนั้นแผลงทดลองจะได้รับน้ำจากการรดน้ำกล้วยไม้ตามปกติ บันทึกความงอกของต้นตาดตะกั่วทุกสัปดาห์ นาน 4 สัปดาห์ และเก็บเกี่ยวต้นตาดตะกั่วทั้งแผลงย่อยบันทึกจำนวนต้นและน้ำหนักต้นสดทั้งหมด (จำเป็นต้องเก็บเกี่ยวทั้งแผลงย่อยเนื่องจากต้นตาดตะกั่วงอกทะยอยงอกทำให้ขนาดต้นคละกันสุมให้ได้ต้นที่สม่ำเสมอ)

3. การศึกษาความสามารถในการแพร่กระจายของเมล็ดตาดตะกั่ว

-แบบและวิธีการทดลอง

ทดลอง 2 ปัจจัย ปัจจัยสภาพแวดล้อมของเมล็ด มี 4 ระดับ คือ เมล็ดที่อยู่ในที่แห้ง, เมล็ดที่อยู่บนผิวดินใต้น้ำ, เมล็ดที่ฝังอยู่ในดินใต้น้ำ และ เมล็ดที่ลอยอยู่ในน้ำ และ และปัจจัยระยะเวลา มี 4 ระดับ เริ่มทดลองจากเมล็ดอายุ 1, 2, 3 และ 4 สัปดาห์หลังสุกแก่ แต่ละหน่วยทดลอง (1 ห่อ) ใช้เมล็ด 100 เมล็ด กรรมวิธีละ 10 ซ้ำ

-วิธีปฏิบัติการทดลอง รวบรวมเมล็ดตาดตะกั่วที่สุกแก่พร้อมกัน (เมล็ดที่ติดออกจากฝักในวันทีเก็บมาจากต้น) คัดเลือกเมล็ดที่สมบูรณ์นับ 100 เมล็ดห่อด้วยผ้าไนลอน มัดด้วยเชือกเอ็น ปล่อยให้คลายเชือกยาว จำนวน 160 ห่อ เริ่มการทดลองที่ 1 สัปดาห์หลังสุกแก่ โดยนำห่อเมล็ดที่เตรียมไว้ไปวางตามสภาพที่กำหนดในพื้นที่เดียวกันสภาพละ 10 ห่อ คือ สภาพเมล็ดที่อยู่ในที่แห้งห่อเมล็ดติดกับกะบะกล้วยไม้ สภาพเมล็ดที่อยู่บนผิวดินใต้น้ำใช้หลักไม้ยึดให้ห่อเมล็ดวางอยู่บนผิวดิน สภาพเมล็ดที่ฝังอยู่ในดินใต้น้ำขุดดินใต้น้ำฝังกลบห่อเมล็ดยึดติดไว้กับหลักไม้ และสภาพเมล็ดที่ลอยอยู่ในน้ำห่อเมล็ดปล่อยให้คลายเชือกยาวให้ลอยน้ำยึดไว้กับหลัก และทำเช่นเดียวกันที่ 2, 3 และ 4 สัปดาห์หลังสุกแก่ เมื่อเมล็ดมีอายุ 80 วันหลังสุกแก่ นำห่อเมล็ดทั้งหมดขึ้นมาล้างทำความสะอาดแล้วเพาะเมล็ด ห่อละ 1 งานแก้ว นับจำนวนต้นที่งอกเพื่อวัดผลการทดลอง

4. การศึกษาความสามารถในการขยายพันธุ์โดยกำจัดต้นตาดตะกั่วอายุต่างๆกัน

-แบบและวิธีการทดลอง กำจัดต้นตาดตะกั่วขนาดอายุต่างๆ คือ ระยะใบจริง 2 คู่, ระยะใบจริง 3 คู่, ระยะเริ่มออกดอก และ ระยะออกดอกติดเมล็ด แต่ละอายุใช้ต้นตาดตะกั่ว 50 ต้น ทำการทดลอง 2 ชุด คือ ชุดที่ขึ้นในดิน และชุดที่ขึ้นในวัสดุปลูก (กาบมะพร้าว)

-วิธีปฏิบัติการทดลอง ใช้ต้นตาดตะกั่วที่ขึ้นในแผลงกล้วยไม้ คัดเลือกต้นตามขนาดอายุที่กำหนด แต่ละขนาดอายุใช้ต้น 50 ต้น เริ่มการทดลองโดยทำการกำจัดตาดตะกั่วด้วยมือ ปักป้ายที่แตกต่างกันกำกับ (ใช้หลอดกาแฟสีต่างๆประกอบกับป้ายพลาสติก และวางวงระบุตำแหน่งและอายุที่

กำจัดต้นดาตตะกั่วออก) ที่ 30 วันหลังกำจัดเก็บเกี่ยวต้นดาตตะกั่ว วัดการเจริญเติบโต ผลการทดลองดูจากค่าเฉลี่ยที่แตกต่างจากต่อเดิม

เวลาและสถานที่

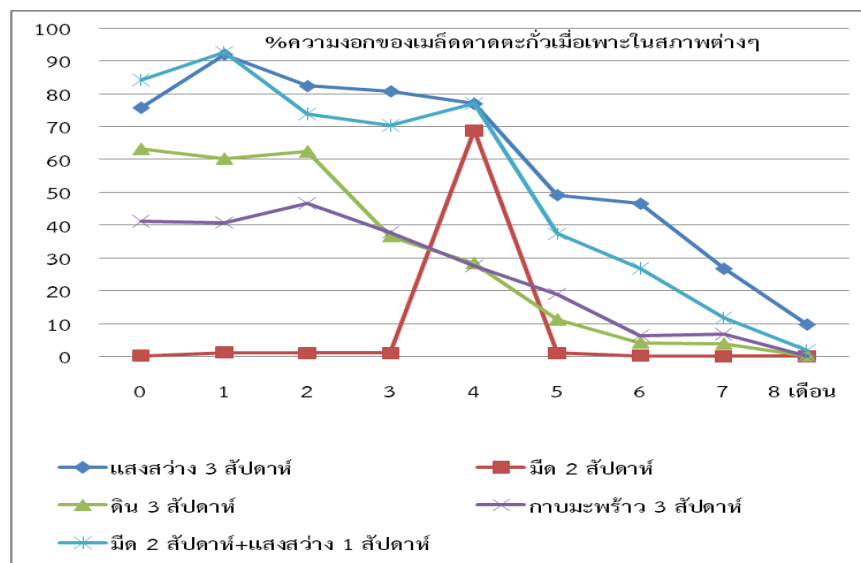
ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2555 เรือนทดลองของกลุ่มวิจัยวัชพืช และสวนกล้วยไม้อำเภอสามพราน และอำเภอบางเลน จังหวัดนครปฐม

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ศึกษาความงอกและการเจริญเติบโตของดาตตะกั่ว

1.1. ศึกษาความงอกของเมล็ดดาตตะกั่ว โดยเปรียบเทียบความงอกของเมล็ดดาตตะกั่วเมื่อเพาะในสภาพต่างๆ จากการนำเมล็ดดาตตะกั่วที่สุกแก่มาเพาะในสภาพต่างๆ ที่ 3 สัปดาห์หลังการเพาะ พบว่าความงอกของเมล็ดดาตตะกั่วที่เพาะในจานแก้วที่ได้รับแสงแตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมล็ดที่เพาะในที่ที่มีแสงแดดมีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงสุด

ตารางที่ 1 และภาพที่ 1 % ความงอกของเมล็ดดาตตะกั่วหลังสุกแก่ภายใต้สภาพการเพาะต่างๆ



สภาพการ เพาะ	% ความงอกของเมล็ดตาดตะกั่วหลังสุกแก่ (เดือน)									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	
แสงสว่าง	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	
มืด	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	
ดิน	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	
กาบมะพร้าว	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	
มืด+แสง	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	
C.V. (%)	23.2	19.4	26.3	26.2	24.5	44.4	47.7	50.2	99.2	

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

^{1/} = ขณะเพาะภาชนะบรรจุเมล็ดไม่สนิททำให้เมล็ดตาดตะกั่วงอกได้ ต้นที่งอกมีสีขาวและยืดยาวหาแสง

ส่วนเมล็ดที่เพาะในจานแก้วสภาพมืดตลอดเวลา ซึ่งแทบจะไม่มีเมล็ดงอกเลย สอดคล้องกันทุกเดือน และเมื่อนำเมล็ดที่เพาะในที่มืดนาน 2 สัปดาห์ออกมารับแสงแดด พบว่าเมล็ดที่ไม่งอกชุดนั้นสามารถงอกได้ตามปกติ รองลงมาจากสภาพที่ได้รับแสงธรรมชาติ แสดงว่าแสงจำเป็นต่อการงอกของเมล็ดตาดตะกั่ว (ตารางที่ 1 และภาพที่ 1)

ส่วนการเพาะในดินเมล็ดตาดตะกั่วงอกขึ้นมาน้อยกว่าการเพาะในจานแก้ว เนื่องจากเมล็ดที่งอกแล้วต้องปรับตัวในสภาพแวดล้อมและดินให้ไหล่พื้นดินขึ้นมา และความงอกยิ่งน้อยลงเมื่อเพาะในกาบมะพร้าว เนื่องจากกาบมะพร้าวมีความพรุนและแห้งกว่าดิน จากการสังเกตพบว่าต้นตาดตะกั่วจะยาวมากกว่าต้นที่งอกจากดิน เพราะเมล็ดที่ตกลงไปในซอกเส้นใยกาบมะพร้าว ต้องใช้อาหารในเมล็ดมากในการยืดตัวหลังงอก เพื่อให้ไหล่ขึ้นมารับแสงบนผิวกาบมะพร้าว

ความงอกของเมล็ดตาดตะกั่วหลังสุกแก่ จากการเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดตาดตะกั่วที่เพาะในสภาพแสงแดด พบว่าเมล็ดตาดตะกั่วสามารถงอกได้ที่หลังสุกแก่ (หลังการดีดออกจากเมล็ด) โดยมีความงอก 75.8 เปอร์เซ็นต์ หลังจากสุกแก่นาน 1 เดือนเมล็ดตาดตะกั่วงอกได้มากที่สุดคือ 92 เปอร์เซ็นต์ เปอร์เซ็นต์ความงอกจะลดลงเล็กน้อยในช่วงเมล็ดอายุ 4 เดือน แต่ยังสูงกว่าวันที่หลังสุกแก่ คือ อายุ 2, 3 และ 4 เดือน เปอร์เซ็นต์ความงอก 82.4, 80.8 และ 77 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ หลังจากนั้นความงอกของเมล็ดลดลงตามลำดับจนถึงเกือบไม่งอกได้เลย คือ อายุ 5, 6, 7 และ 8 เดือน เปอร์เซ็นต์ความงอก 49.2, 46.6, 26.8 และ 9.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และต้นอ่อนของตาดตะกั่วที่งอกในช่วงหลังมักอ่อนแอ จากการเพาะในดินและกาบมะพร้าว และในสภาพจากแก้วที่เพาะในที่มืดนาน 2 สัปดาห์แล้วจึงนำออกมาเพาะในที่ที่มีแสง จึงพบว่าค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกลดลงมาก (ตารางที่ 1 และภาพที่ 1)

1.2. ศึกษาการเจริญเติบโตของตาดตะกั่ว

1.2.1. สภาพเรือนทดลอง

ปลูกในดิน การพัฒนาของต้นตาดตะกั่ว พบว่า หลังจากงอกจากเมล็ด 1 สัปดาห์เริ่มแตกใบจริงคู่แรก และใบจริงคู่ที่ 2 และ 3 จะแตกที่สัปดาห์ที่ 2 และ 3 ตามลำดับ ใบจริงมีขนแข็งสั้นๆ ใบคู่ที่ 4 คือใบประดับของช่อดอกแรก มีขนาด มีขนาดเฉลี่ยกว้าง $1.2 \times$ ยาว 2.2 เซนติเมตร ก้านช่อยาว 0.5 เซนติเมตร จะออกในสัปดาห์ที่ 4 พร้อมกับเริ่มมีการแตกกิ่งจากมุมใบคู่ที่ 1 แผ่นใบและก้านใบมีการแผ่ขยายใหญ่ยึดตัวเพิ่มตามอายุที่เพิ่มขึ้น โดยใบเลี้ยงมีขนาดเท่าเดิมเฉลี่ยกว้าง $0.61 \times$ ยาว 1.82 เซนติเมตร ก้านใบยาว 0.28 เซนติเมตร ตั้งแต่เริ่มงอกจากเมล็ด และติดอยู่กับต้นนานถึง 60 วัน ส่วนใบจริงมีขนาดเฉลี่ยกว้าง $1.75 \times$ ยาว 2.55 เซนติเมตร ก้านใบยาว 0.95 เซนติเมตร ใบจริงมีขนแข็งสั้นๆ

ความสูงต้นของต้นตาดตะกั่ว พบว่าเพิ่มขึ้นน้อยมาก เนื่องจากตาดตะกั่วมีลำต้นสั้นมาก จนแทบจะเรียกว่าไม่มีลำต้น ส่วนที่เห็นเป็นต้นตาดตะกั่วทั้งหมดคือการยึดตัวของกิ่งที่แผ่กว้างออกไปและการชูช่อดอก การแตกใบแต่ละคู่คือการเพิ่มความสูงของลำต้น เมื่ออายุ 20, 30, 45, 60 และ 90 วัน เฉลี่ย 0.64, 0.86, 1.15, 1.8 และ 3.3 เซนติเมตร ตามลำดับ นี่คือคำตอบแรกของคำว่ากำจัดให้หมดไปได้ยาก เนื่องการดึงกำจัดออกต้นตาดตะกั่วจะหักขาดจากต้นได้ง่าย

รากของตาดตะกั่ว เป็นพืชใบเลี้ยงคู่มีรากแก้ว หลังจากงอกจากเมล็ด รากแก้วยึดติดอยู่ 1 ตำแหน่ง ลำต้นและใบเลี้ยงที่ยังอ่อนจะทอดนอนกับพื้นก่อนแตกรากแขนงแรกออกมาจากส่วนของลำต้นที่มีใบจริงติดอยู่ จากการสังเกตพบว่ารากแขนงแรกนี้จะยาวกว่ารากแก้วมาก 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

ปลูกในกาบมะพร้าว พบว่าเมล็ดตาดตะกั่วตกลงไปในชอกกาบมะพร้าว จึงงอกโผล่ออกมาให้เห็นช้ากว่าการปลูกในดิน และเมื่อไม่มีการให้ปุ๋ย และกาบมะพร้าวแห้งเร็วกว่าดิน ทำให้ต้นตาดตะกั่วที่งอกขึ้นมาโตช้าอยู่ที่ระยะใบเลี้ยงนาน ไม่มีการพัฒนาใบจริง

1.2.2. สภาพสวนกล้วยไม้

สุ่มต้นตาดตะกั่วจากพื้นดินใต้โต๊ะวัดการเจริญเติบโตตาดตะกั่วต้นโตพบว่า โดยเฉลี่ยมีความสูงต้น 11.9 เซนติเมตร ใบมีขนาดกว้าง $2.8 \times$ ยาว 5.4 เซนติเมตร ก้านใบยาว 3.38 เซนติเมตร จำนวนกิ่ง 3.5 กิ่งความยาวกิ่ง 5.6 เซนติเมตร ช่อดอกออกที่ปลายกิ่ง จำนวนช่อดอก 6.3

ข้อ ความยาวก้านช่อดอก 6.4 เซนติเมตร ความยาวช่อดอก 3.63 เซนติเมตร ความยาวราก 14.4 ช่อดอกออกที่ปลายกิ่ง จำนวน 12.14 ราก ทุกข้อที่แตะดินจะงอรากยึดดิน ทำให้การถอนออกจากดินให้หมดทำได้ยาก

กลุ่มต้นดาตตะกั่วจากกระถางกล้วยไม้ พบว่ามีดาตตะกั่วต้นโตออกดอกติดเมล็ดแล้ว, ต้นเล็กยังไม่ออกดอก และต้นอ่อน เฉลี่ย 5.6, 5.2 และ 5.2 ต้นต่อกระถางตามลำดับ วัดการเจริญเติบโตดาตตะกั่วต้นโตโดยเฉลี่ยมีความสูงต้น 15.1 เซนติเมตร ใบมีขนาดกว้าง 3.2 x ยาว 5.3 เซนติเมตร ก้านใบยาว 2.7 เซนติเมตร ช่อดอกออกที่ปลายกิ่ง จำนวน 3-5 ช่อดอกย่อย มี 23.7 ฝัก ฝักยาว 0.75 เซนติเมตร แต่ละฝักมีเมล็ด 6-12 เมล็ด ทุกข้อที่ติดกับกาบมะพร้าวจะงอรากยึดกับกาบมะพร้าวไว้

สรุปโดยภาพรวม พบว่า แสง อาหาร และน้ำจำเป็นต่อการงอกและการเจริญเติบโตของดาตตะกั่ว ดังนั้นต้นดาตตะกั่วในแปลงกล้วยไม้ที่ได้รับปุ๋ยและน้ำสม่ำเสมอ จึงมีขนาดโตกว่าการปลูกในสภาพเรือนทดลองที่รดน้ำเพียงอย่างเดียว เช่นเดียวกับดาตตะกั่วที่ปลูกในดินผสมโตน้อยกว่าดาตตะกั่วที่ขึ้นใต้โต๊ะกล้วยไม้ และเห็นได้ชัดจากการปลูกในกาบมะพร้าวในสภาพเรือนทดลองที่ดาตตะกั่วหลังจากงอกแล้วแทบไม่มีการพัฒนาเลย

ต้นดาตตะกั่วเริ่มมีการออกดอกตั้งแต่ใบคู่ที่ 4 การเจริญเติบโตเน้นการแผ่กิ่งก้านสาขา มากกว่าความสูงต้น ทุกปลายกิ่งจะแตกช่อดอก การออกดอกจะทยอยบานยึดออกไปต่อเนื่อง จึงทำให้ทยอยติดเมล็ด และเมล็ดทยอยแก่และติดออกต่อเนื่อง รากดาตตะกั่วมีความยาวมากกว่าความสูงต้น การดึงกำจัดดอกต้นดาตตะกั่วออกจากเมื่อดินทำได้ง่ายกว่า การดึงต้นดาตตะกั่วออกจากกาบมะพร้าว เนื่องจากรากฝอยยึดจับแน่นกับเส้นใยของกาบมะพร้าว และข้อที่สั้น ทำให้ตอของดาตตะกั่วยังคงติดอยู่กับกาบมะพร้าว แตกกิ่งใหม่ต่อไปได้ ยิ่งกำจัดหลายครั้งต่อจะยิ่งมีขนาดใหญ่ขึ้นเรื่อยๆ

2. ศึกษาความสามารถในการงอกของเมล็ดดาตตะกั่ว

ประเด็นปัญหาของการทดลองนี้ คือหลังจากเมล็ดดาตตะกั่วถูกดีดออกจากต้นแล้วตกลงไปในดิน เมล็ดที่อยู่ในดินระดับความลึกเท่าใดที่งอกขึ้นมาเป็นปัญหาในแปลง จากการปลูกเมล็ดดาตตะกั่วที่ระดับความลึกจากผิวดิน 0, 1, 2, 3 และ 4 เซนติเมตร ตามลำดับ

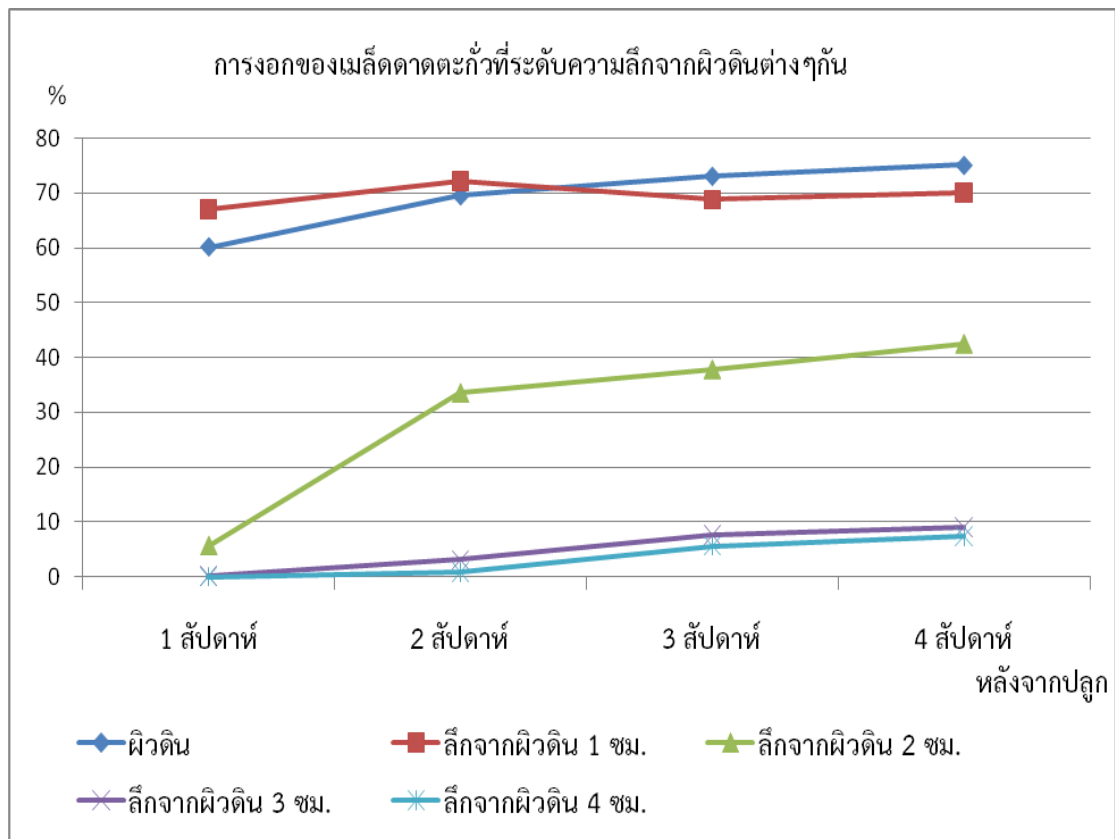
ตารางที่ 2 จำนวนต้นที่งอกและน้ำหนักต้นสดเมื่อ 28 วันหลังปลูก เมื่อเมล็ดตาดตะกั่วอยู่ในดินที่ระดับความลึกต่างๆกันจากผิวดิน (การศึกษาความสามารถในการงอกของเมล็ดตาดตะกั่ว)

กรรมวิธี	จำนวนต้นที่งอก (ต้น/100 เมล็ด)	น้ำหนักต้นรวม (กรัม)	น้ำหนักต้น (กรัม/ต้น)
1.เมล็ดตาดตะกั่ววางที่ระดับผิวดิน 0 ซม.	75.1 a	16.050 b	0.215 b
2.เมล็ดตาดตะกั่ววางลึกจากผิวดิน 1 ซม.	70.0 a	21.248 a	0.305 a
3.เมล็ดตาดตะกั่ววางลึกจากผิวดิน 2 ซม.	42.5 b	6.382 c	0.144 c
4.เมล็ดตาดตะกั่ววางลึกจากผิวดิน 3 ซม.	9.1 c	0.801 d	0.100 cd
5.เมล็ดตาดตะกั่ววางลึกจากผิวดิน 4 ซม.	7.4 c	0.443 d	0.062 d
C.V. (%)	27.7	38.9	40.4

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ผลการทดลองพบว่า เมล็ดตาดตะกั่วจะงอกได้ดีที่สุดไม่แตกต่างกัน เมื่อเมล็ดตกอยู่บนผิวดิน หรือเมล็ดตกลงไปในดินที่ระดับความลึก 1 เซนติเมตร โดยงอกได้เฉลี่ยร้อยละ 75.1 และ 70.0 ตามลำดับ และเมื่อเมล็ดตกลงไปในดินลึก 2 เซนติเมตร ความงอกจะลดลงเหลือร้อยละ 42.5 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อเมล็ดอยู่ลึกลงไป 3 และ 4 เซนติเมตร ความงอกจะลดลงต่ำสุดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เหลือร้อยละ 9.1 และ 7.4 ตามลำดับ จากข้อมูลน้ำหนักต้นพบว่าต้นตาดตะกั่วที่งอกจากดินระดับความลึก 1 เซนติเมตร จะมีการเจริญเติบโตสูงสุด รองลงมาตามลำดับ คือ ต้นที่งอกจากเมล็ดที่อยู่บนผิวดินและต้นที่งอกลึกจากผิวดิน 2 เซนติเมตร (ตารางที่ 2) ส่วนเมล็ดที่อยู่ลึกลงไป 3 และ 4 เซนติเมตรต้นจะเล็กลงตามลำดับ ซึ่งเมล็ดดังกล่าวหากอยู่ในสภาพธรรมชาติ ก็คือเมล็ดที่พักตัวอยู่ในดินรอวันงอก เมื่อเมล็ดถูกพลิกขึ้นมาอยู่บนผิวดิน

ตารางที่ 3 และภาพที่ 2 แสดง %การงอกของเมล็ดตาดตะกั่วหลังปลูกที่ระดับความลึกต่างกัน



กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดตาดตะกั่วหลังปลูก (สัปดาห์)			
	1	2	3	4
1.เมล็ดตาดตะกั่ววางที่ระดับผิวดิน (0 ซม.)	60.1 a	69.5 a	73.1 a	75.1 a
2.เมล็ดตาดตะกั่ววางลึกจากผิวดิน 1 ซม.	67.0 a	72.1 a	68.8 a	70.0 a
3.เมล็ดตาดตะกั่ววางลึกจากผิวดิน 2 ซม.	5.6 b	33.5 b	37.8 b	42.5 b
4.เมล็ดตาดตะกั่ววางลึกจากผิวดิน 3 ซม.	0.2 b	3.1 c	7.6 c	9.1 c
5.เมล็ดตาดตะกั่ววางลึกจากผิวดิน 4 ซม.	0 b	0.9 c	5.6 c	7.4 c
C.V. (%)	32.6	32.9	28.9	27.7

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%โดยวิธีDMRT

เมื่อบันทึกจำนวนต้นตาดตะกั่วที่งอกตั้งแต่ 1 สัปดาห์หลังปลูก พบว่าเมล็ดตาดตะกั่วที่อยู่บนผิวดิน และเมล็ดที่อยู่ในดินลึก 1 เซนติเมตรจะงอกเร็วและจำนวนมากที่สุด ตั้งแต่ 1 สัปดาห์หลังปลูก รองลงมาคือเมล็ดที่อยู่ลึก 2 เซนติเมตร จะงอกมากตั้งแต่ 2 สัปดาห์หลังปลูก ส่วนเมล็ดที่อยู่ลึก 3 และ 4 เซนติเมตรงอกโผล่พ้นดินได้ช้ากว่า 3 สัปดาห์หลังปลูก และจำนวนต้นที่งอกน้อยทั้งนี้เนื่องจาก

ดาตตะกัวต้องการแสงในการงอก เมล็ดที่อยู่ใกล้ผิวดินจึงงอกได้เร็ว เมล็ดที่อยู่ลึกลงไปต้องใช้เวลาในการยืดตัวหาแสงมาก และใช้อาหารสะสมในเมล็ดมากกว่า จึงพบว่าดาตตะกัวงอกได้น้อยและช้ากว่าตามระดับความลึกที่เมล็ดนั้นอยู่ (ตารางที่ 3 และภาพที่ 2)

3. การศึกษาความสามารถในการแพร่กระจายของเมล็ดดาตตะกัว

ประเด็นปัญหาของการทดลองนี้ คือในสภาพธรรมชาติของเมล็ดดาตตะกัวที่ขึ้นเป็นปัญหาในแปลงกล้วยไม้ หลังจากเมล็ดสุกแก่ติดจากต้น เมื่อเมล็ดตกไปอยู่ในในที่ต่างๆ เมล็ดนั้นจะยังคงความมีชีวิตอยู่อีกหรือไม่

ผลการทดลองพบว่า เมล็ดดาตตะกัวที่แพร่กระจายดีออกจากต้น ส่วนที่ตกลงไปในน้ำตกอยู่บนผิวดินเหนือน้ำหรือจมฝังดินอยู่ในน้ำจะสูญเสียความงอกและถูกทำลายโดยเชื้อราที่อยู่ในธรรมชาติ เมื่อนำเมล็ดมาเพาะไม่พบการงอกของเมล็ดดาตตะกัวเลย ส่วนเมล็ดดาตตะกัวที่ไม่แช่น้ำ เมื่อนำมาเริ่มการทดลองที่ 1 และ 2 สัปดาห์หลังสุกแก่ พบว่ามีความงอกเฉลี่ยร้อยละ 79.6 และ 83.3 ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากเมล็ดที่นำมาเริ่มทดลองที่ 3 และ 4 สัปดาห์หลังสุกแก่ ซึ่งมีความงอกลดลงเฉลี่ยร้อยละ 41.1 และ 40.5 ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 แสดงเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดดาตตะกัวหลังเมล็ดแพร่กระจายไปตกในที่แตกต่างกัน

กรรมวิธี	% ความงอกของเมล็ดดาตตะกัวเมื่อเมล็ดอายุ 80 วัน				
	อายุเมล็ดเมื่อเริ่มการทดลอง				C.V. (%)
	1 สัปดาห์ หลังสุกแก่	2 สัปดาห์ หลังสุกแก่	3 สัปดาห์ หลังสุกแก่	4 สัปดาห์ หลังสุกแก่	
เมล็ดที่อยู่ในที่แห้ง	79.6 a	83.3 a	41.1 b	40.5 b	27.6
เมล็ดที่อยู่บนผิวดินใต้น้ำ	0	0	0	0	-
เมล็ดที่ฝังอยู่ในดินใต้น้ำ	0	0	0	0	-
เมล็ดที่ลอยอยู่ในน้ำ	0	0	0	0	-

ตัวเลขในแถวเดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

เป็นการยืนยันว่าต้นดาตตะกัวที่พบเป็นปัญหาในแปลงปลูกกล้วยไม้ คือเมล็ดส่วนที่ตกลงบนที่แห้งเช่นบนใบและดอกกล้วยไม้ บนวัสดุปลูก หรือบนผิวดิน ซึ่งตลอดเวลาเมล็ดชุดนี้อยู่ในสภาพที่มีความชื้นสลับกับความแห้งจากการให้น้ำต้นกล้วยไม้ประจำวัน จะเห็นว่าเมล็ดชุดนี้มีเปอร์เซ็นต์ความงอกต่ำกว่าความงอกกับเมล็ดที่เก็บอยู่ในสภาพแห้งตลอดเวลา (เก็บไว้ในสภาพอุณหภูมิ)

4. การศึกษาความสามารถในการขยายพันธุ์โดยกำจัดต้นตาดตะกั่วอายุต่างๆกัน

ประเด็นปัญหาของการทดลองนี้ คือเมื่อต้นตาดตะกั่วงอกขึ้นมาแล้วการที่จะถอนกำจัดออกให้หมดไปทำได้ยาก ส่วนใหญ่มักทำให้ต้นตาดตะกั่วขยายพันธุ์เป็นปัญหามากขึ้น จากการถอนกำจัดต้นตาดตะกั่วขนาดอายุต่างๆกัน ที่ 30 วันหลังกำจัด เก็บเกี่ยวต้นตาดตะกั่วทั้งหมดขึ้นมาวัดการเจริญเติบโต ผลการทดลองพบว่า

ต้นตาดตะกั่วที่ขึ้นบนดินใต้โต๊ะและทางเดิน การถอนตั้งแต่หลังงอกจนถึงมีใบจริง 2 คู่ กำจัดออกได้ง่ายรากจะหลุดขึ้นมาได้สมบูรณ์ การถอนกำจัดตั้งแต่ใบจริง 3 คู่ เหลือส่วนของข้อแรกโคนต้นติดอยู่กับดินทำให้กำจัดได้ไม่สมบูรณ์ ต้นแตกใหม่จากข้อขยายพันธุ์ได้ปกติ ซึ่งแต่ละข้อมีตาที่สามารถแตกกิ่งได้ 2 ตา หากถอนกำจัดที่ระยะใบคู่ที่ 4 จะเหลือข้อ 1-2 ข้อ ติดอยู่กับดิน มีการแตกกิ่งใหม่และจำนวนฝักใกล้เคียงกับการกำจัดในระยะเริ่มออกดอก (ข้อชุดแรก)

ตารางที่ 5 ค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตของต้นตาดตะกั่วที่ขึ้นบนดินใต้โต๊ะและทางเดินที่แตกใหม่หลังกำจัด 30 วัน

ระยะการเจริญเติบโตของต้นตาดตะกั่วเมื่อกำจัดด้วยมือ	ต้นตาดตะกั่วที่ขึ้นอยู่บนดินแตกใหม่จากต่อเดิม				
	ความสูง (เซนติเมตร)	ความยาวราก (เซนติเมตร)	จำนวนช่อดอก (ข้อ/ต้น)	จำนวนฝัก (ฝัก/ต้น)	น้ำหนักต้น (กรัม/ต้น)
ใบ 3 คู่	20.74	11.33	4.42	19.76	3.95
ใบ 4 คู่	18.4	12.66	7.48	47.38	6.6
แตกกิ่ง	17.88	9.88	7.83	41.83	5.62
ข้อชุดแรก	18.3	12.28	9.23	52.7	7.25
ข้อแก่	18.44	12.06	10.41	63.13	8.05

การกำจัดในระยะต้นตาดตะกั่วมีการออกดอกติดเมล็ด (ข้อแก่) มีค่าเฉลี่ยจำนวนช่อดอก 7.49-10.41 ข้อต่อต้น และจำนวนฝัก 47.38-63.13 ฝักต่อต้น แตกต่างจากการกำจัดที่ระยะใบคู่ที่ 3 ซึ่งมีค่าเฉลี่ยจำนวนช่อดอก 4.42 ข้อต่อต้น และจำนวนฝัก 19.76 ฝักต่อต้น ต้นตาดตะกั่วที่แตกใหม่ทั้งหมดมีความสูงใกล้เคียงกัน เฉลี่ย 17.88-20.74 เซนติเมตร เช่นเดียวกับความยาวราก โดยมีความยาวรากเฉลี่ย 9.88-12.66 เซนติเมตร จากการถอนพบว่าต้นตาดตะกั่วมีรากอวบเหนียว ยึดติดกับดินแน่น ลักษณะคล้ายรากกระชาย ประกอบการที่มีข้อโคนต้นถี่ ทำให้ต้นหักง่ายถอนออกให้หมดไปได้

ยาก การกำจัดให้หมดจำเป็นต้องใช้มีดปลายแหลมขุดลงไปตัดตอออกให้หมด ให้ตอขาดจากราก (ตารางที่ 5)

ต้นดาตตะกั่วที่ขึ้นบนกาบมะพร้าว พบว่าการถอนกำจัดที่ระยะใบเลี้ยงและที่ระยะใบจริงคู่ที่ 1 เป็นช่วงเวลาที่เนื้อเยื่อรากยังอ่อนสีขาวใสจะกำจัดได้สมบูรณ์ และเมื่อถอนกำจัดที่ระยะใบคู่ที่ 2 ต้นดาตตะกั่วบางต้นตายบางต้นแตกกิ่งใหม่ จึงพบว่าแตกกิ่งใหม่ 0.38 กิ่งต่อต้น และกิ่งแตกใหม่เจริญเติบโตช้าจึงขนาดเล็กมาก ซึ่งเมื่อถอนกำจัดที่ระยะใบคู่ที่ 3 พบว่า ตอมีการแตกกิ่งใหม่เพิ่มขึ้น 1.03 กิ่งต่อต้น และเมื่อถอนกำจัดที่ระยะโตขึ้นตามลำดับ คือที่ระยะใบคู่ที่ 4, ระยะแตกกิ่ง, ออกช่อดอกชุดแรก และระยะช่อดอกแก่ พบว่า จำนวนการแตกกิ่งใหม่เพิ่มขึ้นเล็กน้อย 1.19-1.40 กิ่งต่อต้น จำนวนช่อดอกเฉลี่ยเพิ่มขึ้น ส่วนจำนวนฝักต่อต้นเฉลี่ยเพิ่มมากขึ้นตามระยะต้นที่กำจัดอย่างเห็นได้ชัด เนื่องจากดอกของดาตตะกั่วจะทยอยบานที่ปลายช่อ ช่อดอกยืดยาวต่อเนื่อง ในแต่ละช่อจึงมีทั้งฝักที่ร่วง ฝักอ่อน และดอกที่กำลังบาน (ตารางที่ 6)

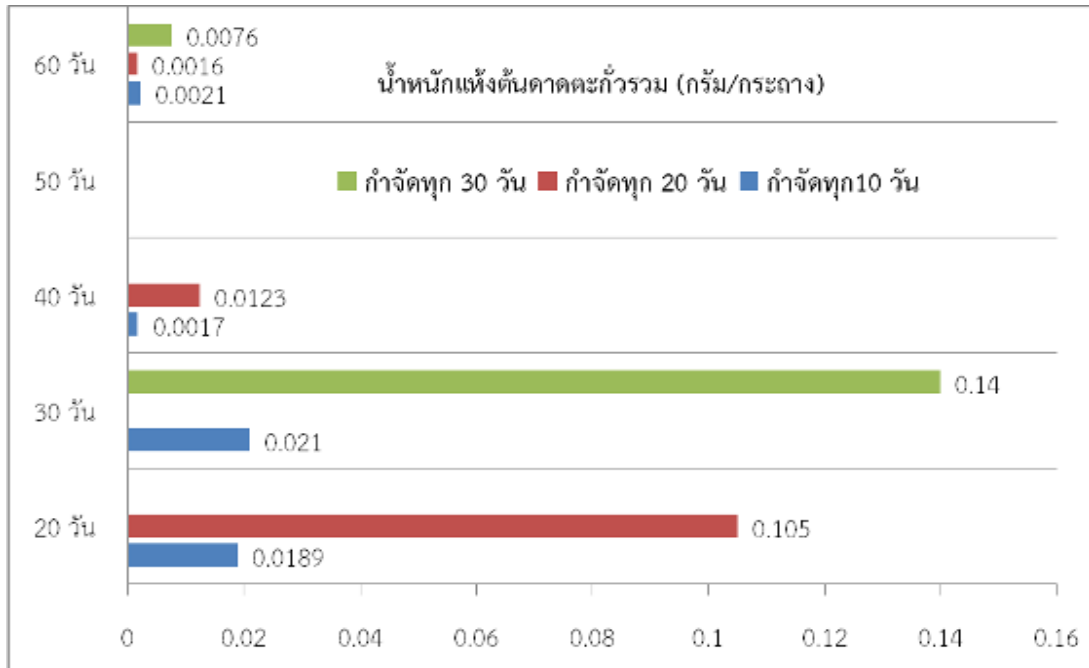
ตารางที่ 6 ค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตของต้นดาตตะกั่วที่ขึ้นบนกาบมะพร้าวที่แตกใหม่หลังกำจัด 30 วัน

ระยะการเจริญเติบโตของต้นดาตตะกั่วเมื่อกำจัดด้วยมือ	ต้นดาตตะกั่วที่ขึ้นอยู่บนกาบมะพร้าวแตกใหม่จากตอเดิม			
	จำนวนกิ่ง (กิ่ง/ต้น)	จำนวนช่อดอก (ช่อ/ต้น)	จำนวนฝัก (ฝัก/ต้น)	น้ำหนักต้น (กรัม/ต้น)
ใบ 2 คู่	0.38	0	0	0.1904
ใบ 3 คู่	1.03	1.1	4.2	0.601
ใบ 4 คู่	1.21	6.0	11.4	1.717
แตกกิ่ง	1.40	3.0	9.4	1.252
ช่อดอกชุดแรก	1.19	4.5	10.8	1.309
ช่อแก่	1.32	5.0	29.2	2.386

รากของต้นดาตตะกั่วที่ขึ้นบนกาบมะพร้าวจะยึดติดแน่น เนื่องจากรากฝอยที่อยู่บนรากแขนงของดาตตะกั่วเกาะแน่นกับเส้นใยของกาบมะพร้าว แตกต่างกับต้นดาตตะกั่วที่ขึ้นบนดิน ซึ่งรากจะหลุดจากเมื่อดินได้ง่ายกว่า เมื่อรากมีขนาดใหญ่แข็งแรงและยาวขึ้น พื้นที่รากฝอยจะเกาะติดกับกาบมะพร้าวอย่างมาก การถอนกำจัดให้หมดไปจึงเป็นไปได้ยาก เนื่องจากตอดาตตะกั่วที่เหลือติดอยู่มีการแตกกิ่งใหม่ รากหาอาหารได้ต่อเนื่องทำให้ตอและรากมีขนาดใหญ่ขึ้น และหากกาบมะพร้าวนั้นเริ่มเปื่อย การถอนจะทำให้กาบมะพร้าวติดกับรากดาตตะกั่วขึ้นมาด้วย ทำให้วัสดุปลูกกล้วยไม้เสียหาย

จากการถอนกำจัดในระยะดาตตะกั่วต้นโต พบว่า นอกจากจะไม่สามารถลดปัญหาดาตตะกั่วลงได้แล้ว ยังเป็นการหมักหมมปัญหาดาตตะกั่วอีกด้วย เสริมศิริและคณะ (2552) รายงานว่ากำจัดต้นดาตตะกั่วทุก 10, 20 และ 30 วัน หลังการกำจัดครั้งแรก ในช่วง 60 วันพบว่ามีต้นดาตตะกั่วงอกจากตออย่างต่อเนื่อง แตกต่างกันไปเมื่อปล่อยทิ้งไว้นาน ต้นดาตตะกั่วจะยิ่งเจริญเติบโตติดดอกออกเมล็ดเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 3)

ภาพที่ 3 น้ำหนักต้นดาตตะกั่วที่แตกใหม่หลังการกำจัดที่ช่วงเวลาต่างๆกัน (เสริมศิริและคณะ 2552)



สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. ชีวิตวิทยาของดาตตะกั่ว

เมล็ดดาตตะกั่วไม่มีการพักตัว งอกได้ทันทีหลังดีดออกจากฝัก เมล็ดต้องการแสงในการงอก ไม่งอกในสภาพมืด อายุเมล็ดเพิ่มขึ้นความสามารถในการงอกลดลง หลังจาก 4 เดือนความงอกลดลงอย่างรวดเร็ว หลังงอกจากเมล็ด และใบจริงคู่ที่ 3 แผ่ขยายเต็มที่ ต้นดาตตะกั่วเริ่มออกดอกขยายพันธุ์ การแตกกิ่งและการออกดอกติดเมล็ดเกิดขึ้นต่อเนื่อง จึงผลิตเมล็ดได้มาก ข้อที่โคนต้นถึ รากดาตตะกั่วแข็งแรง ยึดติดแน่นถอนให้รากหลุดออกจากกาบมะพร้าวและดินได้ยาก ตอที่เหลือติดอยู่กับวัสดุปลูกกล้วยไม้ขยายพันธุ์เป็นปัญหาต่อไป ระยะใบเลี้ยงและระยะใบจริงคู่ที่ 1 (ขึ้นในกาบมะพร้าว) และระยะใบจริงคู่ที่ 2 (ขึ้นในดิน) เป็นระยะที่ถอนกำจัดให้หมดสิ้นได้ การถอนกำจัดในระยะหลังจากนี้ ไม่สามารถลดปัญหาดาตตะกั่วลงได้ ต้นดาตตะกั่วที่งอกเป็นปัญหาในแปลงกล้วยไม้ คือ เมล็ดที่ตกอยู่บน

วัสดุปลูก หรือเมล็ดที่ติดค้างอยู่บนใบ หรืออยู่ที่ผิวดินจนถึงลึกไม่เกิน 2 เซนติเมตร ส่วนเมล็ดที่อยู่ลึก ลงไปรอเวลาขึ้นมาที่ผิวดิน

2. การแพร่กระจายของตาดตะกั่ว

เมล็ดตาดตะกั่วที่ถูกดีดออกจากต้น เมื่ออยู่บนผิวดินหรืออยู่ในดินที่ระดับความลึก 1 เซนติเมตร จะงอกได้ดีที่สุด เมล็ดจะงอกเร็วและมีจำนวนต้นมากที่สุด ตั้งแต่ 1 สัปดาห์หลังปลูก 3) การแพร่กระจายของเมล็ดตาดตะกั่วหลังจากดีดออกจากต้น เฉพาะเมล็ดตาดตะกั่วที่ตกอยู่ในที่แห้ง เช่น บนใบกล้วยไม้ หรือ บนกาบมะพร้าวความสามารถงอกขยายพันธุ์ต่อไปได้

3. การถอนต้นตาดตะกั่ว ต้นที่ขึ้นบนดินตั้งแต่หลังงอกจนถึงมีใบจริง 2 คู่ กำจัดออกได้ง่าย รากจะหลุดขึ้นมาได้สมบูรณ์ การถอนตั้งแต่ใบจริง 3 คู่ กำจัดได้ไม่สมบูรณ์ สำหรับการถอนต้น ตาดตะกั่วที่ขึ้นบนกาบมะพร้าว พบว่ากำจัดได้สมบูรณ์ที่ระยะใบเลี้ยงและที่ระยะใบจริงคู่ที่ 1 ส่วน การถอนกำจัดตั้งแต่ที่ระยะใบคู่ที่ 2 กำจัดได้ไม่สมบูรณ์ แตกกิ่งใหม่จากข้อขยายพันธุ์ได้ปกติ

4. ข้อมูลทั้งหมดสามารถนำไปแนะนำแก่เกษตรกรที่มีปัญหาตาดตะกั่วได้ ดังนี้ ตาดตะกั่วเป็น วัชพืชที่สวยงามที่เมื่อพบแม่เพียงต้นเดียว ก็ควรกำจัดออกไป ถ้าปล่อยไว้จะทำให้เป็นปัญหาในอนาคต ดังนั้นการวางแผนการกำจัดตาดตะกั่ว จึงควรเริ่มในแปลงกล้วยไม้ที่ย้ายปลูกลงวัสดุใหม่ ติดตามการ งอกของตาดตะกั่วตั้งแต่เริ่มพบเห็นในแปลง ถอนกำจัดตั้งแต่ระยะใบเลี้ยงและระยะใบจริงคู่ที่ 1 สำหรับต้นกล้วยไม้ที่วัสดุปลูกเก่ามีต้นตาดตะกั่วขึ้นอยู่จำนวนมาก ควรเปลี่ยนวัสดุปลูก และตามกำจัด อย่างต่อเนื่อง จนกว่าจะไม่พบเห็นตาดตะกั่วอีก หรือหากไม่ต้องการเปลี่ยนวัสดุปลูก ควรถอนกำจัด ต้นตาดตะกั่วออกให้หมด แล้วใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกควบคุมการงอกของตาดตะกั่ว และพ่นกำจัดตาดตะกั่วต้นเล็กๆที่แตกใหม่จากต่อ

5. การนำต้นตาดตะกั่วไปใช้ประโยชน์ ในมุมมองตรงกันข้ามหากเป็นพื้นที่ที่ต้องการพืชคลุม ดิน เช่นในสวนไม้ผล หรือสวนหย่อมที่พืชหลักเป็นไม้ประดับยืนต้น เนื่องจากตาดตะกั่วทนการเหยียบ ย่ำ และกำจัดให้หมดไปได้ยาก จึงน่าจะนำตาดตะกั่วมาใช้เป็นพืชคลุมดินอีกทางเลือกหนึ่ง

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณวิเชียร เกษตรกรสวนกล้วยไม้ อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม สถานที่ทดลอง ในการทดลองนี้

เอกสารอ้างอิง

- วิทย์ เทียงบุญธรรม. 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

ชีววิทยาและการแพร่กระจายของดาตตะกั่ว			
			
ใบและดอกต้นดาตตะกั่ว ดูสวยงามดี	ขึ้นบนกาบมะพร้าวมากจนเป็นวัชพืช	มีข้อสัน ที่เห็นทั้งหมดเป็นการยึดตัวของกิ่ง	งอกดีที่สุดในสภาพมีแสง
			
ดาตตะกั่วขึ้นรบกวนบนกาบมะพร้าวในกล้วยไม้	ต้นดาตตะกั่วขึ้นบริเวณทางเดินได้ไต่ะกล้วยไม้	งอกบนกาบมะพร้าว ต้นต้องยืดยาวให้โผล่ขึ้นมา	ใบจริงมีขนแข็งสั้นๆ
			
รากแขนงยาวมากกว่ารากแก้วมาก	ระยะใบจริงคู่ที่ 1-2 ควรมีการกำจัดออก	ระยะใบคู่ที่ 3 ใบแผ่ขยายเต็มที่เริ่มแทงช่อดอกแรกและแตกกิ่ง	จัดการดาตตะกั่วตั้งแต่เปลี่ยนกาบมะพร้าวและติดตามต่อเนื่องจนหมด

ชีววิทยาและนิเวศวิทยาของสาบม่วง (Praxelis);
Praxelis clematidea R.M King & H. Rob.

Biology and ecology of Praxelis (*Praxelis clematidea* R.M. King & H. Rob.)

ยุรวรรณ อนันตมณี¹ จรรยา มณีโชติ¹
 สิริชัย สารุวิจารณ์¹ สุพัตรา ชาวทองจักร²
¹กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

จากการดำเนินงานในปี 2555 ได้ทำการสำรวจการแพร่กระจายและเก็บตัวอย่างเมล็ดสาบม่วงในพื้นที่ของเกษตรกรที่ทำการเพาะปลูกมันสำปะหลัง สับปะรดและยางพารา ในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคตะวันออก จำนวน 30 แปลง ดังนี้ จังหวัดนครราชสีมา กาฬสินธุ์ มหาสารคาม จำนวน 20 แปลง และจังหวัดเพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ปราจีนบุรี ฉะเชิงเทรา สระแก้ว จำนวน 10 แปลง ได้นำเมล็ดสาบม่วงมาปลูกเพื่อศึกษาลักษณะทางชีววิทยา ซึ่งขณะนี้อยู่ระหว่างการดำเนินงาน

การดำเนินงานในปี 2556 สำรวจการแพร่กระจายของสาบม่วงในพื้นที่ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลางและภาคตะวันออก เพื่อให้ได้ข้อมูลการแพร่กระจายที่ครอบคลุมของสาบม่วงในแต่ละภาค และชนิดพืชปลูกที่พบการแพร่กระจายของสาบม่วงในแปลง ศึกษาชีววิทยาของสาบม่วงในดิน 4 ชนิด ได้แก่ ดินร่วน ดินทราย ดินเหนียว และดินลูกรัง

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-03-08-54

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.) มีลักษณะคล้ายสาบร้างสาบกา ในประเทศไทย พบครั้งแรกในแปลงทุเรียน จังหวัดจันทบุรี ประมาณปี พศ.2546 เนื่องจากมีลักษณะดอกคล้ายสาบร้างสาบกา แต่ใบคล้ายสาบเสือ จึงเข้าใจผิดว่าเป็นวัชพืชในตระกูลเดียวกับสาบเสือ ในขณะนั้นได้มีการตั้งชื่อว่า หล้าสาบ 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 ระยะสุกแก่ของเมล็ด และตายของวัชพืช ปัจจัยภายนอก เช่น น้ำ ภูมิอากาศ แสง อุณหภูมิ ชนิดดิน พันธุกรรมพืช ฮอโมน และธาตุอาหารพืช เหล่านี้เป็นต้น ส่งผลต่อการเจริญเติบโต และการดำรงพันธุ์ของพืชทั้งทางตรง และทางอ้อม วงจรชีวิตของวัชพืช การขยายพันธุ์ และการพักตัวของเมล็ดในดินจึงมีความสำคัญมาก ต่อการอยู่รอดของวัชพืชในสภาพสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม (Radosevich และ Holt, 1984)

เนื่องจากเมล็ดสาบม่วงสามารถปลิวลมได้จึงพบการระบาดไปได้ทั่วทุกพื้นที่ ทั้งในแปลงสับปะรด ยางพารา มันสำปะหลัง รวมถึงในแปลงหญ้าอาหารสัตว์ โดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ แต่ยังไม่ทราบถึงปัจจัยที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของสาบม่วง วัชพืชที่พบในแต่ละพื้นที่มีลักษณะที่มีการเจริญเติบโตแตกต่างกันไปขึ้นกับสภาพพื้นที่ และภูมิอากาศที่แตกต่างกันไป

ดังนั้นการศึกษาพื้นฐานทางด้านชีววิทยา และนิเวศวิทยาของวัชพืชจะช่วยให้สามารถวางแผนในการจัดการวัชพืชได้อย่างเหมาะสม และตรงประเด็นปัญหาของวัชพืช ทำให้สามารถลดการใช้สารกำจัดวัชพืชที่เกินความจำเป็นซึ่งอาจมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และระบบนิเวศเกษตร ความสัมพันธ์ระหว่างวัชพืช และสิ่งแวดล้อม ระบบการปลูกพืช และการจัดการพื้นที่เพาะปลูก(ดวงพร, 2544) ดังนั้นการจัดการสาบม่วงที่มีประสิทธิภาพ จำเป็นต้องศึกษาข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับประชากรของเมล็ดวัชพืช รวมทั้งชีววิทยาของวัชพืชที่สำคัญเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการวางแผนการจัดการต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างวัชพืช
2. เครื่องวัดพิกัด GPS
3. กระจกขนาด 8 นิ้ว
4. ดินสำหรับปลูก (ดินร่วน ดินทราย ดินเหนียว และดินลูกรัง)
5. กล้องถ่ายรูป
6. ไม้บรรทัด

วิธีการ

ขั้นตอนที่ 1 การแพร่กระจายของสาบม่วง

แผนการทดลอง (Experimental Design) แบบสุ่มโดยวิธี Unrestricted sampling method
กรรมวิธี (Treatment) การทดลองมี 2 กรรมวิธี คือ การสำรวจ และรวบรวมชนิดวัชพืช

วิธีสุ่มตัวอย่างวัชพืช

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 และมันสำปะหลังในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคตะวันออก จำนวนละ 50 แปลง โดยสุ่มนับสาบม่วง จำนวน 4 จุดๆ ละ 0.25 ตารางเมตร เพื่อเก็บข้อมูลความหนาแน่น และจัดบันทึกข้อมูลพิกัด GPS สภาพพื้นที่ ชนิดดิน

การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลพิกัดภูมิศาสตร์ (GPS) ตำแหน่งที่พบสาบม่วง

บันทึกสภาพพื้นที่ / นิเวศน์ ชนิดพืชปลูก อายุพืชปลูก ลักษณะการระบาด และข้อมูลอื่นๆ

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาวงจรชีวิตและการเจริญเติบโตของสาบม่วงในดินชนิดต่างๆ

นำเมล็ดสาบม่วง มาเพาะทดสอบความงอกในห้องปฏิบัติการ และปลูกในโรงเรือน ใช้เมล็ดสาบม่วงจำนวน 50 เมล็ดต่อกระถาง ปลูกในกระถางที่บรรจุดินชนิดต่างๆ ได้แก่ ดินร่วน ดินทราย ดินเหนียวและดินลูกรัง ชนิดละ 27 กระถาง เพื่อดูเปอร์เซ็นต์ความงอก การเจริญเติบโตและวงจรชีวิตของสาบม่วง

การเก็บข้อมูล ในโรงเรือน นำเมล็ดสาบม่วงมาเพาะ และเก็บข้อมูล เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ด วัดความสูง นับจำนวนใบ ระยะการออกดอก จำนวนดอก การติดเมล็ด จำนวนเมล็ดต่อดอก จำนวนเมล็ดต่อต้น น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งต่อต้น พร้อมกับบันทึกภาพช่วงระยะการเจริญเติบโตในระยะต่างๆ

ขั้นตอนที่ 3 ทดสอบความงอกของเมล็ดสาบม่วงในสภาพมีแสงและไม่มีแสง

ในการทดสอบความงอกนำเมล็ดสาบม่วง ที่เก็บจากจังหวัดกาฬสินธุ์ ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ความงอกดีที่สุด โดยนำเมล็ดสาบม่วงเพาะลงบนกระดาษเพาะที่มีความชื้น จำนวน 50 เมล็ดต่อจานเพาะทำทั้งหมด 5 จาน วางไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิภายใต้สภาพมีแสงและไม่มีแสง ทำการนับจำนวนต้นที่งอกทุก 3, 5, 7 และ 14 วัน

เวลาและสถานที่

- แปลงปลูกสับปะรด ยางพารา และมันสำปะหลัง ในแปลงเกษตรกร
- โรงเรือนกลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1 การแพร่กระจายของสาบม่วง

ผลการสำรวจสาบม่วงในแปลงปลูกพืชเศรษฐกิจพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและตะวันออก พบการแพร่ระบาดของสาบม่วง แบ่งเป็นพื้นที่จังหวัดกาฬสินธุ์ จำนวน 10 แปลง จังหวัดขอนแก่น จำนวน 1 แปลง จังหวัดมหาสารคาม จำนวน 5 แปลง จังหวัดนครราชสีมา จำนวน 4 แปลง จังหวัดสระแก้ว จำนวน 3 แปลง จังหวัดปราจีนบุรี จำนวน 2 แปลง จังหวัดฉะเชิงเทรา จำนวน 1 แปลง และ จังหวัดเพชรบุรี จำนวน 3 แปลง ซึ่งจากการสำรวจพบการแพร่ระบาดของสาบม่วงในมันสำปะหลัง ยางพาราและสับปะรด จากข้อมูลดังกล่าวทำให้ทราบว่า สาบม่วงมีการแพร่กระจายไปในหลายพื้นที่ รวมถึงในพื้นที่ปลูกพืชเศรษฐกิจของภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคตะวันออก

แสดงให้เห็นว่า สาบม่วงมีความสามารถในการแพร่กระจายและเจริญเติบโตได้เกือบทุกพื้นที่ ซึ่งจากการสำรวจพื้นที่ต่างๆส่วนใหญ่จะมีลักษณะดินเป็นดินทราย และดินร่วนปนทราย อาจเป็นไปได้ว่าสาบม่วงเจริญเติบโตได้ดีในสภาพของดินทราย ทั้งนี้ยังอยู่ในระหว่างการสำรวจเพิ่มเติมเพื่อให้ได้ ข้อมูลครอบคลุมพื้นที่ของการแพร่กระจายของสาบม่วงต่อไป

ขั้นตอนที่ 2 การศึกษาวงจรชีวิตและการเจริญเติบโตของสาบม่วงในชนิดดินที่ต่างกัน หลังจากทำการปลูกทดสอบในดินชนิดต่างกัน เบื้องต้นพบว่า หลังจากปลูกเมล็ดสาบม่วงได้ 2 สัปดาห์ เมล็ดมีความงอกแตกต่างกัน คือ ในดินทรายเมล็ดจะมีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงกว่าดินชนิดอื่นๆ (31.2%) ส่วนในดินลูกรังสาบม่วงมีเปอร์เซ็นต์ความงอกน้อยที่สุด (14%) ส่วนการศึกษาวงจรชีวิตและการเจริญเติบโตยังอยู่ในช่วงของการดำเนินการ

ขั้นตอนที่ 3 ทดสอบความงอกของเมล็ดสาบม่วงในสภาพมีแสงและไม่มีแสง

จากการทดสอบพบว่า เมล็ดสาบม่วงที่เพาะภายใต้สภาพที่มีแสง มีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูง 47.7% ส่วนภายใต้สภาพไม่มีแสง เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์ความงอกเพียง 3.2% แต่ลักษณะของเมล็ดที่งอก จะมีเพียงรากสีขาวไม่มีใบ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองในปี 2554 ซึ่งเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดสาบม่วงภายใต้สภาพมีแสงจะสูงกว่าภายใต้สภาพไม่มีแสง 26% และ 0% ตามลำดับ จึงสามารถสรุปได้ว่า เมล็ดสาบม่วงต้องการแสงในการงอก ข้อมูลที่ได้นี้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการควบคุมการเจริญเติบโตของสาบม่วงให้เหมาะสมต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

-

เอกสารอ้างอิง

ดวงพร สุวรรณกุล และรังสิต สุวรรณเขตนิคม. (2544). วัชพืชในประเทศไทย. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นิรนาม. กรมวิชาการเกษตร. 2547. คำแนะนำการป้องกันกำจัดวัชพืช และการใช้สารกำจัดวัชพืช ปี 2547. กลุ่มวิจัย วัชพืช 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

ภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ 1 ชนิดพืชปลูกและพิกัดแปลงที่พบสาบม่วงในการสำรวจ
เดือน ตุลาคม 2554 ถึง กันยายน 2555

พืชปลูก	จังหวัด	พิกัด x	พิกัด Y
มันสำปะหลัง	นครราชสีมา	14.88570	101.68335
มันสำปะหลัง	นครราชสีมา	14.85909	101.60159
มันสำปะหลัง	นครราชสีมา	14.86166	101.60554
มันสำปะหลัง	นครราชสีมา	14.86167	101.60553
มันสำปะหลัง	มหาสารคาม	16.07212	102.87977
มันสำปะหลัง	มหาสารคาม	16.04825	102.86909
มันสำปะหลัง	มหาสารคาม	16.05663	103.04008
มันสำปะหลัง	มหาสารคาม	16.05661	103.04007
มันสำปะหลัง	มหาสารคาม	16.13154	103.23322
มันสำปะหลัง	กาฬสินธุ์	16.13993	103.24088
มันสำปะหลัง	กาฬสินธุ์	16.50498	103.41946
มันสำปะหลัง	กาฬสินธุ์	16.53303	103.42656
มันสำปะหลัง	กาฬสินธุ์	16.53292	103.42702
มันสำปะหลัง	กาฬสินธุ์	16.53590	103.42847
มันสำปะหลัง	กาฬสินธุ์	16.53581	103.42821
มันสำปะหลัง	กาฬสินธุ์	16.59044	103.40998
มันสำปะหลัง	กาฬสินธุ์	16.57958	103.43848
มันสำปะหลัง	กาฬสินธุ์	16.55984	103.41535
มันสำปะหลัง	กาฬสินธุ์	16.54245	103.42130
มันสำปะหลัง	ขอนแก่น	16.54283	103.42106

พืชปลูก	จังหวัด	พิกัด x	พิกัด Y
สับปะรด	เพชรบุรี	12.72196	99.84593
สับปะรด	เพชรบุรี	12.74227	99.79942
สับปะรด	เพชรบุรี	12.74075	99.71243
สับปะรด	ประจวบคีรีขันธ์	12.54868	99.84975
สับปะรด	ประจวบคีรีขันธ์	11.79342	99.67408
มันสำปะหลัง	ปราจีนบุรี	14.13649	99.70514
มันสำปะหลัง	ปราจีนบุรี	13.77691	102.08924
มันสำปะหลัง	ฉะเชิงเทรา	13.58050	101.49663
มันสำปะหลัง	สระแก้ว	13.40811	102.21394
มันสำปะหลัง	สระแก้ว	13.77828	102.09653
มันสำปะหลัง	สระแก้ว	13.42673	102.19957

สัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชวงศ์หญ้างวงช้าง Boraginaceae Seed Morphology of Boraginaceae Weeds

ศิริพร ชิงสนธิพร รัญชนก จงรักไทย
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาสัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชวงศ์หญ้างวงช้าง โดยสำรวจวัชพืชวงศ์หญ้างวงช้างในพื้นที่ภูมิภาคต่างๆ ของประเทศไทย ทั้งในและนอกพื้นที่การเกษตร พบหญ้างวงช้าง (*Heliotropium indicum* L.) มีการกระจายมากที่สุด พบตามที่สูงและต่ำ แต่สามารถทนแล้งได้ พบทั้งในและนอกพื้นที่การเกษตร พบในทุกภาคของประเทศไทย ส่วนหญ้าตีนตุ๊กแก (*Coldenia procumbens* L.) พบตามที่มีความชื้นสูง โดยเฉพาะนาข้าวหลังเก็บเกี่ยวในภาคกลาง นอกจากนี้พบ หญ้ามวนฟ้า (*Cyanoglossum lanceolatum* Forssk.) หนวดปลาหมึก (*Heliotropium strigosum* Willd.) และพบวัชพืชสกุลเดียวกับหญ้างวงช้าง สองชนิดที่ยังไม่สามารถระบุ และสกุล *Trichodesma* sp. หนึ่งชนิด และไม่สามารถระบุสกุลได้อีก หนึ่งชนิด รวบรวมเมล็ดได้แล้ว 6 ชนิด

บทนำ

วัชพืช เป็นพืชที่ขึ้นในที่ที่ไม่ต้องการ หรือยังหาประโยชน์ไม่พบ ซึ่งพืชหลายชนิดที่เป็นวัชพืชในแหล่งพื้นที่เกษตร เช่น ตาลปัตรฤๅษี (*Limnocharis flava* (L.) Buchen.) หญ้าค้ออ่อน (*Crassocephum crepidiodes* (Benth) s. Moore.) ตับเต่านา (*Hydrocharis morsus-ranae* L.) แพงพวยน้ำ (*Ludwigia adscendens* (L.) H.Hara) ผักโขมหนาม (*Amaranthus spinosus* L.) แต่พืชเหล่านี้เป็นผักพื้นบ้านในภาคต่างๆ ของประเทศไทย. (สถาบันการแพทย์แผนไทย, 2541; 2542(ก), 2542(ข), 2542(ค) นอกจากนี้หลายชนิดยังใช้เป็นพืชสมุนไพร (วิทย์, 2539; คณะเภสัชศาสตร์, 2538; AICAF, 1996)

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-03-02-55

วัชพืชรุกรายแรง ก่อให้เกิดความเดือดร้อนแก่เกษตรกร และความเสียหายทางเศรษฐกิจของประเทศอย่างมาก เช่น ผักตบชวา ไมยราบยักษ์ หนุ่ยขจรจบ ล้วนเป็นพืชต่างถิ่น ที่อาจถูกนำเข้าด้วยความตั้งใจ (Intentional introduction) เพื่อวัตถุประสงค์ใดวัตถุประสงค์หนึ่ง เช่น เป็นไม้ประดับ ปรับปรุงบำรุงดิน พืชอาหารสัตว์ หรือ บางครั้งเป็นการนำเข้าโดยรู้เท่าไม่ถึงการณ์ (ignorant introduction) หรือโดยไม่ตั้งใจ (unintentional introduction) เช่น การปนเปื้อนของเมล็ดวัชพืชในสินค้าเกษตร พืชต่างถิ่นเมื่อถูกชักนำเข้าถิ่นใหม่ จะมีการปรับตัว (adaptation) เพื่อความอยู่รอดในสภาพนิเวศใหม่ การตั้งตัว (establishment) หากเป็นพืชที่มีความแข็งแรงหรือรุกราน ก็จะกลายเป็นวัชพืชรุกรายแรง (noxious weed) บางชนิดแพร่กระจายปะปนไปกับพืชอื่น โดยมีได้เป็นปัญหา เสมือนเป็นพืชพื้นเมือง (naturalization) วัชพืชรุกรายแรงอาจเปลี่ยนสถานะเป็นเสมือนพืชพื้นเมืองได้ เช่น ผักตบชวา (*Eichornia crassipes* (Mart.) Solms) หนุ่ยยาง (*Euphorbia heterophylla* (L.) Klotzsch & Garcke) (บรรพต, 2539) การเปลี่ยนแปลงในแต่ละขั้นตอนใช้เวลาต่างกันไป เช่น ผักตบชวามีการนำเข้าในปี 2444 ต่อมาในปี 2456 จึงมีการประกาศใช้พระราชบัญญัติผักตบชวา เพื่อควบคุมการระบาด แต่ไม่ได้ผล และยังคงเป็นปัญหาวัชพืชน้ำที่สำคัญของประเทศไทยจนถึงปัจจุบัน แต่การคมนาคมทางน้ำได้ลดความสำคัญลงไป ขณะเดียวกันกลับมีปัญหาขาดแคลนผักตบชวาสำหรับทำเครื่องจักสาน จะเห็นได้ว่า ผักตบชวาใช้เวลาพัฒนาตัวเองจากเริ่มนำเข้า จนมาเป็นวัชพืชรุกรายแรง ประมาณ 12 ปี ปัจจุบันสามารถพบผักตบชวาได้ทั่วประเทศ เป็นเสมือนพืชพื้นเมืองของไทย นอกจากนี้ยังมีพืชนำเข้าและกลายเป็นวัชพืชรุกรายแรง ก่อให้เกิดความเสียหายอีกหลายชนิด มีทั้งที่ทราบประวัติการนำเข้า เช่น ไมยราบยักษ์ (*Mimosa pigra* Linn.) ขจรจบดอกเล็ก (*Pennisetum polystachyon* (L.) Schult) ขจรจบดอกใหญ่ *Pennisetum pedicellatum* Trin.) ขจรจบดอกเหลือง (*Pennisetum setosum* (Swz.) L.C. Rich) และไม่ทราบประวัติการนำเข้า เช่น หนุ่ยข้าวนก (*Echinochloa crus-galli* Beauv) ขี้เก๋าย่าน (*Mikania micrantha* H.B.K.) รูปฤๅษี (*Typha angustifolia* Linn.) เป็นต้น อาจเป็นพืชพันธุ์ที่ปนเปื้อนมากับสินค้า วัสดุ อุปกรณ์ หรือติดมากับสัมภาระต่างๆ เมื่อพบสภาพที่เหมาะสมก็จะงอก และเจริญเติบโตต่อไป เพราะสภาพภูมิอากาศของไทยเหมาะแก่การเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตหลายชนิด (ศิริพร, 2546)

หลายประเทศได้มีการศึกษาถึงผลกระทบของชนิดพันธุ์ต่างถิ่นต่อสิ่งแวดล้อมและนิเวศวิทยา พอสรุปได้ว่า ชนิดพันธุ์ต่างถิ่นที่เป็นชนิดรุกราน มีผลทางลบต่อเศรษฐกิจ สิ่งแวดล้อม นิเวศวิทยา และสังคมแล้ว เช่น ลดการเจริญเติบโตของพืชที่ต้องการ เป็นข้อจำกัดทางกายภาพสำหรับการเคลื่อนย้าย เช่น หนามที่แน่น ทำให้เดินผ่านไม่ได้ หรือพืชน้ำที่ขึ้นเป็นกลุ่มหนาแน่น ทำให้การไหลของน้ำเป็นไปได้ช้าลง ลดคุณภาพการใช้ประโยชน์ที่ดิน มีผลต่อสุขภาพอนามัยของมนุษย์และสัตว์ โดยตรง ลดความหลากหลายทางชีวภาพพืชที่มีอยู่ในท้องถิ่นเดิม เป็นแหล่งอาศัยของศัตรูพืชและโรค เป็นต้น

พืชวงศ์หนุ่ยวงช้าง เป็นไม้ล้มลุก ไม้พุ่ม หรือไม้ต้น พบน้อยที่เป็นไม้เลื้อย ใบเป็นใบเดี่ยว ติดเวียนสลับ บางครั้งอาจพบติดกิ่งตรงข้าม ใบมีก้าน เนื่องจากมีขนแข็ง ดอกออกเป็นช่อม้วนแบบกันหอย มีกลีบเลี้ยงและกลีบดอกอย่างละ 5 กลีบ กลีบเลี้ยงติดแน่น กลีบดอกเชื่อมติดกัน ปลายจักเป็น 5

พู่ เกสรเพศผู้ 5 อัน รั้งไข่ติดเหนือวงกลีบ มี 2 ช่อง หรือ 4 ช่อง โดยมีผนังกันไม่ชัดเจน แต่ละช่องมีไข่อ่อน 1 หน่วย ผลแยกย่อยเป็น 4 มีเมล็ดแข็ง ประเทศไทยมี 15 สกุล (ก่องกานดา, 2548) เช่น *Argusia carmona* *Coldenia* *Cyanoglossum* *Ehretia* *Heliotropium* *Onosma* *Rotula* *Tournefortia* และ *Trichodesma* เป็นต้น พืชในสกุลนี้ที่พบทั่วไปคือ หญ้าวงช้าง (*Heliotropium indicum* L.) หญ้าตีนตุ๊กแก (*Coldenia procumbens*)

Holm *et. al.* (1977) รายงานว่าหญ้าวงช้าง เป็นวัชพืชร้ายแรงที่สุดชนิดหนึ่งของโลก ถูกจัดเป็นวัชพืชสำคัญอันดับ 2 ในไร่อ้อยของอินโดเนเซียหญ้าวงช้าง และยังพบในนาข้าว แปลงถั่ว ข้าวโพด นอกจากนี้พบเป็นวัชพืชในแปลงพืชไร่ พืชผัก ในฟิลิปปินส์ ไต้หวัน แทนซาเนีย ทรินิแดด อินเดีย ด้วย

ในประเทศไทย พบหญ้าวงช้างในนาข้าวหลังเก็บเกี่ยว และในแปลงพืชไร่หลายชนิด เช่น มันสำปะหลัง อ้อย ยาสูบ พืชผัก และยังพบเป็นวัชพืชในที่ที่ไม่ได้ทำการเกษตร เช่น ที่พื้นที่ว่างข้างทาง หลวง พืชชนิดนี้มีพบในที่ที่มีความชื้นมาก และสามารถทนแล้ง และสภาพน้ำท่วมได้ระยะหนึ่ง

สำหรับประเทศไทย ได้ประกาศให้พืชชนิดหนึ่งในสกุลเดียวกับหญ้าวงช้าง คือ *Heliotropium europaeum* L. เป็นสิ่งต้องห้าม เนื่องจากเป็นศัตรูพืชกักกันในลำดับที่ 335 ตามประกาศประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 ซึ่งลงนามโดยรัฐมนตรีว่าการกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เมื่อ 26 เมษายน 2550 ประกาศในราชกิจจานุเบกษา เมื่อ 1 มิถุนายน 2550 และมีผลใช้บังคับเมื่อ 1 สิงหาคม 2554

H. europium L. เป็นพืชล้มลุก ที่มีถิ่นกำเนิดแถบเมดิเตอร์เรเนียน จนถึงตะวันตกเฉียงเหนือของอินเดีย เป็นวัชพืชสำคัญในทุ่งหญ้าเลี้ยงสัตว์ในเขตร้อนจนถึงเขตอบอุ่นของออสเตรเลีย เมล็ดงอกในฤดูใบไม้ผลิ สามารถทนแล้งได้ เนื่องจากมีระบบรากลึก ออกดอกหลังจากงอกเพียง 2-3 สัปดาห์ และสามารถเจริญเติบโตได้จนถึงฤดูร้อน เนื่องจากพืชนี้มีสารอัลคาลอยด์ จึงเป็นพืชต่อต้านของสัตว์เลี้ยง และทำให้เกิดความเป็นพิษของทองแดงเรื้อรัง และตาย วัวและม้าจะไวต่อพิษเหล่านี้มากกว่าแกะ (Parsons and Cuthbertson, 1992)

จากการสำรวจเผ่าระวางการแพร่ระบาดของพืชที่เป็นสิ่งต้องห้าม หรือศัตรูพืชกักกัน Congress grass (*Parthenium hysterophous* L.) ระหว่างปี 2550 – 2553 พบวัชพืชในวงศ์หญ้าวงช้าง 3 ชนิด ที่ยังไม่พบเอกสารและตัวอย่างของพืชทั้งสามชนิดในพิพิธภัณฑ์พืชที่ใดเลย คือสกุล *Heliotropium* 2 ชนิด และสกุล *Trichodesma* 1 ชนิด ซึ่ง 2 ชนิดในสกุล *Heliotropium* มีลักษณะคล้ายกัน คือมีดอกสีขาวทั้งคู่ แต่มีพฤติกรรมในการแพร่กระจายต่างกัน และมีลักษณะบางประการคล้าย *H. europium* ศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย

เมล็ดวัชพืช เป็นส่วนขยายพันธุ์ที่มีสามารถถูกเคลื่อนย้ายโดยกิจกรรมของมนุษย์ จะโดยความตั้งใจหรือไม่ก็ตาม จะทำให้วัชพืชนั้นสามารถเจริญเติบโตในที่ใหม่และอาจกลายเป็นวัชพืชร้ายแรง ทำ

ให้เกิดความเสียหายต่อความหลากหลายทางชีวภาพและเศรษฐกิจได้ การปนเปื้อนของเมล็ดวัชพืชในสินค้าเกษตรในการค้าระหว่างประเทศ ทำให้เกิดความเสียหายอย่างมาก การแก้ไข หรือตอบโต้ จำเป็นต้องมี การพิสูจน์ ตรวจสอบวิเคราะห์ชนิดจำเป็นต้องใช้ตัวอย่างเมล็ดในการยืนยัน ตัวอย่างเมล็ดวัชพืชและคู่มือการตรวจสอบจึงเป็นสิ่งสำคัญ ในการตอบข้อสงสัยหรือตอบโต้ข้อกล่าวหาในการค้าระหว่างประเทศ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- การสำรวจได้แก่ แผนที่ สมุดบันทึก กรรไกร ถุงพลาสติก ปากกาเขียนพลาสติก หรือกระดาษป้ายชื่อ และกล้องถ่ายภาพ
- อุปกรณ์สำหรับปลูกพืชทดสอบและสารเคมี ได้แก่ กระจก ดิน ป้ายกักกับการทดลอง ปุ๋ย และสารเคมีกำจัดศัตรูพืช
- การจัดทำตัวอย่างแห้ง ได้แก่ แผงอัดพรรณไม้สำหรับจัดทำตัวอย่างแห้ง กระดาษฟูก กระดาษซับ ฟองน้ำสำหรับรองตัวอย่าง กระดาษติดตัวอย่างพรรณไม้พร้อมปก พร้อมกระดาษป้ายชื่อ
- สารเคมีสำหรับกันเชื้อราและแมลง ได้แก่ เมทานอล (Methanol) คลอโรฟอร์ม และเมอคิวรี คลอไรด์ พร้อมเครื่องแก้วต่างๆ ที่จำเป็น
- การตรวจสอบชนิดพืช ได้แก่ แวนชยายขนาด 10 เท่า กล้อง กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ เข็มเขี่ย ปากคีบ หนังสือคู่มือการจำแนกพรรณไม้ต่างๆ

วิธีการ

1. **สำรวจชนิดและการแพร่กระจายของพืชในวงศ์หญ้าวงช้าง** ในพื้นที่ต่างๆ เมื่อพบจุดบันทึกพิกัด และสภาพพื้นที่ เก็บตัวอย่างเพื่อจัดทำตัวอย่างแห้ง และอีกส่วนนำมาปลูกในเรือนทดลองของกลุ่มวิจัยวัชพืช เพื่อศึกษารายละเอียดลักษณะพืชและเก็บเมล็ด ตรวจสอบชนิดโดยการเทียบกับตัวอย่างพืชแห้งของพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพ และเอกสารด้านอนุกรมวิธานและคู่มือตรวจสอบชนิดพืชต่างๆ

2. **การศึกษาสัณฐานวิทยาของพืชวงศ์หญ้าวงช้าง** เก็บรวบรวมเมล็ด นำมาทำความสะอาด และเลือกเฉพาะเมล็ดสมบูรณ์เพื่อศึกษาสัณฐานวิทยาของเมล็ด เช่น รูปร่าง ขนาด สีผิวเมล็ด/ผล ลักษณะ-ลวดลายผิว ตำแหน่งช่องเปิดบนเมล็ด ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ และเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพของแต่ละชนิด เพื่อจัดทำคู่มือการจำแนกชนิดจากเมล็ดต่อไป

ผลการทดลอง

1. การสำรวจชนิดและการแพร่กระจาย วัชพืชวงศ์หญ้างวงช้าง 2 ชนิดที่พบทั่วไป ได้แก่ หญ้างวงช้าง (*Heliotropium indicum* L.) (ภาพที่ 1) ซึ่งพบเป็นวัชพืชทั่วไปในพืชไร่ เช่น ยาสูบ ข้าวโพด ทานตะวัน อ้อย และพืชผักหลายชนิด นอกจากนี้ยังพบในพื้นที่ที่ไม่ได้ทำการเกษตร เช่น ที่รกร้างว่างเปล่า ไหลทาง ริมหรือขอบสระน้ำ และมักพบได้บ่อยในนาข้าวหลังเก็บเกี่ยว พบทุกภาคของประเทศไทย

หญ้าตีนตุ๊กแก (*Coldenia procumbens* L.) (ภาพที่ 2) เป็นวัชพืชพบขึ้นในที่ชุ่มชื้น พบมากในนาข้าวหลังเก็บเกี่ยว พบมากในภาคกลาง เช่น จังหวัดปราจีนบุรี พระนครศรีอยุธยา สระบุรี ลพบุรี เพชรบูรณ์ และยังพบตามที่สูงและ สามารถทนแล้งได้

นอกจากนี้ยังพบวัชพืชชนิดอื่นๆ ในวงศ์หญ้างวงช้าง แต่ไม่พบทั่วไปเหมือนสองชนิดข้างต้น ได้แก่



ภาพที่ 1 หญ้างวงช้าง



ภาพที่ 2 หญ้าตีนตุ๊กแก

- หญ้ามวนฟ้า (*Cyanoglossum lanceolatum* Forssk.) (ภาพที่ 3) พบในภาคเหนือ ตามไหล่ทาง และแปลงพืชไม้ยืนต้น

- ทนวดปลาหมึก (*Heliotropium strigosum* Willd.) (ภาพที่ 4) พบตามคันนาหรือที่สูง และ ขึ้นกระจัดกระจาย

- *Heliotropium* sp1. (ภาพที่ 5) พบในแปลงถั่วเขียวที่ปลูกหลังเก็บเกี่ยวข้าวแล้ว และพื้นที่ไหล่ทางที่สูงและ ในพื้นที่จังหวัดเพชรบูรณ์

- *Heliotropium* sp2. (ภาพที่ 6) พบในพื้นที่อำเภอสังขละบุรี จังหวัดกาญจนบุรี และอำเภอแม่ระมาด ท่าสองยาง จังหวัดตาก ซึ่งเป็นบริเวณที่อยู่ใกล้ชายแดน ส่วนอำเภอแม่ระมาดพบขึ้นหนาแน่นบริเวณริมแม่น้ำเมย ที่ทำเรือของประชาชนในพื้นที่ สามารถเจริญได้ดีแม้มีน้ำท่วมขัง

- *Trichodesma* sp. (ภาพที่ 7) พบในแปลงอ้อย ในจังหวัดกาญจนบุรี สระบุรี และลพบุรี เป็นพืชฤดูเดียว ลำต้นตั้งตรง สูงได้ถึง 150-200 เซนติเมตร แตกสาขาได้ดี ตามลำต้น และใบปกคลุมด้วยขนแข็ง

นอกจากนี้ยังพบพืชในวงศ์นี้อีกหนึ่งชนิด ที่ยังไม่สามารถระบุสกุลได้



ภาพที่ 3 หญ้ามวนฟ้า



ภาพที่ 4 หญ้าหนวดปลาหมึก

ภาพที่ 5 *Heliotropium* sp1ภาพที่ 6 *Heliotropium* sp2ภาพที่ 7 *Trichodesma* sp.

2. การศึกษาถิ่นฐานวิทยาของพืชวงศ์หญ้าวงช้าง วัชพืชทุกชนิดที่พบ ได้รวบรวมเมล็ดจากพื้นที่ และส่วนที่ไม่สามารถเก็บเมล็ดจากพื้นที่ได้ นำต้นมาปลูก และเก็บเมล็ดได้แล้ว 6 ชนิด

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เอกสารอ้างอิง

ก่องกานดา ชามมฤต. 2548. ลักษณะประจำวงศ์พรรณไม้. กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช.

โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. 113 หน้า

- คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 2538. สยามไภษัชยพฤกษ์ ภูมิปัญญาของชาติ. ภาควิชาเภสัชศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. อมรินทร์พริ้นติ้ง แอนด์ พับลิชชิ่ง จำกัด. 272 หน้า.
- บรรพต ฌ ป้อมเพชร. 2539. ชนิดพันธุ์ต่างถิ่น: การควบคุมโดยชีววิธี. ใน รายงานการประชุมวิชาการ “ชนิดพันธุ์ต่างถิ่นในประเทศไทย” สำนักงานนโยบายและแผนสิ่งแวดล้อม และศูนย์พันธุ์วิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ 24-26 ตุลาคม 2539. โรงแรมอมาริโออดีต รีสอร์ท พัทยา. หน้า 85-97.
- พิสิษฐ์ ฌ พัทลุง. 2539. ผลกระทบจากชนิดพันธุ์ต่างถิ่น. ใน รายงานการประชุมวิชาการ “ชนิดพันธุ์ต่างถิ่นในประเทศไทย” สำนักงานนโยบายและแผนสิ่งแวดล้อม และศูนย์พันธุ์วิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ 24-26 ตุลาคม 2539. โรงแรมอมาริโออดีต รีสอร์ท พัทยา. หน้า 64-67.
- วิทย์ เทียงบูรณธรรม. 2539. พจนานุกรมสมุนไพรไทย. ประชุมทองการพิมพ์ หน้า 2.
- ศิริพร ชิงสนธิพร, วินัย สมประสงค์ และปราโมทย์ ไตรบุญ. 2546. ก้นจ้ำขาวดอกใหญ่ ..วัชพืชชนิดใหม่ของไทย. ใน เอกสารการประชุมวิชาการอรั้งกาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 6 “หนึ่งทศวรรษแห่งการอรั้งกาพืชในประเทศไทย” 24-27 พฤศจิกายน 2546. ขอนแก่น หน้า 478-89.
- สถาบันแพทย์แผนไทย. 2541. ผักพื้นบ้านภาคอีสาน. สถาบันแพทย์แผนไทย กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก กรุงเทพฯ 302 หน้า
- _____. 2542.(ก) ผักพื้นบ้านภาคกลาง. สถาบันแพทย์แผนไทย กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก กรุงเทพฯ 278 หน้า
- _____. 2542.(ข) ผักพื้นบ้านภาคใต้. สถาบันแพทย์แผนไทย กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก กรุงเทพฯ 278 หน้า
- _____. 2542.(ค) ผักพื้นบ้านภาคเหนือ. สถาบันแพทย์แผนไทย กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก กรุงเทพฯ 280 หน้า
- AICAF. 1996. Weed in the Tropics. Association for International Cooperation of Agriculture & Forestry. Sanbi Printing. Japan 304p.
- Holm, L., D.L. Plucknett, J.V. Pancho, and J.P. Herberger. 1979. The World's Worst Weeds Distribution and Biology. Univ. Hawaii Press, Honolulu. p291-294.
- Muenscher, W.C. 1980. Weeds 2nd. Cornell University Press. USA. 586p.
- Parsons W. And E. Cuthbertson. 1992. in Weed Identification : Common heliotrope *Heliotropium europaeum*. at <http://www.weeds.org.au/cgi-bin/weedident.cgi?tpl= plant.tpl&state=&s= &ibra=all&card=H76>. accessed on 15 June 2011.

ศึกษาชนิดวัชพืชที่เป็นพืชอาศัยของเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus*
 Identification of weeds as alternate hosts of *Phenacoccus* mealybug

จรรยา มณีโชติ^{1/} ชลิตา อุณหุฒิ^{2/} สุพัตรา ชาววงจักร^{4/} ปรัชญา เอกฐิน^{4/} ชมัยพร บัวมาศ^{2/}
 วนิตา ธารถวิล^{3/} ยรรววรรณ อนันตมณี^{3/}

^{1/}ผู้เชี่ยวชาญ ^{2/}กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{3/}กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{4/}ศูนย์วิจัยและพัฒนาการการเกษตรกาฬสินธุ์ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 3

บทคัดย่อ

ผลการสำรวจแปลงปลูกมันสำปะหลัง 42 แปลง ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและตะวันออกเฉียงเหนือ 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*) ครอบจักรวาล (*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 ตัว และถุงไข่ 15 ถุงต่อต้น เพลี้ยแป้งสีเขียว (*P. madeirensis*) จำนวน 9 ตัวและถุงไข่ 4 ถุงต่อต้น ดังนั้นการกำจัดวัชพืชที่เป็นพืชอาศัยของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลัง นอกจากจะช่วยลดการระบาดของเพลี้ยแป้งแล้ว ยังช่วยลดการแก่งแย่งน้ำ แสงแดด และธาตุอาหาร ในมันสำปะหลังได้

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 คือเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู (*Phenacoccus manihoti*) ซึ่งไม่เคยมีรายงานพบการระบาดในมันสำปะหลังมาก่อน แต่พบการทำลายเสียหายรุนแรงกว่าชนิดแรก พื้นที่ปลูกมันสำปะหลังในปี 2552 ที่มีการระบาดของเพลี้ยแป้งสีชมพู ได้รับความเสียหายประมาณ 1,421,070 ไร่ โดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และการระบาดมีแนวโน้มขยายวงกว้างและทวีความรุนแรงมากขึ้นในหลายจังหวัด ได้แก่ ชลบุรี ระยอง ฉะเชิงเทรา ปราจีนบุรี สระแก้ว นครราชสีมา และ กำแพงเพชร โดยพื้นที่การระบาดมากที่สุด คือ จังหวัดนครราชสีมา

Nwanze (1982) ได้ศึกษาความเสียหายของผลผลิตมันสำปะหลังจากการระบาดของเพลี้ยแป้งสีชมพู (*Phenacoccus manihoti*) พบว่า สามารถทำให้ผลผลิตมันสำปะหลังลดลงได้ถึง 54.4-84.4 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งความเสียหายนั้นขึ้นอยู่กับฤดูปลูก หากปลูกในฤดูแล้งผลผลิตจะเสียหายได้มากกว่าในช่วงฤดูฝนในประเทศไทย พบเพลี้ยแป้งในสกุล *Phenacoccus* 2 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยแป้งสีชมพู และเพลี้ยแป้งเขียวแต่ที่ทำให้ความเสียหายให้ผลผลิตมันสำปะหลังมากที่สุดคือ เพลี้ยแป้งสีชมพู ส่วนสาเหตุการระบาดของเพลี้ยแป้งสีชมพูยังไม่ทราบแน่ชัดสันนิษฐานว่าสภาพแวดล้อมที่มีการเปลี่ยนแปลงไปในปัจจุบันมีส่วนทำให้เกิดการระบาด อย่างไรก็ตาม ปัจจัยสำคัญที่ทำให้พื้นที่การระบาดขยายวงกว้างขึ้นเกิดจากการขยายพื้นที่ปลูกและมีการใช้ท่อนพันธุ์ มันสำปะหลังที่มีไข่ ตัวอ่อน และตัวเต็มวัยเพลี้ยแป้งติดไปกับท่อนพันธุ์ จากนั้นหลังปลูกจะมีคเป็นพาหะนำเพลี้ยแป้งกระจายไปสู่ต้นมันสำปะหลังอื่นและแปลงข้างเคียง (นิรนาม , 2552) สุเทพ (2552) รายงานว่าพบเพลี้ยแป้งใน

มันสำปะหลัง 4 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยแป้งลาย ; *Ferrisia virgata* (Cockerell) เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีเทา หรือเพลี้ยแป้งแจ๊คเบียร์สเลย์; *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) สถาบันพัฒนามันสำปะหลัง (ห้วยบง) 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 ไล่เดือนฝอย และ แมลงหิวข้าว โดยเฉพาะเพลี้ยแป้ง มีรายงานในประเทศอินเดียว่าพบวัชพืชใบกว้างหลายชนิด เช่น *Parthenium* (*Parthenium hysterophorus* L.) ครอบจักรวาล (*Abutilon indicum*) หล้าไม้กวาด (*Sida spp.*) ชีโครอก (*Xanthium strumarium*) พันงูขาว (*Achyranthes aspera*) สาบแร้งสาบกา (*Ageratum conyzoides*) เป็นพืชอาศัยของเพลี้ยแป้งในแปลงปลูกฝ้าย (Dha, A.K. 2007; Chander, 2009)

จากการสำรวจในเบื้องต้น พบว่า ในแหล่งปลูกมันสำปะหลังในจังหวัดนครราชสีมา ซึ่งเป็นพื้นที่ที่มีการระบาดรุนแรงของเพลี้ยแป้ง ในช่วงเดือนเมษายน 2551 เป็นพื้นที่ประมาณ 300,000 ไร่ นี้ พบว่ามีวัชพืชใบกว้างบางชนิดโดดเด่นขึ้นมาในพื้นที่ ได้แก่ หล้า যায় (*Euphorbia geniculata*) หล้าท่าพระ (*Ricardia brasiliensis*) ผักเบี้ยหิน (*Trianthema portulacastrum*) ผักปราบไร่ (*Commelina benghalensis*) และ สาบม่วง (*Praxelis clematidea*) ซึ่งวัชพืชเหล่านี้บางชนิด อาจเป็นพืชอาศัยที่สำคัญของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลัง หากทราบชนิดวัชพืชที่เป็นพืชอาศัยของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังแล้ว สามารถใช้เป็นข้อมูลในการพยากรณ์สถานการณ์การระบาดของเพลี้ยแป้งในแหล่งที่พบวัชพืชเหล่านี้ได้ในอนาคต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ถุงพลาสติกและกระดิกน้ำแข็ง
2. กรรไกรตัดแต่งกิ่ง
3. แวนขยาย
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 ไข่ของเพลี้ยแป้งบนต้นมันสำปะหลังใน 20 จุดที่สุ่มนับบนต้นวัชพืช
6. หาความสัมพันธ์ระหว่างความหนาแน่นของวัชพืชและการระบาดของเพลี้ยแป้ง

ระยะเวลาดำเนินการ เดือนตุลาคม 2553 ถึง มีนาคม 2555

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การระบาดของเพลี้ยแป้ง *Phenacoccus*

ในระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึง กันยายน 2554 ได้สำรวจในพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 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 รongลงมา ได้แก่ กาบพลินธุ์ ขอนแก่น ฉะเชิงเทรา ปราจีนบุรี ร้อยเอ็ด มหาสารคาม และ นครราชสีมา ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

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 พบว่ามีจำนวน 19 แปลง ที่มีการระบาดของเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus* ในระดับหนาแน่นมาก 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 แปลงที่สำรวจโดยมีความหนาแน่นเฉลี่ย 122 ต้นต่อตารางเมตร

ส่วนครอบจักรวาล หน้่าท่าพระ ถั่วลิสงนา พืชงูขาว ตดหมูตดหมา สะอึก กระต่ายจาม หน้่าปากควาย และ หน้่าขจรจอบดอกเล็ก 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 หรือเพลี้ยแป้งแจ๊คเบียดเลีย; *Pseudococcus jackbeardleyi* Gimpel & Miller ในพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังของจังหวัดกำแพงเพชร ซึ่งเป็นที่น่าสังเกตว่าเพลี้ยแป้งสีชมพูลดการระบาดลง อาจเนื่องมาจากหลายสาเหตุร่วมกัน ได้แก่ ปริมาณฝนที่เพิ่มมากขึ้นในช่วงปี 2554 การรณรงค์ให้เกษตรกรแช่ท่อนพันธุ์ด้วยสารกำจัดแมลงก่อนปลูก และการปล่อยแตนเบียนของภาครัฐ ซึ่งน่าจะมีการศึกษาชนิดวัชพืชที่เป็นพืชอาศัยของเพลี้ยแป้งลายและเพลี้ยแป้งแจ๊คเบียดเลียต่อไป เพื่อความสมบูรณ์ของข้อมูลดังกล่าว

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. พบวัชพืชที่เป็นพืชอาศัยของเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus* ทั้งหมด 10 ชนิด ได้แก่ สาบม่วง (*Praxelis clematidae*) ครอบจักรวาล (*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. พบการระบาดของรุนแรงของเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus* ในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2553-เดือนมีนาคม 2554 จำนวน 34 แปลงคิดเป็น 80 เปอร์เซ็นต์ของแปลงทั้งหมดที่สำรวจ 42 แปลง
4. พบการระบาดของรุนแรงของเพลี้ยแป้งสีชมพู (*P. manihoti*) มากกว่าเพลี้ยแป้งสีเขียว (*P. madeirensis*) และมีความถี่ในการพบเพลี้ยแป้งสีชมพูและเพลี้ยแป้งเขียวเป็น 95.2 และ 42.9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ
5. แปลงที่มีการระบาดของรุนแรงที่สุดของเพลี้ยแป้งสีชมพู (*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 สหยา. 2552. สารป้องกันกำจัดแมลง และไรศัตรูพืช. เอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตรแมลงและศัตรูพืชและการป้องกันกำจัด 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			
		<i>P. manihoti</i> (สีชมพู)		<i>P. madeirensis</i> (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			
		<i>P. manihoti</i> (สีชมพู)		<i>P. madeirensis</i> (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 ความหนาแน่นของเปลือกแป้งมันสำปะหลังสีชมพู (*Phenacoccus manihoti*) ที่พบบนต้นวัชพืชในแปลงมันสำปะหลังจำนวน 42 แปลง ในภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ สํารวจในระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2553-มีนาคม 2554

แปลงที่	จังหวัด	ระดับความหนาแน่นของเปลือกแป้ง <i>Phenacoccus manihoti</i>
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
25	มหาสารคาม	มาก
26	มหาสารคาม	น้อย
27	มหาสารคาม	ปานกลาง
28	มหาสารคาม	มาก
29	ขอนแก่น	มาก

แปลงที่	จังหวัด	ระดับความหนาแน่นของเพลี้ยแป้ง <i>Phenacoccus manihoti</i>
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 = พบเพลี้ยแป้ง 100-1,000 ตัว

ความหนาแน่นมาก = พบเพลี้ยแป้ง 1,000 ตัว

ตารางที่ 3 จำนวนแปลงที่พบการระบาดของเพลี้ยแป้งบนต้นมันสำปะหลังในสกุล *Phenacoccus*

ระดับความ หนาแน่นของเพลี้ย แป้ง	จำนวนแปลงที่พบเพลี้ย	
	แป้ง	% 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 51-75 ตัว

4 = พบเพลี้ยแป้ง 76-100 ตัว

5 = พบเพลี้ยแป้ง 101-125 ตัว

6 = พบเพลี้ยแป้งมากกว่า 125 ตัว

ตารางที่ 4 ความหนาแน่นของวัชพืช 10 ชนิด ที่เป็นพืชอาศัยของเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus*

แปลงที่	จังหวัด	สนาม้าง	ครอบจักรวาล	หญ้าท่าพระ	ตัวลีสงนา	พุ่มขาว	ตดหนูตดหมา	สะอึก	กระต่ายงาม	หญ้าปากคาวาย	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					
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							
34	มหาสารคาม	102									
35	มหาสารคาม	121		1							
36	มหาสารคาม	42									
37	มหาสารคาม	61									
38	มหาสารคาม	29		1							
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 จำนวนเฉลี่ยแบ่ง 2 ชนิดในสกุล *Phenacoccus* ที่พบบนต้นสาบม่วงและต้นมันสำปะหลัง

แปลงที่	จังหวัด	ความหนาแน่น ของ สาบม่วง (ต้น/ตรม.)	สาบม่วง				มันสำปะหลัง			
			<i>P. manihoti</i>		<i>P. madeirensis</i>		<i>P. manihoti</i>		<i>P. madeirensis</i>	
			จำนวนตัว	ถุงไข่	จำนวนตัว	ถุงไข่	จำนวนตัว	ถุงไข่	จำนวนตัว	ถุงไข่
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

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 ตำแหน่งพื้กัฒแปลงมันสำปะหลังที่พบการระบาดของเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus*

ลำดับที่	วันที่สำรวจ	ตำบล	อำเภอ	จังหวัด	พื้กัฒแปลง	
					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	คำพอง	โพธิ์ชัย	ร้อยเอ็ด	15.89484	102.62744
11	16 ธ.ค.53	คำพอง	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	เขาคันทรง	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	กาฬสินธุ์	16.45142	103.73912
22	14 ก.พ.54	อัครคเค้า	โพธิ์ชัย	ร้อยเอ็ด	16.40723	103.75911
23	14 ก.พ.54	สะอาดไชยศรี	ดอนจาน	กาฬสินธุ์	16.47078	103.76668
24	14 ก.พ.54	สะอาดไชยศรี	ดอนจาน	กาฬสินธุ์	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

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

ลำดับที่	วันที่สำรวจ	ตำบล	อำเภอ	จังหวัด	พิกัดแปลง	
					N	E
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	กุฉีกรัง	มหาสารคาม	16.08229	102.93324
39	17 ก.พ.54	นาโพธิ์	กุฉีกรัง	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	นาแหม	กบินทร์บุรี	ปราจีนบุรี	14.03594	101.73818

..





ภาพผนวกที่ 1 สาบม่วงที่มีถุงไข่ของเพลี้ยแป้งชมพูและเขี้ยว (บน) มันสำปะหลังที่มีตัวอ่อน ตัวเต็มวัย และถุงไข่ของเพลี้ยแป้งชมพูและเขี้ยว (ล่าง)

การผลิตแอนติซีรัมของไวรัส *Pineapple mealybug wilt-associated virus-1*
 สาเหตุโรคเหี่ยวสับประรดโดยใช้ระบบเซลล์แบคทีเรีย
 Antiserum Production of *Pineapple mealybug wilt-associated virus-1*
 Causing Pineapple Wilt Disease by Bacterial Cell System

วันเพ็ญ ศรีทองชัย^{1/} ศรีเมฆ ชาวโพงพาง^{2/} กาญจนา วาระวิชนี^{1/}

^{1/}กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/}ภาควิชาโรคพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

บทคัดย่อ

การผลิตแอนติซีรัมโดยใช้ระบบเซลล์แบคทีเรีย เริ่มจากนำใบสับประรดที่เป็นโรคเหี่ยวมาแยก สกัดอาร์เอ็นเอ แล้วนำไปเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิคอณูชีววิทยา โดยใช้ไพรเมอร์จากส่วนของยีนโปรตีน ท่อหุ้มอนุภาคของเชื้อไวรัส PMWaV-1 ได้แก่ pet101_PMWaV1F (5'CACCATGGCTGA TTCGAGCAAACAAAAACAAC3') และ pet101_PMWaV1R (5'TTTGCGTCCACCCATAAAGAT GTGCG3') สังเคราะห์ ได้ชิ้นของดีเอ็นเอ ขนาด 771 คู่เบส จากนั้นนำไปโคลนเข้าสู่เวกเตอร์ pET 101/D-TOPO[®] (Invitrogen) และคัดเลือกเฉพาะโคลนที่มีชิ้นดีเอ็นเอที่ใส่เข้าไปในพาหะ นำมาทำให้ บริสุทธิ์ จากนั้นคัดเลือกโคลนที่สามารถสังเคราะห์โปรตีนได้ในเซลล์ของแบคทีเรีย *E. coli* BL 21 (DES 3) ในอาหารสูตร 2XYT ที่เติมสารปฏิชีวนะแอมพิซิลิน 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และใช้สารไอพีทีจี ในการชักนำให้เกิดการสังเคราะห์โปรตีน พบว่าระยะเวลาที่สามารถสังเคราะห์โปรตีนได้สูงสุด คือ 24 ชั่วโมง โดยให้โปรตีนที่มีขนาดประมาณ 28 กิโลดาลตัน ทำการแยกโปรตีนของเชื้อให้บริสุทธิ์ด้วย Ni-NTA column เพื่อนำไปผลิตโพลีโคลนอลแอนติบอดีในกระต่าย ผลการตรวจสอบคุณภาพของแอนติ ซีรัมที่ได้ ด้วยวิธี indirect ELISA พบว่า แอนติซีรัมจากการเจาะเลือดครั้งที่ 5-7 มีประสิทธิภาพสูงสุด สามารถทำปฏิกิริยาได้ถึง 1:10,000 จากนั้นทำการทดสอบประสิทธิภาพของแอนติซีรัมกับตัวอย่าง สับประรดที่แสดงอาการเหี่ยว โดยเปรียบเทียบชนิดของเพลท พบว่า โพลีซอพท์ เพลท ของ Nunc ให้ ปฏิกิริยาดีที่สุด แต่ให้ปฏิกิริยาค่อนข้างต่ำ ทำให้อ่านผลยาก แอนติซีรัมที่ผลิตได้อาจเหมาะนำไปใช้ใน การตรวจหาไวรัสโดยวิธี Immunosorbent electron microscopy (IEM)

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-03-01-01-54

คำนำ

สับปะรด [*Ananas comosus* (L.) Merr.] อยู่ในวงศ์ Bromeliaceae เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย สามารถปลูกและเก็บผลผลิตได้ตลอดปี เพื่อใช้บริโภคสดภายในประเทศและแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ มีมูลค่าส่งออกประมาณปีละ 13,000-15,000 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 และปัจจุบันโรคนี้อันตรายระบาดทั่วไปในประเทศที่มีการปลูกสับปะรดเป็นการค้า เช่น ออสเตรเลีย ไทย และคิวบา เป็นต้น สำหรับประเทศไทยมีรายงานว่าพบการระบาดของโรคเหี่ยวในแหล่งปลูกสับปะรดของจังหวัดชลบุรีตั้งแต่ปี พ.ศ. 2532 และทำความเสียหายให้แก่ผลผลิตอย่างสูง ต่อมาในปี พ.ศ. 2546 โรคนี้อันตรายระบาดรุนแรงในแปลงปลูกสับปะรดของภาคตะวันออกเฉียงเหนือจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ และเพชรบุรี ซึ่งเป็นแหล่งปลูกสำคัญของประเทศ โดยมีพื้นที่ปลูกสับปะรดเป็นอันดับ 1 และ 3 ของประเทศ คือ 492,058 และ 56,192 ไร่ ตามลำดับ จากพื้นที่ปลูกทั้งประเทศ 962,693 ไร่ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2546; กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2547) นอกจากนี้เริ่มพบการเข้าทำลายของโรคนี้อันตรายในเขตจังหวัดชลบุรี ระยอง และตราด ซึ่งเป็นแหล่งปลูกสับปะรดที่สำคัญเพื่อส่งโรงงานแปรรูปของภาคตะวันออก พันธุ์ที่พบว่ามีอาการระบาดของโรคเหี่ยว คือพันธุ์ปัตตาเวีย หรือรู้จักแพร่หลายในนามสับปะรดศรีราชา ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มพันธุ์ Smooth Cayenne เป็นพันธุ์ที่ปลูกมากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 70 ของผลผลิตรวมของสับปะรด เพราะนอกจากนิยมปลูกเพื่ออุตสาหกรรมแปรรูปแล้ว ยังเป็นพันธุ์ที่นิยมใช้บริโภคผลสดอีกด้วย (วันเพ็ญ, 2546)

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

ลักษณะอาการของโรค ใบเริ่มแสดงอาการอ่อนน้อม มีสีเขียวอ่อนหรือสีเหลือง ปลายใบแห้งตายเป็นสีน้ำตาลหรือสีแดงลามเข้าสู่โคนใบ (die back) ใบลู่ลงและแผ่แบนไม่ตั้งขึ้นเหมือนใบปกติ

ต่อมาต้นเหี่ยวและแห้งตายในที่สุด รากมีขนาดสั้นและแตกแขนงน้อยมาก ทำให้ถอนต้นขึ้นมาได้ง่าย ซึ่งตรงข้ามกับต้นปกติที่มีรากจำนวนมากยึดเกาะดินแน่น ทำให้ถอนต้นขึ้นมาได้ยาก ผลมีขนาดเล็กมากจนไม่สามารถเก็บเกี่ยวได้ (Dilokkunanant *et al.*, 1996) ในธรรมชาติพืชอาศัยที่สำคัญและอ่อนแอต่อไวรัส คือ สับปะรด และโรคนี้อาจสามารถถ่ายทอดโดยมีเพลี้ยแป้ง [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 แต่เนื่องจากปริมาณของคลอสเตอร์ไวรัสในพืชมีน้อย ทำให้ประสิทธิภาพของแอนติซีรัมที่ผลิตได้ยังไม่ดีที่สุดในปัจจุบันอาศัยเทคโนโลยีชีวภาพทำให้สามารถผลิตโปรตีนต่างๆในเซลล์แบคทีเรียในปริมาณมากได้ 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 PMTV ได้ผลดีโดยใช้เทคนิค 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 ลำพิ่ง และคณะ (2547) ได้ทำการสังเคราะห์โปรตีนห่อหุ้มอนุภาคเชื้อไวรัส

เส้นใยเหลืองกระเจี๊ยบเขียวในระบบเซลล์แบคทีเรีย และแยกโปรตีนออกจากเซลล์แบคทีเรีย และนำไปฉีดกระตุ้นกระต่ายทดลองเพื่อผลิตแอนติซีรัมที่มีประสิทธิภาพสูงในการตรวจเชื้อไวรัสสาเหตุโรค ฉะนั้นควรพัฒนาวิธีการผลิตแอนติซีรัมของ PMWaV-1 โดยอาศัยเทคโนโลยีชีวภาพ ได้แก่ การโคลน ยีน และนำมาเพิ่มปริมาณโปรตีนของเชื้อในเซลล์แบคทีเรีย ก่อนนำไปฉีดเข้ากระต่าย เพื่อให้ได้แอนติ ซีรัมที่มีประสิทธิภาพสูงสำหรับการคัดเลือกหน่อพันธุ์ปลอดโรคเพื่อนำไปปลูกในปริมาณมาก

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

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

วิธีการ

1. การโคลนยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคไวรัส (coat protein gene, CP)

1.1 การออกแบบไพรเมอร์

ออกแบบไพรเมอร์ จำนวน 1 คู่ ที่มีความจำเพาะต่อโปรตีนใน ribosome ของไวรัส สาเหตุของโรคเหี่ยวสับปะรด (PMWaV-1) ได้แก่

pet101_PMWaV1F 5'ATGGCTGATTCGAGCAAACAAAAACAAC 3'

pet101_PMWaV1R 5'TTTGCGTCCACCCATAAAGATGTGCG3'

เพื่อนำไปใช้ในการเพิ่มปริมาณของชิ้นดีเอ็นเอ ในกระบวนการ cloning เข้าสู่ vector

1.2 การแยกสกัดอาร์เอ็นเอของของไวรัสจากใบสับปะรด

โดยใช้ชุดสกัดสำเร็จรูป (MasterPureTM 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 ไมโครลิ ของ 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)
นำสารละลายเซลล์ที่ขีที่ได้มาแขวนในน้ำแข็ง นาน 3 – 5 นาที
6. เติม MPC Protein Precipitation Reagent 175 ไมโครลิตร. ในสารละลายของ RNA ของ
เซลล์ที่ขี 300 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้ Vortex นาน 10 วินาที
7. นำมาปั่นที่ 10,000 รอบ/นาที นาน 10 นาที
8. ทิ้งตะกอน และเก็บส่วนใสให้หมดใหม่
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' TTTGCGTCCACCATAAAGATGTGCG3'

โดยใช้ปฏิกิริยาดังนี้

RT-PCR Profile

20 uL. Reaction (ใช้ชุดของ Bioneer)

dH ₂ O	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 ₂ O	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	} . 35 รอบ
95 °ซ	45 วินาที	
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 โวลท์ ใน TAE บัฟเฟอร์ เป็นเวลา 30 นาที

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

นำ PCR product 2 ไมโครลิตร ผสมกับ เวกเตอร์ pET 101/D-TOPO[®] (Invitrogen) 1 ไมโครลิตร และ salt solution 1 ไมโครลิตร จากนั้นเติมน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2 ไมโครลิตร ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 10 นาที จากนั้นเติม competent cell 50 ไมโครลิตร (*E. coli*, DH5 α) แช่ในน้ำแข็งนาน 30 นาที แล้วทำการ heat shock cell โดยการแช่หลอดในน้ำที่มีอุณหภูมิ 42 °ซ นาน 90 วินาที ก่อนย้ายไปแช่บนน้ำแข็งทันที อีก 5 นาที เติมหาอาหาร 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 ซ้ำมคืน

1.5 การสกัดโคลนของพลาสมิด

คัดเลือกโคโลนีสีขาวบนอาหารแข็ง 2XYT โดยใช้ไม้จิ้มฟันที่ปราศจากเชื้อ แล้วนำมาเลี้ยงในอาหารเหลว 2XYT (มี ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร ผสมอยู่) เขย่าด้วยความเร็ว 170 รอบต่อนาที ที่ 37°C 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 นำส่วนของน้ำใสมาเติมด้วยหนึ่งเท่าโดยปริมาตรของ isopropanol และนำไปหมุนเหวี่ยง ที่ 14,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ล้างตะกอนที่ได้ด้วย 70% ethanol และหมุนเหวี่ยงอีกครั้งที่ความเร็วรอบและเวลาเท่าเดิม แล้วละลายตะกอนพลาสมิดด้วยน้ำ (มี RNase 2 % ผสมอยู่) 50 ไมโครลิตร ตั้งไว้ที่ 37 °C นาน 30 นาที แล้วจึงนำพลาสมิดที่สกัดได้ส่งตรวจเพื่อหาลำดับนิวคลีโอไทด์ โดยใช้ไพรเมอร์ T7F และ T7R เพื่อตรวจสอบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์มีการกลับทิศหรือไม่

จากนั้น transform เข้า competent cell ของ *E. coli* BL21 (DES 3) โดยใช้ CaCl_2 ที่ 42°C นาน 90 วินาที และแช่บนน้ำแข็งทันที นาน 3 นาที คัดเลือกโคโลนีของพลาสมิดบนอาหาร 2XYT ที่เติมสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร เพื่อนำไปสังเคราะห์โปรตีนในขั้นต่อไป

2. การวิเคราะห์ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการชักนำการสังเคราะห์ recombinant protein ในเซลล์แบคทีเรีย

เลี้ยงแบคทีเรีย *E. coli* BL21 (DES 3) ที่มีพลาสมิดสายผสม pET 101/D-TOPO[®]-cp ในอาหารเหลว 2XYT 100 มิลลิลิตร ที่เติมสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร เขย่า 170 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง เพื่อใช้เป็น starter จากนั้นแบ่งใส่ในอาหารเหลว 2XYT ที่เติมสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร ในอัตราส่วนของเชื้อ 10 % ของอาหาร เขย่าต่ออีก 2 ชั่วโมง จากนั้นเติม Isopropyl-β-D thiogalactopyranoside (IPTG) ในอาหารเลี้ยงเชื้อให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 1 มิลลิโมลาร์ เลี้ยงเชื้อต่อโดยการเขย่าบนเครื่อง shaker และเก็บตัวอย่างเซลล์หลังการเติม IPTG ที่ 2 4 6 8 และ 24 ชั่วโมง ครั้งละ 1 มิลลิลิตร นำมาปั่นตกตะกอนที่ 10,000 รอบ/นาที นาน 2 นาที ละลายตะกอนเซลล์ด้วยน้ำที่ผ่านการนิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 50 ไมโครลิตร และเก็บไว้ที่ -20 °C จากนั้นแล้วเติม 2xSDS-PAGE sample buffer (0.125 Tris-HCl pH 6.8, 20% glycerol, 4% SDS, 0.02% bromophenol blue R250, 5% β-Mercaptoethanol) 50

ไมโครลิตร์ ผสมให้เข้ากัน และนำไปต้มในน้ำเดือด นาน 10 นาที แล้วนำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์โปรตีน ด้วยเทคนิค SDS-PAGE (Laemmli, 1970)

3. การแยกโปรตีนของเชื้อให้บริสุทธิ์ด้วย Ni-NTA column

นำแบคทีเรีย *E. coli* BL21 (DES 3) ที่มีพลาสมิดสายผสม pET160/GW/D-TOPO[®] - cp หลังจากเลี้ยงในอาหารเหลว 2XYT ที่เวลาอันเหมาะสมในการชักนำให้เกิดการสังเคราะห์โปรตีน มาปั่นตกตะกอนที่ 8,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที (4[°]ซ) นำตะกอนมาผสมกับน้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว (ตะกอน 1 กรัม/น้ำ 10 มิลลิลิตร) จากนั้นเติม lysozyme เพียงเล็กน้อยประมาณเท่าหัวไม้ขีดไฟ (ต่ออาหารเหลว 1 ลิตร) และกวนให้เข้ากันจนเหนียว เก็บที่ -20[°]ซ ข้ามคืน จากนั้นนำมาเติมด้วย lysis buffer (Buffer B : 50 mM NaH₂PO₄·H₂O, 10 mM Tris-HCl (MW=121.1) และ 8 M Urea, pH 8.0) ในอัตรา 50 มิลลิลิตร/อาหารเหลว 1 ลิตร และนำมาทำให้เซลล์แตกด้วยเครื่อง sonicator แบบ probe (power 45-50, cycle 50%) ครั้งละ 5 นาที จนกว่าเซลล์จะหายหนืดและใส แล้วนำไปปั่นที่ 10,000 รอบ/นาที นาน 10 นาที (4[°]ซ) เก็บน้ำใสไปแยกโปรตีนให้บริสุทธิ์ด้วย Ni-NTA column (อัตรา 2 มิลลิลิตร/อาหารเหลว 1 ลิตร) เริ่มจากการล้าง column หลังแพ็คแล้ว ด้วย buffer B จากนั้นเทส่วนน้ำใสให้ผ่าน column และล้าง column ด้วย buffer C (pH 6.3) และ buffer D (pH 5.9) ก่อนที่จะใส่ buffer E (pH 3.9) เพื่อแยกโปรตีนออกจากเจลใน column เก็บเป็น fraction หลอดละ 500 ไมโครลิตร์ เพื่อนำไปตรวจสอบขนาดของโปรตีนว่าอยู่ใน fraction ไດ โดยเทคนิค SDS-PAGE และคำนวณปริมาณโปรตีนที่ผ่าน column โดยใช้สูตรของ Bradford's

4. การผลิตแอนติซีรัมในสัตว์ทดลอง

ผสมโปรตีนของเชื้อที่บริสุทธิ์ (1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) กับ complete Freund's adjuvant ในอัตรา 1:1 ให้เข้ากันเป็น emulsion สำหรับการฉีดครั้งตายครั้งแรก และใช้ incomplete Freund's adjuvant ในอัตรา 1:1 สำหรับการฉีดครั้งต่อไปอีก 4 ครั้ง การฉีดทุกครั้งเป็นการฉีดเข้าใต้ผิวหนัง (subcutaneous) บริเวณคอ ประมาณ 4-5 จุดต่อการฉีดแต่ละครั้ง ทำการฉีดทุก 2 สัปดาห์ เริ่มทำการเจาะเลือดที่เส้นเลือดบริเวณใบหู หลังจากการฉีดครั้งที่ 2 และดำเนินการเจาะเลือดทุก 1 สัปดาห์ อีก 6 ครั้ง นำเลือดที่เจาะได้มาตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 ชั่วโมง ก่อนนำไปเก็บที่ 4[°]ซ อีก 24 ชั่วโมง รินส่วนน้ำใสมาหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 8000 g นาน 10 นาที เก็บน้ำใสที่เป็นส่วนของแอนติบอดีไว้ที่ -80[°]ซ จากนั้นทำการทดสอบและหาค่าไทเทรต (titer) ของแอนติซีรัม โดยวิธี Indirect ELISA เริ่มจากการหยอดแอนติเจน (recombinant protein 10 นาโนกรัม/ไมโครลิตร์) หลุมละ 100 ไมโครลิตร์ บ่มที่ 37[°]ซ นาน 1 ชั่วโมง แล้วล้างด้วย PBS-T buffer (PBS + 0.05% Tween 20) 3 ครั้ง แล้วนำมาเติมด้วย Blocking buffer (1% BSA ใน PBS-T) หลุมละ 100 ไมโครลิตร์ บ่มที่ 37[°]ซ นาน 1

ชั่วโมง แล้วล้างอีก 3 ครั้ง ใส่แอนติบอดีที่ได้จากการเจาะเลือดกระต่าย 6 ครั้ง โดยทำการเจือจางจาก 1: 10 ถึง 1:1,000,000 หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37 °ซ นาน 1 ชั่วโมง ล้างเพลทอีก 3 ครั้งก่อนนำมาหยอดด้วย Goat anti-rabbit IgG ที่ติดฉลากด้วย alkaline phosphatase เจือจาง 1:2000 หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37 °ซ นาน 1 ชั่วโมง ล้างเพลทอีก 3 ครั้งก่อนนำมาซับสเตรท p-nitrophenyl phosphatase หลุมละ 100 ไมโครลิตร อ่านผลด้วยเครื่องอ่าน ELISA ที่ค่าความดูดกลืนแสง 405 นาโนเมตร

5. การทดสอบประสิทธิภาพของแอนติซีรัมที่ผลิตได้

การตรวจสอบโรคเหี่ยวของสับปะรด โดยวิธี Indirect ELISA เริ่มจากนำโคโนไบที่มีสีขาของสับปะรดที่เป็นโรคและใบปกติ มาบดใน coating buffer ในอัตรา 1 กรัม : 5, 10 , 15 มิลลิลิตร หยอดน้ำคั้นพืชลงในหลุมของไมโครเพลท (microplate) 100 ไมโครลิตร/หลุม บ่มที่ 37 °ซ นาน 1-2 ชั่วโมง แล้วนำไมโครเพลทมาล้างด้วย phosphate buffer saline ที่มี tween 20 ผสมอยู่ (PBS-Tween 20) 3 ครั้งๆละ 3 นาที หยอดแอนติซีรัมจากการเลือดครั้งที่ 5 ที่เจือจางใน conjugate buffer 1: 100 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร/หลุม บ่มที่ 37 °ซ นาน 1 ชั่วโมง ล้างไมโครเพลทด้วย PBS-Tween 20 จำนวน 3 ครั้งๆละ 3 นาที แล้วหยอด Goat-Anti Rabbit อัตรา 1: 2,000 ใน conjugate buffer 100 ไมโครลิตร/หลุม บ่มที่ 37 °ซ นาน 1 ชั่วโมง นำเพลทมาล้างอีก 3 ครั้งใน PBS-Tween 20 แล้วหยอด p-nitrophenyl phosphatase substrate (5 มิลลิกรัม/ substrate buffer 10 มิลลิลิตร) หลุมละ 100 ไมโครลิตร และอ่านผลด้วยเครื่องอ่านอีไลซา (ELISA Reader) โดยมีการเปรียบเทียบชนิดของเพลท 2 ชนิด ได้แก่ polysorp microplate ของ Nunc และ ELI/RIA Plate ของ Costar

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) (รูปที่ 1)

การตรวจสอบโคลนต่างๆของพลาสมิด pET 101/D-TOPO[®] (Invitrogen, ขนาด 5753 bp) หลังต่อเชื่อมกับ PCR product (771 คู่เบส) โดยการตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นดีเอ็นเอของเชื้อไวรัส ด้วยเครื่อง Sequencer พบว่าเป็นลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคของไวรัส PMWaV-1 (รูปที่ 2)

2. การวิเคราะห์ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการชักนำการสังเคราะห์ recombinant protein ในเซลล์แบคทีเรีย

หลังจากการเติมสาร IPTG เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดการแสดงออกของยีน จากนั้นทำการเก็บเซลล์ที่ 2 4 6 8 และ 24 ชั่วโมง เมื่อนำมาตรวจหาระยะเวลาที่เริ่มมีการสังเคราะห์โปรตีนตั้งแต่ 4 ชั่วโมง และพบมากที่สุดเมื่อปล่อยให้เกิดการชักนำข้ามคืน โดยใช้เทคนิค SDS-PAGE พบ band ที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 28 กิโลดาลตัน (รูปที่ 3)

3. การแยกโปรตีนของเชื้อให้บริสุทธิ์ด้วย Ni-NTA column

จากการตรวจปริมาณโปรตีนที่หลังการแยกให้บริสุทธิ์ด้วย Ni-NTA column ด้วยเทคนิค SDS-PAGE ปรากฏว่า เริ่มพบ band ขนาด 28 กิโลดาลตัน ตั้งแต่ fraction ที่ 2-13 (F2-F13) แต่มีปริมาณโปรตีนสูงตั้งแต่ F3-F6 และจากการคำนวณหาปริมาณโปรตีนที่สังเคราะห์ได้ พบว่ามีปริมาณ 1.2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งนำไปผสมกับ Freund's adjuvant ครั้งละ 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

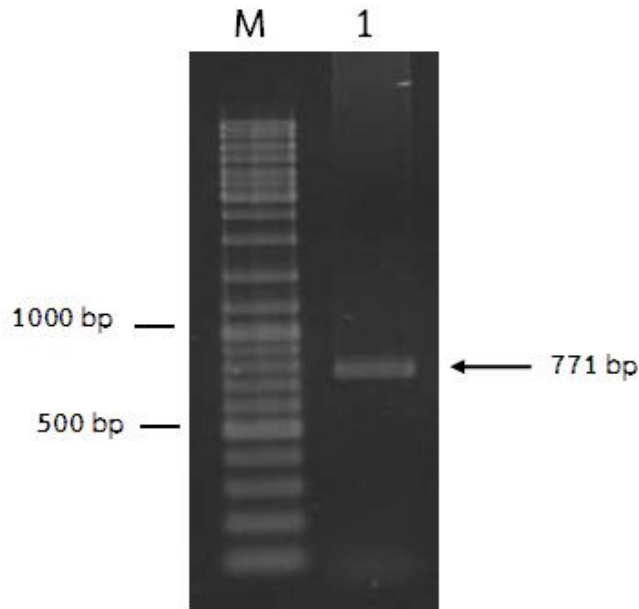
4. การผลิตแอนติซีรัมในสัตว์ทดลอง

ดำเนินการฉีดกระต่าย จำนวน 5-6 ครั้ง และเจาะเลือดครั้งละประมาณ 30-40 มิลลิลิตร เพื่อนำไปปั่น และเก็บน้ำใส ได้แอนติบอดีครั้งละ 10-15 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่ -80 °C ผลการตรวจสอบคุณภาพของแอนติซีรัมที่ได้จากการเจาะเลือด จำนวน 7 ครั้ง โดยวิธี indirect ELISA โดยทำการเจือจางแอนติซีรัมจาก 1:10 ถึง 1:1,000,000 พบว่า แอนติซีรัมจากการเจาะเลือดครั้งที่ 5-7 มีประสิทธิภาพสูงสุด โดยทำปฏิกิริยาได้จนถึง 1:10,000 (ตารางที่ 1) ฉะนั้นเมื่อนำไปใช้ในการตรวจสอบ ต้องทำให้เจือจาง 1: 500 และ 1: 1,000

5. การทดสอบประสิทธิภาพของแอนติซีรัมที่ผลิตได้

จากการทดสอบประสิทธิภาพของแอนติซีรัมกับตัวอย่างสับประรดที่แสดงอาการเหี่ยว โดยเปรียบเทียบชนิดของ plate พบว่า Polysorp ของ Nunc ให้ปฏิกิริยาดีกว่า ELI/RIA Plate ของ Costar ซึ่งให้ปฏิกิริยาเป็นสีเหลืองทุกหลุม ทำให้ไม่สามารถอ่านผลความแตกต่างระหว่างสับประรดเป็นโรคและสับประรดปกติได้ จากการตรวจสอบประสิทธิภาพในการตรวจสอบโรคเหี่ยวของสับประรด

พบว่า เกิดปฏิกิริยาเกิดค่อนข้างต่ำ ทำให้อ่านค่า absorbance ของต้นเป็นโรคได้ต่ำใกล้เคียงกับค่าที่อ่านได้จากต้นปกติ แต่สามารถนำแอนติซีรัมที่ผลิตได้ไปใช้ตรวจหาอนุภาคไวรัส โดยวิธี Immunosorbent electron microscopy (IEM) โดยนำแอนติซีรัมมาทำปฏิกิริยากับน้ำคั้นพืชเป็นโรคบนกริด แล้วนำไปตรวจหาอนุภาคไวรัสด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission electron microscope)



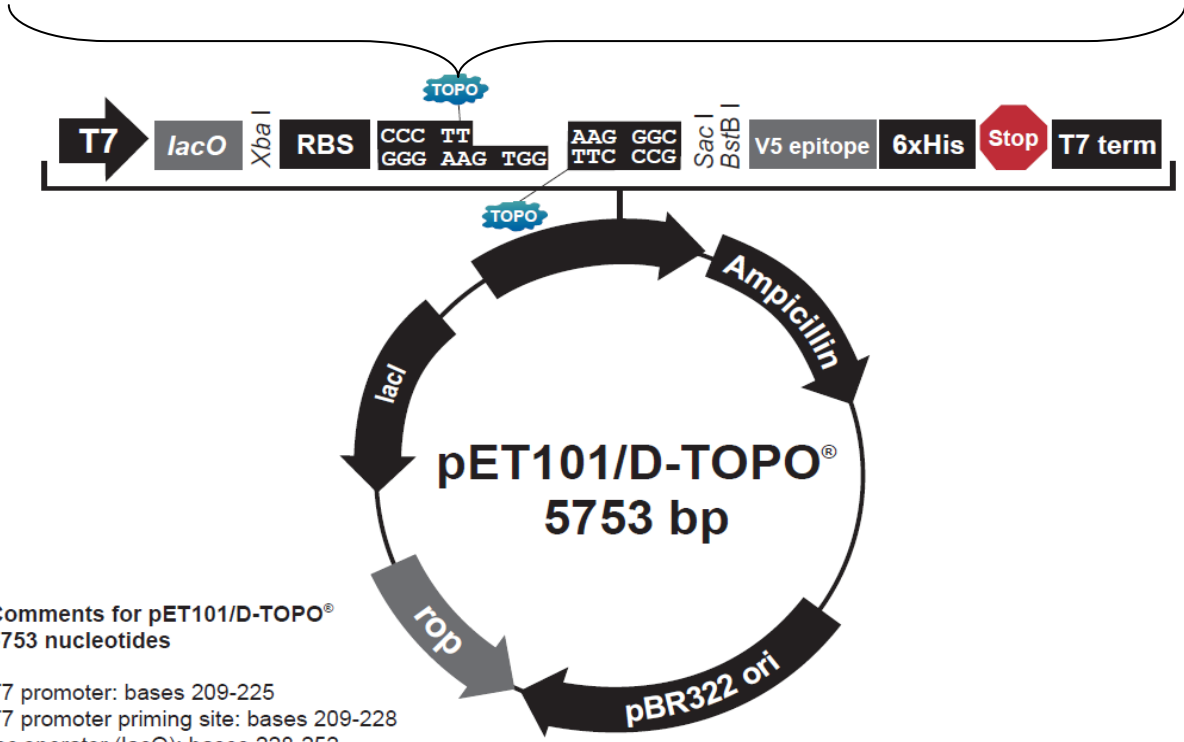
รูปที่ 1. การเพิ่มปริมาณยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคไวรัส โดยใช้ไพรเมอร์ pet101_PMWaV1 และ pet101_PMWaV1R วิเคราะห์ขนาดดีเอ็นเอด้วย agarose gel electrophoresis

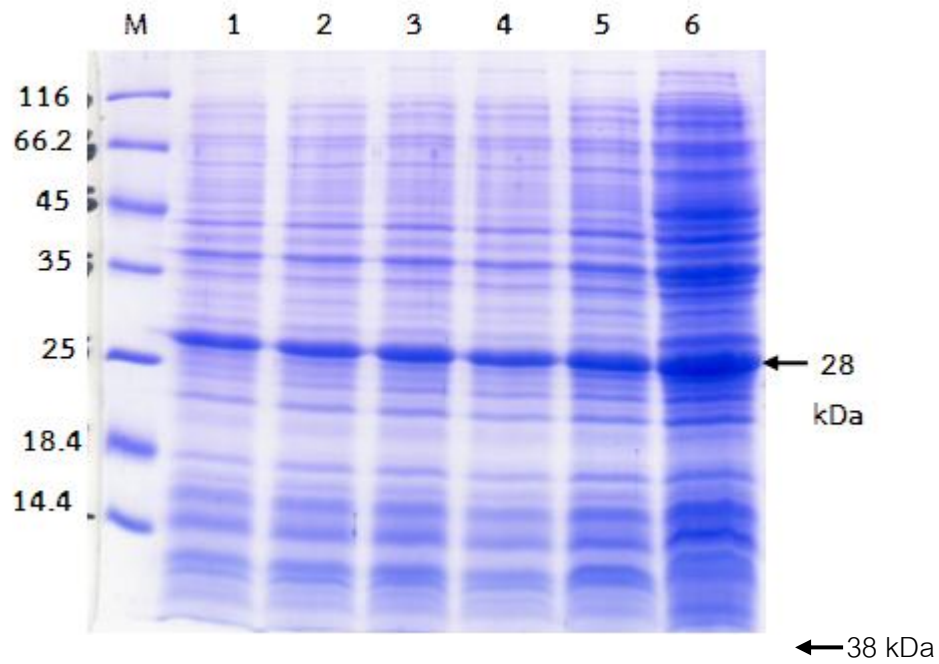
M = ดีเอ็นเอมาตรฐาน (1 kb Ladder, Fermentas)

1 = ดีเอ็นเอของยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคไวรัส จากสับปะรดที่เป็นโรคเหี่ยว

รูปที่ 2. ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคไวรัส (771 bp) ที่เชื่อมต่อเข้าสู่พลาสมิด pET 101/D-TOPO®

ATGGCTGATTGAGCAAACAAAAACAACCTGAACATGCTGACTCTGGGCCTAAGACAG
 TGAAGACCAAGTCAAGGAAATAATGAACCTACCTGTGCCGGGAGGTAGGACTACTG
 TGTCGACGTTTGAAGATTTGATAGCAGCCGAAAATGCTATAATTGATTCACCAAGGTT
 GATGTACCACGCATGATTAACGTTCCGATCCCAGGAATAGTTACTAATGCACACAAGG
 TGATAGGATCCAAAGCTCTGTGGGAGTTGGGTAAATCGAAGGGTATATCAGAATCGGC
 GAAACACATGATCCAATTTTTGATGCAATCTTTCCAAGATATGTGCACCTTTTCTACATC
 ACCGAAAGTTTCGGCGACTCAGAACTACTCCACCACAGCTAAGTATGATGGTAAAGAT
 GTTAACGTCACGCACGAGGAGATCAGAATTGCTTTGAGCAACTCACTATCCAATTTGG
 GATACGATAATCCTATGAGACAGTTTGGGAGAGGTTTACTTCCACAATTGTTCAAGGA
 CTGAGTTCTGGGAAGTTGGTGGTTAACACTAGGATATGTACTAAGAACGGAGTACCGA
 GGAATTACTCGTTCTATCCAGATTGCTTACACGTAGAAGCCAGAGTACACGGTGAT
 GATGCAGCGTTGGTAAGTGAGTTAGCCAGAATGGTAGCCATAAACAGAGCAAACCTCG
 AGTGGTTCTGGCGAACACAACGCTTTGAGAAGACGGCTGTGTCCCCCGCACATCTTTA
 TGGGTGGACGCAAA



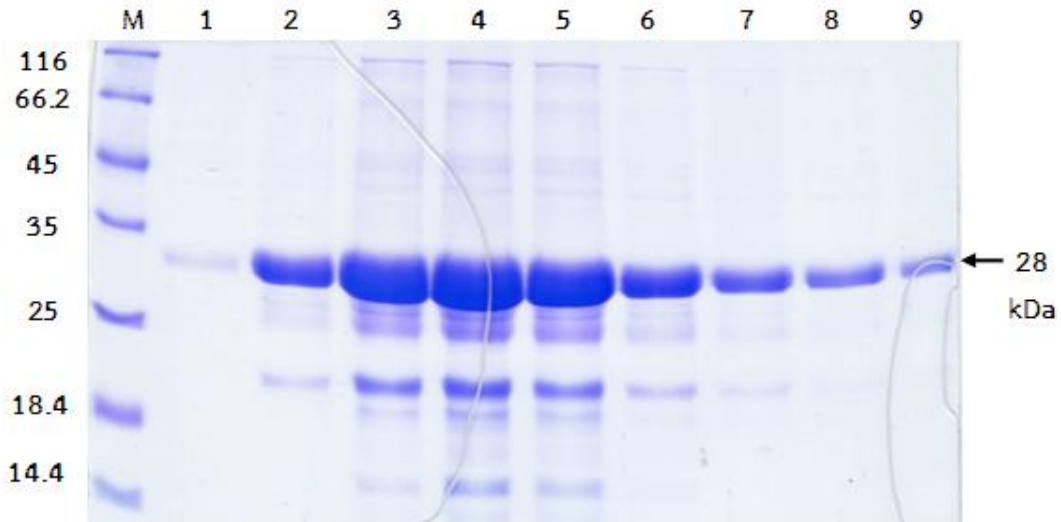


รูปที่ 3. ผลการชักนำให้สร้างโปรตีนในพลาสมิดสายผสม pET160/GW/D-TOPO[®]-cp ด้วยสาร IPTG ที่ระยะเวลาต่างๆกัน ด้วยเทคนิค SDS-PAGE

M : โปรตีนมาตรฐาน (Fermentas)

1 : โปรตีนที่แยกได้ก่อนการชักนำด้วย IPTG

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



รูปที่ 4. ปริมาณโปรตีนที่สังเคราะห์ได้หลังจากผ่าน Ni-NTA column ด้วยเทคนิค SDS-PAGE

M : โปรตีนมาตรฐาน (Fermentas)

1-9 : โปรตีนที่แยกได้ในแต่ละ fraction ตั้งแต่ 1-9 หลังการใช้ eluting buffer

ตารางที่ 1. เปรียบเทียบประสิทธิภาพของแอนติบอดีที่ผลิตได้ จากการเจาะเลือด 7 ครั้ง

ความเข้มข้น จำนวนครั้ง การเจาะเลือด	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}
NS	0.315	0.149	0.094	0.091	0.087	0.088
AS1	1.131	0.682	0.317	0.159	0.117	0.090
AS2	1.225	1.053	0.525	0.264	0.147	0.104
AS3	1.194	0.932	0.471	0.198	0.115	0.103
AS4	1.368	1.167	0.741	0.352	0.148	0.109
AS5	1.443	1.286	1.013	0.461	0.199	0.116
AS6	1.309	1.243	0.863	0.408	0.171	0.113
AS7	1.411	1.062	0.987	0.569	0.250	0.136

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

นำใบสับปะรดที่เป็นโรคเหี่ยวมาแยกสกัดอาร์เอ็นเอโดยใช้ชุดสกัดอาร์เอ็นเอสำเร็จรูป (MasterPure™ RNA Purification Kit) แล้วนำไปเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค RT-PCR โดยใช้ไพรเมอร์จากส่วนของยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคของเชื้อไวรัส PMWaV-1 ได้แก่ pet101_PMWaV1F (5' CACC ATGGCTGATTCGAGCAAACAAAAACAAC 3') และ pet101_PMWaV1R (5' TTTGCGTCCACCC ATAAAGATGTGCG3') สังเคราะห์ ได้ชิ้นของดีเอ็นเอ ขนาด 771 คู่เบส จากนั้นนำไปโคลนเข้าสู่เวกเตอร์ pET 101/D-TOPO® (Invitrogen) และคัดเลือกเฉพาะโคลนที่มีชิ้นดีเอ็นเอที่ใส่เข้าไปใน vector นำมาทำให้บริสุทธิ์โดยวิธี Miniprep แล้วส่งไปตรวจสอบลำดับเบส พบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์ 771 คู่เบส จากนั้นดำเนินการคัดเลือกโคลนที่สามารถสังเคราะห์โปรตีนได้ในเซลล์ของ *E. coli* BL 21 (DE3) ในอาหาร 2XYT ที่เติมสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร และใช้สาร Isopropyl-β-D thiogalactopyranoside (IPTG) ในการชักนำให้เกิดการสังเคราะห์โปรตีน พบว่าระยะเวลาที่สามารถสังเคราะห์โปรตีนได้สูงสุด คือ 24 ชั่วโมง โดยให้โปรตีนที่มีขนาดประมาณ 28 กิโลดาลตัน จากการตรวจปริมาณโปรตีนที่หลังการแยกให้บริสุทธิ์ด้วย Ni-NTA column ด้วยเทคนิค SDS-PAGE ปรากฏว่า เริ่มพบ band ขนาด 28 กิโลดาลตันทุก fraction (fraction 2-9) แล้วนำโปรตีน 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ไปฉีดเข้าใต้ผิวหนัง บริเวณคอของกระต่าย โดยผสมกับ Freund's adjuvant ทุก 2 สัปดาห์ รวม 5-6 ครั้ง และเจาะเลือดเพื่อแยกแอนติบอดีออกมาจากเม็ดเลือดแดง ทดสอบไตเตอร์ของแอนติบอดีจากการเจาะเลือดแต่ละครั้ง พบว่า แอนติซีรัมที่เจาะครั้งที่ 5-7 มีไตเตอร์สูงสุด สามารถทำปฏิกิริยากับ recombinant protein (10 นาโนกรัม/ไมโครลิตร) ที่ใช้ฉีดสัตว์ทดลองได้จนถึง 1:10,000 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของแอนติซีรัมกับตัวอย่างใบสับปะรดโรคเหี่ยว พบว่า เกิดปฏิกิริยาเกิดค่อนข้างต่ำ ทำให้อ่านค่า absorbance ของต้นเป็นโรคได้ต่ำใกล้เคียงกับค่าที่อ่านได้จากต้นปกติ แต่สามารถนำแอนติซีรัมที่ผลิตได้ไปใช้ตรวจหาอนุภาคไวรัส โดยวิธี Immunosorbent electron microscopy (IEM) โดยนำแอนติซีรัมมาทำปฏิกิริยากับน้ำคั้นพืชเป็นโรคบนกริด แล้วนำไปตรวจหาอนุภาคไวรัสด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission electron microscope)

เอกสารอ้างอิง

- กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2547. ยุทธศาสตร์สับปะรด Pineapple National Strategy 2547-2551. 51 หน้า.
- ลำพิ่ง เรียงวงษ์ สุภาภรณ์ เอี่ยมแข่ง และ อรรวรรณ ชัชวาลการพาณิชย์. 2547. การสังเคราะห์โปรตีนห่อหุ้มอนุภาคเชื้อไวรัสเส้นใบเหลืองกระเจียวเขียวในระบบเซลล์แบคทีเรีย. รายงานการ

- ประชุมทางวิชาการ 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 Research* 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^{1/} วันเพ็ญ ศรีทองชัย^{2/}

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
ผู้เชี่ยวชาญ สำนักวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพ

บทคัดย่อ

Bean yellow mosaic virus พบอาการปรากฏชัดบนใบและดอก เป็นรอยต่างเป็นทางขีดสีเขียว ทำให้ดอกกลดดิโอลัสต่างโดยมีเพลี้ยอ่อน (*Myzus persicae*) เป็นแมลงพาหะทำให้เกิดการระบาดได้มากและรวดเร็วในแปลงเมื่อศึกษาบนพืชทดสอบ *chenopodium* โดยทำการปลูกเชื้อ (inoculation) ลงบนใบต้น *chenopodium* ด้วย sap inoculation พบแสดงอาการ chlorotic local lesions ใบเป็นจุดสีเหลืองถึงน้ำตาลและใบมีรูปร่างผิดปกติ และเมื่อตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบอนุภาคไวรัส BYMV เป็นท่อนยาวคด การผลิตแอนติซีรัมของเชื้อไวรัส BYMV หลังแยกเชื้อไวรัสบริสุทธิ์ และนำไปฉีดกระต่ายทำการเจาะเลือดครั้งที่ 4-5 มีประสิทธิภาพสูงสุดสามารถทำปฏิกิริยาได้จนถึง 1:100,000 การสกัด gamma-globulin (IgG) และปรับความเข้มข้นของ IgG วัดความเข้มข้นของโปรตีน ด้วยเครื่อง spectrophotometer ได้ค่าความเข้มข้น IgG ของ BYMV เท่ากับ 9.6 และเมื่อนำไปตรวจหาเชื้อ ให้ปฏิกิริยาเป็นบวก IgG ของ BYMV มีสีแดงเข้ม ไม่เกิดปฏิกิริยาข้ามกับพืชปกติ ดังนั้นจึงสามารถที่นำ IgG ของ BYMV นี้ไปใช้ในการตรวจหาเชื้อ *Bean yellow mosaic virus* (BYMV) ในกลดดิโอลัสได้

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-03-01-02-54

คำนำ

แกลดีโอลัสมีมากกว่า 150 ชนิด มีทั้งกลิ่นหอมและไม่กลิ่น ปัจจุบันมีพันธุ์ที่ปลูกเป็นการค้าเกือบ 3,000 พันธุ์ สำหรับพันธุ์ที่ปลูกในประเทศไทยไม่แน่นอน เพราะได้มีการสั่งพันธุ์ แกลดีโอลัสใหม่ๆ เข้ามาปลูกอยู่เสมอ เพราะต้องการให้ตรงกับความต้องการของผู้ใช้ และคุณภาพ ของพันธุ์ที่ได้จากการเก็บหัวพันธุ์มาปลูกจะลดลง (<http://www.talaadthai.com/web/resource/>) แกลดีโอลัสจัดเป็นไม้ดอกเมืองหนาว ที่มีการผลิตเป็นการค้ามานาน ตลาดยังไม่กว้างขวาง ราคาของดอกแกลดีโอลัสจะแตกต่างกันไปตามคุณภาพ ซึ่งเป็นไปตามขนาดความยาวของก้านดอกเป็นสำคัญ ราคาเฉลี่ยจะอยู่ระหว่าง 1-8 บาท ต่อช่อดอก ปัจจุบันแกลดีโอลัสหรือช่อนกลิ่นฝรั่ง เป็นไม้ตัดดอกที่ได้รับความนิยมสูงมีสีสันสะดุดตา เช่น สีขาว เหลือง ชมพู แดง ม่วง ส้ม มีช่อดอกยาว เหมาะสำหรับปลูกเพื่อตัดดอกเป็นการค้า เพราะสามารถตัดช่อดอกได้ตั้งแต่ดอกยังไม่บาน และปัจจุบันนี้พื้นที่การปลูกแกลดีโอลัสส่วนใหญ่จะเป็นบริเวณจังหวัดทางภาคเหนือ เช่น เชียงใหม่ เชียงราย และในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น อ.ปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา และในพื้นที่บริเวณเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ ส่วนใหญ่แกลดีโอลัสที่ปลูกจะส่งมาขายยังตลาด ในกรุงเทพมหานคร และส่งไปขายยังตลาดต่างประเทศอื่น เช่น ซาอุดีอาระเบีย แคนาดา ซึ่งประสบปัญหาเกี่ยวกับดอกไม่สม่ำเสมอ ค่าขนส่งสูง ปลายช่อดอกโค้งงอ รวมทั้งปัญหาของโรคและแมลงที่ทำให้คุณภาพดกลดลง (คู่มือการผลิตไม้ดอกแกลดีโอลัส กรมส่งเสริมการเกษตร : <http://www.eto.ku.ac.th/neweto/e-book/>) โดยเฉพาะโรคใบด่างดอกต่างที่เกิดจากเชื้อไวรัส *Bean yellow mosaic virus* (BYMV) ซึ่งเชื้อสามารถติดมากับหัวพันธุ์ที่นำเข้ามา รวมทั้งมีเพลี้ยอ่อนและเพลี้ยไฟเป็นแมลงพาหะ ทำให้เกิดการระบาดได้มากและรวดเร็ว ส่งผลโดยตรงต่อคุณภาพของดอกแกลดีโอลัส โดยจะมีอาการปรากฏชัดบนใบและดอก โดยจะเห็นรอยต่าง เป็นทางทำให้ดอกไม่สมบูรณ์

ซึ่ง Salim Khan *et al.* (2003) ได้พัฒนาวิธีจำแนกไวรัสที่รวดเร็ว ในห้องทดลองกับมันฝรั่ง 6 พันธุ์คือ Cardinal, Diamant, Dhera, Multa, Cilena and Sieglinde โดยการปลูกเชื้อไวรัส PVA, PVY, PVV, PVM, PVS, PVX และ PLRV บนต้นมันฝรั่ง แล้วจำแนกด้วยวิธี DAS-ELISA เปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ปลูกเชื้อ กิตติศักดิ์และคณะ (2532) ได้ศึกษาเปรียบเทียบวิธีการตรวจสอบเชื้อ PVX, PVY ด้วยวิธี EM, IEM และ ELISA พบว่าวิธี ELISA เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการตรวจสอบ รวดเร็วและแม่นยำ ดีกว่าอีก 2 วิธี Hochleitner and Kraus (2002) ได้พัฒนาวิธี Lateral flow test ใช้ Colloidal Gold เป็นวัสดุแสดงปฏิกิริยาในการทำ dipstick ตรวจสอบไวรัสโดยใช้หลักการทางเซรุ่มวิทยา สุรภีและคณะ(2533) ใช้วิธีและขั้นตอนการศึกษาจำแนกชนิดของเชื้อไวรัสของกล้วยไม้และทำการแยกให้ได้ไวรัสที่บริสุทธิ์ นำไปผลิตแอนติซีรัมที่มีคุณภาพที่ดีแล้วทดลองนำวิธีการตรวจสอบแบบ NCM ELISA มาปรับใช้ในการตรวจสอบเชื้อไวรัสที่รวดเร็ว

การตรวจเชื้อไวรัสจัดว่ามีความจำเป็นเพื่อป้องกันการระบาด และเพื่อสนับสนุนการตรวจวินิจฉัยโรค การจำแนกเชื้อสาเหตุอาจใช้วิธีการทางสรีรวิทยา สัตววิทยา ซึ่งต้องใช้เวลาในการตรวจสอบ เพราะฉะนั้นวิธีการทางเซรุ่มวิทยาจึงเป็นวิธีที่รวดเร็วและมีประสิทธิภาพ ดังนั้นการผลิต

แอนติซีรัม จึงเป็นประโยชน์อย่างยิ่งเพราะมีความจำเพาะเจาะจงสูงกับเชื้อสาเหตุ เพื่อนำไปใช้ในการตรวจสอบเชื้อสาเหตุได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวดเร็ว ถูกต้องและแม่นยำ เพื่อให้ได้ต้นพันธุ์หรือหัวพันธุ์ที่มีคุณภาพและปลอดโรค และเพื่อเป็นการพัฒนาคุณภาพการผลิตในประเทศไทยให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น ดังนั้นการศึกษาและพัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อไวรัส *Bean yellow mosaic virus* (BYMV) จึงมีความจำเป็นและมีความสำคัญต่อการตรวจสอบและคัดเลือกหัวพันธุ์ที่ปลอดโรค

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- เครื่อง centrifuge
- เครื่อง Spectrophotometer
- กล้อง electron microscopy
- ตู้แช่แข็ง -20 และ -80 °C
- สารเคมีและวัสดุที่ใช้ในการตรวจสอบด้วยวิธี ELISA
เช่น Goat Anti-Rabbit+Phosphatase, non-fat milk, FR-TR salt และ Nitrocellulose membrane เป็นต้น

วิธีการ

1. การสำรวจและเก็บตัวอย่างแกลติโอลัสจากแปลงปลูกของเกษตรกร

ทำการออกสำรวจและเก็บตัวอย่างแกลติโอลัสในพื้นที่ปลูก เพื่อเก็บตัวอย่างแกลติโอลัสที่มีอาการคล้ายโรคใบด่างดอกด่างที่เกิดจากเชื้อไวรัส *Bean yellow mosaic virus* (BYMV) ในพื้นที่จังหวัดเชียงราย เพื่อนำมาปลูกทดลองเพิ่มปริมาณเชื้อใน chenopodium และศึกษาลักษณะอาการ

2. การแยกเชื้อไวรัสบริสุทธิ์

ทำการเตรียมและแยกเชื้อไวรัส สำหรับใช้ผลิตแอนติซีรัมพร้อมทั้งเตรียมพีซออคัยของเชื้อไวรัส BYMV ไว้สำหรับปลูกเชื้อโดยบดตัวอย่างใบ chenopodium ที่เป็นโรคจำนวน 100 gm ใน lander กับ 200 ml ของ 0.5 M sodium citrate pH 6.5 ที่มี 5 mM EDTA และ 0.5 thioglycollic acid บดในสภาพเย็น กรองกากพืชทิ้งไปด้วยฉากกรอง นำน้ำคั้นผสมกับ 25% chloroform ให้เข้ากัน ตกตะกอนเอาเศษพืชออกไปด้วยการหมุนเหวี่ยงที่ 3,000 g นาน 10 นาที นำน้ำใสส่วนบนมาเติม polyethyleneglycol (mol.wt. 6,000) จำนวน 10% ของของเหลวโดยกวนให้เข้ากันที่ 4°C นาน 1 ชั่วโมงแล้วนำไปหมุนเหวี่ยงตกตะกอนด้วยความเร็ว 5,000 g นาน 30 นาที ละลายตะกอนด้วย 50 ml ของ 5 mM sodium borate buffer ที่มี 0.5 mM EDTA pH 8.0 แล้วเติม Triton X-100 ลงไป

2% ของของเหลวทวนให้เข้ากันนาน 30 นาที หมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 5,000 g นาน 15 นาที นำสารละลายข้างบนมาหมุนเหวี่ยง ที่ความเร็วสูง เพื่อตกตะกอนไวรัสลงมาที่ความเร็ว 37,000 g นาน 1½ ชั่วโมง ละลายตะกอนด้วย 2 ml ของ 5 mM sodium borate buffer มี 0.5 mM EDTA pH 8.0 นำมาผ่านวิธีการ sucrose density gradient ที่มีน้ำตาลที่ 10-40% แล้วหมุนเหวี่ยงที่ 24,000 g นาน 1½ ชั่วโมง ดึงแถบสีขาวของไวรัสออกจากชั้นของน้ำตาลแล้วเจือจางด้วย 5 mM sodium borate buffer มี 0.5 mM EDTA pH 8.0 นำมาตกตะกอนไวรัสด้วยการหมุนเหวี่ยงที่ 37,000 g นาน 2 ชั่วโมง ละลายตะกอนของไวรัส นำไปตรวจสอบขนาดอนุภาคของเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

3. การฉีดกระต่ายและเจาะเลือดเก็บแอนติซีรัม

ทำการละลายเชื้อ BYMV ผสมกับ Freund's incomplete adjuvant 1 ml ให้เข้ากันดี แล้วจึงฉีดเข้ากล้ามเนื้อสะโพกของกระต่ายเพศเมีย สีขาว ตาแดง พันธุ์ New Zealand White อายุ 3-4 เดือน สลับกันสัปดาห์ละข้าง 3 สัปดาห์หลังจากฉีดครั้งสุดท้ายแล้ว 20 วัน เจาะเลือดติดต่อกันสัปดาห์ละครั้ง 6 ครั้ง วางเลือดที่เจาะมาได้ในตู้เย็นให้เม็ดเลือดแดงเกาะตัวกันเป็นก้อน จึงแยกเม็ดเลือดแดงออกทิ้งไป แล้วเก็บแอนติซีรัม แบ่งใส่หลอดขนาด 1.5 ml เก็บแอนติซีรัมไว้ที่ -40°C

4. การเตรียมแอนติซีรัมและการสกัด IgG ของเชื้อไวรัส *Bean yellow mosaic virus* (BYMV) ในเกลติโอล์ส

นำแอนติซีรัม BYMV ที่เจาะครั้งที่ 2, 5 และ 7 มาสกัด IgG อย่างละ 1 ml แยกกันผสมกับน้ำกลั่น 9 ml แล้วผสมกับ ammonium sulfate ที่อิ่มตัว 10 ml แล้วผสมให้เข้ากันดี นำไปตกตะกอนด้วยการหมุนเหวี่ยงที่ 8,000 g นาน 15 นาที ที่อุณหภูมิ 25°C ละลายตะกอนด้วย 4 ml ของ ½ เท่า PBS แล้วใส่ถุง dialysis tubing เพื่อ dialyse ใน PBS 1 ลิตร นาน 3 ชั่วโมง 2 ครั้งวัดความเข้มข้นของ IgG ด้วย spectrophotometer แล้วปรับให้ IgG มีความเข้มข้นที่ $\text{OD}_{280} = 1.4$ เพื่อให้มีความเข้มข้นของโปรตีน = 1 mg/ml

5. การทดสอบประสิทธิภาพ IgG ของ CMV ในการตรวจเชื้อไวรัสใบต่างแดงด้วยเทคนิค

Nitrocellulose membrane-Enzyme-linked immuno sorbent assay (NCM-ELISA)

นำตัวอย่างใบพืชที่ต้องการตรวจสอบใส่ในถุงพลาสติก เติม Extraction buffer (0.02 M Tris, 0.2 M NaN_3 , 0.2% Na_2SO_3 , pH 7.5) ในอัตราส่วน (ใบพืช : บัพเฟอร์ = 1:5) แล้วบดตัวอย่างให้ละเอียด ทำการวางรูปแบบของแผ่น Nitrocellulose membrane (NCM) ขนาด $0.45 \mu\text{m}$ ชนิด High bone N^+ ด้วยการตีเป็นช่องตารางสี่เหลี่ยม (ขนาด 1X1 ตารางเซนติเมตร) ทำเครื่องหมายที่ตารางของตัวแผ่น NCM หัวท้ายเพื่อเรียงลำดับตัวอย่างจาก 1 ถึงตัวอย่างสุดท้าย นำแผ่น NCM พร้อมกับวางกระดาษกรองเบอร์ 1 ที่ตัดให้มีขนาดพอดีกับแผ่น NCM แช่ใน TBS (0.02M Tris, 0.5 M

NaCl, pH 7.5) ประมาณ 5 นาที หลังจากนั้นคืบแผ่นกระดาษกรองเบอร์ 1 ขึ้นมาพร้อมกับแผ่น NCM ที่แช่ไว้ด้วยกัน วางลงบนแผ่นกระดาษกรองแผ่นใหม่ที่แห้งและมีขนาดใหญ่กว่า โดยใช้ pasteur pipette ที่สะอาดรีดแผ่น NCM ให้แนบติดกับกระดาษกรอง ทำการหยดตัวอย่างน้ำคั้นพืช 1 หยด หรือประมาณ 20-25 ไมโครลิตร ลงในช่องตารางบนแผ่น NCM ตามรูปแบบที่วางไว้ เมื่อหยดตัวอย่างเสร็จแล้วคืบแผ่น 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 CMV ที่ละลายอยู่ใน blocking buffer ใหม่ ในอัตรา 1:500 แช่แผ่น NCM นั้นเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง หรือ ประมาณ 27-30°C แล้วจึงล้างแผ่น NCM ด้วย TBS-Tween 3 ครั้ง ๆ ละ 3 นาที เทส่วนผสม Goat anti-rabbit conjugated Alkaline phosphatase (SIGMA A7778) ที่เจือจางเป็น 1:3000 ในสารละลาย blocking buffer จำนวน 10 มิลลิลิตร บ่มปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้อง 1 ชั่วโมง ล้างออกด้วย TBS-Tween 3 ครั้ง ๆ ละ 3 นาที แล้วเทส่วนผสม substrate (ละลาย 0.25% AS-MX จำนวน 1 มิลลิลิตร ใน 5 มิลลิลิตร ของ 0.2 M Tris HCl, pH 8.2 และละลายสาร Fast red TR-salt (FR-TR) ใน 6 มิลลิลิตร ของ 0.2 M Tris HCl, pH 8.2 เทส่วนผสมทั้ง 2 รวมกัน แล้วเทลงในกล่องแช่แผ่น NCM เขย่าเบาๆ) รอแสดงผลของปฏิกิริยา ประมาณ 5-30 นาที เมื่อเกิดปฏิกิริยาเห็นสีชมพูชัดเจนแล้วเท substrate ออก แล้วเทน้ำกลั่นลงแทน เพื่อเป็นการล้างและหยุดปฏิกิริยา

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มเดือนตุลาคม 2553 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2555

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กทม.

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสำรวจและเก็บตัวอย่างแกลดีโอลัสจากแปลงปลูกของเกษตรกร

ได้ทำการเก็บตัวอย่างใบและต้นแกลดีโอลัส ในพื้นที่จังหวัดเชียงราย พบอาการปรากฏชัดบนใบและดอก โดยจะเห็นรอยต่างเป็นทางขีดๆ สีขาว และส่งผลทำให้ดอกแกลดีโอลัสต่างเป็นขีดๆ และพบเพลี้ยอ่อน (*Myzus persicae*) ซึ่งเป็นแมลงพาหะ ทำให้เกิดการระบาดได้มากและรวดเร็วในแปลง จึงได้เก็บรวบรวมตัวอย่างใบเพื่อนำมาตรวจสอบและนำต้นที่เป็นโรคมานำปลูกเพื่อทำการทดลองต่อไป โดยนำใบที่แสดงอาการของโรคมานำทำการปลูกเชื้อ (inoculation) ลงบนใบต้น chenopodium ด้วย sap inoculation ทำให้ใบที่ปลูกเชื้อแสดงอาการ chlorotic local lesions ใบเป็นจุดสีเหลืองถึงน้ำตาลและใบมีรูปร่างผิดปกติ

2. การแยกเชื้อไวรัสบริสุทธิ์

จากการตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบอนุภาคไวรัส BYMV เป็นท่อนยาวคดแต่มีจำนวนน้อยไม่เพียงพอที่จะใช้ในการผลิตแอนติซีรัมจึงทำการการแยกเชื้ออีกครั้งโดยเพิ่มใบ *chenopodium* เป็น 300 กรัม และตัดขั้นตอนการผสม TritonX 100 2% ออกไป ทำให้มีอนุภาคแต่จะมีสิ่งสกปรกติดปะปนมากกว่าวิธีการแรก จึงนำไปกวนด้วย chloroform เพื่อตกตะกอนสิ่งสกปรกออกไป จึงได้ไวรัสที่บริสุทธิ์และปริมาณมากพอฉีดกระต่ายต่อไป

3. การผลิตแอนติซีรัมด้วยการฉีดกระต่าย

ดำเนินการฉีดกระต่าย จำนวน 5-6 ครั้ง และเจาะเลือดครั้งละประมาณ 30-40 มิลลิลิตร เพื่อนำไปปั่นและเก็บน้ำใส ได้แอนติบอดีครั้งละ 10-15 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่ -80°C ผลการตรวจสอบคุณภาพของแอนติซีรัมที่ได้จากการเจาะเลือด จำนวน 6 ครั้ง โดยวิธี indirect ELISA โดยทำการเจือจางแอนติซีรัมจาก 1:100 ถึง 1:1,000,000 พบว่าแอนติซีรัมจากการเจาะเลือดครั้งที่ 4-5 มีประสิทธิภาพสูงสุด สามารถทำปฏิกิริยาได้จนถึง 1:100,000

4. การเตรียมแอนติซีรัมและการสกัด IgG ของเชื้อไวรัส *Bean yellow mosaic virus* (BYMV) ใน

แกลดีโอลัส

การสกัด gamma-globulin (IgG) และปรับความเข้มข้นของ IgG IgG ที่สกัดออกมาเมื่อวัดความเข้มข้นของโปรตีน ด้วยเครื่อง spectrophotometer ได้ค่าความเข้มข้น IgG ของ BYMV เท่ากับ 9.6 ปรับให้ IgG มีความเข้มข้นที่ OD^{260} เท่ากับ 1.4 เพื่อให้ IgG ที่ได้นี้มีปริมาณโปรตีนเป็น 1 mg/ml

5. การทดสอบประสิทธิภาพ IgG ของ CMV ในการตรวจเชื้อไวรัสใบต่างแดงด้วยเทคนิค

Nitrocellulose membrane-Enzyme-linked immuno sorbent assay (NCM-ELISA)

จากการทดสอบประสิทธิภาพของแอนติซีรัมกับตัวอย่างแกลดีโอลัสที่แสดงอาการ โดยเปรียบเทียบกับพืชปกติด้วยวิธี NCM-ELISA พบว่าให้ปฏิกิริยาเป็นบวก IgG ของ BYMV มีสีแดงเข้มและไม่เกิดปฏิกิริยาข้ามกับพืชปกติ ดังนั้นสามารถที่จะนำ IgG ของ BYMV นี้ไปใช้ในการตรวจหาเชื้อ *Bean yellow mosaic virus* (BYMV) ในแกลดีโอลัสได้

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การผลิตแอนติซีรัมเพื่อใช้ในการตรวจสอบเชื้อไวรัส *Bean yellow mosaic virus* (BYMV) พบว่าการเจาะเลือดครั้งที่ 4-5 มีประสิทธิภาพสูงสุดสามารถทำปฏิกิริยาได้จนถึง 1:100,000 การสกัดสกัด gamma-globulin (IgG) และปรับความเข้มข้นของ IgG IgG ที่สกัดออกมาเมื่อวัดความเข้มข้นของโปรตีน ด้วยเครื่อง spectrophotometer ได้ค่าความเข้มข้น IgG ของ CMV เท่ากับ 9.6 และเมื่อ

นำไปตรวจหาเชื้อ BYMV ให้ปฏิกิริยาเป็นบวก IgG ของ BYMV มีสีแดงเข้ม ไม่เกิดปฏิกิริยาข้ามกับพืชปกติ ดังนั้นจึงสามารถที่นำ IgG ของ BYMV นี้ไปใช้ในการตรวจหาเชื้อ *Bean yellow mosaic virus* (BYMV) ในแกลติโอลัสได้ซึ่งต้นแกลติโอลัสที่เป็นโรคจะพบอาการปรากฏชัดบนใบและดอกเห็นรอยต่างเป็นทางขีดสีขาวทำให้ดอกแกลติโอลัสต่างโดยมีเพลี้ยอ่อน (*Myzus persicae*) เป็นแมลงพาหะทำให้เกิดการระบาดได้มากและรวดเร็วในแปลง เมื่อศึกษาบนพืชทดสอบ *chenopodium* โดยทำการปลูกเชื้อ (inoculation) ลงบนใบต้น *chenopodium* ด้วย sap inoculation ทำให้ใบที่ปลูกเชื้อแสดงอาการ chlorotic local lesions ใบเป็นจุดสีเหลืองถึงน้ำตาลและใบมีรูปร่างผิดปกติ และเมื่อตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบอนุภาคไวรัส BYMV เป็นท่อนยาวคดซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Arneodo *et al.* (2005) ได้รายงานถึงการตรวจสอบในชั้นต้นของเชื้อไวรัส *Bean yellow mosaic virus* (BYMV) ในแกลติโอลัสโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน วิธีซีรัมและ RT-PCR ในการตรวจสอบจากใบของแกลติโอลัส จำนวน 25 ตัวอย่าง พบว่า BYMV มีอนุภาคเป็น flexuous ยาวประมาณ 750 นาโนเมตร กว้าง 12-15 นาโนเมตร และยังพบ BYMV ใน *faba bean* (*Vicia faba* L.), *Pae* (*Pisum sativum* L.) และ *Bean* (*Phaseolus vulgaris* L.) เป็นพืชอาศัยด้วย Meenu *et al.* (2002) ได้ศึกษา *Bean yellow mosaic virus* (BYMV) ในแกลติโอลัส 32 พันธุ์ โดยใช้เทคนิค ELISA, Immunoelectron microscopy และ RT-PCR โดยใช้ Primer ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อ BYMV จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการกระจายของเชื้อ BYMV ในต้นแกลติโอลัสจะมีการกระจายในพันธุ์ที่มีลำต้นสูงและมีใบยาว Stein *et al.* (1994) ได้รายงานว่าเชื้อ *Bean yellow mosaic virus* (BYMV) ไม่สามารถตรวจในหัว พันธุ์ได้ ทั้งวิธี ELISA และ RNA hybridization แต่จะตรวจสอบได้ในน้ำคั้นพืชจากส่วนของหัวพันธุ์ที่ตัดหรือเกิดบาดแผลมาแล้ว 2-5 อาทิตย์ เนื่องจากเชื้อไวรัส BYMV ในหัวพันธุ์ของแกลติโอลัสนั้น จะมีปริมาณความเข้มข้นของเชื้อที่ต่ำ

ดังนั้นการผลิตแอนติบอดีนี้จึงสามารถนำมาใช้ในการตรวจสอบเชื้อไวรัส *Bean yellow mosaic virus* (BYMV) เพื่อการแยกเชื้อไวรัส ให้มีความเฉพาะเจาะจง และใช้ในการตรวจสอบด้วยวิธีการทางเซรัมวิทยาและด้านอื่นต่อไปได้

เอกสารอ้างอิง

- กิตติศักดิ์ กิริติยะอังกูร สุรณี กิริติยะอังกูร และ นวลจันทร์ ดีมา. 2532. การเปรียบเทียบวิธีการตรวจสอบเชื้อ PVX, PVY ด้วยวิธี EM, IEM และ ELISA. รายงานผลงานวิจัยประจำปี. 2532. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 103-109.
- คู่มือการผลิตไม้ดอกแกลติโอลัส กรมส่งเสริมการเกษตร : <http://www.eto.ku.ac.th/neweto/e-book/>
- สุรณี กิริติยะอังกูร กิตติศักดิ์ กิริติยะอังกูร นวลจันทร์ ดีมา. 2533. การผลิตแอนติซีรัมและการตรวจสอบโรค *Cymbidium mosaic virus* ของหวายลูกผสมและสาวน้อยเต็นระบำ.

รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2532. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 115-122.

Arneodo, J.D.; S. de Breuil, S.L. Lenardon, V.C. Conci and L.R. Conci. 2005. Detection
Of Bean yellow mosaic virus and Cucumber mosaic virus infecting gladiolus in
Argentina. AGRISCIENTIA, VOL. XXII (2): 87-89.

Hochleitner, K. and Kraus, H. (2002) Introductory Workshop on Rapid Diagnostic Tests.
BGM Company. Bangkok Thailand . 180 pp.

Meenu Katoch, Raja Ram, A. A. Zaidi and I. D. Garg, 2002. Status of bean yellow
mosaic virus on Gladiolus.

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.

Stein A., A. Rosner and J. Hammond. 1994. Detection of *Bean yellow mosaic virus* in
Gladioli Corms.

<http://www.talaadthai.com/web/resource/>

พัฒนาชุดตรวจสอบแบบ Lateral flow test strip เพื่อ
ตรวจสอบไวรัส *Cucumber mosaic virus*
Development of Lateral flow test strip for detecting
Cucumber mosaic virus

สิทธิศักดิ์ แสไพศาล^{1/} วันเพ็ญ ศรีทองชัย^{2/} กาญจนา วาระวิชนะ^{1/}

^{1/} กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/} สำนักผู้เชี่ยวชาญ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การนำเทคนิค Gold Labeling IgG Flow Test (GLIFT) มาปรับใช้ในการตรวจเชื้อ *Cucumber mosaic virus* (CMV) เพื่อการวินิจฉัยโรค ที่สามารถตรวจสอบได้แม่นยำ ใช้งาน สะดวก และอ่านผลได้รวดเร็วภายใน 5-10 นาที เร็วกว่าวิธี ELISA ที่ใช้เวลามากกว่า 4-5 ชั่วโมง GLIFT ได้ถูกพัฒนาโดยใช้หลักการทางเซรุ่มวิทยาและ lateral flow technique บนแผ่น nitrocellulose membrane ซึ่งทำให้ผลดีที่สุดคือ ด้วยการเลือกใช้อนุภาคของทอง (colloidal gold) มาต่อเชื่อมกับ IgG ของเชื้อ CMV ที่มีความเข้มข้นในปริมาณ 1 mg/ml ให้สีของปฏิกิริยาแดงเข้ม และให้สีของปฏิกิริยาที่ test line แดงเข้มชัดเจนเมื่อใช้ gold labeling IgG ในปริมาณ 2 μl /cm มีความเหมาะสมดีกว่าปริมาณ 1.0 และ 1.5 μl /cm สำหรับการใช้ IgG ของ CMV ในปริมาณ 1.0 μl /cm ทำให้ผลของปฏิกิริยาดี สามารถใช้ goat-anti rabbit IgG ทำ control line ได้ จากการเปรียบเทียบชนิดของ แผ่นไนโตรเซลลูโลสเมมเบรนที่แตกต่างกัน 7 ชนิด พบว่าปฏิกิริยาเกิดได้ดีในไนโตรเซลลูโลสเมมเบรนชนิด AE 100 และ Unisart CN 140 และการเปรียบเทียบชนิดของ sample buffer ต่อปฏิกิริยาบนชุดตรวจสอบโดยใช้บัฟเฟอร์ที่แตกต่างกัน จำนวน 7 ชนิด พบว่าบัฟเฟอร์ที่สามารถทำให้เกิดปฏิกิริยาเกิดปฏิกิริยาบนเส้น control line และไม่เกิดปฏิกิริยาแบบ false positive คือ เกิดปฏิกิริยาบนเส้น test line หรือปฏิกิริยาข้ามนั้นคือบัฟเฟอร์ TBS-T และ PBS-T และเมื่อเปรียบเทียบความเข้มของสีที่ control line พบว่า การใช้ TBS-T ให้ผลดีที่สุด

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-03-01-03-54

คำนำ

ไวรัส *Cucumber mosaic virus* (CMV) สามารถเข้าทำลายพืชได้มากกว่า 60 วงศ์ ทั้งใน ิณธุ์พืช ไม้เนื้อแข็ง ไม้ดอกไม้ประดับ ไม้ผล พืชไร่ และพืชผัก โดยเฉพาะพืชผัก พบว่า เชื้อ CMV มีผลกระทบต่อผลผลิตของพืชผักหลากหลายชนิด เช่น แตงกวา ฟักทอง ฟักเขียว แคนตาลูป มะเขือเทศ พริก ถั่วลันเตา และแครอท เป็นต้น พริกที่เป็นโรคใบต่างจากการเข้าทำลายของเชื้อ CMV ผลผลิตลดลง 30-75% ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอายุของพริกขณะได้รับเชื้อ CMV (เครือพันธ์และวันเพ็ญ, 2545; Sulyo *et al.*, 1995; Anonymous, 2004)

ไวรัสชนิดนี้มีอนุภาคเป็นรูปทรงกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 30 นาโนเมตร จัดอยู่ในสกุลคิวคูโมไวรัส (*Cucumovirus*) สามารถถ่ายทอดโดยวิธีกลและมีเพลี้ยอ่อนหลายชนิดเป็นพาหะนำโรคเพลี้ยอ่อนที่สำคัญ ได้แก่ เพลี้ยอ่อนยาสูบ (*Myzus persicae*) และเพลี้ยอ่อนฝ้าย (*Aphis gossypii*) รูปแบบในการถ่ายทอดโรคเป็นแบบ non-persistent (Kaper & Waterworth, 1981) ลักษณะอาการอาการของโรคบนพืชอาศัยมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสายพันธ์ของเชื้อ CMV และสายพันธ์พืช แต่อาการโดยทั่วไป พบว่า ใบพืชแสดงอาการต่าง บางครั้งพบจุดแผลตายเฉพาะแห่งสีน้ำตาลบนใบ ใบเสียรูป บิดเบี้ยว อาจลดขนาด ใบเรียวเล็กเป็นเส้น เนื่องจากเนื้อใบไม่เจริญเติบโตขณะที่เส้นใบเจริญเป็นปกติ ใบร่วงหลุดได้ง่าย ดอกร่วง ผลมีขนาดเล็กและปริมาณลดลง อาจมีอาการต่าง บิดเบี้ยว และผิวขรุขระบนผล ต้นเตี้ยแคระแกรน นอกจากนี้ยังถ่ายทอดผ่านทางเมล็ดได้ ทำให้โรคแพร่ระบาดได้อย่างรวดเร็ว (เครือพันธ์และวันเพ็ญ, 2545; Brunt *et al.*, 1995; Berke *et al.*, 2003)

วิธีการตรวจสอบเชื้อ CMV ได้มีการพัฒนาจากชีววิธี โดยการปลูกเชื้อและสังเกตอาการที่เกิดขึ้น แต่ใช้ระยะเวลาเวลานานนับสัปดาห์ ต่อมาได้มีการทดสอบโดยเทคนิคทางเซรุ่มวิทยา เช่น ELISA, dot immuno binding assay (DIBA) แต่ระยะเวลาการตรวจสอบอย่างน้อย 1 วัน ทำให้มีการพัฒนาการตรวจสอบที่สามารถใช้ระยะเวลาสั้น 5-10 นาที แต่ยังคงมีความแม่นยำสูง ได้แก่ เทคนิค lateral flow test strip (Kim, S. and Je-Kyun Park. 2004) ซึ่งช่วยให้การวินิจฉัยโรคที่เกิดจากเชื้อ CMV ได้รวดเร็ว อันจะส่งผลให้ดำเนินการป้องกันกำจัดโรคได้อย่างรวดเร็ว

โดย Tsuda *et al.* (1992 & 1993) ได้ศึกษาวิธีการตรวจสอบไวรัสพืชแบบ lateral flow test โดยใช้อนุภาคของ latex bead เป็นตัวติดฉลาก แต่ปฏิกิริยาไม่ค่อยคงที่และมีราคาแพง ในประเทศไทยได้มีการผลิตชุดตรวจเชื้อ HIV ยาบ้า และไข้หวัดนก ด้วยเทคนิค lateral flow test โดยใช้อนุภาคของทองเป็นตัวติดฉลาก ซึ่งสามารถตรวจสอบได้อย่างรวดเร็วและแม่นยำ (ทิพวรรณ , 2547; สุตาและคณะ, 2547; Ninlawan, 2001) รวมทั้ง สุรภีและคณะ (2551) ได้พัฒนาชุดตรวจสอบไวรัส 11 ชนิด และแบคทีเรีย 2 strain โดยวิธี Gold labeled IgG Flow Technique (GLIFT) ในพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ ได้แก่ กล้วยไม้ มันฝรั่ง ถั่วเหลือง พืชผักและยาสูบ เสาวรส มะละกอ ปทุมมา และพืชตระกูลแตง โดยการนำแอนติซีรัมของเชื้อแต่ละชนิดมาสกัด IgG และปรับความเข้มข้นเป็น 1 มก./มล. และทดสอบความจำเพาะเจาะจงของ IgG ต่อเชื้อด้วยเทคนิค DIBA จากนั้นนำมาติดฉลากด้วยอนุภาคทอง ขนาด 40 นาโนเมตร ทดสอบอัตราที่ใช้กับชนิดของ

membrane ชั้นตอนสุดท้ายประกอบเป็นชุดตรวจสอบสำเร็จรูป ซึ่งเมื่อนำไปทดสอบกับพืช ใช้เวลาในการตรวจ ประมาณ 5 นาที และชุดตรวจสอบนี้สามารถเก็บในสภาพแห้งที่อุณหภูมิห้องได้นาน 2 ปี

ดังนั้นเพื่อการตรวจสอบไวรัส *Cucumber mosaic virus* ในพืชเศรษฐกิจ ให้มีความแม่นยำ รวดเร็ว และประหยัดเวลา ท้นต่อสถานการณ์และระบาดของโรค จึงได้ทำการศึกษาลิขิตชุดตรวจสอบ แบบ Lateral flow test

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- เครื่อง centrifuge และ เครื่อง Spectrophotometer
- แอนติซีรัม polyclonal antibody ของเชื้อ *Cucumber mosaic virus* (CMV)
- ตู้แช่แข็ง -20 และ -80 °C
- สารเคมีและวัสดุที่ใช้ในการตรวจสอบด้วยวิธี ELISA เช่น Goat Anti-Rabbit+Phosphatase, non-fat milk, FR-TR salt และ Nitrocellulose membrane เป็นต้น
- สารเคมีและวัสดุที่ใช้ในการผลิตชุดตรวจสอบไวรัสกล้วยไม้สำเร็จรูป เช่น Colloidal gold, Goat-anti mouse (GAM), Sucrose และ fiber glass เป็นต้น

วิธีการ

1. การเตรียมแอนติซีรัมและการสกัด IgG ของเชื้อไวรัส *Cucumber mosaic virus* (CMV) ในต่างแดน

นำแอนติซีรัม polyclonal antibody ของกลุ่มงานไวรัสวิทยาที่ได้ผลผลิตไว้ใช้ในงานวิจัยมาทำการสกัด Immuno gamma-globulin (IgG) และปรับความเข้มข้น IgG ของเชื้อ CMV โดยนำแอนติซีรัมมาเจือจางด้วยน้ำกลั่น ในอัตรา 1:9 ผสมให้เข้ากันแล้วเติม ammonium sulphate ที่อิมิตัวในปริมาตรเท่ากัน กวนเบาๆ แล้วบ่มปฏิกิริยาไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที นำไปหมุนเหวี่ยงตกตะกอนโปรตีนของ IgG ที่ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที นาน 20 นาที เก็บตะกอนและละลายใน ½ phosphate buffer saline (PBS) แล้ว dialyse ใน ½ PBS 1 ลิตร 3 ครั้ง แต่ละครั้งเป็นเวลา 4 ชั่วโมง วัดความเข้มข้นของ IgG ด้วย Spectrophotometer ที่ OD 280 (สุรณีและคณะ, 2532 ก.; สุรณีและคณะ, 2532 ข.)

2. การทดสอบประสิทธิภาพ IgG ของ CMV ในการตรวจเชื้อไวรัสใบต่างแดนด้วยเทคนิค

Nitrocellulose membrane-Enzyme-linked immuno sorbent assay (NCM-ELISA)
นำตัวอย่างใบพืชที่ต้องการตรวจสอบใส่ในถุงพลาสติก เติม Extraction buffer (0.02 M Tris, 0.2 M NaN₃, 0.2% Na₂SO₃, pH 7.5) ในอัตราส่วน (ใบพืช : บัพเฟอร์ = 1:5) แล้วบดตัวอย่างให้

ละเอียด ทำการวางรูปแบบของแผ่น Nitrocellulose membrane (NCM) ขนาด 0.45 μm ชนิด High bone N⁺ ด้วยการตีเป็นช่องตารางสี่เหลี่ยม (ขนาด 1X1 ตารางเซนติเมตร) ทำเครื่องหมายที่ตารางของตัวแผ่น NCM หัวท้ายเพื่อเรียงลำดับตัวอย่างจาก 1 ถึงตัวอย่างสุดท้าย นำแผ่น NCM พร้อมกับวางกระดาษกรองเบอร์ 1 ที่ตัดให้มีขนาดพอดีกับแผ่น NCM แช่ใน TBS (0.02M Tris, 0.5 M NaCl, pH 7.5) ประมาณ 5 นาที หลังจากนั้นซับแผ่นกระดาษกรองเบอร์ 1 ขึ้นมาพร้อมกับแผ่น NCM ที่แช่ไว้ด้วยกัน วางลงบนแผ่นกระดาษกรองแผ่นใหม่ที่แห้งและมีขนาดใหญ่กว่า โดยใช้ pasteur pipette ที่สะอาดรีดแผ่น NCM ให้แนบติดกับกระดาษกรอง ทำการหยดตัวอย่างน้ำคั้นพืช 1 หยด หรือประมาณ 20-25 ไมโครลิตร ลงในช่องตารางบนแผ่น NCM ตามรูปแบบที่วางไว้ เมื่อหยดตัวอย่างเสร็จแล้วซับแผ่น NCM ออกมาวางบนกระดาษสะอาดผึ่งไว้ประมาณ 10-20 นาที นำแผ่นตัวอย่างที่แห้งแล้วแช่ลงในกล่องสี่เหลี่ยมที่มี blocking buffer (2% non fat milk ใน TBS pH 7.5) อยู่ 10 มิลลิตร + 0.8 มิลลิตร ของ 25% titonx100 แช่นาน 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง หรือ ประมาณ 27-30°C หลังจากนั้นเท blocking buffer ออก ใส่ส่วนผสมของ IgG ของ CMV 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 มิลลิตร บ่มปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้อง 1 ชั่วโมง ล้างออกด้วย TBS-Tween 3 ครั้ง ๆ ละ 3 นาที แล้วเทส่วนผสม substrate (ละลาย 0.25% AS- MX จำนวน 1 มิลลิตร ใน 5 มิลลิตร ของ 0.2 M Tris HCl , pH 8.2 และละลายสาร Fast red TR-salt (FR-TR) ใน 6 มิลลิตร ของ 0.2 M Tris HCl , pH 8.2 เทส่วนผสมทั้ง 2 รวมกัน แล้วเทลงในกล่องแช่แผ่น NCM เขย่าเบาๆ) รอผลของปฏิกิริยา ประมาณ 5-30 นาที เมื่อเกิดปฏิกิริยาเห็นสีชมพูชัดเจนแล้วเท substrate ออก แล้วเทน้ำกลั่นลงแทน เพื่อเป็นการล้างและหยุดปฏิกิริยา

3. การเตรียมสารละลายแขวนลอยอนุภาคทอง (colloidal gold)

เตรียมจากสารประกอบ HAuCl₄ เพื่อให้ได้อนุภาคทองที่บริสุทธิ์และมีขนาด 40 นาโนเมตร นำสารละลาย 1% ของ Gold chloride หรือ chlorauric acid (HAuCl₄ , AuCl₃) จำนวน 1.2 ml ใส่ลงในน้ำกลั่นจำนวน 174 ml ที่ต้มเดือดแล้วนาน 2 นาที แล้วเติม Sodium citrate ลง 2 ml กวนต่อนาน 10 นาที แล้วนำมาแช่ในน้ำเย็นให้เย็นลง นำไปวัด OD 530 nm ให้ได้ค่าเท่ากับ 0.5 แล้วปรับเป็น pH 7.3 ด้วย 0.2 M K₂CO₃ ที่เตรียมใหม่และใช้ทันที (Hampton *et al.*,1990) แล้วนำสารละลายของ Colloidal Gold ไปใช้ในการ conjugate กับ IgG ของ CMV

4. การติดสลาก IgG ของ CMV ด้วยอนุภาคทอง

นำ IgG ของ CMV จำนวน 2 มิลลิตร เติมลงในสารละลายทองแขวนลอยที่เตรียมไว้จำนวน 200 มิลลิตร กวนเบาๆ ด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า (magnetic stirrer) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง แล้วเติมสารละลาย bovine serum albumin (BSA) ความเข้มข้น 10 % จำนวน 20 มิลลิตร กวน

เบา ๆ อีก 1 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 9,000 รอบ/นาที นาน 40 นาที เพื่อตกตะกอน IgG ติดสลากระดิวอนุภาคทอง (gold labeled IgG) แล้วละลายตะกอนด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ให้มีความเข้มข้นของสารละลายเป็น 0.5 ที่ OD 540

การเตรียม Conjugate Release pad (CRP) ทำการพ่นปริมาณ Gold labeling IgG ของ CMV ลงบนแผ่น CRP ซึ่งเป็นวัสดุใยแก้ว (fiber glass) ในปริมาณ 1.5 μl /เซนติเมตร แล้วนำไปอบแห้งในตู้อบควบคุมอุณหภูมิ (incubator) 37°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำ CRP ของ Gold labeling IgG ของ CMV มาตัดเป็นชิ้นขนาด 0.5x0.5 เซนติเมตร เก็บในสภาพแห้งที่มีความชื้นไม่เกิน 40% ก่อนนำไปประกอบเป็น dipstick และประกอบเป็นชุดทดสอบต่อไป

5. การเตรียม test line

ทำการพ่น IgG ด้วยเครื่องมือ spray ที่สามารถควบคุมแรงดัน ลงบนแผ่น NCM โดยทดลองเปรียบเทียบปริมาณของ IgG ของ CMV ที่ต่างกัน 4 อัตราได้แก่ 0.5, 1.0, 1.5 2.0 และ 2.5 $\mu\text{l}/\text{cm}$

6. การเตรียม control line

ทำเส้นแสดงปฏิกิริยาควบคุม (control line) ด้วยการพ่น GAR ในอัตรา 1.0 $\mu\text{l}/\text{cm}$ ลงบน NCM ในตำแหน่งห่างจาก test line ขึ้นไปด้านบนของ dip stick 0.5 cm แล้วนำไปอบแห้งเช่นเดียวกับ Conjugate Release pad (CRP) นาน 2 ชั่วโมง control line ทำไว้เพื่อให้ Gold labeling IgG ของ Rabbit IgG ละลายออกมาแล้วไหลไปจับกับ control line เพื่อเป็นการตรวจปฏิกิริยาการไหลของสารละลายที่ดี

7. การทดสอบคัดเลือกชนิดของเมมเบรนที่เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาของ CMV บนเส้น test line

ได้ทดลองใช้เมมเบรน 7 ชนิด คือ

1. Unisart CN 95
2. AE 100
3. AE 99
4. AE 98 Fast
5. Millipore HF 13504
6. Prisma 60
7. Unisart CN 140

ใช้เครื่องพ่นสารละลายควบคุมปริมาณ ทำการพ่น IgG ของ Goat anti-rabbit (GAR) โดยใช้ GAR ที่เจือจาง 1:3 ปริมาณ 1 μl /เซนติเมตร เป็นเส้น control line ใช้ IgG ของ CMV พ่นเป็น test line

ในปริมาณ 2 μ l/เซนติเมตร ตามลำดับ ลงบนแผ่นเมมเบรน โดยเส้นทั้ง 2 มีระยะห่างกัน 0.5 เซนติเมตร และจัดให้อยู่กึ่งกลางของแผ่น NCM ที่มีความกว้าง 2.5 เซนติเมตร นำแผ่นที่พ่น IgG แล้วไปอบที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ก่อนนำมาทดสอบ (เส้น control line เป็นเส้นที่มีไว้ตรวจสอบการไหลของสารละลายทั้งหมดในชุดตรวจสอบว่ามีความสมบูรณ์ โดยปรากฏเป็นเส้นสีแดงเกิดจากปฏิกิริยาของ GAR กับ IgG ที่ผลิตมาจากกระต่ายและติดสลาگونภาคทอง)

8. การเปรียบเทียบสารละลายบัฟเฟอร์ในการเตรียมตัวอย่างน้ำคั้นพืช

ทดลองใช้บัฟเฟอร์ ที่แตกต่างกัน 7 ชนิด บดตัวอย่างพืช คือ

PBS pH 7.4

PBS-T pH 7.4

TBS pH 7.4

TBS-T pH 7.4

extraction buffer 1 pH 8.6

extraction buffer 2 pH 7.5

general extraction buffer pH 7.4 (Agdia)

9. การประกอบและตรวจสอบ

นำ NCM บน Plastic Backing polyester ที่อบแห้งแล้ว มาลอกกระดาษปิดกาออก วางแผ่น Conjugate Release pad ที่เป็น fiber glass ที่มี Gold labeled IgG และอบแห้งแล้วเกย ด้านล่างของแผ่น NCM 1 มิลลิเมตร ปิดทับ Conjugate Release pad ด้วย แผ่นรองรับตัวอย่างน้ำคั้นพืช (sample pad) ที่เป็น fiber glass โดยให้เกยประมาณ 1 มิลลิเมตร ปิดลงไปจนถึงปลายของแผ่น Backing พอดี วางแผ่นซับน้ำอย่างหนา (Wicking paper) ไว้ด้านบนของ NCM ประมาณ 1 มิลลิเมตร ทาบไป จนสุดปลายด้านบนของ Backing ตัดออกเป็น strip กว้าง 0.4 เซนติเมตร ด้วยเครื่องตัดแบบอัตโนมัติ

10. การทดสอบประสิทธิภาพความไว (sensitivity) ในการตรวจสอบเชื้อ CMV

ทำการทดสอบประสิทธิภาพความไว (sensitivity) ของ Lateral flow test strip ในการตรวจสอบเชื้อ CMV ในอัตราความเข้มข้นต่างๆ ด้วยการเจือจางน้ำคั้น ในอัตรา 1:10, 1:100, 1:200, 1:500, 1:1,000 และ 1:2,000 แล้วนำ Lateral flow test strip จุ่มลงในน้ำคั้นในปริมาณที่เท่ากัน อ่านผลปฏิกิริยาเปรียบเทียบกัน

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มเดือนตุลาคม 2553 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2555

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กทม.

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสกัด IgG ของเชื้อไวรัส *Cucumber mosaic virus* (CMV) ใบต่างแฉง

การสกัด gamma-globulin (IgG) และปรับความเข้มข้นของ IgG IgG ที่สกัดออกมาเมื่อวัดความเข้มข้นของโปรตีน ด้วยเครื่อง spectrophotometer ได้ค่าความเข้มข้น IgG ของ CMV เท่ากับ 8.0 ปรับให้ IgG มีความเข้มข้นที่ OD²⁶⁰ เท่ากับ 1.4 เพื่อให้ IgG ที่ได้นี้มีปริมาณโปรตีนเป็น 1 mg/ml ก่อนนำไป conjugate กับ colloidal Gold

2. การทดสอบประสิทธิภาพ IgG ของ CMV ในการตรวจเชื้อไวรัสใบต่างแฉงด้วยเทคนิค

Nitrocellulose membrane-Enzyme-linked immuno sorbent assay (NCM-ELISA)

ผลการตรวจวินิจฉัยด้วยวิธี NCM-ELISA กับตัวอย่างพืชใบต่าง CMV ให้ปฏิกิริยาเป็นบวกกับ IgG ของ CMV ให้สีแดงเข้มและไม่เกิดปฏิกิริยาข้ามกับพืชปกติ ดังนั้นสามารถที่จะนำ IgG ของ CMV นี้ไปดำเนินการและขั้นตอนในการเตรียมทำชุดตรวจสอบต่อไป



ภาพที่ 1 ให้ปฏิกิริยาเป็นบวกกับ IgG ของ CMV

3. การติดสลาก IgG ของ CMV ด้วยอนุภาคทอง

ภายหลังจากการกวนกับ Sodium citrate จะได้สารละลายของ Colloidal Gold เป็นสี cherry red ซึ่งเป็นผลจากอนุภาคของทอง ที่มีลักษณะ monodisperse colloid ที่มีความคงตัวและมีขนาดประมาณ 40 nm มีความไวและคงรูปเมื่อนำไปใช้ในการ conjugate กับ IgG ของไวรัส (Hampton *et al.*, 1990) ผลจากการทดลองหยอด Gold labeling IgG ในปริมาณ 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 และ 2.5 $\mu\text{l}/\text{cm}$ พบว่าทุกอัตราให้ปฏิกิริยาของสีที่เส้น test line ที่ดีและชัดเจนใกล้เคียงกัน แต่ที่ความเข้มข้นที่ 2.5 $\mu\text{l}/\text{cm}$ จะมีปริมาณของ Gold labeling IgG มากเกินไป และจะไหลกลับลงมาบน control line และ test line ดังนั้นความเข้มข้นที่เหมาะสม จึงใช้อัตรา 1.5, 2.0 $\mu\text{l}/\text{cm}$ ในการตรวจเชื้อ CMV ซึ่ง control line ได้ใช้ Gold labeling IgG ของ rabbit IgG ในปริมาณ 1.0 μl เหมาะสมดีแล้ว ให้ปฏิกิริยาที่ชัดเจน

4. การเตรียม Test line และ การเตรียม control line

พบว่าการใช้ IgG ของ CMV spray เป็น Test line ปริมาณความเข้มข้นที่ $1 \mu\text{l}/\text{cm}$ ให้ผลของสีคมชัด ดีเท่ากับปริมาณ $1.5 \mu\text{l}/\text{cm}$ จึงเลือกใช้ $1.0 \mu\text{l}/\text{cm}$ เป็นการประหยัด IgG ส่วนการพ่น IgG ของ Goat anti-rabbit (GAR) โดยใช้ GAR ที่เจือจาง 1:3 ปริมาณ $1 \mu\text{l}/\text{cm}$ เป็นเส้น control line เพื่อเข้าไปทำปฏิกิริยา ผลของปฏิกิริยาไม่เข้มเนื่องจากการใช้ Goat anti-rabbit ทำเป็น control line เพราะแผ่น conjugate Release pad ของ IgG CMV ต้องเฉลี่ยไปทำปฏิกิริยากับทั้ง Test line และ Control line จึงทำให้ปฏิกิริยามีสีที่อ่อนลง

5. การทดสอบคัดเลือกชนิดของแผ่น ไนโตรเซลลูโลสเมมเบรนที่เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาของ CMV บนเส้น test line

line \ NCM	Unisart CN 95	AE 100	AE 99	AE 98 Fast	Millipore HF 13504	Prisma 60	Unisart CN 140
CMV	-	+++	+	+	+	+	+++
Control line	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

การเปรียบเทียบชนิดของแผ่นไนโตรเซลลูโลสเมมเบรนที่แตกต่างกัน 7 ชนิด ในการตรวจสอบ CMV พบว่าปฏิกิริยาเกิดได้ดีในไนโตรเซลลูโลสเมมเบรนชนิด AE 100 และ Unisart CN 140 ทำให้มีความเข้มสีที่เกิดขึ้นบนชุดตรวจสอบ ที่ทำปฏิกิริยาบนเส้น control line เกิดได้เร็วที่สุด ซึ่งแตกต่างจากไนโตรเซลลูโลสเมมเบรนชนิดอื่นที่นำมาทดสอบอย่างเห็นได้ชัดดังนั้นในการผลิตเป็นชุดตรวจสอบตรวจสอบจึงเลือกใช้ เมมเบรน AE 100 และ Unisart CN 140 ในการพัฒนาชุดตรวจสอบต่อไป

6. การเปรียบเทียบสารละลายบัฟเฟอร์ในการเตรียมตัวอย่างน้ำคั้นพืช

การเปรียบเทียบชนิดของ sample buffer ต่อปฏิกิริยาบนชุดตรวจสอบโดยใช้บัฟเฟอร์ จำนวน 7 ชนิด พบว่า บัฟเฟอร์ที่สามารถทำให้เกิดปฏิกิริยาบนเส้น control line และไม่เกิดปฏิกิริยาแบบ false positive คือเกิดปฏิกิริยาบนเส้น test line หรือปฏิกิริยาข้ามนั้นคือบัฟเฟอร์ TBS-T และ PBS-T และเมื่อเปรียบเทียบความเข้มของสีที่ control line พบว่า การใช้ TBS-T ให้ผลดีที่สุด รองลงมาคือ PBS-T ซึ่งไม่ทำให้เกิดสีเขียวบน NCM ทำให้ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น สะอาดอ่านผลได้ชัดเจน ส่วนเมื่อใช้บัฟเฟอร์ชนิดอื่นที่นำมาทดสอบเปรียบเทียบนั้น จะไม่เหมาะสมกับตัวอย่างพืชและมี background สีเข้มและสกปรก

7. การประกอบและตรวจสอบ

การเตรียม Gold labeled IgG ของ MAb-Poty1 เป็นการต่อเชื่อม IgG เข้ากับสารละลาย Colloidal Gold โดยทดสอบอัตราส่วนของ IgG ต่อ Colloidal Gold ที่เหมาะสม ได้เป็นสารละลาย Gold conjugated IgG นำไปพ่นลงบน แผ่นวัสดุที่ดูดซับเฉพาะต้องทดสอบ ปริมาณที่ พอเหมาะให้เกิดปฏิกิริยาที่ชัดเจน อบให้แห้งในตู้อบ 37°C นาน 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการเตรียม Test line และ Control line ทำเส้น Control line ด้วย Goat anti-rabbit (GAR) และ Test line ด้วย IgG บนแผ่น NCM ในอัตราที่ทดสอบแล้วว่าเหมาะสมเกิดปฏิกิริยาเร็ว และชัดเจน แล้วอบให้แห้งก่อนนำไปประกอบ โดยทำการประกอบด้วยการนำ NCM บน Plastic Backing polyester ที่อบแห้งแล้วมาลอกกระดาษปิดกาออก วางแผ่น Conjugate Release pad ที่เป็น fiber glass ที่มี Gold labeled IgG และอบแห้งแล้ว เกยด้านล่างของแผ่น NCM 1 มิลลิเมตร ปิดทับ Conjugate Release pad ด้วย แผ่นรองรับตัวอย่างน้ำคั้นพืช (sample pad) ที่เป็น fiber glass โดยให้เกยประมาณ 1 มิลลิเมตร จะปิดลงไปจนถึงปลายของแผ่น Backing พอดี หลังจากนั้น วางแผ่นซับน้ำอย่างหนา (Wicking paper) ไว้ด้านบนของ NCM ประมาณ 1 มิลลิเมตร ทาบไปจนถึง ปลายด้านบนของ Backing และตัดออกเป็น strip กว้าง 0.4 เซนติเมตร ด้วยเครื่องตัดแบบอัตโนมัติ

8. การทดสอบประสิทธิภาพความไว (sensitivity) ในการตรวจสอบเชื้อ CMV

ในการทดสอบประสิทธิภาพความไวในการตรวจหาไวรัส CMV ในน้ำคั้นที่เจือจางในอัตราส่วน ต่างๆ กัน พบว่าชุด Lateral flow test strip สามารถตรวจพบไวรัสได้ ที่ความเข้มข้นของน้ำคั้น ที่ เจือจางตั้งแต่ 1:10-1:1,000 และให้สีแดงของปฏิกิริยาชัดเจนดี จึงสรุปว่าชุด Lateral flow test strip มีความไวในการตรวจ CMV ในน้ำคั้นตัวอย่าง และอัตรา 1:10 และ 1:100 ชัดเจนที่สุด

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ในการทดลองผลิต Lateral flow test strip เพื่อตรวจสอบไวรัส CMV ได้เลือกใช้หลักการทาง เซรุ่มวิทยา (Serology) ร่วมกับการต่อเชื่อมแอนติซีรัมหรือ IgG ของไวรัส กับอนุภาคของสารมีสีได้แก่ Colloidal Gold โดยเลือกที่ขนาด 40 nm มาใช้ได้ และอนุภาคของสารดังกล่าวสามารถแสดงผลของ ปฏิกิริยาให้เห็นได้ชัดเจนเป็นสีสีชมพูเข้ม โดยนำ Colloidal Gold มา conjugate กับ IgG ไปทำ ปฏิกิริยาทางเซรุ่มวิทยากับอนุภาคของไวรัสในน้ำคั้นตัวอย่างที่เป็นโรคชนิดเดียวกับ IgG แล้วไหลผ่าน ไปบนแผ่น NCM AE 100 ไปพบกับแถบ IgG ของไวรัส ที่วางแนวตั้งไว้ด้านบนของแผ่น NCM ดังกล่าว โดยห่างจากปลายด้านล่างของแผ่น NCM นั้น เกิดเป็นลักษณะของปฏิกิริยาลูกโซ่แบบแซน วิช ที่จับติดบนแผ่น NCM ตรงแนวของแถบ IgG ที่วางไว้ จึงมองเห็นเป็นแนวเส้นตรงของปฏิกิริยาสี ชมพูเข้มของอนุภาคทอง

การศึกษาชุด Lateral flow test strip ตรวจสอบเชื้อ CMV นี้มีความสะดวกมากกว่า NCM-ELISA สามารถใช้เป็นเครื่องมือภาคสนาม ที่เกษตรกรสามารถนำไปใช้ตรวจไวรัส CMV ได้

สะดวก ราคาไม่แพงและใช้ง่าย เพียงบดตัวอย่างพืชด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ในถุงพลาสติก จุ่ม Lateral flow test strip ลงในน้ำคั้นพืช อ่านผลได้ใน 3-5 นาที (Fig. 8) ทำให้เกษตรกรสามารถทราบได้ทันทีว่าเป็นโรคหรือไม่ เป็นการควบคุมการแพร่ระบาดของโรคไวรัสได้อย่างรวดเร็วยิ่งขึ้น

ซึ่งการตรวจสอบเชื้อไวรัสเพื่อการวินิจฉัยโรคมักมีด้วยกันหลายวิธี เช่นการตรวจหาอนุภาคของเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Jesen and Gold, 1951) การตรวจสอบโดยวิธี ELISA (Enzyme Linked-Immuno Sorbent Assay) (Clark and Adam, 1977) และการตรวจสอบด้วยวิธีอณูชีววิทยา แต่ละวิธีมีข้อดีข้อเสียแตกต่างกันไปในการวินิจฉัยโรคอาจต้องพิจารณาจากหลากหลายวิธีประกอบกัน และควรวางวิธีการใหม่ๆ มาช่วยเพิ่มการตรวจสอบให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น เทคนิคการตรวจสอบด้วยวิธี lateral flow test เป็นวิธีหนึ่งทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพที่มีประสิทธิภาพสูงในการวินิจฉัยโรค วิธีการนี้มีหลักการที่แอนติบอดีที่มาจากแอนติเจนชนิดเดียวกันจะมีความเฉพาะเจาะจงในการจับติดกัน และการเคลื่อนย้ายของของเหลวในลักษณะ capillary จากล่างขึ้นสู่บน หรือจากซ้ายไปขวาในลักษณะ lateral flow จะช่วยให้แอนติเจนหรือตัวอย่างที่นำมาตรวจสอบเคลื่อนย้ายเข้าหาแอนติบอดี (Haber and Knapen, 1989; Tseda *et.al.*, 1992 and Tseda *et.al.*, 1993) เมื่อเป็นชนิดเดียวกันย่อมเกิดปฏิกิริยาบน strip สังเกตเห็นแถบสี (band) ของอนุภาคและมีคุณสมบัติสามารถต่อเชื่อมกับแอนติซีรัมได้ ปฏิกิริยานี้ถูกกำหนดให้ไปเกิดขึ้นบน strip ชัดเจน ซึ่งขั้นตอนเหล่านี้ใช้เวลาในการตรวจสอบเพียง 5-10 นาที วิธีการนี้จึงเหมาะสมที่จะพัฒนาเพื่อใช้ตรวจสอบเชื้อไวรัส Cucumber mosaic virus (CMV)

และจากการใช้แอนติบอดีชนิดโพลีโคลนอลมาทำการพัฒนาเป็นชุดตรวจสอบนี้ ปฏิกิริยาที่ได้ยังไม่เป็นที่น่าพอใจมากนัก และอาจสามารถพัฒนาปรับปรุงได้ด้วยการทดสอบใช้แอนติบอดีชนิด โมโนโคลนอลมาทำการทดสอบ อาจจะทำให้ผลเป็นที่น่าพอใจมากขึ้นไปอีกระดับหนึ่งจึงควรทำการศึกษาต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- เครือพันธ์ กิตติปรภรณ์ และวันเพ็ญ ศรีทองชัย. 2545. โรคไวรัสที่สำคัญของพืชผักและพืชน้ำมัน. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 88 หน้า.
- ทิพวรรณ บุญกอง. 2547. การควบคุมคุณภาพของชุดการติดเชื้อเอชไอวี ‘Biotine HIV1/2’, Thai : Medical Technologist Letteer; ข่าวสารเพื่อสมาชิกในกลุ่มบริษัทเบรีย. ปีที่ 15: เมษายน-มิถุนายน 2547, ISSN 858-0251.
- สุดา ลุยศิริโรจนกุล สนทนา ศิริตันติกร และระวีวรรณ ชันหยก. 2547. การตรวจวินิจฉัยใช้หัตถ์นกของห้องปฏิบัติการ. Thai : Medical Technologist Letteer; ข่าวสารเพื่อสมาชิกในกลุ่มบริษัทเบรีย. ปีที่ 15: กรกฎาคม- กันยายน 2547, ISSN 858-0251.

- สุรณี กীরติยะอังกูร กิตติศักดิ์ กীরติยะอังกูร และนวลจันทร์ ดีมา. 2532 ก. การผลิตแอนติซีรัมและการตรวจสอบโรค Cymbidium mosaic virus ของกล้วยไม้หวายลูกผสมและสาวน้อยเต๋นระบำ. รายงานประจำปี 2532. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.
- สุรณี กীরติยะอังกูร กิตติศักดิ์ กীরติยะอังกูร และนวลจันทร์ ดีมา. 2532 ข. การตรวจ Cymbidium mosaic virus ด้วยวิธี DOT-ELISA และ DAS-ELISA. *วารสารวิชาการเกษตร*.7(1-3):38-43.
- สุรณี กীরติยะอังกูร วันเพ็ญ ศรีทองชัย ญัฐริมา 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>
- Brunt, A.A., K. Crabtree, M.J. Dallwitz, A.J. Gibbs and L. Watson. 1995. Viruses of Plants: Descriptions and Lists from the VIDE Database. University Press, Cambridge, U.K. 1484 p.
- Clark, M.F and A.N. Adams. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for detection of plant viruses. *J. Gen. Virol.* 34 : 475-483.
- Haber, S. and H. Knapen, 1989 . Filter paper sero-assay (FiPSA) : A rapid, sensitive technique for sero –diagnosis of plant viruses. *Can. J. plant Pathol.* 11:109-113.
- Hampton, H., E. Ball, and S. De Boer. 1990. Serological Methods for Detection and Identification of Viral and Bacterial Plant Pathogens. 389 pp.
- Jesen, D.D. and A.H. Gold. 1951. A virus ringspot of odontoglossum orchid symptom, transmission, and electron microscopy. *Phytopathology* 41 : 648-653.
- Kaper, J.M. and H.E. Waterworth. 1981. Chapter 11: Cucumoviruses. Pages 257-332. In : *Handbook of Plant Virus Infections and Comparative Diagnosis*. E. Kurstak. ed. Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdam. 943 pp.
- 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
- Sulyo, Y., A.S. Duriat, N. Gunaeni and E. Korilna. 1995. Confirmation of potentially important pepper viruses in Indonesia. pp. 174-180. *In*: Proceeding of the AVNET-II Midterm Workshop AVRDC, ADB and PCARRD, February 21-25, 1995. PCARD, Los Banos, Lagana, Philippines. Asia Vegetable Research and Development Center 327 p.
- Tsuda, S., kameya-lwaki, M., hanada, K., Kouda, Y., Hikata, M., and Tomaru, K. 1992. A novel detection and Identification technique for plant viruses; Rapid Immunofilter paper assay (RIPA), plant Dis. 76:466-469
- Tsuda, S., kameya-lwaki, M., hanada, K., Kouda, Y., Hikata, M., Fujisawa I and Tomaru, K. 1993. Simultaneous Diagnosis for Plants Infected with Multiple viruses Employing Rapid Immunefilter Paper Assay (RIPA) with Two-Step method' Multi-RIPA. Ann. phythopath. Soc. Japan 59:200-203.

การพัฒนาชุดตรวจสอบแบบ Lateral flow test strip
เพื่อตรวจสอบแบคทีเรีย *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli*
Development of Lateral flow test strip
for *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli* detection

ณัฐจิมา โฆษิตเจริญกุล ทิพวรรณ กันหาญาติ ทศนาพร ทศกร รุ่งนภา ทองเครื่อง
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การผลิตแอนติซีรัม ของแบคทีเรีย *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli* เพื่อใช้ผลิตชุดตรวจสอบ Lateral flow test strip โดยการแยกสกัดโปรตีน Membrane protein complex บริสุทธิ์จากผนังเซลล์แบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* โดยวิธี Li CL₂ extraction เพื่อใช้เป็นแอนติเจน นำแอนติเจนบริสุทธิ์พร้อมที่จะฉีดกระต่าย ฉีดแอนติเจนเข้าไปในกระต่ายเพื่อผลิตแอนติซีรัม โดยฉีดกระต่ายจำนวน 4 ครั้ง เจาะเลือดกระต่ายทุกอาทิตย์ จำนวน 4 ครั้ง นำเลือดกระต่ายมาแยกเอาแอนติซีรัมโดยแยกเฉพาะน้ำเหลืองทิ้งเม็ดเลือดแดง ได้แอนติซีรัมจำนวน 30 ml นำแอนติซีรัมมาทดสอบค่า titer ที่มีค่า titer 1: 25,000 ทดสอบความเฉพาะเจาะจงของแอนติซีรัม ได้ความเฉพาะเจาะจงของแอนติซีรัมที่มีต่อแบคทีเรีย *B. gladioli* ที่ 10⁴ cfu/ml สกัด IgG จากแอนติซีรัมเพื่อใช้ในการผลิตชุดตรวจสอบ ทดสอบ IgG พบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมของ IgG คือ 1:500

รหัสการทดลอง 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 และออสเตรเลีย เป็นต้น แต่การผลิตกล้วยไม้ประสบปัญหาการระบาดของศัตรูพืช นอกจากนี้ในปัจจุบันได้มีการปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้ชนิดใหม่ๆ ขึ้นมาที่อ่อนแอต่อศัตรูพืช ทำให้แต่การผลิตกล้วยไม้ประสบปัญหามากขึ้น โดยเฉพาะโรคกล้วยไม้ที่เกิดจากแบคทีเรีย แต่เดิมพบเป็นเพียงเล็กน้อย แต่ในปัจจุบันพบปัญหาโรคที่เกิดจากแบคทีเรียระบาดอย่างมาก และด้วยสภาพภูมิอากาศปัจจุบัน ภาวะโลกร้อนได้ส่งผลกระทบต่อโดยตรงและทางอ้อมต่อ สภาพแวดล้อมและ มนุษย์ และ สิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ โดยเฉพาะจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช ทำให้มีการปรับสภาพให้มิกิจกรรมต่างๆเปลี่ยนแปลงไป 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 โรคเน่าสีน้ำตาลและโรคใบจุด 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* ชุดตรวจสอบนี้สามารถนำไปใช้ในการตรวจสอบในแปลงปลูกและรู้ผลการตรวจภายในเวลา 5-10 นาที ทำให้เกษตรกรสามารถป้องกันกำจัดได้อย่างถูกต้อง รวดเร็ว

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ได้แก่ ตู้เชื้อเชื้อชนิดปลอดเชื้อ อุปกรณ์การแยกเชื้อแบคทีเรีย
2. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ตู้เย็นสำหรับเก็บตัวอย่าง หม้อนึ่งความดันไอ เครื่องเขย่าชนิดควบคุมอุณหภูมิ เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ตู้อบ (oven)
3. เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่น ๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องชั่ง, pH meter เป็นต้น
4. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ
5. วัสดุการเกษตร ได้แก่ ดิน ทรายกลางต้นไม้ 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 นำเซลล์แบคทีเรียที่ล้างแล้วมาละลายใน PBS จากนั้นนำไปทำการ 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. การผลิตแอนติซีรั่ม 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 แยกและเก็บแอนติซีรั่ม โดยนำเลือดกระต่ายที่ได้ตั้งทิ้งไว้เพื่อให้เม็ดเลือดแดงแข็งตัว จากนั้นใช้เข็มฉีดยาเจาะเอาซีรั่ม แล้วกรีดที่ผิวหนังตรงรอยต่อระหว่างปีกเกอร์กับเลือดจนรอบ นำปีกเกอร์ไปตั้งทิ้งไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4°C นาน 12 ชั่วโมง แล้วนำเอาเฉพาะส่วนน้ำใสมาปั่นตกตะกอนด้วยเครื่อง

หมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 g นาน 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4°C เพื่อเอาส่วนเม็ดเลือดแดงออกไป นำส่วนน้ำใสที่ได้ซึ่งเป็นแอนติซีรัมเก็บแช่แข็งไว้

3. **ทดสอบประสิทธิภาพของแอนติซีรัม** โดยนำแอนติบอดีที่ได้แต่ละครั้ง มาทำให้เจือจาง จนถึง 1: 10⁵ และทดสอบปฏิกิริยากับแบคทีเรีย *B. gladioli* ที่ความเข้มข้น 10⁸ หน่วยโคโลนี/ มิลลิลิตร โดยเทคนิค วิธี Dot Immunobinding assay (DIBA) (Hamplton et al, 1990)

4. ผลิตตรวจสอบไวรัสวิธี GLIFT kit

4.1 นำแอนติซีรัมที่มีความเฉพาะเจาะจงกับแบคทีเรีย *B. gladioli* มาแยกเฉพาะส่วนอิมมูโนโกลบูลิน (IgG) ออกจากสารอื่น ๆ ในเซรุ่มนั้น โดยการใช้การตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต (ammonium sulfate precipitation) (Hampton et al, 1990) นำ 1 มิลลิลิตรของแอนติซีรัมผสมกับ 1 มิลลิลิตรของน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ หยด 1.3 มิลลิลิตร ของ saturated ammonium sulfate pH 7.2 ที่แช่เย็น ค่อย ๆ หยดบนเครื่องกวน (stirring) ทำให้มีแอนติซีรัม 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 น้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 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 เจือจางให้เชื่อมีค่า O.D. เท่ากับ 1.4 โดยใช้ครึ่งเท่าของ PBS เพื่อให้มีปริมาณโปรตีน 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร นำไปทดสอบคุณภาพโดยการตรวจแบคทีเรีย *B. gladioli* ที่ความเข้มข้น 10⁸ หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร ด้วยวิธี Indirect Dot Immunobinding assay (DIBA) (Hampton et 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 ที่เหมาะสมและการทดสอบปฏิกิริยาของชุดตรวจสอบกับแบคทีเรีย *B. gladioli*

ทำการทดสอบ membrane ที่เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาของ IgG ของแบคทีเรีย *B. gladioli* บนเส้น test line โดยทดสอบกับ membrane 4 ชนิด ได้แก่

- 1) membrane S&S AE 100 ขนาด 12 ไมโครเมตร
- 2) membrane S&S AE 99 ขนาด 8 ไมโครเมตร
- 3) membrane Millipore HC 100 ขนาด 10 ไมโครเมตร
- 4) membrane Immunopore FP 100 ขนาด 5 ไมโครเมตร

นำแผ่น membrane ขนาดกว้าง 2.5 เซนติเมตร ตัดให้มีความยาว 18 เซนติเมตร ทำเครื่องหมายด้วยดินสอที่ด้านบนของแผ่น เป็นตำแหน่ง control line ที่อยู่ห่างจากริมด้านบนของแผ่น membrane 1 เซนติเมตร และเส้น test line อยู่ถัดลงมาจาก control line 0.5 เซนติเมตร ใช้ปากกาหมึกซึม (ขนาดปาก 0.5-0.7 มิลลิเมตร) จุ่ม GAR (Goat anti rabbit เข็มข้นอัตรา 1:3) ปริมาณ 40 ไมโครลิตร/แผ่น ลากเส้น control line โดยใช้ไม้บรรทัดวางเป็นแนวเส้นตรง ตะปากลากและลากเส้นจากซ้ายไปทางขวา ๆ จนสุดปลาย membrane ทั้งนี้ไม่ต้องออกแรงกด หากปากกาแห้งให้จุ่ม GAR ใหม่ แล้วลากเส้นต่อ ให้ขนาดเส้นที่เปียกบนแผ่น membrane มีขนาดเท่า ๆ กันทั้งเส้น ใช้ปากกาตามใหม่ (ขนาดปาก 0.5-0.7 มิลลิเมตร) จุ่มซับ IgG ของแบคทีเรีย *B. gladioli* (เข็มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ปริมาณ 40 ไมโครลิตร/แผ่น ลากเส้น test line ปฏิบัติเช่นเดียวกันกับ control line นำไปอบแห้งที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง

4.5 การประกอบเป็นชุดตรวจสอบ GLIFT

- วาง membrane ที่มี test line และ control line ลงในช่องที่กำหนดบนแผ่นพลาสติกการรองรับ (plastic backing polymer) ที่มีขนาด 6x18 เซนติเมตร
- วางแผ่น CRP ที่ป้ายด้วย IgG ของแบคทีเรีย *B. gladioli* ติดฉลากด้วยอนุภาคทอง ให้เกยทับ membrane ประมาณ 1-2 มิลลิเมตร
 - วางแผ่นรับตัวอย่าง (Sample application pad) เกยทับ CRP 1-2 มิลลิเมตร
 - วางแผ่นกระดาษซับชนิดหนา (wicking paper) เกยทับแผ่น NCM 1-2 มิลลิเมตร
 - ตัดชุดที่ประกอบเสร็จแล้วออกเป็นเส้นให้มีความกว้าง 0.4 เซนติเมตร
 - บรรจุชุดตรวจสอบลงตลับพลาสติก นำไปทดสอบปฏิกิริยากับแบคทีเรีย *B. gladioli*

- เก็บ GLIFT kit ไว้ในถุงอลูมิเนียมฟอยล์ และเก็บที่อุณหภูมิห้องที่แห้ง
- ทดสอบปฏิกิริยาของชุดตรวจสอบกับแบคทีเรีย *B. gladioli* นำชุดตรวจที่เตรียมไว้ข้างต้นมาทำการทดสอบปฏิกิริยากับแบคทีเรีย *B. gladioli* โดยนำสารแขวนลอยแบคทีเรีย *B. gladioli* ที่ระดับความเข้มข้น 10^8 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร หยดลงบนแผ่นรับตัวอย่างของชุดตรวจสอบจำนวน 3 หยดต่อตลับ ตรวจสอบผลของการเกิดปฏิกิริยาบน membrane ทั้ง 4 ชนิดเปรียบเทียบกัน

4.6 ทดสอบความเฉพาะเจาะจงของชุดเตรียมสอบ ทำการทดสอบความเฉพาะเจาะจงกับแบคทีเรีย *B. gladioli* ในกล้วยไม้ ทดสอบกับแบคทีเรียอื่นๆ ที่อยู่ในกล้วยไม้ โดยนำชุดตรวจที่เตรียมไว้ข้างต้นมาทำการทดสอบปฏิกิริยากับแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ที่แยกได้จากกล้วยไม้ และแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ที่สามารถเกิดโรคกับกล้วยไม้ได้ ได้แก่ *Erwinia carotovora* , *E. chrysanthemi*, *Acidovorax avenae* pv. *cattaryae* เปรียบเทียบกับแบคทีเรีย *B. gladioli* นำสารแขวนลอยแบคทีเรียต่างๆ ที่ระดับความเข้มข้น 10^8 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร หยดลงบนแผ่นรับตัวอย่างของชุดตรวจสอบจำนวน 3 หยดต่อตลับ ตรวจสอบผลของการเกิดปฏิกิริยา ถ้าปฏิกิริยาเป็นบวกจะปรากฏแถบสีทั้ง control line และ test line หากปฏิกิริยาเป็นลบจะปรากฏสีเฉพาะ control line เท่านั้น

4.7 ทดสอบประสิทธิภาพของความไว (sensitivity) ในการตรวจแบคทีเรีย *B. gladioli* โดยนำชุดตรวจที่เตรียมไว้ข้างต้นมาทำการทดสอบประสิทธิภาพของความไว (sensitivity) ในการตรวจแบคทีเรีย *B. gladioli* โดยนำสารแขวนลอยแบคทีเรีย *B. gladioli* ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-10} หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร หยดลงบนแผ่นรับตัวอย่างของชุดตรวจสอบจำนวน 3 หยดต่อตลับ ตรวจสอบผลของการเกิดปฏิกิริยา ในกรณีตัวอย่างที่ตรวจสอบมีแบคทีเรีย *B. gladioli* จะปรากฏแถบสีทั้ง control line และ test line หากไม่มีแบคทีเรีย *B. gladioli* จะปรากฏสีเฉพาะ control line เท่านั้น

เวลาและสถานที่

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

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การผลิตแอนติเซรัม ของแบคทีเรีย *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli* เพื่อใช้ผลิตชุดตรวจสอบ Lateral flow test strip โดยการแยกสกัดโปรตีน Membrane protein complex บริสุทธิ์จากผนังเซลล์แบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* โดยวิธี Li CL₂ extraction เพื่อใช้เป็นแอนติเจน นำแอนติเจนบริสุทธิ์พร้อมที่จะฉีดกระต่าย ฉีดแอนติเจนเข้าไปในกระต่ายเพื่อผลิตแอนติเซรัม โดยฉีดกระต่ายจำนวน 4 ครั้ง เจาะเลือดกระต่ายทุกอาทิตย์ จำนวน 4 ครั้ง นำเลือดกระต่ายมา

แยกเอาแอนติซีรัมโดยแยกเฉพาะน้ำเหลืองทิ้งเม็ดเลือดแดง ได้แอนติซีรัมจำนวน 30 ml นำแอนติซีรัมมาทดสอบค่า titer ที่มีค่า titer 1: 25,000 ทดสอบความเฉพาะเจาะจงของแอนติซีรัม ได้ความเฉพาะเจาะจงของแอนติซีรัมที่มีต่อแบคทีเรีย *B. gladioli* ที่ 10^4 cfu/ml สกัด IgG จากแอนติซีรัมเพื่อใช้ในการผลิตชุดตรวจสอบ ทดสอบ IgG พบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมของ IgG คือ 1:500

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลิตแอนติซีรัม ของแบคทีเรีย *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli* โดยการแยกสกัดโปรตีน Membrane protein complex จากผนังเซลล์แบคทีเรีย โดยวิธี Li CL₂ extraction เพื่อใช้เป็นแอนติเจน ฉีดแอนติเจนเข้าไปในกระต่ายเพื่อผลิตแอนติซีรัม ได้แอนติซีรัมจำนวน 30 ml ที่มีค่า titer 1: 25,000 แอนติซีรัมมีความเฉพาะเจาะจงของแอนติซีรัมที่มีต่อแบคทีเรีย *B. gladioli* ที่ 10^4 cfu/ml สกัด IgG จากแอนติซีรัมเพื่อใช้ในการผลิตชุดตรวจสอบ ทดสอบ IgG พบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมของ IgG คือ 1:500

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
- สุนตรา ภาวิจิตร สุทธิพงษ์ ญาณวารี และ ศิริลักษณ์ โส่วสวัสดิ์. 2532. การศึกษาสาเหตุโรคเน่าของกล้วยไม้สกุลหวายทางเคมีและฟิสิกส์. รายงานความก้าวหน้าผลงานวิจัย กลุ่มงานแบคทีเรียวิทยา กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร หน้า 30-40.
- อนุพันธ์ อธิรัตน์ .2542. ภัยเงียบจากคลอริน. เอกสารประกอบการบรรยาย ณ ห้องประชุมกำธรสุวรรณกิจ กรมอนามัย.
- Chandrkrachang, S.2002. The applications of chitin and chitosan in agriculture in Thailand, in: K. Suchiva, S. Chandkrachang, 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.

การตรวจสอบเชื้อ *Candidatus Liberibacter species*
สาเหตุโรคฮวงหลงบิง (กรีนนิง) ด้วยเทคนิค Real-time PCR
Detection *Candidatus Liberibacter species* cause
of Huanglongbing (Greening) disease by Real-time PCR

ดารุณี ปุญญพิทักษ์ เยาวภา ตันตวานิช ณีฎฐิมา โฆษิตเจริญกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

โรคฮวงหลงบิง (Citrus Huanglongbing, HLB) หรือ ที่ประเทศไทยนิยม เรียกว่า โรคกรีนนิง (Citrus greening) เป็นโรคที่สำคัญที่สุดของพืชตระกูลส้ม โรคนี้เกิดจากเชื้อแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในท่ออาหาร Fastidious phloem-limited bacteria (FLB) หรือ Bacteria-like organism (BLO) ที่มีชื่อว่า *Candidatus Liberibacter species* เมื่อสัมผัสเชื้อ *Ca. Liberibacter* เข้าทำลายจะแสดงอาการใบเล็กเหลืองคล้ายอาการโรคใบแก้วซึ่งเกิดจากการขาดธาตุสังกะสี ใบต่างใบต่างเส้น ใบเขียว ใบแก่หนา และหยาบโค้งเส้นใบแตก กิ่งแห้ง ผลร่วง ต้นส้มแสดงอาการทรุดโทรม เนื่องจากอาการของโรครมีความหลากหลาย และมีอาการคล้ายขาดธาตุอาหารทำให้การวินิจฉัยโรคทางสายตาไม่สามารถยืนยันการเป็นโรคได้ การตรวจสอบโรคฮวงหลงบิงจึงมีความสำคัญ เป็นการตรวจสอบยืนยันการเกิดโรคกรีนนิง เพื่อจะได้หาแนวทางป้องกันกำจัดไม่ให้แพร่ระบาดเพิ่มมากขึ้น การทดลองนี้เป็นการพัฒนาวิธีการตรวจสอบโรคกรีนนิงโดยเทคนิค Real time PCR โดยดำเนินสังเคราะห์ probe และ primer ที่ออกแบบมาจาก 16S rDNA sequence -ของ *Ca. Liberibacter species* สาเหตุโรคฮวงหลงบิง (GenBank accession no. L22532 ของ Las, L22533ของ Laf และ Ay742824ของ Lam) ให้มีความเฉพาะเจาะจง ต่อเชื้อ *Ca. Liberibacter species* โดยทำการสังเคราะห์ probe ทั้งหมด 3 probe ได้แก่ Las, Laf และ Lam ทำการสกัดดีเอ็นเอของเชื้อ *Ca. Liberibacter species* จากตัวอย่างที่แสดงอาการของโรคกรีนนิง โดยใช้ชุดสกัด DNeasy Plant Kit (Qiagen) ทำการทดสอบ probe ที่ได้สังเคราะห์ไว้ทั้ง 3probe ใช้ในการตรวจเชื้อ *Ca. Liberibacter species* อยู่ในระหว่างการทดสอบprobe ในการตรวจเชื้อ *Ca. Liberibacter specie*

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-03-02-01-54

คำนำ

โรคฮวงหลงบิง (Citrus Huanglongbing, HLB) หรือ ที่ประเทศไทยนิยม เรียกว่า โรคกรีนนิ่ง (Citrus greening) เป็นโรคที่สำคัญที่สุดของพืชตระกูลส้ม เนื่องจากโรคนี้สามารถเข้าทำลายส้มทุกพื้นที่ที่มีการปลูกส้มทั่วโลก เช่น ประเทศในทวีปเอเชีย อนุทวีปอินเดีย แอฟริกา อเมริกาเหนือ 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 พบโรคฮวงหลงบิงเมื่อ พ.ศ. 2516 โดยกลุ่มงานไวรัสวิทยา กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร สันนิษฐานว่าน่าจะถูกนำเข้ามาจากประเทศจีน โดยการลักลอบนำเข้าพันธุ์ส้มต่างๆ จากประเทศจีน (ไมตรี, 2548) เมื่อส้มถูกเชื้อ *Ca. Liberibacter* เข้าทำลายจะแสดงอาการใบเล็กเหลืองคล้ายอาการโรคใบแก้วซึ่งเกิดจากการขาดธาตุสังกะสี ใบต่าง ใบต่างเส้น ใบเขียว ใบแก่หนาและหยาบโค้งเส้นใบแตก กิ่งแห้ง ผลร่วง ต้นส้มแสดงอาการทรุดโทรม (ไมตรี, 2548; Nakashima et al., 1998; Ohutsu et al., 1998; Bove, 2006; Li et al., 2007) เนื่องจากอาการของโรคมืดความหลากหลาย และมีอาการคล้ายขาดธาตุอาหารทำให้การวินิจฉัยโรคทางสายตาไม่สามารถยืนยันการเป็นโรคได้ การตรวจสอบโรคฮวงหลงบิง มีหลายวิธี เช่น การตรวจสอบด้วยพืชอาศัย วิธี ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay) วิธี IF (Immunofluorescence test) และวิธี PCR (Polymerase chain reaction) แต่วิธีการทั้งหมดที่กล่าวมาต้องใช้ระยะเวลาอันยาวนานกว่าจะทราบผลการตรวจสอบ 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 PCR เตรียมสารเคมีและอุปกรณ์สำหรับการสกัดดีเอ็นเอและตรวจสอบเชื้อ *Ca. Liberibacter species*

2. เตรียมสารเคมีและอุปกรณ์สำหรับใช้ในการสกัดดีเอ็นเอและตรวจสอบเชื้อ *Ca. Liberibacter species*

จากนั้นทำการออกแบบ probe และ primer ให้มีความเฉพาะเจาะจง ต่อเชื้อ *Ca. Liberibacter species*

2. สกัดดีเอ็นเอจากเส้นกลางใบสับด้วย CTAB buffer

3. ทดสอบหาสภาพที่เหมาะสมของปฏิกิริยา Real time PCR โดยการหา Tm ที่เหมาะสมของไพรเมอร์ เพื่อนำมาทำการทดสอบปฏิกิริยา Real time PCR จะได้ข้อมูลในการจับคู่ไพรเมอร์กับดีเอ็นเอต้นแบบ (annealing temperature) ที่เหมาะสม ตลอดจนทดสอบหาเวลาที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาในแต่ละช่วงเวลา

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* จากตัวอย่างโรคหวงลองบิง ที่เก็บจากแปลงปลูก โดยสุ่มเก็บตัวอย่างที่แสดงอาการโรคหวงลองบิงจำนวน 10 % จากตัวอย่างทั้งหมดในแปลงปลูก

7. การใช้วิธี Real-time PCR ในการตรวจวินิจฉัยโรคหวงลองบิง ในแปลงปลูก

ระยะเวลา ตุลาคม 2553 – กันยายน 2556

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
สวนส้มของเกษตรกร จากจังหวัดต่างๆใน ภาคเหนือ ภาคกลาง
ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 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 ดำเนินการสังเคราะห์ probe และ primer ที่ออกแบบมาจาก 16S rDNA sequence -ของ *Ca. Liberibacter species* สาเหตุโรคหวงลองบิง (GenBank accession no. L22532 ของ Las, L22533ของ Laf และ Ay742824ของ Lam) ให้มีความเฉพาะเจาะจง ต่อเชื้อ *Ca. Liberibacter species* โดยทำการสังเคราะห์ probe ทั้งหมด 3 probe ได้แก่ Las, Laf และ Lam ทำการสกัดดีเอ็นเอของเชื้อ *Ca. Liberibacter species* จากตัวอย่างที่แสดงอาการของโรคกรีนนิง โดยใช้ชุดสกัด DNeasy Plant Kit

(Qiagen) ทำการทดสอบ probe ที่ได้สังเคราะห์ไว้ทั้ง 3probe ใช้ในการตรวจเชื้อ Ca. Liberibacter species อยู่ในระหว่างการทดสอบprobe ในการตรวจเชื้อ Ca. Liberibacter specie

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 อยู่ในระหว่างการดำเนินการทดสอบ

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* associated with citrus huanglongbing. J. Microbiol. Methods. 66: 104-115.
- Li, W. B., J.S. Hartung and L. Levy. 2007. Evaluation of DNA amplification methods for improved detection of “*Candidatus Liberibacter species*” associated 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.

การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย

Xanthomonas axonopodis pv. *citri* ด้วยเทคนิค Real-time PCR
Detection of *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* using Real-time PCR

ณัฐริมา โฆษิตเจริญกุล ทิพวรรณ กันหาญาติ บุรณี พัววงศ์แพทย์ รุ่งนภา ทองเครื่อง
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* ด้วยเทคนิค Real-time PCR ดำเนินการโดยได้ออกแบบ primer ที่มีความจำเพาะต่อ *pth A* gene ของ แบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *citri* ได้แก่ pth154R / pth154F: และ J-RTpth3/ J-RTpth4 และ J-Taqpth2b ที่เฉพาะเจาะจงกับเชื้อแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *citri* สาเหตุโรคแคงเกอร์ของพืชตระกูลส้ม ผลการทดสอบความเฉพาะเจาะจงพบว่า primer ที่สังเคราะห์มา มีความเฉพาะเจาะจงกับแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *citri* อยู่ในระหว่างการทดสอบหาสภาพที่เหมาะสมของไพรเมอร์ในการตรวจแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *citri* ด้วยเทคนิค Real time PCR และทดสอบการตรวจหาแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *citri* จากตัวอย่างใบพืชที่เป็นโรคแคงเกอร์จากแปลงปลูก

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-03-02-02-54



คำนำ

โรคแคงเกอร์เป็นโรคที่สำคัญโรคหนึ่งของพืชตระกูลส้ม สามารถเข้าทำลายต้นส้มได้ในทุกส่วนของต้น และมักพบระบาดรุนแรงในช่วงฤดูฝน เมื่อเป็นโรคมักจะทำให้ต้นส้มทรุดโทรม ใบร่วงต้นแคระแกรน ผลผลิตลดลงและไม่มีคุณภาพ สาเหตุของโรคเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (= *Xanthomonas campestris* pv. *citri*) จากการศึกษาเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้สามารถแบ่งกลุ่มตามการแพร่ระบาดในแหล่งต่างๆทั่วโลก (geographic distribution) และตามพืชอาศัย (Host range) 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 ทำให้จำเป็นต้องหาวิธีการป้องกันกำจัดโรคนี้นั้นจะไม่สามารถส่งผลส้มไปขายได้ เพราะเชื้อโรคนี้นี้เป็นเชื้อที่สำคัญทางกักกันพืช 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 สตอเบอร์รี่ โดยใช้ specific primer และ nested PCR พบว่า specific primer RST2 และ 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) ได้ทำการศึกษารวบรวมเชื้อ *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 นำมาทดสอบโดยใช้เทคนิค PCR 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 axonopodis* pv. *citri* โดยใช้ specific primer ในการเพิ่มปริมาณในส่วน of plasmid DNA ของเชื้อแบคทีเรีย PCR product ที่ได้ถูกนำมาใช้ในการตรวจหาโดยวิธี immunocapture โดยใช้ monoclonal antiserum ในการตรวจสอบพบว่า สามารถตรวจหาเชื้อในใบส้มได้ในปริมาณที่ต่ำได้ โดยมีประสิทธิภาพเพิ่มมากกว่าการใช้ nested PCR อย่างเดียวอยู่ถึง 100 เท่า

ณัฐริมา 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 และวิเคราะห์ตามเวลาจริงที่เกิดขึ้นในหลอด PCR โดยสามารถนำไปใช้เครื่อง RAPID machine ที่สามารถพบพาไปใช้ในแปลงปลูกได้ นำไปใช้ตรวจสอบโรคแคงเกอร์ในแปลงปลูกโดยสามารถตรวจสอบใบส้มที่เป็นโรคเพียงจุดแผลเล็กๆแผลเดียว โดยมีความไวในการตรวจจับความเข้มข้นต่ำสุดของเชื้อ *X. axonopodis* pv. *citri* 10 CFU/แผล และเป็นกรายงานผลครั้งแรกในการใช้วิธีนี้ไปตรวจหาเชื้อ *X. axonopodis* pv. *citri* บนตัวอย่างแห้งโรครีซ ที่เก็บไว้ตั้งแต่ ปี 1912 ในพิพิธภัณฑ์โรครีซ

การศึกษาในครั้งนี้เป็นการนำเอาเทคนิค Real time PCR ซึ่งเป็นเทคนิคทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพที่มีความปลอดภัยสูง ไม่ต้องใช้สารที่เป็นอันตราย สามารถแสดงผลได้ในเวลาอันรวดเร็ว มาปรับใช้ในการตรวจสอบ ให้เกิดความรวดเร็ว แม่นยำ และมีประสิทธิภาพ ลดการระบาดของโรคและสามารถหาทางป้องกันกำจัดได้ทันถ่วงที และสามารถนำไปปรับใช้ในงานกักกันพืชต่อไปในอนาคตได้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ได้แก่ ตู้แช่แข็งชนิดปลอดเชื้อ 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 ทรายกลางต้นไม้ 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) *pthA1*, *pthA2*, *pthA3*, *pthA4* (Gene Bank accession AE008925) จำนวน 1 คู่สาย นำไปสังเคราะห์ primer จาก หน่วยบริการชีวภาพ ศูนย์พันธุวิศวกรรมแห่งชาติ โดยมี primer 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 ใช้ลูบฆ่าเชื้อ และเชื้อแบคทีเรียให้เติมหนึ่งลูบ ละลาย ใน 1 มิลลิลิตร Resuspension buffer (0.15 M NaCl และ 0.01M EDTA pH 8.0) นำไปปั่นตกตะกอนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง Hettich (Universal 116, Germany) 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 °C ผสมให้เข้ากัน วางบนน้ำแข็ง 5 นาที เติมด้วย 500 ไมโครลิตร chloroform/iso-amyl-alcohol (24/1) ผสมให้เข้ากัน นำไปปั่นตกตะกอนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง Hettich (Universal 116, Germany) ที่ความเร็วรอบ 14,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที เก็บส่วนน้ำใสข้างบน ใส่หลอดใหม่ที่บรรจุ สาร isopropanol ที่แช่เย็นใน ตู้เย็น -20 °C จำนวน 378 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยการพลิกหลอดกลับไปมา จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงเพื่อเก็บตะกอน genomic DNA ที่ความเร็วรอบ 14000 รอบต่อ

นาที่ นาน 10 นาที ล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วย 150 ไมโครลิตร ของ 70 % ethanol จำนวน 2 ครั้ง ที่ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง ลายตะกอน DNA ด้วย TE buffer pH. 8.0 ปริมาณ 100 ไมโครลิตร วัด ปริมาณความเข้มข้น และคุณภาพของดีเอ็นเอ 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 T_m ที่เหมาะสม ของไพรเมอร์ เพื่อนำมาทำการทดสอบปฏิกิริยา Real time PCR จะได้อุณหภูมิในการจับคู่ไพรเมอร์ กับดีเอ็นเอต้นแบบ (annealing temperature) ที่เหมาะสม ตลอดจนทดสอบหาเวลาที่เหมาะสมใน การทำปฏิกิริยาในแต่ละช่วงเวลา 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 โดยใช้ สภาพที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 3 มาทำการทดสอบความจำเพาะของ primer โดยใช้ DNA และเซลล์ของ เชื้อแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *citri* ความเข้มข้นของ DNA ที่ 50 ng และความเข้มข้นของเซลล์ ที่ 10^8 cfu/ml การทดสอบความไวในการตรวจสอบเชื้อแคแองเกอร์ (sensitivity) ของ primer เป็นการทดสอบ primer ที่ออกแบบไว้ โดยใช้สภาพที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 3 โดยใช้ DNA ของเชื้อ แบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *citri* ที่มีความเข้มข้น 8 ระดับ ตั้งแต่ 50 นาโนกรัม ถึง 100 เฟมโต กรัม 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* จาก ตัวอย่างโรคแคแองเกอร์** ทำการเก็บตัวอย่างโรคแคแองเกอร์ของส้มโอจากแปลงเกษตรกรใน 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 ที่มีส่วนตะกอน นำ 2 ul ของตัวอย่างเป็นต้นแบบในการทำปฏิกิริยา Real time PCR ตามปฏิกิริยาที่กล่าวมาแล้วข้างต้น และทุกตัวอย่างเปรียบเทียบกับ การตรวจเชื้อบนอาหาร semi-selective for *Xanthomonas* (SX media) โดยนำตัวอย่างโรคแคแองเกอร์แต่ละตัวอย่างปริมาณ 50 ไมโครลิตรไปเกลี่ยให้ทั่วบนอาหารเลี้ยงเชื้อ SX โดยใช้แท่งแก้วรูปตัวแอล บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28°C นาน 72 ชั่วโมง ตรวจนับปริมาณเชื้อที่ขึ้นบนอาหาร

เวลาและสถานที่

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

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* ด้วยเทคนิค Real-time PCR ดำเนินการโดยได้ออกแบบ primer ที่มีความจำเพาะต่อ *pth A* gene ของ แบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *citri* ได้แก่ pth154R / pth154F: และ J-RTpth3/ J-RTpth4 และ J-Taqpht2b ที่เฉพาะเจาะจงกับเชื้อแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *citri* สาเหตุโรคแคงเกอร์ของพืชตระกูลส้ม ผลการทดสอบความเฉพาะเจาะจงพบว่า primer ที่สังเคราะห์มามีความเฉพาะเจาะจงกับแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *citri* อยู่ในระหว่างการทดสอบหาสภาพที่เหมาะสมของไพรเมอร์ในการตรวจแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *citri* ด้วยเทคนิค Real time PCR และทดสอบการตรวจหาแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *citri* จากตัวอย่างใบพืชที่เป็นโรคแคงเกอร์จากแปลงปลูก

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* ด้วยเทคนิค Real-time PCR ดำเนินการโดยได้ออกแบบ primer ที่มีความจำเพาะแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *citri* อยู่ในระหว่างการทดสอบหาสภาพที่เหมาะสมของไพรเมอร์ในการตรวจแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *citri* ด้วยเทคนิค Real time PCR และทดสอบการตรวจหาแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *citri* จากตัวอย่างใบพืชที่เป็นโรคแคงเกอร์จากแปลงปลูก

เอกสารอ้างอิง

- ณัฐริมา โฆษิตเจริญกุล อรวรรณ ชัชวาลการพาณิชย์ ปิยะรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ วิชัย โฆสิตรัตน์ และวงศ์ บุญสืบสกุล. 2548. การพัฒนาวิธีการตรวจหาเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรครากเน่าของพืชตระกูลส้มโดยวิธี Polymerase Chain Reaction. วารสารโรคพืช ปีที่19 ฉบับที่1-2 หน้า 35-46.
- อำไพวรรณ ภราดรณวัฒน์, วิชัย ก่อประดิษฐ์สกุล, วิเชียร กำจายภัย, สุพัฒน์ อรรถธรรม และนิพนธ์ ทวีชัย, 2527 , โรคส้มในประเทศไทย. โรงพิมพ์ หจก. พันนี้พับลิชชิง , 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* สาเหตุโรคเหี่ยวสับประรดโดยเทคนิค multiplex PCR

Detection of *Pineapple mealybug wilt-associated virus -1* and *-2* using Multiplex PCR Technique

วันเพ็ญ ศรีทองชัย ปรีเชษฐ์ ตั้งกาญจนภาสณี กาญจนา วาระวิชนี

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การพัฒนาวิธีการตรวจสอบไวรัสสาเหตุโรคเหี่ยวสับประรดทั้ง 2 strain (PMWaV-1 และ PMWaV-2) ในปฏิกิริยาเดียวกัน โดยอาศัยเทคนิค Multiplex RT-PCR เริ่มจากการออกแบบไพรเมอร์บริเวณ (1) Heat shock protein gene (HS) ที่มีความจำเพาะต่อไวรัส PMWaV-1 ได้แก่ PM1_HS_M_F และ PM1_HS_M_R ซึ่งให้แถบดีเอ็นเอขนาด 635 คู่เบส และไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อไวรัส PMWaV-2 ได้แก่ PM2_HS_M_F และ PM2_HS_M_R ซึ่งให้แถบดีเอ็นเอขนาด 380 คู่เบส (2) บริเวณ Coat protein gene (CP) ที่มีความจำเพาะต่อไวรัส PMWaV-1 ได้แก่ PM1_CP_M_F และ PM1_CP_M_R ซึ่งให้แถบดีเอ็นเอขนาด 428 คู่เบส และไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อไวรัส PMWaV-2 ได้แก่ PM2_CP_M_F และ PM2_CP_M_R ซึ่งให้แถบดีเอ็นเอขนาด 727 คู่เบส หลังจากการสกัดอาร์เอ็นเอ ของเชื้อ PMWaV-1 และ PMWaV-2 จากใบสับประรดเป็นโรคโดยใช้ชุดสกัดสำเร็จรูป แล้วนำมาทดสอบและปรับระยะเวลารวมทั้งอุณหภูมิให้เหมาะสมในการสังเคราะห์เพิ่มปริมาณ cDNA โดยเทคนิค Multiplex RT-PCR พบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับระยะ annealing ของ HS gene คือ 60 °ซ และ CP gene คือ 62 °ซ จากการทดสอบการใช้ไพรเมอร์ที่ออกแบบไว้จากยีน HS และ CP โดยเทคนิค multiplex RT-PCR เปรียบเทียบกับไพรเมอร์ที่ใช้ตรวจสอบ PMWaV-1 และ PMWaV-2 เพียง strain เดียว โดยเทคนิค RT-PCR ปรากฏว่า ให้ผลวิเคราะห์ด้วยวิธี gel electrophoresis ตรงกัน

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-03-02-04-54

คำนำ

สับปะรดเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย สามารถปลูกและเก็บผลผลิตได้ตลอดปี เพื่อใช้บริโภคสดภายในประเทศและแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆมีมูลค่าส่งออกประมาณปีละ 13,000-15,000 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 สำหรับประเทศไทยมีรายงานพบการระบาดของโรคเหี่ยวในแหล่งปลูกสับปะรดของจังหวัดชลบุรี ตั้งแต่ปี 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 พันธุ์ที่พบมีการระบาดของโรคเหี่ยว 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 กรดนิวคลีอิกเป็นแบบอาร์เอ็นเอสายเดี่ยว (single-stranded RNA, ssRNA) และมีน้ำหนักโมเลกุล 8.35×10^6 ดาลตัน (dalton) จัดอยู่ในสกุล คลอสเตอโรไวรัส (*Closterovirus*) วงศ์ คลอสเตอโรไวรัส (*Closteroviridae*) กระจายอยู่หนาแน่นเฉพาะภายในเซลล์ที่อาหารของพืช (Beardsley, 1993)

ลักษณะอาการของโรค ใบเริ่มแสดงอาการอ่อนน้อม มีสีเขียวอ่อนหรือสีเหลือง ปลายใบแห้งตายเป็นสีน้ำตาลหรือสีแดงลามเข้าสู่โคนใบ (die back) ใบลู่ลงและแผ่นแบนไม่ตั้งขึ้นเหมือนใบปกติ 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)

วิธีการตรวจสอบหาเชื้อสาเหตุในสัปดาห์แรกโดยใช้แมลงพาหะ อาการเหี่ยวบนพืชทดสอบเริ่มปรากฏหลังการถ่ายทอดโรคแล้วอย่างน้อย 4 เดือน หรือใช้เทคนิคทางอณูชีววิทยา เช่น เทคนิค RT-PCR ซึ่งให้ผลที่แม่นยำ และรวดเร็ว แต่ต้องตรวจสอบครั้งละ 1 strain ทำให้ต้องเสียค่าใช้จ่ายสูงในการตรวจสอบหน่อพันธุ์สัปดาห์แรกเป็นจำนวนมาก

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 ได้เป็นอย่างดี Lorenzen และคณะ (2006) รายงานว่าสามารถพัฒนาการตรวจสอบไวรัสของมันฝรั่ง (*Potato virus Y*, PVY) หลาย strains 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 ชุดของไพรเมอร์ ประกอบด้วย upstream primer ที่พบในทั้ง 2 ไวรัส ส่วนอีก 2 downstream primer มีความจำเพาะกับไวรัสแต่ละชนิด โดยออกแบบไพรเมอร์ที่มีขนาดนิวคลีโอไทด์ 368 คู่เบส สำหรับตรวจ ACMV และ 650 คู่เบส สำหรับตรวจ EACMCV สำหรับอีกชุดของไพรเมอร์ ประกอบด้วยไพรเมอร์ที่ให้ PCR product 540 คู่เบส และ 655 คู่เบส สำหรับตรวจยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคไวรัส EACMCV และ ACMV ตามลำดับ ซึ่งสามารถนำไปใช้ตรวจมันสำปะหลังในแปลงปลูกในประเทศไนจีเรีย อันจะนำไปสู่การคัดเลือกหน่อพันธุ์ปลอดไวรัสต่อไปในอนาคต ฉะนั้นการทดลองครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อพัฒนาการตรวจสอบไวรัสสาเหตุโรคเหี่ยวทั้ง 2 strain (PMWaV-1และ-2) ในปฏิกิริยาเดียวกัน

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ต้นสัปดาห์แรกที่เป็นโรคเหี่ยว 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 โดยออกแบบไพรเมอร์บริเวณ

1.1 Heat shock protein gene (HS) ที่มีความจำเพาะต่อไวรัส PMWaV-1 ได้แก่ PM1_HS_M_F และ PM1_HS_M_R สำหรับไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อไวรัส PMWaV-2 ได้แก่ PM2_HS_M_F และ PM2_HS_M_R (รูปที่ 1)

1.2 Coat protein gene (CP) ที่มีความจำเพาะต่อไวรัส PMWaV-1 ได้แก่ PM1_CP_M_F และ PM1_CP_M_R สำหรับไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อไวรัส PMWaV-2 ได้แก่ PM2_CP_M_F และ PM2_CP_M_R (รูปที่ 1)

Primer	Sequence (5'-3')	Position	Gene	Virus strain
PM1_HS_M_F	CCACTCTGTGTTTCTCTCCAGG	37	HS	PMWaV-1
PM1_HS_M_R	CTCCCAGATAGTTATCTCCCATCG	672	HS	PMWaV-1
PM2_HS_M_F	CAAGGACGGGTCGGTAATGCTAG	59	HS	PMWaV-2
PM2_HS_M_R	CCAACGCTAAACAGTACGCATACC	439	HS	PMWaV-2
PM1_CP_M_F	CTAATGCACACAAGGTGATAGGATC	218	CP	PMWaV-1
PM1_CP_M_R	GCATCATCACCGTGTACTCTGGC	647	CP	PMWaV-1
PM2_CP_M_F	CGTAGCCGTAGTAGAAGGCAC	15	CP	PMWaV-2
PM2_CP_M_R	GAACTGCTTGGTACTCCGTG	742	CP	PMWaV-2

ตารางที่ 1. รายละเอียดของไพรเมอร์ที่ออกแบบจากยีน Heat shock protein (HS) และยีน Coat protein (CP) ให้มีความจำเพาะกับไวรัสแต่ละ strain (PMWaV-1 และ PMWaV-2)

2. การสกัด อาร์เอ็นเอ ของเชื้อ PMWaV-1 และ PMWaV-2 จากใบสับปะรด

โดยใช้ชุดสกัดสำเร็จรูป (MasterPure™ RNA Purification Kit ของบริษัท EPICENTRE)

2.1 เก็บตัวอย่างพืช 1 – 5 มิลลิกรัม ใช้ทำไต้ทันที 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 นำไปปั่นที่ 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 แล้วพลิกหลอดขึ้นลง 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 และ coat protein gene ที่มีความจำเพาะกับไวรัส PMWaV แต่ละ strain และใช้ชุดสารเคมีของ QIAGEN OneStep RT-PCR ในการเพิ่มปริมาณ complementary DNA (cDNA) โดยมีปฏิกิริยา ดังนี้

5X QIAGEN OneStep RT-PCR buffer	4.0 ไมโครลิตร
dNTP 10 uM (2.5 uM each)	0.8 ไมโครลิตร
Primer PM1_HS_M_F (10 uM)	1.2 ไมโครลิตร
Primer PM1_HS_M_R (10 uM)	1.2 ไมโครลิตร

Primer PM2_HS_M_F (10 uM)	1.2 ไมโครลิตร
Primer PM2_HS_M_R (10 uM)	1.2 ไมโครลิตร
Enzyme Reverse Transcriptase Hot StarTaq DNA Polymerase	0.8 ไมโครลิตร
dH ₂ O (RNase-free water)	11.0 ไมโครลิตร
Template (RNA)	1.0 ไมโครลิตร
รวม	20.0 ไมโครลิตร

นำหลอดที่ผสมปฏิกิริยามาใส่ในเครื่อง Thermal cycler เพื่อสังเคราะห์ cDNA ตาม program ดังนี้

OneStep RT-PCR Profile		
	50 °ซ	30 นาที
	95 °ซ	15 นาที
Denaturing	94 °ซ	45 วินาที
Annealing	60,62 °ซ*	45 วินาที
Extension	72 °ซ	1 นาที
	72 °ซ	10 นาที
	25 °ซ	15 นาที

} 35 รอบ (cycle)

ตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยา PCR ด้วย 2 % agarose gel electrophoresis ที่กระแสไฟฟ้า 100 โวลท์ ใน TAE บัฟเฟอร์ เป็นเวลา 30 นาที

จากนั้นนำ PCR product มาทำให้บริสุทธิ์ โดยการเติม PCR product ต่อ PEG (26.2% Polyethylene glycol 8000, 6.6 mM MgCl₂, 0.6 M sodium acetate) อัตรา 1 : 1 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 20 -30 นาที แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำตะกอนที่ได้ล้างด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ทำการตรวจสอบความบริสุทธิ์ PCR product อีกครั้ง จากนั้นนำมาเชื่อมต่อเข้าเวกเตอร์ pGEM-T-Easy และ heat shock เข้าเซลล์แบคทีเรีย *E. coli* (DH5 α) และคัดเลือกโคโลนีบนอาหาร 2xYT + ampicillin + IPTG + Xgal เลือกเฉพาะโคโลนีสีขาว เพื่อนำไปเลี้ยงเพิ่มปริมาณบนอาหารเหลว 2xYT จากนั้นสกัดพลาสมิดออกทำการสกัดพลาสมิดวิธี Alkaline lysis แล้วนำไปตรวจสอบขนาดของชิ้นดีเอ็นเอ โดยเทคนิค PCR พร้อมทั้งส่งตัวอย่างไปตรวจสอบลำดับเบส

4. ทดสอบความเฉพาะเจาะจงของไพรเมอร์กับตัวอย่างพืชที่เก็บจากแปลงสับปะรด

โดยนำตัวอย่างสับปะรดที่เป็นโรคเหี่ยวมาแยกสกัดอาร์เอ็นเอ (ตามวิธีข้อ 2) แล้วเพิ่มปริมาณ cDNA โดยใช้ไพรเมอร์ที่ออกแบบไว้จากยีน HS และ CP ด้วยเทคนิค multiplex RT-PCR เปรียบเทียบกับไพรเมอร์ที่ใช้ตรวจสอบ PMWaV-1 และ PMWaV-2 เพียง strain เดียว ด้วยเทคนิค

RT-PCR ได้แก่ ไพรเมอร์ Pa222-F1 (5'-ACAGGAAGGACAACACTCAC-3') และ Pa223-R1 (5'-CG CCAAACCTTCAAGCAATC-3') เพื่อตรวจหาไวรัส PMWaV-1 ส่วนไวรัส PMWaV-2 ใช้ไพรเมอร์ Pa224-F2 (5'-CATACGAACTAGACTCATACG-3') และ Pa225-R2 (5'-CCATCCACCAATTTTAC TAC-3') (วันเพ็ญ และคณะ, 2553)

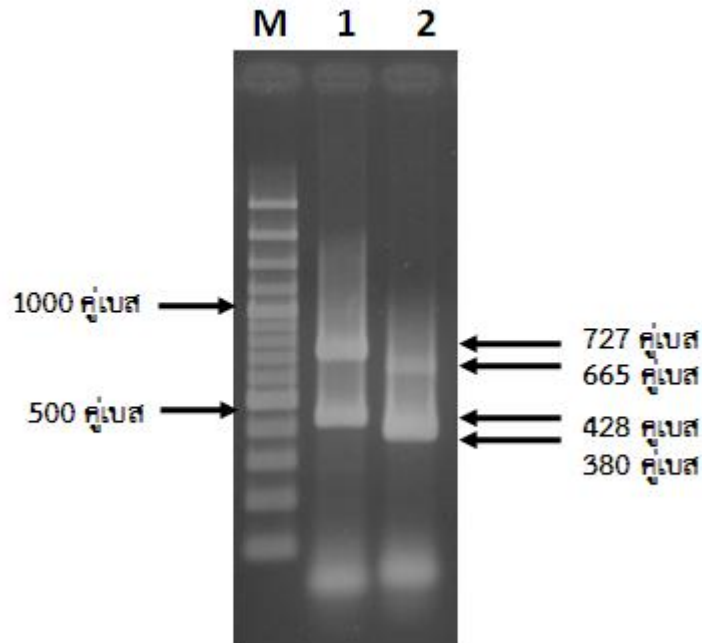
เวลาและสถานที่ ระยะเวลา ตุลาคม 2553 – กันยายน 2555
สถานที่ กลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ออกแบบไพรเมอร์

ออกแบบไพรเมอร์ บริเวณ Heat shock protein gene ที่มีความจำเพาะต่อไวรัส PMWaV-1 ได้แก่ PM1_HS_M_F : 5' CCACTCTGTGTTTCTCTCCAGG 3' และ PM1_HS_M_R : 5'CTCCCAGATA GTTATCTCCCATCG 3' ซึ่งให้แถบดีเอ็นเอขนาด 635 คู่เบส และ ไพรเมอร์บริเวณ heat shock gene ที่มีความจำเพาะต่อไวรัส PMWaV-2 ได้แก่ PM2_HS_M_F: 5' CAAGGA CGGGTCGGTAATGCTAG 3' และ PM2_HS_M_R : 5' CCAACGCTAAACAGTA CGCATACC 3' ซึ่งให้แถบดีเอ็นเอขนาด 380 คู่เบส (รูปที่ 1)

สำหรับการออกแบบไพรเมอร์จากบริเวณ Coat protein gene ที่มีความจำเพาะต่อไวรัส PMWaV-1 ได้แก่ PM1_CP_M_F : 5' CTAATGCACACAAGGTGATAGGATC 3' และ PM1_CP_M_R : 5'GCATCA TCACCG TGACTCTGGC 3' ซึ่งให้แถบดีเอ็นเอขนาด 428 คู่เบส และไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อไวรัส PMWaV-2 ได้แก่ PM2_CP_M_F: 5' CGTAGCCGTAGTAGA AGGCAC 3 และ PM2_CP_M_R : 5' GAACTGCTTGGGTACTCC GTG 3' ซึ่งให้แถบดีเอ็นเอขนาด 727 คู่เบส (รูปที่ 1)



รูปที่ 1. ผลวิเคราะห์การตรวจสอบดีเอ็นเอของไวรัส PMWaV-1 และ PMWaV-2 ของ
สับปะรดโดยเทคนิค Multiplex RT-PCR

M : ดีเอ็นเอมาตรฐาน (100 bp. DNA Ladder, Fermentas)

1 : ใช้ไพรเมอร์ที่ออกแบบจากยีน Heat shock protein

2 : ใช้ไพรเมอร์ที่ออกแบบจากยีน Coat protein

2. ทดสอบและปรับระยะเวลารวมทั้งอุณหภูมิให้เหมาะสมในการสังเคราะห์เพิ่มปริมาณ cDNA โดยเทคนิค Multiplex RT-PCR

ผลการทดลอง พบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับระยะ annealing ของ Heat shock gene คือ 60°C และ Coat protein gene คือ 62°C หลังจากนำ PCR product มาทำให้บริสุทธิ์ แล้วเชื่อมต่อเข้าเวกเตอร์ pGEM-T-Easy และ heat shock เข้าเซลล์แบคทีเรีย *E. coli* (DH5 α) และคัดเลือกโคโลนีบนอาหาร 2xYT +ampicillin +IPTG + Xgal เพื่อนำไปเลี้ยงเพิ่มปริมาณบนอาหารเหลว 2xYT จากนั้นสกัดพลาสมิดออก แล้วนำไปตรวจสอบขนาดของชิ้นดีเอ็นเอ โดยเทคนิค PCR พร้อมทั้งส่งตัวอย่างไปตรวจสอบลำดับเบส พบว่า ลำดับเบสตรงตามที่ออกแบบไว้ (รูปที่ 2)

ลำดับเบสของไวรัส PMWaV-1 จากจีโนมของ Coat protein gene (665 คู่เบส)

ATGGCTGATTCGAGCAAAACAAAACACCTGAACATGCTGACTCTGGGCTAAGACAGTGAAGACCAAGTCAAGGAAATAATGAA
 CCTACCTGTGCCGGGAGGTAGGACTACTGTGTCGACGTTTGAAGATTTGATAGCAGCCGAAAATGCTATAATTGATTTCCACCAAGG
 TTGATGTACCACGCATGATTAACGTTCCGATCCCAGGAATAGTTA **CTAATGCACACAAGGTGATAGGATC** → CAAAGCTCTGTGGGAG
 TTGGTAAATCGAAGGTATATCAGAATCGGCGAAACACATGATCCAATTTTTGATGCAATCTTTCCAAGATATGTGCACCTTTTCT
 ACATCACCGAAAGTTTCGGCGACTCAGAACTACTCCACCACAGCTAAGTATGATGGTAAAGATGTTAACGTCACGCACGAGGAGAT
 CAGAATTGCTTTGAGCAACTCACTATCCAATTTGGGATACGATAATCCTATGAGACAGTTTGGGAGAGTTTTACTCCACAATTGT
 TCAAGGACTGAGTTCTGGGAAGTTGGTGGTAACTACTAGGATATGACTAAGAACGGAGTACCGAGGAATTACTCGTCTATC
 CAGATTGCTTACACGTAGAAG **GCCAGAGTACACGGTGTATGTC** ← AGCGTTGGTAAAGTGAAGTACCGAGAATGGTAGCCATAAACAGA
 GCAAACCTCGAGTGGTTCTGGCGAACACAACGCTTTTGGAGAAGACGGCTGTGTCCCGCACATCTTTATGGGTGGACGCAAATAA

ลำดับเบสของไวรัส PMWaV-2 จากจีโนมของ Coat protein gene (803 คู่เบส)

ATGGCTCAGAATTA **CGTAGCCGTAGTAGAAGGCAC** → TATTCTCGAAAGTTTACGGCTCCACCTAACGATTTAGAGTGGCGACGTC
 TGATGTGGGAAATATTACGATAGTAGCAAATACNCGCTCTGTAACGGGCGTAGCTACAGCCGAGAGGGATCGGTTACCAGCGATA
 GAGGAACTGAACTATTGGCAACAATCCCAACGGAAGCTTCAACAGATAAGGGTGTATTCTGAGACTGTTAAGAGGTCGAGTAA
 TAAACCAGAAATAGTAGATGATGATCAACGTTGCTGTTAAATCCTAGAAAGAACGTTGACTAAATATTGGATCGGTTAAAACCGT
 GCCAAAGGTAGTTAATCAGCCGGGTTTGGATATCCCGGGAGATTGCTATCCGTATAGGAGAGGCTCTGAAGGAACATTGCAAAACAAG
 TTATGGGTTCCGATAGTAGTACGGACTTAGCTACATACTTTATACATTTGATTCAACTCGCTATTACGTTTCTACATCCAAAAATA
 GCGAATACAAAGATTTGACTATATAGAAACAGAGACGCAAAAGAAAATATACATCAAGGACGTGAGTGAAGTGGTTGAGAGAGCG
 GCGATGAATTCGGGTACGAAAACCGTTTAGGCAATATATGCGTTATTTTACAAGCTCGAGTATAACACTAACTTTAAATGGTAAA
 ATAACACCTAACGAGAGAATATGGCTCAT **CACGGAGTACCAAGCAGTTC** ← TTTGCATATACTTACGATTTTATTGACCCCGACTA
 TAGCCTCATGAATCATTCCGGCGATTAATGCTTACAACCTTAGCGAGGATCAAGCATTAAAGAATAAGATAGCTTCAGTGAACAATAC
 TATGCATAACATACCAGCTGAACCAGGGAGCTGTTTCAGGGTAG

ลำดับเบสของไวรัส PMWaV-1 จากจีโนมของ Heat shock protein gene (690 คู่เบส)

ATGGAGGTGGGTATTGATTTTGGCACCCTATT **CCACTCTGTGTTCTCTCCAGG** → TAAAGGAAATGATGGTTGTGGTAGAGAGTG
 ACACGATATTTATACCTACTGTGTTGGTTACAGGAAGGACAACTCACGCCATAGTTTGGGGCACTGTTGGAAAAGACTTAGA
 GGTTTATCGTGATATAAAAAGGATTTCCGGACTCAACAAGTTCAACAAAGATGTGTATCTCGATAAATTGAAACCCACAATCGAGGTA
 GTGATTGACGACTGGGGTTGTTCTATAGGACCAGTAGACGGTGCAGAGGGAAAGCCAAATCAGTTCTACTTTAGCCTCTGATTTTA
 TAACGGGATTGGTACAACCTAGCGATCAAGATGACGAATCAACAAGTATCTGTGCTGTTTGTTCAGTACCAGCAGCTTACAATCTTAT
 CAAAGGAGTTTTATTTTGAAGTTGTAAGTTGAGCTCTATAAATGTGCAGGCGGTAGTAAACGAACCGACCGCAGCTGGATTGAGTG
 CTTTCATAACTACCCGAAAGCTTCTGTGAATTTTGTAGTCTACGATTTCCGGAGGAGGCACTTTTGTAGTTCCTTACTCGTGGTT
 GGGCCTGCGTACGTGGGAGTACTGGATT **CGATGGGAGATAACTATCTGGGAG** ← GCAGGGACGTAGATAACA

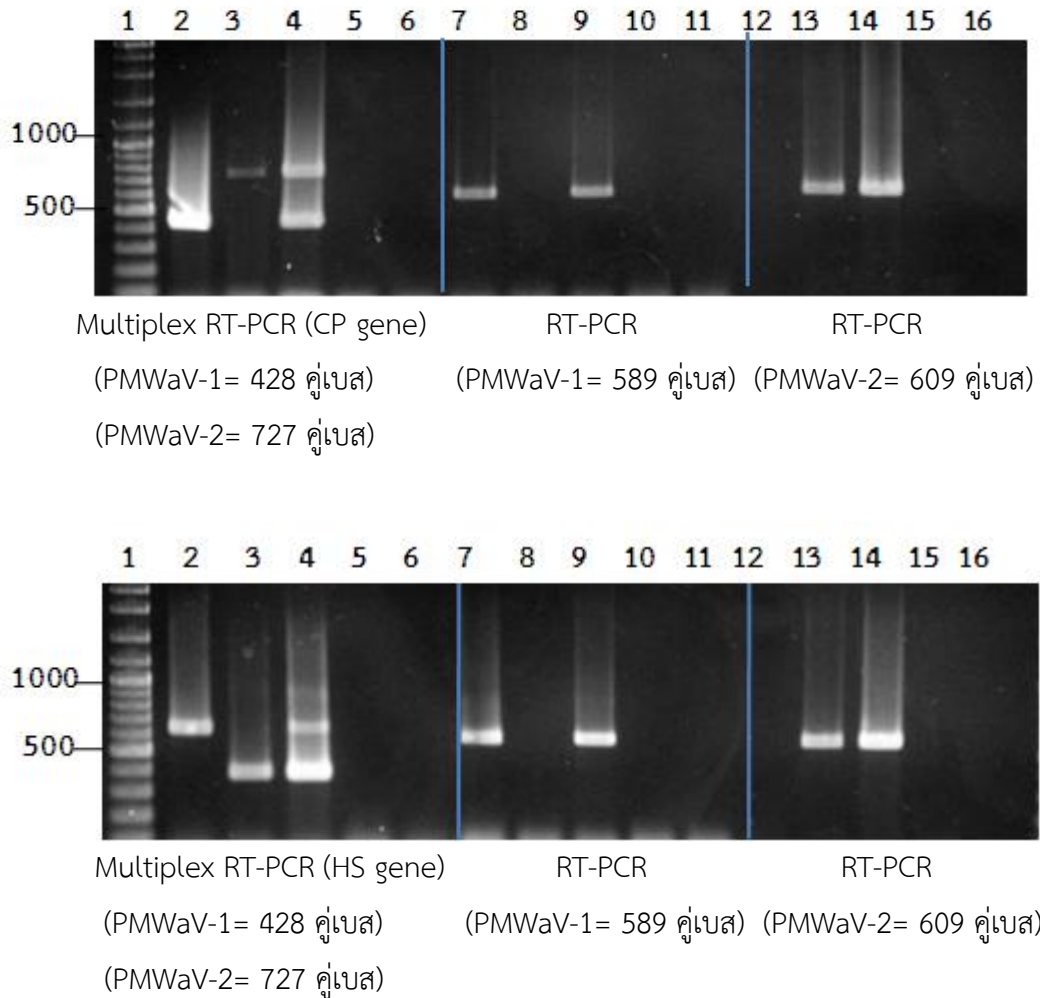
ลำดับเบสของไวรัส PMWaV-2 จากจีโนมของ Heat shock protein gene (610 คู่เบส)

CATACGAAGTACTACATCGTCTAAAATTAACCCAGTGACAGAGTGAAGTGTT **CAAGGACGGGTCGGTAAATGCTAG** → GGGGAT
 TGGTGAAGGCCCTGATAGGACGGTCTCTGTAACGGATATCATATCCCTTTTTTCTAAAGCACTTATAAAGGAAGCGGAACAGTCTACT
 GGACTACGCGTAACGGGTGCGGTGGTAAACGGTACCAGCCGACTACAACCTTTTTAAACGTAGTTTTATAACTAACTGCATGAAAGACT
 TGGGTATTCCAGTAAGGGCTATAGTAAATGAACCGACCGCTGCAGCGTTATTTCTTTATCTATATTACAAGAAAAGGATTTATTTCTG
 TCTGTTTTGACTTTGGTGGAGGGACGTTTGTATGTCTTTTGTAGAAAACCTCGGAGATGT **GGTATGCGTACTGTTTAGCGTTGGCG** ←
 ATAACTTTTAGGGGAAGGGATATCGACAGGGCGGTAGCAGCTGAGGTGAAGGCAAGAGTGGGCAATCTATTGATACAGTACATT
 GTCATTATTTGCAGCGTCTATTAAGAGGAGGTGACTAATGAGCCGAGGGCAAAGACGCACGTAGTAAAATTGGTGGATGG

รูปที่ 2. ลำดับเบสของไวรัส PMWaV-1 และ PMWaV-2 จากจีโนมของ Coat protein gene และ Heat shock protein gene

3. ทดสอบความเฉพาะเจาะจงของไพรเมอร์กับตัวอย่างพืชที่เก็บจากแปลงสับปะรด

การเปรียบเทียบการใช้ไพรเมอร์ที่ออกแบบไว้จากยีน HS และ CP กับไพรเมอร์ที่ใช้ตรวจสอบ PMWaV-1 และ PMWaV-2 เพียง strain เดียว ได้แก่ ไพรเมอร์ Pa222-F1 และ Pa223-R1 เพื่อตรวจหาไวรัส PMWaV-1 ส่วนไวรัส PMWaV-2 ใช้ไพรเมอร์ Pa224-F2 และ Pa225-R2 จากตัวอย่างสับปะรดเป็นโรค ปรากฏว่า ผลการวิเคราะห์โดยวิธี agarose gel electrophoresis เกิดแถบ (band) ของ PCR product จากการใช้ไพรเมอร์แบบ multiplex PCR ทั้งจากยีน Coat protein (PMWaV-1 = 428 คู่เบส, PMWaV-2 = 727 คู่เบส) และยีน Heat shock protein (PMWaV-1 = 635 คู่เบส, PMWaV-2 = 380 คู่เบส) ผลตรงกับการใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อ PMWaV แต่ละ strain (PMWaV-1 = 589 คู่เบส, PMWaV-2 = 609 คู่เบส) (รูปที่ 3) ฉะนั้นสามารถเลือกใช้ไพรเมอร์ที่ออกแบบจากยีน CP หรือ HS ในการตรวจไวรัสโรคเหี่ยวสับปะรดทั้ง 2 strain โดยใช้เทคนิค multiplex PCR ซึ่งช่วยประหยัดเวลาและค่าใช้จ่ายได้เป็นอย่างดี



รูปที่ 3. ผลวิเคราะห์การตรวจสอบดีเอ็นเอของไวรัส PMWaV-1 และ PMWaV-2 ของสับปะรดโดยเทคนิค Multiplex RT-PCR (ไพรเมอร์ที่ออกแบบจากยีน HS และ CP) และ RT-PCR (ไพรเมอร์ที่ใช้ตรวจสอบ PMWaV-1 และ PMWaV-2 เพียง strain เดียว)

- 1 : ดีเอ็นเอมาตรฐาน (100 bp. DNA Ladder, Fermentas)
- 2, 7, 12 : ใบสับปะรดที่เกิดจากไวรัส PMWaV-1
- 3, 8, 13 : ใบสับปะรดที่เกิดจากไวรัส PMWaV-2
- 4, 9, 14 : ใบสับปะรดที่เกิดจากไวรัส PMWaV-1+PMWaV-2
- 5, 10, 15 : ใบสับปะรดปลอดโรค
- 6, 11, 16 : น้ำ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การพัฒนาวิธีการตรวจสอบไวรัสสาเหตุโรคเหี่ยวสับปะรดทั้ง 2 strain (PMWaV-1 และ PMWaV-2) ในปฏิกิริยาเดียวกัน โดยอาศัยเทคนิค Multiplex RT-PCR โดยการออกแบบไพรเมอร์บริเวณ (1) Heat shock protein gene (HS) ที่มีความจำเพาะต่อไวรัส PMWaV-1 ได้แก่ PM1_HS_M_F : 5' CCACTCTGTGTTTCTCTCCAGG 3' และ PM1_HS_M_R : 5' CTCCCAGATAGTTATCTCCC ATCG 3' ซึ่งให้แถบดีเอ็นเอขนาด 635 คู่เบส และ ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อไวรัส PMWaV-2 ได้แก่ PM2_HS_M_F: 5' CAAGGACGGGTCGGTAATGCTAG 3' และ PM2_HS_M_R : 5' CCAA CGCTAAACAGTA CGCATACC 3' ซึ่งให้แถบดีเอ็นเอขนาด 380 คู่เบส (2) ออกแบบไพรเมอร์จากบริเวณ Coat protein gene (CP) ที่มีความจำเพาะต่อไวรัส PMWaV-1 ได้แก่ PM1_CP_M_F : 5' CTAATGCACACAAGGTGATAGGATC 3' และ PM1_CP_M_R : 5'GCATCA TCACCG TGTACTCTGGC 3' ซึ่งให้แถบดีเอ็นเอขนาด 428 คู่เบส และไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อไวรัส PMWaV-2 ได้แก่ PM2_CP_M_F: 5' CGTAGCCGTAGTAGA AGGCAC 3' และ PM2_CP_M_R : 5' GAACTGCTTGGGTACTCC GTG 3' ซึ่งให้แถบดีเอ็นเอขนาด 727 คู่เบส จากนั้นการสกัด อาร์เอ็นเอ ของเชื้อ PMWaV-1 และ PMWaV-2 จากใบสับปะรดเป็นโรค โดยใช้ชุดสกัดสำเร็จรูป (MasterPure™ RNA Purification Kit ของบริษัท EPICENTRE) แล้วนำมาทดสอบและปรับระยะเวลารวมทั้งอุณหภูมิให้เหมาะสมในการสังเคราะห์เพิ่มปริมาณ cDNA โดยเทคนิค Multiplex RT-PCR พบว่า อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสม ได้แก่ เริ่มจาก 50 °C นาน 30 นาที เพื่อสังเคราะห์ cDNA จากนั้นเข้าสู่ปฏิกิริยา PCR เริ่มจาก 95 °C นาน 30 นาที, (94 °C นาน 45 วินาที, 60 °C (HS) หรือ 62 °C (CP) 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 แล้วส่งไปตรวจสอบลำดับเบส พบว่า ลำดับเบสตรงตามที้ออกแบบไว้ จากการเปรียบเทียบการใช้ไพรเมอร์ที่ออกแบบไว้จากยีน HS และ CP โดยเทคนิค multiplex RT-PCR เปรียบเทียบกับไพรเมอร์ที่ใช้ตรวจสอบ PMWaV-1 และ PMWaV-2 เพียง strain เดียว โดยเทคนิค RT-PCR ปรากฏว่า ให้ผลวิเคราะห์ด้วยวิธี gel electrophoresis ตรงกัน ฉะนั้นการใช้เทคนิค multiplex PCR ในการตรวจไวรัสมากกว่า 1 strain ในพืชต้นเดียวกันเป็นการช่วยประหยัดเวลาและค่าสารเคมีซึ่งมีราคาแพงในการตรวจได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทำให้ลดขั้นตอนการตรวจหน่อสับปะรดว่าปลอดไวรัสทั้ง 2 strain หรือไม่ ก่อนจะนำไปปลูกหรือขยายพันธุ์ปลอดโรคต่อไป ซึ่งเป็นแนวทางช่วยลดการระบาดของโรคเหี่ยวสับปะรดในแปลงปลูก

เอกสารอ้างอิง

- กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2547. ยุทธศาสตร์สับปะรด Pineapple National Strategy 2547-2551. 51 หน้า.
- วันเพ็ญ ศรีทองชัย. 2546. โรคเหี่ยว : ภัยคุกคามต่อการปลูกสับปะรดของไทย. วารสารโรคพืช (17) 1-2: 48-53.
- วันเพ็ญ ศรีทองชัย มัลลิกา นวลแก้ว สาวิตรี เขมวงศ์ และ เขมิกา โขมพัตร. 2553. การคัดเลือกและขยายหน่อพันธุ์สับปะรดปลอดไวรัสสาเหตุโรคเหี่ยว. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร เล่ม 4: 2664-2675.
- 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 Research* vol. 9. pp. 241-258 ed. by K.F. Harris. Springer-Verlag New York.
- 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.

การตรวจสอบเชื้อไฟโตพลาสมา สาเหตุโรคพุ่มแจ้
(witches' broom) ของมันสำปะหลังโดยเทคนิคทางอณูชีววิทยา
Detection of Phytoplasma from Cassava showing symptoms

Phyllody, Yellow and short internodes

กาญจนา วาระวิชนี ปรีเชษฐ์ ตั้งกาญจนภรณ์

วันเพ็ญ ศรีทองชัย

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

โรคพุ่มแจ้ของมันสำปะหลังมีรายงานว่าเกิดจากเชื้อไฟโตพลาสมาในพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังที่สำคัญของประเทศไทยตั้งแต่ปี 2552 ซึ่งลักษณะอาการคล้ายคลึงกับการทำลายของเพลี้ยแป้งและพบอาการพุ่มแจ้ระบาดทุกแหล่งปลูกมันสำปะหลังที่สำคัญของประเทศไทย จึงต้องเร่งสำรวจนำมาพิสูจน์เพื่อให้ทราบว่าอาการพุ่มแจ้เกิดจากเชื้อไฟโตพลาสมาจริงหรือไม่ เพื่อลดความเสี่ยงที่จะเกิดได้ขึ้นกับผลผลิตต่อไปในอนาคต จากการตรวจสอบตัวอย่างมันสำปะหลังที่มีอาการแตกยอดเป็นกระจุกที่ยอดและกลางลำต้นจากแปลงปลูกรวม 13 จังหวัด รวม 2 วิธีการ (1.) ด้วยวิธี Nested PCR โดยใช้ไพรเมอร์ 2 คู่ คือ P1 & T7 และ R16F2n & R16R2 ใช้ดีเอ็นเอของ *Manihot esculenta*' witches'-broom ที่ได้รับความอนุเคราะห์จากนักวิจัยของ CIAT มาเป็น positive control และตรวจสอบด้วย restriction enzyme พบว่าแถบดีเอ็นเอที่ขนาดประมาณ 1,200 เบส นั้นไม่ใช่เชื้อไฟโตพลาสมา ซึ่งเกิดมาจากการเกาะที่พีดผลาดของตำแห่นงไพรเมอร์เอง และเมื่อตัดพิสูจน์ดีเอ็นเอไฟโตพลาสมา restriction enzyme *EcoRI* ได้ชิ้นดีเอ็นเอ 2 ชิ้นขนาดประมาณ 522 เบส และ 726 เบส แต่ในการทดสอบใช้ restriction enzyme ดังกล่าว ไม่สามารถตัดชิ้นดีเอ็นเอของมันสำปะหลัง และวิธีการ (2.) ด้วยการปักชำศึกษาการเกิดอาการของท่อนพันธุ์ในโรคเรื้อนทดลองเป็นเวลา 2 เดือน พบว่าใบและกิ่งที่แตกออกมาเป็นปกติ จากผลการทดลองครั้งนี้จึงสรุปว่ายังไม่พบโรคแตกพุ่มฝอย (Phyllody) ที่เกิดจากเชื้อไฟโตพลาสมา แต่อาจเกิดจากการเข้าทำลายของศัตรูพืชชนิดอื่นเพราะจะสังเกตพบเพลี้ยแป้งจำนวนมากบริเวณแตกพุ่มฝอย และอาจมีการเข้าทำลายซ้ำจากเชื้อโรคอื่นร่วมด้วย จึงพบบริเวณท่อน้ำท่ออาหารของพืชบริเวณที่แตกพุ่มฝอยนั้นเป็นสีน้ำตาล

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-03-02-06-54

คำนำ

เชื้อไฟโตพลาสมา มีลักษณะลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยทั่วไปจะคล้ายกับแบคทีเรียที่มีขนาดเล็กที่สุด แต่ไม่มีผนังเซลล์ รูปร่างไม่แน่นอนมีขนาด 80-900 นาโนเมตร เป็นเชื้อสาเหตุโรคพืชที่สามารถพบเชื้ออยู่ในกลุ่มเซลล์ที่อาหารของต้นพืช (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) ได้รายงานพบว่าพบโรค cassava Frogskin disease (CFSD) ที่เกิดจากเชื้อไฟโตพลาสมาซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม 16S rIII ribosomal และโรคนี้ทำลายผลผลิตถึง 90 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่การปลูกมันสำปะหลังของประเทศโคลัมเบีย บราซิล เวเนซุเอล่า และปานามา อาการจะพบที่ระบบรากมีลักษณะยาวผิดปกติ และมีชั้น cortex หรือ ชั้น epidermis ที่มีความหนากว่าพืชปกติ ถ้าอาการเป็นรุนแรงมากระบบรากจะแห้งตายในที่สุดในเดือนเมษายน ปี 2551 เกิดมีการระบาดของเพลี้ยแป้งเข้าทำลายมันสำปะหลังที่อำเภอปากช่อง 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 สำหรับประเทศไทยยังมีผู้ศึกษาโรคนี้น้อยมากและยังไม่มีหลักฐานของข้อมูลใดยืนยันว่าพบโรคพุ่มแจ้ (witches' broom) มันสำปะหลังในประเทศไทย จึงต้องเร่งสำรวจเพื่อสาเหตุที่แท้จริงว่าเกิดจากศัตรูพืชชนิดใดและทำการป้องกันกำจัดให้ถูกต้องตามสาเหตุนั้นๆ เพื่อลดความเสี่ยงที่จะเกิดขึ้นกับผลผลิตได้ทันที่ พร้อมทั้งหาวิธีการตรวจวินิจฉัยว่าที่รวดเร็ว แม่นยำสูง ควบคู่ไปด้วย เช่น ตรวจด้วยเทคนิคทางด้านอนุชีววิทยา เป็นต้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างมันสำปะหลังที่แสดงอาการคล้ายเชื้อไฟโตพลาสมาในพื้นที่ปลูกที่สำคัญของภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย 13 จังหวัด (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 แสดงจำนวนตัวอย่างมันสำปะหลังที่แสดงอาการคล้ายเชื้อไฟโตพลาสมาในพื้นที่ปลูกที่สำคัญของภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย 13 จังหวัด รวม 47 อำเภอ

ภาค	จังหวัด	อำเภอ	ลักษณะอาการที่พบ
ตะวันออกเฉียงเหนือ	จันทบุรี	แก่งหางแมว, โป่งน้ำร้อน, บางละมุง, นายายอาม	ยอดมันสำปะหลังแตกพุ่มฝอยผิดปกติ ใบมีขนาดเล็ก
	ระยอง	ปลวกแดง, วังจันทร์, บ้านฉาง, นิคมพัฒนา	ยอดมันสำปะหลังแตกพุ่มฝอยผิดปกติ ใบมีขนาดเล็ก, ใบลดรูป, ยอดม้วน
	ชลบุรี	บางละมุง, สัตหีบ	ยอดมันสำปะหลังแตกพุ่มฝอยผิดปกติ ใบมีขนาดเล็ก, ใบลดรูป
	ฉะเชิงเทรา	พนมสารคาม, สนามชัยเขต, สอยดาว, ท่าตะเกียบ	ยอดมันสำปะหลังแตกพุ่มฝอยผิดปกติ ใบมีขนาดเล็ก, ใบลดรูป
	ปราจีนบุรี	นาดี, กบินทร์บุรี	ยอดมันสำปะหลังแตกพุ่มฝอยผิดปกติ ใบมีขนาดเล็ก
	สระแก้ว	เขาฉกรรจ์, วังน้ำเย็น, เมือง, สระแก้ว, คลองหาด, วัฒนานคร	ยอดมันสำปะหลังแตกพุ่มฝอยผิดปกติ ใบมีขนาดเล็ก, ใบลดรูป
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	ชัยภูมิ	จตุรต, เนินสง่า, บ้านเหินดงรงค์	ยอดมันสำปะหลังแตกพุ่มฝอยผิดปกติ ใบมีขนาดเล็ก
	มหาสารคาม	วาปีปทุม, กมลาไสย, กุตุรงค์, โกสุมวิสัย, เมือง	ยอดมันสำปะหลังแตกพุ่มฝอยผิดปกติ ใบมีขนาดเล็ก
	ขอนแก่น	เขาสวนกวาง, มัจจาคีรี, บ้าน ไผ่, บ้านแฮด	ยอดมันสำปะหลังแตกพุ่มฝอยผิดปกติ ใบมีขนาดเล็ก
	บุรีรัมย์	สตึก, บ้านด่าน, คูเมือง	ยอดมันสำปะหลังแตกพุ่มฝอยผิดปกติ ใบมีขนาดเล็ก
	นครราชสีมา	สีคิ้ว, สีดา, สูงเนิน, ด่านขุนทด	ยอดมันสำปะหลังแตกพุ่มฝอยผิดปกติ ใบมีขนาดเล็ก, ใบพลู่ต่าง
	ร้อยเอ็ด	โพชัย	ยอดมันสำปะหลังแตกพุ่มฝอยผิดปกติ ใบมีขนาดเล็ก
	กาฬสินธุ์	หนองกุงศรี, ร่องคำ, กุฉินธร	ยอดมันสำปะหลังแตกพุ่มฝอยผิดปกติ ใบมีขนาดเล็ก
	อุดรธานี	โนนสะอาด	ยอดมันสำปะหลังแตกพุ่มฝอยผิดปกติ ใบมีขนาดเล็ก

2. อุปกรณ์ทางการเกษตร ได้แก่ โรงเรือน กระจก ทราย กรวด ดิน ถุงปลูก ปุ๋ย และป้ายชื่อ

3. อุปกรณ์ด้านวิทยาศาสตร์ ได้แก่

- โกร่งบดตัวอย่าง
- กระจกสุญญากาศ
- หลอดพลาสติกขนาด 2, 1.5 และ 0.5 ไมโครลิตร
- ตู้แช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส

- อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath shaker)
- เครื่องชั่งละเอียด 2 และ 4 ตำแหน่ง
- เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง (Centrifuge)
- เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูงควบคุมอุณหภูมิ (Centrifuge)
- ตู้ดูดควันและสารพิษ (Hood)
- เครื่อง Thermal cycler
- เครื่อง Gel electrophoresis
- เครื่อง Gel Documentation UV-transilluminator

4. สารเคมีวิทยาศาสตร์ ได้แก่

- ไนโตรเจนเหลว
- สารประกอบ 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)
- Ethanol
- TE Buffer (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0)
- Agarose gel

วิธีการ

1. สืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคพุ่มแจ้ของมันสำปะหลังจากข้อมูลที่เคยมีรายงานมาเพื่อใช้ประกอบการวิจัย

2. สํารวจและเก็บตัวอย่างมันสำปะหลังที่แสดงอาการคล้ายถูกเข้าทำลายด้วยเชื้อไฟโตพลาสมาในพื้นที่ปลูกสำคัญของประเทศไทย โดยรวมตัวอย่างตัวอย่างมันสำปะหลังที่แสดงอาการคล้ายเชื้อไฟโตพลาสมาของทุกอำเภอของแต่ละจังหวัด มาเป็นตัวแทนได้ 13 ตัวอย่าง ได้แก่ ตัวอย่างจาก ชัยภูมิ มหาสารคาม ขอนแก่น บุรีรัมย์ นครราชสีมา ร้อยเอ็ด กาฬสินธุ์ อุตรธานี จันทบุรี ระยอง ชลบุรี ฉะเชิงเทรา และสระแก้ว (ตารางที่ 1)

3. ทำการเก็บใบพืชและเก็บท่อนพันธุ์ที่แสดงอาการโรคจากที่สำรวจมาเพื่อใช้ทดสอบต่อไป ด้วยวิธีการ ดังนี้

3.1 ทำการเก็บใบมันสำปะหลังแบบแห้งและสดแล้วเก็บไว้ที่ - 20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ทดสอบต่อไป

3.2 ทำการปลูกท่อนพันธุ์ในกระถางปลูกภายในโรงเรือนกันแมลงเพื่อสังเกตอาการ

4. สกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างมันสำปะหลังด้วยวิธี CTAB method โดยตัดตัวอย่างมันสำปะหลังที่สุ่มมาจากแปลงทดสอบทั้งในส่วน ก้านใบ และใบ มาตัดให้ละเอียดเป็นชิ้นเล็กๆ นำมาชั่งให้ได้น้ำหนักประมาณ 0.3-0.5 กรัม แล้วใส่ลงในโกร่งบดให้ละเอียดด้วยไนโตรเจนเหลว หลังจากนั้นเติมสารละลาย 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) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร บดต่อให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วย้ายใส่ไมโครทิวบ์หลอดขนาด 1.5 ไมโครลิตร นำไปปั่นที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ปั่นตกตะกอนเศษพืชที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที แล้วดูดของเหลวใส่ส่วนบนปริมาตร 500 ไมโครลิตร ใส่ไมโครทิวบ์หลอดใหม่ แล้วเติม chloroform: isoamyl alcohol (24:1) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ทำการผสมให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกัน นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เก็บส่วนใสชั้นบนใสในไมโครทิวบ์หลอดใหม่ปริมาตร 300 ไมโครลิตร และเติม isopropanol (2 เท่าของปริมาตรส่วนใส) ปริมาตร 600 ไมโครลิตร เติม 3M sodium acetate, pH 5.2 (0.1 เท่าของปริมาตรส่วนใส) ปริมาตร 60 ไมโครลิตร เขย่าเบาๆ แล้วนำไปปั่นที่อุณหภูมิ - 20 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที เทส่วนใสทิ้งเก็บตะกอนดีเอ็นเอมาล้างตะกอนด้วย 70% ethanol ปริมาตร 500 ไมโครลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ตากตะกอน ดีเอ็นเอให้แห้งและละลายตะกอนด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ หรือ TE buffer ปริมาตร 25 ไมโครลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ - 20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในขั้นตอนต่อไป

5. การตรวจหาเชื้อไฟโตพลาสมาจากมันสำปะหลังแสดงอาการคล้ายถูกเข้าทำลายด้วยเชื้อไฟโตพลาสมา รวม 13 ตัวอย่างด้วยเทคนิค เทคนิค Nested polymerase chain reaction (Nested PCR) ด้วยไพรเมอร์ 2 คู่ คือ P1 (5'-AAGAGTTTGATCCTGGCTCAGGATT-3') & T7 (5'-CGTCCTTCATCGGCTCTT-3') และ R16F2 (5'-ACGACTGCTGCTAAGACTGG-3') & R16R2 (5'-TGACGGGCGGTGTGTACAAACCCCG-3') ซึ่งมีความจำเพาะกับยีน ในส่วน 16S ribosomal RNA (16S rRNA) ผลผลิตจากปฏิกิริยา PCR จะแสดงแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 1.2 กิโลเบส (Lee *et. al.*, 1993 ; Marzachi, 2006) นำผลิตภัณฑ์ PCR ที่ได้มาตรวจสอบขนาดด้วยเทคนิค gel electrophoresis โดยใช้ 1% gel agarose เตรียมในสารละลาย 0.5 TBE buffer แบ่งผลิตภัณฑ์ PCR ที่ได้มา 8 ไมโครลิตร ผสมกับ 6x loading dye 2 ไมโครลิตร โดยเปรียบเทียบกับ 100 bp DNA Ladder แล้วนำ agarose gel มาผ่านสนามไฟฟ้าที่ความต่างศักย์ 100 โวลต์ นาน 40 นาที จากนั้นนำ agarose gel มาย้อมด้วยสารละลาย ethidium bromide นาน 15 นาที และแช่น้ำเปล่า 10 นาที และนำแผ่น agarose gel มาส่องดูขนาดดีเอ็นเอด้วยเครื่อง Gel Documentation UV-transilluminator ทำการบันทึกภาพและสรุปผลที่เกิดขึ้น

6. โคลนแถบดีเอ็นเอใช้พลาสมิดพาหะ pGEM-T Easy (Promega) และวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ โดยนำดีเอ็นเอที่สังเคราะห์ได้จากเทคนิค Nested PCR และใช้พลาสมิดพาหะ

pGEM-T Easy (Promega) ทำการเพิ่มดีเอ็นเอสายผสมโดยถ่ายฝากสู่แบคทีเรีย *E. coli* โดยวิธีการ heat shock transformation

7. ส่งวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่สังเคราะห์ได้ ด้วยเครื่อง automated DNA sequencer (the BigDye® Terminator v3.1 cycle sequencing kit chemistry) ที่ First BASE Laboratories Sdn Bhd ประเทศมาเลเซียแล้วนำข้อมูลที่ได้มาเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์และลำดับกรดอะมิโนกับฐานข้อมูล GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Entrez>)

8. รวบรวม วิเคราะห์ และเขียนรายงานผลการวิจัย

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา ตุลาคม 2553-กันยายน 2555

สถานที่ กลุ่มงานไวรัสวิทยาและโรงเรียนทดลอง ของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1.สำรวจและเก็บตัวอย่างมันสำปะหลังที่แสดงอาการคล้ายถูกเข้าทำลายด้วยเชื้อไฟโตพลาสมา เล็กเก็บตัวอย่างมันสำปะหลังที่แสดงอาการที่คล้ายถูกเข้าทำลายด้วยเชื้อไฟโตพลาสมา ได้แก่ อาการพุ่มแจ้ ขอบปล้องสั้น และใบเหลืองหดสั้น (ภาพที่ 1) จากแปลงปลูก 13 จังหวัด รวม 47 อำเภอ (ตารางที่ 1) และนำท่อนพันธุ์ที่แสดงอาการโรคจากแปลงที่สำรวจมาปลูก ภายในโรงเรียนเพื่อสังเกตอาการ



1ก



1ข

2. ผลการสังเกตอาการท่อนพันธุ์มันสำปะหลังภายในโรงเรือน

เมื่อนำท่อนพันธุ์มันสำปะหลังมาหัดดูบริเวณข้อที่แสดงอาการอาการพุ่มแจ้ ใบเหลือง ใบหดสั้น จึงนำมาท่อนพันธุ์มันสำปะหลังดังกล่าวมาปลูกภายในโรงเรือนเพื่อสังเกตอาการ พบว่าท่อน้ำที่อาหารเป็นสีน้ำตาล (ภาพที่ 2ก) และพบว่าใบมันสำปะหลังที่ท่อน้ำที่อาหารเป็นสีน้ำตาลสามารถแตกใบใหม่ได้เล็กน้อย บางท่อนแห้งตาย (ภาพที่ 2ข) และเมื่อหัดดูประมาณข้อที่ 10 นับจากข้อที่แสดงอาการพุ่มแจ้พบว่าท่อน้ำที่อาหารพืชปกติ (ภาพที่ 2ค) ซึ่งท่อนมันสำปะหลังสามารถแตกใบใหม่ได้ปกติ (ภาพที่ 2ง) จากผลการทดลองพบว่าพืชสามารถแตกใบใหม่ได้ตามปกติ แต่ถ้าถูกเชื้อไฟโตพลาสมาเข้าทำลายใบที่แตกใหม่ควรแสดงอาการอาการพุ่มแจ้ ใบเหลือง ใบหดสั้นเช่นเดิม เนื่องจากเชื้อไฟโตพลาสมามีลักษณะการเข้าทำลายแบบ Systemic ไปตามท่อน้ำที่อาหารพืช ซึ่งมันสำปะหลังที่แสดงอาการพุ่มแจ้ ใบเหลือง ใบหดสั้น อาจเนื่องมาจากเพลี้ยแป้งเข้าลายเป็น



ภาพที่ 1 : แสดงอาการยอดมันสำปะหลังมีการแตกพุ่มฝอยมากกว่าปกติใบมีขนาดเล็กและมีสีเหลืองซีดซึ่งพบเพลี้ยแป้งจำนวนมาก ที่ จ.ขอนแก่น (1ก) และ จ.ระยอง (1ข)

จำนวนมากจึงทำให้พืชแสดงอาการดังกล่าว (ภาพที่ 3)

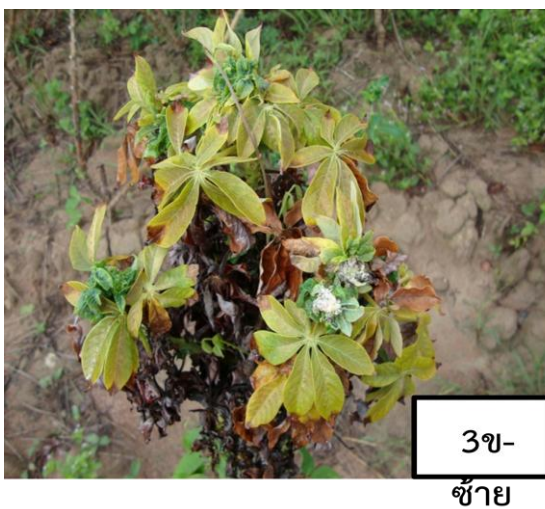
ภาพที่ 2 : ปักชำท่อนพันธุ์ของมันสำปะหลังที่พบอาการพุ่มแจ้ ใบเหลือง ใบหดสั้นเพื่อสังเกตอาการในโรงเรือน

2ก : มันสำปะหลังอาการพุ่มแจ้ ใบเหลือง ใบหดสั้น แสดงท่อน้ำที่อาหารเป็นสีน้ำตาล

2ข : ท่อนพันธุ์มันสำปะหลังที่อาหารเป็นสีน้ำตาลสามารถแตกใบใหม่ได้แต่เล็กน้อยหลังปักชำไปแล้ว 7-10 วัน และบางท่อนพันธุ์ตาย

2ค : ท่อนพันธุ์มันสำปะหลังแสดงท่อน้ำที่อาหารเป็นปกติตรงบริเวณประมาณข้อที่ 10 ของพืช

■ 2ง : ท่อนพันธุ์มันสำปะหลังตรงบริเวณประมาณข้อที่ 10 สามารถแตกใบใหม่ได้ตามปกติหลังปักชำไปแล้ว 7-10 วัน



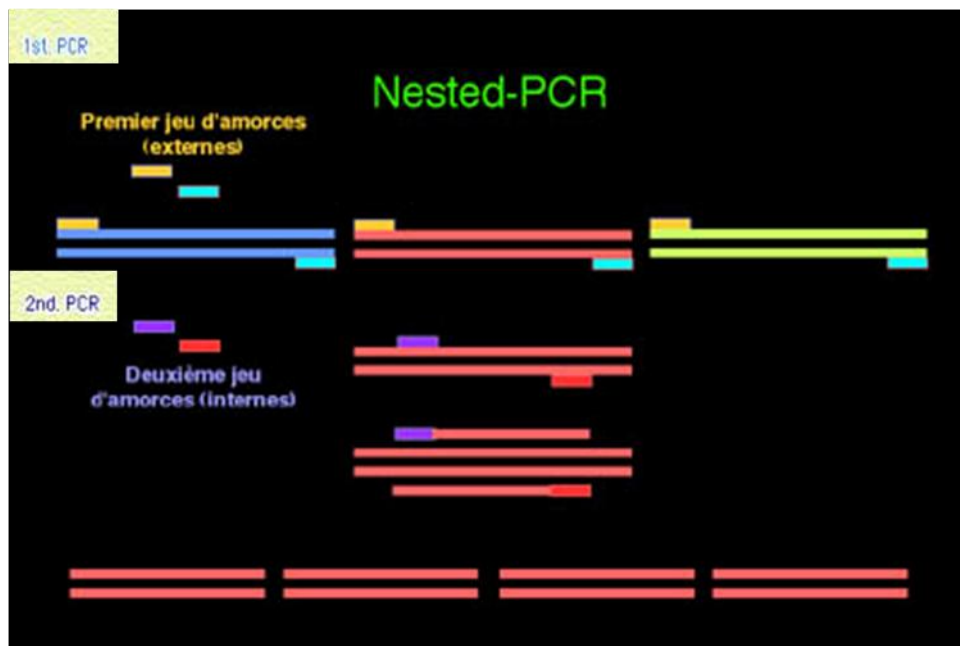
ภาพที่ 3 : มันสำปะหลังแสดงอาการพุ่มแจ้ ใบเหลือง ใบหดสั้น หลังจากถูกเพลี้ยแป้งหลังเข้าทำลาย

3ก : มันสำปะหลังแสดงอาการข้อปล้องถี่และหดสั้น และพบเพลี้ยแป้งเข้าทำลายเป็นจำนวนมาก (ซ้าย-ขวา)

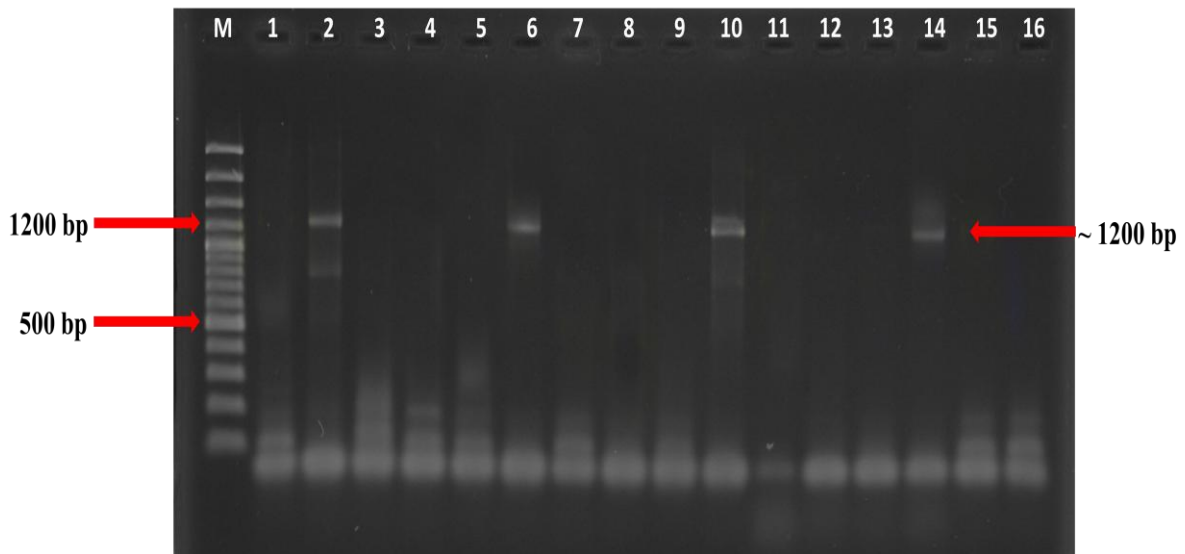
3ข : มันสำปะหลังแสดงอาการพุ่มแจ้ ใบเหลือง ใบหดสั้น (ซ้าย) และพบเพลี้ยแป้งซ่อนอยู่บริเวณใต้ใบพืช (ขวา)

3. การตรวจหาเชื้อไฟโตพลาสจากมันสำปะหลังที่แสดงอาการคล้ายถูกเข้าทำลายด้วยเชื้อไฟโตพลาสมา รวม 13 ตัวอย่างด้วยเทคนิค nested PCR

นำดีเอ็นเอมาตรวจหาเชื้อไฟโตพลาสมาด้วยเทคนิค nested polymerase chain reaction (Nested PCR) คือ การทำ PCR 2 ครั้ง (ภาพที่ 4) ครั้งที่ 1 ใช้คู่ไพรเมอร์ คือ P1 (5'AAGAGTTTGATCCTGGCTCAGGATT 3') และ T7 (5'CGTCCTTCATCGGCTCTT 3') และครั้งที่ 2 ใช้คู่ไพรเมอร์ R16F2n (5'GAA ACG ACT GCT AAG ACT GG 3'), R16R2 (5' TGA CGG GCG GTG TGT ACA AAC CCC G 3') ถ้าพืชมีเชื้อไฟโตพลาสมาควรแสดงแถบดีเอ็นเอที่ขนาดประมาณ 1,200 เบส เมื่อเปรียบเทียบกับขนาดแถบดีเอ็นเอกับ *Manihot esculenta* witches'-broom (Positive control) ที่ได้รับความอนุเคราะห์จากนักวิจัยของ CIAT มาเป็นตัวเช็คควบคุมผลของปฏิกิริยา PCR ผลจากการตรวจหาเชื้อไฟโตพลาสในมันสำปะหลังรวม 13 ตัวอย่าง พบแถบดีเอ็นเอที่ขนาดประมาณ 1,200 เบสในตัวอย่างมันสำปะหลัง รวม 3 ตัวอย่าง ได้แก่ตัวอย่างจากจาก อ.บำเหน็จณรงค์ จ.ชัยภูมิ อ.บ้านแฮะ จ.ขอนแก่น และ อ.ปลวกแดง จ.ระยอง (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 4 ภาพจำลองการสังเคราะห์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค nested polymerase chain reaction (แหล่งที่มา <http://www.chups.jussieu.fr/polys/biochimie/BGbioch/POLY.Chp.8.11.html>)

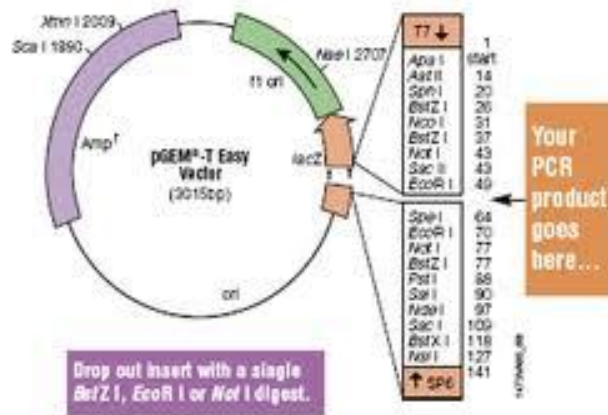


ภาพที่ 5 แสดงแถบดีเอ็นเอที่ขนาดประมาณ 1,200 เบสจากการตรวจหาเชื้อไฟโตพลาสมาในมันสำปะหลังรวม 13 ตัวอย่าง

ช่องที่	ตัวอย่าง	ผลการตรวจ
M	marker 100 bp (fermentus)	
1	ใบมันสำปะหลัง อ.คูเมือง จ.บุรีรัมย์	-
2	ใบมันสำปะหลัง อ.บ้านเหินจตุรรงค์ จ.ชัยภูมิ	+
3	ใบมันสำปะหลัง อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา	-
4	ใบมันสำปะหลัง อ.จังหาร จ.ร้อยเอ็ด	-
5	ใบมันสำปะหลัง อ.กมลาไสย จ.กาฬสินธุ์	-
6	ใบมันสำปะหลัง อ.บ้านแฮะ จ.ขอนแก่น	+
7	ใบมันสำปะหลัง อ.ร่องคำ จ.กาฬสินธุ์	-
8	ใบมันสำปะหลัง อ.กุมภวาปี จ.อุดรธานี	-
9	ใบมันสำปะหลัง อ.โป่งน้ำร้อน จ.จันทบุรี	-
10	ใบมันสำปะหลัง อ.ปลวกแดง จ.ระยอง	+
11	ใบมันสำปะหลัง อ.บางละมุง จ.ชลบุรี	-
12	ใบมันสำปะหลัง อ.พนมสารคาม จ.ฉะเชิงเทรา	-
13	ใบมันสำปะหลัง อ.วังน้ำเย็น จ.สระแก้ว	-
14	ดีเอ็นเอของเชื้อ <i>Manihot esculenta</i> witches'-broom (Positive control)	+
15	ใบมันสำปะหลังปกติ (Negative control)	-
16	น้ำ	-

4. โคลนแถบดีเอ็นเอใช้พลาสมิดพาหะ pGEM-T Easy (Promega) และวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

เลือกนำแถบดีเอ็นเอที่ขนาดประมาณ 1,200 เบสของตัวอย่างมันสำปะหลังจาก อ.ปลวกแดง จ.ระยอง ทำการโคลนแถบดีเอ็นเอโดยใช้พลาสมิดพาหะ pGEM[®]-T Vector Map(Promega) (ภาพที่ 6) และถ่ายฝากดีเอ็นเอสายผสมสู่เซลล์แบคทีเรีย *E. coli* โดยวิธีการ heat shock transformation และส่งวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเครื่อง automated DNA sequencer (the BigDye[®] Terminator v3.1 cycle sequencing kit chemistry) ที่ First BASE Laboratories Sdn Bhd ประเทศมาเลเซีย



ภาพที่ 6 ภาพจำลองพลาสมิดพาหะ pGEM-T Easy (Promega) (แหล่งที่มา)

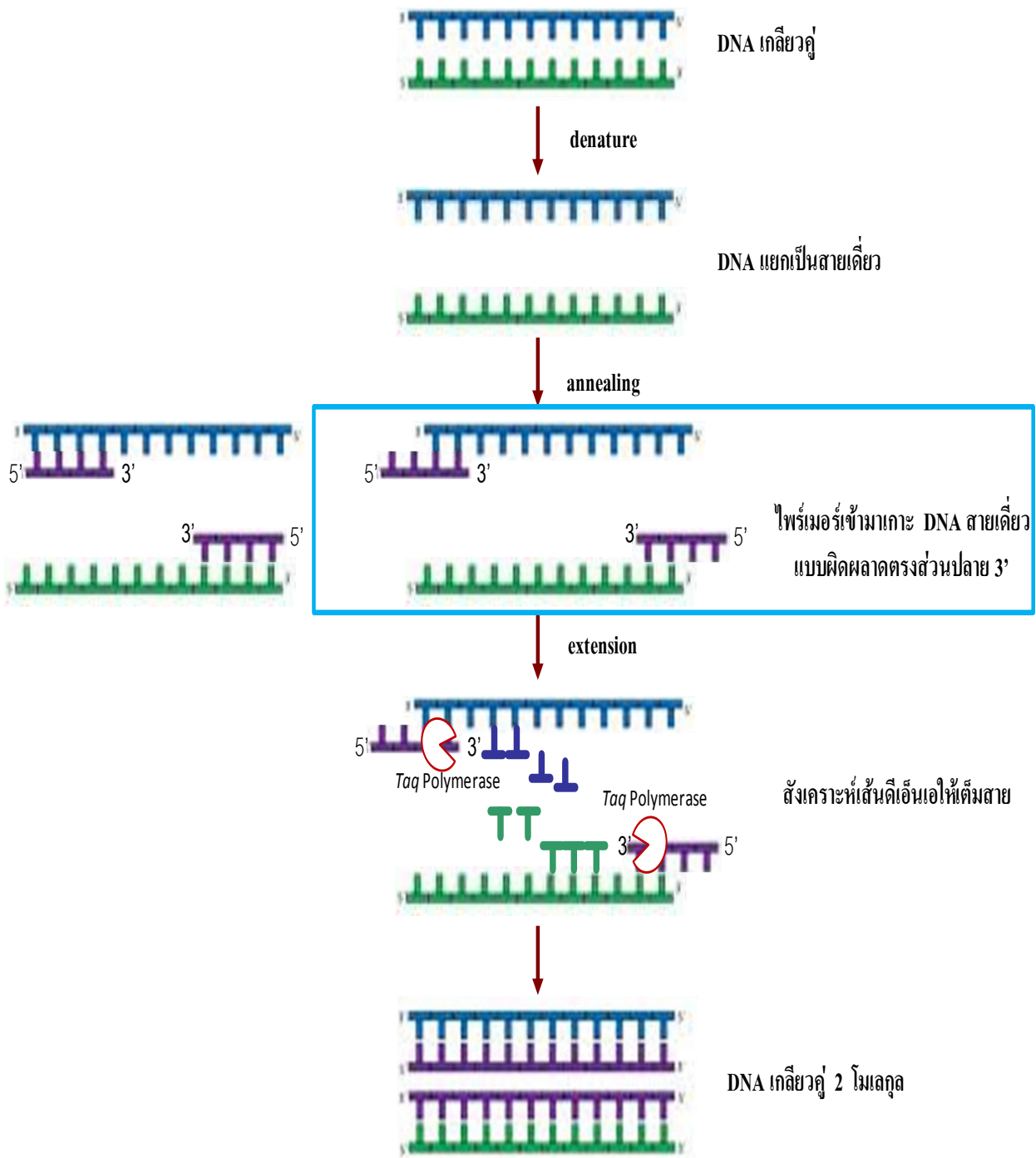
5. ผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเครื่อง automated DNA sequencer (the BigDye[®] Terminator v3.1 cycle sequencing kit chemistry) ที่ First BASE Laboratories Sdn Bhd ประเทศมาเลเซีย

ผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวอย่างมันสำปะหลังจาก อ.ปลวกแดง จ.ระยอง ที่เลือกส่งแถบดีเอ็นเอที่ขนาดประมาณ 1,200 เบส และนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของฐานข้อมูลใน GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Entrez>) พบว่าข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์จากตัวอย่างมันสำปะหลัง อ.ปลวกแดง จ.ระยอง มีความเหมือนกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของมันสำปะหลังส่วนยีน 18S ribosomal RNA *Manihot esculenta* (GenBank : AB233568.1) ถึง 99 เปอร์เซ็นต์ จึงสรุปว่าแถบดีเอ็นเอที่พบขนาดประมาณ 1,200 เบส เป็นแถบดีเอ็นเอของพืชพืชไม่ใช่เชื้อไฟโตพลาสมา จากการตรวจสอบคู่ไพรเมอร์พบมีเบสของคู่สมกับดีเอ็นเอของมันสำปะหลังตรงส่วนปลาย 3' ทั้ง forward primer คือ R16F2n (5'GAA ACG ACT GCT AAG ACT GG 3' และ reverse primer คือ R16R2 (5' TGA

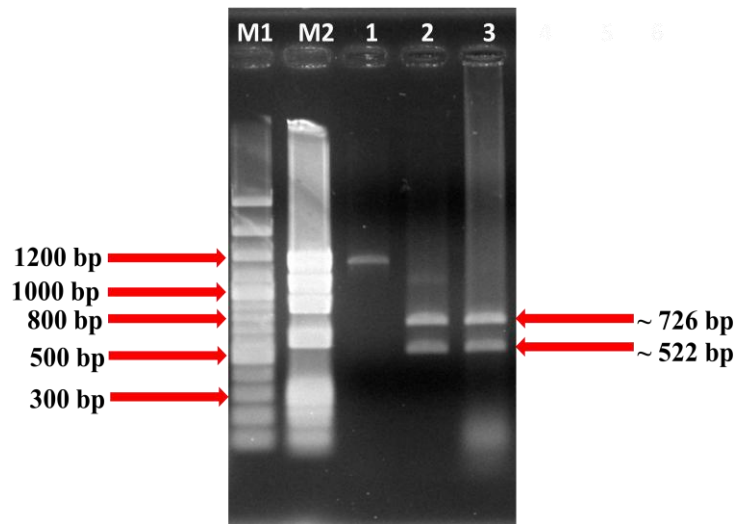
CGG GCG GTG TGT ACA AAC CCC G 3') จึงเกิดการเกาะแบบผิดพลาดตรงส่วนปลาย 3' ซึ่งเป็นตำแหน่งการเติมเบสเพื่อให้เกิดการสังเคราะห์เส้นดีเอ็นเอต้นแบบให้เต็มสาย ซึ่งเบสของไพรเมอร์ของ R16F2n ประกอบด้วย CTGG 3' และ R16R2 ประกอบด้วย CCCCC 3' และมีเปอร์เซ็นต์ GC ค่อนข้างสูงมากจึงเกาะแบบเหนียวแน่นกับต้นแบบดีเอ็นเอของมันสำปะหลัง จะเห็นได้ว่าเพียง 4-5 เบส เท่านั้นที่เป็นคู่สมก็สามารถเกิดการสังเคราะห์ดีเอ็นเอของมันสำปะหลังให้เต็มสายได้ (http://www.premierbiosoft.com/tech_notes/PCR_Primer_Design.html) จากผลการทดลองดังกล่าวจึงสรุปได้ว่าตัวอย่างมันสำปะหลังจาก อ.ปลวกแดง จ.ระยอง นี้ไม่มีเชื้อไฟโตพลาสมา ซึ่งผลที่เกิดขึ้นอาจมาจากการสกัดดีเอ็นเอเริ่มต้นในบางครั้งไม่สะอาดได้ส่วน ribosomal ของพืชมาเยาะและเมื่อเกิดสภาวะเหมาะสมของสารประกอบในปฏิกิริยาทำให้ไพรเมอร์คู่นี้มีโอกาสการเกาะแบบผิดพลาดตรงส่วนปลาย 3' จึงเกิดการสังเคราะห์ดีเอ็นเอของมันสำปะหลังให้เต็มสายได้ในสภาวะเหมาะสมที่สม (ภาพที่ 7) แต่โอกาสการเกิดไม่มากนักเพราะตามคุณสมบัติของไพรเมอร์จะมีความสามารถในการทำงานได้เต็มประสิทธิภาพมากกว่าเมื่อได้เกาะกับเบสคู่สมที่ 95-100 เปอร์เซ็นต์ ไพรเมอร์ชุดดังกล่าวที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์ออกแบบไพรเมอร์จากส่วน Ribosomal เนื่องมาจากปัญหาที่เชื้อไฟโตพลาสมายังไม่สามารถเลี้ยงได้บนอาหารสังเคราะห์จึงทำให้ไม่รู้องค์ประกอบที่แท้จริงของเชื้อตัวมากนัก นักวิทยาศาสตร์จึงเลือกออกแบบไพรเมอร์ส่วนยีนที่ทุกสิ่งมีชีวิตจะต้องมีเป็นองค์ประกอบในการดำรงชีวิตอยู่แล้ว ดังนั้น คู่ไพรเมอร์ที่เลือกใช้นักวิทยาศาสตร์ได้ถูกปรับและออกแบบให้มีลำดับเบสคู่สมกับเชื้อไฟโตพลาสมาเกือบ 100 เปอร์เซ็นต์แล้ว ถ้าเป็นพืชมีเชื้อเชื้อไฟโตพลาสมาจะสามารถตรวจได้อย่างแน่นอนโดยเทียบผลกลับเมื่อเปรียบเทียบกับผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์กับ *Manihot esculenta* witches'-broom (Positive control) ที่ได้รับความอนุเคราะห์จากนักวิจัยของ CIAT มาเป็นตัวเชื่อควบคุมผลของปฏิกิริยา PCR ในการตรวจสอบ และจากข้อผิดพลาดที่มีโอกาสเกิดขึ้นเนื่องจากการเกาะแบบผิดพลาดตรงส่วนปลาย 3' ของไพรเมอร์คู่นี้อาจแก้ไขโดยปรับเปลี่ยนบางเบสหรือตำแหน่งการเกาะของไพรเมอร์ใหม่หรือเพิ่มอุณหภูมิในช่วงการเกาะของไพรเมอร์ให้สูงขึ้น เพื่อให้เกิดความจำเพาะต่อเชื้อไฟโตพลาสมาเท่านั้น

จากปัญหาไพรเมอร์ R16F2n และ R16R2 ที่สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่ประมาณ 1,200 เบสได้ ทำให้ไม่สามารถแยกได้ว่าเป็นแถบแบบดีเอ็นเอของเชื้อหรือพืช นอกจากทำการส่งอ่านผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเครื่อง ด้วยเครื่อง automated DNA sequencer (the BigDye® Terminator v3.1 cycle sequencing kit chemistry) ที่ First BASE Laboratories Sdn Bhd ประเทศมาเลเซีย ซึ่งใช้เวลาในการดำเนินการตามขั้นตอนประมาณ 2-3 สัปดาห์ถึงจะทราบผล จากการทดสอบครั้งนี้ทางนักวิจัยจึงหาแนวทางการตรวจสอบแถบดีเอ็นเอที่ได้โดยใช้ตำแหน่งการตัดลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วย restriction enzyme ที่แตกต่างหรือเหมือนกัน โดยอาศัยโปรแกรม [Restriction Mapper - Saccharomyces Genome Database](#) สามารถบอกขนาดแถบดีเอ็นเอตรงตำแหน่งที่ restriction enzyme ต้องตัดให้ทราบก่อนเริ่มการปฏิบัติงาน โดยเลือกใช้ restriction enzyme *EcoI* สามารถตัดตำแหน่งลำดับนิวคลีโอไทด์เชื้อไฟโตพลาสมาได้ 1 ตำแหน่ง เมื่อนำมาตรวจผลเจลอิเล็กโทรโฟรีซิส จะพบแถบดีเอ็นเอ 2 แถบ คือ ขนาดประมาณ 522 เบส และที่ขนาดประมาณ 726 เบส ส่วนแถบดี

เอ็นเอของมันสำปะหลังไม่มีตำแหน่งตัดด้วย restriction enzyme *EcoI* ของลำดับนิวคลีโอไทด์ เมื่อนำมาตรวจผลเจลอิเล็กโทรโฟรีซิสจะพบแถบดีเอ็นเอที่ขนาดประมาณ 1,200 เบส เท่าเดิม (ภาพที่ 8)



ภาพที่ 7 ภาพจำลองการเกาะของไพรเมอร์ (annealing) กับ DNA สายเดี่ยวแบบพิศผลตรงส่วนปลาย 3' ของขบวนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR



ภาพที่ 8 แสดงขนาดของแถบดีเอ็นเอตำแหน่งที่ตัดด้วย restriction enzyme *EcoRI*

ช่องที่	ตัวอย่าง	ผลการใช้ restriction enzyme
M	marker 100 bp (fermentus)	
M	marker Ox174 DNA/BsuRI (HaeIII),9 (fermentus)	
1	แถบดีเอ็นเอ อ.ปลวกแดง จ.ระยอง ใช้ restriction enzyme <i>EcoRI</i>	uncut
2	แถบดีเอ็นเอของเชื้อ <i>Manihot esculenta</i> witches'-broom (Positive control) ใช้ restriction enzyme <i>EcoRI</i>	~521 และ ~726
3	แถบดีเอ็นเอโรคใบขาวอ้อย ใช้ restriction enzyme <i>EcoRI</i>	~521 และ ~726

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากผลการตรวจสอบที่ PCR ได้ชิ้นดีเอ็นเอขนาด 1,200 เบส จำนวน 3 ตัวอย่างจาก อ. บำเหน็จณรงค์ จ. ชัยภูมิ อ. บ้านแฮะ จ. ขอนแก่น และ อ. ปลวกแดง จ.ระยอง มีขนาดชิ้นดีเอ็นเอที่เท่ากับ ดีเอ็นเอของ *Manihot esculenta*' witches'-broom (Figure 5) แต่เมื่อส่งชิ้น ดีเอ็นเอดังกล่าวไปวิเคราะห์หาลำดับเบสด้วยเครื่อง Automated DNA sequencer (The BigDye® Terminator V3.1 cycle sequencing kit chemistry) ที่ First BASE Laboratories Sdn Bhd ประเทศมาเลเซีย พบว่าเป็นลำดับเบสของต้นมันสำปะหลังส่วนเย็น 18S ribosomal RNA *Manihot esculenta* (GenBank:AB233568.1) ถึง 99 % ซึ่งผลที่เกิดขึ้นมาจากการเกาะในตำแหน่งที่ผิดพลาดของคู่ primers R16F2n และ R16R2 และใช้ restriction enzyme *EcoRI* ตัดพิสูจน์ดีเอ็นเอเชื้อไฟโตพลาสมาโดยตัดบนสายดีเอ็นเอที่ 1 ตำแหน่ง จะได้ดีเอ็นเอ 2 ชิ้นขนาดประมาณ 522 เบส และ 726 เบส ส่วนดีเอ็นเอของมันสำปะหลังไม่สามารถตัด

ตำแหน่งใดได้ (ภาพที่ 8) ข้อเสนอแนะเพิ่มเติมการใช้ตำแหน่งการตัดลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วย restriction enzyme ให้แตกต่างหรือเหมือนกัน ควรใช้ restriction enzyme ที่สามารถตัดลำดับนิวคลีโอไทด์ให้ครอบคลุมทั้งยีนที่ทดสอบอย่างน้อย 2-3 ตำแหน่งจะสามารถควบคุมการแปรผลให้ผิดพลาดได้น้อยลงอีกทาง เช่น restriction enzyme *AluI* หรือ *HpaII* มี 3 ตำแหน่งตัดบนลำดับนิวคลีโอไทด์เชื้อไฟโตพลาสมา ส่วนลำดับนิวคลีโอไทด์ของมันสำปะหลังไม่มีตำแหน่งใดตัดได้ เป็นต้น จากผลการทดลองจึงเป็นข้อสรุปว่า ตัวอย่างมันสำปะหลังที่มีอาการแตกพุ่มฝอยที่พบทั้งหมดจาก 13 จังหวัด ไม่ใช่อาการของโรคที่เกิดจากเชื้อไฟโตพลาสมา

จากการศึกษาอาการจากท่อนพันธุ์ที่พบอาการแตกพุ่มฝอยนำมาปักชำและสังเกตอาการเป็นเวลา 2 เดือน พบว่าใบและและกิ่งที่แตกออกมาเป็นปกติไม่พบอาการแตกพุ่มฝอย (ภาพที่ 2) และมีข้อสังเกตว่าหากท่อนพันธุ์ติดเชื้อไฟโตพลาสมามาก่อนอาการควรจะเกิดตั้งแต่ต้นเล็กที่เริ่มแตกตา เป็นพุ่มแฉ่ตั้งแต่เล็ก ต้นก็ไม่สามารถเจริญเติบโตจนสูงใหญ่และไม่สามารถลงหัวได้ แต่ส่วนมากพบอาการพุ่มแฉ่ในมันสำปะหลังอายุประมาณ 7-10 เดือน ลำต้นที่สูงเกิน 180 เซนติเมตรจากยอดลงมา หรือเป็นกลางต้นที่สูงกว่า 180 เซนติเมตร จึงไม่ใช่อาการที่เกิดจากไฟโตพลาสมาที่ติดไปกับท่อนพันธุ์มันสำปะหลัง

สรุปผลการทดลองครั้งนี้ว่ายังไม่พบโรคแตกพุ่มฝอย (Phyllody) ที่เกิดจากเชื้อไฟโตพลาสมา แต่อาจเกิดจากการเข้าทำลายของศัตรูพืชชนิดอื่นเพราะจะสังเกตพบเพลี้ยแป้งจำนวนมากบริเวณแตกพุ่มฝอย (ภาพที่ 3) และอาจมีการเข้าทำลายซ้ำจากเชื้อโรคอื่นร่วมด้วย จึงพบบริเวณท่อน้ำท่ออาหารของพืชบริเวณที่แตกพุ่มฝอยนั้นเป็นสีน้ำตาล (ภาพที่ 2ก)

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ผชช. วันเพ็ญ ศรีทองชัย ที่กรุณาตรวจแก้ไขพร้อมแนะนำ และความช่วยเหลือในทุกๆ ด้าน ขอขอบคุณ คุณสมใจ แก้วสร และคุณแสนชัย คำหล้า ที่ช่วยตรวจแก้ไข และขอขอบคุณบุคลากรทุกท่านที่ให้ความสะดวกในด้านต่าง ๆ เป็นอย่างดี ไว้ ณ ที่นี้ด้วย

เอกสารอ้างอิง

- แผ่นดินทองเดือนเก้า : โคราชโหมป้องกัน เพลี้ยแป้ง ระบาดยก 2. 7 สิงหาคม 2552 . แหล่งที่มา : (<http://www.pandintong.com/ViewContent.php?ContentID=3971>, 24 สิงหาคม 2552)
- รศ.ณรงค์ สิงห์บุระอุตม. 22 มกราคม 2552 : การเฝ้าระวังโรคระบาดพืช ;โรคพุ่มแฉ่ มันสำปะหลัง (Phyllody). ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

แหล่งที่มา : (<http://www.pandintong.com/ViewContent.php?ContentID=3971>, 24 สิงหาคม 2552)

- 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.
- Lee, I M., R.W. Hammond, R.E.Davis and D.E. Gunderson. 1993. Universal amplification and analysis of pathogen 16 SrDNA for classification and identification of mycoplasmalike organisms Phytopathology 83 : 834-842.
- Martiez-Lopez., G. 1977. American virus and mycoplasma disease of cassava. Proc. Cassava Protection Workshop Ser. CE-14 : 85-87.
- Primer Biosoft Accelerating in Life Science. _____ : PCR Primer Design Guideline.
- แหล่งที่มา : (http://www.premierbiosoft.com/tech_notes/PCR_Primer_Design.html, 29 มิถุนายน 2555)
- Shikata, E., W.S. Teng and T. Matsumoto, 1969. Mycoplasma or PLT-like micro-organism detected in leaf of sugarcane plant infected with white leaf disease and suppression of the disease symptoms by the antibiotics of tetra cycline group , J.Fac. Agri., Hokkaido Univ. 56(2) : 70-90.

พัฒนาเทคนิคการตรวจสอบเชื้อไฟโตพลาสมา
สาเหตุโรคใบขาวอ้อยด้วยกรดนิวคลีอิกตัวตรวจ
Development of the Detection Phytoplasma
of Sugarcane White Leaf Disease by Nucleic Acid Probe

กาญจนา วาระวิชะนี วันเพ็ญ ศรีทองชัย
ปริเชษฐ์ ตั้งกาญจนภาสน์
กลุ่มงานไวรัสวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

อ้อยเป็นพืชอุตสาหกรรมหลักอีกชนิดหนึ่งของประเทศไทยที่นำรายได้เข้าประเทศในปี
หนึ่งๆ มากกว่าหมื่นล้านบาท และในปัจจุบันอ้อยยังเป็นวัตถุดิบที่สำคัญอย่างหนึ่งใน
อุตสาหกรรมการผลิตเอทานอล จากศักยภาพดังกล่าวจึงต้องมีการขยายพื้นที่ปลูกให้เพิ่มมาก
ขึ้นซึ่งส่วนใหญ่อยู่ทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ แต่ผลผลิตที่ได้ต่อหน่วยพื้นที่ปลูกกลับมี
แนวโน้มลดลง ปัญหาที่สำคัญอย่างหนึ่งที่ทำให้อ้อยสูญเสียผลผลิตไปมาก คือ ปัญหาของโรค
ใบขาวที่เกิดจากเชื้อไฟโตพลาสมา ในปัจจุบันยังไม่มีเทคโนโลยีใดที่สามารถแก้ไขปัญหานี้ได้ ดังนั้น
วิธีการควบคุมการแพร่ระบาดของโรคที่ดีที่สุด คือ การปลูกอ้อยโดยใช้ท่อนพันธุ์ที่ปราศจากโรค ควบคู่
กับการจัดการในแปลงผลิต ดังนั้น วิธีการตรวจสอบที่มีความแม่นยำจึงสามารถตรวจการปนเปื้อนโรค
โดยทำการออกแบบไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงกับเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อย คือ
ยีนในส่วน Sec A gene โดยออกแบบไพรเมอร์ 2 คู่ คือ SecA-F & SecA-R และ SecAfor1 &
SecArev3 ที่ให้แถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 400 เบส และ 800 เบส ตามลำดับ เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับ
ข้อมูลใน genbank พบว่าเหมือนมากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ จึงทำการออกแบบไพรเมอร์ใหม่ให้ได้
ขนาดยีนของ Sec A ที่ยาวขึ้น เพื่อประโยชน์สำหรับการหาตำแหน่งที่เหมาะสมของการสร้างกรด
นิวคลีอิกตัวตรวจ และหายีนตำแหน่งอื่นๆ เพิ่มเติม พร้อมหายีนใหม่มาเพื่อประโยชน์สำหรับการหา
ตำแหน่งที่เหมาะสมของการสร้างกรดนิวคลีอิกตัวตรวจและนำไปเปรียบเทียบกับประสิทธิภาพของกรด
นิวคลีอิกตัวตรวจในส่วน 16 SDNA ต่อไปในปีงบประมาณ 2556

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-03-02-07-54

คำนำ

โรคใบขาวอ้อยเกิดจากเชื้อไฟโตพลาสมาที่มีลักษณะคล้ายกับแบคทีเรียขนาดเล็กที่สุด แต่ไม่มีผนังเซลล์ รูปร่างไม่แน่นอนมีขนาด 80-900 นาโนเมตร มีแมลงพาหะคือเพลี้ยจักจั่นสีน้ำตาลสามารถพบเชื้ออยู่ในกลุ่มเซลล์ท่ออาหารของต้นอ้อย อ้อยที่ถูกเชื้อเข้าทำลายจะมีใบสีขาว ต้นแคระแกรน ใบแคบ เรียวเล็กกว่าปกติ แตกหน่อเร็ว ส่วนหน่อที่แตกใหม่จะมีสีขาวมีลักษณะคล้ายกอตะไคร้ หากเป็นมากอ้อยจะตายภายใน 2-4 เดือน โรคใบขาวอ้อยสามารถติดไปได้กับท่อนพันธุ์ จึงเป็นปัญหาอย่างมากถ้าอ้อยมีอาการแฝงของโรคอยู่ หากเกษตรกรนำอ้อยที่มีอาการแฝงไปขยายพันธุ์ จะทำให้เกิดการแพร่ระบาดของโรคอย่างกว้างขวางและรวดเร็วมากขึ้นหากเพลี้ยจักจั่นสีน้ำตาลช่วยถ่ายทอดโรคในสภาพแปลงปลูก ซึ่งในขณะนี้วิธีการควบคุมการแพร่ระบาดของโรคที่ดีที่สุด คือ การใช้ท่อนพันธุ์ที่สะอาดปราศจากโรค จึงเป็นที่มาของวิจัยเพื่อพัฒนากรดนิวคลีอิกตัวตรวจโรคใบขาวในอ้อยขึ้น เรียกว่าเทคนิคนิวคลีอิกไฮบริดเซชัน (nucleic acid hybridization) ซึ่งเทคนิคนี้สามารถตรวจหาดีเอ็นเอเป้าหมายได้ถึงระดับยีนโดยอาศัยหลักการจับคู่กันของลำดับเบสคู่สม โดยทั่วไปวิธีการนี้มีไวและความจำเพาะสูงในการตรวจจับกรดนิวคลีอิกของไฟโตพลาสมาถึงแม้ว่าเชื้อจะมีปริมาณน้อยกรดนิวคลีอิกตัวตรวจก็มีประสิทธิภาพในการตรวจจับได้ดี เมื่อทำการผลิตกรดนิวคลีอิกตัวตรวจมาแล้วยังสามารถเก็บไว้ได้นานและสามารถเพิ่มปริมาณได้ง่ายเมื่อต้องการใช้งาน และที่สำคัญกรดนิวคลีอิกตัวตรวจนี้สามารถใช้จำแนกเชื้อสาเหตุได้ถึงระดับสายพันธุ์ (พรทิพย์ และคณะ 2541) (Klinkong et. al., 1993) แต่อย่างไรก็ตามก่อนการสร้างกรดนิวคลีอิกตัวตรวจที่มีประสิทธิภาพสูงนั้นต้องหายีนที่เหมาะสมก่อนเพื่อให้สามารถตรวจจับเชื้อสาเหตุโรคได้อย่างแม่นยำ จึงต้องทำการออกแบบไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะสูงกับเชื้อเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อย แล้วนำมาเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค PCR แล้วนำไปผลิตเป็นกรดนิวคลีอิกตัวตรวจที่มีความจำเพาะสูงเป็นลำดับต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างโรคอ้อยใบขาว
2. อุปกรณ์ทางการเกษตร ได้แก่ โรงเรือน กระจก ทราย กรวด ดิน ถังปลูก ปุ๋ย และป้ายชื่อ
3. อุปกรณ์ด้านวิทยาศาสตร์ ได้แก่ ตู้แช่แข็ง -20°C อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath shaker) เครื่องซั่งละเอียด เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูงควบคุมอุณหภูมิ (Centrifuge) เครื่อง Thermal cycler และเครื่อง Gel electrophoresis
4. สารเคมีวิทยาศาสตร์ เช่น ไนโตรเจนเหลว สารประกอบ CTAB buffer เอ็มไซต์ (Roch) Chlorofrom และ Ethanol

วิธีการ

1. ทำการออกแบบไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงสูงกับเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อยโดยใช้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของส่วนยีนที่มีศักยภาพเหมาะสมจาก GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Entrez>) เพื่อนำมาออกแบบไพรเมอร์โดยอาศัยโปรแกรม GeneFisher (<http://www.bibiserv.techfak.unibielefeld.de/genefisher/>)
2. 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
3. ตรวจสอบผล PCR ด้วยเทคนิค Gel electrophoresis
4. โคลนยีนดีเอ็นเอของเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อย เข้าพาหะ pGEM-T Easy (Promega) และฝากแบคทีเรีย *E. coli* ด้วย heat shock transformation
5. ทำการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ แล้วนำข้อมูลที่ได้มาเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์กับฐานข้อมูล GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Entrez>) เพื่อยืนยันว่าไพรเมอร์ที่ออกแบบไว้มีความเฉพาะเจาะจงต่อเชื้อสาเหตุจริง
6. รวบรวม วิเคราะห์ และรายงานผลการทดสอบ
7. สรุปผลและเขียนรายงานผลการวิจัย

เวลาและสถานที่

- ระยะเวลา ตุลาคม 2554-กันยายน 2555
- สถานที่ กลุ่มงานไวรัสวิทยาและโรงเรือนทดลอง ของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ได้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของส่วนยีนที่มีศักยภาพเหมาะสมจาก GenBank สำหรับนำมาออกแบบไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงกับเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อย คือ ยีนใน ส่วน Sec A โดยออกแบบไพรเมอร์ 2 คู่ คือ SecA-F/ SecA-R และ SecAfor1 / SecArev3 ที่ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 400 เบส และ 800 เบส ตามลำดับ ซึ่งคู่ไพรเมอร์นี้สามารถตรวจเชื้อใบขาวอ้อยได้

ทำการเลือกโคลน Sec A ของเชื้อไฟโตพลาสมา สาเหตุโรคใบขาวอ้อย ขนาดประมาณ 400 เบส และ 800 เบส ด้วยพลาสมิดพาหะ pGEM-T Easy (Promega) เพื่อนำไปส่งวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ต่อไป

เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับข้อมูลใน genbank พบว่าเหมือนมากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ จึงทำการออกแบบไพรเมอร์ใหม่ให้ได้ขนาดยีนของ Sec A ที่ยาวขึ้น เพื่อประโยชน์สำหรับการหาตำแหน่งที่

เหมาะสมของการสร้างกรดนิวคลีอิกตัวตรวจ และหายีนตำแหน่งอื่นๆ เพิ่มเติม พร้อมหายีนใหม่มาเพื่อประโยชน์สำหรับการหาตำแหน่งที่เหมาะสมของการสร้างกรดนิวคลีอิกตัวตรวจและนำไปเปรียบเทียบกับประสิทธิภาพของกรดนิวคลีอิกตัวตรวจในส่วน 16 SDNA ต่อไปในปีงบประมาณ 2556

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

สามารถนำมาสังเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ ด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) ด้วยไพรเมอร์ 2 คู่ ในส่วน Sec A ไพรเมอร์คู่ที่ 1 คือ SecA-F/ SecA-R ที่ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 400 เบส และไพรเมอร์คู่ที่ 2 คือ SecAfor1/SecArev3 ที่ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 800 เบส และทำการโคลน Sec A ของเชื้อไฟโตพลาสมา สาเหตุโรคใบขาวอ้อย ด้วยพลาสมิดพาหะ pGEM-T Easy (Promega) เพื่อวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ และเมื่อนำไปเปรียบเทียบกับข้อมูลใน genbank พบว่าเหมือนมากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้น ไพรเมอร์ทั้ง 2 คู่นี้สามารถตรวจเชื้อใบขาวอ้อยได้เหมือนไพรเมอร์ ในส่วน 16s ribosomal RNA คือ P1/P7 และ R16F2/R2 ที่ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 1,200 เบส จึงทำการออกแบบไพรเมอร์ใหม่ให้ได้ขนาดยีนของ Sec A ที่ยาวขึ้น เพื่อประโยชน์สำหรับการหาตำแหน่งที่เหมาะสมของการสร้างกรดนิวคลีอิกตัวตรวจ และหายีนตำแหน่งอื่นๆ เพิ่มเติม พร้อมหายีนใหม่มาเพื่อประโยชน์สำหรับการหาตำแหน่งที่เหมาะสมของการสร้างกรดนิวคลีอิกตัวตรวจและนำไปเปรียบเทียบกับประสิทธิภาพของกรดนิวคลีอิกตัวตรวจในส่วน 16 SDNA ต่อไปในปีงบประมาณ 2556

เอกสารอ้างอิง

- พรทิพย์ วงศ์แก้ว, ยุพา หาญบุญทรง พิศาล ศิริธร สมคิด บุญครอง และชุตินันท์ ชูสาย. 2541. การพัฒนาเทคนิคการตรวจเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อยในระดับไรโดยวิธี DNA probe. รายงานการประชุมวิชาการอ้อยและน้ำตาลทรายแห่งชาติครั้งที่ 3, หน้า 50-61. กรุงเทพฯ. สมาคมวิชาการอ้อยและน้ำตาลทรายแห่งชาติร่วมกับสำนักคณะ กรรมการอ้อยและน้ำตาล.
- Klinkong, S. and E. Seemuller, 1993. Detection and differentiation of the mycoplasma-like organism associated with sugarcane white leaf disease using cloned extrachromosomal DNA probe. Kasetart J.27 : 98-103.
- Doyle, J.J. and Doyle, J.L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus 12: 13-15.

การจำแนกสายพันธุ์ *Bacillus thuringiensis*
ที่พบในประเทศไทย โดยเทคนิค PCR
The Isolation of *Bacillus thuringiensis*
strains in Thailand by PCR Identification

ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ อิศเรศ เทียนทัต สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี
รัตนา นชะพงค์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

จากคัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ของกรมวิชาการเกษตรที่สามารถควบคุม
หนอนกระทู้หอมและหนอนกระทู้ผักได้มากกว่า 80% จำนวน 11 และ 103 isolate ตามลำดับ นำมา
เพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารเลี้ยงเชื้อ ก่อนนำไปทดสอบกับหนอนกระทู้หอมและหนอนกระทู้ผักวัย 2
พบว่า ไม่มี isolate ใดสามารถทำให้หนอนกระทู้หอมตายมากกว่า 80% มี 33 isolate ที่ทำให้หนอน
กระทู้ผักตายตั้งแต่ 80% เช่น 320-3 14-14 281-4 27-1 7-1 26/45 1 -22 26/45 2 -3 27/45 2 -14
27/45 1 -11 ทดลองนำเชื้อทั้ง 7 isolate ไปตรวจสอบด้วยวิธี PCR โดยใช้อุณหภูมิ 94°C 3 นาที จำนวน
1 รอบ อุณหภูมิ 94°C 1 นาที อุณหภูมิ 55°C 32 นาที อุณหภูมิ 72°C 2 นาที จำนวน 30 รอบ และใช้
อุณหภูมิ 72°C 7 นาที จำนวน 1 รอบ จากนั้นนำไปตรวจสอบด้วยวิธี electrophoresis พบว่าเชื้อทั้ง 7
isolate มี cry โปรตีนเป็นชนิด Cry 1AC ซึ่งเป็นชนิดที่สามารถควบคุมหนอนผีเสื้อได้ดี และจะนำเชื้อ
Bacillus thuringiensis ของกรมวิชาการเกษตรซึ่งมีจำนวนมาก มาทำการศึกษาค้นคว้าต่อไป

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* ซึ่งติดต่อสารฆ่าแมลง ต่อมาได้มีการนำ Bt สายพันธุ์ใหม่ ๆ เช่น *aizawai* สามารถควบคุมแมลงศัตรูพืชได้กว้างขวางขึ้น (อัจฉรา, 2539) จากปัญหาของหนอนใยผักที่ติดต่อกันมากจนจำเป็นต้องใช้สารเคมีกำจัดแมลงได้อย่างรวดเร็ว เป็นผลทำให้เกษตรกรต้องใช้สารเคมีกำจัดแมลงที่มีฤทธิ์รุนแรงมากขึ้น 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 และสามารถทำลายแมลงได้มากขึ้นอีกด้วย 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. เครื่องแยกเชื้อบริสุทธ์ (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. ใช้ไพรเมอร์จำนวน 6 คู่ ที่สามารถจำแนก cry ต่างๆ ได้แก่ cry1Aa, cry1Ab, cry1Ac, cry1l, cry2 และ cry3
2. นำเชื้อ Bt ที่ทำให้หนอนกระทู้ผักตาย 80% ขึ้นไป มาสกัดดีเอ็นเอ
3. ทำ PCR โดยปฏิกิริยาประกอบด้วย 1 μ l DNA, 12.5 μ l PCR mixture, primers จำนวน 2 สาย สายละ 1.25 μ l และ Dye 2.5 μ l
4. นำดีเอ็นเอ ที่ได้ไปทำปฏิกิริยา PCR โดยมีขั้นตอนดังนี้

Initial denaturation	ที่ 94°C	3 นาที
Denaturation	ที่ 94°C	1 นาที

Annealing	ที่ 55°C	2 นาที	35 รอบ
Extension	ที่ 72°C	2 นาที	
Final extension	ที่ 72°C	7 นาที	

จากนั้นนำ PCR product ที่ได้ไปตรวจสอบด้วย gel วิเคราะห์ผล

5. นำดีเอ็นเอที่ได้มาตรวจสอบโดยวิธี electrophoresis โดยใช้ agarose gel วิเคราะห์ข้อมูล และสรุปผลการทดลอง

เวลา สถานที่ ตุลาคม 2553-กันยายน 2555 ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1 คัดเลือกเชื้อ Bt ของกรมวิชาการเกษตร ได้เชื้อที่ทำให้หนอนตายตั้งแต่ 80% โดยทำให้หนอนกระทู้ฝักตาย 103 isolate และหนอนกระทู้หอมตาย 11 isolate เพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณ หนอนกระทู้ฝักและหนอนกระทู้หอมในห้องปฏิบัติการโดยใช้อาหารเทียม นำเชื้อ *Bacillus thuringiensis* จำนวน 126 isolate มาเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient broth 72 ชั่วโมง เพื่อให้เชื้อ สร้างผลึกโปรตีน ตรวจสอบผลึกของแต่ละ isolate ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเชื้อทั้งหมดสร้างผลึก โปรตีน และทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนกระทู้ฝักหรือหนอนกระทู้หอม วัย 2 จำนวน 30 ตัว ต่อ isolate เปรียบเทียบกับชุดควบคุมและเชื้อ Bt ทางการค้า พบว่าเชื้อที่ทำให้หนอนกระทู้ฝักตาย 0-25% 25.01-50% 50.01-75% และ 75.01-100% มีจำนวน 15 9 14 และ 65 isolate ตามลำดับ โดยมีเชื้อที่ทำให้หนอนกระทู้ฝักตายตั้งแต่ 80% 33 isolate และจะนำเชื้อดังกล่าวไปจำแนกสายพันธุ์โดย เทคนิค PCR ต่อไป

ตารางที่ 1 แสดงเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้ฝักที่ได้รับเชื้อ isolate ต่างๆ

ชื่อ isolate	เปอร์เซ็นต์การตายของ หนอนกระทู้ฝัก	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.วังหมี่ อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา

ตารางที่ 1 (ต่อ) แสดงเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้ฝักที่ได้รับเชื้อ isolate ต่างๆ

ชื่อ isolate	เปอร์เซ็นต์การตายของ หนอนกระทู้ผัก	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.วังหมี่ อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา
320-3	96.66	อ.สวนผึ้ง จ.ราชบุรี
320-20	86.66	อ.สวนผึ้ง จ.ราชบุรี
⁴ 26/45 1 -22	100	อ.แม่สอด จ.ตาก
³ 26/45 2 -3	100	อ.แม่สอด จ.ตาก
³ 27/45 2 -14	100	อ.แม่สอด จ.ตาก
³ 27/45 1 -11	100	อ.แม่สอด จ.ตาก
³ 28/45 1 -6	100	อ.แม่สอด จ.ตาก
⁴ 28/45 2 -2	100	อ.แม่สอด จ.ตาก
⁴ 29/45 2 -28	93.10	อ.แม่สอด จ.ตาก

การเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณและหาความเข้มข้นของเชื้อปีที่ 65 ไอโซเลท เป็นเซลล์รูปแท่ง มีโคโลนีสีขาวขุ่น ผิวด้าน ขอบไม่เรียบ ขนาดประมาณ 0.5-0.8 เซนติเมตร เมื่อนำเชื้อที่เพาะเลี้ยงในอาหาร NA 48-72 ชั่วโมง จะสร้างสปอร์และผลึกโปรตีนเป็นรูปพีระมิดคู่(Bipyramid) ขนาดเล็ก และขนาดใหญ่ปะปนกัน

ขั้นตอนที่ 2 นำเชื้อ 7 isolate มาสกัดดีเอ็นเอ จากนั้นนำไปทำ PCR พบว่ากระบวนการ PCR ที่เหมาะสมคือใช้อุณหภูมิ 94°C 3 นาที จำนวน 1 รอบ อุณหภูมิ 94°C 1 นาที อุณหภูมิ 55°C 32 นาที อุณหภูมิ 72°C 2 นาที จำนวน 30 รอบ และใช้อุณหภูมิ 72°C 7 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% ส่วนหนอนกระทู้ฝักนำเชื้อ *Bt* จำนวน 103 isolate มาทดสอบกับหนอนกระทู้ฝักวัย 2 พบว่ามี 33 isolate ที่ทำให้หนอนตายตั้งแต่ 80% เมื่อนำไปตรวจสอบด้วยวิธี PCR จำนวน 7 isolate พบว่าเชื้อทั้ง 7 isolate มี *cry* โปรตีนเป็นชนิด *Cry 1AC* ซึ่งเป็นชนิดที่สามารถควบคุมหนอนผีเสื้อได้ดี นอกจากนี้เชื้อ *Bt* ของกรมวิชาการเกษตรยังมีอีกเป็นจำนวนมาก ซึ่งจะได้ทำการศึกษาต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- โสธร ประเสริฐผล. 2512. การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชด้วยเชื้อจุลินทรีย์. กสิกร 42(3) : 289-305.
- อัจฉรา ตันติโชค. 2539. แบคทีเรียควบคุมแมลงศัตรูพืช. เอกสารทางวิชาการ การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีเพื่อการเกษตรที่ยั่งยืน. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 163-182.
- อัจฉรา ตันติโชค. 2527. การศึกษาความคงทนของเชื้อ *Bacillus thuringiensis* บนกะหล่ำปลีในสภาพไร่. รายงานผลการค้นคว้าและวิจัย ปี 2527. กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกัญและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 110-114.
- อัจฉรา ตันติโชค และอุทัย เกตุนุติ. 2537. ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียสูตรผสมละลายน้ำในการควบคุมหนอนกระทู้หอมบนองุ่น. รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยปี 2537. กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกัญและสัตววิทยา 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.

ศึกษาการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับ
การนำเข้าเมล็ดพันธุ์พริกจากเครือรัฐออสเตรเลีย
Study on Phytosanitary Measures for the Importation
of Capsicum Seeds from Australia

วาสนา ฤทธิ์ไธสง^{1/} ณัฐพร อุทัยมงคล^{1/} วลัยกร รัตนเดชากุล^{1/}
สุคนธ์ทิพย์ สมบัติ^{1/} กาญจนา วาระวิชนะ^{2/}
^{1/}กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
^{2/}กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชที่เหมาะสมต้องดำเนินการศึกษาว่าพืชหรือผลิตภัณฑ์พืชที่นำเข้านั้นมีโอกาสที่ศัตรูพืชกักกันจะติดมากับสินค้าได้หรือไม่ โดยใช้วิธีการทางวิทยาศาสตร์ประกอบเหตุผลในการกำหนดมาตรการ เพื่อป้องกันมิให้ศัตรูพืชร้ายแรงจากต่างประเทศเข้ามาและแพร่กระจายในประเทศไทย ซึ่งอาศัยกฎหมายในการควบคุมการนำเข้าพืชและผลิตภัณฑ์พืช ซึ่งจากการสืบค้นและรวบรวมข้อมูลมาตรการสุขอนามัยพืชได้มาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์พริก คือ ต้องมีการรับรองสุขอนามัยพืชสำหรับภาชนะบรรจุต้องปลอดจาก khapra beetle (*Trogoderma granarium* Everts) การรับรองเมล็ดพันธุ์ว่าได้รับการตรวจสอบว่าปลอดจากแมลง *Trogoderma* spp. เมล็ดพันธุ์ต้องผ่านการตรวจรับรองตามวิธีการวิเคราะห์ของ ISTA การรมเมล็ดพันธุ์ด้วย Methyl bromide อัตรา 80 g/m³ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 21°C หรือรมด้วย Phosphine อัตรา 1.0-1.5 g/m³ เป็นเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิระหว่าง 15-25°C หรือที่อัตรา 1.0-1.5 g/m³ เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิมากกว่า 25°C เพื่อกำจัด khapra beetle การกำจัดศัตรูพืชบนเมล็ดพันธุ์ด้วยการใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 82-85°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง การแช่เมล็ดพันธุ์ใน 10% Na₃PO₄ เป็นเวลา 20 นาที เพื่อกำจัดเชื้อไวรัสที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ การใช้สายพันธุ์ที่มีความต้านทานหรือทนทานต่อโรคและแมลงศัตรูพืช โดยเมล็ดพันธุ์ต้องมาจากแหล่งที่ปลอดจากศัตรูพืชกักกัน และต้องมาจากต้นพ่อแม่ที่ได้รับการตรวจสอบในระยะการเจริญเติบโตหรือได้รับการตรวจสอบในห้องปฏิบัติการว่าปลอดจากศัตรูพืชกักกัน ซึ่งจากการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชเบื้องต้นพบศัตรูพืชของพริกที่มีรายงานในไทยและเครือรัฐออสเตรเลีย จำนวน 156 ชนิด คือ แมลง 54 ไร 6 ชนิด ไส้เดือนฝอย 9 ชนิด สัตว์ฟันแทะ 1 ชนิด โปรโตซัว 1 ชนิด เชื้อรา 32 ชนิด แบคทีเรีย 17 ชนิด ไวรัส 21 ชนิด และวัชพืช 15 ชนิด โดยเป็นศัตรูพืชที่พบในเครือรัฐออสเตรเลีย จำนวน 135 ชนิด คือ แมลง 43 ชนิด

รหัสการทดลอง 03-04-55-01-01-01-55

โร 6 ชนิด โปโรโตซัว 1 ชนิดไส้เดือนฝอย 9 ชนิด แบคทีเรีย 17 ชนิด เชื้อรา 28 ชนิด ไวรัส 16 ชนิด และไวรัสพืช 15 ชนิด โดยพบศัตรูพืชที่มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์ จำนวน 3 ชนิด คือ แบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* ไวรัส *Alfalfa mosaic virus* และ *Broad bean wilt virus*

คำนำ

ปัจจุบันประเทศไทยมีการนำเข้าพืชและผลผลิตพืชจากต่างประเทศเพิ่มขึ้น มาตรการสุขอนามัยพืชที่ใช้สำหรับป้องกันมิให้ศัตรูพืช/ศัตรูพืชกักกันร้ายแรงจากต่างประเทศเข้ามาและ/หรือแพร่กระจายในประเทศไทยอาศัยกฎหมายในการควบคุมการนำเข้าพืชและผลผลิตพืช ได้แก่ พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 และที่แก้ไขเพิ่มเติม ซึ่งแบ่งพืช ศัตรูพืช และพาหะ ออกเป็น 3 ประเภท ได้แก่ สิ่งต้องห้าม สิ่งกักตุน และสิ่งไม่ต้องห้าม ซึ่งการนำเข้าหรือนำผ่านพืชสิ่งต้องห้ามเพื่อการค้า สิ่งต้องห้ามนั้นต้องผ่านการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชแล้วตามหลักเกณฑ์ วิธีการและเงื่อนไขที่อธิบดีกรมวิชาการเกษตรกำหนด โดยการนำเข้าต้องปฏิบัติตามมาตรการสุขอนามัยพืชจึงจะนำเข้าในราชอาณาจักรได้ ซึ่งเป็นไปตามมาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement on the application of Sanitary and Phytosanitary Agreement: SPS) และใช้มาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 2 เรื่อง กรอบสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Framework for Pest Risk Analysis (2007)) และฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยงต่อสภาพแวดล้อม และสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม (Pest Risk Analysis for Quarantine Pests Including Analysis of Environmental Risks and Living Modified Organisms (2004)) (FAO, 2006) สำหรับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์พืชจากประเทศออสเตรเลียนั้น พบว่าพืชดังกล่าวเป็นพืชอาศัยของศัตรูพืชร้ายแรงหลายชนิดซึ่งยังไม่มีรายงานการปรากฏในประเทศไทย และมีผู้ประสงค์ยื่นขอนำเข้าในราชอาณาจักรไทย ดังนั้นจึงมีความจำเป็นในการดำเนินการศึกษาวิจัยเพื่อทราบชนิดศัตรูพืชกักกันและนำไปกำหนดมาตรการทางวิชาการด้านสุขอนามัยพืชที่เหมาะสมโดยอยู่บนพื้นฐานทางวิทยาศาสตร์ และปรับปรุงแก้ไขกฎระเบียบด้านกักกันพืชเพื่อควบคุมการนำเข้าพืชและผลผลิตพืชเหล่านั้นให้มีประสิทธิภาพต่อไป และสามารถดำเนินการด้านการค้าต่อไปได้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. วัสดุคอมพิวเตอร์ เช่น แผ่นจัดเก็บข้อมูล (ซีดี) และหมึกพิมพ์ เป็นต้น
2. หนังสือและเอกสารวิชาการตลอดจนเอกสารที่เกี่ยวข้องเพิ่มเติม
3. ฐานข้อมูลออนไลน์ เช่น Crop Protection Compendium, EPPO เป็นต้น

วิธีการ

1. การสืบค้นและรวบรวมข้อมูล

1.1 สืบค้นและรวบรวมข้อมูลมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์พืชที่มีการกำหนดในต่างประเทศ จากหนังสือ ตำรา วารสาร เอกสารวิชาการ และเว็บไซต์ขององค์กรอารักขาพืชแห่งชาติของประเทศหรือภูมิภาคต่างๆ

1.2 สืบค้นและรวบรวมข้อมูลทั่วไปของพริกนำเข้าจากเครือรัฐออสเตรเลีย เช่น ชนิด สายพันธุ์ สถิติการนำเข้า-ส่งออก แหล่งผลิตเมล็ดพันธุ์ ปริมาณ/จำนวน ช่วงหรือระยะเวลาในการผลิต เก็บเกี่ยว โรงบรรจุสินค้าหรือสถานที่จัดการสินค้าส่งออก ลักษณะบรรจุภัณฑ์และฉลาก เส้นทางและวิธีการขนส่ง เช่น ลักษณะเป็นสินค้าขนส่ง ทางน้ำหรือทางอากาศ ดำเนินตรวจพืชที่นำเข้า รวมทั้งเอกสารทั้งหมดที่แนบมาพร้อมกับสินค้า

1.3 สืบค้นและรวบรวมข้อมูลศัตรูพืช เช่น ชนิด สายพันธุ์ ข้อมูลทางชีววิทยา สันฐานวิทยา แหล่งที่พบ จากหนังสือ ตำรา วารสาร เอกสารวิชาการ และเว็บไซต์ที่เกี่ยวข้อง

2. การวิเคราะห์โอกาสที่ศัตรูพืชจะเข้ามา ตั้งรกรากอย่างถาวร การแพร่กระจาย และผลกระทบทางเศรษฐกิจทั้งทางตรงและทางอ้อมหากศัตรูพืชเข้ามาได้ โดยมีการจำแนกศัตรูพืชที่ชัดเจน สถานะภาพการแพร่กระจายของศัตรูพืชในปัจจุบันของประเทศไทยและเครือรัฐออสเตรเลีย โดยพิจารณาจากศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานพบในประเทศไทยและสามารถติดตามกับเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้า

3. การวิเคราะห์มาตรการสุขอนามัยพืชที่เหมาะสมเพื่อจัดการกับศัตรูพืชแต่ละชนิด โดยคัดเลือกมาตรการที่เหมาะสม อาศัยพื้นฐานจากประสิทธิภาพของมาตรการนั้นเพื่อลดโอกาสการเข้ามาตั้งรกราก และแพร่กระจายของศัตรูพืช ให้หมดไปหรือลดลงมาอยู่ในระดับที่ประเทศไทยยอมรับได้ และมีความเป็นไปได้ในทางปฏิบัติโดยไม่เป็นอุปสรรคต่อการค้าระหว่างประเทศ

4. จัดทำรายงานการศึกษาการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืช

เวลาและสถานที่

เวลา	เริ่มต้น เดือนตุลาคม 2554 สิ้นสุด เดือนกันยายน 2556
สถานที่	กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสืบค้นและรวบรวมข้อมูล

1.1 สืบค้นและรวบรวมข้อมูลมาตรการสุขอนามัยพืชของเมล็ดพันธุ์พืชจากประเทศต่างๆ

จากการสืบค้นและรวบรวมข้อมูลมาตรการสุขอนามัยพืชได้มาตรการสุขอนามัยพืชของ เมล็ดพันธุ์พริก ดังนี้

- มีการรับรองสุขอนามัยพืชสำหรับภาชนะบรรจุต้องปลอดจาก khapra beetle (*Trogoderma granarium* Everts)
- มีการรับรองเมล็ดพันธุ์ว่าได้รับการตรวจสอบว่าปลอดจากแมลง *Trogoderma* spp.
- มีการรับรองเมล็ดพันธุ์ว่าได้ผ่านการตรวจรับรองตามวิธีการวิเคราะห์ของ ISTA (ISTA, 2012)
- การรมด้วย Methyl bromide อัตรา 80 g/m³ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 21°C เพื่อกำจัด khapra beetle
- การรมด้วย Phosphine อัตรา 1.0-1.5 g/m³ เป็นเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิระหว่าง 15-25°C หรือที่อัตรา 1.0-1.5 g/m³ เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิมากกว่า 25°C
- การแช่เมล็ดพันธุ์ใน 10% Na₃PO₄ เป็นเวลา 20 นาที เพื่อกำจัดเชื้อไวรัสที่ติดมากับ เมล็ดพันธุ์
- การกำจัดศัตรูพืชบนเมล็ดพันธุ์ด้วยการใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 82-85°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- การใช้สายพันธุ์ที่มีความต้านทานหรือทนทานต่อโรคและแมลงศัตรูพืช
- ต้องมาจากแหล่งที่ปลอดจากศัตรูพืชด้วยกัน
- เมล็ดพันธุ์ต้องมาจากต้นพ่อแม่ที่ได้รับการตรวจสอบในระยะเวลาเจริญเติบโตหรือ ได้รับการตรวจสอบในห้องปฏิบัติการว่าปลอดจากศัตรูพืชด้วยกัน

1.2 สืบค้นและรวบรวมข้อมูลพริกมุล สถิติการนำเข้า-ส่งออกเมล็ดพันธุ์พริกจากเครือรัฐ ออสเตรเลีย

พริกเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Solanaceae เช่นเดียวกับมะเขือเทศ มะเขือ มันฝรั่ง ยาสูบ และพริกเนย ซึ่งจัดอยู่ในสกุล *Capsicum* มีถิ่นกำเนิดในแถบอเมริกาใต้และแผ่ขยายมายังอเมริกากลาง แล้วจึงแพร่ไปยังตอนเหนือของโคลอมเบียและทางตอนใต้ของมลรัฐแอริโซนา ถูกนำเข้ามายังทวีป เอเชียโดยชาวโปรตุเกส และในปี ค.ศ. 1505 จึงเข้ามายังอินโดนีเซีย โดยเฉพาะพริกพันธุ์เผ็ดที่ กลายเป็นที่นิยมของชาวอินโดนีเซีย ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์พริก ประมาณ 10.60 ตัน คิด เป็นมูลค่ากว่า 37 ล้านบาท (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2556) โดยนำเข้าจากหลาย ประเทศ รวมถึงเครือรัฐออสเตรเลีย

ปี 2551 ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์พริกจากเครือรัฐออสเตรเลียประมาณ 1,000 กรัม คิดเป็นมูลค่าประมาณ 23,962 บาท (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2556) โดยพริกที่ นิยมปลูกในเครือรัฐออสเตรเลียมี 2 ชนิด ได้แก่ *Capsicum annum* (capsicum) และ *C.*

frutescens (chilli) ซึ่งมีหลายสายพันธุ์ เช่น aries, gedeon, target, domino, magnum, purple princess, purple star, golden gem, firefly, habanero, jalapeno และ cherry bomb เป็นต้น (Burt, 2005) ถึงแม้ว่าปริมาณการนำเข้าเมล็ดพันธุ์พริกยังมีไม่มากนักแต่ก็มีโอกาสที่ศัตรูพืชจะติดเข้ามา กับเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากเครือรัฐออสเตรเลียได้ เนื่องจากมีศัตรูพืชที่สำคัญหลายชนิดที่สามารถติดเข้ามา กับเมล็ดพันธุ์ได้

1.3 สืบค้นและรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชพริก

จากการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชเบื้องต้นพบศัตรูพืชของพริกที่มีรายงานในไทยและเครือรัฐออสเตรเลีย จำนวน 156 ชนิด คือ แมลง 54 ชนิด ได้แก่ *Agrotis ipsilon*, *Aleurodicus disperses*, *Aphis gossypii*, *Aphis spiraecola*, *Atherigona orientalis*, *Bactrocera aquilonis*, *Bactrocera carambolae*, *Bactrocera correcta*, *Bactrocera cucurbitae*, *Bactrocera dorsalis*, *Bactrocera dorsalis species complex*, *Bactrocera frauenfeldi*, *Bactrocera latifrons*, *Bactrocera neohumeralis*, *Bactrocera papaya*, *Bactrocera tau*, *Bactrocera tryoni*, *Bemisia tabaci*, *Bemisia tabaci (B biotype)*, *Ceratitis capitata*, *Chrysodeixis eriosoma*, *Chrysodeixis includes*, *Corcyra cephalonica*, *Dacus dosalis*, *Eudocima fullonia*, *Frankliniella intonsa*, *Frankliniella occidentalis*, *Helicoverpa armigera*, *Helicoverpa assulta*, *Leucinodes orbonalis*, *Liriomyza huidobrensis*, *Liriomyza sativae*, *Liriomyza trifolii*, *Listroderes costirostris*, *Maconellicoccus hirsutus*, *Microtermes obesi*, *Myzus persicae*, *Nezara viridula*, *Ostrinia furnacalis*, *Phthorimaea operculella*, *Phyllophaga*, *Scapteriscus didactylus*, *Scirtothrips dorsalis*, *Spodoptera exigua*, *Spodoptera litura*, *Pseudaulacaspis pentagona*, *Rhopalosiphum maidis*, *Thrips hawaiiensis*, *Thrips palmi*, *Thrips parvispinus*, *Trialeurodes vaporariorum*, *Tribolium castaneum*, *Trichoplusia ni* และ *Unaspis citri* ไร 6 ชนิด ได้แก่ *Aculops lycopersici*, *Halotydeus destructor*, *Phytonemus pallidus*, *Polyphagotarsonemus latus*, *Tetranychus marianae* และ *Tetranychus urticae* ไส้เดือนฝอย 9 ชนิด ได้แก่ *Ditylenchus destructor*, *Helicotylenchus dihystra*, *Longidorus*, *Meloidogyne hapla*, *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne javanica*, *Pratylenchus penetrans*, *Pratylenchus zaeae* และ *Rotylenchulus reniformis* สัตว์ฟันแทะ 1 ชนิด ได้แก่ *Rattus argentiventer* โปรโตซัว 1 ชนิด ได้แก่ *Spongospora subterranea* f.sp. *subterranean* เชื้อรา 32 ชนิด ได้แก่ *Alternaria alternate*, *Alternaria solani*, *Aspergillus niger*, *Cercospora capsici*, *Choanephora cucurbitarum*, *Colletotrichum boninense*, *Colletotrichum capsici*, *Colletotrichum dematium*, *Colletotrichum truncatum*, *Corticium rolfsii*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*, *Glomerella acutata*, *Glomerella cingulata*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Leveillula taurica*, *Macrophomina phaseolina*, *Nectria haematococca*, *Oidium* sp., *Oidiopsis* sp.,

Peronospora hyoscyami f.sp. *tabacina*, *Phoma destructive*, *Phytophthora capsici*, *Phytophthora capsicum*, *Phytophthora cryptogea*, *Phytophthora infestans*, *Pseudocercospora fuligena*, *Pythium debaryanum*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Thanatephorus cucumeris* และ *Verticillium dahlia* แบคทีเรีย 17 ชนิด ได้แก่ *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, *Erwinia chrysanthemi*, *Grapevine yellows phytoplasmas*, *Pseudomonas cichorii*, *Pseudomonas corrugate*, *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis*, *Pseudomonas syringae* pv. *aptata*, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*, *Pseudomonas viridiflava*, *Ralstonia solanacearum*, *Ralstonia solanacearum* race 1, *Rhizobium radiobacter*, *Rhizobium rhizogenes*, *Rhodococcus fascians* และ *Xanthomonas vesicatoria* ไวรัส 21 ชนิด ได้แก่ *Alfalfa mosaic virus*, *Broad bean wilt virus*, *Capsicum chlorosis virus*, *Chilli veinal mottle virus*, *Cucumber mosaic virus*, *Pepper mild mottle virus*, *Pepper Mottle Virus*, *Pepper yellow leaf curl virus*, *Potato leafroll virus*, *Potato virus Y*, *Sweet potato feathery mottle virus*, *Tobacco etch virus*, *Tobacco leaf curl virus*, *Tobacco mosaic virus*, *Tobacco rattle virus*, *Tobacco ringspot virus*, *Tobacco streak virus*, *Tomato mosaic virus*, *Tomato torrado virus*, *Tomato yellow leaf curl virus* และ *Tomato spotted wilt virus* และวัชพืช 15 ชนิด ได้แก่ *Ambrosia artemisiifolia*, *Anagallis arvensis*, *Cirsium arvense*, *Cyperus rotundus*, *Digitaria ciliaris*, *Echinochloa crus-galli*, *Galinsoga parviflora*, *Hibiscus trionum*, *Orobanche*, *Orobanche cernua*, *Orobanche ramosa*, *Panicum repens*, *Richardia brasiliensis*, *Senna obtusifolia* และ *Solanum nigrum*

โดยเป็นศัตรูพืชที่พบในเครือรัฐออสเตรเลีย จำนวน 135 ชนิด เป็นแมลง 43 ชนิด ไร 6 ชนิด โพรโตซัว 1 ชนิด ไส้เดือนฝอย 9 ชนิด แบคทีเรีย 17 ชนิด เชื้อรา 28 ชนิด ไวรัส 16 ชนิด และวัชพืช 15 ชนิด (CABI, 2007; 2013)

2. การวิเคราะห์โอกาสที่ศัตรูพืชจะเข้ามา ตั้งรกรากอย่างถาวร การแพร่กระจาย และผลกระทบทางเศรษฐกิจ

ศึกษาและวิเคราะห์ชนิดของศัตรูพืชที่มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากเครือรัฐออสเตรเลียพบศัตรูพืชที่มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์ จำนวน 3 ชนิด คือ แบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* ไวรัส *Alfalfa mosaic virus* และ *Broad bean wilt virus*

3. การวิเคราะห์มาตรการสุขอนามัยพืชที่เหมาะสม

อยู่ระหว่างดำเนินการ

4. จัดทำรายงานการศึกษาการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืช

ยังไม่ได้ดำเนินการ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสืบค้นและรวบรวมข้อมูลมาตรการสุขอนามัยพืชได้มาตรการสุขอนามัยพืชของเมล็ดพันธุ์พริก คือ 1) มีการรับรองสุขอนามัยพืชสำหรับภาชนะบรรจุต้องปลอดจาก khapra beetle (*Trogoderma granarium* Everts) 2) มีการรับรองเมล็ดพันธุ์ว่าได้รับการตรวจสอบว่าปลอดจากแมลง *Trogoderma* spp. 3) มีการรับรองเมล็ดพันธุ์ว่าได้ผ่านการตรวจรับรองตามวิธีการวิเคราะห์ของ ISTA 4) การรมด้วย Methyl bromide อัตรา 80 g/m³ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 21°C เพื่อกำจัด khapra beetle หรือรมด้วย Phosphine อัตรา 1.0-1.5 g/m³ เป็นเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิระหว่าง 15-25°C หรือที่อัตรา 1.0-1.5 g/m³ เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิมากกว่า 25°C 5) การแช่เมล็ดพันธุ์ใน 10% Na₃PO₄ เป็นเวลา 20 นาที เพื่อกำจัดเชื้อไวรัสที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ 6) การกำจัดศัตรูพืชบนเมล็ดพันธุ์ด้วยการใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 82-85°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง 7) การใช้สายพันธุ์ที่มีความต้านทานหรือทนทานต่อโรคและแมลงศัตรูพืช 8) ต้องมาจากแหล่งที่ปลอดจากศัตรูพืชชักกกัน และ 9) เมล็ดพันธุ์ต้องมาจากต้นพ่อแม่ที่ได้รับการตรวจสอบในระยะเวลาเจริญเติบโตหรือได้รับการตรวจสอบในห้องปฏิบัติการว่าปลอดจากศัตรูพืชชักกกัน

ปี 2551 ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์พริกจากเครือรัฐออสเตรเลียประมาณ 1,000 กรัม คิดเป็นมูลค่าประมาณ 23,962 บาท โดยพริกที่นิยมปลูกในออสเตรเลียมี 2 ชนิด ได้แก่ *Capsicum annuum* (capsicum) และ *C. frutescens* (chilli) ซึ่งมีหลายสายพันธุ์ ถึงแม้ว่าปริมาณการนำเข้าเมล็ดพันธุ์พริกยังมีปริมาณไม่มากแต่ก็มีโอกาสที่ศัตรูพืชจะติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากเครือรัฐออสเตรเลียได้ เนื่องจากมีศัตรูพืชที่สำคัญหลายชนิดที่สามารถติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์ได้ จากการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชเบื้องต้นพบศัตรูพืชของพริกที่มีรายงานในไทยและเครือรัฐออสเตรเลีย จำนวน 156 ชนิด คือ แมลง 54 ไร 6 ชนิด ไส้เดือนฝอย 9 ชนิด สัตว์ฟันแทะ 1 ชนิด โปรโตซัว 1 ชนิด เชื้อรา 32 ชนิด แบคทีเรีย 17 ชนิด ไวรัส 21 ชนิด และวัชพืช 15 ชนิด โดยเป็นศัตรูพืชที่พบในเครือรัฐออสเตรเลีย จำนวน 135 ชนิด เป็นแมลง 43 ชนิด ไไร 6 ชนิด โปรโตซัว 1 ชนิด ไส้เดือนฝอย 9 ชนิด แบคทีเรีย 17 ชนิด เชื้อรา 28 ชนิด ไวรัส 16 ชนิด และวัชพืช 15 ชนิด โดยพบศัตรูพืชที่มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์ จำนวน 3 ชนิด คือ แบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* ไวรัส *Alfalfa mosaic virus* และ *Broad bean wilt virus*

คำขอขอบคุณ

ขอขอบคุณนางณัฐพร อุทัยมงคล หัวหน้ากลุ่มงานวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช สำหรับคำปรึกษาและคำแนะนำที่เป็นประโยชน์ต่อการปฏิบัติงาน ขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ กลุ่มงานวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับกำลังใจและความช่วยเหลือต่างๆ และขอขอบคุณบิดา-มารดาผู้เป็นกำลังใจสำคัญให้ลูกเสมอมา

เอกสารอ้างอิง

- ชวนพิศ อรุณรังสีกุล. มปป. พริก: พืชนำพิศวง. งานเทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์พืช. (ระบบออนไลน์).
แหล่งข้อมูล: <http://clgc.rdi.ku.ac.th/article/seed/chilli/chilli.html> (23 กรกฎาคม 2553).
- สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2556. ปริมาณและมูลค่าการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ควบคุม
ประจำปี 2555. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: www.doa.go.th/ard/FileUpload/พันธุ์พืช/สถิติ/ปริมาณและมูลค่าการนำเข้ารายเมล็ดพันธุ์%202555 (8 มีนาคม 2556).
- Burt, J. 2005. Growing capsicums and chillies. In: **Farmnote**. Department of Agriculture and Food, Government of Western Australia. No. 64/99. 4 pp.
- CAB INTERNATIONAL (CABI). 2007. **Crop Protection Compendium**. CAB INTERNATIONAL, Walling ford, U.K.
- CAB INTERNATIONAL (CABI). 2013. **Crop Protection Compendium**. CAB INTERNATIONAL, Walling ford, U.K.

ศึกษาการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าผลพลับสดจากนิวซีแลนด์
Study on Phytosanitary measures for the Importation of Fresh
Persimmon Fruit from New Zealand

วรัญญา มาลี^{1/} วลัยกร รัตนเดชากุล^{1/} สุกนธ์ทิพย์ สมบัติ^{1/}
 คมศร แสงจินดา^{1/} ชัยพร บัวมาศ^{2/}
^{1/} กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
^{2/} กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าผลพลับสดจากนิวซีแลนด์ ดำเนินการที่กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ระหว่างเดือนตุลาคม 2554 ถึง กันยายน 2555 มีวัตถุประสงค์เพื่อกำหนดมาตรการทางวิชาการด้านสุขอนามัยพืชในจัดการ ควบคุม ป้องกันและลดความเสี่ยงของศัตรูพืชที่มีโอกาสติดเข้ามาจากการนำเข้าผลพลับสดจากนิวซีแลนด์ ดำเนินการโดยศึกษามาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าผลพลับสดที่มีการกำหนดใน ต่างประเทศ รวบรวมศัตรูพลับที่มีรายงานในประเทศนิวซีแลนด์ วิเคราะห์ศักยภาพที่ศัตรูพืชจะติดมา กับผลพลับสดนำเข้า ผลการศึกษาพบว่าศัตรูพลับที่มีรายงานในนิวซีแลนด์ มีจำนวน 19 ชนิด ได้แก่ ไร 1 ชนิด แมลง 13 ชนิด ไส้เดือนฝอย 2 ชนิด แบคทีเรีย 2 ชนิด และรา 1 ชนิด ศัตรูพลับที่ไม่มีรายงาน พบในประเทศไทยและมีโอกาสติดมากับผลพลับสดนำเข้า มีจำนวน 5 ชนิด คือ เพลี้ยหอย *Ceroplastes destructor*, *Parthenolecanium persicae*, *Pinnaspis strachani* ตัวงวงฟูลเลอร์ ไรส *Pantomorus cervinus* และเพลี้ยแป้ง *Pseudococcus longispinus*

คำนำ

ปัจจุบันประเทศไทยมีการค้าขายพืชและผลผลิตพืชกับต่างประเทศเพิ่มขึ้น มาตรการ สุขอนามัยพืชที่ใช้สำหรับป้องกันมิให้ศัตรูพืชร้ายแรงจากต่างประเทศเข้ามาและ/หรือแพร่กระจายใน ประเทศไทยอาศัยกฎหมายในการควบคุมการนำเข้าพืชและผลผลิตพืช ได้แก่ พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติม โดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 ที่มีผลใช้บังคับตั้งแต่ 28 สิงหาคม 2551 ซึ่งแบ่งพืชออกเป็น 3 ประเภท ได้แก่ สิ่งต้องห้าม สิ่งกักตุน และสิ่งไม่ต้องห้าม สำหรับสิ่งต้องห้ามที่จะนำเข้าเพื่อการค้า จะต้องดำเนินการ ศึกษาว่าพืชหรือผลผลิตพืชที่นำเข้านั้นมีศัตรูพืชกักกันชนิดใดหรือไม่ที่มีโอกาสติดมากับสินค้า

รหัสการทดลอง 03-04-55-01-01-02-55

โดยใช้วิธีการทางวิทยาศาสตร์ ประกอบเหตุผลในการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชที่เหมาะสม กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ได้ออกประกาศ “เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550” ในท้ายประกาศดังกล่าวมีการกำหนดชนิดพืชและพาหะจากทุกแหล่งเป็นสิ่งต้องห้าม

โดยมีบทเฉพาะกาล ผ่อนผันให้สิ่งต้องห้ามที่เคยมีการนำเข้ามาในราชอาณาจักรแล้วในลักษณะที่เป็นการค้าก่อนประกาศฉบับนี้มีผลบังคับใช้ สามารถนำเข้าต่อไปได้โดยประเทศผู้ส่งออกต้องแจ้งความประสงค์ขออนุญาตนำเข้าและแสดงเอกสารหลักฐานที่เคยมีการนำเข้าพร้อมข้อมูลทางวิชาการยื่นต่อกรมวิชาการเกษตร เพื่อไม่ให้กระทบต่อการเกษตร ธุรกิจ และอุตสาหกรรม ซึ่งกรมวิชาการเกษตรได้อนุญาตให้ประเทศที่ได้ยื่นความประสงค์และได้รับการอนุมัติสามารถนำสิ่งต้องห้ามที่ได้รับอนุญาตเข้ามาในราชอาณาจักร โดยปฏิบัติตามสถานภาพเดิมก่อนประกาศมีผลใช้บังคับ

ผลสดของพืชในสกุล *Dyospyros* ซึ่งรวมถึงผลพลับสดจากทุกแหล่ง จัดเป็นสิ่งต้องห้ามตามประกาศ ฯ ดังกล่าว และผลพลับสดนำเข้าจากประเทศนิวซีแลนด์ได้รับการผ่อนผันให้นำเข้าได้เพื่อการค้า โดยปฏิบัติตามสถานภาพเดิมก่อนประกาศมีผลใช้บังคับจนกว่าการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชจะเสร็จสิ้นและกำหนดเงื่อนไขการนำเข้าใหม่ การปฏิบัติตามสถานภาพเดิมของพืชซึ่งกำหนดให้มีเพียงใบรับรองสุขอนามัยพืช (Phytosanitary certificate) ที่ไม่มีการระบุข้อกำหนดใดๆ กำกับมาด้วย ประกอบกับการนำเข้าที่มีปริมาณมากในแต่ละปี อาจทำให้ศัตรูพืชบางชนิดที่ไม่มีในประเทศไทย เช่น *Aspidiotus nerri*, *Pantomorus cervinus* และ *Epiphyas postvittana* ติดเข้ามากับผลพลับนำเข้า ซึ่งอาจก่อให้เกิดผลกระทบทางเศรษฐกิจและการส่งออกผักผลไม้ไทยไปยังประเทศที่เข้มงวดด้านกักกันพืช เนื่องจากศัตรูพืชดังกล่าวมีศักยภาพสามารถทำลายแก่พืชเศรษฐกิจของประเทศไทยได้หลายชนิด รวมถึงเป็นศัตรูพืชกักกันของบางประเทศที่มีการค้าขายกับประเทศไทย จึงดำเนินการศึกษาการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าผลพลับสดจากนิวซีแลนด์ เพื่อทราบชนิดของศัตรูพืชกักกันและมาตรการทางวิชาการด้านสุขอนามัยพืชสำหรับจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชที่เหมาะสม ใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนการออกกฎระเบียบ/กฎหมายเพื่อควบคุมการนำเข้า ซึ่งเป็นมาตรการป้องกันมิให้ศัตรูพืชร้ายแรงจากต่างประเทศเข้ามาในประเทศไทย และจะนำไปสู่การแก้ไขปรับปรุงกฎระเบียบต่างๆ ให้รัดกุมยิ่งขึ้น โดยไม่ขัดแย้งกับข้อตกลงระหว่างประเทศ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ผลพลับนำเข้า
2. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างศัตรูพืช เช่น พู่กัน กล่องพลาสติก กล่องรักษาความเย็น เป็นต้น
3. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์เช่น ขวดแก้ว อุปกรณ์ในการทำไลต์ กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo

microscope และ compound microscope เป็นต้น

4. สารเคมี เช่น สารเคมีสำหรับดองตัวอย่างพืชและศัตรูพืช สารเคมีกันเชื้อรา และสารเคมีสำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นต้น
5. วัสดุคอมพิวเตอร์ เช่น แผ่นจัดเก็บข้อมูล (ซีดี) และหมึกพิมพ์
6. หนังสือและเอกสารวิชาการตลอดจนเอกสารที่เกี่ยวข้องเพิ่มเติม

วิธีการ

1. การสืบค้นและรวบรวมข้อมูล

1.1 สืบค้นและรวบรวมข้อมูลมาตรการสุขอนามัยพืชของการนำเข้าผลพลับสดจากประเทศต่างๆ โดยสืบค้นและรวบรวมข้อมูลจากหนังสือ ตำรา วารสาร เอกสารวิชาการ และเว็บไซต์ขององค์กรอารักขาพืชในแต่ละประเทศหรือแต่ละภูมิภาค

1.2 สืบค้นและรวบรวมข้อมูลทั่วไปของพลับนำเข้าจากนิวซีแลนด์ ได้แก่ สถิติการนำเข้าส่งออก พันธุ์ และแหล่งปลูก จากเอกสารวิชาการ ด้านตรวจพืชนำเข้า ศุลกากร ข้อมูลจากองค์กรอารักขาพืชของประเทศผู้ส่งออก หรือจากเว็บไซต์ที่เกี่ยวข้อง

1.3 สืบค้นและรวบรวมข้อมูลศัตรูพลับที่มีรายงานพบในนิวซีแลนด์ ข้อมูลทางชีววิทยา สันฐานวิทยา แหล่งที่พบ จากหนังสือ ตำรา วารสาร เอกสารวิชาการ และเว็บไซต์ที่เกี่ยวข้อง และวิเคราะห์ศักยภาพของศัตรูพืชที่จะติดมากับพืชผลพลับสดนำเข้า

2. การสุ่มตัวอย่าง ตรวจสอบ และจำแนกชนิดของศัตรูพืชที่อาจติดมากับผลพลับสดนำเข้า

สุ่มตัวอย่างผลพลับสดนำเข้า ณ ด้านตรวจพืชนำเข้า และ/หรือแหล่งกระจายสินค้า โดยมีจำนวนผลพลับที่สุ่มดังนี้ (1) นำเข้าจำนวนน้อยกว่า 1,000 ผล สุ่มตัวอย่างจำนวน 450 ผล หรือทั้งหมด (2) นำเข้าจำนวนเท่ากับหรือมากกว่า 1,000 ผล สุ่มตัวอย่างจำนวน 600 ผล (จำนวนการสุ่มตัวอย่างอ้างอิงจาก Whyte, 2009) กรณีสุ่มผลพลับจากแหล่งกระจายสินค้าพิจารณาจำนวนตัวอย่างที่สุ่มตามความเหมาะสม นำมาตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นจากลักษณะภายนอก หรือผ่าดูภายในผลเพื่อสังเกตอาการว่ามีสาเหตุอาจเกิดจากโรคหรือแมลงศัตรูพืช หากเกิดจากโรคจะนำมาแยกเชื้อหาสาเหตุ โดยแยกโดยตรงหรือใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์และจำแนกชนิดด้วยวิธีการที่เหมาะสมต่อไป หากมีสาเหตุจากแมลงจะจำแนกกลุ่มของแมลง โดยใช้ลักษณะทางสันฐานวิทยา (Morphology) หรือส่งจำแนกชนิด

3. การวิเคราะห์โอกาสที่ศัตรูพืชจะเข้ามา ตั้งรกรากอย่างถาวร การแพร่กระจาย และผลกระทบทางเศรษฐกิจทั้งทางตรงและทางอ้อมหากศัตรูพืชเข้ามาได้ โดยมีการจำแนกศัตรูพืชที่ชัดเจน สถานะภาพการแพร่กระจายของศัตรูพืชในปัจจุบันของประเทศไทยและสาธารณรัฐฟิลิปปินส์ โดยพิจารณาจากศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานพบในประเทศไทยและสามารถติดมากับเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้า

4. การวิเคราะห์มาตรการสุขอนามัยพืชที่เหมาะสมเพื่อจัดการกับศัตรูพืชแต่ละชนิด โดยคัดเลือกมาตรการที่เหมาะสม อาศัยพื้นฐานจากประสิทธิภาพของมาตรการนั้นเพื่อลดโอกาสการเข้ามา ตั้งรกราก และแพร่กระจายของศัตรูพืช ให้หมดไปหรือลดลงมาอยู่ในระดับที่ประเทศไทยยอมรับได้ และมีความเป็นไปได้ในทางปฏิบัติโดยไม่เป็นอุปสรรคต่อการค้าระหว่างประเทศ

5. จัดทำรายงานการศึกษาการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืช

เวลาและสถานที่

เวลา: เดือนตุลาคม 2554-กันยายน 2555

สถานที่: กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการรวบรวมข้อมูลมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าผลพลับสดจากประเทศต่างๆ สถิติการนำเข้า ส่งออก แหล่งผลิตผลพลับสดของนิวซีแลนด์ และศัตรูพลับที่มีรายงานในนิวซีแลนด์ เพื่อศึกษาและกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าผลพลับสดจากนิวซีแลนด์ ได้ข้อมูลดังนี้

1. มาตรการสุขอนามัยพืชของผลพลับสดจากประเทศต่างๆ

1.1 ออสเตรเลียกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับผลพลับสดนำเข้าจากญี่ปุ่น เกาหลีใต้ และอิสราเอล ดังนี้

- ผลพลับต้องมาจากแปลงปลูกในพื้นที่ปลอดแมลงวันผลไม้ *Ceratitis capitata* (Pest free areas) หรือการกำจัดแมลงวันผลไม้ในองุ่นด้วยวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้วยความเย็น (cold disinfestation) ที่อุณหภูมิ 1.11 องศาเซลเซียส (34 องศาฟาเรนไฮต์) หรือต่ำกว่า นานต่อเนื่องกัน 14 วัน หรือ 1.67 องศาเซลเซียส (35 องศาฟาเรนไฮต์) หรือต่ำกว่า นานต่อเนื่องกัน 16 วัน หรือ 2.20 องศาเซลเซียส (36 องศาฟาเรนไฮต์) หรือต่ำกว่า นานต่อเนื่องกัน 18 วัน สำหรับผลพลับนำเข้าจากอิสราเอล

- ผลพลับต้องมาจากเขตปลอดศัตรูพืช *Stathmopoda masinissa* หรือ แหล่งผลิตปลอดศัตรูพืช (pest free places of production) หรือ การควบคุมศัตรูพืชในสวน (orchard control) และการตรวจสอบศัตรูพืชด้วยสายตา (visual inspection) และหากพบศัตรูพืชต้องดำเนินการแก้ไข (remedial action) หรือ รดด้วยเมทิลโบรไมด์อัตรา 48 กรัม/ลูกบาศก์เมตร นาน 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิเนื้อผลไม้ 15 องศาเซลเซียส สำหรับผลพลับนำเข้าจากเกาหลีใต้ และญี่ปุ่น

- ต้องมีมาตรการเฝ้าระวังศัตรูพืชในสวนที่จะส่งออก (Export orchard surveillance) และการรักษาความสะอาดในแปลงปลูกเพื่อลดปริมาณการเกิดโรคซึ่งเกิดจาก เชื้อรา *Monilinia fructigena* สำหรับผลพลับนำเข้าจากญี่ปุ่น เกาหลีใต้ และอิสราเอล

- การทำความสะอาดผิวผลพลับโดยการเป่าด้วยลมหรือล้างด้วยน้ำ ซึ่งเป็นขั้นตอนที่ดำเนินการในโรงบรรจุสินค้า เพื่อไม่ให้เพลี้ยแป้ง *Phenacoccus pergandei*, *Planococcus kraunhiae* และ *Pseudococcus cryptus* ติดไปกับผลพลับ

- การตรวจสอบศัตรูพืช หากตรวจพบศัตรูพืชต้องดำเนินการแก้ไขซึ่งรวมถึง การปฏิเสธการนำเข้า การทำลาย หรือกำจัดด้วยวิธีการอื่นๆ (หากมีวิธีกำจัด) สำหรับเพลี้ยหอย *Ceroplastes floridensis*, *Lepidosaphes conchiformis*, *Lopholeucaspis japonica*, *Parlatoria*

pergandii, *Pseudaonidia duplex*, *Pseudaulacaspis pentagona* เพลี้ยไฟ *Ponticulothrips diospyrosi*, *Retithrips syriacus* และหนอนผีเสื้อ *Adris tyrannus amurensis*, *Lagoptera juno*, *Stathmopoda masinissa*, *Cryptoblabe gnidiella*, *Grapholita molesta*, *Homona magnanima*, *Lobesia botrana*

- มาตรการอื่น ๆ ที่สนับสนุนการปฏิบัติงาน เช่น การจดทะเบียนสวน จดทะเบียนโรงบรรจุสินค้า การตรวจสอบศัตรูพืชก่อนส่งออก การออกใบรับรองสุขอนามัยพืช การเก็บรักษาผลผลิตและการขนส่ง เป็นต้น

1.2 สหรัฐอเมริกากำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับผลพลับสดนำเข้าจากแอฟริกาใต้ ซึ่งมีแมลงศัตรูพืชที่ขักกันซึ่งอาจติดไปกับผลพลับจำนวน 9 ชนิด ได้แก่ แมลงวันผลไม้ *Ceratitis capitata*, *Ceratitis rosa* Karsch, เพลี้ยหอย *Ceroplastes destructor*, *Ceroplastes rubens*, *Icerya seychellarum* เพลี้ยแป้ง *Delottococcus elisabethae*, *Paracoccus burnerae* และหนอนผีเสื้อ *Cryptoblabe gnidiella* *Thaumatotibia leucotreta* โดยผลพลับนำเข้าต้องได้รับการฉายรังสีที่ปริมาณรังสีดูดกลืนต่ำสุด 400 เกรย์ ต้องมีใบรับรองสุขอนามัยพืชออกโดยองค์การอารักขาพืชแห่งชาติของประเทศส่งออกระบุข้อความพิเศษว่าผลพลับผ่านการฉายรังสีที่ปริมาณรังสีดูดกลืนต่ำสุด 400 เกรย์ และมีการตรวจรับรองก่อนส่งออกโดยเจ้าหน้าที่ของประเทศผู้ส่งออกพร้อมกับเจ้าหน้าที่จากสหรัฐอเมริกา รวมถึงการตรวจสอบศัตรูพืชเมื่อนำเข้า

2. สถิติการนำเข้า ส่งออก และแหล่งผลิตผลพลับสดของนิวซีแลนด์

ประเทศไทยนำเข้าผลพลับสดจากต่างประเทศ เช่น ออสเตรเลีย จีน ญี่ปุ่น เกาหลี และนิวซีแลนด์ เพื่อบริโภคเป็นมากในแต่ละปี สำหรับการนำเข้าผลพลับสดจากนิวซีแลนด์ ในปี 2551-2553 มีปริมาณ 20-30 ตัน คิดเป็นมูลค่า 22-36 ล้านบาท

จากสถิติการเพาะปลูกปี 2008-2010 นิวซีแลนด์มีพื้นที่เก็บเกี่ยวผลผลิตพลับประมาณ 170-183 เฮกเตอร์ ซึ่งให้ผลผลิตพลับประมาณ 2600-2900 ตัน/ปี ตลาดส่งออกผลพลับที่สำคัญ เช่น ออสเตรเลีย ไทย มาเลเซีย สิงคโปร์ ฮองกง แคนาดา เป็นต้น

แหล่งผลิตผลพลับเพื่อการส่งออกที่สำคัญคือ Gisborne, North and South Auckland และอื่นๆ ได้แก่ Northland, South Auckland, Waikato, Bay of Plenty and the Hawkes Bay สำหรับพันธุ์ที่ส่งออก ได้แก่ พันธุ์ Fuyu ซึ่งเป็นพันธุ์พลับหวาน มีระยะเก็บเกี่ยวตั้งแต่เดือนเมษายนถึงกลางเดือนมิถุนายน

3. ข้อมูลศัตรูพลับที่มีรายงานในนิวซีแลนด์

ผลการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืช ในเบื้องต้นทราบรายชื่อศัตรูพลับที่มีรายงานพบในนิวซีแลนด์ จำนวน 19 ชนิด ได้แก่ ไร 1 ชนิด คือ *Colomerus vitis* แมลง 13 ชนิด คือ *Aphis gossypii*, *Aspidiotus nerii*, *Ceroplastes ceriferus*, *Ceroplastes destructor*, *Eudocima fullonia*, *Heliothrips haemorrhoidalis*, *Hemiberlesia rapax*, *Hemiberlesia lataniae*, *Hyphantria*

cunea, *Pantomorus cervinus*, *Parthenolecanium persicae*, *Pinnaspis strachani*, *Pseudococcus longispinus* ไล่เดือนฝอย 2 ชนิด คือ *Helicotylenchus pseudorobustus*, *Trichodorus* sp. เชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิด คือ *Pseudomonas syringae* pv. *Syringae*, *Rhizobium radiobacter* และ เชื้อรา 1 ชนิด คือ *Glomerella cingulata* และได้ข้อมูลส่วนของพลับที่ถูกศัตรูพืชแต่ละชนิดทำลาย รวมถึงข้อมูลทางชีววิทยาของศัตรูพืช ได้แก่ วงจรชีวิต พืชอาหาร และเขตแพร่กระจาย และโอกาสติดมากับผลพลับสดนำเข้า

4. การวิเคราะห์ศักยภาพในการเข้ามา ตั้งรกราก แพร่กระจายของศัตรูพืชในประเทศไทย และผลกระทบทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้น

จากการวิเคราะห์ข้อมูลศัตรูพืชพบว่า ศัตรูพลับที่ไม่มีรายงานพบในประเทศไทยและมีศักยภาพในการเข้ามาโดยมีโอกาสดิตมากับผลพลับสดนำเข้า ตั้งรกราก และแพร่กระจายได้ในประเทศไทย ตลอดจนอาจมีผลกระทบในทางเศรษฐกิจ มีจำนวน 5 ชนิด คือ เพลี้ยหอย *Ceroplastes destructor*, *Parthenolecanium persicae*, *Pinnaspis strachani* ตัวงวงพุลเลอร์ไรส *Pantomorus cervinus* และเพลี้ยแป้ง *Pseudococcus longispinus*

การดำเนินงานในขั้นตอนสุ่มตัวอย่างผลพลับนำเข้าเพื่อตรวจสอบว่ามีศัตรูพืชหรือสิ่งมีชีวิตชนิดใดติดมากับผลพลับ และการวิเคราะห์โอกาสที่ศัตรูพืชจะเข้ามา ตั้งรกราก เจริญมีชีวิต แพร่กระจาย และก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจ ตลอดจนการวิเคราะห์เพื่อกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชที่เหมาะสมสำหรับการนำเข้าผลพลับสดจากนิวซีแลนด์ดำเนินการในปีต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าผลพลับสดจากนิวซีแลนด์ ได้ข้อมูลมาตรการสุขอนามัยพืชของผลพลับสดที่มีการกำหนดในต่างประเทศ สถิติการนำเข้า ส่งออก แหล่งผลิตผลพลับสดของนิวซีแลนด์ และข้อมูลศัตรูพลับที่มีรายงานในนิวซีแลนด์ ซึ่งพบว่ามีจำนวน 19 ชนิด ได้แก่ ไร 1 ชนิด แมลง 13 ชนิด ไล่เดือนฝอย 2 ชนิด แบคทีเรีย 2 ชนิด และรา 1 ชนิด โดยได้รายชื่อศัตรูพืช ส่วนของพลับที่ถูกศัตรูพืชแต่ละชนิดทำลาย รวมถึงข้อมูลทางชีววิทยาของศัตรูพืช ได้แก่ วงจรชีวิต พืชอาหาร และเขตแพร่กระจาย สำหรับศัตรูพลับที่ไม่มีรายงานพบในประเทศไทยและมีศักยภาพในการเข้ามา ตั้งรกราก แพร่กระจายในประเทศไทย และอาจมีผลกระทบทางเศรษฐกิจ มีจำนวน 5 ชนิด คือ เพลี้ยหอย *Ceroplastes destructor*, *Parthenolecanium persicae*, *Pinnaspis strachani* ตัวงวง *Pantomorus cervinus* และเพลี้ยแป้ง *Pseudococcus longispinus* ซึ่งจะมีการดำเนินงานต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- กรมศุลกากร. 2555. สถิติการนำเข้า-ส่งออก (นำเข้าผลพลับสด). (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล:
<http://internet1.customs.go.th/ext/Statistic/StatisticIndex2550.jsp> (6 มกราคม 2555).
- “ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนด เป็นสิ่ง
 ต้องห้าม ข้อยกเว้น และ เงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ.
 2550” (2550, 1 มิถุนายน). ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 124 ตอนพิเศษ 66 ง. หน้า 1-3.
- “พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507” (2507, 21 มีนาคม) ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 81 ตอนที่ 27 ฉบับ
 พิเศษ หน้า 1-12.
- “พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542” (2542, 18 พฤษภาคม) ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 116
 ตอนที่ 39 ก. หน้า 1-9.
- “พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551” (2551, 1 มีนาคม). ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 125
 ตอนที่ 40 ก. หน้า 28-37.
- BA (Biosecurity Australia). 2004. **Persimmon fruit (*Diospyros kaki* L.) from Japan,
 Korea and Israel: Final Import Policy.** Biosecurity Australia, Canberra.
- CABI (CAB International). 2012. **Crop Protection Compendium 2012.** (Online).
 Available. <http://www.cabi.org/cpc/> (January 8, 2012)
- MAF Biosecurity New Zealand. 2008. **Pest Risk Analysis information for *Diospyros
 kaki* fruit from New Zealand.** MAF Biosecurity New Zealand, Ministry of
 Agriculture and Forestry. New Zealand.
- USDA (United States Department of Agriculture). 2010. **Importation of fresh
 persimmon (*Diospyros kaki*) fruit from South Africa into the continental
 United States: Risk Management Document.** Animal and Plant Health
 Inspection Service, United States Department of Agriculture, USA.
- Whyte, C.F. 2009. **Explanatory Document on International Standard for Phytosanitary
 Measures No.31 (Methodologies for Sampling of Consignments).** (Online).
 Available. http://www.ippc.int/file_uploaded/1252507962732_ISPM31_ED_in_format.pdf (April 15, 2011)

ศึกษาการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืช
สำหรับการนำเข้าผลแอปเปิลสดจากนิวซีแลนด์
Study on Phytosanitary Measures for
the Importation of Fresh Apple Fruit from New Zealand

อลงกต โปธิ์ตี ^{1/}	ณัฐพร อุทัยมงคล ^{1/}
สุนัดดา เซาวลิต ^{2/}	พรพิมล อธิปัญญาคม ^{3/}
^{1/} กลุ่มวิจัยการกักกันพืช	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
^{2/} กลุ่มกีฏและสัตววิทยา	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
^{3/} กลุ่มวิจัยโรคพืช	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษากำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าผลแอปเปิลสดจากนิวซีแลนด์ ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2554 - กันยายน 2555 ซึ่งแอปเปิลจากประเทศนิวซีแลนด์ได้รับการผ่อนผันให้นำเข้าประเทศไทยได้ จากการศึกษาได้ข้อมูลมาตรการสุขอนามัยพืชของผลแอปเปิลสดจากประเทศต่าง ๆ โดยมีมาตรการทางสุขอนามัยพืชที่กำหนด เช่น (1) ต้องมีใบอนุญาตนำเข้า (2) ต้องมีใบรับรองสุขอนามัยพืชแนบมาพร้อมกับสินค้าทุกครั้งที่จะนำเข้าและต้องลงข้อความเพิ่มเติมลงบนใบรับรองสุขอนามัยพืชตามที่กำหนด (3) แอปเปิลต้องมาจากแหล่งปลูกและโรงคัดบรรจุที่ได้รับการรับรองหรือขึ้นทะเบียน (4) แอปเปิลต้องมาจากแหล่งที่ปลอดจากผีเสื้อ codling moth (*Cydia pomonella*) หรือแอปเปิลต้องผ่านกรรมวิธีที่สามารถกำจัดผีเสื้อชนิดนี้ได้ (5) บรรจุภัณฑ์ต้องใหม่ สะอาด และแข็งแรง (6) เมื่อสินค้าถึงจุดนำเข้าอาจมีมาตรการกำจัดศัตรูพืชหากมีการตรวจพบ (ถ้ามีวิธีกำจัด) ถูกกัก ส่งกลับ หรือทำลาย โดยประเทศนิวซีแลนด์เป็นประเทศที่ปลูกและส่งออกแอปเปิลที่สำคัญประเทศหนึ่ง แหล่งปลูกที่สำคัญ คือ Hawkes Bay และ Nelson - Tasman ซึ่งมีแอปเปิลหลายสายพันธุ์ หน่วยงานที่รับผิดชอบด้านการเกษตรของประเทศนิวซีแลนด์ คือ Ministry for Primary Industries และมี New Zealand Apple and Pear Marketing board ดูแลและใช้ Brand “ENZA” และจากการสืบค้นข้อมูล ศัตรูพืช และวิเคราะห์โอกาสที่ศัตรูพืชจะเข้ามา ตั้งรกรากอย่างถาวร การแพร่กระจาย และผลกระทบทางเศรษฐกิจ ทั้งทางตรงและทางอ้อมหากศัตรูพืชเข้ามาได้ในเบื้องต้น พบศัตรูพืชที่อาจติดเข้ามากับผลแอปเปิลสดและมีศักยภาพในการเป็นศัตรูพืชกักกัน เช่น ผีเสื้อ *Cydia pomonella*, และ *Ctenopseutis obliquana* และไร *Panonychus ulmi* รวมทั้งเพลี้ยหอย *Hemiberesia rapax*

รหัสสารทดลอง 03-04-55-01-01-03-55

คำนำ

ปัจจุบันประเทศไทยมีการนำเข้าพืชและผลผลิตพืชจากต่างประเทศเพิ่มมากขึ้น มาตรการสุขอนามัยพืชที่ใช้สำหรับป้องกันโรคศัตรูพืชหรือศัตรูพืชกักกันจากต่างประเทศเข้ามาและ/หรือแพร่กระจายในประเทศไทยอาศัยกฎหมายในการควบคุมการนำเข้าพืชและผลผลิตพืช ได้แก่ พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 ซึ่งแบ่งพืชออกเป็น 3 ประเภท ได้แก่ สิ่งต้องห้าม สิ่งกักตุน และสิ่งไม่ต้องห้าม ซึ่งการนำเข้าหรือนำผ่านสิ่งต้องห้ามสามารถนำเข้าหรือนำผ่านเพื่อ (1) การทดลองหรือวิจัย หรือ (2) เพื่อการค้า หรือเพื่อกิจการอื่นตามที่อธิบดีกรมวิชาการเกษตรประกาศกำหนดโดยคำแนะนำของคณะกรรมการกักพืช โดยการนำเข้าหรือนำผ่านสิ่งต้องห้ามเพื่อการค้า ต้องมีใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาด้วย และต้องผ่านการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช และต้องปฏิบัติตามหลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไขที่อธิบดีกรมวิชาการเกษตรกำหนดโดยคำแนะนำของคณะกรรมการกักพืชโดยประกาศลงในราชกิจจานุเบกษา จึงจะสามารถนำเข้าหรือนำผ่านประเทศไทยได้

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ได้ออกประกาศ “เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550” ซึ่งในท้ายประกาศดังกล่าวมีบทเฉพาะกาลที่ผ่อนผันให้สิ่งต้องห้ามที่เคยมีการนำเข้ามาในประเทศไทยแล้วในลักษณะที่เป็นการค้าก่อนประกาศฉบับนี้มีผลบังคับใช้ สามารถนำเข้าต่อไปได้โดยประเทศผู้ส่งออกต้องแจ้งความประสงค์ขออนุญาตนำเข้าและแสดงเอกสารหลักฐานที่เคยมีการนำเข้าพร้อมข้อมูลทางวิชาการยื่นต่อกรมวิชาการเกษตรในระยะเวลาที่กำหนด ดังนั้นเพื่อไม่ให้เกิดผลกระทบต่อเกษตรกร ธุรกิจ และอุตสาหกรรม กรมวิชาการเกษตรได้อนุญาตให้ประเทศที่ได้ยื่นความประสงค์และได้รับการผ่อนผันสามารถนำสิ่งต้องห้ามที่ได้รับอนุญาตเข้ามาในประเทศไทยได้ โดยปฏิบัติตามสถานภาพหรือมาตรการสุขอนามัยพืชเดิมก่อนประกาศมีผลใช้บังคับ จนกว่าจะมีการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชใหม่แล้วเสร็จ และจากการที่ประเทศไทยเข้าเป็นสมาชิกขององค์การการค้าโลก (World trade organization: WTO) ทำให้ประเทศไทยต้องปฏิบัติตามความตกลงว่าด้วยการใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement of Application of Sanitary and Phytosanitary Measures: SPS Agreement) ซึ่งเป็นมาตรการในการปกป้องชีวิตหรือสุขภาพของมนุษย์ สัตว์ และพืช ซึ่งการนำมาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืชไปใช้ จะต้องอยู่ในระดับเพื่อการปกป้องชีวิตหรือสุขภาพของมนุษย์ สัตว์ หรือพืชเท่านั้น โดยจะต้องอยู่บนพื้นฐานของหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ และไม่สามารถนำไปใช้โดยไม่มีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์สนับสนุนเพียงพอ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องดำเนินการศึกษาวิจัยเพื่อให้ทราบชนิดศัตรูพืชกักกันและนำไปกำหนดมาตรการทางวิชาการด้านสุขอนามัยพืชที่เหมาะสมป้องกันศัตรูพืชกักกันโดยอยู่บนพื้นฐานทางวิทยาศาสตร์ และปรับปรุงแก้ไขกฎระเบียบด้านกักกันพืชเพื่อควบคุมการนำเข้าพืชและผลผลิตพืชเหล่านั้นให้มีประสิทธิภาพต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ผลแอปเปิลสดนำเข้า
2. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างศัตรูพืช เช่น พู่กัน กล่องพลาสติก กล่องรักษาความเย็น เป็นต้น
3. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์เช่น ขวดแก้ว อุปกรณ์ในการทำสไลด์ กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และ compound microscope เป็นต้น
4. สารเคมี เช่น สารเคมีสำหรับดองตัวอย่างพืชและศัตรูพืช สารเคมีกันเชื้อรา และสารเคมีสำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นต้น
5. วัสดุคอมพิวเตอร์ เช่น แผ่นจัดเก็บข้อมูล (ซีดี) และหมึกพิมพ์ เป็นต้น
6. หนังสือและเอกสารวิชาการตลอดจนเอกสารที่เกี่ยวข้องเพิ่มเติม

วิธีการ

1. การสืบค้นและรวบรวมข้อมูล
 - 1.1 สืบค้นและรวบรวมข้อมูลมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าแอปเปิลที่มีการกำหนดในต่างประเทศ จากหนังสือ ตำรา วารสาร เอกสารวิชาการ และเว็บไซต์ขององค์กรอารักขาพืชแห่งชาติของประเทศหรือภูมิภาคต่าง ๆ
 - 1.2 สืบค้นและรวบรวมข้อมูลทั่วไปของแอปเปิลนำเข้าจากประเทศนิวซีแลนด์ เช่น ชนิด สายพันธุ์ สถิติการนำเข้า-ส่งออก แหล่งผลิตเมล็ดพันธุ์ ปริมาณ/จำนวน ช่วงหรือระยะเวลาในการผลิต เก็บเกี่ยว โรงบรรจุสินค้าหรือสถานที่จัดการสินค้าส่งออก ลักษณะบรรจุภัณฑ์และฉลาก เส้นทางและวิธีการขนส่ง เช่น ลักษณะเป็นสินค้าขนส่ง ทางน้ำหรือทางอากาศ ด่านตรวจพืชที่นำเข้า รวมทั้งเอกสารทั้งหมดที่แนบมาพร้อมกับสินค้า
 - 1.3 สืบค้นและรวบรวมข้อมูลศัตรูพืช เช่น ชนิด สายพันธุ์ ข้อมูลทางชีววิทยา สันฐานวิทยา แหล่งที่พบ จากหนังสือ ตำรา วารสาร เอกสารวิชาการ และเว็บไซต์ที่เกี่ยวข้อง
2. การวิเคราะห์โอกาสที่ศัตรูพืชจะเข้ามา ตั้งรกรากอย่างถาวร การแพร่กระจาย และผลกระทบทางเศรษฐกิจ ทั้งทางตรงและทางอ้อมหากศัตรูพืชเข้ามาได้ โดยมีการจำแนกศัตรูพืชที่ชัดเจน สถานะภาพการแพร่กระจายของศัตรูพืชในปัจจุบันของประเทศไทยและประเทศนิวซีแลนด์ โดยพิจารณาจากศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานพบในประเทศไทยและสามารถติดมากับแอปเปิลที่นำเข้า
3. การวิเคราะห์มาตรการสุขอนามัยพืชที่เหมาะสม เพื่อจัดการกับศัตรูพืชแต่ละชนิด โดยคัดเลือกมาตรการที่เหมาะสม อาศัยพื้นฐานจากประสิทธิภาพของมาตรการนั้นเพื่อลดโอกาสการเข้ามา ตั้งรกราก และแพร่กระจายของศัตรูพืช ให้หมดไปหรือลดลงมาอยู่ในระดับที่ประเทศไทยยอมรับได้ และมีความเป็นไปได้ในทางปฏิบัติโดยไม่เป็นอุปสรรคต่อการค้าระหว่างประเทศ

เวลาและสถานที่

เวลา	เดือนตุลาคม 2554 ถึง เดือนกันยายน 2555
สถานที่	กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ด่านตรวจพืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร แหล่งกระจายสินค้า

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลเดือนตุลาคม 2554-กันยายน 2555

แอปเปิล (apple; *Malus domestica*) อยู่ในตระกูล Rosaceae ซึ่งตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไข ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 กำหนดให้ผลสดของพืชสกุล *Malus* เป็นสิ่งต้องห้าม ซึ่งแอปเปิลจากประเทศนิวซีแลนด์ได้รับการผ่อนผันให้นำเข้าประเทศไทยได้ตามบทเฉพาะกาลของประกาศดังกล่าว

จากการศึกษาได้ข้อมูลมาตรการสุขอนามัยพืชของผลแอปเปิลสดจากประเทศต่าง ๆ โดยมีมาตรการทางสุขอนามัยพืชที่กำหนด เช่น (1) ต้องมีใบอนุญาตนำเข้า (2) ต้องมีใบรับรองสุขอนามัยพืชแนบมาพร้อมกับสินค้าทุกครั้งที่น่าเข้าและต้องลงข้อความเพิ่มเติมลงบนใบรับรองสุขอนามัยพืชตามที่กำหนด (3) แอปเปิลต้องมาจากแหล่งปลูกและโรงคัดบรรจุที่ได้รับการรับรองหรือขึ้นทะเบียน (4) แอปเปิลต้องมาจากแหล่งที่ปลอดจากผีเสื้อ codling moth (*Cydia pomonella*) หรือแอปเปิลต้องผ่านกรรมวิธีที่สามารถกำจัดผีเสื้อชนิดนี้ได้ (5) บรรจุภัณฑ์ต้องใหม่ สะอาด และแข็งแรง (6) เมื่อสินค้าถึงจุดนำเข้าอาจมีมาตรการกำจัดศัตรูพืชหากมีการตรวจพบ (ถ้ามีวิธีกำจัด) ถูกกัก ส่งกลับ หรือทำลาย

ประเทศนิวซีแลนด์เป็นประเทศที่ปลูกและส่งออกแอปเปิลที่สำคัญประเทศหนึ่ง แหล่งปลูกที่สำคัญ คือ Hawkes Bay และ Nelson - Tasman ซึ่งมีแอปเปิลหลายสายพันธุ์ เช่น Jazz, Braeburn, Royal Gala, Southern Rose, Fuji, Pacific Rose, Granny Smith, Cox's Orange, Southern Snap, Pink Lady, Orin, Pacific Beauty, Gala, Red Delicious และ Golden Delicious โดยให้ผลผลิตในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนสิงหาคม และส่งออกไปในหลายประเทศ ได้แก่ American Samoa, Austria, Bangladesh, Belgium, Benin, Canada, China, Cook Islands, Cyprus, Czech Republic, Denmark, Egypt, Eire, Fiji, Finland, France, Germany, Greece, Guam, Hawaii, Hong Kong, Hungary, India, Italy, Indonesia, Japan, Luxembourg, Malaysia, Malta, Mexico, Netherlands, New Caledonia, Niue, Norway, Papua New Guinea, Philippines, Poland, Portugal, Reunion Islands, Russia (East), Saudi Arabia, Saipan, Seychelles, Singapore, Solomon Islands, Spain, Sri Lanka, Sweden, Switzerland, Tahiti, Taiwan, Thailand, Tonga, Turkey, United Arab Emirates, United Kingdom, USA, Vanuatu, Vietnam, Wallis and Futuna Islands และ Western Samoa หน่วยงานที่รับผิดชอบ

ด้านการเกษตรของประเทศนิวซีแลนด์ คือ Ministry for Primary Industries และมี New Zealand Apple and Pear Marketing board ดูแลและใช้ Brand “ENZA” (ENZA, 2010) ในปี 2554 ประเทศไทยนำเข้าแอปเปิลจากประเทศนิวซีแลนด์ มากถึง 14,778,385 กิโลกรัม มูลค่า 628,682,390 บาท (กรมศุลกากร, 2555)

จากการสืบค้นข้อมูล ศัตรูพืช และวิเคราะห์โอกาสที่ศัตรูพืชจะเข้ามา ตั้งรกรากอย่างถาวร การแพร่กระจาย และผลกระทบทางเศรษฐกิจ ทั้งทางตรงและทางอ้อมหากศัตรูพืชเข้ามาได้ในเบื้องต้น พบศัตรูพืชที่อาจติดเข้ามากับผลแอปเปิลสดและมีศักยภาพในการเป็นศัตรูพืชกักกัน เช่น ฝีเสื้อ *Cydia pomonella*, และ *Ctenopseutis obliquana* และไร *Panonychus ulmi* รวมทั้งเพลี้ยหอย *Hemiberesia rapax* (CABI, 2007)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนด เป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไข ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 กำหนดให้ผลสดของพืชสกุล *Malus* เป็นสิ่งต้องห้าม ซึ่งแอปเปิลจากประเทศนิวซีแลนด์ได้รับการผ่อนผันให้นำเข้าประเทศไทยได้ จากการศึกษาได้ข้อมูลมาตรการสุขอนามัยพืชของผลแอปเปิลสดจากประเทศต่าง ๆ โดยมีมาตรการทางสุขอนามัยพืชที่กำหนด เช่น (1) ต้องมีใบอนุญาตนำเข้า (2) ต้องมีใบรับรองสุขอนามัยพืชแนบมาพร้อมกับสินค้าทุกครั้งนำเข้าและต้องลงข้อความเพิ่มเติมลงบนใบรับรองสุขอนามัยพืชตามที่กำหนด (3) แอปเปิลต้องมาจากแหล่งปลูกและโรงคัดบรรจุที่ได้รับการรับรองหรือขึ้นทะเบียน (4) แอปเปิลต้องมาจากแหล่งที่ปลอดจากฝีเสื้อ *codling moth* (*Cydia pomonella*) หรือแอปเปิลต้องผ่านกรรมวิธีที่สามารถกำจัดฝีเสื้อชนิดนี้ได้ (5) บรรจุภัณฑ์ต้องใหม่ สะอาด และแข็งแรง (6) เมื่อสินค้าถึงจุดนำเข้าอาจมีมาตรการกำจัดศัตรูพืชหากมีการตรวจพบ (ถ้ามีวิธีกำจัด) ถูกกัก ส่งกลับ หรือทำลาย ซึ่งประเทศนิวซีแลนด์เป็นประเทศที่ปลูกและส่งออกแอปเปิลที่สำคัญประเทศหนึ่ง แหล่งปลูกที่สำคัญ คือ Hawkes Bay และ Nelson - Tasman ซึ่งมีแอปเปิลหลายสายพันธุ์ โดยให้ผลผลิตในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนสิงหาคม และส่งออกไปในหลายประเทศ รวมทั้งประเทศไทย หน่วยงานที่รับผิดชอบด้านการเกษตรของประเทศนิวซีแลนด์ คือ Ministry for Primary Industries และมี New Zealand Apple and Pear Marketing board ดูแลและใช้ Brand “ENZA” และจากการสืบค้นข้อมูล ศัตรูพืช และวิเคราะห์โอกาสที่ศัตรูพืชจะเข้ามา ตั้งรกรากอย่างถาวร การแพร่กระจาย และผลกระทบทางเศรษฐกิจ ทั้งทางตรงและทางอ้อมหากศัตรูพืชเข้ามาได้ในเบื้องต้น พบศัตรูพืชที่อาจติดเข้ามากับผลแอปเปิลสดและมีศักยภาพในการเป็นศัตรูพืชกักกัน เช่น ฝีเสื้อ *Cydia pomonella*, และ *Ctenopseutis obliquana* และไร *Panonychus ulmi* รวมทั้งเพลี้ยหอย *Hemiberesia rapax*

เอกสารอ้างอิง

กรมศุลกากร. 2555. รายงานสถิตินำเข้า-ส่งออก ประจำเดือน. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล:

<http://www.customs.go.th/wps/wcm/connect/Library+cus501th/InternetTH/11/>
(1 สิงหาคม 2555).

“ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม
ข้อยกเว้น และ เงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550”

(2550, 1 มิถุนายน). ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 124 ตอนพิเศษ 66 ง. หน้า 1-3.

“พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507” (2507, 21 มีนาคม) ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 81 ตอนที่ 27 ฉบับ
พิเศษ หน้า 1-12.

“พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542” (2542, 18 พฤษภาคม) ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 116
ตอนที่ 39 ก. หน้า 1-9.

“พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551” (2551, 1 มีนาคม). ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 125
ตอนที่ 40 ก. หน้า 28-37.

CAB International. 2007. **Crop Protection Compendium 2007 Edition.** (Computer
Program). CAB International. Wallingford, UK.

ENZA. 2010. **Products.** (Online). Available: <http://www.enza.co.nz/> (15 January 2012).

ศึกษาการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืช
สำหรับการนำเข้าผลสดมะเขือเทศจากนิวซีแลนด์

Study on Phytosanitary measure for Importation of Fresh Tomato Fruits
from New Zealand

สุคนธ์ทิพย์ สมบัติ^{1/} คมศร แสงจินดา^{1/} ณัฐฐิมา โฆสิตเจริญกุล^{2/} สิทธิศักดิ์ แสนไพศาล^{2/}

^{1/} กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/} กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ผลการศึกษามาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าผลสดมะเขือเทศจากประเทศต่างๆ พบว่า สามารถใช้วิธีการเดียวหรือใช้หลายวิธีร่วมกัน ได้แก่ การจัดการศัตรูพืชอย่างมีระบบ (Systems approach) การรมยา (Fumigation) การฉายรังสี (Irradiation) พื้นที่ปลอดจากศัตรูพืช (Pest free area) เป็นต้น จากสถิติการนำเข้าผลสดมะเขือเทศจากนิวซีแลนด์ ในช่วงปี 2549-2554 ปริมาณรวมทั้งสิ้น 14, 631.3 กิโลกรัม ผลการตรวจสอบศัตรูพืช ณ จุดนำเข้า ยังไม่พบศัตรูพืช

ผลการศึกษาข้อมูลศัตรูพืชของ มะเขือเทศจากนิวซีแลนด์ จำนวนทั้งสิ้น 189 ชนิด ในจำนวนนี้เป็นศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานในประเทศไทย และสามารถติดตามกับผลสดมะเขือเทศนำเข้า ได้แก่ *Halotydeus destructor*, *Tetranychus ludeni*, *Aculops lycopersici*, แมลง *Helicoverpa punctigera*, *Pseudococcus calceolariae*, *Epiphyas postvittana*, *Macrosiphum euphorbiae* เชื้อรา *Didymella lycopersici*, *Galactomyces geotrichum*, *Gibberella acuminata*, *Gibberella cyanogena*, *Gibberella intricans*, *Mycosphaerella tassiana*, *Nectria haematococca*, *Phoma exigue* var. *exiguae* แบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis* ไวรัส *Tomato yellow top virus*, *Spinach latent virus*, *Tomato ringspot virus*, *Tomato spotted wilt virus* ไวรอยด์ *Potato spindle tuber viroid*

รหัสการทดลอง 03-04-55-01-01-01-04-55

คำนำ

จากการที่ประเทศไทยเข้าเป็นสมาชิกขององค์การการค้าโลก (World Trade organization, WTO) ทำให้ประเทศสมาชิกต้องปฏิบัติตามข้อตกลงว่าด้วยการใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement of Application of Sanitary and Phytosanitary Measures, SPS Agreement) ซึ่งเป็นมาตรการในการปกป้องชีวิตมนุษย์ สัตว์และพืช จากสิ่งปนเปื้อน สารพิษ หรือเชื้อโรคที่มีพืชหรือสัตว์เป็นตัวนำ เพื่อป้องกันหรือจำกัดความเสียหายอันเนื่องมาจากรูพืชที่อาจติดมากับสินค้าเกษตรนำเข้า สามารถเจริญเติบโต และแพร่กระจายออกไปได้ ดังนั้นประเทศผู้นำเข้าจึงจำเป็นต้องมีการใช้เทคนิคและวิธีการที่เหมาะสมและเป็นที่ยอมรับตามสากลประเทศ โดยต้องมีการทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเพื่อป้องกันหรือจำกัดความเสียหายที่อาจเกิดขึ้น ต้องมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของสินค้าเกษตร โดยใช้เทคนิคและวิธีการที่เหมาะสม ที่พัฒนาโดยองค์การระหว่างประเทศ

มะเขือเทศ (*Tomato, Solanum lycopersicum*) เป็นพืชผักที่อยู่ในวงศ์โซลานาซีอีที่มีมีการนำเข้าในลักษณะผลสดมะเขือเทศเพื่อการบริโภคจากประเทศนิวซีแลนด์ จากสถิติการนำเข้าปี 2553-2554 ปริมาณทั้งสิ้น ในช่วง 5 ปีที่ผ่านมา ตั้งแต่ 2549 -2554 ปริมาณทั้งสิ้น 14, 631.3 กิโลกรัม ทางด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2555) และจากการศึกษามาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าผลสดมะเขือเทศจากประเทศต่างๆ พบว่ามีศัตรูพืชร้ายแรงหลายชนิดที่ยังไม่มีรายงานในประเทศไทย และมีโอกาสติดเข้ามาบางส่วนผลมะเขือเทศได้ เช่น *Tuta absoluta*, *Ceratitis capitata*, *Halotydeus destructor* (redlegged-earth mite), *Potato spindle tuber viroid* เป็นต้น (CABI, 2007; CABI online) ซึ่งมาตรการกักกันพืชที่ใช้ควบคุมการนำเข้าผลสดมะเขือเทศของประเทศไทยในปัจจุบันได้อาศัยอำนาจตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 มะเขือเทศจัดอยู่ในประเภทสิ่งต้องห้าม ที่อยู่ในรายการผ่อนผันให้นำเข้าได้โดยมีใบรับรองปลอดจากศัตรูพืชเท่านั้น ยังไม่ได้ระบุชนิดศัตรูพืชกักกันและมาตรการจัดการความเสี่ยง ซึ่งอาจก่อให้เกิดปัญหาของศัตรูพืชหลายชนิดที่ไม่เคยพบในประเทศติดมากับสินค้าที่นำเข้าเกิดการแพร่กระจายและเพิ่มปริมาณจนเกิดเป็นการระบาดของศัตรูพืชชนิดใหม่ขึ้น จะส่งผลให้เกิดผลเสียต่อเศรษฐกิจของประเทศอย่างใหญ่หลวง ดังนั้นจึงมีความจำเป็นในการดำเนินการศึกษาวิจัยเพื่อทราบชนิดศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกันและนำไปกำหนดมาตรการทางวิชาการด้านสุขอนามัยพืชที่เหมาะสมสอดคล้องกับสถานการณ์ปัจจุบันและอนุสัญญาว่าด้วยการอารักขาพืชระหว่างประเทศ โดยอยู่บนพื้นฐานทางวิทยาศาสตร์ และปรับปรุงแก้ไขกฎระเบียบด้านกักกันพืช มาตรการทางสุขอนามัยพืชเพื่อป้องกันควบคุมการเข้ามาแพร่ระบาดของศัตรูพืชให้มีประสิทธิภาพต่อไป

วิธีการดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เอกสารงานวิจัยทั้งในและต่างประเทศ ตำราวิชาการ วารสารวิชาการ รายงานการประชุม และสัมมนาทางวิชาการ ข้อมูลการประชุมอภิปรายจากแหล่งต่างๆ ทั่วโลก
2. มาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช (International Standards for Phytosanitary Measures: ISPM) ฉบับที่ 2 เรื่อง กรอบสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Framework for pest risk analysis)
3. มาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกัน รวมถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อมและสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม (Pest risk analysis for quarantine pests including analysis of environmental risks and living modified organisms)
4. คู่มือสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ตามแนวทางของอนุสัญญาว่าด้วยการอารักขาพืชระหว่างประเทศ (International Plant Protection Convention: IPPC)
5. ผู้เชี่ยวชาญเฉพาะด้านโรคพืชและแมลงศัตรูพืช ทั้งในประเทศและต่างประเทศ

วิธีการ

1. ศึกษาข้อมูลมาตรการสุขอนามัยพืชของผลมะเขือเทศที่ต้องการนำเข้ามาจากประเทศต่างๆ โดยสืบค้นและรวบรวมข้อมูลจากหนังสือ ตำรา วารสาร เอกสารวิชาการ และเว็บไซต์ขององค์กรอารักขาพืชในแต่ละประเทศหรือแต่ละภูมิภาค

2 ศึกษาข้อมูลพืชและศัตรูพืชของมะเขือเทศ

2.1 ข้อมูลทั่วไปของพืชมะเขือเทศ จะดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยง โดยทำการศึกษา ค้นคว้า และรวบรวมข้อมูลของมะเขือเทศจากฐานข้อมูล เอกสาร และรายงานทั้งในและต่างประเทศ ตำราวิชาการ วารสารวิชาการ รายงานการประชุมและสัมมนาทางวิชาการ ผู้เชี่ยวชาญเฉพาะด้านข้อมูลทางอิเล็กทรอนิกส์ หรือเว็บไซต์ ต่างๆ ทั่วโลก เพื่อศึกษาข้อมูลทางอนุกรมวิธาน ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ การจำแนกชีววิทยา การปลูก การเก็บเกี่ยว สถานการณ์การผลิตมะเขือเทศและการส่งออกมะเขือเทศทั่วโลก สถิติการนำเข้าผลมะเขือนำเข้าจากนิวซีแลนด์ เป็นต้น

2.2 ข้อมูลศัตรูพืช โดยทำการศึกษา ค้นคว้า รวบรวมข้อมูลศัตรูพืชของมะเขือเทศได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ ข้อมูลทางชีววิทยา แหล่งแพร่กระจาย ลักษณะอาการที่ปรากฏบนพืช ความสำคัญของศัตรูพืชและความเสียหายทางเศรษฐกิจ วิธีควบคุมและการป้องกันกำจัดจากแหล่งข้อมูลดังต่อไปนี้

- ข้อมูลจากเอกสารวิชาการ วารสารวิชาการ รายงานการประชุม สัมมนาทางวิชาการ งานวิจัย การประชุมอภิปรายจากแหล่งต่างๆทั่วโลก ข้อมูลจาก Crop protection

compendium (CPC) และข้อมูลทางอิเล็กทรอนิกส์ หรือเว็บไซต์ ต่างๆ ซึ่งเป็นข้อมูลล่าสุดที่มีรายงานจนถึงปัจจุบันนี้และเชื่อถือได้

- ข้อมูลศัตรูพืชของผลไม้เขือเทศที่นำเข้ามาในราชอาณาจักร (Interception) ซึ่งดำเนินการตรวจสอบผลไม้เขือเทศนำเข้าจากนิวซีแลนด์ด้วยสายตา (visual inspection) เพื่อตรวจหาไข่ หนอน ของแมลงและไรศัตรูพืช ตรวจสอบลักษณะอาการโรคบนผลและขั้วผลที่แสดงอาการผิดปกติ ที่สงสัยว่ามีสาเหตุจากเชื้อโรคพืช ซึ่งอาจติดมากับส่วนผลนำเข้า จากนั้นนำไปตรวจสอบและจำแนกชนิดศัตรูพืชใต้กล้องจุลทรรศน์ สเตอริโอไมโครสโคป (stereo microscope) และกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (compound microscope) หรือด้วยวิธีการอื่นเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

3. การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของการนำเข้าผลสดมะเขือเทศจากนิวซีแลนด์

การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis, PRA) ได้ดำเนินการตามมาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช (International Standard for Phytosanitary Measures, ISPM) ฉบับที่ 11 แก้ไขครั้งที่ 1 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสภาพแวดล้อม (Pest Risk Analysis for Quarantine Pests Including Analysis of Environmental Risks) (FAO, 2004) โดยการดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชประกอบด้วย 3 ขั้นตอนหลักที่สำคัญ ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1: การเริ่มต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Initiation of pest risk analysis)

ขั้นตอนนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อกำหนดศัตรูพืช และเส้นทางศัตรูพืช ซึ่งเกี่ยวข้องกับทางกักกันพืช และทำการพิจารณาการวิเคราะห์ความเสี่ยงที่สัมพันธ์กับพื้นที่หนึ่งที่กำหนดซึ่งจะต้องวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การเริ่มต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ดำเนินการโดยการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชของมะเขือเทศจากนิวซีแลนด์ที่จะดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงจากฐานข้อมูล เอกสาร และรายงานทั้งในและต่างประเทศ ตำราวิชาการ วารสารวิชาการ รายงานการประชุมและสัมมนาทางวิชาการ ข้อมูลทางอิเล็กทรอนิกส์ หรือเว็บไซต์ ต่างๆ ทั่วโลกซึ่งเป็นข้อมูลล่าสุดที่มีรายงานจนถึงปัจจุบันนี้และเชื่อถือได้ เพื่อศึกษาข้อมูลศัตรูพืชของมะเขือเทศได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ ข้อมูลทางชีววิทยา แหล่งแพร่กระจาย ลักษณะอาการที่ปรากฏบนพืช ความสำคัญของศัตรูพืชและความเสียหายทางเศรษฐกิจ วิธีควบคุม และการป้องกันกำจัด รวมทั้งข้อมูลการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของประเทศ ซึ่งได้ทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของมะเขือเทศมาก่อนแล้ว ข้อมูลดังกล่าวจะนำมาจัดทำบัญชีรายชื่อและจำแนกชนิดของศัตรูพืชของมะเขือเทศ (Pest list and Pest Identification) ที่มีรายงานพบในต่างประเทศ จากนั้นระบุเส้นทาง (Pathway) ซึ่งเกี่ยวข้องกับทางกักกัน โดยทำการพิจารณาการวิเคราะห์ความเสี่ยงโดยใช้หลักความสัมพันธ์ของชนิดศัตรูพืชมะเขือเทศกับเส้นทางศัตรูพืช ในกรณีนี้ คือ ศัตรูพืชที่สามารถติดมากับผลไม้เขือเทศ และพิจารณาการวิเคราะห์ความเสี่ยงที่สัมพันธ์กับพื้นที่ในประเทศไทย

โดยพื้นที่บางแห่งมีพืชอาศัยที่อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของศัตรูพืชปรากฏอยู่ และมีปัจจัยทางสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญแพร่พันธุ์อย่างถาวรของศัตรูพืชซึ่งอาจจะติดเข้ามาพร้อมกับการนำเข้าผลไม้เขตอบอุ่นเพื่อการบริโภค

ผลการวิเคราะห์ในขั้นตอนนี้นำมาดำเนินการจำแนกศัตรูพืชและเส้นทางศัตรูพืชที่เกี่ยวข้องและศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานพบในประเทศไทย และเก็บรวบรวมข้อมูลที่เกี่ยวข้องเพื่อใช้ประกอบการวิเคราะห์ รวมทั้งจำแนกและคัดเลือกศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชที่จะต้องดำเนินการมาตรการสุขอนามัยพืช หรือ ชนิดศัตรูพืชที่เป็นตัวแทนของศัตรูพืชที่จำเป็นต้องใช้มาตรการสุขอนามัยพืช โดยอาจเป็นศัตรูพืชชนิดใดชนิดหนึ่งที่เฉพาะเจาะจง หรือศัตรูพืชที่มีโอกาสปะปนมากับเส้นทางศัตรูพืช

ขั้นตอนที่ 2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest risk assessment) ประกอบด้วย การจำแนกประเภทศัตรูพืช (Pest categorization) เพื่อตัดสินว่ามีศัตรูพืชชนิดใดอยู่ภายใต้หลักเกณฑ์ที่จะเป็นศัตรูพืชกักกันหรือไม่ การประเมินความเสี่ยงที่จะต้องดำเนินการต่อไปหลังจากนั้น คือ การประเมินโอกาสเป็นไปได้ที่ศัตรูพืชจะเข้ามา (Introduction) การเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวร (Establishment) การแพร่ระบาด (Spread) และศักยภาพที่จะก่อให้เกิดผลกระทบทางเศรษฐกิจ (Economic Consequences) โดยการดำเนินการวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงของศัตรูพืช ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ตามที่ IPPC กำหนด ซึ่งมีส่วนเกี่ยวข้องสัมพันธ์กัน คือ

2.1 การจำแนกประเภทศัตรูพืช (Pest categorization)

ตรวจสอบศัตรูพืชแต่ละชนิดว่าเข้าอยู่ในหลักเกณฑ์ที่กำหนดในคำนิยามสำหรับศัตรูพืชกักกันหรือไม่ ดังนี้

2.1.1 จำแนกชนิดศัตรูพืชของพืชที่นำเข้าที่มีรายงานในประเทศคู่ค้า โดยค้นคว้าจากฐานข้อมูล ตำราวิชาการ วารสารวิชาการ รายงานการประชุมและสัมมนาทางวิชาการ ข้อมูลจากการประชุมอภิปรายจากแหล่งต่างๆ ทั้งในและนอกประเทศ และแยกเป็นกลุ่มๆ ให้ชัดเจนตามลำดับดังนี้ (1). ไร (Mite) (2). แมลง (Insect) (3). แบคทีเรีย (Bacteria) (4). รา (Fungus) (5). ไส้เดือนฝอย (Nematode) (6). ไวรัส (Virus) (7). วัชพืช (Weed) (8). สัตว์พินทะเล (Vertebrate)

ศัตรูพืชแต่ละชนิดที่มีรายงานพบบนพืชจะถูกบันทึกรายละเอียดเกี่ยวกับ (1). ชื่อวิทยาศาสตร์ (2). อนุกรมวิธานของศัตรูพืช (3). ชื่อสามัญ (Common name) (4). ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย/อาศัย (5). พบในประเทศไทยและประเทศคู่ค้าหรือไม่ และ (6). เอกสารอ้างอิง (Reference)

2.1.2 จำแนกชนิดศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน ตามคำนิยามของศัตรูพืชกักกันตามมาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 5 (ฉบับแก้ไขปรับปรุง) เรื่องรายการคำอธิบายศัพท์บัญญัติด้านสุขอนามัยพืช (FAO, 2009) ระบุไว้ว่า ศัตรูพืชกักกัน หมายถึงศัตรูพืชชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพสำคัญทางเศรษฐกิจต่อพื้นที่ซึ่งมีปัจจัยสภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการเจริญแพร่ขยายพันธุ์ โดยศัตรูพืชชนิดนี้ไม่เคยปรากฏในพื้นที่นั้น หรือปรากฏแล้วแต่ยังไม่แพร่กระจายอย่างกว้างขวาง และอยู่ภายใต้การควบคุมอย่างเป็นทางการ

2.1.3 จำแนกชนิดศัตรูพืชที่มักกันที่มีโอกาสติดเข้ามากับเส้นทางการศัตรูพืช โดยพิจารณา ศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชที่มักกันตามข้อ 2.1.2 ที่มีโอกาสติดเข้ามากับเส้นทางการศัตรูพืชได้

2.2 การประเมินโอกาสการเข้ามาและแพร่ระบาดของศัตรูพืช (Assessment of the probability of introduction and spread)

ประเมินโอกาสความเป็นไปได้ของการเข้ามาและแพร่ระบาด โดยอยู่บนพื้นฐานการพิจารณาด้านชีววิทยาเพื่อประเมินโอกาสความเป็นไปได้ของศัตรูพืชที่จะเข้ามาและอาจเจริญแพร่ระบาดอย่างถาวรโดย

2.2.1 โอกาสการเข้ามาของศัตรูพืช (Probability of entry of a pest) ประเมินโอกาสการเข้ามาของศัตรูพืชชนิดหนึ่งโดยพิจารณาจากปัจจัย ดังนี้

- การระบาดของศัตรูพืชอย่างรุนแรงในแหล่งผลิต
- การจัดการศัตรูพืชในแหล่งผลิต
- ช่วงวงจรชีวิตของศัตรูพืชซึ่งมีโอกาสปะปนเข้ามากับส่วนของพืช
ภาชนะบรรจุหรือพาหนะขนส่ง
- การรอดชีวิตของศัตรูพืชภายใต้สภาวะแวดล้อมขณะขนส่ง
- ปริมาณและความถี่ที่นำเข้าสินค้า
- ความยากง่ายในการตรวจพบศัตรูพืชที่จุดนำเข้า

2.2.2 โอกาสการตั้งรกรากอย่างถาวร (Probability of establishment)

ประเมินโอกาสการตั้งรกรากอย่างถาวรของศัตรูพืช โดยพิจารณาข้อมูลด้านชีววิทยาของศัตรูพืช (วงจรชีวิต พืชอาศัย การแพร่ระบาด การมีชีวิตรอด เป็นต้น) จากพื้นที่ที่ศัตรูพืชนั้นปรากฏอยู่ในปัจจุบัน มาประเมินโอกาสที่ศัตรูพืชจะเข้ามาเจริญและแพร่ขยายพันธุ์ โดยปัจจัยที่นำมาพิจารณา ได้แก่

- การมีพืชอาศัย จำนวนและชนิดพืชอาศัย
- ความเหมาะสมของสภาพแวดล้อมในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชต่อศัตรูพืช
- ศักยภาพความสามารถในการปรับตัวของศัตรูพืช
- วิธีการมีชีวิตรอดของศัตรูพืช
- การปฏิบัติทางการเกษตรและมาตรการป้องกันกำจัด

2.2.3 โอกาสการแพร่ระบาดของศัตรูพืชหลังจากเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวร (Probability of spread after establishment)

ประเมินโอกาสการแพร่ระบาดของศัตรูพืช ด้วยข้อมูลทางชีววิทยาที่เชื่อถือได้จากพื้นที่ที่ศัตรูพืชนั้นระบาดอยู่ในปัจจุบัน หรือกรณีตัวอย่างที่เคยเกิดมาแล้วกับศัตรูพืชที่คล้ายคลึงกันมา ใช้ประโยชน์ในการพิจารณา ปัจจัยที่พิจารณา ได้แก่

- การกระจายของพืชอาศัยในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

- ความเหมาะสมของสภาพแวดล้อมในสภาพธรรมชาติและ/หรือสภาพแวดล้อมที่จัดการสำหรับการแพร่ระบาดของศัตรูพืชโดยธรรมชาติ
- มีสิ่งกีดขวางโดยธรรมชาติ
- ศักยภาพสำหรับการเคลื่อนย้ายไปกับสินค้าหรือพาหนะขนส่ง
- การนำสินค้าไปใช้ประโยชน์
- พาหะที่มีศักยภาพของศัตรูพืชในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช
- ศัตรูธรรมชาติที่มีศักยภาพกับศัตรูพืชในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

2.3 การประเมินผลทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้น (Assessment of potential economic consequence)

2.3.1 ผลที่เกิดจากศัตรูพืชโดยตรง

- ความสูญเสียของผลผลิตในแง่ปริมาณและคุณภาพ
- รูปแบบ จำนวน และความถี่ของความเสียหาย
- ค่าใช้จ่ายในการควบคุมศัตรูพืช
- ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมที่เกิดจากศัตรูพืช

2.3.2 ผลกระทบทางอ้อม

- ผลกระทบต่อการส่งออกรวมถึงการบังคับใช้กฎระเบียบด้านสุขอนามัยพืช
- ต้นทุนการผลิตสูงขึ้นทำให้ราคาสินค้าสูงขึ้น
- ผลกระทบต่อความหลากหลายทางชีวภาพอันเนื่องมาจากการป้องกันกำจัดศัตรูพืช
- ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมที่เกิดจากการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช

2.4 ข้อสรุปของการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Conclusion of the pest risk assessment stage)

ผลที่ได้จากการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช ศัตรูพืชที่ได้จำแนกประเภทแล้วบางชนิดหรือทั้งหมดจะถูกนำมาพิจารณาเกี่ยวกับการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชให้เหมาะสม รวมทั้งพื้นที่บางส่วนหรือทั้งหมดของพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชอาจกำหนดเป็นพื้นที่ที่มีปัจจัยสภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการเจริญและแพร่ขยายพันธุ์ของศัตรูพืชจนทำให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจที่สำคัญ การประเมินโอกาสเชิงคุณภาพหรือเชิงปริมาณของการนำเข้ามาของศัตรูพืชชนิดหนึ่งหรือหลายชนิด และการประเมินผลที่ตามมาทางเศรษฐกิจ (รวมทั้งผลต่อสภาพแวดล้อม) จะต้องจัดทำไว้เป็นหลักฐานเอกสาร รวมทั้งความไม่แน่นอนที่เกิดร่วมอยู่ด้วย จะต้องนำมาใช้ในขั้นตอนการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช

ขั้นตอนที่ 3 การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest risk management) เกี่ยวข้องกับการกำหนดทางเลือกสำหรับการจัดการความเสี่ยง ทั้งนี้เพื่อลดความเสี่ยงที่ระบุในขั้นตอนที่ 2 ทางเลือกเหล่านี้จะ

ถูกประเมินถึงประสิทธิภาพ ความเป็นไปได้ และผลกระทบ เพื่อที่จะคัดเลือกหาทางเลือกที่เหมาะสมที่สุดและกำหนดมาตรการจัดการความเสี่ยงทั้งทางกฎหมาย และทางวิชาการภายใต้บทบัญญัติของพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 สำหรับการนำเข้าผลไม้เขือเทศจากนิวซีแลนด์

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2554 สิ้นสุด กันยายน 2556 รวม 2 ปี

และสถานที่ทำการทดลอง

กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ศึกษาข้อมูลมาตรการมาตรการสุขอนามัยพืชของผลสดมะเขือเทศจากประเทศต่างๆ

- ประเทศแคนาดา ได้มีข้อกำหนดสำหรับแหล่งที่มีแมลง *Tuta absoluta* (Tomato leaf miner, South American tomato moth), *Thaumetobia leucotreta* (False codling moth) ต้องผ่านการตรวจสอบและพบว่าปลอดจากแมลงสองชนิดดังกล่าว (CFIA, 2010)

- ประเทศสหรัฐอเมริกา พบว่ามะเขือเทศนำเข้าจากแถบแอฟริกาตะวันตก ซึ่งมีศัตรูพืชกักกันที่มีความเสี่ยงสูงได้แก่ *Bactrocera cucurbitae* (melon fruit fly), *B. invadens* (Asian fruit fly), *Ceratitis capitata* (Medfly), *Ceratitis rosa* (natal fruit fly), *Helicoverpa armigera* (cotton bollworm), *H. assulta* (cape gooseberry budworm), *Leucinodes orbonalis* (eggplant fruit borer) และความเสี่ยงปานกลางได้แก่ *Chrysodeixis chalcites* (golden twin spot moth), *Maconellicoccus hirsutus* (pink hibiscus mealybug), *Nipaecoccus viridis* (spherical mealybug) และข้อกำหนดการนำเข้าสำหรับผลมะเขือเทศจากนิวซีแลนด์ต้องมากจากพื้นที่ปลอดจากไร *Halotydeus destructor* (redlegged-earth mite) ข้อกำหนดสำหรับการนำเข้าผลไม้เขือเทศจากชิลี ต้องจัดการศัตรูพืชด้วยการรม (Fumigation) หรือจัดการศัตรูพืชอย่างเป็นระบบ (systems approach) เพื่อกำจัดแมลง *Tuta absoluta*, *Rhagoletis tomatis* และ *Ceratitis capitata* (USDA-APHIS, 2005; 2011; FAVIR, 2012)

- ประเทศออสเตรเลีย ได้มีข้อกำหนดการนำเข้าสำหรับผลมะเขือเทศจากเนเธอร์แลนด์ ต้องมาจากพื้นที่ปราศจากแมลง *Ceratitis capitata* (Mediterranean fruit fly) ไวรัส *Pepino mosaic virus* และข้อกำหนดการนำเข้าผลไม้เขือเทศ (Truss tomato) เพื่อการบริโภคจากนิวซีแลนด์ต้องมีการจัดการเชื้อไวรัส *Potato spindle tuber viroid* ในแหล่งผลิตมะเขือเทศ และกำจัดศัตรูพืช (Fumigation) ด้วยสารรมเมทิลโบไมด์ และต้องไม่พบแมลงพาหะ *Bactericera cockerelli* ของเชื้อแบคทีเรีย *Candidatus Liberibacter solanacearum* (DAFF, 2013)

- ประเทศนิวซีแลนด์ ได้ใช้มาตรการจัดการแมลงวันผลไม้สำหรับการนำมะเขือเทศจากออสเตรเลียโดยการฉายรังสี (MIP, 2013)

2. ศึกษาข้อมูลพืชและศัตรูพืชของมะเขือเทศ

2.1 ข้อมูลทั่วไปของพืชมะเขือเทศ

มะเขือเทศ (Tomato) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Solanum lycopersicum* L. (*Lycopersicon esculentum* Mill) จัดอยู่ในวงศ์โซลานาซีอี (Solanaceae) เช่นเดียวกับพริก มะเขือ มันฝรั่ง ยาสูบ และพืชน้ำ มีแหล่งกำเนิดอยู่ในแถบตอนกลางของทวีปอเมริกาและแถบภูเขาแอนดีสในอเมริกาใต้ แถบประเทศเปรู ชิลี และเอกวาดอร์ มะเขือเทศเป็นพืชผักเศรษฐกิจที่สำคัญอันดับต้นๆ ของประเทศไทย ทั้งในแง่ผักอุตสาหกรรมและบริโภคสด โดยปลูกกันแพร่หลายทางภาคเหนือ และตะวันออกเฉียงเหนือ โดยมะเขือเทศอุตสาหกรรม มีพื้นที่เหมาะสมเชิงธุรกิจในจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย หนองคาย สกลนคร นครพนม กาฬสินธุ์ มะเขือเทศรับประทานสด มีพื้นที่ปลูกเชิงธุรกิจที่สำคัญจังหวัด นครปฐมราชบุรี กาญจนบุรี เชียงใหม่ เชียงราย นครราชสีมา มะเขือเทศอุตสาหกรรม พื้นที่ปลูกที่สำคัญจังหวัดบุรีรัมย์ อุตรธานี สุรินทร์ ตาก มะเขือเทศรับประทานสดพื้นที่ปลูกที่สำคัญจังหวัดลำปาง ลพบุรี มะเขือเทศสามารถขึ้นได้ดีกับดินแทบทุกชนิด แต่ชอบดินร่วนที่มีความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ของดินในช่วง 6.0-6.8 และความชื้นของดินพอเหมาะ ต้องการแสงแดดเต็มที่ตลอดวัน ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต ระหว่าง 21-24 องศาเซลเซียส การเก็บเกี่ยวขึ้นอยู่กับพันธุ์ แต่โดยเฉลี่ยแล้วเมื่อปลูกได้ ประมาณ 30-45 วัน มะเขือเทศจะเริ่มออกดอก และจะเริ่มเก็บเกี่ยวได้เมื่ออายุประมาณ 70-90 วัน และจากเริ่มปลูกถึงเก็บเกี่ยวหมดประมาณ 4-5 เดือน

สถานการณ์การผลิตมะเขือเทศในต่างประเทศทั่วโลก พบว่าประเทศที่มีการผลิตมะเขือเทศสูงสุด คือ สาธารณรัฐประชาชนจีน รองลงมาคือ อินเดีย สหรัฐอเมริกา ตุรกี และอียิปต์ (FAO, 2011) จากสถิติการนำเข้าผลสดมะเขือเทศจากนิวซีแลนด์ที่ผ่านมาในช่วง 5 ปี ตั้งแต่ปี 2549 -2554 ปริมาณทั้งสิ้น 14, 631.3 กิโลกรัม ซึ่งนำเข้าทางด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2555)

แหล่งผลิตมะเขือเทศ เพื่อการส่งออกของประเทศนิวซีแลนด์ โดยส่วนใหญ่ปลูกสภาพโรงเรือนในเขตเมือง Auckland และ Waikato นอกจากนี้มีแหล่งผลิต ซึ่งปลูกอยู่ทั่วไปสำหรับบริโภคในท้องถิ่นค่อนข้างมากกว่าเพื่อส่งออก ได้แก่ Northland, Hawkes Bay, Taupo, Nelson และ Christchurch ซึ่งสภาพภูมิอากาศส่วนใหญ่ของประเทศ ตั้งอยู่ใกล้กับชายฝั่ง มีแสงสว่าง อากาศอบอุ่น มีปริมาณน้ำฝนปานกลาง โดยอากาศอบอุ่นในช่วงเดือน ธันวาคม-กุมภาพันธ์ และ อากาศหนาวในเดือน มิถุนายน-สิงหาคม อุณหภูมิสูงสุดอยู่ระหว่าง 20-30 องศาเซลเซียส อุณหภูมิต่ำสุดอยู่ระหว่าง 10-15 องศาเซลเซียส โดยผลมะเขือเทศที่ส่งออกมายังประเทศไทยเพื่อบริโภค มีจำนวน 8 สายพันธุ์ ได้แก่ Clarence, Zealand, Westland, Flavourine, Red Delight, Clotida, Mona Lisa และ Campari นำเข้ามาในลักษณะเป็นแบบผลเดี่ยว ซึ่งมีทั้งขั้วและไม่มีขั้วผล และแบบพวง ซึ่งมีขั้วผลและลำต้น (Truss tomatoes) ประมาณ 7-8 ผล (MIP, 2008)

2.2 ข้อมูลศัตรูพืช

ผลการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชของมะเขือเทศจากทุกแหล่งทั่วโลก พบว่ามีจำนวนทั้งสิ้น 557 ชนิด (CABI online) และการตรวจสอบศัตรูพืชบนผลสดมะเขือเทศจากนิวซีแลนด์ (Interception) ณ ด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ ในช่วง 5 ปีที่ผ่านมาตั้งแต่ 2549- 2554 ยังไม่พบศัตรูพืช (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2555)

3. การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจากสหรัฐอเมริกา

ขั้นตอนที่ 1 การเริ่มต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Initiation of pest risk analysis)

จุดเริ่มต้นของการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้าผลสดมะเขือเทศจากนิวซีแลนด์เข้ามาในประเทศไทยเกิดขึ้นจากการทบทวนด้านนโยบายเพื่อปรับปรุงมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าผลสดมะเขือเทศจากนิวซีแลนด์ให้รัดกุมยิ่งขึ้น (PRA initiated by the review or revision of a policy) เนื่องจากมาตรการควบคุมการนำเข้าผลสดมะเขือเทศจากนิวซีแลนด์ปัจจุบันอาศัยอำนาจตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติม พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 ผลมะเขือเทศจัดเป็นพืชสิ่งต้องห้าม การนำเข้าต้องมีใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาด้วย อย่างไรก็ตาม การนำเข้าที่มีใบรับรองสุขอนามัยพืช แต่ที่มิได้มีการระบุว่าศัตรูพืชชนิดใดบ้างเป็นศัตรูพืชกักกันตลอดจนมาตรการทางกักกันพืชกำกับมาด้วยจึงทำให้นำเข้าผลสดมะเขือเทศจากนิวซีแลนด์ยังมีความเสี่ยงที่ศัตรูพืชจะติดเข้ามา จึงจำเป็นต้องวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช เพื่อทราบว่าศัตรูพืชชนิดใดบ้างเป็นศัตรูพืชกักกัน โดยพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Identification of PRA area) ที่กำหนดในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับผลสดมะเขือเทศจากนิวซีแลนด์คือ “ประเทศไทย”

พื้นที่ที่อยู่ในอันตราย (Endangered area) ได้แก่ พื้นที่หนึ่งพื้นที่ใดในประเทศไทย ซึ่งมีปรากฏอยู่ของพืชอาศัยที่อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของศัตรูพืช และมีปัจจัยทางสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญแพร่พันธุ์อย่างถาวรของศัตรูพืชซึ่งอาจจะติดเข้ามากับการนำเข้า โดยเส้นทาง (Pathway) ที่ศัตรูพืชจะติดเข้ามา คือผลมะเขือเทศ ที่ปลูกเป็นการค้า นำเข้ามาจากนิวซีแลนด์ เพื่อการบริโภค

ขั้นตอนที่ 2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest risk assessment)

2.1 การจำแนกประเภทศัตรูพืช (Pest categorization) ที่พบเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ

จากการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชของมะเขือเทศที่มีรายงานในนิวซีแลนด์พบมีจำนวนทั้งสิ้น 189 ชนิด แบ่งเป็นแมลง 42 ชนิด ได้แก่ *Agrotis ipsilon*, *Aphidoletes aphidimyza*, *Aphis craccivora*, *Aphis gossypii*, *Aulacorthum solani*, *Bactericera cockerelli*, *Bemisia argentifolii*, *Bemisia tabaci*, *Brachycaudus helichrysi*, *Capitophorus elaeagni*, *Cavariella aegopodii*, *Chrysodeixis eriosoma*, *Cuspicona simplex*, *Epiphyas postvittana*,

Feltiella acarisuga, *Frankliniella occidentalis*, *Helicoverpa armigera*, *Helicoverpa punctigera*, *Hercinothrips bicinctus*, *Heteronychus arator*, *Listroderes costirostris*, *Macrosiphum euphorbiae*, *Myzus persicae*, *Naupactus leucoloma*, *Nezara viridula*, *Philaenus spumarius*, *Phthorimaea operculella*, *Phyllophaga* sp., *Planococcus citri*, *Pseudococcus calceolariae*, *Pseudococcus longispinus*, *Pseudococcus viburni*, *Rhopalosiphum rufiabdominale*, *Sceliodes cordalis*, *Scolypopa australis*, *Spodoptera litura*, *Spodoptera mauritia acronyctoides*, *Symmetrischema tangolias*, *Thrips imaginis*, *Thrips tabaci*, *Thysanoplusia orichalcea*, *Trialeurodes vaporariorum* ไร 5 ชนิด ได้แก่ ***Aculops lycopersici***, ***Halotydeus destructor***, *Polyphagotarsonemus latus*, ***Tetranychus ludeni***, ***Tetranychus urticae*** ไรเดือนฝอย 17 ชนิด ได้แก่ *Aphelenchoides ritzemabosi*, *Ditylenchus destructor*, *Globodera pallid*, *Globodera rostochiensis*, *Helicotylenchus dihystra*, *Helicotylenchus pseudorobustus*, *Longidorus* sp., *Longidorus elongates*, *Meloidogyne fallax*, *Meloidogyne hapla*, *Meloidogyne incognita*, *Paratrichodorus minor*, *Pratylenchus penetrans*, *Scutellonema brachyurus*, *Trichodorus* sp., *Xiphinema diversicaudatum*, *Xiphinema index* หอยทาก 1 ชนิด ได้แก่ *Helix aspersa* โพรโตซัว 2 ชนิด ได้แก่ *Plasmodiophora brassicae*, *Spongospora subterranea f.sp. subterranean* เชื้อรา 62 ชนิด ได้แก่ *Alternaria alternata*, *Alternaria brassicae*, *Alternaria brassicicola*, *Alternaria dauci*, *Alternaria japonica*, *Alternaria solani*, *Alternaria tenuissima*, *Botryotinia fuckeliana*, *Chalara elegans*, *Cladosporium oxysporium*, *Colletotrichum acutatum*, *Colletotrichum coccodes*, *Colletotrichum dematium*, *Corticium rolfsii*, *Didymella lycopersici*, *Epicoccum purpurascens*, *Erysiphe cichoracearum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium oxysporum f.sp.lycopersici* Race1, *Fusarium oxysporum f.sp.lycopersici* Race2, *Fusarium oxysporum f.sp.lycopersici* Race3, *Galactomyces geotrichum*, *Gibberella acuminata*, *Gibberella avenacea*, *Gibberella cyanogena*, *Gibberella fujikuroi*, *Gibberella intricans*, *Glomerella cingulata*, *Golovinomyces orontii*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Macrophomina phaseolina*, *Mycosphaerella tassiana*, *Myrothecium roridum*, *Nectria haematococca*, *Olpidium brassicae*, *Passalora fulva*, *Penicillium digitatum*, *Penicillium expansum*, *Penicillium italicum*, *Phoma exigue* var. *exigue*, *Phytophthora cactorum*, *Phytophthora cryptogea*, *Phytophthora erythroseptica* var. *erythroseptica*, *Phytophthora infestans*, *Phytophthora megasperma*, *Phytophthora nicotianae*, *Plectosphaerella cucumerina*, *Pleospora herbarum*, *Pleospora tarda*, *Pythium arrhenomanes*, *Pythium debaryanum*, *Pythium irregular*, *Pythium myriotylum*, *Rhizopus stolonifer*, *Sclerotinia*

sclerotiorum, *Septoria lycopersici*, *Synchytrium endobioticum*, *Stemphylium vesicarium*, *Thanatephorus cucumeris*, *Trichothecium roseum*, *Verticillium albo-atrum*, *Verticillium dahlia* แบคทีเรีย 24 ชนิด ได้แก่ *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, *Dickeya chrysanthemi*, *Erwinia chrysanthemi* pv. *zeae*, *Liberibacter psyllaourous*, *Pantoea agglomerans*, *Pectobacterium chrysanthemi*, *Pseudomonas cichorii*, *Pseudomonas corrugate*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis*, *Pseudomonas syringae*, *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens*, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *Pseudomonas viridiflava*, *Ralstonia solanacearum*, *Ralstonia solanacearum* race 1, *Rhizobium radiobacter*, *Rhodococcus fascians*, *Candidatus Liberibacter solanacearum*, *Xanthomonas vesicatoria* ไวรัส 16 ชนิด ได้แก่ *Alfalfa mosaic virus*, *Cucumber mosaic virus*, *Impatiens necrotic spot virus*, *Ortholuteovirus tomato yellow top virus*, *Potato leafroll virus*, *Potato virus Y*, *Spinach latent virus*, *Strawberry latent ringspot virus*, *Tobacco etch virus*, *Tobacco necrosis virus*, *Tobacco rattle virus*, *Tobacco ringspot virus*, *Tobacco streak virus*, *Tomato aspermy virus*, *Tomato ringspot virus*, *Tomato spotted wilt virus* ไวรอยด์ 2 ชนิด ได้แก่ *Citrus exocortis viroid*, *Potato spindle tuber viroid* วัชพืช 18 ชนิด ได้แก่ *Amaranthus albus*, *Amaranthus blitoides*, *Ambrosia artemisiifolia*, *Chamomilla recutita*, *Chenopodium album*, *Chenopodium murale*, *Cirsium arvense*, *Conyza canadensis*, *Cyperus rotundus*, *Echinochloa crus-galli*, *Eragrostis cilianensis*, *Fumaria officinalis*, *Galinsoga parviflora*, *Heliotropium europaeum*, *Hibiscus trionum*, *Lolium temulentum*, *Nicandra physalodes*, *Portulaca oleracea*

ในจำนวนนี้เป็นศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานในประเทศไทย และมีโอกาสติดมากับผลไม้เชื้อเทศนำเข้าจากนิวซีแลนด์เพื่อการบริโภค ได้แก่ *Halotydeus destructor*, *Tetranychus ludeni*, *Aculops lycopersici*, แมลง *Helicoverpa punctigera*, *Pseudococcus calceolariae*, *Epiphyas postvittana*, *Macrosiphum euphorbiae* เชื้อรา *Didymella lycopersici*, *Galactomyces geotrichum*, *Gibberella acuminata*, *Gibberella cyanogena*, *Gebberella intricans*, *Mycosphaerella tassiana*, *Nectria haematococca*, *Phoma exigue* var. *exigue* แบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis* ไวรัส *Tomato yellow top virus*, *Spinach latent virus*, *Tomato ringspot virus*, *Tomato spotted wilt virus* ไวรอยด์ *Potato spindle tuber viroid*

สำหรับการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนการประเมินศักยภาพการเข้ามา การดำรงชีพอย่างถาวร และการแพร่ระบาด (Assessment for probability of entry, establishment and spread) และการประเมินศักยภาพของผลกระทบทางเศรษฐกิจที่เกิดจากศัตรูพืช (Assessment of potential consequences) และขั้นตอนการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest risk management) อยู่ในระหว่างการดำเนินการ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

มะเขือเทศ (Tomato, *Solanum lycopersicum*) เป็นพืชในวงศ์โซลานาซีอีที่มีความสำคัญอันดับสองรองจากมันฝรั่ง จากสถิติการนำเข้าผลสดมะเขือเทศจากนิวซีแลนด์ ในปี 2549-2554 ปริมาณรวมทั้งสิ้น 14, 631.3 กิโลกรัม ยังไม่มีรายงานพบศัตรูพืช (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2555) จากการศึกษาข้อมูลศัตรูพืชของมะเขือเทศที่มีรายงานในนิวซีแลนด์ จำนวน 189 ชนิด ในจำนวนนี้พบว่าไม่มีรายงานในประเทศไทย และสามารถติดมากับผลมะเขือเทศ ได้แก่ ไร *Halotydeus destructor*, *Tetranychus ludeni*, *Aculops lycopersici*, แมลง *Helicoverpa punctigera*, *Pseudococcus calceolariae*, *Epiphyas postvittana*, *Macrosiphum euphorbiae* เชื้อรา *Didymella lycopersici*, *Galactomyces geotrichum*, *Gibberella acuminata*, *Gibberella cyanogena*, *Gibberella intricans*, *Mycosphaerella tassiana*, *Nectria haematococca*, *Phoma exigue* var. *exiguae* แบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis* ไวรัส *Tomato yellow top virus*, *Spinach latent virus*, *Tomato ringspot virus*, *Tomato spotted wilt virus* ไรรอยด์ *Potato spindle tuber viroid*

เอกสารอ้างอิง

- สำนักควบคุมพืช และวัสดุการเกษตร. 2555. สถิติการนำเข้าผลสดมะเขือเทศจากนิวซีแลนด์ ปี 2549-2554. สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ.
- Anonymous. 2004. Pest Risk Analysis for Quarantine Pests Including Analysis of Environmental Risks Pest risk Analysis for Quarantine Pests. ISPM No. 11, FAO, Rome.
- Anonymous. 2009. Glossary of Phytosanitary Terms (2009). ISPM No. 11, FAO, Rome.
- CAB International. 2007. Crop Protection Compendium 2007 Edition. (Computer Program). CAB International. Wallingford, UK.
- CAB International. Online. Crop Protection Compendium. (Computer Program). CAB

International. Wallingford, UK.

- CFIA (Canadian Food Inspection Agency). 2010. General Import Requirements for Fresh Peppers and Tomatoes from the World. (Online). Available. <http://www.inspection.gc.ca/plants/plant-protection/directives/horticulture/d-10-01/eng/1304622464578/1312239593183> (8 June, 2013)
- DAFF(Department of Agriculture, Fisheries and Forestry. 2013. Import condition search. (Online). Available. http://www.aqis.gov.au/icon32/asp/ex_querycontent.asp
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nation). 2011. FAOSTAT: Tomato Production. (Online). Available. <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx> (8 June, 2013).
- FAVIR (Fruit and Vegetables Import Requirements). 2012. Tomato (Fruit, or cluster of fruit) from New Zealand into all ports. (Online). Available. <http://www.aphis.usda.gov/favir/>
- MPI (Ministry for Primary Industries). 2008. Pest Risk Analysis information for *Lycopersicon esculentum* fruit from New Zealand. The National Plant Protection Organization of New Zealand.
- MPI (Ministry for Primary Industries). 2013. Risk Management Proposal Alternatives to dimethoate to manage the export of fruit fly host commodities: Irradiation of fresh *Capsicum annuum* L. (capsicum) and *Lycopersicon esculentum* L. (tomato) for human consumption from Australia to New Zealand (Online). Available.<http://www.biosecurity.govt.nz/files/biosec/consult/rmp-irradiation-of-fresh-capsicum-and-tomatoes.pdf>
- USDA-APHIS (United States Department of Agriculture-Animal and Plant Health Inspection Service). 2011. Proposed rule. Importation of Tomatoes From the Economic Community of West African States into the Continental United States. Fed. Reg. Vol. 76, No. 148.
- USDA-APHIS (United States Department of Agriculture-Animal and Plant Health Inspection Service). 2005. Proposed rule. Importation of Tomatoes From Chile into the United States. Fed. Reg. Vol. 70, No. 245.
- USDA-APHIS (United States Department of Agriculture-Animal and Plant Health Inspection Service). 2010. Proposed rule. Importation of Tomatoes with stem from the Republic of Korea into the United States. Fed. Reg. Vol. 76, No. 50.

ศึกษาประสิทธิภาพมาตรการสุขอนามัยพืชกับผลองุ่นสดนำเข้าจากเครือรัฐออสเตรเลีย
 Study on Efficiency of Phytosanitary measure for the Importation of
 Fresh Persimmon Fruit from New Zealand

วรัญญา มาลี^{1/} ณัฐพร อุทัยมงคล^{1/} ปรียพรรณ พงศาพิชณ^{1/} พรพิมล อธิปัญญาคม^{2/}
 ชมัพร บัวมาศ^{3/} ดารารพ รินทะรักษ์^{3/} ศิริพร ซึ่งสนธิพร^{4/}
^{1/} กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
^{2/} กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
^{3/} กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
^{4/} กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาประสิทธิภาพมาตรการสุขอนามัยพืชกับผลองุ่นสดนำเข้าจากเครือรัฐออสเตรเลีย ดำเนินการที่กลุ่มวิจัยการกักกันพืช กลุ่มกีฏและสัตววิทยา กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และด่านตรวจพืชท่าเรือแหลมฉบัง ด่านตรวจพืชลาดกระบัง ด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร ระหว่างเดือนตุลาคม 2554 ถึงกันยายน 2555 โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินประสิทธิภาพมาตรการสุขอนามัยพืชที่บังคับใช้ในการนำเข้าผลองุ่นสดจากเครือรัฐออสเตรเลียว่าสามารถป้องกันศัตรูพืชกักกันที่มีชีวิตจากเครือรัฐออสเตรเลียมิให้ติดเข้ามา กับผลองุ่นสดนำเข้าได้หรือไม่ ดำเนินการทดลองโดยสุ่มตัวอย่างผลองุ่นสดนำเข้าเพื่อตรวจสอบศัตรูพืชพบว่าองุ่นที่นำเข้าเป็นพันธุ์ Crimson seedless, Midnight beauty และ Thompson seedless มาจากแปลงปลูกในรัฐวิกตอเรียและรัฐนิวเซาท์เวลนออกเขตปลอดแมลงวันผลไม้ ที่กำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยความเย็น (cold treatment) ระหว่างการขนส่งทางเรือ ผลการตรวจสอบศัตรูพืช ณ ด่านตรวจพืชที่นำเข้า พบแมลงไม่มีชีวิต ได้แก่ เพลี้ยแป้งและถุงไข่ที่ฝ่อแล้ว จิ้งหรีด แมลงหางหนีบ ตัวหนอนของแมลงในอันดับ Diptera หนอนผีเสื้อ และหอยทาก ติดตามกับผลองุ่นสดนำเข้า นอกจากนี้ยังพบเมล็ดวัชพืช และอาการผลเน่า ผลการตรวจจำแนกชนิดแมลงในห้องปฏิบัติการพบว่าเพลี้ยแป้งที่พบเป็นชนิด *Pseudococcus* sp. และหนอนแมลงวันที่พบไม่ใช่แมลงในวงศ์ Tephritidae การทดลองดังกล่าวจะดำเนินการซ้ำในปีต่อไป สำหรับเมล็ดวัชพืชที่พบอยู่ระหว่างจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ

รหัสการทดลอง 03-04-55-01-02-01-01-55

คำนำ

องุ่น (grape) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Vitis vinifera* L. จัดอยู่ในวงศ์ Vitaceae ประเทศไทยมีการนำเข้าผลองุ่นสดจากหลายประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย จีน และเปรู เป็นต้น จากสถิติการนำเข้าพบว่าปี 2551-2554 ประเทศไทยมีการนำเข้าผลองุ่นสดปริมาณ 26,916-57,897 ตันต่อปี คิดเป็นมูลค่าประมาณ 1,465-2,173 ล้านบาทต่อปี สำหรับการนำเข้าผลองุ่นสดจากออสเตรเลียในปี 2551-2554 พบว่ามีปริมาณนำเข้าประมาณ 2.8-8.0 พันตันต่อปี คิดเป็นมูลค่าประมาณ 194-438 ล้านบาทต่อปี (กรมศุลกากร, 2556) ผลองุ่นสดจัดเป็นสิ่งต้องห้ามตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และ เงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 สำหรับการนำเข้าผลองุ่นสดจากเครือรัฐออสเตรเลียในปัจจุบัน ต้องปฏิบัติตามหลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไขที่อธิบดีกรมวิชาการเกษตรกำหนด ตามประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าผลองุ่นสดจากเครือรัฐออสเตรเลีย พ.ศ. 2554 ลงวันที่ 5 เมษายน 2554 ซึ่งลงประกาศในราชกิจจานุเบกษา เล่ม 128 ตอนพิเศษ 53 ง เมื่อวันที่ 6 พฤษภาคม 2554 ซึ่งในเงื่อนไขการนำเข้าดังกล่าวได้กำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชที่ประเทศต้นทางต้องปฏิบัติก่อนการส่งออกที่สำคัญคือ ต้องจัดการความเสี่ยงแมลงวันผลไม้ 2 ชนิด ได้แก่ *Ceratitis capitata* และ *Bactrocera tryoni* โดยกำหนดให้องุ่นต้องมาจากแปลงปลูกในพื้นที่ปลอดแมลงวันผลไม้ หรือหากเป็นองุ่นจากแปลงปลูกซึ่งอยู่นอกพื้นที่ปลอดแมลงวันผลไม้จะต้องกำจัดแมลงวันผลไม้ในองุ่นด้วยวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้วยความเย็น (cold treatment) ก่อนการส่งออกหรือระหว่างการขนส่ง นอกจากนี้ยังมีมาตรการอื่นที่สนับสนุนการปฏิบัติงาน เช่น การจดทะเบียนสวนจดทะเบียนโรงบรรจุสินค้า และการตรวจสอบศัตรูพืชก่อนส่งออก เป็นต้น แต่เนื่องจากยังไม่เคยมีการศึกษาผลของมาตรการสุขอนามัยพืชภายหลังการบังคับใช้ ว่ามีประสิทธิภาพในการป้องกันและควบคุมมิให้มีศัตรูพืชกักกันติดมากับสินค้าได้อย่างมีประสิทธิภาพหรือไม่ จึงได้ดำเนินการศึกษาประสิทธิภาพของมาตรการสุขอนามัยพืชกับผลองุ่นสดนำเข้าจากออสเตรเลียเพื่อนำผลการศึกษาที่ได้ ยืนยันหรือ ทบทวน ปรับปรุง แก้ไขมาตรการสุขอนามัยพืชให้มีประสิทธิภาพต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ผลองุ่นนำเข้าจากเครือรัฐออสเตรเลีย
2. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างศัตรูพืช เช่น พู่กัน กล่องพลาสติก กล่องรักษาความเย็น เป็นต้น
3. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์เช่น ขวดแก้ว อุปกรณ์ในการทำสไลด์ กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และ compound microscope เป็นต้น
4. สารเคมี เช่น สารเคมีสำหรับดองตัวอย่างพืชและศัตรูพืช สารเคมีกันเชื้อรา สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและแยกเชื้อ เป็นต้น
5. วัสดุคอมพิวเตอร์ เช่น แผ่นจัดเก็บข้อมูล (ซีดี) และหมึกพิมพ์

6. หนังสือและเอกสารวิชาการตลอดจนเอกสารที่เกี่ยวข้องเพิ่มเติม

วิธีการ

1. รวบรวมข้อมูลลง่นำเข้าจากออสเตรเลีย ได้แก่ ชนิด สายพันธุ์ ปริมาณ/จำนวน ช่วงหรือระยะเวลาในการผลิต เก็บเกี่ยวและนำเข้า เส้นทางและวิธีการขนส่ง และมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้า

2. สุ่มเก็บตัวอย่างผลลง่นำเข้าพืชร่วมกับพนักงานเจ้าหน้าที่กักพืช ณ ด่านตรวจพืชที่นำเข้า และ/หรือ จุดกระจายสินค้า เพื่อตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับส่วนของพืชนำเข้า โดยดำเนินการดังนี้

สุ่มตัวอย่างผลลง่นำเข้าดังนี้ (1) นำเข้าจำนวนน้อยกว่า 1,000 พวง สุ่มตัวอย่างจำนวน 450 พวง หรือทั้งหมด (2) นำเข้าจำนวนเท่ากับหรือมากกว่า 1,000 พวง สุ่มตัวอย่างจำนวน 600 พวง (จำนวนการสุ่มตัวอย่างอ้างอิงจาก Whyte, 2009 และประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่องเงื่อนไขการนำเข้าผลลง่นำเข้าจากเครือรัฐออสเตรเลีย พ.ศ. 2554)

3. ตรวจสอบศัตรูพืชจากตัวอย่างลง่นำเข้าว่ามีศัตรูพืชหรือศัตรูพืชกักกัน หรือสิ่งอื่นใดที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน หรือพาหะ ติดมากับลง่นำเข้าหรือไม่ และนำไปตรวจวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการโดยดำเนินการดังนี้

- ตรวจสอบศัตรูพืชภายนอกด้วยตาเปล่า
- หากพบแมลง ไรและสัตว์ศัตรูพืช เช่น หอย จำแนกประเภทศัตรูพืชและจำแนกกลุ่มของแมลง โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphology) หรือส่งจำแนกชนิด
- นำชิ้นส่วนพืชไปแยกหาสาเหตุโรคพืชด้วยวิธีการที่เหมาะสม เช่น แยกบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม ทดสอบการเกิดโรค จำแนกชนิดโดยทางชีวเคมี ELISA, PCR

4. สรุปผลและเขียนรายงาน

เวลาและสถานที่

เวลา: เดือนตุลาคม 2554-กันยายน 2556

สถานที่: กลุ่มวิจัยการกักกันพืช กลุ่มกีฏและสัตววิทยา และกลุ่มวิจัยวัชพืช

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ด่านตรวจพืชท่าเรือแหลมฉบัง ด่านตรวจพืชลาดกระบัง และด่านตรวจพืช

ท่าเรือกรุงเทพ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การรวบรวมข้อมูลลง่นำเข้าจากออสเตรเลีย

ผลการรวบรวมข้อมูลลง่นำเข้าจากออสเตรเลีย ได้แก่ พันธุ์ แหล่งปลูก ฤดูเก็บเกี่ยว สถิติการนำเข้า และมาตรการสุขอนามัยพืชที่กำหนดสำหรับการนำเข้ลง่นำเข้าจากออสเตรเลีย พบว่าพันธุ์ลง่นำเข้าที่ปลูกในออสเตรเลียมีทั้งพันธุ์ปลูกสำหรับทำไวน์และรับประทานสด พันธุ์รับประทานสดที่ส่งออก

เช่น องุ่นเขียว (green grapes) พันธุ์ Menindee Seedless, Thompson Seedless, Calmeria. O'Hanez องุ่นแดง (red grapes) พันธุ์ Crimpson seedless, Flame seedless, Ralli, Red Globe Seedless และ องุ่นดำ (blue/black grapes) พันธุ์ Autumn Royal, Midnight Beauty โดยมีแหล่งปลูกที่สำคัญได้แก่ นอร์เทิร์นเทร์ริทอรี (Northern Territory), นอร์เทิร์นควีนส์แลนด์ (Northern Queensland), เซาท์เทิร์น วิคตอเรีย (Southern Victoria) และ เวสเทิร์นออสเตรเลีย (Western Australia) สำหรับฤดูเก็บเกี่ยวองุ่นรับประทานสด เริ่มตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน-พฤษภาคม ของปีถัดไป ซึ่งมีความแตกต่างกันในแต่ละพันธุ์ (ตารางที่ 1) จากสถิติการนำเข้า ปี 2555 ประเทศไทยนำเข้าผลองุ่นสดจากออสเตรเลีย ระหว่างเดือนมกราคม-กรกฎาคม โดยมีปริมาณการนำเข้าประมาณ 2,807.6 ตัน คิดเป็นมูลค่าประมาณ 188.4 ล้านบาท (กรมศุลกากร, 2556)

ผลองุ่นสดนำเข้าจากออสเตรเลียได้รับอนุญาตการให้นำเข้าประเทศไทยได้โดยต้องปฏิบัติตามประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าผลองุ่นสดจากเครือรัฐออสเตรเลีย พ.ศ. 2554 ประกาศ ณ วันที่ 5 เมษายน 2554 ลงราชกิจจานุเบกษา เล่ม 128 ตอนพิเศษ 53 ง วันที่ 6 พฤษภาคม 2554 ซึ่งมีการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชที่สำคัญคือ ต้องจัดการความเสี่ยงแมลงวันผลไม้ 2 ชนิด ได้แก่ *Ceratitis capitata* และ *Bactrocera tryoni* โดยกำหนดให้อองุ่นต้องมาจากแปลงปลูกในพื้นที่ปลอดแมลงวันผลไม้ หรืออองุ่นจากแปลงปลูกซึ่งอยู่นอกพื้นที่ปลอดแมลงวันผลไม้ต้องกำจัดแมลงวันผลไม้ในอองุ่นด้วยวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้วยความเย็นก่อนการส่งออกหรือระหว่างการขนส่ง และมีมาตรการอื่นสนับสนุนการปฏิบัติงาน เช่น การจดทะเบียนสวน จดทะเบียนโรงบรรจุสินค้า การตรวจสอบศัตรูพืชก่อนส่งออก และต้องมีใบรับรองสุขอนามัยพืชแนบมากับสินค้า เป็นต้น สำหรับศัตรูพืชชกักกันมีทั้งหมด 47 ชนิด เป็นแมลง 19 ชนิด ไร 10 ชนิด แมงมุม 1 ชนิด หอย 1 ชนิด รา 8 ชนิด แบคทีเรีย 1 ชนิด ไฟโตพลาสมา 1 ชนิด ไวรัส 4 ชนิด และไวรอยด์ 1 ชนิด (ตารางที่ 2)

2. การสุ่มองุ่นนำเข้าเพื่อตรวจสอบศัตรูพืชและผลการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชเบื้องต้น

ผลการสุ่มผลองุ่นสดเพื่อตรวจสอบศัตรูพืชระหว่างเดือนมีนาคม-มิถุนายน สรุปลังนี้

- เดือนมีนาคม 2555 สุ่มตรวจสอบศัตรูพืช 2 ครั้ง เป็นองุ่นที่มาจากแปลงปลูกในรัฐวิกตอเรียนอกเขตปลอดแมลงวันผลไม้ กำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยความเย็นระหว่างการขนส่ง ขนส่งทางเรือและนำเข้าทางด่านตรวจพืชลาดกระบัง และด่านตรวจพืชท่าเรือแหลมฉบัง ปริมาณองุ่นนำเข้า 19,200 และ 15,708 กิโลกรัม ตามลำดับ พันธุ์ที่นำเข้า ได้แก่ Crispson seedless, Midnight beauty และ Thompson seedless ผลการสุ่มตัวอย่างองุ่นนำเข้าเพื่อตรวจสอบศัตรูพืช ครั้งละ 600 หน่วย (พวงองุ่น) มีดังนี้ ครั้งที่ 1 พบซากเพลี้ยแป้งและถุงไข่ที่ฟ่อแล้ว ซากจิ้งหรีด เมล็ดด้วงพืช และอาการผลเน่า ครั้งที่ 2 พบซากเพลี้ยแป้ง ซากแมลงหางหนีบ ซากสิ่งมีชีวิตคล้ายไรแต่มีขนาดใหญ่ ซากหอยทาก อาการผลเน่าซึ่งมีซากหนอนของแมลงในอันดับ Diptera จำนวนมากอยู่ภายในผล เมล็ดด้วงพืช และร่องรอยการทำลายของศัตรูพืชบนผลองุ่น

- เดือนพฤษภาคม 2555 สุ่มตรวจสอบศัตรูพืช 1 ครั้ง เป็นองุ่นที่มาจากแหล่งปลูกนอกเขตปลอดแมลงวันผลไม้ในรัฐวิกตอเรีย ขนส่งทางเรือและนำเข้าทางด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ

ปริมาณนำเข้ารวม 16,416 กิโลกรัม กำจัดแมลงวันผลไม้ในอุ้งด้วยวิธี cold treatment พบซากแมลง และแมงมุมติดมากับอุ้งนำเข้า

- เดือนมิถุนายน 2555 สุ่มตรวจสอบศัตรูพืช 2 ครั้ง เป็นอุ้งที่มาจากแหล่งปลูกนอก เขตปลอดแมลงวันผลไม้ในรัฐนิวเซาท์เวล และผ่านการกำจัดแมลงวันผลไม้ในอุ้งด้วยวิธี cold treatment นำเข้าทางด้านตรวจพืชท่าเรือแหลมฉบัง ผลการตรวจสอบศัตรูพืชพบซากเพลี้ยแป้งและ ซากหนอนผีเสื้อ รวมถึงแมลงตัวช้ำติดมากับอุ้งนำเข้า

3. ผลการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชหรือสิ่งมีชีวิตที่ตรวจพบในอุ้งนำเข้าที่สำคัญใน ห้องปฏิบัติการ

- แมลงและสัตว์ศัตรูพืชที่พบทั้งหมดไม่มีชีวิต เพลี้ยแป้งที่พบเป็นชนิด *Pseudococcus* sp. ซากตัวหนอนแมลงวันที่พบไม่ใช่แมลงในวงศ์ Tephritidae

- อยู่ระหว่างตรวจวินิจฉัยชนิดของแมลงตัวช้ำในห้องปฏิบัติการ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลการศึกษามาตรการสุขอนามัยพืชที่กำหนดสำหรับการนำเข้าผลอุ้งสดนำเข้าจาก เครือรัฐออสเตรเลีย ที่นำเข้าจากแหล่งปลูกนอกเขตปลอดแมลงวันผลไม้ซึ่งกำหนดให้กำจัดแมลงวัน ผลไม้ศัตรูพืชกักกันด้วยความเย็นระหว่างการขนส่งร่วมกับข้อกำหนดอื่นๆ พบว่ามีประสิทธิภาพในการ ป้องกันศัตรูพืชกักกัน ได้แก่ แมลงวันผลไม้รวมถึงแมลงและหอยทากศัตรูพืชกักกัน มิให้เข้ามาใน ประเทศไทย โดยผลการสุ่มตัวอย่างอุ้งนำเข้าและนำมาตรวจสอบศัตรูพืช ไม่พบศัตรูพืชกักกันที่มีชีวิต อย่างไรก็ตามการตรวจพบแมลงตัวช้ำติดมากับผลอุ้งสดนำเข้า จะดำเนินการต่อโดยการตรวจสอบว่า เป็นแมลงตัวช้ำชนิดใด มีรายงานพบในประเทศไทยหรือไม่ และมีศักยภาพในการเป็นศัตรูพืชกักกัน หรือไม่ สำหรับการศึกษาในปี 2555 นี้ ได้ติดตามตรวจสอบอุ้งที่นำเข้าจากนอกเขตปลอดแมลงวันผลไม้ ที่ดำเนินการกำจัดศัตรูพืชด้วยความเย็นระหว่างการขนส่งเท่านั้น ยังไม่รวมถึงการนำเข้าอุ้งจากเขต ปลอดแมลงวันผลไม้ ซึ่งจะมีการดำเนินงานในปีต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- กรมศุลกากร. 2554. สถิติการนำเข้า-ส่งออก (นำเข้าผลลงุ่นสด). (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล:
<http://www.customs.go.th/Statistic/StatisticIndex.jsp> (5 มกราคม 2556)
- “ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าผลลงุ่นสดจากเครือรัฐออสเตรเลีย พ.ศ. 2554”
 (2554, 6 พฤษภาคม). ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 128 ตอนพิเศษ 53 ง. หน้า 12-20.
- “ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม
 ข้อยกเว้น และ เงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550”
 (2550, 1 มิถุนายน). ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 124 ตอนพิเศษ 66 ง. หน้า 1-3.
- Anonymous. 2012. **Varieties and Growing Region**. Australian Table Grape Association Inc.
 (Online). Available: http://www.australiangrapes.com.au/about-atga2/varieties?SQ_DESIGN_NAME=print (November 15, 2012)
- Whyte, C.F. 2009. **Explanatory Document on International Standard for Phytosanitary Measures No.31 (Methodologies for Sampling of Consignments)**. (Online).
 Available. http://www.ippc.int/file_uploaded/1252507962732_ISPM31_ED_in_format.pdf (April 15, 2011)

ตารางที่ 1 พันธุ์องุ่นรับประทานสดสำหรับส่งออกของและฤดูเก็บเกี่ยวผลผลิต

พันธุ์	พ.ย.	ธ.ค.	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.
องุ่นเขียว (green grapes)							
ไร้เมล็ด (seedless)							
Menindee Seedless	✓	✓	✓	✓			
Thompson Seedless			✓	✓	✓	✓	✓
มีเมล็ด (seeded)							
Calmeria					✓	✓	✓
O'Hanez					✓	✓	
องุ่นแดง (red grapes)							
ไร้เมล็ด							
Crimson seedless			✓	✓	✓	✓	✓
Flame seedless	✓	✓	✓	✓			
Ralli Seedless			✓	✓			
มีเมล็ด							
Red Globe			✓	✓	✓	✓	✓
องุ่นดำ (blue/black grapes)							
มีเมล็ดและไร้เมล็ด							
Autumn Royal				✓	✓	✓	✓
Midnight Beauty		✓	✓				

อ้างอิงจาก: Anonymous, 2012

ศึกษาประสิทธิภาพมาตรการทางสุขอนามัยพืช
กับผลองุ่นสดนำเข้าจากสาธารณรัฐเปรู
Study on Efficacy of Phytosanitary Measures
on the Importation of Fresh Grape from Peru

อลงกต โพธิ์ดี^{1/} ศรีวิเศษ เกษสังข์^{1/} สุนัดดา เขาวลิต^{2/}
วาสนา ฤทธิ์ไธสง^{1/} คมศร แสงจินดา^{1/}
^{1/}กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
^{2/}กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาศึกษาประสิทธิภาพมาตรการทางสุขอนามัยพืชกับผลองุ่นสดนำเข้าจากประเทศเปรู ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2554 - กันยายน 2555 ซึ่งองุ่น (grape; *Vitis vinifera*) ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไข ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 กำหนดให้ผลสดเป็นสิ่งต้องห้าม การนำเข้าผลองุ่นสดจากประเทศเปรูต้องปฏิบัติตามประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าผลองุ่นสดจากสาธารณรัฐเปรู พ.ศ. 2553 โดยมีศัตรูพืชกักกันที่เกี่ยวข้อง จำนวน 10 ชนิด ได้แก่ *Anastrepha fraterculus*, *Ceratitis capitata*, *Macrosiphum euphorbiae*, *Parthenolecanium corni*, *Aspidiotus nerii*, *Selenaspilus articulatus*, *Linepithema humile*, *Peridroma saucia*, *Spodoptera frugiperda* และ *Helix aspersa* ซึ่งเงื่อนไขการนำเข้า มีสาระสำคัญ คือ กำหนดให้ดำเนินการกำจัดแมลงวันผลไม้ South American fruit fly, *A. fraterculus* และ Mediterranean fruit fly, *C. capitata* ด้วยวิธีกำจัดศัตรูพืชด้วยความเย็นตาม อุณหภูมิที่กำหนด จากการสุ่มตัวอย่างพบว่าสายพันธุ์สำคัญที่นำเข้า คือ Red Globe ซึ่งมาจากแหล่งปลูก ได้แก่ Ica และ Piura โดยเป็นสินค้าขนส่งทางน้ำ และนำศัตรูพืชที่พบมาวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการพบว่าเป็นเพลี้ยแป้งและเชื้อราที่เกิดขึ้นภายหลังการเก็บเกี่ยว นอกจากนี้ผลสดองุ่นมีลักษณะมีรอยแผล แตก ซ้ำ และพบตัวอ่อนของแมลงในวงศ์ดิบเทอรา (Diptera) ในรอยแผลดังกล่าว ซึ่งไม่มีชีวิต ทั้งนี้ยังพบใยแมงมุมติดมากับพวงองุ่น สำหรับข้อกำหนดการกำจัดศัตรูพืชด้วยความเย็นนั้น ในช่วงแรกที่มีการอนุญาตให้นำเข้าตามเงื่อนไขฉบับนี้ พบว่าการวางตำแหน่งแท่งวัดอุณหภูมิไม่เป็นไปตามข้อกำหนด แต่ปัจจุบันการกำจัดศัตรูพืชด้วยความเย็นได้ปฏิบัติตามเงื่อนไขที่กำหนด

รหัสการทดลอง 03-04-55-01-02-02-01-55

คำนำ

ปัจจุบันประเทศไทยมีการนำเข้าพืชและผลผลิตพืชจากต่างประเทศเพิ่มมากขึ้น มาตรการสุขอนามัยพืชที่ใช้สำหรับป้องกันมิให้ศัตรูพืชหรือศัตรูพืชกักกันจากต่างประเทศเข้ามาและ/หรือแพร่กระจายในประเทศไทยอาศัยกฎหมายในการควบคุมการนำเข้าพืชและผลผลิตพืช ได้แก่ พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 ซึ่งแบ่งพืชออกเป็น 3 ประเภท ได้แก่ สิ่งต้องห้าม สิ่งกักกัก และสิ่งไม่ต้องห้าม ซึ่งการนำเข้าหรือนำผ่านสิ่งต้องห้ามสามารถนำเข้าหรือนำผ่านเพื่อ (1) การทดลองหรือวิจัย หรือ (2) เพื่อการค้า หรือเพื่อกิจการอื่นตามที่อธิบดีกรมวิชาการเกษตรประกาศกำหนดโดยคำแนะนำของคณะกรรมการกักพืช โดยการนำเข้าหรือนำผ่านสิ่งต้องห้ามเพื่อการค้า ต้องมีใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาด้วย และต้องผ่านการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช และต้องปฏิบัติตามหลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไขที่อธิบดีกรมวิชาการเกษตรกำหนดโดยคำแนะนำของคณะกรรมการกักพืชโดยประกาศลงในราชกิจจานุเบกษา จึงจะสามารถนำเข้าหรือนำผ่านประเทศไทยได้

จากการที่ประเทศไทยเข้าเป็นสมาชิกขององค์การการค้าโลก (World trade organization: WTO) ทำให้ประเทศไทยต้องปฏิบัติตามความตกลงว่าด้วยการใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement of Application of Sanitary and Phytosanitary Measures: SPS Agreement) ซึ่งเป็นมาตรการในการปกป้องชีวิตหรือสุขภาพของมนุษย์ สัตว์ และพืช โดยกรมวิชาการเกษตรในฐานะเป็นองค์กรอารักขาพืชแห่งชาติ (National Plant Protection Organization: NPPO) ของประเทศไทยได้กำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าสินค้าเกษตรจากประเทศต่าง ๆ เพื่อจัดการศัตรูพืชหรือศัตรูพืชกักกันก่อนที่สินค้าจะมายังประเทศไทย ซึ่งการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชในการนำเข้าสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 เพื่อการค้าโดยให้ประเทศผู้ส่งออกต้องปฏิบัติตามนั้น พบว่ายังไม่เคยมีการศึกษาผลของการดำเนินการหลังจากกำหนดใช้มาตรการสุขอนามัยพืชแล้วว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมมิให้มีศัตรูพืชกักกันติดมากับสินค้าได้อย่างมีประสิทธิภาพหรือไม่ ซึ่งมาตรการที่กำหนดในสินค้าแต่ละชนิดจะแตกต่างกันไปขึ้นกับชนิดศัตรูพืช และการจัดการควบคุมศัตรูพืชของแต่ละประเทศ เช่น การตรวจสอบแหล่งผลิต การจัดการก่อนส่งออก การตรวจสอบทางสุขอนามัยพืชด้วยวิธีที่เหมาะสมกับศัตรูพืชกักกันตามที่กำหนดไว้ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องศึกษาประสิทธิภาพของมาตรการสุขอนามัยพืชกับสินค้าเกษตรนำเข้าภายหลังการบังคับใช้ว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมและป้องกันการเข้ามาของศัตรูพืชกักกันได้จริงหรือไม่ เพื่อเป็นการยืนยันถึงประสิทธิภาพของมาตรการสุขอนามัยพืชที่กำหนด โดยศึกษาการตรวจสอบหาศัตรูพืชกักกันหรือการปนเปื้อนของศัตรูพืชอื่น ๆ ในสินค้าเกษตร ตลอดจนชีววิทยาและสัณฐานวิทยาของศัตรูพืชที่พบ นำมาจัดทำฐานข้อมูลศัตรูพืช เพื่อการปรับปรุง ทบทวน แก้ไขมาตรการสุขอนามัยพืชให้มีประสิทธิภาพต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ผลองุ่นนำเข้า
2. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างศัตรูพืช เช่น พู่กัน กล้องพลาสติก กล้องรักษาความเย็น เป็นต้น
3. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น ขวดแก้ว อุปกรณ์ในการทำสไลด์ กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และ compound microscope เป็นต้น
4. สารเคมี เช่น สารเคมีสำหรับดองตัวอย่างพืชและศัตรูพืช สารเคมีกันเชื้อรา และสารเคมีสำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นต้น
5. หนังสือและเอกสารวิชาการตลอดจนเอกสารที่เกี่ยวข้อง

วิธีการ

1. การรวบรวมข้อมูลองุ่นนำเข้าจากเปรู
รวบรวมข้อมูลพืช (crop information) ได้แก่ ชนิด สายพันธุ์ ปริมาณ/จำนวน ช่วงหรือระยะเวลาในการผลิต เก็บเกี่ยวและนำเข้า เส้นทางและวิธีการขนส่ง เช่น ลักษณะเป็นสินค้าขนส่งทางน้ำหรือทางอากาศ ด้านตรวจพืชที่นำเข้า แหล่งปลูก โรงบรรจุสินค้าหรือสถานที่จัดการสินค้าส่งออก ลักษณะบรรจุภัณฑ์และฉลาก รวมทั้งเอกสารทั้งหมดที่แนบมาพร้อมกับสินค้า ศัตรูพืชกักกันที่เกี่ยวข้อง และมาตรการจัดการความเสี่ยงที่กำหนด
2. การสุ่มผลองุ่นสดนำเข้าจากเปรูเพื่อตรวจสอบศัตรูพืชและการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืช
สุ่มผลองุ่นสดร่วมกับพนักงานเจ้าหน้าที่กักพืช ณ ด้านตรวจพืชที่นำเข้า และ/หรือ จุดกระจายสินค้าเพื่อตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับผลสดนำเข้า โดยมีจำนวนสุ่มตัวอย่าง อ้างอิงจาก Whyte (2009) ดังนี้
นำเข้าจำนวนน้อยกว่า 1,000 พวง (หน่วย) สุ่มตัวอย่างองุ่นจำนวน 450 พวง หรือทั้งหมด
นำเข้าจำนวน 1,000 พวง หรือมากกว่า สุ่มตัวอย่างองุ่นจำนวน 600 พวง

เวลาและสถานที่

เวลา	เดือนตุลาคม 2554 ถึง เดือนกันยายน 2555
สถานที่	กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ด้านตรวจพืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร แหล่งกระจายสินค้า

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลเดือนตุลาคม 2554-กันยายน 2555

1. การรวบรวมข้อมูลองุ่นนำเข้าจากเปรู

องุ่น (grape; *Vitis vinifera*) ซึ่งตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชและพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไข ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 กำหนดให้ผลสดของพืชสกุล *Vitis* เป็นสิ่งต้องห้าม

การนำเข้าผลองุ่นสดจากประเทศเปรูเพื่อการค้าต้องปฏิบัติตาม หลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไขที่อธิบดีกรมวิชาการเกษตรกำหนด ตามประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าผลองุ่นสดจากสาธารณรัฐเปรู พ.ศ. 2553 ลงวันที่ 21 ธันวาคม 2553 ลงประกาศในราชกิจจานุเบกษา เล่ม 128 ตอนพิเศษ 1 ง วันที่ 7 มกราคม 2554 มีผลใช้บังคับเมื่อวันที่ 21 ธันวาคม 2553 ซึ่งมีศัตรูพืชกักกันที่เกี่ยวข้อง จำนวน 10 ชนิด ได้แก่ *Anastrepha fraterculus* [Diptera: Tephritidae], *Ceratitis capitata* [Diptera: Tephritidae], *Macrosiphum euphorbiae* [Hemiptera: Aphididae], *Parthenolecanium corni* [Hemiptera: Coccidae], *Aspidiotus nerii* [Hemiptera: Diaspididae], *Selenaspilus articulatus* [Hemiptera: Diaspididae], *Linepithema humile* [Hymenoptera: Formicidae], *Peridroma saucia* [Lepidoptera: Noctuidae], *Spodoptera frugiperda* [Lepidoptera: Noctuidae] และ *Helix aspersa* [Eupulmonata: Helicidae] นอกจากนี้ต้องไม่มีสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นที่ไม่มีรายชื่อปรากฏที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน

โดยเงื่อนไขการนำเข้ามีสาระสำคัญ คือ กำหนดให้ดำเนินการกำจัดแมลงวันผลไม้ South American fruit fly, *A. fraterculus* และ Mediterranean fruit fly, *C. capitata* ด้วยวิธีกำจัดศัตรูพืชด้วยความเย็นดังต่อไปนี้ (1) อุณหภูมิตรงบริเวณกึ่งกลางผล 1.11 องศาเซลเซียส (34 องศาฟาเรนไฮต์) หรือต่ำกว่า นาน 15 วัน หรือมากกว่า หรือ (2) อุณหภูมิตรงบริเวณกึ่งกลางผล 1.67 องศาเซลเซียส (35 องศาฟาเรนไฮต์) หรือต่ำกว่า นาน 17 วัน หรือมากกว่า ซึ่งการกำจัดศัตรูพืชด้วยความเย็นสามารถดำเนินการได้ทั้งก่อนการส่งออกหรือระหว่างการขนส่ง และเงื่อนไขอื่น เช่น (1) ต้องมีใบอนุญาตนำเข้าซึ่งออกให้โดยกรมวิชาการเกษตร (2) องุ่นต้องมาจากแหล่งปลูก สวน โรงคัดบรรจุที่ได้ขึ้นทะเบียนและได้รับการรับรอง (3) ข้อกำหนดด้านบรรจุภัณฑ์ (4) ต้องมีใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาพร้อมสินค้าด้วยทุกครั้งนำเข้า เป็นต้น สำหรับการตรวจนำเข้าผลองุ่นสดนั้น จะดำเนินการหลังจากได้ตรวจสอบยืนยันความถูกต้องของเอกสารทั้งหมดที่แนบมาพร้อมกับสินค้า โดยเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชจะสุ่มตัวอย่างองุ่นและตรวจสอบเพื่อยืนยันว่ามีศัตรูพืชหรือไม่ถ้าตรวจพบศัตรูพืชมีชีวิตจะส่งตัวอย่างศัตรูพืชไปยังห้องปฏิบัติการเพื่อจำแนกชนิด และต้องกักองุ่นไว้จนกว่าจะทราบผลจากห้องปฏิบัติการ ในกรณีตรวจพบแมลงวันผลไม้ศัตรูพืชกักกันที่มีชีวิต องุ่นทั้งหมดต้องถูกส่งกลับหรือทำลาย ถ้าตรวจพบศัตรูพืชกักกันชนิดอื่น ๆ ที่มีชีวิตนอกเหนือจากแมลงวันผลไม้ องุ่นทั้งหมดจะถูก

ส่งกลับ ทำลาย หรือกำจัดศัตรูพืชเหล่านั้นด้วยวิธีที่เหมาะสม (ถ้ามีวิธีการกำจัด) นอกจากนี้กรมวิชาการเกษตรมีสิทธิสั่งให้ส่งอุนกลับหรือทำลายหากกรรมวิธีกำจัดศัตรูพืชกักกันด้วยความเย็นนั้นไม่สมบูรณ์

ประเทศไทยนำเข้าผลอุนสดจากประเทศเปรู เดือนธันวาคม 2554 ปริมาณ 129,888 กิโลกรัม เดือนมกราคม 2555 ปริมาณ 598,272 กิโลกรัม และเดือนกุมภาพันธ์ 2555 ปริมาณ 1,325,945 กิโลกรัม (กรมศุลกากร, 2555) สายพันธุ์สำคัญที่นำเข้า คือ Red Globe ซึ่งมาจากแหล่งปลูกที่สำคัญ ได้แก่ Ica และ Piura โดยเป็นสินค้าขนส่งทางน้ำ

2. การสุ่มผลอุนสดนำเข้าจากเปรูเพื่อตรวจสอบศัตรูพืชและผลการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืช

จากการสุ่มตัวอย่างพืช (สุ่มตรวจผลอุนสดจำนวน 450 พวง (หน่วย) หรือสุ่มตรวจผลอุนสดทั้งหมด ถ้าผลอุนสดนำเข้ามีจำนวนน้อยกว่า 1,000 พวง ถ้ามีผลอุนสดจำนวนเท่ากับหรือมากกว่า 1,000 พวง จะสุ่มตรวจผลอุนสดจำนวน 600 พวง) เพื่อตรวจสอบศัตรูพืช และสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ ที่ติดมากับพืชนำเข้า ณ ด่านตรวจพืชนำเข้า (ด่านตรวจพืชท่าเรือแหลมฉบัง และด่านตรวจพืชลาดกระบัง) นำศัตรูพืชที่พบจากการสุ่มตัวอย่างมาวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการ/พบว่าผลอุนสดที่นำเข้าจากประเทศเปรู มีศัตรูพืชและเชื้อราที่วินิจฉัยในเบื้องต้นพบว่าเป็นเพลี้ยแป้งและเชื้อราที่เกิดขึ้นภายหลังการเก็บเกี่ยวตามลำดับ ในการสุ่มตัวอย่างผลอุนสดนำเข้าจากเปรูช่วงเดือนเมษายน 2555 พบผลอุนสดมีลักษณะมีรอยแผล แตก ซ้ำ และพบตัวอ่อนของแมลงในรอยแผลดังกล่าวซึ่งไม่มีชีวิต และจากการตรวจสอบพบว่าเป็นตัวอ่อนของแมลงในวงศ์ดิบเทอรา (Diptera) นอกจากนี้ยังพบใยแมงมุมติดมากับพวงอุน ส่วนบรรจุภัณฑ์เป็นบรรจุภัณฑ์ที่ใหม่สะอาดและแข็งแรง ติดฉลากตามที่กำหนด บรรจุภัณฑ์ไม้หรือที่รองรับปฏิบัติตามมาตรฐาน ISPM No. 15 สำหรับข้อกำหนดการกำจัดศัตรูพืชด้วยความเย็นนั้น ในช่วงแรกที่มีการอนุญาตให้นำเข้าตามเงื่อนไขฉบับนี้ พบว่าการวางตำแหน่งถังวัดอุณหภูมิไม่เป็นไปตามข้อกำหนด แต่ปัจจุบันการกำจัดศัตรูพืชด้วยความเย็นได้ปฏิบัติตามเงื่อนไขที่กำหนด

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การนำเข้าผลอุนสดจากประเทศเปรูต้องปฏิบัติตาม หลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไขที่กำหนดตามประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าผลอุนสดจากสาธารณรัฐเปรู พ.ศ. 2553 โดยมีศัตรูพืชกักกันที่เกี่ยวข้อง จำนวน 10 ชนิด ได้แก่ *Anastrepha fraterculus*, *Ceratitis capitata*, *Macrosiphum euphorbiae*, *Parthenolecanium corni*, *Aspidiotus nerii*, *Selenaspis articulatus*, *Linepithema humile*, *Peridroma saucia*, *Spodoptera frugiperda* และ *Helix aspersa* ซึ่งกำหนดให้ดำเนินการกำจัดแมลงวันผลไม้ South American fruit fly, *Anastrepha fraterculus* และ Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* ด้วยวิธีกำจัดศัตรูพืชด้วยความเย็นตามอุณหภูมิที่กำหนดก่อนการส่งออกหรือระหว่างการขนส่ง โดยมีการนำเข้าสายพันธุ์ที่สำคัญ คือ Red Globe ซึ่งมาจากแหล่งปลูก ได้แก่ Ica และ Piura และจากการสุ่มตัวอย่างพบว่ามีศัตรูพืชและเชื้อราที่วินิจฉัยในเบื้องต้นพบว่าเป็นเพลี้ยแป้งและเชื้อราที่เกิดขึ้นภายหลัง

การเก็บเกี่ยวตามลำดับ นอกจากนี้ พบผลสดองุ่นมีลักษณะมีรอยแผล แตก ซ้ำ และพบตัวอ่อนของแมลงในรอยแผลดังกล่าวซึ่งไม่มีชีวิต และจากการตรวจสอบพบว่าเป็นตัวอ่อนของแมลงในวงศ์ดิวเทอรา (Diptera) ทั้งนี้ยังพบใยแมงมุมติดมากับพวงองุ่น ส่วนบรรจุภัณฑ์เป็นบรรจุภัณฑ์ที่ใหม่สะอาดและแข็งแรง ติดฉลากตามที่กำหนด บรรจุภัณฑ์ไม้หรือที่รองรับปฏิบัติตามมาตรฐาน ISPM No. 15 สำหรับข้อกำหนดการกำจัดศัตรูพืชด้วยความเย็นนั้น ในช่วงแรกที่มีการอนุญาตให้นำเข้าตามเงื่อนไขฉบับนี้ พบว่าการวางตำแหน่งถังวัดอุณหภูมิไม่เป็นไปตามข้อกำหนด แต่ปัจจุบันการกำจัดศัตรูพืชด้วยความเย็นได้ปฏิบัติตามเงื่อนไขที่กำหนด

เอกสารอ้างอิง

- กรมศุลกากร. 2555. รายงานสถิตินำเข้า-ส่งออก ประจำเดือน. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: [http://www.customs.go.th/wps/wcm/connect/Library+cus501th/InternetTH/11/\(1 สิงหาคม 2555\).](http://www.customs.go.th/wps/wcm/connect/Library+cus501th/InternetTH/11/(1%20สิงหาคม%202555).)
- “ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าผลองุ่นสดจากสาธารณรัฐเปรู พ.ศ. 2553” (2554, 7 มกราคม). ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 128 ตอนพิเศษ 1 ง. หน้า 5-11.
- “ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และ เงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550” (2550, 1 มิถุนายน). ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 124 ตอนพิเศษ 66 ง. หน้า 1-3.
- “พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507” (2507, 21 มีนาคม) ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 81 ตอนที่ 27 ฉบับพิเศษ หน้า 1-12.
- “พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542” (2542, 18 พฤษภาคม) ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 116 ตอนที่ 39 ก. หน้า 1-9.
- “พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551” (2551, 1 มีนาคม). ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 125 ตอนที่ 40 ก. หน้า 28-37.

สำรวจ รวบรวม พรรณไม้น้ำเพื่อการปกป้องไม้ท้องถิ่น Aquatic Plant Collection for Protection of Native Plant

ศิริพร ชั่งสนธิพร รัชชนก 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

บทนำ

พรรณไม้น้ำหรือพืชน้ำ (Aquatic plants) หมายถึงพืชที่อยู่ในน้ำโดยอาจจะจมอยู่ใต้น้ำทั้งหมด หรือ โผล่บางส่วนขึ้นมาอยู่เหนือน้ำ หรือเป็นพืชที่ขึ้นอยู่ตามริมน้ำ ชายตลิ่ง นอกจากนี้ก็ยังมีรวมถึงพืชที่เจริญเติบโตอยู่ในบริเวณที่ลุ่มน้ำขังหรือที่ชื้นแฉะอีกด้วยศิริพร (2544) รายงานว่าแวนแก้วใบหยัก (*Hydrocotyle leucocephala* Cham. & Schlecht.) ซึ่งเป็นไม้น้ำ นำเข้าจากต่างประเทศ มีจำหน่ายทั่วไปตามร้านค้าพรรณไม้มิถุนกำเนิดในอเมริกาใต้ เป็นพืชล้มลุกอายุข้ามปี ประเทศไทยเป็นประเทศในเขตร้อนซึ่งเป็นแหล่งกำเนิดพรรณไม้น้ำสวยงามที่นิยมหลายชนิดอีกทั้งภูมิประเทศของประเทศไทยมีความเหมาะสมสำหรับการแพร่ขยายพันธุ์ของพรรณไม้น้ำหลายชนิด พรรณไม้น้ำแบ่งออกตามลักษณะทางนิเวศน์ดังนี้

- พืชใต้น้ำ (submerge) เป็นพวกที่มีการเจริญเติบโตอยู่ใต้น้ำทั้งหมด อาจมีรากยึดเกาะกับดินใต้น้ำ หรือไม่ก็ได้ บางชนิดมีใบและต้นอยู่ใต้น้ำ มีเพียงส่วนดอกที่เมื่อบานที่ผิวน้ำ หรือพ้นผิวน้ำ เช่น สันตะวาใบพาย สันตะวาใบข้าว สาหร่ายหางกระรอก สาหร่ายข้าวเหนียว

- พืชโผล่เหนือน้ำ (emerged plants) เป็นพรรณไม้น้ำที่มีการเจริญเติบโตอยู่ใต้น้ำบางส่วน และเหนือน้ำบางส่วน โดยมีรากหรือทั้งรากและลำต้นเจริญอยู่ในดินใต้น้ำ ส่วนส่วนของใบและดอกขึ้นมาเจริญเหนือน้ำ เช่น บัวสาย บัวบา ผักตบเต่า

- พืชลอยน้ำ (floating plants) เป็นพวกที่เจริญลอยอยู่ที่ระดับน้ำ มีรากห้อยลอยอยู่ในน้ำ ส่วนต้น ใบและดอก เจริญปริ่มน้ำ หรือเหนือน้ำ รากอาจหยั่งหรือยึดพื้นดินใต้น้ำก็ได้ มีหลายชนิดที่ลอยเป็นอิสระในน้ำ เช่น ผักตบชวา จอก ผักกระเฉด แหน จอกหูหนู เป็นต้น

รหัสการทดลอง 03-11-54-02-00-03-03-54

- ไม้ชายน้ำ (marginal plants) เป็นไม้ที่มักขึ้นตามชายน้ำ ริมตลิ่ง ชายคลอง หนองน้ำ มักมีรากและลำต้นเจริญเติบโตอยู่ที่ดิน บางส่วนของต้น ใบ และดอกเจริญเหนือน้ำ เช่น ฐฤกษ์ โพลง ขาเขียด ผักตบไทย เตยหอม เป็นต้น

- ไม้หลายชนิด สามารถเจริญได้ทั้งบนบกและในน้ำ เช่น ผักแว่น ฐฤกษ์ ผักขี้ ไม้ยราบ ยักษ์ ผักกระเฉด เป็นต้น

การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อการศึกษาวิจัยมีวัตถุประสงค์เพื่อ สํารวจ และรวบรวมพรรณ ไม้ที่ต่างถิ่น และไม้ต่างถิ่น เพื่อหาแนวทางป้องกันไม่ให้พืชต่างถิ่นเหล่านั้น เจริญ แพร่พันธุ์ แทนที่ ไม้ที่ต่างถิ่น โดยการสำรวจ รวบรวม ตรวจสอบชนิดของไม้ที่ต่างถิ่น และหาทางนำมาใช้ประโยชน์ สำหรับไม้ที่ต่างถิ่น สํารวจ ตรวจสอบชนิด และหาทางป้องกันไม่ให้เป็นวัชพืชในแหล่งน้ำตาม ธรรมชาติ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- การสำรวจได้แก่ แผนที่ สมุดบันทึก กรรไกร ถุงพลาสติก ปากกาเขียนพลาสติก หรือ กระดาษป้ายชื่อ และกล้องถ่ายภาพ

- อุปกรณ์สำหรับปลูกพืชทดสอบและสารเคมี ได้แก่ กระจก ดิน ป้ายกำกับการทดลอง ปุ๋ย และสารเคมีกำจัดศัตรูพืช

- การจัดทำตัวอย่างแห้ง ได้แก่ แผงอัดพรรณไม้สำหรับจัดทำตัวอย่างแห้ง กระดาษฟูก กระดาษซับ ฟองน้ำสำหรับรองตัวอย่าง กระดาษติดตัวอย่างพรรณไม้พร้อมปก พร้อมกระดาษป้ายชื่อ

- สารเคมีสำหรับกันเชื้อราและแมลง ได้แก่ เมทานอล (Methanol) คลอโรฟอร์ม และเมอคิว รี คลอไรด์ พร้อมเครื่องแก้วต่างๆ ที่จำเป็น

- การตรวจสอบชนิดพืช ได้แก่ แวนชยายขนาด 10 เท่า กล้อง กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ แบบใช้แสง เข็มเขี่ย ปากคีบ หนังสือคู่มือการจำแนกพรรณไม้ต่างๆ

วิธีการ

สำรวจการแพร่กระจายของไม้ใน แหล่งน้ำตามธรรมชาติในภูมิภาคต่างๆ บันทึกพิกัด และ สภาพพื้นที่ หากไม่สามารถระบุชนิดได้ นำมาปลูกในเรือนทดลองของกลุ่มวิจัยวัชพืช เพื่อศึกษา รายละเอียดเพิ่มเติม ตรวจสอบชนิดโดยการเทียบกับตัวอย่างพืชแห้งของพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพ และ เอกสารด้านอนุกรมวิธานและคู่มือตรวจสอบชนิดพืชต่างๆ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

วัชพืชน้ำที่สำรวจและรวบรวมได้ มีทั้งที่เป็นพืชที่พบทั่วไป เช่น บอนจีน หรือตาลปัตรฤาษี (*Limnocharis flava* (L.) Buchenau) จอก (*Pistia stratiotes* L.) ซึ่งมีรูปร่างแตกต่างกันแบ่งเป็นสองกลุ่ม สันตะวาใบลอย (*Ottelia ovalifolia*) สันตะวาใบพาย (*Ottelia alismoides*) จากสภาพนิเวศที่แตกต่างกัน และมีลักษณะแตกต่างกัน เช่น ลักษณะใบ ลักษณะดอก สาหร่ายญี่ปุ่น (*Myriophyllum brasiliense*) ผักพาย (*Butomopsis latifolia* (D. Don) Kunth) บัวบา (*Nymphoides indicum* (L.) Kuntze) บัวบาเล็ก (*Nymphoides cristatum* (Roxb.) Grisebach) ผักคางไก่ (*Sagittaria guayanensis* Humb., Bonpl. & Kunth) เต่าเขียด หรือผักคางไก่ (*Sagittaria sagittifolia* L.) ซึ่งไม้น้ำเหล่านี้บางชนิดพบกระจายตัวน้อยมากในธรรมชาติ สภาพนิเวศน์ถูกทำลาย หรือถูกพืชที่มีความแข็งแรงสามารถแข่งขันได้ดีกว่าเข้าแทนที่ เช่น โพลง (*Monochloria elata*) ที่ถูกแทนที่ด้วยรูปฤาษี หรือการแพร่ระบาดของบัวบาเล็กอย่างรุนแรงในแม่น้ำแม่กลอง ส่วนเหนือเขื่อนแม่กลอง ทำให้ไม้น้ำอื่น เช่น ดิปริน้ำลดลง นอกจากนี้ยังพบพืชน้ำในกลุ่ม Liverwort ได้แก่ *Ricciocarpus natans* L. (ภาพที่ 1) ซึ่งเป็นพืชลอยน้ำ ในนาข้าวและแหล่งน้ำในจังหวัดลำพูนด้วย เป็นต้น



ภาพที่ 1 *Ricciocarpus natans* L.

เอกสารอ้างอิง

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

สัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชสกุลกก (*Cyperus* L.) Seed Morphology of Sedge (*Cyperus* L.)

ศิริพร ชิงสนธิพร รัชชนก จงรักไทย
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ความก้าวหน้า

การศึกษาสัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชสกุลกก รวบรวมกจากภูมิภาคต่างๆ ของประเทศไทยได้ทั้งสิ้น 40 ตัวอย่าง ตรวจสอบชนิดได้แล้ว 20 ชนิด และมีอีก 2 ชนิดที่ยังไม่สามารถระบุชนิดได้ รวบรวมเมล็ดจากต้นที่นำมาปลูกในบริเวณเรือนทดลองของกลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ได้ตัวอย่างเมล็ดทั้งสิ้น 15 ชนิด กกอายุฤดูเดียว ที่มีขนาดเล็กมาก เช่น กกกะหรี่ (*Cyperus squarrosus* L.) ซึ่งเป็นพืชที่มักขึ้นในที่ชุ่มชื้น มีขนาดต้นเล็กเมื่อเทียบกับชนิดอื่นสามารถทนแล้งได้ แต่โตสภาพแห้งแล้งจะมีขนาดต้นเล็กมาก มีความสูงต้นประมาณ 3 เซนติเมตร เก็บตัวอย่างเมล็ดได้น้อยมาก เมล็ดวัชพืชสกุลกกส่วนใหญ่มีขนาดเล็กมาก และหลุดร่วงไปเมื่อแก่ รูปร่างเป็นเหลี่ยม ผิวเรียบ-เป็นมัน อยู่ระหว่างการศึกษาสัณฐานวิทยา และตรวจสอบชนิดที่ยังไม่สามารถระบุชนิดได้

บทนำ

David and Koyama (1998) รายงานว่ามีพืชในสกุล *Cyperus* ในประเทศไทย มีจำนวน 47 ชนิด แต่ไม่มีชนิดใดเป็นพืชประจำถิ่นหรือท้องถิ่นของไทยเลย แต่ในชื่อพรรณไม้แหล่งประเทศไทย เต็มสมิตตินันท์ (2544) ระบุมีทั้งสิ้น 48 ชนิด คือ กกเหลี่ยม *Cyperus babakan* Steud. กกโป่ง *Cyperus castaneus* Willd. กกลอยแพ *Cyperus cephalotes* Vahl หญ้าใบคม *Cyperus compactus* Retz. กกดอกแบน *Cyperus compressus* L. กกसानเสื่อ กกจันทบุรี *Cyperus corymbosus* Rottb. กกริงกาป่า *Cyperus cuspidatus* Kunth หญ้าเหลี่ยม *Cyperus cyperinus* (Retz.) J.V.Suringar หญ้ารังกา กกทางกระรอก กกสามเหลี่ยม *Cyperus cyperoides* (L.) Kuntze กกขนาก กกกระหนาก *Cyperus difformis* L. กกริงกา กกดอกแดง หญ้ารังกา *Cyperus digitatus* Roxb. กกดอกหญ้า *Cyperus distans* L.f. หัวหมูหิน หญ้าหัวหงอก *Cyperus dubius* Rottb. กกกระจาย *Cyperus elatus* L. กก *Cyperus exaltatus* Retz. กกนา กกแดง *Cyperus haspan* L. กกกระโดง *Cyperus helferi* Boeck. กก กกสามเหลี่ยมเล็ก กกสามเหลี่ยม *Cyperus imbricatus* Retz. กกริงกา หญ้ากก *Cyperus involuvaratus* Rottb. หญ้ารังกาขาว กกหัวแดง หญ้าหัวแดง *Cyperus iria* L. กกกะแปด กกดอกกลม *Cyperus javanicus* Houtt. หญ้าตีนกา *Cyperus laxus*

รหัสการทดลอง 03-11-54-02-00-02-03-54

Lam. หญ้าแฝกไหม หญ้าหางก้าน้อย หัวหมูป่า *Cyperus leucocephalus* Retz. หญ้าสามเหลี่ยม *Cyperus malaccensis* Lam. กกระบาด *Cyperus michelianus* (L.) Link กกหัวหมู *Cyperus mitis* Steud. กกโมลี *Cyperus mollipes* (C.B.Clarke)K.Schum. หญ้าขึ้นเหลือง *Cyperus niveus* Retz. กกช้อ *Cyperus nutans* Vahl กกขจร *Cyperus odoratus* L. กกโอวี *Cyperus ohwii* Kuk กกพานี้ *Cyperus paniceus* (Rottb.) Boeck. กกอีลิปต์ *Cyperus papyrus* L. กกช่อดอกขน *Cyperus pilosus* Vahl กกรังก้าน้อย *Cyperus platystylis* R.Br. หญ้าตะกรับ กกตะกรับ *Cyperus procerus* Rottb. กกเล็ก หญ้าฮังกา หัวหมูนา *Cyperus pulcherrimus* Willd. & Kunth กกลำซ้อไน *Cyperus radians* Nees & Meyen ex Kunth หญ้าหัวหมู หญ้าขนหมู หญ้ามะนึ่งหมู *Cyperus rotundus* L. กกปี *Cyperus sphacelatus* Rottb. กกกะหรี *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 หญ้าสามเหลี่ยม หญ้าคบบาง กกใบแบน *Cyperus trialatus* (Boeck.) Kern และ หัวไทย มะนิ่ว หัวจีน *Cyperus esculentus* L. ซึ่งชนิดสุดท้ายนี้เป็นพืชต่างถิ่นหรือพืชที่มาจากต่างประเทศ ซึ่งไม่พบรายชื่อในรายงานของ David and Koyama (1998) พืชสกุลนี้มีการนำมาใช้ประโยชน์ต่างๆ กัน เช่น สานเสื่อ (*C. corymbosus* Rottb.) (สุชาติ, 2542) นอกจากนี้ยังใช้เป็นสมุนไพรได้ด้วย เช่น หญ้าหัวหมู 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 กระจก ดิน ป้ายกำกับการทดลอง ปุ๋ย และสารเคมีกำจัดศัตรูพืช
- การจัดทำตัวอย่างแห้ง ได้แก่ แผงอัดพรรณไม้สำหรับจัดทำตัวอย่างแห้ง กระจกฟูก กระจกซับ ฟองน้ำสำหรับรองตัวอย่าง กระจกติดตัวอย่างพรรณไม้พร้อมปก พร้อมกระดาษป้ายชื่อ
- สารเคมีสำหรับกันเชื้อราและแมลง ได้แก่ เมทานอล (Methanol) คลอโรฟอร์ม และเมอคิวรี คลอไรด์ พร้อมเครื่องแก้วต่างๆ ที่จำเป็น
- การตรวจสอบชนิดพืช ได้แก่ แวนชยายขนาด 10 เท่า กล้อง กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ เข็มเขี่ย ปากคีบ หนังสือคู่มือการจำแนกพรรณไม้ต่างๆ

วิธีการ

1. **สำรวจการแพร่กระจายของพืชในสกุลกก** ในพื้นที่ต่างๆ เมื่อพบจุดบันทึกพิกัด และสภาพพื้นที่ เก็บตัวอย่างเพื่อจัดทำตัวอย่างแห้ง และอีกส่วนนำมาปลูกในเรือนทดลองของกลุ่มวิจัยวัชพืช เพื่อศึกษารายละเอียดลักษณะพืชและเก็บเมล็ด ตรวจสอบชนิดโดยการเทียบกับตัวอย่างพืชแห้งของพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพฯ และเอกสารด้านอนุกรมวิธานและคู่มือตรวจสอบชนิดพืชต่างๆ
2. **การศึกษาสัณฐานวิทยาของพืชสกุลกก** เก็บรวบรวมเมล็ด นำมาทำความสะอาด และเลือกเฉพาะเมล็ดสมบูรณ์เพื่อศึกษาสัณฐานวิทยาของเมล็ด เช่น รูปร่าง ขนาด สีผิวเมล็ด/ผล ลักษณะลวดลายผิว ตำแหน่งช่องเปิดบนเมล็ด ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ และเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพของแต่ละชนิด เพื่อจัดทำคู่มือการจำแนกชนิดจากเมล็ดต่อไป แต่กบางชนิดที่เป็นกออายุฤดูเดียว และมีขนาดเล็กมาก ได้แก่ กกกะหรี (*Cyperus squarrosus* L.) รวบรวมเมล็ดได้จำนวนน้อยมาก เป็นพืชที่มักขึ้นในที่ชุ่มชื้น มีขนาดต้นเล็กเมื่อเทียบกับชนิดอื่น สามารถทนแล้งได้แต่โตสภาพแห้งแล้งจะมีขนาดต้นเล็กมาก มีความสูงต้นประมาณ 3 เซนติเมตร เก็บตัวอย่างเมล็ดได้น้อยมาก เมล็ดวัชพืชสกุลกกส่วนใหญ่มีขนาดเล็กมาก และหลุดร่วงไปเมื่อแก่ รูปร่างเป็นเหลี่ยม ผิวเรียบ-เป็นมัน

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. **การรวบรวมกก** การสำรวจ และรวบรวมพืชสกุลกก จากพื้นที่ต่างๆ และนำตัวอย่างสดมาปลูกรวบรวมที่กลุ่มวิจัยวัชพืชแล้ว จำนวน 40 ตัวอย่าง เป็นกก 20 ชนิด ได้แก่
 - กก กกสามเหลี่ยมเล็ก กกสามเหลี่ยม *Cyperus imbricatus* Retz.

- กกกะแปก กกดอกกลม *Cyperus javanicus* Houtt.
- กกกะหรี *Cyperus squarrosus* L.
- กกขนาก กกกระหนาก *Cyperus difformis* L.
- กกช่อดอกขน *Cyperus pilosus* Vahl
- กกดอกแบน *Cyperus compressus* L.
- กกดอกหญ้า *Cyperus distans* L.f.
- กกตีนกา *Cyperus laxus* Lam.
- กกนา กกแดง *Cyperus haspan* L.
- กกรงกา กกดอกแดง หญ้ารงกา *Cyperus digitatus* Roxb.
- กกรงกาป่า *Cyperus cuspidatus* Kunth
- กกลอยแพ *Cyperus cephalotes* Vahl
- กกसानเสื่อ กกจันทบุรี *Cyperus corymbosus* Rottb.
- กกอีลิปต์ *Cyperus papyrus* L.
- หญ้าตะกรับ กกตะกรับ *Cyperus procerus* Rottb.
- หญ้าใบคม *Cyperus compactus* Retz.
- หญ้ารงกา กกหางกระรอก กกสามเหลี่ยม *Cyperus cyperoides* (L.) Kuntze
- หญ้ารงกาขาว กกหัวแดง หญ้าหัวแดง *Cyperus iria* L.
- หญ้าแห้วหมู หญ้าขนหมู หญ้ามะนิงหมู *Cyperus rotundus* L.
- แห้วหมูหิน หญ้าหัวหงอก *Cyperus dubius* Rottb.

นอกจากนี้ยังมีอีกสองชนิดที่ยังไม่สามารถระบุชื่อได้

2. สันฐานวิทยาของเมล็ดพืชสกุลกก รวบรวมเมล็ดได้จากตัวอย่างที่นำมาปลูก ณ กลุ่มวิจัย วัชพืช ได้แล้วทั้งสิ้น 15 ชนิด ซึ่งส่วนใหญ่เป็นกกที่มีอายุหลายปี สำหรับกกอายุฤดูเดียว มีขนาดต้น เล็กมาก พบในสภาพที่ชื้นแฉะ ต้องนำมาปลูกเพื่อเก็บเมล็ด แต่มีการขยายพันธุ์ต่ำมาก ทำให้ได้ ปริมาณเมล็ดน้อยมาก เมล็ดกส่วนใหญ่มีขนาดเล็กมาก เป็นเหลี่ยม ผิวเรียบ อยู่ระหว่างการศึกษา สันฐานเพิ่มเติม

เอกสารอ้างอิง

สุชาติดา 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 o Thailand* Vol. 6(4): pp.247-485.

คำนำ

ประเทศไทยเป็นแหล่งผลิตข้าวโพดที่สำคัญของภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มีพื้นที่ปลูกประมาณ 7 ล้านไร่ ในปี 2547 มีปริมาณการส่งออกข้าวโพด 871,791 ตันต่อปี มูลค่าการส่งออกประมาณ 4,651 ล้านบาท (ที่มา: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร) ปัจจุบันประเทศไทยประสบปัญหาการส่งออกเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเนื่องจากประเทศปลายทางตรวจพบ แบคทีเรีย *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* ศัตรูกักกันพืชของประเทศปลายทาง แต่จากรายงานของ ญัฐริมา *et al.* (2551) ที่ทำการสำรวจพื้นที่ปลูกข้าวโพดเพื่อส่งออก ยังไม่พบแบคทีเรีย *P. stewartii* subsp. *stewartii* และ จุฑาทเทพ (2550) ได้ศึกษาโรคเหี่ยวของข้าวโพดในประเทศไทย พบว่าแบคทีเรียที่แยกได้จากข้าวโพดในประเทศไทยที่มีอาการใบชดสีน้ำตาล ขอบหยักคล้ายอาการของโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อ *P. stewartii* subsp. *stewartii* เมื่อนำมาจำแนกตามวิธีการมาตรฐานของ EPPO โดย เปรียบเทียบกับแบคทีเรีย *P. stewartii* subsp. *stewartii* สายพันธุ์ LMG2715 มาตรฐาน พบว่าแบคทีเรียที่แยกได้ทั้งหมดไม่ใช่แบคทีเรีย *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* ครั้งแรกที่ประเทศเม็กซิโก จากการศึกษาพบว่าแบคทีเรีย *P. agglomerans* มีความใกล้เคียงกับแบคทีเรีย *P. stewartii* subsp. *stewartii* มาก และประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดข้าวโพดมีมูลค่านำเข้า เพื่อการบริโภคและเพื่อใช้เป็นพ่อพันธุ์แม่พันธุ์ เพื่อการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสม สำหรับใช้ในประเทศและส่งออก ทำให้มีความเสี่ยงในการเป็นเส้นทาง (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 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ 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 ตรวจสอบแบบตัวอักษร W ซ้าย ตามวิธีของ Delp et.al. (1986) ทำการสุ่มตรวจทุกเดือน
4. วิธีการตรวจวินิจฉัยโรคเหี่ยวของข้าวโพดในแปลงปลูก จัดทำรูปภาพลักษณะอาการของโรคทุกระยะของพืชจัดทำเป็นคู่มือในการสำรวจ เมื่อออกสำรวจให้สังเกตจากลักษณะอาการของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือ และบันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป เก็บตัวอย่างโรคที่พบใส่ถุงหรือภาชนะที่ใช้เก็บตัวอย่างพร้อมเขียนรายละเอียดกำกับ ให้นำกลับมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันผล
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* ในพื้นที่สำรวจ และในเวลาที่กำหนด ดำเนินการโดยตรวจเอกสารข้อมูลของเชื้อแบคทีเรีย และลักษณะอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *P. agglomerans* ที่พบในข้าวโพด ข้อมูลการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดจากแหล่งผลิตที่มีการแพร่ระบาดของเชื้อ *P. agglomerans* หาแหล่งปลูกข้าวโพดพร้อมทั้งวางแผนการสำรวจโรค ทำการสำรวจเก็บตัวอย่างเมล็ดพันธุ์และลักษณะอาการใบไหม้ จากจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ตาก ราชบุรี กาญจนบุรี และนครราชสีมา จำนวน 47 ตัวอย่าง นำมาตรวจในห้องปฏิบัติการเพื่อแยกเชื้อ *P. agglomerans* ผลการตรวจ พบว่าแบคทีเรียทั้งหมดไม่ใช่แบคทีเรีย *P. agglomerans*

เอกสารอ้างอิง

จุฑาทาเทพ วัชรไชยคุปต์. 2550. การศึกษาโรคเหี่ยวจากแบคทีเรียของข้าวโพดในประเทศไทย.

วิทยานิพนธ์ปริญญาเอก. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ณัฐธิมา โฆษิตเจริญกุล พิระวรรณ พัฒนวิภาส ณัฐฐพร อุทัยมงคล และ ชลธิชา รักใคร่. 2551.

การเฝ้าระวังการเกิดและการแพร่กระจายของแบคทีเรีย *Pantoea stewartii* . รายงาน

ผลการวิจัยประจำปี 2551 . กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช . (อยู่ระหว่างการตีพิมพ์)

พัฒนา สนธิรัตน์ ประไพศรี พิทักษ์ไพรวรรณ ธนวัฒน์ กำแพงฤทธิรงค์ วิรัช ชูบำรุง และอุบล คือประโคน.

2537. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย. กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 285 หน้า.

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

เทคโนโลยีการป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้โดยวิธีผสมผสานในมะม่วง

Integrated Control on Fruit fly in Mango

เกรียงไกร จำเริญมา^{1/}ศรุต สุทธิอารมณ^{2/}วิภาดา ปลอดภัยบุรี^{2/}วนาพร วงษ์นิคัง^{2/}วิมลวรรณ โชติวงศ์^{1/}^{1/}กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช^{2/}กลุ่มบริหารศัตรูพืช

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้โดยวิธีผสมผสานในมะม่วง ทำการศึกษาระหว่างเดือนตุลาคม 2553 – กันยายน 2554 ที่สวนมะม่วงจังหวัดสุพรรณบุรี โดยเปรียบเทียบระหว่างแปลงพ่นสารสกัดสะเดา น้ำมันปิโตรเลียม ท่อผล กับแปลงที่ไม่ทำการป้องกันกำจัด โดยการท่อผลและการพ่นสารสกัดสะเดาและน้ำมันปิโตรเลียม เริ่มดำเนินการทดลองเมื่อผลมะม่วงอายุ 45 วัน จนถึงเก็บเกี่ยว สุ่มเก็บเกี่ยวแปลงละ 250 ผล ซึ่งน้ำหนักผล ตรวจนับผลที่ถูกทำลาย แยกไปเก็บในห้องปฏิบัติการ ตรวจเช็คจำนวนตัวหนอน ตัวเต็มวัย และจำแนกชนิดแมลงวันผลไม้ ผลการศึกษา พบว่า การท่อผลไม่มีการทำลายของแมลงวันผลไม้เลย น้ำหนักผลเฉลี่ย 287.63 กรัม/ผล ขณะที่พ่นสารสกัดสะเดาผลมะม่วงถูกแมลงวันผลไม้ทำลาย 1.35% พบทั้ง *Bactrocera dorsalis* และ *B. correcta* โดย 90% เป็น *B. dorsalis* และ 10% เป็น *B. correcta* ส่วนผลมะม่วงมีน้ำหนักเฉลี่ย 291.18 กรัม/ผล ส่วนแปลงที่พ่นน้ำมันปิโตรเลียมผลมะม่วงถูกแมลงวันผลไม้ทำลาย 2.22% ทั้งหมดเป็นการทำลายของ *B. dorsalis* ผลมะม่วงมีน้ำหนักเฉลี่ย 287.96 กรัม/ผล สำหรับแปลงเปรียบเทียบซึ่งไม่มีการท่อผลและไม่พ่นสารทุกชนิด พบ ผลมะม่วงถูกทำลาย 2.78% โดย 88.77% เป็นการทำลายของ *B. dorsalis* และ 11.23% เป็น *B. correcta* ผลมีน้ำหนักเฉลี่ย 301.96 กรัม/ผล

ระหว่างเดือนตุลาคม 2554 – กันยายน 2555 ทำการศึกษาในสวนมะม่วง จังหวัดนครราชสีมา โดยทดสอบสารชักนำให้เป็นหมันเพื่อนำมาใช้ร่วมกับการท่อผล การพ่นสารสกัดสะเดาหรือการพ่นน้ำมันปิโตรเลียม โดยใช้สาร lufenuron 3000 ppm ผสมอาหารใส่ภาชนะ แขนงเป็นจุดๆ 8 จุดต่อไร่ ให้ตัวเต็มวัยกิน พบว่า ปริมาณตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้ลดลงตามลำดับ การใช้สารชักนำให้เป็นหมันน่าจะเป็นวิธีการลดปริมาณประชากรของแมลงวันผลไม้ที่ดี ซึ่งสามารถนำมาใช้ร่วมกับวิธีการอื่นๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

รหัสการทดลอง 01-25-54-02-00-00-02-54

คำนำ

แมลงวันผลไม้ เป็นแมลงศัตรูสำคัญของไม้ผลเกือบทุกชนิดในประเทศไทย มีพืชอาศัยเป็นจำนวนมาก โดยเฉพาะผลไม้ที่มีเปลือกบางและอ่อนนุ่ม เช่น ชมพู่ ฝรั่ง มะม่วง พุทรา กระท้อน มะเฟือง และน้อยหน่า เป็นต้น (มนตรี, 2544) เนื่องจากมีพืชอาหารเป็นจำนวนมาก แมลงวันผลไม้จึงสามารถแพร่ขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณในพืชอาศัยต่างๆ ในท้องถิ่นได้ตลอดปี โดยเฉพาะในช่วงฤดูร้อน เป็นช่วงที่ผลไม้ทยอยเก็บเกี่ยวติดต่อกันและเป็นช่วงที่แมลงวันผลไม้ระบาดรุนแรง จึงเป็นปัญหาอย่างมากในการป้องกันกำจัด เพราะการป้องกันกำจัดโดยพ่นสารฆ่าแมลงจะไม่ประสบความสำเร็จเหมือนการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชชนิดอื่นๆ

การทำลายของแมลงวันผลไม้เกิดจากตัวเต็มวัยเพศเมียใช้อวัยวะวางไข่แทงลงไปบนผลไม้สุกหรือห่าม วางไข่เป็นฟองเดี่ยวๆ หรือเป็นกลุ่ม ลึกจากผิวผลไม้ประมาณ 2.00 - 5.00 มิลลิเมตร ไข่ฟักเป็นตัวหนอนรูปร่างหัวแหลมท้ายป้าน เจาะไซกินเนื้อของผลไม้ตั้งแต่เริ่มฟักจากไข่ ทำให้ผลไม้เน่าและร่วงหล่นในที่สุด การทำลายอาจรุนแรงมากถึง 100% (มนตรี, 2542) ถ้าไม่มีการป้องกันกำจัด

มะม่วง เป็นผลไม้เมืองร้อนที่มีพื้นที่ปลูกกระจายอยู่ทั่วไป เนื่องจากเป็นผลไม้ที่ปลูกง่าย ทนต่อสภาพดินฟ้าอากาศ เจริญเติบโตเร็ว แข็งแรง ขึ้นได้ในดินแทบทุกชนิด ส่วนใหญ่นิยมปลูกเป็นผลไม้ประจำบ้านหรือสวนหลังบ้าน ปัจจุบันมะม่วงเป็นพืชที่ได้รับการสนับสนุนให้ปลูกเป็นไม้ผลส่งออกที่สำคัญชนิดหนึ่ง และกำลังเป็นที่นิยมของตลาดต่างประเทศ จึงเป็นแรงจูงใจให้มีการปลูกมากขึ้น แต่การผลิตมะม่วงก็มีปัญหาเกี่ยวกับการเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้ ชนิด *Bactrocera dorsalis* และ *B. correcta* โดยเฉพาะการผลิตมะม่วงส่งออก ถึงแม้จะมีวิธีการป้องกันกำจัดหลายวิธี เช่น การดูแลรักษาแปลงปลูก การห่อผล การพ่นสารฆ่าแมลง แต่การป้องกันกำจัดด้วยวิธีต่างๆ ดังกล่าวยังไม่สามารถควบคุมการระบาดของแมลงวันผลไม้ได้ทั้งหมด การป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้โดยวิธีผสมผสานจึงเป็นแนวทางที่เหมาะสมสำหรับนำมาใช้ป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้ ต่อไป

ปัจจุบันมีการนำสารยับยั้งการลอกคราบ (insect growth regulators) มาใช้เป็นสารชักนำให้แมลงเป็นหมัน โดยนำสารดังกล่าวผสมอาหารให้แมลงกิน โดยเฉพาะใช้สำหรับควบคุมปริมาณประชากรของแมลงวันผลไม้ ไข่ของตัวแม่ซึ่งกินสารยับยั้งการลอกคราบ หรือไข่ของตัวแม่ซึ่งผสมพันธุ์กับตัวผู้ที่กินสารดังกล่าว จะมีอัตราการฟักที่ลดลง (Bachrouch et al. 2008) ซึ่งสารยับยั้งการลอกคราบเป็นกลุ่มของสารประกอบที่ทำงานใน 3 รูปแบบ คือ

1. ยับยั้งการสร้าง chitin ทำหน้าที่ในรูปของเอ็นไซม์ควบคุมขบวนการลอกคราบ
2. เป็น juvenile hormone ซึ่งจะไปรบกวนขบวนการพัฒนาของระยะไข่และระยะดักแด้
3. เป็นตัวเร่งขบวนการลอกคราบให้เร็วขึ้น

สาร Lufenuron เป็น IGR ชนิดหนึ่ง ซึ่งมีการนำมาใช้ในสภาพสวน เพื่อยับยั้งการลอกคราบสำหรับควบคุมแมลงวันผลไม้ *Ceratitis capitata* และพบว่า ให้ผลดีในการควบคุมประชากรแมลงวันผลไม้ ดังกล่าว โดยสาร Lufenuron ไปรบกวนระบบสืบพันธุ์และยับยั้งการฟักของไข่ได้อย่างดี

(Casana – Ginedr et al, 1999 ; Licudine et al, 2001 ; Liquido et al, 1991 ; Wendell and Ruth, 1964) มีทดสอบประสิทธิภาพของสาร Spinosad, Lufenuron และ Malathion ในการควบคุม olive fruit fly (*Bactrocera oleae*) พบว่า สาร Lufenuron สามารถทำให้ประชากรของแมลงวันผลไม้ olive fruit fly ลดลง เฉลี่ย 80.50% ขณะที่ผลมะกอกถูกทำลายลดลง 64.5% ส่วน Navarro – Llopis et al, 2004 ได้ทดสอบสาร Lufenuron ในรูปของสารชักนำให้เกิดการเป็นหมันกับแมลงวันผลไม้ *Ceratitis capitata* ในห้องปฏิบัติการ พบว่า สารชนิดนี้สามารถป้องกันการฟักของไข่ภายหลังจากให้ตัวเต็มวัยกินอาหารที่ผสม Lufenuron ส่วนการทดสอบในสภาพไร้ได้ทำการศึกษาดูติดต่อกัน 3 ปี โดยผสมสาร Lufenuron กับอาหารตัวเต็มวัยในรูป bait gel แขนงในสวนอัตรา 24 จุดต่อเฮกเตอร์ พบว่า ประชากรแมลงวันผลไม้ลดลง 19.0, 32.9 และ 50.1% ในปีที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ

การนำสารยับยั้งการลอกคราบมาชักนำให้เกิดการเป็นหมัน โดยผสมในเหยื่ออาหารให้แมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยกิน ซึ่งตัวเต็มวัยจะไม่ตายแต่จะทำให้เป็นหมัน เมื่อแมลงวันผลไม้ที่กินสารไปผสมพันธุ์กับแมลงปกติ ก็จะขยายความเป็นหมันเป็นวงกว้างขึ้นเรื่อยๆ เป็นแนวทางในการลดประชากรแมลงวันผลไม้ได้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- สารสกัดสะเดา น้ำมันปิโตรเลียม และสาร lufenuron 5% EC
- ฤกษ์กระดาษสีน้ำตาลใช้ห่อผลมะม่วง
- ถังพ่นสารฆ่าแมลงแบบสูบลอยสะพายหลัง
- อาหาร สำหรับตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ ได้แก่ บีเวอร์อีสต์ : น้ำตาลไอซ์ซิ่ง อัตรา 3 : 7
- ภาชนะทรงกระบอกแบน ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 เซนติเมตร
- กีบดัก Steiner
- สาร methyl eugenol
- กล้องจุลทรรศน์

วิธีดำเนินการ

1. การศึกษาระหว่างเดือนตุลาคม 2553 – กันยายน 2554

ในการศึกษาจะเปรียบเทียบระหว่างแปลงควบคุมแมลงวันผลไม้โดยวิธีผสมผสานกับแปลงเกษตรกร โดยแปลงป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้ในมะม่วงแบบผสมผสาน จะพ่นสารสกัดสะเดาสลับกับการพ่นน้ำมันปิโตรเลียม เริ่มเมื่อผลอายุ 45 วัน สัปดาห์ละครั้งจนผลอายุ 65 วัน จึงใช้ฤกษ์กระดาษห่อผลจนถึงเก็บเกี่ยว เปรียบเทียบกับแปลงซึ่งเกษตรกรดูแลรักษาเอง เนื่องจากได้รับงบประมาณน้อยและเป็นการศึกษาในปีแรก จึงทำการศึกษาประสิทธิภาพของเทคโนโลยีเดี่ยวๆ ก่อน ได้แก่ การพ่นสารสกัดสะเดา การพ่นน้ำมันปิโตรเลียม และการห่อผล เปรียบเทียบกับการไม่ห่อผลและไม่พ่นสาร ใน

แปลงขนาด 5 x 20 ตารางเมตร เก็บเกี่ยวผลผลิตแปลงละไม่น้อยกว่า 250 ผล ชั่งน้ำหนัก ตรวจสอบเช็ค การเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้ นำผลไม้ที่ถูกทำลายไปศึกษาต่อในห้องปฏิบัติการ ตรวจสอบจำแนกชนิด และนับจำนวนแมลงวันผลไม้ ตามกรรมวิธี คือ

1. ห่อผล ตั้งแต่ผลอายุ 45 วัน ถึงเก็บเกี่ยวด้วยถุงกระดาษสีน้ำตาล
2. พ่นสารสกัดสะเดา (สะเดาไทย) อัตรา 125 มล./น้ำ 10 ลิตร ตั้งแต่ผลอายุ 45 วัน ถึงเก็บเกี่ยว สัปดาห์ละครั้ง
3. พ่นน้ำมันปิโตรเลียม (SK99 83.9%) อัตรา 0.5% (50 มล./น้ำ 10 ลิตร) ตั้งแต่ผลอายุ 45 วัน ถึงเก็บเกี่ยว สัปดาห์ละครั้ง
4. แปลงเปรียบเทียบ (ไม่ห่อผลและไม่พ่นสารฆ่าแมลง)

2. การศึกษาระหว่างเดือนตุลาคม 2554 – กันยายน 2555

ศึกษาในสวนมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ ที่จังหวัดนครราชสีมา โดยเลือกสวนมะม่วง ขนาด 10 – 20 ไร่ จำนวน 2 สวน ห่างกันประมาณ 20 ไร่ เมื่อมะม่วงเริ่มออกดอก ติดผล ทำการประเมินประชากรแมลงวันผลไม้ โดยใช้กับดัก Steiner trap โดยใช้สาร methyl eugenol เป็นตัวดึงดูด จำนวน 1 กับดักต่อไร่ บันทึกรายวัน และชนิดของแมลงวันผลไม้ที่ติดกับดักทุกๆ 1 – 3 สัปดาห์ ขณะเดียวกันจะติดตั้งภาชนะทรงกระบอกแบนสีเหลืองบรรจุอาหารตัวเต็มวัยผสมสาร lufenuron 3000 ppm สำหรับทดสอบในรูปแบบ bait จำนวน 8 จุดต่อไร่ และเปลี่ยนใหม่ทุกๆ 1 เดือน บันทึกรายวันปริมาณประชากรแมลงวันผลไม้ ซึ่งตรวจนับจากตัวเต็มวัยที่ติดกับดัก Steiner trap ทุกๆ 1 – 3 สัปดาห์ และนำไปหาค่าเฉลี่ย ในระยะเก็บเกี่ยวจะเก็บเกี่ยวผลมะม่วงแปลงละ 200 ผลจาก 10 ต้น บริเวณกลางๆ สวน โดยเก็บ 20 ผลต่อต้น ประเมินเปอร์เซ็นต์การทำลายของแมลงวันผลไม้

เวลาและสถานที่

ศึกษาที่สวนเกษตรกร จังหวัดสุพรรณบุรี และจังหวัดนครราชสีมา และห้องปฏิบัติการกลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 – กันยายน 2555

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การศึกษาระหว่างเดือนตุลาคม 2553 – กันยายน 2554

ทำการเก็บเกี่ยวผลผลิตขณะผลยังดิบ พบ การเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้ค่อนข้างน้อย ดังนี้

การห่อผลไม้ไม่มีการทำลายของแมลงวันผลไม้ และผลที่ได้มีน้ำหนักผลเฉลี่ย 287.63 กรัม/ผล

การพ่นสารสกัดสะเดา ผลมะม่วงถูกแมลงวันผลไม้ทำลาย 1.35% จากการจำแนกชนิดพบ ทั้ง *Bactrocera dorsalis* และ *B. correcta* โดยพบ *B. dorsalis* 90% และ *B. correcta* 10% ผลมะม่วงที่ได้มีน้ำหนักเฉลี่ย 291.18 กรัม/ผล

การพ่นน้ำมันปิโตรเลียม ผลมะม่วงถูกแมลงวันผลไม้ทำลาย 2.22% ทั้งหมดเป็น *B. dorsalis* ผลมะม่วงที่ได้มีน้ำหนักเฉลี่ย 287.96 กรัม/ผล

แปลงเปรียบเทียบ ผลมะม่วงถูกแมลงวันผลไม้ทำลาย 2.78% พบทั้ง *B. dorsalis* และ *B. correcta* โดยพบ *B. dorsalis* 88.77% และ *B. correcta* 11.23% ผลมีน้ำหนักเฉลี่ย 301.96 กรัม/ผล (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 แสดงค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ผลมะม่วงที่ถูกทำลาย น้ำหนักผล รวมทั้งชนิดและปริมาณของแมลงวันผลไม้ที่ตรวจเช็คจากผลที่ถูกทำลาย (ตุลาคม 2553 – กันยายน 2554)

กรรมวิธี	% ผลถูกทำลาย (%)	น้ำหนักผล (กรัม/ผล)	ชนิดและปริมาณแมลงวันผลไม้	
			<i>B. dorsalis</i>	<i>B. correcta</i>
ห่อผล	0	287.63	-	-
พ่นสารสกัดสะเดา	1.35	291.18	90%	10%
พ่นน้ำมันปิโตรเลียม	2.22	287.96	100%	-
Control	2.78	301.96	88.77%	11.23%

2. การศึกษาระหว่างเดือนตุลาคม 2554 – กันยายน 2555

ทำการศึกษาในสวนมะม่วง จังหวัดนครราชสีมา จำนวน 2 แปลง

แปลงที่ 1 ตลอดช่วงการทดลอง ระหว่าง 22 มีนาคม – 6 กันยายน 2555 พบ อัตราส่วนของแมลงวันผลไม้ ชนิด *B. dorsalis* เฉลี่ยตลอดการทดลอง เป็น 92.97% ขณะที่พบชนิด *B. correcta* จำนวน 1.84% เมื่อพิจารณาถึงปริมาณแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* และ *B. correcta* ติดกับดักในช่วงเวลาต่างๆ พบว่า ในแปลงที่วางเหยื่อผสม lufenuron 3000 ppm ปริมาณแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ลดลงตามลำดับ คือ พบปริมาณสูงสุด 46.95 ตัว/กับดัก/วัน ในวันที่ 3 เมษายน 2555 ลดลงเหลือ 9.74 ตัว/กับดัก/วัน ในวันที่ 6 กันยายน 2555 (ตารางที่ 2 และภาพที่ 1)

แปลงที่ 2 ตลอดช่วงการทดลอง ระหว่าง 22 มีนาคม – 6 กันยายน 2555 พบ อัตราส่วนของแมลงวันผลไม้ ชนิด *B. dorsalis* เฉลี่ยตลอดช่วงการทดลอง เป็น 92.34% ขณะที่พบชนิด *B. correcta* จำนวน 1.83% เมื่อพิจารณาถึงปริมาณแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* และ *B. correcta* ติดกับดักในช่วงเวลาต่างๆ พบว่า ในแปลงที่วางเหยื่อผสม lufenuron 3000 ppm ปริมาณแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ลดลงตามลำดับ คือ พบปริมาณสูงสุด 30.33 ตัว/กับดัก/วัน ในวันที่ 3 เมษายน 2555 ลดลงเหลือ 4.96 ตัว/กับดัก/วัน ในวันที่ 6 กันยายน 2555 (ตารางที่ 3 และภาพที่ 2)

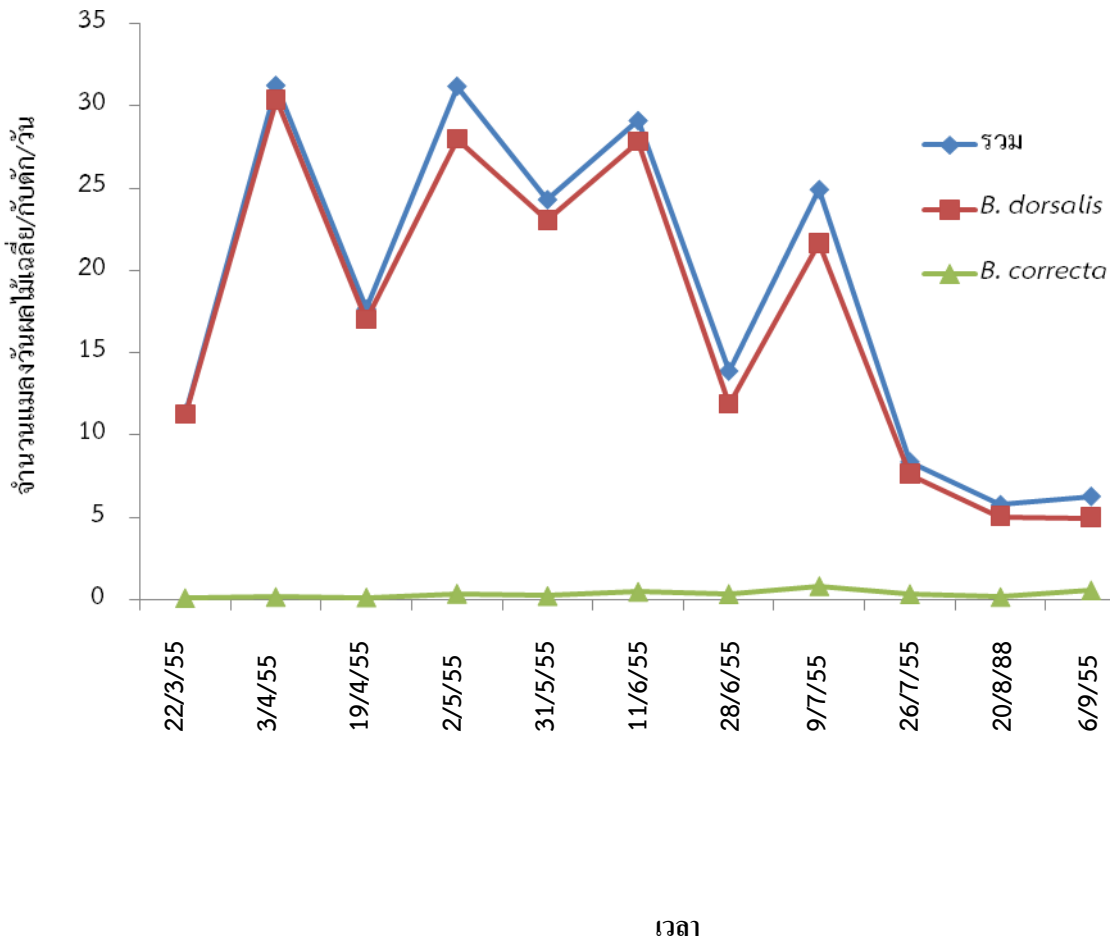
ในระยะเก็บเกี่ยว ได้เก็บเกี่ยวผลมะม่วงจำนวน 200 ผล เพื่อตรวจการเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้ โดยผลที่เก็บเกี่ยวเป็นผลดิบ นำมาเก็บในห้องปฏิบัติการ เพื่อรอให้ผลสุก หลังจากผลสุกแล้วจึงผ่าดูการเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้ พบว่า มะม่วงทั้ง 2 แปลง ไม่มีการเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้เลย

ตารางที่ 2 แสดงจำนวนเฉลี่ยของแมลงวันผลไม้ชนิดต่างๆ ที่ติดกับดักสาร methyl eugenol ในแปลงมะม่วงที่วางเหยื่อผสมสาร lufenuron 3000 ppm (อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา แปลงที่ 1)

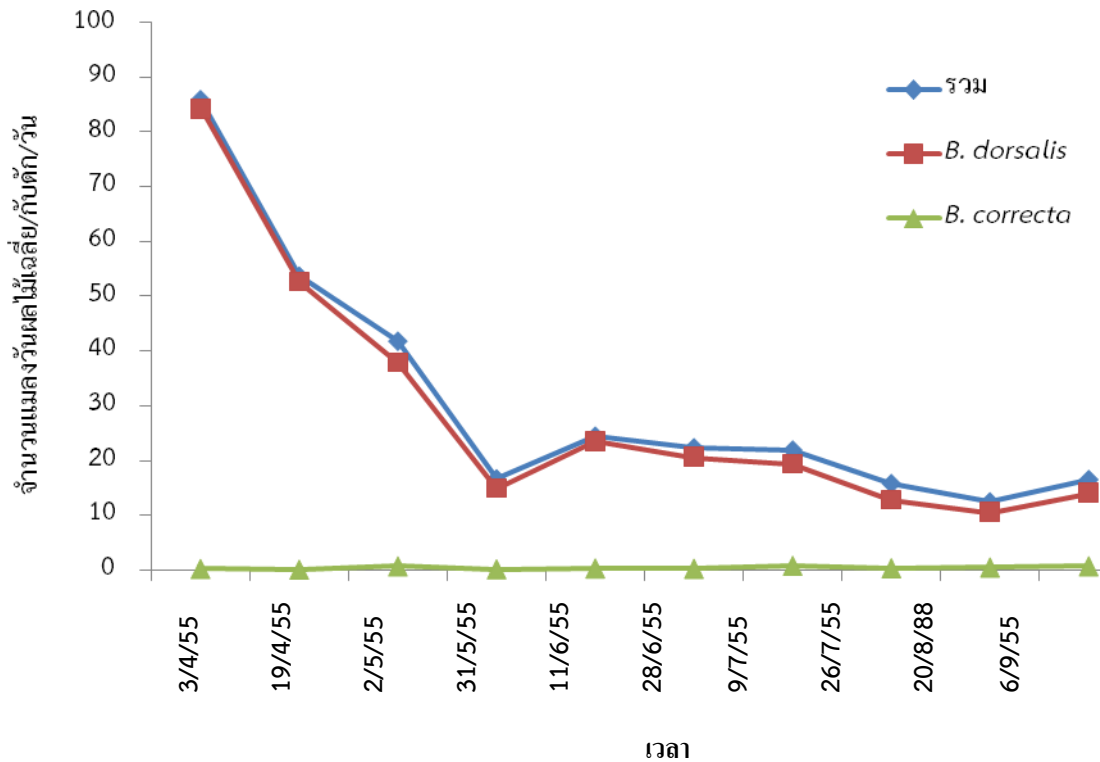
วัน/เดือน/ปี	จำนวนแมลงวันผลไม้เฉลี่ย/กับดัก/วัน (ตัว)					
	รวม	<i>B. dorsalis</i>	<i>B. correcta</i>	<i>B. papayae</i>	<i>B. occiptalis</i>	<i>B. carambolae</i>
22/3/55	21.41	21.30	0.11	0.00	0.00	0.00
3/4/55	47.74	46.95	0.12	0.00	0.66	0.00
19/4/55	34.91	34.42	0.05	0.11	0.16	0.17
2/5/55	46.46	43.38	0.31	0.67	1.69	0.48
31/5/55	47.47	45.47	0.35	0.42	0.77	0.47
11/6/55	26.86	25.91	0.50	0.00	0.45	0.00
28/6/55	17.15	14.94	0.25	0.84	0.88	0.24
9/7/55	15.45	10.75	1.27	1.18	1.93	0.32
26/7/55	5.84	4.65	0.62	0.12	0.40	0.06
20/8/55	5.78	3.99	0.70	0.16	0.80	0.13
6/9/55	12.19	9.74	0.90	0.22	1.19	0.15
รวม	281.26	261.50	5.18	-	-	-
%	-	92.97	1.84	-	-	-

ตารางที่ 3 แสดงจำนวนเฉลี่ยของแมลงวันผลไม้ชนิดต่างๆ ที่ติดกับดักสาร methyl eugenol ในแปลงมะม่วงที่วางเหยื่อผสมสาร lufenuron 3000 ppm (อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา แปลงที่ 2)

วัน/เดือน/ปี	จำนวนแมลงวันผลไม้เฉลี่ย/กับดัก/วัน (ตัว)					
	รวม	<i>B. dorsalis</i>	<i>B. correcta</i>	<i>B. papayae</i>	<i>B. occiptalis</i>	<i>B. carambolae</i>
22/3/55	11.34	11.24	0.10	0.00	0.00	0.00
3/4/55	31.20	30.33	0.17	0.00	0.61	0.00
19/4/55	17.67	16.97	0.14	0.05	0.31	0.14
2/5/55	31.15	27.94	0.37	0.56	1.48	0.73
31/5/55	24.28	23.02	0.23	0.22	0.47	0.31
11/6/55	29.07	27.80	0.48	0.00	0.70	0.00
28/6/55	13.90	11.87	0.35	0.60	0.71	0.31
9/7/55	24.89	21.61	0.82	0.59	1.41	0.36
26/7/55	8.40	7.60	0.35	0.09	0.25	0.04
20/8/55	5.81	5.06	0.16	0.07	0.38	0.10
6/9/55	6.31	4.96	0.57	0.06	0.54	0.12
รวม	204.02	188.4	3.74	-	-	-
%	-	92.34	1.83	-	-	-



ภาพที่ 1 ความผันแปรของประชากรแมลงวันผลไม้ในสวนมะม่วงที่วางเหยื่อผสมสาร lufenuron (Macth 0.50 EC) ที่ อำเภอบางบาล จังหวัดนครราชสีมา ระหว่างเดือนมีนาคม – กันยายน 2555



ภาพที่ 2 ความผันแปรของประชากรแมลงวันผลไม้ในสวนมะม่วงที่วางเหยื่อผสมสาร lufenuron (Macth 0.50 EC) ที่อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา ระหว่างเดือนมีนาคม – กันยายน 2555

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

แมลงวันผลไม้ที่ทำลายมะม่วง พบ มาก 2 ชนิด คือ *Bactrocera dorsalis* และ *B. correcta* โดยเฉพาะที่พบมากกว่า 90% จะเป็น *B. dorsalis* ถ้าปริมาณประชากรแมลงวันผลไม้มีปริมาณมาก ในการผลิตมะม่วงเพื่อเก็บผลที่แก่จัด สำหรับมะม่วงสุก การห่อผลตั้งแต่ผลอายุ 45 วัน ไปจนถึงเก็บเกี่ยวเป็นวิธีการที่ดีที่สุด สามารถป้องกันการเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ แต่ในสภาพประชากรแมลงวันผลไม้ต่ำการใช้สารสกัดสะเดาหรือน้ำมันปิโตรเลียมก็สามารถลดการทำลายของแมลงวันผลไม้ได้ โดยเฉพาะเก็บเกี่ยวขณะผลยังดิบจะลดการทำลายของแมลงวันผลไม้ได้ การใช้สารชักนำให้แมลงวันผลไม้เป็นหมัน เป็นแนวทางใหม่ที่น่าสนใจเพื่อลดประชากรแมลงวันผลไม้ได้อย่างยั่งยืน ซึ่งจะสามารถนำมาใช้ผสมผสานกับวิธีการต่างๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่การศึกษาการใช้สารชักนำให้แมลงวันผลไม้เป็นหมัน ยังมีการศึกษากันน้อย จำเป็นต้องมีการศึกษาถึงเทคนิคการนำไปใช้เพื่อให้ได้ประสิทธิภาพยิ่งขึ้น ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- มนตรี จิรสุรัตน์. 2542. แมลงวันผลไม้. เอกสารวิชาการแมลงศัตรูไม้ผล กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูไม้ผล สมุนไพรและเครื่องเทศ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. น. 128 – 145.
- มนตรี จิรสุรัตน์. 2544. แมลงวันผลไม้ที่สำคัญของประเทศไทยและการแพร่กระจาย. น. 13 – 18 .ใน แมลงวันผลไม้ในประเทศไทย เอกสารวิชาการ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.
- Bachrouch, O.; Mediouni – Ben. J., Alimi E.; Skillman S.; Kabadou T. and Kerber E. (2008). Efficacy of the Lufenuron bait station technique to control Mediterranean fruit fly (Medfly), *Ceratitis capitata* in citrus orchards in Northern Tunisian Journal of Plant Protection, 3 : 35 – 45.
- Casana Giner, V., Gandia – Balaguer, A., Mengod-Puerta, C., Primo – Millo J., and Primo – Yufera, E. 1999. Insect Growth Regulators as Chemosterilants for *Ceratitis capitata* (Diptera : Tephritidae). Journal of Economic Entomology. 92 : 303 – 308.
- Licudine, J.A., Grant, T.M., Roy, T.C., Liquido, N.J., and Qing, X.L. 2001. Efficacy and residues of phloxine B and uranine for the suppression of Mediterranean fruit fly in coffee fields. Pest Management Science 58 : 38 – 44.
- Liquidto, N.J., Shinoda, L.A., and Cunningham, R.T. 1991. Host plants of the Mediterranean fruit (Diptera : Tephritidae) An annotated world list. Entomological Society of America, Miscellaneous Publications 77 : 1 – 52.
- Navarro – Llopis, V., Juan S.C., Ildefonso, A., Victor, C.G., and Eduardo, P.Y. 2004. Efficacy of Lufenuron as chemosterilant against *Ceratitis capitata* in field trials. Pest Management Science 60 : 914 – 920.
- Wendell, W.K. and Ruth, R.P. 1964. Effect of the chemosterilant Apholate on the synthesis of cellular components in developing Housefly eggs. Biochemistry Journal 92 : 353 – 356.

อนุกรมวิธานไส้เดือนฝอยสกุล *Steinernema* และ *Heterorhabditis*
Taxonomy of *Steinernema* and *Heterorhabditis*

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด ญัฐธิดา โฆษิตเจริญกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการวัดขนาดสัดส่วนและถ่ายภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และพิจารณารูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไส้เดือนฝอยสกุล *Steinernema* (CMs) และ *Heterorhabditis* (PRh) ที่แยกได้จาก จ.เชียงใหม่ และ จ. เพชรบุรี ตามลำดับ พบว่าไส้เดือนฝอย CMs มีขนาดเฉลี่ยของตัวอ่อนระยะที่ 3 ความยาวลำตัว (L) = 442.49 ไมครอน ความกว้างลำตัว (W) = 23.05 ไมครอน ความยาววัดจากหัวถึง excretory pore (EP) = 38.22 ไมครอน ความยาววัดจากหัวถึง esophagus (ES) = 106.55 ไมครอน และความยาวหาง (Tail) = 39.99 ไมครอน มีค่าสัดส่วน (ratio) a = 19.21, b = 4.15, c = 11.08, D% = 35.83 และ E% = 95.44 สำหรับไส้เดือนฝอย PRh พบว่า ตัวอ่อนระยะที่ 3 มีความยาวลำตัว = 572.00 ไมครอน ความกว้างลำตัว = 22.31 ไมครอน ความยาววัดจากหัวถึง excretory pore = 82.09 ไมครอน ความยาววัดจากหัวถึง esophagus = 117.50 ไมครอน และความยาวหาง = 90.82 ไมครอน มีค่าสัดส่วน a = 25.65, b = 4.87, c = 6.30, D% = 69.88 และ E% = 90.43 ตัวเต็มวัยเพศเมียมีลักษณะหางแบบ conoid มีค่า D% = 122 ตัวเต็มวัยเพศผู้มีลักษณะหางแบบ conoid ความยาวของอวัยวะสืบพันธุ์ (spicule length) = 48 ไมครอน จากการศึกษาด้าน DNA sequencing โดยทำการสกัดดีเอ็นเอจากตัวเต็มวัยเพศเมีย *Steinernema* (KPs, CMs, UBs, *S. riobrave*) และ *Heterorhabditis* (PRh) และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีน 28S rDNA ในไส้เดือนฝอยแต่ละไอโซเลทด้วยปฏิกิริยา PCR โดยใช้ไพรเมอร์ 502/536 พบว่าได้ดีเอ็นเอที่สะอาด โดยทุกไอโซเลทได้ PCR product ขนาด 946 base pair (bp)

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) ไส้เดือนฝอยมีรูปร่างลำตัวกลมยาว คล้ายเส้นด้าย (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 Enterobacteriaceae 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 ช่วงอายุ (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 จึงมีการศึกษาและพัฒนาไส้เดือนฝอยในกลุ่มนี้ ตั้งแต่เริ่มค้นพบครั้งแรกจนถึงปัจจุบัน 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 สัตว์เลื้อยคลานและมนุษย์ รวมทั้งปลอดภัยต่อสภาพแวดล้อม (Gaugler and Kaya, 1990) ไส้เดือนฝอยจึงได้รับความสนใจอย่างกว้างขวางทั่วโลก ที่จะพัฒนาให้นำมาใช้ประโยชน์ เช่นเดียวกับแบคทีเรีย 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 สาธารณรัฐเช็กโกสโลวาเกีย 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 อูรุกวัย และอาร์เจนตินา นอกจากนี้ยังมีรายงานในประเทศออสเตรเลียและนิวซีแลนด์ 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 Coleoptera เช่น ด้วงหมัดกระโดด (flea beetle, *Phyllotreta sinuata*) หนอนด้วง Japanese beetle และด้วงวงงอแง (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* ควบคุมด้วงวงงอแง (vine weevil) ในผลิตภัณฑ์ชื่อ Nemasys บริษัท Biosys ผลิตไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ควบคุมหนอนด้วง Japanese beetle และบริษัท Ciba-Geigy ผลิตไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* (S25) และ *S. feltiae* (S27) ควบคุมด้วงวงงอแงสีดำ (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* (anomala) 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. kariii* 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

การค้นหาลำไส้เดือนฝอยที่มีประโยชน์จากธรรมชาติ เพื่อนำขึ้นมาพัฒนาและนำกลับไปใช้ควบคุมศัตรูพืช ได้เพิ่มความสำคัญและมีการศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องในหลายๆ ด้าน โดยเฉพาะงานวิจัยขั้นพื้นฐาน ซึ่งดำเนินงานโดยนักวิจัยในแต่ละสาขาเพื่อค้นหาจุดสำคัญของการนำมาใช้ให้มีประสิทธิภาพสูงสุด เพื่อนำสายพันธุ์พื้นเมืองมาใช้ควบคุมศัตรูพืชในท้องถิ่นที่มีสภาพแวดล้อมเดิม จึงเป็นงานวิจัยที่ได้รับความสนใจจากนักวิจัยทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทยได้เริ่มมีการสำรวจเก็บรวบรวมลำไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงเป็นครั้งแรกในปี พ.ศ. 2539 สามารถแยกได้ลำไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงจำนวน 10 ไอโซเลท จัดอยู่ใน family Steinernematidae จำนวน 10 ไอโซเลท โดยกำหนดรหัสตามจังหวัดที่พบคือ จังหวัดกาญจนบุรี (KBs) พิษณุโลก (PCs) อัญญา (AYs) กาฬสินธุ์ (KSs) มหาสารคาม (MKs) ขอนแก่น (KKs) หนองคาย (NKs) สระแก้ว (SKs) อุบลราชธานี (UBs) และกำแพงเพชร (KP) และ family Heterorhabditidae จำนวน 2 ไอโซเลท คือ ร้อยเอ็ด (REh) และเพชรบุรี (PRh) นำมาเก็บรวบรวมเป็น culture collection ณ กลุ่มงานลำไส้เดือนฝอย กรมวิชาการเกษตร (นุชนารถ และคณะ, 2543) ลำไส้เดือนฝอยที่แยกได้เหล่านี้ จึงควรมีการจัดจำแนกชนิด (species) อย่างถูกต้องต่อไป

วัตถุประสงค์ของการทดลองเพื่อจำแนกชนิดลำไส้เดือนฝอยสกุล *Steinernema* และ *Heterorhabditis* ไอโซเลทที่แยกได้ในประเทศไทย โดยใช้รูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเทคนิคทางชีวโมเลกุลในการแบ่งแยกในระดับ species

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. หนอนกินไข่ม้วนเพาะเลี้ยงจากอาหารเทียม
2. ลำไส้เดือนฝอย *Steinernema* CMs isolate และ *Heterorhabditis* PRh isolate
3. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (Stereo microscope) และกำลังขยายสูง (Compound microscope) พร้อมกล้องถ่ายภาพดิจิทัล
4. สารเคมีสำหรับฆ่าและดองลำไส้เดือนฝอย ได้แก่ glycerine, TAF, 40% formaldehyde, tri-ethanolamine และ 95% ethanol
5. วัสดุ-อุปกรณ์ และเครื่องแก้วสำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการลำไส้เดือนฝอย

วิธีการ

การเตรียมลำไส้เดือนฝอยสกุล *Steinernema* ไอโซเลท CMs และ *Heterorhabditis* ไอโซเลท PRh เพื่อการวัดขนาดสัดส่วน ได้จากหนอนรังผึ้งที่ปลูกเชื้อด้วยลำไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลาย (I) โดยตัวเต็มวัยเพศผู้ เพศเมียของลำไส้เดือนฝอยใน 1st และ 2nd generation ได้จากการผ่าหนอนรัง

ฝังหลังปลุกเชื้อเป็นเวลา 3 วัน และ 6 วัน ตามลำดับ และไส้เดือนฝอยระยะ J ได้จากการเคลื่อนที่ออกมาจากซากของหนอนเป็นเวลาประมาณ 10 วันหลังปลุกเชื้อ

1. การจำแนกโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ไส้เดือนฝอยทุกระยะการเจริญเติบโต นำมาฆ่าด้วยน้ำอุ่น (50 °ซ) เป็นเวลา 2 นาที เติมน้ำยา fixative (TAF, 7 ml of 40 % formaldehyde, 2 ml tri-ethanolamine, 91 ml distilled water) นำไปเก็บที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นแช่ไส้เดือนฝอยลงใน 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. เพื่อดึงน้ำออกจากตัวไส้เดือนฝอยซ้ๆ และมีการแทนที่ด้วยกลีเซอริน จากนั้นเติม solution II (5 parts of glycerine, 95 parts of 95 % ethanol) ลงไป นำไปไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 40 °ซ เป็นเวลา 3 ชม. กลีเซอรินจะเข้าแทนที่น้ำในตัวไส้เดือนฝอย สามารถเห็นอวัยวะสำคัญภายในตัวไส้เดือนฝอยได้ชัดเจน แช่ไส้เดือนฝอยจำนวน 10 ตัว ลงในหยดกลีเซอรินบนสไลด์แก้ว หนูนด้วยใยแก้วก่อนปิดทับด้วย 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 นำไปเปรียบเทียบกับ key to species of the genus *Steinernema* and *Heterorhabditis* (Nguyen and Smart, 1996)

2. การจำแนกโดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล ทำการสกัดดีเอ็นเอไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. CMs isolate และ *Heterorhabditis* sp. PRh isolate ตามวิธีการของ Hominick *et al.* (1997) โดยนำไส้เดือนฝอยตัวเต็มวัยเพศเมียของแต่ละไอโซเลท จำนวน 10 ตัว ใส่หลอด

microcentrifuge ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติมด้วย homogenizing buffer (100mM NaCl, 200mM sucrose, 10mM EDTA, 30mM Tris HCl, 1% β - merc pto- ethanol) ปริมาตร 300 ไมโครลิตร บดด้วย mini blue pestle ให้ละเอียด เติมด้วย lysis buffer (500 mM Tris- HCl, 50mM EDTA, 2.5% SDS, pH 8.0) ปริมาตร 300 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ใส่ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 65 °ซ นาน 10 นาที เติมด้วย precipitation solution (3M potassium acetate, pH 8.0) 192 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน เติมด้วย chloroform / iso-amyl-alcohol (24/1) ปริมาตร 300 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน แช่ในน้ำแข็งนาน 5 นาที นำไปปั่นตกตะกอนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง Hettich (Universal 116, Germany) ที่ความเร็วรอบ 14,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที เก็บส่วนน้ำใสข้างบนใส่หลอด microcentrifuge ขนาด 1.5 มิลลิลิตรใหม่ที่บรรจุสาร isopropanol ที่แช่เย็นในตู้ควบคุมอุณหภูมิ - 20 °ซ ปริมาตร 700 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงเพื่อเก็บตะกอนดีเอ็นเอที่ความเร็วรอบ 14,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วย 70 % ethanol ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง ละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วย TE buffer pH. 8.0 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร วัดปริมาณความเข้มข้นและคุณภาพของดีเอ็นเอที่ช่วงคลื่น A260/A280 ด้วยเครื่อง spectrophotometer (U 2001 UV/Vis, Hitachi Instruments, Inc., USA) และปรับความเข้มข้น ดีเอ็นเอ เท่ากับ 50 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร เพื่อนำไปทดสอบปฏิกิริยา Polymerase chain reaction (PCR)

4. การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีน 28 S rDNA ด้วยปฏิกิริยา PCR

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีน 28S rDNA ของไส้เดือนฝอยแต่ละไอโซเลทด้วยปฏิกิริยา PCR โดยใช้ไพรเมอร์ 502 (5'-CCTTAGTAACGGCGAGTGAAA -3')/536 (5'-CAGCTATCCTGAGGA AAC-3') ตามรายงานของ Stock *et al.* (2001) สำหรับเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ส่วน D2/D3 regions ของยีน 28S rDNA ซึ่งออกแบบมาจากยีน 28S rDNA ของไส้เดือนฝอย *Caenorhabditis elegans* จาก Genbank accession number X03680 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) ที่ใช้ในการ ออกแบบ primers ใช้ปริมาตรรวมในการทำปฏิกิริยา PCR 50 ไมโครลิตร ในหลอดขนาด 0.2 มิลลิลิตร โดยปฏิกิริยาประกอบด้วยดีเอ็นเอของไส้เดือนฝอยแต่ละไอโซเลท ความเข้มข้น 50 นาโนกรัม ที่เตรียมไว้ข้างต้นผสมกับ 10X PCR buffer [67 mM Tris-HCl, pH8.8, 83 mM (NH₄)₂SO₄, 2.0 mM MgCl₂, 30 mM β -mercaptoethanol, 10% dimethylsulfoxide และ bovine serum albumin] dNTPs ชนิดละ 125 μ M เอนไซม์ Taq DNA polymerase 1.0 ยูนิต (Invitrogen Corporation Grand Island, NY, USA) และไพรเมอร์ที่ออกแบบและสังเคราะห์ไว้แล้ว ข้างต้นชนิดละ 20 μ M แล้วเติมน้ำกลั่นหนึ่งขวดเพื่อให้ได้ปริมาตรรวม 50 ไมโครลิตร ผสมสารให้เข้ากัน ทำปฏิกิริยา PCR ในเครื่องควบคุมอุณหภูมิ (Thermal cycler) โดยกำหนดอุณหภูมิและเวลาให้มีการ สังเคราะห์ดีเอ็นเอตามวิธีการของ Nguyen *et al.* (2001) ดังนี้

ปฏิกิริยา	อุณหภูมิ (°C)	เวลา (นาที)
1. แยกสายดีเอ็นเอต้นแบบเริ่มต้น (initial denaturing)	94	5
2. แยกสายดีเอ็นเอแม่แบบ (denaturing)	94	1
3. ไพรมเมอร์เริ่มต้นจับคู่กับดีเอ็นเอแม่แบบ (primer annealing)	50	1
4. สังเคราะห์ดีเอ็นเอ (extension)	72	1
5. สังเคราะห์ดีเอ็นเอรอบสุดท้าย (final extension)	72	5

ทำปฏิกิริยาขั้นตอนที่ 2-4 เป็นวงจรลูกโซ่ทั้งหมด 35 รอบ หยุดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 4 °C นำดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยา PCR ปริมาตร 10 ไมโครลิตร มาผสมกับ loading dye (0.025% bromophenol blue, 40% Ficoll 400, 0.5% SDS) ปริมาตร 2 ไมโครลิตร จากนั้นทำการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอด้วยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส (agarose gel electrophoresis) โดยใช้ 1% อะกาโรสใน 0.5 xTAE (40mM Tris, 4mM sodium acetate, 1mM EDTA, pH 7.9) ใช้กระแสไฟฟ้าที่ค่าความต่างศักย์ 135 โวลต์ นาน 25 นาที ย้อมดีเอ็นเอด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ ตรวจสอบแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา 1 ปี เริ่มตั้งแต่เดือนตุลาคม 2553 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2555

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การจำแนกโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

จากผลการศึกษารูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. และ *Heterorhabditis* sp. ไอโซเลทที่แยกได้จากจังหวัดเชียงใหม่ และจังหวัดเพชรบุรี กำหนดรหัสเป็น CMs และ PRh ตามลำดับ โดย CMs isolate อยู่ใน Family Steinernematidae และ PRh isolate อยู่ใน Family Heterorhabditidae ทำการวัดขนาดสัดส่วนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Light microscope เพื่อการจัดจำแนกในระดับชนิด (species)

1. ไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. CMs isolate

Steinernematidae Chitwood and Chitwood 1937, 1950; Rhabditoidea (Oerley), Rhabditida (Oerley) (syn. Neoplectanidae Sobolev), type genus : *Steinernema* Travassos, 1927; synonym : *Neoplectana* 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 1 ตุ่ม บางครั้งพบโครงสร้างคล้าย ตุ่มอยู่ใกล้ labial papillae นอกจากนั้น บริเวณริมฝีปากยังพบตุ่มที่เรียกว่า cephalic papillae จำนวน 4 ตุ่ม และพบอวัยวะที่เรียกว่า amphid มีขนาดเล็ก ซึ่งเป็นช่องรับความรู้สึกเกี่ยวกับ สารเคมี (chemoreceptor organ) จำนวน 2 ช่อง ช่องปาก (stoma) ของตัวเต็มวัยเพศเมีย ยุบลง เป็นช่อง สังเกตเห็นผนังของ cheilostom บริเวณริมฝีปากชัดเจน หลอดอาหาร (esophagus) เป็น แบบ rhabditoid ส่วนของ metacarpus โป่งพอง และแคบลง (isthmus) มีเส้นประสาท (nerve ring) ล้อมรอบรองรับด้วยฐานใหญ่เป็นกระเปาะ (basal bulb) หลอดอาหารต่อเชื่อมกับลำไส้มีลิ้น ปิด-เปิด (cardic) ระบบสืบพันธุ์เป็นแบบท่อรังไข่ 2 ข้าง (didelphic) และโค้งงอที่ปลายรังไข่ทั้งสอง ข้าง อวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียอยู่บริเวณกลางลำตัวสังเกตเห็นชัดเจน พบโครงสร้างที่เรียกว่า epiptygma ตัวเมียที่ได้รับการผสมจากตัวผู้ วางไข่และฟักเป็นตัวอ่อนภายในมดลูกของตัวแม่ เรียกว่า ovoviviparous ตัวอ่อนสามารถเจริญเติบโตภายในตัวแม่ได้หรือไข่ออกมาฟัก ภายนอกตัวแม่ (oviparous) ความยาวหางของตัวเมียสั้นกว่าความกว้างของลำตัว

ตัวเต็มวัยเพศผู้ (male) : มีขนาดเล็กกว่าตัวเมีย 2 ถึง 3 เท่า ส่วนหัวประกอบด้วย 6 labial papillae และ 4 cephalic papillae มีช่องทางเดินอาหารคล้ายกับตัวเต็มวัยเพศเมีย ท่อ สร้างและเก็บน้ำเชื้อ (testis) เป็นแบบข้างเดียวและโค้งงอที่ปลาย อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (spicule) มี ลักษณะเป็นคู่ มีอวัยวะบังคับ spicule ที่เรียกว่า gubernaculum ไม่ปรากฏแพนหาง (bursa) ปลายหางกลมปลายแหลม อาจมีติ่ง (mucronate) ที่ปลายหาง ปลายหางมีอวัยวะรับความรู้สึก เรียกว่า genital papillae 1 ตุ่มเดี่ยว และ 10-14 ตุ่มคู่

ตัวอ่อนระยะทำลาย (infective juvenile = third-stage infective juvenile) : ช่อง ปากยุบลงเป็นช่อง รูปร่างเรียวยาวขนาดเล็ก ส่วนของผนังชั้นนอก (cuticle) มีลักษณะเป็นรอยย่น (annulated) มีเส้นข้างลำตัว (lateral line) 6 เส้น ช่องทางเดินอาหารติดต่อกับลำไส้ สังเกตเห็น ช่องขับถ่ายทางผิวหนัง (excretory pore) ชัดเจน อยู่ในตำแหน่งเหนือ nerve ring ลักษณะปลาย หางแหลม พบ phasmid ที่ตำแหน่งกลางทางระหว่างช่องขับถ่าย (anus) และปลายหาง มีค่าการ วัดขนาดสัดส่วนตามตารางที่ 1

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

ตารางที่ 1 ค่าการวัดขนาดสัดส่วนของไส้เดือนฝอย *Steinemema* sp. CMs isolate ตัวอ่อนระยะที่ 3

ตัวอ่อนที่	ไมครอน					ค่าสัดส่วน (Ratio)				
	L	width	EP	ES	T	a	b	c	D%	E%
1	444.08	23.64	35.46	102.42	37.43	18.79	4.34	11.86	34.62	94.74
2	436.15	23.64	33.49	102.42	37.43	18.45	4.26	11.65	32.70	89.47
3	412.36	21.67	33.49	102.42	37.43	19.03	4.03	11.02	32.70	89.47
4	428.22	21.67	37.43	106.34	39.40	19.76	4.03	10.87	35.20	95.00
5	436.15	21.67	37.43	106.34	39.40	20.13	4.10	11.07	35.20	95.00
6	459.94	23.64	43.34	110.32	41.37	19.46	4.17	11.12	39.29	104.76
7	444.08	23.64	41.37	108.35	41.37	18.79	4.10	10.73	38.18	100.00
8	444.08	23.64	39.40	102.44	41.37	18.79	4.34	10.73	38.46	95.24
9	452.01	23.64	39.40	110.26	41.37	19.12	4.10	10.93	35.73	95.24
10	467.87	23.64	41.37	114.18	43.34	19.79	4.10	10.80	36.23	95.45
ผลรวม	4424.94	230.49	382.18	1065.49	399.91	192.09	41.55	110.78	358.31	954.38
ค่าเฉลี่ย	442.49	23.05	38.22	106.55	39.99	19.21	4.15	11.08	35.83	95.44
ค่าสูงสุด	467.87	23.64	43.34	114.18	43.34	20.13	4.34	11.86	39.29	104.76
ค่าต่ำสุด	412.36	21.67	33.49	102.42	37.43	18.45	4.03	10.73	32.70	89.47

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 *Heterorhabditis* sp. PRh isolate

พบว่าตัวอ่อนระยะที่ 3 มีค่าความยาวลำตัว (L) = 572.00 ไมครอน ความกว้างลำตัว (W) = 22.31 ไมครอน ความยาววัดจากหัวถึง excretory pore (EP) = 82.09 ไมครอน ความยาววัดจากหัวถึง esophagus (ES) = 117.50 ไมครอน และความยาวหาง (Tail) = 90.82 ไมครอน มีค่าสัดส่วน (ratio) a = 25.65, b = 4.87, c = 6.30, D% = 69.88 และ E% = 90.43 (ตารางที่ 2)

ตัวเต็มวัยเพศเมียมีลักษณะทางแบบ conoid มีค่า D% = 122 ตัวเต็มวัยเพศผู้ มีลักษณะทางแบบ conoid ความยาวของอวัยวะสืบพันธุ์ (spicule length) = 48 ไมครอน สามารถจำแนกโดยเปรียบเทียบกับ Key มาตรฐาน พบว่ารูปร่างลักษณะและสัดส่วนต่างๆ มีความใกล้เคียงกับ *H. bacteriophora*

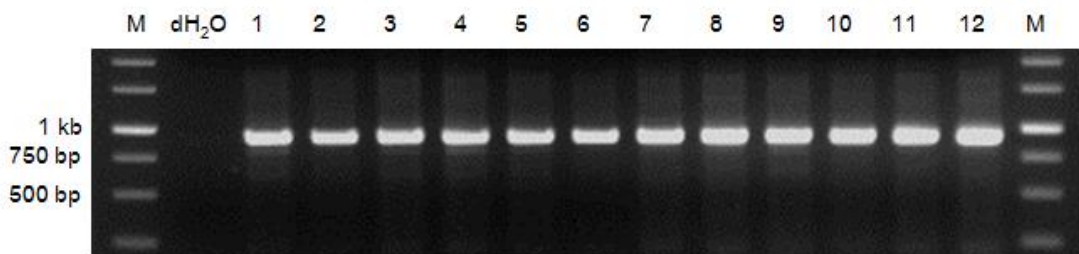
ตารางที่ 2 ค่าการวัดขนาดสัดส่วนของไส้เดือนฝอย *Heterorhabditis* sp. PRh isolate ตัวอ่อนระยะที่ 3

ตัวอ่อนที่	ไมครอน					ค่าสัดส่วน (Ratio)				
	L	width	EP	ES	T	a	b	c	D %	E %
1	555.8	23.5	85.61	119.32	92.63	23.65	4.66	6.00	71.75	92.42
2	578.9	22.3	84.56	118.98	90.21	25.96	4.87	6.42	71.07	93.74
3	564.23	21.56	79.8	120.2	93.65	26.17	4.69	6.02	66.39	85.21
4	559.47	22.36	82.31	116.65	94.78	25.02	4.80	5.90	70.56	86.84
5	601.23	22.55	78.54	116.58	89.66	26.66	5.16	6.71	67.37	87.60
6	579.3	23.01	80.82	114.56	87.52	25.18	5.06	6.62	70.55	92.34
7	594.12	22.54	81.23	115.23	88.97	26.36	5.16	6.68	70.49	91.30
8	538.65	21.34	84.84	115.78	90.21	25.24	4.65	5.97	73.28	94.05
9	578.45	22.13	83.19	118.2	91.89	26.14	4.89	6.30	70.38	90.53
10	569.89	21.78	79.96	119.45	88.63	26.17	4.77	6.43	66.94	90.22
ผลรวม	5720.04	223.07	820.86	1174.95	908.15	256.54	48.70	63.04	698.78	904.25
ค่าเฉลี่ย	572.00	22.31	82.09	117.50	90.82	25.65	4.87	6.30	69.88	90.43
ค่าสูงสุด	601.23	23.50	85.61	120.20	94.78	26.66	5.16	6.71	73.28	94.05
ค่าต่ำสุด	538.65	21.34	78.54	114.56	87.52	23.65	4.65	5.90	66.39	85.21

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. การจำแนกโดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล

จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีน 28S rDNA ในไส้เดือนฝอยแต่ละไอโซเลทด้วยปฏิกิริยา PCR โดยใช้ไพรเมอร์ 502/536 ผลจากการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ของไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงในแต่ละไอโซเลท โดยทุกไอโซเลทได้ PCR product ขนาด 946 base pair (bp) (ภาพที่ 1)



(M: 1 kb Marker; lane 1-2: KP isolate; lane 3-4: RE isolate; lane 5-6: UB isolate; lane 7-9: SR isolate และ lane 10-12: HB isolate)

ภาพที่ 1 PCR product ขนาด 946 base pair (bp) ของไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงในแต่ละไอโซเลท

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ไส้เดือนฝอยสกุล *Steinernema* sp. CMs isolate ที่แยกได้จากดินใน จ. เชียงใหม่ และ *Heterorhabditis* sp. PRh isolate แยกได้จาก จ. เพชรบุรี จำแนกโดยพิจารณาจากรูปร่าง ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการวัดขนาดสัดส่วนเปรียบเทียบกับ key มาตรฐาน พบว่า CMs มีขนาดและรูปร่างใกล้เคียงกับ *S. siamkayai* แยกได้จาก จ. เพชรบูรณ์ สำหรับไส้เดือนฝอย *Heterorhabditis* มีความใกล้เคียงกับ *H. bacteriophora* จากการศึกษา DNA sequencing โดยทำการสกัดดีเอ็นเอจากตัวเต็มวัยเพศเมีย *Steinernema* (KPs, CMs, UBs, *S. riobrave*) และ *Heterorhabditis* (PRh) และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีน 28S rDNA ในไส้เดือนฝอยแต่ละไอโซเลทด้วยปฏิกิริยา PCR โดยใช้ไพรเมอร์ 502/536 พบว่าได้ดีเอ็นเอที่สะอาด โดยทุกไอโซเลทได้ PCR product ขนาด 946 base pair (bp)

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
- Hominick, W. M., B. R. Briscoe, F. G. del Pino, Jian Heng, D. J. Hunt, E. Kozodoy, Z. Mracek, K. B. Nguyen, A. P. Reid, S. Spiridonov, D. Sturhan, C. Waturu, and M. Yoshida. 1997. Biosystematics of entomopathogenic nematodes: Current status, protocols, and definitions. *J. Helminthology* 71:271–298.

- Nguyen, K.B. and G.C. Smart. 1996. Identification of entomopathogenic nematodes in the Steinernematidae and Heterorhabditidae (Nemata : Rhabditida). J. Nematol. 28 : 286-300.
- Nguyen, K.B., J. Maruniak, and B. J. Adams. 2001. Diagnostic and phylogenetic utility of the rDNA internal transcribed spacer sequences of *Steinernema*. J. Nematology 33(2-3):73-82.
- Stock, S.P., J.F. Campbell and S.A. Nadler. 2001. Phylogeny of *Steinernema* Travassos, 1972 (Cephalobina : Steinernematidae) inferred from ribosomal DNA sequences and morphological characters. J. Parasitology 87 : 877-889.
-

อนุกรมวิธานและชีววิทยาของไส้เดือนฝอยสกุล *Radopholus*
Taxonomy and Biology of *Radopholus*

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด^{1/} ช่อทิพย์ ศัลยพงษ์^{2/}

^{1/} กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/} กลุ่มบริการส่งออกสินค้าเกษตร สำนักควบคุมวัสดุการเกษตร

รายงานความก้าวหน้า

เก็บรากไม้จากแหล่งผลิตไม้เนื้อเขตนครราชสีมา จำนวน 50 ตัวอย่าง และทำการแยกได้ไส้เดือนฝอย *Radopholus* sp. จากรากไม้ โดยวิธีใช้คลื่นเสียงอัลตราโซนิกและปั่นราก นำไส้เดือนฝอยปลูกเลี้ยงในต้นพืชอาศัย (ไม้เนื้อสกุล *Anubias* sp.) ในบ่อซีเมนต์ เป็นเวลา 2 เดือน ทำการแยกไส้เดือนฝอยออกจากรากพรรณไม้ และจัดทำสไลด์ถาวรตัวเต็มวัยเพศเมียเพื่อศึกษารูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยใช้ Light microscope (LM) พบว่า ตัวเต็มวัยเพศเมียมีขนาดมีความยาวลำตัว 550-880 ไมครอน (0.55-0.88 มม.) รูปร่างใหญ่กว่าเพศผู้ โดยมีความกว้างลำตัว 20-24 ไมครอน ส่วนหัวโค้งมนแต่ไม่ยกขึ้น ประกอบด้วยรอยย่น 4 รอย หลอดดูดอาหารแข็งแรงมีความยาว 16-21 ไมครอน (เฉลี่ย 18 ไมครอน) มี Basal knob กลม ส่วนของ esophagus ข้อนทับลำไส้ทางด้านหลัง (Dorsal) พบอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย (Vulva) ในตำแหน่งกลางลำตัว โดยประมาณ 54 % ของความยาวลำตัว มีรังไข่ (Ovary) 2 ข้าง ส่วนของ Spermatheca มีลักษณะรี ส่วนหางเรียวยาวและบริเวณปลายหางมน มีเส้นข้างลำตัว 4 เส้น และตัวเต็มวัยเพศผู้มีขนาดความยาวลำตัว 500-600 ไมครอน (0.50-0.60 ไมครอน) รูปร่างผอมบางกว่าเพศเมีย ส่วนหัวโค้งมนกลมและยกขึ้น ประกอบด้วยรอยย่น 4 รอย หลอดดูดอาหาร (Stylet) ผอม เรียวเล็กมีความยาว 12-13 ไมครอน มี Basal knob ขนาดเล็กมาก ไม่พบ median bulb และส่วนของ Esophagus ลดขนาดลง มีส่วนหางเรียวยาวและกลม บริเวณปลายหางมีอวัยวะสืบพันธุ์ (Spicule) ยาว 17-19 ไมครอน มีเส้นข้างลำตัว (Lateral line) 4 เส้น และจากการศึกษาวงจรชีวิตของไส้เดือนฝอย *Radopholus* ในชิ้นส่วนพืช (แคระท) สภาพปลอดเชื้อ พบว่าวงจรชีวิตจากตัวเต็มวัยเพศเมียสร้างไข่ ไข่ฟัก เป็นตัวอ่อนระยะที่ 1 ถึงระยะที่ 4 และเป็นตัวเต็มวัยเพศเมียรุ่นใหม่ ใช้เวลา 32 และ 26 วัน ที่อุณหภูมิ 22 และ 32 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-02-10-54

คำนำ

ไส้เดือนฝอยสกุล *Radopholus* เป็นไส้เดือนฝอยกักกันที่มีความสำคัญและพบในเขตร้อนและเขตกึ่งร้อนทั่วโลก (Fogain, 2000) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแหล่งที่มีการปลูกกล้วย ประเทศที่พบได้แก่ ทุกประเทศในทวีปแอฟริกา บางประเทศในทวีปเอเชีย อเมริกากลางและใต้ ประเทศคิวบา ออสเตรเลีย หลายประเทศในทวีปยุโรป และในสหรัฐอเมริกา *Radopholus* ชนิดที่มีความสำคัญคือ *R. similis* มีการกระจายตัวในเขตภาคตะวันออกเฉียงใต้ของประเทศเปอร์โตริโก และในรัฐฮาวาย (Sipes and Delate, 1996) มีพืชอาศัยมากกว่า 600 ชนิด (Uchida *et al.*, 2003) แต่พืชอาศัยที่สำคัญได้แก่

กล้วย และส้มที่ปลูกในเขตร้อน โดยกล้วยจัดเป็นพืชอาศัยที่สำคัญอันดับหนึ่งของไส้เดือนฝอยชนิดนี้ ซึ่งพบว่ากล้วยเกือบทุกสายพันธุ์สามารถเป็นพืชอาศัยของ *R. similis* พืชชนิดอื่นๆ ที่จัดเป็นพืชอาศัยได้แก่ มะพร้าว ขิง ปาล์ม อะโวคาโด 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 ในพืชพวกอะโวคาโดก็เช่นเดียวกันพบว่าผลผลิตลดลงเมื่อถูกไส้เดือนฝอยชนิดนี้เข้าทำลาย เมื่อทำการขุดรากที่ระดับความลึก 2.5 ฟุต จากระดับผิวดินพบว่า 30 เปอร์เซ็นต์ของรากหาอาหาร (feeder roots) ได้ถูกทำลาย และเมื่อขุดลงไปลึกมากกว่านั้นพบว่า 90 เปอร์เซ็นต์ของรากที่พบได้ถูกทำลายโดยไส้เดือนฝอย ในกล้วยพบว่าการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอย *R. similis* ทำให้เกิดอาการโคนล้มของต้นกล้วยโดยเฉพาะอย่างยิ่งต้นที่กำลัง

ให้ผลผลิต เนื่องจากระบบรากได้ถูกทำลาย ในส่วนของรากพบว่าเกิดอาการเน่า (lesion) สีน้ำตาล หรือสีดำที่บริเวณจุดที่ไส้เดือนฝอยเข้าทำลาย เมื่อไส้เดือนฝอยเคลื่อนที่ผ่านชั้น cortex ของรากพืช ทำให้เกิดโพรง และเปิดทางให้เชื้อโรคนดิน เช่น รา *Fusarium oxysporum* และ *Rhizoctonia solani* เข้าทำลายรากพืชซึ่งทำให้เกิดอาการรุนแรงมากยิ่งขึ้น (Sipes et al., 2001)

ในประเทศไทย ไส้เดือนฝอย *R. similis* สร้างปัญหาให้กับพืชส่งออก โดยมีการตรวจพบปนเปื้อนไปกับพรรณไม้ส่งออกไปสหภาพยุโรป ทำให้เกิดการเผาทำลายพืช ณ ประเทศปลายทาง ส่งผลกระทบต่อการส่งออกของเกษตรกรผู้ปลูกเป็นอย่างมากในขณะนี้ ณ ปัจจุบัน การศึกษาด้านอนุกรมวิธานและชีววิทยา เป็นงานวิจัยพื้นฐานที่มีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งที่นักอนุกรมวิธานต้องทำการจัดจำแนกไส้เดือนฝอยซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องทางการเกษตร เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานที่เป็นองค์ความรู้สำหรับการพัฒนาด้านอื่นๆ ต่อไป

วัตถุประสงค์ของการทดลอง เพื่อจำแนกชนิดและศึกษาวงจรชีวิตของไส้เดือนฝอยสกุล *Radopholus* ที่เก็บได้จากพรรณไม้ส่งออกในฟาร์มผลิต

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) พร้อมกล้องถ่ายภาพดิจิทัล
5. วัสดุ-อุปกรณ์ และเครื่องแก้วสำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการไส้เดือนฝอย
6. ชั้นแคโรทสำหรับใช้เพาะเลี้ยงขยายไส้เดือนฝอย

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 จากนั้นแช่ไส้เดือนฝอยลงใน 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. เพื่อดึงน้ำออกจากตัวไส้เดือนฝอยซ้ำๆ และมีการแทนที่ด้วยกลีเซอริน จากนั้นเติม solution II (5 parts of glycerine, 95 parts of 95 % ethanol) ลงไป นำไปไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 40 °ซ เป็นเวลา 3 ชม. กลีเซอรินจะ

เข้าแทนที่น้ำในตัวไส้เดือนฝอย สามารถเห็นอวัยวะสำคัญภายในตัวไส้เดือนฝอยได้ชัดเจน เชียไส้เดือนฝอยลงในหยดกลีเซอรินบนสไลด์แก้ว หนูนด้วยใยแก้วก่อนปิดทับด้วย 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 × 100; E% = EP/Tail × 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 และแช่ล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อซ้ำ 2 ครั้ง

2. เตรียมวุ้น 1.5 % (วุ้นผง 15 กรัม + น้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร) หนึ่งฆ่าเชื้อ นำไปเทลงในจานเพาะเลี้ยง (Petri dish) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ปริมาตรวุ้นเท่ากับ 1 ใน 4 ของความสูงจานเพาะ ในสภาพปลอดเชื้อ

3. เตรียมชิ้นส่วนพืช (แครอท) โดยนำหัวแครอทปอกเปลือกให้สะอาด และหั่นตามขวางของหัวให้เป็นชิ้นวงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร ทำการล้างด้วยแอลกอฮอล์ 70 % โดยวิธีการจุ่ม และจุ่มล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อซ้ำ 2 ครั้ง วางผึ่งชิ้นแครอทให้แห้งในตู้ปลอดเชื้อ ประมาณ 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 °C

การบันทึกข้อมูล ตรวจการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอยโดยบันทึกการเปลี่ยนแปลงเป็นระยะต่างๆ แต่ละอุณหภูมิ ทุก 5 วัน

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา 3 ปี เริ่มตั้งแต่เดือนตุลาคม 2553 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2556

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การจำแนกชนิดไส้เดือนฝอย *Radopholus* ที่แยกได้จากพรรณไม้ น้ำสกุล *Anubias* จากฟาร์มผลิตพรรณไม้ น้ำส่งออกเขตจังหวัดนครราชสีมา โดยพิจารณาจากรูปร่างลักษณะและขนาดสัดส่วนของไส้เดือนฝอยระยะตัวเต็มวัยเพศผู้-เพศเมีย ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Light microscope

รูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ในทุกระยะการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอย *R. similis* มีรูปร่างลักษณะคล้ายตัวหนอน (vermiform) ไม่มีสี และมีความยาวลำตัวน้อยกว่า 1 มม. แบ่งแยกเป็นเพศผู้และเพศเมีย (sexual dimorphism) อาศัยอยู่ในดินและรากพืช

ขนาดและรูปร่างลักษณะของตัวเต็มวัยเพศผู้

มีขนาดความยาวลำตัว 500-600 ไมครอน (0.50-0.60 มิลลิเมตร) รูปร่างพอมบางกว่าเพศเมีย ส่วนหัวโค้งมนกลมและยกขึ้น ประกอบด้วยรอยย่น 4 รอย หลอดดูดอาหาร (stylet) พอมเรียวยาวเล็กยาว 12-13 ไมครอน มี basal knob ขนาดเล็กมาก ไม่พบ median bulb และส่วนของ esophagus ลดขนาดลง มีส่วนหางเรียวยาวและกลม บริเวณปลายหางมีอวัยวะสืบพันธุ์ (spicule) ยาว 17-19 ไมครอน มีเส้นข้างลำตัว (lateral line) 4 เส้น

ขนาดและรูปร่างลักษณะของตัวเต็มวัยเพศเมีย

มีขนาดความยาวลำตัว 550-880 ไมครอน (0.55-0.88 มิลลิเมตร) รูปร่างใหญ่กว่าเพศผู้ โดยมีความกว้างลำตัว 20-24 ไมครอน ส่วนหัวโค้งมนแต่ไม่ยกขึ้น ประกอบด้วยรอยย่น 4 รอย หลอดดูดอาหารแข็งแรงมีความยาว 16-21 ไมครอน (เฉลี่ย 18 ไมครอน) มี Basal knob กลม ส่วนของ esophagus ซ้อนทับลำไส้ทางด้านหลัง (Dorsal) พบอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย (Vulva) ในตำแหน่งกลางลำตัว โดยประมาณ 54 % ของความยาวลำตัว มีรังไข่ (Ovary) 2 ข้าง ส่วนของ Spermatheca มีลักษณะรี ส่วนหางเรียวยาวและบริเวณปลายหางมน มีเส้นข้างลำตัว 4 เส้น

เมื่อนำค่าการวัดขนาดสัดส่วนของไส้เดือนฝอยเปรียบเทียบกับ key มาตรฐาน และพิจารณาจากรูปร่างลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (Compound microscope) สามารถจัดจำแนก ตามลำดับของอนุกรมวิธาน

Order Tylenchida

Sub order Tylenchina

Family Pratylenchidae

Sub family Pratylenchinae

Genus *Radopholus*Species *similis*

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 จากการศึกษาวงจรชีวิตของไส้เดือนฝอย *Radopholus* ในชิ้นส่วนพืช (แคโรท) สภาพปลอดเชื้อ พบว่าวงจรชีวิตจากตัวเต็มวัยเพศเมียสร้างไข่ ไข่ฟัก เป็นตัวอ่อนระยะที่ 1 ถึงระยะที่ 4 และเป็นตัวเต็มวัยเพศเมียรุ่นใหม่ ใช้เวลา 32 และ 26 วัน ที่อุณหภูมิ 22 และ 32 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ไส้เดือนฝอยสกุล *Radopholus* แยกได้จากพรรณไม้สกุล *Anubias* ในฟาร์มผลิตพรรณไม้ น้ำส่งออก เขตกรุงเทพมหานคร จากการศึกษารูปร่างลักษณะและวัดขนาดสัดส่วนของตัวเต็มวัยเพศผู้-เพศเมีย สามารถจัดจำแนกชนิด (species) เป็น *Radopholus similis* (Cobb, 1893) Thorne, 1949 และสามารถเจริญเติบโตได้ดีเมื่อเพาะเลี้ยงในชิ้นแคโรทสภาพปลอดเชื้อ โดยที่อุณหภูมิ 22 และ 32 °ซ พบว่า ไส้เดือนฝอยเจริญเติบโตครบวงจรชีวิตจากตัวเต็มวัยถึงตัวเต็มวัย ใช้เวลา 32 และ 26 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.

การพัฒนาชุดตรวจสอบและเทคนิคการแยกไส้เดือนฝอยในรากพืช
Development of Test Kit and Nematode Extraction Technique in Plant
Root

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด^{1/}
วานิช คำพานิช^{2/} ช่อทิพย์ ศัลยพงษ์^{3/}

^{1/} กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
^{2/} กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
^{3/} กลุ่มบริการส่งออกสินค้าเกษตร สำนักควบคุมวัสดุการเกษตร

บทคัดย่อ

จากการปลูกส่งออก 4 ชนิด ได้แก่ พรมมไม้น้ำ กล้วยประดับ หน้าวัว และฟีโลเดนดรอน ในกระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6-12 นิ้ว และทำการเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอย *Radopholus similis* บนชั้นแครอทสภาพปลอดเชื้อ จากนั้นทำการปลูกเชื้อไส้เดือนฝอยจำนวน 200 ตัว/ต้น บริเวณรากของพืชทดสอบเป็นเวลา 2-3 เดือน นำรากพรมมไม้น้ำ กล้วยประดับ หน้าวัว และฟีโลเดนดรอน มาทดสอบแยกไส้เดือนฝอยออกจากรากโดยวิธีชอยรากละเอียด นำไปแช่และเขย่าในแอลกอฮอล์ 5% คลอโรกซ์ 0.5% อะบาเม็กติน 0.3% และฟีโพรนิล 0.3% พบว่าการเขย่ารากเป็นเวลา 3 นาที ด้วยแอลกอฮอล์ 5% สามารถแยกไส้เดือนฝอยออกจากรากพืชทดสอบได้ดีที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 73 62 48 และ 78 % ของรากพรมมไม้น้ำ กล้วยประดับ หน้าวัว และฟีโลเดนดรอน ตามลำดับ รองลงมาคืออะบาเม็กติน 0.5 % เท่ากับ 35 24 18 และ 42 % ของรากพรมมไม้น้ำ กล้วยประดับ หน้าวัว และฟีโลเดนดรอน ตามลำดับ และมีความแตกต่างกับความเข้มข้นอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

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) สำหรับในกรณีตรวจแยกไส้เดือนฝอยที่อยู่ในเนื้อเยื่อราก ลึก เช่น ไส้เดือนฝอยในกลุ่ม migratory endoparasite (*Hirschmanniella*, *Radopholus* และ *Pratylenchus*) ใช้วิธีพ่นหมอกหรือ Mist chamber (Hooper, 1970) ซึ่งแต่ละวิธีการตรวจแยกยังมีข้อดีข้อเสียแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดของไส้เดือนฝอย ชนิดพืชที่ตรวจแยก ตัวอย่างพืชหรือวัสดุที่ใช้ตรวจ จำนวนตัวอย่าง ค่าใช้จ่าย ความยากง่ายในการปฏิบัติหรือตรวจวิเคราะห์ มาตรฐานของเครื่องมือ และผู้ปฏิบัติงาน จึงต้องมีการพิจารณากระบวนการตรวจให้เหมาะสมเพื่อเกิดความแม่นยำ และ/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 จึงจะทำให้ไส้เดือนฝอยเคลื่อนที่ออกมาจากรากหรือไส้เดือนฝอยอยู่ในรากก็อาจไม่เคลื่อนที่ออกมา ทำให้การตรวจแยกผิดพลาดขาดความแม่นยำ (นุชนารถ และ วานิช, 2551)

ปี 2552 นุชนารถ และวารภรณ์ ได้ทดสอบการใช้คลื่นเหนือเสียง (Ultrasonic) ที่ความถี่ 50/60 kHz. เป็นเวลา 10 นาที สามารถแยกไส้เดือนฝอย *R. similis* ออกจากรากไม้ น้ำสกุล *Anubias* sp. โดยผ่านน้ำเป็นตัวกลางได้จำนวนเฉลี่ย 26.4 ตัว ในขณะที่ใช้วิธีพ่นหมอกด้วยเครื่องพ่นหมอก เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แยกได้เท่ากับ 8.2 ตัว เมื่อทำการทดสอบระยะเวลาที่เหมาะสมในการแช่รากไม้ในเครื่อง Ultrasonic ที่ 5 10 20 40 และ 60 นาที พบว่าการแช่รากเป็นเวลา 20 นาที สามารถแยกไส้เดือนฝอยออกจากรากได้เฉลี่ย 38.3 ตัว ซึ่งเป็นระยะเวลาที่คลื่นเสียงไม่ทำความเสียหายให้กับรากไม้ น้ำสามารถนำกลับไปปลูกต่อได้ จากผลการทดสอบเปรียบเทียบ วิธีการต่างๆ ในการแยกไส้เดือนฝอยจากรากพืช พบว่าการใช้คลื่นเสียงมีประสิทธิภาพในการแยกไส้เดือนฝอยได้ดีกว่าวิธีพ่นหมอก และวิธี Sucrose Centrifuge Method โดยวิธีแยกด้วยคลื่นเสียงใช้เวลาเพียง 20 นาที ในขณะที่วิธีพ่นหมอกใช้เวลานานกว่า 48 ชั่วโมง ตลอดจนการเตรียมตัวอย่างรากพืชไม่ยุ่งยาก ประหยัดเวลา แรงงาน และค่าใช้จ่ายกว่าวิธี Centrifuge floating method รวมทั้งการใช้คลื่นเสียงแยกไส้เดือนฝอยจากรากพืช ยังสามารถรองรับการตรวจพืชส่งออกในปริมาณมากกว่า 100 ตัวอย่าง/วัน

ปี 2554 กรมวิชาการเกษตร ได้พัฒนาชุดตรวจสอบภาคสนามโดยการใช้คลื่นเสียงชนิด Ultrasonic เป็นเครื่องมือในการแยกไส้เดือนฝอยจากราก ใช้เวลา 20 นาที พร้อมติดตั้งกล้องจุลทรรศน์ขนาดเล็ก (mini microscope) กำลังขยาย 50 เท่า ใช้ส่องตรวจไส้เดือนฝอยที่แยกได้ทันที ซึ่งเป็นชุดสำเร็จรูปที่เจ้าหน้าที่ตรวจพืช และเกษตรกร สามารถพกพาไปใช้ในภาคสนามได้ด้วยตนเอง (Tangchitsomkid, 2012)

อย่างไรก็ตามเครื่อง Ultrasonic ยังมีราคาค่อนข้างสูง จึงควรพัฒนาเทคนิคอื่นๆ ในการแยกไส้เดือนฝอย เพื่อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของเกษตรกรหรือเจ้าหน้าที่ตรวจรับรองพืชนำเข้า-ส่งออก ภาคสนาม สามารถนำไปใช้ปฏิบัติในแปลงปลูกได้อย่างมีประสิทธิภาพและเหมาะสม

ดังนั้น การตรวจสอบไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่อาจติดมากับพืชที่นำเข้าหรือส่งออกไปยังประเทศคู่ค้า จึงเป็นเรื่องที่มีความสำคัญและมีผลกระทบต่อ การส่งออกของประเทศไทยในขณะนี้เป็นอย่างยิ่ง การพัฒนาเครื่องมือและเทคนิคการตรวจแยกไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ให้ได้เครื่องมือและเทคนิคที่สามารถรองรับการทำงานกับตัวอย่างพืชจำนวนมากในคราวเดียวกัน เพื่อประหยัดเวลาและแรงงาน มุ่งเน้นการใช้วัสดุ-อุปกรณ์ในการสร้างเครื่องมือที่มีราคาถูก หาได้ง่ายในประเทศ สะดวกในการใช้งาน และมีประสิทธิภาพ รวมถึงผู้ปฏิบัติหรือเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชสามารถตรวจสอบได้ด้วยตนเอง ซึ่งถือเป็นเรื่องเร่งด่วนและสอดคล้องกับความต้องการในการใช้ตรวจพืชที่นำเข้าและส่งออกของประเทศไทยเป็นอย่างยิ่ง

วัตถุประสงค์ของการทดลอง เพื่อพัฒนาเครื่องมือและเทคนิคการตรวจแยกไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่เข้าทำลายราก ให้เป็นวิธีการตรวจอย่างง่าย มีความแม่นยำ ได้เป็นชุดตรวจสอบมีราคาถูก และมีประสิทธิภาพ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สารเคมีชนิดต่างๆ ได้แก่ แอลกอฮอล์ 5% คลอโรกซ์ 0.5% อะบาเม็กติน 0.3% และฟิโพรนิล 0.3%
2. ไส้เดือนฝอย *R. similis* ที่ใช้ในการทดสอบ เพาะเลี้ยงจากชิ้นแครอทในสภาพปลอดเชื้อ
3. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (Stereo microscope) และกำลังขยายสูง (Compound microscope) พร้อมกล้องถ่ายภาพดิจิทัล
4. รากพืชทดสอบ ได้แก่ พรรณไม้หน้า (Anubias nana) กล้วยประดับ หน้าวัว และฟิโลเดนดรอน
5. วัสดุ-อุปกรณ์ และเครื่องแก้วสำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการไส้เดือนฝอย

วิธีการ

1. การเพิ่มไส้เดือนฝอย *R. similis* ในชิ้นแครอท
 - เตรียมหัวเชื้อไส้เดือนฝอย *R. similis* ทำการล้างฆ่าเชื้อที่ผิวโดยแช่ในสาร 0.1% hyamine เป็นเวลา 15 นาที และแช่ล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อซ้ำ 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 และจุ่มล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อซ้ำ 2 ครั้ง วางผึ่งชิ้นแครอทให้แห้งในตู้ปลอดเชื้อประมาณ 30 นาที จากนั้นใช้ปากคีบฆ่าเชื้อ คีบชิ้นแครอทวางลงบนอาหารวุ้นบริเวณกลางจาน ได้เป็นจานอาหารเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอย
 - การเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอยในชิ้นแครอท นำหัวเชื้อไส้เดือนฝอยจำนวน 100+10 ตัว/น้ำกลั่น 50 ไมโครลิตร หยดลงบนชิ้นแครอทในจานอาหารเพาะเลี้ยงที่เตรียมไว้ โดยปฏิบัติในตู้ปลอดเชื้อ จากนั้นหุ้มจานเพาะเลี้ยงด้วยกระดาษอลูมิเนียมฟรอยด์ เก็บไว้ในที่มีดที่อุณหภูมิห้อง

2. การเตรียมรากพืชทดสอบที่ถูกใส่เดือนฝอยเข้าทำลาย

นำต้นพืชทดสอบ ได้แก่ พรรณไม้หน้า (Anubias nana) กล้วยประดับ หน้าวัว และพิโลเดนดรอน ปลูกลงในภาชนะบรรจุดิน/ทรายหยาบ จำนวน 20 ต้น เป็นเวลา 7 วัน และนำใส่เดือนฝอย *R. similis* ที่เพาะเลี้ยงได้จากชิ้นแคrotch จำนวน 200 ตัว/ต้น หยอดลงบริเวณโคนต้น จากนั้นปลูกเลี้ยงพืชเป็นเวลา 2 เดือน ได้รากพืชทดสอบที่ถูกใส่เดือนฝอยเข้าทำลายสำหรับการทดลอง

3. การทดสอบแยกใส่เดือนฝอยออกจากราก

นำรากพืชทดสอบแต่ละชนิดที่ถูกใส่เดือนฝอย *R. similis* เข้าทำลาย จำนวน 5 กรัม/ซ้ำ ซอยให้ละเอียดใส่ในขวด flask ขนาด 250 มล. เติมน้ำต่าง ๆ 4 ชนิด ได้แก่ แอลกอฮอล์ 5% คลอโรกซ์ 0.5% อะบาเม็กติน 0.3% และฟิโพรนิล 0.3% ปริมาตรสาร 100 มล. และทำการเขย่าด้วยมือเป็นเวลา 3 นาที โดยมีการเขย่าและเขย่าในน้ำกลั่นเป็นตัวเปรียบเทียบ จากนั้นเทผ่านตะแกรงหยาบ 20 mesh เพื่อแยกชิ้นส่วนรากบนตะแกรงหยาบ ได้น้ำผ่านตะแกรงหยาบลงบนตะแกรงละเอียดขนาด 400 mesh แยกได้ใส่เดือนฝอยบนตะแกรงละเอียด เก็บน้ำและใส่เดือนฝอยบนตะแกรงละเอียดนำไปตรวจนับจำนวน สำหรับชิ้นส่วนรากที่อยู่บนตะแกรงหยาบนำไปปั่นละเอียดเพื่อแยกใส่เดือนฝอยที่เหลืออยู่ในรากเพื่อตรวจนับ โดยการกรองแยกเศษเนื้อเยื่อรากผ่านตะแกรงหยาบและตะแกรงละเอียดตามลำดับ

บันทึกผล นับจำนวนของใส่เดือนฝอย *R. similis* ที่แยกได้จากการแช่และเขย่า 3 นาที ในสารและพืชแต่ละชนิด และนับจำนวนใส่เดือนฝอยในรากปั่นละเอียด ตรวจนับภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย คำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ออกจากรากหลังการเขย่า

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา 1 ปี เริ่มตั้งแต่เดือนตุลาคม 2553 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2554

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการแช่และเขย่ารากพืชที่ซอยละเอียดด้วยมือจำนวน 4 ชนิด เป็นเวลา 3 นาที ในสารชนิดต่างๆ พบว่า แอลกอฮอล์ 5% สามารถแยกใส่เดือนฝอย *R. similis* ออกจากรากได้ดีที่สุด โดยพบจำนวนใส่เดือนฝอยเคลื่อนที่ออกมาจากรากเท่ากับ 73 62 48 และ 78 % ของรากพรรณไม้หน้า กล้วยประดับ หน้าวัว และพิโลเดนดรอน ตามลำดับ รองลงมาคืออะบาเม็กติน และฟิโพรนิล 0.3% โดยอะบาเม็กติน 0.3% พบใส่เดือนฝอยเคลื่อนที่ออกมาจากรากเท่ากับ 35 24 18 และ 42% ของรากพรรณไม้หน้า กล้วยประดับ หน้าวัว และพิโลเดนดรอน ตามลำดับ และฟิโพรนิลเท่ากับ 30 16 19 และ 38 % ของรากพรรณไม้หน้า กล้วยประดับ หน้าวัว และพิโลเดนดรอน ตามลำดับ ในขณะที่การแช่และเขย่ารากในคลอโรกซ์ 0.5% พบใส่เดือนฝอยเคลื่อนที่ออกมาจากรากน้อยที่สุดเท่ากับ 22 14 10 และ 26 % ของรากพรรณไม้หน้า กล้วยประดับ หน้าวัว และพิโลเดนดรอน ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า สารที่ใช้ทดสอบชนิดต่างๆ มีผลต่อการเคลื่อนที่ออกจากรากพืชของไส้เดือนฝอย *R. similis* โดยเฉพาะแอลกอฮอล์ซึ่งสามารถซึมเข้าเนื้อเยื่อรากและขับไล่ไส้เดือนฝอยให้เคลื่อนตัวออกมาได้มากที่สุดเมื่อเทียบกับสารอื่นๆ โดยการแช่เขย่ารากขอยละเอียดในแอลกอฮอล์ 5 % แยกไส้เดือนฝอยได้จำนวนมาก ดังนั้น การขอยรากให้ละเอียดช่วยให้สารชนิดต่างๆ ซึมเข้าสู่เนื้อเยื่อพืชได้ทั่วถึงกว่าการตัดรากเป็นชิ้นเล็กๆ และช่วยให้ไส้เดือนฝอยเคลื่อนที่ออกมาได้จำนวนมากเพียงพอที่จะตรวจสอบได้อย่างรวดเร็วภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ สามารถนำวิธีการดังกล่าวมาปรับใช้ตรวจรับรองพืชเพื่อการปลูกต่อในแหล่งผลิต โดยการตรวจพบไส้เดือนฝอยเพียง 1 ตัวของการสุ่มตรวจพืชในบ่อปลูกหรือโรงเรือนปลูก จะไม่สามารถส่งออกได้ และบ่อปลูกหรือโรงเรือนนั้นๆ ต้องมีมาตรการป้องกันกำจัดให้หมดไป แล้วทำการตรวจสอบรากใหม่ จึงจะผ่านการตรวจออกไปรับรองเพื่อการส่งออกต่อไป

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์ของไส้เดือนฝอย *Raapholus similis* ที่เคลื่อนที่ออกจากรากพืชทดสอบจำนวน 4 ชนิด ที่ขอยละเอียด นำไปแช่ด้วยสารชนิดต่างๆ และเขย่าด้วยมือ เป็นเวลา 3 นาที (ค่าเฉลี่ย 5 ซ้ำ)

ชนิดของรากพืช (นน. 10 กรัม)	ไส้เดือนฝอยที่แยกได้หลังการเขย่า (%) ^{1/}			
	แอลกอฮอล์ 5%	คลอโรกซ์ 0.5%	อะบาเม็กติน 0.3%	ฟีโพรนิล 0.3 %
พรรณไม้ น้ำ	73	22	35	30
กล้วยประดับ	62	14	24	16
หน้าวัว	48	10	18	19
ฟีโลเดนดรอน	78	26	42	38

$$^{1/} \% \text{ ไส้เดือนฝอยหลังการเขย่า} = \frac{\text{จำนวนไส้เดือนฝอยหลังการเขย่า}}{\text{ผลรวมของไส้เดือนฝอย}} \times 100$$

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การขอยรากให้ละเอียดและนำไปแช่ในแอลกอฮอล์ 5 % เขย่าด้วยมือเป็นเวลา 3 นาที สามารถแยกไส้เดือนฝอย *R. similis* ออกจากรากพืชทดสอบได้ดีที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 73 62 48 และ 78 % ของรากพรรณไม้ น้ำ กล้วยประดับ หน้าวัว และฟีโลเดนดรอน ตามลำดับ

เอกสารอ้างอิง

- นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. 2553. การจัดการศัตรูพืชในพรมมไ้มน้ำเพื่อการส่งออก. ใน เอกสารประกอบการฝึกอบรมโครงการพัฒนาการผลิตสัตว์น้ำสวยงามและพรมมไ้มน้ำส่งออก. วันที่ 17-18 มิถุนายน 2553. สถาบันวิจัยสัตว์น้ำสวยงามและพรมมไ้มน้ำ สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด, กรุงเทพฯ. 29 หน้า.
- นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และ วราภรณ์ ประกอบ. 2552. การใช้คลื่นเสียงตรวจแยกไส้เดือนฝอยศัตรูพืชจากรากพรมมไ้มน้ำเพื่อการส่งออก. ใน การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 9 จ. อุบลราชธานี.
- นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และ วาณิช 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.

อนุกรมวิธานแมงมุมสกุล *Argiope*Taxonomic study on Spider Fauna in Genus *Argiope*.วิมลวรรณ โชติวงศ์^{1/} มานิตา คงชื่นสิน^{2/}พิเชฐ เชาว์วัฒนวงศ์^{1/} พลอยชมพู กรวิภาสเรือง^{1/}^{1/} กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช^{2/} ผู้เชี่ยวชาญ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

สำรวจและเก็บรวบรวมแมงมุมสกุล *Argiope* ณ จังหวัด กำแพงเพชร เพชรบุรี สมุทรสงคราม นครราชสีมา กาญจนบุรี ระยอง ชัยนาท เชียงใหม่ได้ แมงมุม *Argiope pulchella* จำนวน 5 ตัวอย่าง, *A. versicolor* จำนวน 3 ตัวอย่าง, *A. catenulata* จำนวน 3 ตัวอย่าง, *A. jinghongensis* จำนวน 3 ตัวอย่าง, *A. sp.* จำนวน 1 ตัวอย่าง และ *A. dang* (new record) จำนวน 5 ตัวอย่าง และกำลังอยู่ระหว่างการจัดจำแนกตัวอย่าง

คำนำ

ปัจจุบันนักวิจัยได้ให้ความสนใจต่อศัตรูธรรมชาติมากขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งแมงมุม ดังเช่นในโครงการป้องกันกำจัดข้าวแบบผสมผสาน ซึ่งพัฒนาเพื่อลดการใช้สารเคมีหรือเลือกใช้สารเคมีที่มีฤทธิ์เฉพาะทาง (Selective insecticide) (Kenmor, 1979) และนักวิจัยจากหลายประเทศต่างก็ลงความเห็นว่าแมงมุมเป็นตัวห้ำที่มีปริมาณมากในไร่ นา ป่า และสวนที่ไม่ใช้สารฆ่าแมลงหรือใช้สารฆ่าแมลงน้อยและมีบทบาทสำคัญในการลดจำนวนประชากรศัตรูพืชต่างๆ เช่น เพลี้ยไฟ, ไร, หนอนผีเสื้อ, แมลงวันผลไม้และเพลี้ยหอย เป็นต้น (Mansour *et.al.*, 1980) ชนิดของแมงมุมมีความหลากหลายเป็นอย่างยิ่ง (Chu and Okuma, 1970) แมงมุมวงศ์ Araneidae เป็นแมงมุมวงศ์ใหญ่ทั่วโลกมี 163 สกุล และมากกว่า 4,000 ชนิด (Daxing *et.al.*, 1999) ซึ่งสกุล *Argiope* ก็รวมอยู่ในจำนวนนั้น แมงมุมสกุล *Argiope* เป็นแมงมุมใยกลม เกือบทุกชนิดสร้างใยกลมดักเหยื่อตามต้นไม้ ไม้พุ่ม หญ้า มักไม่พบอาศัยตามพื้นดิน ใยดักเหยื่อมีลักษณะสวยงาม แต่ละชนิดมีลักษณะของใยแตกต่างกันบ้าง ซึ่งสกุล *Argiope* พบได้มากในนาข้าว

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-12-54

แมงมุมวงศ์นี้มีบทบาทในการกำจัดแมลงศัตรูพืชเศรษฐกิจ เช่น เพลี้ยไถ่แจ้ส้ม เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน ผีเสื้อ ตั๊กแตน แมลงวันผลไม้ ประเทศไทยตั้งอยู่ในเขตร้อน มีความหลากหลายของชนิดแมงมุมเป็นอันมาก แต่การศึกษาด้านอนุกรมวิธานของแมงมุมสกุล *Argiope* ยังทำน้อยมาก สมควรศึกษาอนุกรมวิธานแมงมุมสกุล *Argiope* เพื่อทราบจำนวนชนิด ชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้อง ลักษณะความแตกต่างที่ใช้จำแนกชนิด เขตการแพร่กระจาย พืชอาศัยเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานทางวิทยาศาสตร์ เป็นแหล่งสืบค้นและเปรียบเทียบตัวอย่างต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1 อุปกรณ์ที่ใช้เก็บตัวอย่าง ได้แก่ สวิงจับแมลง หลอดแก้วทดลอง ขวดดองตัวอย่างแมงมุม ขนาดต่างๆ กัน กล่องพลาสติกใสขนาดต่างๆ กัน กระดาษทิชชู ปากคีบ พู่กัน ถุงพลาสติกใส ขนาดต่าง ๆ กัน สารเคมี ได้แก่ alcohol 95% ethyl acetate

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

3 อุปกรณ์ในการเขียนผลงานวิจัยและเผยแพร่ ได้แก่ อุปกรณ์ในการถ่ายภาพ กล้องจุลทรรศน์ ติดตั้งด้วยกล้องถ่ายภาพ อุปกรณ์คอมพิวเตอร์ วัสดุสำนักงาน

วิธีการ

1 การเก็บและรักษาตัวอย่างแมงมุมมีหลายวิธี ซึ่งจะบันทึกข้อมูลพิกัดทางภูมิศาสตร์ (GPS) การเก็บและรักษาตัวอย่างแมงมุมดังนี้

1.1 การเคาะ เดินเข้าไปในสวนไม้ผล ใช้ท่อนไม้กลมยาวเคาะกิ่งต้นไม้ที่มีสวิงจับแมลงรองรับข้างใต้ แมงมุมจะตกลงในสวิง รักษาตัวอย่างแมงมุมในขวดที่บรรจุแอลกอฮอล์ 75%

1.2 การการมองหาและจับโดยตรง วิธีนี้เหมาะสำหรับจับแมงมุมทุกเวลาและสถานที่และทำให้ผู้จับสามารถทราบถึงพฤติกรรมต่าง ๆ ของแมงมุมแต่ละชนิด บันทึกพฤติกรรมต่าง ๆ ของแมงมุมแต่ละชนิดในสภาพธรรมชาติ เช่น วิธีจับเหยื่อ ชนิดของเหยื่อ เวลาที่ออกหากิน ลักษณะใยดัก

เหยื่อ เป็นต้น จับแมงมุมโดยใช้มือหรือหลอดทดลองช่วยในการจับ ส่วนการเก็บรักษาตัวอย่างแมงมุมทำเช่นเดียวกับข้อ 1.1

1.3 การโอบ ใช้สวิงจับแมลงโอบแมงมุมจากวัชพืชในไร่ สวนไม้ผล หญ้า ในนาข้าว รักษาตัวอย่างแมงมุมเช่นเดียวกับข้อ 1.1

2 การศึกษาอนุกรมวิธาน

แมงมุมที่เก็บรักษาไว้ นำมาจำแนกเป็นวงศ์ สกุล ชนิด การจำแนกศึกษาจากตำราต่างๆ จากเอกสารเกี่ยวกับการศึกษาอนุกรมวิธานแมงมุม วาดรูปโดยใช้ grid scale เพื่อให้ได้ขนาดและสัดส่วนที่แท้จริงตามตัวอย่างแมงมุมที่วาด บรรยายลักษณะทางอนุกรมวิธาน ทำ key เพื่อใช้เป็นแนวทางในการจำแนก ถ่ายรูปแมงมุม เก็บและรักษาตัวอย่างแมงมุมไว้ในพิพิธภัณฑ์กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยและพัฒนาอารักขาพืช

สถานที่ทำการทดลอง

นาข้าวและสวนไม้ผลของเกษตรกรทั่วประเทศ และสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ระยะเวลาทำการทดลอง เริ่มต้น ตุลาคม 2554 สิ้นสุด กันยายน 2557

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจและเก็บรวบรวมแมงมุมสกุล *Argiope* ณ จังหวัด กำแพงเพชร เพชรบุรี สมุทรสงคราม นครราชสีมา กาญจนบุรี ระยอง ชัยนาท เชียงใหม่ได้ แมงมุม *Argiope pulchella* จำนวน 5 ตัวอย่าง, *A. versicolor* จำนวน 3 ตัวอย่าง, *A. catenulata* จำนวน 3 ตัวอย่าง, *A. jinghongensis* จำนวน 3 ตัวอย่าง, *A. sp.* จำนวน 1 ตัวอย่าง และ *A. dang* (new record) จำนวน 5 ตัวอย่าง และกำลังอยู่ระหว่างการจัดจำแนกตัวอย่าง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ทั้งนี้ *Argiope pulchella* นับว่าเป็นแมงมุมชนิดใหม่ที่เก็บเพิ่มเติมไว้ในพิพิธภัณฑ์และ *A. dang* เป็นแมงมุมที่ค้นพบครั้งแรกในประเทศไทย และกำลังอยู่ระหว่างการจัดจำแนกตัวอย่าง

เอกสารอ้างอิง

- Chu, Y. and C. Okuma. 1970. Preliminary survey on the spider fauna of the paddy fields in Taiwan. *Mushi*. 44 (9) : 65 – 88.
- Daxiang, S. , Z. Mingsheng and C. Jun. 1999. The spiders of China. Hebei Science and Technology Publishing House. 640 p.
- Kenmore, P.E. 1979. Limits of the brown planthopper problem : implications for integrated pest management. Saturday Seminar, June 30, 1979. International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines. 78p.
- Mansour, F. , Rosen, D. , Shulov, A. and Plaut, H. N. 1980. Evaluation of spiders as biological control agents of *Spodoptera littoralis* (Boisd) larvae on apple in Israel. *Acta. Ecol. , Appl.* 1: 225 – 232.

อนุกรมวิธานแมงมุมวงศ์ Tetragnathidae

Taxonomic study on Spider Fauna in Family Tetragnathidae.

วิมลวรรณ โชติวงศ์ มานิตา คงชื่นสิน พิเชฐ เขาวรรณวัฒน์

พลอยชมพู กรวิภาสเรือง

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

สำรวจและเก็บรวบรวมแมงมุมวงศ์ Tetragnathidae ณ จังหวัด กาญจนบุรี เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ นครราชสีมา ชัยนาท ระยอง จันทบุรี และ ตราด ได้แมงมุม *Tetragnatha virescens* จำนวน 3 ตัวอย่าง, *T. nitens* จำนวน 2 ตัวอย่าง, *T. maxillosa* จำนวน 2 ตัวอย่าง, *Leucauge* sp. จำนวน 3 ตัวอย่าง และ *Opadometa grata* จำนวน 2 ตัวอย่าง *Tetragnatha vermiformis* จำนวน 2 ตัวอย่าง และกำลังอยู่ระหว่างการจัดจำแนกตัวอย่าง

คำนำ

แมงมุมเป็นตัวห้ำที่มีประสิทธิภาพมากสามารถกินเหยื่อได้หลากหลาย และเป็นตัวห้ำที่มีปริมาณมากในไร่ นา ป่า ในสวนผัก และสวนผลไม้ โดยเฉพาะส่วนที่ไม่ได้ใช้ยาฆ่าแมลง หรือใช้ยาฆ่าแมลงน้อย จะพบว่าแมงมุมมีบทบาทที่สำคัญในการควบคุมศัตรูพืชต่างๆ เช่น เพลี้ยไฟ, ไร, หนอนผีเสื้อ, แมลงวันผลไม้และเพลี้ยหอย เป็นต้น (Mansour *et.al.*, 1980) ในประเทศไทยวิภาดา ปี 2544 ได้ศึกษาแมงมุมไว้หลายวงศ์ด้วยกันเช่นวงศ์ Clubionidae วงศ์ Gnaphosidae วงศ์ Oxyopidae โดยเฉพาะวงศ์ Tetragnathidae (แมงมุมเขี้ยวใหญ่, Big-Jawed Spiders) มี 57 สกุล และหลายร้อยชนิด ชักใยแบบกลมตักเหยื่อ สกุล *Tetragnatha* นับว่าเป็นสกุลที่มีความสำคัญในควบคุมประชากรเพลี้ยจักจั่นสีเขียวในนาข้าว แมงมุมในวงศ์นี้จึงนับว่ามีความสำคัญที่ควรจะต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงจำนวนชนิดที่พบในประเทศไทย ซึ่งข้อมูลที่ได้จะเป็นพื้นฐานของการบริหารศัตรูพืชอย่างมีประสิทธิภาพ โดยมีจุดมุ่งหมายในการลดใช้สารฆ่าแมลงเพื่อความปลอดภัย ประหยัด และไม่เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม ประกอบกับ ณ ปัจจุบัน ไม่มีผู้ที่ศึกษาทางด้านอนุกรมวิธานของแมงมุมทางการเกษตรในประเทศไทย และการทำวิจัยในครั้งนี้มุ่งหาแมงมุมใน Family Tetragnathidae ชนิดใหม่ ดังนั้นในการวิจัยในครั้งนี้จึงนับเป็นประโยชน์อีกทางที่จะสืบต่องานที่เป็นประโยชน์ เพื่อไม่ให้งานวิจัยด้านนี้สูญหายไปจากประเทศไทย

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-21-55

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1 อุปกรณ์ที่ใช้เก็บตัวอย่าง ได้แก่ สวิงจับแมลง หลอดแก้วทดลอง ขวดดองตัวอย่างแมงมุม ขนาดต่างๆ กัน กล่องพลาสติกใสขนาดต่างๆ กัน กระดาษทิชชู ปากคีบ พู่กัน ถุงพลาสติกใส ขนาดต่าง ๆ กัน สารเคมี ได้แก่ alcohol 95% ethyl acetate

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

3 อุปกรณ์ในการเขียนผลงานวิจัยและเผยแพร่ ได้แก่ อุปกรณ์ในการถ่ายภาพ กล้องจุลทรรศน์ ติดตั้งด้วยกล้องถ่ายภาพ อุปกรณ์คอมพิวเตอร์ วัสดุสำนักงาน

วิธีการ

1 การเก็บและรักษาตัวอย่างแมงมมามีหลายวิธี ซึ่งจะบันทึกข้อมูลพิกัดทางภูมิศาสตร์ (GPS) การเก็บและรักษาตัวอย่างแมงมมดังนี้

1.1 การเคาะ เดินเข้าไปในสวนไม้ผล ใช้ท่อนไม้กลมยาวเคาะกิ่งต้นไม้ที่มีสวิงจับแมลงรองรับข้างใต้ แมงมจะตกลงในสวิง รักษาตัวอย่างแมงมในขวดที่บรรจุแอลกอฮอล์ 75%

1.2 การการมองหาและจับโดยตรง วิธีนี้เหมาะสำหรับจับแมงมทุกเวลาและสถานที่และทำให้ผู้จับสามารถทราบถึงพฤติกรรมต่าง ๆ ของแมงมแต่ละชนิด บันทึกพฤติกรรมต่าง ๆ ของแมงมแต่ละชนิดในสภาพธรรมชาติ เช่น วิธีจับเหยื่อ ชนิดของเหยื่อ เวลาที่ออกหากิน ลักษณะใยดักเหยื่อ เป็นต้น จับแมงมโดยใช้มือหรือหลอดทดลองช่วยในการจับ ส่วนการเก็บรักษาตัวอย่างแมงมทำเช่นเดียวกับข้อ 1.1

1.3 การโฉบ ใช้สวิงจับแมลงโฉบแมงมจากวัชพืชในไร่ สวนไม้ผล หญ้า ในนาข้าว รักษาตัวอย่างแมงมเช่นเดียวกับข้อ 1.1

2 การศึกษาอนุกรมวิธาน

แมงมที่เก็บรักษาไว้ นำมาจำแนกเป็นวงศ์ สกุล ชนิด การจำแนกศึกษาจากตำราต่างๆ จากเอกสารเกี่ยวกับการศึกษาอนุกรมวิธานแมงม วาดรูปโดยใช้ grid scale เพื่อให้ได้ขนาดและสัดส่วนที่แท้จริงตามตัวอย่างแมงมที่วาด บรรยายลักษณะทางอนุกรมวิธาน ทำ key เพื่อใช้เป็น

แนวทางในการจำแนก ถ่ายรูปแมงมุม เก็บและรักษาตัวอย่างแมงมุมไว้ในพิพิธภัณฑ์กลุ่มกีฏและ
สัตววิทยา สำนักวิจัยและพัฒนาอารักขาพืช

สถานที่ทำการทดลอง

นาข้าวและสวนไม้ผลของเกษตรกรทั่วประเทศ และสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ระยะเวลาทำ
การทดลอง

เริ่มต้น ตุลาคม 2554 สิ้นสุด กันยายน 2557

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจและเก็บรวบรวมแมงมุมวงศ์ Tetragnathidae ณ จังหวัด กาญจนบุรี เพชรบุรี
ประจวบคีรีขันธ์ นครราชสีมา ชัยนาท ระยอง จันทบุรี และ ตราด ได้แมงมุม *Tetragnatha*
virescens จำนวน 3 ตัวอย่าง, *T. nitens* จำนวน 2 ตัวอย่าง, *T. maxillosa* จำนวน 2 ตัวอย่าง
, *Leucauge* sp. จำนวน 3 ตัวอย่าง และ *Opadometa grata* จำนวน 2 ตัวอย่าง
Tetragnatha vermiformis จำนวน 2 ตัวอย่าง และกำลังอยู่ระหว่างการจัดจำแนกตัวอย่าง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ทั้งนี้ *Opadometa grata* นับว่าเป็นแมงมุมชนิดใหม่ที่เก็บเพิ่มเติมไว้ในพิพิธภัณฑ์ และกำลังอยู่
ระหว่างการจัดจำแนกตัวอย่างและสำรวจเพิ่มเติม

เอกสารอ้างอิง

วิภาดา วังศิลาบัตร. 2544. แมงมุมในสวนส้ม. เอกสารวิชาการ กองกีฏและสัตววิทยา

กรมวิชาการเกษตร กทส-ว-010-2544. ISBN 974-436-053-4. หน้า 108.

Mansour, F. , Rosen, D. , Shulov, A. and Plaut, H. N. 1980. Evaluation of spiders as
biological control agents of *Spodoptera littoralis* (Boisd) larvae on apple in
Israel. Acta. Ecol. , Appl. 1: 225 – 232.

อนุกรมวิธานผีเสื้อกลางคืนวงศ์ย่อย Pyraustinae
Taxonomy of Moth in Subfamily Pyraustinae

สุนัดดา เชาวลิต ฌัมย์พร บัวมาศ อิทธิพล บรรณการ
เกศสุตา สนศิริ ลีทิตติโรตม แก้วสวัสดิ์

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาอนุกรมวิธานผีเสื้อกลางคืนวงศ์ย่อย Pyraustinae ให้ได้ชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้อง ลักษณะความแตกต่างพร้อมแนวทางการวินิจฉัยชนิด พืชอาศัย และเขตการแพร่กระจายของผีเสื้อกลางคืนวงศ์ย่อยนี้ เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานประกอบการวินิจฉัยชนิดแมลงศัตรูพืช รongรับปัญหาด้านการนำเข้า-ส่งออกพืชในอนาคต ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2555 ในแหล่งปลูกพืชทั่วไป ทั้งพื้นที่เกษตร และพื้นที่ป่า ทั่วทุกภาคของประเทศไทย นำตัวอย่างที่สำรวจได้มา จำแนกชนิด ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จากการศึกษาครั้งนี้ใช้ตัวอย่างผีเสื้อกลางคืนวงศ์ย่อย Pyraustinae ทั้งหมดจำนวน 406 ตัวอย่าง จำแนกได้ 7 สกุล 7 ชนิด ได้แก่ *Leucinodes orbonalis* Guenée, *Omiodes diemenalis* Guenée, *Maruca vitrata* Fabricius และ *Diaphania indica* (Saunders), *Glyphodes emalis* Swinhoe, *Ostrinia furnacalis* Guenée), *Meroctena tullalis* Walker ตัวอย่างแมลงทั้งหมด นำเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-07-54

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* ทำลายพืชในวงศ์ถั่วคุดมดิน (*Calopogonium*), ถั่วลิสง ถั่วเหลือง กวาวเครือ อัญชัญ กระถิน ถั่วอก ในอินเดียผีเสื้อสกุลนี้จัดเป็นแมลงศัตรูพืชที่มีความสำคัญมากชนิดหนึ่ง (Dammerman, 1929) Govindan *et al.* (1989) รายงานว่าทุกชนิดของผีเสื้อในสกุล *Omiodes* เป็นศัตรูสำคัญของพืชตระกูลถั่ว และไม้ประดับบางชนิด Ghesquire, (1942) ศึกษาวงจรชีวิตของ *O. indicata* 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* เป็นศัตรูสำคัญของกล้วยเฮลิโคเนีย ปาล์มบางชนิด (Paine, 1964; Wilkie, 1994) ผีเสื้อในสกุล *Diaphania* พบว่าหนอนกัดกินใบและผล ทำให้เกิดความเสียหาย บางชนิดเข้าทำลายระยะติดผลใหม่ (Patel and Kulkarny, 1956) หนอนเจาะฝักถั่วมَارูคา ในสกุล *Maruca* เป็นศัตรูที่สำคัญเข้าทำลายถั่วพุ่มในระยะออกดอกและติดฝัก มีการระบาดตลอดปี โดยเฉพาะในฤดูแล้ง ทำความเสียหายแก่ดอกและฝัก (เพยาร์, 2543)

สำหรับในประเทศไทยยังไม่เคยมีการรายงานจำนวนชนิดของผีเสื้อในวงศ์ย่อยนี้ ดังนั้น ในเบื้องต้นจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานเพื่อได้ทราบชนิด ลักษณะความแตกต่าง พืชอาหาร และเขตการแพร่กระจายของผีเสื้อในวงศ์ย่อยนี้ได้อย่างถูกต้อง เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นด้านกีฏวิทยานำไปสู่การหาวิธีป้องกันกำจัดได้อย่างมีประสิทธิภาพ และเป็นพื้นฐานในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเพื่อการนำเข้า ส่งออกผลผลิตการเกษตรต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- 1) ตัวอย่างผีเสื้อกลางคืน ที่รวบรวมได้จากแปลงปลูกพืช
- 2) อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ สวิงจับแมลง ขวดฆ่า ขวดดอง ปากคีบ กล่องพลาสติกของกระดาษใส่ตัวอย่างแมลง กล่องใส่ตัวอย่างแมลง ถึงรักษาความเย็น
- 3) สารเคมีต่างๆ เช่น เอทิลอะซีเตท แอลกอฮอล์ 80%

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

5) กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereomicroscope ,compound microscope และกล้องถ่ายภาพ

6) อุปกรณ์วาดภาพ ได้แก่ ปากกา roting และกระดาษไขเขียนแบบ

7) เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของผีเสื้อกลางคืนวงศ์ Pyralidae

วิธีการ

1) สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างผีเสื้อจากแหล่งปลูกพืชทั่วไป ทั้งพื้นที่เกษตร และพื้นที่ป่า ทั่วทุกภาคของประเทศไทย ใช้สวิงจับแมลง (insect net) โฉบ เพื่อเก็บตัวอย่างผีเสื้อในช่วงเวลากลางวัน และติดตั้งกับดักแสงไฟ (light trap) เพื่อดักดูดผีเสื้อช่วงเวลากลางคืน ฆ่าโดยใช้ขวดฆ่า (killing jar) ซึ่งบรรจุน้ำยา ethyl acetate หลังจากผีเสื้อตายแล้ว ใช้เข็มไร้สนิม (stainless steel) ปักกลางอกด้านบนเพื่อรักษาตัวอย่างไม่ให้เสียหาย บันทึกรายละเอียด พืชอาหาร วัน เดือน ปี สถานที่เก็บตัวอย่าง และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง นำตัวอย่างใส่กล่อง เก็บรวมไว้ในกล่องรักษาความเย็นเพื่อป้องกันไม่ให้ตัวอย่างเน่าเสีย ตัวอย่างทั้งหมดที่รวบรวมได้นำกลับไปยังห้องปฏิบัติการ นอกจากตัวอย่างผีเสื้อที่ได้จากสภาพธรรมชาติแล้ว มีตัวอย่างผีเสื้อที่มีอยู่เดิมในพิพิธภัณฑ์ กรมวิชาการเกษตร ตัวอย่างที่ได้รับจากนักวิชาการ และตัวอย่างจากผู้มาขอรับบริการตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิด เพื่อใช้ในการศึกษาค้นคว้าวิจัย

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 เปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์ ในผีเสื้อบางชนิดซึ่งมีลักษณะภายนอกใกล้เคียงกันมากต้องใช้อวัยวะสืบพันธุ์เพศในการจำแนก ซึ่งมีขั้นตอนการทำสไลด์ดังนี้

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

- ตูดสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ออก ตึมน้ำกลั่นเพื่อล้างโพแทสเซียม-

ไฮดรอกไซด์ ที่ยังหลงเหลืออยู่ออกให้หมด ทำซ้ำอีก 1-2 ครั้ง ย้อมสีด้วยเกจส์สแตน (Gage's stain) ซึ่งเป็นสารละลายของแอซิดฟuchsine 0.5 กรัม กรดเกลือ 10% 25 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร แช่ทิ้งไว้ นาน 2-3 นาทีหรือนานถึง 12 ชั่วโมง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับโครงสร้างของลักษณะอวัยวะสืบพันธุ์ของตัวอย่างผีเสื้อ ที่จะติดสีได้ง่ายหรือยาก

- ย้ายตัวอย่างลงในน้ำกลั่นเพื่อทำการผ่าเอาอวัยวะสืบพันธุ์ออกจากท้อง ถ้าเป็นเพศผู้ ใช้ปากคีบปลายแหลมดึงอวัยวะสืบพันธุ์ออกจากท้องได้เลย แต่ถ้าเป็นเพศเมียใช้มีดผ่าตัดผ่าผนัง ลำตัวด้านข้างออกเพื่อป้องกันการเสียหายของอวัยวะสืบพันธุ์ ใช้พู่กันและปากคีบปลายแหลมทำความสะอาดไขมันส่วนเกินออกให้หมด

- ย้ายตัวอย่างลงแอลกอฮอล์ 30% จัดรูปร่างอวัยวะสืบพันธุ์ให้ได้ตามลักษณะที่ต้องการ ย้ายตัวอย่างแช่ในแอลกอฮอล์ 100% กำจัดน้ำออกให้หมด

- เมทา์ลงบนแผ่นสไลด์แก้ว โดยนำอวัยวะสืบพันธุ์ วางบนสไลด์ที่หยดน้ำยา Canada-balsam แล้วปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์ นำไปอบให้แห้งในตู้อบอุณหภูมิ 50 °C นาน 4 - 6 สัปดาห์ จึงนำออกมาศึกษา

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

5) จัดทำแนวทางวินิจฉัย (key) สกุลและชนิดของผีเสื้อกลางคืนวงศ์ย่อย Pyraustinae ที่รวบรวมได้พร้อมภาพประกอบ

6) จัดเก็บตัวอย่างที่ได้ศึกษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากลของการเก็บรักษาตัวอย่าง ผีเสื้อกลางคืนวงศ์ย่อย Pyraustinae ทุกชนิดที่รายงานไว้ต้องเก็บรักษาตัวอย่างจริงไว้เพื่อการตรวจสอบ สืบค้น และอ้างอิงในภายหลัง

เวลาและสถานที่

สถานที่ : - แหล่งปลูกพืชทั่วไป ทั้งพื้นที่เกษตร และพื้นที่ป่า ทั่วทุกภาคของประเทศไทย
- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัย-พัฒนาการอารักขาพืช

เวลา : เดือนตุลาคม 2553 – เดือนกันยายน 2556

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาอนุกรมวิธานผีเสื้อกลางคืนวงศ์ย่อย Pyraustinae ในแหล่งปลูกพืชทั่วไป ทั้งพื้นที่เกษตร และพื้นที่ป่า ทั่วทุกภาคของประเทศไทย ผลการตรวจวิเคราะห์ทั้งหมดจำนวน 395 ตัวอย่าง โดยใช้แนวทางการวินิจฉัยตามหลักอนุกรมวิธานแมลง รวมทั้งเปรียบเทียบกับผีเสื้อกลางคืนวงศ์ย่อย Pyraustinae ที่มีในพิพิธภัณฑ์แมลงของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร สามารถจำแนกได้ 7 สกุล 7 ชนิด โดยมีรายละเอียด ดังนี้

ตารางแสดงรายละเอียดของผีเสื้อกลางคืนวงศ์ย่อย Pyraustinae

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อสามัญ	แหล่งที่สำรวจพบ	พืชอาหาร	จำนวนตัวอย่าง
1. <i>Leucinodes orbonalis</i> Guenée	หนอนเจาะผลมะเขือ (eggplant fruit borer)	จังหวัดกาญจนบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี สระบุรี	มะเขือเปราะ มะเขือ ยาว มะเขือเสวย มะเขือเหลือง มะเขือ ม่วง มะเขือพวง	32
2. <i>Omiodes diemenalis</i> Guenée	หนอนม้วนใบถั่ว (soybean leaf folder)	จังหวัดนครปฐม จันทบุรี สุพรรณบุรี เพชรบุรี ระนอง กำแพงเพชร ตาก อุตรดิตถ์ เพชรบูรณ์	ใบถั่วเหลือง ถั่วฝักยาว วัชพืช	11
3. <i>Maruca vitrata</i> Fabricius	หนอนเจาะฝักถั่ว (maruca bean pod borer)	จังหวัด นครปฐม สุพรรณบุรี เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ กำแพงเพชร ตาก สุโขทัย เพชรบูรณ์ พิษณุโลก สระบุรี	ดอกแค ช่อดอกถั่ว ดอกทองกวาว เจาะ ถั่วฝักยาว ถั่วเขียว ใบ ถั่วแดง ใบมัสตาด ใบ โสน้ำ ดอก ฝักถั่วพู	18
ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อสามัญ	แหล่งที่สำรวจพบ	พืชอาหาร	จำนวนตัวอย่าง
4. <i>Diaphania indica</i> (Saunders)	ผีเสื้อหนอนฟัก (pumpkin caterpillar)	จังหวัดกาญจนบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี เพชรบุรี ชุมพร นครสวรรค์ อุตรดิตถ์ พิษณุโลก	ใบแตงโม ใบบวบ ใบ แฟง ดอก ใบแคน ตาลูป ใบแตงโม ใบตำลึง ใบแตงไทย ใบน้ำเต้า ใบ ดอก ผลมะระ ใบ แตงกวา ใบ มะเขือเทศ	135

5. <i>Glyphodes ernalis</i> Swinhoe	-	กรุงเทพฯ นนทบุรี น่าน ลำปาง	-	5
6. <i>Ostrinia fumacalis</i> Guenée)	ผีเสื้อหนอนเจาะลำต้น ข้าวโพด (Asian corn borer)	กรุงเทพฯ ชลบุรี ฉะเชิงเทรา ชัยนาท ราชบุรี สุพรรณบุรี ประจวบคีรีขันธ์ มหาสารคาม อุบลราชธานี	เจาะลำต้นข้าวโพด ต้น เดียว	183
7. <i>Meroctena tullalis</i> Walker	-	สระบุรี ฉะเชิงเทรา นครราชสีมา นนทบุรี เชียงใหม่ นครนายก เลย	ใบพิกุลป่า	22

หนอนเจาะผลมะเขือ (eggplant fruit borer) (ภาพที่ 1 ก)

ชื่ออื่น brinjal fruit borer

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

ชื่อเดิม -

รูปร่างลักษณะ

ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดกลาง ขนาดลำตัวเมื่อกางปีกกว้าง 2.0-2.5 เซนติเมตร หัว และอก ปกคลุมด้วยขนสีขาวสลับสีน้ำตาล ริมฝีปากล่างปล้องที่ 1 และ 2 สีน้ำตาลอ่อน ปล้องที่ 3 ส่วนโคนสีขาวส่วนปลายสีน้ำตาล ปีกคู่หน้า พื้นปีกสีขาว พบแถบสีน้ำตาลตามพาดตามขวางปีกที่บริเวณ โคนปีก กลางปีก และ ขอบปีกด้านนอกสุด ที่มุมปีกด้านบนสีน้ำตาลอ่อน ด้านล่างสีน้ำตาลเข้ม ปีกคู่หลังพื้นปีกสีขาว กลางปีกมีจุดสีน้ำตาลเข้ม 1 จุด ขอบปีกด้านนอกสุดสีน้ำตาล ขาทั้งสามคู่สีขาว บริเวณแข้งขา (tibia) ของขาคู่ที่ 1 ปกคลุมด้วยขนสีน้ำตาลเข้ม ท้องปกคลุมด้วยขนสีขาวสลับน้ำตาล

พืชอาหาร

ตัวหนอนกัดกินดอก ผล และส่วนเจริญของมะเขือเปราะ มะเขือยาว มะเขือเสวย มะเขือเหลือง มะเขือม่วง และมะเขือพวง

แหล่งที่สำรวจพบ

จังหวัดกาญจนบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี และสระบุรี

หนอนม้วนใบถั่ว (soybean leaf folder) (ภาพที่ 1 ข)

ชื่ออื่น	bean leaf rolle	
ชื่อวิทยาศาสตร์	<i>Omiodes diemenalis</i> Guenée (Lepidoptera: Crambidae: Pyraustinae)	
ชื่อเดิม	<i>Lamprosema diemenalis</i> Guenée	<i>Hedylepta diemenalis</i> Guenée
	<i>Asopia diemenalis</i> Guenée	<i>Lamprosema absistalis</i> (Walker)
	<i>Nacoleia diemenalis</i> Guenée	<i>Pyrausta absistalis</i> Walker
	<i>Asopia lydialis</i> Walker	<i>Botys ustalis</i> Lederer
	<i>Pyralis incertalis</i> Walker	<i>Hedylepta pyraustalis</i> Snellen

รูปร่างลักษณะ

ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดกลาง ขนาดลำตัวเมื่อกางปีกกว้าง 2.0-2.2 เซนติเมตร หัว ปกคลุมด้วยขนสีเหลือง ริมฝีปากล่างปล้องที่ 1 และ 2 สีเหลืองสลับน้ำตาลอ่อน ปล้องที่ 3 ส่วนโคนสีน้ำตาล ส่วนปลายสีเหลือง ออกปกคลุมด้วยขนสีเหลืองสลับน้ำตาล ปีกคู่หน้า พื้นปีกสีเหลือง มีแถบสีน้ำตาลพาดตามขวางที่บริเวณโคนปีก กลางปีก และขอบปีกด้านนอกสุด ปีกคู่หลังพื้นปีกสีเหลือง กลางปีกและปลายปีกมีแถบสีน้ำตาลพาดตามขวาง 2 แถบ ขาทั้งสามคู่สีเหลือง บริเวณแข้งขาของขาคู่ที่ 1 ปกคลุมด้วยขนสีน้ำตาล ท้องปกคลุมด้วยขนสีน้ำตาล

พืชอาหาร

ตัวหนอนทำลายโดยการกัดกินและม้วนใบถั่วเหลือง ถั่วฝักยาว วัชพืช

แหล่งที่สำรวจพบ

จังหวัดนครปฐม จันทบุรี สุพรรณบุรี เพชรบุรี ระนอง กำแพงเพชร ตาก อุตรดิตถ์ และเพชรบูรณ์

หนอนเจาะฝักถั่ว (maruca bean pod borer) (ภาพที่ 1 ค)

ชื่ออื่น	lima bean pod borer, spotted podborer, bean pod borer, legume pod borer, mung moth	
ชื่อวิทยาศาสตร์	<i>Maruca vitrata</i> Fabricius (Lepidoptera: Crambidae: Pyraustinae)	
ชื่อเดิม	<i>Maruca testulalis</i> Geyer	
	<i>Crochiphora testulalis</i> Geyer	

รูปร่างลักษณะ

ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดกลาง ขนาดลำตัวเมื่อกางปีกกว้าง 2.2-2.5 เซนติเมตร หัวสีน้ำตาลมีแถบสีขาวล้อมรอบ ริมฝีปากล่างปล้องที่ 1 สีขาว ปล้องที่ 2 และ 3 สีน้ำตาล ปล้องฐานหนวด (scape) และข้อต่อหนวด (pedicel) สีขาวสลับน้ำตาล เส้นหนวด (flagellum) สีน้ำตาลอ่อน ออกปกคลุม

ด้วยขนสีน้ำตาล ปีกคู่หน้าพื้นปีกสีน้ำตาลเข้มสลับสีน้ำตาลอ่อน มีแถบเนื้อเยื่อปีกที่ไม่มีเกล็ดปีกปกคลุมพาดตามขวางที่บริเวณกลางปีกตั้งแต่ขอบปีกบนลงมาถึงเส้น ปีกคู่หลังพื้นสีใสไม่มีเกล็ดปีกปกคลุม ที่มุมปลายปีกจนถึงขอบด้านนอกสุดของปีกสีน้ำตาลเข้ม ขาทั้งสามคู่สีขาวสลับสีน้ำตาลเข้ม ท้องปกคลุมด้วยขนสีน้ำตาลอ่อน

พืชอาหาร

ตัวหนอนทำลายโดยการกัดกินใบ ดอก ช่อดอกถั่วเขียว ดอกแค ดอกทองกวาว เจดัวฝักยาว ถั่วเขียว ถั่วแดง ใบไม้สดาด ใบโสกน้ำ ดอก และฝักถั่วพู

แหล่งที่สำรวจพบ

จังหวัดกาญจนบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี เพชรบุรี ชุมพร นครสวรรค์ อุตรดิตถ์ และพิษณุโลก

ผีเสื้อหนอนฟัก (pumpkin caterpillar) (ภาพที่ 1 ง)

ชื่ออื่น -

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

ชื่อเดิม	<i>Margaronia indica</i> Saunders	<i>Eudiotis capensis</i> Zeller
	<i>Phakellura curcubitalis</i> Guenée	<i>Phakellura gazorialis</i> Guenée
	<i>Botys hyalinalis</i> Boisduval	<i>Phakellura zygaenalis</i> Guenée
	<i>Palpita indica</i> Saunders	<i>Glyphodes indica</i> Saunders
	<i>Hedylepta indica</i> Saunders	<i>Phacellura indica</i> Saunders
	<i>Phakellura indica</i> Saunders	<i>Eudiotis indica</i> Saunders

รูปร่างลักษณะ

ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดกลาง ขนาดลำตัวเมื่อกางปีกกว้าง 2.2-2.5 เซนติเมตร หัวสีน้ำตาลเข้ม ริมฝีปากล่างปล้องที่ 1 สีขาว ปล้องที่ 2 และ 3 สีน้ำตาลเข้ม ปล้องฐานหนวดและข้อต่อหนวดสีขาวยาวสลับน้ำตาล เส้นหนวดส่วนโคนและปลายสีน้ำตาลส่วนกลางสีขาว ออกปกคลุมด้วยขนสีน้ำตาล ขอบด้านบนและขอบด้านนอกสุดของปีกคู่หน้าสีน้ำตาลเข้ม กลางปีกและขอบด้านล่างของปีกสีขาวใสไม่มีเกล็ดปีกปกคลุม ปีกคู่หลังขอบปีกด้านนอกสุดสีน้ำตาลเข้ม โคนปีกและกลางปีกสีขาวใสไม่มีเกล็ดปีกปกคลุม ขาทั้งสามคู่สีขาว ท้องปกคลุมด้วยขนสีขาว ปล้องที่ 8-9 ปกคลุมด้วยขนสีน้ำตาลเข้ม ท้องปล้องสุดท้ายปกคลุมด้วยขนยาวสีเหลืองสลับน้ำตาลลักษณะคล้ายแพนหาง

พืชอาหาร

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

แหล่งที่สำรวจพบ

จังหวัดกาญจนบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี เพชรบุรี ชุมพร นครสวรรค์ อุตรดิตถ์ พิษณุโลก

ผีเสื้อ Glyphodes (Glyphodes caterpillar) (ภาพที่ 1 จ)

ชื่ออื่น -

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Glyphodes ernalis* Swinhoe (Lepidoptera: Crambidae: Pyraustinae)

ชื่อเดิม -

รูปร่างลักษณะ

ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดกลาง ขนาดลำตัวเมื่อกางปีกกว้าง 1.8-2.0 เซนติเมตร หัว สีขาว มีจุดสีดำ 2 จุด ไกล่ริมฝีปากบน บริเวณฐานหนวดมีกระดูกขนสีขาวสลักดำ ริมฝีปากล่างปล้องที่ 1 และ 2 ด้านที่ติดกับหัวสีดำ ด้านนอกสีขาว ปล้องที่ 3 สีน้ำตาลอ่อน ริมฝีปากบนสีขาวสลักดำ ออกปกคลุมด้วยขนสีขาวสลักสีน้ำตาลเข้ม ปีกคู่หน้าพื้นปีกสีน้ำตาลเข้ม พบแถบสีขาวกลางปีก 1 แถบ ตัดขวางจากขอบปีกด้านล่างถึงเส้น Radius แถบที่ 2 ห่างจากแถบแรกไปทางขอบปีกด้านนอกเล็กน้อย ลักษณะเป็นวงรีอยู่ระหว่างเส้น Radius และ Cubitus แถบที่ 3 อยู่บริเวณขอบปีกด้านบน ลักษณะเกือบเป็นวงกลม ปีกคู่หลังโคนปีกขาว ขอบปีกด้านนอกสุดสีน้ำตาลเข้ม ขาคู่ที่ 1 และ 2 บริเวณต้นขา (femur) และ หน้าแข้ง (tibia) สีน้ำตาล ขาคู่ที่ 3 สีขาว ท้องปกคลุมด้วยขนสีน้ำตาล ปล้องสุดท้ายปกคลุมด้วยขนยาวสีดำ

พืชอาหาร -

แหล่งที่สำรวจพบ

จังหวัด กรุงเทพฯ นนทบุรี น่าน และลำปาง

ผีเสื้อหนอนเจาะลำต้นข้าวโพด (Asian corn borer) (ภาพที่ 1 จ)

ชื่ออื่น -

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Ostrinia furnacalis* (Guenée) (Lepidoptera: Crambidae: Pyraustinae)

ชื่อเดิม

Botys furnacalis Guenée

Ostrinia damoalis (Walker)

Ostrinia salentialis (Snellen)

Pyrausta vastatrix Schultze, 1908

Pyrausta damoalis

Pyrausta salentialis

Botys damoalis Walker, 1859

Botys salentialis Snellen, 1880

Pyrausta polygoni Dyar, 1905

Micractis varialis Inoue 1959

Spilodes kodzukalis Matsumura, 1897

รูปร่างลักษณะ

ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดกลาง ขนาดลำตัวเมื่อกางปีกกว้าง 2.2-2.5 เซนติเมตร หัว

สีเหลืองสลบสีขาว ริมฝีปากบน ริมฝีปากล่างสีเหลือง ปีกคู่หน้าพื้นปีกเหลือง กลางปีก มีขนสีน้ำตาล กระจายอยู่ทั่วไป ปลายปีกมีการเรียงของขนลักษณะคล้ายลูกศรชี้ออกด้านนอก เรียงตามเนื้อเยื่อระหว่าง เส้นปีก จำนวน 2 แถว ปีกคู่หลังสีเหลืองอ่อน ขาทั้ง 3 คู่ สีเหลืองอ่อน ท้องปกคลุมด้วยขนสีเหลือง

พืชอาหาร ข้าวโพด ต้นเดือย

แหล่งที่สำรวจพบ
จังหวัด กรุงเทพฯ ชลบุรี ฉะเชิงเทรา ชัยนาท ราชบุรี สุพรรณบุรี ประจวบคีรีขันธ์ มหาสารคาม
อุบลราชธานี

ผีเสื้อ *Meroctena* (*Meroctena caterpillar*) (ภาพที่ 1 ง)

ชื่ออื่น -

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Meroctena tullalis* Walker (Lepidoptera: Crambidae: Pyraustinae)

ชื่อเดิม -

รูปร่างลักษณะ

ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดกลาง ขนาดลำตัวเมื่อกางปีกกว้าง 3.2-3.2 เซนติเมตร หัว สีเหลืองอ่อน มีกระจุกขนสีขาวบริเวณกระหม่อม ริมฝีปากล่างปล้องที่ 1 สีขาว ปล้องที่ 2 และ 3 สีน้ำตาลอ่อน ออกปกคลุมด้วยขนสีเหลือง ปีกคู่หน้าพื้นปีกสีเหลือง พบขนสีน้ำตาลเข้ม 1 จุด การเรียงตัวของเส้นขนสีน้ำตาลตัดขวางปีก 2 เส้นเห็นชัดเจน ขอบปีกด้านบนสุดสีน้ำตาล ปีกคู่หลังพื้นปีกสีเหลือง ขอบปีกด้านบนสีน้ำตาลเข้ม กลางปีกมีขนสีน้ำตาลเรียงเป็นคลื่นตัดขวางปีก 3 แถว มุมปีกด้านบนสีน้ำตาลเข้ม มุมปีกด้านล่างสีน้ำตาลอ่อนขนบริเวณปลายปีกที่ปีกคู่หน้าและคู่หลังสีน้ำตาลเข้มสลบขาว ท้องปกคลุมด้วยขนสีเหลือง

พืชอาหาร ใบพิกุลป่า

แหล่งที่สำรวจพบ

จังหวัด สระบุรี ฉะเชิงเทรา นครราชสีมา นนทบุรี เชียงใหม่ นครนายก และเลย

สรุปผลการวิจัยและคำแนะนำ

การศึกษานุกรมวิธานผีเสื้อกลางคืนวงศ์ย่อย Pyraustinae ในแหล่งปลูกพืชทั่วไป ทั้งพื้นที่เกษตร และพื้นที่ป่า ทั่วทุกภาคของประเทศไทย สามารถวิเคราะห์ชนิด จากการศึกษาครั้งนี้พบผีเสื้อกลางคืนวงศ์ย่อย Pyraustinae ทั้งหมดจำนวน 406 ตัวอย่าง จำแนกได้ 7 สกุล 7 ชนิด ได้แก่ *Leucinodes orbonalis* Guenée, *Omiodes diemenalis* Guenée, *Maruca vitrata* Fabricius และ *Diaphania indica* (Saunders), *Glyphodes ernalis* Swinhoe, *Ostrinia furnacalis* Guenée), *Meroctena tullalis* Walker ผีเสื้อที่สำรวจพบ จัดเป็นศัตรูพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจอย่างมาก ตัวอย่างที่ได้จากการ

สำรวจ เก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลงกรมวิชาการเกษตร เพื่อตรวจสอบความถูกต้อง พร้อมจัดทำฐานข้อมูลนำไปใช้อ้างอิงทางวิชาการสำหรับงานอนุกรมวิธานและงานกีฏวิทยาด้านอื่นๆ นอกจากนี้ยังเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการจัดทำบัญชีรายชื่อแมลงศัตรูพืชเพื่อประกอบในงานสำคัญด้านการส่งออก และนำเข้าสินค้าเกษตร และเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญในการทำงานวิจัยที่เกี่ยวข้องต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- เพียวร์ พรหมพันธุ์ใจ และ ทศนีย์ แจ่มจรรยา. 2543. ศึกษาฤดูกาลระบาดและการพ่นสารป้องกันกำจัดหนอนเจาะฝักถั่วมَارูคา (*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, Gururajaro MR, Satenahalli SB, 1989. Insects infesting wild mung *Vigna vexillata* in India. Environment and Ecology, 7(2):513
- GhesquiFre J, 1942. Catalogues raisonnees 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



ค



จ



ช



ข



ง



ฉ

ภาพที่ 1 ตัวเต็มวัย

ก. *Leucinodes orbonalis* Guenée

ค. *Maruca testulalis* Geyer

จ. *Glyphodes emalis* Swinhoe

ช. *Meroctena tullalis* Walker

ข. *Omiodes diemenalis* Guenée

ง. *Diaphania indica* (Saunders)

ฉ. *Ostrinia furnacalis* (Guenée)

ชนิดของแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์ในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย

สุนัดดา เชาวลิต ชัยพรบัวมาศ

อิทธิพล บรรณการ เกศสุดา สนศิริ ลีทิตติโรดม แก้วสวัสดิ์

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาชนิดของแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์ในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย เพื่อประเมินสถานภาพของแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์ให้ได้ชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้อง เขตการแพร่กระจาย พร้อมจัดทำฐานข้อมูลแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์ซึ่งสามารถนำไปใช้อ้างอิงทางวิชาการ สำหรับงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2555 จากแหล่งที่มีสภาพป่าอุดมสมบูรณ์ ในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย จากการศึกษาครั้งนี้พบแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์ ทั้งหมด 7 ตัวอย่าง จำแนกได้ 3 ชนิด ได้แก่ ผีเสื้อร้อนลมวยาม (*Siam Tree Nymph*); *Idea leuconoe* (Lepidoptera: Danaidae) จำนวน 2 ตัวอย่าง ผีเสื้อค่างขาว (Giant Uranid Moth); *Lyssa zampa* Butler (Lepidoptera: Uraniidae) จำนวน 2 ตัวอย่าง และด้วงดินปีกแผ่น (Violin Beetle); *Mormolyce phyllodes* Hegenb (Coleoptera: Carabidae) จำนวน 3 ตัวอย่าง ตัวอย่างแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์ทั้งหมดนำไปเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-02-00-02-54

คำนำ

แมลงหายากในความหมายของพิพิธภัณฑสถานแห่งชาติแมลง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร หมายถึง แมลงที่พิจารณาจากตัวอย่างที่เก็บไว้ในพิพิธภัณฑสถานฯ โดยเป็นชนิดที่จับได้เมื่อ 30-40 ปีมาแล้ว และสำรวจไม่พบแมลงชนิดนั้นอีก หรือพบแต่มีปริมาณน้อยมาก รวมทั้งแมลงที่มีอยู่ในบัญชีรายชื่อในอนุสัญญา CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora) หรือ อนุสัญญาระหว่างประเทศว่าด้วยการค้า ซึ่งพืชและสัตว์ป่าที่กำลังสูญพันธุ์ ในบัญชีหมายเลข 2 อนุสัญญา (2540) ได้รายงานว่าการค้าขายแมลงกันมาก จึงควรมีการอนุรักษ์แมลงที่หายากและสวยงามและได้ร่วมกับกรมป่าไม้กำหนดชนิดแมลงที่ต้องมีการอนุรักษ์ 13 ชนิด เป็นแมลงด้วงปีกแข็ง 4 ชนิด และผีเสื้อ 9 ชนิด เข้าไว้ใน พ.ร.บ. สงวนและคุ้มครองสัตว์ป่า ปี พ.ศ. 2535 เพื่อป้องกันการล่าและค้าแมลงที่หายากและใกล้สูญพันธุ์ นอกจากนี้อนุสัญญา (2543) รายงานว่าพบแมลงอนุรักษ์ 19 ชนิด ในประเทศไทย ในจำนวนนี้มี 13 ชนิด เป็นสัตว์คุ้มครอง ซึ่งประกาศอยู่ในบัญชีท้ายกฎกระทรวงฉบับที่ 4 (2537) ออกตามความในพระราชบัญญัติสงวนและคุ้มครองสัตว์ป่า พ.ศ. 2535 และประกาศในราชกิจจานุเบกษา ฉบับกฤษฎีกา เล่ม 111 ตอนที่ 31 ก ลงวันที่ 16 พฤศจิกายน 2537

ประเทศไทยมีความหลากหลายทางด้านแมลงสูงทั้งด้านจำนวนชนิดและปริมาณ แต่จากสภาพแวดล้อมปัจจุบันนี้เกิดภาวะโลกร้อน (Global Warming) ที่หมายถึงการเปลี่ยนแปลงในระดับโลก อันเป็นผลมาจากกิจกรรมการเบียดเบียนและทำลายธรรมชาติ โดยไม่ตระหนักถึงคุณค่าและผลที่จะติดตามมา โดยเฉพาะปัญหาในการปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) สู่อากาศ ซึ่งก่อให้เกิดปรากฏการณ์เรือนกระจก การกระทำดังกล่าวก่อให้เกิด การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ (Climate Change) ซึ่งก็คือความเปลี่ยนแปลงของดิน ฟ้า อากาศ ในระดับโลก ระดับภูมิภาค หรือระดับท้องถิ่น ที่เกิดขึ้นแล้วในอดีต กำลังเกิดขึ้นในปัจจุบัน หรืออาจจะเกิดขึ้นในอนาคต (โชติชัย, 2552) และส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศของแมลง ประกอบกับแมลงบางชนิดมีรูปร่างแปลก สวยงามเป็นที่ต้องการและแสวงหาเพื่อสะสมไว้เป็นสมบัติส่วนตัวหรือซื้อขายแลกเปลี่ยน จึงมีการล่าจับแมลงกันมากเพื่อประโยชน์ทางการค้า จากปัญหาของระบบนิเวศที่เปลี่ยนแปลงไปรวมทั้งมีธุรกิจค้าแมลงเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วนี้ ทำให้นำเป็นห่วงว่าแมลงอาจขาดแหล่งที่อยู่อาศัยและแหล่งอาหารหรือถูกจับไปเป็นจำนวนมาก มีผลให้แมลงบางชนิดที่มีปริมาณน้อยอยู่แล้วในธรรมชาติอาจสูญพันธุ์ไปได้ ดังนั้นจึงได้ดำเนินการศึกษาชนิดของแมลงอนุรักษ์โดยเฉพาะแมลงที่สวยงามและหายาก ซึ่งมีการล่า การค้ามากไม่ให้สูญพันธุ์ไปจากประเทศไทย โดยเฉพาะในพื้นที่ภาคใต้นั้นยังมีทรัพยากรธรรมชาติที่อุดมสมบูรณ์ มีสภาพป่าเป็นป่าดิบชื้น มีความหลากหลายทางชีวภาพรวมถึงความหลากหลายของชนิดแมลง และพื้นที่ดังกล่าวยังไม่มีการศึกษาชนิดของแมลงอนุรักษ์ ดังนั้นจึงได้ดำเนินการศึกษาชนิดแมลงอนุรักษ์ โดยเฉพาะแมลงที่สวยงามและหายาก และจากข้อมูลที่ได้ยังก่อให้เกิดประโยชน์ต่อการประเมินสถานภาพของแมลงหายาก แมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์ และแมลงที่สูญพันธุ์แล้วได้อีกด้วย

การรวบรวมและเก็บรักษาตัวอย่างแมลง แมลงศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ แมลงหายาก/ใกล้สูญพันธุ์ ในพิพิธภัณฑ์ และทั้งการจัดทำฐานข้อมูล พบว่าได้มีการจัดพิมพ์เอกสารวิชาการการเก็บรักษาตัวอย่างแมลงเพื่อการศึกษาวิจัยสำหรับแนะนำการเก็บและรักษาตัวอย่างแมลงก่อนนำส่ง เพื่อขอรับบริการการตรวจวิเคราะห์นอกจากนี้ศิริณี (2545ก.) ยังได้จัดพิมพ์เอกสารเรื่อง พิพิธภัณฑ์-นิทรรศการแมลง และพิพิธภัณฑ์แมลง (ศิริณี, 2545ข.)

จากการสืบค้นข้อมูลแมลงในพิพิธภัณฑ์แมลง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร เพื่อประกอบการวิเคราะห์ชนิดแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์ในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย พบว่ามีแมลงหลายชนิดที่สำรวจไม่พบมาเป็นเวลานานกว่า 30 ปี หรือสำรวจพบแต่มีปริมาณน้อยมาก ได้แก่

ผีเสื้ออุงทองปีกซีใต้ *Troides amphrysus* Cramer (Lepidoptera: Papilionidae) ปัจจุบันมีตัวอย่างในพิพิธภัณฑ์แมลงทั้งหมด 4 ตัวอย่าง สำรวจพบเมื่อ พ.ศ. 2502 จำนวน 1 ตัวอย่าง, พ.ศ. 2503 จำนวน 1 ตัวอย่าง และ พ.ศ. 2549 จำนวน 2 ตัวอย่าง

ผีเสื้ออุงทองป่าสูง *Troides helena* Linnaeu (Lepidoptera: Papilionidae) ปัจจุบันมีตัวอย่างในพิพิธภัณฑ์แมลงทั้งหมด 2 ตัวอย่าง สำรวจพบเมื่อ พ.ศ. 2503 จำนวน 1 ตัวอย่าง และ พ.ศ. 2515 จำนวน 1 ตัวอย่าง

ผีเสื้อหางติ่งสะพายเขียว *Papilio palinurus* Fabricius (Lepidoptera: Papilionidae) ปัจจุบันมีตัวอย่างแมลงทั้งหมด 6 ตัวอย่าง สำรวจพบเมื่อ พ.ศ. 2458 จำนวน 1 ตัวอย่าง, พ.ศ. 2478 จำนวน 1 ตัวอย่าง, พ.ศ. 2502 จำนวน 2 ตัวอย่าง, พ.ศ. 2523 จำนวน 1 ตัวอย่าง และมี 1 ตัวอย่างที่ไม่ระบุช่วงเวลา

ผีเสื้อนางพญาทอดเฟรย์ *Stichophthalma godfreyi* Rothschild (Lepidoptera: Amathusiidae) ปัจจุบันมีตัวอย่างแมลง 1 ตัวอย่าง สำรวจพบเมื่อ พ.ศ. 2519

ผีเสื้อหางยาวตาเคียวปีกลายหยัก *Actias maenas* Doubleday (Lepidoptera: Saturniidae) ปัจจุบันมีตัวอย่างแมลงทั้งหมด 5 ตัวอย่าง สำรวจพบเมื่อ พ.ศ. 2512 จำนวน 1 ตัวอย่าง, พ.ศ. 2513 จำนวน 1 ตัวอย่าง และ พ.ศ. 2540 จำนวน 1 ตัวอย่าง

ด้วงไวโอลิน *Mormolyce phyllodes* Hagenbach (Coleoptera: Carabidae) ปัจจุบันมีตัวอย่างแมลงทั้งหมด 6 ตัวอย่าง สำรวจพบเมื่อ พ.ศ. 2482 จำนวน 1 ตัวอย่าง, พ.ศ. 2496 จำนวน 1 ตัวอย่าง, พ.ศ. 2549 จำนวน 3 ตัวอย่าง และมี 1 ตัวอย่างที่ไม่ระบุช่วงเวลาเก็บ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- 1) ตัวอย่างแมลงหายากและไกล้สูญพันธุ์ ที่รวบรวมได้จากแหล่งที่มีสภาพป่าอุดมสมบูรณ์
- 2) อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ สวิงจับแมลง ชุดกับดักแสงไฟ (จอผ้าขาวขนาด 3×3 เมตร หลอดไฟแสงจันทร์, หลอดไฟแสงสีม่วง) ขวดฆ่า ขวดดอง ปากคีบ พู่กัน กล้องพลาสติก ถุงพลาสติก ของกระดาษใส่ตัวอย่างแมลง ถึงรักษาความเย็น
- 3) สารเคมีต่างที่ใช้เก็บตัวอย่างแมลง เช่น เอทิลอะซีเตท แอลกอฮอล์ 80%
- 4) กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereomicroscope ,compound microscope และกล้องถ่ายภาพ
- 5) อุปกรณ์วาดภาพ ได้แก่ ปากกา rotting และกระดาษไขเขียนแบบ
- 6) เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของแมลงหายากและไกล้สูญพันธุ์

วิธีการ

- 1) สืบค้นข้อมูลแมลงในพิพิธภัณฑ์แมลง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร เพื่อประกอบการวิเคราะห์ชนิดแมลงหายากและไกล้สูญพันธุ์ในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย
- 2) สํารวจและรวบรวมตัวอย่างแมลงจากแหล่งที่มีสภาพป่าอุดมสมบูรณ์ เช่น จากสวนพฤกษศาสตร์ สถานีวิจัย และบริเวณที่มีป่าไม้อุดมสมบูรณ์ต่างๆ ในเขตพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย โดยใช้ข้อมูลการสำรวจพบแมลงจากพิพิธภัณฑ์แมลงเป็นแนวทางในการวางแผนการออกสำรวจ โดยออกสำรวจทุกๆ 2 เดือน ในระยะเวลา 5 ปี
- 3) บันทึกลักษณะของพื้นที่ที่ทำการสำรวจแมลง รวมทั้งเก็บรายละเอียดเกี่ยวกับความชื้นสัมพัทธ์ อุณหภูมิ ความสูงจากระดับน้ำทะเล วันเดือนปี ชื่อผู้เก็บตัวอย่าง และสถานที่ที่เก็บตัวอย่าง
- 4) นำตัวอย่างแมลงที่รวบรวมได้ มาจัดรูปร่างและตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิดจากลักษณะภายนอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo microscope แล้วบันทึกรายละเอียดต่างๆ เช่น รูปร่าง ลักษณะ ขนาด และสี เป็นต้น โดยตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานด้วยการใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยชนิดแมลง ประกอบการเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์ ซึ่งทำให้ทราบถึงชนิดของแมลงหายากและไกล้สูญพันธุ์
- 5) บันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแมลงโดยการถ่ายภาพใต้กล้องจุลทรรศน์ รวมถึงให้รายละเอียดบนแผ่นป้ายบันทึกของแมลงแต่ละตัว โดยบันทึกรายละเอียดของแมลงชนิดต่างๆที่สำรวจพบ และข้อมูลอื่นที่สำคัญ ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ที่จำแนกได้ วัน/เดือน/ปี สถานที่พบตัวอย่าง และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง

6) นำข้อมูลและตัวอย่างแมลงที่บันทึกได้เปรียบเทียบกับข้อมูลและตัวอย่างในพิพิธภัณฑ์โดยดูจำนวนที่มีในพิพิธภัณฑ์ ปีที่จับได้ครั้งสุดท้าย ศึกษาค้นคว้าข้อมูลจากเอกสารต่างๆ ถึงสถานภาพความมากน้อยของแมลงเหล่านั้น

7) จัดเก็บตัวอย่างที่ได้ศึกษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบการเก็บรักษาตัวอย่างสากล โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากล

8) สรุปและจัดทำรายงานผลการวิจัย เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการทำการวิจัยต่อไป

3. สถานที่ทำการทดลอง

- พื้นที่ป่าอุดมสมบูรณ์ในเขตภาคใต้ของประเทศไทย
- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

4. ระยะเวลาทำการทดลอง

เริ่มต้น ตุลาคม 2553 สิ้นสุด กันยายน 2558

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาชนิดของแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์ในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย พบแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์ ทั้งหมด 7 ตัวอย่าง จำแนกได้ 3 ชนิด ดังตาราง

ตารางแสดงชนิดของแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์ในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อสามัญ	อาหาร	แหล่งที่สำรวจพบ	จำนวน (ตัวอย่าง)
1 <i>Idea leuconoe</i> Erichson (Lepidoptera: Danaidae)	ผีเสื้อร้อนลมสยาม (Siam Tree Nymph)	-	จังหวัดภูเก็ต	2
2 <i>Lyssa zampa</i> Butler (Lepidoptera: Uraniidae)	ผีเสื้อค่างควาว (Giant Uranid Moth)	-	จังหวัด กระบี่ และสุราษฎร์ธานี	2
3 <i>Mormolyce phyllodes</i> Hegenb (Coleoptera: Carabidae)	ด้วงดินปีกแผ่น (Violin Beetle)	-	จังหวัดระนอง สุราษฎร์ธานี และภูเก็ต	3

รายละเอียดแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์แต่ละชนิด

Idea leuconoe Erichson (ภาพที่ 1 ก)

อันดับ (Order)	Lepidoptera
วงศ์ (Family)	Danaiidae
ชื่อสามัญ (Common name)	ผีเสื้อร้อนลมสยาม (Siam Tree Nymph)
ลักษณะสำคัญ	

ขนาดลำตัววัดจากขอบปีกด้านหนึ่งถึงขอบปีกอีกด้านหนึ่งกว้าง 12.6 เซนติเมตร ลำตัวเรียวยาว หัวสีดำ ออกและปล้องท้องสีขาวสลับดำ ปีกคู่หน้าพื้นปีกสีขาว เส้นปีกสีดำมีจุดสีดำกระจายทั่วทั้งปีก คล้ายผีเสื้อร้อนลมน้อยและร้อนลมมลายู แตกต่างกันที่ตำแหน่งของจุด และขนาดปีกที่ใหญ่กว่า ปีกคู่หลังคล้ายปีกคู่หน้า

แหล่งที่สำรวจพบ: อำเภอถลาง จังหวัดภูเก็ต

เขตการแพร่กระจายในประเทศไทย :

สถานภาพ: เป็นแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์

Lyssa zampa Butler (ภาพที่ 1 ข)

อันดับ	Lepidoptera
วงศ์	Uraniidae
ชื่อสามัญ	ผีเสื้อคางคาว: Giant Uranid Moth, Long-tailed Moth
ลักษณะสำคัญ	

ขนาดลำตัววัดจากขอบปีกด้านหนึ่งถึงขอบปีกอีกด้านหนึ่งกว้าง 11.0-14.0 เซนติเมตร ลำตัวมีขนสีน้ำตาลเทาปกคลุม ปีกค่อนข้างบอบบาง ลวดลายปีกเพศผู้และเพศเมียคล้ายกันแต่เพศผู้สีเข้มกว่า ปีกคู่หน้าและคู่หลังมีแถบสีขาวพาดขวางปีก ปีกคู่หลังขอบปีกด้านบนอกมีติ่งคล้ายหางสองติ่ง ปลายติ่งที่ยาวมีสีขาว

แหล่งที่สำรวจพบ : จังหวัด กระบี่ และสุราษฎร์ธานี

เขตการแพร่กระจายในประเทศไทย: จังหวัดกรุงเทพมหานคร เชียงใหม่ นครศรีธรรมราช อุทัยธานี นครราชสีมา

สถานภาพ: เป็นแมลงที่กำหนดไว้ในบัญชีรายชื่อของอนุสัญญา CITES

Mormolyce phyllodes Hegenb (ภาพที่ 1 ค)

อันดับ	Coleoptera
วงศ์	Carabidae
ชื่อสามัญ	ด้วงดินปีกแผ่น : Violin Beetle

ลักษณะสำคัญ

เป็นด้วงในวงศ์ด้วงดิน มีลักษณะเด่นที่มีรูปร่างคล้ายไวโอลิน จึงเรียก “Violin Beetle” ลำตัวและปีกมีลักษณะแบน สีน้ำตาลคล้ายใบไม้แห้ง ออกที่มีรูปร่างคล้ายหอก ขอบหยักไม่เป็นระเบียบ ปีกขรุขระ ขอบเรียบ รูปร่างโค้งมนได้รูป

แหล่งที่สำรวจพบ: จังหวัดระนอง สุราษฎร์ธานี และภูเก็ต

เขตการแพร่กระจายในประเทศไทย: จังหวัดชัยภูมิ พิษณุโลก เชียงใหม่ นครราชสีมา ตรัง ลำปาง เลย นครนายก อุทัยธานี มีรายงานการพบเฉพาะในคาบสมุทรตอนใต้ของไทย ตั้งแต่จังหวัด นครศรีธรรมราช จนถึงประเทศมาเลเซีย จากข้อมูลการสำรวจในระหว่างปี 2547-2548 พบติดกับดัก แสงไฟในท้องที่จังหวัดนครศรีธรรมราช ตรัง นราธิวาส และเพชรบุรี

สถานภาพ: เป็นแมลงที่กำหนดไว้ในบัญชีรายชื่อของอนุสัญญา CITES และในพิพิธภัณฑสถานแห่งชาติ กรม วิชาการเกษตร มีตัวอย่างทั้งหมด 6 ตัวอย่าง สำรวจพบเมื่อ พ.ศ. 2482 จำนวน 1 ตัวอย่าง, พ.ศ. 2496 จำนวน 1 ตัวอย่าง, พ.ศ. 2549 จำนวน 3 ตัวอย่าง และมี 1 ตัวอย่างที่ไม่ระบุช่วงเวลาเก็บ

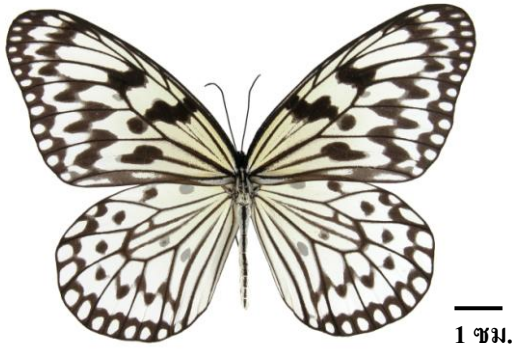
สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการศึกษาครั้งนี้พบแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์ ทั้งหมด 7 ตัวอย่าง จำแนกได้ 3 ชนิด ได้แก่ ผีเสื้อร้อนลมวยาม (Siam Tree Nymph); *Idea leuconoe* (Lepidoptera: Danaidae) จำนวน 2 ตัวอย่าง ผีเสื้อค้างคาว (Giant Uranid Moth); *Lyssa zampa* Butler (Lepidoptera: Uraniidae) จำนวน 2 ตัวอย่าง และด้วงดินปีกแผ่น (Violin Beetle); *Mormolyce phyllodes* Hegenb (Coleoptera: Carabidae) จำนวน 3 ตัวอย่าง

การศึกษาแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ นอกจากจะมีประโยชน์อย่างมาก ต่อการประเมิน สถานภาพของแมลงที่พบ และเป็นโอกาสให้ผู้วิจัยได้ค้นหาพืชอาหาร เพื่อที่จะสามารถนำมา เพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณและปล่อยคืนสู่ธรรมชาติ ข้อมูลทั้งหมดที่ได้ยังเป็นประโยชน์ในการจัดทำ ฐานข้อมูลทรัพยากรพันธุกรรมของแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ในประเทศไทย เพื่อเป็นแหล่งสืบค้น ของนักวิชาการ นักเรียน นักศึกษาและบุคคลทั่วไป อีกทั้งเป็นข้อมูลสนับสนุน / ยืนยัน / เพิ่มเติม ในการจัดทำบัญชีรายชื่อแมลงอนุรักษ์ของประเทศไทย ตามบัญชีรายชื่ออนุสัญญา CITES ดังนั้น ควรมีการศึกษาวิจัยในเรื่องนี้อย่างจริงจังและต่อเนื่องไม่มีวันสิ้นสุด หากต้องการที่จะฟื้นฟู ปรับปรุง สภาพแวดล้อมให้เหมาะสมกับแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ชนิดต่างๆ อันจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งทั้ง ทางตรงและทางอ้อม ในการอนุรักษ์ทรัพยากรพันธุกรรมแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ให้คงอยู่ใน ธรรมชาติอย่างสมดุลและยั่งยืนตลอดไป

เอกสารอ้างอิง

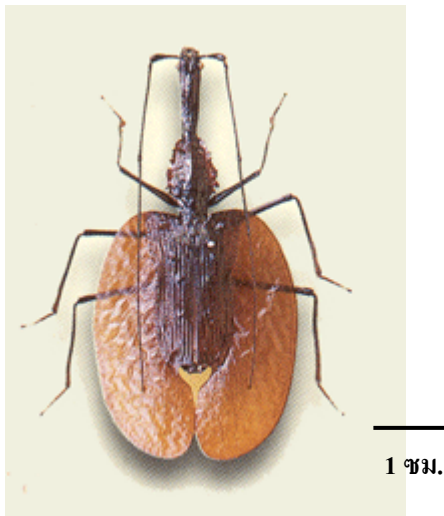
- โชติชัย สุวรรณภรณ์ . 2552. ผลกระทบ และแนวทางการแก้ไขปัญหา Climate Change. สำนักงานเศรษฐกิจการคลัง.
- ศิริณี พูนไชยศรี. 2545ก. พิพิธภัณฑน์นิทรรศการแมลง. แผ่นพับ. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตรกรุงเทพฯ. พิมพ์ครั้งที่ 1.
- ศิริณี พูนไชยศรี. 2545ข. พิพิธภัณฑน์แมลง. แผ่นพับ. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร, อุ่น ลีวานิช. 2540. การอนุรักษ์แมลงในประเทศไทย. ว. กีฏ. สัตว. 19(2): 95-99.
- อุ่น ลีวานิช และ สุระ พิมพ์สาลี. 2543. แมลงอนุรักษ์. เอกสารวิชาการแผ่นพับ. พิมพ์ครั้งที่ 2. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.
- Hollaway, J. D. 2530. The Moth of Borneo. United Selangor Press Sdn., Bhd., Kuala Lumpur, Malaysia.



ก



ข



ค

ภาพที่ 1 แมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์ในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย

ก. ผีเสื้อร้อนลมสยาม (Siam Tree Nymph); *Idea leuconoe*

ข. ผีเสื้อค่างควาว (Giant Uranid Moth); *Lyssa zampa* Butler

ค. ตัวงดินปีกแผ่น (Violin Beetle); *Mormolyce phyllodes* Hegenb

สำรวจและจำแนกชนิดของเพลี้ยแป้งและแมลงศัตรูอ่อนหน้า
ในเขตพื้นที่จังหวัดนครราชสีมา

Survey and Identification of Mealybug and Insect Pest on Sugar apple
at Nakhon Ratchasima Province

ชัยพร บัวมาศ^{1/} ประภัสสร เขยคำแหง^{1/} สายชล แสงแก้ว^{2/}

^{1/} กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/} ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครราชสีมา สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4

รายงานความก้าวหน้า

การสำรวจและจำแนกชนิดของเพลี้ยแป้งและแมลงศัตรูอ่อนหน้าในเขตพื้นที่จังหวัดนครราชสีมา ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2555 เพื่อทราบชนิด ลักษณะการทำลาย เขตการแพร่กระจาย ของเพลี้ยแป้งและแมลงศัตรูอ่อนหน้า ซึ่งได้เก็บรวบรวมตัวอย่างจากแหล่งปลูกน้อยหน่า ตามอำเภอต่าง ๆ ของจังหวัดนครราชสีมา นำตัวอย่างแมลงที่รวบรวมได้มาจัดรูปร่าง และตัวอย่างเพลี้ยแป้งนำมาทำสไลด์ถาวร ตรวจสอบจำแนกชนิดตามหลักอนุกรมวิธาน ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จากการตรวจจำแนกชนิดแมลงศัตรูอ่อนหน้า พบ ทั้งสิ้นจำนวน 9 ชนิด อยู่ในอันดับ Homoptera จำนวน 5 ชนิด ดังนี้ วงศ์ Pseudococcidae เพลี้ยแป้ง จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยแป้งลาย, *Ferrisia virgata* (Cockerell) เพลี้ยแป้งสับปะรดสีเทา, *Dysmicoccus neobrevipes* Beardsley เพลี้ยแป้งกาแฟ, *Planococcus lilacinus* (Cockerell) เพลี้ยแป้งชบาสีชมพู, *Maconellicoccus hirsutus* (Green) วงศ์ Monophlebidae จำนวน 1 ชนิด คือ เพลี้ยหอยยักษ์ *Dosicha* sp. อันดับ Lepidoptera วงศ์ Pyralidae จำนวน 1 ชนิด คือ หนอนเจาะผลน้อยหน่า, *Anonaepestis bengalella* Ragonat อันดับ Coleoptera วงศ์ Curculionidae จำนวน 1 ชนิด คือ แมลงค่อมทอง, *Hypomeces squamosus* Fabricius อันดับ Diptera วงศ์ Tephritidae จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ แมลงวันทองฝรั่ง, *Bactrocera correcta* (Bezzi) แมลงวันทอง *Bactrocera dorsalis* Hendel และแมลงศัตรูธรรมชาติ จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ อันดับ Coleoptera วงศ์ Coccinellidae จำนวน 2 ชนิด ตัวง่าสีส้ม, *Micraspis discolor* (Fabricius) ตัวง่าลายหยัก, *Menochilus sexmaculatus* (Fabricius) อันดับ Neuroptera วงศ์ Chrysopidae จำนวน 1 ชนิด คือ แมลงข้างปีกใส, *Plesiochrysa ramburi* (Schneider) อันดับ Lepidoptera วงศ์ Lycaenidae จำนวน 1 ชนิด หนอนผีเสื้อสีเงินหน้าลิง, *Spalgis epius epius* (Westwood) การศึกษานี้ยังไม่สิ้นสุดจะต้องดำเนินการต่อไปในปี 2556

รหัสการทดลอง 02-04-54-03-01-00-03-54

คำนำ

น้อยหน่า (Sugar apple, Custard apple) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Annona squamosa* Linn. อยู่ในวงศ์ Anonaceae เป็นไม้ผลกิ่งเมืองร้อน ชอบอากาศแล้ง สามารถเจริญเติบโตได้ในดินเกือบทุกประเภท แต่ต้องมีการระบายน้ำดี น้อยหน่าจึงเป็นไม้ผลที่ปลูกง่าย ทนแล้ง น้อยหน่าอายุ 2 ปี จะเริ่มให้ผลและจะให้ผลดีอีก 2 - 3 ปี จากนั้นผลผลิตจะลดลง ปกติต้นน้อยหน่าจะมีอายุ 8 - 10 ปี จะเริ่มโทรมให้ผลขนาดเล็กและรูปร่างไม่สวยงาม จึงต้องตัดทิ้งปลูกต้นใหม่แทน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับ การดูแล บำรุงต้นด้วย ระยะเวลาตั้งแต่ดอกบานถึงเก็บเกี่ยวผลประมาณ 4 เดือน ผลผลิตเฉลี่ยต่อต้นน้อยหน่าที่ ได้รับการดูแลรักษาจะให้ผลผลิตเต็มที่ประมาณ 30 - 50 กิโลกรัมต่อต้นต่อปี น้ำหนักผลน้อยหน่าอยู่ ระหว่าง 5 - 10 ผล/กิโลกรัม ผลผลิตส่วนใหญ่ใช้บริโภคภายในประเทศ บางส่วนส่งไปจำหน่ายประเทศ ใกล้เคียงเช่น มาเลเซีย ฮองกง และสิงคโปร์ พื้นที่ปลูกน้อยหน่าที่สำคัญส่วนใหญ่อยู่ใน จังหวัด นครราชสีมา ชัยภูมิ สระบุรี เพชรบูรณ์ มหาสารคามและร้อยเอ็ด ปัจจุบันพบว่าหลายพื้นที่เกษตรกร ประสบปัญหาแมลงศัตรูพืช ทำให้ผลผลิตลดลงและด้อยคุณภาพ น้อยหน่ามีแมลงศัตรูที่สำคัญหลาย ชนิด เช่น หนอนกัดกินใบ ดอก หนอนเจาะผล กิ่งและลำต้น เพลี้ยแป้งและเพลี้ยหอย ที่พบระบาด และทำความเสียหายส่งผลกระทบต่อผลผลิตเกือบทุกแหล่งปลูก คือ เพลี้ยแป้ง บุปผา และ ชลิดา (2543) ได้รายงานว่ เพลี้ยแป้งที่เป็นศัตรูน้อยหน่า 2 ชนิด คือ เพลี้ยแป้งลาย และ เพลี้ยแป้ง สับประดสีเทา โดยดูดน้ำเลี้ยงจากใบและผล ทำให้ผลแคระแกรน นอกจากนี้เพลี้ยแป้งยังขับถ่ายมูล น้ำหวานซึ่งเป็นอาหารของราดำ ทำให้ราดำปกคลุมใบและผล ส่งผลกระทบต่อคุณภาพ ราคาลดลง เกิดปัญหาการส่งออก ดังนั้นการศึกษาชนิดเพลี้ยแป้งและศัตรูธรรมชาติ จะทำให้ทราบชนิดและ ลักษณะที่สำคัญของเพลี้ยแป้ง ที่พบรวมทั้งได้ทราบชนิดของศัตรูธรรมชาติ ข้อมูลที่ได้จะนำไปใช้ในการ หาวิธีการป้องกันกำจัดที่ถูกต้องและเหมาะสมต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างเพลี้ยแป้งและแมลงศัตรูน้อยหน่า
2. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างแมลง ได้แก่ สวิงจับแมลง ปากคีบ พู่กัน ขวดดองตัวอย่างแมลง ขวดฆ่าแมลง กล่องรักษาความเย็น คัตเตอร์ กรรไกรตัดกิ่ง กล่องพลาสติก ถุงกระดาษและถุงพลาสติก แอลกอฮอล์ 70 - 80% สารเอทิลอะซิเตท AGA
3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการจัดรูปร่างแมลง ได้แก่ เข็มไร้สนิมแมลง กระดาษสามเหลี่ยม ไม้จัดรูปร่างแมลง ตู้อบแมลง
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 และ กล้องถ่ายภาพ

7. เอกสารประกอบการจำแนกชนิดแมลงและเพลี้ยแป้ง

วิธีดำเนินการ

1. สำรองและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลง จากแหล่งปลูกน้อยหน่าในจังหวัดนครราชสีมา โดยวิธีการต่อไปนี้

1.1 ใช้สวิงโฉบ (ผีเสื้อ ตัวงักแข็ง มวน ฯลฯ) ใช้มือจับ (หนอนผีเสื้อ ฯลฯ) หรือใช้ ฟู่กันเขี่ยจากต้น

1.2 ใช้วิธีการเคาะกิ่งหรือเขย่ากิ่ง ต้น ดอก (เพลี้ยไฟ) ตัดใบ กิ่ง ยอดหรือผล (เพลี้ย หอย เพลี้ยแป้ง เพลี้ยอ่อน แมลงหวี่ขาว) แล้วใช้ฟู่กันเขี่ยใส่ขวดที่บรรจุน้ำยาดอง และบางส่วนเก็บ ใส่ในถุงกระดาษหรือห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์แล้วใส่ในถุงพลาสติก หรือกล่องพลาสติก ด้วย บันทึกลักษณะที่ พักตทางภูมิศาสตร์ วัน เดือน ปี ที่เก็บตัวอย่าง ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย รวมทั้งชื่อผู้เก็บ เก็บ ในกล่องรักษาความเย็น

2. นำตัวอย่างแมลงศัตรูที่เก็บรวบรวมได้มาตรวจดูลักษณะภายนอก ถ่ายภาพ บันทึก รายละเอียด เช่น ขนาด รูปร่างลักษณะและสีของ แล้วดองในแอลกอฮอล์ 80% หรือน้ำยา AGA หาก ตัวอย่างที่รวบรวม ได้อยู่ในระยะตัวอ่อน ต้องนำตัวอย่างไปเลี้ยงในห้องปฏิบัติการจนเป็น ตัวเต็มวัย รวมทั้ง บันทึกรายละเอียดและถ่ายภาพ

3. นำตัวอย่างแมลงศัตรูที่ได้ไปทำสไลด์ถาวรหรือนำไปจัดรูปร่างอบให้แห้ง เพื่อนำไป วิเคราะห์ชนิด

4. นำตัวอย่างที่อบแห้งเรียบร้อยแล้วไปตรวจจำแนกชนิด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope และ stereo microscope ที่มีกำลังขยายสูง โดยอาศัยหลักการทางด้าน อนุกรมวิธานและลักษณะสำคัญที่ใช้ในการจำแนกประกอบการเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เก็บรักษาไว้ ในพิพิธภัณฑ์แมลง

5. บันทึกรายละเอียดของเพลี้ยแป้งและแมลงที่พบ รวมถึงข้อมูลอื่นที่สำคัญ ได้แก่ ส่วนของพืชที่ พบตัวอย่าง ลักษณะการทำลาย วัน / เดือน / ปี สถานที่ และ ชื่อผู้เก็บตัวอย่าง บนแผ่นป้ายบันทึก กำกับแมลง หรือแผ่นสไลด์

6. จัดเก็บตัวอย่างมัดที่จัดรูปร่างและอบแห้งไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลงโดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตาม หลักสากล

เวลาและสถานที่

เวลา เดือนตุลาคม 2553 ถึง เดือนกันยายน 2555

สถานที่ 1. แหล่งปลูกน้อยหน่าในจังหวัดนครราชสีมา

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการเก็บรวบรวมเพลี้ยแป้งและแมลงศัตรูอ่อนหน้าในเขตพื้นที่จังหวัดนครราชสีมา ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2555 พบแมลงศัตรูอ่อนหน้าทั้งสิ้น จำนวน 9 ชนิด อยู่ในอันดับ Homoptera จำนวน 5 ชนิด ดังนี้ วงศ์ Pseudococcidae ได้แก่ เพลี้ยแป้ง จำนวน 4 ชนิดคือ เพลี้ยแป้งลาย, *Ferrisia virgata* (Cockerell) เพลี้ยแป้งสับประดสีเทา, *Dysmicoccus neobrevipes* Beardsley เพลี้ยแป้งกาแฟ, *Planococcus lilacinus* (Cockerell) เพลี้ยแป้งชบาสีชมพู, *Maconellicoccus hirsutus* (Green) วงศ์ Monophlebidae จำนวน 1 ชนิด คือ เพลี้ยหอยยักษ์ *Dosicha* sp. อันดับ Lepidoptera วงศ์ Pyralidae จำนวน 1 ชนิด คือ หนอนเจาะผลน้อยหน้า, *Anonaepestis bengalella* Ragonat อันดับ Coleoptera วงศ์ Curculionidae จำนวน 1 ชนิด คือ แมลงค่อมทอง, *Hypomeces squamosus* Fabricius อันดับ Diptera วงศ์ Tephritidae จำนวน 2 ชนิด คือ แมลงวันทองฝรั่ง, *Bactrocera correcta* (Bezzi) แมลงวันทอง, *Bactrocera dorsalis* Hendel และแมลงศัตรูธรรมชาติ จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ อันดับ Coleoptera วงศ์ Coccinellidae จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ ตัวงเต่าสีส้ม, *Micraspis discolor* (Fabricius) ตัวงเต่าลายหยัก, *Menochilus sexmaculatus* (Fabricius) อันดับ Neuroptera วงศ์ Chrysopidae จำนวน 1 ชนิด คือ แมลงข้างปีกใส, *Plesiochrysa ramburi* (Schneider) อันดับ Lepidoptera วงศ์ Lycaenidae จำนวน 1 ชนิด คือ หนอนผีเสื้อสีเงินหน้าลิง, *Spalgis epius* (Westwood) การศึกษานี้ยังไม่สิ้นสุดจะต้องดำเนินการต่อไปในปี 2556 โดยสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยแป้งและแมลงศัตรูอ่อนหน้า จากอำเภออื่นๆ ให้ครอบคลุมพื้นที่จังหวัดนครราชสีมาบันทึกรายละเอียด และจัดเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจและจำแนกชนิดของเพลี้ยแป้งและแมลงศัตรูอ่อนหน้าในเขตพื้นที่จังหวัดนครราชสีมา ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2555 พบแมลงศัตรูอ่อนหน้าทั้งสิ้น จำนวน 9 ชนิด อยู่ในอันดับ Homoptera จำนวน 5 ชนิด ดังนี้ วงศ์ Pseudococcidae ได้แก่ เพลี้ยแป้ง จำนวน 4 ชนิดคือ เพลี้ยแป้งลาย, *Ferrisia virgata* (Cockerell) เพลี้ยแป้งสับประดสีเทา, *Dysmicoccus neobrevipes* Beardsley เพลี้ยแป้งกาแฟ, *Planococcus lilacinus* (Cockerell) เพลี้ยแป้งชบาสีชมพู, *Maconellicoccus hirsutus* (Green) วงศ์ Monophlebidae จำนวน 1 ชนิด คือ เพลี้ยหอยยักษ์ *Dosicha* sp. อันดับ Lepidoptera วงศ์ Pyralidae จำนวน 1 ชนิด คือ หนอนเจาะผลน้อยหน้า, *Anonaepestis bengalella* Ragonat อันดับ Coleoptera วงศ์ Curculionidae จำนวน 1 ชนิด คือ แมลงค่อมทอง, *Hypomeces*

squamosus Fabricius อันดับ Diptera วงศ์ Tephritidae จำนวน 2 ชนิด คือ แมลงวันทองฝรั่ง, *Bactrocera correcta* (Bezzi) แมลงวันทอง, *Bactrocera dorsalis* Hendel และแมลงศัตรูธรรมชาติ จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ อันดับ Coleoptera วงศ์ Coccinellidae จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ ตัวงเต่าสีส้ม, *Micraspis discolor* (Fabricius) ตัวงเต่าลายหยัก, *Menochilus sexmaculatus* (Fabricius) อันดับ Neuroptera วงศ์ Chrysopidae จำนวน 1 ชนิด คือ แมลงข้างปีกใส, *Plesiochrysa ramburi* (Schneider) อันดับ Lepidoptera วงศ์ Lycaenidae จำนวน 1 ชนิด คือ หนอนผีเสื้อสีเงินหน้าลิง, *Spalgis epius* (Westwood) การศึกษานี้ยังไม่สิ้นสุดจะต้องดำเนินการต่อไปในปี 2556

เอกสารอ้างอิง

บุปผา เหล่าสินชัย และ ชลิตา อุณหวุฒิ. 2543. เพลี้ยแป้งและเพลี้ยหอยศัตรูพืชที่สำคัญ. โรงพิมพ์คุรุสภาลาดพร้าว, กรุงเทพฯ. 70 หน้า.



ก



ข



ค



ง

ภาพที่ 1 เพลี้ยแป้งที่พบในน้อยหน่า

ก เพลี้ยแป้งลาย, *Ferrisia virgata* (Cockerell)

ข เพลี้ยแป้งสับประดสีเทา, *Dysmicoccus neobrevipes* Beardsley

ค เพลี้ยแป้งกาแฟ, *Planococcus lilacinus* (Cockerell)

ง เพลี้ยแป้งชบาสีชมพู, *Maconellicoccus hirsutus* (Green)

อนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้งในมันสำปะหลัง

Taxonomy of Mealybug on Cassava

ชмыพร บัวมาศ ชลิตา อุณหุฒิ สุนัดดา เชาวลิต ลิทธิศิริโรดม แก้วสวัสดิ์

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้งในมันสำปะหลังดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2555 เพื่อทราบชนิด ลักษณะความแตกต่างพร้อมแนวทางในการวินิจฉัยและเขตการกระจายของเพลี้ยแป้งในมันสำปะหลังที่มีอยู่ในประเทศไทย เก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยแป้งจากแหล่งปลูกมันสำปะหลังในจังหวัดต่างๆทั่วประเทศ นำตัวอย่างที่รวบรวมได้มาทำสไลด์ถาวร และตรวจวินิจฉัยชนิด ตามหลักอนุกรมวิธาน ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จากการตรวจจำแนกชนิด พบเพลี้ยแป้ง จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยแป้งลาย, *Ferrisia virgata* (Cockerell) เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู, *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีเขียว, *Phenacoccus madeirensis* Green เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีเทา, *Pseudococcus jackbeardsleyi* Gimple & Miller เพลี้ยแป้งมะละกอ, *Paracoccus marginatus* Williams & Granara de Willink แมลงศัตรูธรรมชาติที่พบ จำนวน 9 ชนิด อันดับ Coleoptera วงศ์ Coccinellidae จำนวน 7 ชนิด ได้แก่ ตัวงเต่าสีส้ม, *Micraspis discolor* (Fabricius) ตัวงเต่าลายหยัก, *Menochilus sexmaculatus* (Fabricius) ตัวงเต่าแก้มเหลือง, *Curinus coeruleus* Mulsant ตัวงเต่าลายรี, *Cryptogonus orbiculus* (Gyllenhal) ตัวงเต่าบรูมอยเดส, *Brumoides saturalis* Fabricius ตัวงเต่านีฟัส, *Nephus ryuguus* (H.Kamiya) ตัวงเต่าสคิมันัส, *Scymnus rectoides* Sasaji อันดับ Neuroptera วงศ์ Chrysopidae จำนวน 1 ชนิด คือ แมลงข้างปีกใส, *Plesiochrysa ramburi* (Schneider) อันดับ Hymenoptera วงศ์ Encyrtidae จำนวน 1 ชนิด คือ แตนเบียนเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู, *Anagyrus lopezi* (De Santis) ตัวอย่างที่ได้นำมาเก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร การศึกษานี้ยังไม่สิ้นสุดจะต้องดำเนินการต่อไปในปี 2556

รหัสการทดลอง 01-07-54-53-01-01-01-54

คำนำ

เพลี้ยแป้ง (Mealybug) เป็นแมลงปากดูดที่มีขนาดเล็ก จึงมีโอกาที่จะเล็ดลอดไปสู่แหล่งอาหารใหม่ โดยติดไปกับส่วนต่างๆ ของพืช ยานพาหนะ คน สัตว์ และลม แมลงชนิดนี้สามารถขยายพันธุ์ได้ทั้งแบบใช้เพศและไม่ใช้เพศ จึงเกิดการแพร่ระบาดได้รวดเร็วเมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม เช่นในช่วงสภาพอากาศร้อน แล้ง และฝนทิ้งช่วง เพลี้ยแป้งทำให้เกิดความเสียหายกับพืชนานาชนิด ทั้งพืชสวนพืชไร่ โดยที่ตัวอ่อนและตัวเต็มวัย ดูดกินน้ำเลี้ยงจากส่วนต่างๆ ของพืช เช่น ยอด ตา ใบ และราก ทำให้บริเวณที่ถูกทำลายมีลักษณะผิดปกติ เช่นใบเป็นจุดสีเหลืองและหงิกงอ ถ้าพืชถูกทำลายรุนแรงจะชะงักการเจริญเติบโตและบางครั้งทำให้ต้นตายได้ นอกจากนี้เพลี้ยแป้งยังขับถ่ายของเหลว มีลักษณะเป็นน้ำเหนียวๆ เรียกว่า มูลน้ำหวาน (honeydew) ซึ่งเป็นอาหารของราดำ ทำให้ราดำเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว และพืชสังเคราะห์แสงได้น้อยลง ส่งผลให้ผลผลิตลดลงสำหรับผลิตภัณฑ์ที่ได้ยังด้อยคุณภาพ กระทั่งต่อการส่งออกผลผลิตทางการเกษตร เช่น เพลี้ยแป้งมันสำปะหลัง เมื่อปี ค.ศ. 1973 เกิดการระบาดของเพลี้ยแป้งในแอฟริกาทำความเสียหายให้กับมันสำปะหลังทุกแหล่งปลูก คาดว่าสาเหตุอาจติดไปกับท่อนพันธุ์ที่นำเข้ามาจากประเทศแอมบอเมริกาได้และมีเพลี้ยแป้งปนเปื้อนเมื่อนำไปปลูกในพื้นที่อื่นๆ ทำให้เกิดการระบาดทั่วประเทศและแพร่กระจายไปยังประเทศใกล้เคียงด้วย สำหรับในประเทศไทยพบปัญหาการระบาดของเพลี้ยแป้ง ในปีเพาะปลูก 2551/2552 มีพื้นที่มากกว่า 1,417,628 ไร่

ในประเทศไทย Wongsiri (1991) รายงานการพบ เพลี้ยแป้งลาย *Ferrisia virgata* (Cockerell) เป็นแมลงศัตรูของมันสำปะหลัง และ อรุณี (2547) กล่าวว่าเพลี้ยแป้งที่เข้าทำลายมันสำปะหลังมี 2 ชนิด คือ ชนิดวางไข่ และชนิดออกลูกเป็นตัว ชนิดที่ออกลูกเป็นตัวจะเคลื่อนไหวได้รวดเร็วกว่าชนิดวางไข่ หากสภาพอากาศแห้งแล้งและฝนทิ้งช่วงเป็นเวลานาน จะเพิ่มปริมาณอย่างรวดเร็ว ตัวอ่อนวัยที่ 1 เป็นวัยที่เคลื่อนย้ายไปตามส่วนต่างๆ ของพืช เป็นวัยที่แพร่กระจายไปสู่บริเวณอื่น เข้าทำลายโดยดูดกินน้ำเลี้ยงตามส่วนต่างๆ ของพืช ในส่วนใบ ยอด และส่วนตา มูลเหลวของแมลงทำให้เกิดราดำ (sooty mold) มีผลทำให้พืชสังเคราะห์แสงน้อยลง เจริญเติบโตไม่เต็มที่ ลำต้นมีข้อถี่ ยอดแห้งตายหรือยอดแตกพุ่ม มีผลกระทบต่อการสร้างหัว ที่สำคัญยังติดไปกับท่อนพันธุ์ที่นำไปปลูกในฤดูกาลต่อไปและเมื่อต้นปี พ.ศ. 2552 พบการระบาดของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังขยายพื้นที่เป็นบริเวณกว้างซึ่งหากพบการระบาดรุนแรงจะทำให้ผลผลิตลดลง 80 เปอร์เซ็นต์หรืออาจไม่ได้รับผลผลิต ดังนั้นการศึกษานุกรมวิธานของเพลี้ยมันสำปะหลังเพื่อให้ทราบชนิดและลักษณะที่สำคัญของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังจึงมีความอย่างยิ่งซึ่งข้อมูลที่ได้จะนำไปใช้เป็นข้อมูลในการหาวิธีการป้องกันกำจัดที่ถูกต้องและเหมาะสมต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างเปลือกแบ่งในมันสำปะหลัง
2. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างเปลือกแบ่ง ได้แก่ แอลกอฮอล์ 70 – 80% หรือน้ำยา AGA ขวดดอง ตัวอย่างแมลง พู่กัน คัตเตอร์ กรรไกรตัดกิ่ง กล่องพลาสติก ถุงกระดาษและถุงพลาสติก
3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวรเปลือกแบ่ง 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 กล้องใส่สไลด์ถาวร ตู้อบสไลด์ถาวร
4. กล้องจุลทรรศน์ compound microscope และ stereo microscope และ กล้องถ่ายภาพ
5. อุปกรณ์วัดภาพ ได้แก่ ปากกา rotting และกระดาษไขเขียนแบบ
6. เอกสารประกอบการจำแนกชนิดเปลือกแบ่ง

วิธีดำเนินการ

- 1.สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างเปลือกแบ่งจากแหล่งปลูกมันสำปะหลังทุกภาคของประเทศ ตัดชิ้นส่วนของพืชที่มีเปลือกแบ่งอาศัยอยู่ ใส่ในถุงกระดาษหรือห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์แล้วใส่ในถุงพลาสติก บันทึกสถานที่ พิกัดทางภูมิศาสตร์ วัน เดือน ปี ที่เก็บตัวอย่าง ชนิดและส่วนของพืชที่ถูกทำลาย รวมทั้งชื่อผู้เก็บ
2. นำตัวอย่างเปลือกแบ่งที่เก็บรวบรวมได้ มาตรวจดูลักษณะภายนอกด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope ถ่ายภาพ บันทึกรายละเอียด เช่น ขนาด รูปร่างลักษณะและสีของเปลือกแบ่ง ก่อนทำสไลด์ถาวรแล้วดองในแอลกอฮอล์ 80%
3. สำหรับตัวอย่างอีกส่วนหนึ่งโดยเฉพาะตัวอ่อนจะถูกนำไปเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ โดยใส่ตัวอย่างพร้อมพืชอาหารในกล่องพลาสติกใสที่มีฝากล่องเป็นตาข่าย พร้อมบันทึกรายละเอียดตามข้อ 1 เพื่อศึกษาแมลงศัตรูธรรมชาติและวงจรชีวิตต่อไป
4. นำตัวอย่างเปลือกแบ่งจากขวดดองตัวอย่างในข้อ 2 มาทำสไลด์ถาวร โดยดัดแปลงวิธีการของ Williams and Watson (1988) มีขั้นตอนดังนี้
 - 4.1 ใช้เข็มเขี่ยเจาะบริเวณกลางส่วนนอกด้านบนของตัวอย่างเปลือกแบ่ง นำไปใส่ในหลอดทดลองที่บรรจุด้วยสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) 10% จากนั้นนำหลอดทดลองไปต้มด้วยวิธีวอเตอร์บาท ใช้เวลาประมาณ 15 นาที (เริ่มนับตั้งแต่ต้มน้ำในบีกเกอร์เดือด) โดยระวังไม่ให้สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ที่อยู่ในหลอดทดลองเดือด เพราะจะทำให้ตัวอย่างเกิดความเสียหายได้
 - 4.2 นำตัวอย่างเปลือกแบ่งที่ต้มแล้วมาล้างในน้ำกลั่น กดเบา ๆ บนลำตัวด้วยเข็มตัด

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

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

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

4.5 ย้อมสีตัวอย่างโดยแช่ในน้ำยาย้อมสี ซึ่งเป็นสารละลายของแอซิดฟุซซิน (acid fuchsin) กรดเกลือ (hydrochloric acid) และน้ำกลั่น แช่ทิ้งไว้ 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 นำตัวอย่างเพ็ลลีย์แป้งวางบนแผ่นสไลด์แก้ว ใช้กระดาษกรองซับโคล์ฟออยส่วนที่เกินออก หยดแคนาดาบัลซัม (canada balsam) 1 หยดบนตัวอย่างแมลงจัดรูปร่าง ให้สวยงามไม่ปิดเบี้ยวหรือทับซ้อนกัน ปิดทับด้วยแผ่นแก้วปิดสไลด์

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

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

6. วาดรูปแสดงลักษณะทางอนุกรมวิธานของเพ็ลลีย์แป้งแต่ละชนิด โดยวาดลงบนกระดาษกราฟและลอกลงบนกระดาษไขเขียนแบบและจัดทำแนวทางวินิจฉัยชนิดเพ็ลลีย์แป้งในมันสำปะหลัง

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

8. จัดเก็บตัวอย่างเพ็ลลีย์แป้งในกล่องใส่สไลด์ถาวรและนำไปเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามหลักสากล

เวลาและสถานที่

เวลา เดือนตุลาคม 2553 ถึง เดือนกันยายน 2555

สถานที่ 1. แหล่งปลุกมันสำปะหลังจังหวัดต่างๆ
2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยแป้งจากแหล่งปลุกมันสำปะหลังในเขตภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดแพร่ ลำปาง เชียงใหม่ ลำพูน เชียงราย พะเยา และน่าน เขตภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดกำแพงเพชร สุโขทัย พิษณุโลก เพชรบูรณ์ พิจิตร อุทัยธานี สุพรรณบุรี ลพบุรี และสระบุรี เขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดจันทบุรี ระยอง ตราด ชลบุรี ปราจีนบุรี ฉะเชิงเทรา และสระแก้ว เขตภาคตะวันออก ได้แก่ จังหวัดตาก ราชบุรี กาญจนบุรี เพชรบุรี และประจวบคีรีขันธ์ เขตภาคตะวันตก ได้แก่ จังหวัดตาก ราชบุรี กาญจนบุรี เพชรบุรี และประจวบคีรีขันธ์ เขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัด นครราชสีมา บุรีรัมย์ อุบลราชธานี เลย สุรินทร์ หนองบัวลำภู มุกดาหาร ขอนแก่น มหาสารคาม ร้อยเอ็ด กาฬสินธุ์ ชัยภูมิ ศรีสะเกษ และอำนาจเจริญ เขตภาคใต้ ได้แก่ จังหวัดชุมพร พบเพลี้ยแป้ง จำนวน 4 สกุล 5 ชนิด ดังนี้

- 1) สกุล *Ferrisia* พบ 1 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยแป้งลาย, *Ferrisia virgata* (Cockerell)
- 2) สกุล *Phenacoccus* พบ 2 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู, *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero และเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีเขียว, *Phenacoccus madeirensis* Green
- 3) สกุล *Pseudococcus* พบ 1 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีเทา, *Pseudococcus jackbeardsleyi* Gimple & Miller
- 4) สกุล *Paracoccus* พบ 1 ชนิดได้แก่ เพลี้ยแป้งมะละกอ, *Paracoccus marginatus* Williams & Granara de Willink

พบแมลงศัตรูธรรมชาติ จำนวน 9 ชนิด ได้แก่ อันดับ Coleoptera วงศ์ Coccinellidae จำนวน 7 ชนิด อันดับ Neuroptera วงศ์ Chrysopidae จำนวน 1 ชนิด อันดับ Hymenoptera วงศ์ Encyrtidae จำนวน 1 ชนิด การศึกษานี้จะต้องดำเนินต่อไปในปี 2556 โดยสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยแป้งในมันสำปะหลังให้ครอบคลุมทุกภูมิภาคของประเทศ และจัดทำแนวทางวินิจฉัยเพลี้ยแป้งในมันสำปะหลังพร้อมบันทึกรายละเอียดของเพลี้ยแป้งแต่ละชนิด และจัดเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง

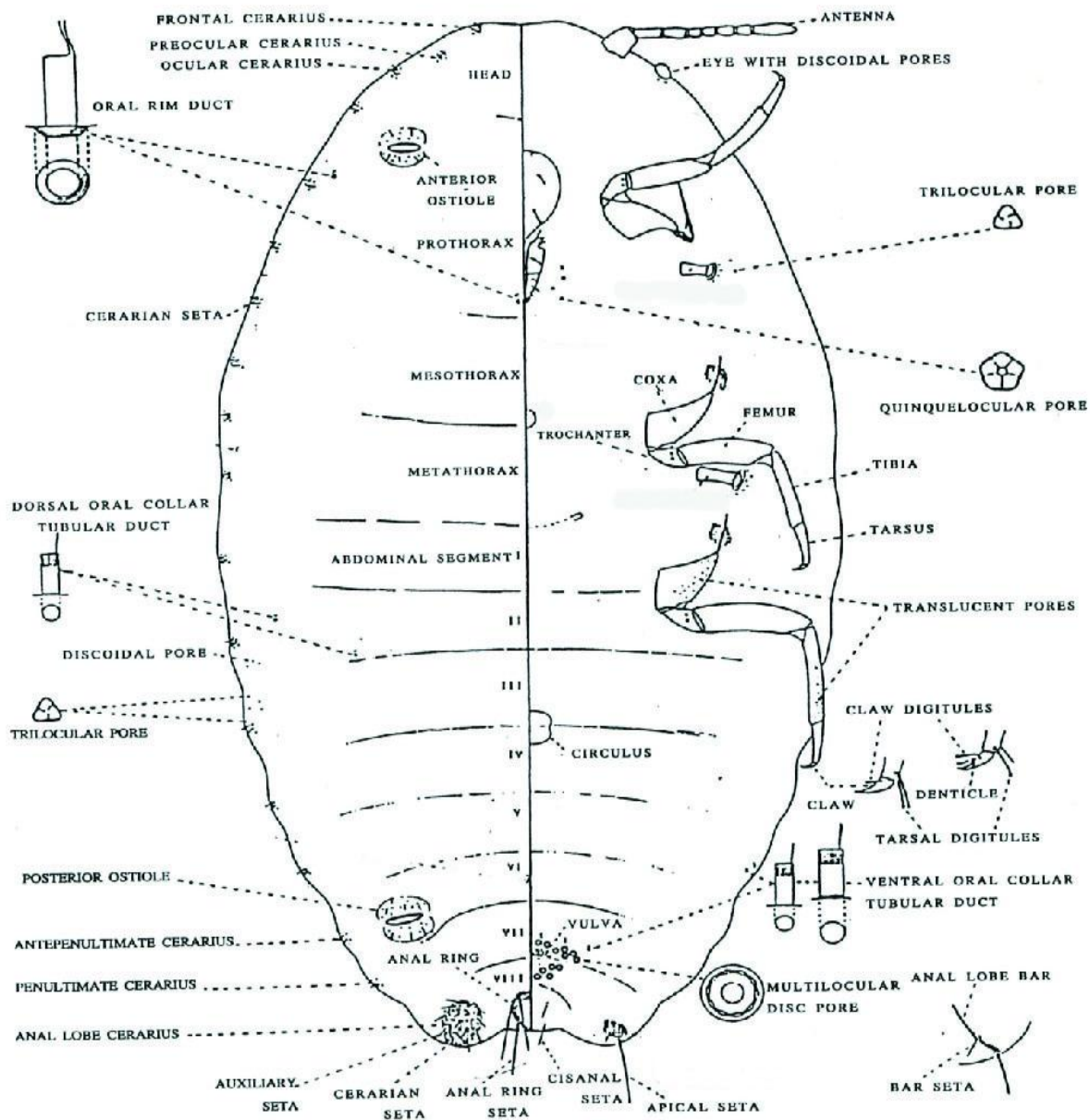
สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษานุกรมวิธานของเพลี้ยแป้งในมันสำปะหลัง ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึง กันยายน 2556 จากการศึกษานุกรมวิธานของเพลี้ยแป้งในมันสำปะหลัง พบเพลี้ยแป้งจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยแป้งลาย, *Ferrisia virgata* (Cockerell) พบบริเวณใต้ใบแก่ ลำต้น หรือบางครั้ง

พบบริเวณยอดของมันสำปะหลัง มีเขตการแพร่กระจายทั่วประเทศไทยในทุกแหล่งปลูกมันสำปะหลัง เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู, *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero มักพบบริเวณยอดอ่อนของต้นมันสำปะหลัง มีเขตการแพร่กระจายทั่วประเทศไทยยกเว้นเขตภาคใต้เนื่องจากไม่มีการปลูกมันสำปะหลังเพื่อการค้า เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีเขียว, *Phenacoccus madeirensis* Green พบบริเวณลำต้นของมันสำปะหลังเป็นส่วนใหญ่ บางครั้งพบบริเวณใบ หรือใกล้ส่วนยอด พบเขตการแพร่กระจายในตำบลซับสนุ่น อำเภออมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี และตำบลกลางดง อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา เท่านั้น เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีเทา, *Pseudococcus jackbeardsleyi* Gimple & Miller พบบริเวณลำต้นและใต้ใบแก่ของมันสำปะหลัง พบเขตการแพร่กระจายทั่วประเทศไทยในทุกแหล่งปลูกมันสำปะหลัง เพลี้ยแป้งมะละกอ, *Paracoccus marginatus* Williams & Granara de Willink พบบริเวณใต้ใบแก่เป็นส่วนใหญ่ แต่บางครั้งพบบริเวณยอดอ่อนของต้นมันสำปะหลังได้ พบเขตการแพร่กระจายทั่วประเทศไทยในทุกแหล่งปลูกมันสำปะหลัง และพบแมลงศัตรูธรรมชาติ จำนวน 9 ชนิด ได้แก่ อันดับ Coleoptera วงศ์ Coccinellidae จำนวน 7 ชนิด ได้แก่ ตัวงเต่าสีส้ม, *Micraspis discolor* (Fabricius) ตัวงเต่าลาย, *Menochilus sexmaculatus* (Fabricius) ตัวงเต่าแก้มเหลือง, *Curinus coeruleus* Mulsant ตัวงเต่าลายรี, *Cryptogonus orbiculus* (Gyllenhal) ตัวงเต่าบรูมอยเดส, *Brumoides saturalis* Fabricius ตัวงเต่านีฟัส, *Nephus ryuguus* (H.Kamiya) ตัวงเต่าสคิมมันัส, *Scymnus rectoides* Sasaji อันดับ Neuroptera วงศ์ Chrysopidae จำนวน 1 ชนิด คือ แมลงข้างปีกใส, *Plesiochrysa ramburi* (Schneider) อันดับ Hymenoptera วงศ์ Encyrtidae จำนวน 1 ชนิด คือ แตนเบียนเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู, *Anagyrus lopezi* (De Santis) นี้ยังไม่สิ้นสุดจะต้องดำเนินการต่อไปในปี 2556

เอกสารอ้างอิง

- อรุณี วงษ์กอบประเสริฐ. 2547. โรค แมลง และศัตรูของมันสำปะหลัง, น 58-74. ใน เอกสารวิชาการมันสำปะหลัง กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- Wongsiri, N. 2534. List of Insects, Mite and other Zoological Pests of Economic Plants in Thailand. Entomology and Zoology Division, Department of Agriculture. Bangkok. 168 Pages
- Williams, D.J. and Watson, G.W. 1988. The Scale Insects of the Tropical South Pacific Region Part 2. the Mealybugs (Pseudococcidae). CAB International Institute of Entomology, Wallingford. 260 pp.



ด้านบน

ด้านล่าง

ภาพที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเพลี้ยแป้งเทศเมีย (Williams and Watson, 1988)



ก



ข



ค



ง

ภาพที่ 2 ลักษณะในธรรมชาติของเพลี้ยแป้งลาย, *Ferrisia virgata* (Cockerell)

- ก ตัวเต็มวัยเพศเมีย
- ข กลุ่มเพลี้ยแป้งดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณใบมันสำปะหลัง
- ค กลุ่มเพลี้ยแป้งดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณยอดมันสำปะหลัง
- ง กลุ่มเพลี้ยแป้งดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณลำต้นมันสำปะหลัง



ก



ข



ค



ง



จ



ฉ

ภาพที่ 3 ลักษณะในธรรมชาติของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู, *Phenacoccus manihoti* Matile-

Ferrero

ก ตัวเต็มวัยเพศเมีย

ข ตัวอ่อนเพลี้ยแป้ง

ค กลุ่มเพลี้ยแป้งดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณลำต้นมันสำปะหลัง

ง กลุ่มเพลี้ยแป้งดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณใต้ใบมันสำปะหลัง

จ กลุ่มเพลี้ยแป้งดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณยอดอ่อนมันสำปะหลัง

ฉ กลุ่มเพลี้ยแป้งดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณยอดอ่อนมันสำปะหลังจนแห้งตาย



ก

ข



ค

ง

ภาพที่ 4 ลักษณะในธรรมชาติของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีเขี้ยว, *Phenacoccus madeirensis* Green

- ก ตัวเต็มวัยเพศเมีย
- ข กลุ่มเพลี้ยแป้งดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณลำต้นมันสำปะหลัง
- ค กลุ่มเพลี้ยแป้งดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณใบมันสำปะหลัง
- ง กลุ่มเพลี้ยแป้งดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณใบมันสำปะหลัง



ก



ข



ค



ง

ภาพที่ 5 ลักษณะในธรรมชาติเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีเทา, *Pseudococcus jackbeardsleyi*

Gimple & Miller

- ก ตัวเต็มวัยเพศเมียและตัวอ่อน
- ข กลุ่มเพลี้ยแป้งดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณลำต้นมันสำปะหลัง
- ค กลุ่มเพลี้ยแป้งดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณลำต้นอ่อนมันสำปะหลัง
- ง กลุ่มเพลี้ยแป้งดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณส่วนยอดมันสำปะหลัง



ก

ข



ค

ง

ภาพที่ 6 ลักษณะในธรรมชาติเพลี้ยแป้งมะละกอ, *Paracoccus marginatus* Williams & Granara de

Willink ก ตัวเต็มวัยเพศเมีย

ข กลุ่มเพลี้ยแป้งดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณใบมันสำปะหลัง

ค กลุ่มเพลี้ยแป้งดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณลำต้นอ่อนมันสำปะหลัง

ง กลุ่มเพลี้ยแป้งดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณยอดอ่อนมันสำปะหลัง

อนุกรมวิธานแมลงหรีขาวในมันสำปะหลัง

Taxonomy of Whitefly in Cassava

สุนัดดา เชาวลิต ชัยพร บัวมาศ

อิทธิพล บรรณการ เกศสุดา สนศิริ สิทธิศิริโรตม แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาอนุกรมวิธานแมลงหรีขาวในมันสำปะหลัง เพื่อทราบชนิด ลักษณะความแตกต่างพร้อมแนวทางการวินิจฉัยชนิด พืชอาหาร และเขตการแพร่กระจาย เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานจัดทำรายชื่อชนิดแมลงศัตรูมันสำปะหลัง และกำหนดวิธีการป้องกันกำจัดได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2556 ในแปลงปลูกมันสำปะหลัง ทั่วทุกภาคของประเทศไทย นำตัวอย่างที่สำรวจได้มาจำแนกชนิด ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จากการศึกษาครั้งนี้ พบแมลงหรีขาว 2 ชนิด ได้แก่ แมลงหรีขาวใยเกลียว (spiralling Whitefly) *Aleurodicus dispersus* Russell และแมลงหรีขาวยาสูบ (tobacco Whitefly) *Bemisia tabaci* (Gennadius) ตัวอย่างแมลงหรีขาวนำเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร

คำนำ

การปลูกมันสำปะหลังในปัจจุบัน ประสบปัญหาการแพร่ระบาดของแมลงศัตรูพืชสร้างความเสียหายให้กับเกษตรกรเป็นอย่างมาก แมลงศัตรูที่พบบ่อยนอกจาก เพลี้ยแป้ง และไรแดงแล้ว ยังมีแมลงอีกชนิดหนึ่งมักพบควบคู่กันไปด้วยเสมอ นั่นคือแมลงหรีขาว ถึงแม้การระบาดจะไม่รุนแรงเท่าเพลี้ยแป้ง แต่ปริมาณที่สำรวจพบเพิ่มมากขึ้น มีการระบาดครอบคลุมหลายพื้นที่ และในบางพื้นที่ปริมาณการระบาดใกล้เคียงกับเพลี้ยแป้ง ซึ่งในอนาคตแมลงชนิดนี้มีแนวโน้มจะเป็นแมลงศัตรูสำคัญที่สร้างความเสียหายให้เกษตรกรผู้ปลูกมันสำปะหลังไม่น้อย

รหัสการทดลอง 01-07-54-03-01-01-02-54

แมลงหรีขาว (Whitefly) เป็นแมลงขนาดเล็ก จัดอยู่ในอันดับ Hemiptera วงศ์ Aleyrodidae แบ่งเป็น 2 วงศ์ย่อย คือ วงศ์ย่อย Aleurodicinae และวงศ์ย่อย Aleyrodinae ปัจจุบันแมลงหรีขาวนับเป็นแมลงศัตรูพืชที่มีความสำคัญชนิดหนึ่ง มีการระบาดรุนแรงไปทั่วโลก อาศัยอยู่กับพืชมากมายหลายชนิด ทั่วโลกมีแมลงหรีขาวประมาณ 40 สกุล ไม่น้อยกว่า 1,200 ชนิด (Martin, 1987) สำหรับประเทศไทย Hutacharern *et. al.* (2007) รวบรวมรายชื่อแมลงหรีขาวได้ 93 ชนิด Mound และ Halsey (1978) รายงานชนิดแมลงหรีขาวที่เป็นศัตรูพืชทางเศรษฐกิจ มีไม่น้อยกว่า 50 ชนิด สมชัย (2550) รายงานชนิดแมลงหรีขาวศัตรูพืชในประเทศไทยไว้ 9 ชนิด แมลงหรีขาวที่เป็นศัตรูพืชสำคัญ เช่น แมลงหรีขาวยาสูบ *Bemisia tabaci* (Gennadius) พบทำลายพืชหลายชนิด ได้แก่ มันสำปะหลัง ฝ้าย มันฝรั่ง มันเทศ ยาสูบ มะเขือเทศ มะเขือ พืชตระกูลแตง และพืชผักต่างๆ รวมถึงพืชหลายชนิด (สิริวัฒน์, 2526; Ohno, 1992) นอกจากเป็นศัตรูพืชแล้ว แมลงหรีขาวชนิดนี้ยังเป็นพาหะนำเชื้อไวรัสมาสู่พืชได้อีกด้วย เช่นนำเชื้อไวรัสใบหด (tobacco leaf curl virus) ซึ่งเป็นโรคสำคัญของใบยาสูบ แมลงหรีขาวอีกชนิดที่เป็นศัตรูสำคัญและพบได้บ่อย ได้แก่ แมลงหรีขาว *Aleurocanthus woglumi* มีถิ่นกำเนิดในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้จากนั้นแพร่ระบาดไปยังประเทศต่างๆ ทั่วโลก (CIE, 1995) เป็นศัตรูสำคัญของส้ม ในเม็กซิโก รายงานพืชที่แมลงหรีขาวชนิดนี้เข้าทำลาย 75 ชนิด ใน 38 วงศ์ (Shaw, 1950) และเป็นศัตรูสำคัญที่เพิ่งสำรวจพบในกาแฟ Le Pelley (1968) แมลงหรีขาว *Aleurolobus barodensis* เป็นสำคัญของอ้อย พบแพร่ระบาดในอินเดีย อินโดนีเซีย ปากีสถาน และไทย

สำหรับในประเทศไทยข้อมูลด้านอนุกรมวิธานของแมลงหรีขาวในมันสำปะหลังยังมีน้อยมาก ดังนั้นในเบื้องต้นจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาเพื่อได้ทราบชนิด เขตการแพร่กระจายของแมลงหรีขาวในมันสำปะหลัง เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นด้านกีฏวิทยานำไปสู่แนวทางการป้องกันกำจัดได้อย่างถูกต้องเหมาะสมและมีประสิทธิภาพในลำดับต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- 1) ตัวอย่างแมลงหรีขาวที่รวบรวมได้จากแปลงปลูกมันสำปะหลัง ทั่วทุกภาคของประเทศไทย
- 2) อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ ปากคีบ พู่กัน กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก ถุงกระดาษใส่ตัวอย่างแมลง กรรไกรตัดกิ่ง ขวดดองแมลงซึ่งบรรจุแอลกอฮอล์ 80% ถึงรักษาความเย็น และเครื่องวัดค่าพิกัดภูมิศาสตร์ (GPS)
- 3) อุปกรณ์และสารเคมีต่างๆ สำหรับใช้ในการทำสไลด์ถาวร ได้แก่ potassium hydroxide 10 %, alcohol 70-95 %, acetic acid glacial, Chloral-phenol, ammonia solution, hydrogen peroxide, acid fuchsin stain, clove oil และ canada balsam ปีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร แผ่นสไลด์แก้วและแผ่นแก้วปิดสไลด์ ตู้อบสไลด์ถาวร
- 4) กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereomicroscope ,compound microscope และกล้องถ่ายภาพ

- 5) อุปกรณ์วาดภาพ ได้แก่ ปากกา rotting และกระดาษไขเขียนแบบ
- 6) เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของแมลงหริ่งขาว

วิธีการ

1) ตรวจสอบและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงหริ่งขาวจากแปลงปลูกมันสำปะหลัง โดยตัดส่วนของพืชที่มีตัวอ่อน ดักแด้ หรือตัวเต็มวัยแมลงหริ่งขาวเกาะอยู่ด้วยกรรไกรตัดกิ่ง นำตัวอย่างแมลงหริ่งขาวที่เก็บรวบรวมพร้อมพืชอาศัยหรือกระดาษไขแล้วนำไปใส่ถุงพลาสติก หรือกล่องพลาสติก หากตัวอย่างแมลงหริ่งขาวที่รวบรวมได้อยู่ในระยะตัวอ่อน ต้องนำไปเลี้ยงในห้องปฏิบัติการจนเป็นดักแด้ บันทึกข้อมูลเบื้องต้น เช่น พืชอาหาร สถานที่ วัน เดือน ปี วัดค่าพิกัดภูมิศาสตร์ และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง ทุกครั้งที่เก็บตัวอย่าง

2) นำตัวอย่างดักแด้และตัวเต็มวัยแมลงหริ่งขาวที่เก็บรวบรวม มาตรวจลักษณะภายนอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo microscope บันทึกรายละเอียดต่างๆ เช่น ขนาด รูปร่าง ลักษณะ สี ฯลฯ พร้อมทั้งถ่ายภาพแมลงหริ่งขาวแต่ละระยะ

3) นำตัวอย่างดักแด้ที่สำรวจได้ มาทำสไลด์ถาวร โดยตัดแปลงจากวิธีการของ Martin (1987) ตัดชิ้นส่วนของพืชเฉพาะที่มีดักแด้ติดอยู่ แช่ในสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 10 % ที่ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง หรือแช่ในสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 10 % ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-20 นาที จะช่วยให้แยกดักแด้ออกจากพืชอาศัยได้ง่าย โดยไม่ทำให้ตัวอย่างเสียหาย ดูดสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ออก เติมกรดกลูเซอิลอะซิติก แช่ทิ้งไว้ 2-3 นาที แล้วดูดกรดกลูเซอิลอะซิติกออก เติมสารละลายคลอโรล-ฟีนอล (chloral-phenol) แช่ทิ้งไว้ 2-3 นาทีเช่นกัน แล้วดูดสารผสมนี้ออก วิธีนี้นอกจากจะช่วยกำจัดคราบไขมันที่ห่อหุ้มดักแด้แล้ว ยังช่วยในการย้อมสีทำให้ตัวอย่างติดสีได้ดีขึ้น การย้อมสีแมลงหริ่งขาวปฏิบัติตามขั้นตอนดังนี้

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

- ดักแด้ที่มีสีจางหรือสีซีด ให้ล้างตัวอย่างด้วยกรดกลูเซอิลอะซิติก ย้ายตัวอย่างลงในสารละลายแอซิกฟลูออโรซีสเตน ใช้เพียง 2-3 หยดเพื่อย้อมสีตัวอย่าง แช่ทิ้งไว้ 2-3 นาที ดูดสารละลายหรือสีย้อมออก ล้างด้วยกรดกลูเซอิลอะซิติก และแช่ในกรดกลูเซอิลอะซิติก ทิ้งไว้ 2-3 นาที แล้วดูดสารละลายนี้ออก เติมโคลฟอยหรือโซลิน แช่ทิ้งไว้ 2-3 นาที เมารถตัวอย่างบนแผ่นสไลด์ แล้วนำไปอบให้แห้งใช้เวลา 5 สัปดาห์

4) นำสไลด์ที่ผ่านการอบจนแห้งแล้วมาตรวจวิเคราะห์จำแนกชนิดใต้กล้องจุลทรรศน์ compound microscope ตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานด้วยการใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยชนิดของแมลงหริ่งขาว ลักษณะสำคัญที่ใช้จำแนกชนิดได้แก่ ขนและหนาม (setae & spine) ขอบลำตัว (margin) อวัยวะที่ใช้ในการขับไข่ เช่น ช่องเปิดบนลำตัวชนิดต่างๆ (pores) vesiform orifice, lingula และ operculum เป็นต้น

5) บันทึกรายละเอียดของแมลงหวีขาวชนิดต่างๆที่สำรวจพบ และข้อมูลอื่นที่สำคัญ ถ่ายภาพได้ กล้องจุลทรรศน์ รวมถึงบันทึกรายละเอียดบนแผ่นป้ายที่ต้องติดไว้กับสไลด์แมลงหวีขาวแต่ละตัว ได้แก่ ชื่อ วิทยาศาสตร์ วัน/เดือน/ปี สถานที่จับ และ วัน/เดือน/ปีที่ทำสไลด์ถาวร ซื่อน้ำยาที่ใช้เมาท์ (mount) สไลด์

6) จัดเก็บตัวอย่างที่ได้ศึกษา โดยนำตัวอย่างแมลงหวีขาวพร้อมตัวอย่างพืชที่มีด้กแต่เกาะอยู่และ สไลด์ถาวรที่ทำเสร็จแล้ว เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากล เพื่อตรวจสอบ สืบค้น และอ้างอิงในภายหลัง

เวลาและสถานที่

เวลา : เดือนตุลาคม 2553 – เดือนกันยายน 2556

สถานที่ : - แปลงปลูกมันสำปะหลัง ทั่วทุกภาคของประเทศไทย
- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษานุกรมวิธานแมลงหวีขาวในมันสำปะหลัง จากทั่วทุกภาคของประเทศไทย ผลการตรวจ วิเคราะห์ชนิด โดยใช้แนวทางการวินิจฉัยปรับปรุงจาก Martin, 1999 รวมทั้งเปรียบเทียบกับตัวอย่างแมลง หวีขาวที่มีในพิพิธภัณฑ์แมลงของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร สามารถวิเคราะห์ ชนิด ได้ 2 ชนิด โดยมีรายละเอียด ดังนี้

แนวทางการวินิจฉัย

- 1 a ช่องเปิดแบบ compound pores ซึ่งทำหน้าที่ผลิตไข พบบริเวณอก 1 คู่ และพบที่ปล้องท้อง 4 หรือ 6 คู่ (Fig.1 A,B) lingula บริเวณท้องมีขนาดใหญ่ ลักษณะคล้ายลิ้นยื่นออกนอก vasiform orifice (Fig.1 A,B) ส่วนปลาย lingual มีขน 2 หรือ 4 เส้น (Fig.1 A,C) ขามีเล็บ (Fig.1B)
.....Subfamily Aleurodicinae.....2a
- b ไม่พบ compound pores บนลำตัว แต่อาจมีช่องเปิดแบบ simple pores ขนาดใหญ่กระจาย ทั่วตัว (Fig.1 A) lingual มีหลายขนาด มักอยู่ด้านใน vasiform orifice (Fig.1 A,D) ขาไม่มีเล็บ...
.....Subfamily Aleyrodinae.....2b
- 2 a มีช่องเปิดแบบ compound pores ซึ่งทำหน้าที่ผลิตไข บริเวณอก 1 คู่ และที่ปล้องท้อง 4 คู่ ที่ ปล้องที่ 3-6 (Fig.2 A) lingula ลักษณะคล้ายลิ้นยื่นออกนอก vasiform orifice รูปร่างคล้ายรูป หัวใจ ส่วนปลาย lingual มีขน 4 เส้น มองเห็นได้ชัดเจน (Fig.2 B).....*Aleurodicus disperses*
- b ท้องจะปรากฏเห็นชัดเพียง 7 ปล้อง (Fig.3 A) vasiform orifice มีรูปร่างค่อนข้างเป็นรูปสามเหลี่ยม เรียวยาวด้านข้างตรง ส่วนด้านท้ายของด้กแต่จะพบลักษณะเป็นร่องเล็กๆ (caudal furrow) ขนที่ dorsum 2 เส้น ยาวและปลายขนแหลม (Fig.3 B).....*Bemisia tabaci*

แมลงหรีขาวไยเกลียว (spiralling Whitefly)

(Fig.2, 4)

ชื่ออื่น -

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Aleurodicus dispersus* Russell, 1965 (Hemiptera: Aleyrodidae:
Aleurodicinae)

ชื่อเดิม -

รูปร่างลักษณะ

ลักษณะบนแผ่นสไลด์ (Fig.2 A,B) ดักแต่ลักษณะโค้งมนเป็นรูปไข่ พบช่องเปิดแบบ compound pores จำนวน 5 คู่ มีขนาดใกล้เคียงกัน โดยพบที่ส่วนหัว 1 คู่ และส่วนท้องระหว่างปล้องท้องที่ 3 ถึงปล้องท้องที่ 6 จำนวน 4 คู่ และช่องเปิดหลายๆขนาดกระจายอยู่ทั่วลำตัว บริเวณขอบลำตัวพบขนแข็งขนาดเล็กรอบลำตัว 12 คู่ ช่องเปิดที่ vasiform orifice มีรูปร่างคล้ายหัวใจโดยมีลิ้นขนาดใหญ่มองเห็นได้ชัดเจน ที่ส่วนปลายลิ้นพบขนแข็ง 4 เส้น ที่ฝาปิดจะมีขนขนาดเล็ก 2 เส้น

ลักษณะที่พบในธรรมชาติ (Fig.4 A-D) แมลงหรีขาวไยเกลียววางไข่เป็นรูวงกลมบนใบหรือใต้ใบพืช ลักษณะเป็นวงเกลียว มีเส้นไยสีขาวปกคลุม แต่ละวงมีไข่ประมาณ 14-26 ฟอง ตัวอ่อนมี 4 วัย ตัวอ่อนวัย 1-2 เริ่มมีเส้นไยสีขาวปกคลุมแต่ไม่มาก ตัวอ่อนวัย 3 มีขนาดใหญ่ขึ้นเริ่มสร้างเส้นไยสีขาวปกคลุมตัวมากขึ้นแต่ยังสามารถมองเห็นส่วนต่างๆ ของลำตัวได้ ตัวอ่อนวัย 4 เส้นไยสีขาวคล้ายเส้นด้ายลักษณะเป็นมันวาวปกคลุมจนไม่สามารถมองเห็นส่วนต่างๆ ของลำตัวได้ ดักแต่มีลักษณะลำตัวนูนขึ้นมีเส้นไยปกคลุมคล้ายตัว และจะไม่เคลื่อนที่จนกว่าจะกลายเป็นตัวเต็มวัย ตัวเต็มวัยมีขนาดลำตัวยาว 2 มิลลิเมตร ลำตัวสีเหลืองอ่อนปีก 2 คู่ ปกคลุมด้วยผงสีขาวคล้ายผงแป้ง มักพบอาศัยรวมกันเป็นกลุ่มหนาแน่น

พืชอาหาร

มันสำปะหลัง Mound & Halsey, 1978 พบแมลงหรีขาวไยเกลียวอาศัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากทุกระยะการเจริญเติบโตของพืช เช่น ดอก ใบ ผล และลำต้น ชนิดพืชที่แมลงหรีขาวไยเกลียวเข้าทำลายมีมากกว่า 100 ชนิด ในพืช 27 ตระกูล ได้แก่ โกโก้ กลัวย กระเจี๊ยบ กระท้อน กระดังงา ขี้เหล็ก คริสมาสชาว คริสมาส ชะพลู ชมพู่ น้ำดอกไม้ ตดหมุดตดหมา ตาลิ่ง ถั่วฝักยาว ถั่วพู น้ำมันมะพร้าว น้อยหน่า บัว ปาล์ม ผักแพรว ผรั่ง พริก พุดตาน พุทรา มะเขือ มะเขือม่วง มะขามเทศ มันสำปะหลัง มะละกอ มะลิ เมเปิ้ล ยางพารา ลีลาวดี ละหุ่ง วัชพืช สตรังค์ หูปลาช่อน องุ่น แอปเปิ้ล อะโวคาโด และอ้อย

แหล่งที่สำรวจพบในแปลงปลูกมันสำปะหลัง

จังหวัดกาญจนบุรี กาฬสินธุ์ กำแพงเพชร ขอนแก่น จันทบุรี ฉะเชิงเทรา ชลบุรี ชัยนาท ชุมพร เชียงใหม่ ตรัง ตาก นครนายก นครปฐม นครราชสีมา นครศรีธรรมราช ปทุมธานี ปราจีนบุรี พระนครศรีอยุธยา พิษณุโลก เพชรบุรี มุกดาหาร ระยอง ราชบุรี เลย สกลนคร สงขลา สระบุรี สุพรรณบุรี สุรินทร์ อุบลราชธานี

แมลงหีขาวยาสูบ (tobacco whitefly)

(Fig.3, 5)

ชื่ออื่น	cotton Whitefly sweetpotato Whitefly
ชื่อวิทยาศาสตร์	<i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius), 1889 (Hemiptera: Aleyrodidae: Aleyrodinae)
ชื่อเดิม	<i>Aleurodes tabaci</i> Gennadius, 1889 <i>Cortesia restonicae</i> Goux, 1987

รูปร่างลักษณะ

ลักษณะดักแด้บนแผ่นสไลด์ (Fig.3 A,B) ลำตัวเรียวกกลม ส่วนหัวโค้งมน ส่วนท้องเรียวกกลม ขอบของลำตัวหยักเป็นคลื่นเล็กน้อย abdominal tracheal pore กว้างแบ่งขอบและส่วนลำตัวออกชัดเจน โดยปกติปล้องท้องจะปรากฏเห็นชัดเพียง 7 ปล้อง vasiform orifice มีรูปร่างค่อนข้างเป็นรูปสามเหลี่ยมเรียวยาวด้านข้าง ส่วนด้านท้ายของดักแด้จะพบลักษณะเป็นร่องเล็กๆ (caudal furrow) มีขนที่ dorsum 2 เส้น ยาวและปลายขนแหลม

ลักษณะที่พบในธรรมชาติ (Fig.5 A-D) แมลงหีขาวยาสูบวางไข่เป็นฟองเดี่ยวหรือเป็นกลุ่มด้านล่างของใบพืช ไข่มีรูปร่างยาวเรียวก มีขนาดเล็กกว่า 0.2 มิลลิเมตร และมีก้านสั้นๆ ยึดไข่ให้ติดกับผิวใบพืช ไข่จะเริ่มเปลี่ยนสีจากสีขาวเป็นสีน้ำตาลเมื่อใกล้ฟักเป็นตัวอ่อน ตัวอ่อนที่ฟักออกมาใหม่สามารถเดินได้ เรียกตัวอ่อนระยะนี้เรียกว่า “Crawler” จะเคลื่อนที่เพียงเล็กน้อยเพื่อหาบริเวณที่เป็นแหล่งอาหาร และเมื่อหยุดนิ่งจะใช้ปากที่มีลักษณะคล้ายเข็ม (needle-like form) ดูดน้ำเลี้ยงจากพืชเป็นอาหาร จากนั้นตัวอ่อนจะลอกคราบครั้งแรกเข้าสู่ระยะที่ 2 ตัวอ่อนจะมีขนาด 0.4-0.8 มิลลิเมตร ลอกคราบครั้งที่ 3 ตัวอ่อนจะมีลักษณะแบนราบติดกับผิวใบ สีเหลืองอมเขียวใส สามารถมองเห็นส่วนต่างๆ ที่อยู่ภายในได้ หลังจากลอกคราบครั้งที่ 4 ตัวอ่อนจะมีลักษณะตัวนูนสีเหลืองเข้มขึ้น เรียกว่าระยะก่อนเข้าดักแด้ สังเกตความแตกต่างโดยระยะเข้าดักแด้จะมีตารวมสีแดง เรียกว่า “red-eyed nymph” ปรากฏให้เห็นชัดเจนและตัวจะนูนมากขึ้น ตัวเต็มวัยยาวประมาณ 1 มิลลิเมตร ลำตัวสีเหลืองเข้ม ปีกปกคลุมด้วยผงสีขาว

พืชอาหาร

จากรายงานพบว่าแมลงหีขาวชนิดนี้มีพืชอาหารมากกว่า 150 ชนิด อยู่ใน 63 วงศ์ (Mound & Halsey.1978) จัดเป็นแมลงศัตรูพืชที่มีพืชอาหารมากชนิดหนึ่ง พบอาศัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบพืช ได้แก่ มันสำปะหลัง กะเพรา โหระพา ผักชีฝรั่ง กุหลาบ มะเขือเปราะ ยาสูบ มันฝรั่ง ฝ้าย และพืชตระกูลถั่ว โดยทั่วไปแมลงชนิดนี้นอกจากจะสร้างความเสียหายโดยการดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบพืชแล้วยังเป็นพาหะนำเชื้อไวรัสเข้าสู่พืช เช่น โรค Cassava mosaic (CMD) และโรค Cassava Mosaic Geminiviruses (CMGs) ที่เกิดจากพืชได้รับเชื้อไวรัสซึ่งมีแมลงหีขาวยาสูบเป็นพาหะ

แหล่งที่สำรวจพบในแปลงปลูกมันสำปะหลัง

กรุงเทพฯ กาญจนบุรี นครปฐม ราชบุรี ระยอง จันทบุรี สุพรรณบุรี เพชรบุรี ชุมพร ประจวบคีรีขันธ์ ระนอง ภูเก็ต นครสวรรค์ กำแพงเพชร ตาก สุโขทัย อุตรดิตถ์ เพชรบูรณ์ พิษณุโลก สระบุรี นครราชสีมา ขอนแก่น ชัยภูมิ เลย และอุดรธานี

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษานุกรมวิชาการแมลงหริ่งขาวในมันสำปะหลัง ซึ่งสำรวจและเก็บตัวอย่างทั่วทุกภาคของประเทศไทย ผลการตรวจวิเคราะห์จำแนกชนิด โดยใช้แนวทางการวินิจฉัยตามหลักอนุกรมวิธานแมลง รวมทั้งเปรียบเทียบกับตัวอย่างแมลงหริ่งขาวที่มีในพิพิธภัณฑ์แมลงของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร สามารถวิเคราะห์ชนิด ได้ 2 ชนิด ได้แก่ แมลงหริ่งขาวไยเกลียว (Spiralling Whitefly) *Aleurodicus dispersus* Russell ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงทำให้เกิดรอยแผลเป็นจุดสีเหลืองขนาดเล็ก ซึ่งมักพบอาศัยรวมเป็นกลุ่มใต้ใบ ถ้ามีการระบาดในปริมาณมากจะทำให้มันสำปะหลังไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้ทำให้ผลผลิตลดลง ชนิดที่สองได้แก่แมลงหริ่งขาวยาสูบ (tobacco whitefly) *Bemisia tabaci* (Gennadius) จำนวนตัวอย่างที่พบกระจายอยู่ใต้ใบพืชไม่มากเท่าแมลงหริ่งขาวไยเกลียว ตัวอย่างแมลงหริ่งขาวที่ได้จากการสำรวจ เก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลงกรมวิชาการเกษตร เพื่อตรวจสอบความถูกต้อง พร้อมจัดทำฐานข้อมูล เพื่อหาแนวทางในการป้องกันกำจัดที่เหมาะสม นอกจากนี้ยังเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการจัดทำบัญชีรายชื่อแมลงศัตรูพืชเพื่อประกอบในงานสำคัญด้านการส่งออกและนำเข้าสินค้าเกษตร

เอกสารอ้างอิง

- สมชัย สว่างศักดิ์ศรี. 2550. แมลงหริ่งขาว. เอกสารวิชาการประกอบการอบรมหลักสูตร การเก็บและจำแนกตัวอย่างแมลงจำพวกปากดูดและไรศัตรูพืชนำเข้าและส่งออก. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 24 หน้า.
- สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ. 2526. แมลงศัตรูพืชทางการเกษตรของประเทศไทย. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. กรุงเทพฯ. 424 หน้า.
- CIE, 1995. Distribution map of pests No. 91, third revision. Wallingford, UK: CAB International.
- Hutachareon, C. et. al. 2007. Checklists of Insects and Mites in Thailand. Department of National Parks, Wildlife and Plant Conservation Ministry of Natural Resources and environment. 77-80.
- Ohno, I. 1992. Whiteflies Problem in the United states of America. JAPAN Pesticide Information no. 60: 19-20.
- Martin, J. H. 1987. An Identification Guide to Common Whitefly Pest Species of the World (Homoptera: Aleyrodidae). *Tropical Pest Management*. 33(4) : 298-322.

- Martin, J. H. 1999. The Whitefly fauna of Australia (Sternorrhyncha: Aleyrodidae). A taxonomic account and identification guide. CSIRO Entomology Technical Paper No. 38, CSIRO, Melbourne, 197pp
- Mound, L.A. and Halsey, S.H. 1978. Whitefly of the World; A systemic catalogue of the Aleyrodidae (Homoptera) with Host Plant and natural Enemy Data. British Museum (Natural History) and John Wiley&Sons. Chichester. 340 pp.
- Shaw JG, 1950. Hosts of the citrus blackfly in Mexico. United States Bureau of Entomology and Plant Quarantine. E-793.

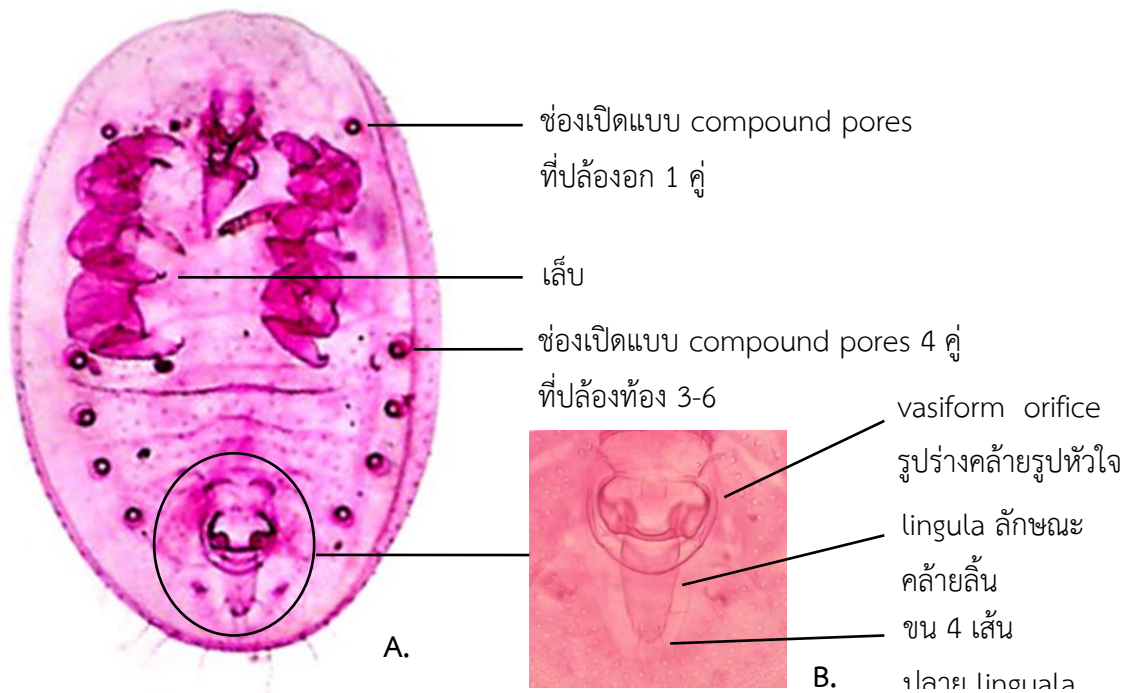


Figure 2 *Aleurodicus dispersus* Russell A. Dorsal view B. vasiform orifice and lingula

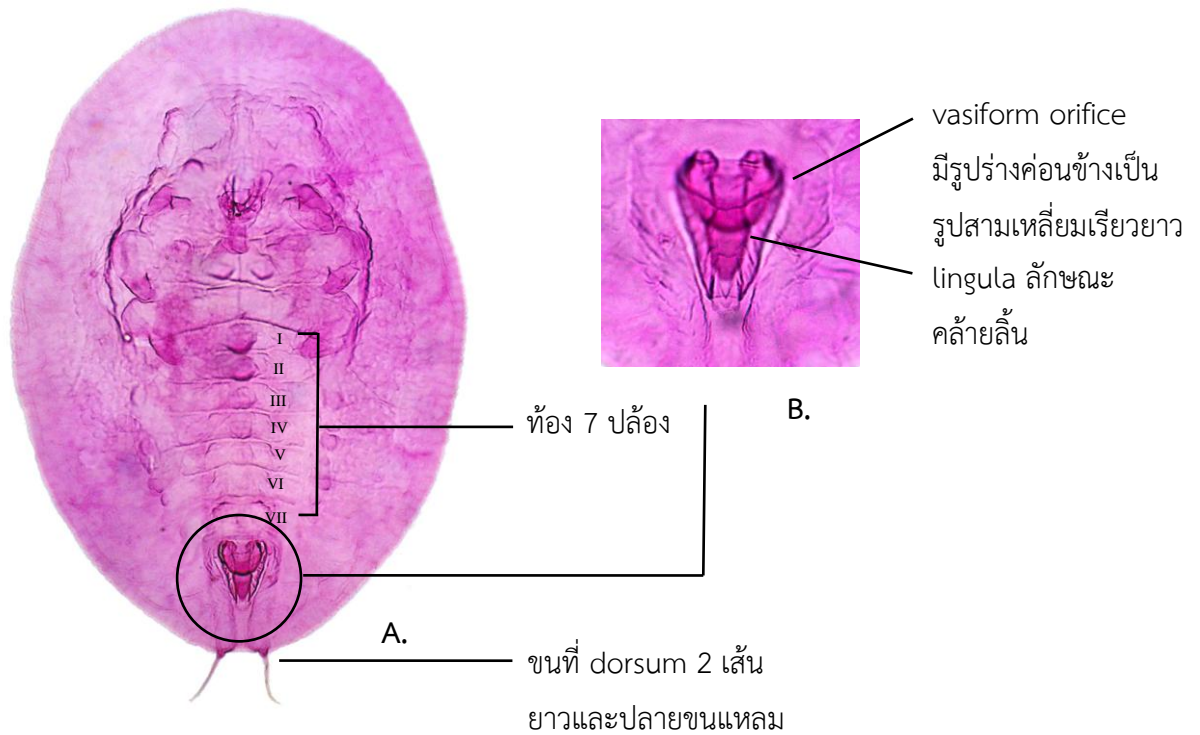


Figure 3 *Bemisia tabaci* (Gennadius) A. Dorsal view B. vasiform orifice and lingual

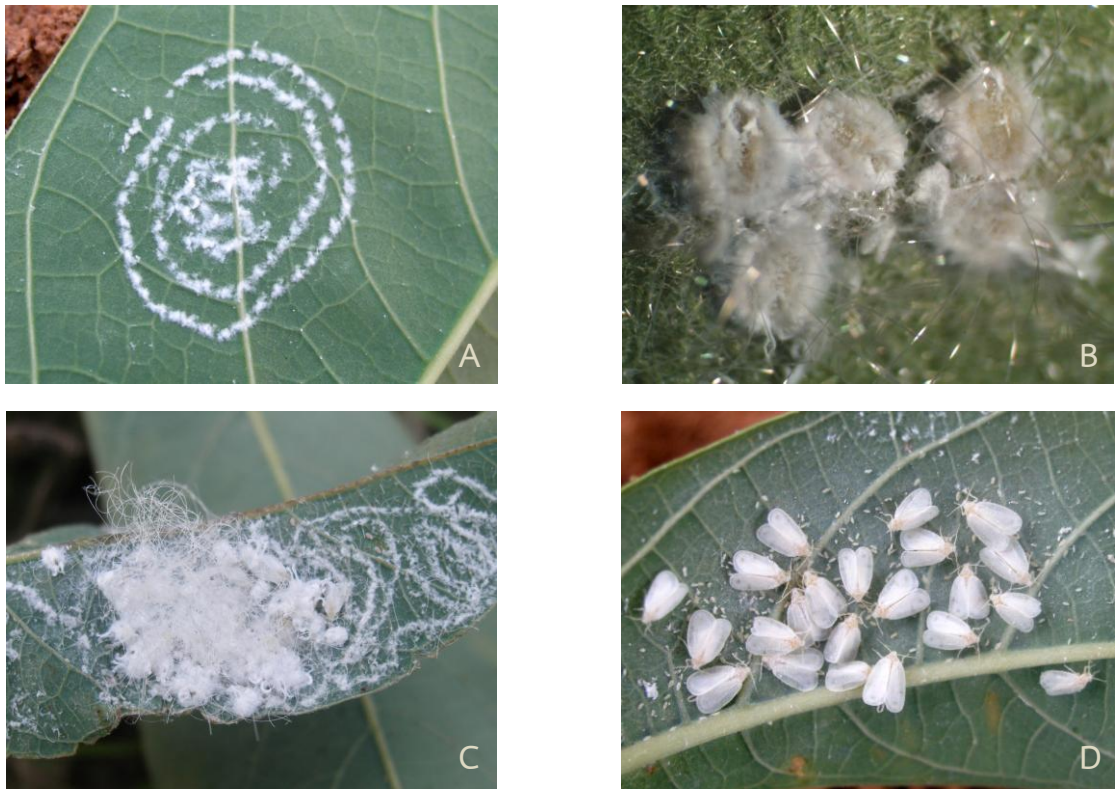


Figure 4 *Aleurodicus dispersus* Russell, A. eggs, B. lavar, C. pupa, D. adult



Figure 5 *Bemisia tabaci* (Gennadius), A. eggs, B. lavar, C. pupa, D. adult

ความหลากหลายชนิดของแมลงปออันดับโอดอนาธา (Odonata) ในภาคเหนือของประเทศไทย
Species Diversity of Dragonflies in Order Odonata in the Northern Part of
Thailand

อิทธิพล บรรณาการ สุนัดดา เขาวลิต ชมัยพร บัวมาศ
ชฎาภรณ์ เฉลิมวิเชียรพร เกศสุดา สนศิริ สิทธิศิริโรตมภ์ แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

สำรวจ รวบรวมแมลงปอในเขตภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2554 ถึงเดือนกันยายน 2555 นำตัวอย่างแมลงปอที่รวบรวมได้มาศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานเพื่อตรวจจำแนกชนิด ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช สามารถจำแนกชนิดแมลงปอได้ 5 ชนิด 270 ตัวอย่าง ซึ่งอยู่ในอันดับ Odonata วงศ์ Gomphidae คือ แมลงปอเสื้อลายประดับ *Ictinogomphus decoratus* (Selys) 40 ตัวอย่าง วงศ์ Libellulidae ได้แก่ แมลงปอบ้านเสื้อลาย *Orthetrum Sabina* (Drury) 62 ตัวอย่าง แมลงปอบ้านโคนท้องขาว *Pseudothemis jorina* Forster 42 ตัวอย่าง แมลงปอบ้านเสื้อผู้ม่วง *Orthetrum pruinosum* (Rambur) 78 ตัวอย่าง และวงศ์ Chlorocyphidae คือ แมลงปอเข็มน้ำตกปลายลาย *Rhinocypha tincta* (Japan) 48 ตัวอย่าง การทดลองเรื่องนี้ยังไม่สิ้นสุดต้องดำเนินการต่อในปี 2556

คำนำ

ในจำนวนแมลงทั้งหลายแมลงปอนับว่าเป็นแมลงที่มีขนาดใหญ่และสีสันสวยงามชนิดหนึ่ง เป็นแมลงที่คุ้นเคยและอยู่ใกล้ตัวมนุษย์ แมลงปอเป็นสัตว์ที่ล่าสัตว์อื่นกินเป็นอาหาร ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัย มีธรรมชาติของการเป็นตัวห้ำตลอดชีวิต กินแมลงเกือบทุกชนิดและทุกตัวที่อ่อนแอกว่า เช่น ยุง ริ้น แมลงวัน ผีเสื้อ ผีงรวมทั้งแมลงปอด้วยกันเอง แมลงปอเป็นสัตว์ที่ไม่มีอันตรายต่อมนุษย์ มีประโยชน์สำหรับการควบคุมทางชีวภาพ และสามารถเป็นตัวบ่งชี้ถึงความอุดมสมบูรณ์ของสภาพแวดล้อมได้เป็นอย่างดี (Charles and Norman, 2005) แมลงปอจะหายไปถ้าน้ำเริ่มสกปรกและเน่าเสีย ประเทศไทยมีการค้นพบแมลงปอมากกว่า 295 ชนิด แต่เนื่องจากภาวะโลกร้อน สถานการณ์ป่าไม้ และแหล่งน้ำในประเทศไทยถูกทำลายจนเหลือน้อยลงทำให้การศึกษาและค้นพบแมลงปอเป็นไปด้วยความยากลำบากมากขึ้น เพราะป่าไม้เป็นที่อยู่เพียงแหล่งเดียวที่เหมาะสมกับแมลงปอมากที่สุด ถึงแม้ว่าเราจะสามารถปลูกป่าทดแทนได้แต่สภาพแวดล้อมก็ไม่สมบูรณ์เท่ากับในธรรมชาติ

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-02-00-03-54

ปัจจุบันสภาพทางภูมิศาสตร์และสภาพแวดล้อมทางตอนเหนือของประเทศไทยนั้นมีความอุดมสมบูรณ์มากกว่าภูมิภาคอื่นๆ ทั้งในเรื่องของสภาพอากาศ พื้นที่ป่าไม้ แม่น้ำ และน้ำตก อาทิ ลักษณะภูมิประเทศของจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง และลำพูน มีทั้งพื้นที่ภูเขา พื้นที่ป่าต้นน้ำลำธาร พื้นที่ราบลุ่มน้ำ ที่ราบเชิงเขา และพื้นที่เกษตรกรรม จึงเป็นพื้นที่ที่มีความเหมาะสมสำหรับการศึกษาความหลากหลายชนิดของแมลงปอ การศึกษาความหลากหลายชนิดและการเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงปอจะได้จำนวนตัวอย่างแมลงปอและข้อมูลที่เป็นประโยชน์อย่างมาก ในการศึกษาถึงจำนวนชนิด ชื่อวิทยาศาสตร์ และเขตการแพร่กระจายของแมลงปอในภาคเหนือ รวมถึงสภาพความอุดมสมบูรณ์ของสิ่งแวดล้อม รวมทั้งได้ตัวอย่างแมลงปอเพื่อเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์แมลง เพื่อใช้เป็นแหล่งข้อมูล สืบค้น อ้างอิง สำหรับนักวิชาการ นักวิจัย นิสิต นักศึกษา เกษตรกร อีกด้วย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

ตัวอย่างตัวเต็มวัยแมลงปอและตัวอ่อนที่รวบรวมได้จากแปลงปลูกพืช พื้นที่ป่าไม้ แม่น้ำ และน้ำตก อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ สวิงจับแมลง ขวดฆ่าที่บรรจุสารเอทิลอะซีเตท ขวดดอง ปากคีบ พู่กัน กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก ซองกระดาษใส่ตัวอย่างแมลง ถังรักษาความเย็น อุปกรณ์ที่ใช้จัดรูปร่างแมลง ได้แก่ เข็มไร้สนิม เข็มหมุดหัวกลม ไม้จัดรูปร่างแมลง ปากคีบ โหลชั้น ตู้อบแมลง อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวร ได้แก่ สารเคมีต่างๆ เช่น น้ำกลั่น alcohol 50-100%, sodium hydroxide 10%, clove oil และ canada balsam เข็มเขี่ย แผ่นสไลด์แก้ว แผ่นแก้วปิดสไลด์ กล้องสไลด์ถาวร ตู้อบสไลด์ถาวร กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope กล้องถ่ายภาพ อุปกรณ์วาดภาพ ได้แก่ ปากกา rotring และกระดาษเขียนแบบ เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของแมลงปอ

วิธีการ

สืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับชนิดของแมลงปอจากเอกสารวิชาการที่เกี่ยวข้อง ดำเนินการสำรวจ และเก็บรวบรวมตัวอย่างในเขตภาคเหนือตอนบน (เชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง ลำพูน แพร่) สำรวจและเก็บตัวอย่างแมลงปอทุกๆ 2 เดือน เดินสำรวจแมลงปอ โดยเฉพาะบริเวณใกล้แหล่งน้ำในพื้นที่เกษตรกรรม ที่ราบเชิงเขา พื้นที่ราบลุ่มน้ำ พื้นที่ป่าต้นน้ำลำธาร พื้นที่ภูเขา ถ่ายภาพและเก็บตัวอย่าง โดยใช้สวิงช้อนตัวอ่อนในแหล่งน้ำ เก็บรักษาในหลอดบรรจุแอลกอฮอล์ 80% และใช้สวิงโอบตัวเต็มวัยและในขวดฆ่าที่บรรจุสารเอทิลอะซีเตท หลังจากแมลงปอตายต้องจัดส่วนทางซึ่งมีลักษณะผอมเรียวบางและหักง่ายให้มีสภาพคงเดิม โดยใช้เส้นขนที่มีความแข็ง (ขนหมูหรือขนหางม้า) แทงผ่านจากส่วนนอกไปยัง ส่วนท้องแต่ไม่ให้สุดปลายส่วนท้อง เพราะอวัยวะสืบพันธุ์เป็นลักษณะสำคัญที่ใช้ในการวิเคราะห์จะเสียหาย เก็บตัวเต็มวัยในของกระดาษรูปสามเหลี่ยม บันทึกรายละเอียดต่างๆ เช่น รูปร่าง ลักษณะ ขนาด สี วันเดือนปี ชื่อผู้เก็บ สภาพแวดล้อม อุณหภูมิ และพิกัดทางภูมิศาสตร์ (GPS) เป็นต้น นำแมลงปอที่รวบรวมไปจัดรูปร่าง (set) ตามวิธีการของ Poonchaisri (2004) และนำมาศึกษาชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานด้วยการใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยชนิดของ Charles and Johnson (2005)

Paulson (2009) และ พิสุทธิ (2541) รวมทั้งศึกษาเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์ บันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยการถ่ายภาพใต้กล้องจุลทรรศน์ รวมถึงให้รายละเอียดบนแผ่นป้าย บันทึกรายชื่อของชนิดของตัวอ่อนและตัวเต็มวัย ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ที่จำแนกได้ วัน/เดือน/ปี สถานที่เก็บ ตัวอย่าง และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง จัดทำแนวทางวินิจฉัย (key) สกุล และชนิดของแมลงปอ ที่รวบรวมได้พร้อม ภาพประกอบ จัดเก็บตัวอย่างที่ได้ศึกษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากลของการเก็บ รักษาตัวอย่างแมลง เพื่อใช้ในการตรวจสอบ สืบค้นและอ้างอิง

เวลาและสถานที่

เวลา	เดือนตุลาคม 2554 ถึง เดือนกันยายน 2555
สถานที่	1. เขตภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย (เชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง ลำพูน แพร่) 2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

สามารถจำแนกชนิดแมลงปอได้ 5 ชนิด 270 ตัวอย่าง ซึ่งอยู่ในอันดับ Odonata วงศ์ Gomphidae คือ แมลงปอเสื้อลายประดับ *Ictinogomphus decoratus* (Selys) 40 ตัวอย่าง วงศ์ Libellulidae ได้แก่ แมลงปอบ้านเสื้อลาย *Orthetrum Sabina* (Drury) 62 ตัวอย่าง แมลงปอบ้านโคน ท้องขาว *Pseudothemis jorina* Forster 42 ตัวอย่าง แมลงปอบ้านเสื้อผู้ม่วง *Orthetrum pruinatum* (Rambur) 78 ตัวอย่าง และวงศ์ Chlorocyphidae คือ แมลงปอเข้มน้ำตกปลายลาย *Rhinocypha tinctoria* (Japen) 48 ตัวอย่าง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาความหลากหลายชนิดของแมลงปออันดับโอดอนาธา (Odonata) ในภาคเหนือของประเทศไทย โดยการสำรวจ รวบรวมแมลงปอในเขตภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2554 ถึง เดือนกันยายน 2555 โดยเฉพาะบริเวณใกล้แหล่งน้ำในพื้นที่เกษตรกรรม ที่ราบเชิงเขา พื้นที่ราบลุ่มน้ำ พื้นที่ป่าต้นน้ำลำธาร พื้นที่ภูเขา ถ่ายภาพและเก็บตัวอย่าง นำตัวอย่างแมลงปอที่รวบรวมได้มาศึกษา ลักษณะทางอนุกรมวิธานเพื่อตรวจจำแนกชนิด ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและ สัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช สามารถจำแนกชนิดแมลงปอได้ 5 ชนิด 270 ตัวอย่าง ซึ่งอยู่ใน อันดับ Odonata วงศ์ Gomphidae คือ แมลงปอเสื้อลายประดับ *Ictinogomphus decoratus* (Selys) 40 ตัวอย่าง วงศ์ Libellulidae ได้แก่ แมลงปอบ้านเสื้อลาย *Orthetrum Sabina* (Drury) 62 ตัวอย่าง แมลงปอบ้านโคนท้องขาว *Pseudothemis jorina* Forster 42 ตัวอย่าง แมลงปอบ้านเสื้อผู้ม่วง *Orthetrum pruinatum* (Rambur) 78 ตัวอย่าง และวงศ์ Chlorocyphidae คือ แมลงปอเข้มน้ำตก ปลายลาย *Rhinocypha tinctoria* (Japen) 48 ตัวอย่าง การทดลองเรื่องนี้ยังไม่สิ้นสุดต้องดำเนินการต่อ ในปี 2556

เอกสารอ้างอิง

พิสุทธิ์ เอกอำนวยการ. 2541. แมลงปอของไทย Dragonflies and Damselflies from Thailand.

พิมพ์ครั้งที่ 2. บริษัท เลิฟแอนด์ลิฟเพรส 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 Jersey, USA. 535 p.

Poonchaisri, S. 2004. Preserving Insect Specimens for Research. The Agricultural Co-Operative Federation of Thailand., Limited. Bangkok. 32 p.



Ictinogomphus decoratus (Selys)



Orthetrum sabina (Drury)



Rhinocypha tincta (Japan)



Pseudothemis jorina Forster



Orthetrum pruinatum (Rambur)

ความหลากหลายชนิดของตั๊กแตนหนวดยาววงศ์ Acrididae ในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย
 Specief Diversity of Grasshoppers Family Acrididae In The Southern Part Thailand

สุนัดดา เชาวลิต ชัยพร บั้วมาศ
 อธิพิพล บรรณการ เกศสุดา สนศิริ สิทธิศิริโรตม แก้วสวัสดิ์
 กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาความหลากหลายชนิดของตั๊กแตนหนวดยาววงศ์ Acrididae ในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย ให้ได้ชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้อง ลักษณะความแตกต่างพร้อมแนวทางการวินิจฉัยชนิด พืชอาศัย และเขตการแพร่กระจาย เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับงานศึกษาวิจัยที่เกี่ยวข้อง ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2555 พื้นที่เพาะปลูกทางการเกษตร พืชหญ้า ป่าเขา ทางภาคใต้ของประเทศไทย นำตัวอย่างที่สำรวจได้มาจำแนกชนิด ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จากการศึกษาครั้งนี้พบตั๊กแตนหนวดยาววงศ์ Acrididae ทั้งหมดจำนวน 221 ตัวอย่าง จำแนกได้ 5 ชนิด ได้แก่ ตั๊กแตนข้าวเล็ก (Small rice grasshopper); *Oxya japonica* (Thunberg) ตั๊กแตนขาลายข้างแถบ (Rutus grasshopper); *Pternoscirta caliginosa* (Haan) ตั๊กแตนใบเล็ก (Small leaf grasshopper); *Acrida* sp. ตั๊กแตน Atractomorpha; *Atractomorpha* sp. และตั๊กแตนผี (Spotted grasshopper); *Aularches miliaris* Linnaeus ตัวอย่างตั๊กแตนหนวดยาววงศ์ Acrididae ทั้งหมดนำไปเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-02-00-04-54

คำนำ

ด้กแตนหนวดสั้นเป็นแมลงที่มีความหลากหลายของรูปร่างลักษณะค่อนข้างมาก มีขนาดลำตัวแตกต่างกัน การเจริญเติบโต เป็นแบบเปลี่ยนแปลงรูปร่างทีละน้อย (gradual metamorphosis) ตัวอ่อนเรียกว่า nymph มีอุปนิสัยการกินอาหาร ที่อยู่อาศัย และลักษณะทั่วไป ใกล้เคียงกับตัวเต็มวัย ต่างกันที่ขนาดลำตัว และการพัฒนาของอวัยวะสืบพันธุ์ ด้กแตนหนวดสั้นพบอาศัยอยู่ทั่วไป ตามทุ่งหญ้า ป่าเขา รวมถึงพื้นที่เพาะปลูกทางการเกษตร หลายชนิดจัดเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญ เนื่องจากทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยกินพืชและผลผลิตทางการเกษตรเป็นอาหารทำให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจ หลายชนิดเป็นอาหารของสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ในธรรมชาติ จึงนับว่ามีความสำคัญในห่วงโซ่อาหาร ช่วยเพิ่มสมดุลในระบบนิเวศน์ และมีอีกหลายชนิดที่มนุษย์สามารถนำมาบริโภคเป็นอาหารได้ นับเป็นแหล่งโปรตีนทางเลือกอีกรูปแบบในอนาคต การระบาดของด้กแตนหนวดสั้นเกิดจากองค์ประกอบหลายปัจจัยด้วยกัน เช่น สภาพแวดล้อมต่างๆ ที่เปลี่ยนแปลงไป สภาพโลกร้อนในปัจจุบัน อาจจะมีผลให้วงจรชีวิตของด้กแตนสั้นลง การปลูกพืชชนิดเดียวกันในพื้นที่กว้างๆ ทำให้ด้กแตนมีแหล่งที่มีพืชอาหารอุดมสมบูรณ์ เพิ่มปริมาณขึ้นอย่างรวดเร็ว การทำลายป่าเพื่อเปลี่ยนเป็นพื้นที่การเกษตรซึ่งเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยและเป็นแหล่งอาหารของด้กแตนหลายชนิด ทำให้เกิดการอพยพจากป่ามาสู่พื้นที่เกษตรมากขึ้น ปัจจุบันนี้พื้นที่ภาคใต้มีการส่งเสริมการปลูกพืชน้ำมัน เพื่อตอบสนองความต้องการด้านพลังงานของประเทศ มีการขยายแปลงเพาะปลูกให้มีขนาดใหญ่ในบริเวณเดียวกัน ซึ่งอาจจะมีผลต่อการดำรงอยู่และหายไป หรือการเพิ่มปริมาณขึ้นอย่างรวดเร็วของด้กแตนหลายชนิด ดังนั้นการศึกษาความหลากหลายชนิดของด้กแตนหนวดสั้นวงศ์ Acrididae ในพื้นที่ภาคใต้ จึงนับว่าเป็นงานที่สำคัญและมีประโยชน์อย่างยิ่ง เพื่อเป็นแหล่งรวบรวมข้อมูลต่าง ๆ เช่น จำนวนชนิด ลักษณะความแตกต่าง พืชอาหาร และเขตการแพร่กระจาย ซึ่งเป็นข้อมูลพื้นฐานมีความสำคัญอย่างมากสำหรับงานศึกษาวิจัยในลำดับ ต่อไป

ด้กแตนเป็นแมลงที่มีความหลากหลายของชนิดค่อนข้างมาก 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) ศึกษาด้กแตนหนวดสั้นในประเทศไทย โดยแบ่งตามความสำคัญทางเศรษฐกิจออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ ได้แก่ กลุ่มที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ คือด้กแตนที่เคยระบาด ทำลายพืชสำคัญมาแล้ว มี 7 ชนิด กลุ่มที่มีแนวโน้มที่จะมีความสำคัญทางเศรษฐกิจในอนาคต คือชนิดที่เคยปรากฏและมีประชากรหนาแน่นบางพื้นที่ แต่ยังไม่ระบาดในพื้นที่กว้าง มี 7 ชนิดและกลุ่มที่ไม่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจยังไม่ระบุจำนวนชนิด บุพผา (2526) ศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานด้กแตนหนวดสั้น วงศ์ Acrididae ในนาข้าว พบ 22 ชนิด ญัฐกฤต และคณะ (2544) สำรวชนิดด้กแตนในพื้นที่ปลูกอ้อยและข้าวโพด พบ 10 ชนิด นอกจากนี้ด้กแตนหนวดสั้นอีกหลายชนิดที่เป็นที่รู้จักและมีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เช่น ด้กแตนป่าทังก้า APPPC (1987) รายงานการแพร่ระบาดในประเทศจีน อินเดีย ญี่ปุ่น ลาว เวียดนาม

และประเทศไทย พบว่าเป็นศัตรูสำคัญของพืชไม่น้อยกว่า 34 ชนิด เช่น ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ข้าว อ้อย ปาล์มน้ำมัน และถั่วเหลือง CABI (2007) รายงานการแพร่ระบาดของด้งแตนผี ในประเทศบังคลาเทศ อินเดีย อินโดนีเซียและประเทศไทย พืชอาหารหลักได้แก่ มะพร้าว ในแง่ของการนำมาใช้ประโยชน์ อุ่น (2531) นำแมลงกินได้ทั้งหมดกว่า 100 ชนิดมาวิเคราะห์คุณค่าทางอาหาร ด้งแตนป่าทั้งห้าพบว่า ให้โปรตีนมากที่สุด ยังมีด้งแตนอีกจำนวนมาก

ระเบียบวิธีการทดลอง

วิธีการดำเนินงาน

อุปกรณ์

- 1) ตัวอย่างด้งแตนหมวดสั้น ที่รวบรวมได้จากแปลงปลูกพืช
- 2) อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ สวิงจับแมลง ขวดฆ่า ขวดดอง ปากคีบ พู่กัน กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก ซองกระดาษใส่ตัวอย่างแมลง ถึงรักษาความเย็น
- 3) สารเคมีต่างๆ เช่น เอทิลอะซีเตท แอลกอฮอล์ 80%
- 4) อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวร ได้แก่ สารเคมีต่างๆ เช่น น้ำกลั่น alcohol 50-100%, sodium hydroxide 10%, clove oil และ canabalsam เข็มเขี่ย แผ่นสไลด์แก้ว แผ่นแก้ว ปิดสไลด์ กล่องสไลด์ถาวร ตู้อบสไลด์ถาวร
- 5) กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereomicroscope ,compound microscope และ กล้องถ่ายภาพ
- 6) อุปกรณ์วาดภาพ ได้แก่ ปากกา rotting และกระดาษไขเขียนแบบ
- 7) เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของด้งแตนหมวดสั้น และตัวอย่างด้งแตนหมวดสั้น ในพิพิธภัณฑ์แมลง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

วิธีการ

- 1) สุ่มและเก็บรวบรวมตัวอย่างด้งแตนหมวดสั้นวงศ์ Acrididae จากพื้นที่ต่างๆ เช่น พื้นที่เพาะปลูกทางการเกษตร ทุ่งหญ้า ป่าเขา ทางภาคใต้ของประเทศไทย
- 2) เก็บตัวอย่างโดยใช้สวิงจับแมลง (insect net) โฉบ เพื่อเก็บตัวอย่างด้งแตนหมวดสั้นในช่วงเวลากลางวัน และติดตั้งกับดักแสงไฟ (light trap) เพื่อดักด้งแตนหมวดสั้นที่ออกหากินตอนกลางคืน ฆ่าตัวเต็มวัยในขวดฆ่า (killing jar) ซึ่งใส่สารฆ่าแมลงเอทิลอะซีเตท หลังจากด้งแตนตายแล้ว ท่อในกระดาษห่อแบบท้อพีฟี่ บันทึกรายละเอียดเกี่ยวกับตัวอย่างแมลง ได้แก่ พืชอาหาร วัน เดือน ปี สถานที่เก็บตัวอย่าง และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง บันทึกรายละเอียดสภาพแวดล้อม เช่น พิกัดทางภูมิศาสตร์ อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ เป็นต้น จากนั้นนำตัวอย่างใส่กล่องกระดาษ เก็บรวมไว้ในกล่องรักษาความเย็นเพื่อป้องกันไม่ให้ตัวอย่างเน่า ตัวอ่อนที่ต้องการเลี้ยงให้เป็นตัวเต็มวัยนำใส่กล่องพลาสติกพร้อมใส่พืชอาหาร บันทึกรายละเอียดเช่นเดียวกับตัวเต็มวัย รวมทั้งบันทึกโดยการถ่ายภาพ นำตัวอย่างทั้งหมดที่รวบรวมได้กลับไปยังห้องปฏิบัติการ นอกจากการเก็บตัวอย่างด้งแตนจากสภาพธรรมชาติแล้ว มีตัวอย่างด้งแตนที่มีอยู่เดิมในพิพิธภัณฑ์ กรมวิชาการเกษตร ตัวอย่างที่

ได้รับจากนักวิชาการ และตัวอย่างจากผู้มาขอรับบริการตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิด เพื่อใช้ในการศึกษาครั้งนี้ด้วย

3) ตัวเต็มวัยที่ตายแล้วนำไปจัดรูปร่างบนไม้จัดรูปร่างตัวอย่างแมลง โดยใช้เข็มไร้สนิม ปักที่กึ่งกลางบริเวณอก ใช้ปากคีบจัดขาทั้ง 3 คู่ ให้อยู่ในลักษณะเกาะหรือเดินโดยใช้เข็มหมุดขนาดกลางเป็นตัวยึด นำไปอบให้แห้งในตู้อบ (oven) ปรับอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 15-30 วัน ขึ้นกับขนาดตัวอย่าง

4) นำตัวอย่างตักแแตนหมวดสั้นที่รวบรวมได้มาตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิด โดยดูลักษณะภายนอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Stereo microscope แล้วบันทึกรายละเอียดต่างๆ เช่น ขนาดลำตัว รูปร่าง ลักษณะ และสี เป็นต้น โดยตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานด้วยการใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยชนิด ตักแแตนหมวดสั้นวงศ์ Arctrididae ประกอบการเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์

5) ตัวอย่างตักแแตนที่มีการจัดจำแนกแล้ว บันทึกรายละเอียดของแมลงบนแผ่นป้ายบันทึกกำกับตัวอย่าง จากนั้นนำจัดเก็บลงในกล่องกระดาษสีเหลี่ยมสีขาว จัดเรียงตามอักษรของลำดับชนิด นำจัดเข้าลิ้นชักในตู้เก็บแมลงจัดเก็บแมลงในพิพิธภัณฑ์แมลง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

สถานที่ : 1) สำรวจากพื้นที่เพาะปลูกทางการเกษตร พุ่มหญ้า ป่าเขา ทางภาคใต้ของประเทศไทย
2) ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

เวลา : เดือนตุลาคม 2553 – เดือนกันยายน 2556

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาความหลากหลายชนิดของตักแแตนหมวดสั้น วงศ์ Arctrididae ในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย ผลการตรวจวิเคราะห์ตามหลักอนุกรมวิธาน โดยใช้แนวทางการวินิจฉัยซึ่งปรับปรุงมาจาก Dirsh (1965) รวมทั้งเปรียบเทียบกับตัวอย่างตักแแตนหมวดสั้น วงศ์ Arctrididae ที่มีในพิพิธภัณฑ์แมลงของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร สามารถวิเคราะห์ชนิดได้ 5 ชนิด โดยมีรายละเอียด ดังนี้

ตารางแสดงรายละเอียดของความหลากหลายชนิดของตั๊กแตนหนวดยาว วงศ์ Acrididae ในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อสามัญ	อาหาร	เขตการแพร่กระจาย	จำนวน (ตัวอย่าง)
1 <i>Oxya japonica</i> (Thunberg) (Orthoptera: Acrididae)	ตั๊กแตนข้าวเล็ก (Small rice grasshopper)	ข้าว หญ้า	จังหวัดชุมพร สุราษฎร์ธานี ระนอง กระบี่ และภูเก็ต	29
2 <i>Pternoscirta caliginosa</i> (Haan) (Orthoptera: Acrididae)	ตั๊กแตนขาลายข้าง แถบ (Rutus grasshopper)	-	สุราษฎร์ธานี ตรัง และพัทลุง	40
3 <i>Acrida</i> sp. (Orthoptera: Acrididae)	ตั๊กแตนใบเล็ก (Small leaf grasshopper)	-	จังหวัดภูเก็ต	5
4 <i>Atractomorpha</i> sp. (Orthoptera: Acrididae)	-	-	จังหวัดชุมพร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช	11
5 <i>Aularches miliaris</i> Linnaeus (Orthoptera: Acrididae)	ตั๊กแตนผี (Spotted grasshopper)	ใบมะพร้าว	จังหวัดชุมพร	136

สรุปผลการวิจัยและคำแนะนำ

การศึกษาความหลากหลายชนิดของตั๊กแตนหนวดยาววงศ์ Acrididae ในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย จากการสำรวจครั้งนี้พบตั๊กแตนหนวดยาววงศ์ Acrididae ทั้งหมดจำนวน 221 ตัวอย่าง จำแนกได้ 5 ชนิด ได้แก่ ตั๊กแตนข้าวเล็ก (Small rice grasshopper); *Oxya japonica* (Thunberg) ตั๊กแตนขาลายข้างแถบ (Rutus grasshopper); *Pternoscirta caliginosa* (Haan) ตั๊กแตนใบเล็ก (Small leaf grasshopper); *Acrida* sp. ตั๊กแตน *Atractomorpha*; *Atractomorpha* sp. และ ตั๊กแตนผี (Spotted grasshopper); *Aularches miliaris* Linnaeus ตัวอย่างตั๊กแตนหนวดยาววงศ์ Acrididae ทั้งหมดนำไปเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร

เอกสารอ้างอิง

- ณัฐกฤต พิทักษ์ และ อนุวัฒน์ จันทรสวรรณ. 2544. เอกสารวิชาการ แมลงศัตรูอ้อยโรงงาน อ้อยเคี้ยว อ้อยคั้นน้ำ และการป้องกันกำจัด. กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูข้าวโพดและพืชไร่อื่นๆ กองกัญและ สัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 102 หน้า
- บุปผา เหล่าสินชัย วิทย์ นามเรืองศรี และ ม.ร.ว. จิราพันธ์ จันทรทัต. 2526. การศึกษาลักษณะทาง อนุกรมวิธานของด้กแตนหมวดสั้นในนาข้าวในประเทศไทย. กลุ่มงานอนุกรมวิธานและวิจัยไร กองกัญและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 18 หน้า
- สมุท มงคลกิติ. 2524. ด้กแตนที่สำคัญและการป้องกันกำจัด. เอกสารประกอบการบรรยาย ในการอบรมเรื่อง “แมลง-ศัตรูศัตรูพืชและการป้องกันกำจัด” กองกัญและสัตววิทยา กรมวิชาการ เกษตร. กรุงเทพฯ. 26 หน้า
- อรุณ ลีวานิช. 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 International, 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.
- Dirsh. V.M., 1965. The African genera of Acridiidea. The Syndiscs of The Cambridge University Press. London. 578 pp.
- 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



จ

ภาพที่ 1 ความหลากหลายชนิดของตั๊กแตนหนวดสั้น วงศ์ Acrididae ในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย

- ก. *Oxya japonica* (Thunberg)
- ข. *Pternoscirta caliginosa* (Haan)
- ค. *Acrida* sp.
- ง. *Atractomorpha* sp.
- จ. *Aularches miliaris* Linnaeus

ความหลากหลายชนิดของมดในพื้นที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรตากและ
ป่าธรรมชาติของจังหวัดตาก

Species Diversity of Ants at Center of Agricultural and Development,
Tak and Natural Forest of Tak Province

ชัยพร บัวมาศ สุนัดดา เขาวลิต สิทธิศิโรตม แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาความหลากหลายชนิดของมดในพื้นที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรตากและป่าธรรมชาติของจังหวัดตาก ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2555 เพื่อทราบชนิด ความสัมพันธ์ของกิจกรรมทางการเกษตรที่มีผลต่อชนิดมด และเป็นข้อมูลในการประเมินสถานภาพของมดที่สัมพันธ์กับกิจกรรมทางการเกษตร และนำไปสู่การวางแผนแนวทางการอนุรักษ์ความหลากหลายทางชีวภาพเพื่อการจัดการพื้นที่เกษตรอย่างยั่งยืนในพื้นที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรตาก ซึ่งได้เก็บรวบรวมตัวอย่างจากแหล่งปลูกพืชต่างๆ ได้แก่ แปลงชา กาแฟ อะโวคาโด และแม็คคาเดเมีย นำตัวอย่างมดที่รวบรวมได้มาจัดรูปร่าง ตรวจสอบจำแนกชนิดตามหลักอนุกรมวิธาน ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จากการตรวจจำแนกชนิด พบมดทั้งสิ้น 55 ชนิด 37 สกุล 8 วงศ์ย่อย โดยแปลงชา และอะโวคาโด พบมดจำนวน 31 ชนิด แปลงกาแฟ จำนวน 29 ชนิด และแปลงมะคาเดเมีย จำนวน 22 ชนิด เมื่อพิจารณาชนิดมดที่เด่นในพื้นที่ พบว่า แปลงมะคาเดเมีย มีมดจำนวน 8 ชนิด แปลงอะโวคาโด ชาและกาแฟ มีจำนวน 7, 5 และ 3 ชนิด และมีมดน้ำผึ้ง (*Anoplolepis gracilipes* Smith) เป็นมดที่พบทุกครั้งและทุกพื้นที่สำรวจ มดกันห้อยธรรมดา (*Dolichoderus thoracicus* Smith) พบทุกครั้งของการสำรวจในแปลงมะคาเดเมีย อะโวคาโด และกาแฟ ขณะที่มดไอ้ขึ้นดำ (*Odontoponera denticulata* Smith) พบในแปลงมะคาเดเมีย อะโวคาโด และชา นอกจากนี้ยังพบชนิดมดที่เป็นรายงานการพบครั้งแรก (new recorded) ในประเทศไทย จำนวน 1 ชนิด คือ *Cerapachys sauteri* Forel ซึ่งพบในแปลงกาแฟ การศึกษานี้ยังไม่สิ้นสุดจะต้องดำเนินการต่อไปในปี 2556

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-02-00-05-54

คำนำ

มด เป็นแมลงสังคม ที่จัดอยู่ในอันดับ (Order) Hymenoptera วงศ์ (Family) Formicidae สามารถอาศัยอยู่ได้ทั้งในพื้นที่ธรรมชาติและพื้นที่เกษตร พบทั้งในดิน ตามซากพืช ใต้ก้อนหิน ตามต้นไม้หรือไม้พุ่ม เป็นต้น จึงทำให้มดมีความหลากหลายทั้งด้านชนิดและแหล่งที่อยู่อาศัย มดมีความสำคัญในการดำรงไว้ซึ่งความสมดุลตามธรรมชาติในระบบนิเวศ เนื่องจากมดสามารถทำหน้าที่ได้หลายบทบาท โดยมดส่วนใหญ่เป็นตัวห้ำ (predators) หรือกินซาก(scavengers) แต่บางชนิดกินทั้งพืชและสัตว์ (omnivores) บางชนิดมีการพึ่งพาอาศัยอยู่ร่วมกับสัตว์อื่น และพืชอีกหลายชนิด ในปัจจุบันมีหลายหน่วยงานได้ริเริ่มศึกษาความหลากหลายชนิดของมด แต่ยังไม่มียุทธศาสตร์ที่ครอบคลุมในแต่ละระบบนิเวศ และโดยส่วนใหญ่จะศึกษาเฉพาะมดที่อาศัยอยู่ในป่า การศึกษาชนิดมดที่อยู่ในระบบนิเวศเกษตรยังมีข้อมูลน้อยมาก Pitaksa *et al.* (1998) ได้รายงานว่ามีมด 6 ชนิดในไร่สับปะรด

และยังขาดการศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับกิจกรรมทางการเกษตรที่มีผลต่อจำนวนชนิดของมดในแต่ละพื้นที่ ซึ่งเป็นข้อมูลที่สามารถนำไปสู่การประเมินสถานภาพของมดที่สัมพันธ์กับกิจกรรมทางการเกษตร ซึ่งพื้นที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรตาก ตั้งอยู่ ณ ดอยมูเซอ ตำบลแม่ท้อ จังหวัดตาก มีพื้นที่ทั้งหมดประมาณ 3,000 ไร่ มีพื้นที่ป่าธรรมชาติล้อมรอบ สภาพอากาศหนาวเย็นเกือบตลอดปี ภายในศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรตากมีการค้นคว้าและวิจัยพืชชนิดต่างๆ มากมาย ทั้งไม้เมืองหนาว เช่น กาแฟ อะโวคาโด มะคาเดเมีย นัท ชา ลิ้นจี่ กุหลาบ กล้วยไม้ป่า ดอกหน้าวัว พืชผักพื้นเมือง และพืชสมุนไพรต่างๆ มากมาย ซึ่งก่อให้เกิดกิจกรรมทางการเกษตรต่างๆ ในพื้นที่ เช่น การไถพรวน การกำจัดวัชพืช การตัดแต่งกิ่ง การใส่ปุ๋ย การใช้สารเคมีกำจัดแมลง เป็นต้น ซึ่งกิจกรรมเหล่านี้ล้วนทำให้เกิดการสูญเสียความหลากหลายทางชีวภาพ ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตที่อยู่ภายในพื้นที่ซึ่งการเข้าไปศึกษาเป็นข้อมูลที่สามารถนำไปสู่การประเมินสถานภาพของมดที่สัมพันธ์กับกิจกรรมทางการเกษตรและการวางแผนแนวทางการอนุรักษ์ความหลากหลายทางชีวภาพเพื่อการจัดการพื้นที่เกษตรอย่างยั่งยืนได้ในอนาคตศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรตาก

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างมด
2. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างมด ได้แก่ แอลกอฮอล์ 70 – 80% ปากคีบ ขวดดองตัวอย่างแมลง คัดเตอร์ กรรไกรตัดกิ่ง กล่องพลาสติก และถุงพลาสติก
3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการจัดรูปร่างมด ได้แก่ เข็มไร้สนิมแมลง กระดาษสามเหลี่ยม กาวลาเท็กซ์ ไม้จัดรูปร่างแมลง ตู้อบ
5. กล้องจุลทรรศน์ stereo microscope และ กล้องถ่ายภาพ
7. เอกสารประกอบการจำแนกชนิดมด

วิธีดำเนินการ

1.สำรวจและรวบรวมมดจากพื้นที่ต่างๆ ทั้งพื้นที่แปลงเกษตรและป่าธรรมชาติ เพื่อให้ครอบคลุมแหล่งที่อยู่อาศัยของมด โดยจะดำเนินการเก็บตัวอย่างมดตามวิธีดังนี้

1.1 การเก็บโดยใช้มือ เก็บมดที่อาศัยอยู่ตามต้นไม้ ไม้พื้นล่าง ไม้พุ่มหรือวัชพืช โดยใช้ปากคีบและใช้สวิงโฉบโดยจับมดใส่ในขวดเก็บตัวอย่าง วิธีการนี้จะได้ตัวอย่างมดที่อาศัยตามต้นไม้ หรือกลุ่มมดที่กินน้ำหวานจากแมลงที่อาศัยอยู่ตามต้นไม้ 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. จำแนกชนิดมดและจัดเก็บในพิพิธภัณฑน์ นำตัวอย่างมดที่จำแนกชนิดแล้วให้จัดเก็บลงในกล่องกระดาษสีเหลี่ยมสีขาว จัดเรียงตามอักษรของลำดับ ชนิด นำจัดเข้าลิ้นชักในตู้เก็บแมลง บันทึกข้อมูลแต่ละตัวอย่างบนแผ่นป้ายบันทึกกำกับตัวอย่างแมลง (labeling specimen)

6. นำข้อมูลจำนวนชนิดมดที่ได้มาหาความสัมพันธ์กับข้อมูลกิจกรรมทางการเกษตรเพื่อประมวลผลต่อไป

7. จัดเก็บตัวอย่างมดที่จัดรูปร่างและอบแห้ง รวมทั้งเพื่อย้ายแบ่งในกล่องใส่สไลด์ถาวร ไว้ในพิพิธภัณฑน์แมลงโดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามหลักสากล

เวลาและสถานที่

เวลา เดือนตุลาคม 2553

ถึง เดือนกันยายน 2555

- สถานที่
1. พื้นที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรตากและป่าธรรมชาติของจังหวัดตาก
 2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการเก็บรวบรวมมดในพื้นที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรตากและ ป่าธรรมชาติของ จังหวัดตาก ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2555 พบมดทั้งสิ้น 55 ชนิด 37 สกุล 8 วงศ์ย่อย โดยแปลงชา และอะโวคาโด พบมดจำนวน 31 ชนิด แปลงกาแฟ จำนวน 29 ชนิด และแปลงมะคาเดเมีย จำนวน 22 ชนิด เมื่อพิจารณาชนิดมดที่เด่นในพื้นที่ พบว่า แปลงมะคาเดเมีย มีมดจำนวน 8 ชนิด แปลงอะโวคาโด ชาและกาแฟ มีจำนวน 7, 5 และ 3 ชนิด และมีมดน้ำผึ้ง (*Anoplolepis gracilipes* Smith) เป็นมดที่พบทุกครั้งและทุกพื้นที่สำรวจ มดกันห้อยธรรมดา (*Dolichoderus thoracicus* Smith) พบทุกครั้งของการสำรวจในแปลงมะคาเดเมีย อะโวคาโด และกาแฟ ขณะที่มดไอ้ซิ่นดำ (*Odontoponera denticulata* Smith) พบในแปลงมะคาเดเมีย อะโวคาโด และชา นอกจากนี้ยังพบชนิดมดที่เป็นรายงานการพบครั้งแรก (new recorded) ในประเทศไทย จำนวน 1 ชนิด การศึกษานี้ยังไม่สิ้นสุดจะต้องดำเนินการต่อไปในปี 2556 โดยสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างมด และจัดเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาความหลากหลายชนิดของมดในพื้นที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรตากและป่าธรรมชาติของจังหวัดตาก ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2555 พบมดทั้งสิ้น 55 ชนิด 37 สกุล 8 วงศ์ย่อย โดยแปลงชา และอะโวคาโด พบมดจำนวน 31 ชนิด แปลงกาแฟ จำนวน 29 ชนิด และแปลงมะคาเดเมีย จำนวน 22 ชนิด มีมดน้ำผึ้ง (*Anoplolepis gracilipes* Smith) เป็นมดที่พบทุกครั้งและทุกพื้นที่สำรวจ มดกันห้อยธรรมดา (*Dolichoderus thoracicus* Smith) พบทุกครั้งของการสำรวจในแปลงมะคาเดเมีย อะโวคาโด และกาแฟ ขณะที่มดไอ้ซิ่นดำ (*Odontoponera denticulata* Smith) พบในแปลงมะคาเดเมีย อะโวคาโด และชา นอกจากนี้ยังพบชนิดมดที่เป็นรายงานการพบครั้งแรก (new recorded) ในประเทศไทย ในประเทศไทย จำนวน 1 ชนิด คือ *Cerapachys sauteri* Forel ซึ่งพบในแปลงกาแฟ การศึกษานี้ยังไม่สิ้นสุดจะต้องดำเนินการต่อไปในปี 2556

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.



Anoplolepis gracilipes Smith



Dolichoderus thoracicus Smith



Odontoponera denticulata Smith



Cerapachys sauteri Forel

ภาพที่ 1 มดในพื้นที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรตากและป่าธรรมชาติของจังหวัดตาก

ความหลากหลายชนิดของด้วงงวงในเขตสงวนชีวมณฑลสะแกราช
Species Diversity of Weevils at Sakaerat Biosphere Reserves

อิทธิพล บรรณาการ สุนัดตา ชาวลิต ชมัยพร บัวมาศ
ชฎาภรณ์ เฉลิมวิเชียรพร เกศสุตา สนศิริ สิทธิศิริโรดม แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

สำรวจ รวบรวมด้วงงวงในเขตสงวนชีวมณฑลสะแกราช สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช จ.นครราชสีมา ระหว่างเดือนตุลาคม 2554 ถึง เดือนกันยายน 2555 นำตัวอย่างด้วงงวงที่รวบรวมได้มาศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานเพื่อตรวจจำแนกชนิด ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช สามารถจำแนกชนิดด้วงงวงได้ 9 ชนิด 86 ตัวอย่าง ซึ่งอยู่ในอันดับ Coleoptera วงศ์ Curculionidae ได้แก่ แมลงค่อมทอง *Hypomeces squamosus* (Fabricius) 26 ตัวอย่าง ด้วงงวง *Alcidodes obesus* Faust 2 ตัวอย่าง ด้วงงวง *Trachelisus bioculatus* 4 ตัวอย่าง ด้วงงวง *Phrixopogon hausti* Marshall 28 ตัวอย่าง ด้วงงวง *Platytrachelus paviei* Aurivillius 8 ตัวอย่าง ด้วงงวง *Cosmopolites sodidus* (Germar) 7 ตัวอย่าง ด้วงงวง *Sybulus* sp. 2 ตัวอย่าง ด้วงงวง *Rhychites* sp. 8 ตัวอย่าง ด้วงงวง *Balaninus* sp. 1 ตัวอย่าง การทดลองเรื่องนี้อยู่ไม่สิ้นสุดต้องดำเนินการต่อในปี 2556

คำนำ

ด้วงงวง (weevils, snout beetles) จัดเป็นวงศ์ (Family) ที่มีความหลากหลายและจำนวนมากที่สุดของแมลงในอันดับด้วง (Coleoptera) ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยเจาะอาศัยอยู่ในเนื้อไม้ทั้งไม้สดและไม้แห้ง ตัวอ่อนหลายชนิดอาศัยกัดกินอยู่ในรากพืช เมล็ดพืช สร้างความเสียหายกับผลผลิตทางการเกษตร พืชปลูก ไม้ดอกไม้ประดับ ผลไม้ และพืชผัก นอกจากนี้ยังมีด้วงงวงอีกหลายชนิดที่เป็นปัญหาในการส่งออกและนำเข้าผลผลิตทางการเกษตร เช่น ด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วงซึ่งเป็นปัญหาในการส่งออกมะม่วงจากประเทศไทยไปยังประเทศมาเลเซีย และด้วงงวงขี้มูลส้มซึ่งเป็นปัญหาในการนำเข้าผลส้มจากออสเตรเลีย (ศิริณี และ ชลิตา, 2551) ด้วงงวงจึงเป็นแมลงที่นำเรารู้และทำความรู้จักอย่างยิ่ง แหล่งสงวนชีวมณฑลสะแกราช (Sakaerat Biosphere 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 และแมลงจำนวนมาก อาทิด้วงงวง

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-02-00-06-54

โดยความหลากหลายและปริมาณของตัวอ่อนและตัวเต็มวัยด้วงวงมีบทบาทสำคัญในระบบห่วงโซ่อาหารคือเป็นอาหารของสัตว์อื่นๆ เช่น นก และแมลงห้ำต่างๆ ทำให้ระบบนิเวศมีความสมดุล ซึ่งนับวันพื้นที่ป่าก็จะถูกบุกรุกทำลายกลายเป็นชุมชน ป่าลดน้อยลง พันธุ์พืช สัตว์ และแมลงก็จะค่อยๆ สูญสิ้นไป ได้มีการศึกษาด้านพันธุ์พืชต่างๆ แต่ยังไม่มีความเกี่ยวข้องกับด้วงวงในเขตสงวนชีวมณฑลสะแกกราช จึงสมควรสำรวจและศึกษาชนิดของด้วงวง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

ตัวอย่างตัวเต็มวัยด้วงวงและหนอนที่รวบรวมได้จากเขตสงวนชีวมณฑลสะแกกราช อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ สวิงจับแมลง ขวดฆ่าที่บรรจุสารเอทิลอะซีเตท ขวดดอง ปากคีบ พู่กัน กล้องพลาสติก ถุงพลาสติก ของกระดาษใส่ตัวอย่างแมลง ถังรักษาความเย็น อุปกรณ์ที่ใช้จัดรูปร่างแมลง ได้แก่ เข็มไร้สนิม เข็มหมุดหัวกลม ไม้จัดรูปร่างแมลง ปากคีบ โหลขึ้น ตู้อบแมลง อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวร ได้แก่ สารเคมีต่างๆ เช่น น้ำกลั่น alcohol 50-100%, sodium hydroxide 10%, clove oil และ canada balsam เข็มเขี่ย แผ่นสไลด์แก้ว แผ่นแก้วปิดสไลด์ กล้องสไลด์ถาวร ตู้อบสไลด์ถาวร กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope กล้องถ่ายภาพ อุปกรณ์วาดภาพ ได้แก่ ปากกา rotring และกระดาษไขเขียนแบบ เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของด้วงวง

วิธีการ

สืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับชนิดของด้วงวงจากเอกสารวิชาการที่เกี่ยวข้อง ดำเนินการสำรวจ และเก็บรวบรวมด้วงวงในบริเวณป่าดิบแล้งและป่าเต็งรัง ทุกๆ 2 เดือน เดินสำรวจด้วงวง ถ่ายภาพและเก็บตัวอย่าง โดยเก็บตัวอ่อนในหลอดบรรจุแอลกอฮอล์ 80 % และตัวเต็มวัยในขวดฆ่าที่บรรจุสารเอทิลอะซีเตท หลังจากด้วงตายให้เก็บตัวเต็มวัยในกระดาษรูปสามเหลี่ยมโดยห่อแบบทือฟี่ บันทึกรายละเอียดต่างๆ เช่น รูปร่าง ลักษณะ ขนาด สี พิษอาศัย วันเดือนปี ชื่อผู้เก็บ สภาพแวดล้อม อุณหภูมิ และพิกัดทางภูมิศาสตร์ (GPS) เป็นต้น ในเวลากลางคืนจะเก็บตัวอย่างด้วงวงจากกับดักแสงไฟ (light trap) นำด้วงวงที่รวบรวมได้มาจัดรูปร่างและอบให้แห้ง ศึกษาและวิเคราะห์ชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานโดยใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยชนิด White (1983) และ Charles and Norman (2005) รวมทั้งศึกษาเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์ บันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยการถ่ายภาพใต้กล้องจุลทรรศน์ รวมถึงให้รายละเอียดบนแผ่นป้ายบันทึกของขวดดอง ตัวอ่อนและตัวเต็มวัย ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ที่จำแนกได้ วัน/เดือน/ปี สถานที่เก็บตัวอย่าง และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง จัดทำแนวทางวินิจฉัย (key) สกุล และชนิดของด้วงวงที่รวบรวมได้พร้อมภาพประกอบ จัดเก็บตัวอย่างที่ได้ศึกษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากลของพิพิธภัณฑ์ เพื่อใช้ในการตรวจสอบ สืบค้นและอ้างอิง

เวลาและสถานที่

เวลา เดือนตุลาคม 2554 ถึง เดือนกันยายน 2555

สถานที่ 1. เขตสงวนชีวมณฑลสะแกกราช สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกกราช จ.นครราชสีมา
2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

พบด้วงงวง 9 ชนิด 86 ตัวอย่าง คือ แมลงค่อมทอง *Hypomeces squamosus* (Fabricius) 26 ตัวอย่าง ด้วงงวง *Alcidodes obesus* Faust 2 ตัวอย่าง ด้วงงวง *Trachelisus bioculatus* 4 ตัวอย่าง ด้วงงวง *Phrixopogon hausti* Marshall 28 ตัวอย่าง ด้วงงวง *Platytrachelus paviei* Aurivillius 8 ตัวอย่าง ด้วงงวง *Cosmopolites sodidus* (Germar) 7 ตัวอย่าง ด้วงงวง *Sybulus* sp. 2 ตัวอย่าง ด้วงงวง *Rhychites* sp. 8 ตัวอย่าง ด้วงงวง *Balaninus* sp. 1 ตัวอย่าง

สรุปผลการทดลองแนะนำ

การศึกษาความหลากหลายชนิดของด้วงงวงในเขตสงวนชีวมณฑลสะแกกราช สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกกราช จ.นครราชสีมา ระหว่างเดือนตุลาคม 2554 ถึง เดือนกันยายน 2555 โดยดำเนินการสำรวจและเก็บรวบรวมด้วงงวงในบริเวณป่าดิบแล้งและป่าเต็งรัง ทุกๆ 2 เดือน ถ่ายภาพและเก็บตัวอย่างนำตัวอย่างด้วงงวงที่รวบรวมได้มาศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานเพื่อตรวจจำแนกชนิด ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช สามารถจำแนกชนิดด้วงงวงได้ 9 ชนิด 86 ตัวอย่าง ซึ่งอยู่ในอันดับ Coleoptera วงศ์ Curculionidae ได้แก่ แมลงค่อมทอง *Hypomeces squamosus* (Fabricius) 26 ตัวอย่าง ด้วงงวง *Alcidodes obesus* Faust 2 ตัวอย่าง ด้วงงวง *Trachelisus bioculatus* 4 ตัวอย่าง ด้วงงวง *Phrixopogon hausti* Marshall 28 ตัวอย่าง ด้วงงวง *Platytrachelus paviei* Aurivillius 8 ตัวอย่าง ด้วงงวง *Cosmopolites sodidus* (Germar) 7 ตัวอย่าง ด้วงงวง *Sybulus* sp. 2 ตัวอย่าง ด้วงงวง *Rhychites* sp. 8 ตัวอย่าง ด้วงงวง *Balaninus* sp. 1 ตัวอย่าง การทดลองเรื่องนี้ยังไม่สิ้นสุดต้องดำเนินการต่อในปี 2556

เอกสารอ้างอิง

ศิริณี พูนไชยศรี และชลิตา อุณหวุฒิ. 2551. ด้วงงวงข้าวผลส้ม (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.



Hypomeces squamosus (Fabricius)



Alcidodes obesus



Trachelisus bioculatus



Phrixopogon hausti Marshall



Platytrachelus paviei Aurivillius



Cosmopolites sodidus (Germar)



Sybulus sp.



Rhychites sp.



Balaninus sp.

ศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของผลพลัมสดนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา
Study on Pest Risk Analysis and Pest Risk Assessment on Fresh Plum Fruit
Imported from the United States of America

วัลย์กร รัตนเดชากุล วรรณญา มาลี อลงกต โพธิ์ดี สุคนธ์ทิพย์ สมบัติ
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาระบาดวิทยาและประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของผลพลัมสดนำเข้าจากประเทศสหรัฐอเมริกา มลรัฐแคลิฟอร์เนีย โอตาโฮ ออริกอน และวอชิงตัน พบว่าศัตรูพืชกักกันที่มีโอกาสติดมากับผลพลัมสด 43 ชนิดจัดกลุ่มศัตรูพืช ได้แก่ แมลง 30 ชนิด ไร 5 ชนิด แบคทีเรีย 2 ชนิด รา 6 ชนิด ศัตรูพืชกักกันที่มีความเสี่ยงสูง ต้องมีมาตรการสุขอนามัยพืชเพื่อจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช ได้แก่ แมลงวันผลไม้ อันดับ Diptera วงศ์ Tephritidae *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Mediterranean fruit fly) *Anastrepha ludens* (Loew) (Mexican fruit fly) *Anastrepha suspensa* Loew (Caribbean fruit fly) ผีเสื้อ อันดับ Lepidoptera วงศ์ Tortricidae *Epiphyas postvittana* (L.) (Light brown apple moth) ตัวงวง อันดับ Coleoptera วงศ์ Curculionidae *Pantomorus cervinus* (Boheman) (Fuller's rose beetle) รา *Monilia fructicola* (brown rot) และ *Monilinia laxa* (brown rot of fruit) มาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับผลพลัมสดนำเข้าจากสหรัฐอเมริกาอย่างใดอย่างหนึ่ง (1) ผลพลัมส่งออกต้องปลูกในพื้นที่ปลอดแมลงวันผลไม้ (2) กรณีส่งออกมาจากแปลงนอกพื้นที่ปลอดแมลงวันผลไม้ต้องกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลพลัมด้วยความเย็น (3) ออบรังสีที่ปริมาณรังสีดูดกลืน 400 เกรย์ กรณีผลพลัมปลูกในพื้นที่ที่ด้วงพู่เรอโรสระบาดต้องรมผลพลัมด้วยสารเมทิลโบรไมด์ก่อนส่งออก

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-02-01-02-54

คำนำ

ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และ พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 ที่มีผลใช้บังคับตั้งแต่ 28 สิงหาคม 2551 โดยแบ่งประเภทของพืชออกเป็น 3 ชนิดคือ สิ่งต้องห้าม สิ่งกักตุน และสิ่งไม่ต้องห้าม โดยสิ่งต้องห้ามสามารถนำเข้ามาในราชอาณาจักรได้ตามวัตถุประสงค์ 3 ประการ คือ (1) เพื่อการวิจัย (2) เพื่อการค้า และ (3) เพื่อกิจการอื่น การนำเข้าหรือนำผ่านสิ่งต้องห้ามต้องผ่านการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชก่อน โดยปฏิบัติตามหลักเกณฑ์ วิธีการและเงื่อนไขที่อธิบดีกำหนด กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ได้ออกประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ “เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550” ในท้ายประกาศดังกล่าวได้กำหนดชนิดพืชและพาหะจากทุกแหล่งเป็นสิ่งต้องห้าม ในประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ฉบับดังกล่าวมีบทเฉพาะกาล เพื่อไม่ให้เกิดกระทบต่อการเกษตร ธุรกิจ และอุตสาหกรรม จึงกำหนดให้สิ่งต้องห้ามตามท้ายประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ฯ ที่เคยมีการนำเข้ามาในประเทศไทยในลักษณะเพื่อการค้าก่อนที่ประกาศมีผลใช้บังคับนั้นสามารถนำเข้ามาในราชอาณาจักรได้ โดยปฏิบัติตามสถานภาพเดิมก่อนประกาศมีผลใช้บังคับ สหรัฐอเมริกายื่นหนังสือขอผ่อนผันตามบทเฉพาะกาลขออนุญาตนำเข้าผลพลัมสดจาก 4 รัฐ ได้แก่ แคลิฟอร์เนีย โอไฮโอ ออริกอน และวอชิงตัน (USDA, 2007, USDA, 2008) และได้รับอนุญาตให้นำเข้าในสถานภาพสิ่งต้องห้ามที่ได้รับการผ่อนผันตามบทเฉพาะกาล การนำเข้าปฏิบัติตามสถานภาพเดิม การนำเข้ากำหนดให้ต้องมีใบอนุญาตนำเข้า (import permit) ใบบรับรองสุขอนามัยพืช (Phytosanitary measure) มาพร้อมกันกับสินค้า

การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของผลพลัมสดนำเข้าจากประเทศสหรัฐอเมริกา มลรัฐแคลิฟอร์เนีย โอไฮโอ ออริกอน และวอชิงตัน ผลงานวิจัยทำให้ทราบชนิดศัตรูพืชกักกันและนำไปกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชของผลพลัมจากสหรัฐอเมริกา

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. มาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 2 เรื่อง กรอบการดำเนินงานสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (ISPM No.2: Framework for Pest Risk Analysis) (FAO, 2007)
2. มาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 11 เรื่องการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยงด้านสภาพแวดล้อม และสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม (ISPM No.11 Pest Risk Analysis for Quarantine Pests Including Analysis of Environmental Risks and Modified Organisms) (FAO, 2004)

3. คู่มือการฝึกอบรม การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis Training) (IPPC, 2009)

4. ตำรา ฐานข้อมูลศัตรูพืช ผลงานวิจัย เอกสารวิชาการ เอกสารวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ของต่างประเทศ

วิธีการ

1. สืบค้นและรวบรวมข้อมูลทั่วไปของพืช เช่น พันธุ์ แหล่งปลูกพืชมในสหรัฐอเมริกา
2. สืบค้นรายชื่อและข้อมูลศัตรูพืช พาหะของศัตรูพืชที่มีรายงานในประเทศสหรัฐอเมริกา บันทึกรายละเอียดของศัตรูพืชมแต่ละชนิด เช่น ข้อมูลอนุกรมวิธาน แหล่งแพร่กระจาย ส่วนของพืชที่ทำลายหรืออาศัย
3. ขั้นตอนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ดำเนินการ ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Initiation of Pest Risk Analysis)

รวบรวมข้อมูลศัตรูพืชและเส้นทางศัตรูพืชเกี่ยวข้องกับด้านกักกันพืช ศัตรูพืชชนิดใดต้องมีมาตรการสุขอนามัยพืชมาจัดการให้ความเสี่ยงลดลง นำข้อมูลมาวิเคราะห์เชิงปริมาณให้สัมพันธ์กับพื้นที่ของประเทศไทย

ขั้นตอนที่ 2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Assessment)

2.1 การจัดประเภทศัตรูพืช (Pest Categorization)

2.1.1. จำแนกและจัดกลุ่มศัตรูพืชตามหลักอนุกรมวิธาน ได้แก่ อันดับ วงศ์ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อสามัญ ข้อมูลชีววิทยา แหล่งแพร่กระจาย ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย/อาศัย เป็นพาหะหรือไม่ จัดกลุ่มแบ่งออกเป็น แมลง ไร ไวรัส แบคทีเรีย รา และไส้เดือนฝอย บันทึกรายละเอียดข้อมูลศัตรูพืชมแต่ละชนิด

2.1.2. ตรวจสอบว่าเป็นศัตรูพืชที่พบในประเทศไทยหรือไม่ รวมถึงสถานภาพการควบคุมศัตรูพืชดังกล่าวในประเทศไทย ณ เวลาปัจจุบันและอนาคต

2.1.5. ศึกษาและวิเคราะห์ข้อมูลและสรุปแนวโน้มความเป็นไปได้ว่าศัตรูพืชที่ไม่พบในประเทศไทยและมีโอกาสเข้ามาเกี่ยวกับผลพืชมสด อาจตั้งรกราก แพร่กระจายในประเทศไทย (Potential established and spread in PRA area)

ประเมินโอกาสการเข้ามาเกี่ยวกับเส้นทางศัตรูพืช ปัจจัยที่ใช้ประเมิน ได้แก่ ระยะเวลาเจริญเติบโตที่เสี่ยงติดเข้ามาเกี่ยวกับผลพืชมสดนำเข้า ทำลายภายในผลหรือภายนอกผล ความยากง่ายในการตรวจพบหรือสังเกตเห็น การมีชีวิตรอดระหว่างขนส่ง การเล็ดรอดจากการตรวจที่จุดนำเข้า การเคลื่อนย้ายไปยังพืชอาศัย/พืชอาหารที่เหมาะสม และวัตถุประสงค์ของการนำผลพืชม

ประเมินโอกาสการตั้งรกรากในประเทศไทย ปัจจัยที่ใช้ประเมิน คือ ข้อมูลชีววิทยา เช่น วงจรชีวิต จำนวนรุ่นต่อปี พืชอาหาร/พืชอาศัย จำนวนและการกระจายตัวและชนิดของพืชอาหาร/พืชอาศัย การแพร่ขยายพันธุ์ ข้อมูลสภาพแวดล้อมและนิเวศน์วิทยาที่เหมาะสมต่อการ

เจริญเติบโตและแพร่พันธุ์ ความสามารถในการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อม พาหะ (vector) ซึ่งสนับสนุนการตั้งรกรากและแพร่กระจาย เป็นต้น

ประเมินโอกาสการแพร่กระจายในพื้นที่ของประเทศไทย ปัจจัยที่ใช้ประเมินได้แก่ การเคลื่อนย้ายของศัตรูพืชไปกับผลพลัม หรือพาหะขนส่ง ความสามารถในการเคลื่อนย้ายหาพืชอาหารโดยศัตรูพืชเองหรืออาศัยพาหะ พาหะมีปรากฏในประเทศไทยหรือไม่ ความเหมาะสมของสภาพแวดล้อมในสภาพธรรมชาติ สิ่งกีดขวางโดยธรรมชาติ และพืชอาหาร/พืชอาศัย รวมทั้งพืชที่มีความใกล้เคียง

2.1.6. พิจารณาข้อมูลและสรุปแนวโน้มความเป็นไปได้ว่าศัตรูพืชที่ไม่พบในประเทศไทยจะก่อให้เกิดผลกระทบทางเศรษฐกิจที่เกิดขึ้นหลังจากศัตรูพืชเข้ามา (Potential economic consequence) ในประเทศไทย

สืบค้นข้อมูลความเสียหายทางเศรษฐกิจที่เกิดขึ้นทั้งผลกระทบทางตรงจากศัตรูพืช เช่น ทำให้พืชสูญเสียผลผลิต และผลกระทบทางอ้อม เช่น ต้องเพิ่มต้นทุนในการป้องกันกำจัดกระทบต่อระบบการผลิตพืชภายในประเทศ กระทบต่อการค้าภายในประเทศและระหว่างประเทศ เป็นต้น โดยพิจารณาว่ามีผลกระทบจนถึงระดับที่ยอมรับไม่ได้สำหรับประเทศไทย

ผลสรุปทำให้ทราบชนิดศัตรูพืชกักกันที่มีคุณสมบัติตามเกณฑ์และนิยามของศัตรูพืชกักกัน การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเป็นการวิเคราะห์เชิงปริมาณ ระดับความเสี่ยงจากการวิเคราะห์แบ่งออกเป็น 3 ระดับ คือ ความเสี่ยงสูง ความเสี่ยงปานกลาง และความเสี่ยงต่ำ

ขั้นตอนที่ 3 การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest risk management)

สืบค้นมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันของพลัมและนำมาประกอบการตัดสินใจว่ามาตรการใดมีประสิทธิภาพและเหมาะสมกับศัตรูพืช

4. สุ่มตัวอย่างผลพลัมเพื่อตรวจสอบศัตรูพืชที่ติดมากับผล ณ จุดนำเข้าที่ด่านตรวจพืช แหล่งกระจายสินค้า ซุปเปอร์มาเก็ต เก็บสิ่งมีชีวิตและไม่มีชีวิตที่ตรวจพบนำมาตรวจวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการ บันทึกข้อมูล

เวลาและสถานที่ เริ่มต้น ตุลาคม 2553 สิ้นสุด กันยายน 2555

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

ด่านตรวจพืชลาดกระบัง สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

พลัมเป็นไม้ผลเขตหนาว อยู่ในวงศ์ Rosaceae สกุล *Prunus* พลัมเป็นพืชยืนต้นใบเลี้ยงคู่ ดอกสมบูรณ์เพศ (hermaphrodite) การผสมเกสรขึ้นอยู่กับพันธุ์ที่ปลูก เช่น ผสมตัวเอง (self-pollinator) ใช้ละอองเกสรตัวผู้จากพันธุ์พลัมที่คัดเลือกพิเศษ (specific pollinizer) ผสมข้ามต่างพันธุ์ (cross pollination) นิยมใช้ผึ้งช่วยผสมเกสร พลัมแบ่งเป็น 2 ชนิด คือ พลัมยุโรป (European plum: *Prunus domestica* L.) หรือพรุณ (prune) และพลัมญี่ปุ่น (Japanese plum: *Prunus*

salicina) พลัมยุโรปมีถิ่นกำเนิดในตะวันออกใกล้ (near east) ปลูกในบางพื้นที่ของยุโรปแพร่หลายที่ฝรั่งเศส นิยมบริโภคผลแห้ง ส่วนพลัมญี่ปุ่นมีถิ่นกำเนิดในประเทศจีนนำมาเพาะปลูกในญี่ปุ่นมากกว่า 400 ปี สหรัฐอเมริกานำพลัมญี่ปุ่นเข้ามาปลูกในปี 1870s โดยจอห์น Kelsey ที่ Berkley nurseryman มลรัฐแคลิฟอร์เนีย (California) เป็นแห่งแรก ต่อมา Luther Burbank นำเมล็ดพลัม 12 เมล็ดจากญี่ปุ่นเข้ามาทำการปรับปรุงและคัดเลือกพันธุ์ จนได้พันธุ์ที่ปลูกเป็นการค้าในแคลิฟอร์เนีย (AMRC, 2013) พลัมญี่ปุ่นบริโภคผลสด ประโยชน์ทางการแพทย์ คือ เส้นใยมากและมีสารต่อต้านอนุมูลอิสระ (anti oxidant) แหล่งปลูกพลัมในสหรัฐอเมริกา ได้แก่ พื้นที่ San Joaquin Valley มลรัฐแคลิฟอร์เนีย (California) เป็นแหล่งปลูกขนาดใหญ่ที่สุดของประเทศ (Crisosto and Kader, 2004) คอนเนตทิคัต (Connecticut) เดลาแวร์ (Delaware) ไอดาโฮ (Idaho) ลุยเซียนา (Louisiana) แมสซาชูเซตส์ (Massachusetts) แมริแลนด์ (Maryland) เมน (Maine) มิชิแกน (Michigan) มินนิโซตา (Minnesota) นิวแฮมป์เชียร์ (New Hampshire) นิวเจอร์ซีย์ (New Jersey) นิวยอร์ก (New York) โอไฮโอ (Ohio) ออริกอน (Oregon) เพนซิลเวเนีย (Pennsylvania) โรดไอแลนด์ (Rhode Island) เทกซัส (Texas) ยูทาห์ (Utah) เวอร์จิเนีย (Virginia) เวอร์มอนต์ (Vermont) และวอชิงตัน (Washington) (USDA, 2012) พันธุ์ที่นิยมปลูกเป็นการค้า เช่น Angelino, Black Amber, Casselman, El Dorado, Kelsey, Laroda, Late Santa Rosa, Nubiana, President, Queen Ann, Red Beaut, Roysum, Wickson, Friar, Simka, Damson Plum, Earliblue, Prune-Plum, Methley Plum, Ozark Premier Plum, Plum Dandy, Plumcot-Aprium, Redheart Plum, Santa Rosa Plum, Shiro Plum, Spring Satin Plumcot, Stanley Prune-Plum, Weneta Plum (Looney and Jackson, 2011; USDA, 2012) มลรัฐแคลิฟอร์เนียเป็นแหล่งผลิตพลัมสดที่สำคัญเนื่องจากมีหลายพันธุ์ช่วงฤดูกาลเก็บเกี่ยวนาน เริ่มกลางพฤษภาคมสิ้นสุดตุลาคม (ตารางที่ 1) แหล่งปลูกสำคัญรองลงมาตามลำดับได้แก่ ออริกอน วอชิงตัน มิชิแกน และไอดาโฮ ตารางที่ 2 แสดงฤดูกาลเก็บเกี่ยวพลัมแบ่งตามรัฐ ปริมาณรวมของผลพลัมผลิตปี 2555 จากมลรัฐออริกอน วอชิงตัน มิชิแกน และ ไอดาโฮ 12,135 ตัน แบ่งเป็นบริโภคผลสด 7,330 ตัน เพื่อแปรรูป 4,805 ตัน

สำหรับประเทศไทยมีการปลูกพลัมมานานเริ่มจากมูลนิธิโครงการหลวงนำพันธุ์ Gulf Ruby จากมลรัฐฟลอริดา มาทดสอบที่สถานีเกษตรหลวงอ่างขางเมื่อปี พ.ศ. 2522 และได้วิจัยและพัฒนาจนกระทั่งประสบความสำเร็จ ทำให้พลัมเป็นไม้ผลที่ส่งเสริมให้เกษตรกรในเขตพื้นที่สูงปลูกเป็นอาชีพ แหล่งปลูกที่สำคัญได้แก่ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่แฮ แม่ปูนหลวง แก่น้อย และอ่างขาง

สถิติการนำเข้าผลพลัมสดจากต่างประเทศรายงานเมื่อปี 2554 สหรัฐอเมริกานำเข้ามากเป็นอันดับหนึ่งปริมาณ 82 ตัน รองลงมา ออสเตรเลีย จีน และญี่ปุ่น ปริมาณนำเข้า 59, 30 และ 5 ตัน ตามลำดับ รวมปริมาณนำเข้าทั้งสิ้น 171 ตัน คิดเป็นมูลค่า 14 ล้านบาท (กรมศุลกากร, 2554)

ผลการสืบค้นและรวบรวมรายชื่อศัตรูพืชของพลัมในสหรัฐอเมริกา มี 81 ชนิดจำแนกออกเป็นหมวดหมู่ ดังนี้ ไร 12 ชนิด แมลง 42 ชนิด แบ่งเป็นแมลงในอันดับ Coleoptera 5 ชนิด Diptera 7 ชนิด Hemiptera 10 ชนิด Hymenoptera 1 ชนิด Lepidoptera 15 ชนิด

Thysanoptera 4 ชนิด รา 7 ชนิด แบคทีเรีย 3 ชนิด ไวรัส 10 ชนิด ไส้เดือนฝอย 7 ชนิด (USDA,2007; USDA, 2008; DAFF, 2010, CABI, 2012; EPPO, 2013) ส่วนของพืชที่เข้าทำลาย คือ ราก ลำต้น ใบ ดอก ผล การจัดประเภทศัตรูพืชและข้อมูลการเข้าทำลายที่ส่วนใดของต้นพืชมพบว่า ศัตรูพืชกักกันของพืชมที่เข้ามา มีศักยภาพตั้งรกราก แพร่กระจาย และก่อให้เกิดผลกระทบทางเศรษฐกิจภายหลังเข้ามา จำนวน 44 ชนิด ดังนี้

แมลง

Order Coleoptera

Family Curculionidae

<i>Conotrachelus nenuphar</i>	plum curculio
<i>Pantomorus cervinus</i>	fuller's rose beetle

Order Diptera

Family Tephritidae

<i>Anastrepha ludens</i>	Mexican fruit fly
<i>Anastrepha suspense</i>	Caribbean fruit fly
<i>Ceratitis capitata</i>	Mediterranean fruit fly
<i>Rhagoletis pomonella</i>	apple maggot
<i>Rhagoletis complete</i>	walnut huskfly

Order Dermaptera

Family Forficulidae

<i>Forficula auricularia</i>	ear wig
------------------------------	---------

Order Hemiptera

Family Aphididae

<i>Aphis spiraeicola</i>	spiraea aphid
<i>Brachycaudus helichrysi</i>	leaf curl plum aphid
<i>Brachycaudus persicae</i>	black peach aphid
<i>Brachycaudus schwartzi</i>	almond aphid
<i>Eriosoma lanigerum</i>	woolly aphid

Family Pseudococcidae

<i>Phenacoccus aceris</i>	apple mealybug
<i>Pseudococcus comstocki</i>	comstock mealybug

Family Diaspididae

<i>Aonidiella citrina</i>	yellow scale
<i>Aulacaspis rosae</i>	rose scale

	<i>Diaspidiotus forbesi</i>	forbes scale
	<i>Diaspidiotus juglansregiae</i>	walnut scale
	<i>Diaspidiotus perniciosus</i>	San Jose scale
	Order Lepidoptera	
	Family Tortricidae	
	<i>Cydia latiferreana</i>	Filbertworm
	<i>Cydia pomonella</i>	codling moth
	<i>Epiphyas postvittana</i>	light brown apple moth
	<i>Grapholita molesta</i>	Oriental fruit moth
	<i>Grapholita prunivora</i>	lesser apple fruit worm
	Family Gelechiidae	
	<i>Anarsia lineatella</i>	peach twig borer
	Order Thysanoptera	
	Family Thripidae	
	<i>Frankliniella occidentalis</i>	Western flower thrip
	<i>Frankliniella tritici</i>	flower thrip
	<i>Thrips hawaiiensis</i>	Hawaiian flower thrip
	<i>Taeniothrips inconsequens</i>	pear thrips
เชื้อรา		
	<i>Monilinia fructicola</i>	brown rot of fruit
	<i>Monilinia laxa</i>	brown rot of fruit
	<i>Phytophthora cinnamomi</i>	fruit rot of avocado
	<i>Phytophthora cryptogea</i>	tomato fruit rot
	<i>Stigmia carpophila</i>	gumspot
	<i>Venturia cerasi</i>	cherry scab
แบคทีเรีย		
	<i>Pseudomonas viridiflava</i>	bacterial leaf blight of tomato
	<i>Pseudomonas arboricola</i> pv. <i>pruni</i>	bacterial canker of stone fruit
ไร		
	<i>Panonychus ulmi</i>	European red mite
	<i>Tetranychus canadensis</i>	Four-spotted spider mite
	<i>Tetranychus mcdanieli</i>	McDaniel spider mite
	<i>Tetranychus pacificus</i> ,	Pacific spider mite

ผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันบางชนิด

Anastrepha ludens Anastrepha suspensa Ceratitis capitata

พบระบาดครั้งคราวที่มลรัฐแคลิฟอร์เนียและมีรายงานพบที่มลรัฐฟลอริดาและฮาวาย พืชอาหารกว้าง เช่น ส้ม มะม่วง ฝรั่ง องุ่น พืช พลัม *Anastrepha* spp. มีอวัยวะวางไข่ (ovipositor) ยาว วางไข่ในเนื้อผลไม้ได้ผิวเปลือก หนอนกินเนื้อผลไม้ภายในผล ลักษณะอาการของผลไม้ที่มีไข่หรือหนอนเห็นได้ยากตอนช่วงที่เริ่มเข้าทำลายใหม่ การเข้าทำลายเกิดขึ้นภายในผลก่อนแล้วจึงแสดงอาการให้เห็นภายนอกพร้อมกับผลเน่าบริเวณที่หนอนทำลาย บางมลรัฐในสหรัฐอเมริกามีการจัดตั้งเขตปลอดแมลงวันผลไม้ ไข่และหนอนมีโอกาสเข้ามาอยู่กับผลพลัมเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัย เคลื่อนย้ายได้ไกล เพื่อไปพบพืชอาหาร ตั้งรกราก แพร่กระจายในประเทศไทย การกำจัดหลังแมลงตั้งรกรากทำได้ยาก ความเสี่ยงสูง

Rhagoletis pomonella Rhagoletis complete

พืชอาหารจำกัด เช่น แอปเปิล เชอร์รี่ พลัม พืช เนคทารีน การศึกษาสถานภาพการเป็นพืชอาศัยในห้องปฏิบัติการพบว่าพลัมไม่ใช่พืชอาศัย สภาพภูมิอากาศร้อนชื้น (tropical) ไม่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิต *Rhagoletis* ต้องการอุณหภูมิอย่างน้อยกว่า 5 องศาเซลเซียสช่วงเวลาหนึ่งเพื่อเข้าดักแด้ โอกาสแพร่กระจายจากผลพลัมไปพบพืชอาหาร การตั้งรกรากเป็นไปได้น้อย ความเสี่ยงต่ำ

Anarsia lineatella

พืชอาหารหลัก ได้แก่ stone fruit คิวินซ์ แอปเปิล แอปริคอต พลัม อัลมอนต์ พืช สาลี *Anarsia lineatella* เป็นศัตรูพืชสำคัญในอเมริกาเหนือ ยุโรป เอเชียและแอฟริกาเหนือ หนอนทำลายยอดและเจาะเป็นรูเข้าไปในผลใกล้ก้านผลและกัดกินเนื้อผลไม้ได้เปลือก สังเกตเห็นด้วยตา มักพบโรคเข้าทำลายบริเวณรูที่หนอนเจาะหนอนเข้าดักแด้อยู่ในผล การคัดแยกผลพลัมที่มีหนอนทำลายตั้งแต่ในแปลงและโรงคัดบรรจุจัดการความเสี่ยงให้ต่ำลงได้ระดับหนึ่ง หนอนมีโอกาสเข้ามาอยู่กับผลพลัมตาพืชอาหารจำกัด สภาพภูมิอากาศที่เหมาะสมต่อการตั้งรกราก แพร่กระจายในประเทศไทยเป็นไปได้น้อย ความเสี่ยงต่ำ

Conotrachelus nenuphar

พืชอาหารแคบ ได้แก่ พืช แอปริคอต เนคทารีน สาลี ตัวเต็มวัยทำลายดอก ใบและผลอ่อน บริเวณรอยแผลที่วางไข่ รูเจาะออกเพื่อเข้าดักแด้มีรูปร่าง crescent-shaped สังเกตเห็นได้ง่าย ผลพลัมที่แมลงอาศัย/ทำลายจะร่วงหล่น การคัดแยกผลพลัมที่มีหนอนทำลายตั้งแต่ในแปลงและโรงคัดบรรจุจัดการความเสี่ยงให้ต่ำลงได้ระดับหนึ่ง แมลงมีโอกาสเข้ามาอยู่กับผลพลัม แต่การพบพืชอาหาร ตั้งรกราก แพร่กระจายในประเทศไทยเป็นไปได้น้อย ความเสี่ยงต่ำ

Cydia pomonella Cydia latiferreana Grapholita molesta Grapholita prunivora

พืชอาหารจำกัด ได้แก่ stone fruit Hazel nut oak ทับทิม หนอนทำลายอาศัยอยู่ภายในผล มีโอกาสเข้ามากับผลพลัม แต่การเคลื่อนย้ายพบพืชอาหาร ตั้งรกรากเป็นไปได้น้อย ความเสี่ยงต่ำ

Epiphyas postvittana

พืชอาหารมากกว่า 500 ชนิด 363 สกุล 121 วงศ์ พืชอาหาร เช่น แอปเปิล สาลี่ องุ่น ส้ม กีวี แตงกวา พริก ไม้ดอก กล้วยไม้ ไม้ประดับ เช่น เบญจมาศ ลิลลี่ แผลงมีถิ่นกำเนิดในออสเตรเลีย ไข่ที่ใบและผล หนอนทำลายตา ใบ ยอด และผลกัดกินที่ผิวเปลือกบางครั้งเข้าทำลายในผล พบการระบาดที่มลรัฐแคลิฟอร์เนีย ชอบสภาพแวดล้อมอุ่นและชื้น ปัจจุบันมีมาตรการควบคุมการแพร่กระจายเป็นทางการและประกาศกำหนดเขตพื้นที่กักกัน (quarantine area) สหรัฐอเมริกาห้ามส่งออกผลพลัมจากแหล่งที่มีการระบาด แผลงมีโอกาสเข้ามากับผลพลัม พบพืชอาหาร ตั้งรกรากแพร่กระจาย และมีผลกระทบทางเศรษฐกิจหลังจากศัตรูพืชเข้ามาตั้งรกราก ความเสี่ยงสูง

Pantomonas cervinus

รายงานพบครั้งแรกที่แคลิฟอร์เนีย ปี 1879 และฟลอริดา ปี 1916 แพร่ระบาดอย่างน้อย 30 รัฐในสหรัฐอเมริกา สันนิษฐานถิ่นกำเนิดในอเมริกาใต้ (Morse, J and Beth Grafton-Cardwell, 2011) ไข่ที่ผล (ส้ม) หนอนกินราก ตัวเต็มวัยกินใบ ไม่มีเพศผู้ สืบพันธุ์แบบ Parthenogenetic คือไข่เจริญเป็นตัวอ่อนโดยไม่ต้องปฏิสนธิกับสเปิร์ม ญีปุ่นตรวจพบไข่มีชีวิตบนส้ม ส่งออกจากแคลิฟอร์เนียเมื่อปี 1985 เมื่อตรวจพบทำการรมด้วยสารเคมี (fumigation) หนอนสีเหลืองอ่อน มีพืชอาหารหลายชนิด เช่น ส้ม อะคาเซีย (acacia) โอ๊ค กุหลาบ พืชสกุล *Prunus* พืชสกุล *Pyrus* กีวี (UC, 2003; แผลงมีโอกาสเข้ามากับผลพลัมต่ำ การพบพืชอาหาร ตั้งรกรากแพร่กระจาย และมีผลกระทบทางเศรษฐกิจหลังจากศัตรูพืชเข้ามาตั้งรกราก เป็นศัตรูพืชกักกันของไทย ความเสี่ยงสูง

Phenacoccus aceris

พืชอาหารกว้าง เช่น แอปเปิล เชอร์รี่ สาลี่ พลัม แอปปริคอต hazelnut องุ่น เป็นแผลงพาหะ นำโรคไวรัสขององุ่น Grapevine leafroll associated virus-1 and -3 มีโอกาสตั้งรกรากในประเทศไทย ความเสี่ยงปานกลาง

Pseudococcus comstocki

เชื่อว่ามีถิ่นกำเนิดที่ประเทศจีน และญี่ปุ่น ระบาดและแพร่กระจายทำลายต้นหม่อน (mulberry) และแอปเปิล ในสหรัฐอเมริกา ดูดกินผล ใบ กิ่ง ชับถ่ายน้ำหวานทำให้เกิดราบนผล ขัดขวางการสังเคราะห์แสง ความเสี่ยงปานกลาง

Panonychus ulmi Tetranychus canadensis Tetranychus mcdanieli Tetranychus pacificus Tetranychus turkestanii ไรสกุล *Tetranychus*

ไข่ที่ใบ และดูดกินเซลล์ใบและคลอโรพลาสต์ ทำลายการสังเคราะห์แสงของพืช พืชให้ผลขนาดเล็ก หากประชากรไรหนาแน่นในแปลง ระยะ juvenile และตัวเต็มวัยมีโอกาสติดเข้ามากับ

ผลพลัม พืชอาหารได้แก่ แอปเปิล มัลเบอร์รี่ stone fruit แบลคเบอร์รี่ เมล่อน องุ่น แตงโม สตรอเบอรี่ ไรมีขนาดเล็กมาก การแพร่กระจายโดยการเดิน/คลาน (crawling) ปลิวไปกับกระแสลม เพศเมีย สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ ออกไข่ 200 ฟอง/ตัว สภาพอากาศเย็น-อบอุ่นเหมาะต่อการ เจริญเติบโต ไรสามารถพัฒนาให้ต้านทานสารเคมี มีชีวิตรอดที่อุณหภูมิต่ำกว่าศูนย์องศาเซลเซียส โอกาสรอดชีวิตระหว่างการขนส่งสูง การจัดการหลังเก็บเกี่ยว การทำความสะอาด การปิดและเช็ดผล การคัดแยกที่โรงคัดบรรจุจัดการความเสี่ยงให้ต่ำลงได้ระดับหนึ่ง ไรมีโอกาสเข้ามากับผลพลัมและเคลื่อนย้ายพบพืชอาหาร ตั้งรกราก แพร่กระจายในประเทศไทย ความเสี่ยงปานกลาง

plum pox virus

พาหะคือเพลี้ยอ่อน *Aphis craccivora* *Aphis gossypii* *Aphis spiraeicola* *Brachycaudus helichrysi* *Brachycaudus persicae* *Hyalopterus arundinis* และ *Myzus persicae* เป็นโรคสำคัญของพืชสกุล *Prunus* รวมทั้งพืช เนคทารีน แอปปริคอต และพลัม ทำให้ผลร่วง ขณะผลยังอ่อน ระบาดที่มลรัฐนิวยอร์ก ปัจจุบันมีมาตรการควบคุมการแพร่กระจายอย่างเป็นทางการ และกำหนดเขตพื้นที่เป็นเขตกักกัน (quarantine area) เพื่อกำจัดให้หมดสิ้น มีการศึกษาและรายงาน ชนิดพืชอาศัยน้อย เช่น มะแว้งนก (*Solanum nigrum*) อัลมอนต์ การตั้งรกรากเป็นไปได้ต่ำ ความเสี่ยงต่ำ

Rhagoletis pomonella *Rhagoletis complete*

พืชอาหารจำกัด เช่น แอปเปิล เชอร์รี่ พลัม พืช เนคทารีน การศึกษาสถานภาพการ เป็นพืชอาศัยในห้องปฏิบัติการพบว่าพลัมไม่ใช่พืชอาศัย สภาพภูมิอากาศร้อนชื้น (tropical) ไม่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิต *Rhagoletis* ต้องการอุณหภูมิอย่างน้อยกว่า 5 องศาเซลเซียสช่วงเวลาหนึ่ง เพื่อเข้าดักแด้ โอกาสแพร่กระจายจากผลพลัมไปพบพืชอาหาร การตั้งรกรากเป็นไปได้น้อย ความเสี่ยงต่ำ

ผลการสุ่มตัวอย่างผลพลัมสดนำเข้าที่ด่านตรวจพืชลาดกระบัง พบโรคเน่า

Monilia fructicola (brown rot)

โรคหลังการเก็บเกี่ยวที่สำคัญของ stone fruits เชื้อจะเริ่มเข้าในพืชช่วงออกดอก ทำให้ ผลไม้เน่าได้ในระยะก่อนเก็บเกี่ยว แต่มักจะเกิดขึ้นในระหว่างการจัดการหลังการเก็บเกี่ยว การดูแลรักษาพ่นสารเคมีกันราและการจัดการที่ดีในสวนช่วยลดแหล่งสะสมโรค

มาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าผลพลัมสดจากมลรัฐแคลิฟอร์เนียของต่างประเทศ

ไต้หวัน

มีใบรับรองสุขอนามัยพืช ผลพลัมต้องปลอดจาก *Anarsia lineatella* (peach twig borer) *Conotrachelus nenuphar* (plum curculio) *Cydia pomonella* (codling moth) *Erwinia amylovora* (fire blight) *Rhagoletis pomonella* (apple maggot) *Tetranychus pacificus* (Pacific spider mite) *Ceratitis capitata* (Mediterranean fruit fly) หรือต้องทำการ กำจัดศัตรูพืชและระบุใบรับรองสุขอนามัยพืช (Crisosto and Kader, 2004)

แคนาดา มลรัฐบริติชโคลอมเบีย (British Columbia)

มีใบรับรองสุขอนามัยพืช และระบุว่าปลอดจาก *Cydia molesta* (Oriental fruit moth) และระบุข้อความเพิ่มเติมว่า “the fruit in the shipment were produced and inspected in accordance with the “systems approach guidelines” agreed to by APHIS and the CFIA” ผลพลัมทุกจังหวัดของรัฐบริติชโคลอมเบีย (Crisosto and Kader, 2004)

เม็กซิโก

มีระบบจัดการศัตรูพืชกักกันแบบ systems approach และรับรองว่าปลอดจาก *Cydia molesta* *Conotrachelus nenuphar* (plum curculio), *Rhagoletis pomonella* และแมลงวันผลไม้วงศ์ Tephritidae (Crisosto and Kader, 2004)

ออสเตรเลีย

มีระบบจัดการศัตรูพืชกักกัน peach twig borer แบบ systems approach ผลพลัมส่งออกที่รัฐเวสเทิร์นออสเตรเลียต้องมาจากพื้นที่ปลอดแมลงวันผลไม้ หรือมาจากพื้นที่ปลูกที่มีการปรากฏของ *Grapholita molesta* (Oriental fruit moth) ระดับต่ำ (low pest prevalence) ต้องผ่าตรวจผลไม้ในโรงคัดบรรจุเพื่อตรวจหา *Grapholita packardii* Zeller (cherry fruitworm) *Grapholita prunivora* (lesser apple fruitworm) ผลไม้พื้นที่ต้องมาจากพื้นที่ปลอด *Rhagoletis pomonella* (Walsh) (apple maggot) รมด้วยสารเมทิลโบรไมด์ในสภาพบรรยากาศปกติเพื่อจัดการความเสี่ยง *Grapholita molesta* อัตรา 32 กรัม/ลบ.ม ที่อุณหภูมิเนื้อผลไม้ 21 องศาเซลเซียส หรือมากกว่า หรือรมที่อัตรา 40 กรัม/ลบ.ม ที่อุณหภูมิเนื้อผลไม้ 16 องศาเซลเซียส หรือมากกว่า อัตรา 40 กรัม/ลบ.ม ที่อุณหภูมิเนื้อผลไม้ 10 องศาเซลเซียส หรือมากกว่า มีใบอนุญาตนำเข้า มีใบรับรองสุขอนามัยพืช ระบุหมายเลขตู้ขนส่ง เลขพินิก เลขทะเบียนสวนหรือหมายเลขแปลงปลูก (block number) เลขทะเบียนโรงคัดบรรจุ และระบุข้อความเพิ่มเติมว่า “the fruit in this consignment have been produced in <state> in accordance with the conditions governing the entry of fresh stone fruit from the USA to Australia” “the fruit in this consignment have been produced and packed in <county/area> that is free of apple maggot (*Rhagoletis pomonella*)” (DAFF, 2010)

อินเดีย

ผลพลัมต้องมีมาตรการสุขอนามัยพืชอย่างใดอย่างหนึ่ง ดังนี้ ต้องปลอดจาก *Cydia molesta* *Lymantria dispar* (gypsy moth) *Ceratitis capitata* *Cydia inopinata* (manchurian fruit moth) *Cydia packardii* (cherry fruitworm) *Cydia prunivora* (plum moth) *Rhagoletis* spp. (Mexican fruitflies) *Carposina niponensis* (peach fruit moth) *Bactrocera tryoni* (Queensland fruit fly) หรือ ต้องมาจากพื้นที่ปลอดแมลงวันผลไม้ *Ceratitis capitata* และ *Rhagoletis* spp หรือรมสารเมทิลโบรไมด์ อัตรา 32 กรัม/ลบ.ม ที่อุณหภูมิเนื้อผลไม้ 21 องศาเซลเซียส หรือมากกว่า เพื่อกำจัด *Ceratitis capitata* และ *Rhagoletis* spp หรือ หรือ

ความเย็นกำจัด *Ceratitis capitata* และ *Rhagoletis* spp ก่อนส่งออก ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่า นาน ติดต่อกัน 10 วัน หรือที่อุณหภูมิ 0.55 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่า นาน ติดต่อกัน 11 วัน หรือที่อุณหภูมิ 1.1 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่า นาน ติดต่อกัน 12 วัน และระหว่างการขนส่งผลไม้ ต้องเก็บในห้องเย็นอุณหภูมิต่ำ

จากการวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชพบว่ามาตรการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชของผลพลัม สดก่อนส่งออกมาประเทศไทย ดำเนินการดังนี้

แมลงวันผลไม้	ผลพลัมต้องมาจากเขตปลอดแมลงวันผลไม้ หากผลิตจากนอกเขตปลอดแมลงวันผลไม้ผลพลัมต้องผ่านการกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยความเย็น (ตารางที่ 3) หรืออาบรังสี (ตารางที่ 5)
plum culio	การอาบรังสี (ตารางที่ 4)
ผีเสื้อ	สำรวจ ตรวจสอบติดตามในสวนพลัม สุ่มตรวจผ่าผลไม้ในแปลงก่อนเก็บเกี่ยว สุ่มตรวจคัดแยกผลที่มีศัตรูพืชทำลายทิ้งที่โรงคัดบรรจุ ใช้มาตรการบูรณาการในแนวทางดำเนินการในรูประบบสำหรับการบริหารจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (System approach) มาตรการทำในแปลงปลูก ช่วงเก็บเกี่ยว โรงคัดบรรจุตลอดจนส่งออก หรือ อาบรังสี (ตารางที่ 4)
เพลี้ยแป้ง	สุ่มตรวจที่โรงคัดบรรจุ หากตรวจพบให้คัดออกหรือไปทำความสะอาดใหม่ หรือ กำจัดด้วยสารเมทิลโบรไมด์ (ตารางที่ 5)
แมลงหางหนีบ	กำจัดด้วยสารเคมีในแปลง การปฏิบัติที่โรงคัดบรรจุสุ่มตรวจหาแมลงที่หลบซ่อนกับผลไม้และภาชนะบรรจุ หรือรมด้วยสารเมทิลโบรไมด์ (ตารางที่ 5)
เพลี้ยไฟ	มีระบบการบริหารจัดการศัตรูพืช สุ่มตรวจใต้แว่นขยาย (hand lens) หรือ รมสารเคมี เช่นเมทิลโบรไมด์ก่อนส่งออก (ตารางที่ 5)
ด้วงฟูเรอโรส	สวนพลัมมีระบบบริหารจัดการศัตรูพืชในแปลง รมสารเคมี เช่น เมทิลโบรไมด์ก่อนส่งออก (ตารางที่ 6)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ศัตรูพืชกักกันของพลัมจากสหรัฐอเมริกา 44 ชนิด ในจำนวนนี้มีศัตรูพืชกักกันต้องมีการจัดการความเสี่ยงได้แก่ *Anastrepha ludens* (Mexican fruit fly) *Anastrepha suspensa* (Caribbean fruit fly) *Ceratitis capitata* (Mediterranean fruit fly) *Epiphyas postvittana* (light brown apple moth) และ *Pantomorus cervinus* (fuller's rose beetle) การสู่มตัวอย่างผลพลัมจากจุดกระจายสินค้าตรวจพบเชื้อราไม่ทราบชนิดบนผลเน่าสันนิษฐานว่าเป็นโรคหลังการเก็บเกี่ยว

มาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับผลพลัมสดนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา (1) สวนพลัมส่งออกต้องขึ้นทะเบียนและได้รับการรับรองจากหน่วยงานของรัฐ มีแผนการบริหารจัดการศัตรูพืชตลอดปี โดยเฉพาะแมลงวันผลไม้ ดั้วงพลูเรอโรสศัตรูพืชกักกัน (2) โรงคัดบรรจุผลไม้ต้องได้รับการขึ้นทะเบียนโดยหน่วยงานรัฐ (3) มีระบบบริหารจัดการกับผลไม้ในโรงคัดบรรจุผลไม้ เช่น การทำความสะอาดและแช่สารกำจัดโรคพืช การคัดทิ้งผลไม้ที่มีแมลง/โรคเข้าทำลาย (4) สู่มตัวอย่างผลสัมนำเข้าเพื่อตรวจหาศัตรูพืชที่ติดมากับผลไม้ก่อนส่งออกและเมื่อถึงด่านตรวจพืชที่ประเทศไทย (5) ผลพลัมต้องผ่านการกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยความเย็น หรือมาจากเขตปลอดแมลงวันผลไม้ที่มีการควบคุมดูแลและรับรองสภาพโดยหน่วยงานของรัฐ (6) ผลพลัมส่งออกที่มาจากพื้นที่ที่มีดั้วงพลูเรอโรสต้องรมด้วยสารเมทิลโบรไมด์ตามอัตราที่กำหนด (7) ผลพลัมส่งออกต้องมีใบรับรองสุขอนามัยพืช มีใบอนุญาตนำเข้า ต้องผลิตในพื้นที่ปลอดแมลงวันผลไม้ ระบุวิธีกำจัดศัตรูพืชกักกัน

เอกสารอ้างอิง

กรมศุลกากร 2554. สถิติการนำเข้า-ส่งออก <http://www.customs.go.th/>

พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 (คัดจากราชกิจจานุเบกษา เล่ม 125 ตอนที่ 40 ก วันที่ 1 มีนาคม 2551).

ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช ศัตรูพืช หรือพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไข ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. ๒๕๐๗ (ฉบับที่ ๕) พ.ศ. ๒๕๓๙ (คัดจากราชกิจจานุเบกษา เล่ม 125 ตอนพิเศษ 167 ง วันที่ 20 ตุลาคม 2551).

AMRC,2013. Plum profile. Agricultural Marketing Resource Center

http://www.agmrc.org/commodities__products/fruits/plum-profile/#

CABI (CAB International). 2012. Crop protection Compendium 2012, Willingford, UK;

CAB International

Crisosto and Kader, 2004. Plum and Fresh Prune. Pomology Department, University of

California, Davis, California USA <http://www.ba.ars.usda.gov/hb66/112plum.pdf>

CDFA, 2008. Mediterranean fruit fly. California Department of Food and Agriculture.

APHIS/USDA.

- DAFF, 2010. Provisional final import risk analysis report for fresh stone fruit from California, Idaho, Oregon and Washington. Biosecurity Australia, Department of Forestry and Fisheries, Australia 308 pp.
http://www.daff.gov.au/__data/assets/pdf_file/0003/1554771/Provisional_Final_IRA_Report_-_US_Stone_fruit.pdf
- EOL, 2013. Encyclopedia of life. <http://eol.org/>
- EPPO, 2013. PQR - EPPO database on quarantine pests <http://www.eppo.int>
- FAO, 2004. Pest risk analysis for quarantine pests, including analysis of environmental risks and living modified organisms, 2004. Revision of ISPM No. 11, FAO, Rome.
- FAO, 2007. Guidelines for pest risk analysis. Revision of ISPM No. 2: FAO, Rome.
- Gyeltshen, J and Hodges, A. 2009. Fuller rose beetle. University of Florida.
http://entnemdept.ufl.edu/creatures/orn/beetles/fuller_rose_beetle.htm
- IPPC, 2009. Training material on pest risk analysis based on IPPC standards. International Plant Protection Convention (IPPC) Secretariat. <https://www.ippc.int/>
- Logan DP, Maher BJ, Dobson SS, Connolly PG. 2008. Larval survival of Fuller's rose weevil, *Naupactus cervinus*, on common groundcover species in orchards of New Zealand kiwifruit. *Journal of Insect Science* 8:55, available online: insectscience.org/8.55
- Looney, N.; Jackson, D. 2011. *Stone Fruits In: Temperate and Subtropical Fruit Production 3rd Edition.* (eds. David Jackson et.al) 161-180 pp. , CABI (CAB International) Willingford, UK
- Morse, J and Beth Grafton-Cardwell. 2011. Biology and Management Strategies with Fuller Rose Beetle Pest & Disease Management / Export Meeting, Department of Entomology, UC Riverside <http://www.calcitrusquality.org/wp-content/uploads/2009/05/Morse-FRB-9-29-11-pm.pdf>
- PPS-Netherland, 2011. Pest Risk Analysis for Plum Pox Virus (PPV), Plant Protection Service, Ministry of Economic Affairs, Agriculture and Innovation, the Netherlands 54pp.
- Rees, D.; Farrell, G. and Orchard, J., 2006. *Stone fruit In: Crop post-harvest : science and technology.* Perishables Vol. 3, Oxford : Blackwell Science
- UC (University of California), 2013, Pests in Gardens and Landscapes: Fuller rose beetle—*Asynonychus godmani* University of California Statewide IPM Program, Agriculture and Natural Resources
<http://www.ipm.ucdavis.edu/PMG/GARDEN/PLANTS/INVERT/fullerrosebeetle.html>

USDA, 2012. Treatment manual. Plant Protection and Quarantine, Animal and Plant Health Inspection Service, United States Department of Agriculture. Online http://www.cdpr.ca.gov/docs/license/pubs/excerpts_usda_treatment_manual.pdf

USDA, 2013. Noncitrus Fruits and Nuts 2012 Preliminary Summary (January 2013). United States Department of Agriculture (USDA), National Agricultural Statistics Service.

<http://usda01.library.cornell.edu/usda/current/NoncFruNu/NoncFruNu-01-25-2013.pdf>

USDA, 2013. USDA Economics, Statistics and Market Information System (ESMIS)

<http://usda.mannlib.cornell.edu/MannUsda/homepage.do>

Table 1 Plum fruit ripening period at Fresno California

Variety	Ripening plum fruit in Fresno, California (month and week)																			
	May				June				July				August				September			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Red Beaut				█																
Spring Beaut				█																
Black Beaut					█															
Santa Rosa						█														
Queen Rosa							█													
July Santa Rosa								█												
Black amber									█											
El Dorado										█										
Wickson											█									
Ladoda												█								
Nubiana													█							
Late Santa Rosa														█						
Queen Ann															█					
Kelsey																█				
Friar																	█			
Grand Rosa																		█		
Casselman																			█	
Angeleno																				█
Roysum																				█

Table 2 Harvesting and production of plum fruit in California Idaho Washington States

States	Jan.	Feb.	Mar	Apr	May	Jun.	July	Aug	Sept	Oct	Nov	Dec
California					low	high	peak	peak	low	low		
Idaho								low	high			
Washington								low	low			



Table 3 cold treatment schedule

Pest name	Temperature (° C)	Duration Elapse time (days)
<i>Anastrepha ludens</i>	0.56 or below	18
	1.11 or below	20
	1.67 or below	22
<i>Anastrepha</i> sp.	1.11 or below	15
	1.67 or below	17
<i>Ceratitis capitata</i>	1.11 or below	14
	1.67 or below	16
	2.22 or below	18

Table 4 Irradiation dose not exceed 1000 Gy

Pest name	Absorbed dose (Gy)
<i>Conotrachelus nenuphar</i>	92
<i>Anastrepha ludens, Anastrepha suspensa</i>	70
<i>Ceratitis capitata</i>	100
<i>Cydia pomonella, Grapholita molesta</i>	200
<i>Rhagoletis pomonella</i>	60
Fruit fly in Family Tephritidae	150
Other pest except pupa and adult of Lepidoptera	400

Table 5 Methyl bromide fumigation for control external feeder

Temperature (° C)	Dose (g/cu.m ³)	Duration (hrs)
> 27	24	2
21-26	32	2
16-21	40	2
10-15	48	2
4-9	64	2

Table 6 Methyl bromide fumigation for control fuller's rose weevil

Temperature (° C)	Dose (g/cu.m ³)	Duration (hrs)
> 21	32	2
16-21	40	2
11-15	48	2
10	56	2

Note: Fruit load for plums should not exceed 80 percent the volume of the chamber.
Treatment not start when fruit temperature below 10 ° C

ศึกษาการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าผลพีชสดจากสหรัฐอเมริกา
Study on Phytosanitary Measure on Fresh Peach Fruit Imported
from the United States of America

วัลัยกร รัตนเดชากุล^{1/} มานิตา คงชื่นสิน^{2/} พรพิมล อธิปัญญาคม^{3/}
วรรษญา มาลี^{1/} อลงกต โพธิ์ดี^{1/}

^{1/} กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/} ผู้เชี่ยวชาญ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{3/} กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ผลการศึกษาค้นคว้าของพืชในสหรัฐอเมริกาพบว่ามีรายงานศัตรูพืช 145 ชนิด จัดกลุ่มเป็น แมลง 76 ชนิด อยู่ในอันดับ Coleoptera 13 ชนิด Diptera 8 ชนิด Hemiptera 29 ชนิด Lepidoptera 24 ชนิด และ Thysanoptera 2 ชนิด รา 36 ชนิด แบคทีเรีย 12 ชนิด ไวรัส 18 ชนิด มายโคพลาสมา 3 ชนิดศัตรูพืชของพืชที่มีโอกาสติดเข้ามากับผลพีชสดนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา 13 ชนิด ได้แก่ แมลงวันผลไม้ *Anastrepha fraterculus* *Anastrepha ludens* *Anastrepha serpentine* *Anastrepha striata* *Anastrepha suspensa* *Cerratitis capitata* ฝีเสื้อ *Cydia pomonella* *Epiphyas postvittana* *Grapholita molesta* เพลี้ยแป้ง *Pseudococcus longispinus* *Pseudococcus syringas* ไร *Panonychus citri* และรา *Monilinia fructicola*

รหัสการทดลอง 03-04-55-01-01-02-01-55

คำนำ

ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และ พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 ที่มีผลใช้บังคับตั้งแต่ 28 สิงหาคม 2551 โดยแบ่งประเภทของพืชออกเป็น 3 ชนิดคือ สิ่งต้องห้าม สิ่งกักตุน และสิ่งไม่ต้องห้าม โดยสิ่งต้องห้ามสามารถนำเข้ามาในราชอาณาจักรได้ตามวัตถุประสงค์ 3 ประการ คือ (1) เพื่อการวิจัย (2) เพื่อการค้า และ (3) เพื่อกิจการอื่น การนำเข้าหรือนำผ่านสิ่งต้องห้ามต้องผ่านการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชก่อน โดยปฏิบัติตามหลักเกณฑ์ วิธีการและเงื่อนไขที่อธิบดีกำหนด กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ได้ออกประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ “เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550” ในท้ายประกาศดังกล่าวได้กำหนดชนิดพืชและพาหะจากทุกแหล่งเป็นสิ่งต้องห้าม ในประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ฉบับดังกล่าวมีบทเฉพาะกาล เพื่อไม่ให้เกิดกระทบต่อการเกษตร ธุรกิจ และอุตสาหกรรม จึงกำหนดให้สิ่งต้องห้ามตามท้ายประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ที่เคยมีการนำเข้ามาในประเทศไทยในลักษณะเพื่อการค้าก่อนที่ประกาศมีผลใช้บังคับนั้นสามารถนำเข้ามาในราชอาณาจักรได้ โดยปฏิบัติตามสถานภาพเดิมก่อนประกาศมีผลใช้บังคับ สหรัฐอเมริกายื่นหนังสือขอผ่อนผันตามบทเฉพาะกาลขออนุญาตนำเข้าผลพืชสดจาก 4 รัฐ ได้แก่ แคลิฟอร์เนีย ไอดาโฮ ออริกอน และวอชิงตัน (USDA, 2007, USDA, 2008) และได้รับอนุญาตให้นำเข้าในสถานภาพสิ่งต้องห้ามที่ได้รับการผ่อนผันตามบทเฉพาะกาล การนำเข้าปฏิบัติตามสถานภาพเดิม การนำเข้ากำหนดให้ต้องมีใบอนุญาตนำเข้า (import permit) ใบรับรองสุขอนามัยพืช (Phytosanitary measure) มาพร้อมกับสินค้า จากข้อมูลวิชาการมีรายงานว่าผลสดของพืชเป็นพืชอาศัยของศัตรูพืชกักกันร้ายแรงหลายชนิดมีความเสี่ยงที่อาจจะมีศัตรูพืชกักกันติดเข้ามาในประเทศไทย จึงดำเนินการศึกษาเพื่อให้ทราบชนิดศัตรูพืชกักกันนำไปกำหนดเงื่อนไขการนำเข้าและมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับศัตรูพืชของผลพืชจากสหรัฐอเมริกา

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. มาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 2 เรื่อง กรอบการดำเนินงานสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (ISPM No.2: Framework for Pest Risk Analysis) (FAO,2007)
2. มาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 11 เรื่องการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยงด้านสภาพแวดล้อม และสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม (ISPM No.11 Pest Risk Analysis for Quarantine Pests Including Analysis of Environmental Risks and Modified Organisms) (FAO, 2004)

3. คู่มือการฝึกอบรมการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis Training) (IPPC, 2009)

4. ตำรา ฐานข้อมูลศัตรูพืช ผลงานวิจัย เอกสารวิชาการ เอกสารวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของต่างประเทศ

วิธีการ

1. สืบค้นและรวบรวมข้อมูลมาตรการสุขอนามัยพืชของผลพืชสดนำเข้าจากประเทศต่างๆ โดยสืบค้น

และรวบรวมข้อมูลจากหนังสือ ตำรา วารสาร เอกสารวิชาการ และเว็บไซต์ขององค์กรอารักขาพืชในแต่ละประเทศหรือแต่ละภูมิภาค

2. สืบค้นและรวบรวมข้อมูลสถิติการนำเข้า ส่งออก และแหล่งผลิตของผลพืชสดนำเข้า โดยสืบค้นและรวบรวมข้อมูลจากเอกสารวิชาการ ด้านตรวจพืชนำเข้า ศุลกากร กระทรวงพาณิชย์ สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร ข้อมูลจากองค์กรอารักขาพืชของประเทศผู้ส่งออก หรือจากเว็บไซต์ที่เกี่ยวข้อง

3. สืบค้นและรวบรวมข้อมูลศัตรูพืช เช่น ชนิด สายพันธุ์ ข้อมูลทางชีววิทยา สันฐานวิทยา แหล่งที่พบ จากหนังสือ ตำรา วารสาร เอกสารวิชาการ เว็บไซต์ที่เกี่ยวข้อง และข้อมูลที่องค์การอารักขาพืชแห่งชาติของสหรัฐอเมริกาส่งมาให้

4. รวบรวมข้อมูลพืช (crop information) ได้แก่ ชนิด สายพันธุ์ ปริมาณ/จำนวน ช่วงหรือระยะเวลาในการผลิต เก็บเกี่ยวและนำเข้า เส้นทางและวิธีการขนส่ง เช่น ลักษณะเป็นสินค้าขนส่งทางน้ำหรือทางอากาศ ด้านตรวจพืชที่นำเข้า แหล่งปลูก โรงบรรจุสินค้าหรือสถานที่จัดการสินค้าส่งออก ลักษณะบรรจุภัณฑ์และฉลาก รวมทั้งเอกสารทั้งหมดที่แนบมาพร้อมกับสินค้า

5. วิเคราะห์ศัตรูพืชแต่ละชนิดว่ามีโอกาสที่ศัตรูพืชจะเข้ามา ตั้งรกรากอย่างถาวร การแพร่กระจาย และผลกระทบทางเศรษฐกิจทั้งทางตรงและทางอ้อมหากศัตรูพืชเข้ามาได้ โดยมีการจำแนกศัตรูพืชที่ชัดเจน สถานภาพการแพร่กระจายของศัตรูพืชในปัจจุบันของประเทศไทยและประเทศผู้ส่งออก โดยพิจารณาจากศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานพบในประเทศไทยและสามารถติดตามกับผลพืชสดที่นำเข้า

6. วิเคราะห์มาตรการสุขอนามัยพืชที่เหมาะสมเพื่อจัดการกับศัตรูพืชแต่ละชนิด โดยคัดเลือกมาตรการที่เหมาะสมที่อาศัยพื้นฐานจากประสิทธิภาพของมาตรการนั้นเพื่อลดโอกาสการเข้ามาตั้งรกราก แพร่ขยายพันธุ์ของศัตรูพืชให้หมดไปหรือลดลงมาอยู่ในระดับที่ประเทศไทยยอมรับได้ และมีความเป็นไปได้ในทางปฏิบัติโดยไม่เป็นอุปสรรคขัดขวางการค้าในแง่จำกัดการนำเข้าจากการใช้มาตรการสุขอนามัยพืชนำมาใช้ในปัจจุบัน

เวลาและสถานที่ เริ่มต้น ตุลาคม 2554 สิ้นสุด กันยายน 2556

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

พีช (peach) เป็นไม้ผลยืนต้นเขตหนาวชนิดผลัดใบ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Prunus persica* (L.) Batsch พีชในสกุลนี้เป็นไม้ผลเขตหนาวที่สำคัญประกอบด้วย อัลมอนต์ พลัม พลัมยุโรป หรือพ룬 แอปริคอต บ๊วย และเชอร์รี่หวาน ไม้ผลสกุลนี้อยู่ในวงศ์กุหลาบ (Rosaceae) ประเทศไทยปลูกพีชในพื้นที่ตอนเหนือ โครงการหลวง การเก็บเกี่ยวขึ้นอยู่กับพันธุ์ สังเกตจากสีพื้นเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลืองและมีสีแดงเกิดขึ้นทับ ร้อยละ 40-50 ของผล การจัดการศัตรูพีชควรทำตั้งแต่ช่วงการพักตัวของพีช ใช้ปิโตเลียมอยด์ผสมสารกำจัดแมลงเพื่อป้องกันเพลี้ยหอยและกำจัดสปอร์ของเชื้อราต่างๆ แมลงศัตรูสำคัญอีกชนิดหนึ่งคือ แมลงวันทอง วิธีการคือการห่อผลด้วยถุงกระดาษ กัดกัฟิโรโมนและเหยื่อพิษโปรตีน” ฮีโดรไลเซทผสมสารกำจัดแมลง โรคที่พบในพีชของไทยคือยางไหลควบคุมโรคโดยใช้สารประกอบทองแดง โรคราสนิมเมื่อระบาดรุนแรงทำให้ใบร่วงเร็วและผลเป็นแผล การดูแลรักษาที่ดี (อุณารุจ, 2555)

ผลการศึกษาศัตรูพีชของพีชในสหรัฐอเมริกาพบว่ามีรายงานศัตรูพีช 145 ชนิด แบ่งเป็นแมลง 76 ชนิด อยู่ในอันดับ Coleoptera 13 ชนิด Diptera 8 ชนิด Hemiptera 29 ชนิด Lepidoptera 24 ชนิด และ Thysanoptera 2 ชนิด รา 36 ชนิด แบคทีเรีย 12 ชนิด ไวรัส 18 ชนิด มายโคพลาสมา 3 ชนิด ศัตรูพีชของพีชที่มีโอกาสติดเข้ามากับผลพีชสดนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา 13 ชนิด และมีศักยภาพเป็นศัตรูพีชกักกัน ได้แก่ แมลงวันผลไม้ 6 ชนิด *Anastrepha fraterculus* *Anastrepha ludens* *Anastrepha serpentine* *Anastrepha striata* *Anastrepha suspena* *Cerratitis capitata* ฝี่เสื้อ 3 ชนิด *Cydia pomonella* *Epiphyas postvittana* *Grapholita molesta* เพลี้ยแป้ง 2 ชนิด *Pseudococcus longispinus* *Pseudococcus syringas* ไร *Panonychus citri* และรา *Monilinia fructicola*

มาตรการสุขอนามัยพีชในการนำเข้าผลพีชสดของต่างประเทศ

นิวซีแลนด์ มีข้อกำหนด ต้องมีการจัดการศัตรูพีชในแปลงปลูก *Conotrachelus nenuphar*, *Maconellicoccus hirsutus*, peach latent mosaic viroid ต้องกำจัด *Drosophila suzukii* ในผลพีช ก่อนส่งออก

แคนาดา มีข้อกำหนด ผลพีชต้องปราศจาก *Cydia molesta* มีระบบการจัดการ system approach หรือผ่านการกำจัดศัตรูพีช

ไต้หวัน มีข้อกำหนด ผลพีชต้องปราศจาก *Anarsia ineatella* , *Conotrachelus nenuphar*, *Cydia pomonella*, *Erwinia amylovora*, *Rhagoletis pomonella*, *Tetranychus pacificus*, *Ceratitis capitata*

สหภาพยุโรป มีข้อกำหนดการนำเข้าพีชจากบราซิล ผลพีชต้องสุ่มตรวจโดย Department of Plant Health and Inspection Service (DDIV) มีใบรับรองสุขอนามัยพีช และข้อความพิเศษเกี่ยวกับการเพาะปลูก การกำจัด บราซิลต้องแจ้ง DDIV ล่วงหน้าเมื่อขนส่งสินค้าไปสหภาพยุโรป

ไต้หวัน มีใบรับรองสุขอนามัยพืช ผลพืชต้องปลอดจาก *Anarsia lineatella* (peach twig borer) *Conotrachelus nenuphar* (plum curculio) *Cydia pomonella* (codling moth) *Erwinia amylovora* (fire blight) *Rhagoletis pomonella* (apple maggot) *Tetranychus pacificus* (Pacific spider mite) *Ceratitis capitata* (Mediterranean fruit fly) หรือต้องทำการกำจัดศัตรูพืชและระบุใบรับรองสุขอนามัยพืช (Crisosto and Kader, 2004)

แคนาดา มลรัฐบริติชโคลอมเบีย (British Columbia) มีใบรับรองสุขอนามัยพืช และระบุว่าปลอดจาก *Cydia molesta* (Oriental fruit moth) และระบุข้อความเพิ่มเติมว่า “the fruit in the shipment were produced and inspected in accordance with the “systems approach guidelines” agreed to by APHIS and the CFIA” ผลพืชทุกจังหวัดของมลรัฐบริติชโคลอมเบีย (Crisosto and Kader, 2004)

เม็กซิโก มีระบบจัดการศัตรูพืชกักกันแบบ systems approach และรับรองว่าปลอดจาก *Cydia molesta* *Conotrachelus nenuphar* (plum curculio), *Rhagoletis pomonella* และแมลงวันผลไม้วงศ์ Tephritidae (Crisosto and Kader, 2004)

ออสเตรเลีย มีระบบจัดการศัตรูพืชกักกัน peach twig borer แบบ systems approach ผลพืช ส่งออกไปที่รัฐเวสเทิร์นออสเตรเลียต้องมาจากพื้นที่ปลอดแมลงวันผลไม้ หรือมาจากพื้นที่ปลูกที่มีการปรากฏของ *Grapholita molesta* (Oriental fruit moth) ระดับต่ำ (low pest prevalence) ต้องผ่านตรวจผลไม้ในโรงคัดบรรจุเพื่อตรวจหา *Grapholita packardii* Zeller (cherry fruitworm) *Grapholita prunivora* (lesser apple fruitworm) ผลไม้พื้นที่ต้องมาจากพื้นที่ปลอด *Rhagoletis pomonella* (Walsh) (apple maggot) รมด้วยสารเมทิลโบรไมด์ในสภาพบรรยากาศปกติเพื่อจัดการความเสี่ยง *Grapholita molesta* อัตรา 32 กรัม/ลบ.ม ที่อุณหภูมิเนื้อผลไม้ 21 องศาเซลเซียส หรือมากกว่า หรือรมที่อัตรา 40 กรัม/ลบ.ม ที่อุณหภูมิเนื้อผลไม้ 16 องศาเซลเซียส หรือมากกว่า อัตรา 40 กรัม/ลบ.ม ที่อุณหภูมิเนื้อผลไม้ 10 องศาเซลเซียส หรือมากกว่า มีใบอนุญาตนำเข้า มีใบรับรองสุขอนามัยพืช ระบุหมายเลขขนส่ง เลขพินิก เลขทะเบียนสวนหรือหมายเลขแปลงปลูก (block number) เลขทะเบียนโรงคัดบรรจุ และระบุข้อความเพิ่มเติมว่า “the fruit in this consignment have been produced in <state> in accordance with the conditions governing the entry of fresh stone fruit from the USA to Australia” “the fruit in this consignment have been produced and packed in <county/area> that is free of apple maggot (*Rhagoletis pomonella*)” (DAFF, 2010)

อินเดีย ผลพืชต้องมีมาตรการสุขอนามัยพืชอย่างใดอย่างหนึ่ง ดังนี้ ต้องปลอดจาก *Cydia molesta* *Lymantria dispar* (gypsy moth) *Ceratitis capitata* *Cydia inopinata* (manchurian fruit moth) *Cydia packardii* (cherry fruitworm) *Cydia prunivora* (plum moth) *Rhagoletis* spp. (Mexican fruitflies) *Carposina niponensis* (peach fruit moth) *Bactrocera tryoni* (Queensland fruit fly) หรือ ต้องมาจากพื้นที่ปลอดแมลงวันผลไม้ *Ceratitis*

capitata และ *Rhagoletis* spp หรือรวมสารเมทิลโบรไมด์ อัตรา 32 กรัม/ลบ.ม ที่อุณหภูมิเนื้อผลไม้ 21 องศาเซลเซียส หรือมากกว่า เพื่อกำจัด *Ceratitis capitata* และ *Rhagoletis* spp หรือ หรือ ความเย็นกำจัด *Ceratitis capitata* และ *Rhagoletis* spp ก่อนส่งออก ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่า นาน ติดต่อกัน 10 วัน หรือที่อุณหภูมิ 0.55 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่า นาน ติดต่อกัน 11 วัน หรือที่อุณหภูมิ 1.1 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่า นาน ติดต่อกัน 12 วัน และระหว่างการขนส่งผลไม้ ต้องเก็บในห้องเย็นอุณหภูมิต่ำ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ศัตรูพืชของพืชในสหรัฐอเมริกาที่มีโอกาสติดเข้ามา กับผลพืชสดและมีศักยภาพเป็น ศัตรูพืชกักกัน ได้แก่ แมลงวันผลไม้ 6 ชนิด *Anastrepha fraterculus* *Anastrepha ludens* *Anastrepha serpentine* *Anastrepha striata* *Anastrepha suspensa* *Ceratitis capitata* ผีเสื้อ 3 ชนิด *Cydia pomonella* *Epiphyas postvittana* *Grapholita molesta* เพลี้ยแป้ง 2 ชนิด *Pseudococcus longispinus* *Pseudococcus syringas* ไร *Panonychus citri* และรา *Monilinia fructicola* ศัตรูพืชนี้จะทำการศึกษาต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 (คัดจากราชกิจจานุเบกษา เล่ม 125 ตอนที่ 40 ก วันที่ 1 มีนาคม 2551).
- ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช ศัตรูพืช หรือพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่ง ต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไข ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. ๒๕๐๗ (ฉบับที่ ๕) พ.ศ. ๒๕๓๙ (คัดจากราชกิจจานุเบกษา เล่ม 125 ตอนพิเศษ 167 ง วันที่ 20 ตุลาคม 2551).
- อุณารุจ ปุญฺญประกอบ, 2555. พืชของมูลนิธิโครงการหลวง.วารสารโครงการหลวง. 16 (1) :42-46
- CABI (CAB International). 2012. Crop protection Compendium 2012, Willingford, UK; CAB International
- Crisosto and Kader, 2004. Plum and Fresh Prune. Pomology Department, University of California, Davis, California USA. <http://www.ba.ars.usda.gov/hb66/112plum.pdf>
- CDFA, 2008. Mediterranean fruit fly. California Department of Food and Agriculture. APHIS/USDA.
- DAFF, 2010. Provisional final import risk analysis report for fresh stone fruit from California, Idaho, Oregon and Washington. Biosecurity Australia, Department of Forestry and Fisheries, Australia 308 pp. http://www.daff.gov.au/__data/assets/pdf_file/0003/1554771/Provisional_Final_RA_Report_-_US_Stone_fruit.pdf
- EPPO, 2013. PQR - EPPO database on quarantine pests <http://www.eppo.int>

- FAO, 2004. Pest risk analysis for quarantine pests, including analysis of environmental risks and living modified organisms, 2004. Revision of ISPM No. 11, FAO, Rome.
- FAO, 2007. Guidelines for pest risk analysis. Revision of ISPM No. 2: FAO, Rome.
- Gyeltshen, J and Hodges, A. 2009. Fuller rose beetle. University of Florida.
http://entnemdept.ufl.edu/creatures/orn/beetles/fuller_rose_beetle.htm
- IPPC, 2009. Training material on pest risk analysis based on IPPC standards. International Plant Protection Convention (IPPC) Secretariat. <https://www.ippc.int/>
- Logan DP, Maher BJ, Dobson SS, Connolly PG. 2008. Larval survival of Fuller's rose weevil, *Naupactus cervinus*, on common groundcover species in orchards of New Zealand kiwifruit. *Journal of Insect Science* 8:55, available online: insectscience.org/8.55
- Looney, N.; Jackson, D. 2011. Stone Fruits *In: Temperate and Subtropical Fruit Production 3rd Edition*. (eds. David Jackson et.al) 161-180 pp. , CABI (CAB International) Willingford, UK
- Morse, J and Beth Grafton-Cardwell. 2011. Biology and Management Strategies with Fuller Rose Beetle Pest & Disease Management / Export Meeting, Department of Entomology, UC Riverside <http://www.calcitrusquality.org/wp-content/uploads/2009/05/Morse-FRB-9-29-11-pm.pdf>
- Rees, D.; Farrell, G. and Orchard, J., 2006. Stone fruit *In: Crop post-harvest : science and technology*. Perishables Vol. 3, Oxford : Blackwell Science
- UC (University of California), 2013, Pests in Gardens and Landscapes: Fuller rose beetle—*Asynonychus godmani*. University of California Statewide IPM Program, Agriculture and Natural Resources
<http://www.ipm.ucdavis.edu/PMG/GARDEN/PLANTS/INVERT/fullerrosebeetle.html>
- USDA, 2012. Treatment manual. Plant Protection and Quarantine, Animal and Plant Health Inspection Service, United States Department of Agriculture. Online http://www.cdpr.ca.gov/docs/license/pubs/excerpts_usda_treatment_manual.pdf
- USDA, 2013. Noncitrus Fruits and Nuts 2012 Preliminary Summary (January 2013). United States Department of Agriculture (USDA), National Agricultural Statistics Service.
<http://usda01.library.cornell.edu/usda/current/NoncFruNu/NoncFruNu-01-25-2013.pdf>.

ศึกษาประสิทธิภาพมาตรการสุขอนามัยพืชกับผลส้มสดนำเข้าจากเครือรัฐออสเตรเลีย
Study on Efficacy of Phytosanitary Measure on Fresh Citrus Fruit
Imported from Australia

วัลัยกร รัตนเดชากุล^{1/} มานิตา คงชื่นสิน^{2/} ปรียพรรณ พงศาพิชณ์^{1/} ชมัยพร บัวมาศ^{3/}

^{1/}กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/}ผู้เชี่ยวชาญ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{3/}กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาประสิทธิภาพมาตรการสุขอนามัยพืชกับผลส้มสดนำเข้าจากเครือรัฐออสเตรเลียมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาและประเมินการบังคับใช้มาตรการสุขอนามัยของประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าผลส้มจากเครือรัฐออสเตรเลีย พ.ศ. 2554 ว่าหลังจากประกาศการอนุญาตนำเข้าแล้วผู้มีส่วนเกี่ยวข้องดำเนินการเป็นไปตามเงื่อนไขและข้อกำหนดการปฏิบัติเพื่อส่งออกผลการสุ่มผลส้มนำเข้าเพื่อตรวจสอบศัตรูพืช ณ จุดนำเข้าที่ด่านตรวจพืชในฤดูกาลนำเข้าของปี 2555 พบไข่และหนอนมีชีวิตของ *Pantomorus cervinus* (Boheman) (Fuller's rose weevil) เพลี้ยแป้ง เพลี้ยไฟ ซากดักแด้ผีเสื้อ ซากด้วง คราบแมลง ซากแมงมุม และตัวอย่างมีชีวิตนำไปศึกษาสัณฐานวิทยาและจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการต่อไป

คำนำ

การกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าสิ่งต้องห้าม ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 แลพระราชบัญญัติ (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 เพื่อให้ประเทศผู้ส่งออกต้องปฏิบัติตามนั้น พบว่ายังไม่เคยมีการศึกษาผลของการดำเนินการหลังจากกำหนดใช้มาตรการสุขอนามัยแล้วว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมมิให้มีศัตรูพืชติดมากับสินค้าได้อย่างมีประสิทธิภาพหรือไม่ เนื่องจากมาตรการที่กำหนดในสินค้าแต่ละชนิดจะแตกต่างกันไปขึ้นกับชนิดศัตรูพืช และการจัดการควบคุมของแต่ละประเทศ เช่นการตรวจสอบแหล่งผลิต การจัดการก่อนส่งออก การตรวจสอบทางสุขอนามัยพืชด้วยวิธีที่เหมาะสมกับศัตรูพืชกักกันตามที่กำหนดไว้ การศึกษาเพื่อเป็นการยืนยันถึงประสิทธิภาพของมาตรการสุขอนามัยที่กำหนดหลังจากมีการนำเข้าสิ่งต้องห้ามมาในราชอาณาจักร หากมีการตรวจพบศัตรูพืชตามที่กำหนดในมาตรการสุขอนามัยก็แสดงว่ามาตรการที่กำหนดไม่มีประสิทธิภาพพอ หรือผู้ส่งออกไม่ได้ปฏิบัติตามข้อกำหนดอย่างเข้มงวด

รหัสการทดลอง 03-04-55-01-02-01-02-55

การศึกษานี้ทำให้ทราบถึงประสิทธิภาพมาตรการสุขอนามัยพืชที่บังคับใช้และจะเป็นแนวทางในการกำหนดมาตรการทางสุขอนามัยกับสินค้าเกษตรอื่นๆ หรือนำไปสู่การแก้ไขปรับปรุงกฎระเบียบต่างๆ ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าผลส้มจากเครือรัฐออสเตรเลีย พ.ศ. 2554
2. พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และ พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551
3. มาตรฐานระหว่างประเทศวาดวยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 23 เรื่อง แนวทางปฏิบัติสำหรับการตรวจสอบ (ISPM No. 23 Guidelines for Inspection) (FAO, 2005)
4. ตำรา ฐานข้อมูลศัตรูพืช ผลงานวิจัย เอกสารวิชาการ
5. กล้องจุลทรรศน์ อุปกรณ์เก็บตัวอย่างศัตรูพืช

วิธีการ

1. รวบรวมข้อมูลพืช ได้แก่ ชนิด สายพันธุ์ ปริมาณ/จำนวน ช่วงหรือระยะเวลาในการผลิต เก็บเกี่ยวและนำเข้า เส้นทางและวิธีการขนส่ง เช่น ลักษณะเป็นสินค้าขนส่งทางบก ทางน้ำ หรือทางอากาศ ด้านตรวจพืชที่นำเข้า โรงบรรจุสินค้าหรือสถานที่จัดการสินค้าส่งออก ลักษณะบรรจุภัณฑ์และฉลาก รวมทั้งเอกสารทั้งหมดที่แนบมาพร้อมกับสินค้า ศัตรูพืชกักกันที่เกี่ยวข้อง และมาตรการจัดการความเสี่ยงที่กำหนด

2. ตรวจสอบใบรับรองสุขอนามัยพืชและข้อมูลในเอกสารที่เกี่ยวข้อง ยืนยันการกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยความเย็นตามข้อกำหนดในประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าผลส้มจากเครือรัฐออสเตรเลีย พ.ศ. 2554

3. สุ่มตัวอย่างผลส้มสดจำนวน 600 ผลต่อหนึ่งล็อต ร่วมกับพนักงานเจ้าหน้าที่กักพืช ณ ด้านตรวจพืชที่นำเข้า และ/หรือสุ่มเก็บตัวอย่างพืช ณ ห้องปฏิบัติการภายหลังการนำเข้าเพื่อตรวจสอบศัตรูพืช

เดือนกรกฎาคม 2555 สุ่มตรวจสอบศัตรูพืช 2 ครั้ง ทั้งหมด 3 ซิบเมนต์ ผลส้มขนส่งทางเรือ ซิบเมนต์ที่หนึ่งนำเข้าที่ด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพขนส่งทางเรือ ปริมาณ 23,940 กิโลกรัม เป็นส้มพันธุ์นาวาล (Citrus sinensis) มาจากเขตปลอดแมลงวันผลไม้ รัฐวิกตอเรีย และส่งมาจากสวนที่หน่วยงาน DAFF ให้การรับรองว่ามีแผนการควบคุมตัว *Pantomorus cervinus* (Fuller's rose weevil) ซิบเมนต์ที่สองนำเข้าทางด่านตรวจพืชท่าเรือแหลมฉบังแต่ทำการตรวจปล่อยที่ด่านตรวจพืชลาดกระบังขนส่งทางเรือ ปริมาณนำเข้า 23,058 กิโลกรัมเป็นส้มพันธุ์นาวาล มาจากเขตปลอดแมลงวันผลไม้ พื้นที่ Sunraysia รัฐวิกตอเรีย และส่งมาจากสวนที่หน่วยงาน DAFF ให้การ

รับรองว่ามีแผนการควบคุมด้วง Fuller's rose weevil และชิบมันท์ที่สามนำเข้าทางด่านตรวจพืชท่าเรือแหลมฉบังแต่ทำการตรวจปล่อยที่ด่านตรวจพืชลาดกระบัง ขนส่งทางเรือ ปริมาณนำเข้า 25,200 กิโลกรัม เป็นสัมพันธู์นาเวล มาจากนอกเขตปลอดแมลงวันผลไม้ รัฐวิกตอเรีย ทำการกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยความเย็นอุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส (35.6 องศาฟาเรนไฮต์) หรือต่ำกว่า นานติดต่อกัน 18 วัน หรือมากกว่า และสัมมาจากสวนที่หน่วยงาน DAFF ให้การรับรองว่ามีแผนการควบคุมด้วง Fuller's rose weevil

เดือนสิงหาคม 2555 สุ่มตรวจสอบศัตรูพืช 1 ครั้ง จำนวนทั้งหมด 3 ชิบมันท์ ผลสัมขนส่งทางเรือ ปริมาณนำเข้า 22,680 กิโลกรัม 26,460 กิโลกรัม และ 25,200 กิโลกรัม ตามลำดับนำเข้าที่ด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพฯ เป็นสัมพันธู์นาเวลมาจากเขตปลอดแมลงวันผลไม้ พื้นที่ Riverland รัฐเซาธ์ออสเตรเลีย

4. ตรวจสอบศัตรูพืชจากตัวอย่างที่เก็บว่ามีศัตรูพืชหรือศัตรูพืชกักกันหรือสิ่งอื่นใดที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกันหรือพาหะ และนำศัตรูพืชหรือศัตรูพืชกักกันหรือสิ่งอื่นใดที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกันไปตรวจวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการ

5. รวบรวมข้อมูลศัตรูพืชหรือศัตรูพืชกักกันหรือสิ่งอื่นใดที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกันหรือพาหะ ที่ปนเปื้อนเข้ามากับพืชนำเข้า เช่น ชนิด สายพันธุ์ ลักษณะการปนเปื้อน รวมทั้งประเทศผู้ส่งออกได้ปฏิบัติตามมาตรการสุขอนามัยพืชที่กำหนดไปหรือไม่

เวลาและสถานที่ เริ่มต้น ตุลาคม 2554 สิ้นสุด กันยายน 2556

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช
ด่านตรวจพืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ออสเตรเลียผลิตสัมปริมาณ 600,000 ตันต่อปี แหล่งปลูกสัมที่สำคัญอยู่ในมลรัฐดังต่อไปนี้ เขตริเวอร์รินาในเซาธ์ออสเตรเลีย Murray Valley ในวิกตอเรีย เขต New South Riverina ของนิวเซาธ์เวลล์ และ Central Burnett ในควีนส์แลนด์ นอกจากนี้มีการปลูกที่มลรัฐเวสเทิร์นออสเตรเลีย แถบชายฝั่งของมลรัฐควีนส์แลนด์ และนอร์ทเทินเทอร์ริทอรี

พันธุ์สัมและช่วงเวลาการเก็บเกี่ยวในออสเตรเลีย

พันธุ์สัมที่สำคัญได้แก่ นาเวล วาเลนเซีย และแมนดารีนา มีสัดส่วนพื้นที่ปลูกตามพันธุ์สัมแบ่งได้ ดังนี้ Riverina 28%, Riverland 24%, Murray Valley 23%, ควีนส์แลนด์ 15% และที่อื่นๆ 10%

พันธุ์นาเวล (Navel) มีแหล่งปลูกที่ Murray Valley Riverina และ Riverland ช่วงการเก็บเกี่ยวเดือน มกราคม – ธันวาคม

วาเลนเซีย (Valencias) มีแหล่งปลูกที่ Riverina เก็บเกี่ยวเดือน พฤศจิกายน - กุมภาพันธ์

แมนดาริน (Mandarin) มีแหล่งปลูกที่ควีนส์แลนด์ เก็บเกี่ยวเดือน มีนาคม - พฤศจิกายน

ข้อกำหนดในการนำเข้าผลส้มจากออสเตรเลียของประเทศไทย

ข้อมูลการนำเข้าผลส้มจากประเทศออสเตรเลียมาประเทศไทยพบว่า มีช่วงระยะเวลานำเข้าระหว่างเดือนกรกฎาคมถึงประมาณเดือนตุลาคมของทุกปี การบังคับใช้เงื่อนไขการนำเข้าผลส้มจากออสเตรเลียมีการปรับปรุงแก้ไขหลายครั้ง ฉบับแรกเรียกว่า ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าผลส้มจากประเทศออสเตรเลียเข้ามาในราชอาณาจักร พ.ศ. 2547 ต่อมาในปี พ.ศ. 2548 ออกประกาศเพิ่มเติมเรียกว่า ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าผลส้มจากประเทศออสเตรเลียเข้ามาในราชอาณาจักร (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2548 กำหนดให้ผลส้มนำเข้าจากออสเตรเลียต้องผ่านการกำจัดศัตรูพืชด้วยความเย็น หากส้มมาจากเขตปลอดแมลงวันผลไม้ออสเตรเลียต้องมีแผนจัดการด้วงวงขั้วส้มโดยเจ้าหน้าที่ของกรมเกษตรประมงและป่าไม้ออสเตรเลีย (DAFF) ต้องมีการควบคุมในแหล่งปลูกและทำการตรวจสอบการปลูกพืช การสุ่มตรวจผลส้ม ณ โรงบรรจุสินค้า และก่อนออกใบรับรองสุขอนามัยพืช

ปี 2551 -2554 พนักงานเจ้าหน้าที่ของด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพและด่านตรวจพืชลาดกระบัง สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร ตรวจพบกลุ่มไข่และหนอนมีชีวิตของด้วงวงขั้วส้ม *Pantomorus cervinus* (Bohemian) ในผลส้มพันธุ์นาเวลนำเข้าจาก 3 รัฐ ได้แก่รัฐนิวเซาท์เวล รัฐเซาท์ออสเตรเลีย และรัฐวิกตอเรียอย่างต่อเนื่อง ทำให้กรมวิชาการเกษตรต้องทบทวนเงื่อนไขการนำเข้าผลส้มจากออสเตรเลียใหม่ และในปี พ.ศ. 2554 ได้ออกประกาศกรมวิชาการเกษตรเรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าผลส้มจากเครือรัฐออสเตรเลีย พ.ศ. 2554 กำหนดให้ผลส้มที่จะส่งออกจากแหล่งปลูกที่ได้รับอนุญาตยกเว้นผลส้มในรัฐควีนส์แลนด์ ต้องจัดการความเสี่ยงแมลง *Pantomorus cervinus* ด้วยวิธีการใดวิธีการหนึ่ง ได้แก่ ต้องรมด้วยสารเมทิลโบรไมด์ (methyl bromide) หรือ ต้องอยู่ภายใต้โครงการควบคุมแมลงภายในสวนส้มซึ่งติดตามตรวจสอบโดย DAFF ผลส้มส่งออกมาประเทศไทยต้องผลิตมาจากเขตปลอดแมลงวันผลไม้ หรือต้องกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยความเย็น อนุญาตนำเข้าผลส้ม 3 ชนิด ส้มหวาน ส้มเปลือกอ่อน และเลมอน ประกาศฉบับดังกล่าวมีผลบังคับใช้จนถึงปัจจุบัน

ผลการสุ่มตรวจผลส้มเดือนกรกฎาคม 2555 ตรวจพบศัตรูพืชกักกันมีชีวิต ไข่และหนอน *Pantomorus cervinus* บริเวณใต้ calyx ของผลส้ม ศัตรูพืชอื่นมีชีวิต ได้แก่ เพลี้ยหอย ตัวอ่อนมีชีวิตของเพลี้ยแป้ง เพลี้ยไฟ และดักแด้แมลง สิ่งมีชีวิตไม่มีชีวิต ได้แก่ เพลี้ยแป้ง ดักแด้ผีเสื้อ ชากด้วงไม้ทราบบชนิด และแมงมุม

ผลการสุ่มตัวอย่างผลส้มเดือนสิงหาคม 2555 ตรวจพบแมลงมีชีวิต ได้แก่ ไข่และหนอน *Pantomorus cervinus* บริเวณใต้ calyx ตัวอ่อนเพลี้ยแป้งมีชีวิต ตัวอย่างมีชีวิตนำไปศึกษาสัญญาณวิทยาและจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ และศึกษาข้อมูลการจำแนกชนิดแมลงในวงศ์ Curculionidae ศัตรูพืชกักกันของส้มจากออสเตรเลีย

การปฏิบัติด้านกักกันพืชกับผลส้มนำเข้า พนักงานเจ้าหน้าที่ที่ด่านตรวจพืชนำเข้าสั่งให้ส่งกลับสินค้าทั้งหมด และแจ้งเตือนห้ามมิให้ส้มจากสวนที่มีเลขทะเบียนตรงกับหมายเลขสวนที่ตรวจพบ *Pantomorus cervinus* ทำการส่งออกไปยังประเทศไทยในปี 2555

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การตรวจพบศัตรูพืชกักกัน ไซและหนอนมีชีวิตของ *Pantomorus cervinus* (Boheman) (Fuller's rose weevil) และแมลงไม้ทราบชนิดและมีชีวิต ได้แก่ เพลี้ยแป้ง เพลี้ยไฟ ซากดักแต่ผีเสื้อ ซากด้วง คราบแมลง ซากแมงมุม ติดเข้ามาพร้อมกับผลส้มสดนำเข้าจากออสเตรเลีย ในฤดูกาลนำเข้าของปี 2555 เป็นข้อมูลวิชาสำหรับประเมินประสิทธิภาพมาตรการสุขอนามัยพืช

เอกสารอ้างอิง

พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 (คัดจากราชกิจจานุเบกษา เล่ม 125 ตอนที่ 40 ก วันที่ 1 มี.ค.2551).
ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช ศัตรูพืช หรือพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่ง
ต้องห้าม

ข้อยกเว้น และเงื่อนไข ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2539
(คัดจากราชกิจจานุเบกษา เล่ม 125 ตอนพิเศษ 167 ง วันที่ 20 ตุลาคม 2551).

CABI (CAB International). 2012. Crop protection Compendium 2012, Wallingford, UK;
FAO, 2005. Guideline for Inspection. International Standards for Phytosanitary
Measures (ISPM)

No. 23, FAO, Rome.

USDA, 2012. Treatment manual. Plant Protection and Quarantine, Animal and Plant
Health Inspection Service, United States Department of Agriculture. Online
[http://www.cdpr.ca.gov/docs/license/pubs/excerpts_usda_treatment_manual.p
df.](http://www.cdpr.ca.gov/docs/license/pubs/excerpts_usda_treatment_manual.pdf)

ชนิดแมลงศัตรูพืชนำเข้าและส่งออก

Insect Pest Species of Imported and Exported Crops

เกศสุดา สนศิริ^{1/} สุนัดดา เขาวลิต^{1/} ชัยพร บัวมาศ^{1/} อิทธิพล บรรณาการ^{1/}
 มานิตา คงชื่นสิน^{2/} พลอยชมพู กรวิภาสเรือง^{1/} ปราสาททอง พรหมเกิด^{1/} ปิยาณี หนูกาฬ^{1/}
 กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
 สำนักผู้เชี่ยวชาญ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

จากการสำรวจรวบรวมตัวอย่างแมลงศัตรูพืชทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยจากพืชนำเข้า 2 พืช ได้แก่ อ้อย ข้าวฟ่าง และพืชส่งออก 2 พืช ได้แก่ ข้าวโพดฝักอ่อน มะม่วง จากแหล่งปลูกพืชดังกล่าวทั่วประเทศระหว่างเดือน ตุลาคม 2554 ถึง เดือนกันยายน 2555 นำตัวอย่างมาตรวจวิเคราะห์ชนิดตามหลักอนุกรมวิธาน รวมทั้งตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้องและเป็นปัจจุบันของแมลงศัตรูพืชทั้งหมดที่พบ ในการศึกษาครั้งนี้พบแมลงศัตรูพืช 4 อันดับ 11 วงศ์ 20 ชนิด โดยพบใน ข้าวฟ่าง 2 อันดับ 3 วงศ์ 3 ชนิด ได้แก่ อันดับ Hemiptera 2 วงศ์ 2 ชนิด และอันดับ Lepidoptera 1 วงศ์ 1 ชนิด อ้อย 3 อันดับ 6 วงศ์ 7 ชนิด ได้แก่ อันดับ Coleoptera 1 วงศ์ 1 ชนิด อันดับ Hemiptera 4 วงศ์ 4 ชนิดและอันดับ Lepidoptera 2 วงศ์ 2 ชนิด ข้าวโพดฝักอ่อน 3 อันดับ 4 วงศ์ 4 ชนิด ได้แก่ อันดับ Lepidoptera 2 วงศ์ 1 ชนิด อันดับ Thysanoptera 1 วงศ์ 1 ชนิด และอันดับ Hemiptera 1 วงศ์ 1 ชนิด มะม่วง 3 อันดับ 6 วงศ์ 6 ชนิด ได้แก่ อันดับ Thysanoptera 1 วงศ์ 1 ชนิด อันดับ Coleoptera 2 วงศ์ 2 ชนิด และอันดับ Hemiptera 3 วงศ์ 3 ชนิด

คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม รายได้จากการส่งออกของประเทศส่วนใหญ่มาจากสินค้าเกษตร เช่น ไม้ดอก พืชผัก และไม้ผล จากการเปิดเสรีทางการค้าทำให้ประเทศไทยในฐานะประเทศสมาชิกองค์การการค้าโลก (World Trade Organization) ต้องปฏิบัติตามกฎเกณฑ์เกี่ยวกับการค้าสินค้าเกษตร ภายใต้ความตกลงว่าด้วยการบังคับใช้มาตรการด้านสุขอนามัย และสุขอนามัยพืช (Agreement on Application of Sanitary and Phytosanitary Measure หรือ SPS) ซึ่งระบุไว้ชัดเจนว่า ประเทศสมาชิกมีสิทธิและพันธกรณีพื้นฐาน (right and obligation) ในการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชจากต่างประเทศ มิให้เข้าไปเป็นอันตรายหรือเกิดความเสียหายต่อสุขภาพมนุษย์ สัตว์ พืชและสิ่งแวดล้อม (อรุณี, 2543)

รหัสการทดลอง 03-04-54-023-01-00-04-55

วิธีการปฏิบัติคือประเทศผู้นำเข้าสินค้าเกษตรต้องมีการตรวจสอบศัตรูพืช โดยวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis : PRA) อาจจะเป็นโรคพืช แมลง ไร สัตว์ศัตรูพืช หรือวัชพืชที่ติดมากับสินค้าเกษตรที่นำเข้า โดยประเทศผู้นำเข้าจะขอบัญชีรายชื่อและข้อมูลศัตรูพืชแต่ละชนิดของสินค้าเกษตรที่จะนำเข้านั้น ๆ ซึ่งประเทศผู้ส่งออกจะต้องเป็นผู้จัดทำ หากประเทศผู้ส่งออกไม่มีบัญชีรายชื่อศัตรูพืชพร้อมข้อมูลที่สมบูรณ์ครบถ้วนตามความต้องการของผู้นำเข้า ทำให้ประเทศผู้นำเข้าไม่มีข้อมูลเพียงพอเพื่อนำไปประกอบในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช อาจมีผลทำให้เกิดปัญหาต่อการอนุญาตให้นำเข้าสินค้าเกษตรนั้น ซึ่งปัจจุบันนับว่าเป็นปัญหาที่สำคัญอย่างมากสำหรับประเทศที่ต้องการส่งออกหรือนำเข้าสินค้าเกษตร ซึ่งหลายประเทศมีความตื่นตัวและเร่งดำเนินการจัดทำบัญชีข้อมูลรายละเอียดศัตรูพืชเพื่อพร้อมในการเจรจาการค้าระหว่างประเทศ

การศึกษาชนิดแมลงศัตรูพืชนำเข้า ได้แก่ ข้าวฟ่าง(*Sorghum*; *Sorghum* sp.) และอ้อย (Sugar cane; *Saccharum officinarum* Linn.) (เริ่มตุลาคม 2554 ถึงกันยายน 2555) เพื่อนำเข้าพืชดังกล่าวของประเทศไทย และสำหรับพืชส่งออก ได้แก่ ข้าวโพดฝักอ่อน (Baby corn); *Zea mays* Linn. และมะม่วง (*Mango*); *Mangifera indica* Linn. (เริ่มตุลาคม 2554 ถึงกันยายน 2555) ซึ่งประเทศไทยกำลังเตรียมข้อมูลเพื่อส่งออกไปยังประเทศเครือรัฐออสเตรเลีย สหรัฐอเมริกา อิหร่าน นิวซีแลนด์ ก็มีความจำเป็นต้องเร่งดำเนินการเช่นกัน เพื่อได้ข้อมูลบัญชีรายชื่อที่พร้อมให้ประเทศคู่ค้าได้นำไปวิเคราะห์ความเสี่ยง เพื่อประกอบการพิจารณาการนำเข้าพืชเหล่านี้จากประเทศไทย ซึ่งงานลักษณะนี้เป็นงานที่มีวัตถุประสงค์หลัก เพื่อยืนยันว่ามีหรือไม่มีแมลงศัตรูพืชในแต่ละพืชที่ต้องการนำเข้าหรือส่งออกจากประเทศต้นทาง หากพบแมลงศัตรูพืชต้องมีข้อมูลว่าพบการทำลายที่ส่วนใดของพืช และนอกจากต้องการข้อมูลดังกล่าวแล้วยังต้องตรวจสอบรายชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้อง และเป็นปัจจุบัน พร้อมกับเก็บรวบรวมตัวอย่างของจริงไว้ในพิพิธภัณฑ์ เพื่อยืนยัน ตรวจสอบ และอ้างอิง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างแมลงศัตรูพืช
2. อุปกรณ์เก็บจัดรูปร่างแมลง ได้แก่ สวิงจับแมลง ขวดฆ่าแมลงที่บรรจุสารเอทิลอะซีเตท กระดาษแข็งขนาด A4 ขวดดองแมลงพร้อมแอลกอฮอล์ 70-80% ขวดพร้อมน้ำยาเก็บรักษาตัวอย่าง เพลี้ยไฟเอจีเอ (AGA) ซึ่งเป็นส่วนผสมของแอลกอฮอล์ 60% 10 ส่วน กลีเซอริน 1 ส่วน และกรดน้ำส้ม 1 ส่วน ปากคีบ ของกระดาษสามเหลี่ยม พู่กัน กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก กล่องรักษาความเย็น ถึงแช่ตัวอย่างแมลง ไม้จัดรูปร่างตัวอย่างแมลง เข็มไร้สนิม ตูบตัวอย่างแมลง หนีบไม้/ตู้เก็บตัวอย่างแมลง การบูร โหลขึ้น
3. อุปกรณ์และสารเคมีทำสไลด์ถาวร

3.1 อุปกรณ์ แผ่นสไลด์แก้ว แผ่นแก้วปิดสไลด์ (Cover glass) เข็มเขี่ย หลอดดูด กระจกนาฬิกา ปีกเกอร์ หลอดแก้วทดลอง เต้าไฟฟ้า ตู้อบแผ่นสไลด์

3.2 สารเคมี น้ำกลั่น แอลกอฮอล์ 60-100% โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 5% โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) 10% คาร์บอลไซลีน (Carbol xylene) ซึ่งเป็นสารละลายของไซลีน 3 ส่วนและผลึกกรดคาร์โบลิก (Carbolic acid crystal) 1 ส่วน กรดเกลือ (Hydrochloric acid) 10% สารละลายเอ็น-บิวทิลแอลกอฮอล์ (N-butyl alcohol) น้ำยาย้อมสีซึ่งเป็นสารละลายของ แอซิดฟุซซิน (Acid fuchsin) 0.5 กรัม และกรดเกลือ 10% 25 มิลลิลิตร สารละลายคาร์บอนไซลอล (Carbon-xylol) ซึ่งมีส่วนผสมของไซลีน 90 ส่วน กับฟีนอล 10 ส่วน แลคติกแอซิด (Lactic acid) โคลฟออย (Clove oil) แคนาดาบัลซัม (Canada balsum)

4. อุปกรณ์ในการวาดภาพ กล้องถ่ายรูป กล้องจุลทรรศน์ชนิด Stereomicroscope และ ชนิด Compound microscope

วิธีการ

1. สืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับชนิดของแมลงศัตรูพืชนำเข้า ได้แก่ ข้าวฟ่าง และอ้อย ในพืชส่งออก 2 พืช ได้แก่ ข้าวโพดฝักอ่อน และมะม่วง จากเอกสารที่มีรายงานเกี่ยวกับแมลงศัตรูพืชทั้งในและต่างประเทศ

2. สำรวจ รวบรวมตัวอย่างแมลงศัตรูพืชจากแหล่งปลูกพืชทั้ง 2 พืช โดยใช้สวิงโอบ / เคาะ หรือเขย่ากิ่ง ต้น หรือดอกของพืชเพื่อให้แมลงศัตรูพืชตกลงบนอุปกรณ์ที่รองรับ หรือตัดใบ / กิ่ง / ยอดของพืชที่มีแมลงศัตรูพืชเกาะอาศัยด้วยกรรไกรตัดกิ่ง ใช้ฟูกันเขี่ยแมลงศัตรูพืชที่พบใส่ขวดที่บรรจุ น้ำยาดอง หรือนำตัวอย่างแมลงศัตรูพืชพร้อมพืชใส่ถุงพลาสติก กล่องพลาสติก หรือถุงกระดาษ เก็บตัวอย่างดังกล่าวในกล่องรักษาความเย็น ภายในบรรจุน้ำแข็งแห้งเพื่อรักษาตัวอย่างให้สดอยู่เสมอ หากตัวอย่างที่รวบรวมได้อยู่ในระยะตัวอ่อน เช่น เพลี้ยไฟ เพลี้ยแป้ง เพลี้ยหอย เพลี้ยอ่อน หนอน ผีเสื้อ หนอนแมลงวันผลไม้ ฯลฯ ต้องนำตัวอย่างไปเลี้ยงในห้องปฏิบัติการจนเป็นตัวเต็มวัย

วิธีการที่กล่าวถึงทั้งหมดเป็นวิธีการสากลที่ใช้ในการศึกษางานด้านอนุกรมวิธาน โดยจะไม่มีวิธีการสุ่มหรือกำหนดขนาดตัวอย่างที่เหมาะสมเหมือนงานวิจัยอื่นๆ เนื่องจากงานอนุกรมวิธานเป็นงานวิจัยเชิงสำรวจไม่ใช่เป็นงานวิจัยเพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมี หรือรูปแบบการแพร่กระจายของศัตรูพืช การสำรวจรวบรวมสามารถดำเนินการได้ทุกสถานที่ที่มีการปลูกพืชนั้นๆ ซึ่งหากสามารถรวบรวมตัวอย่างได้มากก็จะสามารถยืนยันลักษณะทางอนุกรมวิธานของแมลงแต่ละชนิดที่ได้ศึกษาหรืออาจพบลักษณะที่แปรปรวนของแมลงชนิดเดียวกัน แต่หากรวบรวมตัวอย่างแมลงได้เพียง 1 ตัวอย่างในพืชหรือสถานที่ใดก็ตามก็สามารถนำมาศึกษาด้านอนุกรมวิธานได้เช่นกัน ซึ่งตัวอย่างที่เก็บได้เพียงตัวอย่างเดียวนี้ในบางครั้งอาจพบว่าเป็นแมลงที่พบใหม่ (New record) หรือแมลงชนิดใหม่ (New species) ซึ่งการศึกษาถึงชนิดของแมลงก็อยู่ในขอบข่ายของงานวิจัยด้านอนุกรมวิธาน จึงใช้หลักการและวิธีการเช่นเดียวกัน

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

4. นำตัวอย่างที่บันทึกรายละเอียดไปจัดเตรียมตัวอย่างแมลง เพื่อวิเคราะห์ชนิดโดยการจัดรูปร่างหรือทำสไลด์ถาวรแมลงแต่ละชนิดตามวิธีการของ (ศิริณี, 2548)

5. นำตัวอย่างจากข้อ 4 ไปตรวจวิเคราะห์ชนิด โดยตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานใต้กล้องจุลทรรศน์ และใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยชนิดแมลงศัตรูพืชและเอกสารรายงานถึงชนิดศัตรูพืชที่พบในประเทศไทยจาก CABI (2003), CABI (2007), Flint (1991), Pholboon (1965) และ Wongsiri (1991) ประกอบการเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง

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

7. นำตัวอย่างแมลงศัตรูพืชที่ได้ศึกษาวิจัยทั้งหมด เก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากลของพิพิธภัณฑ์สิ่งสำคัญของการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช (Pest List) จำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องมีตัวอย่างจริงของแมลงศัตรูพืชทุกชนิดที่ได้รายงาน เก็บรักษาไว้เพื่อการตรวจสอบ / สืบค้น / อ้างอิง

การบันทึกข้อมูล

บันทึกรายละเอียดของแมลง/ไร/หอยศัตรูพืช ส่วนของพืชที่พบตัวอย่าง ลักษณะการทำลาย วัน / เดือน / ปี สถานที่ แหล่งที่พบ พิกัดภูมิศาสตร์ (GPS) และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง รวมทั้งบันทึกโดยการถ่ายภาพ

เวลาและสถานที่

เวลา เดือนตุลาคม 2554 ถึง เดือนกันยายน 2555

- สถานที่
1. แปลงปลูก ข้าวฟ่าง อ้อย ข้าวโพดฝักอ่อน และมะม่วง ในจังหวัดต่างๆ ทุกภาคของประเทศไทย
 2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาชนิดแมลงศัตรูพืชเพื่อการนำเข้าและส่งออก ระหว่างเดือนตุลาคม 2554 ถึงเดือนกันยายน 2555 ในพืชนำเข้า 2 พืช คือ ข้าวฟ่าง และ อ้อย ในพืชส่งออก 2 พืช คือ ข้าวโพดฝักอ่อน และมะม่วง โดยสำรวจเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลง จากแหล่งปลูกจังหวัดนครสวรรค์ สระบุรี

ลพบุรี อุทัยธานี นครราชสีมา เลย และขอนแก่น พบแมลงศัตรู ดังนี้ **ข้าวฟ่าง** พบแมลงศัตรู 3 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยอ่อนข้าวฟ่าง *Melanaphis sorghi* (Theobald) (Hemiptera: Aphididae) เพลี้ยกระโดดดำ *Callitetix versicolor* (F.) (Hemiptera: Cercopidae) หนอนกระทู้คอรวง *Mythimna separata* Walker (Lepidoptera: Noctuidae) **อ้อย** พบแมลงศัตรู 7 ชนิด ได้แก่ หนอนกอลายจุดเล็ก *Chilo infuscatellus* Snell (Lepidoptera: Pyralidae) หนอนกอลายจุดใหญ่ *Chilo sacchariphagus* (Bojer) (Lepidoptera: Pyralidae) แมลงหรีข้าวอ้อย *Aleurolobus barodensis* (Maskell) (Hemiptera: Aleyrodidae) เพลี้ยอ่อนอ้อย *Melanaphis sacchari* (Zehntner) (Hemiptera: Aphididae) เพลี้ยกระโดดดำ *Callitetix versicolor* (F.) (Hemiptera: Cercopidae) แมลงดำหนามอ้อย *Rhadinosa reticulata* Baly (Coleoptera: Hispididae) และเพลี้ยจักจั่นแดง *Bathrogonia indistincta* Walker (Hemiptera: Cicadellidae) **ข้าวโพดฝักอ่อน** พบแมลงศัตรูพืช 4 ชนิด เพลี้ยอ่อนข้าวโพด *Rhopalosiphum maidis* (Fitch) (Hemiptera: Aphididae) เพลี้ยไฟ *Thrips hawaiiensis* (Morgan) (Thysanoptera: Thripidae) หนอนกระทู้คอรวง *Mythimna separata* Walker (Lepidoptera: Noctuidae) หนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigue* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae) **มะม่วง** พบแมลงศัตรูพืช 6 ชนิด ได้แก่ แมลงค่อมทอง *Hypomeces squamosus* Fabricius (Coleoptera: Cerculionidae) เพลี้ยแป้ง *Dysmicocus neobrevipes* Beardsley (Hemiptera: Pseudococcidae) เพลี้ยหอยเกาะอ่อนสีเหลือง *Coccus* sp. (Hemiptera: Coccidae) เพลี้ยจักจั่นมะม่วง *Idioscopus clypealis* (Lethierry) (Hemiptera: Cicadellidae) เพลี้ยไฟพริก *Scirtothrips dorsalis* Hood (Thysanoptera: Thripidae) และด้วงกัดใบมะม่วง *Deporaus marginatus* Pascoe (Coleoptera: Cerculionidae) และนำตัวอย่างแมลงศัตรูพืชที่ได้รวบรวมได้ทั้งหมด เก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง เพื่อรอการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช (Pest List)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการศึกษาชนิดแมลงศัตรูพืชเพื่อการนำเข้าและส่งออก ระหว่างเดือนตุลาคม 2554 ถึงเดือนกันยายน 2555 พบแมลงศัตรูพืชทั้งหมด 4 อันดับ 11 วงศ์ 20 ชนิด โดยพบใน**ข้าวฟ่าง** 2 อันดับ 3 วงศ์ 3 ชนิด ได้แก่ อันดับ Hemiptera 2 วงศ์ 2 ชนิด และอันดับ Lepidoptera 1 วงศ์ 1 ชนิด **อ้อย** 3 อันดับ 6 วงศ์ 7 ชนิด ได้แก่ อันดับ Coleoptera 1 วงศ์ 1 ชนิด อันดับ Hemiptera 4 วงศ์ 4 ชนิดและอันดับ Lepidoptera 2 วงศ์ 2 ชนิด **ข้าวโพดฝักอ่อน** 3 อันดับ 4 วงศ์ 4 ชนิด ได้แก่ อันดับ Lepidoptera 2 วงศ์ 1 ชนิด อันดับ Thysanoptera 1 วงศ์ 1 ชนิด และอันดับ Hemiptera 1 วงศ์ 1 ชนิด **มะม่วง** 3 อันดับ 6 วงศ์ 6 ชนิด ได้แก่ อันดับ Thysanoptera 1 วงศ์ 1 ชนิด อันดับ Coleoptera 2 วงศ์ 2 ชนิด และอันดับ Hemiptera 3 วงศ์ 3 ชนิด

การศึกษาในครั้งนี้นอกจากจะเป็นการสำรวจศัตรูพืชในพืชทั้ง 4 ชนิดแล้ว ยังนำตัวอย่างแมลงศัตรูพืชที่พบมาศึกษาทางด้านอนุกรมวิธานโดยการตรวจวิเคราะห์ชนิดและสืบค้นข้อมูลที่เป็นปัจจุบัน รวมทั้งได้จัดเก็บตัวอย่างแมลงทั้งหมดไว้ในพิพิธภัณฑ์เพื่อการยืนยัน ตรวจสอบ และอ้างอิง ซึ่งจะเป็นหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่เป็นประโยชน์อย่างมากในการจัดทำบัญชีรายชื่อแมลงศัตรูพืชนำเข้าและส่งออก และสามารถนำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่ได้ไปใช้ในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชนำเข้าทั้ง 2 พืช ตลอดจนสามารถนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ประกอบในการพิจารณาเพื่อกำหนดแมลงศัตรูพืชกักกัน อีกทั้งยังใช้เป็นหลักฐานในการเจรจาต่อรองทางการค้า และกำหนดเงื่อนไขการนำเข้าพืชตามพระราชบัญญัติกักพืช ซึ่งการศึกษาเกี่ยวกับชนิดของศัตรูพืชเพื่อประโยชน์ทางการค้า จำเป็นอย่างยิ่งจะต้องศึกษาอย่างต่อเนื่องและเตรียมพร้อมข้อมูลให้เป็นปัจจุบันตลอดเวลา โดยเฉพาะอย่างยิ่งต้องประสานกับหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง เพื่อกำหนดลำดับความสำคัญของพืชหรือสินค้าเกษตรที่ต้องการนำเข้าหรือส่งออก นอกจากนี้ควรมีการรวบรวมรายชื่อแมลงศัตรูพืชทั้งหมดที่ได้ศึกษา จัดพิมพ์เป็นเอกสารให้สมบูรณ์ ซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นหลักฐานทางเอกสารวิชาการที่เป็นปัจจุบันต่อไป ทั้งนี้เพื่อประโยชน์สูงสุดของประเทศไทยในการเจรจาต่อรองการค้ากับประเทศคู่ค้า

เอกสารอ้างอิง

- ศิริณี พูนไชยศรี. 2548. แมลง การจำแนกและการเก็บตัวอย่าง. กลุ่มกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.
- อรุณี วงษ์กอบรัชฎ์. 2543. การจัดทำบัญชีรายชื่อแมลง ไร และสัตว์ศัตรูพืช. เอกสารประกอบการบรรยายพิเศษการประชุมสัมมนา เรื่อง “การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช (Pest List) และการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis) เพื่อการนำเข้าและส่งออกสินค้าเกษตร” วันที่ 26 กันยายน 2543 ณ โรงแรมมิราเคิลแกรนด์ คอนเวนชั่น กรุงเทพฯ.
- Abbott, R.T. 1989. Compendium of landshell. Melbourne,Australia : American Malacologist,Inc.
- CABI. 2003. Crop Protection Compendium. CAB International. Wallingford, UK.
- CABI. 2007. The 2007 Edition of The Crop Protection Compendium. CD-ROM. CAB International, Wallingford, UK. CD-ROM.
- Flint, M.L. 1991. Integrated Pest Management for Citrus (Second edition). University of California Statewide Integrated Pest Management Project, Division of Agriculture and Natural Resources. Publication 3303.
- Laws,H.M.1973.The chromosome of some Australian camaenidland snails. Cytologia. 38:p. 229-235
- Panha, S. 1996. A Checklist and classification of the terrestrial Pulmonate snails of

Thailand. Walkerana. 8 (19): 11-64.

Pholboon, P. 1965. A Host List of The Insects of Thailand. Department of Agriculture. Thailand.

Vaught, K.C. 1989. A classification of the living mollusca. U.S.A. : *American Malacologists*.

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.

การจัดการโรครากโพรงของหน้าวัว

A management strategy against burrowing nematode of Anthurium decline.

ธิติยา สารพัฒน์ ไตรเดช ข่ายทอง มนตรี เอี่ยมวิมังสา
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

โรครากโพรงของหน้าวัวเกิดจากไส้เดือนฝอย *Radopholus similis* ทำให้ต้นหน้าวัวแคระแกร็น ใบและดอกเล็กลง ใบเหลืองก่อนเวลาอันควร ต้นหน้าวัวไม่สมบูรณ์ ในการทดสอบประสิทธิภาพครั้งนี้พบว่าทุกกรรมวิธี ได้แก่ การใช้สาร abamectin และ fipronil การใช้เชื้อราปฏิปักษ์ *Paecilomyces lilacinus* และ *Trichoderma harzianum* การแช่น้ำอุ่น 55 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที และ การแช่น้ำอุ่น 55 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที สามารถลดจำนวนไส้เดือนฝอยสาเหตุโรครากโพรงได้แตกต่างกับกรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ และกรรมวิธีที่มีประสิทธิภาพ 3 อันดับแรกได้แก่ กรรมวิธีแช่น้ำอุ่น 55 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที กรรมวิธีแช่น้ำอุ่น 55 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที และ กรรมวิธีราดด้วย abamectin ตามลำดับ

คำนำ

โรครากโพรงของหน้าวัว เป็นปัญหาที่สำคัญอย่างหนึ่งในการผลิตส่งออก มีหลายประเทศที่ต้องตรวจสอบส่วนของพืชที่อยู่ใต้ดินและต้องได้รับการตรวจรับรองว่าปลอดภัยจากไส้เดือนฝอย Burrowing nematode (*Radopholus similis*) เช่น ญี่ปุ่น ไต้หวัน EU และ บางรัฐในสหรัฐอเมริกา ปัญหาการเข้าทำลายของโรครากโพรงนี้มีรายงานการพบครั้งแรกของประเทศไทยในกล้วย และพริกไทย ปัจจุบันมีการตรวจพบการเกิดโรคนี้นในหน้าวัว ฟิลิปปินส์ ทรอนก้านมะละกอ พรมณไม้น้ำ และไม้ประดับที่เป็นที่พืชรากอวบ (มนตรี , 2548)

โรครากโพรงที่เกิดกับหน้าวัวทำให้ ต้นหน้าวัวแคระแกร็น ใบและดอกเล็กลง ใบเหลืองก่อนเวลาอันควร และโดยทั่วไปต้นมีลักษณะไม่สมบูรณ์ บริเวณรากจะพบรอยแผลสีเข้มจากเนื้อเยื่อที่ตาย หากเป็นมารากจะเน่าเปื่อยเนื่องจากต่อมาถูกจุลินทรีย์อื่นๆ เข้าทำลาย (โอฬารและคณะ,ม.ป.ป.) ในฮาวายมีรายงานการเข้าทำลายของ *R.similis* ว่าเป็นศัตรูสำคัญของหน้าวัวเพราะทำให้ผลผลิตลดลงทั้งคุณภาพและปริมาณ โดยคุณภาพดอกลดลง ดอกมีขนาดเล็ก และ ปริมาณการให้ดอกลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ และทำให้เกิดอาการต้นโทรมของหน้าวัวโดยมีลักษณะคล้ายอาการขาดน้ำและขาดธาตุอาหาร และแม้ว่าต้นหน้าวัวจะสามารถมีอายุอยู่ได้หลายปีแต่ได้ผลผลิตน้อยและดอกมีขนาดเล็ก (Aragaki et.al.1984 ; Sipes et.al.2001)

รหัสการทดลอง 01-32-54-04-03-00-02-54

ไส้เดือนฝอย *R. similis* เข้าทำลายรากพืชโดยสามารถเคลื่อนที่เข้าออกรากพืชได้ตลอดเวลา ดูดกินน้ำเลี้ยงและแร่ธาตุอาหารของพืช สามารถเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ครบวงจรชีวิตในรากพืช โดยวงจรชีวิตของ *R. similis* ในพืชพวกส้มพบว่าตัวอ่อนฟักออกจากไข่ 3-7 วัน และไส้เดือนฝอยครบวงจรชีวิต 18-20 วัน ที่อุณหภูมิ 24-26 องศาเซลเซียส โดยเฉลี่ยวางไข่ 4-5 ฟองต่อครั้ง มีทั้งการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศparthenogenesis (นุชนารถ, 2555)

ดังนั้น งานวิจัยนี้จึง ทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอย การใช้ น้ำอุ่น และการใช้เชื้อปฏิปักษ์ ที่มีผลควบคุมไส้เดือนฝอย *R. similis* เพื่อแนวทางในการจัดการโรครากโพรงได้อย่างเหมาะสมต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ต้นหน้าวัว
2. ไส้เดือนฝอยรากโพรง Burrowing nematode (*Radopholus similis*)
3. สารเคมี abamectin 1.8% EC และ fipronil 5% SC
4. เชื้อ *Trichoderma harzianum* และ *Paecilomyces lilacinus*
5. หม้อ ถาด แก้วหุงต้ม
6. วัสดุทดลองในการปลูกพืช เช่น กาบมะพร้าว อิฐมอญหัก ถ่าน ทราย จานรองทราย
7. อุปกรณ์และสารเคมี ในห้องปฏิบัติการไส้เดือนฝอย เช่น ตะแกรง กรวย (วิธีการแยกเชื้อ) กล้องจุลทรรศน์ เทอร์โมมิเตอร์ ถ้วยนับตัวอย่าง เครื่องกذبจำนวน Clorox
8. ป้ายแสดงกรรมวิธี สมุดบันทึก

วิธีการ

-แบบการทดลอง

ปี 2554 วางแผนการทดลอง CRD 5 ซ้ำ 7 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 รดด้วย abamectin 1.8% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 5 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 รดด้วย fipronil 5% SC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 5 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 รดด้วยสารแขวนลอยของ *Paecilomyces lilacinus* (ระดับความ

เข้มข้น 1×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตรต่อน้ำ 5 ลิตร)

กรรมวิธีที่ 4 รดด้วย สารแขวนลอยของ *Trichoderma harzianum* (ระดับความ

เข้มข้น 1×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตรต่อน้ำ 5 ลิตร)

กรรมวิธีที่ 5 แช่น้ำอุ่น 55 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที

กรรมวิธีที่ 6 แช่น้ำอุ่น 55 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที

กรรมวิธีที่ 7 ชุดควบคุม รดด้วยน้ำเปล่า

ปี 2555 วางแผนการทดลอง CRD 10 ซ้ำ 7 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ระบาดด้วย abamectin 1.8% EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 10 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 ระบาดด้วย fipronil 5% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 10 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 ระบาดด้วยสารแขวนลอยของ *Paecilomyces lilacinus* (ระดับความเข้มข้น 1×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตรต่อน้ำ น้ำ 10 ลิตร)

กรรมวิธีที่ 4 ระบาดด้วยสารแขวนลอยของ *Trichoderma harzianum* (ระดับความเข้มข้น 1×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตรต่อน้ำ น้ำ 10 ลิตร)

กรรมวิธีที่ 5 แช่น้ำอุ่น 55 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที

กรรมวิธีที่ 6 แช่น้ำอุ่น 55 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที

กรรมวิธีที่ 7 ควบคุม ระบาดด้วยน้ำเปล่า

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. เก็บตัวอย่างหน้าวัวที่เป็นโรครากโพรงจากในแปลงทำการแยกเชื้อบริสุทธิ์ของไส้เดือนฝอยรากโพรง (*Radopholus similis*) โดยวิธี Baermann tray หลังจากนั้น 48 ชั่วโมงเก็บน้ำนำไปตรวจหาไส้เดือนฝอยภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ

2. การเลี้ยงเชื้อไส้เดือนฝอยรากโพรง (*R. similis*) จากข้อ 1. เมื่อตรวจพบไส้เดือนฝอยแล้วใช้เข็มเย็บขนาดเล็กหรือไม้ไผ่เหลาให้ปลายเล็กเขี่ยไส้เดือนฝอยแต่ละตัวลงในจานเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อและ streptomycin sulfate 0.1% หลังจากนั้นนำไปแช่ในตู้เย็นเป็นเวลา 6 ชั่วโมง แล้วนำมาล้างในน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ เขี่ยไส้เดือนฝอยแต่ละตัวลงในอาหารแครอท (carrot disc cultures) โดยใช้ระยะเวลาในการบ่มที่อุณหภูมิห้อง ประมาณ 1 เดือนเพื่อให้ไส้เดือนฝอยเจริญครบวงจรชีวิต 1 รอบ

3. ปลูกเชื้อพืชทดลอง

3.1 เตรียมพืชทดลอง ปลูกหน้าวัวอายุประมาณ 1 ปีในกระถางใช้วัสดุปลูกผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

3.2 นำขึ้นแครอทที่เพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอยในข้อ 2. ตัดเป็นชิ้นขนาดเล็กนำมาแยกไส้เดือนฝอยด้วยวิธี Baermann tray ตรวจนับไส้เดือนฝอยภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ ปรับปริมาณให้ได้ไส้เดือนฝอยจำนวน 400 ± 40 ตัวต่อกระถาง ปลูกเชื้อลงในหน้าวัวที่ได้เตรียมไว้ในข้อ 3.1

4. เตรียมเชื้อสารแขวนลอยของ *Paecilomyces lilacinus* และ *Trichoderma harzianum* โดยเพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA จนเต็มจานอาหาร

5. ทดสอบด้วยกรรมวิธีตามแบบการทดลอง หลังจากปลูกเชื้อในข้อ 3 แล้วเป็นเวลา 1 สัปดาห์
6. หลังจากทดสอบแล้วปลูกต้นหน้าวัว เป็นเวลา 2 สัปดาห์ จึงทำการตรวจผลการทดลอง
7. ตรวจผลการทดลอง โดยนับจำนวนไส้เดือนฝอยรากโพรงในรากหน้าวัวซึ่งได้จากการแยกไส้เดือนฝอยวิธี Baermann tray ตรวจนับที่ 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ บันทึกข้อมูลและนำผลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาเริ่มต้นปีงบประมาณ 2554 สิ้นสุด 2555 รวม 2 ปี

เริ่มทดลอง ตุลาคม 2553 ถึง กันยายน 2555

สถานที่

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และแปลงเกษตรกร ในพื้นที่การระบาดของโรคจังหวัด นนทบุรี นครปฐม ราชบุรี และสมุทรสาคร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการทดลองในปี 2554 พบว่า กรรมวิธีทดลองที่ให้ผลควบคุมไส้เดือนฝอยดีที่สุดคือการแช่น้ำอุ่น 55 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ซึ่งมีค่าเฉลี่ยการตรวจพบไส้เดือนฝอย *R. similis* เพียง 0.4 ตัวต่อต้น แต่กรรมวิธีนี้ส่งผลกระทบต่อพืชเพราะรากเปลี่ยนเป็นสีคล้ำอาจเกิดจากการตายของเนื้อเยื่อพืช ส่วนกรรมวิธีอื่น ๆ มีการตรวจพบไส้เดือนฝอยดังนี้ กรรมวิธีแช่น้ำอุ่น 55 °C นาน 10 นาที ตรวจพบไส้เดือนฝอย *R. similis* จำนวนเฉลี่ย 1.40 ตัวต่อต้น กรรมวิธีราดด้วย abamectin ตรวจพบไส้เดือนฝอย *R. similis* จำนวนเฉลี่ย 8.00 ตัวต่อต้น กรรมวิธีราดด้วย *Paecilomyces lilacinus* ตรวจพบไส้เดือนฝอย *R. similis* จำนวนเฉลี่ย 14.60 ตัวต่อต้น กรรมวิธีราดด้วย fipronil ตรวจพบไส้เดือนฝอย *R. similis* จำนวนเฉลี่ย 26.40 ตัวต่อต้น และกรรมวิธีราดด้วย *Trichoderma harzianum* ตรวจพบไส้เดือนฝอย *R. similis* จำนวนเฉลี่ย 27.40 ตัวต่อต้น กรรมวิธีทดลองทั้งหมดนี้สามารถลดจำนวนไส้เดือนฝอยได้ใกล้เคียงกันเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์และแตกต่างจากกรรมวิธีควบคุมซึ่งตรวจพบไส้เดือนฝอย *R. similis* จำนวนเฉลี่ย 170.60 ตัวต่อต้น อย่างมีนัยยะสำคัญ อย่างไรก็ตามทุกกรรมวิธีตรวจพบไส้เดือนฝอย *R. similis* ณ 120

ชั่วโมงของการตรวจผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าอาจจะมีไส้เดือนฝอย *R. similis* ที่มีชีวิตเหลืออยู่ในรากพืชอีก (Table 1)

Table 1 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนตัวของไส้เดือนฝอย *R. similis* ในหน้าวัว ปี 2554

กรรมวิธี	จำนวนไส้เดือนฝอย (ตัวต่อต้น) ⁽¹⁾
1. abamectin	8.00 b
2. fipronil	26.40 b
3. <i>Paecilomyces lilacinus</i>	14.60 b
4. <i>Trichoderma harzianum</i>	27.40 b
5. น้ำอุ่น 55 °C นาน 10 นาที	1.40 b
6. น้ำอุ่น 55 °C นาน 20 นาที	0.40 b
7. ควบคุม น้ำเปล่า	170.60 a

C.V. 82.55 %

⁽¹⁾ จำนวนไส้เดือนฝอยที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกันในแต่ละกรรมวิธี ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ผลการทดลองในปี 2555 พบว่า กรรมวิธีที่สามารถลดจำนวนไส้เดือนฝอยเหลือน้อยที่สุดคือ กรรมวิธีการแช่น้ำอุ่น 55 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ซึ่งมีค่าเฉลี่ยการตรวจพบไส้เดือนฝอย *R. similis* เพียง 1.30 ตัวต่อต้น อันดับสองคือกรรมวิธี แช่น้ำอุ่น 55 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ตรวจพบไส้เดือนฝอย *R. similis* จำนวนเฉลี่ย 3.80 ตัวต่อต้น และอันดับสามคือ รดด้วย abamectin ตรวจพบไส้เดือนฝอย *R. similis* จำนวนเฉลี่ย 11.40 ตัวต่อต้น ซึ่งทั้งสามกรรมวิธีนี้ให้ผลการควบคุมที่ใกล้เคียงกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ และกรรมวิธีที่ให้ผลการควบคุมในอันดับ 4, 5, 6, ได้แก่ รดด้วย fipronil ตรวจพบไส้เดือนฝอย *R. similis* จำนวนเฉลี่ย 20.40 ตัวต่อต้น *Paecilomyces lilacinus* ตรวจพบไส้เดือนฝอย *R. similis* จำนวนเฉลี่ย 48.90 ตัวต่อต้น และ *Trichoderma harzianum* ตรวจพบไส้เดือนฝอย *R. similis* จำนวนเฉลี่ย 46.30 ตัวต่อต้น ตามลำดับ และทุกกรรมวิธีแตกต่างอย่างมีนัยยะสำคัญกับกรรมวิธีควบคุม ซึ่งตรวจพบไส้เดือนฝอย *R. similis* จำนวนเฉลี่ย 180.30 ตัวต่อต้น อย่างไรก็ตามทุกกรรมวิธีตรวจพบไส้เดือนฝอย *R. similis* ณ 120 ชั่วโมงของการตรวจผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าอาจจะมีไส้เดือนฝอย *R. similis* ที่มีชีวิตเหลืออยู่ในรากพืชอีก (Table 2)

Table 2 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนตัวของไส้เดือนฝอย *R. similis* ในหน้าวัว ปี 2555

กรรมวิธี	จำนวนไส้เดือนฝอย (ตัวต่อต้น) ⁽¹⁾
1. abamectin	11.40 c
2. fipronil	20.40 bc
3. <i>Paecilomyces lilacinus</i>	48.90 b
4. <i>Trichoderma harzianum</i>	46.30 b
5. น้ำอุ่น 55 °C / นาน 10 นาที	3.80 c
6. น้ำอุ่น 55 °C / นาน 20 นาที	1.30 c
7. ควบคุม น้ำเปล่า	180.30 a
C.V. 76.30 %	

⁽¹⁾ จำนวนไส้เดือนฝอยที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกันในแต่ละกรรมวิธี ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ทุกกรรมวิธีสามารถควบคุมไส้เดือนฝอยรากโพรงได้เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม โดยการแช่น้ำอุ่น 55 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที และ แช่น้ำอุ่น 55 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที สามารถลดจำนวนไส้เดือนฝอยได้ดี แต่อาจจะมีผลกระทบเพราะรากมีสีคล้ำกว่าปกติเล็กน้อยถึงแม้ต้นพืชจะมีความสดชื่นตลอด 2 สัปดาห์ เพื่อให้เกิดความแน่ใจ ควรมีการทดลองผลกระทบที่เกิดจากการใช้น้ำอุ่นในการควบคุมโรคนี้ ถึงแม้ว่าผลการทดลองนี้ยังไม่สามารถควบคุมโรคได้ 100 เปอร์เซ็นต์ มีโอกาสของการของเกิดโรคอีกครั้งเนื่องจากไส้เดือนฝอย *R. similis* แม้เหลือรอดเพียง 1 ตัวสามารถขยายพันธุ์อีกนับร้อยตัว แต่ก็สามารถประยุกต์ใช้กรรมวิธีต่างๆที่ได้ทดลองนี้ให้เกิดประโยชน์ในการลดความรุนแรงของโรคได้

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณผู้ปลูกหน้าวัวทุกท่านที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเข้าเก็บตัวอย่างต้นหน้าวัว

เอกสารอ้างอิง

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด.2555.ไส้เดือนฝอยศัตรูพรรณไม้หน้าและการป้องกันกำจัด.นิเวศกรมตากการพิมพ์.
กรุงเทพ.72 หน้า.

มนตรี เอี่ยมวิม้งสา.2538. เอกสารวิชาการ ไส้เดือนฝอยศัตรูพืช . กรมวิชาการเกษตร 190 น.

โอฬาร พิทักษ์ และ เศรษฐพงศ์ เลขะวัฒนะ .ม.ป.ป. หนาว่าวดตัดดอก.เอกสารเผยแพร่ กลุ่มไมดอกไม
ประดับ กองส่งเสริมพืชสวน กรมส่งเสริมการเกษตร

Aragaki, M.W., J. Apt, R.K. Kunimoyo, W.H.Ko and J.Y.Uchida.1984. Nature and Control
of Anthurium decline.Plant disease.68:509-511

ภาคผนวก

การเตรียมอาหารแครอท

ฆ่าเชื้อบริเวณเปลือกของแครอท(*Daucus carota*)โดยการจุ่มลงในแอลกอฮอล์ 95
เปอร์เซ็นต์ แล้วเผาไฟจากนั้นปลอกเปลือกแครอทที่หม้อออก ตัดเป็นชิ้นหนาประมาณ 1
เซนติเมตร ใส่ในจานเลี้ยงเชื้อที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้วบ่มที่อุณหภูมิห้อง ประมาณ 1-2 สัปดาห์จึง
นำมาเลี้ยงไส้เดือนฝอยได้

Potato dextrose agar (PDA)

มันฝรั่ง 200 กรัม

Dextose 20 กรัม

วุ้น 17 กรัม

น้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร

ทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมี สารอินทรีย์ และเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

ชนิดต่างๆ ในการควบคุมโรครากปมของปทุมมา

มนตรี เอี่ยมวิม้งสา ธิติยา สารพัฒน์ ไตรเดช ช่างทอง
 กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

โรครากปมของปทุมมาและกระเจียวเกิดจากไส้เดือนฝอยรากปม (Root knot nematode ; *Meloidogyne* spp.) โดยจะเข้าทำลายระบบรากฝอยและตุ่มสะสมอาหารของปทุมมาและกระเจียว ทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมี ได้แก่ carbofuran ,dinotefuran , abamectin ,fipronil 5% SC และ clorox 5 % สารอินทรีย์ ได้แก่ น้ำส้มควันไม้ และเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ได้แก่ รา *Paecilomyces lilacinus* และรา *Trichoderma harzianum* ในการควบคุมโรครากปมของปทุมมา ทำการทดลอง 2 ส่วนคือ การทดลองในกระถาง และการทดลองในแปลง โดยการทดลองในกระถาง วางแผนทดลอง CRD CRD 9 กรรมวิธี 10 ซ้ำพบว่าจำนวนไส้เดือนฝอยรากปมในดินปลูก และดัชนี การเกิดปมหรือหูดของเหง้าปทุมมามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ จากการเปรียบเทียบ ค่าเฉลี่ยด้วย DMRT พบว่าทุกกรรมวิธีความแตกต่างกับชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ

การทดลองระดับแปลง RCBD 9 กรรมวิธี 3 ซ้ำ พบว่าดัชนีการเกิดปมหรือหูดของเหง้า ปทุมมามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ส่วนอัตราการขยายพันธุ์ของไส้เดือนฝอยราก ปมไม่มีความแตกต่างทางสถิติ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย DMRT สามารถแบ่งเป็น 4 กลุ่ม ตาม การเกิดหูดจากน้อยไปมาก คือ กลุ่มที่ 1 ได้แก่ clorox กลุ่มที่ 2 น้ำส้มควันไม้ กลุ่มที่ 3 carbofuran รา *Paecilomyces lilacinus* dinotefuran และ abamectin กลุ่มที่ 4 fipronil และ รา *Trichoderma harzianum* ตามลำดับ

รหัสการทดลอง 01-32-54-01-01-03-02-55

คำนำ

โรครากปมของปทุมมาและกระเจียวเกิดจากไส้เดือนฝอยรากปม(Root knot nematode ; *Meloidogyne* spp.) พบระบาดที่ ในหลายพื้นที่ โดยไส้เดือนฝอยรากปมจะเข้าทำลายระบบรากฝอย และ ตุ่มสะสมอาหารของปทุมมาและกระเจียว ทำให้เกิดปุ่มปม และตุ่มบิดเบี้ยว ซึ่งมีผลต่อระยะเวลา การเก็บรักษาหัวพันธุ์ และการรับซื้อหัวพันธุ์ อีกทั้งยังส่งเสริมให้โรคหัวเน่าระบาดรุนแรงขึ้นด้วย (วนิดา, 2542 ; ยุทธศักดิ์, 2542)

ลักษณะการเข้าทำลายปทุมมาและกระเจียวของไส้เดือนฝอยรากปมจะทำลายระบบราก ทุกระยะการเจริญเติบโตโดยตัวอ่อนระยะที่สองจะเข้าไปภายในรากและตุ่มสะสมอาหารแล้วฝังตัว ภายในรากจากนั้นค่อยๆพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยเพศเมียและชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโดยมีการ แบ่งเซลล์มากขึ้น และขยายรวมกันเป็นเซลล์ขนาดใหญ่เรียกว่า giant cell เป็นผลให้รากบวม เป็นปุ่ม ปม ปิดทางลำเลียงน้ำ ลำเลียงอาหารหลังจากนั้นไส้เดือนฝอยวางไข่โดยไข่ 1 กลุ่ม ประกอบด้วยไข่ ประมาณ 300-500 ฟองและครบวงจรชีวิตประมาณ 21-30 วัน ดังนั้นโดยทั่วไปแล้วใน 1 ฤดูปลูกพืช จึงสามารถครบวงจรชีวิตได้มากกว่า 1 วงจร (ยุทธศักดิ์, 2542 ; มนตรี, 2538)

ไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne* spp.) เป็นไส้เดือนฝอยที่พบแพร่หลายในหลายจังหวัด และมีพืชอาศัยมากที่สุด (มากกว่า 2,000 ชนิด) เมื่อเปรียบเทียบกับไส้เดือนฝอยชนิดอื่น พืชอาศัยที่ถูกทำลายเสียหายมากได้แก่ พืชตระกูลมะเขือ เช่น พริก มะเขือเทศ มะเขือเปราะ พืชตระกูลแตง พืชตระกูลกะหล่ำ พืชตระกูลถั่ว ชิง มันฝรั่ง ข้าวฟ่าง ยาสูบ พริกไทย มะละกอ ฝรั่ง สับปะรด และไม้ดอกไม้ประดับหลายชนิด (พัลลภา, 2534)

การป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอยศัตรูพืชมีหลายวิธีด้วยกัน เช่นการใช้สารเคมี ใช้สารอินทรีย์ การควบคุมทางชีววิธี การใช้พันธุ์ต้านทาน และวิธีทางเขตกรรม เช่น การไถพรวน การให้น้ำท่วมแปลง การปลูกพืชหมุนเวียน การใส่ปุ๋ยอินทรีย์วัตถุ การกำจัดพืชอาศัยออกจากแปลงปลูก เป็นต้น แม้ว่าทุกวิธีที่กล่าวมาข้างต้นไม่มีวิธีใดที่จะป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอยได้ 100 % (สมควร, 2539)การผสมผสาน หลากหลายวิธีเป็นทางเลือกในการปฏิบัติที่ช่วยให้เกิดการควบคุมปริมาณไส้เดือนฝอยรากปมให้อยู่ใน ระดับที่ไม่ทำความเสียหายแก่พืช อย่างยั่งยืนต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. หัวพันธุ์ปทุมมา
2. ไส้เดือนฝอยรากปม(*Meloidogyne* spp.)
3. สาร abamectin 1.8% EC อัตรา 2 มิลลิลิตร / น้ำ 1 ลิตร fipronil 5% SC carbofuran 3% GR dinotefuran 1% GR น้ำส้มควันไม้ 3 % Clorox 5 %
4. เชื้อรา *Trichoderma harzianum* และ *Paecilomyces lilacinus*
5. วัสดุทดลองในการปลูกพืช เช่น ดินปลูก กระถาง จานรองกระถาง
6. แปลงทดลองที่มีการระบาดของไส้เดือนฝอย
7. อุปกรณ์และสารเคมี ในห้องปฏิบัติการไส้เดือนฝอย เช่น ตะแกรง กรวย กล้องจุลทรรศน์ ถ้วยนับ ตัวอย่าง เป็นต้น
8. ป้ายแสดงกรรมวิธี สมุดบันทึก

วิธีการ

การทดลองในกระถาง

วางแผนการทดลอง CRD 9 กรรมวิธี 10 ซ้ำ ดังนี้

- กรรมวิธีที่ 1 คลุกดินด้วย carbofuran 3% GR อัตรา 2.5 กรัมต่อการถาง
- กรรมวิธีที่ 2 คลุกดินด้วย dinotefuran 1% GR อัตรา 2.5 กรัม ต่อการถาง
- กรรมวิธีที่ 3 รดด้วย abamectin 1.8% EC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 5 ลิตร
- กรรมวิธีที่ 4 รดด้วย fipronil 5% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 5 ลิตร
- กรรมวิธีที่ 5 รดด้วย น้ำส้มควันไม้ 3 % อัตรา 150 มิลลิลิตรต่อน้ำ 5 ลิตร
- กรรมวิธีที่ 6 รดด้วย Clorox 5 % อัตรา 250 มิลลิลิตรต่อน้ำ 5 ลิตร
- กรรมวิธีที่ 7 รดด้วย เชื้อรา *Trichoderma harzianum* ระดับความเข้มข้น 1×10^6 สปอร์ต่อ มิลลิลิตรต่อน้ำ 0.5 ลิตร ต่อกระถาง
- กรรมวิธีที่ 8 รดด้วย เชื้อรา *Paecilomyces lilacinus* ระดับความเข้มข้น 1×10^6 สปอร์ต่อ มิลลิลิตรต่อน้ำ 0.5 ลิตร ต่อกระถาง
- กรรมวิธีที่ 9 ชุดควบคุม ไม่ใช้สาร
- หมายเหตุ กรรมวิธีที่ 3-6 อัตราการใช้ 0.5 ลิตรต่อกระถางทดลอง

1. เก็บตัวอย่างปทุมมาที่เป็นปมหรือหูด เพื่อนำมาแยกไส้เดือนฝอย
2. การแยกไส้เดือนฝอยจากปทุมมา

2.1 แยกไส้เดือนฝอยโดยตรงภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำโดยการผ่านเหง้าของปทุมมาเป็นแผ่นบางวางบนจานเลี้ยงเชื้อที่บรรจุน้ำประมาณ 1 มิลลิลิตร

2.2 แยกไส้เดือนฝอยโดย Baermann tray

3. เลี้ยงไส้เดือนฝอยเพื่อเพิ่มปริมาณ

จากข้อ 2 เมื่อตรวจตัวอย่างภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำแล้วพบว่าเป็นไส้เดือนฝอย *Meloidogyne* sp. จึงนำไปเพาะเลี้ยงเพิ่มจำนวน ดังนี้

3.1 ใช้เข็มหรือไม้ไผ่เหลาปลายเขี่ยไส้เดือนฝอย *Meloidogyne* sp. ที่พบแต่ละตัวลงในจานเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อประมาณ 5 มิลลิลิตร

3.2 การเตรียมพีชเลี้ยงไส้เดือนฝอยเพื่อเพิ่มปริมาณ โดยปลูกมะเขือเทศพันธุ์สีดาจำนวน 30 ต้นในกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 เซนติเมตร บรรจุดินนิ่งฆ่าเชื้อ 0.8 ลิตร กระถางละ 1 ต้น

3.3 การปลูกเชื้อ ทำหลังจากปลูกมะเขือเทศพันธุ์สีดาได้ 15 วัน โดยนำไส้เดือนฝอย *Meloidogyne* sp. จากข้อ 3.1 จำนวน 100 ตัวในน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อราดลงบนดินปลูกในกระถางมะเขือเทศพันธุ์สีดาที่เตรียมไว้ในข้อ 3.2 หลังจากทำการปลูกเชื้อแล้วเป็นเวลา 35 วัน จึงสามารถนำมาเตรียมเป็น inoculum ของไส้เดือนฝอยที่จะใช้ในการปลูกเชื้อในปทุมมาได้

4. การเตรียมพีชทดสอบ โดยปลูกปทุมมาในกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 24 เซนติเมตรแล้วบรรจุดินนิ่งฆ่าเชื้อ 9 ลิตร กระถางละ 1 ต้น

5. การปลูกเชื้อ ทำหลังจากปลูกปทุมมาได้ 15 วัน มีขั้นตอนดังนี้

5.1 เตรียม inoculum ของไส้เดือนฝอย ดังนี้

เขี่ยกลุ่มไข่ไส้เดือนฝอย โดยนำกระถางมะเขือเทศพันธุ์สีดาที่เตรียมไว้ในข้อ 3.3 ทำการคว่ำกระถางเพื่อนำต้นมะเขือเทศออกจากกระถางเคาะดินออกอย่างเบาเมื่อแล้วล้างรากมะเขือเทศให้สะอาด จากนั้นใช้สิมปากคืบขนาดเล็กคืบกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอย (ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ) วางบนภาชนะสำหรับฟักไข่ไส้เดือนฝอยซึ่งมีน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อประมาณ 5 มิลลิลิตรจำนวน 10 ชั้นโดยมีกลุ่มไข่ 100 กลุ่มไข่ต่อ 1 ชั้นภาชนะสำหรับฟักไข่ไส้เดือนฝอย จากนั้นบ่มฟักไข่ไส้เดือนฝอย ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน

5.2 การปลูกเชื้อไส้เดือนฝอยลงในดินปลูกของกระถางปทุมมาที่ได้เตรียมไว้ในข้อ 4. ดังนี้

เมื่อไส้เดือนฝอยฟักจากไข่เป็นตัวอ่อนระยะที่ 2 นำมานับจำนวนภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำแล้วปรับปริมาตรให้มีตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอย ปริมาณประมาณ 1200 ตัวต่อน้ำ 50 มิลลิลิตร ต่อกระถางปทุมมา 1 กระถาง ซึ่งเป็นจำนวนไส้เดือนฝอยเริ่มต้น (initial population ; P_i)

การทดลองในแปลง ทำการปลูกปทุมมาในแปลงขนาด 1x1.2 เมตร จำนวน 27 แปลง ๆ ละ 30 ต้น ตามแผนการทดลอง RCBD 9 กรรมวิธี 3 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม ไม่ใช้สาร

กรรมวิธีที่ 2 คลุกดินด้วย carbofuran 3% GR อัตรา 2.5 กรัมต่อต้น

กรรมวิธีที่ 3 ราดด้วย เชื้อรา *Paecilomyces lilacinus* ระดับความเข้มข้น 1×10^6 สปอร์ ต่อมิลลิลิตรต่อน้ำ 15 ลิตรต่อแปลง

กรรมวิธีที่ 4 คลุกดินด้วย dinotefuran 1% GR อัตรา 2.5 กรัม ต่อต้น

กรรมวิธีที่ 5 ราดด้วย น้ำส้มควันไม้ 3 % อัตรา 450 มิลลิลิตรต่อน้ำ 15 ลิตร ต่อแปลง

กรรมวิธีที่ 6 ราดด้วย Clorox 5 % อัตรา 750 มิลลิลิตรต่อน้ำ 15 ลิตร ต่อแปลง

กรรมวิธีที่ 7 ราดด้วย เชื้อรา *Trichoderma harzianum* ระดับความเข้มข้น 1×10^6 สปอร์ ต่อมิลลิลิตรต่อน้ำ 15 ลิตร ต่อแปลง

กรรมวิธีที่ 8 ราดด้วย fipronil 5% SC อัตรา 45 มิลลิลิตรต่อน้ำ 15 ลิตร ต่อแปลง

กรรมวิธีที่ 9 ราดด้วย abamectin 1.8% EC อัตรา 45 มิลลิลิตรต่อน้ำ 15 ลิตร ต่อแปลง

วิธีการดำเนินงาน

1. เลือกแปลงที่เคยมีการระบาดของไส้เดือนฝอยรากปม จากนั้นสู่มดินจากแปลงปลูกปทุมมาทุกแปลง

โดยสู่มเก็บดินลึกประมาณ 6 นิ้ว จำนวน 10 จุดต่อแปลง นำดินจากทุกจุดมาคลุกเคล้ารวมกันโดยมีน้ำหนักโดยประมาณ 1 กิโลกรัม นำใส่ถุงพลาสติก รัดปากถุงให้แน่นใส่ในลังน้ำแข็งนำกลับมาตรวจที่ห้องปฏิบัติการ

ในห้องปฏิบัติการ แบ่งดินในแต่ละตัวอย่างมา 500 กรัม นำมาแยกไส้เดือนฝอยโดยวิธี Cobb sieving & Baermann tray ตรวจนับจำนวนภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ จำนวนไส้เดือนฝอยที่ได้บันทึกเป็นจำนวนไส้เดือนฝอยก่อนการทดสอบประสิทธิภาพ

2. ทำการใส่สารฯ 3 ครั้งห่างกัน 30 วัน ครั้งแรกที่ทดสอบคือทำพร้อมปลูก

3. หลังการใส่สารฯครั้งสุดท้ายแล้ว ทำการประเมิน 2 ส่วน ดังนี้

3.1 ตรวจสอบจำนวนไส้เดือนฝอยในดิน เพื่อคำนวณค่า อัตราการขยายพันธุ์ (Reproductive factor value ; Rf) คำนวณจาก สูตร $Rf = Pf / Pi$ โดยโดยสุ่มเก็บดินลึกประมาณ 6 นิ้ว จำนวน 10 จุดต่อแปลงย่อย นำดินจากทุกจุดมาคลุกเคล้ารวมกัน โดยมีน้ำหนักโดยประมาณ 1 กิโลกรัม นำใส่ถุงพลาสติก รัดปากถุงให้แน่นใส่ในถังน้ำแข็งนำกลับมาตรวจที่ห้องปฏิบัติการ

ในห้องปฏิบัติการ แบ่งดินในแต่ละตัวอย่างมา 500 กรัม นำมาแยกไส้เดือนฝอยโดยวิธี Cobb sieving & Baermann tray ตรวจสอบจำนวนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยายต่ำจำนวนไส้เดือนฝอยที่ได้บันทึกเป็นจำนวนไส้เดือนฝอยก่อนการทดสอบประสิทธิภาพ

3.2. การวัดดัชนีการเกิดปมหรือ หูดของปทุมมา

ถอนต้นปทุมมาพร้อมเหง้าเพื่อประเมินการเกิดปมโดยประยุกต์ใช้เกณฑ์ประเมินระดับการเกิดโรคตาม Taylor and Sasser (1978) และ Hussey and Boerma, (1981) ดังนี้

0= เหง้าไม่ปรากฏอาการปม

1= เหง้าปรากฏอาการปม 1-10 % ของระบบราก

2= เหง้าปรากฏอาการปม 11-25 % ของระบบราก

3= เหง้าปรากฏอาการปม 26-50 % ของระบบราก

4= เหง้าปรากฏอาการปม 51-75 % ของระบบราก

5= เหง้าปรากฏอาการปมมากกว่า 75 % ของระบบราก

4. นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาเริ่มต้นปีงบประมาณ 2554 สิ้นสุด 2555 รวม 1 ปี

เริ่มทดลอง ตุลาคม 2554 ถึง กันยายน 2555

สถานที่

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

และแปลงเกษตรกร ในพื้นที่การระบาดของโรค จ.นครปฐม ราชบุรี สมุทรสาคร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการทดลองในระดับกระถางทดลอง พบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลองตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอยรากปมในดินปลูก และวัดดัชนีการการเกิดปมหรือหูดของปทุมมาพบว่ากรรมวิธีในการทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย DMRT พบว่าทุกกรรมวิธีความแตกต่างกับชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่กรรมวิธีที่ 2 ถึง 9 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 1 และ Table 2)

ผลการทดลองในระดับแปลง พบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลอง วัดดัชนีการการเกิดปมหรือหูดของหัวปทุมมาพบว่า กรรมวิธีในการทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญถึง ส่วนอัตราการขยายพันธุ์ของไส้เดือนฝอยรากปมไม่มีความแตกต่างทางสถิติ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย DMRT สามารถแบ่งเป็น 4 กลุ่ม ตามการเกิดหูดจากน้อยไปมาก คือ กลุ่มที่ 1 ได้แก่ clorox กลุ่มที่ 2 น้ำส้มควันไม้ กลุ่มที่ 3 carbofuran รา *Paecilomyces lilacinus* dinotefuran และ abamectin กลุ่มที่ 4 fipronil และ รา *Trichoderma harzianum* (Table 3) แต่ในการทดลองครั้งนี้ยังไม่สามารถควบคุมไม่ให้ไส้เดือนฝอยเข้าทำลายเหง้าปทุมมาได้และการสร้างตุ่มของปทุมมาพบว่าในแปลงพืชสามารถสร้างตุ่มจำนวนมากกว่าในกระถางทดลอง

Table 1 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของดัชนีเกิดหัวหูดของปทุมมาในกระถาง

กรรมวิธี	ค่าเฉลี่ยของดัชนีเกิดหัวหูดของปทุมมา ⁽¹⁾
1 ชุดควบคุม ไม่ใช้สาร	3.5 a
2 carbofuran 3% GR	1.3 b
3 รา <i>Paecilomyces lilacinus</i>	1.7b
4 dinotefuran 1% GR	1.7 b
5 น้ำส้มควันไม้ 3 %	1.9 b
6 clorox 5 %	1.7 b
7 รา <i>Trichoderma harzianum</i>	1.4b
8 fipronil 5% SC	1.8 b
9 abamectin 1.8% EC	1.4 b

(1) ค่าเฉลี่ยของดัชนีเกิดหัวหูดของปทุมมาที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกันในแต่ละกรรมวิธี ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

Table 2 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนไส้เดือนฝอยที่ตรวจจากดินในกระถางปทุมมา

กรรมวิธี	ค่าเฉลี่ยจำนวนไส้เดือนฝอยรากปม ⁽¹⁾
1 ชุตควบคุม ไม่ใช้สาร	218.2 a
2 carbofuran 3% GR	27.8 b
3 รา <i>Paecilomyces lilacinus</i>	89.8 b
4 dinotefuran 1% GR	74.3 b
5 น้ำส้มควันไม้ 3 %	81.7 b
6 clorox 5 %	37.7b
7 รา <i>Trichoderma harzianum</i>	82.7 b
8 fipronil 5% SC	64.3 b
9 abamectin 1.8% EC	57 b

⁽¹⁾ ค่าเฉลี่ยของจำนวนไส้เดือนฝอยรากปมที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกันในแต่ละกรรมวิธี ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

Table 3 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของดัชนีเกิดหัวหูดของปทุมมาในแปลง

กรรมวิธี	ค่าเฉลี่ยของดัชนีเกิดหัวหูดของปทุมมา ⁽¹⁾
1 ชุตควบคุม ไม่ใช้สาร	4.167 a
2 carbofuran 3% GR	2.75 bc
3 รา <i>Paecilomyces lilacinus</i>	2.778 bc
4 dinotefuran 1% GR	2.806 bc
5 น้ำส้มควันไม้ 3 %	2.528 cd
6 clorox 5 %	2.306 d
7 รา <i>Trichoderma harzianum</i>	3.056 b
8 fipronil 5% SC	3.028 b
9 abamectin 1.8% EC	2.806 bc

⁽¹⁾ ค่าเฉลี่ยของดัชนีเกิดหัวหูดของปทุมมาที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกันในแต่ละกรรมวิธี ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ทุกกรรมวิธีเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่ใส่สารแล้วสามารถลดจำนวนไส้เดือนฝอยรากปมและการเกิดปมได้ แต่ต้องมีการทดลองซ้ำและอาจจะเพิ่มปริมาณ ความถี่ในการใช้เพิ่มขึ้น หรือปรับปรุงวิธีการใช้ที่เกื้อหนุนกันเพื่อควบคุมการเข้าทำลายไส้เดือนฝอย

เอกสารอ้างอิง

พัลลภา กฤษณีไพบุลย์. 2534. ไส้เดือนฝอยศัตรูพืช. คณะทรัพยากรธรรมชาติ

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่. 307 หน้า

มนตรี เอี่ยมวิม้งสา. 2538. เอกสารวิชาการ ไส้เดือนฝอยศัตรูพืช. กรมวิชาการเกษตร 190 น.

ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี. 2542. โรครากปมของปทุมมาและกระเจียว. กสิกร. 72, 2 (มี.ค.-เม.ย.42)
121-125.

วนิดา จิตะฐาน. 2542. โรคเหี่ยวของพืชที่เกิดจากแบคทีเรีย.กรมวิชาการเกษตร 151 น.

สมควร ศิริวัลย์. 2539. การป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอยโดยวิธีเขตกรรม.เอกสารเผยแพร่วิชาการโรคพืช
และจุลชีววิทยา ประจำปี 2539. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา.กรมวิชาการเกษตร.

การทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลง สารชีวอินทรีย์ และสารสกัดจากพืชในการป้องกัน
กำจัดหนอนแมลงวันศัตรูเห็ดที่สำคัญในเห็ด

Efficacy test of Bioinsecticide and plant extract for controlling insect
pest of mushroom

อุราพร หนูนารถ พิเชษฐ์ เชาววัฒนวงศ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลง สารชีวอินทรีย์ และสารสกัดจากพืชในการป้องกันกำจัดหนอนแมลงวันศัตรูเห็ดที่สำคัญในเห็ด โดยดำเนินการทดลองที่โรงเพาะเห็ดของเกษตรกร อำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี และ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ระหว่างเดือน เมษายน 2554 – กันยายน 2554 วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ 7 กรรมวิธี คือกรรมวิธีพ่นสารสกัดจากสะเดา (สะเดาไทย), สารสกัดจากขมิ้นชัน, น้ำส้มควันไม้, Diflubenzuron (Dimilin) , ไล่เดือนฝอย, เชื้อแบคทีเรีย (Xentari) และกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลอง จากผลการทดลองพบว่า Diflubenzuron (Dimilin), สารสกัดจากขมิ้นชัน, ไล่เดือนฝอย, เชื้อแบคทีเรีย (Xentari) มีประสิทธิภาพดี ในการป้องกันกำจัดหนอนแมลงวันศัตรูเห็ด รองลงมาคือ สารสกัดจากสะเดา (สะเดาไทย) ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ความเสียหายน้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลอง

คำนำ

เห็ดถูกฐานเป็นเห็ดที่มีคุณค่าทางด้านโภชนาการ และสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่ง เห็ดถูกฐานใช้เพาะเป็นการค้ากันอย่างกว้างขวาง ในทุกสภาพอากาศ และได้ขยายพื้นที่ปลูกทั่วประเทศ เนื่องจากได้มีการตื่นตัวเพาะเห็ดกันมาก จึงมีการขยายกิจการเพาะเห็ดอย่างกว้างขวางและรวดเร็ว ต่อมาได้เกิดปัญหาการระบาดของแมลงศัตรูเห็ดชนิดต่างๆเพิ่มขึ้น จากการศึกษาของกอบเกียรติ และคณะ (2544) พบหนอนแมลงวัน 4 ชนิด คือ หนอนแมลงวันเขี้ยวริด (*Lycoriella* sp.) หนอนแมลงวันฟอริค (*Megaselia* sp.) หนอนแมลงวันซีซิด (*Heteropeza* sp.) และแมลงหวี่ดำ (*Scatopse* sp.) เข้าทำลายก่อนเชื้อเห็ด และดอกเห็ด หนอนผีเสื้อ 2 ชนิด เพลี้ยไฟ แมลงหางดีด และด้วง แต่ในปัจจุบันพบมีการระบาดของหนอนแมลงวันศัตรูเห็ดในโรงเพาะเห็ดเกือบทุกภาคของประเทศ จึงทำการทดสอบประสิทธิภาพสารชีวอินทรีย์และสารสกัดจากพืช ในการป้องกันกำจัดหนอนแมลงวันศัตรูเห็ด สำหรับการวางแผนการป้องกันกำจัดทั้งระยะสั้นและระยะยาวต่อไปได้

รหัสการทดลอง 01-39-54-02-00-02-54

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ก้อนเชื้อเห็ด
2. โรงเพาะเห็ดเกษตรกร
3. ถูพลาสติก กล่องพลาสติก และชั้นเลี้ยงแมลง
4. แวนขยาย และกล่องจุลทรรศน์
5. อุปกรณ์อื่นๆที่จำเป็น เช่น แอลกอฮอล์ พู่กัน มีด คีมคีบ ที่นับแมลง เครื่องชั่งน้ำหนัก และกระดาษทิชชู

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ 7 กรรมวิธี คือ

- 1 . สารสกัดจากสะเดา (สะเดาไทย) อัตรา 200 มล./ น้ำ 20 ลิตร
- 2 . สารสกัดจากขมิ้นชัน อัตรา 50 มล./ น้ำ 20 ลิตร
3. น้ำส้มควันไม้ อัตรา 100 มล./ น้ำ 20 ลิตร
4. Diflubenzuron (Dimilin) อัตรา 30 กรัม / น้ำ 20 ลิตร
- 5 . ไล่เดือนฝอย 1 ซอง/น้ำ 2 ลิตร
6. เชื้อแบคทีเรีย (Xentari)อัตรา 60 กรัม./ น้ำ 20 ลิตร
7. control

วิธีปฏิบัติการทดลอง

สำรวจและเลือกโรงเรือนเพาะเห็ด ทำความสะอาดด้วยน้ำยา Chlorox เพื่อป้องกันกำจัดเชื้อรา หรือฟน diazion อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ฟนให้ทั้งโรงเรือน นำก้อนเชื้อที่บรรจุเสร็จแล้ว พร้อมใส่หัวเชื้อ เข้าไปในโรงเรือน วางบนแผงซ้อนทับกัน แบ่งเป็นช่อง ๆ บ่มก้อนเชื้อทิ้งไว้ประมาณ 1 เดือน ก่อนเปิดดอกเริ่มฟนสารตามกรรมวิธีทดลอง ทุก 10 วัน ทำการเช็คก้อนเชื้อเพื่อตรวจปริมาณก้อนเชื้อที่ถูกทำลาย โดยแมลงศัตรูเห็ด ทั้งจากหนอนแมลงวัน บัณฑิตจำนวนก้อนเชื้อที่ถูกทำลาย พร้อมกับเก็บผลผลิตเห็ดมาทดสอบพิษตกค้าง บัณฑิตปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์

ผลการทดลอง

จากผลการทดลองประสิทธิภาพสารฆ่าแมลง สารชีวอินทรีย์ และสารสกัดจากพืชในการป้องกันกำจัดหนอนแมลงวันศัตรูเห็ดที่สำคัญในเห็ด โดยดำเนินการทดลองที่โรงเพาะเห็ดของเกษตรกร อำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี พบว่าก่อนฟนสารทดลอง ไม่พบก้อนเห็ดได้รับความเสียหายจากการทำลายของหนอนแมลงวัน

หลังฟนสารทดลอง 10 วัน พบว่า Diflubenzuron (Dimilin) อัตรา 30 กรัม / น้ำ 20 ลิตร และสารสกัดจากขมิ้นชัน อัตรา 50 มล./ น้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์ความเสียหายน้อยที่สุด คือ 0.67 และ 1.00 ตามลำดับ รองลงมาคือ ไล่เดือนฝอย 1 ซอง/น้ำ 2 ลิตร, สารสกัดจากสะเดา (สะเดาไทย) อัตรา 200 มล./

น้ำ 20 ลิตร, และ เชื้อแบคทีเรีย (Xentari) อัตรา 60 กรัม./ น้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์ความเสียหาย 1.33 ,1.67 และ 1.67 ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ,ส่วนกรรมวิธีพ่น น้ำส้มควันไม้ อัตรา 100 มล./ น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีไม่พ่นสาร มีเปอร์เซ็นต์ความเสียหาย 5.33 และ 6.17 ตามลำดับ

หลังพ่นสารทดลอง 20 วัน พบว่า ทุกกรรมวิธีที่พ่นสาร มีเปอร์เซ็นต์ความเสียหาย 2.17-10.00 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร มีเปอร์เซ็นต์ความเสียหาย 14.17 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธี พบว่า Diflubenzuron (Dimilin) อัตรา 30 กรัม / น้ำ 20 ลิตร , สกัดจากขมิ้นชัน อัตรา 50 มล./ น้ำ 20 ลิตร ,เชื้อแบคทีเรีย (Xentari)อัตรา 60 กรัม./ น้ำ 20 ลิตร , ไล่เดือนฝอย 1 ซอง/น้ำ 2 ลิตร และ,สารสกัดจากสะเดา (สะเดาไทย) อัตรา 200 มล./ น้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์ความเสียหายน้อยที่สุด คือ 2.17 ,3.83,4.67 , 4.33 และ 5.00 ตามลำดับ รองลงมาคือ กรรมวิธีพ่น น้ำส้มควันไม้ อัตรา 100 มล./ น้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์ความเสียหาย 10.00 เปอร์เซ็นต์

หลังพ่นสารทดลอง 30 วัน พบว่า ทุกกรรมวิธีที่พ่นสาร มีเปอร์เซ็นต์ความเสียหาย 5.30-21.50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร มีเปอร์เซ็นต์ความเสียหาย 31.83 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธี พบว่า Diflubenzuron (Dimilin) อัตรา 30 กรัม / น้ำ 20 ลิตร , สกัดจากขมิ้นชัน อัตรา 50 มล./ น้ำ 20 ลิตร ,เชื้อแบคทีเรีย (Xentari)อัตรา 60 กรัม./ น้ำ 20 ลิตร , และ ไล่เดือนฝอย 1 ซอง/น้ำ 2 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์ความเสียหายน้อยที่สุด คือ 5.30, 9.17,,7.67 และ 9.93 ตามลำดับ รองลงมาคือ กรรมวิธีพ่น สารสกัดจากสะเดา (สะเดาไทย) อัตรา 200 มล./ น้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์ความเสียหาย 12.33 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรรมวิธีพ่น น้ำส้มควันไม้ อัตรา 100 มล./ น้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์ความเสียหาย 21.50 เปอร์เซ็นต์

สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองประสิทธิภาพสารฆ่าแมลง สารชีวอินทรีย์ และสารสกัดจากพืชในการป้องกันกำจัดหนอนแมลงวันศัตรูเห็ดที่สำคัญในเห็ด โดยดำเนินการทดลองที่โรงเพาะเห็ดของเกษตรกร อำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรีวางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ 7 กรรมวิธี คือ กรรมวิธีพ่นสารสกัดจากสะเดา (สะเดาไทย) , สารสกัดจากขมิ้นชัน, น้ำส้มควันไม้, Diflubenzuron (Dimilin) , ไล่เดือนฝอย, เชื้อแบคทีเรีย (Xentari)และกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลอง จากผลการทดลองพบว่า Diflubenzuron (Dimilin),สารสกัดจากขมิ้นชัน, ไล่เดือนฝอย, ,เชื้อแบคทีเรีย (Xentari) มีประสิทธิภาพดี ในการป้องกันกำจัดหนอนแมลงวันศัตรูเห็ด รองลงมาคือ สารสกัดจากสะเดา (สะเดาไทย) ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ความเสียหายน้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลอง

เอกสารอ้างอิง

กอบเกียรติ์ บันสิทธิ์ พรทิพย์ วิสารทานนท์ ฉัตรไชย ศฤงฆไพบุลย์ และสัจจะ ประสงค์ทรัพย์.

2544. แมลง-ไรศัตรูเห็ดในประเทศไทย. โรงพิมพ์คุรุสภาลาดพร้าว กรุงเทพมหานคร. 80 หน้า.

ตาราง แสดงประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงและสารชีวอินทรีย์ ในการป้องกันกำจัดหนอนแมลงวันศัตรูเห็ด ที่โรงเพาะเห็ดของเกษตรกร อำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี ในปี 2555

กรรมวิธี	อัตรา (มล.,กรัม / น้ำ 20 ลิตร)	% ความเสียหายของก้อนเชื้อเห็ด (200 ก้อน ต่อ กรรมวิธี)			
		ก่อนพ่น	หลังพ่นสาร 10 วัน	หลังพ่นสาร 20 วัน	หลังพ่นสาร 30 วัน
1.. สารสกัดจากสะเดา (สะเดาไทย)	200	0	1.67 ab	5.00 b	12.33 c
2 . สารสกัดจากขมิ้นชัน	50	0	1.00 a	3.83 ab	9.17 b
3. น้ำส้มควันไม้	100	0	5.33 c	10.00 c	21.5 d
4. Diflubenzuron (Dimilin)	30	0	0.67 a	2.17 a	5.30 a
5 . ไล่เดือนฝอย	1 ซอง/น้ำ 2 ลิตร	0	1.33 b	4.67 ab	9.83 b
6. เชื้อแบคทีเรีย (Xentari)	60	0	1.67 ab	4.33 ab	7.67 ab
7. ไม่พ่นสาร	-	0	6.17 c	14.17 d	31.83 e
CV			16.1	11.4	13.9

ประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดหนอนแมลงวันชอบใบ เพลี้ยไฟ
และหนอนผีเสื้อในดาวเรือง

อุราพร หนูนารถ สมรวย รวมชัยอภิกุล สิริกัญญา ชุนวิเศษ
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การทดสอบประสิทธิภาพสารในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟในดาวเรือง ดำเนินการทดลองที่แปลงดาวเรืองของเกษตรกร ที่ อ.ท่าม่วง จ. กาญจนบุรี โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ 10 กรรมวิธี ดังนี้ กรรมวิธีที่ 1 . พ่นสาร acephate 75 %SP อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร. พ่นสาร spiromesifen 24 %SC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร. พ่นสาร fipronil 5%SC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร พ่นสาร imidacloprid 10%SL อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร พ่นสาร emamectin benzoate 1.92 %EC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร.พ่นสาร thiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7%ZC อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร พ่นสาร spinosad 12 %SC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร . พ่นสาร fenpropathrin 10 %EC อัตรา 30 มล./น้ำ 20 ลิตร พ่นสาร benfuracarb 20%EC อัตรา 50 มล./น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ ไม่พ่นสาร ผลการทดลองพบว่า กรรมวิธีที่พ่นสาร acephate 75 %SP spiromesifen 24 %SC fipronil 5%SC imidacloprid 10%SL emamectin benzoate 1.92 %EC thiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7%ZC และ สาร spinosad 12 %SC มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ ในดาวเรือง

รหัสการทดลอง 03-04-54-02-01-01-15-55

คำนำ

ดาวเรือง เป็นไม้ดอกที่คนไทยรู้จักกันดีชนิดหนึ่งเนื่องจากปลูกง่าย โตเร็ว คงทนต่อสภาพแวดล้อม มีสีสดใสใสมะดูดตา ดอกมีลักษณะกลมสวยงาม กลีบดอกจัดเรียงเป็นระเบียบ กลีบดอกยึดแน่นกับฐานดอก ไม้หลุดง่าย อายุการใช้งานนานประมาณ 7-10 วัน นอกจากนี้ ดาวเรืองยังเป็นพืชที่มีอายุการเก็บเกี่ยวสั้น ประมาณ 60-70 วัน ก็สามารถตัดจำหน่ายได้ รวมทั้งดาวเรืองยังเป็นพืชที่ขึ้นได้ดีทุกสภาพพื้นที่และทุกฤดูกาลของประเทศ และเป็นไม้ดอกสามารถทำรายได้ให้กับผู้ปลูกสูงในปัจจุบันการปลูกดาวเรืองนอกจากจะปลูกเพื่อตัดดอกขายแล้ว สามารถปลูกกลางแจ้งหรืออุทกพลาสติกเพื่อใช้ประดับตามอาคารบ้านเรือนและสถานที่ต่าง ๆ รวมทั้งมีการปลูกเพื่อเก็บเมล็ดส่งโรงงานอาหารสัตว์อีกด้วย ปัญหาและอุปสรรคที่สำคัญในการผลิตคือการระบาดของแมลงศัตรูพืช ซึ่งแมลงศัตรูที่สำคัญของดาวเรืองได้แก่ เพลี้ยไฟ , หนอนกระทู้ผัก หนอนกระทู้หอม , หนอนเจาะสมอฝ้าย เพลี้ยอ่อน และ หนอนแมลงวันชอนใบ จะก่อให้เกิดความเสียหาย และทำให้พืชชะงักการเจริญเติบโต จึงทำการทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงที่มีประสิทธิภาพดี ปลอดภัย ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูดาวเรือง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- แปลงดาวเรือง
- เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง
 - สารฆ่าแมลงพ่นสาร acephate 75 %SP ,สาร spiromesifen 24 %SC,สาร fipronil 5%SC ,สาร imidacloprid 10%SL ,สาร emamectin benzoate 1.92 %EC ,สาร thiamethoxam/lambdacyhalothrin24.7%ZC ,สาร spinosad 12 %SC ,,สาร fenpropathrin 10 %EC ,สาร benfuracarb 20%EC
- สารป้องกันกำจัดโรคพืช
- ปุ๋ยเคมี
- แวนชยาย

วิธีดำเนินการวางแผนการทดลอง แบบRCBD มี 3 ซ้ำ 10 กรรมวิธี ดังนี้

1. พ่นสาร acephate 75 %SP	อัตรา	20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
2. พ่นสาร spiromesifen 24 %SC	อัตรา	10 มล./น้ำ 20 ลิตร
3. พ่นสาร fipronil 5%SC	อัตรา	20 มล./น้ำ 20 ลิตร
4.พ่นสาร imidacloprid 10%SL	อัตรา	20 มล./น้ำ 20 ลิตร
5. พ่นสาร emamectin benzoate 1.92 %EC	อัตรา	20 มล./น้ำ 20 ลิตร
6.พ่นสารthiamethoxam/lambdacyhalothrin24.7%ZC	อัตรา	15 มล./น้ำ 20 ลิตร
7. พ่นสาร spinosad 12 %SC	อัตรา	20 มล./น้ำ 20 ลิตร
8. พ่นสาร fenpropathrin 10 %EC	อัตรา	30 มล./น้ำ 20 ลิตร

9. พ่นสาร benfuracarb 20%EC อัตรา 50 มล./น้ำ 20 ลิตร

10.ไม่พ่นสารทดลอง

วิธีปฏิบัติการทดลอง สํารวจการระบาดของเพลี้ยไฟในดอกดาวเรือง เริ่มพ่นสารทดลอง เมื่อ ดาวเรือง ออกดอกสม่ำเสมอ และมีเพลี้ยไฟระบาด โดยทิ้งช่วงห่างตามการระบาดของแมลง พ่นสาร ไม่น้อยกว่า 3 ครั้ง ตรวจนับจำนวน เพลี้ยไฟ โดยการสุ่มตัดดอก จำนวน 10 ดอก /แปลงย่อย มา เขย่า ล้างด้วย แอลกอฮอล์ ตรวจนับแมลงก่อนพ่นสารทดลองทุกครั้ง และหลังพ่นสารทุก 3,5 และ 7 วัน โดยกำหนดพื้นที่แปลงย่อยขนาดไม่น้อยกว่า 15ตารางเมตร นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ผลทาง สถิติ บันทึกศัตรูธรรมชาติ และ อาการที่เป็นพิษกับพืช

เวลาและสถานที่

เวลา กรกฎาคม 2555 – กันยายน 2555

สถานที่ แปลงปลูกดาวเรืองของเกษตรกร อำเภอท่าม่วง จ. กาญจนบุรี

ห้องปฏิบัติการหนอนไผ่ฝัก สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการดำเนินการทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟใน ดาวเรือง พบว่าก่อนพ่นสารทดลอง พบว่า ทุกกรรมวิธีมีจำนวนเพลี้ยไฟไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมี ค่าเฉลี่ยระหว่าง 213.00 -289.00 ตัวต่อ 20 ดอก จึงวิเคราะห์ข้อมูลเพลี้ยไฟฝ่ายหลังพ่นสารด้วยวิธี Analysis of variance

หลังพ่นสารครั้งที่ 1 พบว่า ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 39.00 – 177.33 ตัว ต่อ 20 ดอก น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ซึ่งมีจำนวนเพลี้ย ไฟเฉลี่ย 243.00 ตัวต่อ 20 ดอก เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีพ่นสารพบว่า สาร thiamethoxam/lambdacyhalothrin24.7%ZC อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร, สาร imidacloprid 10%SLอัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร , สาร acephate 75 %SP อัตรา 20 กรัม/ น้ำ 20 ลิตร สาร spiromesifen 24 %SC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร , สาร fipronil 5%SC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร สาร spinosad 12 %SC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร และ สาร fenpropathrin 10 %EC อัตรา 30 มล./น้ำ 20 ลิตร พบจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 39.00, 52.67, 51.00 , ,62.67 ,74.33 ,56.67 และ 93.33 ตัวต่อ 20 ดอก ตามลำดับ รองลงมา คือกรรมวิธีพ่นสาร emamectin benzoate 1.92 %EC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร และ สาร benfuracarb 20%EC อัตรา 50 มล./น้ำ 20 ลิตร พบจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 144.00 และ 117.33 ตัวต่อ 20 ดอก ตามลำดับ

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 พบว่า ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 24.67 – 151.00 ตัว ต่อ 20 ดอก น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ซึ่งมีจำนวนเพลี้ย ไฟเฉลี่ย 273.00 ตัวต่อ 20 ดอก เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีพ่นสารพบว่า สารสาร spinosad

12 %SC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร , thiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7%ZC อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร, สาร imidacloprid 10%SL อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร , สาร acephate 75 %SP อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร สาร spiromesifen 24 %SC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร , สาร fipronil 5%SC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร สาร emamectin benzoate 1.92 %EC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร และ สาร fenpropathrin 10 %EC อัตรา 30 มล./น้ำ 20 ลิตร พบจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 25.00 , 34.67 , 62.33, 24.67 , ,38.33 ,81.67 ,137.00 และ 71.33 ตัวต่อ 20 ดอก ตามลำดับ รองลงมา คือกรรมวิธีพ่น สาร benfuracarb 20%EC อัตรา 50 มล./น้ำ 20 ลิตร พบจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 151.00 ตัวต่อ 20 ดอก

หลังพ่นสารครั้งที่ 3 พบว่า ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 31.33 – 110.00 ตัวต่อ 20 ดอก น้อยกว่าและแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ซึ่งมีจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 320.33 ตัวต่อ 20 ดอก เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีพ่นสารพบว่า สาร spinosad 12 %SC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร thiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7%ZC อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร, สาร imidacloprid 10%SL อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร , สาร acephate 75 %SP อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร สาร spiromesifen 24 %SC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร , สาร fipronil 5%SC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร และ emamectin benzoate 1.92 %EC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร พบจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 48.00, 36.67, ,31.33 ,39.33, 38.33 , , 54.33 และ 103.00 ตัวต่อ 20 ดอก ตามลำดับ รองลงมา คือกรรมวิธีพ่นสาร สาร fenpropathrin 10 %EC อัตรา 30 มล./น้ำ 20 ลิตร และ สาร benfuracarb 20%EC อัตรา 50 มล./น้ำ 20 ลิตร พบจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 158.67 และ 110.00 ตัวต่อ 20 ดอก ตามลำดับ

ศรีสุดา โททอง 2536 ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพสารในการควบคุมเพลี้ยไฟและหนอนเจาะดอกในดาวเรืองโดยใช้สารเคมีและวิธีทางชีวภาพ พบว่า formetanate อัตรา 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ให้ผลดีในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ รองลงมาได้แก่ carbosulfan อัตรา 50 มล./น้ำ 20 ลิตร , fipronil อัตรา 25 มล./น้ำ 20 ลิตร , abamectin อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร และ parzon อัตรา 40 มล./น้ำ 20 ลิตร

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบประสิทธิภาพสารในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟในดาวเรือง ดำเนินการทดลองที่แปลงดาวเรืองของเกษตรกร ที่ อ.ท่าม่วง จ. กาญจนบุรี โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ 10 กรรมวิธี ดังนี้ กรรมวิธีที่ 1 . พ่นสาร acephate 75 %SP อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร. พ่นสาร spiromesifen 24 %SC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร. พ่นสาร fipronil 5%SC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร พ่นสาร imidacloprid 10%SL อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร พ่นสาร emamectin benzoate 1.92 %EC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร. พ่นสาร thiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7%ZC

อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร . พ่นสาร spinosad 12 %SC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร . พ่นสาร fenpropathrin 10 %EC อัตรา 30 มล./น้ำ 20 ลิตร พ่นสาร benfuracarb 20%EC อัตรา 50 มล./น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ ไม่พ่นสาร ผลการทดลองพบว่า กรรมวิธีที่พ่นสาร acephate 75 %SP spiromesifen 24 %SC fipronil 5%SC imidacloprid 10%SL emamectin benzoate 1.92 %EC thiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7%ZC และ สาร spinosad 12 %SC มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ ในดาวเรือง

เอกสารอ้างอิง

ศรีสุตา ไททอง 2536 การควบคุมเพลี้ยไฟและหนอนเจาะดอกดาวเรืองโดยใช้สารเคมีและวิธีทางชีวภาพ ในรายงานผลการวิจัยกลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูผักไม้ดอกและไม้ประดับ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. น.537

ตารางแสดง ค่าเฉลี่ยจำนวนเพลี้ยไฟที่พบในดาวเรืองที่ อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี ระหว่างเดือนกรกฎาคม 2555 – กันยายน 2555

กรรมวิธี	ก่อนพ่นสาร	หลังพ่นสารครั้งที่ 1	หลังพ่นสารครั้งที่ 2	หลังพ่นสารครั้งที่ 3
acephate 75 %SP	220.00	51.00 a	24.67 a	39.33 ab
spiromesifen 24 %SC	213.00	62.67 ab	38.33 a	38.33 ab
fipronil 5%SC	289.00	74.33 ab	81.67 a	54.33 ab
imidacloprid 10%SL	289.67	52.67 a	62.33 a	31.33 a
emamectin benzoate 1.92 %EC	288.00	144.00 c	137.00 a	103.00 abc
thiamethoxam/lambdacyhalothrin24.7%ZC	237.00	39.00 a	34.67 a	36.67 ab
spinosad 12 %SC	255.67	56.67 a	25.00 a	48.00 ab
fenpropathrin 10 %EC	282.33	96.33 abc	71.33 a	158.67 c
benfuracarb 20%EC	283.00	117.33 bc	151.00 b	110.00 bc
ไม่พ่นสารทดลอง	243.00	273.00 d	261.67 c	320.33 d
CV	12.4	21.6	14.5	15.3

การทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อควบคุมแห้วหมู(*Cyperus rotundus* Linn.)

Study on Efficacy of Herbicide Application in Purple nutsedge

(*Cyperus rotundus* .)

ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย^{1/} คมสัน นครศรี^{1/} เกียรติรวี พันไชยศรี^{1/} นงลักษณ์ บั้นลาย^{2/}

^{1/} กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/} ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรลพบุรี สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5

บทคัดย่อ

การศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชทั้งประเภทใช้หลังวัชพืชเพื่อควบคุมแห้วหมู ทำการทดลองระหว่างเดือน มกราคม – กรกฎาคม 2555 ที่กลุ่มวิจัยวัชพืช ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรลพบุรี จังหวัดลพบุรี วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ จำนวน มี 9 กรรมวิธี ประกอบด้วยการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอก ได้แก่ สาร alachlor, acetochlor, s-metolachlor และ dimethenamid อัตรา (480, 640), (480, 640), (400, 600) และ (126, 324) กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ และ กรรมวิธีไม่ใช้สารกำจัดวัชพืช และการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอก มี 15 กรรมวิธี

ประกอบด้วย 2,4-D 95% SP, bensulfuron methyl 10% WP, pyrazosulfuron ethyl 10% WP, ethoxysulfuron 15% WG, metsulfuron methyl 10%+chloromuron ethyl 10% WP, glyphosate isopropylammonium 48% SL, glufosinate ammonium 15% SL, MSMA 15% SL, aminocyclopyrachlor 50% SG, imazapic 24% SL, sulfentrazone 48% SC, trifloxysulfuron-sodium 10% OD และ halosulfuron methyl 75% WP อัตรา 480, 10, 10, 10, 10, 480, 240, 522, 50, 50, 118, 13 และ 12 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ กำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน และวิธีไม่กำจัดวัชพืชจากผลการทดลองพบว่า การประเมินประสิทธิภาพการควบคุมแห้วหมูของสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนวัชพืชงอก พบหลังปลูกแห้วหมู 2 วัน ในสภาพเรือนทดลอง พบว่าที่ระยะ 15 วันหลังพ่นสาร สาร dimethenamid, s-metolachlor, alachlor อัตรา 324, 600 และ 640 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ให้ผลในการควบคุมแห้วหมูได้ดี (ตารางที่ 1 และ 2) และการประเมินประสิทธิภาพการควบคุมแห้วหมูของสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้หลังวัชพืชงอก พบว่าการพ่นด้วยสาร กรรมวิธีการพ่นสาร trifloxysulfuron-sodium 10% OD และ halosulfuron methyl 75% WP อัตรา 13 และ 12 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ มีประสิทธิภาพในการควบคุมแห้วหมูได้ดี และยาวนานถึง 60 วันหลังพ่นสาร

รหัสการทดลอง 03-04-54-02-01-03-02-54

คำนำ

แห้วหมู มีชื่อสามัญว่า Purple nutsedge มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cyperus rotundus* L. อยู่ใน family Cyperaceae เป็นวัชพืชที่แข็งแรงทนทานมีอายุข้ามปี จัดเป็นวัชพืชสำคัญอันดับหนึ่งของโลก เนื่องจากมีความสามารถขยายพันธุ์ได้มาก ทนต่อสภาพแวดล้อมได้ดีทำให้การป้องกันกำจัดได้ยากและมีปัญหาในพืชปลูกหลายชนิด(Holm *et al.*1977) การปลูกพืชไร่ พืชผัก สวนไม้ผล มักจะพบปัญหาของแห้วหมูขึ้นแข่งขันเบียดเบียนเสมอ และในปัจจุบันยังพบอีกว่าแห้วหมูกำลังเริ่มแพร่ระบาดลงในนาข้าว ทั้งนี้อาจเกิดจากชิ้นส่วนขยายพันธุ์ของแห้วหมูข้างแปลงกระจายลงในนาข้าว เมื่อทำการเตรียมแปลงเท่ากับเป็นการช่วยกระจายของส่วนขยายพันธุ์ได้มากขึ้น ซึ่งการทำนาหว่านน้ำตมของเกษตรกรโดยส่วนใหญ่ภายหลังการหว่านข้าววงอกแล้วมักจะทิ้งช่วงระยะเวลาประมาณ 15 – 20 วัน จึงทำการพ่นสารกำจัดวัชพืชประเภทคุมและฆ่าหลังจากนั้น 2 วันจึงปล่อยน้ำเข้าแปลงนา ซึ่งช่วงระยะเวลาก่อนการปล่อยน้ำเข้าจึงเป็นโอกาสให้หญ้าแห้วหมูกอกและเจริญเติบโต หรือแห้วหมูที่อยู่ข้างแปลงนาเจริญลงในแปลงนาข้าวโดยไหลและสร้างหัวในเวลาต่อมา เมื่อเตรียมดินทำการปลูกข้าวในฤดูต่อไปจะช่วยให้การแพร่กระจายของแห้วหมูมากขึ้น อย่างไรก็ตามการใช้แรงงานดังกล่าวอาจมีปัญหาเรื่องของแรงงานหายากและค่าแรงงานสูง การใช้สารกำจัดวัชพืชจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะช่วยแก้ปัญหาได้ เนื่องจากเป็นวิธีการที่ได้สะดวกและรวดเร็ว ดังรายงานของ Brecke *et al.*,(2005) ที่ได้ใช้สาร s-metolachlor ก่อนการงอกของแห้วหมู พบว่า สามารถลดจำนวนต้นและหัวของแห้วหมูลงได้ 65 และ 69 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ หรือการใช้สาร s-metolachlor ก่อนงอกและตามด้วยสาร sulfentrazone หรือ MSMA หลังงอก สามารถแห้วหมูลงได้ 80 เปอร์เซ็นต์ และการใช้สาร halosulfuron และ imazquin สามารถลดแห้วหมูลงได้ 52 และ 59 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และ Ameena and George (2004) ได้ใช้สาร glyphosate และ 2,4-D อัตรา 240 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ สามารถคุมแห้วหมูได้นานถึง 6 สัปดาห์ หรือการใช้สาร glyphosate ร่วมกับ 2,4-D จะสามารถคุมแห้วหมูได้ดีเช่นกัน ดังนั้นเพื่อแก้ปัญหาดังกล่าวจึงควรทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชที่สามารถกำจัดแห้วหมูได้ดี เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการจัดทำคู่มือคำแนะนำ สำหรับเกษตรกร หรือผู้สนใจต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แห้วหมู
2. สารกำจัดวัชพืช ประกอบด้วย
 - สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกได้แก่ สาร alachlor 48% W/V EC, acetochlor 50% W/V EC, s-metolachlor 96% W/V EC และ dimethenamid 90% W/V EC
 - สารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอก ได้แก่ 2,4-D 95% SP, bensulfuron methyl 10% WP, pyrazosulfuron ethyl 10% WP, ethoxysulfuron 15% WG, metsulfuron methyl 10%+chloromuron ethyl 10% WP, glyphosate isopropylammonium 48% SL, glufosinate ammonium 15% SL, MSMA 15% SL, aminocyclopyrachlor 50% SG, imazapic 24% SL, sulfentrazone 48% SC, trifloxysulfuron-sodium 10% OD และ halosulfuron methyl 75% WP
3. ปุ๋ยเคมี
4. ถังกระดาด เชือกฟาง และถุงพลาสติก

วิธีการ

การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอก มี 15 กรรมวิธี ประกอบด้วย 2,4-D 95% SP, bensulfuron methyl 10% WP, pyrazosulfuron ethyl 10% WP, ethoxysulfuron 15% WG, metsulfuron methyl 10%+chloromuron ethyl 10% WP, glyphosate isopropylammonium 48% SL, glufosinate ammonium 15% SL, MSMA 15% SL, aminocyclopyrachlor 50% SG, imazapic 24% SL, sulfentrazone 48% SC, trifloxysulfuron-sodium 10% OD และ halosulfuron methyl 75% WP อัตรา 480, 10, 10, 10, 10, 480, 240, 522, 50, 50, 118, 13 และ 12 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ กำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน และวิธีไม่กำจัดวัชพืช

การปฏิบัติการทดลองในเรือนทดลองใช้กระถางขนาด 1.0x1.0x0.5 เมตร ใส่ดินปลูกลงในกระถาง 3 ใน 4 ของความสูง คัดเลือกหัวแห้วหมูขนาดใกล้เคียงกันมาหุ้มไว้ 2 วัน จึงนำลงปลูกในกระถางจำนวน 20 หัวต่อกระถาง ใช้ดินโรยกลบปล่อยไว้ 2 วัน จึงพ่นสารประเภทใช้ก่อนวัชพืชตามอัตราที่กำหนด

ทำการทดลองในแปลงทดลอง ขนาดแปลง 2x2 เมตร เลือกแปลงที่มีเห็บหมูขึ้นสม่ำเสมอ หลังจากเห็บหมูกอกประมาณ 1-2 เดือน ก่อนพ่นสารส้มับจำนวนต้นเห็บหมูต่อพื้นที่ จึงพ่นสารกำจัด วัชพืชประเภทใช้หลังวัชพืชงอกตามอัตราที่กำหนด การเก็บข้อมูล ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช และการฟื้นตัวของวัชพืช นำข้อมูลมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ อธิบายผลและเขียนรายงานผลการทดลอง

เวลาและสถานที่

ทำการทดลองระหว่างเดือน เมษายน 2555 ถึง สิงหาคม 2555 ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตร ลพบุรี จังหวัดลพบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 สารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนวัชพืชงอก

ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช

ที่ระยะ 15 วันหลังพ่นสาร

การประเมินประสิทธิภาพการควบคุมเห็บหมูของสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนวัชพืชงอก พบว่า หลังปลูกเห็บหมู 2 วัน ในสภาพเรือนทดลอง พบว่า สารalachlor 48% W/V EC, acetochlor 50% W/V EC, s-metolachlor 96% W/V EC และdimethenamid 90% W/V EC อัตรา 640, 640, 600 และ 324 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ให้ผลในการควบคุมเห็บหมูได้ดี ประเมินได้คะแนนระหว่าง 8.0-9.0 คะแนน ส่วนสารalachlor 48% W/V EC, acetochlor 50% W/V EC, s-metolachlor 96% W/V EC และdimethenamid 90% W/V EC อัตรา 480, 480, 400 และ 126 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ให้ผลในการควบคุมเห็บหมูได้ปานกลางถึงดี ประเมินได้คะแนนระหว่าง 5.7-7.0 คะแนน (ตารางที่ 1)

ที่ระยะ 30 วันหลังพ่นสาร

สารalachlor 48% W/V EC, acetochlor 50% W/V EC, s-metolachlor 96% W/V EC และ dimethenamid 90% W/V EC อัตรา 640, 640, 600 และ 324 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ให้ผลในการควบคุมเห็บหมูได้ดี ประเมินได้คะแนนระหว่าง 7.0-8.5 คะแนน ส่วนสารalachlor 48% W/V EC, acetochlor 50% W/V EC, s-metolachlor 96% W/V EC และdimethenamid 90% W/V EC อัตรา 480, 480, 400 และ 126 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ให้ผลในการควบคุมเห็บหมูได้ปานกลางถึงดี ประเมินได้คะแนนระหว่าง 6.0-7.0 คะแนน(ตารางที่ 1)

ที่ระยะ 45 วันหลังพ่นสาร

สารalachlor 48% W/V EC, acetochlor 50% W/V EC, s-metolachlor 96% W/V EC และ dimethenamid 90% W/V EC อัตรา 640, 640, 600 และ 324 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ให้ผลในการ

ควบคุมเห็บหมีได้ดี ประเมินได้คะแนนระหว่าง 6.0-8.0 คะแนน ส่วนสารalachlor 48% W/V EC, acetochlor 50% W/V EC, s-metolachlor 96% W/V EC และdimethenamid 90% W/V EC อัตรา 480, 480, 400 และ 126 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ให้ผลในการควบคุมเห็บหมีได้เล็กน้อย ประเมินได้คะแนนระหว่าง 3.5-6.0 คะแนน (ตารางที่ 1)

จำนวนวันงอกของต้นเห็บหมี

สารalachlor 48% W/V EC, acetochlor 50% W/V EC, s-metolachlor 96% W/V EC และdimethenamid 90% W/V EC อัตรา 640, 640, 600 และ 324 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ มีผลทำให้ต้นเห็บหมีงอกที่ 30, 30, 45 และ 30 วันหลังพ่นสาร เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีไม่กำจัดวัชพืช ต้นเห็บหมีเริ่มงอกที่ 5 วันหลังปลูก (ตารางที่ 2) ส่วนกรรมวิธีการพ่นสารalachlor 48% W/V EC, acetochlor 50% W/V EC, s-metolachlor 96% W/V EC และdimethenamid 90% W/V EC อัตรา 480, 480, 400 และ 126 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ต้นเห็บหมีงอกที่ 10, 7, 15 และ 15 วันหลังพ่นสาร (ตารางที่ 2)

การทดลองย่อยที่ 2 สารกำจัดวัชพืชประเภทใช้หลังวัชพืชงอก

ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชประเมินด้วยสายตา

การประเมินประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชที่ระยะ 15, 30, และ 45 วันหลังพ่นสาร พบว่าที่ระยะ 15 วันหลังพ่นสาร การพ่นสาร sulfentrazone 48% SC, trifloxysulfuron-sodium 10% OD และ halosulfuron methyl 75% WP อัตรา 118, 13 และ 12 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ให้ประสิทธิภาพในการควบคุมเห็บหมีได้ดี ประเมินได้คะแนน 10.0, 8.0 และ 8.0 คะแนน ตามลำดับ ที่ระยะ 30 วันหลังพ่นสาร ยังคงให้ประสิทธิภาพในการควบคุมเห็บหมีได้ดีถึงดีมาก ประเมินได้คะแนน 9.5, 10.0 และ 10.0 คะแนน ตามลำดับ ส่วนที่ระยะ 45 วันหลังพ่นสาร ประสิทธิภาพในการควบคุมเห็บหมีลดลงเล็กน้อย ประเมินได้คะแนน 9.0 คะแนน (ตารางที่ 3) และที่ 30 วันหลังการพ่นสาร ไม่พบการงอกของต้นเห็บหมีเลยในกรรมวิธีการพ่นสาร trifloxysulfuron-sodium 10% OD และ halosulfuron methyl 75% WP อัตรา 13 และ 12 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ส่วนกรรมวิธีการพ่นสาร 2,4-D 95% SP, bensulfuron methyl 10% WP, pyrazosulfuron ethyl 10% WP, ethoxysulfuron 15% WG, metsulfuron methyl 10%+chloromuron ethyl 10% WP, glyphosate isopropylammonium 48% SL, glufosinate ammonium 15% SL, MSMA 15% SL, aminocyclopyrachlor 50% SG, imazapic 24% SL อัตรา 480, 10, 10, 10, 10, 480, 240, 522, 50, 50 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ และกรรมวิธีกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน มีประสิทธิภาพในการควบคุมเห็บหมีได้เพียงเล็กน้อย มีผลทำให้ใบเห็บหมีมีสีเหลืองและแห้ง เฉพาะส่วนที่สัมผัสกับสาร เท่านั้น (ตารางที่ 4)

จำนวนต้นเป็นและต้นตายของเห็บหมี ที่ระยะ 60 วันหลังพ่นสาร

จากการสู่มันับหัวเห็บหมู และชุดหัวใต้ดิน ที่ระยะ 60 วันหลังพ่นสาร พบว่า กรรมวิธีการพ่นสาร trifloxysulfuron-sodium 10% OD และ halosulfuron methyl 75% WP อัตรา 13 และ 12 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ มีจำนวนต้นเป็นที่ 10.0, 13.3 และ 22.3 ต้นต่อตารางเมตร จำนวนหัวตายที่ 7.3, 11.0 และ 16.3 ต้นต่อตารางเมตร และการพ่นสารกำจัดวัชพืชดังกล่าวมีจำนวนหัวที่เป็นคือหัวที่งอกขึ้นมาใหม่น้อยกว่ากรรมวิธีการพ่นสาร 2,4-D 95% SP, bensulfuron methyl 10% WP , pyrazosulfuron ethyl 10% WP, ethoxysulfuron 15% WG, metsulfuron methyl 10%+chloromuron ethyl 10% WP , glyphosate isopropylammonium 48% SL , glufosinate ammonium 15% SL , MSMA 15% SL, aminocyclopyrachlor 50% SG, imazapic 24% SL อัตรา 480, 10, 10, 10, 10, 480, 240, 522, 50, 50 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ และกรรมวิธีการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน(ตารางที่ 5)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การประเมินประสิทธิภาพการควบคุมเห็บหมูของสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนวัชพืชงอก พ่นหลังปลูกเห็บหมู 2 วัน ในสภาพเรือนทดลอง พบว่าที่ระยะ 15 วันหลังพ่นสาร สาร dimethenamid, s-metolachlor, alachlor อัตรา 324, 600 และ 640 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ให้ผลในการควบคุมเห็บหมูได้ดี (ตารางที่ 1 และ 2) และการประเมินประสิทธิภาพการควบคุมเห็บหมูของสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้หลังวัชพืชงอก พบว่าการพ่นด้วยสาร กรรมวิธีการพ่นสาร trifloxysulfuron-sodium 10% OD และ halosulfuron methyl 75% WP อัตรา 13 และ 12 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ มีประสิทธิภาพในการควบคุมเห็บหมูได้ดี และยาวนานถึง 60 วันหลังพ่นสาร จากผลการทดลองนี้ควรต้องทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชซ้ำเพื่อให้ผลที่ได้มีความเที่ยงตรงมากยิ่งขึ้นก่อนใช้เป็นคำแนะนำต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- Ameena. M. and S. George. 2004. Control of purple nutsedge (*Cyperus rotundus* L.) using glyphosate and 2,4-D sodium salt. *Journal of Tropical Agriculture* 42 (1-2): 49-51.
- Holm, L.G., D.L. Plucknett, J.V. Pancl and J.P. Herberger. 1977. *The World's Worst Weeds*. The univ. Press of Hawii, Hawaii. 609 p.
- Brecke.B.J., D.O. Stephenson IV and J.B. Unruh. 2005. Control of purple nutsedge (*Cyperus rotundus*) with herbicides and mowing. *Weed Technology* 19(4):809-814.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 ผลของสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกต่อประสิทธิภาพในการควบคุมหญ้าหมุจากการ
ประเมินด้วยสายตาหลังพ่น

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์ ต่อไร่)	จำนวนวันหลังพ่นสาร		
		15 วัน	30 วัน	45 วัน
alachlor	480	7.0 ^{1/}	6.0	5.0
alachlor	640	9.0	8.0	8.0
acetochlor	480	5.5	4.0	3.5
acetochlor	640	8.0	7.0	6.0
s-metolachlor	400	7.0	7.0	4.5
s-metolachlor	600	9.0	8.5	8.0
dimethenamid	126	8.0	6.0	6.0
dimethenamid	324	9.0	8.0	8.0
ไม่กำจัดวัชพืช	-	-	-	-

1/ คะแนนประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช

0 = ไม่สามารถควบคุมวัชพืชได้
4 - 6 = ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง
10 = ควบคุมวัชพืชได้หมด

1 - 3 = ควบคุมวัชพืชได้เพียงเล็กน้อย
7 - 9 = ควบคุมวัชพืชได้ดี

ตารางที่ 2 จำนวนวันงอกของต้นเห็บหมูหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช

กรรมวิธีการทดลอง	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่)	จำนวนวันเริ่มงอก
alachlor	480	10
alachlor	640	30
acetochlor	480	7
acetochlor	640	30
s-metolachlor	400	15
s-metolachlor	600	45
dimethenamid	126	15
dimethenamid	324	30
ไม่กำจัดวัชพืช	-	5

ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพในการควบคุมหญ้าของสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอกจากการ
ประเมินด้วยสายตาหลังพ่นสาร

กรรมวิธีการทดลอง	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่)	จำนวนวันหลังพ่นสาร		
		15 วัน	30 วัน	60 วัน
2,4-D 95% SP	480	3.0	6.0	2.0
bensulfuron methyl 10% WP	10	5.0	6.0	0.0
ethoxysulfuron 15% WG	10	2.0	0.0	0.0
pyrazosulfuron ethyl 10% WP	10	0.0	2.0	0.0
metsulfuron methyl 10%+ chloromuron ethyl 10% WP	10	2.0	2.0	0.0
glyphosate 48% SL	480	7.0	6.0	3.0
glufosinate ammonium 15% SL	240	3.0	0.0	0.0
MSMA 15% SL	522	2.0	0.0	0.0
aminocyclopyrachlor 50% SG	50	2.0	0.0	0.0
imazapic 24% SL	50	7.0	4.0	0.0
sulfentrazone 48% SC	118	10.0	9.5	9.0
trifloxysulfuron-sodium 10% OD	13	8.0	10.0	9.0
halosulfuron methyl 75% WP	12	8.0	10.0	9.0
แรงงานคน	-	8.0	0.0	0.0
ไม่ใช้สารกำจัดวัชพืช	-	0.0	0.0	0.0

ตารางที่ 5 จำนวนหัวเป็นและหัวตายเหี่ยวหมู่ใต้ดินที่ 60 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช

กรรมวิธีการทดลอง	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่)	จำนวนต้นเหี่ยวหมู่/ พื้นที่เก็บเกี่ยว ^{2/}	
		หัวเป็น	หัวตาย
2,4-D 95% SP	480	206.0	72.0
bensulfuron methyl 10% WP	10	142.5	4.8
ethoxysulfuron 15% WG	10	344.3	129.3
pyrazosulfuron ethyl 10% WP	10	26.0	52.3
metsulfuron methyl 10%+ chloromuron ethyl 10% WP	10	317.0	32.3
glyphosate 48% SL	480	272.8	60.3
glufosinate ammonium 15% SL	240	110.5	25.5
MSMA 15% SL	522	211.0	207.5
aminocyclopyrachlor 50% SG	50	342.0	48.0
imazapic 24% SL	50	221.8	66.8
sulfentrazone 48% SC	118	10.0	7.3
trifloxysulfuron-sodium 10% OD	13	13.3	11.0
halosulfuron methyl 75% WP	12	22.3	16.3
แรงงานคน	-	134.5	2.0
ไม่ใช้สารกำจัดวัชพืช	-	180.3	12.3

1/ พื้นที่เก็บเกี่ยว 0.5×0.5 เมตร

การศึกษาช่วงเวลาการใช้สารกำจัดวัชพืช paraquat 27.6% W/V SL ในข้าวโพด

Study on Timing of Paraquat 27.6% W/V SL Application

on Weed Control in Sweet Corn

ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย^{1/} คมสัน นครศรี^{1/} เกียรติรวี พันไชยศรี^{1/} นงลักษณ์ ปันลาย^{2/}^{1/} กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช^{2/} ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรลพบุรี สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5

บทคัดย่อ

การศึกษาช่วงเวลาการใช้สารกำจัดวัชพืช paraquat 27.6% W/V SL ในการกำจัดวัชพืช ประเภทใบแคบและประเภทใบกว้างในข้าวโพด วางแผนการทดลอง แบบ RCB มี 4 ซ้ำ จำนวน 9 กรรมวิธี ประกอบด้วย ช่วงเวลาการใช้สาร paraquat 27.6% W/V SL 2, 3, 4, 5, 6 สัปดาห์ หลังข้าวโพดงอก อัตรา 120 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ เปรียบเทียบกับ สาร alachlor 48% W/V EC อัตรา 300 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ สาร atrazine 80% WP อัตรา 300 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานคน และวิธีไม่กำจัดวัชพืช ทำการทดลองระหว่างเดือน พฤษภาคม – สิงหาคม 2555 ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรลพบุรี จังหวัดลพบุรี พบว่า ช่วงเวลาการใช้สาร paraquat 27.6% W/V SL 2, 3, 4, 5 และ 6 สัปดาห์ หลังข้าวโพดงอก อัตรา 120 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ เป็นพืชต่อข้าวโพดเล็กน้อยถึงปานกลางในระยะ 7 วัน และความเป็นพิษลดลงที่ระยะ 30 วันหลังการใช้ ส่วนประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชที่ระยะ 7, 15 และ 30 วันหลังพ่นสาร พบว่า ช่วงเวลาการใช้สาร paraquat 27.6% W/V SL 2, 3, 4, 5 และ 6 สัปดาห์ หลังข้าวโพดงอก อัตรา 120 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชประเภทใบแคบที่พบ ได้แก่ หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colona* (L.) Link.) และหญ้าตีนนก (*Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel.) วัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ ผักเบี้ยหิน (*Trianthema portulacastrum* L.) ปอวัชพืช (*Corchorus olitorius* L.) ได้ดี ช่วงเวลาการใช้สาร paraquat 27.6% W/V SL 3 สัปดาห์ หลังข้าวโพดงอก ให้ผลผลิตมากที่สุด 1,992 กิโลกรัมต่อไร่ แตกต่างกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช ที่ให้ผลผลิต 1,488 กิโลกรัมต่อไร่ แต่ไม่แตกต่างกันกับกรรมวิธีช่วงเวลาการใช้สาร 2, 4, 5, 6 สัปดาห์หลังข้าวโพดงอก

รหัสการทดลอง 03-04-54-02-01-03-03-54

คำนำ

ข้าวโพดเป็นพืชไร่เศรษฐกิจที่สำคัญของไทยชนิดหนึ่งซึ่งทำรายได้ให้ประเทศปีละกว่าหมื่นล้านบาท ปลูกมากในภาคเหนือ คิดเป็นพื้นที่กว่าครึ่งหนึ่งของพื้นที่ที่ปลูกข้าวโพดทั้งหมดของประเทศ รองลงมาคือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคกลาง ซึ่งในแต่ละปีจะมีพื้นที่ปลูกข้าวโพด ทั้งประเทศ ประมาณ 8-9 ล้านไร่ โดยได้ผลผลิตเฉลี่ยประมาณ 470 กิโลกรัม/ไร่ ผลผลิตของข้าวโพดที่ผลิตได้ ยังไม่พอเพียงกับความต้องการใช้ภายในประเทศ อันเนื่องมาจากการขยายตัวอย่างรวดเร็ว ของอุตสาหกรรมเลี้ยงสัตว์ จึงต้องมีการนำข้าวโพดจากต่างประเทศเข้ามาอย่างน้อย ปีละ ๕๒,๐๐๐ ตัน (นิรนาม,2552ก) ดังนั้น การเพิ่มผลผลิตให้สูงขึ้น จึงหลีกเลี่ยงไม่ได้ ปัจจัยหลายอย่างในการเพิ่มผลผลิต เช่น พันธุ์ สภาพดิน ฟ้าอากาศที่ เหมาะสมปริมาณน้ำฝน การดูแลรักษาที่ถูกต้อง วัชพืชเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลกระทบต่อ การผลิตข้าวโพด ถ้าไม่กำจัดวัชพืชเลยจะทำความเสียหายให้กับผลผลิตข้าวโพดได้ถึง 80 เปอร์เซ็นต์ ช่วงวิกฤตของข้าวโพดที่ควรปลอดวัชพืชอยู่ที่ระยะ 2 -6 สัปดาห์หลังออก(นิรนาม,2552ข) ถ้าไม่กำจัดวัชพืชใน ระยะนี้จะมีผลกระทบต่อ การเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของข้าวโพดวิธีการป้องกันกำจัดวัชพืชอาจได้ โดยการใช้แรงงานคน แต่ที่นิยมใช้กันมาก คือ การใช้สารกำจัดวัชพืช เป็นวิธีที่ได้ผลดี รวดเร็ว สะดวก และใช้แรงงานน้อย สารกำจัดวัชพืชที่แนะนำในข้าวโพด ได้แก่ atrazine และ alachlor ใช้พ่นคลุมดิน ก่อนวัชพืชงอก และสาร atrazine 80% WP ยังสามารถใช้หลังจากวัชพืชงอกแล้วหรือวัชพืชมีใบ 2-3 ใบ ได้อีกด้วย (นิรนาม,2538) ในกรณีที่ไม่สามารถกำจัดวัชพืชในช่วงวิกฤตได้ หรือสารกำจัดวัชพืชที่ใช้ไม่ สามารถควบคุมวัชพืชได้ วัชพืชเหล่านั้นก็จะแข่งขันแย่งน้ำ ธาตุอาหาร และแสงแดด ทำให้การเจริญเติบโต ของข้าวโพดช้าลง ได้ผลผลิตข้าวโพดต่ำ ปัญหาดังกล่าวนี้นี้จะพบในแหล่งการปลูกข้าวโพดทั่วไป โดย เกษตรกรจะแก้ปัญหาด้วยการใช้สารกำจัดวัชพืช paraquat 27.6% W/V SL ซึ่งการใช้วิธีการนี้สามารถ กำจัดวัชพืชได้ในระดับหนึ่ง ขณะเดียวกันก็พบว่า ข้าวโพดเกิดอาการเป็นพิษขึ้นด้วย ดังนั้นเพื่อให้การใช้ สาร paraquat 27.6% W/V SL มีประสิทธิภาพและมีพิษกับข้าวโพดน้อยที่สุด จึงควรทดสอบสารกำจัด วัชพืช paraquat 27.6% W/V SL ในช่วงหลังการปลูกข้าวโพดต่างกัน เพื่อให้การกำจัดวัชพืชได้ผลดีและ เป็นพิษกับข้าวโพดน้อยที่สุด และใช้เป็นข้อมูลในการจัดทำคู่มือคำแนะนำ สำหรับเกษตรกร หรือผู้สนใจ ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- 1.ข้าวโพดหวาน พันธุ์ Hibrix3
- 2.สารกำจัดวัชพืช ได้แก่ alachlor 48% W/V EC atrazine 80% WP และ
- 3.สารป้องกันกำจัดโรคและแมลง

4.ปุ๋ยสูตร 15-15-15

5.ถุงกระดาษ และถุงพลาสติก

วิธีการ

แผนการทดลอง วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ 9 กรรมวิธี ประกอบด้วย ช่วงเวลาการใช้สาร paraquat 27.6% W/V SL 2, 3, 4, 5 และ 6 สัปดาห์ หลังข้าวโพดงอก เปรียบเทียบกับการใช้สาร atrazine 80% WP และ alachlor 48% W/V EC อัตรา 300, 300 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ตามลำดับ วิธีการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน และวิธีไม่กำจัดวัชพืช

การปฏิบัติการทดลองใช้แปลงขนาด 4X8 เมตร หลังการเตรียมดินทำการปลูกโดยใช้ระยะปลูก 75x75 เซนติเมตร หยอดเป็นหลุมหลุมละ 4 เมล็ด กลบดินหนา ประมาณ 2-3 เซนติเมตร พันด้วยสารกำจัดวัชพืช atrazine 80% WP และ alachlor 48% W/V EC ตามอัตราที่กำหนดทันทีหลังปลูก เมื่อข้าวโพดอายุประมาณ 15 วัน ถอนต้นเหลือไว้ หลุมละ 3 ต้น และพันด้วยสาร paraquat 27.6% W/V SL อัตรา 120 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ เมื่อข้าวโพดงอกแล้ว 2, 3, 4, 5 และ 6 สัปดาห์ และกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน หลังปลูก 30 วัน

การบันทึกข้อมูล ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช ความเป็นพิษ ชนิดและน้ำหนักแห้งวัชพืชจากกรอบขนาด 0.5x0.5 เมตร จำนวน 2 จุด การเจริญเติบโตและผลผลิตของถั่วเหลือง นำข้อมูลมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ อธิบายผลและเขียนรายงานผลการทดลอง

เวลาและสถานที่

ทำการทดลองระหว่างเดือน พฤษภาคม 2555 ถึง สิงหาคม 2555 ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรลพบุรี จังหวัดลพบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืช

การประเมินความเป็นพิษของสาร paraquat 27.6% W/V SL อัตรา 120 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ พันในช่วงเวลาการใช้สาร 2, 3, 4, 5 และ 6 สัปดาห์ หลังข้าวโพดงอก พบความเป็นพิษต่อข้าวโพดเล็กน้อยถึงปานกลางในระยะ 7 วันพ่นสาร มีระดับคะแนนอยู่ระหว่าง 2.33-4.67 และความเป็นพิษลดลงที่ระยะ 30 วันหลังการพ่นสาร ในกรรมวิธีช่วงเวลาการใช้สาร paraquat 27.6% W/V SL 2 และ 3 สัปดาห์ หลังข้าวโพดงอก มีระดับคะแนนอยู่ที่ 1.15 และ 2.00 และแสดงอาการเป็นพิษเพียงเล็กน้อยในกรรมวิธีการใช้สาร paraquat 27.6% W/V SL 4, 5 และ 6 สัปดาห์หลังข้าวโพดงอก มีระดับคะแนน 0.5 ซึ่งอาการเป็นพิษดังกล่าวจะเกิดขึ้นเฉพาะส่วนของใบล่างข้าวโพด ซึ่งเป็นบริเวณที่มีโอกาสสัมผัสกับสารมากที่สุด เมื่อข้าวโพดมีการเจริญเติบโตใบล่างที่สัมผัสสารจะค่อย ๆ แห้ง และตายไป ซึ่งในขณะที่พ่นสาร

มีความจำเป็นที่จะต้องกดหัวพ่นให้ต่ำ และให้สัมผัสกับต้นข้าวโพดน้อยที่สุด ในขณะที่การพ่นสาร atrazine 80% WP อัตรา 300 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ มีอาการเป็นพิษเล็กน้อยที่ระยะ 7 วันหลังพ่นสาร ส่วน alachlor 48% W/V EC อัตรา 300 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ไม่พบอาการเป็นพิษต่อต้นข้าวโพดเลย(ตารางที่ 1)

ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช

สำหรับประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชที่ระยะ 7, 15 และ 30 วันหลังพ่นสาร พบว่าช่วงเวลาการใช้สาร paraquat 27.6% W/V SL 2, 3, 4, 5 และ 6 สัปดาห์ หลังข้าวโพดงอก มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชประเภทใบแคบ และประเภทใบกว้างได้ดี ในระยะ 7 วันหลังพ่นสาร และประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชลดลงเล็กน้อยในระยะ 30 วันหลังพ่นสาร จะเห็นได้ว่า ช่วงเวลาการใช้สารที่ 2 และ 3 สัปดาห์หลังข้าวโพดงอก จะมีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชได้ดีกว่า เนื่องจากช่วงเวลาดังกล่าววัชพืชที่งอกขึ้นมา มีขนาดเล็กทำให้สารกำจัดวัชพืชมีประสิทธิภาพดีกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับพ่นสารในช่วงเวลา 4, 5 และ 6 สัปดาห์ หลังข้าวโพดงอก ที่วัชพืชมีขนาดต้นที่ใหญ่ขึ้น เมื่อพ่นสารมีผลทำให้สารกำจัดวัชพืชที่พ่นไม่สามารถตกกระทบถึงส่วนต่าง ๆ ของพืชได้ ทำให้วัชพืชสามารถฟื้นตัวได้(ตารางที่ 1)

จำนวนต้นละอาน้ำหนักแห้งวัชพืช

การสุ่มเก็บตัวอย่างจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืชที่ระยะ 30 หลังพ่นสาร พบวัชพืชประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colona* (L.) Link.) และหญ้าตีนนก (*Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel.) วัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ ผักเบี้ยหิน(*Trianthema portulacastrum* L.) ผักโขมหิน (*Boerhavia erecta* L.) และ ปอวัชพืช(*Corchorus olitorius* L.) ทุกกรรมวิธีการพ่นสารในทุกช่วงเวลา และกรรมวิธีการพ่นสาร atrazine 80% WP สาร alachlor 48% W/V EC และกรรมวิธีการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน มีจำนวนต้นวัชพืชแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช ส่วนน้ำหนักแห้งวัชพืช พบว่ามีแนวโน้มเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับจำนวนต้นวัชพืช (ตารางที่ 2 และ 3)

ความสูงและผลผลิตข้าวโพด

เมื่อสุ่มวัดความสูงต้นข้าวโพด ที่ระยะ 30 วันหลังปลูก และก่อนเก็บเกี่ยว พบว่าที่ระยะ 30 วันหลังปลูก ทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และความสูงต้นก่อนเก็บเกี่ยวข้าวโพด พบว่าทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยมีความสูงเฉลี่ยของข้าวโพด 193.2-204.6 เซนติเมตร (ตารางที่ 4)

น้ำหนักฝักเฉลี่ย 10 ฝัก พบว่า ทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทั้งน้ำหนักฝักทั้งเปลือก และปอกเปลือก แต่ช่วงเวลาการใช้สาร paraquat 27.6% W/V SL 3 สัปดาห์หลังปลูกข้าวโพด มีแนวโน้มน้ำหนักฝักทั้งเปลือก และปอกเปลือก มากที่สุด 4.4 และ 3.3 กิโลกรัม ตามลำดับ สำหรับผลผลิตข้าวโพด พบว่า ทุกกรรมวิธีให้ผลผลิตทั้งเปลือกไม่แตกต่างกัน แต่กรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช มีผลผลิตทั้งเปลือกน้อยที่สุด 2,456

กิโลกรัมต่อไร่ ส่วนผลผลิตข้าวโพดปลูกเปลือก พบว่าช่วงเวลาการใช้สาร paraquat 27.6% W/V SL 4 สัปดาห์หลังข้าวโพดงอก มีผลผลิตมากที่สุด 1,967 กิโลกรัมต่อไร่ ช่วงเวลาการใช้สาร paraquat 27.6% W/V SL 2, 3, 5 และ 6 สัปดาห์ หลังข้าวโพดงอก มีผลผลิต 1,611, 1,792, 1,635 และ 1,563 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ สำหรับช่วงเวลาการใช้สาร paraquat 27.6% W/V SL 6 สัปดาห์หลังข้าวโพดงอก มีผลผลิตข้าวโพดน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับช่วงเวลาการใช้สารอื่น ๆ (ตารางที่ 5) เนื่องจากจำนวน และ ปริมาณวัชพืชมีมาก วัชพืชมีการเจริญเติบโตแข่งขันกันกับการเจริญเติบโตของข้าวโพด อีกทั้งช่วงเวลาการ พ่นสารดังกล่าวอยู่ในช่วงข้าวโพดกำลังออกดอกซึ่งส่งผลกระทบต่อผลผลิตข้าวโพด ส่วนการใช้สาร atrazine 80% WP และ สาร alachlor 48% W/V EC มีผลผลิต 1,917 และ 1,896 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันกับกรรมวิธีกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน ที่มีผลผลิต 1,709 กิโลกรัมต่อไร่ แต่แตกต่าง ทางสถิติกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืชที่มีผลผลิตข้าวโพด 1,488 กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 5)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ช่วงเวลาการใช้สาร paraquat 27.6% W/V SL 2, 3, 4, 5 และ 6 สัปดาห์ หลังข้าวโพดงอก อัตรา 120 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ เป็นพิษต่อข้าวโพดเล็กน้อยถึงปานกลางในระยะ 7 วัน และความเป็น พิษลดลงที่ระยะ 30 วันหลังการใช้สาร ส่วนประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชที่ระยะ 7, 15 และ 30 วันหลัง พ่นสาร พบว่า ช่วงเวลาการใช้สาร paraquat 27.6% W/V SL 2, 3, 4, 5 และ 6 สัปดาห์ หลังข้าวโพด งอก อัตรา 120 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้านก สีชมพู (*Echinochloa colona* (L.) Link.) และหญ้าตีนนก (*Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel.) วัชพืช ประเภทใบกว้าง ได้แก่ ผักเบี้ยหิน (*Trianthema portulacastrum* L.) ผักโขมหิน (*Boerhavia erecta* L.) และ ปอวัชพืช (*Corchorus olitorius* L.) จากผลการทดลองนี้ควรต้องทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัด วัชพืชซ้ำเพื่อให้ผลที่ได้มีความเที่ยงตรงมากยิ่งขึ้นก่อนใช้เป็นคำแนะนำต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- นิรนาม. 2547. คำแนะนำการป้องกันกำจัดวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืช. กลุ่มวิจัยวัชพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 133 หน้า.
- นิรนาม. 2552ก. วิธีการปลูกข้าวโพด.[ออนไลน์]. แหล่งข้อมูล:
<http://blog.hunsa.com/nutcha6346/blog/5667>. (29 มกราคม 2555)
- นิรนาม. 2552ข. คำแนะนำการป้องกันและกำจัดวัชพืชในข้าวโพด.[ออนไลน์]. แหล่งข้อมูล:
<http://agriqua.doae.go.th/plantclinic/clinic/other/weed/corn.pdf> (29 มกราคม 2555)
- วันชัย ถนอมทรัพย์ และสันติ พรหมคำ. 2552. การจัดการวัชพืชในแปลงข้าวโพดหวานฝักสด.[ออนไลน์].
แหล่งข้อมูล: <http://as.doa.go.th/fieldcrops/vcorn/oth/004.pdf> (29 มกราคม 2555)

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 ผลของสารกำจัดวัชพืชต่อความเป็นพิษและประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชจากการประเมินด้วยสายตาหลังพ่นสาร

กรรมวิธีการทดลอง	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่)	คะแนนความเป็นพิษ			คะแนนประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช ^{2/}		
		ต่อข้าวโพด ^{1/}			วัชพืช ^{2/}		
		7 วัน	15 วัน	30 วัน	7 วัน	15 วัน	30 วัน
paraquat 27.6% W/V SL (2 w)	120	4.33	3.00	1.15	9.85	8.50	7.50
paraquat 27.6% W/V SL (3 w)	120	4.67	3.00	1.20	9.80	8.00	7.50
paraquat 27.6% W/V SL (4 w)	120	3.00	2.75	0.05	8.67	8.00	8.00
paraquat 27.6% W/V SL (5 w)	120	2.33	1.50	0.05	8.33	8.00	8.00
paraquat 27.6% W/V SL (6 w)	120	2.50	1.50	0.05	8.00	8.25	8.50
atrazine 80% WP	300	1.00	0.00	0.00	10.00	8.25	8.00
alachor	300	0.00	0.00	0.00	10.00	8.50	7.50
กำจัดวัชพืชด้วย แรงงานคน	-	-	-	-	-	-	9.00
วิธีไม่กำจัดวัชพืช	-	-	-	-	-	-	-

1/ คะแนนความเป็นพิษต่อพืชปลูก

0 = ไม่เป็นพิษต่อพืชปลูก

1 – 3 = เป็นพิษต่อพืชปลูกเล็กน้อย

4 – 6 = เป็นพิษต่อพืชปลูกปานกลาง

7 – 9 = เป็นพิษต่อพืชปลูกรุนแรง

10 = พืชปลูกตายหมด

2/ คะแนนประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช

0 = ไม่สามารถควบคุมวัชพืชได้

1 – 3 = ควบคุมวัชพืชได้เพียงเล็กน้อย

4 – 6 = ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง

7 – 9 = ควบคุมวัชพืชได้ดี

10 = ควบคุมวัชพืชได้หมด

ตารางที่ 2 ผลของสารกำจัดวัชพืชต่อจำนวนต้นวัชพืช (ต้น/ตารางเมตร) ที่ระยะ 30 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์ต่อ ไร่)	หน่อก สีชมพู	หญ้า ตีนนก	ผักเบี้ยหิน	ผักโขมหิน	ปอวัชพืช
paraquat 27.6% W/V SL (2 w)	120	2.2a	12.2a	11.3 a	0.0a	3.2a
paraquat 27.6% W/V SL (3 w)	120	3.2a	8.5a	3.0 a	0.0a	5.5a
paraquat 27.6% W/V SL (4 w)	120	1.0a	26.2a	0.0 a	0.0a	12.5ab
paraquat 27.6% W/V SL (5 w)	120	6.5a	8.7a	0.0 a	0.5a	24.5bc
paraquat 27.6% W/V SL (6 w)	120	9.0a	10.2a	0.0 a	1.5a	11.0ab
atrazine 80% WP	300	3.7a	40.2b	8.0 b	0.5a	0.2a
alachor	300	5.2a	16.0a	2.5 a	1.0a	1.7a
กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานคน	-	0.0a	2.0a	1.5 a	0.0a	2.5a
วิธีไม่กำจัดวัชพืช	-	34.7b	41.0b	23.3 d	11.5b	35.2c
C.V. (%)		119.97	91.51	102.2	125.4	125.07

1/ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ตารางที่ 3 ผลของสารกำจัดวัชพืชต่อน้ำหนักแห้งวัชพืช (กรัม/ตร.ม.) ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช

กรรมวิธีการทดลอง	อัตรา(กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่)	หญ้า นกสีชมพู	หญ้า ตีนนก	ผักเบี้ยหิน	ผัก โขมหิน	ปอวัชพืช
paraquat 27.6% W/V SL (2 w)	120	5.2a	10.7 ab	15.1 b	0.0a	5.5 a
paraquat 27.6% W/V SL (3 w)	120	5.5a	8.6 a	5.9 a	0.0a	8.5 a
paraquat 27.6% W/V SL (4 w)	120	0.2a	18.8 ab	0.0 a	0.0a	31.5 bc
paraquat 27.6% W/V SL (5 w)	120	6.2a	5.5 a	0.0 a	0.0 a	25.5 bc
paraquat 27.6% W/V SL (6 w)	120	8.5a	12.5 ab	0.0 a	1.9 a	15.0 ab
atrazine 80% WP	300	2.5a	55.5 c	9.4 a	7.2 b	0.5 a
alachor	300	6.0a	21.2 ab	5.9 a	3.0 a	1.5 a
กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานคน	-	0.0a	1.7 a	1.0a	0.0 a	2.0 a
วิธีไม่กำจัดวัชพืช	-	42.5b	58.0c	30.3 d	21. 5b	41.5 c
C.V. (%)			119.97	101.41	102.2	111.4

1/ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ตารางที่ 4 ความสูงของข้าวโพดหวาน

กรรมวิธีการทดลอง	อัตราการใช้(กรัมสาร ออกฤทธิ์ต่อไร่)	ความสูงที่ 30 วัน หลังปลูก	ความสูงต้นก่อน เก็บเกี่ยว(ซม.)
paraquat 27.6% W/V SL (พ่นหลัง งอก 2 สัปดาห์)	120	118.2 ns	196.8 ab
paraquat 27.6% W/V SL (พ่นหลัง งอก 3 สัปดาห์)	120	114.7	198.2 ab
paraquat 27.6% W/V SL (พ่นหลัง งอก 4 สัปดาห์)	120	115.5	195.5 ab
paraquat 27.6% W/V SL (พ่นหลัง งอก 5 สัปดาห์)	120	113.4	195.2 ab
paraquat 27.6% W/V SL (พ่นหลัง งอก 6 สัปดาห์)	120	116.1	198.7 ab
atrazine 80% WP (พ่นหลังปลูก 7 วัน)	300	120.6	201.9 a
alachor (พ่นก่อนงอก)	300	123.4	204.6 a
กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานคน	-	118.7	198.3 ab
วิธีไม่กำจัดวัชพืช	-	118.8	192.8 b
C.V.(%)		5.1	2.8

1/ ค่าเฉลี่ยในสมคม์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ตารางที่ 5 น้ำหนักฝักเฉลี่ย 10 ฝัก และผลผลิตของข้าวโพดหวาน

กรรมวิธีการทดลอง	อัตราการใช้ (กรัมสารออก ฤทธิ์ต่อไร่)	น้ำหนักฝักเฉลี่ย 10 ฝัก(ก.ก)		ผลผลิตต่อไร่ (กก.)	
		ทั้งเปลือก	ปอกเปลือก	ทั้งเปลือก	ปอกเปลือก
paraquat 27.6% W/V SL (พ่นหลังงอก 2 สัปดาห์)	120	4.2 a	3.3 a	2,915 ns	1,611 ab
paraquat 27.6% W/V SL (พ่นหลังงอก 3 สัปดาห์)	120	4.4 a	3.3 a	2,904	1,992 a
Paraquat 27.6% W/V SL (พ่นหลังงอก 4 สัปดาห์)	120	4.2 a	3.1 a	2,477	1,967 a
paraquat 27.6% W/V SL (พ่นหลังงอก 5 สัปดาห์)	120	4.1 ab	3.1 a	2,611	1,635 ab
paraquat 27.6% W/V SL (พ่นหลังงอก 6 สัปดาห์)	120	4.2 a	3.1 a	2,549	1,563 ab
atrazine 80% WP (พ่นหลังปลูก 7 วัน)	300	4.3 a	3.2 a	2,981	1,917 ab
alachor (พ่นก่อนงอก)	300	4.1 ab	3.1 a	2,944	1,896 ab
กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานคน	-	4.3 a	3.3 a	2,765	1,709 ab
วิธีไม่กำจัดวัชพืช	-	3.5 b	2.5 b	2,456	1,488 b
C.V.(%)		4.4	8.48	8.78	13.20

1/ ค่าเฉลี่ยในสมมุติเดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่โดยวิธี DMRT ระดับความเชื่อมั่น 95 %

การศึกษาประสิทธิภาพของพืชคาโลโปโกเนียม ซีรูเลียม ต่อการควบคุมหญ้าคา
 Study on Efficacy of *Calopogonium caeruleum* on Cogongrass
 Weed Control

ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย^{1/} คมสัน นครศรี^{1/} เกียรติรวี พันไชยศรี^{1/} นงลักษณ์ บั้นลาย^{2/}
^{1/} กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
^{2/} ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรลพบุรี สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5

บทคัดย่อ

การศึกษาประสิทธิภาพของพืชคาโลโปโกเนียม ซีรูเลียม ต่อการควบคุมหญ้าคา วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ประกอบด้วย จำนวนต้นของถั่วซีรูเลียม 1, 2, 3 และ 4 ต้นต่อตารางเมตร วิธีตัดวัชพืช และไม่ปลูกถั่วซีรูเลียม ทำการทดลองระหว่างเดือน มกราคม 2555 ถึง มกราคม 2556 ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรลพบุรี จังหวัดลพบุรี พบว่าหลังการปลูก *C. caeruleum* 1-2 เดือน ถั่ว *C. Caeruleum* มีความสามารถในการแข่งขันกับหญ้าน้อยมาก และที่ 3-6 เดือนหลังปลูก ถั่ว *C. caeruleum* เริ่มมีการเจริญเติบโตเร็วขึ้น มีการแข่งขันกันกับหญ้าคาสังเกตได้จากช่วงแรกถั่ว *C. Caeruleum* จะเลื้อยตามพื้นดิน เมื่อมีการเจริญเติบโตเต็มที่จะเกาะต้นหญ้าคาให้ล้มลง ในกรรมวิธีที่มีจำนวนต้นถั่ว *C. Caeruleum* ที่ 3 และ 4 ต้นต่อตารางเมตร มีการแข่งขันสูงที่สุด

รหัสการทดลอง 03-04-54-01-04-02-01-54

คำนำ

หญ้าคา ชื่อวิทยาศาสตร์ *Imperta cylindrical Beauv* ชื่อสามัญ Cogongrass เป็นวัชพืชอายุหลายปีแพร่ระบาดด้วยไหลใต้ดินและเมล็ด ผลิตเมล็ดได้มากถึง 3,000 เมล็ดต่อต้น ขยายพันธุ์รวดเร็วด้วยไหลใต้ดิน(Holm *et al.*1977) ทำความเสียหายด้วยแก่งแย่งธาตุอาหารและน้ำกับพืชปลูก ปลดปล่อยสารธรรมชาติบางชนิดที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชอื่น หญ้าคาพบได้ทั้งในพืชไร่ พืชสวนและพื้นที่รกร้างว่างเปล่า เจริญเติบโตได้ดีทั้งในที่ดินแห้งและดินชื้น การกำจัดหญ้าคาสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การเผา การใช้จอบสับลำต้นใต้ดินให้เป็นชิ้นเล็กชิ้นน้อยและการใช้สารกำจัดวัชพืชซึ่งสะดวกและรวดเร็ว อย่างไรก็ตามการใช้สารกำจัดวัชพืชปริมาณที่มากอาจมีผลกระทบต่อทั้งพืชปลูก เกษตรกร ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อมได้ การป้องกันกำจัดอีกวิธีหนึ่งที่จะช่วยลดการใช้สารกำจัดวัชพืชในหญ้าคาได้คือ การใช้พืชคลุมดินเพื่อป้องกันการงอกและการเจริญเติบโตของวัชพืช โดยวิธีการใช้พืชตระกูลถั่วปลูกคลุมดิน นอกจากนั้นพืชตระกูลถั่วเมื่อตายและเน่าสลายตัวก็จะเป็นปุ๋ยช่วยบำรุงดิน และยังช่วยป้องกันการชะล้างของหน้าดินที่ปลูกพืชในสภาพลาดชันได้ด้วย พืชตระกูลถั่วที่นิยมปลูกในสวนปาล์มน้ำมันและยางพารา ได้แก่ *Calopodonium caeruleum*, *Calopogonium mucinoides*, *Pueraria phaseoloides*, *Centrosema pubescens* และ *Mucuna cochinchinensis* (นิรนาม,2547) สำหรับถั่ว *C. caeruleum* เป็นประเภทเถาเลื้อย ทนร่มเงาได้ดี มีปัญหาโรคแมลงรบกวนน้อย ส่วนพืชตระกูลถั่วที่เหลือทนร่มเงาได้น้อยกว่าเมื่อปาล์มน้ำมันหรือยางพาราโตขึ้นมีร่มเงาถั่วพวกนี้จะค่อยๆลดลงและตายไป ยกเว้นถั่ว *C. caeruleum* ดังนั้นจึงควรนำถั่วชนิดนี้มาทดสอบหาประสิทธิภาพในการควบคุมหญ้าคา เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการจัดทำคู่มือคำแนะนำสำหรับเกษตรกรหรือผู้สนใจต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ต้นปักชำของถั่วซีรูเลียม
2. ปุ๋ยเคมี
3. ถุงกระดาษและถุงพลาสติก

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ประกอบด้วย จำนวนต้นของถั่วซีรูเลียม 1, 2, 3 และ 4 ต้นต่อตารางเมตร วิธีตัดวัชพืช และไม่ปลูกถั่วซีรูเลียม การปฏิบัติการทดลองในพื้นที่ปลูกไม้ผลที่มีหญ้าคาขึ้นอยู่ขนาดแปลง 4x4 เมตร หลังตัดหญ้าคาแล้วจึงขุดหลุมปลูกต้นถั่วซีรูเลียมตามอัตราที่กำหนด และทำการดูแลรักษาต้นถั่วซีรูเลียมเหมือนพืชปลูกอื่นๆ

การบันทึกข้อมูล

การเก็บข้อมูล ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช ระยะเวลาที่ถั่วคลุมพื้นที่ทั้งหมด จำนวนและน้ำหนักหญ้าคา นำข้อมูลมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ อธิบายผลและเขียนรายงานผลการทดลอง

เวลาและสถานที่

ทำการทดลองระหว่างเดือน กรกฎาคม 2555 ถึง มกราคม 2556 ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการลพบุรี จังหวัดลพบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของ *Calopodonium caeruleum* ในแปลงที่มีหญ้าคา พบว่า ที่ 15 วันหลังการปลูกถั่ว *C. caeruleum* ในทุกกรรมวิธีการทดลอง พบว่า ถั่ว *C. caeruleum* สามารถมีชีวิตรอดได้ แต่มีการเจริญเติบโตช้า ๆ ระยะเวลา 30 วันหลังปลูกถั่ว *C. caeruleum* ถั่วเริ่มมีการเจริญเติบโตทางด้านลำต้นได้ดี สังเกตจากการแตกกิ่งใหม่ แต่ยังไม่พบการแข่งขันกับหญ้าคา ซึ่งจำนวน 1, 2, ต้นต่อตารางเมตร มีประสิทธิภาพในการควบคุมหญ้าประเินด้วยสายตา ได้เล็กน้อย ได้คะแนน 1 และ 2 ในกรรมวิธีการปลูกถั่ว *C. Caeruleum* จำนวน 3 และ 4 ต้นต่อตารางเมตร ประเินได้ระดับคะแนน 3 และ 3 คะแนน (ตารางที่ 1) จะเห็นได้ว่าระยะ 1 -2 เดือนหลังการปลูกการเจริญเติบโตถั่ว *C. Caeruleum* มีความสามารถในการแข่งขันกับหญ้าน้อยมาก ทั้งนี้เนื่องมาจากปริมาณจำนวนต้นถั่วต่อพื้นที่และ การเจริญเติบโตของถั่ว *C. caeruleum* ซึ่งลักษณะการเจริญเติบโตในระยะแรกจะเจริญเติบโตเลื้อยไปตามผิวดินไม่ยึดเกาะกับต้นพืชที่อยู่ในแนวตั้ง เมื่อทอดยอดไปพบวัชพืชใดจะเบนเลื้อยออกไปจนกว่าต้นถั่วจะเจริญเต็มพื้นที่ (สุจิน และคณะ 2526) และเริ่มมีการคลุมวัชพืชได้ตั้งแต่ 3 เดือน ซึ่งการเจริญเติบโตดังกล่าวเป็นไปอย่างรวดเร็ว โดยในทุกกรรมวิธีการปลูกที่จำนวนต้น 1, 2, 3 และ 4 ต้นต่อตารางเมตร มีจำนวนกิ่งเฉลี่ยระหว่าง 5-8.2 กิ่งต่อต้น และความสูงเฉลี่ยระหว่าง 102.9-135.9 เซนติเมตร (ตารางที่ 2) ขณะที่ช่วง 4 เดือนหลังปลูก ถั่ว *C. caeruleum* เริ่มมีการเจริญเติบโตเร็วขึ้น พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การคลุมพื้นที่ประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญเติบโตทางด้านลำต้น มีจำนวนกิ่งเฉลี่ยมากกว่า 10 กิ่งต่อต้น และมีความสูงเฉลี่ยมากกว่า 300 เซนติเมตร และพบการแข่งขันระหว่างถั่ว *C. Caeruleum* กับหญ้าคา ในระยะ 3-4 เดือนหลังปลูก สังเกตได้จากช่วงแรกถั่ว *C. Caeruleum* จะเลื้อยตามพื้นดิน เมื่อมีการเจริญเติบโตเต็มที่ก็จะเกาะต้นหญ้าคาให้ล้มลง จนไม่สามารถมองเห็นต้นหญ้าได้ ซึ่งพบในกรรมวิธีที่มีจำนวนต้นถั่ว *C. Caeruleum* ที่ 3 และ 4 ต้นต่อตารางเมตร เมื่อเริ่มเข้าสู่เดือนที่ 6 ซึ่งตรงกับช่วงฤดูหนาว การเจริญเติบโตของถั่ว *C. Caeruleum* ลดลง เนื่องจากเป็นช่วงออกดอกและติดเมล็ด มีผลทำให้การแข่งขันกับหญ้านาลดลงเช่นกัน แต่ก็ยังไม่พบการงอกใหม่ของหญ้านาในกรรมวิธีที่มีจำนวนต้น

ถั่ว *C. Caeruleum* ที่ 3 และ 4 ต้นต่อตารางเมตร ในขณะที่กรรมวิธีการปลูกที่จำนวนต้น 1 และ 2 ต้นต่อตารางเมตร ยังพบว่ามีความหนาแน่นของถั่ว ซึ่งอยู่ระหว่างการสุมนับจำนวนต้นหนาแน่นในทุกกรรมวิธีการทดลอง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

หลังการปลูก *C. caeruleum* 1-2 เดือน ถั่ว *C. Caeruleum* มีความสามารถในการแข่งขันกับหญ้าคาอย่างมาก และที่ 3-6 เดือนหลังปลูก ถั่ว *C. caeruleum* เริ่มมีการเจริญเติบโตเร็วขึ้น มีการแข่งขันกันกับหญ้าคาสังเกตได้จากช่วงแรกถั่ว *C. Caeruleum* จะเลื้อยตามพื้นดิน เมื่อมีการเจริญเติบโตเต็มที่ก็จะเกาะต้นหญ้าคาให้ล้มลง ในกรรมวิธีที่มีจำนวนต้นถั่ว *C. Caeruleum* ที่ 3 และ 4 ต้นต่อตารางเมตร มีการแข่งขันสูงที่สุด (อยู่ระหว่างการเก็บข้อมูล)

เอกสารอ้างอิง

นิรนาม. 2547. คำแนะนำการป้องกันกำจัดวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืช.กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 133 หน้า.

สุจินต์ แม่นเหมือน ประเทือง คลกิจ และภัทรารัฐ จิวตระกูล. 2526. พืชคลุมคาโลโปโกเนียม ซีรูเลียม.วารสารยางพารา. 4(1):33-45

Holm, L.G., D.L. Plucknett, J.V. Pancl and J.P. Herberger. 1977. The World's Worst Weeds. The univ. Press of Hawii, Hawaii. 609 p.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชที่ระยะ 15, 30, 60 และ 90 หลังปลูกถั่ว *Calopodonium caeruleum*

กรรมวิธี	ประสิทธิภาพในการควบคุมหญ้าคา			
	15 วันหลังปลูก	30 วันหลังปลูก	60 วันหลังปลูก	90 วันหลังปลูก
1 ต้น/ตร.ม.	0	0	5	6
2 ต้น/ตร.ม.	0	0	6	8
3 ต้น/ตร.ม.	0	3	7	8
4 ต้น/ตร.ม.	0	3	7	9
วิธีตัดวัชพืช	-	-	-	-
ไม่ปลูกถั่วสิริเสียม	-	-	-	-

หมายเหตุ คະแนนประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช

0 = ไม่สามารถควบคุมวัชพืชได้

1 – 3 = ควบคุมวัชพืชได้เพียงเล็กน้อย

4 – 6 = ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง

7 – 9 = ควบคุมวัชพืชได้ดี

10 = ควบคุมวัชพืชได้หมด

ตารางที่ 2 จำนวนกิ่ง และความสูงเฉลี่ยของต้นถั่ว *Calopodonium caeruleum* หลังปลูก

กรรมวิธี	จำนวนกิ่งเฉลี่ยต่อต้น				ความสูงเฉลี่ยต่อต้น(ซม.)		
	1 เดือน หลังปลูก	2 เดือน หลังปลูก	3 เดือน หลังปลูก	4 เดือน หลังปลูก	1 เดือน หลังปลูก	2 เดือน หลังปลูก	3เดือน หลังปลูก
1 ต้น/ตร.ม.	1.5	3.5	5.0	>10	47.80	118.68	261.34
2 ต้น/ตร.ม.	1.7	4.4	7.3	>10	43.07	116.82	276.55
3 ต้น/ตร.ม.	1.6	4.5	7.0	>10	50.24	124.18	272.52
4 ต้น/ตร.ม.	1.7	5.5	8.2	>10	52.24	123.80	252.44
วิธีตัดวัชพืช	-		-	-	-	-	-
ไม่ปลูกถั่วซีรูลีเยม	-		-	-	-	-	-

ผลของอัตราความเข้มข้นของสารกำจัดวัชพืชและปริมาณน้ำต่อประสิทธิภาพการควบคุม
วัชพืชโดยใช้เทคนิคการลูบ

The Effect of Concentrate of Herbicide and Spray Volume on Weed
Control with Wiping Technique Application

ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย คมสัน นครศรี เกียรติวิ พันไชยศรี

กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของปริมาณน้ำต่อประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชโดยใช้เทคนิคการลูบ วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 10 กรรมวิธี การกำจัดวัชพืชประเภทใบกว้าง ใช้สารกำจัดวัชพืช 2, 4-D อัตรา 160 กรัม ai/ไร่ กับน้ำ อัตรา 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 และ 40 ลิตร เปรียบเทียบกับวิธีการพ่นที่ อัตรา 160 ai/ไร่ ปริมาณน้ำ 80 ลิตรต่อไร่ และไม่กำจัดวัชพืช ทำการทดลองระหว่างเดือน พฤษภาคม – สิงหาคม 2554 ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกาญจนบุรี จังหวัดกาญจนบุรี จากผลการทดลองพบว่า สาร 2, 4-D อัตรา 160 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ กับน้ำปริมาณ 5, 10 และ 15 ลิตรต่อไร่ มีแนวโน้มในการควบคุมหญ้าได้ดี โดยมีประสิทธิภาพในการควบคุมหญ้าได้ดี ถึง 30 วันหลังลูบสาร และมีจำนวนต้นตายมากที่สุด 182.75 11.025 และ 70.00 ต้นต่อตารางเมตร แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีการใช้น้ำปริมาณ 80 ลิตรต่อไร่ และไม่กำจัดวัชพืช ที่เป็นตัวเปรียบเทียบ ที่มีจำนวนต้นตาย 47.5 และ 5.00 ต้นต่อตารางเมตร

รหัสการทดลอง 03-04-54-02-04-02-03-54

คำนำ

การใช้สารกำจัดวัชพืชให้มีประสิทธิภาพ จะต้องมียุทธศาสตร์ในการนำสารกำจัดวัชพืชไปให้สัมผัสกับเป้าหมายก็คือ วัชพืช ส่วนอุปกรณ์ที่ใช้ คือ เครื่องพ่น แม้ในปัจจุบันจะมีเครื่องพ่นอยู่หลายประเภท เช่น เครื่องพ่นแบบสูบจักรยาน เครื่องพ่นแบบโยกสะพายหลัง เครื่องพ่นแบบเครื่องยนต์สะพายหลัง และ เครื่องพ่นแบบน้ำน้อย (CDA) แต่สำหรับการป้องกันกำจัดวัชพืชเครื่องพ่นที่แนะนำให้ใช้ คือ เครื่องพ่นแบบโยกสะพายหลัง (knapsack sprayer) เนื่องจากเครื่องพ่นประเภทนี้ขณะที่พ่นทำให้แนวของการพ่นสม่ำเสมอ แรงดันขนาด 3 บาร์ทำให้สารละลายที่พ่นออกมามีละอองสารขนาดพอเหมาะที่ทำให้ใบวัชพืชรับละอองสารละลายที่เพียงพอที่ใบวัชพืชจะดูดซับเอาสารละลายสารกำจัดวัชพืชเข้าไปภายในใบได้อย่างรวดเร็ว จึงมีผลต่อการตายของวัชพืชได้เร็วขึ้น ในระยะ 4-5 ปี ที่ผ่านมาเกิดปัญหาของระบาดของข้าววัชพืชในนาข้าวโดยเฉพาะการทำนาข้าวแบบหว่านน้ำตม ข้าววัชพืชบางชนิดจะตั้งท้องและออกรวงก่อนข้าวปลูก ข้าววัชพืชชนิดนี้เมล็ดสุกแก่ก่อนข้าวปลูกแต่เมล็ดจะร่วงจึงเป็นปัญหาที่ไม่สามารถเก็บเกี่ยวข้าวได้ สำหรับข้าววัชพืชชนิดนี้เมื่อเริ่มตั้งท้องและออกรวง ข้าววัชพืชจะสูงกว่าข้าวปลูก การแก้ปัญหาของเกษตรกรโดยการข้าววัชพืช และถ้าใช้สารกำจัดวัชพืชจะใช้วิธีการป้ายด้วยสารกำจัดวัชพืชประเภทดูดซึมที่ละลายใบหรือช่อดอกขณะยังอ่อน สำหรับอุปกรณ์การป้ายนั้นใช้ไม้ไผ่ยาวประมาณ 2 เมตร ใช้ผ้าเช็ดตัวพันโดยรอบเหลือเป็นด้ามสำหรับถือยาว 50 เซนติเมตร ส่วนวิธีการใช้จะนำสารกำจัดวัชพืชประเภทดูดซึมผสมกับน้ำ 1 ลิตร นำส่วนผสมของสารกำจัดวัชพืชไปเทลงบนผ้าเช็ดตัวที่พันรอบไม้ไผ่ให้เปียกโชกแล้วใช้มือที่ใส่ถุงมือชุบน้ำเช็ดตัวให้ได้ความชื้นพอประมาณหรือไม่ให้เกิดหยดจากผ้าเช็ดตัวนั้น (จรรยา, 2549) และ Chanya *et al* (2007) รายงานการใช้ผ้าเช็ดตัวพันรอบไม้ไผ่ร่วมกับสาร glufosinate อัตรา 7.5, 15 และ 30 กรัม/น้ำ 1 ลิตร glyphosate, paraquat, MSMA และ quizalofop-p-ethyl อัตรา 24, 27.6, 72 และ 7.5 กรัม/น้ำ 1 ลิตร ใช้ป้ายที่ระยะ 3 วันหลังดอกบาน พบว่า รวงข้าววัชพืชลดลง 71, 69, 60, 70, 76, 89 และ 106 รวงต่อตารางเมตร ตามลำดับ ขณะวิธีไม่ใช้สารกำจัดวัชพืชมีรวงข้าววัชพืช 193 รวงต่อตารางเมตร ส่วน Campbell และ Nicol (1998) ได้ใช้สาร Flupropanate (Frenock) และ glyphosate กับวัชพืช serrated tussock (*Nassella trichotoma* (Nees) Arech.) และ African lovegrass (*Eragrostis curvula* (Shrad.) Nees) โดยใช้อัตราความเข้มข้นของสารกำจัดวัชพืชต่อน้ำเท่ากับ 1:10, 1:20 และ 1:40 ทำการป้าย 2 ครั้ง พบว่า Flupropanate ป้ายครั้งที่ 1 ใช้อัตรา 1:40 และครั้งที่ 2 ใช้อัตรา 1:10 สามารถกำจัด serrated tussock ได้ 99-100 เปอร์เซ็นต์ ขณะการพ่นใช้อัตรา 120-240 กรัม/ไร่ สามารถกำจัด serrated tussock ได้ 88-100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสาร glyphosate ใช้ที่อัตรา 1:10 ป้าย 2 ครั้ง สามารถกำจัด serrated tussock ได้เพียง 33 เปอร์เซ็นต์

การใช้วิธีการดังกล่าวอาจไม่ปลอดภัยกับเกษตรกรผู้ใช้ ควรหาวิธีการหลีกเลี่ยงการใช้มือสัมผัสกับสารละลายของสารกำจัดวัชพืช จึงได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของอัตราสารกำจัดวัชพืชและปริมาณ

น้ำที่ใช้อุปกรณ์การป้ายที่อาศัยแรงดันจากถังพ่นสารแบบโยกสะพายหลังในการหลีกเลี่ยงการใช้มือลูบ เพื่อ
แนะนำให้เกษตรกรและผู้สนใจต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. หนั่วยาง
2. สารกำจัดวัชพืช 2, 4-D
3. ปู่เคมี
4. กระจ่างปูน เชือกฟาง และถุงพลาสติก

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 10 กรรมวิธี การกำจัดวัชพืชประเภทใบกว้าง ใช้สารกำจัดวัชพืช
2, 4-D อัตรา 160 กรัม/ไร่ กับน้ำ อัตรา 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 และ 40 ลิตร เปรียบเทียบกับ
วิธีการพ่นที่ ปริมาณน้ำ 80 ลิตรต่อไร่ และไม่กำจัดวัชพืช

วิธีปฏิบัติการทดลอง

การปฏิบัติการทดลองใช้แปลงขนาด 2X4 เมตร หว่านเมล็ดหญ้ายาง หลังวัชพืชงอกแล้ว 15-20
วัน สาร 2,4-D กำจัดวัชพืชหญ้ายาง อัตรา 160 กรัม(ai)/ไร่ โดยน้ำตามอัตราที่กำหนด สำหรับอุปกรณ์ที่
ใช้ลูบประกอบด้วยถังแบบโยกสะพายหลังที่วาล์วปิดเปิดต่อด้วยท่อ สะแตนเลส ขนาดยาว 1.5 เมตร
ปลายด้านหนึ่งปิด เจาะรูบนท่อสะแตนเลสในแนวตรงห่างกัน 5 เซนติเมตร ตามความยาวของ
ท่อ 1.2 เมตร ใช้ผ้าฝ้ายที่อุ้มซึมน้ำได้ดีพันตามยาวติดให้แน่น ส่วนที่เหลือยาว 30 เซนติเมตร ใช้เป็นที่ถือ
สำหรับลูบ เปรียบเทียบกับการใช้สาร 2,4-D อัตรา 160 กรัม(ai) /ไร่ กับน้ำ 80 ลิตร/ไร่และวิธีไม่กำจัด
วัชพืช

ขั้นตอนและวิธีการในการวิเคราะห์ข้อมูล

การเก็บข้อมูล ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช และการฟื้นตัวของวัชพืช นำข้อมูลมาวิเคราะห์ผล
ทางสถิติ อธิบายผลและเขียนรายงานผลการทดลอง

เวลาและสถานที่

ทำการทดลองระหว่างเดือน ตุลาคม 2553 ถึง กันยายน 2554 ที่กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัย
พัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาผลของอัตราความเข้มข้นของสารกำจัดวัชพืช และปริมาณน้ำต่อประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชโดยใช้เทคนิคการลุ่ม ผลการทดลองพบว่า 2 ชั่วโมงหลังลุ่มสาร กรรมวิธีการใช้น้ำปริมาณ 5, 10 และ 15 ลิตรต่อไร่ มีผลทำให้ส่วนของปลายยอดหญ้าที่มีลักษณะโค้งลงเล็กน้อย ระยะ 7 วันหลังลุ่มสาร ทุกกรรมวิธีการทดลองมีผลทำให้ส่วนของปลายยอดของหญ้ายางบิด และโค้งลง ส่วนของใบเริ่มมีสีเหลืองออกน้ำตาล ส่วนของลำต้นมีสีเหลือง สังเกตเห็นได้ชัดเจนในกรรมวิธีการใช้น้ำที่ 5, 10, 15 และ 20 ลิตรต่อไร่ ประเมินได้คะแนนระหว่าง 5-7 คะแนน เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณการใช้น้ำที่ 80 ลิตรต่อไร่ พบว่า ต้นหญ้ายางมีอาการม้วนโค้งงอลง ส่วนของใบที่โดนสารมีอาการเหลืองเช่นกันแต่ส่วนของลำต้นยังเป็นสีเขียว ประเมินได้คะแนน 4 และที่ระยะ 15 วันหลังลุ่มสาร ในทุกกรรมวิธีการทดลองหญ้าได้แห้งตายเห็นได้ชัดเจนจากกรรมวิธีการใช้น้ำปริมาณ 5, 10 และ 15 ลิตรต่อไร่ ประเมินได้ระดับคะแนน 8 สำหรับปริมาณน้ำที่ 15, 20, 25, 30, 35 40 และ 80 ลิตรต่อไร่ มีประสิทธิภาพในการควบคุมหญ้ายางได้ดีเล็กน้อยถึงปานกลาง โดยมีคะแนนระหว่าง 2-6 โดยการใช้น้ำในปริมาณดังกล่าว มีผลทำให้ส่วนของใบและปลายยอดที่สัมผัสสาร 2, 4-D อัตรา 160 กรัม ai/ไร่ นั้นมีอาการใบเหลือง และแห้งตาย ส่วนของปลายยอดลงมาถึงกลางลำต้นโค้งงอบิดเบี้ยวมีสีเหลืองอมเขียว

จำนวนต้นหญ้ายางที่ระยะ 30 วันหลังลุ่มสาร พบว่า เป็นช่วงเวลาที่หญ้ายางมีอาการฟื้นตัว โดยในกรรมวิธีการใช้น้ำที่ 5 ลิตรต่อไร่ ยังคงมีประสิทธิภาพในการควบคุมหญ้ายางดี มีผลทำให้หญ้ายางแห้งตาย และมีจำนวนต้นตาย ที่ระยะ 30 วันหลังลุ่มสาร ที่ 182.75 ต้นต่อตารางเมตร ไม่แตกต่างจากกรรมวิธีใช้น้ำปริมาณ 10 ลิตรต่อไร่ แต่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีการใช้น้ำปริมาณ 15, 20, 25, 30, 35 40 และ 80 ลิตรต่อไร่ และไม่กำจัดวัชพืช ที่มีจำนวนต้นตาย 70.00ม 33.83ม 39.66ม 34.00ม 14.75ม 12.05ม 27.50 และ 5.00 ต้นต่อตารางเมตร ซึ่งต้นหญ้ายางส่วนใหญ่มีอาการฟื้นตัว ส่วนของปลายยอดเริ่มเป็นปกติ (ตารางที่ 2)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการทดลองผลของอัตราความเข้มข้นของสารกำจัดวัชพืช และปริมาณน้ำต่อประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชโดยใช้เทคนิคการลุ่มในหญ้ายาง สามารถสรุปได้เบื้องต้นว่า สาร 2, 4-D อัตรา 160 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ กับน้ำปริมาณ 5, 10 และ 15 ลิตรต่อไร่ มีแนวโน้มในการควบคุมหญ้ายางได้ดี โดยมีประสิทธิภาพในการควบคุมหญ้ายาง ได้ดี ถึง 30 วันหลังลุ่มสาร และมีจำนวนต้นตายมากที่สุด 182.75 11.025 และ 70.00 ต้นต่อตารางเมตร แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีการใช้น้ำปริมาณ 80 ลิตรต่อไร่ และไม่กำจัดวัชพืช ที่เป็นตัวเปรียบเทียบ ที่มีจำนวนต้นตาย 47.5 และ 5.00 ต้นต่อตารางเมตร จากผลการ

ทดลองนี้ควรมีการดัดแปลงอุปกรณ์ให้มีประสิทธิภาพที่ดี และควรทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชซ้ำเพื่อให้ผลที่ได้มีความเที่ยงตรงมากยิ่งขึ้นก่อนใช้เป็นคำแนะนำต่อไป

เอกสารอ้างอิง

จรรยา มณีโชติ. ข้าววัชพืช: ปัญหาและการจัดการ. กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร. 28 หน้า.

Campbell, M.H. and H.I. Nicol. 1998. Effects of wiping herbicides on serrated tussock (*Nassella trichotoma* (Nees) Arech.) and African lovegrass (*Eragrostis curvula* (Shrad.) Nees). *Plant-Protection-Quarterly*. 1998; 13 (1) 36-38.

Maneechote, C., S. Jiaranairungroj, J. Areerat, J. Surapol and S. Jamjod. 2007. Weed wiper: An innovative method for controlling weedy rice (*Oryza sativa* f. *spontanea*) in rice fields. Page 280-284. *In: Proceedings of the 21st Asian Pacific Weed Science Society Conference*, 2-6 October, Colombo, Sri Lanka.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 ผลของปริมาณน้ำต่อประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชโดยใช้เทคนิคการลู่

กรรมวิธี	ปริมาณน้ำ (ลิตรต่อไร่)	ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช		
		7 วันหลังลู่สาร	15 วันหลังลู่สาร	30 วันหลังลู่สาร
สารกำจัดวัชพืช				
2, 4-D อัตรา 160 กรัม/ไร่	5	7.0	8.0	9
2, 4-D อัตรา 160 กรัม/ไร่	10	7.0	8.0	8.5
2, 4-D อัตรา 160 กรัม/ไร่	15	6.0	8.0	8.0
2, 4-D อัตรา 160 กรัม/ไร่	20	5.0	4.0	6.0
2, 4-D อัตรา 160 กรัม/ไร่	25	4.0	4.0	5.5
2, 4-D อัตรา 160 กรัม/ไร่	30	4.0	3.0	4.5
2, 4-D อัตรา 160 กรัม/ไร่	35	4.0	3.0	4.0
2, 4-D อัตรา 160 กรัม/ไร่	40	3.0	2.0	3.0
2, 4-D อัตรา 160 กรัม/ไร่	80	4.0	6.0	5.5
ไม่กำจัดวัชพืช	-	0.0	0.0	0.0

1/ คะแนนประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช

0 = ไม่สามารถควบคุมวัชพืชได้

1 - 3 = ควบคุมวัชพืชได้เพียงเล็กน้อย

4 - 6 = ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง

7 - 9 = ควบคุมวัชพืชได้ดี

10 = ควบคุมวัชพืชได้หมด

ตารางที่ 2 จำนวนต้นหญ้าหลังลูบสารกำจัดวัชพืชที่ 30 วันหลังลูบสาร

กรรมวิธี สารกำจัดวัชพืช	ปริมาณน้ำ (ลิตร)	จำนวนต้นหญ้า/พื้นที่เก็บเกี่ยว		
		จำนวน ต้นทั้งหมด	จำนวน ต้นเป็น	จำนวน ต้นตาย
2, 4-D อัตรา 160 กรัม/ไร่	5	386.75a ^{1/}	204.00a	182.75a
2, 4-D อัตรา 160 กรัม/ไร่	10	328.25a	216.00a	112.25ab
2, 4-D อัตรา 160 กรัม/ไร่	15	369.25a	299.25ab	70.00b
2, 4-D อัตรา 160 กรัม/ไร่	20	345.58a	311.75ab	33.83c
2, 4-D อัตรา 160 กรัม/ไร่	25	338.32a	298.66ab	39.66c
2, 4-D อัตรา 160 กรัม/ไร่	30	354.00a	320.00ab	34.00c
2, 4-D อัตรา 160 กรัม/ไร่	35	361.50a	346.75ab	14.75d
2, 4-D อัตรา 160 กรัม/ไร่	40	347.05a	335.00ab	12.05d
2, 4-D อัตรา 160 กรัม/ไร่	80	395.75a	368.25b	27.50c
ไม่กำจัดวัชพืช	-	384.00a	379.00b	5.00 d
c.v.(%)		29.86	18.56	48.25

1/ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

สัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชวงศ์ผักโขม Amaranthaceae

Seed Morphology of Amaranthaceae Weed

ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย ศิริพร ซึ่งสนธิพร ธัญชนก จงรักไทย

กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาสัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชวงศ์ผักโขม Amaranthaceae มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาเมล็ดวัชพืชชนิดต่างๆ ในวงศ์ผักโขม และรวบรวมตัวอย่างวัชพืช และเมล็ดวัชพืช จากการสำรวจเมล็ดวัชพืชวงศ์ผักโขมในจังหวัดต่างๆ 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

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 เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการสืบค้นต่อไป

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-03-03-54

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างเมล็ด
2. สารเคมีกันเชื้อรา สำหรับชุบตัวอย่างพืชแห้ง
3. ขวดแก้วสำหรับเก็บตัวอย่างเมล็ด
4. กล้องดิจิทัล และอุปกรณ์ฟุ้งต่อที่จำเป็นสำหรับบันทึกภาพและการเก็บรวบรวมข้อมูล เป็นระบบดิจิทัล
5. เครื่องคอมพิวเตอร์ เพื่อการรวบรวมข้อมูล

วิธีการทดลอง

ทำการทดลองโดยวิธีการสำรวจ บันทึกภาพ และตรวจสอบความถูกต้อง

- วิธีปฏิบัติการทดลอง
 - 1) ตรวจสอบชนิดและการแพร่กระจายวัชพืชวงศ์ผักโขม จากตัวอย่างพรรณไม้แห้งในพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพ หอพรรณไม้ และพิพิธภัณฑ์พืชศาสตร์อาจารย์กสิน สุวตะพันธ์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
 - 2) สำรวจรวบรวมตัวอย่างพืชสด และเมล็ดในพื้นที่ภาคกลาง ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และจัดทำตัวอย่างแห้ง
 - 3) นำตัวอย่างพืชสดที่ไม่ยังสามารถระบุชนิด และยังสามารถระบุชนิดได้ ปลุกในกระถาง 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

1. การรวบรวม จากการสำรวจเมล็ดวัชพืชวงศ์ผักโขมในจังหวัดต่างๆ ทั้งในพื้นที่ทำการเกษตร และไม่ทำการเกษตร พบ วัชพืชวงศ์ผักโขม 10 ชนิด ได้แก่
 - พันธุ์ *Achyranthes aspera* L.

- ผักเบ็ดแดง *Alternanthera bettzickiana* (Regel) Nichols.
 - ผักเบ็ดไทย *Alternanthera sessilis* (L.) DC.
 - โศกกระสุนเล็ก *Alternanthera pungens*
 - ผักโขมหนาม *Amaranthus spinosus* L.
 - ผักโขม *Amaranthus viridis* L.
 - หงอนไก่ไทย *Celosia argentea* L.
 - บานไม่รู้โรยป่า *Gomphrena celosioides* Mart.
 - บานไม่รู้โรย *Gomphrena globosa* L.
 - และยังมีส่วนที่ยังไม่สามารถจำแนกได้ ซึ่งอยู่ในขั้นตอนการปลูกและเก็บเมล็ดเพื่อจำแนกชื่อต่อไป
2. สันฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชวงศ์ผักโขม อยู่ระหว่างการรวบรวมเมล็ด เพื่อการศึกษาสันฐานเมล็ดต่อไป

เอกสารอ้างอิง

เต็ม สมิตินันท์. 2544. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2544. ส่วนพฤกษศาสตร์
ป่าไม้ สำนักวิชาการป่าไม้ กรมป่าไม้. กรุงเทพฯ. 810 หน้า.

Larsen, K. 1992. Amaranthaceae in Flora of Thailand. Vol. 5 Part 4 : 375 - 409

การจัดการวัชพืชเพื่อการผลิตถั่วเขียวคุณภาพ

Weed Management for Quality of Production Mungbean

ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย^{1/} คมสัน นครศรี^{1/} เกียรติรวี พันไชยศรี^{1/} ทิพย์ดารุณี สิทธินาม^{2/}
^{1/} กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
^{2/} ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกาญจนบุรี สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5

บทคัดย่อ

การจัดการวัชพืชเพื่อการผลิตถั่วเขียวคุณภาพ วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ มี 16 กรรมวิธี ประกอบด้วย สารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนวัชพืชงอก pendimethalin, dimethanamid, butachlor, halosulfuronmethyl, acetochlor, oxyfluorfen, sulfentrazone, oxadiazon, flumioxazin, imazapic, clomazone, metribuzin และ alachlor อัตรา 330, 108, 240, 10, 300, 24, 50, 150, 20, 20, 140, 140 และ 300 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ตามลำดับ เปรียบเทียบกับวิธีการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน และวิธีไม่กำจัดวัชพืช ทำการทดลอง ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกาญจนบุรี จังหวัดกาญจนบุรี ระหว่างเดือน มีนาคม – กรกฎาคม 2555 ผลการทดลองพบว่า สารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนวัชพืชงอกส่วนใหญ่ไม่เป็นพิษ และเป็นพิษเล็กน้อยต่อถั่วเขียว ยกเว้นสาร flumioxazin เป็นพิษปานกลาง ส่วน clomazone เป็นพิษรุนแรง ส่วนประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช พบว่า สาร pendimethalin, oxadiazon และ imazapic สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี วัชพืชที่พบได้แก่ หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colona* (L.) Link) หญ้าตีนติด (*Brachiaria reptans* (L.) Gard & Hubb.) และหญ้าตีนนก (*Digitaria adscendens* (H.B.K.) Henr.) และวัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ หญ้ายาง (*Euphorbia heterophylla* L.) ผักปราบไร่ (*Commelina benghalensis* L.) ขยี้มดินหมา (*Ipomoea pes-tigridis* L.) ผักคราดหัวแหวน (*Acmella oleracea* (L.) R.K.Jansen) และ ลูกใต้ใบ (*Phyllanthus amarus* Schum & Thonn.) และการใช้สาร flumioxazin pendimethalin และ imazapic มีผลผลิตถั่วเขียวมากที่สุด 565.50, 549.75 และ 537.75 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ

รหัสการทดลอง 01-13-54-02-01-01-04-54

คำนำ

ถั่วเขียว มีการนำเข้ามาทดลองและปลูกในประเทศไทยมากกว่า 30 ปี เป็นพืชอายุสั้น เก็บเกี่ยวผลผลิตได้เมื่ออายุ 65-70 วัน เจริญเติบโตได้ดีในสภาพแวดล้อมของไทย เกษตรกรนิยมปลูกเป็นพืชหมุนเวียนหลังเก็บเกี่ยวพืชหลัก ทั้งในสภาพนาและพื้นที่ไร่ แหล่งปลูกถั่วเขียวสำคัญอยู่ในภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเพชรบูรณ์ นครสวรรค์ สุโขทัย ตาก พิจิตร กำแพงเพชร พิษณุโลก และ อุตรดิตถ์ มีปลูกบ้างเล็กน้อยในบางจังหวัดของภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศ ในปี 2550/51 พื้นที่เพาะปลูกถั่วเขียวผิวน้ำ เท่ากับ 0.95 ล้านไร่ ผลผลิต และผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่ 0.113 ล้านตัน และ 119 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (นิรนาม, 2551) การใช้ถั่วเขียวเพื่อการบริโภคภายในประเทศจะใช้ในรูปของถั่วงอก วัตถุประสงค์ในการผลิตแปรรูปถั่วเขียว ทำวุ้นเส้น ทำขนมหวาน และอื่นๆ วัชพืชเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลกระทบต่อการผลิตถั่วเขียว ช่วงวิกฤตของถั่วเขียวอยู่ในช่วง 2-4 สัปดาห์หลังถั่วเขียวและวัชพืชงอก และการไม่กำจัดวัชพืชจะทำให้ผลผลิตถั่วเขียวลดลง 30 - 80 เปอร์เซ็นต์ (นิรนาม, 2547) การจัดการวัชพืชในถั่วเขียวอาจทำได้ทั้งวิธีการเตรียมดินก่อนปลูก ไฟเผาก่อนปลูก การใช้วัสดุคลุมดิน และการใช้แรงงาน อย่างไรก็ตามพบว่า เกษตรกรนิยมใช้สารกำจัดวัชพืชเพื่อป้องกันกำจัดวัชพืช ทั้งนี้เนื่องจากเป็นวิธีที่สะดวก ง่าย และรวดเร็ว นิรนาม (2547) ได้แนะนำการใช้สาร สาร alachlor อัตรา 300 - 320 กรัม ai/ไร่ พ่นคลุมดินก่อนวัชพืชและถั่วเขียวงอก เช่นเดียวกับกับสาร metolachlor ที่แนะนำให้ใช้อัตราเดียวกัน สามารถควบคุมวัชพืชประเภทใบแคบ เช่น หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนนก หญ้าไม้กวาด หญ้าปากควาย และ หญ้าข้าวนก ประเภทใบกว้าง เช่น ผักโขม กะเม็ง สาบแร้งสาบกา ผักเบี้ยหิน และโงนเทง ส่วนสาร oxadiazon อัตรา 80-150 กรัม ai/ไร่ นอกจากสามารถควบคุมวัชพืชใบแคบและใบกว้างแล้วยังควบคุมกกทรายได้ด้วย เช่นเดียวกับสาร imazethapyr อัตรา 16-20 กรัม ai/ไร่ สามารถควบคุม แห้วหมู และกกทราย ได้ ปัจจุบันได้มีการพัฒนาสารกำจัดวัชพืชชนิดใหม่ๆ ออกมาที่ประสิทธิภาพและครอบคลุมวัชพืชได้มากยิ่งขึ้น จึงควรทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนวัชพืชงอกในถั่วเขียว เพื่อให้ได้ข้อมูลประสิทธิภาพของสารกำจัดวัชพืชที่แนะนำและชนิดใหม่ในการปลูกถั่วเขียว ในการใช้เป็นข้อมูลในการจัดทำคู่มือคำแนะนำ สำหรับเกษตรกร หรือผู้สนใจต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ถั่วเขียว
2. สารกำจัดวัชพืช ได้แก่ pendimethalin, dimethanamid, butachlor, halosulfuronmethyl, acetochlor, oxyfluorfen, sulfentrazone, oxadiazon, flumioxazin, imazapic, clomazone, metribuzin และ alachlor
3. ปุ๋ยเคมี

4. ฤงกระดาศ เชือกฟาง และฤงพลาสติค

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ 16 กรรมวิธี ประกอบด้วย สารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนวัชพืชงอก คือ pendimethalin, dimethanamid, butachlor, halosulfuronmethyl, acetochlor, oxyfluorfen, sulfentrazone, oxadiazon, flumioxazin, imazapic, clomazone, metribuzin และalachlor อัตรา 330, 108, 240, 12, 240, 300, 24, 50, 150, 20, 20, 140, 140 และ 300 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ตามลำดับ เปรียบเทียบกับวิธีการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน และวิธีไม่กำจัดวัชพืช การปฏิบัติการทดลอง

การปฏิบัติการทดลองเตรียมแปลงทดลองขนาด 3X5 เมตร หลังการเตรียมดินทำการปลูกโดยใช้ระยะปลูก 50x30 เซนติเมตร หยอดเมล็ดหลุมละ 4-5 เมล็ด หลังหยอดเมล็ดถั่วเขียว พันด้วยสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนวัชพืชงอก ได้แก่ pendimethalin, dimethanamid, butachlor, halosulfuronmethyl, s-metolachlor, acetochlor, oxyfluorfen, sulfentrazone, oxadiazon, flumioxazin, imazapic, clomazone, metribuzin และalachlor ตามอัตราที่กำหนด เมื่อถั่วเขียวอายุได้ 15 วัน ถอนให้เหลือหลุมละ 3 ต้น และกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานหลังปลูกถั่วเขียว 30 วัน การบันทึกข้อมูล

การเก็บข้อมูล ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช ความเป็นพิษ ชนิดและน้ำหนักแห้งวัชพืชจากกรอบขนาด 0.5x0.5 เมตร จำนวน 2 จุด การเจริญเติบโตและผลผลิตของถั่วเขียว นำข้อมูลมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ อธิบายผลและเขียนรายงานผลการทดลอง

เวลาและสถานที่

ทำการทดลองระหว่างเดือนมีนาคม 2554 ถึง กรกฎาคม 2554 ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกาญจนบุรี จังหวัดกาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืช

การประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนวัชพืชงอก ที่ระยะ 15 หลังพ่นสารพบว่า สารกำจัดวัชพืชที่เป็นพิษต่อต้นถั่วเขียวเล็กน้อย ได้แก่ pendimethalin, acetochlor, oxyfluorfen, oxadiazon และ metribuzin มีระดับคะแนนอยู่ระหว่าง 0.5-1.0 ส่วนสารกำจัดวัชพืช flumioxazin เป็นพิษปานกลาง ประเมินได้คะแนน 3.5 ซึ่งอาการเป็นพิษจะไม่พบหลังการพ่นสารกำจัดวัชพืช 30 วัน แต่ clomazone เป็นพิษรุนแรง มีผลทำให้ถั่วเขียวงอกช้า ต้นถั่วเขียวมีอาการขาวซีด ต้นแคระแกร็น อาการดังกล่าวจะหายไปเมื่อ 60 วันหลังพ่นสาร ส่วนประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชประเภทใบแคบ และประเภทใบกว้าง ที่ระยะ 15 วันหลังพ่นสาร พบว่า การใช้สารกำจัดวัชพืชทุกกรรมวิธีสามารถ

ควบคุมวัชพืชได้ดี โดยเฉพาะสารกำจัดวัชพืช pendimethalin, oxadiazon, flumioxazin, imazapic และ oxyfluorfen มีคะแนนอยู่ระหว่าง 7.2 -10.0 ส่วนสาร dimethanamid, butachlor, halosulfuronmethyl, acetochlor, oxyfluorfen, sulfentrazone, clomazone และ metribuzin สามารถควบคุมวัชพืชได้ดีเช่นกัน มีคะแนนอยู่ระหว่าง 0.0-9.0 (ตารางที่ 1)

เมื่อสุ่มเก็บตัวอย่างจำนวนต้นวัชพืชที่ระยะ 30 วันหลังพ่นสาร พบจำนวนต้น และน้ำหนักแห้งวัชพืชประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้ากาลีสมพู่ หญ้า และประเภทใบกว้าง ได้แก่ ผักเบี้ยหิน และ หญ้ายาว จากการพ่นสารกำจัดวัชพืชรากก่อนวัชพืชงอก พบจำนวนต้นหญ้ากาลีสมพู่ น้อยที่สุดในกรรมวิธีการพ่นสาร halosulfuronmethyl, acetochlor และ dimethanamid มีจำนวนต้น 0.00, 0.00 และ 0.25 ต้นต่อตารางเมตร ตามลำดับ ส่วนจำนวนต้นผักเบี้ยหิน พบว่าการพ่นสาร flumioxazin, s-metolachlor, oxyfluorfen, pendimethalin, oxyfluorfen, sulfentrazone, metribuzin และ oxadiazon, มีจำนวนต้นผักเบี้ยหิน น้อยที่สุด มีจำนวนต้น 0.00, 1.00, 1.00, 1.50, 1.25, และ 1.75 ต้นต่อตารางเมตร ตามลำดับ และหญ้ายาว การพ่นสาร flumioxazin, imazapic, sulfentrazone, pendimethalin, s-metolachlor, oxadiazon, และ dimethanamid มีจำนวนต้น น้อยที่สุด คือ 0.00, 0.00, 1.25, 6.75, 7.25, 10.50 และ 15 ต้นต่อตารางเมตร ตามลำดับ และทุกกรรมวิธีการพ่นด้วยสารกำจัดวัชพืช มีผลทำให้จำนวนต้น หญ้ากาลีสมพู่ ผักเบี้ยหิน และ หญ้ายาว แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่กำจัดวัชพืช (ตารางที่ 2)

น้ำหนักแห้งวัชพืช

การสุ่มเก็บตัวอย่างวัชพืชที่ระยะ 30 วัน หลังการพ่นสารเพื่อหาน้ำหนักแห้ง พบว่า กรรมวิธีที่มีการใช้สารกำจัดวัชพืช มีน้ำหนักแห้งหญ้ากาลีสมพู่ ผักเบี้ยหิน และหญ้ายาว ไม่แตกต่างกันแต่แตกต่างกันกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช เนื่องจากสารกำจัดวัชพืชเหล่านี้ สามารถควบคุมวัชพืชได้ดีใกล้เคียงกัน (ตารางที่ 1) โดยมีน้ำหนักแห้งวัชพืชประเภทใบแคบอยู่ระหว่าง 0.1-2.3 กรัมต่อตารางเมตร วัชพืชประเภทใบกว้าง มีน้ำหนักแห้งวัชพืช เฉลี่ย 2.9-17.8 กรัมต่อตารางเมตร และกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช มีน้ำหนักแห้งวัชพืช 34.5 กรัมต่อตารางเมตร ตามลำดับ สำหรับวิธีการกำจัดวัชพืชด้วยมือมีน้ำหนักแห้งวัชพืชมากนั้น เนื่องจากการกำจัดวัชพืชด้วยมือทำเพียง 1 ครั้ง ที่ระยะ 20 วันหลังพ่นสาร แต่การสุ่มเก็บตัวอย่างวัชพืชทำที่ระยะ 30 วันหลังการพ่นสาร จึงพบวัชพืชงอกจากเมล็ดขึ้นมาในรอบใหม่ภายหลังจากการกำจัดวัชพืชด้วยมือในครั้งหนึ่ง (ตารางที่ 3)

น้ำหนัก 100 เมล็ดและผลผลิตถั่วเขียว

น้ำหนัก 100 เมล็ด กรรมวิธีการใช้สารกำจัดวัชพืชรากก่อนวัชพืชงอก วิธีการกำจัดวัชพืชด้วยมือ และไม่กำจัดวัชพืช มีน้ำหนัก 100 เมล็ด ไม่แตกต่างกันแต่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีการไม่ใช้สาร โดยมีน้ำหนัก 100 เมล็ดเฉลี่ย 6.3-7.3 กรัม สำหรับผลผลิตถั่วเขียว พบว่ากรรมวิธีที่มีการใช้สาร

pendimethalin oxadiazon และ imazapic อัตรา 330, 150 และ 20 กรัมสารออกฤทธิ์ ให้ผลผลิตถั่วเขียวมากกว่ากรรมวิธีอื่นๆ คือ 196.95, 190.80 และ 196.50 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ และแตกต่างกันทางสถิติกับวิธีการใช้สาร dimethanamid, butachlor, halosulfuronmethyl, acetochlor, clomazone และการกำจัดวัชพืชด้วยมือ ขณะที่ทุกกรรมวิธีที่มีการใช้สารกำจัดวัชพืชให้ผลผลิตถั่วเขียวแตกต่างกันกับวิธีไม่กำจัดวัชพืชที่มีผลผลิตถั่วเขียว 98.05 กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 5)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. การประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนวัชพืชงอก ที่ระยะ 15 หลังพ่นสารพบว่า สารกำจัดวัชพืชส่วนใหญ่ ไม่เป็นพิษต่อการงอก
2. ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช พบว่า การใช้สารกำจัดวัชพืชทุกกรรมวิธีสามารถควบคุมวัชพืชประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colona* (L.) Link) หญ้าตีนติด (*Brachiaria reptans* (L.) Gard & Hubb.) และหญ้าตีนนก (*Digitaria adscendens* (H.B.K.) Henr.) และวัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ หญ้ายาง (*Euphorbia heterophylla* L.) ผักปราบไร่ (*Commelina benghalensis* L.) ขยี้มตีนหมา (*Ipomoea pes-tigridis* L.) ผักคราดหัวแหวน (*Acmella oleracea* (L.) R.K.Jansen) และ ลูกใต้ใบ (*Phyllanthus amarus* Schum & Thonn.) ได้ดี โดยเฉพาะสารกำจัดวัชพืช imazapic, pendimethalin, oxadiazon

เอกสารอ้างอิง

- นิตนาม. 2547. คำแนะนำการป้องกันกำจัดวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืช. กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 133 หน้า.
- นิตนาม. 2551. ถั่วเขียว. [ออนไลน์]. แหล่งข้อมูล:
<http://www.giswebr04.ddd.go.th/dddweb/knowledge/plant/mungbean/1.html> (14 มกราคม 2555)

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 ผลของสารกำจัดวัชพืชต่อความเป็นพิษและประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชหลังพ่นสาร 15 วัน

กรรมวิธี	อัตราการใช้ (กรัมสารออกฤทธิ์ ต่อไร่)	ความเป็นพิษที่ 15 วัน หลังพ่นสาร ^{1/}	ประสิทธิภาพการควบคุม วัชพืชประเภทใบแคบ ²	ประสิทธิภาพการ ควบคุมวัชพืช ประเภทใบกว้าง ²
pendimethalin	330	0.5	8.7	7.0
dimethanamid	108	0.0	8.2	0.0
butachlor	240	0.0	4.2	0.0
halosulfuronmethyl	12	0.0	5.5	0.0
acetochlor	300	1.0	9.0	0.0
oxyfluorfen	24	2.0	7.2	8.7
sulfentrazone	50	0.0	6.2	7.7
oxadiazon	150	0.0	8.7	9.2
flumioxazin	20	3.5	8.2	8.0
imazapic	20	0.0	10.0	9.5
clomazone	140	5.5	7.2	2.2
metribuzin	140	0.0	5.2	7.0
alachlor	300	0.0	7.5	0.0
กำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน	-	-	10.0	10.0
ไม่กำจัดวัชพืช	-	0	0	0

1/ คะแนนความเป็นพิษต่อพืชปลูก

0 = ไม่เป็นพิษต่อพืชปลูก

1 – 3 = เป็นพิษต่อพืชปลูกเล็กน้อย

4 – 6 = เป็นพิษต่อพืชปลูกปานกลาง

7 – 9 = เป็นพิษต่อพืชปลูกรุนแรง

10 = พืชปลูกตายหมด

2/ คะแนนประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช

0 = ไม่สามารถควบคุมวัชพืชได้

1 – 3 = ควบคุมวัชพืชได้เพียงเล็กน้อย

4 – 6 = ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง

7 – 9 = ควบคุมวัชพืชได้ดี

10 = พืชปลูกตายหมด

ตารางที่ 2 ผลของสารกำจัดวัชพืชต่อจำนวนต้นวัชพืช (ต้น/ตารางเมตร) ที่ระยะ 30 วันหลังพ่นสาร

กรรมวิธี	อัตราการใช้ (กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่)	จำนวนต้นวัชพืชต่อตารางเมตร	
		วัชพืชประเภทใบแคบ	วัชพืชประเภทใบกว้าง
pendimethalin	330	0.2 a	9.2 a
dimethanamid	108	1.0 a	34.5 cd
butachlor	240	0.5 a	44.2 cd
halosulfuronmethyl	12	10.0 b	32.7 c
acetochlor	300	1.0 a	46.5 cd
oxyfluorfen	24	2.7 a	37.0 c
sulfentrazone	50	4.7 ab	13.2 ab
oxadiazon	150	0.7 a	15.7 b
flumioxazin	20	4.7 ab	12.2 ab
imazapic	20	0.1 a	9.0 a
clomazone	140	3.2 ab	34.7 c
metribuzin	140	1.2 a	18.5 b
alachlor	300	1.2 a	53.5 d
กำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน	-	3.2 a	4.5 a
ไม่กำจัดวัชพืช	-	27.7 c	63.5 d
C.V. (%)		85.04	87.25

1/ ค่าเฉลี่ยในสมคมเดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

วัชพืชประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้าแกว (Echinochloa colona (L.) Link) หญ้าตีนติด (Brachiaria reptans (L.) Gard & Hubb.) และหญ้าตีนนก (Digitaria adscendens (H.B.K.) Henr.)

วัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ หญ้ายาง (Euphorbia heterophylla L.) ผักปราบไร่ (Commelina benghalensis L.) ขยุ่มตีนหมา (Ipomoea pes-tigridis L.) ผักคราดหัวแหวน (Acmella oleracea (L.) R.K.Jansen) และ ลูกใต้ใบ (Phyllanthus amarus Schum & Thonn.)

ตารางที่ 3 ผลของสารกำจัดวัชพืชต่อน้ำหนักแห้งวัชพืช (กรัมต่อตารางเมตร) ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช

กรรมวิธี	อัตราการใช้ (กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่)	น้ำหนักแห้งวัชพืชต่อตารางเมตร	
		วัชพืชประเภทใบแคบ	วัชพืชประเภทใบกว้าง
pendimethalin	330	0.1 a	3.2 a
dimethanamid	108	0.7 a	14.4 b
butachlor	240	0.5 a	17.8 b
halosulfuronmethyl	12	2.3 bc	12.5 b
acetochlor	300	0.1 a	19.6 b
oxyfluorfen	24	2.8 ab	8.2 a
sulfentrazone	50	1.5 bc	8.6 a
oxadiazon	150	2.4 ab	5.9 a
flumioxazin	20	5.4 b	15.6 b
imazapic	20	0.3 a	2.9 a
clomazone	140	3.1 ab	17.0 b
metribuzin	140	1.0 a	3.5 a
alachlor	300	0.6 a	13.0 b
กำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน	-	2.3 ab	3.0 a
ไม่กำจัดวัชพืช	-	17.1 c	34.5 c
C.V. (%)		87.08	72.84

1/ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

วัชพืชประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colona* (L.) Link) หญ้าตีนติด (*Brachiaria reptans* (L.) Gard & Hubb.) และหญ้าตีนนก (*Digitaria adscendens* (H.B.K.) Henr.)

วัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ หญ้ายาง (*Euphorbia heterophylla* L.) ผักปราบไร่ (*Commelina benghalensis* L.) ขยุ่มตีนหมา (*Ipomoea pes-tigridis* L.) ผักคราดหัวแหวน (*Acmella oleracea* (L.) R.K.Jansen) และ ลูกใต้ใบ (*Phyllanthus amarus* Schum & Thonn.)

ตารางที่ 4 น้ำหนักเมล็ด 100 เมล็ด และผลผลิตถั่วเขียว

กรรมวิธี	อัตราการใช้ (กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่)	น้ำหนัก 100 เมล็ด (กรัม)	ผลผลิต (กก./ไร่)
pendimethalin	330	7.3 ns	196.95 a
dimethanamid	108	7.1	147.25 b
butachlor	240	6.7	158.50 b
halosulfuronmethyl	12	6.3	165.95 b
acetochlor	300	6.5	168.90 b
oxyfluorfen	24	6.7	173.65 ab
sulfentrazone	50	6.5	174.5 ab
oxadiazon	150	6.8	190.80 a
flumioxazin	20	6.6	171.55 ab
imazapic	20	7.3	196.50 a
clomazone	140	7.0	137.15 b
metribuzin	140	6.9	164.20 ab
alachlor	300	7.0	171.8 0ab
กำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน	-	7.1	141.60 b
ไม่กำจัดวัชพืช	-	6.8	98.05 c
	c.v.(%)	12.35	24.18

1/ ค่าเฉลี่ยในสตมภ์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดย DMRT

การทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อควบคุมธูปฤาษี
Study on Efficacy of Herbicide Application in Cattail (*Typha angustifolia* L.)

ภัทร์พิชชา รุจิระพงษ์ชัย คมสัน นครศรี
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อควบคุมธูปฤาษี ในสภาพเรือนทดลอง โดยวางแผนการทดลองแบบ split plot in RCB มี 4 มีปัจจัยที่ 1 เป็นการพ่นสารในสภาพมีน้ำขังและไม่มีน้ำขัง ปัจจัยที่ 2 เป็นวิธีการกำจัดวัชพืช 8 กรรมวิธี คือ 2,4-D 85 % W/V SL + สารจับใบ, glyphosate isopropylammonium 48% W/V SL, glufosinate ammonium 48% W/V SL, paraquat dichloride 27.6 % W/V SL, aminocyclopyrachlor 50% W/V SG , triclopyr 66.8% W/V EC และ fluroxypyr 28.8% W/V EC อัตรา 240, 360, 240, 240, 20, 48 และ 48 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ตามลำดับ เปรียบเทียบกับวิธีไม่ใช้สารกำจัดวัชพืช พบว่าการพ่นด้วยสาร paraquat dichloride 27.6 % W/V SL อัตรา 240 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ มีผลทำให้ธูปฤาษีตายที่ 15 วันหลังพ่นสาร ในทั้งสองปัจจัย และสาร glufosinate ammonium 48% W/V SL อัตรา 240 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ทำให้ธูปฤาษีตายที่ 25 วันหลังพ่นสาร ตามลำดับ ในสภาพน้ำขัง และ ในสภาพไม่มีน้ำขัง ธูปฤาษีตาย ที่ 20 วันหลังพ่นสาร และยังไม่พบการฟื้นตัวของธูปฤาษีหลังจากพ่นสารไปแล้ว 60 วัน

รหัสการทดลอง 03-04-54-02-01-03-01-54

คำนำ

ธูปฤาษี มีชื่อสามัญว่า Cattail มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Typha angustifolia* Linn. อยู่ใน Family Typhaceae เป็นวัชพืชที่แข็งแรงทนทานมีอายุข้ามปี ลำต้นใต้ดินเป็นแบบ rhizome ลำต้นเหนือดินแข็ง ประกอบด้วยใบแตกออกเป็นแผงสองแนวด้านข้าง ใบเดี่ยวโคนใบแผ่เป็นกาบใบหนาหุ้มประกบกันไว้ ใบแก้อยู่ด้านบนนอกหุ้มใบอ่อนไว้ข้างใน กาบใบด้านในมีเมือกเหนียว ๆ ดอกออกเป็นช่อแบบ Spike แน่น รูปทรงกระบอก ช่อดอกมองดูเหมือนธูปขนาดใหญ่ ดอกแยกเพศ ดอกตัวผู้อยู่ด้านบน ส่วนตัวเมียอยู่ด้านล่าง เมล็ดมีขนาดเล็กมากปกคลุมด้วยขนสีขาว จึงทำให้สามารถปลิวไปกับลมได้ดี เมล็ดจะงอกบนดินเหนือระดับน้ำเท่านั้น (Grace, 1985) วัชพืชน้ำเป็นสาเหตุสำคัญที่ก่อให้เกิดปัญหากับสิ่งแวดลอม โดยขัดขวางต่อการสัญจรไปมาทางน้ำทำให้ทางระบายน้ำและลำคลองตื้นเขิน เป็นอุปสรรคต่อระบบชลประทาน การขนส่งทางน้ำ และเพื่อการเกษตร ธูปฤาษีเป็นวัชพืชน้ำชนิดหนึ่ง ซึ่งก่อให้เกิดความเสียหายที่รุนแรงกับสิ่งแวดลอมและทำให้สูญเสียพื้นที่ทางการเกษตร โดยปกติจะพบตาม หนอง คลอง บึง และอ่างเก็บน้ำ (Fassett และ colhum, 1952) การกำจัดวัชพืชรูปฤาษีสามารถทำได้ด้วยการใช้เครื่องจักรกล หรือแรงงานตัดต้นธูปฤาษีโดยตรง จากการศึกษาหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการตัดต้นธูปฤาษี เพื่อป้องกันการแพร่ระบาดของวัชพืชชนิดนี้ พบว่าควรตัดต้นธูปฤาษีหลังช่วงระยะเวลาออกดอก 4 สัปดาห์ จะควบคุมการแพร่ระบาดของธูปฤาษีได้ดีที่สุด (Singh *et al.*, 1976) และการตัดต้นธูปฤาษีควรตัดใต้ผิวน้ำ เพราะว่าจะป้องกัน O₂ ที่จะเคลื่อนย้ายไปที่รากและหน่อ อย่างไรก็ตามการใช้แรงงานดังกล่าวอาจมีปัญหาเรื่องของแรงงานหายากและค่าแรงงานสูง ดังนั้นการใช้สารกำจัดวัชพืชจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะช่วยแก้ปัญหของธูปฤาษีได้ เนื่องจากเป็นวิธีการที่ได้สะดวกและรวดเร็ว ซึ่ง อำพร และนิศานาถ(2546) ได้ใช้สารกำจัดวัชพืช glyphosate, glufosinate ammonium, dicamba และ paraquat ความเข้มข้น 0.2 ลิตรต่อไร่ (สารผลิตภัณฑ์) ในสภาพเรือนทดลอง พบว่า สาร glyphosate ควบคุมธูปฤาษีได้ดีที่สุดในระยะ 90 วัน หลังพ่นสาร รองลงมาคือ สาร paraquat ส่วนในสภาพแปลงทดลองได้เพิ่มความเข้มข้นของสารกำจัดวัชพืชแต่ละชนิด เป็น 0.4 ลิตรต่อไร่(สารผลิตภัณฑ์) พบว่า สาร paraquat มีผลในการควบคุมดีที่สุดในธูปฤาษีตายในระยะ 21 วัน หลังพ่นสาร ส่วนสาร glyphosate ให้ผลต่อการควบคุมธูปฤาษีรองลงมาส่วนการใช้สารผสมระหว่าง paraquat + imazapyr ที่ระดับความเข้มข้น 0.5+1.5 ลิตรต่อไร่ (สารผลิตภัณฑ์) ในสภาพเรือนทดลอง พบว่า ต้นธูปฤาษีจะตายภายใน 90 วัน หลังพ่นสาร ในสภาพแปลงทดลองโดยเพิ่มความเข้มข้นของสาร paraquat + imazapyr เป็น 1+1 ลิตรต่อไร่(สารผลิตภัณฑ์) พบว่า ต้นธูปฤาษีจะตายภายใน 7 วัน หลังการพ่นสาร(อำพร และนิศานาถ, 2552) ดังนั้นจึงควรทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชที่สามารถกำจัดธูปฤาษีได้ดี เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการจัดทำคู่มือคำแนะนำสำหรับเกษตรกร หรือผู้สนใจต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ฐูปฤณี
2. สารกำจัดัวชพีช
3. ปุ่ยเคมี
4. กระจางปุน เชือกฟาง และถุงพลาสติก

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ split plot in RCB มี 4 ซ้ำ มีปัจจัยที่ 1 เป็นการพ่นสารในสภาพมีน้ำขัง และไม่มีน้ำขัง ปัจจัยที่ 2 เป็นวิธีการกำจัดัวชพีช 8 กรรมวิธี คือ 2,4-D 85 % W/V SL + สารจับใบ, glyphosate isopropylammonium 48% W/V SL, glufosinate ammonium 48% W/V SL, paraquat dichloride 27.6 % W/V SL, aminocyclopyrachlor 50% W/V SG , triclopyr 66.8% W/V EC และ fluroxypyr 28.8% W/V EC อัตรา 240, 360, 240, 240, 20, 48 และ 48 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ตามลำดับ เปรียบเทียบกับวิธีไม่ใช้สารกำจัดัวชพีช

การปฏิบัติการทดลอง

การปฏิบัติการทดลองในเรือนทดลองใช้กระจางขนาด 1.0x1.0x0.5 เมตร ใส่ดินปลูกลงในกระจาง 1 ใน 2 ของความสูง ปลูกต้นฐูปฤณี 10 ต้นต่อกระจางปล่อยน้ำขังตลอด หลังปลูกได้ 3 เดือน ตัดต้นฐูปฤณีที่โคนต้นทุกกรรมวิธี ปล่อยให้แตกหน่อขึ้นมาใหม่สูงประมาณ 30 เซนติเมตร พ่นสารกำจัดัวชพีชตามอัตราที่กำหนด ในสภาพน้ำขังตลอดและพ่นในสภาพไม่มีน้ำโดยดูแลให้อยู่ในสภาพไม่มีขังตลอดในระยะเวลาเก็บข้อมูล

ขั้นตอนและวิธีการในการวิเคราะห์ข้อมูล

การเก็บข้อมูล ประสิทธิภาพการควบคุมวชพีช และการฟื้นตัวของวชพีช นำข้อมูลมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ อธิบายผลและเขียนรายงานผลการทดลอง

เวลาและสถานที่

ทำการทดลองระหว่างเดือน ตุลาคม 2554 ถึง กันยายน 2555 ที่กลุ่มวิจัยวชพีช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อควบคุมหญ้าในสภาพน้ำขัง สาร paraquat dichloride 27.6 % W/V SL อัตรา 240 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ และ 2,4-D 85 % W/V SL +สารจับใบ อัตรา 240 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ มีผลทำให้ใบหญ้ามีอาการขาวซีด ประเมินได้คะแนนระหว่าง 3 และ 5 ส่วนสาร glufosinate ammonium 48% W/V SL อัตรา 240 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ทำให้ใบหญ้าเริ่มเป็นสีเหลือง ประเมินได้คะแนนระหว่าง 4 ส่วนสาร glyphosate isopropylammonium 48% W/V SL, aminocyclopyrachlor 50% W/V SG, triclopyr 66.8% W/V EC และ fluroxypyr 28.8% W/V EC อัตรา 360, 20, 48 และ 48 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ไม่พบว่ามีผลต่อหญ้าในสภาพไม่มีน้ำขัง ให้ประสิทธิภาพเช่นเดียวกันกับสภาพที่มีน้ำขังแต่อาการหลังได้รับสารกำจัดวัชพืชดังกล่าว เห็นชัดเจนกว่าเล็กน้อย (ตารางที่ 1)

ที่ระยะ 30 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า การพ่นด้วยสาร paraquat dichloride 27.6 % W/V SL อัตรา 240 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ และสาร glufosinate ammonium 48% W/V SL อัตรา 240 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ทุกกรรมวิธีการพ่นสารกำจัดวัชพืช ทั้งสองปัจจัยการทดลองคือในสภาพน้ำขัง และในสภาพไม่มีน้ำขัง มีผลทำให้ต้นหญ้าตาย ประเมินได้คะแนนระหว่าง 7-10 แต่ในสภาพไม่มีน้ำขังมีแนวโน้มทำให้หญ้าตายเร็วกว่าและดีกว่า ประเมินได้คะแนนระหว่าง 7-10 (ตารางที่ 2) การพ่นด้วยสาร paraquat dichloride 27.6 % W/V SL อัตรา 240 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ มีผลทำให้หญ้าตายที่ 15 วันหลังพ่นสาร ในทั้งสองปัจจัย และสาร glufosinate ammonium 48% W/V SL อัตรา 240 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ทำให้หญ้าตายที่ 25 วันหลังพ่นสาร ตามลำดับ ในสภาพน้ำขัง และ ในสภาพไม่มีน้ำขัง หญ้าตาย ที่ 20วันหลังพ่นสาร (ตารางที่ 3) จะเห็นได้ว่าการพ่นสารกำจัดวัชพืชในสภาพที่ไม่มีน้ำขัง มีผลทำให้หญ้าตายเร็วกว่าในสภาพที่มีน้ำขัง อาจเนื่องมาจากความชื้นมีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นหญ้า ส่งผลให้ต้นหญ้าในสภาพน้ำขังมีความแข็งแรงมากกว่า จึงทำให้ต้นหญ้าทนทาน(Tolerance) ต่อการเข้าทำลายของสารกำจัดวัชพืชได้มากกว่า และยังไม่พบการฟื้นตัวของหญ้าหลังจากพ่นสารไปแล้ว 60 วัน ในกรรมวิธีพ่นสาร paraquat dichloride 27.6 % W/V SL อัตรา 240 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ และ สาร glufosinate ammonium 48% W/V SL อัตรา 240 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อควบคุมหญ้าในสภาพเรือนทดลอง พบว่า ที่ระยะ 30 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ทุกกรรมวิธีการพ่นสารกำจัดวัชพืช การพ่นด้วยสาร paraquat dichloride

27.6 % W/V SL อัตรา 240 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ มีผลทำให้ธูปฤาษีตายที่ 15 วันหลังพ่นสาร ในทั้งสองปัจจัย และสาร glufosinate ammonium 48% W/V SL อัตรา 240 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ทำให้ธูปฤาษีตายที่ 25 วันหลังพ่นสาร ตามลำดับ ในสภาพน้ำขัง และ ในสภาพไม่มีน้ำขัง ธูปฤาษีตาย ที่ 20 วันหลังพ่นสาร และยังไม่พบการฟื้นตัวของธูปฤาษีหลังจากพ่นสารไปแล้ว 60 วัน จากผลการทดลองนี้ควรต้องทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชซ้ำและเก็บข้อมูลบางส่วนเพิ่มเติมเพื่อให้ผลที่ได้มีความเที่ยงตรงมากยิ่งขึ้นก่อนใช้เป็นคำแนะนำต่อไป

เอกสารอ้างอิง

อำพร คลายแก้ว และ นิสานาถ ละอองพันธ์. 2546. การควบคุมกำจัดวัชพืชน้ำในคลองระบายน้ำด้วยสารกำจัดวัชพืช. กลุ่มงานวัชพืช ส่วนวิจัยและพัฒนาด้านวิทยาศาสตร์ สำนักวิจัยและพัฒนา กรมชลประทาน. 135 หน้า

อำพร คลายแก้ว และ นิสานาถ ละอองพันธ์. 2552. การควบคุมกำจัดธูปฤาษี (*Typha* sp.) ในพื้นที่ชลประทาน. กลุ่มงานวัชพืช ส่วนวิจัยและพัฒนาด้านวิทยาศาสตร์ สำนักวิจัยและพัฒนา กรมชลประทาน. 144 หน้า

Grace, J.B. 1985. Juvenile versus adult competitive ability in plant: Size dependence in cattail(*Typha*). Ecology 66:1630-1636.

Fassett, N.C. and Calhoun, B., 1952. Introgression between *Typha latifolia* and *Typha angustifolia*. Evolution (Lawrence and Kand.) 6:369-379.

Singh, S.P., S.S. Pahuja and M.K. Moolasi., 1976. Culture Control of *Typha angustifolia* at different Stage of Growth. Aquatic Weeds in South East Asia. Proceeding of a Regional Seminar on Noxious Vegetation.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 ผลของสารกำจัดวัชพืชต่อประสิทธิภาพในการควบคุมรบกวนจากวัชพืชจากการประเมินด้วยสายตาหลังพ่นสารที่ระยะ 7 วันหลังพ่นสาร

กรรมวิธี	อัตราการใช้ กรัม สารออกฤทธิ์ต่อไร่	วิธีการพ่นสาร		เฉลี่ย
		สภาพน้ำขัง	สภาพไม่มีน้ำขัง	
2,4-D+สารจับใบ	240	3	4	3.5
glyphosate	360	2	3	2.5
glufosinate ammonium	240	0	2	1.0
paraquat	240	4	5	4.5
aminocyclopyrachlor	20	0	0	0.0
triclopyr	48	0	0	0.0
fluroxypyr	48	0	0	0.0
ไม่ใช้สารกำจัดวัชพืช	-	0	0	0.0
	เฉลี่ย	1.1	1.8	

1/ คะแนนประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช

0 = ไม่สามารถควบคุมวัชพืชได้

1 - 3 = ควบคุมวัชพืชได้เพียงเล็กน้อย

4 - 6 = ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง

7 - 9 = ควบคุมวัชพืชได้ดี

10 = ควบคุมวัชพืชได้หมด

ตารางที่ 2 ผลของสารกำจัดวัชพืชต่อประสิทธิภาพในการควบคุมหญ้าจากการประเมินด้วยสายตาหลัง
พ่นสาร ที่ 30 วันหลังพ่นสาร

กรรมวิธี	อัตรา กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่	วิธีการพ่นสาร		เฉลี่ย
		สภาพน้ำขัง	สภาพไม่มีน้ำขัง	
2,4-D+สารจับใบ	240	6	7	6.5
glyphosate	360	7	7	7.0
glufosinate ammonium	240	8	9	8.5
paraquat	240	9	10	9.5
aminocyclopyrachlor	20	0	0	0.0
triclopyr	48	4	5	4.5
fluroxypyr	48	0	0	0.0
ไม่ใช้สารกำจัดวัชพืช	-	0	0	0.0
	เฉลี่ย	4.3	4.8	

1/ คะแนนประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช

- 0 = ไม่สามารถควบคุมวัชพืชได้ 1 - 3 = ควบคุมวัชพืชได้เพียงเล็กน้อย
4 - 6 = ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง 7 - 9 = ควบคุมวัชพืชได้ดี
10 = ควบคุมวัชพืชได้หมด

ตารางที่ 3 ระยะเวลาที่รูปถ่ายตายหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช

กรรมวิธีการทดลอง	อัตรา กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่	ระยะเวลาที่รูปถ่ายตาย (วัน)		เฉลี่ย
		สภาพน้ำขัง	สภาพไม่มีน้ำขัง	
2,4-D+สารจับใบ	240	60	60	60.0
glyphosate	360	45	30	37.5
glufosinate ammonium	240	30	30	30.0
paraquat	240	15	15	15.0
aminocyclopyrachlor	20	0.0	0.0	0.0
triclopyr	48	0.0	0.0	0.0
fluroxypyr	48	0.0	0.0	0.0
ไม่ใช้สารกำจัดวัชพืช	-	0.0	0.0	0.0
	เฉลี่ย	18.8	16.8	

ความต้านทานต่อสารฆ่าไรบางชนิดของไรแดงแอฟริกัน African Red Mite,
Eutetranychus africanus (Tucker)

Some Acaricides Induced African Red Mite, *Eutetranychus africanus* (Tucker) Resistance

อัจฉราภรณ์ ประเสริฐผล² มานิตา คงชื่นสิน¹ พิเชฐ เขาวนน์วัฒนวงศ์²

พลอยชมพู กรวิภาสเรือง² วิมลวรรณ โชติวงศ์²

¹ผู้เชี่ยวชาญ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

²กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ความต้านทานต่อสารฆ่าไรบางชนิดของไรแดงแอฟริกัน *Eutetranychus africanus* (Tucker) วางแผนการทดลองแบบ CRD 5 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ทำการเก็บรวบรวมไรแดงแอฟริกันจากแหล่งปลูก ส้มเขียวหวานต่างๆ มาเลี้ยงแยกกันบนใบทองหลาง เมื่อมีปริมาณตัวเมียเพียงพอแล้วจะทำการทดลอง ตามกรรมวิธี ทำการตรวจนับจำนวนไรหลังการทดลอง 24 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่าไรแดงแอฟริกัน จากแหล่งปลูก จ. กำแพงเพชรมีค่า LC_{50} ต่อสารในแต่ละกรรมวิธี ดังต่อไปนี้ สาร propagite 142.888ppm, amitraz 218,800ppm, pyridaben 39.487 ppm และสาร fenbutatin oxide 1472.417pmm แสดงให้เห็นว่าไรแดงแอฟริกันจากแหล่งปลูก จ. กำแพงเพชรมีแนวโน้มต้านทานต่อ สาร amitraz ส่วนไรแดงแอฟริกันจากแหล่งปลูก อ. ผาง จ. เชียงใหม่ มีค่า LC_{50} ต่อสารในแต่ละ กรรมวิธี ดังต่อไปนี้ สาร propagite 8.5ppm, amitraz 1229.683ppm, pyridaben 5.12ppm และสาร fenbutatin oxide 251.553ppm แสดงให้เห็นว่าไรแดงแอฟริกันจากแหล่งปลูกจ. เชียงใหม่ มีแนวโน้มต้านทานต่อสาร amitraz ส่วนในแหล่งปลูกอื่นๆต้องทำการทดลองเพื่อหาข้อสรุปต่อไป

คำนำ

ไรแดงแอฟริกัน *Eutetranychus africanus* (Tucker) เป็นศัตรูที่สำคัญของส้มเขียวหวาน ส้มโอ ทูเรียน และมะละกอ พบระบาดทำความเสียหายให้กับไม้ผลดังกล่าวเป็นประจำ โดยเฉพาะใน สภาพพื้นที่ปลูกที่แห้งแล้งและขาดการดูแลการให้น้ำอย่างทั่วถึง (วัฒนาและคณะ, 2531) การทำลาย ของไรชนิดนี้ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัย ดูดกินน้ำเลี้ยงจากบริเวณหน้าใบและผล ใบที่ถูกดูดกินน้ำเลี้ยง ในระยะที่เป็นใบเพสลาดจนถึงใบแก่จะปรากฏเป็นจุดสีซีดจางกระจายอยู่ทั่วไปทำให้ใบสูญเสีย คลอโรฟิลล์ (Kulpiyawat *et al.*, 1993) หากทำลายรุนแรงใบจะร่วง (เทวินทร์และคณะ, 2534) มี ผลต่อการเจริญเติบโต การออกดอกและติดผล ส่วนการทำลายที่ผลลักษณะอาการเช่นเดียวกับที่ใบ

รหัสการทดลอง 03-04-54-02-01-05-55

ปัจจุบันการใช้สารเคมียังคงเป็นวิธีการเดียวที่เกษตรกรนิยมใช้ป้องกันกำจัดไรศัตรูไม้ผลเพื่อเป็นการลดความเสียหายที่จะเกิดขึ้น (วัฒนาและคณะ,2539) เพราะฉะนั้นการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดไรศัตรูส้ม ยังคงมีความจำเป็นอยู่ และยังเป็นวิธีการที่สามารถป้องกันกำจัดประชากรของไรได้รวดเร็ว สะดวกและไม่ต้องใช้เทคนิคมากนัก แต่ถ้าเกษตรกรพ่นสารเคมีมากเกินไปก็เกิดผลเสียหายตามมา คือโรสร้างความต้านทานต่อสารเคมี ทำให้ต้องเพิ่มปริมาณสารเคมีที่ใช้เนื่องจากปริมาณที่เคยใช้ได้ผลไม่สามารถปราบไรได้ เป็นการทวีความรุนแรงของปัญหาทั้งทางด้านพิษวิทยาและเศรษฐกิจ (พาลาภ,2535)

เทวินทร์และคณะ (2545) ได้รายงานว่ไรแดงแอฟริกันสายพันธุ์ภูเรือซึ่งเป็นศัตรูสำคัญของส้มเขียวหวาน สร้างความต้านทานต่อสารฆ่าไร wettable sulfur และ dicofol ซึ่งมีค่าอัตราความต้านทานเท่ากับ 11.86 และ 12.61 เท่า จากการศึกษาค้นคว้าพัฒนาความต้านทานในห้องปฏิบัติการต่อสารฆ่าไร propargite, bromopropylate, dicofol และ amitraz ของไรแดงแอฟริกันโดยวิธีการสู่มไ้ ผลการศึกษาพบว่า ไรแดงแอฟริกันไม่ต้านทานต่อสารฆ่าไรนี้ ถึงแม้จะได้สัมผัสสารฆ่าไรนี้จำนวน 8, 7, 5, และ 4 รุ่น (ครั้ง)

วิธีดำเนินงาน

อุปกรณ์

- ไรแดงแอฟริกันจากแหล่งปลูกต่างๆ
- สารฆ่าไร propargite (Omite 30% WP), amitraz (Mitac 20% EC), pyridaben (Sanmite 20% WP), fenbutatin oxide (Torque 55% W/V SC)
- กล้องจุลทรรศน์แบบสองตา
- อุปกรณ์ทำการทดลอง เช่น พู่กัน
- อุปกรณ์บันทึกข้อมูล กล้องถ่ายรูป

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ CRD 5 ซ้ำ 5 กรรมวิธีคือ

1. สาร propargite (Omite 30% WP) อัตรา 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
2. สาร amitraz (Mitac 20% EC) อัตรา 40 cc./น้ำ 20 ลิตร
3. สาร pyridaben (Sanmite 20% WP) อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
4. สาร fenbutatin oxide (Torque 55% W/V SC) อัตรา 10 cc./น้ำ 20 ลิตร
5. น้ำกลั่น

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2554 สิ้นสุด กันยายน 2556

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

เก็บรวบรวมไรแดงแอฟริกันจากแหล่งปลูกส้มเขียวหวานต่างๆ มาเลี้ยงแยกกันบนใบทองหลาง เมื่อมีปริมาณตัวเมียเพียงพอแล้วจะทำการทดลองตามกรรมวิธี พบว่าไรแดงแอฟริกันจากแหล่งปลูก จ. กำแพงเพชรมีค่า LC_{50} ต่อสารในแต่ละกรรมวิธี ดังต่อไปนี้ สาร propagite 142.888ppm, amitraz 218,800ppm, pyridaben 39.487 ppm และสาร fenbutatin oxide 1472.417pmm แสดงให้เห็นว่าไรแดงแอฟริกันจากแหล่งปลูก จ. กำแพงเพชรมีแนวโน้มต้านทานต่อสาร amitraz ส่วนไรแดงแอฟริกันจากแหล่งปลูก อ. ฝาง จ. เชียงใหม่ มีค่า LC_{50} ต่อสารในแต่ละกรรมวิธี ดังต่อไปนี้ สาร propagite 8.5ppm, amitraz 1229.683ppm, pyridaben 5.12ppm และสาร fenbutatin oxide 251.553ppm แสดงให้เห็นว่าไรแดงแอฟริกันจากแหล่งปลูกจ. เชียงใหม่ มีแนวโน้มต้านทานต่อสาร amitraz ส่วนในแหล่งปลูกอื่นๆต้องทำการทดลองเพื่อหาข้อสรุปต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ไรแดงแอฟริกันจากแหล่งปลูก จ. กำแพงเพชรและ จ. เชียงใหม่ มีแนวโน้มต้านทานต่อสาร amitraz ส่วนในแหล่งปลูกอื่นๆต้องทำการทดลองเพื่อหาข้อสรุปต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์, วัฒนา จารณศรี, มานิตา คงชื่นสินและพิเชฐ เซาว์นวัฒนวงศ์ . 2545. การศึกษาความต้านทานต่อสารฆ่าไรบางชนิดของไรแดงแอฟริกันในสวนส้ม, หน้า 91-111 ใน เอกสารประกอบการประชุมสัมมนาทางวิชาการแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ครั้งที่ 13 ประจำปี 2545, 6-9 สิงหาคม 2545. ณ โรงแรมโกลเด้นแลนด์ อำเภอชะอำ ,จังหวัดเพชรบุรี.
- เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ , ฉัตรชัย ศฤงฆไพบุลย์,วัฒนา จารณศรี, มานิตา คงชื่นสิน,มารศรี จีระสมบัติและนวลศรี วงษ์ศิริ. 2534. การวัดความเสียหายของส้มโอที่เกิดจากไรแดงแอฟริกัน. รายงานผลการค้นคว้าวิจัยประจำปี 2543. กลุ่มงานอนุกรมวิธานและวิจัยไร, กองกีฏและสัตววิทยา,กรมวิชาการเกษตร.หน้า 6 -11.
- พาลาภ สิงหเสนี. 2535. พิษของยาฆ่าแมลงต่อผู้และสิ่งแวดล้อม. ภาควิชาเกษตรวิทยา,คณะเกษตรศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ. 147 หน้า
- วัฒนา จารณศรี,ฉัตรชัย ศฤงฆไพบุลย์,มานิตา คงชื่นสิน,เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์และนวลศรี วงษ์ศิริ. 2531. การศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานของไรศัตรูส้มเขียวหวานในประเทศไทย. รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยประจำปี 2531. กลุ่มงานอนุกรมวิธานและวิจัยไร, กองกีฏและสัตววิทยา,กรมวิชาการเกษตร. หน้า 133-177.
- วัฒนา จารณศรี,เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์,มานิตา คงชื่นสินและฉัตรชัย ศฤงฆไพบุลย์. 2539. ชนิดและปริมาณไรในสวนส้มโอที่ใช้หลักการบริหารศัตรูพืชและสวนส้มโอของเกษตรกร.ว.กีฏ. สัตว. 18(4) : 213-225.

Kulpiyawat, T.,V. Charanasri, C.Saringkaphaibul, M.Kongchuensin and M.Jeerasombat.
1993.Relationships of *Eutetranychus africanus* (Tucker) to Pummelo Damage.
Annu. Rep. of the year 1993. Entomol and Zool. Div.Dept. of Agr.pp.98-99.

สารกำจัดศัตรูพืชบางชนิดที่ก่อให้เกิดการระบาดมากขึ้นของไรแดงแอฟริกัน African red mite, *Eutetranychus africanus* (Tucker)

Some Acaricides Induced African Red Mite, *Eutetranychus africanus* (Tucker) Resurgence

อัจฉราภรณ์ ประเสริฐผล² มานิตา คงชื่นสิน¹ พิเชฐ เขาวรรณวัฒน์²

พลอยชมพู กรวิภาสเรือง² วิมลวรรณ โชติวงศ์²

¹ผู้เชี่ยวชาญ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

²กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ผลของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชบางชนิดต่อปริมาณไรแดงแอฟริกันและศัตรูธรรมชาติ โดยเป็นไรแดงชนิด *Eutetranychus africanus* (Tucker) ในแปลงส้มเกษตรกร อ.พรานกระต่าย จ. กำแพงเพชร วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ก่อนทำการทดลอง สุ่มนับจำนวนไรแดงก่อนการพ่นสาร แล้วจึงพ่นสารป้องกันกำจัดไรแดงต่อกันทุก 14 วัน รวม 3 ครั้ง ตามกรรมวิธี ทำการตรวจนับจำนวนไรหลังพ่นสาร 7 วัน พบว่า เมื่อทำการพ่นสารทดลองไปแล้ว 3 ครั้ง กรรมวิธีที่พ่นสาร mancozeb มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งทำให้สันนิษฐานได้ว่าสาร mancozeb อาจเป็นสารที่ก่อให้เกิดการระบาดมากขึ้นต่อไรแดงแอฟริกันได้ จากนั้นเก็บรวบรวมไรแดงแอฟริกันจากแปลงทดลอง มาเลี้ยงแยกกันบนใบทองหลาง ณ ห้องปฏิบัติการ และทำการทดสอบโดยพ่นด้วยเครื่อง TLC sprayer ตามกรรมวิธี พบว่าไรแดงแอฟริกันจากแปลงทดสอบมีค่า LC₅₀ ต่อสารในแต่ละกรรมวิธี ดังต่อไปนี้ สาร carbaryl 99.973ppm, fenpropratin 60.925ppm, cypermethrin 65.32ppm และสาร mancozeb 1040.414ppm จากนี้จะใช้ค่า Subleatal dose ในการทดสอบผลของสารที่มีต่อลักษณะทางชีววิทยาของไรแดงแอฟริกันในห้องปฏิบัติการ เพื่อหาข้อสรุปต่อไป

คำนำ

ไรแดงแอฟริกัน *Eutetranychus africanus* (Tucker) เป็นศัตรูที่สำคัญของส้มเขียวหวาน ส้มโอ ทูเรียน และมะละกอ พบระบาดทำความเสียหายให้กับไม้ผลดังกล่าวเป็นประจำ โดยเฉพาะในสภาพพื้นที่ปลูกที่แห้งแล้งและขาดการดูแลการให้น้ำอย่างทั่วถึง (วัฒนาและคณะ, 2531) การทำลายของไรชนิดนี้ในส้มเขียวหวานทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัย ดูดกินน้ำเลี้ยงจากบริเวณหน้าใบและผล โดยเฉพาะใบในระยะที่เป็นใบเพศลาดจนถึงใบแก่จะปรากฏเป็นจุดสีซีดจางกระจายอยู่ทั่วไปทำให้ใบสูญเสียคลอโรฟิลล์ซึ่งมีธาตุไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ (Kulpiyawat *et al.*, 1993) หากทำลายรุนแรงใบจะร่วง (เทวินทร์และคณะ, 2534) อาจมีผลต่อการเจริญเติบโตและการออกดอกและติดผล ส่วนการทำลายที่ผลลักษณะอาการเช่นเดียวกับที่ใบ

รหัสการทดลอง 03-04-54-02-03-01-05-54

ปัจจุบันการใช้สารเคมียังคงเป็นวิธีการเดียวที่เกษตรกรนิยมใช้ป้องกันกำจัดไรศัตรูไม้ผลเพื่อเป็นการลดความเสียหายที่จะเกิดขึ้น (วัฒนาและคณะ,2539) เพราะฉะนั้นการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดไรศัตรูส้ม ยังคงมีความจำเป็นอยู่ และยังเป็นวิธีการที่สามารถป้องกันกำจัดประชากรของไรได้รวดเร็ว สะดวกและไม่ต้องใช้เทคนิคมากนัก แต่ถ้าเกษตรกรพ่นสารเคมีมากเกินไปก็เกิดความจำเป็นก็จะเกิดผลเสียหายตามมา คือโรสร้างความต้านทานต่อสารเคมี ทำให้ต้องเพิ่มปริมาณสารเคมีที่ใช้เนื่องจากปริมาณที่เคยใช้ได้ผลไม่สามารถฆ่าไรได้ เป็นการทวีความรุนแรงของปัญหาทั้งทางด้านพิษวิทยาและเศรษฐกิจ (พาลาภ,2535) อีกทั้งยังมีเกษตรกรส่วนหนึ่งใช้สารป้องกันกำจัดไรศัตรูพืชที่ก่อให้เกิดการเพิ่มการระบาดของไรแดงแอฟริกันและปัญหาสิ่งแวดล้อมในสวนส้ม

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- แปลงส้ม
- เครื่องยนต์พ่นสารสะพายน้หลังแบบแรงดันน้ำ
- สารฆ่าไร carbaryl (S-85 85% WP), fenpropratin (Danitol 10% EC), cypermethrin (Cypermethrin 35 35% EC), mancozeb (Azinmag 80% WP)
- กล้องจุลทรรศน์แบบสองตา
- อุปกรณ์ทำแปลงทดลอง เช่น ป้ายแปลง
- อุปกรณ์บันทึกข้อมูล กล้องถ่ายรูป

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธีคือ

1. พ่นสาร carbaryl (S-85 85% WP) อัตรา 20 กรัม/ น้ำ 20 ลิตร
2. พ่นสาร fenpropratin (Danitol 10% EC) อัตรา 20 cc./ น้ำ 20 ลิตร
3. พ่นสาร cypermethrin (Cypermethrin 35 35% EC) อัตรา 10 cc./ น้ำ 20 ลิตร
4. พ่นสาร mancozeb (Azinmag 80% WP) อัตรา 40 กรัม/ น้ำ 20 ลิตร
5. ไม่พ่นสาร

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2553 สิ้นสุด กันยายน 2556

แปลงส้มเกษตรกร อ.พรานกระต่าย จ.กำแพงเพชร

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ทำการทดลองที่แปลงส้มเกษตรกร อ.พรานกระต่าย จ.กำแพงเพชร และสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรุงเทพฯ หลังจากการดำเนินการพ่นสารเคมีตามกรรมวิธี และเก็บผลมาทำการวิเคราะห์ผล พบว่า ก่อนทำการพ่นสาร ปริมาณไรแดงเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมี

ค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 5.4-11.1 ตัวต่อใบ เมื่อทำการพ่นสารแล้วตรวจนับจำนวนไรแดงที่ 7 วัน หลังการพ่นสาร พบว่า ทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติรวมถึงกรรมวิธีไม่พ่นสาร โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 6.2-10.8 ตัวต่อใบ หลังการพ่นสารครั้งที่ 2 ก็เป็นไปในทำนองเดียวกัน คือ ทุกกรรมวิธี รวมถึงกรรมวิธีไม่พ่นสาร มีปริมาณเฉลี่ยของไรแดงอยู่ระหว่าง 0.94-10.98 ตัวต่อใบ ส่วนหลังการพ่นสารครั้งที่ 3 พบว่ากรรมวิธีที่พ่นสาร mancozeb มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งทำให้สันนิษฐานได้ว่าสาร mancozeb อาจเป็นสารที่ก่อให้เกิดการระบาดมากขึ้นต่อไรแดงแอฟริกันได้ หลังจากนั้นเก็บรวบรวมไรแดงแอฟริกันจากแปลงทดลอง มาเลี้ยงแยกกันบนใบทองหลาง ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรุงเทพฯ เมื่อมีปริมาณตัวเมียเพียงพอแล้วทำการทดลองโดยพ่นด้วยเครื่อง TLC sprayer ตามกรรมวิธี พบว่าไรแดงแอฟริกันจากแปลงทดสอบมีค่า LC₅₀ ต่อสารในแต่ละกรรมวิธี ดังต่อไปนี้ สาร carbaryl 99.973ppm, fenpropratin 60.925ppm, cypermethrin 65.32ppm และสาร mancozeb 1040.414ppm จากนี้จะใช้ค่า Subleatal dose ในการทดสอบผลของสารที่มีต่อลักษณะทางชีววิทยาของไรแดงแอฟริกันในห้องปฏิบัติการ เพื่อหาข้อสรุปต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

หลังการพ่นสารครั้งที่ 3 พบว่ากรรมวิธีที่พ่นสาร mancozeb มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งทำให้สันนิษฐานได้ว่าสาร mancozeb อาจเป็นสารที่ก่อให้เกิดการระบาดมากขึ้นต่อไรแดงแอฟริกันได้ แต่ยังไม่สามารถสรุปได้ ต้องทำการทดสอบผลของสารที่มีต่อลักษณะทางชีววิทยาของไรแดงแอฟริกันในห้องปฏิบัติการ เพื่อหาข้อสรุปต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ , ฉัตรชัย ศฤงฆไพบุลย์,วัฒนา จารณศรี, มานิตา คงชื่นสิน,มารศรี จีระสมบัติและนวล ศรี วงษ์ศิริ. 2534. การวัดความเสียหายของส้มโอที่เกิดจากไรแดงแอฟริกัน. รายงานผลการค้นคว้าวิจัยประจำปี 2543. กลุ่มงานอนุกรมวิธานและวิจัยไร, กองกีฏและสัตววิทยา,กรมวิชาการเกษตร.หน้า 6 -11.
- พาลาก สิงหนณี. 2535. พืชของยาฆ่าแมลงต่อผู้และสิ่งแวดล้อม. ภาควิชาเภสัชวิทยา,คณะเภสัชศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ. 147 หน้า
- วัฒนา จารณศรี,ฉัตรชัย ศฤงฆไพบุลย์,มานิตา คงชื่นสิน,เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์และนวลศรี วงษ์ศิริ. 2531. การศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานของไรศัตรูส้มเขียวหวานในประเทศไทย. รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยประจำปี 2531. กลุ่มงานอนุกรมวิธานและวิจัยไร, กองกีฏและสัตววิทยา,กรมวิชาการเกษตร. หน้า 133-177.
- วัฒนา จารณศรี,เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์,มานิตา คงชื่นสินและฉัตรชัย ศฤงฆไพบุลย์. 2539. ชนิดและปริมาณไรในสวนส้มโอที่ใช้หลักการบริหารศัตรูพืชและสวนส้มโอของเกษตรกร.ว.กีฏ. สัตว. 18(4) : 213-225.
- Kulpiyawat, T.,V. Charanasri, C.Saringkaphaibul, M.Kongchuensin and M.Jeerasombat. 1993.Relationships of *Eutetranychus africanus* (Tucker) to Pummelo Damage. Annu. Rep. of the year 1993. Entomol and Zool. Div.Dept. of Agr.pp.98-99.

ศึกษาหาระยะเวลาหรือความถี่ในการพ่นจุลินทรีย์

วิไลวรรณ เวชยันต์ สาทิพย์ มาลี อิศเรศ เทียนทัต
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ศึกษาหาระยะเวลาหรือความถี่ในการพ่นจุลินทรีย์เพื่อควบคุมด้วงหมัดผักในคะน้า ดำเนินการทดลองที่ อำเภอกำแพง จังหวัดกาญจนบุรี ปี 2555 โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี คือ ใช้ไส้เดือนฝอย *Steinernema riobrave* อัตรา 2×10^7 ตัวต่อน้ำ 20 ลิตร ทุก 5 วัน, ใช้ *Steinernema riobrave* อัตรา อัตรา 2×10^7 ตัวต่อน้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน, ใช้ *Steinernema carpocapsae* อัตรา 2×10^7 ตัวต่อน้ำ 20 ลิตร ทุก 5 วัน, ใช้ *Steinernema carpocapsae* อัตรา 2×10^7 ตัวต่อน้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน, พ่น *Bacillus thuringiensis* subsp. *tenebrionis* อัตรา 80 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน เปรียบเทียบกับการไม่พ่นสารป้องกันกำจัดแมลง (control) ทำการตรวจนับด้วงหมัดผักในแปลงคะน้าก่อนการทดลอง และหลังจากการใช้จุลินทรีย์ตามกรรมวิธีโดยมีระยะเวลาพ่นห่างกัน 5 วัน ไส้เดือนฝอยมีชีวิตรอดและยังคงประสิทธิภาพและมีแนวโน้มให้ผลในการควบคุมด้วงหมัดผักได้ดีกว่าการใช้ทุก 7 วัน

คำนำ

คะน้าเป็นพืชผักที่ยังคงความนิยมในการบริโภคมากเป็นอันดับต้นๆอุดมไปด้วยวิตามินและสารที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย หาซื้อง่ายราคาไม่แพง ปลูกได้ทั่วไป เก็บเกี่ยวผลผลิตได้ทั้งปีช่วยให้เกษตรกรมีรายได้ต่อเนื่องมีการปลูกเพื่อบริโภคทั้งภายในประเทศและส่งออกจำหน่ายต่างประเทศ การปลูกคะน้าจำเป็นต้องพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชสม่ำเสมอโดยเฉพาะสารฆ่าแมลง ทั้งนี้เพราะคะน้ามีแมลงศัตรูสำคัญหลายชนิดเช่น หนอนใยผัก หนอนกระทุ้งด้วงหมัดผัก หนอนเจาะยอดบางครั้งการระบาดเกิดขึ้นรวดเร็วและก่อให้เกิดความเสียหายอย่างรุนแรงจนไม่สามารถเก็บผลผลิตได้เกษตรกรจึงจำเป็นต้องใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชตลอดฤดูปลูกในอัตราสูงและบ่อยครั้ง ทำให้แมลงเกิดความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงที่ใช้ติดต่อกัน ทำให้เกิดปัญหาสารฆ่าแมลงที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบันหรือสารที่เป็นคำแนะนำของกลุ่มกีฏและสัตววิทยามานานกว่า 10 ปีแล้วนั้น มีประสิทธิภาพต่ำหรือบางชนิดไม่สามารถควบคุมแมลงศัตรูคะน้าได้เลย

รหัสการทดลอง 01-40-54-02-01-00-04-55

ดวงหมัดผัก (flea beetle) ที่พบในประเทศไทยมี 2 ชนิด คือ ชนิดสีน้ำเงินเข้ม *Phyllotreta chontanica* Duvivier และชนิดแถบลาย *Phyllotreta flexuosa* (Illiger) = *Phyllotreta sinuata* , Stephens) ดวงหมัดผักแถบลายเป็นแมลงศัตรูผักที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ (จอมสุรางค์ และคณะ, 2550) โดยเฉพาะในแหล่งพื้นที่ปลูกผักชนิดต่างๆ เช่น บริเวณรอบกรุงเทพฯ ปทุมธานี นนทบุรี นครปฐม กาญจนบุรี เป็นต้น แมลงชนิดนี้ชอบทำลายผักในตระกูลกะหล่ำ เช่น กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก กะหล่ำปม ผักคะน้า ผักกวางตุ้ง ผักกาดเขียวปลี และผักกาดหัว ระยะกลาของ ผักที่มีอายุตั้งแต่ปลูกถึง 1 เดือนเป็นระยะที่สำคัญหากถูกทำลายจะทำให้ผักมีผลผลิตลดลงไม่สามารถ ส่งขายตลาดได้ หนอนที่ฟกออกจากไขใหม่ ๆ จะกีดกีนรากของผักหรืออาจซ่อนไข่เข้าไปกินอยู่บริเวณ โคนต้นและแทะกินบริเวณผิวของรากทำให้พืชมีอาการเหี่ยวเฉาและตายในที่สุด สำหรับตัวเต็มวัยเข้า ทำลายพืชผักทำให้เกิดความเสียหายมากมายโดยการกัดกินผิวด้านล่างของใบจนทำให้ใบมีลักษณะเป นรูพรุนทั่วทั้งใบ รวมทั้งกัดกินผิวลำต้น และกลีบดอกแมลงพวกนี้มักมีนิสัยชอบอยู่รวมกันเป็นกลุ่มๆ ตัวเต็มวัยค่อนข้างว่องไวเวลาถูกกระทบกระเทือนชอบกระโดดและสามารถบินได้ไกล ๆ การป้องกัน กำจัดทำได้ยาก แมกการไชสารฆ่าแมลง (วินัย, 2533) และปัญหาแมลงศัตรูพืชตามทานตอสารฆ่าแมลง มีพิษตกค้างในผลผลิต เป็นพิษต่อเกษตรกรผู้บริโภค และทำให้เกิดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม การ ควบคุมดวงหมัดผักแถบลายจึงจำเป็นต้องอาศัยการบริหารจัดการที่มีการประสานวิธีการควบคุมหลาย รูปแบบอย่างเหมาะสม

ไส้เดือนฝอยในวงศ์ Steinernematidae และ Heterorhabditidae เป็นไส้เดือนฝอยศัตรู แมลงที่มีศักยภาพสูงในการควบคุมแมลงศัตรูพืชได้หลายชนิด โดยเฉพาะแมลงที่อาศัยในดินหรือที่มี สภาพแวดล้อมเหมาะสม (Klein, 1990) *S. riobrave* เป็นไส้เดือนฝอยที่มีลักษณะเด่น คือ มีชีวิต รอดและคงประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงได้ดีแม้อุณหภูมิเพิ่มสูงถึง 35 ° องศาเซลเซียส โดยเฉพาะ *S. riobrave* ที่ยังคงมีประสิทธิภาพสูงกว่า 80% แม้อุณหภูมิจะสูงถึง 40 ° องศา เซลเซียส (Cabanillas et al., 1994.) จากการดำเนินการวิจัยและพัฒนาศักยภาพของไส้เดือน ฝอยทั้งการเพิ่มปริมาณและนำไปทดสอบกับแมลงศัตรูพืชสำคัญหลายชนิด พบว่าไส้เดือนฝอย *S. siamkayai* สามารถเข้าทำลายแมลงศัตรูพืชได้แก่ หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนกระทู้ผัก หนอนโย ผัก ได้เป็นผลดีที่ระดับอุณหภูมิสูง 25-30 ° องศาเซลเซียส ในห้องปฏิบัติการ ไส้เดือนฝอย *S. riobrave* และ *S. carpocapsae* จะมีชีวิตรอดและมีประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงมากกว่า 80 % ในสภาพที่มีความชื้นดิน 16% อุณหภูมิ 25 ° องศาเซลเซียส คงที่ตลอดระยะเวลาการเก็บ นาน 30 วัน (วัชร และสาทิพย์, 2551) การใช้ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ควบคุมด้วงหมัดผัก ในผักกาดหัว โดยใช้ไส้เดือนฝอย อัตรา 320 ล้านตัว/น้ำ 160 ลิตร ในพื้นที่ 1 ไร่ พ่นหรือราดลงดินใน เวลาเย็นหลังการรดน้ำแปลง เมื่อผักอายุได้ 0 10 20 และ 30 วัน หลังหว่านเมล็ด (วัชร และคณะ, 2534)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดคะน้า ๑๕๐ กรัม
2. ไข่เดือนฝอย *Steinernema riobrave*, *Steinernema carpocapsae*
3. เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* subsp. *tenebrionis*
4. ปิกเกอร์
5. ถ้วยพลาสติก
6. ถุงพลาสติก
7. กระบอกลง
8. ถังน้ำ บั้วรดน้ำ
9. ป้ายแสดงกรรมวิธี
10. อุปกรณ์เก็บข้อมูลและอุปกรณ์อื่นๆ ที่จำเป็น เช่น ปากคีบ ที่นับแมลง

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) จำนวน 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1. ไข่เดือนฝอย *S. riobrave* อัตรา 2×10^7 ตัวต่อน้ำ 20 ลิตร ทุก 5 วัน

กรรมวิธีที่ 2. ไข่เดือนฝอย *S. riobrave* อัตรา 2×10^7 ตัวต่อน้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน

กรรมวิธีที่ 3. ไข่เดือนฝอย *S. carpocapsae* อัตรา 2×10^7 ตัวต่อน้ำ 20 ลิตร ทุก 5 วัน

กรรมวิธีที่ 4. ไข่เดือนฝอย *S. carpocapsae* อัตรา 2×10^7 ตัวต่อน้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน

กรรมวิธีที่ 5. *Bacillus thuringiensis* subsp. *tenebrionis* อัตรา 80 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6. ไม่พ่นสารป้องกันกำจัดแมลง

วิธีปฏิบัติการทดลอง

ปลูกคะน้าในแปลงทดลองของเกษตรกร ขนาดแปลงย่อย 2x5 เมตร ระยะห่างระหว่างแปลงย่อย 1 เมตร หรือหลังหว่านเมล็ด 20 วัน หรือเมื่อพบด้วงหมัดผักเฉลี่ย 1 ตัวต่อต้น ราวสารตามกรรมวิธีด้วยบัวรดน้ำ ในเวลา 15.00-17.00 น.

การบันทึกข้อมูล

- จำนวนตัวเต็มวัยด้วงหมัดผักโดยสุ่มจากต้นคะน้าจำนวน 20 ต้นต่อแปลงย่อยก่อนและหลังการพ่นสารทดลอง
- จำนวนครั้งที่พ่นไข่เดือนฝอย ตลอดฤดูปลูก
- ผลผลิตในแต่ละวิธีการ โดยสุ่มเก็บตัวอย่างผลผลิตจากพื้นที่ 1 ตารางเมตรต่อแปลงย่อย
- บันทึกเปอร์เซ็นต์ความเสียหายของใบคะน้าที่ถูกทำลายจากด้วงหมัดผัก
- จำนวนผลผลิตที่มีคุณภาพจำหน่ายได้ (marketable yield) ในแต่ละแปลงย่อย

- วิเคราะห์ผลทางสถิติของจำนวนแมลงศัตรูในแต่ละครั้งที่ตรวจนับด้วยโปรแกรม IRRISTAT วิเคราะห์ความแปรปรวนหลังพ่นสารด้วยวิธี analysis of covariance จากนั้นเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

เวลาและสถานที่

เวลา : เดือนตุลาคม 2554 – เดือนกันยายน 2555

สถานที่ : แปลงปลูกคะน้า อ. ท่าม่วง จ. กาญจนบุรี

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในการควบคุมด้วงหมัดผักในคะน้า ดำเนินการทดลองที่ อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี ระหว่างมกราคม-เมษายน 2555 โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี คือ ใช้ไส้เดือนฝอย *Steinernema riobrave* อัตรา 2×10^7 ตัวต่อน้ำ 20 ลิตร ทุก 5 วัน, ใช้ *Steinernema riobrave* อัตรา อัตรา 2×10^7 ตัวต่อน้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน, ใช้ *Steinernema carpocapsae* อัตรา 2×10^7 ตัวต่อน้ำ 20 ลิตร ทุก 5 วัน, ใช้ *Steinernema carpocapsae* อัตรา 2×10^7 ตัวต่อน้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน, พ่น *Bacillus thuringiensis* subsp. *tenebrionis* อัตรา 80 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน จากการเก็บตัวอย่างดินหลังการใช้ไส้เดือนฝอยทั้งสองชนิด คือ *Steinernema riobrave* และ *Steinernema carpocapsae* นำมาทดสอบการมีชีวิตรอดของไส้เดือนฝอยในดิน โดยการใช้หนอนกินรังผึ้งเป็นแมลงทดสอบนั้น พบว่าไส้เดือนฝอยทั้งสองชนิดมีชีวิตรอดหลังรอดไส้เดือนฝอยลงแปลงคะน้า 1 วัน และมีประสิทธิภาพเข้าทำลายแมลงทดสอบตาย 100 เปอร์เซ็นต์ หลังรอดไส้เดือนฝอยลงแปลงคะน้า 6 วัน ไส้เดือนฝอยยังคงมีชีวิตรอดและมีประสิทธิภาพเข้าทำลายแมลงได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ และภายหลังการเก็บเกี่ยวผลผลิตคะน้าแล้ว 14 วัน พบว่าไส้เดือนฝอยยังคงมีชีวิตรอดได้ในดินในแปลงคะน้า และยังคงประสิทธิภาพสามารถเข้าทำลายแมลงตายได้ เช่นเดียวกัน จากการตรวจนับด้วงหมัดผัก พบว่า ด้วงหมัดผักเริ่มลงทำลายพืชตั้งแต่พืชเริ่มงอกและพบการเข้าทำลายพืชตลอดระยะเวลาการปลูก หากพืชถูกทำลายในระยะกล้ามากกว่า 25 % พืชไม่สามารถชดเชยความเสียหายได้ และจากการสังเกตพบด้วงหมัดผักมักลงทำลายพืชในระยะกล้ามากกว่าระยะอื่นๆ และทำลายยอดอ่อนมากกว่าใบแก่

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ระยะเวลาในการใช้จุลินทรีย์ควบคุมด้วงหมัดผักในคะน้า โดยมีช่วงเวลากำไรใช้ทุก 5 วัน มีแนวโน้มในการควบคุมแมลงได้ดีกว่า 7 วัน ทั้งนี้อาจมีหลายปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพและการคงอยู่ของจุลินทรีย์ที่ใช้ โดยเฉพาะไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง เช่น สภาพอากาศ ความชื้น เป็นต้น จำนวนไส้เดือนฝอยที่ยังคงอยู่ในธรรมชาติได้ และจำนวนไส้เดือนฝอยที่พ่นซ้ำในแปลงคะน้า เป็นการเพิ่ม

โอกาสให้กับ ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในการค้นหาและเข้าทำลายด้วงหมัดผักโดยเฉพาะระยะตัวอ่อน ซึ่งอาศัยและกัดกินรากอ่อนของคะน้า ก่อนที่จะฟักเป็นตัวเต็มวัย มาทำลายและกัดกินใบคะน้า ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- จอมสุรางค์ ดวงสนธิ วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ ไสว บูรณพานิชพันธุ์ และจิราพร ตยุดิวฒิกุล. 2550. ชีววิทยาและนิเวศวิทยาของด้วงหมัดผักแถบภายในเขตภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย. วิทยาสารกำแพงแสน. 5 (1): 20-29.
- วินัย รัชตปกรณชัย. 2533. การป้องกันกำจัดด้วงหมัดผักในผักกาดหัว วารสารกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร 12 : 4-10.
- วัชรีย์ สมสุข และสุทธิชัย สมสุข. 2544. ศึกษาอาหารเหลวเลี้ยงไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* (Weiser) ใน “ผลงานวิจัย โครงการวิจัยและพัฒนาการผลิตไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในระดับการค้า” หน้า 28-40. จัดพิมพ์โดยกรมวิชาการเกษตร สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.
- วัชรีย์ สมสุข วินัย รัชตปกรณชัย พิมลพร นันทะ. 2534. การใช้ไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* ควบคุมด้วงหมัดผักในผักกาดหัว วารสารกีฏและสัตววิทยา. 13 : 183 – 188.
- Cabanillas, H.E., G.O. Jr. Poinar and J.R. Raulston. 1994. *Steinernema riobravis* n. sp. (Rhabditida: Steinernematidae) from Texas. Fundam. Appl. Nematol. 17:123-131.
- 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

ศึกษาสถานการณ์การระบาดและการจัดการปัญหาของวัชพืช
ต้านทานสารกำจัดวัชพืชในอ้อย

Widespread and management of weeds resistant
to herbicides in sugarcane

จรรยา มณีโชติ^{1/} สิริชัย สารุวิจารณ์^{2/} ยุรวรรณ อนันตมณี^{2/}
วันทนา เลิศศิริวรกุล^{3/} ทักษิณา คັນสยะวิชัย^{3/}
สุนี ศรีสิงห์^{4/} สุพัตรา ชาวกงจักร^{5/}

^{1/}ผู้เชี่ยวชาญ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/}กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{3/}ศูนย์วิจัยพืชไร่นอนแก่น สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่3

^{4/}ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสุพรรณบุรี สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่5

^{5/}ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกาฬสินธุ์ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่3

รายงานความก้าวหน้า

จากการดำเนินงานในปี 2555 ได้ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างวัชพืชที่คาดว่าจะมีความต้านทานสารกำจัดวัชพืชที่ใช้ในแปลงอ้อย จำนวน 80 แปลง ในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดขอนแก่น จำนวน 31 แปลง อุตรธานี 17 แปลง มหาสารคาม จำนวน 9 แปลง หนองบัวลำภู จำนวน 8 แปลง ร้อยเอ็ด จำนวน 4 แปลง กาฬสินธุ์ 4 แปลง มุกดาหาร 4 แปลง และ ชัยภูมิ 3 แปลง จากการสำรวจวัชพืชที่พบมากที่สุดแปลงอ้อย ได้แก่ สาบม่วง (37.5%) หญ้าตีนนก (32.5%) หญ้าปากควาย (17.5%) วัชพืชประเภทกก (12.5%) และวัชพืชจากจำนวนแปลงที่ทำการสำรวจ ทำการเก็บเมล็ดวัชพืชที่พบในแปลงเพื่อนำมาทำการปลูกทดสอบความต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืชที่ใช้ในอ้อย และได้ทำการเพาะเมล็ดวัชพืช ทำการพ่นสารกำจัดวัชพืชเป็นที่เรียบร้อยแล้ว ขณะนี้อยู่ระหว่างการเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ความต้านทานของวัชพืช

รหัสการทดลอง 01-05-54-02-01-00-06-55

คำนำ

เนื่องจากแรงงานในภาคเกษตรเริ่มหายากและมีราคาแพงขึ้นเรื่อยๆ ทำให้เกษตรกรจำเป็นต้องใช้สารกำจัดวัชพืชเพื่อทดแทนแรงงานเพิ่มมากขึ้นทุกปี โดยสถิติการนำเข้าสารกำจัดวัชพืชในปี พ.ศ. 2552 เป็นปริมาณสารออกฤทธิ์มากกว่า 85,821 ตัน คิดเป็นมูลค่า 9,338 ล้านบาท (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2553) โดยมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นทุกปี เมื่อรัฐบาลมีนโยบายให้เกษตรกรลดการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชลง การใช้สารกำจัดวัชพืชซึ่งเป็นต้นทุนที่จำเป็นต้องใช้ในการผลิตพืชพลังงานทุกชนิด ไม่ว่าจะเป็นอ้อย ข้าวโพดหรือมันสำปะหลังนั้น ตกเป็นเป้าหมายสำคัญที่จะลดปริมาณการใช้ลง แต่ปริมาณการใช้สารกำจัดวัชพืชที่เพิ่มขึ้นนั้นมีสาเหตุสำคัญมาจากวัชพืชพัฒนาความต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช โดยเฉพาะสารกำจัดวัชพืชที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในอ้อย มาเป็นเวลานานหลายปีติดต่อกัน

นับตั้งแต่มีการค้นพบวัชพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืชชนิดแรกในสหรัฐอเมริกา ปัจจุบันมีรายงานการระบาดของ วัชพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืชทั่วโลกมากกว่า 331 biotypes (189 species) กระจายอยู่ในทุกทวีปทั่วโลก กลุ่มสารกำจัดวัชพืชที่พบวัชพืชต้านทานมากที่สุด ประมาณ 8 กลุ่ม คือ กลุ่ม ACCase inhibitor (ตัวอย่างสารในกลุ่มนี้ได้แก่ clethodim และ quizalofop-p-ethyl) กลุ่ม ALS inhibitors (ตัวอย่างสารในกลุ่มนี้ได้แก่ imzopic และ flumioxazin) กลุ่ม Triazines (ตัวอย่างสารในกลุ่มนี้ได้แก่ atrazine และ ametryn) กลุ่ม Urea/Amides (ตัวอย่างสารในกลุ่มนี้ได้แก่ diuron) กลุ่ม Bipyridilium (ตัวอย่างสารในกลุ่มนี้ได้แก่ paraquat) กลุ่ม Glycines (ตัวอย่างสารในกลุ่มนี้ได้แก่ glyphosate) กลุ่ม Dinitroanilines (ตัวอย่างสารในกลุ่มนี้ได้แก่ alachlor และ acetochlor) กลุ่ม Synthetic Auxins (ตัวอย่างสารในกลุ่มนี้ได้แก่ 2,4-D) (Heap, 2010) โดยทุกประชากรต้านทานสารกำจัดวัชพืชมีประวัติการใช้สารกลุ่มเดียวกันต่อเนื่องกัน ตั้งแต่ 3-5 ปีขึ้นไป

ในประเทศไทย เริ่มมีการสำรวจชนิดวัชพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืช เมื่อปี พ.ศ. 2540 พบว่า มีวัชพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืชเกิดขึ้นหลายชนิด วัชพืชต้านทานชนิดแรกพบในนาหว่านน้ำตม คือ หญ้าข้าวนก (*Echinochloa crusgalli*) ซึ่งเป็นวัชพืชสำคัญต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช โพรพานิล และบิวตาคลอร์ (จรรยา และคณะ 2543ก; Maneechote *et. al.*, 1999) ต่อมา มีรายงานว่าพบวัชพืชทั้งใบแคบ (หญ้าปากควาย และ หญ้าตีนกา) และใบกว้าง (พันงูเขียว และ หญ้ายาง) ต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืชไกลโฟเสทในแหล่งปลูกปาล์มน้ำมันในภาคใต้ (จรรยา และคณะ 2543ข) ต่อมา พบการระบาดของหญ้าดอกขาวที่ต้านทานต่อสาร fenoxaprop-p-ethyl, cyhalofop-butyl, quizalop-p-tefuryl และ profoxydim ซึ่งสารเหล่านี้อยู่ในกลุ่มเดียวกัน คือ ACCase inhibitors (Maneechote *et al.* 2005)

ในประเทศไทย งานวิจัยส่วนใหญ่ด้านวัชพืชด้านทานสารกำจัดวัชพืช จะมุ่งเน้นไปที่สารกำจัดวัชพืชที่ใช้น้ำข้าว แต่ยังไม่มีการสำรวจวัชพืชด้านทานสารกำจัดวัชพืชในพืชไร่เศรษฐกิจอื่นๆ เช่น มันสำปะหลัง อ้อย และข้าวโพด ซึ่งมีการใช้สารกำจัดวัชพืชชนิดเดียวกันหรือมีกลไกการเข้าทำลายเหมือนกันอย่างต่อเนื่องกัน มานานกว่า 30 ปี สารกำจัดวัชพืชในกลุ่มดังกล่าว ได้แก่ atrazine, ametryn, bromacil, diuron ซึ่งมีกลไกการเข้าทำลายพืชโดยเข้าไปยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์แสง

วิธีดำเนินการ

วิธีการดำเนินการวิจัย

- สำรวจแปลงที่มีการระบาดของวัชพืชใบแคบและใบกว้างในแหล่งปลูกอ้อยใน 20 จังหวัด ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 10 จังหวัด (นครราชสีมา อุรธานี บุรีรัมย์ ขอนแก่น มุกดาหาร มหาสารคาม กาฬสินธุ์ เลย สุรินทร์ และชัยภูมิ) ภาคกลาง 7 จังหวัด (สุพรรณบุรี กาญจนบุรี ราชบุรี นครสวรรค์ ชลบุรี ลพบุรี สระแก้ว) ภาคเหนือ 3 จังหวัด (กำแพงเพชร ลำปาง ตาก) จังหวัดละ 30 แปลง เป็นจำนวนทั้งหมด 600 แปลง พร้อมบันทึกพิกัดของแปลงที่สำรวจ
- ออกแบบสัมภาษณ์เกษตรกรถึงข้อมูลในการจัดการวัชพืชทั้งหมด เช่นวิธีการไถเตรียมดิน ชนิดและอัตราสารกำจัดวัชพืชที่ใช้ ระยะเวลาในการใช้สาร ประวัติการใช้สาร เครื่องพ่นสาร ต้นทุนการกำจัดวัชพืช การแพร่ระบาดของวัชพืชสำคัญที่เกษตรกรประสบปัญหา กำจัดไม่ได้ เป็นต้น
- บันทึกความหนาแน่นของวัชพืชที่พบในแต่ละแปลงโดยการสุ่มนับใน quadrat ขนาด 0.5 x 0.5 เมตร จำนวน 8 จุด จำแนกเป็นชนิดวัชพืชที่พบในแต่ละแปลงคำนวณความหนาแน่นของวัชพืชโดดเด่นแต่ละชนิดโดยเปรียบเทียบกับจำนวนวัชพืชรวมทุกชนิดที่พบในพื้นที่สุ่ม
- เก็บเมล็ดวัชพืชที่โดดเด่นอย่างน้อย 1 ชนิด ในแปลงที่สงสัยว่าเกิดวัชพืชด้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช โดยเก็บเมล็ดประมาณ 100 กรัมต่อประชากร โดยเดินสุ่มเก็บเมล็ดในแนวทแยงมุม นำเมล็ดทั้งหมดมารวมกันเป็น bulk seed ตากแห้งและเก็บไว้ในตู้เย็นเก็บเมล็ดวัชพืชชนิดเดียวกัน จากแปลงที่ไม่เคยใช้สารกำจัดวัชพืชชนิดนั้นๆ มาก่อน เพื่อใช้เป็น susceptible check
 - ประเมิน Frequency ในการเกิดวัชพืชด้านทานสารกำจัดวัชพืชประเมิน Frequency ในการเกิดวัชพืชด้านทานสารกำจัดวัชพืช โดยเฉพาะเมล็ดวัชพืชที่สงสัยว่าด้านทานทั้งหมด 100 ประชากรๆละ 500 เมล็ด ทำ 4 ซ้ำ พ่นด้วยสารกำจัด

วัชพืชที่มีประวัติการใช้อย่างต่อเนื่องในแต่ละแปลง โดยใช้ ที่อัตราแนะนำ นับจำนวนต้นรอดตายในแต่ละประชากร

ประชากรต้านทาน (Resistant population) = ประชากรที่มีต้นรอดตายมากกว่า 20%
 ประชากรที่กำลังพัฒนาความต้านทาน (Developing resistant population) = ประชากรที่มีต้นรอดตาย 1-20% และประชากรอ่อนแอ (Susceptible population) = ประชากรที่ไม่มีต้นรอดตายเลย 0%

- นำสารกำจัดวัชพืช 4 ชนิด ที่มีกลไกการเข้าทำลายพืช ที่แตกต่างจากสารกำจัดวัชพืชในกลุ่มที่วัชพืชพัฒนาความต้านทาน มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืช โดยปลูกทดสอบในสภาพเรือนทดลอง และใช้ที่อัตราแนะนำ หลังใช้สาร 30 วัน นับจำนวนต้นที่รอดตาย เพื่อศึกษาว่าสารชนิดใดมีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชประชากรที่เก็บมาจากแหล่งปลูกจังหวัดไต่บ้าง

การบันทึกข้อมูล

- หลังพ่นสาร 30 วัน นับจำนวนต้นที่รอดตายในแต่ละกรรมวิธี
- หาค่า frequency ในการเกิดประชากรวัชพืชต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช
- คำนวณหาระดับความต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืชแต่ละชนิด
- บันทึกความถี่ในการเกิด cross-resistance หรือ multiple resistance ในประชากรวัชพืชที่ต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืชที่ใช้ในแหล่งปลูกอ้อย

เวลาและสถานที่

- แปลงปลูกอ้อยของเกษตรกร
- โรงเรือนกลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ได้ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างวัชพืชที่คาดว่าจะมีความต้านทานสารกำจัดวัชพืชที่ใช้ในแปลงอ้อย จำนวน 80 แปลง ในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดขอนแก่น จำนวน 31 แปลง อุตรธานี 17 แปลง มหาสารคาม จำนวน 9 แปลง หนองบัวลำภู จำนวน 8 แปลง ร้อยเอ็ด จำนวน 4 แปลง กาฬสินธุ์ 4 แปลง มุกดาหาร 4 แปลง และ ชัยภูมิ 3 แปลง จากการสำรวจวัชพืชที่พบมากที่สุด ในแปลงอ้อย ได้แก่ สาบม่วง (37.5%) หญ้าตีนนก (32.5%) หญ้าปากควาย (17.5%) วัชพืชประเภทกก (12.5%) (ตารางที่ 1) ขณะนี้ได้ทำการเพาะเมล็ดวัชพืชและพ่นสารกำจัดวัชพืชเพื่อทดสอบความ

ด้านทานอยู่ระหว่างการบันทึกข้อมูล และทำการสำรวจเพื่อให้ได้ข้อมูลการสถานการณ์การระบาดของ
 วัชพืชด้านทานในภาคตะวันออกเฉียงเหนือเพิ่มเติม

ตารางที่1 ชนิดวัชพืชที่คาดว่าด้านทานสารกำจัดวัชพืชที่ได้จากการสำรวจ

ชนิดวัชพืชที่คาดว่าด้านทาน	จำนวนแปลงที่พบ	% Total
สาบม่วง	30	37.5
หญ้าตีนนก	26	32.5
หญ้าปากควาย	14	17.5
กก	10	12.5
รวม	80	100

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

-

ภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ 1 พิกัดแปลงที่ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างวัชพืชที่คาดว่าต้านทานสารกำจัดวัชพืช

พิกัดแปลง		อำเภอ	จังหวัด	วัชพืชที่คาดว่าต้านทาน
x	y			
270950	1864520	เขาสวนกวาง	ขอนแก่น	หญ้าตีนนก
270580	1863734	เขาสวนกวาง	ขอนแก่น	หญ้าตีนนก
263503	1864439	เขาสวนกวาง	ขอนแก่น	กก
263630	1865806	เขาสวนกวาง	ขอนแก่น	สาบม่วง
271993	1860554	เขาสวนกวาง	ขอนแก่น	สาบม่วง
255555	1862126	อุบลรัตน์	ขอนแก่น	หญ้าตีนนก
253769	1860638	อุบลรัตน์	ขอนแก่น	หญ้าตีนนก
255326	1849312	อุบลรัตน์	ขอนแก่น	หญ้าตีนนก
254909	1839164	บ้านฝาง	ขอนแก่น	หญ้าปากควาย
311387	1884841	ศรีธาตุ	อุดรธานี	หญ้าปากควาย
311448	1884498	ศรีธาตุ	อุดรธานี	หญ้าตีนนก
311071	1886017	ศรีธาตุ	อุดรธานี	กก
311400	1885988	ศรีธาตุ	อุดรธานี	หญ้าตีนนก
315440	1884285	ศรีธาตุ	อุดรธานี	หญ้าตีนนก
314160	1880462	ศรีธาตุ	อุดรธานี	หญ้าปากควาย
312160	1880575	ศรีธาตุ	อุดรธานี	สาบม่วง
299327	1770435	บรบือ	มหาสารคาม	หญ้าปากควาย
299110	1770165	บรบือ	มหาสารคาม	หญ้าปากควาย
299227	1768912	บรบือ	มหาสารคาม	หญ้าปากควาย
299225	1768922	บรบือ	มหาสารคาม	กก
297817	1769646	บรบือ	มหาสารคาม	สาบม่วง
297983	1769664	บรบือ	มหาสารคาม	สาบม่วง
276659	1666560	กุตุ้ง	มหาสารคาม	สาบม่วง
276827	1777631	กุตุ้ง	มหาสารคาม	สาบม่วง
302259	1853410	กระนวน	ขอนแก่น	กก
285165	1836467	น้ำพอง	ขอนแก่น	สาบม่วง
236580	1800823	มัญจาคีรี	ขอนแก่น	หญ้าปากควาย
236510	1800874	มัญจาคีรี	ขอนแก่น	หญ้าปากควาย
236239	1800773	มัญจาคีรี	ขอนแก่น	หญ้าตีนนก

236303	1800974	มัญจาคีรี	ขอนแก่น	สาบม่วง
236026	1801241	มัญจาคีรี	ขอนแก่น	สาบม่วง
228065	1801020	มัญจาคีรี	ขอนแก่น	สาบม่วง
226376	1796844	มัญจาคีรี	ขอนแก่น	สาบม่วง
215213	1778824	โคกโพธิ์ไชย	ขอนแก่น	สาบม่วง
215220	1778815	แก้งคร้อ	ชัยภูมิ	สาบม่วง
218878	1803557	แก้งคร้อ	ชัยภูมิ	สาบม่วง
218879	1833556	น้ำพอง	ขอนแก่น	หญ้าตีนตีด
268676	1842591	กระนวน	ขอนแก่น	หญ้าปากควาย
302715	1852306	กระนวน	ขอนแก่น	กก
302255	1853412	กระนวน	ขอนแก่น	หญ้าตีนนก
306661	1857412	กระนวน	ขอนแก่น	หญ้าปากควาย
312686	1845698	หนองกุงศรี	กาฬสินธุ์	สาบม่วง
307086	1841338	ห้วยเม็ก	กาฬสินธุ์	สาบม่วง
304774	1839150	ชื่นชม	มหาสารคาม	หญ้าปากควาย
273595	1921011	กุฉินชัย	อุดรธานี	สาบม่วง
237249	1921071	กุฉินชัย	อุดรธานี	สาบม่วง
237449	1921250	กุฉินชัย	อุดรธานี	หญ้าตีนนก
272157	1874816	โนนสะอาด	อุดรธานี	หญ้าตีนนก
272261	1875155	โนนสะอาด	อุดรธานี	หญ้าตีนนก
265370	1884486	โนนสะอาด	อุดรธานี	สาบม่วง
265301	1884631	โนนสะอาด	อุดรธานี	หญ้าตีนนก
263581	1891406	หนองแสง	อุดรธานี	หญ้าตีนนก
270784	1891210	หนองแสง	อุดรธานี	สาบม่วง
285995	1883124	กุมภวาปี	อุดรธานี	หญ้าปากควาย
205233	1909621	นากลาง	หนองบัวลำภู	สาบม่วง
205292	1909530	นากลาง	หนองบัวลำภู	หญ้าตีนนก
205250	1902748	นากลาง	หนองบัวลำภู	หญ้าตีนนก
205364	1902819	นากลาง	หนองบัวลำภู	หญ้าตีนนก
203886	1892339	ศรีบุญเรือง	หนองบัวลำภู	สาบม่วง
203753	1891795	ศรีบุญเรือง	หนองบัวลำภู	สาบม่วง
203752	1891798	ชุมแพ	ขอนแก่น	สาบม่วง
210003	1832664	ชุมแพ	ขอนแก่น	สาบม่วง
210085	1838166	ศรีบุญเรือง	หนองบัวลำภู	สาบม่วง
215912	1870064	ศรีบุญเรือง	หนองบัวลำภู	สาบม่วง
215916	1870063	บ้านไผ่	ขอนแก่น	หญ้าปากควาย

263756	1784643	บ้านไผ่	ขอนแก่น	สาบม่วง
263757	1784639	บ้านแฮด	ขอนแก่น	หญ้าตีนนก
255065	1792227	บ้านแฮด	ขอนแก่น	หญ้าตีนนก
461370	1831793	เมือง	มุกดาหาร	หญ้าตีนนก
461395	1831829	เมือง	มุกดาหาร	หญ้าตีนนก
461134	1831977	เมือง	มุกดาหาร	หญ้าตีนนก
461132	1831330	เมือง	มุกดาหาร	หญ้าปากควาย
465003	1828408	กุฉินารายณ์	กาฬสินธุ์	กก
395525	1817923	กุฉินารายณ์	กาฬสินธุ์	หญ้าตีนนก
394057	1810675	โพนทอง	ร้อยเอ็ด	หญ้าตีนนก
394057	1808588	โพนทอง	ร้อยเอ็ด	สาบม่วง
395349	1808363	โพนทอง	ร้อยเอ็ด	สาบม่วง
395270	1808563	โพนทอง	ร้อยเอ็ด	หญ้าตีนนก
188399	1809235	ภูเขียว	ชัยภูมิ	กก
270371	1803582	เมือง	ขอนแก่น	กก

เอกสารอ้างอิง

- จรรยา มณีโชติ ปราโมทย์ เกิดศิริ อัครวิน โนทะยะ และ ประทีป กระแสสินธุ์. 2543ก. หญ้าข้าวแดงด้านทานสารกำจัดวัชพืชโทรพานิลและบิวตาคลอร์. เอกสารประกอบการประชุมทางวิชาการประจำปี 2543 กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร 15-17 มีนาคม 2543 ณ คลองทรายรีสอร์ท อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา.
- จรรยา มณีโชติ อัครวิน โนทะยะ และ ประทีป กระแสสินธุ์. 2543ข. วัชพืชด้านทานสารกำจัดวัชพืชไกลโฟเสทในสวนปาล์มน้ำมัน. วิทยาสารสมาคมวิทยาการวัชพืชแห่งประเทศไทย ฉบับที่ 1 หน้า 23-29.
- จรรยา มณีโชติ สมศักดิ์ สมานวงศ์ จรูญ ศุภผล และ ธวัชชัย สิขณวัฒน์. 2546. หญ้าดอกขาวด้านทานต่อสารกำจัดวัชพืชในกลุ่มยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ACCase. เอกสารการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 6 โรงแรมโซฟิเทล ราชาออคิต จังหวัดขอนแก่น.
- Heap, I. 2010. International survey of herbicide resisiatnt weeds. <http://www.weedscience.com>. Cited 2 September 2010.
- Llewellyn, R.S., F.H. D’Emden, M.J. Owen and S.B. Powles. 2009 Herbicide resistance in rigis ryegrass (*Lolium rigidum*) has not led to higher weed densities in Western Australian Cropping System Weed Sci. 57: 61-65.
- Maneechote, C. 2003. *Echinochloa* control in rice: case study in Thailand. In Chapter 3, *Echinochloa* Control in Rice. Ed., K.U. Kim and R. Labrada. Kyungpook National University . 9-16.
- Maneechote, C., A. Cherdchaivachirakul, S. Titawattanukul and S. Samanwong. 2003. A population of sprangletop (*Leptochloa chinensis*) is resistant to fenoxaprop. Proceedings of 19th Asian Pacific Weed Science Society Conference, The Westin Philippine Plaza Hotel, Manila, Philippines 2: 796-802.
- Maneechote, C. K., Roedrew and P. Krasaesindhu. Propanil and butacholr resistance in barnyardgrass (*Echinochloa crusgalli* L. Beauv.). Proceedings of 17th Asian Pacific Weed Science Society Conference. November 1999, Bangkok.
- Maneechote, C., S. Samanwong, X. Q. Zhang, and S.B. Powles. 2005. Resistance to ACCase-inihibiting herbicides in a population of sprangletop [*Leptochloa chinensis* (L.) Nees] in Thailand. Weed Sci. 53: 290-295.

ทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ (*Thrips palmi* Karny)

Efficacy of Insecticides for Control Thrips (*Thrips palmi* Karny)

อุราพร หนูนารถ^{1/} สมรวย รวมชัยอภิกุล^{1/} เกรียงไกร จำเริญมา^{2/}
 อัจฉรา หวังอาษา^{2/} ศรีจันทร์ ศรีจันทร์^{2/}

^{1/} กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/} กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การทดสอบประสิทธิภาพสารในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟในมะระ ที่แปลงมะระของเกษตรกร ที่
 อ. ท่าม่วง จ. กาญจนบุรี โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ 10 กรรมวิธี ดังนี้กรรมวิธีพ่นสาร
 acephate 75 % SP อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ,สาร spiromesifen 24 %SC อัตรา
 10 มล./น้ำ 20 ลิตร, พ่นสาร fipronil 5%SC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร ,พ่นสาร imidacloprid
 10%SL อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร, พ่นสาร emamectin benzoate 1.92 %EC อัตรา 20
 มล./น้ำ 20 ลิตร ,สาร thiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7%ZC อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร,สาร
 spinosad 12 %SC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร ,สาร fenpropathrin 10 % EC อัตรา 20
 มิลลิลิตร /น้ำ 20 ลิตร , และ สาร benfuracarb 20 % EC อัตรา 50 มิลลิลิตร /น้ำ 20 ลิตร และ
 กรรมวิธีไม่พ่นสาร พบว่า กรรมวิธีพ่นสาร spinosad 12 %SC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร มี
 ประสิทธิภาพดีที่สุด รองลงมาคือ กรรมวิธีพ่นสาร spiromesifen 24 %SC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร,
 พ่นสาร fipronil 5%SC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร สาร thiamethoxam/
 lambdacyhalothrin 24.7%ZC อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพรองลงมา ส่วน กรรมวิธีพ่น
 สาร acephate 75 % SP อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร , พ่นสาร imidacloprid 10%SL อัตรา
 20 มล./น้ำ 20 ลิตร, พ่นสาร emamectin benzoate 1.92 %EC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร, สาร
 fenpropathrin 10 % EC อัตรา 20 มิลลิลิตร /น้ำ 20 ลิตร , และ สาร benfuracarb 20 % EC อัตรา
 50 มิลลิลิตร /น้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟในมะระ

รหัสการทดลอง 03-04-54-02-01-01-03-54

คำนำ

เพลี้ยไฟฝ้าย เป็นแมลงศัตรูที่สำคัญมาก เนื่องจากทำลายพืชผักหลายชนิด ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยทำลายส่วนต่าง ๆ ของพืช โดยดูดกินน้ำเลี้ยงจากเซลล์พืช ทำให้บริเวณที่ถูกดูดมีลักษณะอาการที่แตกต่างกัน เช่นในมะเขือเทศทำให้เกิดรอยดำนที่ผล ทำให้ผลผลิตมีคุณภาพต่ำ การทำลายของเพลี้ยไฟต่อส่วนการเจริญเติบโต ทำให้ยอดดอก ตาอ่อน ไม่เจริญเติบโต ในกรณีของพืชผักที่ส่งออกไปจะมี ความเสียหายไม่ชัดเจนแต่การติดไปของเพลี้ยไฟมีผลกระทบต่อ การส่งออกทันทีจึงทำการทดสอบ ประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงที่มีประสิทธิภาพ ปลอดภัย และผลผลิตปลอดภัยจากศัตรูพืช ได้ดำเนินการทดสอบ การป้องกันกำจัด เพลี้ยไฟในมะเขือเทศ และพืชตระกูลแตง เพื่อช่วยลดการระบาดของเพลี้ยไฟได้อย่างมี ประสิทธิภาพและแก้ไขปัญหาการส่งออก ได้อีกทางหนึ่ง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- แปลงมะระ
- เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง
- สารฆ่าแมลง (acephate 75 % SP, spiromesifen 24 %SC, fipronil 5%SC , imidacloprid 10%SL, emamectin benzoate 1.92 %EC , thiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7%ZC ,spinosad 12 %SC fenpropathrin 10 % EC benfuracarb 20 % EC)
- สารป้องกันกำจัดโรคพืช
- ปุ๋ยเคมี

วิธีการ วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ 8 กรรมวิธี

วิธีดำเนินการวางแผนการทดลอง แบบRCBD มี 3 ซ้ำ 11 กรรมวิธี ดังนี้

- | | | |
|---|-------|---------------------------|
| 1. พ่นสาร acephate 75 % SP | อัตรา | 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร |
| 2. พ่นสาร spiromesifen 24 %SC | อัตรา | 10 มล./น้ำ 20 ลิตร |
| 3. พ่นสาร fipronil 5%SC | อัตรา | 20 มล./น้ำ 20 ลิตร |
| 4.พ่นสาร imidacloprid 10%SL | อัตรา | 20 มล./น้ำ 20 ลิตร |
| 5. พ่นสาร emamectin benzoate 1.92 %EC | อัตรา | 20 มล./น้ำ 20 ลิตร |
| 6. พ่นสาร thiamethoxam/lambdacyhalothrin24.7%ZC | อัตรา | 15 มล./น้ำ 20 ลิตร |
| 7. พ่นสาร spinosad 12 %SC | อัตรา | 20 มล./น้ำ 20 ลิตร |
| 8. พ่นสาร fenpropathrin 10 % EC | อัตรา | 20 มิลลิลิตร /น้ำ 20 ลิตร |
| 9. พ่นสาร benfuracarb 20 % EC | อัตรา | 50 มิลลิลิตร /น้ำ 20 ลิตร |
| 10. ไม่พ่นสารทดลอง | | |

แปลงปลูกมะระของเกษตรกร ในพื้นที่ 1 ไร่ ขนาดแปลงย่อย 30 ตารางเมตร เริ่มปฏิบัติการทดลองตามกรรมวิธีเมื่อพบการระบาดของเพลี้ยไฟ และทำการพ่นสารทดลองทุก 7 วัน โดยใช้อัตราการพ่นสาร 100 ลิตร/ไร่ ดำเนินการตรวจนับจำนวนเพลี้ยไฟ จำนวน 10 ยอด/แปลงย่อย พร้อมทั้งบันทึกอาการเป็นพิษต่อพืช แล้วนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

เวลาและสถานที่

เวลา กรกฎาคม- กันยายน 2555

สถานที่ แปลงปลูกมะระของเกษตรกร อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การพ่นสารทดลองครั้งที่ 1 (ตารางที่ 1)

ก่อนการพ่นสารทดลองครั้งที่ 1 พบจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 4.00 -7.30 ตัวต่อ 10 ยอดไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติระหว่างกรรมวิธี จึงวิเคราะห์ข้อมูลเพลี้ยไฟภายหลังพ่นสารด้วยวิธี Analysis of variance

หลังพ่นสารทดลองครั้งที่ 1 เป็นการพ่นสารห่างจากครั้งที่ 1 แล้ว 7 วัน พบว่า ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 5.00-9.00 ตัวต่อ 10 ยอด น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ซึ่งมีจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 15.33 ตัวต่อ 10 ยอด กรรมวิธีพ่นสาร spiromesifen 24 %SC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย น้อยที่สุดคือ 5.00ตัวต่อ 10 ยอด

รองลงมาคือกรรมวิธีพ่นสาร. acephate 75 % SP อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร fipronil 5%SC 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร imidacloprid 10%SLอัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร ,พ่นสาร emamectin benzoate 1.92 %EC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร,. พ่นสาร thiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7%ZC อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร,. พ่นสาร spinosad 12 %SC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร

พ่นสาร fenpropathrin 10 % EC อัตรา 20 มิลลิลิตร /น้ำ 20 ลิตร และพ่นสาร benfuracarb 20 % EC อัตรา 50 มิลลิลิตร /น้ำ 20 ลิตร ที่มีจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 6.97, 9.00 , 9.00, 7.67 ,6.33 ,7.33 ,8.00, และ 6.67 ตัวต่อ 10 ยอดตามลำดับ

หลังพ่นสารทดลองครั้งที่ 2 เป็นการพ่นสารห่างจากครั้งที่ 1 แล้ว 7 วัน พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 6.30 -15.30 ตัวต่อ 10 ยอด น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ซึ่งมีจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 33.30 ตัวต่อ 10 ยอด กรรมวิธีพ่นสาร spinosad 12 %SC มีจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย น้อยที่สุดคือ 6.30 ตัวต่อ 10 ยอด รองลงมาคือ กรรมวิธีพ่นสาร imidacloprid 10%SLอัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร ,พ่นสาร emamectin benzoate 1.92 %EC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร,. พ่นสาร thiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7%ZC อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร และ fipronil 5%SC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 8.70 , 7.70,7.30 และ 11.30 ตัวต่อ

10 ยอด ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีพ่นสาร acephate 75 % SP อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร spiromesifen 24 %SC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร, สาร fenpropathrin 10 % EC อัตรา 20 มิลลิลิตร /น้ำ 20 ลิตร และพ่นสาร benfuracarb 20 % EC อัตรา 50 มิลลิลิตร /น้ำ 20 ลิตร ที่มีจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 15.30, 13.70, 16.70 และ 14.00 ตัวต่อ 10 ยอด ตามลำดับ

หลังพ่นสารทดลองครั้งที่ 3 เป็นการพ่นสารห่างจากครั้งที่ 2 แล้ว 7 วัน พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 6.33- 17.33 ตัวต่อ 10 ยอด น้อยกว่าและแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ซึ่งมีจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 31.67 ตัวต่อ 10 ยอด กรรมวิธีพ่นสารพบว่าสาร thiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7%ZC อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร และ สาร spinosad 12 %SC มีจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย น้อยที่สุดคือ 6.33 และ 7.00 ตัวต่อ 10 ยอด ตามลำดับ รองลงมาคือ acephate 75 % SP อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร spiromesifen 24 %SC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร fipronil 5%SC 20 มิลลิลิตรต่อ น้ำ 20 ลิตร imidacloprid 10%SL อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร ,พ่นสาร emamectin benzoate 1.92 %EC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร, fenpropathrin 10 % EC อัตรา 20 มิลลิลิตร /น้ำ 20 ลิตร และพ่นสาร benfuracarb 20 % EC อัตรา 50 มิลลิลิตร /น้ำ 20 ลิตร ที่มีจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 11.67, 8.00, 10.67, 17.33 ,9.00 , 14.00 , และ 11.67 ตัวต่อ 10 ยอด ตามลำดับ

หลังพ่นสารทดลองครั้งที่ 4 เป็นการพ่นสารห่างจากครั้งที่ 3 แล้ว 7 วัน พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 8.67- 14.00 ตัวต่อ 10 ยอด น้อยกว่าและแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ซึ่งมีจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 43.33 ตัวต่อ 10 ยอด กรรมวิธีพ่นสารพบว่าสาร acephate 75 % SP อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ,สาร spiromesifen 24 %SC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร, พ่นสาร fipronil 5%SC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร ,พ่นสาร imidacloprid 10%SL อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร, พ่นสาร emamectin benzoate 1.92 %EC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร ,สาร thiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7%ZC อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร, สาร spinosad 12 %SC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร ,สาร fenpropathrin 10 % EC อัตรา 20 มิลลิลิตร /น้ำ 20 ลิตร , และ สาร benfuracarb 20 % EC อัตรา 50 มิลลิลิตร /น้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 6.67,13.00,10.00, 14.00, 11.00 13.00, 8.67, 9.33 และ 13.67 ตัวต่อ 10 ยอด ตามลำดับ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบประสิทธิภาพสารในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟในมะระ ที่แปลงมะระของเกษตรกรที่ อ.ท่าม่วง จ. กาญจนบุรี โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ 8 กรรมวิธี ดังนี้กรรมวิธีพ่นสาร acephate 75 %SP อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีพ่นสาร spiromesifen 24 %SC อัตรา 10

มล./น้ำ 20 ลิตร,. กรรมวิธีพ่นสาร fipronil 5%SC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร ,กรรมวิธีพ่นสาร imidacloprid 10%SLอัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร.กรรมวิธีพ่นสาร emamectin benzoate 1.92 %EC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร,กรรมวิธีพ่นสาร thiamethoxam/lambdacyhalothrin24.7%ZC อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร,กรรมวิธีพ่นสาร spinosad 12 %SC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร พบว่า กรรมวิธีพ่นสาร spinosad 12 %SC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร และ กรรมวิธีพ่นสาร fipronil 5%SC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟในมะระ

ตาราง แสดงจำนวนเพลี้ยไฟที่พบในมะระ ก่อนและหลังพ่นสารทดลองตามกรรมวิธีต่างๆ ที่ อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี

กรรมวิธี	ก่อนพ่นสาร (ตัวต่อยอด)	หลังพ่นสาร ครั้งที่ 1	หลังพ่นสาร ครั้งที่ 2	หลังพ่นสาร ครั้งที่ 3	หลังพ่นสาร ครั้งที่ 4
acephate 75 %SP	6.70	9.67 ab	15.30 cd	11.67 ab	9.67 a
spiromesifen 24 %SC	4.00	5.00 a	13.70 cd	8.00 a	13.00 a
fipronil 5%SC	7.30	9.00 ab	11.30 bc	10.67 ab	10.00 a
imidacloprid 10%SL	6.30	9.00 ab	8.70 ab	17.33 b	14.00 a
emamectin benzoate 1.92 %EC	4.00	7.67 ab	7.70 ab	9.00 ab	11.00 a
thiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7%ZC	6.70	6.33 ab	7.30 ab	6.33 a	10.33 a
spinosad 12 %SC	5.30	7.33 ab	6.30 a	7.00 a	8.67 a
fenpropathrin 10 %EC	6.00	8.00 ab	16.70 d	14.00 ab	9.33 a
diafenthiuron 25%EC	7.00	6.67 ab	14.00 cd	11.67 ab	13.67 a
ไม่พ่นสารทดลอง	6.30	15.33 c	33.30 e	31.67 c	43.33 b

¹ ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ประสิทธิภาพสารฆ่าแมลง และสารสกัดจากสะเดาในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ
(*Thrips tabaci* Lindeman), แมลงห้ำขาว (*Bemisia tabaci* Gennadius)

อุราพร หนูนารถ สมรวย รวมชัยอภิกุล รัตนา นชะพงษ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การทดสอบประสิทธิภาพสารในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟในหน่อไม้ฝรั่ง ที่แปลงหน่อไม้ฝรั่งของเกษตรกร ที่ อ.ท่ามะกา จ. กาญจนบุรี โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ 8 กรรมวิธี ดังนี้ กรรมวิธีพ่นสาร etofenprox อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ,กรรมวิธีพ่นสาร 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 รองลงมาคือ 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 ซึ่งทุกกรรมวิธีที่ใช้สารมีจำนวนเพลี้ยไฟน้อยกว่าและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่พ่นสารกำจัดแมลง และทุกกรรมวิธีที่พ่นสาร ไม่มีความเป็นพิษต่อหน่อไม้ฝรั่ง

รหัสการทดลอง 03-04-54-02-01-01-08-54

คำนำ

หน่อไม้ฝรั่ง (Asparagus) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ ผลิตเพื่อการส่งออกทั้งในรูปบริโภคสดและผลิตเพื่อแปรรูปทางอุตสาหกรรม ปัญหาสำคัญที่ทำให้ผลผลิตของหน่อไม้ฝรั่งไม่ได้มาตรฐานส่งออกคือ ศัตรูพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งเพลี้ยไฟ และแมลงหวี่ขาว เป็นแมลงศัตรูที่สำคัญต่อพืชผักเศรษฐกิจหลายชนิด ก่อให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิต ซึ่งเกษตรกรมีการพ่นสารฆ่าแมลง 8 กลุ่ม และ นิยมใช้สารฆ่าแมลงในกลุ่ม Organophosphate มากที่สุด จากปัญหาดังกล่าวจึงทำการทดสอบประสิทธิภาพสารเคมีในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ และแมลงหวี่ขาว เพื่อให้ได้สารที่มีประสิทธิภาพดีและปลอดภัยต่อผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม เพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพ เพลี้ยไฟ เป็นแมลงศัตรูที่สำคัญมาก เนื่องจากทำลายพืชผักหลายชนิด ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยทำลายส่วนต่าง ๆ ของพืช โดยดูดกินน้ำเลี้ยงจากเซลล์พืช ทำให้บริเวณที่ถูกดูดมีลักษณะอาการที่แตกต่างกัน เช่นในมะเขือเทศทำให้เกิดรอยดำนที่ผล ทำให้ผลผลิตมีคุณภาพต่ำ การทำลายของเพลี้ยไฟต่อส่วนการเจริญเติบโต ทำให้ยอดดอก ตาอ่อน ไม่เจริญเติบโต ในกรณีของพืชผักที่ส่งออกถึงจะมีความเสียหายไม่ชัดเจนแต่การติดไปของเพลี้ยไฟมีผลกระทบต่อ การส่งออกทันที จึงทำการทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงที่มีประสิทธิภาพ ปลอดภัย และผลผลิตปลอดภัยจากศัตรูพืช ได้ดำเนินการทดสอบการป้องกันกำจัด เพลี้ยไฟในหน่อไม้ฝรั่ง เพื่อช่วยลดการระบาดของเพลี้ยไฟได้อย่างมีประสิทธิภาพและแก้ไขปัญหาค่าการส่งออก 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

กรรมวิธีที่ 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 8 ไม่พ่นสาร

วิธีปฏิบัติการทดลอง

แปลงหน่อไม้ฝรั่งเกษตรกร ในพื้นที่ 1 ไร่ ขนาดแปลงย่อย 30 ตารางเมตร ปฏิบัติดูแลแปลงหน่อไม้ฝรั่งตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร เริ่มปฏิบัติการทดลองตามกรรมวิธีเมื่อพบการระบาดเข้าทำลายของเพลี้ยไฟสม่อทั่วแปลง และทำการพ่นสารทดลองทุก 7 วัน โดยใช้อัตราพ่น 120 ลิตร/ไร่ การบันทึกข้อมูล

ดำเนินการตรวจนับจำนวนเพลี้ยไฟ จำนวน 10 กอ/แปลงย่อย ก่อนพ่นสารทดลองทุกครั้ง และนำข้อมูลที่ได้จากการดำเนินการทดลองตามแผนปฏิบัติงานมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

เวลาและสถานที่

เวลา เดือน มีนาคม – มิถุนายน พ.ศ. 2555

สถานที่ อำเภอดำรงวิทยะกา จังหวัดกาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การพ่นสารทดลองทดลอง (ตารางที่ 1)

ก่อนการพ่นสารทดลอง พบจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 392.67- 522.67 ตัวต่อ 10 กอ ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติระหว่างกรรมวิธี จึงวิเคราะห์ข้อมูลเพลี้ยไฟฝ่ายหลังพ่นสารด้วยวิธี Analysis of variance

หลังพ่นสารทดลองครั้งที่ 1

พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสาร มีจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 80.33- 281.00 ตัวต่อ 10 กอ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลอง ซึ่งพบจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 428.00 ตัวต่อ 10 กอ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีพบว่า กรรมวิธีพ่นสาร fipronil อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยไฟน้อยที่สุด คือ 80.33 ตัวต่อ 10 กอ รองลงมาคือ กรรมวิธีพ่นสาร etofenprox อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร , พ่นสาร imidacloprid อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร , พ่นสาร dinotefuran อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร, พ่นสาร buprofezin อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร , พ่นสาร acetamiprid อัตรา 5 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

และ พ่นสาร spinosad 12% SC (Success 120 SC) อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ซึ่งพบเพลี้ยไฟเฉลี่ย 281.00, 149.33, 254.00 ,217.33 ,207.67 และ 191.67 ตัวต่อ 10 กอ ตามลำดับ ซึ่งทุกกรรมวิธีที่

ใช้สารมีจำนวนเฉลี่ยไฟน้อยกว่าและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่พ่นสารกำจัดแมลง

หลังพ่นสารทดลองครั้งที่ 2

พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสาร มีจำนวนเฉลี่ยไฟเฉลี่ย 75.00-220.33 ตัวต่อ 10 กอ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลอง ซึ่งพบจำนวนเฉลี่ยไฟเฉลี่ย 428.00 ตัวต่อ 10 กอ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีพบว่ากรรมวิธีพ่นสาร fipronil อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตรและ acetamiprid อัตรา 5 กรัม/น้ำ 20 ลิตร พบจำนวนเฉลี่ยไฟน้อยที่สุดคือ 75.00 และ 104.33 ตัวต่อ 10 กอ ตามลำดับ รองลงมาคือ กรรมวิธีพ่นสาร etofenprox อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร , พ่นสาร imidacloprid อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร , พ่นสาร dinotefuran อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร, พ่นสาร buprofezin อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และ พ่นสาร spinosad 12% SC (Success 120 SC) อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ซึ่งพบเฉลี่ยไฟเฉลี่ย 220.33, 126.33, 130.00 139.67 127.67 และ 191.67 ตัวต่อ 10 กอ ตามลำดับ ซึ่งทุกกรรมวิธีที่ใช้สารมีจำนวนเฉลี่ยไฟน้อยกว่าและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่พ่นสารกำจัดแมลง

หลังพ่นสารทดลองครั้งที่ 3

พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสาร มีจำนวนเฉลี่ยไฟเฉลี่ย 40.67-102.33 ตัวต่อ 10 กอ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลอง ซึ่งพบจำนวนเฉลี่ยไฟเฉลี่ย 318.33 ตัวต่อ 10 กอ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีพบว่ากรรมวิธีพ่นสาร fipronil อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร, พ่นสาร imidacloprid อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร , พ่นสาร dinotefuran อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร, พ่นสาร buprofezin อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีพ่นสาร acetamiprid อัตรา 5 กรัม/น้ำ 20 และ พ่นสาร spinosad 12% SC (Success 120 SC) อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร พบจำนวนเฉลี่ยไฟน้อยที่สุดคือ 40.67, 51.33, 74.67 ,55.33, 48.00 และ 57.67 ตัวต่อ 10 กอ ตามลำดับ รองลงมาคือ กรรมวิธีพ่นสาร etofenprox อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร พบจำนวนเฉลี่ยไฟเฉลี่ย 102.33 ตัวต่อ 10 กอ ซึ่งทุกกรรมวิธีที่ใช้สารมีจำนวนเฉลี่ยไฟน้อยกว่าและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่พ่นสารกำจัดแมลง

หลังพ่นสารทดลองครั้งที่ 4

พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสาร มีจำนวนเฉลี่ยไฟเฉลี่ย 9.67 -51.33 ตัวต่อ 10 กอ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลอง ซึ่งพบจำนวนเฉลี่ยไฟเฉลี่ย 222.00 ตัวต่อ 10 กอ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีพบว่ากรรมวิธีพ่นสาร fipronil อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร, พ่นสาร imidacloprid อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร , พ่นสาร dinotefuran อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร, พ่นสาร buprofezin อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีพ่นสาร acetamiprid อัตรา 5 กรัม/น้ำ 20 และ พ่นสาร spinosad

12% SC (Success 120 SC) อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ลิตร พบจำนวนเพลี้ยไฟน้อยที่สุดคือ 14.67, 9.67, 19.00 ,15.33,17.33 และ 24.67 ตัวต่อ 10 กอ ตามลำดับ รองลงมาคือ กรรมวิธีพ่นสาร etofenprox อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร พบจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 51.33 ตัวต่อ 10 กอ ซึ่งทุกกรรมวิธีที่ใช้สารมีจำนวนเพลี้ยไฟน้อยกว่าและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่พ่นสารกำจัดแมลง

หลังพ่นสารทดลองครั้งที่ 5

พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสาร มีจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 2.67- 18.66 ตัวต่อ 10 กอ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลอง ซึ่งพบจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 145.00 ตัวต่อ 10 กอ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีพบว่า กรรมวิธีพ่นสาร etofenprox อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ,กรรมวิธี พ่นสาร fipronil อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ,กรรมวิธีพ่นสาร imidacloprid อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ,กรรมวิธี พ่นสาร dinotefuran อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร,กรรมวิธีพ่นสาร buprofezin อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธี พ่นสาร acetamiprid อัตรา 5 กรัม/น้ำ 20 ลิตร,กรรมวิธีที่ 7 พ่นสาร spinosad 12% SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร พบจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ยคือ 18.66, 2.67 , 9.00 ,11.00, 11.33 , 4.33 และ 6.00 ตัวต่อ 10 กอ ตามลำดับ ซึ่งทุกกรรมวิธีที่ใช้สารมีจำนวนเพลี้ยไฟน้อยกว่าและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่พ่นสารกำจัดแมลง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบประสิทธิภาพสารในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟในหน่อไม้ฝรั่ง ที่แปลงหน่อไม้ฝรั่งของเกษตรกร ที่ อ.ท่ามะกา จ. กาญจนบุรี โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ 8 กรรมวิธี ดังนี้ กรรมวิธีพ่นสาร etofenprox อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ,กรรมวิธีพ่นสาร fipronil อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ,กรรมวิธีพ่นสาร imidacloprid 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ,กรรมวิธี พ่นสาร 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 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 รองลงมาคือ กรรมวิธีพ่นสาร imidacloprid 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ,กรรมวิธี พ่นสาร dinotefuran อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ,กรรมวิธีพ่นสาร buprofezin อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ,กรรมวิธี พ่นสาร acetamiprid อัตรา 5 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ซึ่งทุกกรรมวิธีที่ใช้สารมีจำนวนเพลี้ยไฟน้อยกว่าและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่พ่นสารกำจัดแมลง และทุกกรรมวิธีที่พ่นสาร ไม่มีความเป็นพิษต่อหน่อไม้ฝรั่ง

ตาราง แสดงจำนวนเพลี้ยไฟที่พบในหน่อไม้ฝรั่ง ก่อนและหลังพ่นสารทดลองตามกรรมวิธีต่างๆ ที่ อำเภอนาทม จังหวัดกาฬจนบุรี

กรรมวิธี	อัตราการใช้(กรัม, มล. /น้ำ 20 ลิตร)	ค่าเฉลี่ยจำนวนเพลี้ยไฟ (ตัวต่อ 10 ยอด)					
		ก่อนพ่นสารทดลอง	หลังพ่นสารครั้งที่				
			1	2	3	4	5
1. etofenprox 20%EC	50	570.00	281.00 ab	220.33 b	102.33 b	51.33 b	18.66 a
2. fipronil 5%SC	20	495.67	80.33 a	75.00 a	40.67 a	14.67 a	2.67 a
3. imidacloprid 10%SL	20	478.00	149.33 ab	126.33 ab	51.33 a	9.67 a	9.00 a
4. dinotefuran 10% WP	20	462.00	254.00 ab	130.00ab	74.67 a	19.00 a	11.00 a
5. buprofezin 25% WP	20	392.67	217.33 ab	139.67 ab	55.33 a	15.33 a	11.33 a
6. acetamiprid 20% SP	5	522.67	207.67 ab	104.33 a	48.00 a	17.33 a	4.33 a
7. spinosad 12% SC	20	486.33	191.67 ab	127.67 ab	57.67 a	24.67 a	6.00 a
8. ไม่พ่นสาร		480.67	428.00 c	362.00 c	318.33 c	222.00 c	145.00 b
CV		22.2	31.4	29.3	16.4	13.5	21.3
RE				14.3	12.7	11.7	15.3

¹ ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

การคัดเลือกและประเมินพันธุ์พริกต้านทานไส้เดือนฝอยรากปม

Taxonomy and Biology of *Radopholus*นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด^{1/} เพยาว์ พรหมพันธุ์ใจ^{2/}^{1/} กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช^{2/} กลุ่มวิชาการ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4

รายงานความก้าวหน้า

การคัดเลือกและประเมินพันธุ์พริกต้านทานไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* จำนวน 53 สายพันธุ์ พบว่าพริกชี้หูสวนสายพันธุ์ 715919, 162448, 101136, 513457, 141074, 861012, 513457, 49646, 861012, 101136, พริกชี้หู Pur, Chuan Teng1, Chuan Teng6 และพริกสายพันธุ์ Accession No. 360725 01 SD, 355822 01 SD, CA 1585, 315019 01 SD, 315008 01 SD, 290972 01 SD, 281423 01 SD, 260610 01 SD-A, 260504 01 SD, 260477 01 SD, 257171 01 SD, 257136 01 SD-A, 257136 01 SD-B, 257136 01 SD-C, 257136 01 SD-D, 257079 01 SD, 238051 01 SD, 439307 01 SD, CA 1645-A, CA 1645-B, 439357 01 SD, 441628 01 SD, 506437 01 SD, 506437 01 SD-A, 506437 01 SD-B, 508433 01 SD, CA 1646-A, CA 1608, 508440 01 SD-A, CA 1608-B, 511881 01 SD, 511881 01 SD-A, CA 1609, CA 1610, 566810 01 SD, และ 281443 01 SD ไม่มีความต้านทานต่อไส้เดือนฝอยรากปม โดยพบดัชนีการเกิดปมที่ระดับ 4-5 มีจำนวนไข่ต่อต้นระหว่าง 22,440-55,300 ฟอง/กลุ่ม (egg mass) และพบว่า 4 สายพันธุ์ ได้แก่ 257171 01 SD-A, 257171 01 SD-B, CA 1606 และ CA 1607 มีความต้านทานระดับมาก (VR, Very Resistant) มีจำนวนไข่ต่อต้นเท่ากับ 3,550 9,266 175 และ 195 ฟอง/กลุ่ม (egg mass) ตามลำดับ

รหัสการทดลอง 01-30-54-01-02-02-54

คำนำ

พริกจัดเป็นพืชที่มีศักยภาพการผลิต เนื่องจากมีปริมาณการผลิตและมูลค่าสูง สามารถปลูกได้ในทุกภาคของประเทศ มีพื้นที่ปลูกรวมทั้งประเทศ 490,000 ไร่ ผลผลิต 548,800 ตัน ผลผลิตส่วนใหญ่ใช้บริโภคภายในประเทศ มีการส่งออกต่างประเทศในลักษณะของพริกสดและแปรรูป จุดเด่นพริกของประเทศไทยคือสามารถปลูกได้ตลอดทั้งปีและปลูกได้ทุกภาค มีฐานพันธุกรรมที่แพร่หลาย มีลักษณะจำเพาะที่เป็นเอกลักษณ์ เช่น ความเผ็ด มีกลิ่นหอม สามารถแปรรูปได้หลากหลาย แต่อย่างไรก็ตาม ปริมาณพริกออกสู่ตลาดไม่ต่อเนื่องและไม่แน่นอน เป็นผลมาจากปัญหาในเรื่องราคาของผลผลิตพริก กล่าวคือในปีใดที่พริกราคาดีหรือมีราคาสูง ในปีถัดไปเกษตรกรมักจะปลูกพริกเป็นปริมาณมาก ซึ่งทำให้ราคาพริกตกต่ำ ในทางตรงกันข้ามกันหากปีใดราคาของพริกตกต่ำเกษตรกรก็จะเลิกปลูกพริกเป็นจำนวนมากในปีถัดไป ซึ่งจะหมุนเวียนเป็นวัฏจักรเช่นนี้ตลอดมา นอกจากนี้ปัญหาสำคัญของการปลูกพริกอีกประการคือ ศัตรูพืช ซึ่งมักพบการระบาดของศัตรูพืช ได้แก่ เพลี้ยไฟ ไร โรคที่เกิดจากเชื้อรา ไวรัส แบคทีเรีย และไส้เดือนฝอย ฯลฯ การระบาดของรุนแรงมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นที่เกี่ยวข้อง เช่น ปริมาณน้ำฝน น้ำค้าง หมอก กระแสนม น้ำเพาะปลูก สภาพความเป็นกรด-ด่างของดิน ชนิดของเนื้อดิน การระบายน้ำและอากาศในดิน อุณหภูมิและความชื้น ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน การปนเปื้อนของเชื้อโรคที่ติดมากับปุ๋ยคอก ปุ๋ยหมัก เมล็ดพันธุ์ รากต้นกล้า ดินเพาะปลูก เศษซากพืชเป็นโรคในแปลงปลูก และเครื่องมือเกษตรต่างๆ ฯลฯ ปัญหาศัตรูพืชเหล่านี้ส่งผลต่อผลผลิตพริกต่อพื้นที่ลดลง รวมไปถึงการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในปริมาณสูง มีพืชตกค้างในผลผลิตไม่ได้ตามมาตรฐานความปลอดภัยจากสารพิษ ทำให้พริกที่ผลิตได้คุณภาพไม่ตรงกับความต้องการของผู้บริโภคหรือโรงงานแปรรูป

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

ลักษณะการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอย *Meloidogyne* spp. เริ่มจากตัวอ่อนระยะที่ 2 หรือระยะเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยที่แพร่กระจายอยู่ในดินปลูกพืช เจาะไชเข้าสู่รากพริกบริเวณปลายราก เคลื่อนที่ต่อไปยังท่อน้ำท่ออาหารของพืชและหยุดนิ่ง จากนั้นเริ่มดูดกินน้ำเลี้ยงของพืช และมี

การเจริญเติบโตด้วยวิธีการลอกคราบจากตัวอ่อนระยะที่ 2 เป็นตัวอ่อนระยะที่ 3 และระยะที่ 4 ตามลำดับ จากนั้นพัฒนาไปเป็นตัวเต็มวัย (adult) มีทั้งเพศผู้และเพศเมีย โดยพบว่าพริกเป็นพืชอาหารที่ดี ไข่เดือนฝอยที่เข้าทำลายรากพริกจึงมีอัตราการเปลี่ยนแปลงเป็นเพศเมียสูงกว่าเพศผู้ในสัดส่วน 4 : 1 ของจำนวนไข่เดือนฝอยที่เข้าทำลาย เพศเมียสามารถสร้างไข่ที่มีลักษณะเป็นกลุ่ม (egg mass) ได้โดยไม่ต้องผสมพันธุ์กับเพศผู้เป็นลักษณะการขยายพันธุ์แบบ parthenogenesis (Triantaphyllou, 1981) ซึ่ง 1 กลุ่มไข่ ประกอบด้วยไข่จำนวน 400-500 ฟอง หลังจากนั้นไข่พัฒนาเป็นตัวอ่อนระยะที่ 1 และลอกคราบภายในไข่เป็นตัวอ่อนระยะที่ 2 ไข่เดือนฝอยระยะนี้จะออกจากไข่ลงสู่ดินและเข้าทำลายรากพืชต่อเนื่อง โดยมีวงจรชีวิตจากตัวอ่อนระยะที่ 2 ถึงตัวอ่อนระยะที่ 2 อีกรุ่น ใช้เวลาเพียง 3-4 สัปดาห์เท่านั้น ดังนั้น การที่เชื้อสาเหตุแพร่พันธุ์ได้ง่ายและเพิ่มประชากรเชื้อในปริมาณมาก ความเสียหายของโรครากปมจึงมีความรุนแรง เพียงมีไข่เดือนฝอยเข้าสู่รากพริกในระยะกล้าเพียงตัวเดียว ภายในเวลาเพียง 20 วัน จะเพิ่มจำนวนประชากร 400-500 ตัว เข้าทำลายระบบรากและขยายพันธุ์ต่อเนื่องทันที เมื่อต้นพริกอายุ 3 เดือน ไข่เดือนฝอยจะมีวงจรชีวิตรวม 3 ชั่วอายุ (generation) เกิดความเสียหายต่อพืชและสูญเสียผลผลิตมากกว่า 50 % (นุชนารถ, 2550)

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

การแพร่ระบาด ไข่เดือนฝอยสามารถแพร่ระบาดได้ดีในเนื้อดินชนิดร่วนปนทราย ไปกับระบบการให้น้ำหรือไหลไปกับน้ำฝน รวมทั้งติดไปกับดินเพาะกล้าพริกและติดไปกับเครื่องมือเกษตรกรต่างๆ เช่น ล้อรถไถ รองเท้าเกษตรกร และเครื่องมือเกษตรกรอื่นๆ (นุชนารถ, 2552)

ปัญหาดังกล่าว ก่อให้เกิดผลกระทบทางเศรษฐกิจโดยเฉพาะในกลุ่มเกษตรกรผู้ปลูกพริกเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่างที่กำลังประสบปัญหาในขณะนี้ และในอนาคตโรครากปมสามารถที่จะแพร่ระบาดไปยังพื้นที่อื่นๆ ถ้าไม่มีการป้องกันกำจัดอย่างถูกวิธี โดยการควบคุมโรครากปมมีหลายวิธีที่กรมวิชาการเกษตรให้คำแนะนำ ได้แก่ การเตรียมกล้าพริกในดินที่สะอาดไม่มีไข่เดือนฝอยปนเปื้อนในดิน การปลูกพืชที่ไม่ใช่พืชอาศัยของไข่เดือนฝอย เช่น ดาวเรือง ถั่วลิสง และปอเทือง สลับหมุนเวียนกับพริก การเก็บเศษซากพืชเป็นโรคเผาทำลายนอกแปลง เป็นต้น (นุชนารถ, 2552) แต่อย่างไรก็ตามตามวิธีการป้องกันกำจัดเหล่านี้อาจใช้ได้ในพื้นที่หรือเกษตรกรในบางพื้นที่ไม่ยอมรับ ดังนั้น วิธีที่ดีที่สุดในการป้องกันกำจัดโรคพืชคือการใช้พันธุ์ต้านทาน โดยลักษณะของพืชต้านทานไข่เดือนฝอย

Huang (1985) ได้แบ่งเป็น 2 ลักษณะคือ แบบ Pre-infectional resistance เกิดขึ้นเนื่องจาก 1) พืชสามารถผลิตสารเคมีบางชนิดออกมาจากราก (root exudates) ซึ่งสารเคมีดังกล่าวไปมีผลในการขับไล่ไม่ให้ไข่เดือนฝอยเข้าทำลายรากพืช หรือ 2) การที่พืชบางชนิดสามารถพัฒนา

ตัวเองให้มีผิวราก (root surface) ที่แข็งแรงจนกระทั่งไส้เดือนฝอยไม่สามารถเข้าทำลายได้ และแบบ Post-infectional resistance เกิดขึ้นได้เนื่องจากพืชสามารถสร้างสาร phenolic compounds หรือการเกิดความไม่สมดุลในเรื่องธาตุอาหารในตัวพืช (nutritional imbalance) จนไส้เดือนฝอยไม่สามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติ หรือการเกิดปฏิกิริยา hypersensitivity reaction หรือการสร้างสาร phytoalexins หรือสารจำพวก peroxidases หรือ superoxide dismutase ขึ้นในตัวพืช ตัวอย่างการเกิด hypersensitivity reaction ในมะเขือเทศพันธุ์ต้านทานพบสาร phenolic compounds สูงกว่าพันธุ์อ่อนแอ ทำให้ไส้เดือนฝอยไม่เจริญเติบโต หรือพืชสร้างสาร glyceolin (สาร phytoalexins) ทำให้เกิด necrotic cell บริเวณรอบๆ ตัวไส้เดือนฝอย

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

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

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

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

Zacheo *et al.* (1982) พบว่าเมื่อไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* เข้าทำลายมะเขือเทศพันธุ์ต้านทาน มะเขือเทศพันธุ์ดังกล่าวจะสร้าง peroxidase มากขึ้น ในขณะที่เดียวกันพบว่าปริมาณของสาร superoxide dismutase จะลดลง ทั้งนี้เนื่องจากว่า peroxidase นั้นเกี่ยวข้องกับกระบวนการผลิต free radicals ที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มความต้านทานในพืช ส่วน superoxide dismutase นั้นทำงานตรงกันข้ามคือ คือกำจัด free radicals ให้เป็น hydrogen peroxide ซึ่งจะสลายตัวไปเป็นออกซิเจนและน้ำในที่สุดด้วยเอนไซม์ catalase

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

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

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

จรัส (2529) ได้แบ่งระดับความต้านทานของพืช ออกเป็น 4 ระดับคือ

1. Immune เป็นพืชที่สามารถป้องกันการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยโดยไม่แสดงอาการเป็นโรค
2. Resistance เป็นพืชที่ไม่สามารถป้องกันการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยได้ แต่สามารถป้องกันและจำกัดขอบเขตหรือลดการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอยได้
3. Susceptible เป็นพืชที่ไม่สามารถต้านทานต่อการทำลายของไส้เดือนฝอยได้ และเป็นผลให้ไส้เดือนฝอยเจริญเติบโตเต็มที่
4. Tolerant เป็นพืชที่ทนต่อการทำลายของไส้เดือนฝอยโดยไม่แสดงอาการว่าเป็นโรคหรือได้รับผลเสียหาย

พืชแสดงอาการต้านทานต่อการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยรากปม สามารถสรุปได้คือ

1. ตัวอ่อนระยะเข้าทำลายไม่สามารถเจริญเติบโตจนเป็นตัวแก่ได้
2. ตัวอ่อนเจริญเป็นตัวแก่ได้แต่ใช้เวลานานกว่าปกติ
3. บริเวณที่ตัวอ่อนเข้าทำลาย เนื้อเยื่อพืชจะตายและไส้เดือนฝอยตายตามด้วย
4. ไซ่พีกอกออกเป็นเพศผู้มากกว่าเพศเมีย
5. ตัวอ่อนออกจากรากในไม่ช้าหลังจากเข้าราก
6. ตัวเมียสร้างไซ่ได้จำนวนน้อย/กลุ่ม หรือไม่สร้างไซ่
7. ลักษณะการสร้างปมมีขนาดเล็กหรือไม่สร้างเลย
8. จำนวนตัวเมียในรากน้อย

การคัดเลือกและประเมินพันธุ์พริกต้านทานไส้เดือนฝอยรากปม จึงเป็นงานวิจัยที่จะเป็นองค์ความรู้ใหม่ของประเทศไทย ซึ่งเป็นแหล่งของการผลิตพริกเพื่อการบริโภคภายในประเทศและส่งออก และเรายังมีความหลากหลายของพันธุ์กรรมพริกอยู่มากมายหลายสายพันธุ์ที่ควรนำมาศึกษาวิจัย เพื่อให้ได้พันธุ์ที่มีความต้านทานต่อโรคพืช ผลของงานวิจัยที่ได้จะสามารถส่งต่อให้นักปรับปรุงพันธุ์หรือนักวิจัยด้านชีวโมเลกุล นำไปขยายผลต่อยอดเพื่อได้ยีนและ/หรือพันธุ์พริกต้านทานไส้เดือนฝอย ใช้สำหรับแก้ปัญหาโรครากปมในพริกและช่วยเพิ่มศักยภาพในการผลิตภายในประเทศอย่างยั่งยืนต่อไป

โดยมีวัตถุประสงค์ เพื่อคัดเลือกและประเมินเชื้อพันธุ์กรรมพริกของกรมวิชาการเกษตร ที่มีลักษณะต้านทาน และ/หรือทนทานต่อโรครากปมสาเหตุจากไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*) อย่างน้อย 50 สายพันธุ์/ปี

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดพริกจำนวน 53 สายพันธุ์ จากสถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร และศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักเขตร้อน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม และพันธุ์พริกอื่นๆ
2. ไข่เดือนฝอย *Meloidogyne incognita* แยกได้จากรากพริกที่ปลูกในพื้นที่การระบาด จ.อุบลราชธานี
3. กรงกันแมลงขนาด 85x120x80 ซม.
4. โรงเรือนปลูกพืช
5. บล็อกซีเมนต์ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 80 ซม. สำหรับปลูกพืชอาศัย
6. วัสดุปลูกพืช ได้แก่ ดินร่วน ดินร่วนปนทราย (ดินสีดา 50 : ดินทราย 50) และดินพีทมอส (Pindstrup compressed peat product)
7. ภาชนะปลูก ได้แก่ ภาชนะปลูกชนิด 15 หลุม (กระถางพลาสติกสีดำขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 7.5 ซม. สูง 5.5 ซม.) ภาชนะปลูกชนิด 104 หลุม และกระถางดินเผาขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 และ 12 นิ้ว
8. เครื่องเขย่า 300 รอบ/นาที
9. สารละลาย 0.525 % NaOCl
10. เครื่องแก้ว ได้แก่ ปีกเกอร์ขนาด 50-1,000 มล. Elenmeyer flask ขนาด 250-500 มล. Petri dish ใช้สำหรับเพาะเมล็ด และจานนับจำนวนไข่เดือนฝอย
11. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (Stereo microscope) และกำลังขยายสูง (Compound microscope)
12. วัสดุอื่นๆ ในห้องปฏิบัติการ เช่น ไมโครไปเปต ขนาด 500-1,000 มล. สไลด์หลุม กระดาษกรอง และกระดาษทิชชู เป็นต้น
13. เครื่องมือสำหรับปลูกพืชและสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ปุ๋ย และฮอร์โมน

วิธีการ

1. การเพิ่มปริมาณไข่เดือนฝอยรากปม (*M. incognita*) บริสุทธิ์จากกลุ่มไข่ (egg mass) 1 กลุ่ม เลือกตัวเต็มวัยเพศเมียของไข่เดือนฝอยรากปม ที่มีกลุ่มไข่สมบูรณ์จากรากของพริกที่เก็บมาจากจังหวัดอุบลราชธานี ซึ่งเป็นพื้นที่การระบาดของโรครากปม นำตัวเต็มวัยเพศเมียจำแนกชนิดโดยวิธีตัดร็วยรย่นส่วนกัน (Perineal pattern) เพื่อยืนยันชนิดของไข่เดือนฝอยรากปมเป็น *M. incognita* ส่วนของกลุ่มไข่ทำการแยกกลุ่มไข่ให้พักเป็นตัวอ่อนระยะที่ 2 หรือระยะเข้าทำลายในน้ำกลั่น จากนั้นนำไปปลูกเชื้อในพืชอาศัย 3 ชนิด ได้แก่ กล้าพริกพันธุ์หัวเรืออายุ 30 วัน กล้ามะเขือเทศพันธุ์สีดา

อายุ 20 วัน และถั่วเขียวผิวน้ำมันอายุ 7 วัน ที่ปลูกในกระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 นิ้ว ดูแลพืชเป็นเวลา 45 วันในถั่วเขียว และ 60 วันในพริกและมะเขือเทศ ได้ระบบรากของพืชอาศัยเป็นปุ่มปมจากการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอย จากนั้นแยกกลุ่มไข่ไส้เดือนฝอยจากรากของพืชอาศัยแต่ละชนิดนำมาแช่ในสารละลาย 0.525 % NaOCl เป็นเวลา 3.5 นาที และนำไปปลูกเชื้อในพืชอาศัยทั้งสามชนิดที่ปลูกในบล็อกลีซีเมนต์ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 80 ซม. เพื่อเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอย *M. incognita* ให้พอเพียงพอการทดสอบ และ maintain เพื่อการใช้ตลอดโครงการฯ

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

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

4. การ inoculate ไข่ไส้เดือนฝอย *M. incognita* ย้ายต้นกล้าอายุ 30 วัน ที่เตรียมจากข้อ 3.1 ของพริกแต่ละ accession ปลูกในดินชนิดร่วนปนทราย (อัตราส่วน 50 : 50) ในภาชนะชนิด 15 หลุม จำนวนต้นกล้าพริก 15-20 ต้น/accession จากนั้นทำการปลูกเชื้อไส้เดือนฝอย *M. incognita* โดยใช้ไข่ที่เตรียมจากข้อ 3 จำนวน 1,000 ฟอง/ต้น ที่บริเวณรากพืช นำพืชไปตั้งวางในกรงกันแมลง (ขนาด 85x120x80 ซม.) และดูแลพืชปลูกโดยใส่ปุ๋ย 4-5 ครั้ง จนอายุครบ 40 วันหลังปลูกเชื้อ

บันทึกผล การวัดดัชนีการเกิดปมที่ระบบราก ทำการถอนต้นพริกอายุ 70 วัน (หรือ 40 วัน หลังปลูกเชื้อ) จำนวน 10 ต้น/accession ตรวจวัดดัชนีการเกิดปมที่ระบบราก/ต้น ตามวิธีของนุชนารถ และวารสาร (2550) ดัดแปลงตามวิธีของ Hussey and Jansaen (2001) แบ่งเป็น 5 ระดับความต้านทาน (ภาพที่ 1) ดังนี้ :-

- 1 = มีปมเกิดขึ้นเล็กน้อย ระดับความต้านทาน Highly Resistant (HR)
- 2 = เกิดปมน้อยกว่า 25% ของระบบราก ระดับความต้านทาน Very Resistant (VR)
- 3 = เกิดปม 25-50% ของระบบราก ระดับความต้านทาน Moderately resistant (MR)
- 4 = เกิดปม 51-75% ของระบบราก ระดับความต้านทาน Slightly Resistant (SR)
- 5 = เกิดปมมากกว่า 75% ของระบบราก ระดับความต้านทาน Susceptible (S)



ภาพที่ 1 ดัชนีการเกิดปมที่ระบบรากของพริกแบ่งเป็น 5 ระดับ

- A) 1 = มีปมเกิดขึ้นเล็กน้อย
 B) 2 = เกิดปมน้อยกว่า 25% ของระบบราก
 C) 3 = เกิดปม 25-50% ของระบบราก
 D) 4 = เกิดปม 51-75% ของระบบราก
 E) 5 = เกิดปมมากกว่า 75% ของระบบราก

การนับจำนวนไข่ไส้เดือนฝอยต่อต้น นำรากพริกแต่ละต้นที่ตรวจวัดดัชนีการเกิดปมของแต่ละ accession แล้ว มาแช่ใน 0.525 % NaOCl เป็นเวลา 3.5 นาที ด้วยเครื่องเขย่า 300 รอบ/นาที เพื่อแยกไข่ออกจาก gelatinous matrix และนำไปผ่านตะแกรง 2 ขนาด (400 และ 500 mesh) เพื่อแยกเศษพืชออก โดยเปิดน้ำไหลผ่าน จากนั้นเก็บไข่ไส้เดือนฝอยจากตะแกรง 500 mesh นำไปนับจำนวนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ นับเฉพาะไข่ที่สมบูรณ์

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา 3 ปี เริ่มตั้งแต่เดือนตุลาคม 2553 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2556

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการคัดเลือกและประเมินพันธุ์พริกต้านทานต่อไส้เดือนฝอยรากปม จำนวน 53 สายพันธุ์ ตาม Screening protocol มาตรฐานเดียวกัน ผลการประเมินระดับความต้านทาน สามารถคัดเลือกได้สายพันธุ์พริกต้านทาน/ทนทาน จำนวน 4 สายพันธุ์ โดยวิธีการวัดดัชนีการเกิดปมที่ราก ใช้ประเมินความต้านทานตั้งแต่ระดับต้านทานสูง (Highly resistant, HR) ถึงต้านทานมาก (Very resistant, VR) หรือดัชนีการเกิดปมที่ระบบรากตั้งแต่ 0 ถึง 2.5 (0 = ไม่มีปม; 1 = มีปมเกิดขึ้นเล็กน้อย; 2 = เกิดปมน้อยกว่า 25% ของระบบราก) แสดงตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยดัชนีการเกิดปม จำนวนไข่ต่อต้น และระดับความต้านทานของพริก จำนวน 53 สายพันธุ์ โดยคัดเลือกและประเมินความต้านทานต่อไส้เดือนฝอย *Meloidogyne incognita* สาเหตุของโรครากปม ณ กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร

ลำดับ ที่	Accessions No.	จำนวนต้นพริก ที่วัดได้	ค่าเฉลี่ย		ประเมิน ระดับความต้านทาน ^{2/}
			ดัชนีการเกิดปม ^{1/}	จำนวนไข่/ต้น (ฟอง)	
1	715919	8	4.90	53,080	S
2	162448	10	4.88	28,820	S
3	101136	10	5.00	35,970	S
4	513457	10	5.00	40,620	S
5	141074	10	4.90	43,160	S
6	861012	6	5.00	36,240	S
7	513457	5	4.90	26,480	S
8	49646	7	5.00	46,780	S
9	861012	10	5.00	46,267	S
10	101136	10	5.00	37,580	S
11	พริกชี้หนู Pur	10	5.00	24,667	S
12	Chuan Teng1	10	5.00	27,850	S
13	Chuan Teng6	10	5.00	38,500	S
14	360725 01 SD	10	4.90	27,580	S
15	355822 01 SD	10	4.50	47,450	S
16	CA 1585	10	4.00	30,500	SR
17	CA 1607	10	1.90	195	VR
18	315019 01 SD	10	4.80	22,720	S
19	315008 01 SD	10	4.80	79,040	S
20	290972 01 SD	10	5.00	55,300	S
21	281423 01 SD	10	3.80	48,680	SR
22	260610 01 SD-A	7	5.00	33,229	S
23	260504 01 SD	10	4.60	43,740	S
24	260477 01 SD	10	3.90	47,300	SR
25	257171 01 SD	8	2.70	22,440	MR
26	257136 01 SD-A	10	4.40	52,040	S
27	257136 01 SD-B	10	3.00	24,620	MR
28	257136 01 SD-C	10	3.90	52,080	SR
29	257136 01 SD-D	3	5.00	28,860	S
30	257079 01 SD	10	5.00	46,280	S
31	238051 01 SD	10	4.70	61,280	S

ลำดับ ที่	Accessions No.	จำนวนต้นพริก ที่วัดได้	ค่าเฉลี่ย		ประเมิน ระดับความต้านทาน ^{2/}
			ดัชนีการเกิดปม ^{1/}	จำนวนไข/ต้น (ฟอง)	
32	439307 01 SD	5	4.60	32,920	S
33	CA 1645-A	5	3.75	46,400	SR
34	CA 1645-B	7	3.40	37,060	SR
35	439357 01 SD	10	3.70	31,040	SR
36	CA 1606	8	2.00	175	VR
37	441628 01 SD	10	3.90	37,280	SR
38	506437 01 SD	8	3.30	48,720	MR
39	506437 01 SD-A	9	2.80	13,740	MR
40	506437 01 SD-B	10	2.80	35,320	MR
41	508433 01 SD	10	3.80	34,760	SR
42	CA 1646-A	10	4.30	57,420	SR
43	CA 1608	10	3.70	42,860	SR
44	508440 01 SD-A	10	4.67	37,100	S
45	CA 1608-B	8	4.40	40,860	SR
46	511881 01 SD	9	2.90	40,120	MR
47	511881 01 SD-A	8	3.20	46,780	MR
48	CA 1609	8	4.80	48,900	S
49	CA 1610	10	5.00	47,680	S
50	566810 01 SD	10	4.67	51,956	S
51	281443 01 SD	10	5.00	27,140	S
52	257171 01 SD-A	10	2.40	3,500	VR
53	257171 01 SD-B	10	2.20	9,266	VR

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

2/ระดับการประเมินความต้านทาน : HR (Highly resistant) = ต้านทานสูง; VR (Very resistant) = ต้านทานมาก; MR (Moderately resistant) = ต้านทานปานกลาง; SR (Slightly resistant) = ต้านทานเล็กน้อย และ S (Susceptible) = อ่อนแอ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการคัดเลือกและประเมินพันธุ์/สายพันธุ์พริกต้านทานต่อไส้เดือนฝอย *M. incognita* สาเหตุโรครากปม จำนวน 53 สายพันธุ์ พบพันธุ์พริกที่แสดงความต้านทานมาก (Very resistant, VR) ได้แก่ 257171 01 SD-A, 257171 01 SD-B, CA 1606 และ CA 1607 มีดัชนีการเกิดปมเท่ากับ 2.40 2.20 2.00 และ 1.90 มีจำนวนไข่ต่อต้นเท่ากับ 3,550 9,266 175 และ 195 ฟอง/กลุ่ม (egg mass) ตามลำดับ

เอกสารอ้างอิง

- จรัส ชื่นราม. 2529. การคัดเลือกพืชพันธุ์ต้านทานต่อไส้เดือนฝอยรากปม. เอกสารทางวิชาการ ฉบับที่ 7 กลุ่มงานไส้เดือนฝอย. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 17 หน้า.
- นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. 2550. การควบคุมโรครากปมในพริก. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 4 น.
- นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. 2552. โรครากปม, หน้า 9-10. ใน คู่มือโรคผัก. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.
- นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และ วราภรณ์ ประกอบ. 2550. เทคนิคการคัดเลือกและประเมินพันธุ์พริกต้านทานไส้เดือนฝอยรากปม. 10น.
- Bleve-Zacheo, T., G. Zacheo, M. T. Melillo, and F. Lamberti. 1982. Ultrastructural aspects of the hypersensitive reaction in tomato root cells resistant to *Meloidogyne incognita*. *Nematologia Mediterranea* 10 :81-90.
- Boerma, H.R. and R.S. Hussey. 1992. Breeding plants for resistance to nematodes. *Journal of Nematology* 24 : 242-252.
- Brown, C.R., H. Mojtahedi, G.S. Santo and S. Austin-Phillips. 1994. Enhancing resistance to root-knot nematodes derived from wild *Solanum* species in potato germplasm, pp. 426-438. In G.W. Zehnder, M.L. Powelson, R.K. Jansson and K.V. Raman. (eds.). *Advances in Potato Pest Biology and Management*. APS Press, St Paul, Minnesota.
- Brueske, C. H. 1980. Phenylalanine ammonia lyase activity in tomato roots infected and resistant to the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. *Physiological Plant Pathology* 16 :409-414.

- Huang, J.S. 1985. Mechanisms of resistance to root-knot nematodes, pp. 165-174. In J. Sasser and C. C. Carter (eds.). An advanced Treatise on *Meloidogyne*, Vol. 1 Biology and Control
- Hung, C.-L. and R. A. Rohde. 1973. Phenol accumulation related to resistance in tomato to infection by root-knot and lesion nematodes. *Nematology* 5 : 253-258.
- Hussey, R.S. and G.J.W. Janseen. 2001. Root-knot nematodes : *Meloidogyne* species, pp. 43-70 In J.L. Starr, R. Cook and J. Bridge (eds.). Plant Resistance To Parasitic Nematodes. CAB Publishing, New York.
- Hussey, R.S. and H.R. Boerma. 1981. A greenhouse screening procedure for root-knot nematode resistance in soybean. *Crop Science* 21 : 794-796.
- Hussey, R.S. and K.R. Barker. 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. *Plant Disease Reporter* 57 : 1025-1028.
- Kaplan, D. T., N. T. Keen, and I. J. Thomason. 1980. Association of glyceollin with the incompatible response of roots to *Meloidogyne incognita*. *Physiological Plant Pathology* 16 :309-318.
- Richard, L. Fery. and A.T. Judy. 2007. TigerPaw-NR, a Root-knot Nematode-resistance, Habanero-type Pepper. *Hortscience* 42 :1721-1722.
- Roberts, P.A. and I.J. Thomason. 1989. A review of variability in four *Meloidogyne* spp. Measured by reproduction on several hosts including *Lycopersicon*. *Agricultural Zoology Reviews* 3 : 225-252.
- Taylor, A.L. 1971. Introduction to research on plant nematology, an FAO guide to the study and control of plant parasitic nematodes, FAO, Rome. PL : CP/5 - rev. 1.
- Triantaphyllou, A.C. 1981. Oogenesis and the chromosomes of the parthenogenetic root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Journal of Nematology* 13 : 95-104.
- Tylka, G. 1995. Soybean Cyst Nematode. Iowa State University. University Extension Plant Pathology Publication. 879 pp.
- Zacheo, G., T. Bleve-Zacheo, and F. Lamberti. 1982. Role of peroxidase and superoxide dismutase activity in resistant and susceptible tomato cultivars infested by *Meloidogyne incognita*. *Nematologia Mediterranea* 10 :75-80.

ประสิทธิภาพสารในการป้องกันกำจัดเพลี้ยหอยและเพลี้ยแป้งในปทุมมา

อุราพร หนูนารถ¹ สมรวย รวมชัยอภิกุล¹ สิริกัญญา ขุนวิเศษ¹
 อัจฉรา หวังอาษา² ศรีจันทรรจ ศรีจันทรา² สุนัดตา วงษ์ชวลิต¹

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา¹ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
 กลุ่มบริหารศัตรูพืช² สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การทดสอบประสิทธิภาพสารในการป้องกันกำจัดเพลี้ยหอยและเพลี้ยแป้งในปทุมมา ดำเนินการทดลอง ที่แปลงปทุมมาของเกษตรกร ที่ อ.ห้างฉัตร จ. เชียงใหม่ โดยวางแผนการทดลอง แบบ RCB มี 3 ซ้ำ 7 กรรมวิธี ดังนี้กรรมวิธีแห่งหัวปทุมมา ด้วย thiamethoxam 25% WG อัตรา 4 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ,imidacloprid 70% WG อัตรา 4 กรัม/น้ำ 20 , dinotefuran 10 % %WP อัตรา 40 กรัม./น้ำ 20 ลิตร prothiofos 50% EC อัตรา 50 มล./น้ำ 20 ลิตร ,.thiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7%ZC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร,.malathion 83% EC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตรและ น้ำเปล่า ผลการทดลองพบว่า

คำนำ

ปทุมมา เป็นไม้หัวล้มลุกอายุหลายปี จัดเป็นไม้ดอกที่มีบทบาทสำคัญในการผลิตเชิงพาณิชย์ มีการส่งออกผลผลิต ในรูปหัวพันธุ์ สู่ตลาดประเทศญี่ปุ่น เนเธอร์แลนด์ โปตุเกส ในปัจจุบันได้ขยาย ตลาดการส่งออกไปยังอีกหลายประเทศ ได้แก่ อเมริกา แอฟริกาใต้ จีน ไต้หวัน และออสเตรเลีย ซึ่ง ได้รับการตอบรับที่ดีจากตลาดต่างประเทศ จึงมีการขยายพื้นที่ปลูกกันมากขึ้น อย่างไรก็ตามอุปสรรค ต่อการผลิตหัวปทุมมา เกิดจากการระบาดของเพลี้ยหอย เพลี้ยแป้ง และด้วง โดยเพลี้ยแป้งและเพลี้ย หอย จะดูดกินน้ำเลี้ยงหัวพันธุ์ใหม่ ๆ ทำให้หัวพันธุ์ใหม่ที่ได้ไม่สมบูรณ์ สำหรับเพลี้ยแป้งถ้าติดไปกับ หัวพันธุ์ เมื่อเก็บรักษาในโรงเก็บจะเพิ่มอย่างรวดเร็ว ทำให้หัวพันธุ์เสียหายได้ ทำให้หัวปทุมมาไม่ได้ คุณภาพ จึงทำการทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงที่มีประสิทธิภาพดีในการควบคุมการระบาดของ เพลี้ยหอย เพลี้ยแป้ง และด้วง และปลอดภัยต่อผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม และผลผลิตปลอดจากศัตรูพืช และไม่มีสารตกค้าง

รหัสการทดลอง 01-32-54-01-01-04-01-55

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- แปลงปทุมมา
- เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง
- สารฆ่าแมลง (.thiamethoxam 25% WG .imidacloprid 70% WG dinotefuran 10 % %WP prothiofos 50% EC .thiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7%ZC .malathion 83% EC
- สารป้องกันกำจัดโรคพืช
- ปุ๋ยเคมี
- แวนชยาย

วางแผนการทดลอง แบบRCBD มี 3 ซ้ำ 7 กรรมวิธี ดังนี้

1. thiamethoxam 25% WG อัตรา 4 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
2. imidacloprid 70% WG อัตรา 4 กรัม/น้ำ 20
3. dinotefuran 10 % %WP อัตรา 40 กรัม./น้ำ 20 ลิตร
4. prothiofos 50% EC อัตรา 50 มล./น้ำ 20 ลิตร
5. thiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7%ZC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร
6. malathion 83% EC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร
7. Control

วิธีการ

1. จุ่มหัวพันธุ์ปทุมมาด้วยสารดังกล่าวตามกรรมวิธี จากนั้นนำไปฝังให้แห้ง ตรวจสอบจำนวน เพ็ลี่ยหอย หลังแช่หัวปทุมมา 3 และ 5 วัน

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

2. เมื่อปทุมมา อายุ 4 เดือน พ่นสารทดลองตามกรรมวิธีบริเวณโคนต้น ด้วยอัตรา 80 ลิตร/ไร่ และใช้สารฆ่าแมลงครั้งสุดท้ายก่อนเก็บผลผลิต 2 สัปดาห์ ทำการนับจำนวนหัวปทุมมาจาก ทำลายของเพ็ลี่ยหอย และเพ็ลี่ยแปลง ระหว่างแปลงใช้สารและไม่ใช้สาร โดยตรวจนับหัวที่ถูกทำลายและไม่ถูกทำลาย นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์หัวดี พร้อมทั้งบันทึกอาการเป็นพิษ ต่อพืช แล้วนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

แปลงปลูกปทุมมาของเกษตรกร ขนาดแปลงย่อย 20 ตารางเมตร

เวลาและสถานที่

เวลา พฤษภาคม 2554 – ธันวาคม 2554

สถานที่ แปลงปลูกปทุมมาของเกษตรกร อ.ห้างฉัตร จ.เชียงใหม่
ห้องปฏิบัติการหนอนใยผัก สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการดำเนินการแช่หัวปทุมมา ก่อนแช่หัวปทุมมา พบจำนวนเพลี้ยหอยเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 24.00-29.66 ตัวต่อ 20 หัว ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติระหว่างกรรมวิธี จึงวิเคราะห์ข้อมูลเพลี้ยหอย หลังพ่นสารด้วยวิธี Analysis of variance

หลังดำเนินการแช่หัวปทุมมา แล้ว 3 วันพบว่า พบว่า ทุกกรรมวิธีที่แช่หัวปทุมมา มีจำนวนเพลี้ยหอยเฉลี่ย 8.66-14.66 ตัวต่อ 20 หัว น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีแช่ด้วยน้ำเปล่า ซึ่งมีจำนวนเพลี้ยหอยเฉลี่ย 26.33 ตัวต่อ 20 หัว เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธี พบว่า กรรมวิธีแช่หัวปทุมมา ด้วย สาร thiamethoxam 25% WG อัตรา 4 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ,imidacloprid 70% WG อัตรา 4 กรัม/น้ำ 20 dinotefuran 10% WP อัตรา 40 กรัม./น้ำ 20 ลิตร , thiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7%ZC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร และ malathion 83% EC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร พบจำนวนเพลี้ยหอยเฉลี่ย น้อยที่สุดคือ 8.66, 9.00, 9.00, 10.66 และ 10.66 ตัวต่อ 20 หัว ตามลำดับ รองลงมาคือ กรรมวิธีแช่หัวปทุมมา ด้วย สาร prothiofos 50% EC อัตรา 50 มล./น้ำ 20 ลิตร ที่มีจำนวนเพลี้ยหอยเฉลี่ย 14.66 ตัวต่อ 20 หัว ซึ่งทุกกรรมวิธีที่ใช้สารมีจำนวนเพลี้ยหอยน้อยกว่าและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่แช่น้ำเปล่า

หลังดำเนินการแช่หัวปทุมมา แล้ว 5 วันพบว่า พบว่า ทุกกรรมวิธีที่แช่หัวปทุมมา มีจำนวนเพลี้ยหอยเฉลี่ย 2.66 -10.33 ตัวต่อ 20 หัว น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีแช่ด้วยน้ำเปล่า ซึ่งมีจำนวนเพลี้ยหอยเฉลี่ย 22.66 ตัวต่อ 20 หัว เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธี พบว่า กรรมวิธีแช่หัวปทุมมา ด้วย สาร thiamethoxam 25% WG อัตรา 4 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ,imidacloprid 70% WG อัตรา 4 กรัม/น้ำ 20

, และ thiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7%ZC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร พบจำนวนเพลี้ยหอยเฉลี่ย น้อยที่สุดคือ 2.66 , 2.66 และ 4.66 ตัวต่อ 20 หัว 9 ตามลำดับ รองลงมาคือ กรรมวิธีแช่หัวปทุมมา ด้วย สาร dinotefuran 10 % WP อัตรา 40 กรัม./น้ำ 20 ลิตร และ malathion 83% EC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร พบจำนวนเพลี้ยหอยเฉลี่ย 6.00 และ 7.33 ตัวต่อ 20 หัว ตามลำดับ ส่วน กรรมวิธีแช่หัวปทุมมา ด้วย สาร prothiofos 50% EC อัตรา 50 มล./น้ำ 20 ลิตร ที่มีจำนวนเพลี้ยหอยเฉลี่ย 10.33 ตัวต่อ 20 หัว ซึ่งทุกกรรมวิธีที่ใช้สารมีจำนวนเพลี้ยหอยน้อยกว่าและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่แช่น้ำเปล่า

ตารางแสดงค่าเฉลี่ยจำนวนเพลี้ยหอยที่พบบนหัวปทุมมา จากการแช่หัวปทุมมาด้วยสารตามกรรมวิธีต่าง

กรรมวิธี	จำนวนเพลี้ยหอยก่อนแช่หัว (ตัว/20หัว)	หลังแช่หัว ปทุมมา 3 วัน (ตัว/20หัว)	หลังแช่หัว ปทุมมา 5 วัน (ตัว/20หัว)
1.thiamethoxam 25% WG	27.00	8.66 a	2.66 a
2.imidacloprid 70% WG	24.00	9.00 a	2.66 a
3.dinotefuran 10 % WP	27.33	9.00 a	6.00 ab
4.thiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7%ZC	24.00	14.66 b	10.33 b
5.prothiofos 50% EC	29.66	10.66 a	4.66 a
6.malathion 83% EC	25.33	10.66 a	7.33 ab
7.น้ำเปล่า	24.66	26.33 c	22.66 c

1.2 ประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดเพลี้ยหอยฝ้าย(cotton thrips ; *Thrips palmi* Karny) ในช่วงห่อผล

ในปี พ.ศ. 2554 วางแผนการทดลองแบบ CRD 8 กรรมวิธี 5 ซ้ำ (ซ้ำ ละ 2 ลูก)

กรรมวิธีที่ 1	พ่นข้าวด้วยสาร emamectin benzoate 1.92 %EC	อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 2	พ่นข้าวด้วยสาร imidacloprid 10%SL	อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20
กรรมวิธีที่ 3	พ่นข้าวด้วยสาร spiromosifen 24% SC	อัตรา 10 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 4	พ่นข้าวด้วยสาร thiamethoxam/lambdacyhalothrin24.7%ZC	อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 5	พ่นข้าวด้วยสาร fipronil 5%SC	อัตรา 20 มิลลิลิตร./น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 6	พ่นข้าวด้วยสาร spinosad 12 %SC	อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 7	พ่นข้าวด้วย thiamethoxam	อัตรา 5 กรัม./น้ำ 20 ลิตรน้ำเปล่า
กรรมวิธีที่ 8	พ่นข้าวด้วย น้ำเปล่า	

ผลการทดลองพบว่า การพ่นข้าวด้วยสารตามกรรมวิธีต่าง ๆ คือ พ่นข้าวด้วยสาร emamectin benzoate 1.92 %EC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร , พ่นข้าวด้วยสาร imidacloprid 10%SL อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20

พ่นข้าวด้วยสาร spiromosifen 24% SC อัตรา 10 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร , พ่นข้าวด้วยสาร thiamethoxam/ lambdacyhalothrin24.7%ZC อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร , พ่นข้าวด้วยสาร fipronil 5%SC อัตรา 20 มิลลิลิตร./น้ำ 20 ลิตร , พ่นข้าวด้วยสาร spinosad 12 %SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร, พ่นข้าวด้วย thiamethoxam อัตรา 5 กรัม./น้ำ 20 ลิตร และ พ่นข้าวด้วย น้ำเปล่า ก่อนห่อผลมะระ พบว่าหลังจากเก็บผลมะระมาตรวจนับเพลี้ยหอย พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นข้าวด้วยสาร มีจำนวนเพลี้ยหอย 0.60 – 1.8 ตัวต่อผล ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นข้าวด้วยน้ำเปล่า ซึ่งมีจำนวนเพลี้ยหอย 3.8 ตัวต่อผล พบว่า กรรมวิธีพ่นข้าวด้วย emamectin benzoate 1.92 %EC , พ่นข้าวด้วยสาร imidacloprid 10%SL พ่นข้าวด้วยสาร spiromosifen 24% SC, พ่นข้าวด้วยสาร thiamethoxam/ lambdacyhalothrin24.7%ZC , พ่นข้าวด้วยสาร fipronil 5%SC อัตรา ,และ พ่นข้าวด้วยสาร spinosad 12 %SC, พ่นข้าวด้วย thiamethoxam มีจำนวนเพลี้ยหอย 1.8 ,0.6 ,0.8, ,1.0 ,1.4 ,0.8 และ 0.6 ตัวต่อผล (ตารางที่ 1)

ในปี พ.ศ. 2555 แบบการวิจัย (Research Design) CRD 5 ซ้ำ 7 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1	พ่นข้าวด้วยสาร spiromosifen 24% SC	อัตรา 10 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 2	พ่นข้าวด้วยสาร fipronil 5%SC	อัตรา 20 มิลลิลิตร./น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 3	พ่นข้าวด้วยสาร imidacloprid 10% WG	อัตรา 5 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 4	พ่นข้าวด้วยสาร emamectin benzoate 1.92 %EC	อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 5	พ่นข้าวด้วยสาร spinosad 12 %SC	อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 พ่นข้าวด้วยสาร spinetoran 12 %SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 7 พ่นข้าวด้วยน้ำเปล่า

เริ่มดำเนินการทดลองพ่นข้าวระยะ ด้วยสารต่าง ๆ ตามกรรมวิธี โดยใช้ผ้าจุ่มสาร ต่าง ๆ แล้วนำมาพ่นข้าวระยะ หลังจากนั้นทำการห่อผลมะระ ทำการทดลอง 5 ซ้ำ ซ้ำละ 2 ผล และทำการเก็บผลมะระ ในระยะเก็บเกี่ยว มาตรวจนับเปลือกหอยทั้งตัวอ่อน และตัวเต็มวัย ที่ติดอยู่ที่ผลมะระ บันทึกข้อมูล และทำการตรวจนับเปลือกหอย จำนวน 2 ครั้ง คือ หลังเก็บผลผลิตทันที และ หลังจากนั้น 2 วัน นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ผลการทดลองพบว่า การพ่นข้าวด้วยสารตามกรรมวิธีต่าง ๆ คือ พ่นข้าวด้วยสาร spiromosifen 24% SC อัตรา 10 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร, พ่นข้าวด้วยสาร fipronil 5%SC อัตรา 20 มิลลิลิตร./น้ำ 20 ลิตร , พ่นข้าวด้วยสาร imidacloprid 10% WG อัตรา 5 กรัม/น้ำ 20 ลิตร , พ่นข้าวด้วยสาร emamectin benzoate 1.92 %EC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร , พ่นข้าวด้วยสาร spinosad 12 %SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร, และ พ่นข้าวด้วยสาร spinetoran 12 %SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตรก่อนห่อผลมะระ พบว่าหลังจากเก็บผลมะระมาตรวจนับเปลือกหอย พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นข้าวด้วยสารมีจำนวนเปลือกหอย 0.80 – 2.20 ตัวต่อผล ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นข้าวด้วยน้ำเปล่า ซึ่งมีจำนวนเปลือกหอย 15.60 ตัวต่อผล พบว่า spiromosifen 24% SC , พ่นข้าวด้วยสาร fipronil 5%SC , พ่นข้าวด้วยสาร imidacloprid 10% WG, พ่นข้าวด้วยสาร emamectin benzoate 1.92 %EC ,พ่นข้าวด้วยสาร spinosad 12 %SC และ พ่นข้าวด้วยสาร spinetoran 12 %SC มีจำนวนเปลือกหอย 2.20 , 1.60 ,0.80 ,1.40 ,1.40 และ 0.80 ตัวต่อผล (ตารางที่ 2)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

พบว่า การพ่นข้าวระยะด้วยสารตามกรรมวิธีก่อนห่อผลมะระ สามารถป้องกันเปลือกหอยในมะระที่ผลได้

การทดสอบการล้างผลมะระด้วยสารต่าง ๆ

วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 กรรมวิธี 5 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 ล้างผลมะระด้วยน้ำยาล้างจาน ทีโพล อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 ล้างผลมะระด้วยปิโตรเลียมออยล์ อัตรา 20 มิลลิลิตร./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 ล้างผลมะระด้วยไวท์ออยล์ อัตรา 20 มิลลิลิตร./น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 ล้างผลมะระด้วยน้ำเปล่า

นำผลมะระที่เตรียมทำการทดลอง (ซ้ำละ 2 ผล) มานับจำนวนเปลือกหอยที่พบบนผลมะระ และเขียนหมายเลขกำกับ จากนั้นนำผลมะระมาล้างตามกรรมวิธี เป็นเวลา 2 นาที หลังจากนั้นนำไปผึ่งให้แห้งทำการนับเปลือกหอย หลังจากล้างผลมะระ 1 วัน ผลการทดลองพบว่า ก่อนทำการล้างผลมะระ มีจำนวนเปลือกหอย 3.6- 5.8 ตัวต่อผล ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ หลังทำการล้างผลมะระ 1 วัน

พบว่า กรรมวิธีที่ล้างผลมะระด้วยน้ำยาล้างจาน ทีโพล อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร,กรรมวิธี ล้างผลมะระด้วยปิโตรเลียมออยล์ อัตรา 20 มิลลิลิตร./น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ ล้างผลมะระด้วยไวท์ออยล์ อัตรา 20 มิลลิลิตร./น้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยหอย 0.20 -1.80 ตัว ต่อผล โดยกรรมวิธีที่ ล้างผลมะระด้วยน้ำยาล้างจาน ทีโพล ,กรรมวิธี ล้างผลมะระด้วยปิโตรเลียมออยล์ และกรรมวิธีที่ ล้างผลมะระด้วยไวท์ออยล์ อัตรา 20 มิลลิลิตร./น้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยหอย 1.20 ,1.80 และ 0.20 ตัวต่อผล ตามลำดับ

ตารางที่ 1 แสดงจำนวนเพลี้ยหอยในช่วงห่อผล ใน ปี พ.ศ. 2554

กรรมวิธี	อัตราการใช้ กรัม,มล./น้ำ20 ลิตร	จำนวนเพลี้ยหอย (ตัวต่อผล)
emamectin benzoate 1.92 %EC	20	1.80 a
imidacloprid 10%SL	20	0.60 a
spiromosifen 24% SC	10	0.80 a
thiamethoxam/lambdacyhalothrin24.7%ZC	15	1.00 a
fipronil 5%SC	20	1.40 a
spinosad 12 %SC	20	0.80 a
thiamethoxam	2	0.60 a
น้ำเปล่า	-	3.80 b
CV		96.3

ตารางที่ 2 แสดงจำนวนเพลี้ยหอยในช่วงห่อผล .ใน ปี พ.ศ. 2555

กรรมวิธี	อัตราการใช้ กรัม,มล./น้ำ20 ลิตร	จำนวนเพลี้ยหอย (ตัวต่อผล)
spiromosifen 24% SC	10	2.20 a
fipronil 5%SC	20	1.60 a
imidacloprid 10%SL	5	0.80 a
emamectin benzoate 1.92 %EC	20	1.40 a
spinosad 12 %SC	20	1.40 a
spinetoran	20	0.80 a
น้ำเปล่า	-	15.60 b
CV		79.2

ตารางที่ 3 แสดงจำนวนเพลี้ยหอยที่พบจากการล้างผลมะระด้วยสารต่าง ๆ

กรรมวิธี	อัตราการใช้ กรัม,มล./น้ำ20 ลิตร	จำนวนเพลี้ยหอย (ตัวต่อผล)	
		ก่อนล้างผล	หลังล้างผลมะระ 1 วัน
น้ำยาล้างจาน ทีโพล	20	3.60	1.20 a
ปิโตรเลียมมอยล์	20	4.20	1.80 a
ไวท์ออยล์	20	5.80	0.20 a
น้ำเปล่า	-	5.00	11.60 b
CV		58.1	94.9

ชีววิทยาของด้วงเจาะเห็ด *Cyllodes biplagiatus* ในเห็ดนางฟ้าภูฏาน
 Biological study of Microphagous beetle, *Cyllodes biplagiatus* on
 Bhutan Oyster Mushroom, *Pleurotus* sp. Bhutan strain

อุราพร หนูนารถ รัตนา นชะพงษ์ สมรวย รวมชัยอภิกุล จีรนุช เอกอำนวยการ
 กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาชีววิทยาของด้วงเจาะเห็ด *Cyllodes biplagiatus* ในเห็ดนางฟ้าภูฏาน *Pleurotus* sp. Bhutan strain โดยดำเนินการทดลองที่กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ระหว่างเดือน ธันวาคม 2553 - มีนาคม 2554 ในสภาพห้องปฏิบัติการ ที่อุณหภูมิ 25 - 27 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 70 - 80 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้เห็ดนางฟ้าภูฏานเป็นอาหาร พบว่า ตัวเต็มวัยเพศเมียจับคู่ผสมพันธุ์เมื่อมีอายุเฉลี่ย 1 วัน โดยวางไข่เป็นฟองเดี่ยวหรือเป็นกลุ่มๆละ 6-8 ฟอง มีเปอร์เซ็นต์การฟัก 94 เปอร์เซ็นต์ ระยะไข่ใช้เวลาในการพัฒนาเฉลี่ย 34.80 ± 6.81 ชั่วโมง ระยะหนอนมี 3 วัย คือวัยที่ 1, 2 และ 3 ใช้เวลาในการพัฒนาเฉลี่ย 4.00 ± 0.67 , 6.73 ± 0.90 และ 3.27 ± 0.45 วัน ตามลำดับ ระยะหนอนทั้งหมดมีอายุรวมเฉลี่ย 14.97 ± 0.57 วัน ระยะดักแด้มีอายุเฉลี่ย 6.77 ± 0.63 วัน ตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียมีอายุขัยเฉลี่ย 38.83 ± 3.94 วัน ด้วงมีวงจรชีวิตเฉลี่ย 62.00 ± 3.83 วัน

คำนำ

เห็ดภูฏานเป็นเห็ดที่มีคุณค่าทางด้านโภชนาการ และสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่ง เห็ดภูฏานใช้เพาะเป็นการค้ากันอย่างกว้างขวาง ในทุกสภาพอากาศ และได้ขยายพื้นที่ปลูกทั่วประเทศ เนื่องจากได้มีการตื่นตัวเพาะเห็ดกันมาก จึงมีการขยายกิจการเพาะเห็ดอย่างกว้างขวางและรวดเร็ว ต่อมาได้เกิดปัญหาการระบาดของแมลงศัตรูเห็ดชนิดต่างๆเพิ่มขึ้น จากการศึกษาของกอบเกียรติ และคณะ (2544) พบหนอนแมลงวัน 4 ชนิด คือ หนอนแมลงวันเขียริด (*Lycoriella* sp.) หนอนแมลงวันฟอริค (*Megaselia* sp.) หนอนแมลงวันซีซิด (*Heteropeza* sp.) และแมลงหวี่ดำ (*Scatopse* sp.) เข้าทำลายก้อนเชื้อเห็ด และดอกเห็ด หนอนผีเสื้อ 2 ชนิด เพลี้ยไฟ แมลงหางดีด และด้วง แต่ในปัจจุบันพบมีการระบาดของด้วงเจาะเห็ดในโรงเพาะเห็ดเกือบทุกภาคของประเทศ โดยด้วงชนิดนี้จะกัดกินดอกเห็ดในช่วงก่อนเก็บเกี่ยว ตั้งแต่ระยะเริ่มเก็บดอกเห็ด ซึ่งด้วงชนิดนี้ยังไม่มีการศึกษาทั้งชนิด ชื่อ และวงจรชีวิตมาก่อนเลย จึงจำเป็นต้องศึกษาอย่างเร่งด่วน เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษารายละเอียดเช่น การศึกษาความรุนแรง, บทบาทและระยะการเข้าทำลายของด้วง ตลอดจนวิธีการในการป้องกันกำจัด สำหรับการวางแผนการป้องกันกำจัดทั้งระยะสั้นและระยะยาวต่อไปได้

รหัสการทดลอง 01-39-54-02-02-00-03-54

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ดั้วเจาะเห็ด
2. โรงเพาะเห็ดเกษตรกร และดอกเห็ดนางฟ้าภูฐาน
3. ถุงพลาสติก กล่องพลาสติก และชั้นเลี้ยงแมลง
4. แวนขยาย และกล่องจุลทรรศน์
5. อุปกรณ์อื่นๆที่จำเป็น เช่น แอลกอฮอล์ พู่กัน มีด คีมคีบ ที่นับแมลง เครื่องชั่งน้ำหนัก และกระดาษทิชชู

วิธีการ

การศึกษาชีววิทยาของดั้ว โดยทำการเก็บรวบรวมตัวเต็มวัยของดั้วจากโรงเพาะเห็ดของเกษตรกร แล้วนำมาเลี้ยงขยายในห้องปฏิบัติการ ที่อุณหภูมิ 25 - 27 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 70 - 80 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้เห็ดนางฟ้าภูฐานเป็นอาหาร ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรุงเทพมหานคร กรมวิชาการเกษตร จากนั้นทำการจำแนกชนิด นำมาเลี้ยงขยายพันธุ์ต่อจนได้รุ่นที่ 1 (F1) แล้วดำเนินการศึกษาหาวงจรชีวิตในระยะต่าง ดังนี้

ระยะไข่ ศึกษาอายุของไข่ และหาอัตราการฟัก ตรวจนับและบันทึกจำนวนไข่ที่ฟัก โดยทำการศึกษาจากไข่ 30 ฟอง

ระยะหนอน ศึกษาอายุและลักษณะของหนอนวัยต่างๆ บันทึกขนาด ลักษณะ โดยทำการศึกษาจากหนอน 30 ตัว

ระยะดักแด้ ศึกษาอายุและลักษณะของดักแด้ บันทึกขนาด และลักษณะของดักแด้ โดยทำการศึกษาจากดักแด้ 30 ดักแด้

ระยะตัวเต็มวัย ศึกษาอายุขัย การผสมพันธุ์ การวางไข่ และลักษณะของตัวเต็มวัย โดยใช้ดั้วเจาะเห็ด จำนวน 5 คู่

เวลาและสถานที่

ธันวาคม 2553 – มีนาคม 2554

ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช และโรงเพาะเห็ดของเกษตรกร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาชีววิทยาของดั้วเจาะเห็ด *Cyllodes biplagiatus* พบว่าการเจริญเติบโตของดั้วชนิดนี้แบ่งออกเป็น 4 ระยะ คือ

ระยะไข่ ตัวเต็มวัยเพศเมียจะวางไข่ ตามครีบของดอกเห็ด โดยวางไข่เป็นฟองเดี่ยวหรือเป็นกลุ่ม ๆ ละ 6 - 8 ฟอง ไข่ที่วางใหม่จะมีลักษณะกลมรี สีขาวใสผิวมันวาว และสีจะเปลี่ยนเป็นเข้มขึ้น

เมื่อใกล้ฟัก มีขนาดเล็ก ขนาดกว้างและยาวเฉลี่ย 1.9 ± 0.16 และ 3.5 ± 0.46 มิลลิเมตร มีเปอร์เซ็นต์การฟัก 94 % ระยะไข่ใช้เวลาในการพัฒนา 34.80 ± 6.81 ชั่วโมง (ตารางที่ 1 และ 2)

ระยะหนอน หนอนเมื่อฟักออกมาจากไข่จะเริ่มเข้าทำลายเห็ด โดยเข้ากัดกินทำลายอยู่ใต้โคนหมวกเห็ดและขอนไซ่เข้าตามก้านดอก หนอนมีลักษณะเป็นรูปทรงกระบอก ค่อนข้างแบน หนอนที่ฟักออกใหม่ๆ มีสีขาวใส แล้วค่อยๆ เปลี่ยนเป็นสีขาวอมเหลือง หนอนมีการพัฒนาการเจริญเติบโต 3 ระยะ คือระยะที่ 1, 2 และ 3 ใช้เวลา 4.00 ± 0 , 6.73 ± 0.90 และ 3.27 ± 0.45 วัน ตามลำดับ หนอนระยะที่ 1, 2 และ 3 มีขนาดความกว้างของหัวกะโหลกเฉลี่ย 1.92 ± 0.38 , 2.35 ± 0.48 และ 2.55 ± 0.50 มิลลิเมตรตามลำดับ และมีความยาวของลำตัวเฉลี่ย 4.67 ± 0.67 , 9.80 ± 1.27 และ 10.03 ± 0.83 มิลลิเมตร ตามลำดับ ระยะหนอนวัย 1, 2 และ 3 ใช้เวลาในการพัฒนาเฉลี่ย 4.00 ± 0 , 6.73 ± 0.90 และ 3.27 ± 0.45 วัน ตามลำดับ ระยะหนอนทั้งหมดมีอายุรวมเฉลี่ย 14.97 ± 0.57 วัน (ตารางที่ 1 และ 2) หนอนเมื่อเริ่มเข้าสู่ระยะที่ 3 จะเริ่มเข้าสู่ระยะก่อนเข้าดักแด้ หนอนจะกินอาหารลดลง ลำตัวเริ่มหดสั้น และโค้งงอเป็นรูปตัวซี ส่วนหัว, ส่วนอก และส่วนท้องจะมีสีน้ำตาลเข้มถึงดำ

ระยะดักแด้ ดักแด้มีสีขาว มีลักษณะเป็นแบบ exarate ดักแด้เป็นระยะพักตัว ไม่มีการกินอาหาร สามารถขยับตัวพลิกไปมาได้ ภายในโพรง หรือช่องดักแด้ โดยเข้าดักแด้อยู่ภายในโคนดอกเห็ด บางครั้งอาจเข้าดักแด้ในก้อนเชื้อ ดักแด้เมื่อใกล้เข้าสู่ระยะตัวเต็มวัย ปีกคู่ที่สองจะเปลี่ยนจากสีขาวเป็นสีดำ ส่วนอกมีสีเหลืองอมน้ำตาล ดักแด้มีขนาดกว้างและยาวเฉลี่ย 4.0 ± 0 และ 6.76 ± 0.63 มิลลิเมตร ตามลำดับ ระยะดักแด้มีอายุเฉลี่ย 6.73 ± 0.45 วัน (ตารางที่ 1 และ 2)

ระยะตัวเต็มวัย ตัวเต็มวัยเมื่อฟักออกมาใหม่ ๆ จะมีสีน้ำตาลอ่อน และจะกลายเป็นสีน้ำตาลอมดำ มีจุดสีน้ำตาลอ่อนที่ส่วนท้ายของอกปล้องแรก(pronotum) 2 จุด และที่โคนปีก 2 จุด มีหนวดเป็นแบบลูกตุ้ม ตัวเต็มวัยมีขนาดความกว้างของส่วนหัวเฉลี่ย 4.53 ± 0.57 มิลลิเมตร ลำตัวมียาวเฉลี่ย 5.77 ± 0.83 มิลลิเมตร ตัวเต็มวัยหลังจากออกจากดักแด้ 1 วัน จะจับคู่ผสมพันธุ์และเริ่มวางไข่ ตัวเต็มวัยมีอายุ 38.83 ± 3.94 วัน (ตารางที่ 1 และ 2)

จากการศึกษาวงจรชีวิตของด้วงเจาะเห็ด ภายใต้สภาพห้องปฏิบัติการ พบว่ามีวงจรชีวิต (จากไข่ถึงตัวเต็มวัย) เฉลี่ย 62.00 ± 3.83 วัน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการศึกษาชีววิทยาของด้วงเจาะเห็ด *Cyllodes biplagiatus* ในห้องปฏิบัติการ พบว่าตัวเต็มวัยมีอายุเฉลี่ย 38.83 ± 3.94 วัน ตัวเต็มวัยเพศเมียหลังฟักออกจากดักแด้แล้ว 1 วัน จะจับคู่ผสมพันธุ์ และวางไข่เป็นฟองเดี่ยวหรือเป็นกลุ่มๆ ละ 6 – 8 ฟอง ระยะไข่ 34.80 ± 6.81 ชั่วโมง หนอนมี 3 ระยะ ระยะหนอนวัยที่ 1, 2 และ 3 ใช้เวลาในการพัฒนาเฉลี่ย 4.00 ± 0 , 6.73 ± 0.90 และ 3.27 ± 0.45 วัน ตามลำดับ ระยะหนอนทั้งหมดมีอายุรวมเฉลี่ย 14.97 ± 0.57 วัน ระยะดักแด้มีอายุเฉลี่ย 6.73 ± 0.45 วัน ด้วงมีวงจรชีวิต(จากไข่ถึงตัวเต็มวัย) เฉลี่ย 62.00 ± 3.83 วัน

เอกสารอ้างอิง

กอบเกียรติ์ บันสิทธิ์ พรทิพย์ วิสารทานนท์ ฉัตรไชย ศฤงฆไพบูลย์ และสัจจะ ประสงค์ทรัพย์.

2544. แมลง-ไรศัตรูเห็ดในประเทศไทย. โรงพิมพ์คุรุสภาลาดพร้าว กรุงเทพมหานคร. 80 หน้า.

Table 1. Average length of body and width of head capsule of *Cyllodes biplagiatus* fed on Bhutan Oyster Mushroom, *Pleurotus* sp. Bhutan strain at each development stage.

Developmental stage	Mean \pm SD. (mm.) ^{1/}	
	Width	Length
egg	1.90 \pm 0.16	3.50 \pm 0.46
larval instar:		
1 st	1.92 \pm 0.38	4.67 \pm 0.67
2 nd	2.35 \pm 0.48	9.80 \pm 1.27
3 rd	2.55 \pm 0.50	10.03 \pm 0.85
pupa	4.00 \pm 0	6.77 \pm 0.63
adult	4.53 \pm 0.57	5.77 \pm 0.83

^{1/} average size \pm standard deviation

Table 2. Developmental stages of *Cyllodes biplagiatus* fed on Bhutan Oyster Mushroom, *Pleurotus* sp. under laboratory conditions .

Developmental stage	Range (days)	Mean \pm SD. (days) ^{1/}
Egg incubation	1 - 2	34.80 \pm 6.81 (hours)
larval instar:		
1 st	4 - 5	4.00 \pm 0
2 nd	6 - 7	6.73 \pm 0.90
3 rd	3 - 4	3.27 \pm 0.45
Larval period	13 - 16	14.97 \pm 0.57
Pupal period	6 - 7	6.73 \pm 0.45
Adult longevity	30 - 45	38.83 \pm 3.94
Egg-Adult period	53 - 67	62.00 \pm 3.83

^{1/} average days \pm standard deviation

ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอก
(pre-emergence) ในอ้อยปลูกใหม่

Efficiency of Pre-emergence Herbicides for Weed Control in Sugarcane

สิริชัย สาธุวิจารณ์^{1/} ทักษิณา ศันสยะวิชัย^{2/} จรรยา มณีโชติ^{1/} ตรีนัย ตุงคะเสน^{3/}

^{1/} กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/} ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่3

^{3/} กลุ่มบริหารโครงการวิจัย สถาบันวิจัยพืชไร่

รายงานความก้าวหน้า

การทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอกในอ้อย เพื่อให้ได้วิธีการจัดการวัชพืชประเภทก่อนงอกที่มีประสิทธิภาพ ประหยัด ปลอดภัย ลดต้นทุน และลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในการผลิตอ้อย ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนมิถุนายน-กันยายน 2555 ณ ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ มี 12 กรรมวิธี ได้แก่ การพ่นสารกำจัดวัชพืช mesotrione/atrazine, atrazine, diuron, flumioxazin, pendimethalin+imazapic, hexazinone/diuron, tebuthiuron+pendimethalin, tebuthiuron+oxyfluorfen, isoxaflutole และ metribuzin อัตรา 150, 600, 480, 20, 132+12, 240, 150+132, 150+35.3, 20 และ 140 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ ตามลำดับ หลังจากปลูกอ้อย กรรมวิธีกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานและกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช ปฏิบัติและดูแลรักษาอ้อยที่ปลูกตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร ผลการทดลอง พบว่า สารกำจัดวัชพืชที่ใช้ในการทดลองไม่เป็นพิษต่ออ้อย ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช สารกำจัดวัชพืช mesotrione/atrazine, diuron, flumioxazin, pendimethalin+imazapic, hexazinone/diuron, tebuthiuron+pendimethalin, tebuthiuron+oxyfluorfen, isoxaflutole และ metribuzin สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้าตีนนก (*Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.) หญ้าตีนกา (*Eleusine indica* Gaertn.) หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium* L.) สาบม่วง (*Praxelis clematidea* R.M. King) ผักเบี้ยหิน (*Trianthema portulacastrum* L.) ผักโขม (*Amaranthus viridis* L.) และ กกทราย (*Cyperus iria* L.)

รหัสการทดลอง 01-05-54-02-01-00-01-54

คำนำ

จากการสำรวจและสอบถามปัญหาวัชพืชในพื้นที่ปลูกอ้อย พบว่า ในแต่ละพื้นที่มีชนิดของวัชพืชที่โดดเด่นและเป็นปัญหาในการจัดการแตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับพื้นที่ สภาพแวดล้อม และช่วงเวลา เช่น ช่วงแรกของการปลูกอ้อยใหม่วัชพืชส่วนใหญ่จะเป็นวัชพืชใบแคบ แต่หลังจากกำจัดวัชพืชครั้งหนึ่งแล้ววัชพืชชุดที่สองที่ขึ้นมาส่วนมากจะเป็นวัชพืชใบกว้างและพวกเถาเลื้อย ส่วนอ้อยต่อวัชพืชที่พบจะเป็นวัชพืชใบกว้างและประเภทเถาเลื้อย ซึ่งเกษตรกรยังคงใช้สารกำจัดวัชพืชชนิดเดิมอย่างต่อเนื่องเป็นเวลานานมากกว่า 20 ปี ในอดีตที่ผ่านมา สารเหล่านั้นมีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชได้เป็นอย่างดี แต่จากการสอบถามเกษตรกร พบว่า ปัจจุบันนี้บางแหล่งปลูก สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอกที่เกษตรกรใช้ เช่น atrazine, diuron และ alachlor ไม่สามารถควบคุมวัชพืชเหล่านั้นได้ เนื่องจากชนิดของวัชพืชในแต่ละพื้นที่ได้เปลี่ยนไปจากเดิม ทำให้อัตราแนะนำของการใช้สารกำจัดวัชพืชที่มีอยู่ไม่ได้ผลเท่าที่ควร สาเหตุที่สารกำจัดวัชพืชไม่สามารถควบคุมได้นั้น อาจเกิดจากหลายสาเหตุ แต่ประเด็นที่กำลังเป็นปัญหาในปัจจุบัน คือ วัชพืชบางชนิดมีการต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืชที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน

วัชพืชเป็นศัตรูอ้อยชนิดหนึ่ง อันเป็นสาเหตุทำให้ผลผลิตต่ำแต่ต้นทุนสูง ประมาณการว่า ต้นทุนการจัดการวัชพืชถึงไร่ละ 500 บาท การกำจัดวัชพืชไม่ทันกับการแพร่ระบาดในช่วงวิกฤตินำมาซึ่งความสูญเสียผลผลิตอ้อยประมาณ 25-80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งขึ้นอยู่กับความหนาแน่นและช่วงเวลาการเบียดเบียนของวัชพืชในไร่อ้อย (เกลียวพันธ์, 2546) ธวัช (2543) รายงานว่า การกำจัดวัชพืชเมื่ออ้อยอายุ 1-4, 2-4, 3-4, 4 และ 5 เดือน กับการไม่กำจัดวัชพืช อ้อยมีปริมาณผลผลิต 16.2, 12.1, 9.5, 5.7, 2.5 และ 1.9 ตันต่อไร่ ตามลำดับ สิ่งหนึ่งที่สามารถเห็นได้ คือ หากปล่อยให้วัชพืชรบกวนต้นอ้อยในช่วงแรกหลังการปลูกหรือระยะที่อ้อยยังเล็กอยู่จะทำความเสียหายเป็นอย่างมาก และอ้อยก็ต้องการช่วงเวลาปราศจากการรบกวนของวัชพืชอย่างน้อย 12 สัปดาห์หลังปลูก

วัชพืชในไร่อ้อย ขยายพันธุ์ และแพร่ระบาดได้รวดเร็ว การควบคุมและกำจัดยาก วัชพืชเหล่านั้นสามารถปรับตัวอยู่ได้เกือบทุกสภาพแวดล้อม ตัวอย่างเช่น เห็บหมู หญ้าตีนกา ผักยาง หญ้าปากควาย หญ้าดอกขาว หญ้าชันกาด ผักโขมหนาม ผักเบี้ยหิน และพวกวัชพืชเถาเลื้อย (เกลียวพันธ์, 2546) การควบคุมวัชพืชในอ้อย แบ่งออกเป็น 2 วิธี คือ การควบคุมวัชพืชโดยไม่ใช้สารกำจัดวัชพืช และการควบคุมวัชพืชโดยใช้สารกำจัดวัชพืช สารกำจัดวัชพืชที่แนะนำให้ใช้ในการปลูกอ้อย อาจเลือกใช้ได้ตามสภาพการปลูก และปัญหาวัชพืช อาทิเช่น อะลาคลอร์ อาหาราซิน เพนดิเมทาลิน อามีทริน 2,4-ดี พาราควอท และพาราควอท+ไดยู เป็นต้น (กลุ่มวิจัยวัชพืช, 2547) การเลือกใช้ชนิดสารอย่างถูกต้องและตรงตามชนิดของวัชพืชที่ขึ้นในแปลงนั้น จะทำให้การจัดการมีประสิทธิภาพ โดยเฉพาะสารกำจัดวัชพืชที่ใช้ทางดินนั้น จำเป็นต้องศึกษาชนิดของดินซึ่งมีผลต่อ

ประสิทธิภาพและอัตราการใช้สารกำจัดวัชพืช ซึ่งการกำจัดวัชพืชในอ้อยอย่างมีประสิทธิภาพนั้น ต้องใช้หลายวิธีการร่วมกันตั้งแต่กระบวนการปลูก การเขตกรรม การเก็บเกี่ยว และการดูแลรักษาต่อ

ดังนั้น เพื่อให้ได้วิธีการจัดการวัชพืชประเภทก่อนงอกที่มีประสิทธิภาพ ประหยัด ปลอดภัย ลดต้นทุน และลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในการผลิตอ้อย จึงมีความจำเป็นต้องศึกษาวิจัยหาสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอกที่มีกลไกการเข้าทำลายพืชต่างออกไปจากเดิม มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชที่เหมาะสมกับชนิดของวัชพืชและดินปลูกอ้อยในพื้นที่ต่าง ๆ สำหรับแก้ไขปัญหาค้นหาเกษตรกรผู้ปลูกอ้อย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สารกำจัดวัชพืช mesotrione/atrazine 55% SC, atrazine 80% WP, diuron 80% WP, flumioxazin 50% WP, pendimethalin 33% EC, imazapic 24% EC, hexazinone/diuron 60% WG, tebuthiuron 50% SC, oxyfluorfen 48% EC, isoxaflutole 75% WG และ metribuzin 70% WP
2. ท่อนพันธุ์อ้อย พันธุ์ขอนแก่น 3
3. เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง
4. ไม้ปักแปลง ถุงกระดาษ ถุงตาข่าย

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ มี 12 กรรมวิธี ได้แก่ การพ่นสารกำจัดวัชพืช mesotrione/atrazine, atrazine, diuron, flumioxazin, pendimethalin+imazapic, hexazinone/diuron, tebuthiuron+pendimethalin, tebuthiuron+oxyfluorfen, isoxaflutole และ metribuzin อัตรา 150, 600, 480, 20, 132+12, 240, 150+132, 150+35.3, 20 และ 140 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ ตามลำดับ หลังจากปลูกอ้อย กรรมวิธีกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานและกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช (untreated control: UTC) ขนาดแปลงย่อย 7.5×8 เมตร ทดสอบในชุดดิน 3 ชุด ที่เป็นตัวแทนของ ดินเหนียว ดินร่วน และดินร่วนปนทราย โดยในปี 2555 เลือกพื้นที่ปลูกที่เป็นตัวแทนของ ดินร่วนปนทราย

การปลูกและดูแลรักษา ระยะปลูกอ้อยใช้ระยะระหว่างแถว 1.5 เมตร ให้น้ำตามร่องปลูก กำจัดโรคและแมลง และใส่ปุ๋ยตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร

พ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีหลังปลูกอ้อยในขณะที่ดินมีความชื้น ใช้เครื่องพ่นสารแบบสับโยกสะพายหลัง ประกอบหัวพ่นแบบพัด ปริมาณน้ำ 60-80 ลิตร/ไร่

การบันทึกข้อมูล

1. ประสิทธิภาพการควบคุม: ให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0-10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ โดย 0 = ควบคุมไม่ได้ 1-3 = ควบคุมได้เล็กน้อย 4-6 = ควบคุมได้ปานกลาง 7-9

= ควบคุมได้ดี และ 10 = ควบคุมได้สมบูรณ์ บันทึกข้อมูล 2 ครั้ง ที่ระยะ 30 และ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช แยกวัชพืชเป็นชนิด ประเภทวัชพืชใบแคบวงศ์หญ้า ประเภทใบกว้าง และประเภทกก

2. ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อพืชปลูก: ให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตา ตามระบบ 0-10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ โดย 0 = ไม่เป็นพิษ 1-3 = เป็นพิษเล็กน้อย 4-6 = เป็นพิษปานกลาง 7-9 = เป็นพิษรุนแรง และ 10 = พืชปลูกตาย บันทึกข้อมูล 2 ครั้ง ที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช

3. จำนวนชนิดและน้ำหนักแห้งของวัชพืช: สุ่มเก็บตัวอย่าง จำแนกชนิดและประเภทวัชพืช บันทึก จำนวนและน้ำหนักแห้งวัชพืชจากทุกกรรมวิธี ๆ ละ 4 จุด แต่ละจุดมีขนาด 0.5×0.5 เมตร ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช โดยแยกเป็นชนิด ประเภทวัชพืชใบแคบวงศ์หญ้า ประเภทใบกว้าง และประเภทกก

4. การเจริญเติบโตของพืชปลูก: วัดความสูง โดยสุ่มจากจำนวน 10 ต้น ที่เป็นตัวแทนของอ้อยในแต่ละกรรมวิธี บันทึกข้อมูล 3 ครั้ง ที่ระยะ 60, 90 และ 120 วัน หลังปลูก

5. ผลผลิตพืชปลูก: ผลผลิตอ้อยเป็นกิโลกรัมต่อไร่ โดยมีพื้นที่เก็บเกี่ยวไม่น้อยกว่า 4×4 เมตร ที่ระยะ 8 เดือนหลังปลูก

เวลาสถานที่

ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนมิถุนายน-กันยายน 2555 ณ ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น กรมวิชาการเกษตร จังหวัดขอนแก่น

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสุ่มตัวอย่างวัชพืช ที่ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช กรรมวิธีที่ไม่กำจัดวัชพืช พบวัชพืชจำนวน 116 ต้น/ตารางเมตร ประกอบด้วยวัชพืชประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนกา และหญ้าปากควาย จำนวน 22, 6 และ 65 คิดเป็น 18.97, 5.17 และ 56.03 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ วัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ สาบม่วง ผักเบี้ยหิน และผักโขม จำนวน 2, 4 และ 5 ต้น คิดเป็น 10.34, 1.72 และ 3.45 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และวัชพืชประเภทกก ได้แก่ กกทราย จำนวน 5 ต้น คิดเป็น 4.31 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1)

จากการประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่ออ้อย ที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า ที่ระยะ 15 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช กรรมวิธีการพ่นสารกำจัดวัชพืช flumioxazin และ tebuthiuron+oxyfluorfen อ้อยแสดงอาการเป็นพิษเล็กน้อย ส่วนการพ่นสารกำจัดวัชพืช isoxaflutole อ้อยแสดงอาการเป็นพิษปานกลาง (ใบเป็นสีขาว) ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสาร อาการเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืช flumioxazin และ tebuthiuron+oxyfluorfen ต่ออ้อยหมดไป ส่วนสารกำจัดวัชพืช isoxaflutole อ้อยแสดงอาการเป็นพิษเล็กน้อยและกลับสู่สภาพปกติในเวลาต่อมา (ตารางที่ 2)

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า กรรมวิธีการพ่นสารกำจัดวัชพืชทุกกรรมวิธี สามารถควบคุมวัชพืชได้สมบูรณ์ ยกเว้นการพ่นสารกำจัดวัชพืช atrazine สามารถควบคุมวัชพืชได้ระดับดี (8 คะแนน) ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชเริ่มลดลง แต่ยังคงอยู่ในระดับดี คะแนนอยู่ในช่วง 8.5-9.9 คะแนน แต่สารกำจัดวัชพืช atrazine สามารถควบคุมวัชพืชได้น้อย มีระดับคะแนนการควบคุมอยู่ที่ 2.5 คะแนน (ตารางที่ 3) วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้าตีนนก (*Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.) หญ้าตีนกา (*Eleusine indica* Gaertn.) หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium* L.) สาบม่วง (*Praxelis clematidea* R.M. King) ผักเบี้ยหิน (*Trianthema portulacastrum* L.) ผักโขม (*Amaranthus viridis* L.) และ กกทราย (*Cyperus iria* L.)

การเจริญเติบโตของอ้อย ที่ระยะ 60 หลังปลูก พบว่า กรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช การพ่นสารกำจัดวัชพืช flumioxazin และ mesotrione/atrazine อ้อยมีความสูง เท่ากับ 25.1, 25.1 และ 25.0 เซนติเมตร ตามลำดับ และไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการพ่นสารกำจัดวัชพืช hexazinone/diuron, tebuthiuron+pendimethalin, tebuthiuron+oxyfluorfen, pendimethalin+imazapic, metribuzin, diuron และกรรมวิธีกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน อ้อยมีความสูง เท่ากับ 24.6, 24.3, 24.1, 23.0, 22.4, 22.1 และ 24.0 เซนติเมตร ตามลำดับ

ที่ระยะ 90 วัน หลังปลูก พบว่า การพ่นสารกำจัดวัชพืช flumioxazin, mesotrione/atrazine และ tebuthiuron+oxyfluorfen อ้อยมีความสูง เท่ากับ 63.5, 60.3 และ 61.2 เซนติเมตร ตามลำดับ และไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการพ่นสารกำจัดวัชพืช diuron, pendimethalin+imazapic, hexazinone/diuron, tebuthiuron+pendimethalin, isoxaflutole และ metribuzin อ้อยมีความสูง เท่ากับ 57.8, 57.9, 55.5, 55.4, 54.0 และ 57.3 เซนติเมตร ตามลำดับ

ที่ระยะ 120 วัน หลังปลูก การพ่นสารกำจัดวัชพืช mesotrione/atrazine, flumioxazin และ hexazinone/diuron อ้อยมีความสูง เท่ากับ 122.1, 118.8 และ 117.4 เซนติเมตร ตามลำดับ และไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการพ่นสารกำจัดวัชพืช diuron, pendimethalin+imazapic, tebuthiuron+pendimethalin, tebuthiuron+oxyfluorfen, isoxaflutole และ metribuzin อ้อยมีความสูง เท่ากับ 105.1, 108.4, 105.3, 113.3, 112.8 และ 101.7 เซนติเมตร ตามลำดับ

สรุปผลการทดลอง

1. สารกำจัดวัชพืชที่ใช้ในการทดลองไม่เป็นพิษต่ออ้อย ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช
2. ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช สารกำจัดวัชพืช mesotrione/atrazine, diuron, flumioxazin, pendimethalin+imazapic, hexazinone/diuron, tebuthiuron+

pendimethalin, tebuthiuron+oxyfluorfen, isoxaflutole และ metribuzin สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้าตีนนก (*Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.) หญ้าตีนกา (*Eleusine indica* Gaertn.) หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium* L.) สาบม่วง (*Praxelis clematidea* R.M. King) ผักเบี้ยหิน (*Trianthema portulacastrum* L.) ผักโขม (*Amaranthus viridis* L.) และ กกทราย (*Cyperus iria* L.)

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยพืชไร่นานักแทน ที่ให้ความอนุเคราะห์พื้นที่ทดลอง ท่อนพันธุ์ตลอดจนอำนวยความสะดวกด้านต่าง ๆ ทำให้การทดลองเสร็จสิ้นด้วยความเรียบร้อย

เอกสารอ้างอิง

- เกลียวพันธ์ สุวรรณรักษ์. 2546. วัชพืชในไร่อ้อยและการป้องกันกำจัด. กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 33 หน้า.
- กลุ่มวิจัยวัชพืช. 2547. คำแนะนำการป้องกันกำจัดวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืช ปี 2547. กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ. 133 หน้า.
- ธวัช ดินนังวัฒนะ. 2543. การทำไร่อ้อยยุคใหม่. ศูนย์เกษตรอ้อยภาคตะวันออกเฉียงเหนือ สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย สำนักงานปลัดกระทรวงอุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม. กรุงเทพฯ. 103 หน้า.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 ชนิดและปริมาณของวัชพืชที่พบในกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช

ชนิดวัชพืช	จำนวนวัชพืช (ต้น/ตารางเมตร)	เปอร์เซ็นต์
หญ้าตีนนก (<i>Digitaria sanguinalis</i> (L.). Scop.)	22	18.97
หญ้าตีนกา (<i>Eleusine indica</i> Gaertn.)	6	5.17
หญ้าปากควาย (<i>Dactyloctenium aegyptium</i> L.)	65	56.03
สาบม่วง (<i>Praxelis clematidea</i> R.M. King)	12	10.34
ผักเบี้ยหิน (<i>Trianthema portulacastrum</i> L.)	2	1.72
ผักโขม (<i>Amaranthus viridis</i> L.)	4	3.45
กกทราย (<i>Cyperus iria</i> L.)	5	4.31
รวม	116	100.0

ตารางที่ 2 ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่ออ้อย จากการประเมินด้วยสายตาที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่)	จำนวนวันหลังพ่นสาร (วัน)	
		15	30
mesotrione/atrazine	150	0.0	0.0
atrazine	600	0.0	0.0
diuron	480	0.0	0.0
flumioxazin	20	1.0	0.0
pendimethalin+imazapic	132+12	0.0	0.0
hexazinone/diuron	240	0.0	0.0
tebuthiuron+pendimethalin	150+132	0.0	0.0
tebuthiuron+oxyfluorfen	150+35.3	2.0	0.0
isoxaflutole	20	5.0	1.0
metribuzin	140	0.0	0.0
hand weeding	-	0.0	0.0
UTC	-	0.0	0.0

หมายเหตุ: 0 = ไม่เป็นพิษ 1-3 = เป็นพิษเล็กน้อย 4-6 = เป็นพิษปานกลาง 7-9 = เป็นพิษรุนแรง
และ 10 = พืชปลูกตาย

ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช โดยรวมจากการประเมินด้วยสายตา
ที่ระยะ 30 และ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่)	จำนวนวันหลังพ่นสาร (วัน)	
		30	60
mesotrione/atrazine	150	10.0	8.5
atrazine	600	8.0	2.5
diuron	480	10.0	9.8
flumioxazin	20	10.0	9.7
pendimethalin+imazapic	132+12	10.0	9.8
hexazinone/diuron	240	10.0	9.8
tebuthiuron+pendimethalin	150+132	10.0	9.8
tebuthiuron+oxyfluorfen	150+35.3	10.0	9.8
isoxaflutole	20	10.0	9.9
metribuzin	140	10.0	8.5
hand weeding	-	10.0	7.0
UTC	-	0.0	0.0

หมายเหตุ: 0 = ควบคุมไม่ได้ 1-3 = ควบคุมได้เล็กน้อย 4-6 = ควบคุมได้ปานกลาง 7-9 = ควบคุมได้ดี และ 10 = ควบคุมได้สมบูรณ์

ตารางที่ 4 ความสูงอ้อย ที่ระยะ 60, 90 และ 120 วัน หลังปลูก

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่)	จำนวนวันหลังปลูก (วัน) ^{1/}		
		60	90	120
mesotrione/atrazine	150	25.0 a	60.3 a	122.1 a
atrazine	600	18.9 c	39.8 c	62.6 d
diuron	480	22.1 abc	57.8 ab	105.1 abc
flumioxazin	20	25.1 a	63.5 a	118.8 a
pendimethalin+imazapic	132+12	23.0 abc	57.9 ab	108.4 ab
hexazinone/diuron	240	24.6 ab	55.5 ab	117.4 a
tebuthiuron+pendimethalin	150+132	24.3 ab	55.4 ab	105.3 abc
tebuthiuron+oxyfluorfen	150+35.3	24.1 ab	61.2 a	113.3 ab
isoxaflutole	20	19.8 bc	54.0 ab	112.8 ab
metribuzin	140	22.4 abc	57.3 ab	101.7 abc
hand weeding	-	24.0 ab	44.3 bc	92.5 bc
UTC	-	20.1 bc	43.4 bc	83.5 cd
ค่าเฉลี่ย		22.78	54.20	103.63
CV (%)		12.34	15.13	14.66

^{1/} ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังงอก
(post-emergence) ในอ้อยปลูกใหม่และอ้อยต่อ

Efficiency of Post-emergence Herbicides for Weed Control in Sugarcane and Ratoon

สิริชัย สาธุวิจารณ์^{1/} ทักษิณา ศันสยะวิชัย^{2/} จรรยา มณีโชติ^{1/} ตรีนัย ตุงคะสน^{3/}

^{1/} กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/} ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่3

^{3/} กลุ่มบริหารโครงการวิจัย สถาบันวิจัยพืชไร่

รายงานความก้าวหน้า

การทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังงอกในอ้อย เพื่อให้ได้วิธีการจัดการวัชพืชประเภทหลังงอกที่มีประสิทธิภาพ ประหยัด ปลอดภัย ลดต้นทุน และลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในการผลิตอ้อย ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนพฤษภาคม-กันยายน 2555 ณ ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น และแปลงเกษตรกรผู้ปลูกอ้อย ตำบลท่าพระ อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น ทำการทดลอง 2 แปลงทดลอง คือ แปลงอ้อยปลูกใหม่ และแปลงอ้อยต่อ วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 3 ซ้ำ มี 10 กรรมวิธี ได้แก่ การพ่นสารกำจัดวัชพืช ametryn, 2,4-D, hexazinone/diuron, paraquat, trifloxysulfuron-sodium/ ametryn, trifloxysulfuron /ametryn+paraquat, ametryn+2,4-D และ paraquat+diuron อัตรา 480, 200, 200, 200, 300, 240+55.2, 400+200 และ 180+320 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ ตามลำดับ กรรมวิธีกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานและกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช ปฏิบัติและดูแลรักษาอ้อยที่ปลูกตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร ผลการทดลอง พบว่า การพ่นสารกำจัดวัชพืช paraquat+diuron สามารถควบคุมวัชพืชในแปลงอ้อยปลูกใหม่ได้ดี ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช และไม่เป็นพิษต่ออ้อยเล็กน้อย วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium* L.) หญ้าตีนนก (*Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.) สาบม่วง (*Praxelis clematidea* R.M. King) และหญ้าตีนกา (*Eleusine indica* Gaertn.) การพ่นสารกำจัดวัชพืช ametryn, paraquat, trifloxysulfuron/ ametryn+paraquat และ paraquat+diuron สามารถควบคุมวัชพืชในแปลงอ้อยต่อได้ดี ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืชและไม่เป็นพิษต่ออ้อย วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้าตีนนก (*Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.) หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium* L.) สาบม่วง (*Praxelis clematidea* R.M. King) และ ผักยาง (*Euphorbia heterophylla* L.)

รหัสการทดลอง 01-05-54-02-01-00-02-54

คำนำ

จากการสำรวจและสอบถามปัญหาวัชพืชในพื้นที่ปลูกอ้อย พบว่า ในแต่ละพื้นที่มีชนิดของวัชพืชที่โดดเด่นและเป็นปัญหาในการจัดการแตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับพื้นที่ สภาพแวดล้อม และช่วงเวลา เช่น ช่วงแรกของการปลูกอ้อยใหม่วัชพืชส่วนใหญ่จะเป็นวัชพืชใบแคบ แต่หลังจากกำจัดวัชพืชครั้งแรกที่หนึ่งแล้ววัชพืชชนิดที่สองที่ขึ้นมาส่วนมากจะเป็นวัชพืชใบกว้างและพวกเถาเลื้อย ส่วนอ้อยต่อวัชพืชที่พบจะเป็นวัชพืชใบกว้างและประเภทเถาเลื้อย ซึ่งเกษตรกรยังคงใช้สารกำจัดวัชพืชชนิดเดิมอย่างต่อเนื่องเป็นเวลานานมากกว่า 20 ปี ในอดีตที่ผ่านมา สารเหล่านั้นมีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชได้เป็นอย่างดี แต่จากการสอบถามเกษตรกร พบว่า ปัจจุบันนี้บางแหล่งปลูก สารกำจัดวัชพืชประเภทหลังงอกที่เกษตรกรใช้ เช่น paraquat และ ametryn ไม่สามารถควบคุมวัชพืชเหล่านี้ได้ เนื่องจากชนิดของวัชพืชในแต่ละพื้นที่ได้เปลี่ยนไปจากเดิม ทำให้อัตราแนะนำของการใช้สารกำจัดวัชพืชที่มีอยู่ไม่ได้ผลเท่าที่ควร สาเหตุที่สารกำจัดวัชพืชไม่สามารถควบคุมได้นั้น อาจเกิดจากหลายสาเหตุ แต่ประเด็นที่กำลังเป็นปัญหาในปัจจุบัน คือ วัชพืชบางชนิดมีการต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืชที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน

วัชพืชเป็นศัตรูอ้อยชนิดหนึ่ง อันเป็นสาเหตุทำให้ผลผลิตต่ำแต่ต้นทุนสูง ประมาณการว่า ต้นทุนการจัดการวัชพืชถึงไร่ละ 500 บาท การกำจัดวัชพืชไม่ทันกับการแพร่ระบาดในช่วงวิกฤติ นำมาซึ่งความสูญเสียผลผลิตอ้อยประมาณ 25-80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งขึ้นอยู่กับความหนาแน่นและช่วงเวลาการเบียดเบียนของวัชพืชในไร่อ้อย วัชพืชในไร่อ้อย ขยายพันธุ์ และแพร่ระบาดได้รวดเร็ว การควบคุมและกำจัดยาก วัชพืชเหล่านั้นสามารถปรับตัวอยู่ได้เกือบทุกสภาพแวดล้อม ตัวอย่างเช่น เห็บหมู หญ้าตีนกา ผักยาง หญ้าปากควาย หญ้าดอกขาว หญ้าชันกาด ผักโขมหนาม ผักเบี้ยหิน และพวกวัชพืชเถาเลื้อย (เกลียวพันธ์, 2546)

การควบคุมวัชพืชในอ้อย แบ่งออกเป็น 2 วิธี คือ การควบคุมวัชพืชโดยไม่ใช้สารกำจัดวัชพืช และการควบคุมวัชพืชโดยใช้สารกำจัดวัชพืช สารกำจัดวัชพืชประเภทหลังงอกที่แนะนำให้ใช้ในการปลูกอ้อย อาทิเช่น อามีทริน 2,4-ดี พาราควอท และพาราควอท+ไดยู เป็นต้น (กลุ่มวิจัยวัชพืช, 2547) การเลือกใช้ชนิดสารอย่างถูกต้องและตรงตามชนิดของวัชพืชที่ขึ้นในแปลงนั้น จะทำให้การจัดการมีประสิทธิภาพ โดยเฉพาะสารกำจัดวัชพืชที่ใช้ทางดินนั้น จำเป็นต้องศึกษาชนิดของดินซึ่งมีผลต่อประสิทธิภาพและอัตราการใช้สารกำจัดวัชพืช ซึ่งการกำจัดวัชพืชในอ้อยอย่างมีประสิทธิภาพนั้น ต้องใช้หลายวิธีการร่วมกันตั้งแต่กระบวนการปลูก การเขตกรรม การเก็บเกี่ยว และการดูแลรักษาต่อ

อรรถสิทธิ์ และคณะ (2546) รายงานว่า ผลการเปรียบเทียบสารกำจัดวัชพืช ametryn glyphosate hexazinone/diuron และ paraquat ในการกำจัดวัชพืชหลังปลูกอ้อยแล้วมีวัชพืชและอ้อยงอกแล้ว พบว่าสารกำจัดวัชพืชทั้ง 4 ชนิด สามารถกำจัดวัชพืชใบแคบ ใบกว้าง และเห็บหมูได้ไม่แตกต่างกัน การใช้สารกำจัดวัชพืชในขณะที่วัชพืชยังอายุน้อยจะให้ผลดีกว่าวัชพืชอายุมาก แต่การ

กำจัดวัชพืชในขณะที่อ้อยมีอายุน้อยจะทำให้อ้อยได้รับพิษจากสารกำจัดวัชพืช โดยเฉพาะ glyphosate และ paraquat มีพิษต่ออ้อยมาก การใช้สารกำจัดวัชพืชหลังปลูกอ้อยน้อยกว่า 60 วัน จะมีผลทำให้ความสูงของอ้อยลดลง การใช้ glyphosate จะมีผลทำให้การแตกกอลดลง การใช้ ametryn และ paraquat ควรใช้กับอ้อยที่มีอายุมากกว่า 30 วัน และ glyphosate ควรใช้กับอ้อยที่มีอายุมากกว่า 120 วัน

ดังนั้น เพื่อให้ได้วิธีการจัดการวัชพืชประเภทหลังออกที่มีประสิทธิภาพ ประหยัด ปลอดภัย ลดต้นทุน และลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในการผลิตอ้อย จึงมีความจำเป็นต้องศึกษาวิจัยหาสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังออกที่มีกลไกการเข้าทำลายพืชต่างออกไปจากเดิม มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชที่เหมาะสมกับชนิดของวัชพืชและดินปลูกอ้อยในพื้นที่ต่าง ๆ สำหรับแก้ไขปัญหาให้เกษตรกรผู้ปลูกอ้อย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สารกำจัดวัชพืช ametryn 80% WG, 2,4-D 95% SP, hexazinone/diuron 60% WG, paraquat 27.6% SL, trifloxysulfuron-sodium/ametryn 75% WG และ diuron 80% WP
2. ท่อนพันธุ์อ้อย พันธุ์ขอนแก่น 3
3. เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง
4. ไม้ปักแปลง ทุกระดาก ทุกลำ

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 3 ซ้ำ มี 10 กรรมวิธี ได้แก่ การพ่นสารกำจัดวัชพืช ametryn, 2,4-D, hexazinone/diuron, paraquat, trifloxysulfuron-sodium/ametryn, trifloxysulfuron/ametryn+paraquat, ametryn+2,4-D และ paraquat+diuron อัตรา 480, 200, 200, 200, 300, 240+55.2, 400+200 และ 180+320 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ ตามลำดับ หลังจากปลูกอ้อย 30 วัน กรรมวิธีกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานและกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช (untreated control: UTC) ทดสอบในแปลงอ้อยปลูกใหม่และแปลงอ้อยต่อ ขนาดแปลงย่อย 7.5×8 เมตร ทำการทดลอง 2 แปลงทดลอง คือ แปลงอ้อยปลูกใหม่ และแปลงอ้อยต่อ

การทดลองแปลงอ้อยปลูกใหม่

การปลูกและดูแลรักษา ระยะปลูกอ้อยใช้ระยะระหว่างแถว 1.5 เมตร ให้น้ำตามร่องปลูก กำจัดโรคและแมลง และใส่ปุ๋ยตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร

พ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธี ที่ระยะ 30 วัน หลังปลูกอ้อย ใช้เครื่องพ่นสารแบบสูบโยก สะพายหลัง ประกอบด้วยพ่นแบบพัด ปริมาณน้ำ 60-80 ลิตร/ไร่

การทดลองแปลงอ้อยต่อ

การปลูกและดูแลรักษา เลือกลงแปลงอ้อยต่อที่มีการกระจายตัวของวัชพืชสม่ำเสมอ ระยะปลูกอ้อยใช้ระยะระหว่างแถว 1.5 เมตร ให้น้ำตามร่องปลูก กำจัดโรคและแมลง และใส่ปุ๋ยตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร

พ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธี ที่ระยะ 60 วัน หลังตัดอ้อยหรือเมื่อมีวัชพืชขึ้นสูงประมาณ 15 เซนติเมตร ใช้เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง ประกอบด้วยพ่นแบบพัด ปริมาณน้ำ 60-80 ลิตร/ไร่

การบันทึกข้อมูล

1. ประสิทธิภาพการควบคุม: ให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0-10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ โดย 0 = ควบคุมไม่ได้ 1-3 = ควบคุมได้เล็กน้อย 4-6 = ควบคุมได้ปานกลาง 7-9 = ควบคุมได้ดี และ 10 = ควบคุมได้สมบูรณ์ บันทึกข้อมูล 2 ครั้ง ที่ระยะ 30 และ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช แยกวัชพืชเป็นชนิด ประเภทวัชพืชใบแคบวงศ์หญ้า ประเภทใบกว้าง และประเภทกก

2. ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อพืชปลูก: ให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตา ตามระบบ 0-10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ โดย 0 = ไม่เป็นพิษ 1-3 = เป็นพิษเล็กน้อย 4-6 = เป็นพิษปานกลาง 7-9 = เป็นพิษรุนแรง และ 10 = พืชปลูกตาย บันทึกข้อมูล 2 ครั้ง ที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช

3. จำนวนชนิดและน้ำหนักรวมของวัชพืช: สุ่มเก็บตัวอย่าง จำแนกชนิดและประเภทวัชพืช บันทึก จำนวนและน้ำหนักรวมของวัชพืชจากทุกกรรมวิธี ๆ ละ 4 จุด แต่ละจุดมีขนาด 0.5×0.5 เมตร ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช โดยแยกเป็นชนิด ประเภทวัชพืชใบแคบวงศ์หญ้า ประเภทใบกว้าง และประเภทกก

4. การเจริญเติบโตของพืชปลูก: วัดความสูง โดยสุ่มจากจำนวน 10 ต้น ที่เป็นตัวแทนของอ้อยในแต่ละกรรมวิธี บันทึกข้อมูล 3 ครั้ง ที่ระยะ 60, 90 และ 120 วัน หลังปลูก

5. ผลผลิตพืชปลูก: ผลผลิตอ้อยเป็นกิโลกรัมต่อไร่ โดยมีพื้นที่เก็บเกี่ยวไม่น้อยกว่า 4×4 เมตร ที่ระยะ 8 เดือนหลังปลูก

เวลาสถานที่

ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนพฤษภาคม-กันยายน 2555 ณ ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น กรมวิชาการเกษตร จังหวัดขอนแก่น และแปลงเกษตรกรผู้ปลูกอ้อย ตำบลท่าพระ อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองแปลงอ้อยปลูกใหม่

จากการสุ่มตัวอย่างวัชพืช ที่ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช กรรมวิธีที่ไม่กำจัดวัชพืช พบวัชพืชจำนวน 76 ต้น/ตารางเมตร ประกอบด้วยวัชพืชประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้าตีนนก หญ้าตีนกา และหญ้าปากควาย จำนวน 16, 3 และ 45 ต้น คิดเป็น 21.05, 3.95 และ 59.21 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ วัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ สาบม่วง ผักเบี้ยหิน และผักโขม จำนวน 8, 2 และ 1 ต้น คิดเป็น 10.53, 2.63 และ 1.32 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และวัชพืชประเภทกก ได้แก่ กกทราย จำนวน 1 ต้น คิดเป็น 1.32 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1)

จากการประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่ออ้อย ที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า ที่ระยะ 15 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช การพ่นสารกำจัดวัชพืช paraquat, trifloxysulfuron/ametryn+paraquat, และ paraquat+diuron เป็นพิษต่ออ้อยปานกลาง และที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชดังกล่าวลดลงอยู่ในระดับเล็กน้อย (ตารางที่ 2)

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า การพ่นสารกำจัดวัชพืช ametryn, hexazineone/diuron, paraquat, trifloxysulfuron/ametryn+paraquat, ametryn+2,4-D และ paraquat+diuron สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี แต่ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชเริ่มลดลง การพ่นสารกำจัดวัชพืช paraquat+diuron สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี การพ่นสารกำจัดวัชพืช ametryn, hexazinone/diuron, paraquat, trifloxysulfuron/ametryn+ paraquat และ ametryn+2,4-D สามารถควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง (ตารางที่ 3) วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้คือ หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium* L.) หญ้าตีนนก (*Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.) สาบม่วง (*Praxelis clematidea* R.M. King) และหญ้าตีนกา (*Eleusine indica* Gaertn.)

การเจริญเติบโตของอ้อย ที่ระยะ 60 วัน หลังปลูก พบว่า ความสูงของอ้อยในทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 51.43 เซนติเมตร ที่ระยะ 90 วัน หลังปลูก พบว่า การพ่นสารกำจัดวัชพืช hexazinone/diuron และ paraquat อ้อยมีความสูงมากที่สุด เท่ากับ 116.4 และ 115.2 เซนติเมตร ตามลำดับ แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการพ่นสารกำจัดวัชพืช ametryn, 2,4-D, trifloxysulfuron-sodium/ametryn, trifloxysulfuron-sodium /ametryn+paraquat, ametryn+2,4-D, paraquat+diuron และกรรมวิธีกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน อ้อยมีความสูง เท่ากับ 107.5, 100.3, 107.2, 111.3, 108.3, 104.0 และ 100.7 เซนติเมตร ตามลำดับ และที่ระยะ 120 วัน หลังปลูก การพ่นสารกำจัดวัชพืช paraquat อ้อยมีความสูงมากที่สุด เท่ากับ 135.1 เซนติเมตร แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการพ่นสารกำจัดวัชพืช ametryn, hexazinone/diuron, trifloxysulfuron-

sodium/amestry, trifloxysulfuron-sodium/amestry+paraquat, ametryn+2,4-D และ paraquat+diuron อ้อยมีความสูง เท่ากับ 128.0, 126.2, 126.5, 125.2, 124.7 และ 124.5 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

การทดลองแปลงอ้อยต่อ

จากการสุ่มตัวอย่างวัชพืช ที่ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช กรรมวิธีที่ไม่กำจัดวัชพืช พบวัชพืชจำนวน 60 ต้น/ตารางเมตร ประกอบด้วยวัชพืชประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้าตีนนก และหญ้าปากควาย จำนวน 24 และ / ต้น คิดเป็น 40.00 และ 20.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ วัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ สาบม่วง ผักยาง และสาบเสือ จำนวน 16, 7 และ 1 ต้น คิดเป็น 26.67, 11.67 และ 1.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 5)

จากการประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่ออ้อย ที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า ที่ระยะ 15 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช การพ่นสารกำจัดวัชพืช paraquat, trifloxysulfuron/amestry+paraquat และ paraquat+diuron เป็นพิษต่ออ้อยเล็กน้อย และที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช อ้อยไม่แสดงอาการเป็นพิษ (ตารางที่ 6)

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า การพ่นสารกำจัดวัชพืช ametryn, hexazinone/diuron, paraquat, trifloxysulfuron/amestry+paraquat, ametryn+2,4-D และ paraquat+diuron สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี แต่ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชลดลง การพ่นสารกำจัดวัชพืช ametryn, paraquat, trifloxysulfuron/amestry+ paraquat และ paraquat+diuron สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี (ตารางที่ 7) วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้าตีนนก (*Digitaria sanguinalis* (L.). Scop.) หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium* L.) สาบม่วง (*Praxelis clematidea* R.M. King) และ ผักยาง (*Euphorbia heterophylla* L.)

การเจริญเติบโตของอ้อย ที่ระยะ 60, 90 และ 120 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า ความสูงของอ้อยในทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 117.41, 131.81 และ 143.02 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 8)

สรุปผลการทดลอง

1. การพ่นสารกำจัดวัชพืช paraquat+diuron สามารถควบคุมวัชพืชในแปลงอ้อยปลูกใหม่ได้ดี ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium* L.) หญ้าตีนนก (*Digitaria sanguinalis* (L.). Scop.) สาบม่วง (*Praxelis clematidea* R.M. King) และหญ้าตีนกา (*Eleusine indica* Gaertn.)

2. การพ่นสารกำจัดวัชพืช ametryn, paraquat, trifloxysulfuron/ametryn+paraquat และ paraquat+diuron สามารถควบคุมวัชพืชในแปลงอ้อยได้ดี ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้าตีนนก (*Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.) หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium* L.) สาบม่วง (*Praxelis clematidea* R.M. King) และ ผักยาง (*Euphorbia heterophylla* L.)

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น และเกษตรกรผู้ปลูกอ้อย ตำบลท่าพระ อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น ที่ให้ความอนุเคราะห์พื้นที่ทดลอง ตลอดจนอำนวยความสะดวกด้านต่าง ๆ ทำให้การทดลองเสร็จสิ้นด้วยความเรียบร้อย

เอกสารอ้างอิง

- เกลียวพันธ์ สุวรรณรักษ์. 2546. วัชพืชในไร่อ้อยและการป้องกันกำจัด. กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 33 หน้า.
- กลุ่มวิจัยวัชพืช. 2547. คำแนะนำการป้องกันกำจัดวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืช ปี 2547. กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ. 133 หน้า.
- อรรถสิทธิ์ บุญธรรม ธงชัย ตั้งเปรมศรี และเฉลิมพล ไหลรุ่งเรือง. 2546. ผลของการใช้สารกำจัดวัชพืชหลังอ้อยออกชนิดต่าง ๆ ในอ้อยพันธุ์ Phil 66-07. หน้า 301-315. ใน: รายงานผลงานวิจัยปี 2543 อ้อย. ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี สถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 ชนิดและปริมาณของวัชพืชที่พบในกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช (แปลงอ้อยปลูกใหม่)

ชนิดวัชพืช	จำนวนวัชพืช (ต้น/ตารางเมตร)	เปอร์เซ็นต์
หญ้าตีนนก (<i>Digitaria sanguinalis</i> (L.). Scop.)	16	21.05
หญ้าตีนกา (<i>Eleusine indica</i> Gaertn.)	3	3.95
หญ้าปากควาย (<i>Dactyloctenium aegyptium</i> L.)	45	59.21
สาบม่วง (<i>Praxelis clematidea</i> R.M. King)	8	10.53
ผักเบี้ยหิน (<i>Trianthema portulacastrum</i> L.)	2	2.63
ผักโขม (<i>Amaranthus viridis</i> L.)	1	1.32
กกทราย (<i>Cyperus iria</i> L.)	1	1.32
รวม	76	100.00

ตารางที่ 2 ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่ออ้อย จากการประเมินด้วยสายตาที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช (แปลงอ้อยปลูกใหม่)

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่)	จำนวนวันหลังพ่นสาร (วัน)	
		15	30
ametryn	480	0	0
2,4-D	200	0	0
hexazinone/diuron	200	0	0
paraquat	200	5	3
trifloxysulfuron-sodium/ametrine	300	0	0
trifloxysulfuron-sodium/ ametrine+paraquat	240+55.2	4	3
ametryn+2,4-D	400+200	0	0
paraquat+diuron	180+320	4	3
hand weeding	-	0	0
UTC	-	0	0

หมายเหตุ: 0 = ไม่เป็นพิษ 1-3 = เป็นพิษเล็กน้อย 4-6 = เป็นพิษปานกลาง 7-9 = เป็นพิษรุนแรง
และ 10 = พืชปลูกตาย

ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช โดยรวมจากการประเมินด้วยสายตา
ที่ระยะ 30 และ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช (แปลงอ้อยปลูกใหม่)

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่)	จำนวนวันหลังพ่นสาร (วัน)	
		30	60
ametryn	480	8.2	5.1
2,4-D	200	1.5	0.5
hexazinone/diuron	200	8.3	4.2
paraquat	200	9.5	6.5
trifloxysulfuron-sodium/ame-trine	300	5.5	2.0
trifloxysulfuron-sodium/ ame-trine+paraquat	240+55.2	7.6	6.2
ametryn+2,4-D	400+200	8.5	6.3
paraquat+diuron	180+320	9.3	8.2
hand weeding	-	8.2	4.5
UTC	-	0.0	0.0

หมายเหตุ: 0 = ควบคุมไม่ได้ 1-3 = ควบคุมได้เล็กน้อย 4-6 = ควบคุมได้ปานกลาง 7-9 = ควบคุมได้ดี และ 10 = ควบคุมได้สมบูรณ์

ตารางที่ 4 ความสูงอ้อย ที่ระยะ 60, 90 และ 120 วัน หลังปลูก (แปลงอ้อยปลูกใหม่)

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่)	จำนวนวันหลังปลูก (วัน) ^{1/}		
		60	90	120
ametryn	480	49.7	107.5 ab	128.0 ab
2,4-D	200	49.7	100.3 ab	123.4 bc
hexazinone/diuron	200	54.8	115.2 a	126.2 ab
paraquat	200	53.8	116.4 a	135.1 a
trifloxysulfuron- sodium/ame-trine	300	48.8	107.2 ab	126.5 ab
trifloxysulfuron-sodium/ ame-trine+paraquat	240+55.2	51.3	111.3 ab	125.2 abc
ametryn+2,4-D	400+200	50.9	108.3 ab	124.7 abc
paraquat+diuron	180+320	53.6	104.0 ab	124.5 abc
hand weeding	-	49.3	100.7 ab	121.8 bc
UTC	-	52.4	90.5 b	113.5 c
ค่าเฉลี่ย		51.43	106.14	124.89
CV (%)		11.15	8.76	4.52

^{1/} ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 5 ชนิดและปริมาณของวัชพืชที่พบในกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช (แปลงอ้อยต่อ)

ชนิดวัชพืช	จำนวนวัชพืช (ต้น/ตารางเมตร)	เปอร์เซ็นต์
หญ้าตีนนก (<i>Digitaria sanguinalis</i> (L.). Scop.)	24	40.00
หญ้าปากควาย (<i>Dactyloctenium aegyptium</i> L.)	12	20.00
สาบม่วง (<i>Praxelis clematidea</i> R.M. King)	16	26.67
ผักยาง (<i>Euphorbia heterophylla</i> L.)	7	11.67
สาบเสือ (<i>Chromolaena odorata</i> L.)	1	1.67
รวม	60	100.00

ตารางที่ 6 ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่ออ้อย จากการประเมินด้วยสายตาที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช (แปลงอ้อยต่อ)

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่)	จำนวนวันหลังพ่นสาร (วัน)	
		15	30
ametryn	480	0	0
2,4-D	200	0	0
hexazinone/diuron	200	0	0
paraquat	200	2	0
trifloxysulfuron-sodium/ame-trine	300	0	0
trifloxysulfuron-sodium/ ame-trine+paraquat	240+55.2	1	0
ametryn+2,4-D	400+200	0	0
paraquat+diuron	180+320	1	0
hand weeding	-	0	0
UTC	-	0	0

หมายเหตุ: 0 = ไม่เป็นพิษ 1-3 = เป็นพิษเล็กน้อย 4-6 = เป็นพิษปานกลาง 7-9 = เป็นพิษรุนแรง
และ 10 = พืชปลูกตาย

ตารางที่ 7 ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช โดยรวมจากการประเมินด้วยสายตา
ที่ระยะ 30 และ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช (แปลงอ้อยตอ)

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่)	จำนวนวันหลังพ่นสาร (วัน)	
		30	60
ametryn	480	9.2	8.2
2,4-D	200	3.0	1.8
hexazinone/diuron	200	8.5	4.2
paraquat	200	9.8	8.4
trifloxysulfuron-sodium/ame-trine	300	6.5	3.7
trifloxysulfuron-sodium/ ame-trine+paraquat	240+55.2	9.0	8.6
ametryn+2,4-D	400+200	8.5	6.5
paraquat+diuron	180+320	9.8	9.1
hand weeding	-	8.5	5.5
UTC	-	0.0	0.0

หมายเหตุ: 0 = ควบคุมไม่ได้ 1-3 = ควบคุมได้เล็กน้อย 4-6 = ควบคุมได้ปานกลาง 7-9 = ควบคุมได้
ดี และ 10 = ควบคุมได้สมบูรณ์

ตารางที่ 8 ความสูงอ้อย ที่ระยะ 60, 90 และ 120 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช (แปลงอ้อยต่อ)

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่)	จำนวนวันหลังพ่นสาร (วัน) ^{1/}		
		60	90	120
ametryn	480	114.0	128.2	139.6
2,4-D	200	113.7	128.3	141.1
hexazinone/diuron	200	121.4	131.5	143.6
paraquat	200	121.2	132.9	145.2
trifloxysulfuron- sodium/ametrine	300	119.1	131.4	142.6
trifloxysulfuron-sodium/ ametrine+paraquat	240+55.2	119.9	133.5	146.8
ametryn+2,4-D	400+200	117.0	128.5	141.5
paraquat+diuron	180+320	117.9	130.1	142.5
hand weeding	-	116.5	137.0	149.0
UTC	-	113.4	126.7	138.3
ค่าเฉลี่ย		117.41	130.81	143.02
CV (%)		6.8	7.1	6.7

^{1/} ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ศึกษาการจัดการวัชพืชประเภทเถาเลื้อยในอ้อย

Study on Clamber Weed Management in Sugarcane

สิริชัย สาธุวิจารณ์^{1/} ทักษิณา ศันสยะวิชัย^{2/} จรรยาภณีโชติ^{1/} และ ตริยชัย ตุงคะเสน^{3/}

^{1/} กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/} ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่3

^{3/} กลุ่มบริหารโครงการวิจัย สถาบันวิจัยพืชไร่

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาการจัดการวัชพืชประเภทเถาเลื้อยในอ้อย เพื่อให้ได้วิธีการจัดการวัชพืชประเภทเถาเลื้อยที่มีประสิทธิภาพ ประหยัด ปลอดภัย ลดต้นทุน และลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในการผลิตอ้อย ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนพฤษภาคม-กันยายน 2555 ณ แปลงเกษตรกรผู้ปลูกอ้อย อำเภอยางตลาด จังหวัดกาฬสินธุ์ วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ มี 10 กรรมวิธี ได้แก่ การพ่นสารกำจัดวัชพืช 2,4-D, hexazinone, paraquat, triclopyr, glyphosate, fluroxypyr, glyphosate+2,4-D และ glufosinate ammonium อัตรา 200, 200, 200, 150, 220, 32, 220+240 และ 150 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ ตามลำดับ กรรมวิธีกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานและกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช ปฏิบัติและดูแลรักษาอ้อยที่ปลูกตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร ผลการทดลองพบว่า ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืชพบว่า สารกำจัดวัชพืช glyphosate+2,4-D สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี วัชพืชเถาเลื้อยที่สามารถควบคุมได้ คือ สะอึก (*Ipomoea gracillis* R. Br.) กระจุกกรก (*Passiflora foetida* L.) และ ตดหมุดตดหมา (*Paedaria foetida* L.)

รหัสการทดลอง 01-05-54-02-01-00-03-54

คำนำ

จากการสำรวจและสอบถามปัญหาวัชพืชในพื้นที่ปลูกอ้อย พบว่า ในแต่ละพื้นที่มีชนิดของวัชพืชที่โดดเด่นและเป็นปัญหาในการจัดการแตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับพื้นที่ สภาพแวดล้อม และช่วงเวลา เช่น ช่วงแรกของการปลูกอ้อยใหม่วัชพืชส่วนใหญ่จะเป็นวัชพืชใบแคบ แต่หลังจากกำจัดวัชพืชครั้งหนึ่งแล้ววัชพืชชุดที่สองที่ขึ้นมาส่วนมากจะเป็นวัชพืชใบกว้างและพวกเถาเลื้อย ส่วนอ้อยต่อวัชพืชที่พบจะเป็นวัชพืชใบกว้างและประเภทเถาเลื้อย ซึ่งเกษตรกรยังคงใช้สารกำจัดวัชพืชชนิดเดิมอย่างต่อเนื่องเป็นเวลานานมากกว่า 20 ปี ในอดีตที่ผ่านมา สารเหล่านั้นมีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชได้เป็นอย่างดี แต่จากการสอบถามเกษตรกร พบว่า ปัจจุบันนี้บางแหล่งปลูก สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอกที่เกษตรกรใช้ เช่น atrazine, diuron และ alachlor ไม่สามารถควบคุมวัชพืชเหล่านั้นได้ เนื่องจากชนิดของวัชพืชในแต่ละพื้นที่ได้เปลี่ยนไปจากเดิม ทำให้อัตราแนะนำของการใช้สารกำจัดวัชพืชที่มีอยู่ไม่ได้ผลเท่าที่ควร สาเหตุที่สารกำจัดวัชพืชไม่สามารถควบคุมได้นั้น อาจเกิดจากหลายสาเหตุ แต่ประเด็นที่กำลังเป็นปัญหาในปัจจุบัน คือ วัชพืชบางชนิดมีการต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืชที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน

วัชพืชในไร่อ้อย ขยายพันธุ์ และแพร่ระบาดได้รวดเร็ว การควบคุมและกำจัดยาก วัชพืชเหล่านั้นสามารถปรับตัวอยู่ได้เกือบทุกสภาพแวดล้อม ตัวอย่างเช่น แห้วหมู หญ้าตีนกา ผักยาง หญ้าปากควาย หญ้าดอกขาว หญ้าชันกาด ผักโขมหนาม ผักเบี้ยหิน และพวกวัชพืชเถาเลื้อย (เกลียวพันธ์, 2546)

วัชพืชเถาเลื้อยที่พบในแหล่งปลูกอ้อย อาทิเช่น มันเสา (*Dioscorea alata* L.) ตดหมูตดหมา (*Paedaria foetida* L.) และ จิงจ้อดอกขาวจิงจ้อดอกขาว (*Operculina turpethum* (L.) Sativa Manso.) สะอึก (*Ipomoea gracilllis* R. Br.) และ กระทกรก (*Passiflora foetida* L.) เป็นต้น

การควบคุมวัชพืชในอ้อย แบ่งออกเป็น 2 วิธี คือ การควบคุมวัชพืชโดยไม่ใช้สารกำจัดวัชพืช และการควบคุมวัชพืชโดยใช้สารกำจัดวัชพืช สารกำจัดวัชพืชที่แนะนำให้ใช้ในการปลูกอ้อย อาจเลือกใช้ได้ตามสภาพการปลูก และปัญหาวัชพืช อาทิเช่น อะลาคลอร์ อาหาราซิน เพนดิเมทาลิน อามีทริน 2,4-ดี พาราควอท และพาราควอท+ไดยู เป็นต้น (กลุ่มวิจัยวัชพืช, 2547)

ดังนั้น มีความจำเป็นต้องศึกษาการจัดการวัชพืชประเภทเถาเลื้อยในแหล่งปลูกอ้อย เพื่อเป็นคำแนะนำให้กับเกษตรกรผู้ปลูกอ้อยที่ประสบปัญหาการระบาดของวัชพืชเถาเลื้อยในแปลงปลูกอ้อย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สารกำจัดวัชพืช 2,4-D 95% SP , hexazinone 90% SP, paraquat 27.6% SL, triclopyr 66.8% EC, glyphosate 48% EC, fluroxypyr 28.8% EC และ glufosinate ammonium 15% SL
2. แปลงอ้อยปลูกใหม่
3. เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง
4. ไม้ปักแปลง ถุงกระดาษ ถุงตาข่าย

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ มี 10 กรรมวิธี ได้แก่ การพ่นสารกำจัดวัชพืช 2,4-D, hexazinone, paraquat, triclopyr, glyphosate, fluroxypyr, glyphosate+2,4-D และ glufosinate ammonium อัตรา 200, 200, 200, 150, 220, 32, 220+240 และ 150 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ ตามลำดับ กรรมวิธีกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานและกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช (untreated control: UTC) ขนาดแปลงย่อย 7.5×8 เมตร

การปลูกและดูแลรักษา เลือกแปลงอ้อยปลูกใหม่ที่มีการกระจายตัวของวัชพืชเบาเลื้อยสม่ำเสมอ ระยะปลูกอ้อยใช้ระยะระหว่างแถว 1.5 เมตร ให้น้ำตามร่องปลูก กำจัดโรคและแมลง และใส่ปุ๋ยตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร

พ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธี เมื่อวัชพืชเบาเลื้อยเริ่มเลื้อยขึ้นต้นอ้อย ขณะพ่นพยายามหลีกเลี่ยงไม่ให้สารกำจัดวัชพืชพ่นถูกยอดอ้อย ใช้เครื่องพ่นสารแบบสับโยกสะพายหลัง ประกอบหัวพ่นแบบพัด ปริมาณน้ำ 60-80 ลิตร/ไร่

การบันทึกข้อมูล

1. ประสิทธิภาพการควบคุม: ให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0-10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ โดย 0 = ควบคุมไม่ได้ 1-3 = ควบคุมได้เล็กน้อย 4-6 = ควบคุมได้ปานกลาง 7-9 = ควบคุมได้ดี และ 10 = ควบคุมได้สมบูรณ์ บันทึกข้อมูล 2 ครั้ง ที่ระยะ 30 และ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช แยกวัชพืชเป็นชนิด ประเภทวัชพืชใบแคบวงศ์หญ้า ประเภทใบกว้าง และประเภทกก

2. ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อพืชปลูก: ให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตา ตามระบบ 0-10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ โดย 0 = ไม่เป็นพิษ 1-3 = เป็นพิษเล็กน้อย 4-6 = เป็นพิษปานกลาง 7-9 = เป็นพิษรุนแรง และ 10 = พืชปลูกตาย บันทึกข้อมูล 2 ครั้ง ที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช

3. จำนวนชนิดและน้ำหนักรวมของวัชพืช: สุ่มเก็บตัวอย่าง จำแนกชนิดและประเภทวัชพืช บันทึก จำนวนและน้ำหนักรวมของวัชพืชจากทุกกรรมวิธี ๆ ละ 4 จุด แต่ละจุดมีขนาด 0.5×0.5 เมตร ที่

ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช โดยแยกเป็นชนิด ประเภทวัชพืชใบแคบวงศ์หญ้า ประเภทใบกว้าง และประเภทกก

4. การเจริญเติบโตของพืชปลูก: วัดความสูง โดยสุ่มจากจำนวน 10 ต้น ที่เป็นตัวแทนของอ้อยในแต่ละกรรมวิธี บันทึกข้อมูล 3 ครั้ง ที่ระยะ 60, 90 และ 120 วัน หลังปลูก

5. ผลผลิตพืชปลูก: ผลผลิตอ้อยเป็นกิโลกรัมต่อไร่ โดยมีพื้นที่เก็บเกี่ยวไม่น้อยกว่า 4×4 เมตร ที่ระยะ 8 เดือนหลังปลูก

เวลาสถานที่

ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนพฤษภาคม-กันยายน 2555 ณ แปลงเกษตรกรผู้ปลูกอ้อยอำเภอยางตลาด จังหวัดกาฬสินธุ์

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสุ่มตัวอย่างวัชพืช ที่ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช กรรมวิธีที่ไม่กำจัดวัชพืช พบวัชพืชจำนวน 34 ต้น/ตารางเมตร ประกอบด้วยวัชพืชประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้าปากควาย และหญ้าตีนกา จำนวน 3 และ 6 ต้น คิดเป็น 8.82 และ 17.65 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ วัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ สาบม่วง สะอึก กระทกรก และตดหมูตดหมา จำนวน 14, 2, 1 และ 3 ต้น คิดเป็น 41.18, 5.88, 2.94 และ 8.82 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และวัชพืชประเภทกก ได้แก่ แห้วหมู จำนวน 5 ต้น คิดเป็น 14.71 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1)

จากการประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่ออ้อย ที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า ที่ระยะ 15 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช การพ่นสารกำจัดวัชพืช paraquat, triclopyr, glyphosate, glyphosate+2,4-D และ glufosinate ammonium อ้อยแสดงอาการเป็นพิษเล็กน้อย และที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่ออ้อยลดลง (ตารางที่ 2)

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า การพ่นสารกำจัดวัชพืช paraquat, triclopyr, glyphosate, fluroxypyr, glyphosate+2,4-D และ glufosinate ammonium สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี แต่ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชลดลง โดยสารกำจัดวัชพืช glyphosate+2,4-D สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี (ตารางที่ 3) วัชพืชเถาเลื้อยที่สามารถควบคุมได้ คือ สะอึก (*Ipomoea gracillis* R. Br.) กระทกรก (*Passiflora foetida* L.) และตดหมูตดหมา (*Paedaria foetida* L.)

การเจริญเติบโตของอ้อยต่อหนึ่ง ที่ระยะ 60, 90 และ 120 วัน หลังตัดอ้อย พบว่า กรรมวิธีการทดลองทุกกรรมวิธีอ้อยมีความสูงไม่แตกต่างกันทางสถิติ ความสูงเฉลี่ยของอ้อย เท่ากับ 47.75, 115.42 และ 133.05 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

สรุปผลการทดลอง

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า สารกำจัดวัชพืช glyphosate+2,4-D สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี วัชพืชเถาเลื้อยที่สามารถควบคุมได้ คือ สะอึก (*Ipomoea gracillis* R. Br.) กระทกรก (*Passiflora foetida* L.) และ ตดหมูตดหมา (*Paedaria foetida* L.)

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ เกษตรกรผู้ปลูกอ้อย อำเภอปางศิลาทอง จังหวัดกำแพงเพชร ที่ให้ความอนุเคราะห์พื้นที่ทดลอง ตลอดจนอำนวยความสะดวกด้านต่าง ๆ ทำให้การทดลองเสร็จสิ้นด้วยความเรียบร้อย

เอกสารอ้างอิง

เกลียวพันธ์ สุวรรณรักษ์. 2546. วัชพืชในไร่อ้อยและการป้องกันกำจัด. กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 33 หน้า.

กลุ่มวิจัยวัชพืช. 2547. คำแนะนำการป้องกันกำจัดวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืช ปี 2547. กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ. 133 หน้า.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 ชนิดและปริมาณของวัชพืชที่พบในกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช

ชนิดวัชพืช	จำนวนวัชพืช (ต้น/ตารางเมตร)	เปอร์เซ็นต์
หญ้าปากควาย (<i>Dactyloctenium aegyptium</i> L.)	3	8.82
หญ้าตีนนก (<i>Digitaria sanguinalis</i> (L.). Scop.)	6	17.65
สาบม่วง (<i>Praxelis clematidea</i> R.M. King)	14	41.18
สะอึก (<i>Ipomoea gracillis</i> R. Br.)	2	5.88
กระทกรก (<i>Passiflora foetida</i> L.)	1	2.94
ตดหมูตดหมา (<i>Paedaria foetida</i> L.)	3	8.82
แห้วหมู (<i>Cyperus rotundus</i> L.)	5	14.71
รวม	34	100.00

ตารางที่ 2 ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่ออ้อย จากการประเมินด้วยสายตาที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่)	จำนวนวันหลังพ่นสาร (วัน)	
		15	30
2,4-D	200	0.0	0.0
hexazinone	200	0.0	0.0
paraquat	200	3.0	1.5
triclopyr	150	1.0	0.0
glyphosate	220	2.0	1.0
fluroxypyr	32	0.0	0.0
glyphosate+2,4-D	220+240	2.0	1.0
glufosinate ammonium	150	2.0	1.0
hand weeding	-	0.0	0.0
UTC	-	0.0	0.0

หมายเหตุ: 0 = ไม่เป็นพิษ 1-3 = เป็นพิษเล็กน้อย 4-6 = เป็นพิษปานกลาง 7-9 = เป็นพิษรุนแรง
และ 10 = พืชปลุกตาย

ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช โดยรวมจากการประเมินด้วยสายตา
ที่ระยะ 30 และ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่)	จำนวนวันหลังพ่นสาร (วัน)	
		30	60
2,4-D	200	5.5	3.0
hexazinone	200	4.5	2.0
paraquat	200	9.0	6.0
triclopyr	150	8.0	7.6
glyphosate	220	8.5	7.8
fluroxypyr	32	7.5	6.0
glyphosate+2,4-D	220+240	8.5	7.9
glufosinate ammonium	150	8.9	7.5
hand weeding	-	8.0	6.0
UTC	-	0.0	0.0

หมายเหตุ: 0 = ควบคุมไม่ได้ 1-3 = ควบคุมได้เล็กน้อย 4-6 = ควบคุมได้ปานกลาง 7-9 = ควบคุมได้ดี และ 10 = ควบคุมได้สมบูรณ์

ตารางที่ 4 ความสูงอ้อยตอหนึ่ง ที่ระยะ 60, 90 และ 120 วัน หลังตัดอ้อย

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่)	จำนวนวันหลังตัดอ้อย (วัน) ^{1/}		
		60	90	120
2,4-D	200	48.5	116.8	132.8
hexazinone	200	48.0	114.0	133.6
paraquat	200	47.5	112.3	132.5
triclopyr	150	46.5	118.0	132.9
glyphosate	220	47.5	116.0	131.5
fluroxypyr	32	49.5	117.0	135.5
glyphosate+2,4-D	220+240	48.5	114.3	134.5
glufosinate ammonium	150	47.5	115.0	133.5
hand weeding	-	47.5	117.3	135.0
UTC	-	46.5	113.5	128.7
	ค่าเฉลี่ย	47.75	115.42	133.05
	CV (%)	6.7	5.9	4.4

^{1/} ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอก
(pre-emergence) ในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

Efficiency of Pre-emergence Herbicides for Weed Control in Maize

สิริชัย สารุจิการณ^{1/} สุพัตรา ชาววงจักร^{2/} จรรยา มณีโชติ^{1/}

^{1/} กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/} ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกาฬสินธุ์ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่3

รายงานความก้าวหน้า

การทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอกในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ เพื่อให้ได้วิธีการจัดการวัชพืชประเภทก่อนงอกที่มีประสิทธิภาพ ประหยัด ปลอดภัย ลดต้นทุน และลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในการผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนพฤษภาคม-กันยายน 2555 ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกาฬสินธุ์ จังหวัดกาฬสินธุ์ วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ มี 13 กรรมวิธี ได้แก่ การพ่นสารกำจัดวัชพืช pyroxasulfone, flumioxazin, atrazine, s-metolachlor, pendimethalin, alachlor, acetochlor, nicosulfuron, isoxaflutole, dimethenamid และ mesotrione/atrazine อัตรา 20, 10, 300, 180, 165, 320, 32, 20, 20, 270 และ 150 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ ตามลำดับ กรรมวิธีกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานและกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช โดยปฏิบัติและดูแลรักษาข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ปลูกตามคำแนะนำของ กรมวิชาการเกษตร ผลการทดลอง พบว่า สารกำจัดวัชพืช pyroxasulfone, flumioxazin, atrazine, s-metolachlor, pendimethalin, alachlor, acetochlor, nicosulfuron, isoxaflutole, dimethenamid และ mesotrione/atrazine มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชได้ดี ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช และข้าวโพดไม่แสดงอาการเป็นพิษ วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้าตีนนก (*Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.) หญ้าตีนกา (*Eleusine indica* Gaertn.) สาบม่วง (*Praxelis clematidea* R.M. King) กะเพราผี (*Hyptis suaveolens* L.) ผักเสี้ยนดอกม่วง (*Cleome ruidosperma* DC.) และกกทราย (*Cyperus iria* L.) กรรมวิธีการพ่นสารกำจัดวัชพืช s-metolachlor และ pyroxasulfone ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีน้ำหนักเมล็ดสูงสุด เท่ากับ 563.09 และ 521.54 กิโลกรัม/ไร่ ตามลำดับ

รหัสการทดลอง 01-10-54-02-04-03-01-54

คำนำ

จากการสำรวจและพูดคุยกับเกษตรกรและเจ้าหน้าที่ส่งเสริมการเกษตรของบริษัทเอกชนพบว่า เกษตรกรผู้ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีการใช้สารกำจัดวัชพืชในอัตราที่สูง สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอกที่นิยมใช้ คือ อาทราซีน และอะลาคลอร์ ส่วนสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังงอกที่นิยมใช้ คือ พาราควอต จะใช้ฉีดพ่นเพื่อกำจัดวัชพืชที่ขึ้นระหว่างแถวในช่วงที่ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์โตแล้ว ผลจากการใช้สารกำจัดวัชพืชรดังกล่าวอย่างต่อเนื่องเป็นเวลานาน ส่งผลให้วัชพืชหลายชนิดมีความโดดเด่นขึ้นมาและอาจทำให้ต้านทานสารในอนาคต และในช่วงการพัฒนาฝักของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จะมีวัชพืชประเภทเถาเลื้อยขึ้น เช่น สะอึก และตดหมุดตดหมา เลื้อยขึ้นพันลำต้น ทำให้เป็นอุปสรรคต่อการเก็บเกี่ยวและเป็นการสะสมเมล็ดวัชพืชในแปลงปลูก เนื่องจากก่อนการเก็บเกี่ยวผลผลิตจะมีการตากฝักไว้บนต้นเพื่อลดความชื้น และมีการทิ้งแปลงปลูกไว้นานเนื่องจากหลายพื้นที่เป็นการปลูกพืชโดยอาศัยน้ำฝน จากวิธีการใช้สารกำจัดวัชพืชที่ขาดประสิทธิภาพดังกล่าว ส่งผลให้ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชลดลง และต้นทุนการจัดการเพิ่มขึ้น อีกทั้งยังส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

จากการศึกษาทดลองการปลูกข้าวโพดในสภาพที่ไม่มีการกำจัดวัชพืชและให้วัชพืชมีการแข่งขันอย่างรุนแรง สามารถลดผลผลิตข้าวโพดได้มากถึง 80 เปอร์เซ็นต์ ขณะเดียวกันหากมีการกำจัดวัชพืชอย่างมีประสิทธิภาพ สามารถให้ผลผลิตข้าวโพดได้สูง การแข่งขันของวัชพืชจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น อัตราการปลูกข้าวโพด ชนิดและปริมาณของวัชพืช สภาพภูมิอากาศ ฤดูปลูก ความอุดมสมบูรณ์ของดิน และการเกษตรกรรม เป็นต้น การแข่งขันของวัชพืชที่มีผลต่อการลดผลผลิตของข้าวโพดสูงสุดอยู่ในช่วง 2-6 สัปดาห์ หลังปลูก (กลุ่มวิจัยวัชพืช, 2547)

วัชพืชที่พบมากและเป็นปัญหาในการปลูกข้าวโพด อาทิเช่น หญ้าตีนติด หญ้าตีนนก หญ้าตีนกา หญ้านกสีชมพู ผักยาง ปอวัชพืช ผักโขมหิน ผักเปี้ยหิน สะอึก ตดหมุดตดหมา และแห้วหมู เป็นต้น (นิรนาม, 2552)

การควบคุมวัชพืชในข้าวโพด แบ่งออกเป็น 2 วิธี คือ การควบคุมวัชพืชโดยไม่ใช้สารกำจัดวัชพืช และการควบคุมวัชพืชโดยใช้สารกำจัดวัชพืช สารกำจัดวัชพืชที่แนะนำให้ใช้ในการปลูกข้าวโพด อาจเลือกใช้ได้ตามสภาพการปลูก อายุข้าวโพด และปัญหาวัชพืช ดังนี้ อะลาคลอร์ อาทราซีน เพนดิเมทาลิน อะเซโทคลอร์ อาทราซีน+อะลาคลอร์ 2,4-ดี พาราควอต และไกลโฟเสท เป็นต้น (กลุ่มวิจัยวัชพืช, 2547)

ดังนั้น เพื่อให้ได้วิธีการจัดการวัชพืชที่มีประสิทธิภาพ ประหยัด ปลอดภัย ลดต้นทุน และลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในการผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ จึงมีความจำเป็นต้องศึกษาวิจัยหาสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอกที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชที่เหมาะสมกับชนิดของวัชพืชและดินปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในพื้นที่ต่าง ๆ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สารกำจัดวัชพืชวัชพืช pyroxasulfone 85% WDG, flumioxazin 50% WP, atrazine 80% WP, s-metolachlor 96% EC, pendimethalin 33% EC, alachlor 48% EC, acetochlor 50% EC, nicosulfuron 6% OD, isoxaflutole 75% WG, dimethenamid 50% EC และ mesotrione/atrazine 55% SC
2. เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ พันธุ์นครสวรรค์ 3
3. เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง
4. ไม้ปักแปลง ทุงกระตาศ ทุงตาข่าย

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ มี 13 กรรมวิธี ได้แก่ การพ่นสารกำจัดวัชพืช pyroxasulfone, flumioxazin, atrazine, s-metolachlor, pendimethalin, alachlor, acetochlor, nicosulfuron, isoxaflutole, dimethenamid และ mesotrione/atrazine อัตรา 20, 10, 300, 180, 165, 320, 32, 20, 20, 270 และ 150 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ตามลำดับ กรรมวิธีกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน และกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช (untreated control: UTC) ขนาดแปลงย่อย 5×8 เมตร ทดสอบในชุดดิน 3 ชุด ที่เป็นตัวแทนของ ดินเหนียว ดินร่วน และดินร่วนปนทราย โดยในปี 2555 เลือกพื้นที่ปลูกที่เป็นตัวแทนของดินร่วนปนทราย

การปลูกและดูแลรักษา ระยะปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ใช้ระยะระหว่างแถว 75 เซนติเมตร ระยะระหว่างหลุม 25 เซนติเมตร จำนวน 1 ต้นต่อหลุม ให้น้ำตามร่องปลูก กำจัดโรคและแมลง และใส่ปุ๋ยตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร

พ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีหลังปลูกข้าวโพดในขณะที่ดินมีความชื้น ใช้เครื่องพ่นสารแบบสูบโยก ประกอบหัวพ่นแบบหัวพัด ปริมาณน้ำ 60-80 ลิตร/ไร่

การบันทึกข้อมูล

1. ประสิทธิภาพการควบคุม: ให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0-10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ โดย 0 = ควบคุมไม่ได้ 1-3 = ควบคุมได้เล็กน้อย 4-6 = ควบคุมได้ปานกลาง 7-9 = ควบคุมได้ดี และ 10 = ควบคุมได้สมบูรณ์ บันทึกข้อมูล 2 ครั้ง ที่ระยะ 15 และ 30 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช แยกวัชพืชเป็นชนิด ประเภทวัชพืชใบแคบวงศ์หญ้า ประเภทใบกว้าง และประเภทกก

2. ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อพืชปลูก: ให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตา ตามระบบ 0-10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ โดย 0 = ไม่เป็นพิษ 1-3 = เป็นพิษเล็กน้อย 4-6 = เป็นพิษปานกลาง 7-9 = เป็นพิษรุนแรง และ 10 = พืชปลูกตาย บันทึกข้อมูล 2 ครั้ง ที่ระยะ 15 และ 30 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช

3. จำนวนชนิดและน้ำหนักแห้งของวัชพืช: สุ่มเก็บตัวอย่าง จำแนกชนิดและประเภทวัชพืช บันทึก จำนวนและน้ำหนักแห้งวัชพืชจากทุกกรรมวิธี ๆ ละ 4 จุด แต่ละจุดมีขนาด 0.5×0.5 เมตร ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช โดยแยกเป็นชนิด ประเภทวัชพืชใบแคบวงศ์หญ้า ประเภทใบกว้าง และประเภทกก

4. การเจริญเติบโตของพืชปลูก: วัดความสูง โดยสุ่มจากจำนวน 10 ต้น ที่เป็นตัวแทนของข้าวโพดในแต่ละกรรมวิธี บันทึกข้อมูล 2 ครั้ง ที่ระยะ 30 และ 60 วัน หลังปลูก

5. ผลผลิตของพืชปลูก: เก็บเกี่ยวผลผลิตในพื้นที่ไม่น้อยกว่า 3×3 เมตร นับจำนวนฝักและความยาวฝักข้าวโพดเฉลี่ยจาก 10 ต้น ซึ่งน้ำหนักเมล็ดข้าวโพดที่ความชื้นมาตรฐาน 12 เปอร์เซ็นต์

เวลาสถานที่

ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนพฤษภาคม-กันยายน 2555 ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกาฬสินธุ์ กรมวิชาการเกษตร จังหวัดกาฬสินธุ์

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสุ่มตัวอย่างวัชพืช ที่ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช กรรมวิธีที่ไม่กำจัดวัชพืช พบวัชพืชจำนวน 154 ต้น/ตารางเมตร ประกอบด้วยวัชพืชประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้าตีนนก และหญ้าตีนกา จำนวน 15 และ 2 ต้น คิดเป็น 9.74 และ 1.30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ วัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ สาบม่วง กระเพราะผี และผักเสี้ยนดอกม่วง จำนวน 85, 8 และ 3 ต้น คิดเป็น 55.19, 5.19 และ 1.95 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และวัชพืชประเภทกก ได้แก่ กกทราย จำนวน 41 ต้น คิดเป็น 26.62 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1)

จากการประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า ที่ระยะ 15 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช สารกำจัดวัชพืช pyroxasulfone, flumioxazin, s-metolachlor, pendimethalin, nicosulfuron, isoxaflutole และ dimethenamid เป็นพิษต่อต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เล็กน้อย และที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ไม่แสดงอาการเป็นพิษในทุกกรรมวิธี (ตารางที่ 2)

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช ที่ระยะ 15 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า สารกำจัดวัชพืชที่ใช้ในการทดลองทุกชนิดมีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชได้ดีมาก คะแนน 9.5-10.0 คะแนน และเมื่อเวลาผ่านไปที่ระยะ 30 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชโดยรวมของสารกำจัดวัชพืชลดลง แต่ยังคงประสิทธิภาพอยู่ในระดับดี คะแนน 8.0-9.0 คะแนน (ตารางที่ 3)

การเจริญเติบโตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ พบว่า ที่ระยะ 30 วัน หลังปลูก การพ่นสารกำจัดวัชพืช s-metolachlor และ atrazine ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีความสูง เท่ากับ 17.20 และ 16.76 เซนติเมตร ตามลำดับ มากกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ และแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช แต่ไม่

แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธี การพ่นสารกำจัดวัชพืช pyroxasulfone, flumioxazin, pendimethalin, alachlor, acetochlor, nicosulfuron, isoxaflutole, dimethenamid, mesotrione/atrazine และกรรมวิธีกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีความสูง เท่ากับ 15.29, 14.71, 15.70, 15.00, 15.76, 15.17, 15.28, 15.55, 16.36 และ 16.24 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนที่ระยะ 60 วัน หลังปลูก ความสูงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในทุกกรรมวิธีที่พ่นสารกำจัดวัชพืช ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช (ตารางที่ 4)

ผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ พบว่า การพ่นสารกำจัดวัชพืช s-metolachlor และ pyroxasulfone ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีน้ำหนักเมล็ด เท่ากับ 563.09 และ 521.54 กิโลกรัม/ไร่ ตามลำดับ มากกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสารกำจัดวัชพืชชนิดอื่น และกรรมวิธีกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน แต่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช (ตารางที่ 4)

สรุปผลการทดลอง

1. ที่ระยะ 15 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช สารกำจัดวัชพืช pyroxasulfone, flumioxazin, s-metolachlor, pendimethalin, nicosulfuron, isoxaflutole และ dimethenamid เป็นพิษต่อต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เล็กน้อย และที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ไม่แสดงอาการเป็นพิษในทุกกรรมวิธี

2. ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า สารกำจัดวัชพืช pyroxasulfone, flumioxazin, atrazine, s-metolachlor, pendimethalin, alachlor, acetochlor, nicosulfuron, isoxaflutole, dimethenamid และ mesotrione/atrazine มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชได้ดี วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้าตีนนก (*Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.) หญ้าตีนกา (*Eleusine indica* Gaertn.) สาบม่วง (*Praxelis clematidea* R.M. King) กระเพราผี (*Hyptis suaveolens* L.) ผักเสี้ยนดอกม่วง (*Cleome rutidosperma* DC.) และกทราญ (*Cyperus iria* L.)

3. การพ่นสารกำจัดวัชพืช s-metolachlor และ pyroxasulfone ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีน้ำหนักเมล็ดสูงสุด เท่ากับ 563.09 และ 521.54 กิโลกรัม/ไร่ ตามลำดับ

คำขอขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ ที่ให้ความอนุเคราะห์เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ขอขอบคุณผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกาฬสินธุ์ ที่ให้ความอนุเคราะห์พื้นที่ทดลอง ตลอดจนอำนวยความสะดวกด้านต่าง ๆ ทำให้การทดลองเสร็จสิ้นด้วยความเรียบร้อย

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มวิจัยวัชพืช. 2547. คำแนะนำการป้องกันกำจัดวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืช ปี 2547. กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ. 133 หน้า.

นิรนาม. 2552. ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์. [ออนไลน์]. แหล่งข้อมูล:

http://www.pacthai.co.th/knowledge_base/animal_corn.htm (วันที่ 20 สิงหาคม 2552)

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 ชนิดและปริมาณของวัชพืชที่พบในกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช

ชนิดวัชพืช	จำนวนวัชพืช (ต้น/ตารางเมตร)	เปอร์เซ็นต์
หญ้าตีนนก (<i>Digitaria sanguinalis</i> (L.). Scop.)	15	9.74
หญ้าตีนกา (<i>Eleusine indica</i> Gaertn.)	2	1.30
สาบม่วง (<i>Praxelis clematidea</i> R.M. King)	85	55.19
กะเพราผี (<i>Hyptis suaveolens</i> L.)	8	5.19
ผักเสี้ยนดอกม่วง (<i>Cleome rutidosperma</i> DC.)	3	1.95
กกทราย (<i>Cyperus iria</i> L.)	41	26.62
รวม	154	100.00

ตารางที่ 2 ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อต้านข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ จากการประเมินด้วยสายตาที่
ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่)	จำนวนวันหลังพ่นสาร (วัน)	
		15	30
pyroxasulfone	20	2.00	0.00
flumioxazin	10	2.00	0.00
atrazine	300	0.00	0.00
s-metolachlor	180	2.00	0.00
pendimethalin	165	1.00	0.00
alachlor	320	0.00	0.00
acetochlor	32	0.00	0.00
nicosulfuron	20	1.00	0.00
isoxaflutole	20	1.00	0.00
dimethenamid	270	1.00	0.00
mesotrione/atrazine	150	0.00	0.00
hand weeding	-	0.00	0.00
UTC	-	0.00	0.00

หมายเหตุ: 0 = ไม่เป็นพิษ 1-3 = เป็นพิษเล็กน้อย 4-6 = เป็นพิษปานกลาง 7-9 = เป็นพิษรุนแรง
และ 10 = พืชปลูกตาย

ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช โดยรวมจากการประเมินด้วยสายตา
ที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่)	จำนวนวันหลังพ่นสาร (วัน)	
		15	30
pyroxasulfone	20	9.5	8.0
flumioxazin	10	10.0	8.5
atrazine	300	9.0	9.0
s-metolachlor	180	9.5	8.3
pendimethalin	165	10.0	8.1
alachlor	320	9.5	8.3
acetochlor	32	9.5	8.8
nicosulfuron	20	9.5	8.8
isoxaflutole	20	9.5	8.0
dimethenamid	270	9.5	8.3
mesotrione/atrazine	150	9.5	8.8
hand weeding	-	0.0	10.0
UTC	-	0.0	0.0

หมายเหตุ: 0 = ควบคุมไม่ได้ 1-3 = ควบคุมได้เล็กน้อย 4-6 = ควบคุมได้ปานกลาง 7-9 = ควบคุมได้ดี และ 10 = ควบคุมได้สมบูรณ์

ตารางที่ 4 ความสูงของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ที่ระยะ 30 และ 60 วัน หลังปลูก และน้ำหนักเมล็ด

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่)	ความสูง (เซนติเมตร) ^{1/}		น้ำหนักเมล็ด (กิโลกรัม/ไร่)
		30 วัน	60 วัน	
pyroxasulfone	20	15.29 ab	145.47 ab	521.54 a
flumioxazin	10	14.71 ab	128.05 ab	321.05 ab
atrazine	300	16.76 a	151.70 a	453.17 ab
s-metolachlor	180	17.20 a	152.05 a	563.09 a
pendimethalin	165	15.70 ab	129.50 ab	394.38 ab
alachlor	320	15.00 ab	144.27 ab	465.12 ab
acetochlor	32	15.76 ab	147.51 a	467.49 ab
nicosulfuron	20	15.17 ab	141.16 ab	351.34 ab
isoxaflutole	20	15.28 ab	150.80 a	399.54 ab
dimethenamid	270	15.55 ab	152.70 a	502.26 ab
mesotrione/atrazine	150	16.36 ab	149.58 a	466.65 ab
hand weeding	-	16.24 ab	137.82 ab	375.84 ab
UTC	-	12.46 b	108.55 b	237.47 b
	ค่าเฉลี่ย	15.50	141.47	424.53
	CV (%)	15.42	15.32	33.08

^{1/} ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังงอก
(post-emergence) ในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

Efficiency of Post-emergence Herbicides for Weed Control in Maize

สิริชัย สารุวิจารณ์^{1/} สุพัตรา ชาววงจักร^{2/} จรรยา มณีโชติ^{1/}

^{1/} กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/} ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกาฬสินธุ์ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่3

รายงานความก้าวหน้า

การทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังงอกในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ เพื่อให้ได้วิธีการจัดการวัชพืชประเภทหลังงอกที่มีประสิทธิภาพ ประหยัด ปลอดภัย ลดต้นทุน และลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในการผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนพฤษภาคม-กันยายน 2555 ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกาฬสินธุ์ จังหวัดกาฬสินธุ์ วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ มี 13 กรรมวิธี ได้แก่ การพ่นสารกำจัดวัชพืช paraquat, glufosinate ammonium, fluroxypyr, triclopyr, mesotrione/atrazine, nicosulfuron, pyroxasulfone, paraquat+mesotrione/atrazine, paraquat+nicosulfuron, paraquat+pendimethalin และ paraquat+pyroxasulfone อัตรา 150, 105, 32, 150, 150, 20, 20, 80+150, 80+15, 80+60 และ 80+15 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ ตามลำดับ หลังปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 45 วัน กรรมวิธีกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานและกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช ปฏิบัติและดูแลรักษาข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ปลูกตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร ผลการทดลอง พบว่า สารกำจัดวัชพืช paraquat, glufosinate ammonium, triclopyr, nicosulfuron, paraquat+mesotrione/atrazine, paraquat+nicosulfuron, paraquat+pendimethalin และ paraquat+pyroxasulfone มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชได้ดี ที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช และไม่เป็นพิษต่อข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช โดยสามารถควบคุมวัชพืชหลัก ได้แก่ หญ้าตีนนก (*Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.) หญ้าตีนกา (*Eleusine indica* Gaertn.) หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium* L.) สาบม่วง (*Praxelis clematidea* R.M. King) กะเพราผี (*Hyptis suaveolens* L.) กระต่ายจาม (*Scoparia dulcis* L.) และ กกทราย (*Cyperus iria* L.) และผลผลิตเมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ

รหัสการทดลอง 01-10-54-02-04-03-02-54

คำนำ

จากการสำรวจและพูดคุยกับเกษตรกรและเจ้าหน้าที่ส่งเสริมการเกษตรของบริษัทเอกชนพบว่า เกษตรกรผู้ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีการใช้สารกำจัดวัชพืชในอัตราที่สูง สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอกที่นิยมใช้ คือ อาทราซีน และอะลาคลอร์ ส่วนสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังงอกที่นิยมใช้ คือ พาราควอต จะใช้ฉีดพ่นเพื่อกำจัดวัชพืชที่ขึ้นระหว่างแถวในช่วงที่ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์โตแล้ว ผลจากการใช้สารกำจัดวัชพืชดังกล่าวอย่างต่อเนื่องเป็นเวลานาน ส่งผลให้วัชพืชหลายชนิดมีความโดดเด่นขึ้นมาและอาจทำให้ต้นทุนสารในอนาคต และในช่วงการพัฒนาฝักของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จะมีวัชพืชประเภทเถาเลื้อยขึ้น เช่น สะอึก และตดหมุดตดหมา เลื้อยขึ้นพันลำต้น ทำให้เป็นอุปสรรคต่อการเก็บเกี่ยวและเป็นการสะสมเมล็ดวัชพืชในแปลงปลูก เนื่องจากก่อนการเก็บเกี่ยวผลผลิตจะมีการตากฝักไว้บนต้นเพื่อลดความชื้น และมีการทิ้งแปลงปลูกไว้นานเนื่องจากหลายพื้นที่เป็นการปลูกพืชโดยอาศัยน้ำฝน จากวิธีการใช้สารกำจัดวัชพืชที่ขาดประสิทธิภาพดังกล่าว ส่งผลให้ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชลดลง และต้นทุนการจัดการเพิ่มขึ้น อีกทั้งยังส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

จากการศึกษาทดลองการปลูกข้าวโพดในสภาพที่ไม่มีการกำจัดวัชพืชและให้วัชพืชมีการแข่งขันอย่างรุนแรง สามารถลดผลผลิตข้าวโพดได้มากถึง 80 เปอร์เซ็นต์ ขณะเดียวกันหากมีการกำจัดวัชพืชอย่างมีประสิทธิภาพ สามารถให้ผลผลิตข้าวโพดได้สูง การแข่งขันของวัชพืชจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น อัตราการปลูกข้าวโพด ชนิดและปริมาณของวัชพืช สภาพภูมิอากาศ ฤดูปลูก ความอุดมสมบูรณ์ของดิน และการเกษตรกรรม เป็นต้น การแข่งขันของวัชพืชที่มีผลต่อการลดผลผลิตของข้าวโพดสูงสุดอยู่ในช่วง 2-6 สัปดาห์ หลังปลูก (กลุ่มวิจัยวัชพืช, 2547)

วัชพืชที่พบมากและเป็นปัญหาในการปลูกข้าวโพด อาทิเช่น หญ้าตีนติด หญ้าตีนนก หญ้าตีนกา หญ้านกสีชมพู ผักยาง ปอวัชพืช ผักโขมหิน ผักเบี้ยหิน สะอึก ตดหมุดตดหมา และแห้วหมู เป็นต้น (นิรนาม, 2552)

การควบคุมวัชพืชในข้าวโพด แบ่งออกเป็น 2 วิธี คือ การควบคุมวัชพืชโดยไม่ใช้สารกำจัดวัชพืช และการควบคุมวัชพืชโดยใช้สารกำจัดวัชพืช สารกำจัดวัชพืชที่แนะนำให้ใช้ในการปลูกข้าวโพด อาจเลือกใช้ได้ตามสภาพการปลูก อายุข้าวโพด และปัญหาวัชพืช ดังนี้ อะลาคลอร์ อาทราซีน เพนดิเมทาลิน อะเซโทคลอร์ อาทราซีน+อะลาคลอร์ 2,4-ดี พาราควอต และไกลโฟเสท เป็นต้น (กลุ่มวิจัยวัชพืช, 2547)

ดังนั้น เพื่อให้ได้วิธีการจัดการวัชพืชที่มีประสิทธิภาพ ประหยัด ปลอดภัย ลดต้นทุน และลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในการผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ จึงมีความจำเป็นต้องศึกษาวิจัยหาสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังงอกที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชที่เหมาะสมกับชนิดของวัชพืชและแหล่งปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในพื้นที่ต่าง ๆ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สารกำจัดวัชพืชวัชพืช paraquat 27.6% SL, glufosinate ammonium 15% SL, fluroxypyr 28.8% EC, triclopyr 66.8% EC, mesotrione/atrazine 55% SC, nicosulfuron 6% OD, pyroxasulfone 85% WDG และ pendimethalin 33% EC
2. เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ พันธุ์นครสวรรค์ 3
3. เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง
4. ไม้ปักแปลง ถุงกระดาษ ถุงตาข่าย

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ มี 13 กรรมวิธี ได้แก่ การพ่นสารกำจัดวัชพืช paraquat, glufosinate ammonium, fluroxypyr, triclopyr, mesotrione/atrazine, nicosulfuron, pyroxasulfone, paraquat+mesotrione/atrazine, paraquat+nicosulfuron, paraquat+pendimethalin และ paraquat+pyroxasulfone อัตรา 150, 105, 32, 150, 150, 20, 20, 80+150, 80+15, 80+60 และ 80+15 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ ตามลำดับ กรรมวิธีกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานและกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช (untreated control: UTC) ขนาดแปลงย่อย 5×8 เมตร ทดสอบในชุดดิน 3 ชุด ที่เป็นตัวแทนของ ดินเหนียว ดินร่วน และดินร่วนปนทราย โดยในปี 2555 เลือกพื้นที่ปลูกที่เป็นตัวแทนของดินร่วนปนทราย

การปลูกและดูแลรักษา ระยะปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ใช้ระยะระหว่างแถว 75 เซนติเมตร ระยะระหว่างหลุม 25 เซนติเมตร จำนวน 1 ต้นต่อหลุม หลังปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พ่นสารกำจัดวัชพืช atrazine อัตรา 300 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ ให้น้ำตามร่องปลูก กำจัดโรคและแมลง และใส่ปุ๋ยตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร

พ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธี ที่ระยะ 45 วัน หลังปลูกหรือระยะที่วัชพืชขึ้นมีความสูงไม่เกิน 15 เซนติเมตร ใช้เครื่องพ่นสารแบบสับโยก ประกอบหัวพ่นแบบหัวพัด ปริมาณน้ำ 60-80 ลิตร/ไร่

การบันทึกข้อมูล

1. ประสิทธิภาพการควบคุม: ให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0-10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ โดย 0 = ควบคุมไม่ได้ 1-3 = ควบคุมได้เล็กน้อย 4-6 = ควบคุมได้ปานกลาง 7-9 = ควบคุมได้ดี และ 10 = ควบคุมได้สมบูรณ์ บันทึกข้อมูล 2 ครั้ง ที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช แยกวัชพืชเป็นชนิด ประเภทวัชพืชใบแคบวงศ์หญ้า ประเภทใบกว้าง และประเภทกก

2. ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อพืชปลูก: ให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตา ตามระบบ 0-10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ โดย 0 = ไม่เป็นพิษ 1-3 = เป็นพิษเล็กน้อย 4-6 = เป็นพิษปานกลาง 7-9 = เป็นพิษรุนแรง และ 10 = พืชปลูกตาย บันทึกข้อมูล 2 ครั้ง ที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช

3. จำนวนชนิดและน้ำหนักแห้งของวัชพืช: สุ่มเก็บตัวอย่าง จำแนกชนิดและประเภทวัชพืช บันทึก จำนวนและน้ำหนักแห้งวัชพืชจากทุกกรรมวิธี ๆ ละ 4 จุด แต่ละจุดมีขนาด 0.5×0.5 เมตร ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช โดยแยกเป็นชนิด ประเภทวัชพืชใบแคบวงศ์หญ้า ประเภทใบกว้าง และประเภทกก

4. การเจริญเติบโตของพืชปลูก: วัดความสูง โดยสุ่มจากจำนวน 10 ต้น ที่เป็นตัวแทนของข้าวโพดในแต่ละกรรมวิธี บันทึกข้อมูล 2 ครั้ง ที่ระยะ 30 และ 60 วัน หลังปลูก

5. ผลผลิตของพืชปลูก: เก็บเกี่ยวผลผลิตในพื้นที่ไม่น้อยกว่า 3×3 เมตร นับจำนวนฝักและความยาวฝักข้าวโพดเฉลี่ยจาก 10 ต้น ซึ่งน้ำหนักเมล็ดข้าวโพดที่ความชื้นมาตรฐาน 12 เปอร์เซ็นต์

เวลาสถานที่

ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนพฤษภาคม-กันยายน 2555 ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกาฬสินธุ์ กรมวิชาการเกษตร จังหวัดกาฬสินธุ์

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสุ่มตัวอย่างวัชพืช ที่ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช กรรมวิธีที่ไม่กำจัดวัชพืช พบวัชพืชจำนวน 86 ต้น/ตารางเมตร ประกอบด้วยวัชพืชประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้าตีนนก หญ้าตีนกา และหญ้าปากควาย จำนวน 10, 6 และ 3 ต้น คิดเป็น 11.63, 6.68 และ 3.49 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ วัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ สาบม่วง กะเพราผี และกระต่ายจาม จำนวน 32, 7 และ 6 ต้น คิดเป็น 37.21, 8.14 และ 6.98 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และวัชพืชประเภทกก ได้แก่ กกทราย จำนวน 22 ต้น คิดเป็น 25.58 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1)

จากการประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า ที่ระยะ 15 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช สารกำจัดวัชพืช paraquat, glufosinate ammonium, fluroxypyr, triclopyr, nicosulfuron, paraquat +mesotrione/atrazine, paraquat+nicosulfuron, paraquat+pendimethalin และ paraquat +pyroxasulfone เป็นพิษต่อต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เล็กน้อย และที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช การพ่นสารกำจัดวัชพืชทุกกรรมวิธีต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ไม่แสดงอาการเป็นพิษ (ตารางที่ 2)

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช ที่ระยะ 15 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า สารกำจัดวัชพืช paraquat, glufosinate ammonium, triclopyr, nicosulfuron , paraquat+mesotrione/atrazine, paraquat+nicosulfuron, paraquat+pendimethalin และ

paraquat+pyroxasulfone สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี และยังคงมีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชได้ดี ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช (ตารางที่ 3) วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้าตีนนก (*Digitaria sanguinalis* (L.). Scop.) หญ้าตีนกา (*Eleusine indica* Gaertn.) หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium* L.) สาบม่วง (*Praxelis clematidea* R.M. King) กะเพราผี (*Hyptis suaveolens* L.) กระจ่ำจาม (*Scoparia dulcis* L.) และ กกทราย (*Cyperus iria* L.)

การเจริญเติบโตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ พบว่า ที่ระยะ 30 และ 60 วัน หลังปลูก การพ่นสารกำจัดวัชพืชทุกกรรมวิธี กรรมวิธีกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน และกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช ความสูงของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 4)

ผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ พบว่า การพ่นสารกำจัดวัชพืช paraquat, glufosinate ammonium, fluroxypyr, triclopyr, mesotrione/atrazine, nicosulfuron, pyroxasulfone, paraquat+mesotrione/atrazine, paraquat+nicosulfuron, paraquat+pendimethalin และ paraquat+pyroxasulfone กรรมวิธีกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน และกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช ให้ผลผลิตน้ำหนักเมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยน้ำหนักเมล็ดข้าวโพดอยู่ระหว่าง 361.65-454.88 กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 4)

สรุปผลการทดลอง

1. สารกำจัดวัชพืชที่ใช้ในการทดลองมีความเป็นพิษต่อต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เล็กน้อย ที่ระยะ 15 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช และไม่แสดงอาการเป็นพิษ ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช
2. สารกำจัดวัชพืช paraquat, glufosinate ammonium, triclopyr, nicosulfuron, paraquat+mesotrione/atrazine, paraquat+nicosulfuron, paraquat+pendimethalin และ paraquat+pyroxasulfone สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี ที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช โดย วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้าตีนนก (*Digitaria sanguinalis* (L.). Scop.) หญ้าตีนกา (*Eleusine indica* Gaertn.) หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium* L.) สาบม่วง (*Praxelis clematidea* R.M. King) กะเพราผี (*Hyptis suaveolens* L.) กระจ่ำจาม (*Scoparia dulcis* L.) และ กกทราย (*Cyperus iria* L.)
3. กรรมวิธีการทดลองทุกกรรมวิธีให้ผลผลิตเมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ ที่ให้ความอนุเคราะห์เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ขอขอบคุณผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกาฬสินธุ์ ที่ให้ความอนุเคราะห์พื้นที่ทดลอง ตลอดจนอำนวยความสะดวกด้านต่าง ๆ ทำให้การทดลองเสร็จสิ้นด้วยความเรียบร้อย

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มวิจัยวัชพืช. 2547. คำแนะนำการป้องกันกำจัดวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืช ปี 2547. กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ. 133 หน้า.

นิรนาม. 2552. ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์. [ออนไลน์]. แหล่งข้อมูล:

http://www.pacthai.co.th/knowledge_base/animal_corn.htm (วันที่ 20 สิงหาคม 2552)

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 ชนิดและปริมาณของวัชพืชที่พบในกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช

ชนิดวัชพืช	จำนวนวัชพืช (ต้น/ตารางเมตร)	เปอร์เซ็นต์
หญ้าตีนนก (<i>Digitaria sanguinalis</i> (L.). Scop.)	10	11.63
หญ้าตีนกา (<i>Eleusine indica</i> Gaertn.)	6	6.68
หญ้าปากควาย (<i>Dactyloctenium aegyptium</i> L.)	3	3.49
สาบม่วง (<i>Praxelis clematidea</i> R.M. King)	32	37.21
กะเพราผี (<i>Hyptis suaveolens</i> L.)	7	8.14
กระต่ายจาม (<i>Scoparia dulcis</i> L.)	6	6.98
กกทราย (<i>Cyperus iria</i> L.)	22	25.58
รวม	86	100.00

ตารางที่ 2 ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ จากการประเมินด้วยสายตาที่
ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่)	จำนวนวันหลังพ่นสาร (วัน)	
		15	30
paraquat	150	1.00	0.00
glufosinate ammonium	105	0.25	0.00
fluroxypyr	32	0.25	0.00
triclopyr	150	0.25	0.00
mesotrione/atrazine	150	0.00	0.00
nicosulfuron	20	0.25	0.00
pyroxasulfone	20	0.00	0.00
paraquat+mesotrione/atrazine	80+150	1.00	0.00
paraquat+nicosulfuron	80+15	1.00	0.00
paraquat+pendimethalin	80+60	1.00	0.00
paraquat+ pyroxasulfone	80+15	1.00	0.00
hand weeding	-	0.00	0.00
UTC	-	0.00	0.00

หมายเหตุ: 0 = ไม่เป็นพิษ 1-3 = เป็นพิษเล็กน้อย 4-6 = เป็นพิษปานกลาง 7-9 = เป็นพิษรุนแรง
และ 10 = พืชปลูกตาย

ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช โดยรวมจากการประเมินด้วยสายตา
ที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่)	จำนวนวันหลังพ่นสาร (วัน)	
		15	30
paraquat	150	9.8	9.6
glufosinate ammonium	105	10.0	9.8
fluroxypyr	32	6.1	5.3
triclopyr	150	8.0	8.5
mesotrione/atrazine	150	5.9	5.5
nicosulfuron	20	8.4	7.4
pyroxasulfone	20	4.5	4.3
paraquat+mesotrione/atrazine	80+150	9.7	9.4
paraquat+nicosulfuron	80+15	9.7	9.4
paraquat+pendimethalin	80+60	9.8	9.5
paraquat+pyroxasulfone	80+15	9.8	9.5
hand weeding	-	10.0	9.0
UTC	-	0.0	0.0

หมายเหตุ: 0 = ควบคุมไม่ได้ 1-3 = ควบคุมได้เล็กน้อย 4-6 = ควบคุมได้ปานกลาง 7-9 = ควบคุมได้ดี และ 10 = ควบคุมได้สมบูรณ์

ตารางที่ 4 ความสูงของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ที่ระยะ 30 และ 60 วัน หลังปลูก และน้ำหนักเมล็ด

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่)	ความสูง (เซนติเมตร)		น้ำหนักเมล็ด (กิโลกรัม/ไร่)
		30 วัน	60 วัน	
paraquat	150	15.97	147.75	428.29
glufosinate ammonium	105	18.1	153.36	454.88
fluroxypyr	32	17.32	149.83	363.23
triclopyr	150	17.71	151.76	438.29
mesotrione/atrazine	150	17.24	150.41	420.12
nicosulfuron	20	18.55	151.22	457.25
pyroxasulfone	20	15.91	148.8	362.63
paraquat+mesotrione/ atrazine	80+150	17.86	152.46	452.51
paraquat+nicosulfuron	80+15	17.36	149.58	416.17
paraquat+pendimethalin	80+60	16.56	144.81	410.64
paraquat+ pyroxasulfone	80+15	16.35	149.65	409.06
hand weeding	-	17.87	141.57	421.7
UTC	-	17.16	147.75	361.65
ค่าเฉลี่ย		17.23	149.15	415.11
CV (%)		11.17	4.54	12.10

ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอก
(pre-emergence) และหลังงอก (post-emergence) ในสับปะรด
Efficiency of Pre-emergence and Post-emergence Herbicides for Weed
Control in Pineapple

สิริชัย สารวิจารณ์^{1/} มัลลิกา นวลแก้ว^{2/} จรรยา มณีโชติ^{1/} และ วนิตา ธารถวิล^{1/}
^{1/} กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
^{2/} ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเพชรบุรี สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5

บทคัดย่อ

การทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอกและหลังงอกในสับปะรด เพื่อหาสารกำจัดวัชพืชที่มีประสิทธิภาพควบคุมวัชพืช ประหยัด ปลอดภัย ลดต้นทุน และลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในการผลิตสับปะรด ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนพฤษภาคม 2554 - กันยายน 2555 ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเพชรบุรี กรมวิชาการเกษตร จังหวัดเพชรบุรี ประกอบด้วย 2 การทดลอง คือ 1) การทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอก วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ มี 10 กรรมวิธี ได้แก่ การพ่นสารกำจัดวัชพืช tebuthiuron+pendimethalin, flumioxazin, pendimethalin+diuron, hexazinone/diuron, alachlor+diuron, pendimethalin+dimethenamid และ tebuthiuron+oxyfluorfen อัตรา 125+165, 20, 165+320, 600, 320+320, 165+225 และ 125+24 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ตามลำดับ ก่อนการปลูกสับปะรด และการพ่นสารกำจัดวัชพืช metribuzin และ bromacil+diuron อัตรา 140 และ 560+560 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ตามลำดับ หลังจากปลูกสับปะรด และกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช ผลการทดลอง พบว่า ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอก ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า การพ่นสารกำจัดวัชพืช bromacil+diuron สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี และสารกำจัดวัชพืชไม่เป็นพิษต่อสับปะรด วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้าตีนนก (*Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.) หญ้าขนเล็ก (*Brachiaria distachya* Stapf.) หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium* L.) และ ผักยาง (*Euphorbia heterophylla* L.)

รหัสการทดลอง 01-18-54-02-00-00-02-54

2) การทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังงอก วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ มี 10 กรรมวิธี คือ การพ่นสารกำจัดวัชพืช ametryn, ametryn, bromacil, bromacil, bromacil+ametryn, bromacil+diuron, bromacil+atrazine, bromacil+diuron+ametryn และ diuron+ametryn อัตรา 512, 400, 550, 400, 400+400, 400+400, 400+400, 400+400+400 และ 400+400 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ ตามลำดับ และกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช ผลการทดลอง พบว่า ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังงอก ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า การพ่นสารกำจัดวัชพืช bromacil+atrazine และ bromacil+ diuron+ametryn สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี และสารกำจัดวัชพืชไม่เป็นพิษต่อ สับปะรด วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้ากินนี (*Panicum maximum*) หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium* L.) ครามขน (*Indigofera hirsute* L.) สาบม่วง (*Praxelis clematidea* R.M. King) และ ผักกวาง (*Euphorbia heterophylla* L.)

คำนำ

สับปะรดเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญพืชหนึ่งของประเทศไทย ในปี พ. ศ. 2552 มีพื้นที่เก็บเกี่ยว จำนวน 567,000 ไร่ ผลผลิต 1.89 ล้านตัน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2552) ปัจจุบันการปลูก สับปะรดของเกษตรกรต้องประสบปัญหาด้านการจัดการวัชพืชและโรคพืช เนื่องจากการใช้สารกำจัด วัชพืชชนิดเดิมติดต่อกันเป็นเวลานานทำให้วัชพืชสามารถปรับตัวได้ และการใช้หน่อสับปะรดที่มีการ ปนเปื้อนของเชื้อโรคพืช เช่น โรคเหี่ยวสับปะรด ส่งผลกระทบต่อปริมาณและคุณภาพผลผลิตสับปะรด

วัชพืชเป็นคู่แข่งปัจจัยการเจริญเติบโตและเป็นที่ยากของแมลงศัตรูพืช เนื่องจากสับปะรด เป็นพืชที่เจริญเติบโตช้าในระยะแรก จึงเป็นพืชที่มีศักยภาพด้อยในการแข่งขันกับวัชพืช จึงจำเป็นต้อง กำจัดวัชพืชในช่วงเวลาดังกล่าว เกลียวพันธ์ และคณะ (2544) รายงานว่า ในแหล่งปลูกสับปะรดพันธุ์ ปิดตาเวีย เพื่ออุตสาหกรรมแปรรูปของภาคตะวันออก หากไม่กำจัดวัชพืชทำให้สูญเสียผลผลิต ประมาณ 64.3-80.8 เปอร์เซ็นต์ ความสูญเสียผลผลิตขึ้นกับชนิดวัชพืช ความหนาแน่น และ องค์ประกอบสิ่งแวดล้อม เช่น ความอุดมสมบูรณ์ของดิน ความชื้น ปริมาณฝน หากปัจจัยเพื่อการ เจริญเติบโตของพืชมีความเหมาะสมมาก ย่อมมีผลดีต่อการเจริญเติบโตของวัชพืช Neito และคณะ (1968) และประเสริฐ (2516) พบว่า ช่วงเวลาการแข่งขันของวัชพืชไม่ควรเกิน 2 เดือนแรก และ ช่วงเวลาปลอดวัชพืช คือ 4 เดือนแรก จึงไม่เกิดความสูญเสียผลผลิตถึงระดับเศรษฐกิจ ซึ่งสอดคล้อง กับการศึกษาของ เกลียวพันธ์ และคณะ (2545) พบว่า วัชพืชใบกว้างและเถาเลื้อย ทำให้การ เจริญเติบโตของสับปะรดลดลง 19.8 เปอร์เซ็นต์ ผลผลิตเสียหาย 55.8 เปอร์เซ็นต์

ในช่วงระยะเวลา 30 ปีที่ผ่านมา เกษตรกรใช้สารกำจัดวัชพืช เช่น โบรมาซิล ไดยูรอน และ อะมีทรีน สำหรับกำจัดวัชพืชซึ่งสารเหล่านี้ใช้ได้ผลดี แต่ในระยะ 2-3 ปีที่ผ่านมา เริ่มมีรายงานการ ระบาดของวัชพืชบางชนิด เช่น หญ้าตีนติด (*Bracharia reptans*) หญ้าดอกขาวไร่ (*Leptochloa*

filiformis) หญ้ากินนี่ (*Panicum maximum*) สาบแร้งสาบกา (*Ageratum conyzoides*) สาบม่วง (*Praxelis clematidea*) และผักเบี้ยหิน (*Trianthema portulacastrum*) ซึ่งไม่สามารถควบคุมได้ ทำให้บางพื้นที่ได้รับความเสียหาย เช่นในปี 2551 มีการระบาดของสาบม่วง (*Praxelis clematidea*) ในจังหวัดอุทัยธานี เป็นพื้นที่ประมาณ 18,000 ไร่ ซึ่งสารกำจัดวัชพืชดังกล่าวมีกลไกการเข้าทำลายพืชเหมือนกัน คือ ยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์แสง ที่ระบบสังเคราะห์แสงที่ 2 (Photosystem II inhibitors) ซึ่งปัจจุบันมีรายงานว่าวัชพืช 60 ชนิด ด้านทานสารในกลุ่มนี้ (Heap, 2009) แต่ยังมีสารกำจัดวัชพืชอีกหลายชนิดที่สามารถใช้กำจัดวัชพืชในสับปะรดได้ดีและมีกลไกการเข้าทำลายพืชแตกต่างจากสารเหล่านี้

การที่มีวัชพืชระบาดรุนแรงในหลายพื้นที่ อาจเนื่องมาจากสารกำจัดวัชพืชที่เกษตรกรใช้อยู่ไม่ได้ผล อาจเกิดการต้านทานสารกำจัดวัชพืชในกลุ่มดังกล่าว ดังนั้น การทดลองศึกษาสารกำจัดวัชพืชชนิดใหม่ที่มีกลไกการเข้าทำลายต่างออกไป จึงมีความจำเป็น เพื่อเป็นตัวเลือกให้เกษตรกรใช้สำหรับป้องกันการระบาดของวัชพืชเหล่านั้น ที่อาจเกิดความต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืชเดิม และยังเป็นสารกำจัดวัชพืชที่เป็นแหล่งอาศัยของเพลี้ยแป้ง พาหะของไวรัสโรคเหี่ยวสับปะรดได้อีกทางหนึ่งด้วย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. การพ่นสารกำจัดวัชพืช tebuthiuron 50% SC, pendimethalin 33% EC, pyroxasulfone 85% WDG, flumioxazin 50% WP, indazifam 50% SC, hexaxinone/diuron 60% WG, alachlor 48% EC, diuron 80% WP, dimethenamid 50% EC, oxyfluorfen 48% SC, metribuzin 70% WP, bromacil 80% WP, ametryn 80% WG, bromacil 80% WP และ atrazine 80% WP

2. สารป้องกันเชื้อรา (fosetyl-aluminium 80% WP)
3. หน่อพันธุ์สับปะรด พันธุ์ปัตตาเวีย
4. เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง
5. ไม้ปักแปลง ถุงกระดาษ ถุงตาข่าย

วิธีการ

การทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอก

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ มี 10 กรรมวิธี ได้แก่ การพ่นสารกำจัดวัชพืช tebuthiuron+pendimethalin, flumioxazin, pendimethalin+diuron, hexaxinone/diuron, alachlor+diuron, pendimethalin+dimethenamid และ tebuthiuron+oxyfluorfen อัตรา 125+165, 20, 165+320, 600, 320+320, 165+225 และ 125+24 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ตามลำดับ ก่อนการปลูกสับปะรด และการพ่นสารกำจัดวัชพืช metribuzin และ bromacil+diuron

อัตรา 140 และ 560+560 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ตามลำดับ หลังจากปลูกสับปะรด และกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช (untreated control: UTC)

การปลูกและดูแลรักษา ไถแปลงตากดินให้แห้ง พรวนดิน และคาดเศษวัชพืชออก เตรียมแปลงทดลองย่อยขนาด 6×6 เมตร ปลูกสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย แบบแถวคู่ ระยะปลูก 25×50×100 เซนติเมตร โดยชูหน่อด้วยสารป้องกันเชื้อรา (fosetyl-aluminium 80% WP) สาเหตุโรคเน่าก่อนปลูก

พ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธี ใช้เครื่องพ่นสารแบบสับโยกสะพายหลัง ประกอบหัวพ่นแบบพัด ปริมาณน้ำ 60-80 ลิตร/ไร่

การทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังงอก

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ มี 10 กรรมวิธี คือ การพ่นสารกำจัดวัชพืช ametryn, ametryn, bromacil, bromacil, bromacil+ametryn, bromacil+diuron, bromacil+atrazine, bromacil+diuron+ametryn และ diuron+ametryn อัตรา 512, 400, 550, 400, 400+400, 400+400, 400+400, 400+400+400 และ 400+400 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ ตามลำดับ และกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช (untreated control: UTC)

การปลูกและดูแลรักษา ไถแปลงตากดินให้แห้ง พรวนดิน และคาดเศษวัชพืชออก เตรียมแปลงทดลองย่อยขนาด 6×6 เมตร ปลูกสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย แบบแถวคู่ ระยะปลูก 25×50×100 เซนติเมตร โดยชูหน่อด้วยสารป้องกันเชื้อรา (fosetyl-aluminium 80% WP) สาเหตุโรคเน่าก่อนปลูก

พ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธี เมื่อวัชพืชสูงประมาณ 15 เซนติเมตร ใช้เครื่องพ่นสารแบบสับโยกสะพายหลัง ประกอบหัวพ่นแบบพัด ปริมาณน้ำ 60-80 ลิตร/ไร่

การบันทึกข้อมูล

1. ประสิทธิภาพการควบคุม: ให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0-10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ โดย 0 = ควบคุมไม่ได้ 1-3 = ควบคุมได้เล็กน้อย 4-6 = ควบคุมได้ปานกลาง 7-9 = ควบคุมได้ดี และ 10 = ควบคุมได้สมบูรณ์ บันทึกข้อมูล 2 ครั้ง ที่ระยะ 30 และ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช แยกวัชพืชเป็นชนิด ประเภทวัชพืชใบแคบวงศ์หญ้า ประเภทใบกว้าง และประเภทกก

2. ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อพืชปลูก: ให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตา ตามระบบ 0-10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ โดย 0 = ไม่เป็นพิษ 1-3 = เป็นพิษเล็กน้อย 4-6 = เป็นพิษปานกลาง 7-9 = เป็นพิษรุนแรง และ 10 = พืชปลูกตาย บันทึกข้อมูล 3 ครั้ง ที่ระยะ 15, 30 และ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช

3. จำนวนชนิดและน้ำหนักรวมของวัชพืช: สุ่มเก็บตัวอย่าง จำแนกชนิดและประเภทวัชพืช บันทึก จำนวนและน้ำหนักรวมของวัชพืชจากทุกกรรมวิธี ๆ ละ 4 จุด แต่ละจุดมีขนาด 0.5×0.5 เมตร ที่

ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช โดยแยกเป็นชนิด ประเภทวัชพืชใบแคบวงศ์หญ้า ประเภทใบกว้าง และประเภทกก

เวลาสถานที่

ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนพฤษภาคม 2554 - กันยายน 2555 ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเพชรบุรี กรมวิชาการเกษตร จังหวัดเพชรบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอก

จากการสุ่มตัวอย่างวัชพืช ที่ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช กรรมวิธีที่ไม่กำจัดวัชพืช พบวัชพืชจำนวน 245 ต้น/ตารางเมตร ประกอบด้วยวัชพืชประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้าตีนนก หญ้าขนเล็ก หญ้าปากควาย และผักปลาบ จำนวน 17, 43, 103 และ 7 ต้น คิดเป็น 6.9, 17.6, 42.0 และ 2.9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ วัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ สาบม่วง ผักยาง ถั่วลิสงนา สะอึก และหญ้าท่าพระ จำนวน 4, 63, 4, 2 และ 2 ต้น คิดเป็น 1.6, 25.7, 1.6, 0.8 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

จากการประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อสับปะรด ที่ระยะ 15, 30 และ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า ที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช การพ่นสารกำจัดวัชพืช bromacil+diuron สับปะรดแสดงอาการเป็นพิษเล็กน้อย ส่วนกรรมวิธีอื่น ๆ สับปะรดไม่แสดงอาการเป็นพิษ (ตารางที่ 2)

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า การพ่นสารกำจัดวัชพืช bromacil+diuron สามารถควบคุมวัชพืชได้สมบูรณ์ การพ่นสารกำจัดวัชพืช tebuthiuron+pendimethalin, flumioxazin, hexaxinone/diuron, alachlor+ diuron, pendimethalin+dimethenamid, tebuthiuron+oxyfluorfen และ metribuzin สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช การพ่นสารกำจัดวัชพืช bromacil+diuron สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี ส่วนกรรมวิธีอื่นประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชลดลง (ตารางที่ 3) วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้าตีนนก (*Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.) หญ้าขนเล็ก (*Brachiaria distachya* Stapf.) หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium* L.) และ ผักยาง (*Euphorbia heterophylla* L.)

การทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังงอก

จากการสุ่มตัวอย่างวัชพืช ที่ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช กรรมวิธีที่ไม่กำจัดวัชพืช พบวัชพืชจำนวน 175 ต้น/ตารางเมตร ประกอบด้วยวัชพืชประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้าตีนนก หญ้าปากควาย หญ้ากีนี และผักปลาบ จำนวน 9, 40, 55 และ 5 ต้น คิดเป็น 5.1, 22.9, 31.4 และ 2.9

เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ วัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ ผักยาง ถั่วลิสงนา ครามขน กระเพราผี และสาบม่วง จำนวน 16, 1, 17, 8 และ 21 ต้น คิดเป็น 9.1, 0.6, 9.7, 4.6 และ 12.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ วัชพืชประเภทกก ได้แก่ กกทราย จำนวน 3 ต้น คิดเป็น 1.7 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4)

จากการประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อสับปะรด ที่ระยะ 15, 30 และ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า ที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช การพ่นสารกำจัดวัชพืชทุกชนิดสับปะรดแสดงอาการเป็นพิษเล็กน้อย และที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช การพ่นสารกำจัดวัชพืชทุกกรรมวิธีสับปะรดไม่แสดงอาการเป็นพิษ (ตารางที่ 5)

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า การพ่นสารกำจัดวัชพืช bromacil อัตรา 550 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่, bromacil+ametryn, bromacil+diuron, bromacil+atrazine และ bromacil+diuron+ ametryn สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี ส่วนที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช การพ่นสารกำจัดวัชพืช bromacil+atrazine และ bromacil+diuron+ametryn สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี รองลงมา คือ การพ่นสารกำจัดวัชพืช bromacil+ametryn และ bromacil+diuron สามารถควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง (ตารางที่ 6) วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้ากีนี่ (*Panicum maximum*) หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium* L.) ครามขน (*Indigofera hirsute* L.) สาบม่วง (*Praxelis clematidea* R.M. King) และ ผักยาง (*Euphorbia heterophylla* L.)

สรุปผลการทดลอง

1. ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอก ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า การพ่นสารกำจัดวัชพืช bromacil+diuron สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี และสารกำจัดวัชพืชไม่เป็นพิษต่อสับปะรด วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้าตีนนก (*Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.) หญ้าขนเล็ก (*Brachiaria distachya* Stapf.) หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium* L.) และ ผักยาง (*Euphorbia heterophylla* L.)

2. ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังงอก ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า การพ่นสารกำจัดวัชพืช bromacil+atrazine และ bromacil+diuron+ametryn สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี และสารกำจัดวัชพืชไม่เป็นพิษต่อสับปะรด วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้ากีนี่ (*Panicum maximum*) หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium* L.) ครามขน (*Indigofera hirsute* L.) สาบม่วง (*Praxelis clematidea* R.M. King) และ ผักยาง (*Euphorbia heterophylla* L.)

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ นายदनัย นาคประเสริฐ ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเพชรบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์พื้นที่ทดลอง ตลอดจนอำนวยความสะดวกด้านต่าง ๆ ทำให้การทดลองเป็นไปด้วยความเรียบร้อย

เอกสารอ้างอิง

- เกลียวพันธ์ สุวรรณรักษ์ เสริมศิริ คงแสงดาว และศศิธร วสุนันต์. 2544. พัฒนาการใช้และวิจัยผลตกค้างของสารกำจัดวัชพืชในสับปะรด. หน้า 72-79 ใน: รายงานผลงานวิจัย ประจำปี 2544. กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร.
- เกลียวพันธ์ สุวรรณรักษ์ ไพบูลย์ ฐัจจำ และเสริมศิริ คงแสงดาว. 2545. การควบคุมสะอึกดอกขาวเล็ก *Ipomoea obscura* (L.) KG. ในสับปะรดด้วยสารกำจัดวัชพืช. หน้า 77-83. ใน: รายงานการประชุมวิชาการกองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร 15-17 พฤษภาคม 2545 ณ พาวิลเลียน ริมน้ำ รีสอร์ท กาญจนบุรี.
- ประเสริฐ ชิตพงศ์. 2516. การวิจัยวัชพืชในสับปะรด. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิตสาขาพืชไร่นา. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 100 หน้า.
- สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปี 2552. สำนักงานสถิติการเกษตร, กรุงเทพฯ. 205 หน้า.
- Heap, I. 2009. International Survey of Herbicide Resistant Weeds. [Online]. Available. <http://www.weedscience.com> (January 12, 2011)
- Neito, J., M.A. Brando and J.T. Gonzales. 1968. Critical period of crop growth cycle for competition from weed. PANS 14(2): 159-166.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 ชนิดและปริมาณของวัชพืชที่พบในกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช (การทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอก)

ชนิดวัชพืช	จำนวนวัชพืช (ต้น/ตารางเมตร)	เปอร์เซ็นต์
หญ้าตีนนก (<i>Digitaria sanguinalis</i> (L.). Scop.)	17	6.9
หญ้าขนเล็ก (<i>Brachiaria distachya</i> Stapf.)	43	17.6
หญ้าปากควาย (<i>Dactyloctenium aegyptium</i> L.)	103	42.0
ผักปลาบ (<i>Commelina benghalensis</i> L.)	7	2.9
สาบม่วง (<i>Praxelis clematidea</i> R.M. King)	4	1.6
ผักยาง (<i>Euphorbia heterophylla</i> L.)	63	25.7
ถั่วลิสงนา (<i>Alysicarpus vaginalis</i> L.)	4	1.6
สะอึก (<i>Ipomoea gracillis</i> R. Br.)	2	0.8
หญ้าท่าพระ (<i>Richardia brasiliensis</i> Gomez.)	2	0.8
รวม	245	100.0

ตารางที่ 2 ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อสับปะรด จากการประเมินด้วยสายตาที่ระยะ 15, 30 และ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช (การทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอก)

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่)	จำนวนวันหลังพ่นสาร (วัน)		
		15	30	60
tebuthiuron+pendimethalin	125+165	0	0	0
fumioxazin	20	0	0	0
hexaxinone/diuron	600	0	0	0
alachlor+diuron	320+320	0	0	0
pendimethalin+dimethenamid	165+225	0	0	0
tebuthiuron+oxyfluorfen	125+24	0	0	0
pendimethalin+diuron	165+320	0	0	0
metribuzin	140	0	0	0
bromacil+diuron	560+560	1	1	0
UTC	-	0	0	0

หมายเหตุ: 0 = ไม่เป็นพิษ 1-3 = เป็นพิษเล็กน้อย 4-6 = เป็นพิษปานกลาง 7-9 = เป็นพิษรุนแรง และ 10 = พืชปลูกตาย

ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช โดยรวมจากการประเมินด้วยสายตา ที่ระยะ 30 และ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช (การทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอก)

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่)	จำนวนวันหลังพ่นสาร (วัน)	
		30	60
tebuthiuron+pendimethalin	125+165	9.5	4.3
flumioxazin	20	9.1	1.5
hexaxinone/diuron	600	9.7	4.4
alachlor+diuron	320+320	8.0	3.1
pendimethalin+dimethenamid	165+225	5.5	1.0
tebuthiuron+oxyfluorfen	125+24	8.6	3.1
pendimethalin+diuron	165+320	7.0	1.6
metribuzin	140	9.6	3.1
bromacil+diuron	560+560	10.0	9.7
UTC	-	0.0	0.0

หมายเหตุ: 0 = ควบคุมไม่ได้ 1-3 = ควบคุมได้เล็กน้อย 4-6 = ควบคุมได้ปานกลาง 7-9 = ควบคุมได้ดี และ 10 = ควบคุมได้สมบูรณ์

ตารางที่ 4 ชนิดและปริมาณของวัชพืชที่พบในกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช (การทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังออก)

ชนิดวัชพืช	จำนวนวัชพืช (ต้น/ตารางเมตร)	เปอร์เซ็นต์
หญ้าตีนนก (<i>Digitaria sanguinalis</i> (L.). Scop.)	9	5.1
หญ้าปากควาย (<i>Dactyloctenium aegyptium</i> L.)	40	22.9
หญ้ากีนี่ (<i>Panicum maximum</i> Jacq.)	55	31.4
ผักปลาบ (<i>Commelina benghalensis</i> L.)	5	2.9
ผักยาง (<i>Euphorbia heterophylla</i> L.)	16	9.1
ถั่วลิสงนา (<i>Alysicarpus vaginalis</i> L.)	1	0.6
ครามขน (<i>Indigofera hirsute</i> L.)	17	9.7
กระเพราผี (<i>Hyptis suaveolens</i> L.)	8	4.6
สาบม่วง (<i>Praxelis clematidea</i> R.M. King)	21	12.0
กกทราย (<i>Cyperus iria</i> L.)	3	1.7
รวม	175	100.0

ตารางที่ 5 ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อสับปะรด จากการประเมินด้วยสายตาที่ระยะ 15, 30 และ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช (การทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภท หลังออก)

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่)	จำนวนวันหลังพ่นสาร (วัน)		
		15	30	60
ametryn	512	1	1	0
ametryn	400	1	1	0
bromacil	550	1	1	0
bromacil	400	1	1	0
bromacil+ametryn	400+400	1	1	0
bromacil+diuron	400+400	1	1	0
bromacil+atrazine	400+400	1	1	0
bromacil+diuron+ametryn	400+400+400	1	1	0
diuron+ametryn	400+400	1	1	0
UTC	-	0	0	0

หมายเหตุ: 0 = ไม่เป็นพิษ 1-3 = เป็นพิษเล็กน้อย 4-6 = เป็นพิษปานกลาง 7-9 = เป็นพิษรุนแรง และ 10 = พืชปลูกตาย

ตารางที่ 6 ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช โดยรวมจากการประเมินด้วยสายตา ที่ระยะ 30 และ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช (การทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังงอก)

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่)	จำนวนวันหลังพ่นสาร (วัน)	
		30	60
ametryn	512	0.5	0.0
ametryn	400	0.2	0.0
bromacil	550	8.8	5.5
bromacil	400	5.6	3.0
bromacil+ametryn	400+400	8.7	6.0
bromacil+diuron	400+400	7.9	6.8
bromacil+atrazine	400+400	8.5	7.1
bromacil+diuron+ametryn	400+400+400	9.1	8.0
diuron+ametryn	400+400	4.2	1.0
UTC	-	0.0	0.0

หมายเหตุ: 0 = ควบคุมไม่ได้ 1-3 = ควบคุมได้เล็กน้อย 4-6 = ควบคุมได้ปานกลาง 7-9 = ควบคุมได้ดี และ 10 = ควบคุมได้สมบูรณ์

การจัดการวัชพืชบาทยา (หรือหญ้าดอกขาว) ในสับปะรด

Weed Management (*Asystasia gangetica* ssp.) in Pineapple

สิริชัย สารวิจารณ์^{1/} สำราญ สระโณ^{2/} เสริมศิริ คงแสงดาว^{1/}

^{1/} กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/} ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพัทลุง สำนักวิจัยพัฒนาการเกษตรเขตที่ 8

บทคัดย่อ

การจัดการวัชพืชบาทยาในสับปะรด เพื่อหาสารกำจัดวัชพืชที่มีประสิทธิภาพควบคุมวัชพืชประหยัด ปลอดภัย ลดต้นทุน และลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในการผลิตสับปะรด ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนกรกฎาคม 2554 - กันยายน 2555 ณ แปลงเกษตรกรผู้ปลูกสับปะรด อำเภอ ป่าบอน จังหวัดพัทลุง ประกอบด้วย 2 การทดลอง คือ 1) การทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอก วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ มี 10 กรรมวิธี ได้แก่ การพ่นสารกำจัดวัชพืช tebuthiuron+pendimethalin, flumioxazin, pendimethalin+diuron, hexaxinone/ diuron, alachlor+diuron, pendimethalin+dimethenamid และ tebuthiuron+oxyfluorfen อัตรา 125+165, 20, 165+320, 600, 320+320, 165+225 และ 125+24 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ตามลำดับ ก่อนการปลูกสับปะรด และการพ่นสารกำจัดวัชพืช metribuzin และ bromacil+diuron อัตรา 140 และ 560+560 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ตามลำดับ หลังจากปลูกสับปะรด และกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช ผลการทดลอง พบว่า ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอก ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า การพ่นสารกำจัดวัชพืชทุกกรรมวิธีสามารถควบคุมวัชพืชได้ดี และสารกำจัดวัชพืชไม่เป็นพิษต่อสับปะรด วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้าท่าพระ (*Richardia brasiliensis* Gomez.) สาบม่วง (*Praxelis clematidea* R.M. King) บาทยา (*Asystasia gangetica* ssp.) กกทราย (*Cyperus iria* L.) และ กกริงกา (*Cyperus digitatus* Roxb.)

รหัสการทดลอง 01-18-54-02-00-00-04-54

2) การทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังงอก วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ มี 10 กรรมวิธี คือ การพ่นสารกำจัดวัชพืช ametryn, ametryn, bromacil, bromacil, bromacil+ametryn, bromacil+diuron, bromacil+atrazine, bromacil+diuron+ametryn และ diuron+ametryn อัตรา 512, 400, 550, 400, 400+400, 400+400, 400+400, 400+400+400 และ 400+400 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ ตามลำดับ และกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช ผลการทดลอง พบว่า ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังงอก ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า การพ่นสารกำจัดวัชพืช bromacil+diuron, bromacil+atrazine, bromacil+diuron+ametryn และ diuron+ametryn สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี และสารกำจัดวัชพืชไม่เป็นพิษต่อสับปะรด วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้าท่าพระ (*Richardia brasiliensis* Gomez.) บานหยา (*Asystasia gangetica* ssp.) และ สาบม่วง (*Praxelis clematidea* R.M. King)

คำนำ

สับปะรด (*Ananas comosus* (L.) Merr.) เป็นพืชวงศ์ Bromeliaceae ในช่วงแรกของการปลูก สับปะรดต้องแข่งขันกับวัชพืชอย่างรุนแรง ต้องการช่วงปลอดวัชพืช 4 เดือนแรกหลังปลูก หากการกำจัดวัชพืชไม่มีประสิทธิภาพจะทำให้ผลผลิตลดลงกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ (Suwanarak *et al.*, 1998) สมพร และคณะ (2550) รายงานว่า การปลูกสับปะรดแถวเดี่ยวร่วมกับการยกร่องแล้วใช้เครื่องกำจัดวัชพืช ได้ต้นสับปะรดที่เจริญเติบโตดีกว่าการปลูกแบบแถวคู่ทั้งยกและไม่ยกร่อง และการปลูกแถวคู่มีค่าใช้จ่ายสูงกว่าการปลูกแถวเดี่ยว เกลียวพันธุ์ และคณะ (2547) แนะนำให้ใช้สารกำจัดวัชพืช bromacil+diuron+ametryn อัตรา 400+400+200 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ กำจัดวัชพืชที่งอกจากเมล็ดในดิน ใช้พ่นหลังปลูกสับปะรดขณะที่ดินมีความชื้น ก่อนวัชพืชงอกหรือเริ่มงอก 3-5 ใบ เนื่องจากสารทั้ง 3 ชนิดเข้าสู่พืชทางรากได้ดีกว่าทางใบ เกลียวพันธุ์ และคณะ (2550) รายงานว่า แนะนำชุดวิธีการจัดการวัชพืชในสับปะรด โดยมีการใช้สารกำจัดวัชพืชรวม 3 ครั้ง ครั้งแรก ก่อนไถดิน 7 วัน พ่นสาร glyphosate เพื่อกำจัดรากเหง้าและหัวใต้ดินของวัชพืช และหน่อสับปะรดจากตอเดิม ครั้งที่สอง หลังปลูกสับปะรดพ่นสาร bromacil+atrazine และครั้งที่สาม เมื่อสับปะรดอายุ 4 เดือนพ่นซ้ำด้วยสารคู่ผสมเดิม

บานหยา (*Asystasia gangetica* ssp.) พบเป็นวัชพืชในประเทศมาเลเซีย (Kiew and Vollesen, 1997) หรือชื่อที่ชาวไร่สับปะรดที่จังหวัดพัทลุงเรียกว่า “หญ้าดอกขาว” เป็นจุดอ่อนของเกษตรกรที่ทำให้ผลผลิตสับปะรดลดลง (สำราญ และคณะ, 2551) และหลายจังหวัดในภาคใต้ เป็นพืชในวงศ์ Acanthaceae จัดเป็นวัชพืชข้ามปีที่เจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ในลักษณะคืบคลานและต้นสานกันแน่นคล้ายเสื่อ ลำต้นที่ทอดไปกับพื้นดินจะสร้างรากยึดติดช่วยในการแย่งอาหาร และโตรอบคลุมพืชทุกชนิด ออกดอกและผลิตเมล็ดเร็วจำนวนมาก และสามารถติดเมล็ดออกไปได้ไกลเช่นเดียวกับต้อยติ่ง เมื่อขึ้นในไร่สับปะรดแล้ว จึงเป็นวัชพืชที่กำจัดให้หมดไปได้ยาก เนื่องจากใบสับปะรดแหลม

และคม นอกจากนี้หญ้าดอกขาวเป็นวัชพืชที่ติดอันดับอยู่ใน 28 ชนิดของ The alert list for environmental weeds มีมาตรการการกักกันที่ประเทศออสเตรเลีย มีการประกาศห้าม

สารกำจัดวัชพืชที่มีรายงานว่ากำจัดวัชพืชชนิดนี้ได้ดี คือ 2,4-D amine ซึ่งต้องพ่นกำจัดต่อเนื่อง จนกว่าจะได้ผลเป็นที่พอใจ (Toeh *et al.*, 1982.) แต่ 2,4-D amine ก็ไม่สามารถนำมาใช้กำจัดวัชพืชในแปลงสับปะรด ดังนั้น จึงมีความจำเป็นที่ต้องศึกษาวิธีการจัดการวัชพืชบาทยา เพื่อเป็นตัวเลือกให้เกษตรกรใช้สำหรับป้องกันการระบาดของวัชพืช

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. การพ่นสารกำจัดวัชพืช tebuthiuron 50% SC, pendimethalin 33% EC, pyroxasulfone 85% WDG, flumioxazin 50% WP, indazifam 50% SC, hexazinone/diuron 60% WG, alachlor 48% EC, diuron 80% WP, dimethenamid 50% EC, oxyfluorfen 48% SC, metribuzin 70% WP, bromacil 80% WP, ametryn 80% WG, bromacil 80% WP และ atrazine 80% WP

2. สารป้องกันเชื้อรา (fosetyl-aluminium 80% WP)
3. หน่อพันธุ์สับปะรด พันธุ์ปัตตาเวีย
4. เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง
5. ไม้ปักแปลง ฤกษ์กระดาษ ฤกษ์ตาข่าย

วิธีการ

การทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอก

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ มี 10 กรรมวิธี ได้แก่ การพ่นสารกำจัดวัชพืช tebuthiuron+pendimethalin, flumioxazin, pendimethalin+diuron, hexazinone/diuron, alachlor+diuron, pendimethalin+dimethenamid และ tebuthiuron+oxyfluorfen อัตรา 125+165, 20, 165+320, 600, 320+320, 165+225 และ 125+24 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ตามลำดับ ก่อนการปลูกสับปะรด และการพ่นสารกำจัดวัชพืช metribuzin และ bromacil+diuron อัตรา 140 และ 560+560 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ตามลำดับ หลังจากปลูกสับปะรด และกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช (untreated control: UTC)

การปลูกและดูแลรักษา ไถแปลงตากดินให้แห้ง พรวนดิน และคาดเศษวัชพืชออก เตรียมแปลงทดลองย่อยขนาด 6×6 เมตร ปลูกสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย แบบแถวคู่ ระยะปลูก 25×50×100 เซนติเมตร โดยขุดหน่อด้วยสารป้องกันเชื้อรา (fosetyl-aluminium 80% WP) สาเหตุโรคเน่าก่อนปลูก

พ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธี ใช้เครื่องพ่นสารแบบสับโยกสะพายหลัง ประกอบหัวพ่นแบบพัด ปริมาณน้ำ 60-80 ลิตร/ไร่

การทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังงอก

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ มี 10 กรรมวิธี คือ การพ่นสารกำจัดวัชพืช ametryn, ametryn, bromacil, bromacil, bromacil+ametryn, bromacil+diuron, bromacil+atrazine, bromacil+diuron+ametryn และ diuron+ametryn อัตรา 512, 400, 550, 400, 400+400, 400+400, 400+400, 400+400, 400+400+400 และ 400+400 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ ตามลำดับ และกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช (untreated control: UTC)

การปลูกและดูแลรักษา ไถแปลงตากดินให้แห้ง พรวนดิน และคาดเศษวัชพืชออก เตรียมแปลงทดลองย่อยขนาด 6×6 เมตร ปลูกสับประรดพันธุ์ปัตตาเวีย แบบแถวคู่ ระยะปลูก 25×50×100 เซนติเมตร โดยซุบน้ำหน่อด้วยสารป้องกันเชื้อรา (fosetyl-aluminium 80% WP) สาเหตุโรคเน่าก่อนปลูก

พ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธี เมื่อวัชพืชสูงประมาณ 15 เซนติเมตร ใช้เครื่องพ่นสารแบบสับโยกสะพายหลัง ประกอบหัวพ่นแบบพัด ปริมาณน้ำ 60-80 ลิตร/ไร่

การบันทึกข้อมูล

1. ประสิทธิภาพการควบคุม: ให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0-10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ โดย 0 = ควบคุมไม่ได้ 1-3 = ควบคุมได้เล็กน้อย 4-6 = ควบคุมได้ปานกลาง 7-9 = ควบคุมได้ดี และ 10 = ควบคุมได้สมบูรณ์ บันทึกข้อมูล 2 ครั้ง ที่ระยะ 30 และ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช แยกวัชพืชเป็นชนิด ประเภทวัชพืชใบแคบวงศ์หญ้า ประเภทใบกว้าง และประเภทกก

2. ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อพืชปลูก: ให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตา ตามระบบ 0-10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ โดย 0 = ไม่เป็นพิษ 1-3 = เป็นพิษเล็กน้อย 4-6 = เป็นพิษปานกลาง 7-9 = เป็นพิษรุนแรง และ 10 = พืชปลูกตาย บันทึกข้อมูล 3 ครั้ง ที่ระยะ 15, 30 และ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช

3. จำนวนชนิดและน้ำหนักรวมของวัชพืช: สุ่มเก็บตัวอย่าง จำแนกชนิดและประเภทวัชพืช บันทึกจำนวนและน้ำหนักรวมของวัชพืชจากทุกกรรมวิธี ๆ ละ 4 จุด แต่ละจุดมีขนาด 0.5×0.5 เมตร ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช โดยแยกเป็นชนิด ประเภทวัชพืชใบแคบวงศ์หญ้า ประเภทใบกว้าง และประเภทกก

เวลาสถานที่

ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนกรกฎาคม 2554 - กันยายน 2555 ณ แปลงเกษตรกรผู้ปลูกสับประรด อำเภอป่าบอน จังหวัดพัทลุง

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอก

จากการสุ่มตัวอย่างวัชพืช ที่ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช กรรมวิธีที่ไม่กำจัดวัชพืช พบวัชพืชจำนวน 175 ต้น/ตารางเมตร ประกอบด้วยวัชพืชประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้าตีนนก จำนวน 6 ต้น คิดเป็น 3.4 เปอร์เซ็นต์ วัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ หญ้าท่าพระ สาบม่วง ผักเสี้ยนดอกม่วง บานหยา และสาบแรังสาบกา จำนวน 72, 28, 3, 32 และ 5 ต้น คิดเป็น 41.1, 16.0, 1.7, 18.3 และ 2.9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ วัชพืชประเภทกก ได้แก่ กกทราย และกกริงกา จำนวน 12 และ 17 ต้น คิดเป็น 6.9 และ 9.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

จากการประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อสับปะรด ที่ระยะ 15, 30 และ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า ที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช การพ่นสารกำจัดวัชพืช bromacil+diuron สับปะรดแสดงอาการเป็นพิษเล็กน้อย ส่วนกรรมวิธีอื่น ๆ สับปะรดไม่แสดงอาการเป็นพิษ (ตารางที่ 2)

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า การพ่นสารกำจัดวัชพืช bromacil+diuron สามารถควบคุมวัชพืชได้สมบูรณ์ การพ่นสารกำจัดวัชพืช tebuthiuron+pendimethalin, flumioxazin, hexaxinone/diuron, alachlor+ diuron, pendimethalin+dimethenamid, tebuthiuron+oxyfluorfen, pendimethalin+ diuron และ metribuzin สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช การพ่นสารกำจัดวัชพืชทุกกรรมวิธีสามารถควบคุมวัชพืชได้ดี (ตารางที่ 3) วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้าท่าพระ (*Richardia brasiliensis* Gomez.) สาบม่วง (*Praxelis clematidea* R.M. King) บานหยา (*Asystasia gangetica* ssp.) กกทราย (*Cyperus iria* L.) และ กกริงกา (*Cyperus digitatus* Roxb.)

การทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังงอก

จากการสุ่มตัวอย่างวัชพืช ที่ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช กรรมวิธีที่ไม่กำจัดวัชพืช พบวัชพืชจำนวน 139 ต้น/ตารางเมตร ประกอบด้วยวัชพืชประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้าตีนนก 10 ต้น คิดเป็น 7.2 เปอร์เซ็นต์ วัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ หญ้าท่าพระ สาบม่วง ผักเสี้ยนดอกม่วง และ บานหยา จำนวน 17, 18, 7 และ 28 ต้น คิดเป็น 48.2, 12.9, 5.0 และ 20.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ วัชพืชประเภทกก ได้แก่ กกทราย และกกริงกา จำนวน 5 และ 4 ต้น คิดเป็น 3.6 และ 2.9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

จากการประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อสับปะรด ที่ระยะ 15, 30 และ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า ที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช การพ่นสารกำจัด

วัชพืชทุกชนิดสับปะรดแสดงอาการเป็นพิษเล็กน้อย และที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช การพ่นสารกำจัดวัชพืชทุกกรรมวิธีสับปะรดไม่แสดงอาการเป็นพิษ (ตารางที่ 5)

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า การพ่นสารกำจัดวัชพืช bromacil+diuron+ametryn สามารถควบคุมวัชพืชได้สมบูรณ์ และกรรมวิธีการพ่นสารกำจัดวัชพืชอื่นๆ สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี ส่วนที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช การพ่นสารกำจัดวัชพืช bromacil+diuron, bromacil+atrazine, bromacil+diuron+ametryn และ diuron+ametryn สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี (ตารางที่ 6) วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้าท่าพระ (*Richardia brasiliensis* Gomez.) บานหยา (*Asystasia gangetica* ssp.) และ สาบม่วง (*Praxelis clematidea* R.M. King)

สรุปผลการทดลอง

1. ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอก ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า การพ่นสารกำจัดวัชพืชทุกกรรมวิธีสามารถควบคุมวัชพืชได้ดี และสารกำจัดวัชพืชไม่เป็นพิษต่อสับปะรด วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้าท่าพระ (*Richardia brasiliensis* Gomez.) สาบม่วง (*Praxelis clematidea* R.M. King) บานหยา (*Asystasia gangetica* ssp.) กกทราย (*Cyperus iria* L.) และ กกริงกา (*Cyperus digitatus* Roxb.)

2. ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังงอก ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า การพ่นสารกำจัดวัชพืช bromacil+diuron, bromacil+atrazine, bromacil+diuron+ametryn และ diuron+ametryn สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี และสารกำจัดวัชพืชไม่เป็นพิษต่อสับปะรด วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้าท่าพระ (*Richardia brasiliensis* Gomez.) บานหยา (*Asystasia gangetica* ssp.) และ สาบม่วง (*Praxelis clematidea* R.M. King)

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ คุณดารา ชูปาน ที่ให้ความอนุเคราะห์พื้นที่ทดลอง ตลอดจนอำนวยความสะดวกด้านต่าง ๆ ทำให้การทดลองเป็นไปด้วยความเรียบร้อย

เอกสารอ้างอิง

เกลียวพันธุ์ สุวรรณรักษ์ สมพร เจริญรุ่งเรือง และเสริมศิริ คงแสงดาว. 2547. การจัดการวัชพืชในไร่สับปะรด. หน้า 8-9. ใน: รายงานความก้าวหน้าผลงานวิจัยประจำปี 2547. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

เกลียวพันธุ์ สุวรรณรักษ์ มาลี ชวนะพงษ์ วันเพ็ญ ศรีทองชัย สมพร เจริญรุ่งเรือง และจาริณี จันทร์คำ. 2550. โครงการวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูสับปะรดเพื่อแก้ปัญหาโรคเหี่ยว. เอกสารวิชาการ กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 38 หน้า.

- สมพร เหยี่ยวรุ่งเรือง อุดม วงศ์ชนะภัย และจาริณี จันทร์คำ. 2550. ผลของการยกร่องปลูกและระยะปลูกที่มีผลต่อการใช้เครื่องกำจัดวัชพืช. หน้า 19-19. ใน: รายงานผลงานวิจัยและพัฒนาด้านพืชและเทคโนโลยีการเกษตร การทดลองสิ้นสุดปีงบประมาณ 2550. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- สำราญ สารุณ สุภาค รัตนสุภา อริยธัช เสนเกตุ ศุภร์ เก็บไว้ ศรีธนา ชูธรรมธัช อุดร เจริญแสง นลินี จาริกภากร และไพโรจน์ สุวรรณจินดา. 2551. การพัฒนาเทคโนโลยีการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตสับปรดเพื่อบริโภคสดภาคใต้ตอนล่าง. หน้า 205-227. ใน: การประชุมวิชาการประจำปี 2551 ผลงานวิจัยใช้ได้จริงจากห้องสู่ห้าง ครั้งที่ 2. กรมวิชาการเกษตร 16-17 กันยายน 2551 ณ โรงแรมมิราเคิล แกรนด์ คอนเวนชั่น กรุงเทพฯ.
- Kiew, R. AND K. Vollisen. 1997. *Asystasia* (Acanthaceae) in Malaysia. JOOR : Kew Bulletin, Vol. 52 No. 4. 965-971.
- Suwanarak, K., S. Kongsangdao and S. Vasunun. 1998. Efficiency of pre-planting herbicides on weed control and growth of no-tillage pineapple (*Ananas comosus* L.). pp. 293-301. In : Proceeding of the Third International Pineapple Symposium, Thailand.
- Teoh, C.H., P.Y. Toh and H. Khairudin. 1982. Chemical control of *Asystasia intrusa* (B1), *Clidemia hirta* (Don.) and *Elettaiopsis curtisii* (Bak.) in rubber (*Hevea*) and oil palm plantations (Malaysia). International Conference on Plant Protection in the Tropic, Kuala Lumpur (Malaysia). 497-510.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 ชนิดและปริมาณของวัชพืชที่พบในกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช (การทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอก)

ชนิดวัชพืช	จำนวนวัชพืช	
	(ต้น/ตาราง เมตร)	เปอร์เซ็นต์
หญ้าตีนนก (<i>Digitaria sanguinalis</i> (L.). Scop.)	6	3.4
หญ้าท่าพระ (<i>Richardia brasiliensis</i> Gomez.)	72	41.1
สาบม่วง (<i>Praxelis clematidea</i> R.M. King)	28	16.0
ผักเสี้ยนดอกม่วง (<i>Cleome rutidosperma</i> DC.)	3	1.7
บาทยา (<i>Asystasia gangetica</i> ssp.)	32	18.3
สาบแรังสาบกา (<i>Ageratum conyzoides</i> L.)	5	2.9
กกทราย (<i>Cyperus iria</i> L.)	12	6.9
กกริงกา (<i>Cyperus digitatus</i> Roxb.)	17	9.7
รวม	175	100.0

ตารางที่ 2 ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อสับปะรด จากการประเมินด้วยสายตาที่ระยะ 15, 30 และ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช (การทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภท ก่อนงอก)

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่)	จำนวนวันหลังพ่นสาร (วัน)		
		15	30	60
tebuthiuron+pendimethalin	125+165	0	0	0
fumioxazin	20	0	0	0
hexaxinone/diuron	600	0	0	0
alachlor+diuron	320+320	0	0	0
pendimethalin+dimethenamid	165+225	0	0	0
tebuthiuron+oxyfluorfen	125+24	0	0	0
pendimethalin+diuron	165+320	0	0	0
metribuzin	140	0	0	0
bromacil+diuron	560+560	1	1	0
UTC	-	0	0	0

หมายเหตุ: 0 = ไม่เป็นพิษ 1-3 = เป็นพิษเล็กน้อย 4-6 = เป็นพิษปานกลาง 7-9 = เป็นพิษรุนแรง
และ 10 = พืชปลูกตาย

ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช โดยรวมจากการประเมินด้วยสายตา ที่ระยะ 30 และ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช (การทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอก)

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่)	จำนวนวันหลังพ่นสาร (วัน)	
		30	60
tebuthiuron+pendimethalin	125+165	9.4	8.5
flumioxazin	20	9.2	7.6
hexaxinone/diuron	600	9.5	8.9
alachlor+diuron	320+320	8.2	7.9
pendimethalin+dimethenamid	165+225	8.0	7.4
tebuthiuron+oxyfluorfen	125+24	9.0	7.5
pendimethalin+diuron	165+320	8.1	7.5
metribuzin	140	9.5	7.1
bromacil+diuron	560+560	10.0	9.7
UTC	-	0.0	0.0

หมายเหตุ: 0 = ควบคุมไม่ได้ 1-3 = ควบคุมได้เล็กน้อย 4-6 = ควบคุมได้ปานกลาง 7-9 = ควบคุมได้ดี และ 10 = ควบคุมได้สมบูรณ์

ตารางที่ 4 ชนิดและปริมาณของวัชพืชที่พบในกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช (การทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังออก)

ชนิดวัชพืช	จำนวนวัชพืช	
	(ต้น/ตารางเมตร)	เปอร์เซ็นต์
หญ้าตีนกา (<i>Eleusine indica</i> Gaertn.)	10	7.2
หญ้าท่าพระ (<i>Richardia brasiliensis</i> Gomez.)	67	48.2
สาบม่วง (<i>Praxelis clematidea</i> R.M. King)	18	12.9
ผักเสี้ยนดอกม่วง (<i>Cleome rutidosperma</i> DC.)	7	5.0
บาหลี (<i>Asystasia gangetica</i> ssp.)	28	20.1
กกทราย (<i>Cyperus iria</i> L.)	5	3.6
กกริงกา (<i>Cyperus digitatus</i> Roxb.)	4	2.9
รวม	139	100.0

ตารางที่ 5 ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อสับปะรด จากการประเมินด้วยสายตาที่ระยะ 15, 30 และ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช (การทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังออก)

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่)	จำนวนวันหลังพ่นสาร (วัน)		
		15	30	60
ametryn	512	1	1	0
ametryn	400	1	1	0
bromacil	550	1	1	0
bromacil	400	1	1	0
bromacil+ametryn	400+400	1	1	0
bromacil+diuron	400+400	1	1	0
bromacil+atrazine	400+400	1	1	0
bromacil+diuron+ametryn	400+400+400	1	1	0
diuron+ametryn	400+400	1	1	0
UTC	-	0	0	0

หมายเหตุ: 0 = ไม่เป็นพิษ 1-3 = เป็นพิษเล็กน้อย 4-6 = เป็นพิษปานกลาง 7-9 = เป็นพิษรุนแรง และ 10 = พืชปลูกตาย

ตารางที่ 6 ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช โดยรวมจากการประเมินด้วยสายตา ที่ระยะ 30 และ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช (การทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังงอก)

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่)	จำนวนวันหลังพ่นสาร (วัน)	
		30	60
ametryn	512	8.2	6.5
ametryn	400	7.5	5.5
bromacil	550	9.0	5.5
bromacil	400	8.7	4.0
bromacil+ametryn	400+400	8.7	5.5
bromacil+diuron	400+400	8.8	7.5
bromacil+atrazine	400+400	8.6	7.5
bromacil+diuron+ametryn	400+400+400	10.0	9.5
diuron+ametryn	400+400	7.2	7.0
UTC	-	0.0	0.0

หมายเหตุ: 0 = ควบคุมไม่ได้ 1-3 = ควบคุมได้เล็กน้อย 4-6 = ควบคุมได้ปานกลาง 7-9 = ควบคุมได้ดี และ 10 = ควบคุมได้สมบูรณ์

ทดสอบสารกำจัดวัชพืชที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าตอสับปะรด

Efficiency of Herbicides to Pineapple Knockdown

สิริชัย สาธูวิจารณ์ วนิดา ธาถวิล

กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การทดสอบสารกำจัดวัชพืชที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าตอสับปะรด มีวัตถุประสงค์เพื่อหาสารกำจัดวัชพืชที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าตอสับปะรด ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม 2553 – กันยายน 2554 ณ อำเภอลำทะเมนชัย จังหวัดนครราชสีมา และ อำเภอบึงสามพัน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ จำนวน 2 แปลงทดลอง วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ มี 6 กรรมวิธี ได้แก่ การพ่นสารกำจัดวัชพืช triclopyr, fluroxypyr, glyphosate, glufosinate ammonium และ paraquat อัตรา 890, 920, 850, 640 และ 330 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ และกรรมวิธีไม่พ่นสารกำจัดวัชพืช ทำการตรวจวัดผลโดยการให้คะแนนความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อต้นตอสับปะรด ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อเนื้อเยื่อภายในลำต้นสับปะรด และจำนวนหน่อที่งอกใหม่จากต้นตอสับปะรดรุ่นหลัง ผลการทดลองพบว่า การพ่นสารกำจัดวัชพืช paraquat อัตรา 890 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ สามารถทำให้ต้นตอสับปะรดแสดงอาการเป็นพิษรุนแรง แต่การพ่นสารกำจัดวัชพืช triclopyr มีประสิทธิภาพในการทำลายเนื้อเยื่อภายในลำต้นตอสับปะรดดีกว่า และจำนวนต้นตอสับปะรดที่งอกใหม่น้อยที่สุด สภาพของต้นตอสับปะรดมีผลต่อประสิทธิภาพการใช้สารกำจัดวัชพืช เพราะต้นสับปะรดที่สมบูรณ์จะมีพื้นที่รับสารกำจัดวัชพืชได้มาก ส่งผลให้สามารถดูดซึมสารกำจัดวัชพืชได้มากขึ้น

รหัสการทดลอง 01-18-54-02-00-00-03-54

คำนำ

สับปะรดเป็นพืชอุตสาหกรรมที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศ นอกจากการบริโภคสดแล้ว ยังสามารถแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ทางอุตสาหกรรม เช่น สับปะรดบรรจุกระป๋อง แยมสับปะรด น้ำสับปะรดเข้มข้น และน้ำผลไม้รวม เป็นต้น ในปี 2553 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกสับปะรด 601,000 ไร่ ปริมาณผลผลิต 1,925,000 ตัน สร้างรายได้ให้เกษตรกรผู้ปลูกสับปะรด 10,607 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2554) ในการปลูกสับปะรดมักประสบปัญหาหลายประการที่มีผลทำให้ต้นทุนการผลิตเพิ่มขึ้น ซึ่งปัญหาที่พบที่สำคัญอันหนึ่ง คือ การเตรียมพื้นที่ปลูก โดยพบว่าจะต้องมีการปลูกสับปะรดใหม่ทุก 2-3 ปีต่อครั้ง เพราะไม่เช่นนั้นผลที่ได้ในรุ่นหลัง ๆ จะมีขนาดเล็ก และผลผลิตที่ได้ไม่คุ้มกับต้นทุนการผลิต ดังนั้นในการเตรียมแปลงเพื่อปลูกสับปะรดใหม่แทนที่ต้นสับปะรดเก่าที่ให้ผลผลิตต่ำนี้ มักประสบกับปัญหาในการไถกลบ เพื่อหมักต้นตอสับปะรดเก่าเหล่านี้ ซึ่งต้องเสียค่าใช้จ่ายที่ค่อนข้างสูง เพราะจะต้องทำการไถพรวนลึก การเตรียมพื้นที่ครั้งหนึ่ง ๆ ต้องไถ 5-7 ครั้ง ขึ้นกับสภาพดินตอที่พบในแปลง และต้องใช้เวลาในการหมักประมาณ 5-8 เดือน กว่าต้นตอเก่าจะสลาย ทำให้การทำงานไม่ทันกับฤดูปลูก นอกจากวิธีดังกล่าวแล้วในปัจจุบัน พบว่ามีวิธีการกำจัดต้นตอสับปะรดแตกต่างกันไป เช่น การใช้สารกำจัดวัชพืช paraquat พ่นเพื่อทำให้ใบของต้นสับปะรดแห้ง จากนั้นทำการเผา ซึ่งทำให้ดินสูญเสียอินทรีย์วัตถุ อีกวิธีหนึ่งคือการใช้รถแทรกเตอร์ต้นตอสับปะรดเก่าออกจากแปลงปลูก วิธีการนี้จะทำให้สูญเสียทั้งอินทรีย์วัตถุที่หน้าดินและจากต้นแก่ของสับปะรด Collins, 1960 รายงานว่า น้ำหนักของต้นและใบสับปะรดที่จะสูญเสียไปอาจมีถึง 60-100 ตัน/เอเคอร์ และอีกวิธีหนึ่ง คือ การบั่นต้นตอสับปะรดด้วยจอบหมุนดีรลแทรกเตอร์ แล้วทำการไถพรวน ซึ่งส่วนของลำต้นที่ถูกสับสามารถงอกเป็นต้นใหม่อยู่ในแปลงปลูกสับปะรด ดังนั้น การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาสารเคมีที่ใช้กำจัดต้นตอสับปะรดในระหว่างเตรียมแปลงปลูกสับปะรด

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. การพ่นสารกำจัดวัชพืช triclopyr 66.8% EC, fluroxypyr 28.8% EC, glyphosate 48% SL, glufosinate ammonium 15% SL และ paraquat 27.6% EC
2. แปลงต้นตอสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย
3. เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง
4. ไม้ปักแปลง ถุงกระดาษ ถุงตาข่าย

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ มี 6 กรรมวิธี ได้แก่ การพ่นสารกำจัดวัชพืช triclopyr, fluroxypyr, glyphosate, glufosinate ammonium และ paraquat อัตรา 890, 920,

850, 640 และ 330 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ และกรรมวิธีไม่พ่นสารกำจัดวัชพืช (untreated control: UTC)

การเลือกแปลงทดลอง เลือกแปลงปลูกสับประรดพันธุ์ปัตตาเวียที่ไม่เก็บเกี่ยวผลผลิตแล้ว วัดแปลงย่อยขนาด 6×6 เมตร พ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธี ใช้เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง ประกอบหัวพ่นแบบพัด ปริมาณน้ำ 100 ลิตร/ไร่

การบันทึกข้อมูล

1. ความสูงและความกว้างทรงพุ่มของต้นตอสับประรดก่อนพ่นสารกำจัดวัชพืช
2. ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อต้นตอสับประรด ให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตา ตามระบบ 0-10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ โดย 0 = ไม่เป็นพิษ 1-3 = เป็นพิษเล็กน้อย 4-6 = เป็นพิษปานกลาง 7-9 = เป็นพิษรุนแรง และ 10 = พืชปลูกตาย บันทึกข้อมูล 4 ครั้ง ที่ระยะ 15, 30, 60 และ 90 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช

3. ตรวจสอบความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อเนื้อเยื่อภายในของลำต้น โดยนำสับประรดมาผ่าตามยาวของลำต้นออกเป็น 2 ซ้างเท่า ๆ กัน วัดเนื้อเยื่อของพื้นที่ภายในต้นสับประรดที่ถูกทำลายเน่าหรือแสดงอาการช้ำเนื่องจากสารกำจัดวัชพืช โดยประเมินด้วยสายตาคิดเทียบเป็นเปอร์เซ็นต์ต่อพื้นที่หน้าตัดทั้งหมด

4. สุ่มตัวอย่างต้นตอสับประรดรุ่นหลัง จำนวน 10 ต้น/ซ้ำ ที่ระยะ 5 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช นำมาเพาะชำในเรือนทดลอง โดยมีการตัดส่วนใบทิ้ง และให้น้ำสัปดาห์ละ 2 ครั้ง ตรวจนับจำนวนต้นสับประรดที่งอกใหม่ ที่ระยะ 30 และ 60 วัน หลังเพาะชำ

เวลาสถานที่

ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม 2553 – กันยายน 2554 ณ อำเภอลำลูกเกด จังหวัดเพชรบุรี และอำเภอมะนัง จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

แปลงทดลอง อำเภอมะนัง จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

ความสูงและความกว้างทรงพุ่มต้นตอสับประรดก่อนพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า ความสูงของต้นตอสับประรดทุกกรรมวิธี ไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าเฉลี่ย เท่ากับ 81.66 เซนติเมตร และความกว้างทรงพุ่มของต้นตอสับประรดทุกกรรมวิธี ไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าเฉลี่ย เท่ากับ 88.35 เซนติเมตร (ตารางที่ 1) แสดงให้เห็นว่าสภาพของแปลงทดลองมีความสม่ำเสมอ

ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อต้นตอสับประรด จากการประเมินด้วยสายตา ที่ระยะ 15, 30, 60 และ 90 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า ที่ระยะ 15 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช การพ่นสารกำจัดวัชพืช paraquat ต้นตอสับประรดแสดงอาการเป็นพิษรุนแรง รองลงมา คือ การพ่นสารกำจัด

วัชพืช glufosinate ammonium ต้นตอสับปะรดแสดงอาการเป็นพิษปานกลาง ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อต้นตอสับปะรดในกรรมวิธีที่พ่นสารกำจัดวัชพืชเพิ่มขึ้นทุกกรรมวิธี การพ่นสารกำจัดวัชพืช triclopyr, glufosinate ammonium และ paraquat ต้นตอสับปะรดแสดงอาการเป็นพิษรุนแรง ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช triclopyr, fluroxypyr, glufosinate ammonium และ paraquat ต้นตอสับปะรดแสดงอาการเป็นพิษรุนแรง และที่ระยะ 90 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช triclopyr, fluroxypyr และ paraquat ต้นตอสับปะรดแสดงอาการเป็นพิษรุนแรง (ตารางที่ 2)

ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อเนื้อเยื่อภายในลำต้นสับปะรด จากการประเมินด้วยสายตา พบว่า ที่ระยะ 15 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช การพ่นสารกำจัดวัชพืช triclopyr เนื้อเยื่อภายในต้นสับปะรดแสดงอาการเป็นพิษมากที่สุด เท่ากับ 55.0 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ การพ่นสารกำจัดวัชพืช fluroxypyr เนื้อเยื่อภายในต้นสับปะรดแสดงอาการเป็นพิษ เท่ากับ 35.0 เปอร์เซ็นต์ และที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช การพ่นสารกำจัดวัชพืช triclopyr เนื้อเยื่อภายในต้นสับปะรดแสดงอาการเป็นพิษมากที่สุด เท่ากับ 65.0 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ การพ่นสารกำจัดวัชพืช fluroxypyr เนื้อเยื่อภายในต้นสับปะรดแสดงอาการเป็นพิษ เท่ากับ 45.0 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3)

จำนวนต้นตอสับปะรดรุ่นหลังที่งอกใหม่ เมื่อนำไปเพาะในเรือนทดลอง พบว่า ที่ระยะ 30 วัน หลังเพาะชำ ต้นตอสับปะรดที่พ่นสารกำจัดวัชพืช paraquat มีการงอกใหม่มากที่สุด เท่ากับ 12 ต้น รองลงมา คือ ต้นตอสับปะรดที่พ่นสารกำจัดวัชพืช glyphosate มีการงอกใหม่ เท่ากับ 9 ต้น ส่วนที่ระยะ 60 วัน หลังเพาะชำ ต้นตอสับปะรดกรรมวิธีไม่พ่นสารกำจัดวัชพืช มีการงอกใหม่มากที่สุด เท่ากับ 40 ต้น รองลงมา คือ ต้นตอสับปะรดที่พ่นสารกำจัดวัชพืช paraquat มีการงอกใหม่ เท่ากับ 36 ต้น (ตารางที่ 4)

แปลงทดลอง อำเภอชะอำ จังหวัดเพชรบุรี

ความสูงและความกว้างทรงพุ่มต้นตอสับปะรดก่อนพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า ความสูงของต้นตอสับปะรดทุกกรรมวิธี ไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าเฉลี่ย เท่ากับ 83.00 เซนติเมตร และความกว้างทรงพุ่มของต้นตอสับปะรดทุกกรรมวิธี ไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าเฉลี่ย เท่ากับ 90.66 เซนติเมตร (ตารางที่ 5) แสดงให้เห็นว่าสภาพของแปลงทดลองมีความสม่ำเสมอ

ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อต้นตอสับปะรด จากการประเมินด้วยสายตา ที่ระยะ 15, 30, 60 และ 90 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า ที่ระยะ 15 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช การพ่นสารกำจัดวัชพืช paraquat ต้นตอสับปะรดแสดงอาการเป็นพิษรุนแรง รองลงมา คือ การพ่นสารกำจัดวัชพืช glufosinate ammonium ต้นตอสับปะรดแสดงอาการเป็นพิษปานกลาง ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อต้นตอสับปะรดในกรรมวิธีที่พ่นสารกำจัดวัชพืชเพิ่มขึ้นทุกกรรมวิธี การพ่นสารกำจัดวัชพืช triclopyr, fluroxypyr, glufosinate ammonium และ paraquat ต้นตอสับปะรดแสดงอาการเป็นพิษรุนแรง ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช

triclopyr, fluroxypyr และ paraquat ต้นตอสับปะรดแสดงอาการเป็นพิษรุนแรง และที่ระยะ 90 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช triclopyr, fluroxypyr และ paraquat ต้นตอสับปะรดแสดงอาการเป็นพิษรุนแรง (ตารางที่ 6)

ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อเนื้อเยื่อภายในลำต้นสับปะรด จากการประเมินด้วยสายตา พบว่า ที่ระยะ 15 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช triclopyr เนื้อเยื่อภายในต้นสับปะรดแสดงอาการเป็นพิษมากที่สุด เท่ากับ 50.0 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ การพ่นสารกำจัดวัชพืช fluroxypyr เนื้อเยื่อภายในต้นสับปะรดแสดงอาการเป็นพิษ เท่ากับ 35.0 เปอร์เซ็นต์ และที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช การพ่นสารกำจัดวัชพืช triclopyr เนื้อเยื่อภายในต้นสับปะรดแสดงอาการเป็นพิษมากที่สุด เท่ากับ 70.0 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ การพ่นสารกำจัดวัชพืช fluroxypyr เนื้อเยื่อภายในต้นสับปะรดแสดงอาการเป็นพิษ เท่ากับ 35.0 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 7)

จำนวนต้นตอสับปะรดรุ่นหลังที่งอกใหม่ เมื่อนำไปเพาะในเรือนทดลอง พบว่า ที่ระยะ 30 วัน หลังเพาะชำ ต้นตอสับปะรดกรรมวิธีไม่พ่นสารกำจัดวัชพืช มีการงอกใหม่มากที่สุด เท่ากับ 10 ต้น รองลงมา คือ ต้นตอสับปะรดที่พ่นสารกำจัดวัชพืช paraquat มีการงอกใหม่ เท่ากับ 9 ต้น ส่วนที่ระยะ 60 วัน หลังเพาะชำ ต้นตอสับปะรดกรรมวิธีไม่พ่นสารกำจัดวัชพืช มีการงอกใหม่มากที่สุด เท่ากับ 40 ต้น รองลงมา คือ ต้นตอสับปะรดที่พ่นสารกำจัดวัชพืช paraquat มีการงอกใหม่ เท่ากับ 35 ต้น (ตารางที่ 8)

สรุปผลการทดลอง

1. การพ่นสารกำจัดวัชพืช paraquat อัตรา 890 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ สามารถทำให้ต้นตอสับปะรดแสดงอาการเป็นพิษรุนแรง แต่การพ่นสารกำจัดวัชพืช triclopyr มีประสิทธิภาพในการทำลายเนื้อเยื่อภายในลำต้นตอสับปะรดดีกว่า และจำนวนต้นตอสับปะรดที่งอกใหม่น้อยที่สุด
2. สภาพของต้นตอสับปะรดมีผลต่อประสิทธิภาพการใช้สารกำจัดวัชพืช เพราะต้นสับปะรดที่สมบูรณ์จะมีพื้นที่รับสารกำจัดวัชพืชได้มาก ส่งผลให้สามารถดูดซึมสารกำจัดวัชพืชได้มากขึ้น

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ นายदनัย นาคประเสริฐ ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตร และบริษัท ทิปโก้ ไบโอดีค จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์พื้นที่ทดลอง ตลอดจนจนอำนวยการความสะดวกด้านต่าง ๆ ทำให้การทดลองเป็นไปด้วยความเรียบร้อย

เอกสารอ้างอิง

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2554. สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปี 2553. กรุงเทพฯ. 176 หน้า.

Collins, J.L. 1960. The Pineapple. Leonard Hill, London. 294 p.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 ความสูงและความกว้างทรงพุ่มของต้นตอสับปะรดก่อนพ่นสารกำจัดวัชพืช (แปลงทดลอง อ.เมือง จ.ประจวบคีรีขันธ์)

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่)	ความสูง (เซนติเมตร)	ความกว้างทรงพุ่ม (เซนติเมตร)
triclopyr	890	80.72	88.02
fluroxypyr	920	87.12	89.89
glyphosate	850	85.41	88.74
glufosinate ammonium	640	82.39	89.27
paraquat	330	80.10	86.81
UTC	-	74.27	87.39
ค่าเฉลี่ย		81.66	88.35
CV (%)		10.19	7.55

ตารางที่ 2 ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อต้นตอสับปะรด จากการประเมินด้วยสายตา ที่ระยะ 15, 30, 60 และ 90 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช (แปลงทดลอง อ.เมือง จ.ประจวบคีรีขันธ์)

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่)	ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืช			
		15 วัน	30 วัน	60 วัน	90 วัน
triclopyr	890	3.7	7.3	9.5	8.5
fluroxypyr	920	3.5	6.5	8.5	8.0
glyphosate	850	3.5	6.0	6.5	6.5
glufosinate ammonium	640	6.7	7.5	7.0	6.5
paraquat	330	8.5	9.5	9.3	8.5
UTC	-	0.0	0.0	0.0	0.0

หมายเหตุ: 0 = ไม่เป็นพิษ 1-3 = เป็นพิษเล็กน้อย 4-6 = เป็นพิษปานกลาง 7-9 = เป็นพิษรุนแรง และ 10 = พืชปลุกตาย

ตารางที่ 3 ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อเนื้อเยื่อภายในลำต้นสับปะรด จากการประเมินด้วย
 สายตา ที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช (แปลงทดลอง อ.เมือง จ.
 ประจวบคีรีขันธ์)

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่)	เปอร์เซ็นต์ความเป็นพิษ ^{1/}	
		15 วัน	30 วัน
triclopyr	890	55.0	65.0
fluroxypyr	920	35.0	45.0
glyphosate	850	30.0	40.0
glufosinate ammonium	640	20.0	25.0
paraquat	330	15.0	20.0
UTC	-	0.0	0.0

^{1/} ส่วนเนื้อเยื่อที่ถูกทำลาย คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ต่อพื้นที่หน้าตัดทั้งหมด

ตารางที่ 4 จำนวนต้นตอสับปะรดรุ่นหลังที่งอกใหม่ เมื่อนำไปเพาะชำในเรือนทดลอง ที่ระยะ 30 และ
 60 วัน หลังเพาะชำ (แปลงทดลอง อ.เมือง จ.ประจวบคีรีขันธ์)

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่)	จำนวนต้นตอสับปะรดที่งอกใหม่ (ต้น) ^{1/}	
		30 วัน	60 วัน
triclopyr	890	2	3
fluroxypyr	920	2	3
glyphosate	850	9	24
glufosinate ammonium	640	8	28
paraquat	330	12	36
UTC	-	8	40

^{1/} ค่าเฉลี่ยจำนวนต้นตอสับปะรดรุ่นหลังที่งอกใหม่ จากการสุ่มจำนวน 10 ต้น/กรรมวิธี/ซ้ำ (40 ต้น/
 กรรมวิธี) นำมาเพาะรวมกัน

ตารางที่ 5 ความสูงและความกว้างทรงพุ่มของต้นตอสับปะรดก่อนพ่นสารกำจัดวัชพืช (แปลงทดลอง อ.ชะอำ จ.เพชรบุรี)

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่)	ความสูง (เซนติเมตร)	ความกว้างทรงพุ่ม (เซนติเมตร)
triclopyr	890	86.25	88.25
fluroxypyr	920	77.75	87.00
glyphosate	850	84.25	93.25
glufosinate ammonium	640	86.00	94.75
paraquat	330	81.00	85.75
UTC	-	83.25	95.00
ค่าเฉลี่ย		83.00	90.66
CV (%)		13.19	13.05

ตารางที่ 6 ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อต้นตอสับปะรด จากการประเมินด้วยสายตา ที่ระยะ 15, 30, 60 และ 90 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช (แปลงทดลอง อ.ชะอำ จ.เพชรบุรี)

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่)	ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืช			
		15 วัน	30 วัน	60 วัน	90 วัน
triclopyr	890	4.0	7.0	9.3	8.5
fluroxypyr	920	4.4	7.5	8.6	8.1
glyphosate	850	4.5	6.5	6.5	6.5
glufosinate ammonium	640	6.5	7.2	6.5	6.3
paraquat	330	9.5	9.0	8.9	8.5
UTC	-	0.0	0.0	0.0	0.0

หมายเหตุ: 0 = ไม่เป็นพิษ 1-3 = เป็นพิษเล็กน้อย 4-6 = เป็นพิษปานกลาง 7-9 = เป็นพิษรุนแรง และ 10 = พืชปลุกตาย

ตารางที่ 7 ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อเนื้อเยื่อภายในลำต้นสับปะรด จากการประเมินด้วย
 สายตา ที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช (แปลงทดลอง อ.ชะอำ
 จ.เพชรบุรี)

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่)	เปอร์เซ็นต์ความเป็นพิษ ^{1/}	
		15 วัน	30 วัน
triclopyr	890	50.0	75.0
fluroxypyr	920	35.0	45.0
glyphosate	850	30.0	35.0
glufosinate ammonium	640	20.0	25.0
paraquat	330	20.0	25.0
UTC	-	0.0	0.0

^{1/} ส่วนเนื้อเยื่อที่ถูกทำลาย คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ต่อพื้นที่หน้าตัดทั้งหมด

ตารางที่ 8 จำนวนต้นตอสับปะรดรุ่นหลังที่งอกใหม่ เมื่อนำไปเพาะชำในเรือนทดลอง ที่ระยะ 30 และ
 60 วัน หลังเพาะชำ (แปลงทดลอง อ.ชะอำ จ.เพชรบุรี)

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่)	จำนวนต้นตอสับปะรดที่งอกใหม่ (ต้น)	
		30 วัน	60 วัน
triclopyr	890	0	1
fluroxypyr	920	2	3
glyphosate	850	7	24
glufosinate ammonium	640	5	23
paraquat	330	9	35
UTC	-	10	40

^{1/} ค่าเฉลี่ยจำนวนต้นตอสับปะรดรุ่นหลังที่งอกใหม่ จากการสุ่มจำนวน 10 ต้น/กรรมวิธี/ซ้ำ (40 ต้น/
 กรรมวิธี) นำมาเพาะรวมกัน

ศักยภาพในการแข่งขันของจิงจ้อในพืชหลัก

Competition Potential of *Operculina turpethum* (L.) Sativa Manso In Crop

สิริชัย สาธูวิจารณ์ วนิดา ธารถวิล

กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาศักยภาพในการแข่งขันของจิงจ้อในพืชหลัก เพื่อทราบข้อมูลผลกระทบและช่วงเวลาที่เหมาะสมในการจัดการจิงจ้อในอ้อย ดำเนินการทดลองในสภาพเรือนทดลอง 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 ผลการทดลองในสภาพเรือนทดลอง พบว่า ความสูงอ้อย ที่ระยะ 1-3 เดือน หลังย้ายปลูก มีความแตกต่างกันตามอัตราส่วนการปลูกอ้อยกับจิงจ้อ แต่หลังจากนั้นไม่แตกต่างกัน อัตราส่วนการปลูกอ้อยกับจิงจ้อไม่มีผลต่อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของลำต้นอ้อย แต่มีผลต่อการแตกกอของอ้อย ที่ระยะ 4 เดือน หลังย้ายปลูกไปแล้ว การปลูกอ้อยกับจิงจ้อ อัตราส่วน 100:0 ให้ผลผลิตอ้อยสูงสุด คือ 19.0 กิโลกรัม ในสภาพไร่ควรกำจัดจิงจ้อดอกขาวไม่ควรเกินสองเดือนหลังออก

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-03-09-54

คำนำ

อ้อย เป็นพืชที่มีอายุในการเก็บเกี่ยวยาวนาน จึงต้องให้ความสำคัญกับการจัดการวัชพืชเพราะถ้าไม่สามารถจัดการได้จะส่งผลให้ผลผลิตของอ้อยลดต่ำลงเป็นอันมาก รวมถึงการเพิ่มขึ้นของต้นทุนการผลิต วัชพืชในไร่อ้อยสามารถขยายพันธุ์และแพร่ระบาดได้รวดเร็ว ทำให้การควบคุมและกำจัดยาก วัชพืชเหล่านั้นสามารถปรับตัวอยู่ได้เกือบทุกสภาพแวดล้อม ตัวอย่างเช่น เห็บหมู 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 เป็นอุปสรรคในการเก็บเกี่ยวเพราะวัชพืชเหล่านี้จะเลื้อยพันต้นอ้อย และมีการสร้างเมล็ดร่วงหล่นในแปลงปลูก ซึ่งพร้อมที่จะขึ้นในฤดูปลูกถัดไปเมื่อมีสภาพที่เหมาะสม

จิงจ้อดอกขาว (*Operculina turpethum* (L.) Sativa Manso) เป็นไม้ล้มลุกเลื้อยพัน ต้นเป็นไม้ล้มลุกพันเลื้อย ยาว 5-10 เมตร ใบเป็นใบเดี่ยวเรียงสลับ รูปขอบขนานวงรีหรือรูปขอบขนาน กว้าง 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 แ่งแย่งธาตุอาหาร และปัจจัยจำกัดอื่น ๆ กับพืชปลูกได้ดี ทำให้ผลผลิตของพืชปลูกลดลงอย่างมากแม้มีความหนาแน่นต่ำและมักควบคุมได้ยาก วัชพืชร้ายแรงส่วนใหญ่มีลักษณะรุกรานและสามารถดำรงอยู่ในธรรมชาติได้ดี โดยมีลักษณะดังนี้ 1) มีการเจริญเติบโตทางต้นอย่างรวดเร็ว 2) สามารถขยายพันธุ์ได้จำนวนมากในระยะเวลายาว 3) สามารถปรับตัวให้มีชีวิตอยู่ได้แม้ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม 4) ส่วนที่ใช้ขยายพันธุ์มักมีการพักตัวเมื่อสภาพไม่เหมาะสม 5) วัชพืชร้ายแรงหรือพืชรุกรานหลายชนิดมักมีการปลดปล่อยสารบางชนิด ทำให้แมลงหรือศัตรูไม่ชอบ และ 6) การไม่มีศัตรูพืชตามธรรมชาติ ทำให้พืชนั้นเจริญเติบโตโดยไม่ถูกรบกวน

ดังนั้น การศึกษาศักยภาพในการแข่งขันของจิงจ้อในอ้อย จึงมีความจำเป็นเพื่อนำข้อมูลที่ได้ ประกอบการวางแผนการจัดการวัชพืชอย่างมีประสิทธิภาพและลดต้นทุนการผลิตต่อไป

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

ดำเนินการทดลองในสภาพเรือนทดลอง ระหว่างเดือนตุลาคม 2553-กันยายน 2555 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 ซึ่งสนธิพร. 2552. พืชต่างถิ่น: วัชพืชในประเทศไทย. หน้า 13-21 ใน: เอกสารประกอบการฝึกอบรม วัชพืชสำคัญและการจัดการในพืชเศรษฐกิจ. กลุ่มวิจัยวัชพืช 29-30 เมษายน 2552 ณ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.
- 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	132.7 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%

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 น้ำหนักแห้งของจิ้งจ้อขณะเก็บเกี่ยวผลผลิตอ้อยและผลผลิตอ้อย

กรรมวิธี	น้ำหนักแห้งจิ้งจ้อ ^{1/} (กรัม)	ผลผลิตอ้อย (กิโลกรัม)
อัตราส่วนระหว่างอ้อยกับจิ้งจ้อ 100:0	0.0 c	19.0 a
อัตราส่วนระหว่างอ้อยกับจิ้งจ้อ 75:25	315.0 b	13.8 b
อัตราส่วนระหว่างอ้อยกับจิ้งจ้อ 50:50	430.0 b	9.6 bc
อัตราส่วนระหว่างอ้อยกับจิ้งจ้อ 25:75	642.5 a	5.6 c
อัตราส่วนระหว่างอ้อยกับจิ้งจ้อ 0:100	745.0 a	0.0 d
ค่าเฉลี่ย	426.5	9.61
CV (%)	18.93	30.42

^{1/} ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การใช้แมลงช้างปีกใส *Plesiochrysa ramburi* ควบคุมเพลี้ยแป้งในน้อยหน่า
Utilization of Green Lacewing *Plesiochrysa ramburi* for Control
Mealybugs in
Custard apple

ประภัสสร เขยคำแหง¹ บุษบง มั่นมั่นคง¹ สายชล แสงแก้ว²

¹กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

²ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครราชสีมา สำนักวิจัยพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4

รายงานความก้าวหน้า

ผลการทดลองในปี 2555 พบว่าแมลงช้างปีกใส *Plesiochrysa ramburi* มีประสิทธิภาพในการกินเพลี้ยแป้งบนผลน้อยหน่า ตามระยะวัยที่ 1 2 และ 3 คือ 32.15 ± 20.04 209.8 ± 45.80 และ 332.25 ± 81.43 ตัวตามลำดับ สามารถดำรงชีวิตบนผลน้อยหน่าจนกระทั่งเข้าตักแด้ และใช้แมลงช้างปีกใส *P. ramburi* วัย 2 ควบคุมเพลี้ยแป้งน้อยหน่า พบว่าเมื่อเริ่มพบเพลี้ยแป้ง 5 – 10 ตัวต่อผลน้อยหน่า ใช้ตัวอ่อนแมลงช้างปีกใส วัย 2 จำนวน 2 ตัวต่อผล สามารถควบคุมเพลี้ยแป้งได้ ภายใน 5 วัน และเพลี้ยแป้งบนผลน้อยหน่า มีปริมาณ 10-20 ตัว ใช้ตัวอ่อนแมลงช้างปีกใส วัย 2 จำนวน 5 ตัวต่อผลภายใน 5 วัน ถ้าปริมาณเพลี้ยแป้งบนผลน้อยหน่าระบาดมากเกิน 2 ใน 4 ส่วนของผลน้อยหน่าใช้แมลงช้างปีกใส จำนวน 10 ตัว ภายใน 5 วัน

รหัสการทดลอง 02-04-54-03-01-00-05-55

คำนำ

ปัจจุบันน้อยหน่าเป็นผลไม้ที่นิยมบริโภคของคนทั่วไป ผลผลิตส่วนใหญ่ใช้บริโภคภายในประเทศ และมีผลผลิตบางส่วนส่งไปจำหน่ายต่างประเทศ เช่น จีน มาเลเซีย ฮองกง สิงคโปร์ เวียดนาม เป็นต้น ปริมาณและมูลค่าการส่งออก (ผลสด) ปี 2540 มีปริมาณมากถึง 136 ตัน แต่ในปี 2541 ปริมาณการส่งออกลดลงโดยส่งออกเพียง 5 ตัน เนื่องจาก การส่งผลไม้ไปจำหน่ายต่างประเทศเหล่านั้น จะต้องมีการขบวนการผลิตต้นทางที่ปลอดภัยทั้งต่อเกษตรกร และผู้บริโภค ไม่เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม น้อยหน่าเป็นไม้ผลที่ปลูกง่าย ให้ผลดก ทนแล้ง นิยมปลูกในเขตร้อน และเขตอบอุ่นในส่วนต่างๆของโลก มีรสชาติดีนิยมบริโภคทั่วไปทั้งในและต่างประเทศ พื้นที่ปลูกน้อยหน่าและน้อยหน่าลูกผสมของประเทศไทยโดยรวมปี 2546 เท่ากับ 232,579 ไร่ ปลูกกันมากในเขตพื้นที่ อําเภอบางบาล จังหวัดนครราชสีมา ซึ่งเป็นแหล่งปลูกที่มีชื่อเสียง และใหญ่ที่สุดในประเทศไทย แมลงศัตรูที่สำคัญของน้อยหน่า คือ เพลี้ยแป้ง มีลักษณะตัวสีขาว มีสารสีชาวลายแป้งติดอยู่ตามตัว เพลี้ยแป้งจะอาศัยดูดกินน้ำเลี้ยงที่ใบและผล ตั้งแต่ผลยังเล็กอยู่จนกระทั่งผลแก่ โดยตัวเพลี้ยจะเกาะอยู่ตามร่องของผลน้อยหน่า เพลี้ยแป้งตัวเต็มวัย เพศเมียมีขนาดลำตัวยาวประมาณ 3 มม. สีเหลืองอ่อน ลักษณะอ้วนสั้น มีผนังปีกปกคลุมลำตัว วางไข่เป็นกลุ่ม ๆ ละ 100-200 ฟองบนผล กิ่ง และใบ ตัวเมียหนึ่งตัวสามารถวางไข่ได้ 600-800 ฟอง ในเวลา 14 วัน ไข่จะฟักอยู่ในถุงใต้ท้องตัวเมียประมาณ 6 - 10 วัน จึงจะออกเป็นตัวอ่อน ตัวอ่อนที่ฟักออกจากไข่ใหม่ ๆ มีสีเหลืองและไม่มีผนังปีก จะคลานออกจากกลุ่มไข่หาที่ที่เหมาะสมที่จะเกาะกินและดูดน้ำเลี้ยง ตัวเมียจะมีการลอกคราบจำนวน 3 ครั้ง ด้วยกันและไม่มีปีก ส่วนตัวผู้จะลอกคราบ 4 ครั้ง มีปีกและมีขนาดเล็กกว่าตัวเมีย ตัวเมียจะวางไข่หลังจากการลอกคราบครั้งที่ 3 ภายในเวลา 1 ปี เพลี้ยแป้งสามารถขยายพันธุ์ได้ 2 - 3 รุ่น ในระยะที่ไม่มีพืชอาหารหลัก เพลี้ยแป้งจะอาศัยอยู่ใต้ดินตามรากพืช เช่น รากหญ้าแห้วหมู โดยมีมดซึ่งอาศัยกินสิ่งขับถ่ายของเพลี้ยแป้งเป็นพาหนะนำไป ยังกิ่งต่างๆต่อไป การป้องกันกำจัดทำได้โดยการฉีดด้วยสารฆ่าแมลงที่มีขายตามท้องตลาด เช่น ไบโตริน โพรทีดอล พาราไรออก เป็นต้น น้อยหน่าจึงมี จากการสำรวจแมลงศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้งพบแมลงศัตรูธรรมชาติหลายชนิด เช่น แมลงช้างปีกใส *Chrysopa* sp. แมลงช้างปีกใสแปดจุด *Ankylopteryx octopunctata* แมลงช้างปีกสีน้ำตาล *Hemerobius* sp. ต่อหลวงต่อรัง ตัวงเต่าปีกลายหยัก *Menochilus sexmaculatus* ตัวงเต่าโรโดเลีย *Rodolia* sp., ตัวงเต่าสคิมนัส *Scymnus* sp. ตัวงเต่าสีส้ม เป็นแมลงห้ำที่พบสม่ำเสมอในแหล่งที่พบเพลี้ยแป้งระบาด และจากการสำรวจในแปลงปลูกน้อยหน่า อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา ในปีที่ผ่านมา พบแมลงศัตรูธรรมชาติ คือ แมลงช้างปีกใส และหนอนผีเสื้อสีน้ำเงิน *Spalgis* sp. และ Hassan 1976 รายงานว่าในต่างประเทศใช้แมลงช้างปีกใสควบคุมเพลี้ยอ่อนในพริก และควบคุมไรในแอปเปิ้ล นอกจากนี้ยังใช้ควบคุมเพลี้ยจักจั่นในไร่องุ่นโดยใช้อัตราแมลงช้างปีกใส 1-16 ตัวต่อต้น สามารถควบคุมเพลี้ยจักจั่นลดลง 31% (Daana and YoKota, 1997) นอกจากนี้ Tauben and Tauben 1993 รายงานว่าแมลงช้างปีกใสยังเคยถูกนำไปใช้ในไร่ฝ้ายของรัฐเท็กซัส สามารถลดประชากรของหนอนเจาะสมอฝ้ายได้ถึง 96% และยังสามารถนำไปใช้ในพืชอื่นๆเช่นข้าวโพด ถั่ว กะหล่ำปลี และแอปเปิ้ล เพื่อควบคุมเพลี้ยอ่อน

ศัตรูพืชดังกล่าว แต่ต้องปล่อยเป็นปริมาณมาก McEwen,P.New,T.R.and Whittington,A.e.2001 ได้รวบรวม การศึกษาการใช้รูปแบบการใช้แมลงข้างปีกใส ในประเทศต่างๆ เช่น ออสเตรเลีย ฝรั่งเศส ประเทศแถบอเมริกาเหนือ พบว่ามีการศึกษาการใช้มาอย่างต่อเนื่อง ในประเทศไทย พิมพ์พร 2545 รายงานว่าแมลงข้างปีกใส เป็นแมลงห้าหัวไปกินอาหารได้หลายชนิด ตัวอ่อนแมลงข้างปีกใส 1 ตัว สามารถกินเพลี้ยอ่อนได้ 100-600 ตัวแมลงข้างปีกใสมีประโยชน์มากในการนำไปปล่อยในโรงเรือนที่ปลูกพืชภายใต้ระบบการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน ดังนั้นการศึกษาการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติ ร่วมกับวิธีการอื่นๆแบบผสมผสาน ตามแนวทางการผลิตพืชตามระบบเกษตรที่ดีที่เหมาะสม(GAP) จึงเป็นแนวทางการผลิตน้อยหน้าได้อีกวิธีหนึ่ง เพื่อให้ผลผลิตมีคุณภาพดี ตรงตามมาตรฐาน ผลผลิตสูง คุ่มค่าการลงทุน ลดการใช้สารฆ่าแมลง มีขบวนการผลิตปลอดภัยต่อเกษตรกรและผู้บริโภค ไม่เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมดังกล่าว และมีการใช้ทรัพยากรให้เกิดประโยชน์สูงสุด จะเป็นแนวทางช่วยลดความเสียหายให้กับเกษตรกร ขณะเดียวกันยังจะช่วยลดต้นทุนการผลิต ลดปริมาณการใช้สารเคมีและลดปัญหาสารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อมด้วย

แต่ปัจจุบันการผลิตน้อยหน้าที่ จังหวัดนครราชสีมามีการใช้สารฆ่าแมลงในปริมาณมาก เพราะอย่างน้อยหน้ามี แมลงศัตรูและโรคหลายชนิด แมลงศัตรูที่สำคัญชนิดหนึ่งคือเพลี้ยแป้ง ทำให้ในฤดูปลูกต้องพ่นสารฆ่าแมลงหลายครั้ง ปัจจุบันน้อยหน้าปลูกและเก็บผลผลิตได้เกือบตลอดทั้งปี เกษตรกรจะได้รับพิษจากสารฆ่าแมลงอยู่ตลอดเวลา ดังนั้นการลดการใช้สารฆ่าแมลงก็จำเป็นต้องมีการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติเข้ามาช่วย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- แมลงข้างปีกใส
- แปลงน้อยหน้า
- ผ้ามุ้ง ถุงห่อผลน้อยหน้า
- แว่นขยาย กรรไกร เครื่องนับแมลง

วิธีการ

1. ศึกษาประสิทธิภาพการกินเพลี้ยแป้งน้อยหน้าของแมลงข้างปีกใสในห้องปฏิบัติการ นำผลน้อยหน้าที่มีเพลี้ยแป้งระบาดสม่ำเสมอ จำนวนที่เท่ากันนับปริมาณเพลี้ยแป้งต่อจากนั้นนำตัวอ่อนแมลงข้างปีกใสวัย 1 ใสในกล่องพลาสติกที่มีผลน้อยหน้า 1 ตัว/กล่อง/ผล ใช้จำนวนผลน้อยหน้า 20 ผลตรวจนับปริมาณการกินทุกวัน เพิ่มปริมาณเพลี้ยแป้งลงบนผลน้อยหน้าทุกวัน จนกระทั่งตัวอ่อนแมลงข้างปีกใสเข้าดักแด้ บันทึกจำนวนเพลี้ยแป้งต่อวันที่ตัวอ่อนแมลงข้างปีกใสกิน
2. ศึกษาอัตราการใช้แมลงข้างปีกใสในการควบคุมเพลี้ยแป้งในสภาพแปลงทดลอง

ใช้ตัวอ่อนแมลงข้างปีกใสในวัย 2 วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ใช้ถุงคลุม
ผลน้อยหน้า ต้นละ 10 ผล สํารวจปริมาณการระบาดของเพลี้ยแป้งให้สม่ำเสมอทุกผล ปล่อยแมลงข้าง
ปีกใสตามกรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 ปล่อยแมลงข้างปีกใสวัย 2 อัตรา 1 ตัว/ผล

กรรมวิธีที่ 2 ปล่อยแมลงข้างปีกใสวัย 2 อัตรา 5 ตัว/ผล

กรรมวิธีที่ 3 ปล่อยแมลงข้างปีกใสวัย 2 อัตรา 10 ตัว/ผล

กรรมวิธีที่ 4 ปล่อยแมลงข้างปีกใสวัย 2 อัตรา 15 ตัว/ผล

กรรมวิธีที่ 5 Control

เวลาและสถานที่ ตุลาคม 2554 สิ้นสุด กันยายน 2556
แปลงทดลอง จ.นครราชสีมา
ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการทดลองในปี 2555 พบว่าแมลงข้างปีกใส *Plesiochrysa ramburi* มีประสิทธิภาพใน
การกินเพลี้ยแป้งบนผลน้อยหน้า ตามระยะวัยที่ 1 2 และ 3 32.15 ± 20.04 209.8 ± 45.80 และ
 332.25 ± 81.43 ตัวตามลำดับ สามารถดำรงชีวิตบนผลน้อยหน้าจนกระทั่งเข้าดักแด้ นอกจากนั้นผล
การทดลองในห้องปฏิบัติการ โดยใช้เพลี้ยแป้งที่อยู่บนผลน้อยหน้าจำนวนที่แตกต่าง และแมลงข้างปีก
ใส *P. ramburi* วัย 2 โดยนับเพลี้ยแป้งที่อยู่บนผลน้อยหน้าให้มีปริมาณเท่ากัน แล้วจึงปล่อยแมลงข้าง
ปีกใส *P. ramburi* วัย 2 ลงบนผลน้อยหน้า พบว่าเมื่อเริ่มพบเพลี้ยแป้ง 5 – 10 ตัว ต่อผลน้อยหน้า
ใช้ตัวอ่อนแมลงข้างปีกใส วัย 2 จำนวน 2 ตัวต่อผล สามารถควบคุมเพลี้ยแป้งได้ ภายใน 5 วัน และถ้า
พบเพลี้ยแป้งบนผลน้อยหน้า มีปริมาณ 10-20 ตัว ใช้ตัวอ่อนแมลงข้างปีกใส วัย 2 จำนวน 5 ตัวต่อผล
ภายใน 5 วัน ถ้าปริมาณเพลี้ยแป้งบนผลน้อยหน้าระบาดมากเกิน 2 ใน 4 ส่วนของผลน้อยหน้าใช้แมลง
ข้างปีกใส จำนวน 10 ตัว ภายใน 5 วัน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลการทดลองในปี 2555 พบว่าแมลงข้างปีกใส *Plesiochrysa ramburi* มีประสิทธิภาพใน
การกินเพลี้ยแป้งบนผลน้อยหน้า ตามระยะวัยที่ 1 2 และ 3 32.15 ± 20.04 209.8 ± 45.80 และ
 332.25 ± 81.43 ตัวตามลำดับ สามารถดำรงชีวิตบนผลน้อยหน้าจนกระทั่งเข้าดักแด้ และใช้แมลงข้าง
ปีกใส *P. ramburi* วัย 2 ควบคุมเพลี้ยแป้งน้อยหน้า พบว่าเมื่อเริ่มพบเพลี้ยแป้ง 5 – 10 ตัวต่อผล
น้อยหน้า ใช้ตัวอ่อนแมลงข้างปีกใส วัย 2 จำนวน 2 ตัวต่อผล สามารถควบคุมเพลี้ยแป้งได้ ภายใน 5
วัน และเพลี้ยแป้งบนผลน้อยหน้า มีปริมาณ 10-20 ตัว ใช้ตัวอ่อนแมลงข้างปีกใส วัย 2 จำนวน 5 ตัว

ต่อผลภายใน 5 วัน ถ้าปริมาณเพลี้ยแป้งบนผลน้อยหน่าระบาดมากเกินไป 2 ใน 4 ส่วนของผลน้อยหน่าใช้
แมลงช้างปีกใส จำนวน 10 ตัว ภายใน 5 วัน

เอกสารอ้างอิง

- พิมลพร นันทะ. 2545. แมลงช้างปีกใส. ใน : ศัตรูธรรมชาติหัวใจของ IPM. กองกีฏและสัตว
วิทยา กรมวิชาการเกษตร หน้า 14-17
- Daane KM, Yokota GY, Rasmussen YD, et al. 1997. Effectiveness of leafhopper
control varies with Lacewing release methods. Cal Ag 47(6):19-23
- Hoffman, M.P. and Frodsham, A.C. 1993. Natural Enemies of Vegetable Insect Pests.
Cooperative Extension, Cornell University Ithaca, N.Y 63 pp.
- McEwen, P.New, T.R.and Whittington, A.e. (2001) Lacewings in the Crop
Environment Cambridge University press 2001.
- Tauben, M.J. and Tauben, C.A. 1993. Adaptation to temporal variation in habitata:
categorizing, predicting and influencing their evolution in agro ecosystems
In: Evolution of insect pest. Pp 103-127. John Wiley&Sons. NY.

ศึกษาชนิดของพืชกับดักและพืชอาศัยของศัตรูธรรมชาติ ในระบบการปลูกพืชอินทรีย์ภาคกลาง

Study on Trap Crops and Host Plants of Beneficial Insects in
Vegetable Organic Farming System in Central Region

พัชรวิพรรณ มณีสาคร อัมพร วิโนทัย รจนา ไวยเจริญ

ประภัสสร เขยคำแหง สุวัฒน์ พูลพาน

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาชนิดของพืชกับดัก และพืชอาศัยแมลงที่มีประโยชน์ในระบบการปลูกพืชตระกูลกะหล่ำอินทรีย์ ทำการสำรวจแปลงปลูกพืชตระกูลกะหล่ำในเขตภาคกลางที่จังหวัด นนทบุรี ปทุมธานี ลพบุรี และนครสวรรค์ จากนั้นดำเนินการทดสอบประสิทธิภาพของพืชกับดักแต่ละชนิดที่จะสามารถนำมาปลูกร่วมกับพืชปลูกหลักที่เป็นพืชตระกูลกะหล่ำได้อย่างเหมาะสม โดยทำการทดสอบที่ แปลงเกษตรกร ต.บ้านโพธิ์ อ.เมืองสุพรรณบุรี จ.สุพรรณบุรี การทดลองนี้ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึง กันยายน 2555 เริ่มจากการสำรวจพืชที่พบแมลงศัตรูพืช ตระกูลกะหล่ำ และศัตรูธรรมชาติ ในแปลงปลูกพืชตระกูลกะหล่ำและรอบๆ แปลงปลูก เก็บตัวอย่าง พืชมาจำแนกชนิดวัชพืชที่พบแมลง ผลการสำรวจพบพืชที่พบแมลงศัตรูพืชตระกูลกะหล่ำ ได้แก่ ผักกวางตุ้ง ผักชีวน้อย ผักเสี้ยน หล้าชันภาค ผักเป็ดไทย หล้าตีนกา หล้าตีนนก พืชที่พบศัตรูธรรมชาติ ได้แก่ กระจ่ายจาม ผักโขม ตีนตุ๊กแก หล้าตีนกา หล้าตีนนก กะเม็ง และหล้าแพรง แมลงศัตรูพืชตระกูลกะหล่ำที่พบบนวัชพืชหลายชนิด ได้แก่ ตัวงมหัดกระโดด ตัวงมหัดผัก เพลี้ยอ่อน และหนอนผีเสื้อ เป็นต้น ศัตรูธรรมชาติที่พบบนวัชพืชในแปลงปลูกพืช ได้แก่ ตัวงเต่าลาย ตัวงเต่าลายขาว ตัวงเต่าส้ม หนอนแมลงวันดอกไม้ แมลงวันขย่าว ตัวงก้นกระดก มด และแมงมุม พืชที่มีแนวโน้มว่าจะมีศักยภาพในการเป็นพืชกับดัก ได้แก่ ผักชีวน้อย กวางตุ้ง และผักเสี้ยน นอกจากนี้การสำรวจแปลงปลูกคะน้าที่ ต. หน้าไม้ อ. ลาดหลุมแก้ว จ. ปทุมธานี ได้เริ่มใช้วิธีการปลูกพืชกับดักแมลงโดยปลูกผักกาดขาว และผักกวางตุ้ง ดักแมลงศัตรูผักคะน้าได้ผลดี

การทดสอบประสิทธิภาพของพืชกับดักที่นำมาปลูกร่วมกับพืชปลูกหลักโดยเลือกปลูกพืชกับดักที่เป็นพืชในตระกูลเดียวกับพืชปลูกหลักคะน้า ทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ กวางตุ้ง ผักกาดเขียว ผักกาดขาว ผักกาดหัว และคะน้าฮ่องกง โดยปลูกล้อมรอบแปลงพืชปลูกหลัก คือ คะน้า ทั้ง 4 ด้าน พบว่าพืชที่สามารถดักแมลงได้หลายชนิด คือ กวางตุ้ง และเมื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบแมลงศัตรูพืชแต่ละชนิดหลังปลูก 35 วัน พบว่ากวางตุ้งเป็นพืชที่พบตัวงมหัดผักจำนวน 0.23 ตัว/ต้น

รหัสการทดลอง 03-02-54-02-01-01-54

ขณะเดียวกันจำนวนหนอนคืบกะหล่ำในกวาดตั้งพบจำนวน 0.03 ตัว/ต้น สำหรับหนอนกระทุ้ ผักพบว่าทำลายผักกวาดตั้งจำนวน 0.04 ตัว/ต้น ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติในแต่ละพืช สำหรับหนอน เจาะยอดกะหล่ำตรวจพบจำนวน 0.11 ตัว/ต้น ที่กวาดตั้งอายุ 14 วัน หลังหวานเมล็ด และเนื่องจากมี แมลงศัตรูธรรมชาติในแปลงปลูกมากเพียงพอที่จะช่วยควบคุมจำนวนแมลงศัตรูพืชด้วย ทำให้ผลผลิต ไม่เสียหายเกินระดับเศรษฐกิจ สามารถจำหน่ายได้ในราคาเดียวกันกับผักทั่วไปในท้องตลาด ซึ่งศัตรู ธรรมชาติที่พบกระจายทั่วแปลงทดสอบ ได้แก่ แตนเบียนหลายชนิด แมลงวัน แมลงปอ ดั่งเต่าแดง แมลงหางหนีบ และแมงมุม

คำนำ

ระบบการผลิตพืชอินทรีย์ เป็นระบบเกษตรกรรมแบบองค์รวม ที่มุ่งหมายในการปกป้องดูแล พืช ให้มีความแข็งแรงทนทานต่อศัตรูและสภาพแวดล้อม มากกว่าการขจัดปัญหาหรือศัตรู เน้นการ ผลิตพืชให้มีความปลอดภัยตลอดกระบวนการผลิต ไม่ทำลายสิ่งแวดล้อม และมีความเป็นธรรมใน สังคม การผลิตพืชอินทรีย์จึงต้องมีความระมัดระวังในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยไม่ใช้สารเคมีที่เป็น อันตราย และเป็นไปตามมาตรฐานการผลิตพืชอินทรีย์ (กรมวิชาการเกษตร, 2543) หลักการปฏิบัติที่ สำคัญคือ ปรับปรุงดินให้สมบูรณ์ ใช้พันธุ์พืชต้านทาน/ทนทาน และมีความหลากหลายทางชีวภาพ ตลอดจนปลูกพืชในช่วงฤดูกาลที่เหมาะสม หรือปรับองค์ประกอบแวดล้อมให้อ่อนนุ่มมากที่สุด และ มีความจำเป็นต้องใช้เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมแมลง จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ควบคุมโรค และหรือการปล่อยศัตรู ธรรมชาติบางชนิด เพื่อช่วยควบคุมปริมาณศัตรูพืชให้อยู่ในระดับเศรษฐกิจ ปัจจุบันการผลิตพืช อินทรีย์ของเกษตรกรในภูมิภาคต่างๆ น้อยรายที่จะผลิตพืชได้ผลดีจนเป็นที่น่าพอใจโดยมีความยั่งยืน และผลิตเป็นการค้าได้ผลผลิตที่สม่ำเสมอตลอดทั้งปี โดยเฉพาะอย่างยิ่งพืชผักที่มีความต้องการบริโภค ในปริมาณมากเป็นประจำวัน และมีปัญหาศัตรูพืชมากที่สุด จากการติดตามศึกษาแนวทางการปฏิบัติ ในการจัดระบบการปลูกพืชอินทรีย์ของเกษตรกรกลุ่มต่างๆ ของประเสริฐ (2550) พบว่าในการปลูก พืชผักอินทรีย์ที่ใช้วิธีการปลูกพืชแบบผสมผสาน อาทิ การปลูกปอเทืองแซมไว้ในแปลงผัก ปลูก ผักกาดหอมแซมผักกาดขาว/ผักกาดกวาดตั้ง/แครอท ปลูกปอเทือง แซงไว้ในด้านข้างร่องถั่วฝักยาว และด้วยภูมิปัญญาของเกษตรกร พบว่า ผักโขม เป็นพืชที่ดั่งหมัดผักชอบกินและเป็นพืชกับดักแมลง (Trap crop) ได้ดีในแปลงผลิตผักกวาดตั้ง รวมทั้งการใช้ปอเทืองเพื่อเป็นกับดักแมลงศัตรูผัก

พืชกับดักที่นำมาปลูกร่วมกับพืชปลูกหลักนั้น ตามหลักการแล้วการเลือกปลูกพืชกับดักจะ ขึ้นอยู่กับความชอบของแมลงศัตรูพืชปลูกหลัก ดังนั้นเทคนิคในการเลือกปลูกพืชกับดักคือ เลือกชนิด พืชกับดักที่อยู่ในตระกูลเดียวกันซึ่งแมลงชอบมากกว่าพืชปลูกหลักโดยปลูกไปพร้อมกัน หรือปลูกพืช หลักเป็นพืชกับดักด้วยโดยปลูกนำไปก่อนการปลูกพืชหลักแปลงใหญ่ เพื่อให้พืชกับดักเจริญเติบโต จนถึงระยะที่แมลงศัตรูพืชชอบลงทำลาย (Wszelaki and Broughton, 2013) ซึ่งประโยชน์ของการ

ปลูกพืชกับดัก อาทิ เพิ่มคุณภาพของผลผลิต ดึงดูดแมลงศัตรูธรรมชาติ เพิ่มความหลากหลายทางชีวภาพ และลดการใช้สารเคมีกำจัดแมลง

ดังนั้นการทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชนิดของพืชกับดักแมลงศัตรูพืช และพืชอาศัยของแมลงที่มีประโยชน์ในแปลงปลูกพืชตระกูลกะหล่ำในภาคกลาง เพื่อเป็นแนวทางในการนำไปประยุกต์ใช้ในการปลูกร่วมกับพืชหลักและใช้ร่วมกับวิธีการอื่นๆ ในระบบแปลงปลูกพืชตระกูลกะหล่ำอินทรีย์ในภาคกลางได้

วิธีดำเนินการ

แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ขั้นตอน คือ

ขั้นตอนที่ 1. การสำรวจแมลงศัตรูพืชและแมลงศัตรูธรรมชาติในพืชกับดักและพืชอาศัย ในแปลงปลูกพืชอินทรีย์ตระกูลกะหล่ำ และแปลงปลูกพืชตระกูลกะหล่ำที่ใช้สารเคมี

วัสดุและอุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างแมลง เช่น กรงเลี้ยงแมลง กล่องพลาสติก ที่ดูดแมลง ขวดแก้ว แอลกอฮอล์ พู่กันผ้าขาวบาง ถุงพลาสติก กระดาษหนังสือพิมพ์ ปากคีบ ฯลฯ
2. กล้องจุลทรรศน์
3. แวนชยาย
4. กล้องถ่ายรูป
5. วัสดุอื่น ๆ

วิธีการ

สำรวจแปลงปลูกพืชตระกูลกะหล่ำ พืชผัก และวัชพืชในบริเวณใกล้เคียง ทั้งแปลงอินทรีย์และไม่อินทรีย์ของเกษตรกร/หน่วยงานต่างๆ ในพื้นที่ภาคกลาง สำรวจแมลงศัตรูสำคัญ (key pests) ศัตรูพืชลำดับรอง (minor pests) และแมลงศัตรูธรรมชาติ (ตัวห้ำและเบียน) สำรวจและเก็บรวบรวมพืชที่มีศักยภาพเป็นพืชกับดักที่พบแมลงศัตรูพืชตระกูลกะหล่ำ และพืชอาศัยศัตรูธรรมชาติในแปลงปลูกพืชตระกูลกะหล่ำ ประเมินศักยภาพของพืชกับดักและพืชอาศัย เก็บตัวอย่างวัชพืชที่พบแมลงศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติ นำตัวอย่างพืชที่พบแมลงศัตรูพืชตระกูลกะหล่ำมาตรวจสอบจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ

ขั้นตอนที่ 2. ศึกษาเปรียบเทียบชนิดพืชกับดักที่มีประสิทธิภาพสูงสุดสำหรับปลูกร่วมกับพืชปลูกตระกูลกะหล่ำ

วัสดุและอุปกรณ์

1. เครื่องมือทางการเกษตร ได้แก่ รถไถ จอบ เสียม คราด สปริงเกลอร์

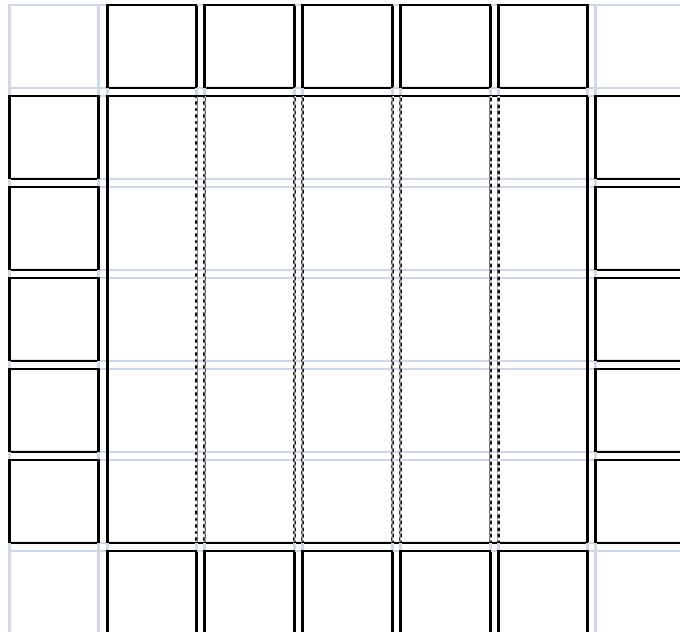
2. วัสดุการเกษตร ได้แก่ ฟางข้าว ปุ๋ยอินทรีย์ ปุ๋ยหมักเติมอากาศ เมล็ดพันธุ์
3. อื่นๆ ถูพลาสติก มีด กรรไกร แผ่นฟิวเจอร์บอร์ด ตาซัง ตาข่ายกันแปลง

วิธีการ

การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ดังต่อไปนี้

- กรรมวิธีที่ 1 ปลุกพืชกับดัก กวางตุ้ง
 กรรมวิธีที่ 2 ปลุกพืชกับดัก ผักกาดเขียว
 กรรมวิธีที่ 3 ปลุกพืชกับดัก ผักกาดขาว
 กรรมวิธีที่ 4 ปลุกพืชกับดัก ผักกาดหัว
 กรรมวิธีที่ 5 ปลุกพืชกับดัก ค่ะน้ำฮ่องกง
 กรรมวิธีที่ 6 พืชปลูกหลัก ค่ะน้ำยอด



ภาพที่ 1 แสดงรูปแบบแผนผังการปลูกพืชตามแผนการทดลอง

วิธีการปลูก

- การเตรียมดินในแปลงปลูก

ปลุกพืชตระกูลถั่วในแปลงปลูกเป็นเวลา 1 เดือน แล้วทำการไถกลบเพื่อให้เป็นปุ๋ยพืชสด จากนั้นไถและพรวนดินในแปลงปลูกให้ละเอียด ตากดินทิ้งไว้ประมาณ 5-7 วัน เพื่อฆ่าเชื้อโรคในดิน หลังจากนั้นคลุกเคล้าด้วยปุ๋ยหมักเติมอากาศ ในอัตรา 250 กิโลกรัม/งาน พรวนย่อยดินให้ละเอียด โดยเฉพาะผิวหน้าดิน เพื่อป้องกันไม่ให้เมล็ดซึ่งมีขนาดเล็กตกในดินลึกเกินไป แล้วจึงขึ้นแปลงตาม

แผนผังการปลูกพืชตามแผนการทดลองโดยยกแปลงปลูกสูงประมาณ 10 เซนติเมตร กว้าง 1 เมตร ยาว 1 เมตร

- การหว่านเมล็ด

หว่านเมล็ด 1.25 กรัม/ตารางเมตร ให้กระจายสม่ำเสมอทั่วพื้นที่ 1 ตารางเมตร ตามแผนการทดลอง สำหรับแปลงกรรมวิธีที่ 6 หว่านเมล็ดกระจายทั่วพื้นที่ 5.8 ตารางเมตร จากนั้นคลุมแปลงด้วยฟางข้าวบางๆ เสร็จแล้วรดน้ำให้ชุ่ม สำหรับคะน้ำเมื่อต้นโตได้ประมาณ 15 วัน ทำการถอนต้นที่ไม่สมบูรณ์ทิ้ง

- การดูแลรักษา

ใส่ปุ๋ยอินทรีย์ทั่วทุกแปลงพืชแต่ละชนิดหลังจากปลูกแล้ว 10 วัน และใส่ปุ๋ยครั้งที่ 2 ที่อายุ 20 วันหลังปลูก โดยใส่ในอัตราครั้งละ 300 กิโลกรัม/ไร่ โดยหว่านให้กระจายทั่วแปลง และควรรดน้ำเข้าเย็น พืชตระกูลกะหล่ำเป็นพืชที่ต้องการน้ำอย่างเพียงพอและสม่ำเสมอ เพราะมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว พืชที่ขาดน้ำจะชะงักการเจริญเติบโต

- การจัดการศัตรูพืช

การกำจัดวัชพืช และโรคพืชที่พบในแปลงปลูกพืชหลักและแปลงพืชกับดักทำได้โดยการถอนและควรทำอย่างสม่ำเสมอ โดยเฉพาะในระยะแรกๆ มีความจำเป็นมาก เนื่องจากต้นพืชปลูกต้องเติบโต แข็งแรง สามารถต่อสู้แข่งขันกับวัชพืช และลดการระบาดของโรคพืชได้

- การเก็บเกี่ยว การเก็บรักษาหลังการเก็บเกี่ยว บรรจุภัณฑ์และ/หรือ ช่องทางจำหน่าย

เก็บเกี่ยวเมื่อพืชปลูกหลักคะน้ำมีอายุการเก็บเกี่ยวที่ประมาณ 35-45 วันหลังปลูก โดยเก็บพืชแต่ละชนิดในแปลง 1 ตารางเมตร ตัดรากและแต่งส่วนที่เสียหายทิ้ง ชั่งน้ำหนัก จากนั้นจึงนำไปล้างทำความสะอาด ก่อนบรรจุใส่ถุงพลาสติกและนำไปซึ่งขายตามแหล่งรับซื้อทั่วไป

การเก็บบันทึกข้อมูล

นับจำนวนแมลงศัตรูพืชทุกชนิดที่พบ ทุกๆ 7 วันหลังหว่านเมล็ด บันทึกแมลงศัตรูธรรมชาติที่พบในแปลง บันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคพืชในแปลง และบันทึกสภาพอากาศและอุณหภูมิระหว่างดำเนินการ

เวลาและสถานที่

ดำเนินการทดลองตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2553 ถึง กันยายน 2555

สถานที่ดำเนินงาน ได้แก่ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และแปลงเกษตรกร ที่จังหวัดนนทบุรี ปทุมธานี ลพบุรี นครสวรรค์ และสุพรรณบุรี

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการสำรวจแมลงศัตรูพืชและแมลงศัตรูธรรมชาติในพืชกับดักและพืชอาศัย ในแปลงปลูกคะน้า กวางตุ้ง เขียวน้อย และผักกาดขาว ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 1 พบแมลงศัตรูพืชตระกูลกะหล่ำ จำนวน 10 ชนิด ในพืชปลูกทั้ง 4 ชนิด และพบในวัชพืชชนิดต่างๆ อีก จำนวน 13 ชนิด ซึ่งเป็นวัชพืชที่ขึ้นปะปนอยู่ในแปลงและรอบแปลงปลูก ซึ่งสามารถเป็นพืชอาศัยของแมลงศัตรูพืชตระกูลกะหล่ำได้หลายชนิด ซึ่งชนิดที่สำคัญได้แก่ ดั่งหมัดผัก ดั่งหมัดกระโดด และเพลี้ยอ่อน จากการสำรวจนี้ไม่พบการทำลายของหนอนใยผัก และพบว่า หากปลูกผักกวางตุ้ง หรือ เขียวน้อยในระยะเวลาเดียวกับคะน้าจะพบดั่งหมัดผักเข้าทำลายพืชทั้ง 2 ชนิดนี้ มากกว่าผักคะน้า ส่วนวัชพืชที่พบดั่งหมัดผักเข้าทำลายในขณะที่เก็บเกี่ยวพืชปลูกไปแล้ว ได้แก่ ผักเสี้ยน จากตารางที่ 2 สำรวจพบศัตรูธรรมชาติ จำนวน 11 ชนิด ในพืชปลูกทั้ง 4 ชนิด และพบในวัชพืชชนิดต่างๆ อีก จำนวน 24 ชนิด ซึ่งเป็นวัชพืชที่ขึ้นปะปนอยู่ในแปลงและรอบแปลงปลูก ซึ่งสามารถเป็นพืชอาศัยของศัตรูธรรมชาติได้หลายชนิด ซึ่งชนิดที่สำคัญได้แก่ ดั่งเต่าลายหยัก ดั่งเต่าลายขวาง ดั่งเต่าส้ม และหนอนแมลงวันดอกไม้ นอกจากนี้การสำรวจหลังจากที่เก็บเกี่ยวพืชปลูกไปแล้ว พบว่า ต้นกระต่ายจาม ซึ่งเป็นวัชพืชรอบแปลง พบตัวเต็มวัย ไข่ และตัวหนอนของดั่งเต่าลายหยักยังคงมีอยู่ สำหรับในแปลงที่มีการระบาดของเพลี้ยอ่อน พบดั่งเต่าลายขวางทุกระยะการเจริญเติบโตบนต้นกะเม็ง หญ้าตีนกา หญ้าตีนนก หญ้าข้าวนก และหญ้านกสีชมพู ซึ่งขึ้นปะปนอยู่ในแปลงปลูก นอกจากนี้การสำรวจแปลงปลูกคะน้าที่ ต. หน้าไม้ อ. ลาดหลุมแก้ว จ. ปทุมธานี ได้เริ่มใช้วิธีการปลูกพืชกับดักแมลง โดยปลูกผักกาดขาว และผักกวางตุ้ง เป็นพืชกับดักแมลงศัตรูผักคะน้าได้แก่ ดั่งหมัดผักได้ผลเป็นอย่างดี

ตารางที่ 1 ชนิดพืชและแมลงศัตรูพืชตระกูลกะหล่ำที่พบในแปลงปลูกพืชตระกูลกะหล่ำและวัชพืชในแปลงและรอบแปลงในเขตภาคกลาง

ชนิดพืช	แมลงศัตรูพืชตระกูลกะหล่ำที่พบ									
	ด้วงหมัดผัก	ด้วงหมัดกระโดด	เพลี้ยอ่อน	หนอนใยผัก	หนอนเจาะยอดกะหล่ำ	หนอนม้วนใบ	หนอนคืบกะหล่ำ	หนอนกระทุ้งผัก	หนอนกระทุ้งหอม	หนอนขอนใบ
พืชปลูก										
คะน้า	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
กวางตุ้ง	✓	✓	✓	✓	✓			✓		✓
เขี้ยวน้อย	✓	✓								
ผักกาดขาว	✓	✓	✓		✓	✓		✓		✓
วัชพืช										
ผักโขม						✓				✓
ผักเสี้ยน	✓	✓								✓
กะเม็ง	✓					✓				✓
หนวดปลาชุก	✓									
ผักเบี้ยใหญ่	✓									
ผักเบี้ยหิน	✓									
ผักเป็ดไทย			✓					✓		✓
หญ้าชันกาล			✓							
หญ้าตีนกา			✓							
หญ้าตีนนก			✓							
โสนหางไก่			✓							
สาบเสือ			✓							
โหลงเตง										✓

ตารางที่ 2 ชนิดพืชและศัตรูธรรมชาติที่พบในแปลงปลูกพืชตระกูลกะหล่ำและวัชพืชในแปลงและรอบแปลงในเขตภาคกลาง

ชนิดพืช	ศัตรูธรรมชาติที่พบ										
	ด้วงเต่าลายหยัก	ด้วงเต่าลายขวาง	ด้วงเต่าส้ม	ด้วงก้นกระดก	ด้วงคล้ายมด	แมลงวันช้ายาว	แมลงวันหัวบวบ	หนอนแมลงวันตอกไม้	แตนเบียน	มด	แมงมุม
พืชปลูก											
คะน้า	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
กวางตุ้ง	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
เขี้ยวน้อย	✓	✓	✓								✓
ผักกาดขาว	✓	✓	✓		✓						✓
วัชพืช											
กระต่ายจาม	✓										
ผักโขม	✓		✓		✓				✓	✓	✓
ตีนตุ๊กแก			✓								
หญ้าตีนกา	✓	✓	✓								
หญ้าตีนนก	✓		✓								
หญ้าข้าวนก	✓										
หญ้านกสีชมพู	✓		✓								
หญ้าแพรก	✓										
หญ้าหาง	✓										

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ชนิดพืช	ศัตรูธรรมชาติที่พบ										
	ตัวเต่า ลายหยัก	ตัวเต่า ลายขวาง	ตัวเต่าส้ม	ตัวงักกระดก	ตัวงักลายมด	แมลงวัน ชยาว	แมลงวัน หัวบุบ	หนอนแมลงวัน ดอกไม้	แตนเบียน	มด	แมงมุม
หญ้าชันกาด		✓	✓					✓			
หญ้าละออง		✓									
หญ้าขน		✓									
หญ้าโขย่ง			✓								
หญ้าดอกขาว			✓								
โสน	✓	✓									
หนวดปลาชุก								✓			
กะเม็ง	✓	✓									✓
ผักบุ้งไทย	✓	✓				✓					
ผักปราบ	✓	✓									
โทงเทง	✓										
ผักเป็ดไทย	✓	✓	✓								
เทียนมา	✓										
ผักเสี้ยน										✓	
สาบเสือ											✓

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยจำนวนแมลงที่ตรวจพบในพืชกับดักแต่ละชนิดและพืชปลูกหลัก ที่ 35 วันหลังหว่านเมล็ด

ชนิดพืชกับดัก	ค่าเฉลี่ยจำนวนแมลงที่ตรวจพบ (ตัว/ต้น)		
	ตัวงักหมัดผัก	หนอนกระทู้ผัก	หนอนคืบกะหล่ำ
	กวางตุ้ง	0.23 a	0.04 a
ผักกาดเขียว	0.10 a	0.01 a	0 a
ผักกาดขาว	0.05 a	0.06 a	0.01 a
ผักกาดหัว	0.26 a	0 a	0.04 a
คะน้าฮ่องกง	0.08 a	0.20 a	0 a
คะน้ายอด	0.20 a	0.06 a	0.04 a

ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวเดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย DMRT

จากตารางที่ 3 การทดสอบประสิทธิภาพของพืชกับดักที่นำมาปลูกร่วมกับพืชปลูกหลักโดยเลือกปลูกพืชกับดักที่เป็นพืชในตระกูลเดียวกับพืชปลูกหลักคือน้ำ คือ Family Crucifer ชื่อวิทยาศาสตร์ *Bassica* spp. ทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ กวางตุ้ง ผักกาดเขียว ผักกาดขาว ผักกาดหัว และคะน้าฮ่องกง โดยปลูกล้อมรอบแปลงพืชปลูกหลัก คือ คะน้า ทั้ง 4 ด้าน (ภาพที่ 2) พบว่าพืชที่สามารถดักแมลงได้หลายชนิด และมีประสิทธิภาพดีเหมาะสำหรับปลูกเป็นพืชกับดักร่วมกับแปลงปลูกคะน้าคือ กวางตุ้ง เนื่องจากพบว่ากวางตุ้งมีแมลงลงทำลายหลายชนิดได้แก่ ดั่งหมัดผัก หนอนกระทู้ผัก หนอนคืบกะหล่ำ และหนอนเจาะยอด ซึ่งแมลงเหล่านี้พบในคะน้าเช่นเดียวกัน และเมื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบแมลงศัตรูพืชแต่ละชนิดหลังปลูก 35 วัน พบว่ากวางตุ้งเป็นพืชที่พบด้วงหมัดผักจำนวน 0.23 ตัว/ต้น มากกว่าพืชชนิดอื่นและคะน้ายอด 0.2 ตัว/ต้น แต่น้อยกว่าผักกาดหัว 0.26 ตัว/ต้น และเมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าไม่แตกต่างกันกับพืชชนิดอื่นๆ ขณะเดียวกันจำนวนหนอนคืบกะหล่ำในกวางตุ้งพบจำนวน 0.03 ตัว/ต้น มากเป็นอันดับสามรองจากคะน้ายอด และผักกาดหัว คือ 0.04 ตัว/ต้น เท่ากัน สำหรับหนอนกระทู้ผักพบว่าทำลายผักกวางตุ้งจำนวน 0.04 ตัว/ต้น น้อยกว่าคะน้าฮ่องกง 0.2 ตัว/ต้น คะน้ายอด 0.06 ตัว/ต้น และผักกาดขาว 0.06 ตัว/ต้น แต่พบว่าไม่แตกต่างทางสถิติเช่นเดียวกัน สำหรับหนอนเจาะยอดคะหล่ำตรวจพบจำนวน 0.11 ตัว/ต้น ที่กวางตุ้งอายุ 14 วัน หลังหว่านเมล็ด หลังจากนั้นตรวจพบหนอนเจาะยอดที่คะน้าฮ่องกง 0.013 ตัว/ต้น ที่อายุ 21 วัน และ 0.06 ตัว/ต้น ที่อายุ 28 วัน และคะน้ายอด 0.06 ตัว/ต้น ที่อายุ 28 วัน (ภาพที่ 3 – 6)

สำหรับวิธีการปลูกพืชกับดักเป็นแนวกันล้อมรอบแปลงปลูกพืชหลักทั้ง 4 ด้าน เป็นที่ยอมรับของเกษตรกรเนื่องจากจะช่วยดักแมลงที่เคลื่อนที่ไปมาได้ตลอดเช่นพวกด้วงหมัดผักได้เป็นอย่างดี และการตัดสินใจเลือกกวางตุ้งเป็นพืชกับดักในแปลงปลูกคะน้าแทนการเลือกปลูกคะน้าฮ่องกงเป็นพืชกับดัก เนื่องจากต้นกวางตุ้งนอกจากจะดักแมลงได้หลายชนิดกว่าคะน้าฮ่องกงแล้ว ลักษณะลำต้นของกวางตุ้งยังสูงกว่าคะน้าฮ่องกงซึ่งสามารถใช้เป็นแนวกันได้ดีกว่า และลักษณะใบของกวางตุ้งยังมีลักษณะอ่อนบางกว่าคะน้าซึ่งพบว่าทั้งด้วงหมัดผักและหนอนหลายชนิดชอบกินมากกว่าใบคะน้าซึ่งแข็งและหนากว่า แต่ถ้าสามารถปลูกคะน้ายอด หรือคะน้าฮ่องกงร่วมกับกวางตุ้ง เพื่อใช้เป็นพืชกับดักร่วมกันน่าจะให้ผลดีได้เช่นเดียวกันโดยจะเห็นได้ว่าในส่วนของหนอนเจาะยอดนั้นจะพบว่าเลือกทำลายที่คะน้าฮ่องกงที่เวลาเดียวกับคะน้ายอด ซึ่งตรงนี้อาจเลือกใช้วิธีการปลูกคะน้ายอด หรือคะน้าฮ่องกงนำไปก่อน การปลูกพืชในแปลงหลัก ส่วนพืชกับดักชนิดอื่น คือ ผักกาดเขียว ผักกาดขาว และผักกาดหัว รวมถึงลักษณะลำต้นที่ไม่สูงมากไม่ควรใช้เป็นแนวกันและความชอบของแมลงซึ่งพบเพียงไม่กี่ชนิดจึงไม่เหมาะที่จะนำมาใช้เป็นพืชกับดัก

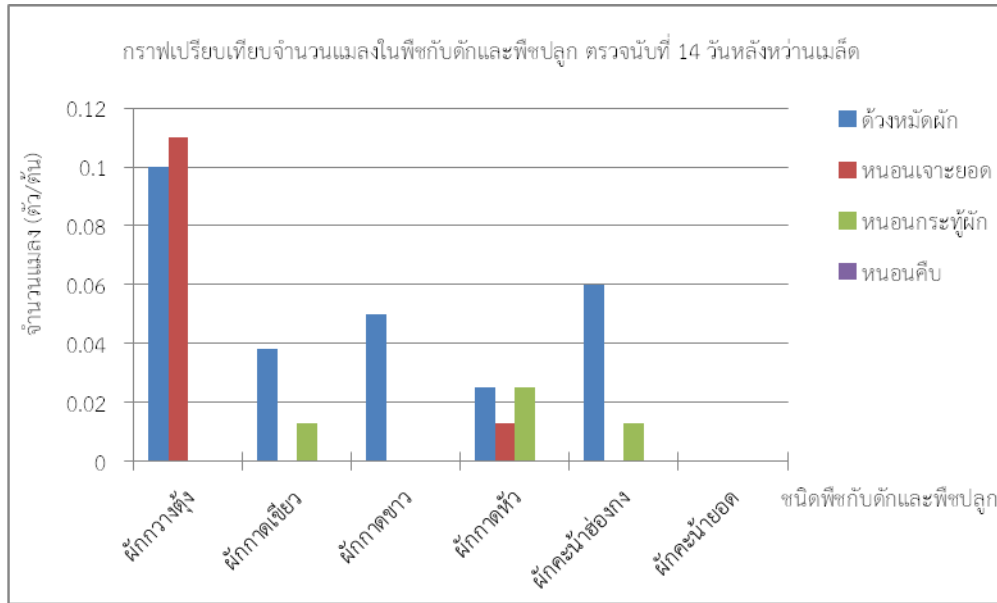
โรคที่ตรวจพบได้ในแปลงปลูกพืชหลักคะน้ายอดนั้นพบว่าเมื่อประเมินเชิงปริมาณ (อรพรรณ, 2551) คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ความเสียหายของจำนวนต้นต่อจำนวนต้นทั้งหมดในแปลงแล้วนั้น มีเปอร์เซ็นต์ความเสียหายน้อยกว่า 1% โดยเมื่อพบต้นคะน้าเกิดโรคจะดำเนินการถอนต้นคะน้าขึ้นไปทำลายทิ้งทันที ทำให้ลดโอกาสการเกิดโรคระบาดในแปลงผักได้ ส่วนในแปลงพืชกับดักไม่พบการเกิดโรค

ราคาต้นทุนการผลิตของผักคะน้ายอดและกวาดั่ง รวมถึงพืชกับผักชนิดอื่นอีก 3 ชนิดนั้น ไม่แตกต่างกันเลย สำหรับผลผลิตกวาดั่งที่ใช้เป็นพืชกับผัก พบว่ายังสามารถขายได้ในราคาเทียบเท่ากับราคาตลาดผักทั่วไปคือผักคะน้ายอดซึ่งเป็นพืชปลูกหลัก สามารถขายได้ที่ราคา 40 บาทต่อกิโลกรัม ขณะที่ผักกวาดั่งขายได้ที่ราคาตลาด 22 บาทต่อกิโลกรัม (ราคาตลาดสี่มุมเมือง ณ วันที่จำหน่าย) ทั้งนี้เนื่องจากจำนวนแมลงที่พบไม่ได้สูงเกินค่าระดับเศรษฐกิจที่พอจะทำให้ผลผลิตเสียหายได้จนเสียราคา และเนื่องจากมีแมลงศัตรูธรรมชาติในแปลงปลูกมากเพียงพอที่จะช่วยควบคุมจำนวนแมลงศัตรูพืชด้วย สำหรับแมลงศัตรูธรรมชาติที่พบกระจายทั่วแปลงทดสอบ ได้แก่ แตนเบียนหลายชนิด แมลงวัน แมลงวันขย่าว แมลงปอ ตั๊กแตนแดง และแมงมุม

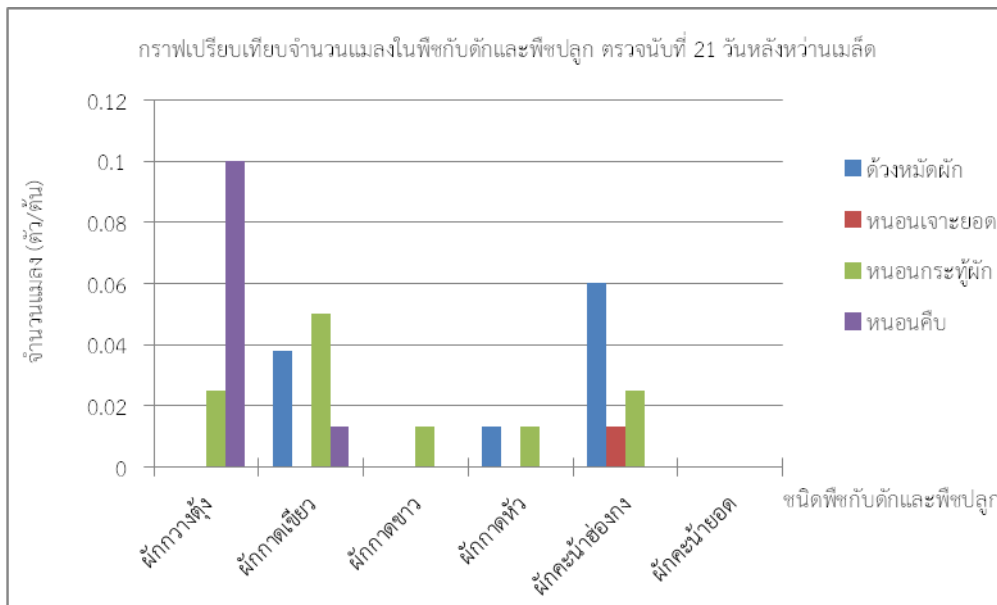


ภาพที่ 2 แปลงปลูกพืชกับผักทั้ง 5 ได้แก่ 1. กวาดั่ง 2. ผักกาดเขียว 3. ผักกาดขาว 4. ผักกาดหัว

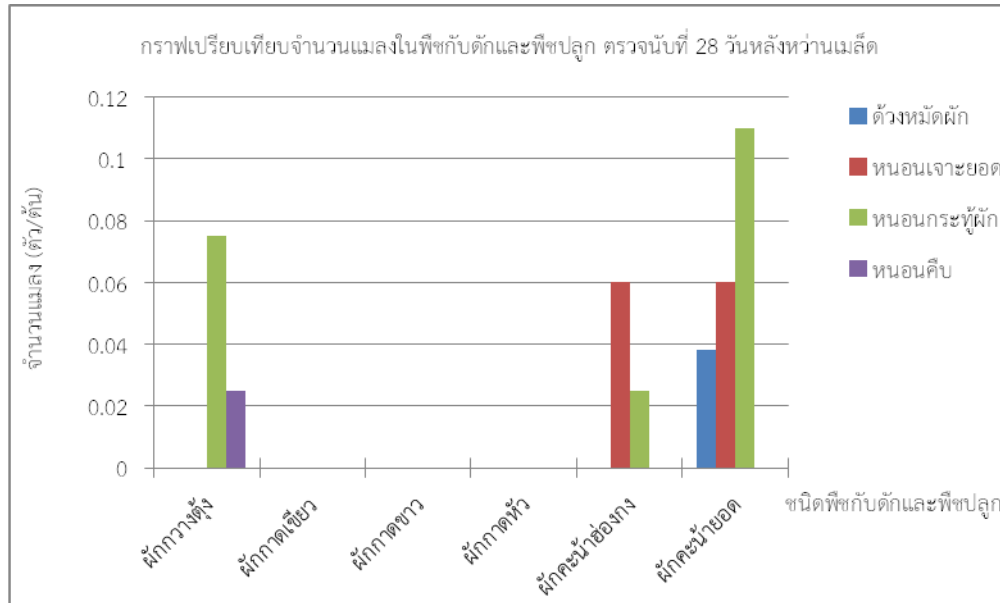
5. คะน้าฮ่องกง ล้อมรอบทั้ง 4 ด้าน ของแปลงปลูกพืชหลักคะน้ายอด



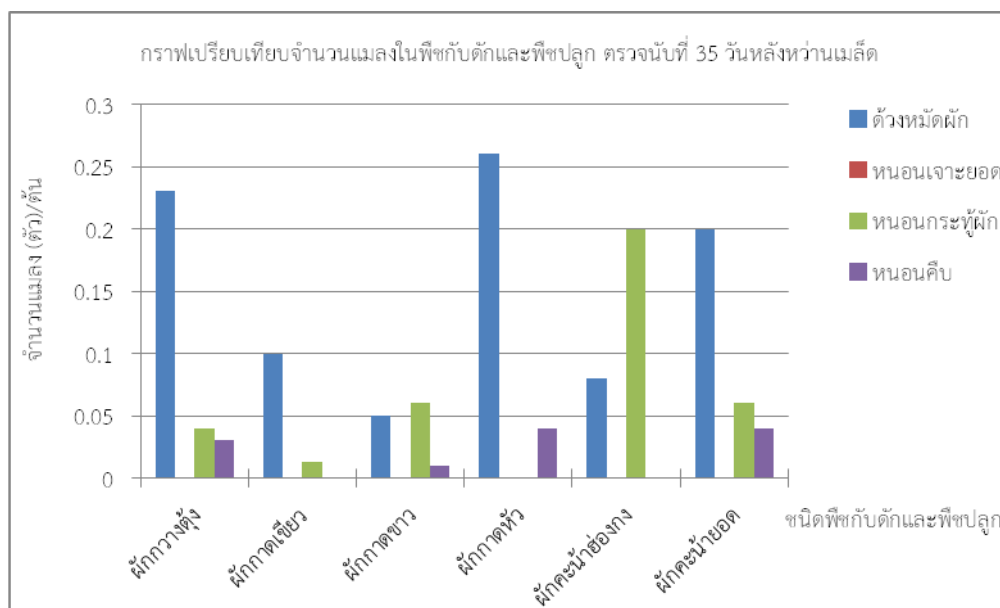
ภาพที่ 3 แสดงจำนวนแมลงที่ตรวจพบในพืชกับดักทั้ง 5 ชนิด และพืชปลูกหลัก ตรวจสอบในวันที่ 14 หลังหว่านเมล็ด



ภาพที่ 4 แสดงจำนวนแมลงที่ตรวจพบในพืชกับดักทั้ง 5 ชนิด และพืชปลูกหลัก ตรวจสอบในวันที่ 21 หลังหว่านเมล็ด



ภาพที่ 5 แสดงจำนวนแมลงที่ตรวจพบในพืชกับดักทั้ง 5 ชนิด และพืชปลูกหลัก ตรวจสอบในวันที่ 28 หลังหว่านเมล็ด



ภาพที่ 6 แสดงจำนวนแมลงที่ตรวจพบในพืชกับดักทั้ง 5 ชนิด และพืชปลูกหลัก ตรวจสอบในวันที่ 35 หลังหว่านเมล็ด

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการสำรวจแมลงศัตรูพืชและแมลงศัตรูธรรมชาติในพืชกับดักและพืชอาศัย ในแปลงปลูกพืชตระกูลกะหล่ำ พบแมลงศัตรูธรรมชาติจำนวน 11 ชนิด ในแปลงพืชปลูก และพบในวัชพืชชนิดต่างๆ ที่ขึ้นปะปนอยู่ในแปลงและรอบแปลงปลูก ได้แก่ ต้นกระต่ายจาม ต้นกะเม็ง หญ้าตีนกา หญ้า

ตีนนก กล้วยข้าวนก และกล้วยน้ำอ้อย อีกจำนวน 24 ชนิด ซึ่งสามารถเป็นพืชอาศัยของศัตรูธรรมชาติได้ ชนิดแมลงศัตรูธรรมชาติที่สำคัญได้แก่ เตนเบียน ตัวง่าลายหยัก ตัวง่าลายขวาง ตัวง่าลายส้ม และหนอนแมลงวันดอกไม้ สำหรับพืชที่มีแนวโน้มว่ามีศักยภาพในการเป็นพืชกับดัก ได้แก่ ผักชีวน้อย กวางตุ้ง และผักเสี้ยน จากนั้นจึงทำการทดสอบประเมินประสิทธิภาพการเป็นพืชกับดัก โดยเลือกใช้พืชกับดักที่เป็นพืชในตระกูลเดียวกับพืชปลูกหลัก คือ คะน้ายอด มาเป็นพืชทดสอบ ได้แก่ กวางตุ้ง ผักกาดเขียว ผักกาดขาว ผักกาดหัว และคะน้าฮ่องกง ผลการทดสอบพบว่าพืชที่สามารถดักแมลงศัตรูพืชได้หลายชนิดและเหมาะสมที่สุด คือ กวางตุ้ง เพราะสามารถดักแมลงศัตรูพืชได้แก่ หนอนกระทู้ผัก หนอนคืบกะหล่ำ ตัวง่าลายส้ม หนอนเจาะยอด ได้ดีกว่าพืชชนิดอื่นเมื่อปลูกในเวลาเดียวกัน สำหรับคะน้าฮ่องกงซึ่งเป็นพืชที่พบการทำลายของหนอนเจาะยอดและแมลงชนิดอื่นในเวลาเดียวกันกับที่พบในคะน้ายอด นั้นแสดงว่าถ้าปลูกคะน้าฮ่องกงร่วมกับกวางตุ้งเป็นพืชกับดักในแปลงปลูกคะน้ายอดแล้ว หรือใช้คะน้ายอดเป็นพืชกับดักโดยปลูกนำก่อน น่าจะสามารถช่วยลดการทำลายของแมลงศัตรูพืชที่จะลงทำลายคะน้ายอดได้ดีขึ้น

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

จากผลงานวิจัยที่ได้นี้ ทำให้ทราบถึงชนิดของพืชกับดักแต่ละชนิดที่มีความเฉพาะเจาะจงกับแมลงศัตรูพืช ทำให้สามารถเลือกปลูกพืชกับดักที่มีประสิทธิภาพและนำไปปลูกร่วมกับพืชปลูกหลักเพื่อลดการเข้าทำลายของแมลง และข้อมูลที่ได้นี้จะนำไปพัฒนาต่อในการทดลองรูปแบบการปลูกพืชร่วมในระบบการปลูกพืชผักอินทรีย์ภาคกลางต่อไป นอกจากนี้เกษตรกรสามารถนำผลงานวิจัยนี้ไปปรับประยุกต์ใช้กับการปลูกพืชตระกูลกะหล่ำแต่ละชนิดได้ตามความเหมาะสมตามพื้นที่และสภาพแวดล้อม

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นายบำเพ็ญ ลุมพล เกษตรกรผู้ปลูกผัก อ. หนองเสือ จ. ปทุมธานี ที่เอื้อเฟื้อแปลงปลูกผักและอำนวยความสะดวกในการปฏิบัติงาน ขอขอบคุณครอบครัวนางทวิ แป้นแจ่ม เกษตรกรเจ้าของพื้นที่แปลงทดลอง อ. เมืองสุพรรณบุรี จ. สุพรรณบุรี ที่ช่วยเหลือดูแลแปลงทดลองจนประสบความสำเร็จ ขอขอบคุณนายพัชร ทองสีบสาย นักวิชาการเกษตร ที่ช่วยปฏิบัติงานวิจัยจนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2543. มาตรฐานการผลิตพืชอินทรีย์แห่งประเทศไทย. กรมวิชาการเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ. 28 หน้า.
 ประเสริฐ วุฒิมภีร์. 2550. แนวทางการผลิตพืชอินทรีย์. เอกสารประกอบการบรรยายในการฝึกอบรมเกษตรกร. 5 หน้า.

อรพรรณ วิเศษสังข์. 2551. คำแนะนำในการทำแผนการทดลองประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดโรคพืช.
53 หน้า

Wszelaki A. and Broughton S. 2013. Trap Crops, Intercropping and Companion Planting
In Extension fact sheets for the Organic & Sustainable Crop Production
Program. The university of Tennessee Institute of Agriculture. 4 p.

เทคโนโลยีการป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้ในพริกโดยวิธีผสมผสาน

Integrated Fruit Fly Control in Chili

วิภาดา ปลอดภัยบุรี^{1/} สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น^{1/} ศรุต สุทธิอารมณ^{1/}ประชาติปัทย์ พงษ์ภิญโญ^{2/}^{1/} กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช^{2/} สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

การทดสอบการใช้วิธีการผสมผสานเพื่อป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้ในพริก *Bactrocera latifrons* (Hendel) ในแปลงพริกเหลืองพันธุ์อเรนจ์ของเกษตรกร อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี ในระหว่างเดือนกันยายน-พฤศจิกายน 2554 และเดือนพฤศจิกายน-ธันวาคม 2555 พบว่ากรรมวิธีผสมผสาน คือ การเก็บผลที่พบการเข้าทำลายจากแมลงวันผลไม้ออกไปทำลายทุกสัปดาห์ ร่วมกับพ่นด้วยเหยื่อพิษโปรตีน (ผสมสารฆ่าแมลง malathion 57%EC อัตรา 10 มิลลิลิตร กับเหยื่อโปรตีนอินไวท์ อัตรา 200 มิลลิลิตร ในน้ำ 5 ลิตร) เริ่มพ่นเหยื่อพิษโปรตีนเมื่อพริกเหลืองอยู่ในระยะติดผล (พริกเหลืองอายุประมาณ 2.5 เดือนหลังย้ายปลูก) โดยพ่นเหยื่อพิษโปรตีนเป็นจุดทุกต้นรอบแปลง และพ่นเป็นแถวต้นละจุด ห่างกันแถวละ 5 เมตร ทุกสัปดาห์ และพ่นด้วยน้ำมันปิโตรเลียม SK 99 83.9 % EC อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ทุกสัปดาห์ ช่วยลดการเข้าทำลายจากแมลงวันผลไม้ชนิด *B. latifrons* ได้ดีกว่ากรรมวิธีของเกษตรกร คือ พ่นด้วยสารฆ่าแมลง malation 57%EC อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ทุกสัปดาห์ โดยในแปลงทดลองที่ 1 กรรมวิธีผสมผสาน พบจำนวนหนอนแมลงวันผลไม้เฉลี่ย 6.17 ตัว/น้ำหนักผลพริก 1 กิโลกรัม น้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีของเกษตรกร ซึ่งพบจำนวนหนอนแมลงวันผลไม้เฉลี่ย 9.88 ตัว/น้ำหนักผลพริก 1 กิโลกรัม และในแปลงทดลองที่ 2 พบจำนวนหนอนแมลงวันผลไม้เฉลี่ย 16.35 ตัว/น้ำหนักผลพริก 1 กิโลกรัม น้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีของเกษตรกรเช่นเดียวกัน ซึ่งพบจำนวนหนอนแมลงวันผลไม้เฉลี่ย 20.76 ตัว/น้ำหนักผลพริก 1 กิโลกรัม ทั้งสองกรรมวิธีไม่พบสารพิษตกค้างในผลผลิต และเกษตรกรยอมรับวิธีการพ่นด้วยเหยื่อพิษโปรตีนร่วมกับการพ่นน้ำมันปิโตรเลียมในการป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้ในพริก

รหัสการทดลอง 01-30-54-03-01-01-02-54

คำนำ

แมลงวันผลไม้เป็นศัตรูพืชที่สำคัญของพืชผักหลายชนิดโดยเฉพาะในพริก ซึ่งเป็นพืชผักที่มีการปลูกกันอย่างแพร่หลาย เป็นที่นิยมนำไปใช้ประกอบอาหารในชีวิตประจำวัน ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารต่างๆ เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญทำรายได้ดี อีกทั้งยังเป็นพืชที่มีศักยภาพในการส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศ ในปี 2549 มีปริมาณการส่งออกพริกชี้หู 230,964 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่า 9,329,307 บาท พริกชี้ฟ้า 66,333 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่า 3,125,004 บาท โดยส่งออกไปยังประเทศต่าง ๆ เช่น เยอรมัน ออสเตรเลีย ฝรั่งเศส เนเธอร์แลนด์ อังกฤษ สาธารณรัฐอาหรับอิมิเรตส์ ซาอุดีอาระเบีย เป็นต้น (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2550) แต่เนื่องจากการปลูกพริกในประเทศไทยนั้น มีปัญหาจากการทำลายของแมลงวันผลไม้ วิชาดา และคณะ (2552) ทำการศึกษาชนิดของแมลงวันผลไม้ที่เข้าทำลายในพริกพันธุ์ต่าง ๆ ได้แก่ พริกเหลือง พริกชี้ฟ้า พริกกะเหรี่ยง พริกยอดสน พริกหัวเรือ พริกส้ม พริกเขียวมันดำ พริกหยวก และพริกชี้หูสวน พบว่าแมลงวันผลไม้ชนิดที่เข้าทำลาย คือ *Bactrocera latifrons* (Hendel) โดยพบการเข้าทำลายตลอดช่วงระยะการเก็บเกี่ยว ตั้งแต่ระยะเข้าสีจนถึงพริกสุก โดยพบการเข้าทำลายสูงในพริกสุกชุดแรก (พริกเม็ดงาม) มนตรี (2544) รายงานว่า แมลงวันผลไม้ชนิดนี้มีเขตแพร่กระจายทั่วไปในประเทศไทย มีพืชอาศัยหลายชนิด เช่น พริกชี้ฟ้า พริกชี้หู ยี่เข่ง มะเขือเปราะ มะเขือต้น มะเขือเครือ มะเขือพวง เป็นต้น แมลงวันผลไม้ชนิดนี้มีลักษณะใกล้เคียงกับแมลงวันผลไม้ชนิด *B. correcta* (Bezzi) แต่มีสีเข้มกว่าเล็กน้อย ปลายอวัยวะวางไข่ของเพศเมียเป็นรูปยอดดอกจิก (Trilobe) สัญญาณี และคณะ (2551) ศึกษาวงจรชีวิตของแมลงวันผลไม้ *B. latifrons* (Hendel) บนผลพริกสด พบว่า ระยะไข่ใช้เวลา 44-68 ชั่วโมง ระยะหนอน 8-10 วัน ระยะดักแด้ 11-14 วัน ตัวเต็มวัยหลังออกจากดักแด้ 8 วันจะจับคู่ผสมพันธุ์ และวางไข่ โดยจับคู่ผสมพันธุ์ในช่วงเวลาเย็นถึงพลบค่ำ ตัวเต็มวัยเพศเมียวางไข่ตลอดอายุขัยได้ 124-325 ฟอง วางไข่สูงสุด 17 ฟองต่อวัน อายุตัวเต็มวัยเพศเมียประมาณ 93-183 วัน จากระยะไข่ถึงตัวเต็มวัยใช้เวลา 21-27 วัน แมลงวันผลไม้ *B. latifrons* (Hendel) เข้าทำลายพริกโดยตัวเต็มวัยเพศเมียวางไข่ที่ผล หนอนฟักออกไขกินภายในผล ทำให้ผลเน่า ร่วงหล่น ผลผลิตเสียหาย และคุณภาพต่ำ ทำให้ต้องป้องกันกำจัด ซึ่งเป็นการเพิ่มต้นทุนการผลิต และการป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้โดยใช้สารฆ่าแมลงอย่างต่อเนื่องจนเก็บเกี่ยว ยังก่อให้เกิดปัญหาของสารพิษตกค้างในผลผลิตและสภาพแวดล้อม นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดปัญหาด้านกักกันพืชและใช้เป็นเครื่องมือกีดกันทางการค้าของต่างประเทศ โดยเฉพาะระยะหลังนี้สหภาพยุโรปตรวจพบแมลงวันผลไม้ชนิดนี้ในพริกส่งออกจากประเทศไทยบ่อยครั้ง ซึ่งแมลงวันผลไม้ชนิดนี้อยู่ในวงศ์ Tephritidae จัดเป็นแมลงศัตรูกักกันของสหภาพยุโรป ดังใน Council Directive 2000/29/EC (Official Journal of the European Communities, 2000) ดังนั้นจึงต้องทำการป้องกันกำจัด การป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้หลายวิธี เช่น กำจัดด้วยเหยื่อพิษโปรตีน โดยอาศัยหลักการพื้นฐานทางชีววิทยา ที่แมลงวันผลไม้เมื่อออกจากดักแด้ใหม่ ๆ จะมีความต้องการอาหารที่มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบเพื่อพัฒนาอวัยวะสืบพันธุ์และวางไข่ ตลอดจนใช้ในการดำรงชีพและขยายพันธุ์ ซึ่งเหยื่อโปรตีนที่ผลิตได้จากกากยีสต์ที่ได้จากโรงงานอุตสาหกรรมเบียร์นั้นมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบสูง จึง

นำมาใช้ดึงดูดแมลงวันผลไม้ให้มากิน โดยเหยื่อโปรตีนนั้นได้ผสมกับสารฆ่าแมลงไว้ จึงทำให้แมลงวันผลไม้ตายก่อนที่จะมีอายุครบผสมพันธุ์และวางไข่ มนตรี (2544) และวิภาดา และคณะ (2553) รายงานว่าการพ่นด้วยเหยื่อพิษโปรตีน โดยผสมสารฆ่าแมลง malathion 57%EC อัตรา 10 มิลลิลิตร กับเหยื่อโปรตีนอินไวท์ อัตรา 200 มิลลิลิตร ในน้ำ 5 ลิตร พ่นเหยื่อพิษโปรตีนเป็นจุดทุกต้นรอบแปลง และพ่นเป็นแถว ต้นละจุด ห่างกันแถวละ 5 เมตร ทุกสัปดาห์ สามารถลดการเข้าทำลายจากแมลงวันผลไม้ชนิด *B. latifrons* ได้ การใช้เหยื่อพิษโปรตีนเป็นวิธีการป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้วิธีการหนึ่งที่ได้ผลดี แต่การป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้จะใช้วิธีการพ่นเหยื่อพิษเพียงวิธีการเดียวไม่ได้ ต้องใช้หลายๆกรรมวิธีเพื่อช่วยควบคุมแมลงวันผลไม้ ได้แก่ การรักษาแปลงปลูกให้สะอาด หมั่นเก็บผลพริกที่ถูกแมลงวันผลไม้เข้าทำลาย และร่วงหล่นในแปลงปลูก นำไปเผาทำลายหรือฝังกลบ เพื่อป้องกันการขยายพันธุ์เพิ่มปริมาณแมลงวันผลไม้ในแปลง เนื่องจากว่าแมลงวันผลไม้จะเข้าดักแด้ในดิน หากไม่เก็บผลที่ถูกทำลาย จะทำให้แมลงวันผลไม้เกิดขึ้นใหม่จากดักแด้ในดินได้ตลอดเวลา รวมทั้งการใช้น้ำมันปิโตรเลียม ได้แก่ DC tron plus 83.9 % EC หรือ SK 99 83.9 % EC หรือ Sun spray ultra fine 83.9 % EC อัตรา 60 มล. ต่อน้ำ 20 ลิตร เน้นพ่นที่ผลพริกทุก 7 วัน เริ่มพ่นตั้งแต่พริกติดผล (สมศักดิ์, 2552) จะช่วยควบคุมแมลงวันผลไม้ในพริกได้ เพราะน้ำมันปิโตรเลียมมีฤทธิ์ในการกำจัดแมลงโดยสัมผัสถูกตัวตาย โดยทำให้แมลงขาดอากาศหายใจ อุดรูหายใจหรือช่องทางผ่านของอากาศ และยังทำให้ตำแหน่งในการวางไข่ที่ผลพริกของแมลงวันผลไม้ในการวางไข่ยากลำบาก เนื่องจากมีฟิล์มน้ำมันเคลือบอยู่ที่ผลพริก ดังนั้น จึงได้ทำการศึกษาวิธีป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้ในพริกโดยวิธีผสมผสานช่วยลดความเสียหายของผลผลิต และได้ผลผลิตที่มีคุณภาพตรงตามความต้องการของตลาด รวมทั้งช่วยลดการปนเปื้อนของแมลงศัตรูพืชกักกันก่อนส่งออกไปยังประเทศปลายทาง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แปลงพริกเหลืองพันธุ์ออเรนจ์
2. เหยื่อโปรตีนอินไวท์ (Invite)
3. สารฆ่าแมลง malathion 57%EC (Malathion 57), petroleum spray oil 83.9 % EC (SK 99)
4. กรงเลี้ยงแมลงขนาด 35x35x50 เซนติเมตร
5. กล่องเลี้ยงแมลงขนาด 24x30x10 เซนติเมตร และขนาด 12x13x10 เซนติเมตร
6. ซีลี้อย ทรายละเอียด ตะแกรงร่อนเบอร์ 20
7. Brewer's yeast และน้ำตาลไอซ์ซิ่ง
8. กระดาษกรองเบอร์ 91
9. ถุงพลาสติก สำลี กระจกพลาสติกใสน้ำ
10. กล้องจุลทรรศน์ เครื่องชั่งน้ำหนัก และตู้เย็น
11. อุปกรณ์อื่น ๆ ที่จำเป็น เช่น ปิเปต ปากคิบ ฟู่กัน ที่นับแมลง เป็นต้น

วิธีการ

ดำเนินการทดลองในแปลงพริกเหลืองพันธุ์ออเรนจ์ พื้นที่ 1 ไร่ กรรมวิธีละ 0.5 ไร่ คั้นแปลงปลูกด้วยแปลงข้าวโพดให้แปลงทดลองห่างกัน 500 เมตร แบ่งเป็น 2 กรรมวิธี คือ กรรมวิธีป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้ในพริกโดยวิธีผสมผสาน ได้แก่ การเขตกรรม (การเก็บผลที่ถูกแมลงวันผลไม้เข้าทำลาย ร่วงหล่นในแปลงออกไปทำลายทุกสัปดาห์) (รูปที่ 1) การใช้เหยื่อพิษโปรตีน (โดยผสมสารฆ่าแมลง malathion 57%EC อัตรา 10 มิลลิลิตร กับเหยื่อโปรตีนอินไวท์ (รูปที่ 2) อัตรา 200 มิลลิลิตร ในน้ำ 5 ลิตร) เริ่มพ่นตั้งแต่พริกเหลืองติดผล อายุประมาณ 2.5 เดือนหลังย้ายปลูก (รูปที่ 3) โดยพ่นเหยื่อพิษโปรตีนเป็นจุดทุกต้นรอบแปลง และพ่นเป็นแถวต้นละจุด ห่างกันแถวละ 5 เมตร พ่นทุก 7 วัน (รูปที่ 4) โดยในแปลงทดลองที่ 1 พ่นเหยื่อพิษโปรตีนทั้งหมด 9 ครั้ง ส่วนในแปลงทดลองที่ 2 พ่นเหยื่อพิษโปรตีนทั้งหมด 6 ครั้ง ร่วมกับการพ่นด้วยน้ำมันปิโตรเลียม 83.9% EC (SK 99) (รูปที่ 5) อัตรา 60 มล. ต่อน้ำ 20 ลิตร เน้นพ่นที่ผลพริกทุก 7 วัน เริ่มพ่นตั้งแต่พริกติดผลเช่นเดียวกับการพ่นเหยื่อพิษโปรตีน โดยแปลงทดลองที่ 1 พ่นน้ำมันปิโตรเลียมทั้งหมด 9 ครั้ง และแปลงทดลองที่ 2 จำนวน 6 ครั้ง เปรียบเทียบกับกรรมวิธีป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้ในพริกโดยวิธีการของเกษตรกร คือ พ่นด้วยสารฆ่าแมลง malathion 57%EC อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน ซึ่งในแปลงทดลองที่ 1 พ่นสารฆ่าแมลง malathion จำนวน 9 ครั้ง และแปลงทดลองที่ 2 จำนวน 6 ครั้ง ปฏิบัติดูแล รดน้ำ ใส่ปุ๋ย พ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช แมลงศัตรูอื่น และวัชพืช ตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร โดยปฏิบัติเหมือนกันทั้งสองกรรมวิธี สุ่มเก็บผลพริกในระยะเก็บเกี่ยวทุกสัปดาห์ กรรมวิธีละ 200 ผล บันทึกน้ำหนักแล้วนำมาเลี้ยงต่อในห้องปฏิบัติการเพื่อตรวจนับจำนวนหนอนแมลงวันผลไม้ที่พบ คำนวณค่าจำนวนหนอนแมลงวันผลไม้ต่อน้ำหนักพริก 1 กิโลกรัม นำข้อมูลที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกรรมวิธีของเกษตรกรด้วยวิธี t-test บันทึกปริมาณและคุณภาพของผลผลิตรวมตลอดระยะการเก็บเกี่ยว สุ่มเก็บผลผลิตพริกนำไปวิเคราะห์หาสารพิษตกค้าง และสอบถามความพึงพอใจของเกษตรกรผู้ปลูกต่อวิธีป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยกรรมวิธีของกรมวิชาการเกษตร

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกน้ำหนัก จำนวนผลพริก และจำนวนหนอนแมลงวันผลไม้ที่พบ
- ชนิดและจำนวนครั้งการใช้สารเคมี น้ำมันปิโตรเลียม หรือเหยื่อพิษโปรตีน
- บันทึกปริมาณและคุณภาพผลผลิตพริก
- บันทึกปริมาณสารพิษตกค้างในผลผลิตพริก

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2554 สิ้นสุด กันยายน 2556

แปลงทดลองที่ 1 ดำเนินการระหว่างเดือนกันยายน-พฤศจิกายน 2554 และแปลงทดลองที่ 2 ดำเนินการระหว่างเดือนพฤศจิกายน-ธันวาคม 2555 ในแปลงพริกเหลืองพันธุ์ออเรนจ์ของเกษตรกร ในอำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี และห้องปฏิบัติการทดลองของกลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

การทดสอบการป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้ในพริก *Bactrocera latifrons* (Hendel) โดยวิธีผสมผสาน เปรียบเทียบกับกรรมวิธีของเกษตรกร ผลการศึกษาพบว่า

แปลงทดลองที่ 1 (ตารางที่ 1) กรรมวิธีผสมผสาน พบจำนวนหนอนแมลงวันผลไม้ในผลพริกเฉลี่ย 6.17 ตัว/น้ำหนักผลพริก 1 กิโลกรัม น้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีของเกษตรกร ซึ่งพบจำนวนหนอนแมลงวันผลไม้เฉลี่ย 9.88 ตัว/น้ำหนักผลพริก 1 กิโลกรัม และผลผลิตพริกระยะส่งตลาด กรรมวิธีผสมผสานได้น้ำหนักผลผลิตรวมเท่ากับ 1,014 กิโลกรัมต่อไร่ สูงกว่ากรรมวิธีของเกษตรกร ซึ่งได้ผลผลิต 838 กิโลกรัมต่อไร่ เป็นการเก็บเกี่ยวในช่วงระยะเวลาเพียง 1 เดือน เนื่องจากในปี 2554 ประสบปัญหาจากอุทกภัย ทำให้ขาดแคลนเมล็ดพันธุ์พริกเหลืองพันธุ์ออร์เรนจ์ และอากาศแปรปรวน พริกไม่ติดดอก ต้องปลูกใหม่ จึงทำให้การปลูกล่าช้า ช่วงการเก็บเกี่ยวจึงพบปัญหาจากการระบาดของโรคแอนแทรคโนส โรคยอดและดอกเน่า และโรคเหี่ยวเหี่ยวเข้าทำลาย ส่วนการตรวจวิเคราะห์สารตกค้างในผลผลิต โดยการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างอย่างรวดเร็ว ด้วยวิธี QuEChERS โดยใช้ GC/MS-PTV Inlet ตามรายงานของ ประชาธิปไตย และคณะ (2553) ส่งตัวอย่างวิเคราะห์ 3 ตัวอย่าง ผลการวิเคราะห์พบว่า ตัวอย่างผลผลิตพริกจากกรรมวิธีผสมผสาน ซึ่งสุ่มเก็บจากแถวที่ไม่มี การพ่นเหยื่อพิษโปรตีน ตรวจไม่พบสารพิษตกค้าง และผลผลิตที่สุ่มเก็บจากกรรมวิธีผสมผสานจาก แถวที่มีการพ่นเหยื่อพิษโปรตีน พบสาร malathion ตกค้าง 0.0014 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และตัวอย่าง ผลผลิตพริกจากกรรมวิธีของเกษตรกร พบ 0.0015 มิลลิกรัม/กิโลกรัม :ซึ่งทั้ง 3 ตัวอย่าง พบสารพิษตกค้างไม่เกินระดับค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้าง (Maximum Residue Limits) (Codex MRL pepper = 0.5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม)

แปลงทดลองที่ 2 (ตารางที่ 2) พบจำนวนหนอนแมลงวันผลไม้ในผลพริกเฉลี่ย 16.35 ตัว/น้ำหนักผลพริก 1 กิโลกรัม น้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีของเกษตรกรเช่นเดียวกัน ซึ่งพบจำนวนหนอนแมลงวันผลไม้เฉลี่ย 20.76 ตัว/น้ำหนักผลพริก 1 กิโลกรัม แต่การทดลองนี้ไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ เนื่องจากฝนตกยาวนาน โดยเฉพาะในช่วงเก็บเกี่ยวผลผลิต ทำให้โรคแอนแทรคโนสและโรคยอดและดอกเน่าระบาดอย่างรุนแรง จำเป็นต้องยุติการทดลอง จึงไม่มีการวิเคราะห์สารพิษตกค้างด้วย

ทั้งสองแปลงทดลอง พบว่า กรรมวิธีผสมผสานพบจำนวนหนอนแมลงวันผลไม้ในพริกน้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีของเกษตรกร สอดคล้องกับรายงานของ วิภาดา และคณะ (2553) แต่ช่วงระยะเวลาที่ดำเนินการทดลองมีฝนตกบ่อย เพื่อให้การป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้ในพริกมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น ควรเพิ่มความถี่ในการพ่นเหยื่อพิษโปรตีน จากพ่นทุกสัปดาห์เป็นพ่นทุก 4-5 วัน (มนตรี, 2544) และจากการสอบถามความพึงพอใจของเกษตรกรผู้ปลูกทั้งสองการทดลองต่อวิธีป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยกรรมวิธีผสมผสาน เกษตรให้ความสนใจการพ่นเหยื่อพิษโปรตีน ซึ่งพ่น

แบบเป็นจุด ไม่สิ้นเปลือง ยอมรับช่วงการพ่นเหยื่อพิษโปรตีนทุกสัปดาห์ แต่ไม่สนใจการเก็บผลเน่าที่ ถูกแมลงวันผลไม้ทำลาย เนื่องจากต้องใช้แรงงานจำนวนมาก

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบการป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้ในพริก *Bactrocera latifrons* (Hendel) โดยวิธี ผสมผสาน เปรียบเทียบกับกรรมวิธีของเกษตรกร พบว่ากรรมวิธีผสมผสาน คือ การเก็บผลที่พบการ เข้าทำลายจากแมลงวันผลไม้ออกไปทำลายทุกสัปดาห์ ร่วมกับพ่นด้วยเหยื่อพิษโปรตีน (ผสมสารฆ่า แมลง malathion 57%EC อัตรา 10 มิลลิลิตร กับเหยื่อโปรตีนอินไวท์ อัตรา 200 มิลลิลิตร ในน้ำ 5 ลิตร) เริ่มพ่นเหยื่อพิษโปรตีนเมื่อพริกเหลืองอยู่ในระยะติดผล (พริกเหลืองอายุประมาณ 2.5 เดือนหลัง ย้ายปลูก) โดยพ่นเหยื่อพิษโปรตีนเป็นจุดทุกต้นรอบแปลง และพ่นเป็นแถวต้นละจุด ห่างกันแถวละ 5 เมตร ทุกสัปดาห์ และพ่นด้วยน้ำมันปิโตรเลียม SK 99 83.9 % EC อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ทุกสัปดาห์ ช่วยลดการเข้าทำลายจากแมลงวันผลไม้ชนิด *B. latifrons* ได้ดีกว่ากรรมวิธีของเกษตรกร คือ พ่นด้วยสารฆ่าแมลง malation 57%EC อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ทุกสัปดาห์ ทั้งสองกรรมวิธี ไม่พบสารพิษตกค้างในผลผลิต และเกษตรกรยอมรับวิธีการพ่นด้วยเหยื่อพิษโปรตีนร่วมกับการพ่น น้ำมันปิโตรเลียมในการป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้ในพริก

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณนักวิชาการ นายสุรีย เกษะม่วงหมู่ นางสาวสุรางค์ นงนุช นางสาวณิชชาพร ฉ่ำ ประวิง นางสาวนงศ์ออน พลชัยมาตย์ นางบุญลาภ คชบาง เจ้าหน้าที่กลุ่มบริหารศัตรูพืช และ เกษตรกรนายปทุม แผ้วภิรมย์ ที่ให้การช่วยเหลืองานวิจัยทุกท่าน ทำให้งานวิจัยชิ้นนี้สำเร็จลุล่วงไป ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- มนตรี จิรสุรัตน์ 2544. การป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้. หน้า 139-147. ใน : แมลงวันผลไม้ใน ประเทศไทย เอกสารวิชาการกองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.
- มนตรี จิรสุรัตน์ 2544. แมลงวันผลไม้ที่สำคัญในประเทศไทย. หน้า 13-18. ใน : แมลงวันผลไม้ใน ประเทศไทย เอกสารวิชาการกองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.
- ประชาติปต์ย์ พงษ์ภิญโญ และปฏิมาภรณ์ สังข์น้อย. การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง 53 ชนิด อย่าง รวดเร็ว ด้วยวิธี QuEChERS โดยใช้ GC/MS-PTV Inlet. หน้า 160-167. ใน : ผลการ ปฏิบัติงานประจำปีงบประมาณ 2553 กลุ่มวิจัยศัตรูพืชการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัย การผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.
- วิภาดา ปลอดภัยบุรี สัญญาณี ศรีรักษา เกรียงไกร จำเริญมา และอัมพร วิโนทัย. 2552. การศึกษาชนิด ของแมลงวันผลไม้ ศัตรูธรรมชาติ และฤดูการระบาดของแมลงวันผลไม้ที่สำคัญในแหล่งปลูก

พริก. หน้า 11-17 ใน: การประชุมสัมมนาวิชาการอารักขาพืช. สำนักวิจัยและพัฒนาการ
อารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ณ โรงแรมเมธาวลัย อำเภอชะอำ จังหวัดเพชรบุรี 1-3
มิถุนายน 2552.

วิภาดา ปลอดภัยบุรี สัญญาณี ศรีคชา เกรียงไกร จำเริญมา และศรุต สุทธิอารมณ. 2553. การใช้เหยื่อ
พิษโปรตีนเพื่อป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้ในพริก. หน้า 200-210. ใน: รายงานผลงานวิจัย
ประจำปี 2553 เล่มที่ 1. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น. 2552. ประสิทธิภาพสารสกัดสะเดา น้ำมันปิโตรเลียม และสารฆ่าแมลงในทาง
ป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้ และผลกระทบต่อศัตรูธรรมชาติ. วารสารกีฏและสัตววิทยา
27 (1): 3-13.

สัญญาณี ศรีคชา วิภาดา ปลอดภัยบุรี และเกรียงไกร จำเริญมา. 2551. การศึกษาชนิดและชีววิทยา
ของแมลงวันผลไม้ที่สำคัญในแหล่งปลูกพริก. วารสารอารักขาพืช. 3(1-2): 55-64.

สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2550. สถิติการส่งออกผักสด ปี 2549. กรมวิชาการเกษตร
กรุงเทพฯ. 173 หน้า.

Official Journal of the European Communities. 2000. Council Directive 2000/29/EC.
(Online). Available: <http://faolex.fao.org/docs/pdf/eur34825.pdf>. (Access date:
February 14, 2010



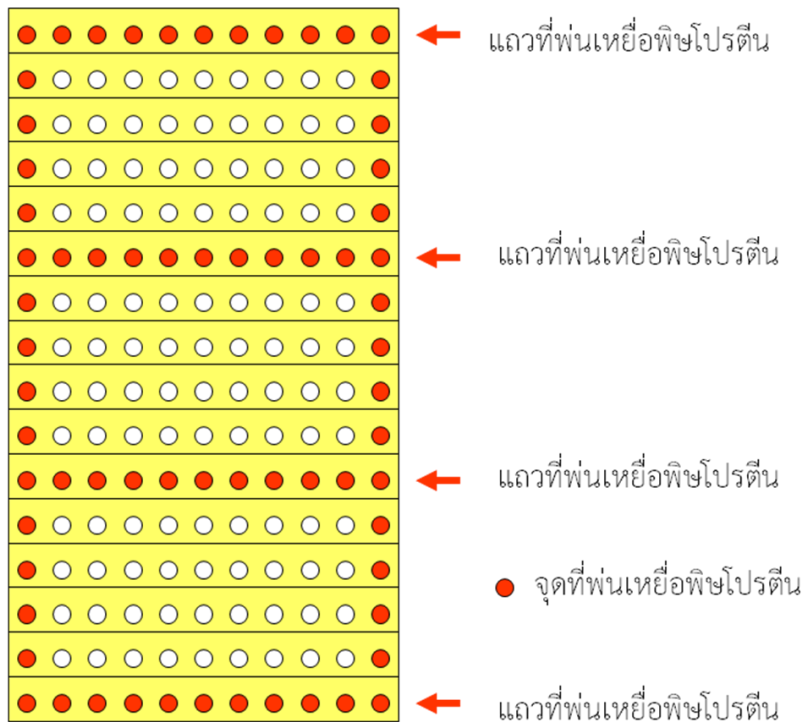
รูปที่ 1 เก็บผลพริกที่มีรอยการทำลายจากแมลงวันผลไม้ไม่นำไปทำลายทุกสัปดาห์



รูปที่ 2 เขี้ยวโปรตีนอินไวท์



รูปที่ 3 เริ่มพ่นเหยื่อพิษโปรตีนและน้ำมันปิโตรเลียมในพริกเหลืองระยะติดผล
อายุประมาณ 2.5 เดือน หลังย้ายปลูก



รูปที่ 4 แสดงการพ่นเหยื่อพิษโปรตีนเป็นจุดทุกต้นรอบแปลง และพ่นเป็นจุดทุกต้นเป็นแถว แต่ละแถวห่างกัน 5 เมตร



รูปที่ 5 น้ำมันปิโตรเลียม

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบจำนวนตัวหนอนแมลงวันผลไม้ต่อน้ำหนักพริก 1 กิโลกรัม ที่แปลงเกษตรกร
อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี ระหว่างเดือนกันยายน-พฤศจิกายน 2554 (แปลงทดลองที่ 1)

ตรวจนับครั้งที่	วิธีผสมผสาน	วิธีเกษตรกร
1	14.73	24.00
2	11.33	3.57
3	6.11	5.33
4	4.29	8.28
5	6.67	10.59
6	5.79	10.00
7	6.00	7.56
8	2.67	8.84
9	2.22	8.82
10	1.88	11.81
รวม	61.69	98.80
เฉลี่ย	6.17	9.88

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบจำนวนตัวหนอนแมลงวันผลไม้ต่อน้ำหนักพริก 1 กิโลกรัม ที่แปลงเกษตรกร
อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี ระหว่างเดือนพฤศจิกายน-ธันวาคม 2554 (แปลงทดลองที่ 2)

ตรวจนับครั้งที่	วิธีผสมผสาน	วิธีเกษตรกร
1	17.06	23.50
2	3.33	7.69
3	5.95	2.79
4	16.00	20.00
5	54.88	57.33
6	3.89	4.76
7	13.33	29.23
รวม	114.44	145.31
เฉลี่ย	16.35	20.76

สถานการณ์การระบาดและการจัดการวัชพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืชไกลโฟเสท

Widespread and management of glyphosate-resistant weeds

จรรยา มณีโชติ^{1/} วนิดา ธารณวิไล^{1/} สุพัตรา ชาววงจักร^{2/}

ยุรวรรณ อนันตนมณี^{1/} สิริชัย สารุวิจารณ์^{1/}

^{1/} กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/} ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรภาคอีสาน สำนักวิจัยพัฒนาการเกษตรเขตที่ 3

บทคัดย่อ

จากการสำรวจวัชพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืชไกลโฟเสทระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึง กันยายน 2554 ในแปลงปลูกพืช 13 จังหวัด ที่มีการใช้สารกำจัดวัชพืชไกลโฟเสทอย่างต่อเนื่องมากกว่า 5 ครั้งขึ้นไป ได้แก่ กาฬสินธุ์ ขอนแก่น มหาสารคาม ร้อยเอ็ด นครราชสีมา ยโสธร ราชบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี กาญจนบุรี ฉะเชิงเทรา ปราจีนบุรี เพชรบุรี และ ประจวบคีรีขันธ์ พบว่ามีวัชพืชทั้งหมด 12 ชนิด จำนวน 45 ประชากร แบ่งเป็นวัชพืชใบกว้าง 4 ประชากร ได้แก่ สาบม่วง 10 ประชากร ตีนตุ๊กแก 1 ประชากร ผักโขม 2 ประชากร และหญ้าหาง 3 ประชากร และวัชพืชใบแคบ 8 ชนิด ได้แก่ หญ้าตีนนก 3 ประชากร หญ้าปากควาย 7 ประชากร หญ้ารังนก 7 ประชากร หญ้าขจรจบดอกเล็ก 4 ประชากร หญ้าดอกสีชมพู 2 ประชากร หญ้าดอกแดง 3 ประชากร หญ้าดอกขาว 1 ประชากร และ หญ้าตีนกา 2 ประชากร เมื่อทดสอบความต้านทานต่อไกลโฟเสท พบว่าความถี่ในการพบประชากรต้านทานต่อไกลโฟเสท ประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์และสาบม่วง (*Praxelis clematidae*) ซึ่งเป็นวัชพืชที่พบระบาดมากที่สุดในการสำรวจครั้งนี้ ต้านทานไกลโฟเสททุกประชากร

รหัสการทดลอง 03-04-54-02-02-03-01-54

คำนำ

นับตั้งแต่มีการค้นพบวัชพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืชชนิดแรก ในสหรัฐอเมริกา คือ *Senecio vulgaris* L. ต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช simazine เมื่อปี พ.ศ. 2513 ปัจจุบัน มีรายงานการระบาดของวัชพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืชทั่วโลกมากกว่า 335 biotypes (202 species) กระจายอยู่ในทุกทวีปทั่วโลก กลุ่มสารกำจัดวัชพืชที่พบวัชพืชต้านทานมากที่สุด ประมาณ 8 กลุ่ม คือ กลุ่ม ACCase inhibitor (fenoxaprop-p-ethyl) กลุ่ม ALS inhibitors (อิมาซาพิก) กลุ่ม Triazines กลุ่ม Urea/Amides กลุ่ม Bipyridilium (พาราควอท) กลุ่ม Glycines (ไกลโฟเสท) กลุ่ม Dinitroanilines (pendimethalin) กลุ่ม Synthetic Auxins (2,4-D) (Heap, 2012) โดยทุกประชากรที่รายงานว่าต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืชชนิดนั้น มีประวัติการใช้สารกลุ่มเดียวกันต่อเนื่องกัน ตั้งแต่ 3 ปี ขึ้นไป

ไกลโฟเสท เริ่มใช้ครั้งแรกในปี พ.ศ. 2517 ในพืชปลูกหลายชนิด และเป็นที่ยอมรับแพร่หลาย จากคุณสมบัติที่ไม่เลือกทำลาย ต่อมาในปี พ.ศ. 2539 เริ่มมีการปลูกพืชตัดแต่งพันธุกรรมต้านทานต่อไกลโฟเสทหลายชนิด เช่น ถั่วเหลือง ข้าวโพด ฝ้าย และ canola (Dill *et al.*, 2008) Powles *et al.* (1998) รายงานว่าการพบวัชพืชต้านทานไกลโฟเสทครั้งแรกในออสเตรเลีย โดยพบในประชากรของหญ้า ryegrass (*Lolium rigidum*) ถึงแม้ว่า การเกิดความต้านทานต่อไกลโฟเสทจะเกิดได้ช้ากว่าสารกำจัดวัชพืชในกลุ่มอื่นๆ (Neve *et al.*, 2006; Powles and Preston, 2006) แต่ปัจจุบันพบว่ามีวัชพืช 22 ชนิด แบ่งเป็นใบแคบ 11 ชนิด และใบกว้าง 11 ชนิด. ในสกุล *Amaranthus*, *Ambrosia*, *Bromus*, *Chloris*, *Conyza*, *Digitaria*, *Echinochloa*, *leptochloa*, *Eleusine*, *Kochia*, *Lolium*, *Parthenium*, *Plantago*, *Poa*, *Sorghum* และ *Urochloa* (Heap, 2012)

ในสหรัฐอเมริกาที่มีการใช้พืชต้านทานไกลโฟเสท อย่างต่อเนื่อง ทำให้พบวัชพืชหลายชนิดต้านทานต่อไกลโฟเสทหลายชนิด ได้แก่ *Ambrosia artemisiifolia* L., *Ambrosia trifida* L., *Amaranthus palmeri* S. Watson, *Amaranthus rudis* J.D. Sauer, *Amaranthus tuberculatus* (Moq.) J.D. Sauer, *Conyza* spp. and *Lolium* spp. เช่นเดียวกับประเทศอาร์เจนตินา และบราซิล พบประชากรของวัชพืช 2 ชนิด ได้แก่ *Sorghum halepense* (L.) Pers. and และ หญ้ายาง (*Euphorbia heterophylla* L.) ซึ่งมีรายงานว่าเกิดต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืชไกลโฟเสทหลายประชากร

ในประเทศไทย มีรายงานวัชพืชต้านทานต่อไกลโฟเสท ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2543 ซึ่งพบวัชพืชต้านทาน 5 ชนิดในสวนปาล์มน้ำมัน ได้แก่ หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colona* L.) หญ้าตีนกา (*Eleusine indica* L. Gaertn.) หญ้ายาง (*Euphorbia geniculata*) และ หญ้าพันงูเขียว (*Stachytarpheta indica* Vahl) (จรรยา และ คณะ, 2543) เนื่องจากสารกำจัดวัชพืชไกลโฟเสทใช้กันอย่างแพร่หลายในประเทศไทย แต่ยังไม่มีการวิจัยต่อเนื่อง ที่สามารถยืนยันได้ว่ามีวัชพืชชนิดใดในพื้นที่ปลูกภาคไหนของประเทศไทย ที่ต้านทานต่อสารชนิดนี้ ซึ่งในอนาคต หากเริ่มมีการปลูก

พืชตัดแต่งพันธุกรรมต้านทานต่อสารไกลโฟเสทในสภาพไร่แล้ว จำเป็นที่เกษตรกรต้องทราบว่าในพื้นที่แห่งใดบ้างที่ไม่ควรปลูกพืชเหล่านี้ เพราะเป็นแหล่งระบาดของวัชพืชต้านทาน ดังนั้น จึงมีความจำเป็นที่ต้องดำเนินการสำรวจสถานการณ์การระบาดของสารกำจัดวัชพืชไกลโฟเสท

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างเมล็ดวัชพืช
2. เครื่องวัดพิกัดแปลง (GPS)
3. สารกำจัดวัชพืช paraquat 27.6% EC, ametryn 80% WP, diuron 80% WP, bromacil 80% WP
4. เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบถังโยกสะพายหลัง
5. เครื่องชั่งไฟฟ้า
6. กระบอกตวง กระจาดขี้นก และ จานแก้ว

วิธีการ

1. สำรวจแปลงที่มีการระบาดของวัชพืชใบแคบและใบกว้างในแหล่งปลูกพืช 13 จังหวัด ได้แก่ กาฬสินธุ์ ขอนแก่น มหาสารคาม ร้อยเอ็ด นครราชสีมา ยโสธร ราชบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี กาญจนบุรี ฉะเชิงเทรา ปราจีนบุรี เพชรบุรี และ ประจวบคีรีขันธ์ จำนวน 45 แปลง โดยเลือกแปลงที่มีประวัติการใช้สารกำจัดวัชพืชไกลโฟเสทอย่างต่อเนื่องมากกว่า 5 ปี จนพบการระบาดของวัชพืชในแปลง บันทึกพิกัดของแปลง และเก็บข้อมูลการใช้สารกำจัดวัชพืชย้อนหลัง 5 ปี บันทึกความหนาแน่นของวัชพืชที่พบ เป็น 4 ระดับคือ Low, medium, high, very high ตามวิธีการของ Llewellyne et al. (2009)
2. สุ่มเก็บเมล็ดวัชพืชในแปลงที่สงสัยว่าเกิดวัชพืชต้านทาน เก็บเมล็ดแต่ละชนิด ประมาณ 100 กรัมต่อประชากร โดยเดินในแนวทแยงมุม นำเมล็ดทั้งหมดมารวมกันเป็น bulk seed ตากแห้งและเก็บไว้ในตู้เย็นเก็บเมล็ดวัชพืชชนิดเดียวกัน จากแปลงที่ไม่เคยใช้สารกำจัดวัชพืชชนิดนั้นๆ มาก่อน เพื่อใช้เป็น susceptible check ประเมิน Frequency ในการเกิดวัชพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืช
3. ทดสอบระดับความต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช โดยนำเมล็ดวัชพืช 45 ประชากร มาเพาะในกระถางจนมีขนาด 2-3 ใบ จากนั้น พ่นด้วยสารกำจัดวัชพืช glyphosate ที่อัตรา 160 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช 30 วัน นับจำนวนต้นที่รอดตาย โดยสังเกตจากต้นที่แตกใบใหม่ นำค่าที่ได้คำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์รอดตายโดยเปรียบเทียบกับจำนวนต้นของประชากรเดียวกันที่ไม่พ่นสาร แบ่งระดับความต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช เป็น 4 ระดับ ดังนี้ คือ

เปอร์เซ็นต์การรอดตาย	ระดับความต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช
0	ประชากรอ่อนแอ (Susceptible population)
1-20	ประชากรที่กำลังพัฒนาความต้านทาน (Developing resistant population)
21-50	ประชากรต้านทาน (Resistant population)
51-100	ประชากรต้านทานระดับสูง (Highly resistant population)

ระยะเวลาและสถานที่ดำเนินการ

แปลงเกษตรกรในเขตภาคกลางและห้องปฏิบัติการและเรือนทดลองของกลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ในระหว่างเดือนตุลาคม 2553 – มีนาคม 2555

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจวัชพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืชไกลโฟเสท ในระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2553 ถึง 21 กันยายน 2554 ในแปลงปลูกพืช 13 จังหวัด ได้แก่ กาฬสินธุ์ ขอนแก่น มหาสารคาม ร้อยเอ็ด นครราชสีมา ยโสธร ราชบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี กาญจนบุรี ฉะเชิงเทรา ปราจีนบุรี เพชรบุรี และ ประจวบคีรีขันธ์ จำนวนแปลงทั้งหมด 29 แปลง ได้แก่ มันสำปะหลัง 7 แปลง ยางพารา 7 แปลง อ้อย 2 แปลง ว่านหางจระเข้ 1 แปลง ปาล์มน้ำมัน 2 แปลง แตงกวา 2 แปลง มะละกอ 1 แปลง มะม่วง 1 แปลง มะระ 1 แปลง ผักชี 1 แปลง เผือก 1 แปลง กะหล่ำปลี 1 แปลง มะนาว 1 แปลง กลัวยี่ไข 1 แปลง พบประชากรที่เหลือในแปลงที่มีการใช้สารกำจัดวัชพืชไกลโฟเสทอย่างต่อเนื่องมากกว่า 5 ปี ทั้งหมด 45 ประชากร แบ่งเป็นวัชพืชใบกว้าง 4 ประชากร ได้แก่ สาบม่วง 10 ประชากร ตีนตุ๊กแก 1 ประชากร ผักโขม 2 ประชากร และหญ้า 3 ประชากร และวัชพืชใบแคบ 8 ชนิด ได้แก่ หญ้าตีนนก 3 ประชากร หญ้าปากควาย 7 ประชากร หญ้ารังนก 7 ประชากร หญ้าขจรจบดอกเล็ก 4 ประชากร หญ้านกสีชมพู 2 ประชากร หญ้าดอกแดง 3 ประชากร หญ้าดอกขาว 1 ประชากร และ หญ้าตีนกา 2 ประชากร รายละเอียดข้อมูลและพิกัดแปลง ชื่อเกษตรกร(หรือชื่อแปลง) จำนวนพื้นที่ อำเภอ จังหวัด พืชที่ปลูก สารเคมีที่ใช้ ประวัติการใช้สารเคมีของเกษตรกร ชนิดและความหนาแน่นของวัชพืชขณะสำรวจ แสดงไว้ในตารางผนวกที่ 1

เมื่อพ่นด้วยสารกำจัดวัชพืชไกลโฟเสท ในประชากรวัชพืช 12 ชนิด ทั้งหมด 45 ประชากร พบว่า มีประชากรที่ไม่ต้านทาน 22 ประชากร และต้านทาน 23 ประชากร ซึ่งคิดเป็นความถี่ในการพบประชากรต้านทานต่อไกลโฟเสท ประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1)

เมื่อนำเปอร์เซ็นต์การรอดตายของประชากรทั้งหมดมาจัดระดับความต้านทานเป็น 4 ระดับ พบว่า มีประชากรหญ้าขจรจบดอกเล็ก พัฒนาความต้านทาน 1 ประชากร ที่เหลือ 3 ประชากรไม่ต้านทาน ประชากรหญ้าดอกขาว 1 ประชากร ต้านทานต่อไกลโฟเสทสูงมาก ไม่พบประชากรหญ้าดอกแดงต้านทาน ที่น่าสนใจ

คือ หญ้าร้างนก ที่พบประชากรต้านทาน 4 ประชากร และ ประชากรسابม่วงทั้งหมด 9 ประชากร ด้านทานไกลโฟเสททุกประชากร (ตารางที่ 2)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. สำรวจพบประชากรวัชพืชจากแปลงที่มีการใช้สารกำจัดวัชพืชไกลโฟเสทอย่างต่อเนื่องมากกว่า 5 ครั้งขึ้นไป จำนวน 45 ประชากร แบ่งเป็นวัชพืชใบกว้าง 4 ประชากร ได้แก่ สาบม่วง 10 ประชากร ตีนตุ๊กแก 1 ประชากร ผักโขม 2 ประชากร และหญ้าหาง 3 ประชากร และวัชพืชใบแคบ 8 ชนิด ได้แก่ หญ้าตีนนก 3 ประชากร หญ้าปากควาย 7 ประชากร หญ้าร้างนก 7 ประชากร หญ้าขจรจบดอกเล็ก 4 ประชากร หญ้านกสีชมพู 2 ประชากร หญ้าดอกแดง 3 ประชากร หญ้าดอกขาว 1 ประชากร และ หญ้าตีนกา 2 ประชากร
2. พบประชากรวัชพืชที่ไม่ต้านทาน 22 ประชากร และประชากรต้านทาน 23 ประชากร คิดเป็นความถี่ในการพบประชากรต้านทานต่อไกลโฟเสท ประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์
3. ประชากรسابม่วงทั้งหมด 9 ประชากร ด้านทานไกลโฟเสททุกประชากร

เอกสารอ้างอิง

- จรรยา มณีโชติ อัครวิ น โนทะยะ และ ประทีป กระแสสินธุ์. 2543. วัชพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืชไกลโฟเสทในสวนปาล์มน้ำมัน. วิทยาสารสมาคมวิทยาการวัชพืชแห่งประเทศไทย 1:23-29.
- Dill G.M., CaJacob C.A. and Padgette SR, Glyphosate-resistant crops: adoption, use and future considerations. Pest Management Science 64:326–331.
- Gressel, J. 2000. More Non-target Site Herbicide Cross-resistance in *Echinochloa* spp. in Rice. Resistant Pest Management 11: 6-7.
- Heap, I. 2012. International survey of herbicide resistant weeds. <http://www.weedscience.com> Cited on 12 April 2012.
- Llewellyn, R.S., F.H. D’Emden, M.J. Owen and S.B. Powles. 2009 Herbicide resistance in rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) has not led to higher weed densities in Western Australian Cropping System Weed Science 57: 61-65.
- Powles, S.B. 2008. Evolved glyphosate-resistant weeds around the world: lessons to be learnt. Pest Management Science 64: 360-365.
- Pratley J, Urwin N, Stanton R., Baines P., Broster J. and Cullis K. 1999. Resistance to glyphosate in *Lolium rigidum*, I: bioevaluation. Weed Science 47:405–411.
- Powles S.B., Lorraine-Colwill D.F., Dellow J.J. and Preston C. 1998. Evolved resistance to glyphosate in rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) in Australia. Weed Science 46:604–607.

Powles S.B. and Preston C., Evolved glyphosate resistance in plants: biochemical and genetic basis of resistance. *Weed Technology* 20:180–182.

Neve P, Diggle AJ, Smith FP and Powles SB, Simulating evolution of glyphosate resistance in *Lolium rigidum*. I. Population biology of a rare trait. *Weed Res* 43:404–417 (2003).

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์รอดตายของสาบม่วง 28 ประชากร เมื่อพ่นด้วยสารกำจัดวัชพืชไกลโฟเสท ที่อัตรา 160 กรัม สารออกฤทธิ์ต่อไร่ เมื่อวัชพืชมีขนาด 2-3 ใบ ทดลองในระหว่างเดือนมกราคม-กุมภาพันธ์ 2555

ลำดับ ที่	ชนิดวัชพืช	จังหวัด	พิกัด		การรอดตาย (%)	
			N	E	เฉลี่ย	s.d
1	สาบม่วง 1	กาฬสินธุ์	16.61571	103.67202	8.3	2.4
2	สาบม่วง 2	กาฬสินธุ์	16.39175	103.85438	39.8	2.4
3	สาบม่วง 3	ขอนแก่น	16.41375	103.37094	5.6	1.7
4	สาบม่วง 4	ขอนแก่น	16.61946	102.91631	60.0	2.9
5	สาบม่วง 5	นครราชสีมา	14.86632	101.59789	13.6	1.8
6	สาบม่วง 6	กาฬสินธุ์	16.44142	103.58589	29.4	5.3
7	สาบม่วง 7	กาฬสินธุ์	16.47150	103.75835	23.7	0.6
8	สาบม่วง 8	กาฬสินธุ์	16.45142	103.73912	35.9	1.9
9	สาบม่วง 9	กาฬสินธุ์	13.56078	101.40668	21.1	2.9
10	สาบม่วง 10	มหาสารคาม	16.54668	103.12630	25.6	1.2
11	ตีนนก 1	กาฬสินธุ์	16.61274	103.67079	21.6	3.5
12	ตีนนก 2	ขอนแก่น	16.41375	103.37094	0.0	0.0
13	ตีนนก 3	ราชบุรี	13.69878	99.45290	0.0	0.0
14	ปากควาย 1	กาฬสินธุ์	16.61571	103.67202	0.0	0.0
15	ปากควาย 2	กาฬสินธุ์	16.44142	103.58589	19.2	3.9
16	ปากควาย 3	สระแก้ว	13.45209	102.26295	13.2	1.2
17	ปากควาย 4	สระแก้ว	13.60037	102.36540	5.5	1.2
18	ปากควาย 5	สระแก้ว	13.41615	102.20036	0.0	0.0
19	ปากควาย 6	จันทบุรี	13.29688	102.17646	0.0	0.0
20	ปากควาย 7	สระแก้ว	13.29293	102.18105	0.0	0.0
21	ตีนตุ๊กแก 1	กาฬสินธุ์	16.61274	103.67079	47.2	1.5
22	ผักโขม 1	ประจวบฯ	13.34944	99.89963	0.0	0.0
23	ผักโขม 2	จันทบุรี	13.29293	102.18105	0.0	0.0
24	หญ้าร้างนก 1	นครปฐม	13.87033	99.96252	48.8	3.0
25	หญ้าร้างนก 2	นครปฐม	13.89941	99.97820	0.0	0.0
26	หญ้าร้างนก 3	นครปฐม	13.98933	100.09564	47.3	1.2

27	หญ้าร้างนก 4	เพชรบุรี	11.76992	99.67121	44.7	1.7
28	หญ้าร้างนก 5	นครปฐม	14.07345	99.86663	0.0	0.0
29	หญ้าร้างนก 6	ประจวบฯ	12.36227	99.83295	0.0	0.0

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ลำดับ ที่	ชนิดวัชพืช	จังหวัด	พิกัด		การรอดตาย (%)	
			N	E	เฉลี่ย	s.d
30	หญ้าร้างนก 7	สระแก้ว	13.60036	102.36539	58.4	3.7
31	ขจรจบดอกเล็ก 1	กาฬสินธุ์	16.60873	103.67537	0.0	0.0
32	ขจรจบดอกเล็ก 2	ขอนแก่น	16.61946	102.91631	2.7	0.6
33	ขจรจบดอกเล็ก 3	ยโสธร	16.25667	105.31700	0.0	0.0
34	ขจรจบดอกเล็ก 4	ฉะเชิงเทรา	13.56884	101.50434	0.0	0.0
35	หญ้านกสีชมพู 1	ฉะเชิงเทรา	13.50323	101.59164	17.5	2.4
36	ดอกแดง 1	ประจวบฯ	12.39055	99.84059	0.0	0.0
37	ดอกแดง 2	ฉะเชิงเทรา	13.67688	101.39841	0.0	0.0
38	ดอกแดง 3	สระแก้ว	13.41219	102.21967	0.0	0.0
39	ดอกขาว 1	ฉะเชิงเทรา	13.5805	101.49663	82.8	4.9
40	ตีนกา 1	เพชรบุรี	12.89276	99.84924	0.0	0.0
41	ตีนกา 2	สระแก้ว	13.49596	102.32711	0.0	0.0
42	หญ้านกสีชมพู 2	สระแก้ว	13.74923	102.09039	0.0	0.0
43	ผักยาง 1	สระแก้ว	13.43618	102.32581	63.9	1.4
44	ผักยาง 2	สระแก้ว	13.43347	102.20116	0.0	0.0
45	ผักยาง 3	สระแก้ว	13.41609	102.20055	0.0	0.0

ตารางที่ 2 ระดับความต้านทานต่อไกลโฟเสทของประชากรวัชพืช 12 ชนิด

ชนิดวัชพืช	ระดับความต้านทานต่อไกลโฟเสท*			
	S	DR	R	HR
หญ้าขจรจบดอกเล็ก	3	1	0	0
หญ้าดอกขาว	0	0	0	1
หญ้าดอกแดง	3	0	0	0

หญ้าตีนกา	2	0	0	0
หญ้าตีนนก	2	1	0	0
หญ้าปากควาย	0	1	0	0
หญ้านกสีชมพู	1	1	0	0
หญ้าร้างนก	2	0	3	1
ตีนนก	2	0	1	0
ผักโขม	2	0	0	0
หญ้าแยง	2	0	0	1
สาบม่วง	0	2	6	1

*S = Susceptible; DR = Developing resistance; R = Resistance; HR = Highly resistance

ตารางผนวกที่ 1 ประวัติแปลงเกษตรกรที่มีการใช้สารกำจัดวัชพืชไกลโฟเสตติดต่อกันมากกว่า 5 ครั้งขึ้นไป สํารวจในปี พ.ศ. 2554

แปลงที่	พิกัดแปลง		ชื่อเกษตรกร	พื้นที่ (ไร่)	อำเภอ	จังหวัด	พืชปลูก	จำนวนครั้งที่ ใช้สาร	ชนิดวัชพืช	%
	N	E								
1	16.61274	103.6708	นายนิรันดร์ พะละ	5	สมเด็จพระ	กาฬสินธุ์	มันสำปะหลัง	5	สาบม่วง	40
									หญ้าตีนนก	15
2	16.61571	103.672	นางลัดดาวัลย์ ศรีแพงมน	5	สมเด็จพระ	กาฬสินธุ์	มันสำปะหลัง	5	สาบม่วง	45
									หญ้าปากควาย	10
3	16.60873	103.6754	นายสิมมา จรฤทธิ	30	เมือง	กาฬสินธุ์	ยางพารา	6	ขจรจบดอกเล็ก	40
									กกทราย	17
4	16.41375	103.3709	นายทัฬหชาติ บุญโส	8	น้ำพอง	ขอนแก่น	อ้อย	6	สาบม่วง	40
									หญ้าตีนนก	20
5	16.61946	102.9163	นางราตรี ศรีจันทา	6	น้ำพอง	ขอนแก่น	อ้อย	6	ขจรจบดอกเล็ก	25
									สาบม่วง	15
6	14.86632	101.5979	นายจිරศักดิ์ ประทุมศรี	15	สีคิ้ว	นครราชสีมา	มันสำปะหลัง	10	สาบม่วง	75
7	16.44142	103.5859	นายสัน	3	เมือง	กาฬสินธุ์	มันสะปะหลัง	10	เทียนนา	40
									สาบม่วง	30
									หญ้าปากควาย	20
8	13.87033	99.96252	นายสุทัศน์ โทบุตรดา	2.5	เมือง	นครปฐม	กะหล่ำปลี	5	หญ้าร้างนก	40
									หญ้าละออง	30
9	13.89941	99.9782	นายสุทัศน์ โทบุตรดา	1.5	เมือง	นครปฐม	แตงกวา	5	หญ้าร้างนก	35
10	13.98933	100.0956	นางสมพิศ ทองขาว	2	เมือง	นครปฐม	แตงกวา	5	หญ้าละออง	30
11	13.69878	99.4529	นายอาทร เพียรไพโรจน์	4	จอมบึง	ราชบุรี	เผือก	5	หญ้าตีนนก	65
12	16.4715	103.7584	นางสงกรานต์ ศรีนามน	26	ดอนจาน	กาฬสินธุ์	มันสำปะหลัง	5	สาบม่วง	20

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

แปลงที่	พิกัดแปลง		ชื่อเกษตรกร	พื้นที่ (ไร่)	อำเภอ	จังหวัด	พืชปลูก	จำนวนครั้งที่ ใช้สาร	ชนิดวัชพืช	%
	N	E								
13	16.45142	103.7391	นายหลั่น อารีตรอง	20	ดอนจาน	กาฬสินธุ์	มันสำปะหลัง	5	สาบม่วง	15
14	13.56078	101.4067	นายลพบุรี บุญใหญ่	20	ดอนจาน	กาฬสินธุ์	ยางพารา	5	สาบม่วง	30
15	16.54668	103.1263	นายคำแดง เนื่องมัจฉา	3	ชื่นชม	มหาสารคาม	มันสำปะหลัง	5	สาบม่วง	20
16	16.25667	105.317	นางเฉลิม สว่างวงษ์	6	เริงนกทา	ยโสธร	ยางพารา	5	ขจรจบดอกเล็ก	10
17	11.76992	99.67121	นายอภิสิทธิ์ สิริติคง	3	แก่งกระจาน	เพชรบุรี	กล้วยไข่	5	หญ้าร้างนก	50
18	14.07345	99.86663	นายเอกรินทร์ บัวเอี่ยม	10	กำแพงแสน	นครปฐม	ผักชี	5	หญ้าร้างนก	30
19	12.39055	99.84059	นายเต่ง แซ่เอี้ยว	20	ปราณบุรี	ประจวบคีรีขันธ์	ว่านหางจระเข้	5	หญ้าดอกแดง	25
20	13.34944	99.89963	แปลงมะระ	2	เมือง	ประจวบคีรีขันธ์	มะระ	5	ผักโขม	40
21	11.60403	99.6614	นายคำ (แปลงปาล์ม)	15	ปราณบุรี	ประจวบคีรีขันธ์	ปาล์มน้ำมัน	5	จิงจ้อ	60
22	12.36202	99.83461	นายสงกรานต์ จันทร์มาก	20	ปราณบุรี	ประจวบคีรีขันธ์	มะม่วง	5	หญ้าปากควาย	50
23	12.36227	99.83295	นายวิชัย	5	ปราณบุรี	ประจวบคีรีขันธ์	ปาล์มน้ำมัน	5	หญ้าร้างนก	60
24	13.67688	101.3984	แปลงยางฉะเชิงเทรา	10	พนมสารคาม	ฉะเชิงเทรา	ยางพารา	5	หญ้าดอกแดง	40
25	13.5805	101.4966	แปลงยางพารา เสี่ยชลบุรี	70	สนามชัยเขต	ฉะเชิงเทรา	ยางพารา	5	หญ้าดอกขาว	30
26	13.56884	101.5043	แปลงยางลาดกระทิง	30	สนามชัยเขต	ฉะเชิงเทรา	ยางพารา	5	สาบม่วง	60
27	13.50323	101.5916	แปลงยางข้างวัดวังรุ่ง	20	ท่าตะเคียน	ฉะเชิงเทรา	ยางพารา	5	หญ้าตีนติด	40
									หญ้านกสีชมพู	60
28	13.81016	100.9187	นางโสภา ป้อมเกิด	20	นครชัยศรี	นครปฐม	มะละกอ	10	ผักโขม	40
29	12.89276	99.84924	ดาบ ตร. สามารถ ฉ่ำชะเอม	7	ท่ายาง	เพชรบุรี	มะนาว	5	หญ้าตีนกา	60