ผลงานวิจัย เล่ม ๒

ประจำปี ๒๕๕๙

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Plant Protection Research and Development Office

เอกสารวิชาการเลขที่ ๑/๒๕๖๐

กรมวิชาการเกษตร
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

รายงาน
ผลงานวิจัยประจำปี ๒๕๕๙
เล่ม ๒

เอกสารวิชาการเลขที่ ๑/๒๕๖๐

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

คำนำ

“รายงานผลงานวิจัย ประจำปี ๒๕๕๙” เป็นเอกสารวิชาการที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชจัดทำต่อเนื่องติดต่อกัน ๑๔ ปี จากผลงานวิจัยของนักวิจัย กลุ่มกีฏและสัตววิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช กลุ่มวิจัยวัชพืช กลุ่มวิจัยการกักกันพืช และกลุ่มบริหารศัตรูพืช ที่ดำเนินงานด้วยงบประมาณ ภายใต้ **แผนงานวิจัยและพัฒนากรมวิชาการเกษตร ปี ๒๕๕๙ - ๒๕๖๔** ประกอบด้วยผลงานวิจัยแผนงานวิจัย ๒ แผนงาน ได้แก่ แผนงานวิจัยมาตรการสุขอนามัยพืช ประกอบด้วย ๔ โครงการ ได้แก่ โครงการวิจัยมาตรการสุขอนามัยพืชในการนำเข้าและส่งออกสินค้าเกษตร โครงการวิจัยการศึกษาชนิดศัตรูพืชที่ติดมากับพืชนำเข้า โครงการวิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดศัตรูพืชกักกันของพืชส่งออก โครงการวิจัยการศึกษาสถานภาพศัตรูพืชกักกันในประเทศไทย และแผนงานวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายและการใช้ประโยชน์ของชีวภัณฑ์สู่เชิงพาณิชย์ ประกอบด้วย ๓ โครงการ ได้แก่ โครงการวิจัยสำรวจและศึกษาศักยภาพชีวภัณฑ์ควบคุมศัตรูพืชทางการเกษตร โครงการวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายและการใช้ชีวภัณฑ์ในการควบคุมศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ โครงการวิจัยการผสมผสานเทคโนโลยีการใช้ชีวภัณฑ์เพื่อควบคุมศัตรูพืช และชุดโครงการวิจัยอื่น ๆ ได้แก่ ข้าวโพดฝักสด ถั่วเขียว ข้าวฟ่าง ไม้ดอกไม้ประดับ กล้วยไม้ มันเทศ มันฝรั่ง พริก ขิง มะเขือเทศ สับปะรด ส้มเปลือกล่อนในเขตภาคเหนือระยะที่ ๒ วิจัยและพัฒนาพันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตส้มเปลือกล่อน กล้วย สมุนไพรและเครื่องเทศ มะคาเดเมีย กาแฟ วิจัยและพัฒนาระบบการผลิตพืชในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตพืชอินทรีย์ในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตพืชเศรษฐกิจเฉพาะพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง ไม้ผลเศรษฐกิจในเขตพื้นที่ภาคตะวันออก ผลิตพืชในพื้นที่ชุ่มน้ำเพื่อใช้ประโยชน์ด้านเกษตรและอุตสาหกรรม การผลิตพืชในระบบเกษตรอินทรีย์ วัตถุมีพิษการเกษตรจากสารธรรมชาติจากพืช และโครงการวิจัยเร่งด่วน เป็นการรวมการดำเนินงานจาก ๑๙ ชุดโครงการวิจัย ๗ โครงการวิจัยเดี่ยว ๖ โครงการวิจัยเร่งด่วน รวมทั้งสิ้น ๓๗ โครงการวิจัย ๔๙ กิจกรรมที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชต้องรับผิดชอบในฐานะหัวหน้าการทดลอง รวมจำนวนการทดลองทั้งสิ้น ๑๔๓ การทดลอง เป็นการทดลองร่วม ๓๓ การทดลอง

การจัดทำรายงานผลงานวิจัยเล่มนี้ เสร็จสมบูรณ์ เพราะนักวิจัยทุกท่าน จากกลุ่มวิชาการของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช มุ่งหวังจะเผยแพร่ผลงานด้านอารักขาพืชที่ตนได้วิจัยด้วยความพากเพียร และมุ่งมั่น ให้ผู้สนใจได้นำข้อมูลไปใช้ประโยชน์ ทั้งการอ้างอิง การประยุกต์เพื่อขยายผลตลอดจนการต่อยอดผลงานวิจัย สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จึงขอขอบคุณผู้เกี่ยวข้องทุกท่านไว้ในโอกาสนี้

(นางวิไลวรรณ พรหมคำ)
ผู้อำนวยการสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
มิถุนายน ๒๕๖๐

สารบัญ

รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2559 เล่มที่ 1..... **1-490**
รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2559 เล่มที่ 2..... **491-927**

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตและคุณภาพให้ตรงตาม ความต้องการของตลาดและภาคอุตสาหกรรมข้าวโพดฝักสด
โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตข้าวโพดฝักสด 01-13-59-02
กิจกรรม การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการอารักขาข้าวโพดฝักสด
กิจกรรมย่อย -
การทดลอง ➢ผลของการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภท..... 1
ใช้ก่อนวัชพืชงอกในข้าวโพดหวาน
01-13-59-02-03-00-02-59
❖ ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย และคณะ
➢ผลของการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภท..... 13
ใช้หลังวัชพืชงอกในข้าวโพดหวาน
01-13-59-02-03-00-03-59
❖ ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาถั่วเขียวเพื่อเสริมสร้างระบบการผลิตที่ยั่งยืนและความมั่นคง ด้านอาหาร
โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการเพิ่มผลผลิตและคุณภาพถั่วเขียว 01-15-59-02
กิจกรรม การอารักขาพืช
กิจกรรมย่อย -
การทดลอง ➢การจัดการวัชพืชในถั่วเขียวหลังนา..... 25
01-15-59-02-02-00-02-59
❖ ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย และคณะ

➢การทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืช..... 44
เพื่อควบคุมแห้วหมูในถั่วเขียว
01-15-59-02-02-00-03-59
❖ ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยพัฒนาพันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตข้าวฟ่าง (โครงการวิจัยเดี่ยว)

โครงการวิจัย วิจัยพัฒนาพันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตข้าวฟ่าง 01-21-59-01

กิจกรรม การวิจัยและพัฒนาข้าวฟ่างหวาน

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢การศึกษาปฏิกิริยาโรคลำต้นเน่าดำ..... 59
ในข้าวฟ่างหวาน
01-21-59-01-01-00-02-59
❖ พจนา ตระกูลสุขรัตน์

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาไม้ดอกไม้ประดับที่มีศักยภาพในเชิงการตลาด

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาปทุมมาและกระเจียวเพื่อการค้า 01-22-59-01

กิจกรรม การจัดการโรคเหี่ยวของปทุมมาและกระเจียวโดยวิธีผสมผสาน

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢การใช้วิธีการจัดการดินร่วมกับการใช้แบคทีเรีย..... 65
ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมา
01-22-59-01-01-00-01-59
❖ บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ และคณะ

กิจกรรม การจัดการโรคใบไหม้และใบจุดของปทุมมาและกระเจียว

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢การป้องกันกำจัดโรคใบไหม้และใบจุดปทุมมา..... 75
ที่เกิดจากเชื้อรา *Acremonium* sp. โดยชีววิธี
01-22-59-01-02-00-01-59
❖ ทัศนาพร ทัศคร และคณะ
➢การป้องกันกำจัดโรคใบไหม้และใบจุดปทุมมา
ที่เกิดจากเชื้อรา *Acremonium* sp. โดยใช้สารสกัดจากพืช
01-22-59-01-02-00-02-59
❖ วัชรี วิทยวรรณกุล และคณะ

กิจกรรม การจัดการแมลงศัตรูปทุมมาของปทุมมาและกระเจียว

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢การจัดการแมลงศัตรูปทุมมาแบบผสมผสาน
01-22-59-01-03-00-01-59
❖ อุราพร หนูนารถ และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนากล้วยไม้

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนากล้วยไม้สกุลหวายเพื่อการค้า ระยะที่ 2 01-24-59-01

กิจกรรม เทคโนโลยีการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสำคัญในกล้วยไม้สกุลหวาย

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢ผลของอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์✪..... 86
ที่มีต่อความเสียหายจากการทำลายของ
บั่วกล้วยไม้ (*Contarinia maculipennis* Felt)
ในกล้วยไม้สกุลหวาย
01-24-59-01-03-00-01-59
❖ ศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา และคณะ
➢ประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงในการป้องกัน..... 91
กำจัดบั่วกล้วยไม้ในกล้วยไม้สกุลหวาย
01-24-59-01-03-00-02-59
❖ ศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา และคณะ
➢เทคนิคการพ่นสารด้วยเครื่องพ่นหมอก✪..... 98
ในการป้องกันกำจัดบั่วกล้วยไม้
01-24-59-01-03-00-03-59
❖ พฤทธิชาติ ปุญวัฒโท และคณะ
➢ผลของสภาพน้ำที่มีต่อประสิทธิภาพของ✪..... 110
สารฆ่าแมลงและอายุการใช้งานของหัวฉีดที่ใช้ใน
การป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟฝ้าย (*Thrips palmi* Karny)
ในกล้วยไม้
01-24-59-01-03-00-04-59
❖ พฤทธิชาติ ปุญวัฒโท และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาพันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตมันเทศ (ระยะที่ 2)
(โครงการวิจัยเดี่ยว)

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตมันเทศ (ระยะที่ 2)
01-26-59-01

กิจกรรม การพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตมันเทศเพื่อเพิ่มผลผลิตและคุณภาพ

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢การป้องกันกำจัดด้วงงวงมันเทศ *Cylas formicarius* Fabricius ในมันเทศแบบผสมผสาน
01-26-59-01-02-00-01-59

❖ อุราพร หนูนารถ และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยพัฒนาพันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตมันฝรั่ง (โครงการวิจัยเดี่ยว)

โครงการวิจัย วิจัยพัฒนาพันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตมันฝรั่ง 01-27-59-01

กิจกรรม การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืชสำคัญของมันฝรั่ง

กิจกรรมย่อย การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการจัดการแมลงศัตรูสำคัญของมันฝรั่ง

การทดลอง ➢การทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลง..... 120
ในการป้องกันกำจัดหนอนแมลงวันชอนใบ *Liriomyza brassicae* (Riley) ในมันฝรั่ง
01-27-59-01-03-01-02-59

❖ สมรวย รวมชัยอภิกุล และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาพริก

โครงการวิจัย วิจัยปรับปรุงพันธุ์พริกเพื่อเพิ่มผลผลิตพริกคุณภาพตามมาตรฐานสากล
01-29-59-01

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์พริกใหญ่

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢การปรับปรุงพันธุ์พริกใหญ่ต้านทานแอนแทรคโนส
01-29-59-01-02-00-04-59

❖ ธารทิพย ภาสบุตร และคณะ

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์พริกขี้หนูใหญ่

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢การเปรียบเทียบพันธุ์พริกจินดาต้านทานโรคแอนแทรคโนส

01-29-59-01-03-00-01-59

❖ ธารทิพย ภาสบุตร และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาพันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตสับปะรด

โครงการวิจัย วิจัยการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตและลดต้นทุนการผลิตสับปะรด 01-35-59-02

กิจกรรม -

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢ศึกษาสารตกค้างและแพร่กระจายของสารป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งในสับปะรด

01-35-59-02-00-00-02-59

❖ สุเทพ สหายา และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตกล้วย

โครงการวิจัย วิจัยการปรับปรุงพันธุ์กล้วย 01-44-59-01

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์กล้วยน้ำว้าต้านทานโรคตายพราย

กิจกรรมย่อย –

การทดลอง ➢การคัดเลือกกล้วยน้ำว้าสายพันธุ์ต้านทานต่อโรคตายพรายที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC)

01-44-59-01-03-00-01-59

❖ อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยการปรับปรุงพันธุ์และศึกษาเทคโนโลยีการผลิตมะคาเดเมีย
(โครงการวิจัยเดี่ยว)

โครงการวิจัย วิจัยการปรับปรุงพันธุ์และศึกษาเทคโนโลยีการผลิตมะคาเดเมีย 01-55-59-01

กิจกรรม การศึกษาเทคโนโลยีการผลิตมะคาเดเมีย

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢ชนิดและฤดูกาลระบาดของแมลงศัตรู✪มะคาเดเมีย 125
01-55-59-01-02-04-01-59
❖ บุษบง มนัสมั่นคง และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนากาแฟ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตและวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวกาแฟ 01-58-59-03

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาการบริหารจัดการศัตรูพืชของกาแฟและวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว

กิจกรรมย่อย –

การทดลอง ➢การศึกษาโรคแอนแทรคโนส (Anthracnose)ของกาแฟอะราบิกาในประเทศไทย 128
01-58-59-03-03-00-01-59
❖ ธารทิพย ภาสบุตร และคณะ
➢ศึกษาการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรกโนสในกาแฟอะราบิกา 133
01-58-59-03-03-00-02-59
❖ ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตพืชเศรษฐกิจเฉพาะพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง

โครงการวิจัย วิจัยการเพิ่มศักยภาพการผลิตน้อยหน่าคุณภาพ 02-08-59-02

กิจกรรม การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตน้อยหน่า

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢การแพร่ระบาดของโรคกิ่งแห้งน้อยหน่า✪..... 137
และชีววิทยาของเชื้อสาเหตุโรค
02-08-59-02-01-00-03-59
❖ พจนา ตระกูลสุขรัตน์ และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยทดสอบและพัฒนาระบบการผลิตไม้ผลเศรษฐกิจในเขตพื้นที่ภาคตะวันออก

โครงการวิจัย วิจัยทดสอบและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตไม้ผลคุณภาพเพื่อการส่งออก ในพื้นที่ภาคตะวันออก 02-13-59-03

กิจกรรม ทดสอบและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตลองกองคุณภาพเพื่อการส่งออก ในพื้นที่ภาคตะวันออก

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢ทดสอบเทคโนโลยีการป้องกันกำจัดหอยทาก
เพลี้ยแป้ง เพลี้ยหอย และแมลงวันผลไม้
02-13-59-03-03-00-02-59
❖ ปราสาททอง พรหมเกิด และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาระบบการผลิตพืชในพื้นที่ชุ่มน้ำเพื่อใช้ประโยชน์ด้านเกษตร และอุตสาหกรรม

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาบัวหลวงเพื่อการเกษตรและอุตสาหกรรม 03-01-59-01

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตบัวหลวง

กิจกรรมย่อย –

การทดลอง ➢การทดสอบประสิทธิภาพสารชีวภัณฑ์และ..... 145
สารสกัดจากพืชในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ
ในบัวหลวงในพื้นที่ชุ่มน้ำ
03-01-59-01-02-00-02-59
❖ นันทนัช พินศรี และคณะ
➢การทดสอบประสิทธิภาพสารชีวภัณฑ์และ✪..... 153
สารสกัดจากพืชในการป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนบัวหลวง
Rhopalosiphum nymphaeae (L.) ในพื้นที่ชุ่มน้ำ
03-01-59-01-02-00-03-59
❖ นันทนัช พินศรี และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาการผลิตพืชในระบบเกษตรอินทรีย์

โครงการวิจัย วิจัยพัฒนาการป้องกันกำจัดศัตรูพืชในการผลิตพืชระบบเกษตรอินทรีย์ 03-03-59-02

กิจกรรม ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดพืชต่อแมลงศัตรูพืชและแมลงศัตรูธรรมชาติจากแปลงปลูกพืชอินทรีย์ (2559-2563)

กิจกรรมย่อย –

การทดลอง

➢ทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดพืช สะเดา ว่านน้ำและหางไหล (Azadirachtin, B-asarone and Rotenone) ที่มีต่อแมลงศัตรูพืชและแมลงศัตรูธรรมชาติที่พบในแปลงปลูกแตงกวา 03-03-59-02-02-00-02-59

❖ พัชรีวรรณ จงจิตเมตต์ และคณะ

➢ทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดพืช สะเดา ว่านน้ำและหางไหล (Azadirachtin, B-asarone and Rotenone) ที่มีต่อแมลงศัตรูพืชและแมลงศัตรูธรรมชาติที่พบในแปลงปลูกถั่วฝักยาว 03-03-59-02-02-00-03-59

❖ สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต และคณะ

➢การใช้สารสกัดมะคำดีควาย..... 159
Sapidus emaginatus และสารสกัดกากเมล็ดชาน้ำมัน *Camelia* sp. กำจัดหนูศัตรูพืช 03-03-59-02-02-00-04-59

❖ ปราสาททอง พรหมเกิด และคณะ

กิจกรรม การป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืชในการผลิตพืชระบบเกษตรอินทรีย์ (2559-2560)

กิจกรรมย่อย –

การทดลอง

➢ศักยภาพของชนิดพืชปลูกร่วมต่อการดึงดูด..... 166
แมลงศัตรูธรรมชาติในการผลิตแตงกวาระบบเกษตรอินทรีย์ 03-03-59-02-03-00-01-59

❖ พัชรีวรรณ จงจิตเมตต์ และคณะ

➢การใช้กากเมล็ดชาน้ำมัน *Camelia* sp. ✪ 187
ควบคุมหอยและทากศัตรูพืชใน
แปลงปลูกผักอินทรีย์
03-03-59-02-03-00-02-59
❖ ปราสาททอง พรหมเกิด และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยมาตรการสุขอนามัยพืช

โครงการวิจัย วิจัยมาตรการสุขอนามัยพืชในการนำเข้าและส่งออกสินค้าเกษตร
03-04-59-01

กิจกรรม ศึกษาศัตรูพืชในประเทศเพื่อการค้าระหว่างประเทศ

กิจกรรมย่อย –

การทดลอง ➢การศึกษาชนิดแมลงศัตรูพืชของพืชนำเข้า ✪ 193
และส่งออก
03-04-59-01-01-00-01-59
❖ เกศสุดา สนศิริ และคณะ
➢ไรศัตรูพืชบนพืชนำเข้าและส่งออก ✪ 209
03-04-59-01-01-00-02-59
❖ พลอยชมพู กรวิภาสเรือง และคณะ
➢การศึกษาชนิดของโรคพืชของพืชส่งออก
ได้แก่ กล้วย มะยงชิด ขนุน หญ้าสนาม แก้วมังกร
และสับปะรด พืชนำเข้า ได้แก่ เมลอน มะนาว พริก
มะเขือ ถั่วเหลือง และแตงกวา
03-04-59-01-01-00-03-59
❖ พรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ
➢การศึกษาชนิดวัชพืชของพืชส่งออก ✪ 220
(กล้วย มะยงชิด) และพืชนำเข้า(เมลอน มะนาว)
03-04-59-01-01-00-04-59
❖ ศิริพร ซึงสนธิพร และคณะ

กิจกรรม ศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

กิจกรรมย่อย –

การทดลอง

➢การศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของ..... 230
ผลส้มสดนำเข้าจากสาธารณรัฐอาหรับอียิปต์
03-04-59-01-02-00-01-59
❖ อลงกต โพธิ์ดี และคณะ

➢การศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของ..... 266
หัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจากสาธารณรัฐอาร์เจนตินา
03-04-59-01-02-00-02-59
❖ ปรียพรรณ พงศาพิชญ์ และคณะ

➢การศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของ..... 291
ละอองเกสรปาล์มน้ำมันนำเข้าจากสาธารณรัฐเบนิน
03-04-59-01-02-00-03-59
❖ วาสนา ฤทธิ์ไธสง และคณะ

➢การศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของ..... 305
เมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากสหรัฐอเมริกาและรัฐอิสราเอล
03-04-59-01-02-00-04-59
❖ คมศร แสงจินดา และคณะ

➢การศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของ..... 316
เมล็ดพันธุ์มะเขือนำเข้าจากสาธารณรัฐอินเดีย
และสาธารณรัฐอินโดนีเซีย
03-04-59-01-02-00-05-59
❖ * วารีรัตน์ สมประทุม และคณะ

➢การศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของ..... 334
ผลสาลี่สดนำเข้าจากสาธารณรัฐแอฟริกาใต้
และสาธารณรัฐชิลี
03-04-59-01-02-00-06-59
❖ วรัญญา มาลี และคณะ

กิจกรรม การประเมินมาตรการสุขอนามัยพืชในการนำเข้าสินค้าเกษตร

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢การประเมินมาตรการสุขอนามัยพืชในการ..... 344
นำเข้าผลแอปเปิลสดจากเครือรัฐออสเตรเลีย
03-04-59-01-03-00-01-59
❖ วรัญญา มาลี และคณะ
➢การประเมินมาตรการสุขอนามัยพืช✪..... 354
ในการนำเข้าเมล็ด ฝัก และซังข้าวโพด
จากสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว
03-04-59-01-03-00-02-59
❖ ณัฏฐพร อุทัยมงคล และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยการศึกษาชนิดศัตรูพืชที่ติดมากับพืชนำเข้า 03-04-59-02

กิจกรรม ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับพืชและส่วนของพืชที่นำเข้าเพื่อขยายพันธุ์

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์..... 372
มะเขือเทศนำเข้าจากอินเดีย จีน สหรัฐอเมริกา
และ เนเธอร์แลนด์
03-04-59-02-01-00-01-59
❖ ปรียพรรณ พงศาพิชณ์ และคณะ
➢ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์แตงโม..... 379
นำเข้าจากสหรัฐอเมริกา อินเดีย ญี่ปุ่น อิสราเอล
ชิลี และ ฟิลิปปินส์
03-04-59-02-01-00-02-59
❖ วันเพ็ญ ศรีชาติ และคณะ
➢ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์✪..... 397
เมลอนนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา
อินเดีย ญี่ปุ่น อิสราเอล ชิลี และฟิลิปปินส์
03-04-59-02-01-00-03-59
❖ วันเพ็ญ ศรีชาติ และคณะ

➢ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์พริก..... 413
นำเข้าจากอินเดีย จีน เนเธอร์แลนด์ และสหรัฐอเมริกา
03-04-59-02-01-00-04-59
❖ วานิช คำพานิช และคณะ
➢ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์..... 425
ผักกาดหอมนำเข้าจากจีน และสหรัฐอเมริกา
03-04-59-02-01-00-05-59
❖ โสภา มีอำนาจ และคณะ
➢การตรวจติดตามเชื้อ *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* ที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจากต่างประเทศ
03-04-59-02-01-00-07-59
❖ ชลธิชา รักใคร่ และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดศัตรูพืชกักกันของพืชส่งออก 03-04-59-03

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยวิธีการอบไอน้ำเพื่อการส่งออก

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢ความเสียหายของพริกหวานจากวิธี..... 433
อบไอน้ำกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ด้วยเครื่องอบไอน้ำเชิงพาณิชย์
03-04-59-03-01-00-01-59
❖ วลัยกร รัตนเดชากุล และคณะ
➢ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อความเสียหายจาก✪..... 439
ความร้อนของมะนาวซึ่งผ่านการอบไอน้ำ (การลดอุณหภูมิผลมะนาวโดยวิธีฉีดพ่นด้วยน้ำ)
03-04-59-03-01-00-02-59
❖ สลักจิต พานคำ และคณะ
➢วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อน✪..... 449
สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้งเพื่อการส่งออก
03-04-59-03-01-00-03-59
❖ ชัยณรัตน์ สนศิริ และคณะ

➢วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อน✪..... 473
สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลแก้วมังกร
เพื่อการส่งออก
03-04-59-03-01-00-04-59
❖ ชุติมา อ้อมกิ่ง และคณะ

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยวิธีการแช่น้ำร้อนเพื่อการส่งออก

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ชนิด..... 484
Bactrocera dorsalis (Hendel) ด้วยการแช่น้ำร้อน
สำหรับฝรั่งเพื่อการส่งออก
03-04-59-03-02-00-01-59
❖ สัญญาณี ศรีคชา และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยการศึกษาสถานภาพศัตรูพืชกักกันในประเทศไทย 03-04-59-04

กิจกรรม การศึกษาศัตรูพืชในประเทศเพื่อการค้าระหว่างประเทศ

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢การศึกษาสถานภาพของรา✪..... 491
Fusarium oxysporum f.sp. *elaeidis* (Foe)
ในประเทศไทย
03-04-59-04-01-00-01-59
❖ ชนินทร ดวงสอาด และคณะ
➢การศึกษาสถานภาพของรา
Sporisorium reilianum (J. Kühn) R.F.N.
Langdon & R.A. Fullerton ในประเทศไทย
03-04-59-04-01-00-02-59
❖ พรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ
➢การสำรวจสถานภาพของแบคทีเรีย✪..... 512
Clavibacter michiganensis subsp. *nebraskensis*
สาเหตุโรค Goss's Bacterial Wilt and Leaf Blight
ของข้าวโพดในประเทศไทย
03-04-59-04-01-00-03-59
❖ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ

➢การศึกษาสถานภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Clavibactr michiganensis* subsp. *sepedonicus* ในประเทศไทย
03-04-59-04-01-00-04-59
❖ รุ่งนภา คงสุวรรณ์ และคณะ
➢การศึกษาภาพของเชื้อไวรัส *Tomato black ring virus* (TBRV) และ *Tomato ring spot virus* (TRSV) ในประเทศไทย
03-04-59-04-01-00-05-59
❖ สิทธิศักดิ์ แสไพศาล และคณะ
➢การศึกษาสถานภาพของเชื้อไวรอยด์ *Mexican papita viroid*, *Tomato apical stunt viroid*, *Tomato planta macho viroid*, *Pepper chat fruit viroid* ในประเทศไทย
03-04-59-04-01-00-06-59
❖ เยาวภา ตันติวานิช และคณะ
➢การศึกษาสถานภาพของไส้เดือนฝอย..... 517
ศัตรูพืชกักกัน *Meloidogyne chitwoodi* และ *Meloidogyne fallax* ในประเทศไทย
03-04-59-04-01-00-07-59
❖ ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ
➢การศึกษาสถานภาพของวัชพืช✪..... 526
Polygonum aviculare L. และ *Polygonum convolvulus* L. ในแปลงกะหล่ำปลี และกะหล่ำดอก
03-04-59-04-01-00-08-59
❖ ศิริพร ซึงสนธิพร และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายและการใช้ประโยชน์ของชีวภัณฑ์สู่เชิงพาณิชย์

โครงการวิจัย วิจัยสำรวจและศึกษาศักยภาพชีวภัณฑ์ควบคุมศัตรูพืชทางการเกษตร 03-05-59-01

กิจกรรม สำรวจและศึกษาศักยภาพของชีวภัณฑ์ในการควบคุมแมลงไรและสัตว์ศัตรูพืช

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

➢ศึกษาชนิดและประเมินศักยภาพ..... 537
แมลงศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้ง
(*Phenacoccus solenopsis* Tinsley)
03-05-59-01-01-00-01-59
❖ รจนา ไวยเจริญ และคณะ

➢ศึกษาชีววิทยาและประสิทธิภาพของ✪..... 549
แมลงช้างปีกใส *Chrysoperla* sp.
03-05-59-01-01-00-02-59
❖ ประภัสสร เชยคำแหง และคณะ

➢การศึกษาชนิด ชีววิทยาและศักยภาพการห้ำ..... 556
ของมวนตาโตชนิดต่างๆ
03-05-59-01-01-00-03-59
❖ ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ และคณะ

➢สำรวจ คัดเลือก และศึกษาศักยภาพของ..... 560
ด้วงเต่าตัวห้ำในแปลงผัก
03-05-59-01-01-00-04-59
❖ ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ และคณะ

➢ศักยภาพของราสาเหตุโรคแมลงบางชนิด..... 564
ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนดำ *Aphis craccivora* (Koch)
03-05-59-01-01-00-05-59
❖ เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ และคณะ

➢สำรวจและศึกษาศักยภาพหอยน้ำ..... 572
สกุล *Clea* ในการเป็นตัวห้ำหอยน้ำศัตรูพืช
03-05-59-01-01-00-06-59
❖ ณัฐฐิญา กาญจนนิธิพัฒน์ และคณะ

➢การสำรวจและคัดเลือกเชื้อรา..... 581
สกุล *Aspergillus* ที่มีประสิทธิภาพ
ในการกำจัดหอยศัตรูพืช
03-05-59-01-01-00-07-59
❖ อภินันท์ เอี่ยมสุวรรณสุข และคณะ

กิจกรรม สำรวจและศึกษาศักยภาพของชีวภัณฑ์ในการควบคุมโรคพืช

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢การคัดเลือกและทดสอบเชื้อราปฏิปักษ์✪..... 592
ที่มีศักยภาพในการควบคุมเชื้อรา
Didymella bryoniae สาเหตุโรคยางไหล
03-05-59-01-02-00-01-59
❖ ทัศนาพร ทัศคร และคณะ
➢การควบคุมโรคเน่าดำในกล้วยไม้✪..... 600
ที่มีสาเหตุจากเชื้อ *Phytophthora palmivora* (Butl.)
โดยใช้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดเรืองแสง
(*Neonothopanus nambi* Speg.)
03-05-59-01-02-00-02-59
❖ สุรีย์พร บัวอาจ และคณะ
➢ทดสอบศักยภาพของน้ำนมเจือจางในการ
ควบคุมโรคราน้ำค้างในพืชตระกูลแตง สาเหตุจาก
เชื้อรา *Pseudoperonospora cubensis*
03-05-59-01-02-00-03-59
❖ บุษราคัม อุดมศักดิ์ และคณะ

กิจกรรม สำรวจและศึกษาศักยภาพของชีวภัณฑ์ในการควบคุมวัชพืช

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢ศักยภาพของถั่วบราซิล (pinto peanut,..... 610
Arachis pintoi Krapov. & W.C. Greg.)
คลุมดินเพื่อควบคุมวัชพืชในสับปะรด
03-05-59-01-03-00-01-59
❖ ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย และคณะ

➢ประสิทธิภาพสารสกัดพลู (*Piper betle* L.)..... 619
เพื่อควบคุมวัชพืช
03-05-59-01-03-00-02-59
❖ อัณศยา พรมมา และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายและการใช้ชีวภัณฑ์ในการควบคุมศัตรูพืชที่ สำคัญทางเศรษฐกิจ 03-05-59-02

กิจกรรม การผลิตขยายและการใช้ชีวภัณฑ์ในการควบคุมแมลง ไร และสัตว์ศัตรูพืช

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง
➢การพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยาย..... 631
แตนเบียน *Goniozus nephantidis* (Muesebeck)
ควบคุมหนอนหัวดำมะพร้าว *Opisina arenosella*
Walker
03-05-59-02-01-00-01-59
❖ พัชรีวรรณ จงจิตเมตต์ และคณะ
➢การพัฒนาเทคนิคการผลิตขยาย..... 640
แมลงช้างปีกใส *Plesiochrysa ramburi*
03-05-59-02-01-00-02-59
❖ ประภัสสร เชยคำแหง และคณะ
➢ศึกษาประสิทธิภาพการกินเหยื่อและ..... 645
การเลี้ยงขยายผีเสื้อตัวห้ำ *Spalgis epius*
(Westwood)
03-05-59-02-01-00-03-59
❖ ประภัสสร เชยคำแหง และคณะ
➢ชะลอพัฒนาการของหนอนนกเพื่อใช้..... 650
เลี้ยงขยายแมลงศัตรูธรรมชาติ
03-05-59-02-01-00-04-59
❖ สาทิพย์ มาลี และคณะ
➢การใช้มวนเพชฌฆาตควบคุมหนอน..... 655
เจาะฝักข้าวโพดในข้าวโพดหวาน
03-05-59-02-01-00-05-59
❖ สาทิพย์ มาลี และคณะ

➢ วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยง
มวนเขียวดูดไข่ *Cyrtorhinus lividipennis* Reuter
เป็นปริมาณมาก และการนำไปใช้ควบคุมเพลี้ยกระโดด
สีน้ำตาล *Nilaparvata lugens* (Stål)
03-05-59-02-01-00-06-59
❖ รจนา ไวยเจริญ และคณะ
➢การเพาะเลี้ยงมวนตัวห้ำ *Cardiastethus*..... 660
exiguus Poppius (Hemiptera: Anthocoridae)
03-05-59-02-01-00-07-59
❖ อทิติยา แก้วประดิษฐ์ และคณะ
➢การผลิตและการใช้ไรตัวห้ำ..... 670
Amblyseius spp. ควบคุมเพลี้ยไฟ
03-05-59-02-01-00-08-59
❖ อทิติยา แก้วประดิษฐ์ และคณะ
➢การผลิตขยายและใช้หอยตัวห้ำวงศ์..... 678
Streptaxidae ควบคุมหอยทากศัตรูพืชโดยชีววิธี
03-05-59-02-01-00-09-59
❖ ดาราพร รินทะรักษ์ และคณะ
➢การใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis*
ในการควบคุมหนอนห่อใบข้าว *Cnaphalocrocis*
medinalis Guenee
03-05-59-02-01-00-10-59
❖ อิศเรส เทียนทัด และคณะ
➢ การใช้ไวรัส NPV ในการควบคุมหนอน
กระทู้ผักในหอมหัวใหญ่
03-05-59-02-01-00-11-59
❖ อิศเรส เทียนทัด และคณะ
➢การใช้ไวรัส NPV ร่วมกับสารฆ่าแมลงบางกลุ่ม
ในการควบคุมหนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigua*
(Hübner) ในองุ่น
03-05-59-02-01-00-12-59
❖ อิศเรส เทียนทัด และคณะ

➢การใช้ไส้เดือนฝอย *Steinernema Riobrave* ควบคุมด้วงหมัดผักในคะน้า

03-05-59-02-01-00-13-59

❖ วิไลวรรณ เวชยันต์ และคณะ

➢ประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema riobrave* ในการควบคุมด้วงงวงมันเทศ *Cylas formicarius*

03-05-59-02-01-00-14-59

❖ วิไลวรรณ เวชยันต์ และคณะ

➢ประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง Steinernema ในการควบคุมด้วงเจาะเห็ด *Cyllodes biplagiatus*

03-05-59-02-01-00-15-59

❖ วิไลวรรณ เวชยันต์ และคณะ

➢ศึกษาและพัฒนาวิธีการเก็บรักษา✪..... 694

สารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ของ *Sarcocystis singaporensis* โดยใช้ potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$) เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาสำหรับผลิตเป็นเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู

03-05-59-02-01-00-16-59

❖ วิชาญ วรรธนะไกวัล และคณะ

กิจกรรมย่อย การผลิตขยายและการใช้ชีวภัณฑ์ในการควบคุมโรคพืช

การทดลอง

➢การพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์..... 700

Bacillus subtilis ไอโซเลท 20W16 หรือ 20W33 เพื่อใช้ควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก

03-05-59-02-02-00-01-59

❖ บุษราคัม อุดมศักดิ์ และคณะ

➢การทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรีย✪..... 707
Bacillus subtilis ในการป้องกันกำจัดโรค
แอนแทรคโนสพริกที่มีสาเหตุจากเชื้อรา
Colletotrichum capsici (Syd. & P. Syd.)
Butl. & Bisby
03-05-59-02-02-00-02-59
❖ ธารทิพย ภาสบุตร และคณะ
➢การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย..... 712
ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเน่าสีน้ำตาลของ
กล้วยไม้สาเหตุจากแบคทีเรีย
Burkholderia gladioli pv. *gladioli*
03-05-59-02-02-00-03-59
❖ ทิพวรรณ กันหาญาติ และคณะ
➢การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย..... 718
ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคใบจุดน้ำตาลของ
กล้วยไม้สาเหตุจากแบคทีเรีย
Acidovorax avenae subsp. *cattleyae*
03-05-59-02-02-00-04-59
❖ รุ่งนภา ทองเครั่ง และคณะ
➢การผลิตขยายและการใช้แบคทีเรีย..... 725
Pasteuria penetrans ไอโซเลตไทยในการควบคุม
ไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita*
03-05-59-02-02-00-05-59
❖ ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ
➢การใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง✪..... 738
(*Neonothopanus nambi*) ควบคุม
ไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*
Chitwood) ในพริก
03-05-59-02-02-00-06-59
❖ สุรีย์พร บัวอาจ และคณะ

➢การทดสอบประสิทธิภาพของก้อนเชื้อ✪..... 747
เห็ดเรืองแสง (*Neonothopanus nambi* Speg.)
ต่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita* Chitwood) ในมันฝรั่ง
03-05-59-02-02-00-07-59
❖ สุรีย์พร บัวอาจ และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยการผสมผสานเทคโนโลยีการใช้ชีวภัณฑ์เพื่อควบคุมศัตรูพืช
03-05-59-03

กิจกรรม -

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢การสังเคราะห์เทคโนโลยีการป้องกันกำจัด..... 755
แมลงศัตรูโดยชีววิธีในหน่อไม้ฝรั่ง
03-05-59-03-00-00-01-59
❖ สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตรจากสารธรรมชาติจากพืช (โครงการวิจัยเดี่ยว)

โครงการวิจัย วิจัยวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตรจากสารธรรมชาติจากพืช 03-07-59-01

กิจกรรม วิจัยผลิตภัณฑ์สารกำจัดวัชพืชจากแมงลักป่า

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢วิจัยประสิทธิภาพของสารสกัด
จากแมงลักป่าในการควบคุมวัชพืช
03-07-59-01-02-00-01-59
❖ อัณศยา พรมมา และคณะ

โครงการวิจัยเร่งด่วน

โครงการวิจัย การป้องกันกำจัดโรคราน้ำค้างของอ้อย

กิจกรรม -

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢สำรวจการระบาดและสาเหตุของโรคราน้ำค้างอ้อยที่พบในปี 2557

❖ พรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ

โครงการวิจัย การแก้ไขปัญหาโคนเน่าและหัวเน่า อาการพุ่มแจ้ ของมันสำปะหลัง และการป้องกันกำจัด

กิจกรรม การศึกษาสาเหตุโรครากเน่าและหัวเน่าของมันสำปะหลังและการป้องกันกำจัด

กิจกรรมย่อย การศึกษาสาเหตุโรครากเน่าและหัวเน่าของมันสำปะหลัง

การทดลอง ➢การศึกษาสาเหตุโรครากเน่าและหัวเน่าของมันสำปะหลังโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวโมเลกุล

❖ พรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ

กิจกรรมย่อย การศึกษาเทคโนโลยีสำหรับการแก้ปัญหาอาการโคนเน่าและหัวเน่าของมันสำปะหลัง

การทดลอง ➢การคัดเลือกสารป้องกันกำจัดโรคพืช✪..... 765
เพื่อป้องกันกำจัดโรคโคนเน่าและหัวเน่ามันสำปะหลังที่เกิดจากรา *Phytophthora melonis*

❖ อมรรัชฎ์ คิดใจเดียว และคณะ

➢การคัดเลือกสารป้องกันกำจัดโรคพืชเพื่อ..... 778
ป้องกันกำจัดโรคโคนเน่าและหัวเน่าของมันสำปะหลังที่เกิดจากรา *Sclerotium rolfsii* Sacc.

❖ สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และคณะ

กิจกรรม การศึกษาสาเหตุอาการแตกพุ่มแจ้ของมันสำปะหลัง

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢ศึกษาสาเหตุอาการแตกพุ่มแจ้ของ..... 789
มันสำปะหลังที่เกิดจากไรสี่ขาบนใบมันสำปะหลัง

❖ พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ และคณะ

โครงการวิจัย การจัดการศัตรูพืชแบบบูรณาการเพื่อแก้ปัญหาโรคหัวมันเน่าในมันสำปะหลัง

กิจกรรม การแก้ปัญหาโรคโคนเน่าและหัวเน่าในมันสำปะหลัง

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢การจัดการศัตรูพืชแบบบูรณาการ✪..... 813
เพื่อแก้ปัญหาโรคโคนเน่าหัวเน่ามันสำปะหลัง
❖ จรรยา มณีโชติ และคณะ

กิจกรรม การทดสอบเทคโนโลยีลดต้นทุนการกำจัดวัชพืช

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢การทดสอบเทคโนโลยีการลดต้นทุน
การกำจัดวัชพืช:วัชพืชฤดูเดียว
❖ จรรยา มณีโชติ และคณะ
➢การทดสอบเทคโนโลยีการลดต้นทุน
การกำจัดวัชพืช:วัชพืชเถาเลื้อยข้ามปี
❖ จรรยา มณีโชติ และคณะ

โครงการวิจัย การจัดการแมลงหวี่ขาวและโรครากเน่า-โคนเน่าแบบผสมผสานสำหรับต้นคริสต์มาส

กิจกรรม -

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢การจัดการแมลงหวี่ขาวและโรครากเน่า-..... 879
โคนเน่าแบบผสมผสานสำหรับต้นคริสต์มาส
00-00-58-38-00-00-01-58
❖ สัญญาณี ศรีคชา และคณะ

โครงการวิจัย การนำเข้าแตนเบียนดักแด้ *Brachymeria nephantidis* Gahan (Hymenoptera: Chalcididea) เพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนหัวดำมะพร้าว *Opisina arenosella* Walker (Leplidoptera: Oecophoridae) ในประเทศไทย

กิจกรรม -

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢การนำเข้าแตนเบียนดักแด้✪..... 894
Brachymeria nephantidis Gahan
(Hymenoptera: Chalcididae)
เพื่อควบคุมหนอนหัวดำมะพร้าว
Opisina arenosella Walker (Lepidoptera:
Oecophoridae) โดยชีววิธี
❖ * ณัฏฐิณี ศิริมาจันทร์ และคณะ

โครงการวิจัย การใช้ DNA barcoding สำหรับการตรวจสอบและจัดจำแนกเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* เพื่อสนับสนุนการขึ้นทะเบียนสารชีวภัณฑ์ในเชิงพาณิชย์

กิจกรรม -

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢การใช้ DNA barcoding สำหรับการตรวจสอบ..... 914
และจัดจำแนกเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* เพื่อ
สนับสนุนการขึ้นทะเบียนสารชีวภัณฑ์ในเชิงพาณิชย์
❖ เมธาสิทธิ์ คนการ และคณะ

หมายเหตุ : ✪ ชื่อการทดลองที่นักวิจัยแจ้งไม่ตรงกับชื่อการทดลองจากกองแผนงาน
* ชื่อหัวหน้าการทดลองไม่ตรงกับกองแผนงาน

การศึกษาสถานภาพของรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis* (Foe) ในประเทศไทย

The Study on the Current Status of *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis* (Foe) in Thailand

ชนินทร ดวงสอาด[1/] พรพิมล อธิปัญญาคม[2/]
อภิรัชต์ สมฤทธิ์[1/] สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ[1/] อมรรัชฎ์ คิดใจเดียว[1/]
[1/] กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/] ผู้เชี่ยวชาญ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การสำรวจสถานภาพของรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis* สาเหตุโรคเหี่ยวของปาล์มน้ำมัน ระหว่างเดือนตุลาคม 2558 – เดือนกันยายน 2559 ในแปลงปลูกปาล์มน้ำมัน ในพื้นที่จังหวัดกระบี่ ชุมพร นครศรีธรรมราช พังงา ประจวบคีรีขันธ์ และสุราษฎร์ธานี จำนวน 51 แปลง ไม่พบต้นที่แสดงอาการเหี่ยวที่มีลักษณะการเข้าทำลายของรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* เมื่อสุ่มตัวอย่างราก และดินบริเวณรอบราก จำนวน 102 ตัวอย่าง จากแปลงปาล์มน้ำมันในพื้นที่จังหวัดกระบี่ ชุมพร นครศรีธรรมราช พังงา ประจวบคีรีขันธ์ และสุราษฎร์ธานี จำนวน 51 แปลง แยกราจากตัวอย่างรากด้วยวิธี tissue transplanting และแยกราจากดินด้วยวิธี dilution plate เมื่อจำแนกชนิดของรา *Fusarium* spp. ที่แยกได้จำนวน 79 ไอโซเลท ในห้องปฏิบัติการด้วยลักษณะทางสัณฐาน-วิทยา และการทดสอบการจำแนกด้วยข้อมูลพันธุกรรมจำนวน 1 ไอโซเลท ไม่พบราสาเหตุของโรคเหี่ยวของปาล์มน้ำมัน **ดังนั้นรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* ไม่ปรากฏในพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันของประเทศไทย**

คำหลัก : ปาล์มน้ำมัน โรคเหี่ยว ศัตรูพืชกักกัน *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis*

รหัสการทดลอง 03-04-59-04-01-00-01-59

คำนำ

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

ประเทศเกือบทุกประเทศที่เป็นสมาชิกขององค์การการค้าโลก (WTO) ได้นำมาตรการสุขอนามัยพืชมาใช้เป็นข้อต่อรองในการส่งออกและนำเข้า โดยที่ประเทศผู้ส่งออกต้องส่งบัญชีรายชื่อศัตรูพืชของพืชส่งออก และข้อมูลของศัตรูพืชแต่ละชนิดตามความต้องการของประเทศผู้นำเข้า เพื่อทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ก่อนที่จะอนุญาตให้สินค้าเกษตรนั้นๆเข้าประเทศ ขณะเดียวกันประเทศผู้นำเข้าจำเป็นต้องมีข้อมูลบัญชีรายชื่อศัตรูของพืชที่นำเข้าด้วย การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูโดยการศึกษาและการสำรวจแบบติดตามข้อมูลศัตรูพืชในแหล่งปลูกเพื่อเป็นการเฝ้าระวัง (Surveillance) เป็นกระบวนการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชชนิดใดชนิดหนึ่งในพื้นที่ ซึ่งการรวบรวมข้อมูลนั้นสามารถทำได้ 2 แบบ ได้แก่การเฝ้าระวังโดยทั่วไป (general surveillance) โดยการค้นคว้าข้อมูลจากแหล่งข้อมูล ได้แก่ ข้อมูลข่าวสารศัตรูพืชที่มีรายงานในประเทศ เช่นจาก หน่วยงานภาครัฐ มหาวิทยาลัย ภาคเอกชน ตลอดจนข่าวสารจากแหล่งข้อมูลขององค์กรระหว่างประเทศ เช่น องค์การอาหารและเกษตรแห่งชาติ (Food and Agriculture Organization, FAO) องค์การอารักขาพืชระดับภูมิภาค (Regional Plant Protection Organization, RPPOs) และอื่นๆ การเฝ้าระวังโดยการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific surveys) สามารถดำเนินการโดยการสำรวจแบบตรวจหา (detection surveys) และการสำรวจแบบมีขอบเขต (delimiting surveys) (McMaugh, 2005) ประโยชน์ของการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจงทั้ง 2 วิธีนี้นอกจากจะสามารถบอกถึงสถานการณ์ของศัตรูพืชในพื้นที่แล้วยังสามารถใช้ข้อมูลที่ได้เป็นการรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืชในกรณีที่ไม่พบศัตรูพืชในพื้นที่นั้นๆ เมื่อ

มีการรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืชแล้ว การที่จะคงสภาพพื้นที่ปลอดศัตรูพืชจะต้องมีการสำรวจแบบตรวจหาอย่างเป็นระบบ ข้อมูลต่างๆ ที่ได้จากการสำรวจติดตามศัตรูพืชเพื่อการเฝ้าระวังนี้จะส่งให้องค์การอารักขาพืชแห่งชาติ (National Plant Protection Organization, NPPO) นำไปใช้ประโยชน์ ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการเฝ้าระวังนี้สามารถนำไปใช้ในด้านต่างๆ เช่น ใช้ในการสนับสนุนการออกประกาศเรื่องการปลอดศัตรูพืช ตลอดจนที่ดำเนินการโดย NPPO เป็นกระบวนการช่วยตรวจหาศัตรูพืชชนิดใหม่ได้ทันเวลา การให้การรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืช เป็นต้น การสำรวจ ติดตามและตรวจสอบศัตรูพืชเป็นงานพื้นฐานที่มีความจำเป็นสำหรับใช้ในการดำเนินการด้านอื่นๆ อีก เช่น Pest Risk Analysis, Establishment for pest free area, Pest list, Pest report เป็นต้น ซึ่งแนวทางการดำเนินงานจะสอดคล้องกับ ISPMs (International Standard for Phytosanitary Measures) ฉบับที่ 6 (Guidelines for Surveillance)

ปาล์มน้ำมัน (Oil palm; *Elaeis guineensis* Jacq) เป็นพืชน้ำมันที่มีศักยภาพในการแข่งขันสูงในตลาดโลก เนื่องจากเป็นพืชที่มีผลผลิตต่อหน่ายพื้นที่ปลูกสูงสุดในพืชน้ำมันด้วยกัน อีกทั้งต้นทุนการปลูกและการสกัดน้ำมันและการสกัดน้ำมันเพื่อผลิตน้ำมันปาล์มโดยรวมค่อนข้างต่ำ ในปัจจุบันการผลิตน้ำมันปาล์มในประเทศไทยเพียงพอสำหรับการบริโภคภายในประเทศเท่านั้น ส่วนการผลิตเพื่อการส่งออกต้องมีการพัฒนาระบบภายในประเทศให้ดีกว่าที่เป็นอยู่ เนื่องจากผลผลิตต่อไร่ที่ได้รับค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกับประเทศมาเลเซีย

ในปี 2557 พื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันทั้งหมด 4,023,819 ไร่ ได้ผลผลิตจำนวน 12,472,505 ตัน ในปี 2558 มีพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันทั้งหมด 4,276,240 ไร่ ได้ผลผลิตจำนวน 11,015,872 ตัน และในปี 2559 มีพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันทั้งหมด 4,515,679 ไร่ และได้ผลผลิตจำนวน 10,944,884 ตัน จะเห็นได้ว่ามีพื้นที่ปลูกเพิ่มมากขึ้นในทุกปี ซึ่งในภาคใต้จะมีพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันมากที่สุด (ศูนย์สารสนเทศการเกษตร, 2560) ในปี 2559 มีการนำเข้าเมล็ดปาล์มน้ำมันและเนื้อในเมล็ดปาล์มจำนวน 2,721,402 กิโลกรัม มีมูลค่า 58,661,853 บาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2560) จากการที่ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดปาล์มน้ำมันในปริมาณมาก ทำให้มีการเสี่ยงในการติดมาของศัตรูพืชกักกันที่สำคัญที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์ได้ โดยเฉพาะโรคเหี่ยวของปาล์มน้ำมันสาเหตุเกิดจากรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis* ซึ่งราชนิดนี้เป็น seed borne สามารถถ่ายทอดโรคทางเมล็ดพันธุ์และติดมากับละอองเกสรได้ โรคนี้มีถิ่นกำเนิดมาจากในส่วนตอนกลางและทางตะวันตกของประเทศแอฟริกา ได้แก่ประเทศไนจีเรีย กานา คาแมรูน และคองโก ต่อมามีการแพร่ระบาดเข้ามาในประเทศบราซิล และเอกวาดอร์ (Oritsejafor, 1989) ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดปาล์มน้ำมันมาจากเบนิน ปาปัวนิวกินี คองโก ไอเวอรี่โคสท์ คอสตาริกา และอินโดนีเซีย เช่น คอสตาริกา ปาปัวนิวกินี คอนโก เบนิน ไอโวรีโคต บราซิล และอินเดีย เป็นต้น ทำให้มีความเสี่ยงที่รา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* จะติดมากับเมล็ดพันธุ์ได้ จึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการสำรวจสถานภาพของรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* ในพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันของประเทศไทยอย่างเป็นระบบ เพื่อให้ได้ข้อมูลในการการสนับสนุนการออกประกาศเรื่องการปลอดศัตรูพืช ตลอดจนที่ดำเนินการโดย NPPO เป็น

กระบวนการช่วยตรวจหาศัตรูพืชชนิดใหม่ได้ทันเวลา การให้การรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืช เป็นต้น การสำรวจ ติดตามและตรวจสอบศัตรูพืชเป็นงานพื้นฐานที่มีความจำเป็นสำหรับใช้ในการดำเนินการด้านอื่นๆ อีก เช่น การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การกำหนดพื้นที่ปลอดศัตรูพืช การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชและการรายงานศัตรูพืช เป็นต้น ซึ่งแนวทางการดำเนินงานจะสอดคล้องกับ

ISPMs (International Standard for Phytosanitary Measures) ฉบับที่ 6 (Guidelines for Surveillance)

ดังนั้นการทดลองนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาการปรากฏ/ไม่ปรากฏ และได้ข้อมูลสถานภาพของรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* ในแหล่งปลูกปาล์มน้ำมันในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย เพื่อใช้สนับสนุนการออกประกาศการปลอดศัตรูพืช โดยหน่วยงานองค์กรอารักขาพืชแห่งชาติ (NPPO)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ ถุงพลาสติก ถุงกระดาษ กรรไกรตัดแต่งกิ่ง ไม้ทับตัวอย่าง กระดาษหนังสือพิมพ์ ซองกระดาษสำหรับเก็บและรักษาตัวอย่าง

2. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง (centrifuge) เครื่อง Polymerase chain reaction (PCR machine) เครื่องเขย่า (vortex) เครื่อง tissue lyser gel tank เครื่องกำเนิดกระแสไฟ gel plate comb เครื่องถ่ายภาพเจล microwave micropipette ขนาด 10 100 200 และ 1000 ไมโครลิตร กล้องจุลทรรศน์แบบ compound กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo พร้อมอุปกรณ์ถ่ายภาพ water bath และ heat block

3. วัสดุในห้องปฏิบัติการ สไลด์และแผ่นแก้วปิดสไลด์ tips ขนาด 10 100 200 และ 1000 ไมโครลิตร PCR tube ใบมีดผ่าตัด เข็มเขี่ยปลายแหลม ปากคีบ

4. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ บิกเกอร์ ขวดดูแรน กระบอกตวง ตะเกียงแอลกอฮอล์ plate

5. สารเคมี ได้แก่ เอนไซม์สำหรับทำปฏิกิริยา Taq DNA Polymerase Phusion High-Fidelity DNA Polymerase Proteinase K enzyme Lithium Borate buffer (LB) ชุดสำหรับการสกัดดีเอ็นเอ ได้แก่ Microbial DNA Isolation Kit Power Plant Isolation Kit ชุดสำหรับการสกัดเจล ชุดสำหรับทำความสะอาดดีเอ็นเอ Stain G loading dye agarose gel (PCR grade) PCR water DNA ladder อาหารเลี้ยงเชื้อ เช่น potato dextrose agar (PDA) และ ไพร์เมอร์ LROR/LR5 (Vilgalys and Hester, 1990)

6. Sequence assemble programs เช่น Geneious, Sequencher หรือ Bioedit

วิธีการ

1. สืบค้นข้อมูลของรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis*

ข้อมูลลักษณะของรา

ได้แก่ รายละเอียดของเชื้อ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพ้อง และลักษณะอาการโรค การเข้าทำลาย การแพร่ระบาด พร้อมรูปภาพ เพื่อใช้อ้างอิงในการสำรวจและจัดทำข้อมูลศัตรูพืชเพื่อการสำรวจ

ข้อมูลของพืชอาศัย

ได้แก่ ชนิดของพืชอาศัย ชื่อสามัญ ชื่อวิทยาศาสตร์ ความต้านทานและความอ่อนแอต่อโรค เป็นต้น

ข้อมูลการปลูกปาล์มน้ำมันในประเทศไทย พื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันทั้งสิ้น 4.1 ล้านไร่ มีผู้ปลูกทั้งสิ้น 1.9 แสนรายใน 67 จังหวัด โดยจังหวัดที่ปลูกมากที่สุดคือกระบี่ที่มีเนื้อที่ปลูกถึง 9.9 แสนไร่ รองลงมาคือจังหวัดสุราษฎร์ธานี มีเนื้อที่ปลูก 9.2 แสนไร่ (ศูนย์สารสนเทศ สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2560) ดังแสดงในตารางที่ 1

2. จัดทำคู่มือศัตรูพืช

รวบรวมข้อมูลอ้างอิงของรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* ลักษณะรา ชื่อวิทยาศาสตร์ ชนิดของพืชอาศัย สภาพแวดล้อมที่เหมาะกับการเกิดโรค แหล่งพบโรค ลักษณะอาการโรคที่เกิดจากรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* พร้อมรูปภาพสีเพื่อใช้ประกอบในการตรวจสอบอาการที่พบในแปลง

3. การสำรวจ

ทำการสำรวจในพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันในประเทศไทย และดำเนินการสำรวจตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (Guidelines for surveillance: ISPM No. 6) วางแผนการสำรวจอย่างน้อย 10 แปลง ต่อพื้นที่ แต่ละแปลงทำการสุ่มตัวอย่างแบบเป็นระบบ โดยเดินตามเส้นทแยงมุม สุ่มตัวอย่าง 20 ต้น / แปลง หรือ 10 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่แปลง

4. วิธีการตรวจรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis*

ในการสำรวจ สังเกตลักษณะอาการ และหากพบต้นปาล์มน้ำมันที่แสดงอาการเหี่ยว ให้ทำการเปรียบเทียบลักษณะของต้นปาล์มน้ำมันที่พบว่ามีการแสดงอาการกับภาพในคู่มือสำหรับการสำรวจ โรคเหี่ยวปาล์มน้ำมันที่เกิดจาก รา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* บันทึกลักษณะอาการที่พบถ่ายรูป เก็บตัวอย่างโรคทุกต้นที่สุ่มที่พบต้นปาล์มน้ำมันแสดงอาการคล้ายกับโรคเหี่ยวตามคู่มือการสำรวจ และสำหรับต้นปกติ สุ่มเก็บตัวอย่างราก และดินบริเวณรอบราก ห่อกระดาษหนังสือพิมพ์เขียนรายละเอียดกำกับ เพื่อนำมาตรวจแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ

5. การแยกราสาเหตุโรคพืช

ศึกษาลักษณะอาการของโรค และแยกราโดยตรงจากเนื้อเยื่อพืช

นำตัวอย่างที่แสดงอาการต้องสงสัย มาศึกษาลักษณะอาการของโรค และแยกราโดยตรงจากชิ้นส่วนพืช และตัดขวางรากพืชเพื่อดูการเข้าทำลายของเชื้อที่ราก ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo หรือ ทำ moist chamber บ่มที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ นาน 5-10 วัน เมื่อพบราสร้างเส้นใยหรือ conidium ตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และใช้เข็มเขี่ยส่วนของเชื้อรามาวางบนสไลด์ หรือใช้ใบมีดตัดขวางชิ้นส่วนพืชให้บางๆ และตรวจดูลักษณะต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound ถ่ายรูปลักษณะเชื้อและบันทึกลักษณะต่างๆ ของเชื้อ

แยกราโดยวิธี Tissue transplanting

นำส่วนของพืชที่แสดงอาการต้องสงสัย รวมถึงพืชปกติที่ทำการสุ่มเก็บตัวอย่าง มาตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาดประมาณ 0.5x0.5 มิลลิเมตร ให้คาบต่อส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปรคลอไรท์ 10 % เป็นเวลา 3-5 นาที ล้างในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำไปซับบนกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้แห้ง แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหาร RBA บ่มที่อุณหภูมิ ห้องปฏิบัติการ นาน 7-21 วัน แยกราให้บริสุทธิ์ และเลี้ยงบนอาหาร PDA

6. ศึกษา และจำแนกชนิดของราโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ศึกษารูปร่างลักษณะของราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo และ compound microscope โดยตรวจดูลักษณะเส้นใย conidiophore conidia และโครงสร้างอื่นๆ ของรา โดยอ้างอิงข้อมูลของ Booth (1971) และ Brayford (1992) โดยการ mount slide ด้วยน้ำหรือ shear's solution

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของราได้แก่ ลักษณะของเส้นใย ขนาด สี ลักษณะของ conidia conidiophore สี ขนาด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และ compound microscope บันทึกขนาด รูปร่าง และบันทึกภาพด้วยกล้องถ่ายภาพ

7. จำแนกชนิดของราโดยใช้ข้อมูลพันธุกรรม

สกัดดีเอ็น

ตัก และย้ายเส้นใย conidia ของรา *Fusarium* spp. ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA ประมาณ 0.2-0.5 กรัม ลงในหลอดสำหรับสกัดดีเอ็นเอ ในการวิจัยนี้จะใช้ชุดสกัดสำเร็จรูป ซึ่งมีส่วนของตัวกรองที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดดีเอ็นเอจากเชื้อรา โดยก่อนสกัด จะเติมเอ็นไซม์ Proteinase K เพื่อช่วยในการย่อยผนังเซลล์ โดยใช้ที่ความเข้มข้น 0.8 มิลลิลิตร ต่อไมโครลิตร ทำการบ่มหลอดสกัดที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส อย่างน้อย 1 ชั่วโมง เพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการสกัด หลังจากการสกัด ดีเอ็นเอจะเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 หรือ -40 องศาเซลเซียส เพื่อรักษาสภาพและคุณภาพของดีเอ็นเอ

เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมาย

นำดีเอ็นเอที่สกัดได้จากแต่ละตัวอย่าง มาทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายด้วยวิธีการ Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยตำแหน่งของดีเอ็นเอเป้าหมายคือ the Large Subunit (LSU) โดยใช้ primer LROR/LR5 (Vilgalys and Hester, 1990) annealing temperature ที่ 60 องศาเซลเซียส เอนไซม์ที่ใช้สำหรับทำปฏิกิริยาสำหรับการวิจัยนี้ คือ Taq DNA Polymerase

การตรวจสอบผลิตภัณฑ์ PCR

ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำ PCR โดยตรวจสอบขนาดของชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่ต้องการ ด้วยวิธี อิเล็กโทรโฟรีซิส (Electrophoresis) ทำการผสมผลิตภัณฑ์ PCR ด้วย loading dye และ stain ในปริมาตร 4 1 และ 1 ไมโครลิตร ตามลำดับ ผสมให้เข้ากันจากนั้นหยอดลงใน agarose gel ที่ความเข้มข้น 1% ให้ผลิตภัณฑ์ PCR เคลื่อนที่ผ่านสารละลาย Lithium Borate buffer (LB buffer) โดยใช้กระแสไฟฟ้า 100-150 โวลต์ 400 mp เป็นเวลา 30 นาที

เมื่อตรวจสอบแล้วพบว่าขนาดของผลิตภัณฑ์ PCR ตรงกับขนาดของดีเอ็นเอเป้าหมาย นำผลิตภัณฑ์ PCR ที่ได้ส่งไปยังหน่วยงานที่ให้บริการในการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ (DNA sequencing) แต่หากไม่พบแถบดีเอ็นเอ ให้พิจารณาความเข้มข้นของดีเอ็นเอตั้งต้นในการการทำปฏิกิริยา หรือหากพบว่า เกิดแถบของดีเอ็นเอมากกว่าหนึ่งแถบ ซึ่งสามารถพบได้บ่อยครั้งในการทำ PCR ตรงตำแหน่ง ITS สามารถแก้ไขได้โดยใช้วิธีอิเล็กโทรโฟรีซิสอีกครั้งโดยใช้ผลิตภัณฑ์ PCR ทั้งหมดของตัวอย่างนั้นๆ หยอดลงใน agarose gel ที่ความเข้มข้น 1% ให้ผลิตภัณฑ์ PCR เคลื่อนที่ผ่านสารละลาย Lithium Borate buffer (LB buffer) โดยใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ 400 mp เป็นเวลา 60 นาที ตัดเจลตรงแถบดีเอ็นเอตรงตำแหน่งที่เป็นเป้าหมาย จากนั้นทำการสกัดเจล และส่งผลิตภัณฑ์ที่ได้ เพื่อหาลำดับนิวคลีโอไทด์ ต่อไป

การหาลำดับนิวคลีโอไทด์

การหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของผลิตภัณฑ์ PCR โดยส่งให้หน่วยงานที่ให้บริการ โดยอาจต้องทำดีเอ็นเอมีความบริสุทธิ์ (DNA Purification) ก่อนหรือไม่นั้น ขึ้นอยู่กับความครอบคลุมของการให้บริการของหน่วยงานที่ให้บริการนั้น

การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

นำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ (sequence) มาทำการวิเคราะห์ เพื่อให้ได้ DNA barcoding ที่มีความถูกต้อง ทำได้โดยนำ forward sequence และ reverse sequence ที่ได้มาเปรียบเทียบเทียบกัน โดยคุณภาพของ sequence นั้นจะมีความหลากหลาย ขึ้นอยู่กับคุณภาพของดีเอ็นเอตั้งต้น รวมถึงการเพิ่มหรือหายไปของรหัสดีเอ็นเอระหว่างการทำปฏิกิริยา PCR โดยโปรแกรมที่สามารถวิเคราะห์ข้อมูลและจัดเรียงลำดับของนิวคลีโอไทด์ (sequence assemble) เช่น Sequencher, Geneious หรือ Bioedit แต่ทั้งนี้ ผู้วิจัยต้องวิเคราะห์ข้อมูลและจัดเรียงลำดับของนิวคลีโอไทด์ด้วยความระมัดระวัง และต้องตรวจสอบความถูกต้องของชนิดของจุลินทรีย์ที่ทำการศึกษากับฐานข้อมูลต่างๆ ที่เก็บข้อมูลของลำดับนิวคลีโอไทด์ เช่น GenBank เนื่องจากความถูกต้องของข้อมูล เป็นจุดที่สำคัญที่สุดของข้อมูลทางด้านชีวโมเลกุล โดยเฉพาะอย่างยิ่งหากมีการนำข้อมูลไปใช้ในการวินิจฉัยจำแนกชนิดของรา ซึ่งการวิเคราะห์ที่ผิดพลาดจะส่งผลถึงการจำแนกที่คลาดเลื่อน ผลลัพธ์ที่ได้จากการวิเคราะห์ข้อมูลและจัดเรียงลำดับของนิวคลีโอไทด์ จะบันทึกในรูปแบบ fasta file (.fasta) และ text file (.txt)

8. การบันทึกผลการทดลอง

บันทึกข้อมูล เก็บรักษาสายพันธุ์เชื้อราและเก็บรักษาดีเอ็นเอต้นแบบ

ราที่แยกได้เก็บรักษาไว้ใน Culture Collection ของกลุ่มวิจัยโรคพืชโดยเลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ข้อมูลของรหัสดีเอ็นเอ (DNA barcode) จะถูกเก็บบันทึก และรายงานเพื่อใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงสำหรับการจัดทำบัญชีรายชื่อโรคพืช รวมถึงสามารถใช้เป็นข้อมูลประกอบในการศึกษาด้านวิวัฒนาการต่อไป และดีเอ็นเอต้นแบบที่สกัดได้ จะจัดเก็บไว้ที่อุณหภูมิ –40 องศาเซลเซียส ณ พิพิธภัณฑ์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

วิเคราะห์ผล สรุปและเขียนรายงานความก้าวหน้า

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2558 – กันยายน 2559

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และแปลงปลูกปาล์มน้ำมันในประเทศไทย

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ข้อมูลของรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis*

ข้อมูล และลักษณะของรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis*

***Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis* Toovey**

Scientific Classification

Kingdom	Fungi
Division	Ascomycota
Class	Sordariomycetes
Subclass	Hypocreomycetidae
Order	Hypocreales
Family	Nectriaceae
Genus	*Fusarium*
Perfect state	*Gibberella*

Note on Taxonomy and Nomenclature

รา *F. oxysporum* ที่แยกได้จากต้นปาล์มน้ำมันที่แสดงอาการของโรคเหี่ยวในแถบแอฟริกา ได้มีการจัดเป็น *F. oxysporum* var. *redolens* (Wollenw.) Gordon โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และราชนิดนี้จัดว่าเป็น taxonomic synonym ของ *F. oxysporum* (Brayford, 1992)

ลักษณะของเชื้อ โคโลนีของรา (Figure 1) บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ pH 6.5-7 จะพบว่าราสามารถสร้างเม็ดสี (pigment) ได้หลากหลาย ได้แก่ สีขาว สีส้มอ่อน (peach) จนถึงค่อนข้างเข้ม (salmon) สีม่วงอ่อน ม่วงแดง จนถึงสีม่วงเข้ม เส้นใยมีลักษณะ striate และ felted to floccose มักจะพบว่ามีการสร้าง microconidia ที่มีทั้งแบบเซลล์เดียวหรือสองเซลล์ รูปร่าง ellipsoidal cylindrical straight หรือ curved ขนาด 5-12 x 2.2-3.5 µm microconidia เกิดตรงด้านข้าง หรือด้านบนของ phialides และ philalides สร้างออกมาจากด้านข้างของ conidiophores ที่มีขนาดสั้น macroconidia มีลักษณะ falcate หรือเป็นแบบ elegans type หรือมีลักษณะค่อนไปทาง martiella type โดยทั่วไปจะพบ macroconidia ที่มี 3-5 spetate ขนาด 27-60 x 3-5 µm สร้างบน lateral phialides จากนั้นจะมีการฟอร์มตัวของ slimmy sporodochia chlamydospores พบว่าสร้างอยู่ระหว่างหรือส่วนปลายของ short lateral branches อาจพบอยู่เดี่ยวๆ หรือเรียงตัวเป็นสาย ลักษณะโปร่งใส ผนังเซลล์มีทั้งแบบเรียบและขรุขระ บางครั้งพบว่ามีการสร้าง stromatic

pustules อยู่ร่วมกับ perithecia ของรา *Gibberella* แต่ไม่มีรายงานว่าพบการสร้าง asci หรือ ascospores (Booth, 1971; Brayford, 1992)

ลักษณะอาการของโรค ราเข้าทำลายปาล์มน้ำมันได้ตั้งแต่ระยะกล้าจนถึงต้นโต โดยการพบโรคในต้นโตจะพบอาการได้สองลักษณะ ลักษณะที่หนึ่งคือ ลักษณะอาการที่เรื้อรัง โดยใบแก่จะแห้งและมักพบการแตกของก้านใบหรือทางใบใกล้ลำต้น หรือส่วนที่ติดลำต้น ทำให้พบลักษณะใบแห้งห้อยตกลงรอบลำต้น (Figure 2) การพัฒนาการของโรคจะเป็นไปอย่างต่อเนื่อง โดยจะพบว่าใบอ่อนมีขนาดลดลง และมีสีซีดด่าง รวมถึงยอดของต้นปาล์มมีขนาดเล็กลง อาการในลักษณะนี้ต้นปาล์มจะมีชีวิตอยู่ได้หลายปีหลังจากพบการแสดงอาการ ลักษณะที่สอง จะพบว่ามีการแสดงอาการของโรคที่รุนแรง โดยพบว่าทางใบจะมีอาการแตกทำให้ทางใบทิ้งตัว ลักษณะแห้งรอบต้น การพัฒนาของโรคเป็นไปอย่างรวดเร็ว โดยต้นปาล์มจะตายภายใน 2-3 เดือน (Cooper, 2011) นอกจากนี้มีรายงานว่าสามารถพบการแสดงอาการเหี่ยวได้ระยะหนึ่ง จากนั้นต้นจะสามารถฟื้นตัว ในต้นปาล์มที่อายุน้อย จะพบว่าใบอ่อนหรือใบที่อยู่ด้านในของทรงพุ่มจะแสดงอาการเหลือง หรือสีน้ำตาล จากนั้นใบจะเริ่มแห้งและยืนต้นตายในที่สุด (Franqueville and Diabate, 1995) ในระยะกล้า ต้นที่เป็นโรคจะพบว่าต้นมีทางใบค่อนข้างสั้น ใบแก่จะแห้งตาย (Prendergast, 1957) โดยลักษณะอาการนี้คาดว่าเกิดจากลักษณะของการขาดน้ำเนื่องจากท่อน้ำ (xylem vessels) ถูกทำลาย (Figure 2) และส่งผลต่อการสร้างสาร gibberellins ซึ่งส่งผลต่อการเจริญของยอด (Mepsted *et al.*, 1995) ลักษณะของท่อน้ำที่ถูกทำลายจะมีสีน้ำตาลเข้ม โดยพบได้บริเวณลำต้น อย่างไรก็ตาม มักไม่พบการแสดงอาการบริเวณราก (Wardlaw, 1950; Prendergast, 1957; Mepsted, 1992)

พืชอาศัยอื่น ผักโหมหนาม (*Amaranthus spinosus*) สาบเสือ (*Chromolaena odorata*) หญ้าคา (*Imperata cylindrica*) (Figure 3)

พื้นที่การกระจายของโรค พบครั้งแรกในประเทศ Zaire (Wardlaw, 1946) หรือ สาธารณรัฐประชาธิปไตยคองโกในปัจจุบัน จากนั้นเริ่มมีการพบโรคในส่วนตอนกลางและทางตะวันตกของทวีปแอฟริกา ได้แก่ประเทศโกตดิวัวร์ ไนจีเรีย กานา คาแมรูน และคองโก (Oritsejafor, 1989) ต่อมามีการแพร่ระบาดเข้ามาในประเทศบราซิล และเอกวาดอร์ ซึ่งมีการระบาดที่รุนแรง (Renard and Franqueville, 1989) (Figure 4) **แต่ยังไม่พบรายงานการปรากฏในประเทศไทย**

พื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันในประเทศไทย พื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันทั้งสิ้น 4.5 ล้านไร่ ในพื้นที่ของ 67 จังหวัด โดยจังหวัดที่ปลูกมากที่สุดคือ สุราษฎร์ธานี ที่มีเนื้อที่ปลูกถึง 1 ล้านไร่ รองลงมาคือจังหวัดกระบี่ มีเนื้อที่ปลูก 9.59 แสนไร่ (ศูนย์สารสนเทศ สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2560) ดังแสดงใน Table 1 โดยแหล่งปลูกปาล์มน้ำมันที่เมล็ดพันธุ์นำเข้าจากต่างประเทศจะอยู่ในเขตพื้นที่ภาคใต้

2. จัดทำแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจและคู่มือของโรคเหี่ยวปาล์มน้ำมันที่เกิดจากรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis*

จัดทำแบบฟอร์มเพื่อใช้ในการสำรวจ ซึ่งจะประกอบไปด้วยข้อมูลดังต่อไปนี้ ชื่อผู้เก็บตัวอย่าง วันที่เก็บตัวอย่าง สถานที่เก็บตัวอย่าง ข้อมูลภูมิศาสตร์ เช่น พิกัด ข้อมูลพืชได้แก่ ชนิด และอายุของ

พืช ข้อมูลโรคที่พบได้แก่ ลักษณะอาการ ส่วนของพืชที่แสดงอาการ การวินิจฉัยโรคเบื้องต้น และข้อมูลเกษตรกร จากข้อมูลภาพโรคเหี่ยวของปาล์มน้ำมันที่เกิดจากรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* ที่ได้จากการสืบค้น จัดทำเป็นคู่มือการสำรวจ

3. การสำรวจ

จากผลการสำรวจสถานภาพของรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* ในช่วงเดือนตุลาคม 2558 ถึง เดือนกันยาย 2559 ในแหล่งปลูกปาล์มน้ำมัน ในพื้นที่จังหวัดกระบี่ ชุมพร นครศรีธรรมราช พังงา ประจวบคีรีขันธ์ สุราษฎร์ธานี ไม่พบต้นที่แสดงอาการเหี่ยวที่มีลักษณะการเข้าทำลายของรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* เมื่อทดลองตัดทางใบเพื่อดูลักษณะท่อน้ำของทางใบที่มีลักษณะแห้งและทิ้งทางใบ ไม่พบลักษณะที่บ่งชี้ว่ามีการเข้าทำลายของราสาเหตุ เก็บรากและดินบริเวณรอบรากปาล์ม จำนวน 102 ตัวอย่าง จาก 51 แปลง (Table 2)

4. การแยกราสาเหตุโรคพืช

นำราก และดินบริเวณรอบรากนำมาแยกได้รา *Fusarium* spp. จำนวน 79 ไอโซเลท

5. การจำแนกโดยดูลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์

เมื่อตรวจสอบราที่แยกได้ทั้ง 79 ไอโซเลท ในห้องปฏิบัติการโดยศึกษาลักษณะสปอร์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ stereo และ compound ยังไม่พบรา *Fusarium* ที่มีลักษณะคล้าย *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* แต่ทั้งนี้การพิจารณาด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียวค่อนข้างยาก เนื่องจากลักษณะและขนาดของโครงสร้างต่างๆของราที่แยกได้ มีความแตกต่างจากข้อมูลบรรยายคุณลักษณะของรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* เพียงเล็กน้อย หรือบางไอโซเลทไม่พบบางโครงสร้างที่จะใช้ในการจัดจำแนก เช่น chlamydospore ดังนั้นจึงต้องยืนยันด้วยการเปรียบเทียบข้อมูลทางพันธุกรรม

6. การจำแนกโดยการเปรียบเทียบข้อมูลพันธุกรรม

การสกัดดีเอ็น การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมาย และการตรวจสอบผลิตภัณฑ์ PCR

ทำการทดสอบและปรับวิธีการของการสกัดดีเอ็นเอ และการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายด้วยวิธีการ Polymerase Chain Reaction (PCR) (DNA extraction and PCR optimization) ของรา *Fusarium* เลือกตัวแทนรา *Fusarium* 1 ไอโซเลท เพื่อนำมาทำการทดสอบและปรับวิธีการ เมื่อทำการตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำ PCR ด้วยวิธี อิเล็กโทรโฟรีซิส (Electrophoresis) พบว่าได้ดีเอ็นเอขนาดประมาณ 1,000 เบส ซึ่งตรงตามขนาดของดีเอ็นเอที่ต้องการ ส่งผลิตภัณฑ์ PCR ที่ได้ส่งไปยัง บริษัท Macrogen จำกัด (ประเทศเกาหลี) เพื่อหาลำดับนิวคลีโอไทด์ (DNA sequencing)

การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

นำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ (sequence) ในรูปแบบไฟล์ .ab1 มาทำการวิเคราะห์ โดยนำ forward sequence และ reverse sequence ที่ได้มาเปรียบเทียบเทียบกัน โดยโปรแกรม Geneious version 8.1.9 (http://www.geneious.com, Kearse *et al.*, 2012) และ บันทึกในรูปแบบ fasta file (.fasta)

การเปรียบเทียบข้อมูลพันธุกรรม

นำข้อมูลดีเอ็นเอ (consensus sequence) ที่ได้มาทำการเปรียบเทียบโดยวิธี BLASTN พบว่ารา *Fusarium* ไอโซเลทที่ทำการทดสอบ คือ *F. solani* โดยมีความเหมือนของข้อมูลที่ 99%

การจำแนกโดยการเปรียบเทียบข้อมูลพันธุกรรมจะนำมาใช้ในการจำแนกรา *Fusarium* spp. ที่แยกได้จากตัวอย่างราก และดินบริเวณรอบรากปาล์มน้ำมันในการทดลองต่อไป เลี้ยงและเก็บรา *Fusarium* spp. ที่แยกได้ บนอาหาร PDA slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียสใน Culture Collection ของกลุ่มวิจัยโรคพืช เก็บบันทึกข้อมูลของรหัสดีเอ็นเอที่ได้ เพื่อใช้เป็นข้อมูลสำหรับการศึกษาและทดลองต่อไป และจัดเก็บไว้ที่อุณหภูมิ –40 องศาเซลเซียส ณ พิพิธภัณฑ์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

จากการสืบค้นข้อมูล และผลที่ได้จากการทดลอง พบว่าการจัดจำแนกรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาค่อนข้างยาก เนื่องจากคุณลักษณะของโครงสร้างเพื่อใช้ในการจัดจำแนกของรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* มีความใกล้เคียงกันมาก โดยเฉพาะลักษณะของราในกลุ่ม *F. oxysporum* ดังนั้นการเปรียบเทียบด้วยข้อมูลทางพันธุกรรม จึงมีส่วนอย่างมากที่จะช่วยในการจัดจำแนก อย่างไรก็ตาม ข้อมูลของรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* ที่ปรากฏใน GenBank มีเพียงตำแหน่ง LSU และ translation elongation factor และข้อมูลของรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* ที่ปรากฏใน GenBank นี้ ไม่ใช่ข้อมูลที่ได้มาจากตัวอย่างต้นแบบ (type/pathotype) ของรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* ทำให้เป็นข้อจำกัดข้อหนึ่งในของระดับความแม่นยำในการจัดจำแนก (Cooper, 2012)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากผลการสำรวจสถานภาพของรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* ในช่วงเดือนตุลาคม 2558 – เดือนกันยายน 2559 ในแหล่งปลูกปาล์มน้ำมัน ในพื้นที่จังหวัดกระบี่ ชุมพร นครศรีธรรมราช พังงา ประจวบคีรีขันธ์ สุราษฎร์ธานี ไม่พบต้นที่แสดงอาการเหี่ยวที่มีลักษณะการเข้าทำลายของรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* เมื่อทดลองตัดทางใบเพื่อดูลักษณะท่อน้ำของทางใบที่มีลักษณะแห้งและทิ้งทางใบ ไม่พบลักษณะที่บ่งชี้ว่ามีการเข้าทำลายของราสาเหตุ เก็บรากและดินบริเวณรอบรากปาล์ม จำนวน 102 ตัวอย่าง จากแปลงปลูกปาล์มน้ำมันจำนวน 51 แปลง และนำมาแยกได้รา *Fusarium* spp. จำนวน 79 ไอโซเลท ตรวจสอบราที่แยกได้ทั้ง 79 ไอโซเลท ในห้องปฏิบัติการโดยศึกษาลักษณะสปอร์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo และ compound ไม่พบรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* และ รา *Fusarium* 1 ไอโซเลท ที่ใช้ในการทดสอบและปรับวิธีการ การสกัดดีเอ็นเอและการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายด้วยวิธีการ Polymerase Chain Reaction (PCR) (DNA extraction and PCR optimization) คือ *F. solani* เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลทางพันธุกรรมกับฐานข้อมูลที่ปรากฏใน GenBank ด้วยตำแหน่ง LSU ผลจากการสำรวจครั้งนี้ไม่พบรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* **ดังนั้นรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* ไม่ปรากฏในพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันของ**

ประเทศไทย อย่างไรตามรา *Fusarium* spp. ที่ทำการแยกได้ควรทำการจัดจำแนกด้วยข้อมูลพันธุกรรมต่อไป รวมถึงการเพิ่มตำแหน่งของยีนหรือดีเอ็นเอเป้าหมาย เพื่อเพิ่มความเชื่อมั่นของข้อมูลสถานะภาพของการไม่ปรากฏของรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* ในประเทศไทย

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นางสาวศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช อดีตผู้เชี่ยวชาญด้านโรคพืช กรมวิชาการเกษตร สำหรับคำปรึกษา คำแนะนำ และแนวทางที่เป็นประโยชน์ต่อการปฏิบัติงาน ขอขอบคุณพี่ๆ และน้องๆ กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช ที่ให้ความร่วมมือและความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่าง การดำเนินการทดลอง และการเก็บข้อมูล รวมถึงกำลังใจที่มีให้กันเสมอมา

เอกสารอ้างอิง

ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2560. *ปาล์มน้ำมัน: เนื้อที่ให้ผล ผลผลิตและผลผลิตต่อไร่ ปี 2557 – 2559*. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : http://www.oae.go.th/download/prcai/farmcrop/palm.pdf (25 กุมภาพันธ์ 2560).

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2560. *สถิติการนำเข้า (Import) เมล็ดปาล์มและเนื้อในเมล็ดปาล์ม: ปริมาณและมูลค่าการนำเข้ารายเดือน*. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : http://www.oae.go.th/oae_report/export_import/import_result.php (25 กุมภาพันธ์ 2560).

Booth, C. 1971. *The Genus Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, UK. 237 p.

Brayford, D. 1992. *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis*. IMI Descriptions of Fungi and Bacteria. Set 112, No 1116. *Mycopathologia*. 118 : 49-50.

Cooper, R.M. 2011. *Fusarium* Wilt of oil palm: a continuing threat to South East Asian plantations. *The Planter Kuala Lumpur*. 87 (1023) : 409-418.

Cooper, R.M. 2011. *Fusarium oxysporum* wilt of oil palm: seed contamination, intercontinental spread and the development of eradication and rapid detection for seed quarantine. pp. 29-46. *In :* Pfenning, L.H., Mitzubuti, E.S.G. and M.L.G. Resende, (eds.) *Annals of 11th Symposium of Management of Plant Diseases*. Brazil: Brazilian Society of Plant Pathology.

Corley, R.H.V. and P.B.H. Tinker. 2003. *The Oil Palm.* Blackwell Scientific Press, Oxford. 592 p.

Franqueville, H. and S. Diabaté. 1995. Oil palm vascular wilt in West Africa. Plantations, Recherche. *Développement*. 2(4) : 5-13.

Geiser, D.M., Jiminez-Gasco, M., Kang, S., Makalowski, I., Veeraraghavan, N., Ward, T.J., Zhang, N., Kuldau, G.A. and K. O'Donnell. 2004. *Fuarium*-ID v.10; a DNA sequence data vase for identifying *Fusarium*. *European Journal of Plant Pathology*. 119 : 473-479.

Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., Buxton, S., Cooper, A., Markowitz, S., Duran, C., Thierer, T., Ashton, B., Mentjies, P. and A. Drummond. 2012. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*. 28 (12) : 1647-1649.

McMaugh, T. 2005. *Guidelines for Surveillance for Plant Pests in Asia and the Pacific*. ACIAR Monograph No. 119. 192 p.

Mepsted, R. 1992. *Studies on Fusarium wilt of oil palm*. PhD Thesis. Bath, UK: University of Bath.

Mepsted, R., Flood, J. and R.M. Cooper RM. 1995. *Fusarium* wilt of oil palm II. Stunting as a mechanism to reduce water stress. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 46 (5) : 373-387.

Oritsejafor, J.J. 1989. Status of the oil palm vascular wilt disease in Nigeria. In NIFOR, eds. *International Conference on Oil Palm and Palm Products*. Benin City, Nigeria: NIFOR.

Prendergast, A.G. 1957. Observations on the epidemiology of vascular wilt disease of the oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Journal of the West African Institute for Oil Palm Research*. 2 : 148-175.

Rees, R.W., Flood, J., Hasan, Y. and R.M. Cooper. 2007. Effect of inoculum potential, shading and soil temperature on root infection of oil palm seedlings by the basal stem rot pathogen *Ganoderma boninense*. *Plant Pathology*. 56 : 862-870.

Renard, J.L. and H. Franqueville. 1989. Oil palm vascular wilt. *Oléagineux (Paris)*. 44 (7) : 341-349.

Renard, J. L., Noiret, J.M. and J. Meunier. 1980. Sources and ranges of resistance to *Fusarium* wilt in the oil palms *Elaeis guineensis* and *Elaeis melanococca*. *Oleagineux*. 35 : 387-393.

UK CAB International. 1996. *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis*. *Distribution Maps of Plant Diseases*, December (Edition 3) : Map 471.

Vilgalys, R. and M. Hester. 1990. Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several Cryptococcus species. *Journal of Bacteriology.* 172 : 4238–4246.

Wardlaw, C.W. 1946. *Fusarium oxysporum* on the oil palm. *Nature.* 158 : 712.

Wardlaw, C.W. 1950. Vascular wilt disease of the oil palm caused by *Fusarium oxysporum* Schl. *Tropical Agriculture.* 27 : 42-47.

Table 1 Production area of oil palm in Thailand during 2014 - 2016

Province	Plantation area (rai)			Production (ton)		
	2557	2558	2559	2557	2558	2559
Total	**4,023,819**	**4,276,240**	**4,515,679**	**12,472,505**	**11,015,872**	**10,944,884**
North region	29,701	41,761	53,880	31,405	33,864	33,497
North East region	64,610	94,557	112,087	90,210	96,141	98,267
Central region	381,201	441,762	465,976	1,004,399	992,031	966,629
South region	3,548,308	3,698,161	3,883,736	11,346,491	9,893,836	9,846,491
Chiangrai	5,770	6,940	10,734	7,427	6,898	6,666
Phayao	1,284	1,748	1,901	996	951	912
Lampang	146	146	192	146	118	117
Lamphun	294	294	592	238	162	206
Chiangmai	1,142	1,192	1,812	1,114	942	1,047
Tak	786	1,245	1,170	1,001	1,133	869
Kamphaeng Phet	3,942	4,494	5,323	3,314	3,051	3,034
Sukhothai	1,387	3,460	4,492	1,187	2,021	2,080
Phrae	99	149	1,280	31	30	175
Nan	1,424	2,390	3,434	751	877	962
Uttaradit	557	562	1,190	263	125	155
Phitsanulok	5,507	8,981	9,925	6,929	8,747	8,486
Phichit	95	95	282	277	245	313
Nakhon Sawan	667	1,103	1,203	618	652	600
Uthai Thani	4,255	6,599	7,690	5,802	6,863	6,875
Phetchabun	2,346	2,363	2,660	1,311	1,049	1,000
Loei	6,569	13,626	13,657	9,210	11,623	10,366
Nong Bua Lamphu	454	2,121	3,433	254	766	913
Udon Thani	3,211	7,968	10,826	3,456	5,928	6,647

Table 1 Production area of oil palm in Thailand during 2014 – 2016 (continued)

Province	Plantation area (rai)			Production (ton)		
	2557	2558	2559	2557	2558	2559
Nong Khai	8,053	11,617	15,148	10,799	12,000	13,391
Bueng Kan	9,652	10,193	12,222	16,894	14,117	15,302
สกลนคร	4,564	4,902	7,143	4,185	3,735	4,464
Nakhon Phanom	2,438	4,017	4,591	1,886	1,948	2,011
Mukdahan	874	1,387	1,614	1,183	1,402	1,509
Yasothon	1,394	3,437	3,624	1,404	2,626	2,693
Amnat Charoen	3,357	4,429	4,652	4,743	5,284	4,992
Ubon Ratchathani	10,466	12,436	12,660	18,475	17,783	16,167
Sisaket	2,845	3,645	3,645	3,089	3,379	3,255
Surin	768	868	1,413	630	578	743
Buriram	3,118	3,719	4,010	3,242	3,180	2,907
Maha Sarakham	51	51	51	0	0	10
Roi Et	598	963	995	615	797	703
Kalasin	1,328	1,958	2,329	1,060	1,165	1,141
Khon Kaen	326	906	888	218	381	324
Chaiyaphum	487	1,496	2,475	541	811	884
Nakhon Ratchasima	4,108	4,869	6,711	8,326	8,638	9,845
Saraburi	4,036	6,162	6,295	12,066	16,009	14,680
Lopburi	1,992	2,779	2,765	1,789	1,909	1,728
Sing Buri	12	12	12	26	22	20
Suphan Buri	1,845	2,427	2,880	1,845	2,007	2,076
Pathum Thani	10,735	10,836	11,021	36,989	35,835	35,554
Nakhon Nayok	3,051	3,530	5,488	6,097	6,605	8,166
Prachinburi	11,779	16,288	16,291	22,473	25,458	22,693
Chachoengsao	14,190	21,129	23,792	31,255	37,293	39,423
Sa Kaeo	18,259	29,739	36,627	40,674	48,623	52,743
Chanthaburi	15,809	21,011	20,932	37,775	41,602	40,252
Trat	50,535	57,366	58,888	133,478	140,375	140,742
Rayong	19,983	20,952	21,231	56,787	54,496	53,269
Chonburi	93,950	101,378	102,111	279,156	269,057	256,809
Kanchanaburi	12,149	13,386	16,123	17,059	14,725	15,849
Ratchaburi	5,698	7,747	9,150	7,575	8,165	8,445
Phetchabun	8,196	12,076	13,225	20,037	26,398	25,524

Table 1 Production area of oil palm in Thailand during 2014 – 2016 (continued)

Province	Plantation area (rai)			Production (ton)		
	2557	2558	2559	2557	2558	2559
Prachuap Khiri Khan	108,982	114,944	119,145	299,318	263,452	248,656
Chumphon	762,190	811,672	848,945	2,332,397	2,026,745	1,955,969
Ranong	68,359	77,837	87,775	214,889	208,136	228,566
Surat Thani	982,440	992,761	1,031,533	3,282,165	2,830,362	2,787,202
Phang Nga	160,350	166,602	178,719	502,268	447,160	469,137
Phuket	1,304	1,657	1,597	3,921	4,081	3,881
Krabi	950,447	957,002	959,694	3,320,117	2,813,586	2,748,564
Trang	149,396	162,661	165,345	461,505	410,556	406,914
Nakhon Si Thammarat	278,555	298,849	343,954	808,682	751,605	829,617
Phatthalung	24,608	36,401	41,464	57,157	71,018	76,045
Songkhla	25,625	35,865	46,202	53,326	63,589	69,257
Satun	98,966	99,940	107,446	220,233	185,089	186,956
Pattani	12,464	13,600	16,471	27,336	25,010	24,295
Yala	4,172	6,834	6,966	6,296	7,907	7,558
Narathiwat	29,432	36,480	47,625	56,199	48,992	52,530

Source : Office of Agricultural Economics, 2016

North region North-East region Central region South region

Table 2 Soil and root samples used in this study (2015 – 2016)

Sample No.	Province	District	Sub-district	Village	Latitude	Longitude
OPS01 OPR01	Surat Thani	Mueang	Khlong Noi		9° 08' 44"N	99° 15' 57"E
OPS02 OPR02	Surat Thani	Phunphin	Si Wichai		9° 09' 58"N	99° 14' 01"E
OPS03 OPR03	Surat Thani	Phunphin	Si Wichai		9° 09' 58"N	99° 13' 59"E
OPS04 OPR04	Surat Thani	Phrasaeng	Bang Sawan		8° 38' 29"N	98° 58' 18"E
OPS05 OPR05	Surat Thani	Phrasaeng	Bang Sawan		8° 38' 33"N	98° 58' 04"E
OPS06 OPR06	Surat Thani	Khian Sa	Ban Khian Sa	Plai Lik	8° 50' 24"N	99° 10' 55"E
OPS07 OPR07	Surat Thani	Khian Sa	Khian Sa	Ban Sadet	8° 47' 40"N	99° 09' 46"E
OPS08 OPR08	Surat Thani	Khian Sa	Khian Sa	Ban Huay Nam Tao	8° 45' 37"N	99° 09' 46"E
OPS09 OPR09	Surat Thani	Khian Sa	Khian Sa	Ban Huay Nam Tao	8° 45' 37"N	99° 09' 48"E
OPS10 OPR10	Surat Thani	Khian Sa	Ban Khian Sa	Phuang Phromkhon	8° 40' 32"N	99° 07' 29"E
OPS11 OPR11	Surat Thani	Phrasaeng	Bang Sawan	Ban Bang Sawan	8° 35' 10"N	98° 55' 08"E
OPS12 OPR12	Krabi	Plai Phraya	Plai Phraya	Ban Klongpuan	8° 36' 57"N	98° 53' 05"E
OPS13 OPR13	Krabi	Plai Phraya	Plai Phraya	Ban Klongpuan	8° 36' 51"N	98° 53' 08"E
OPS14 OPR14	Krabi	Plai Phraya	Plai Phraya	Ban Klongpuan	8° 36' 51"N	98° 53' 08"E
OPS15 OPR15	Krabi	Plai Phraya	Plai Phraya	Ban Nha Suan	8° 36' 02"N	98° 54' 10"E
OPS16 OPR16	Phang-nga	Khura Buri	Khura Buri	Mae Ya Nang Kao	9° 9' 13.35"N	98° 25' 29"E
OPS17 OPR17	Chumphon	Mueang	Thung Kha	Ban Thung Kha	10° 22' 50"N	99° 07' 13"E
OPS18 OPR18	Chumphon	Mueang	Thung Kha	Ban Thung Kha	10° 23' 14"N	99° 06' 47"E
OPS19 OPR19	Surat Thani	Phrasaeng	Bang Sawan	Ban Bang Sawan	8° 35' 46"N	98° 56' 54"E
OPS20 OPR20	Surat Thani	Phrasaeng	Bang Sawan	Ban Bang Sawan	8° 36' 24"N	98° 57' 27"E
OPS21 OPR21	Surat Thani	Phrasaeng	Bang Sawan	Ban Bang Sawan	8° 38' 29"N	99° 01' 52"E
OPS22 OPR22	Surat Thani	Phrasaeng	Bang Sawan	Ban Bang Sawan	8° 38' 28"N	99° 04' 07"E
OPS23 OPR23	Surat Thani	Phrasaeng	Bang Sawan	Ban Bang Sawan	8° 55' 45"N	99° 15' 31"E
OPS24 OPR24	Surat Thani	Phrasaeng	Bang Sawan	Ban Bang Sawan	8° 59' 12"N	99° 12' 23"E
OPS25 OPR25	Surat Thani	Mueang	Khlong Noi		9° 08' 44"N	99° 15' 57"E
OPS26 OPR26	Surat Thani	Mueang	Khlong Noi		9° 08' 45"N	99° 15' 57"E
OPS27 OPR27	Surat Thani	Mueang	Khlong Noi		9° 08' 45"N	99° 15' 56"E
OPS28 OPR28	Surat Thani	Mueang	Khlong Noi		9° 08' 46"N	99° 15' 57"E
OPS29 OPR29	Surat Thani	Mueang	Khlong Noi		9° 08' 50"N	99° 15' 57"E
OPS30 OPR30	Surat Thani	Mueang	Khlong Noi		9° 08' 50"N	99° 15' 57"E
OPS31 OPR31	Surat Thani	Mueang	Khlong Noi		9° 08' 50"N	99° 15' 57"E
OPS32 OPR32	Surat Thani	Mueang	Khlong Noi		9° 08' 50"N	99° 15' 57"E
OPS33 OPR33	Surat Thani	Mueang	Khlong Noi		9° 08' 48"N	99° 15' 56"E
OPS34 OPR34	Surat Thani	Mueang	Khlong Noi		9° 08' 43"N	99° 16' 06"E
OPS35 OPR35	Surat Thani	Mueang	Bang Bai Mai		9° 08' 08"N	99° 16' 44"E
OPS36 OPR36	Surat Thani	Mueang	Bang Bai Mai		9° 07' 56"N	99° 17' 01"E
OPS37 OPR37	Nakhon Si Thammarat	Sichon	Sichon	Kao Fai	9° 02' 10"N	99° 51' 20"E
OPS38 OPR38	Nakhon Si Thammarat	Sichon	Sichon	Kao Fai	9° 01' 56"N	99° 52' 07"E
OPS39 OPR39	Nakhon Si Thammarat	Sichon	Sichon	Kao Fai	9° 01' 56"N	99° 52' 07"E
OPS40 OPR40	Nakhon Si Thammarat	Sichon	Sichon	Klong Tha Ruea	9° 01' 27"N	99° 52' 33"E

Table 2 Soil and root samples used in this study (2015 – 2016) (continued)

Sample No.		Province	District	Sub-district	Village	Latitude	Longitude
OPS41	OPR41	Nakhon Si Thammarat	Sichon	Sichon		9° 01' 13"N	99° 52' 25"E
OPS42	OPR42	Nakhon Si Thammarat	Sichon	Sichon		8° 19' 17"N	99° 57' 49"E
OPS43	OPR43	Nakhon Si Thammarat	Chaloem Phra Kiat	Suan Luang		8° 10' 34"N	100° 02' 30"E
OPS44	OPR44	Nakhon Si Thammarat	Chaloem Phra Kiat	Thang Phun		8° 10' 51"N	100° 02' 10"E
OPS45	OPR45	Nakhon Si Thammarat	Chaloem Phra Kiat	Thang Phun		8° 10' 52"N	100° 02' 11"E
OPS46	OPR46	Nakhon Si Thammarat	Phra Phrom	Na Phur		8° 19' 30"N	99° 56' 06"E
OPS47	OPR47	Prachuap Khiri Khan	Mueang	Bo Nok		11° 58' 13"N	99° 48' 28"E
OPS48	OPR48	Trang	Wang Wiset			7° 44' 30"N	99° 21' 37"E
OPS49	OPR49	Trang	Huai Yot			7° 45' 25"N	99° 26' 54"E
OPS50	OPR50	Nakhon Si Thammarat	Thungsong	Khlong Noi	Ban Bang Poh	8° 07' 19"N	99° 39' 58"E
OPS51	OPR51	Nakhon Si Thammarat	Pak Phanang	Khlong Noi	Ban Bang Nian	8° 21' 50"N	100° 05' 18"E

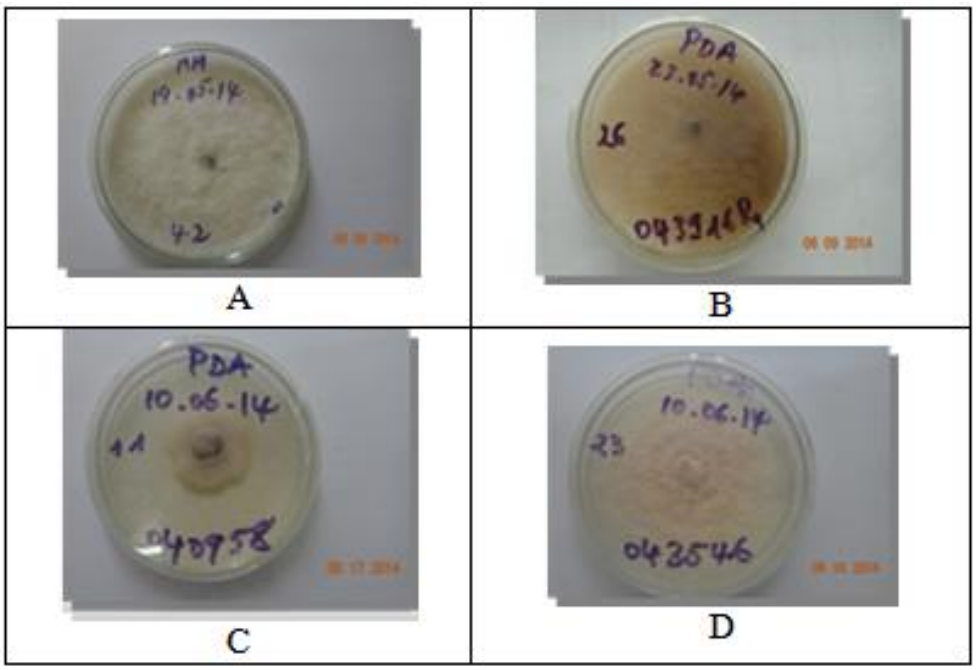


Figure 1 Colonies of *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* on PDA (Godswill *et al.*, 2015)

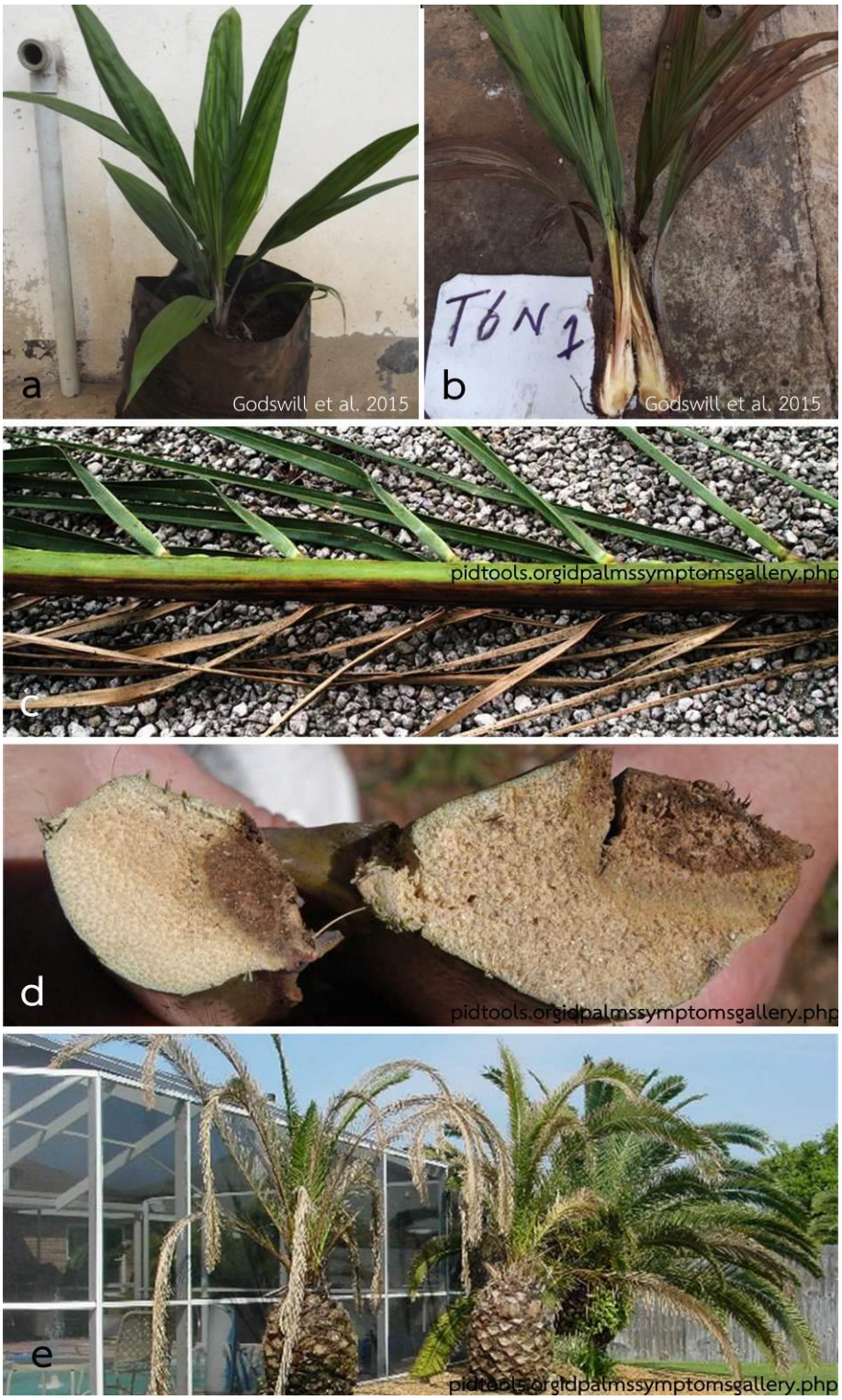


Figure 2 Symptoms of wilt disease caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis*
a, d. Wilted oil palm b-d. discoloration of xylem

Figure 3 Weed hosts of *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis*

a-b. *Amaranthus spinosus*

c-d. *Chromolaena odorata*

e-f. *Imperata cylindrical*

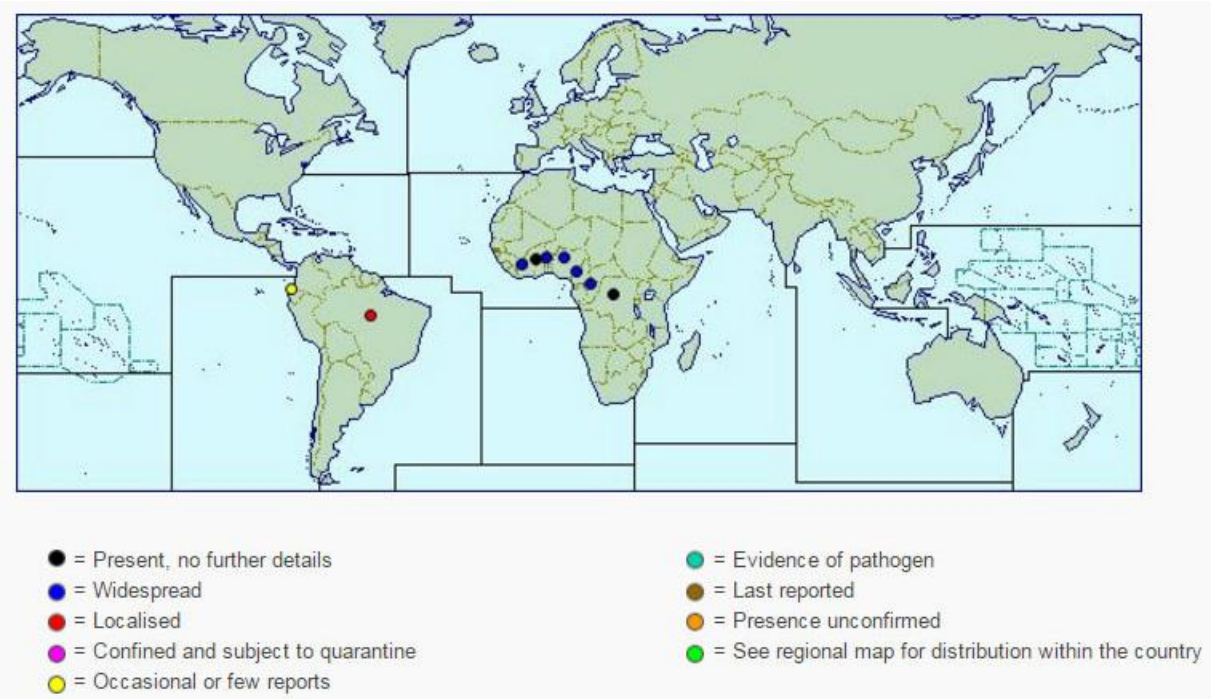


Figure 4 Distribution map of *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis* (UK CAB International, 1996. *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis*)

การสำรวจสถานภาพของแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *nebraskensis* สาเหตุโรค Goss's Bacterial Wilt and Leaf Blight ของข้าวโพดในประเทศไทย

Pest Status Survey of *Clavibacter michiganensis subsp. nebraskensis* Causal Agent of Goss's Bacterial Wilt and Leaf Blight Disease of Corn in Thailand

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

[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ประเทศไทยเป็นแหล่งผลิตข้าวโพดที่สำคัญของภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มีพื้นที่ปลูกประมาณ 7 ล้านไร่ ประเทศไทยสั่งนำเข้าเมล็ดข้าวโพดเพื่อการบริโภคและใช้เป็นพ่อพันธุ์แม่พันธุ์ เพื่อการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสม สำหรับใช้ในประเทศและส่งออกไปยังประเทศต่างๆ ทำให้มีความเสี่ยงในการเป็นเส้นทาง (pathway) ของศัตรูพืชกักกันที่สำคัญที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์ได้ โรคเหี่ยว (Goss's Bacterial Wilt of corn) หรือ โรคใบไหม้ (Leaf Blight of corn) โรคที่สำคัญของข้าวโพดและเป็นศัตรูกักกันพืชของประเทศไทย เชื้อสาเหตุเกิดจากแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *nebraskensis* เชื้อสามารถถ่ายทอดได้ทางเมล็ดพันธุ์ (seed transmission) ทำให้มีความเสี่ยงที่แบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis* อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์ได้ จำเป็นต้องมีการสำรวจสถานภาพของแบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis* ในพื้นที่ปลูกข้าวโพดในประเทศไทย อย่างเป็นระบบ เพื่อเป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ ในการกำหนดศัตรูพืชกักกัน การจัดทำวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชในการนำข้าวโพดจากประเทศสหรัฐอเมริกา และเป็นข้อมูลในการเจรจาการค้าเพื่อประโยชน์ต่อการส่งออกและนำเข้าข้าวโพดในอนาคต จากการสำรวจแหล่งปลูกข้าวโพด 5 แหล่งปลูก ตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2558- กันยายน 2559 จำนวน 50 แปลง ได้แก่ เชียงราย จำนวน 10 แปลง เชียงใหม่ จำนวน 10 แปลง แพร่ จำนวน 10 แปลง นครสวรรค์ จำนวน 10 แปลง นครราชสีมา จำนวน 10 แปลง จากการสำรวจไม่พบลักษณะอาการของโรคเหี่ยว (Goss' bacterial wilt) พบแต่ลักษณะอาการใบไหม้ เก็บตัวอย่างต้องสงสัยทั้งหมด 20 ตัวอย่าง นำมาตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ ผลการตรวจพบว่าตัวอย่างทั้งหมดไม่ใช่เชื้อแบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis*

คำหลัก : ข้าวโพด โรคเหี่ยว โรคใบไหม้ แบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *nebraskensis* Corn, Goss's Bacterial Wilt of corn, Leaf Blight of corn

---

รหัสการทดลอง 03-04-59-04-01-00-03-59

คำนำ

ประเทศไทยเป็นแหล่งผลิตข้าวโพดที่สำคัญของภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มีพื้นทีปลูกประมาณ 7ล้านไร่ ประเทศไทยสั่งนำเข้าเมล็ดข้าวโพดเพื่อการบริโภคและใช้เป็นพ่อพันธุ์แม่พันธุ์ เพื่อการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสม สำหรับใช้ในประเทศและส่งออกไปยังประเทศต่างๆ โดยในปี 2556 มีปริมาณการนำเข้า ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ จำนวน 182,174,288 กิโลกรัม/ปี มูลค่าการนำเข้า 751,421,853 บาท มีปริมาณการส่งออกข้าวโพด 561,133,133 กิโลกรัมต่อปี มูลค่าการส่งออกประมาณ 4,138,610,061 ล้านบาท (ที่มา: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร) จากการที่ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ทำให้มีความเสี่ยงในการเป็นเส้นทาง(pathway) ของศัตรูพืชกักกันที่สำคัญที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์ได้ โรคเหี่ยว (Goss's Bacterial Wilt of corn) หรือ โรคใบไหม้ (Leaf Blight of corn) โรคที่สำคัญของข้าวโพดและเป็นศัตรูกักกันพืชของประเทศไทย เชื้อสาเหตุเกิดจากแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *nebraskensis* ที่มีแหล่งกำเนิดดั้งเดิมในประเทศสหรัฐอเมริกา พบระบาดอย่างกว้างขวางในประเทศสหรัฐอเมริกา สามารถถ่ายทอดได้ทางเมล็ดพันธุ์(seed transmission) ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากประเทศสหรัฐอเมริกา โดยมีมูลค่าการนำเข้า 85,984,962 บาท ทำให้มีความเสี่ยงที่แบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis* อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์ได้ จำเป็นต้องมีการสำรวจสถานภาพของแบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis* ในพื้นที่ปลูกข้าวโพดในประเทศไทย อย่างเป็นระบบ เพื่อเป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ ในการกำหนดศัตรูพืชกักกัน การจัดทำวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชในการนำข้าวโพดจากประเทศสหรัฐอเมริกา การกำหนดพื้นที่ปลอดศัตรูพืช และใช้ในการจัดเตรียมบัญชีรายชื่อศัตรูพืช

โรคเหี่ยว (Goss' bacterial wilt) หรือ โรคใบไหม้ (leaf blight) ในข้าวโพด เกิดจากเชื้อ *Clavibacter michiganensis* subsp. *nebraskensis* มีลักษณะอาการของโรคปรากฏอาการแคระแกร็นและต้นเหี่ยว หรือปรากฏใบไหม้โดยพบใบมีเส้นสีเขียวอมเทาไปจนถึงแถบเหลืองเป็นคลื่นหรือขอบไม่เรียบขนาดไปกับเส้นใบ ลักษณะอาการของโรคที่เฉพาะสำหรับโรคนี้คือใบมีจุดแผลฉ่ำน้ำพัฒนาไปตามเส้นใบ จุดแผลมีสีเขียวเข้มถึงดำและมีลักษณะเหมือนกระเมื่อใบที่เป็นโรคเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล อาจมีหยดแบคทีเรียปรากฏขึ้นบนเนื้อเยื่อที่เป็นโรค ส่วนลำต้นพบอาการเนื้อเยื่อบริเวณท่อน้ำท่ออาหารเปลี่ยนสีและเน่าเละ เชื้อสาเหตุโรคสามารถเข้าทำลายต้นข้าวโพดได้ทุกระยะของการเจริญเติบโต ถ้าเชื้อเข้าทำลายในระยะต้นกล้า ต้นกล้าจะเหี่ยวและตาย (CABI, 2007)

แบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis* มีพืชอาศัยที่สำคัญได้แก่ข้าวโพด ข้าวฟ่าง และ อ้อย (CABI, 2007) มีคุณสมบัติเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างเซลล์ส่วนเป็นท่อน แต่อาจพบรูปร่างเป็นวงรี หรือเป็นรูปถ้วยบางในบางครั้ง ขนาดของเซลมีขนาด 0.5 x 2.0 ไมครอน (Schuster, 1975; Vidaver and Mandel, 1974) แบคทีเรียสามารถอยู่ข้ามฤดูได้โดยอยู่ในเศษซากข้าวโพดที่อยู่ในแปลงปลูก เมื่อปลูกข้าวโพดในฤดูถัดไปทำให้เกิดการระบาดได้ (Schuster, 1975) Smidt and Vidaver (1986) ได้ศึกษาประชากรของแบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis* ในแปลงที่มีการระบาดของโรค Goss's wilt ในฤดูการที่ผ่านมาพบว่า สามารถตรวจพบแบคทีเรีย

C. michiganensis subsp. *nebraskensis* จากดินและเศษซากพืชในแปลงปลูกในปี 1982-1983 ที่เมืองเนบราสกา สหรัฐอเมริกาและประชากรของแบคทีเรียในซากพืชจะสูงในระยะเก็บเกี่ยวในเดือนตุลาคม จะลดลงเมื่อเข้าสู่ฤดูหนาว

แบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis* สามารถถ่ายทอดได้ทางเมล็ด ได้มีการศึกษาการถ่ายทอดโรคพบว่าสามารถตรวจพบแบคทีเรียนี้ในเมล็ดทั้งภายนอกและภายในและอาจพบได้ในบริเวณใกล้เคียงของเนื้อเยื่อเอนโดสเปิร์ม คัพภะ และ เนื้อเยื่อที่กั้นระหว่างคัพภะกับเอนโดสเปิร์ม (scutellum) (Biddle *et al.*, 1990; Schuster, 1975) ความเข้มข้นของแบคทีเรียที่มีมากที่สุดอยู่ที่ฐานของเมล็ด (Schuster, 1975) แบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis* เมื่อติดไปกับเมล็ดจะทำให้ลดการงอกของเมล็ดลง (Schuster, 1975)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อชนิดปลอดเชื้อ อุปกรณ์การแยกเชื้อแบคทีเรีย

2. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ตู้เย็นสำหรับเก็บตัวอย่าง หม้อนึ่งความดันไอ เครื่องเขย่าชนิดควบคุมอุณหภูมิ เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ตู้อบ (oven) เครื่อง Thermocycler (Biometra ®)

3. เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่นๆที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องชั่ง, pH meter เป็นต้น

4. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

วิธีการ

การสำรวจแบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis* ในพื้นที่ปลูกข้าวโพด ดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) เพื่อให้ทราบข้อมูลแบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis* ในพื้นที่สำรวจและในเวลาที่กำหนด

ขั้นตอนและวิธีในการวิจัย ดำเนินการตามขั้นตอนต่อไปนี้

1. **จัดทำคู่มือการสำรวจ** โดยการรวบรวมตัวอย่างอ้างอิงและรูปภาพของโรคของข้าวโพดที่เกิดจากแบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis* เพื่อใช้ในการตรวจสอบอ้างอิงขณะทำการสำรวจและจัดทำข้อมูลศัตรูพืช ชื่อสามัญ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพืชอาศัย อาการของโรค รูปภาพสีของโรค และรายละเอียดของศัตรูพืชชนิดอื่นที่คล้ายคลึงกับศัตรูพืชเป้าหมาย

2. **จัดทำฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ**ได้แก่ ชื่อที่อยู่ที่ตั้งของแปลง วันและเวลา สภาพดินฟ้าอากาศ ตำแหน่งที่ตั้ง (พิกัด GPS) เป็นต้น

วางแผน การสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (Specific survey) ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (Guidelines for surveillance: ISPM No. 6) โดยทำการ

สำรวจแบบสืบพบ (Detection survey) เพื่อสืบค้นหาศัตรูพืชเป้าหมายสำรวจอย่างน้อย 10 แปลงต่อพื้นที่ แต่ละแปลงทำการสุ่มตัวอย่างแบบเป็นระบบ โดยเดินตามเส้นทแยงมุม ทุกๆ 10 ก้าว ตรวจโรคจุดละ 10 ต้น จำนวน 10 จุดต่อแปลง หรือ 10เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่แปลง

การสำรวจ กำหนดพื้นที่สำรวจโดยเป็นแหล่งผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดที่สำคัญของประเทศ จำนวน 12 แหล่งปลูก ใน 8 จังหวัด ได้แก่ เชียงใหม่ เชียงราย แม่ฮ่องสอน แพร่ ตาก นครราชสีมา สระบุรี และลพบุรี ดำเนินการสำรวจตาม ISPM No. 6 (Guidelines for surveillance) วางแผนการสำรวจอย่างน้อย 10 แปลง ต่อพื้นที่ แต่ละแปลงทำการสุ่มตัวอย่างแบบเป็นระบบโดยเดินตามเส้นทแยงมุม ทุกๆ 10 ก้าว ตรวจโรคจุดละ 10 ต้น จำนวน 10 จุดต่อแปลง หรือ 10 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่แปลง

3. **วิธีการตรวจตรวจวินิจฉัยแบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis* ในแปลงปลูกข้าวโพด** จัดทำรูปภาพลักษณะอาการของโรคทุกระยะของพืชจัดทำเป็นคู่มือในการสำรวจมื่อออกสำรวจให้สังเกตจากลักษณะอาการของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือการสำรวจที่จัดทำไว้ บันทึกรายละเอียดข้อมูลของแปลง บันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป เก็บตัวอย่างห่อกระดาษและใส่ถุงนำกลับมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ

4. **การตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ** โดยการนำตัวอย่างที่เก็บมาหรือสุ่มใบข้าวโพดที่แสดงอาการคล้ายกับรูปภาพนำมาแยกเชื้อ *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis* โดยตัดใบข้าวโพดเป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาด 4 ตร.มม. ระหว่างรอยต่อของส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แต่ละชิ้นตัวอย่างนำมาล้างด้วยแอลกอฮอล์ 70% 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งแล้ว 3 ครั้ง หลังจาก surface sterilize แล้วนำมาบดในน้ำกลั่น ใช้ loop จุ่มในพืชที่บด นำมา streak บนจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารเฉพาะ semi selective medium CNS คัดเฉพาะโคโลนีที่สร้าง apricot orange pigment

4.1 การจำแนกแบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis* ตามลักษณะทางสรีรวิทยา สัณฐานวิทยา และคุณสมบัติทางชีวเคมี ตามวิธีของ Schaad *et al.* (2001)

4.2 การจำแนกแบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis* โดยใช้วิธี Polymerase chain reaction (PCR) ตามวิธีของ Pastrik and Rainey (1999)

การบันทึกข้อมูล

เก็บข้อมูล เก็บข้อมูลการสำรวจและการจำแนกในห้องปฏิบัติการที่ได้ในรูป data sheet เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ จัดทำรายงานผลการวิจัย

เวลาและสถานที่

ต.ค.58 – ก.ย.61 ที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจแหล่งปลูกข้าวโพด 5 แหล่งปลูก ตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2558- กันยายน 2559 จำนวน 50 แปลง ได้แก่ เชียงราย จำนวน 10 แปลง เชียงใหม่ จำนวน 10 แปลง แพร่ จำนวน 10 แปลง นครสวรรค์ จำนวน 10 แปลง นครราชสีมา จำนวน 10 แปลง จากการสำรวจไม่พบลักษณะอาการของโรคเหี่ยว (Goss' bacterial wilt) พบแต่ลักษณะอาการใบไหม้ เก็บตัวอย่างต้องสงสัยทั้งหมด 20 ตัวอย่าง นำมาตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ ผลการตรวจพบว่าตัวอย่างทั้งหมดไม่ใช่เชื้อแบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis*

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจแหล่งปลูกข้าวโพด 5 แหล่งปลูก ตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2558- กันยายน 2559 จำนวน 50 แปลง ได้แก่ เชียงราย จำนวน 10 แปลง เชียงใหม่ จำนวน 10 แปลง แพร่ จำนวน 10 แปลง นครสวรรค์ จำนวน 10 แปลง นครราชสีมา จำนวน 10 แปลง ยังไม่พบเชื้อแบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis*

เอกสารอ้างอิง

Biddle JA, McGee DC, Braun EJ. 1990. Seed transmission of *Clavibacter michiganense* subsp. *nebraskense* in corn. *Plant Disease* 74(11):908-911.

CAB International. 2007. Crop Protection Compendium 2007 Edition. (Computer Program).CAB International. Wallingford, UK.

Gross DC, Vidaver AK. 1979. A selective medium for isolation of *Corynebacterium nebraskense* from soil and plant parts. *Phytopathology* 69(1):82-87

Pastrik K-H and Rainey FA. 1999. Identification and differentiation of *Clavibacter michiganensis* subspecies by polymerase chain reaction-based techniques. *Journal of Phytopathology* 147: 687-693.

Schuster ML. 1975. Leaf freckles and wilt of corn incited by *Corynebacterium nebraskense* Schuster, Hoff, Mandel, Lazar, 1972. Research Bulletin Agricultural Experiment Station University of Nebraska. 1972, No. 270.

Smidt M, Vidaver AK. 1986. Population dynamics of *Clavibacter michiganense* subsp. *nebraskense* in field-grown dent corn and popcorn. *Plant Disease* 70(11):1031-1036

Zhu X, Reid LM, Woldemariam T, Tenuta A, LaChance P, Pouleur S. 2005. Survey of corn diseases and pests in Ontario and Quebec in 2004. *Canadian Plant Disease Survey* 85:31-34.

การศึกษาสถานภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูพืชกักกัน *Meloidogyne chitwoodi* และ *Meloidogyne fallax* ในประเทศไทย

Study on the Status of *Meloidogyne chitwoodi* and *Meloidogyne fallax* in Thailand

ไตรเดช ข่ายทอง[1/] ธิติยา สารพัฒน์[1/] รุ่งนภา ทองเครั่ง[1/] วานิช คำพานิช[2/]

[1/] กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/] กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Progress report

A survey on quarantine plant parasitic nematodes *Meloidogyne chitwoodi* and *M. fallax* in potato fields was carried out in 2016. Soil samples were collected from potato fields in Chiang Rai, Chiang Mai and Tak province. Root-knot nematodes were detected in 50 soil samples from the total of 72 samples. Tomato seedlings were planted into the soil to support root-knot nematodes reproduction in order to increase the population for subsequent study. DNA from second stage juveniles were amplified with 194/195 primers and a 720 bp product was obtained indicating the detection of tropical root-knot nematode species such as *M. incognita M. javanica* or *M. arenaria*. The perineal patterns were identified as *M. incognita* type.

Keywords : surveillance, root-knot nematode, distribution, phytosanitary measures

รายงานความก้าวหน้า

การสำรวจไส้เดือนฝอยศัตรูพืชกักกัน *Meloidogyne chitwoodi* และ *M. fallax* ในพื้นที่ปลูกมันฝรั่ง ดำเนินการในปี 2559 เก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกมันฝรั่ง จ. เชียงราย จ.เชียงใหม่ และ จ. ตาก รวม 72 ตัวอย่าง แยกไส้เดือนฝอยจากตัวอย่างดิน ตรวจนับไส้เดือนฝอยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบไส้เดือนฝอยรากปมในตัวอย่างดิน 50 ตัวอย่าง เพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยในตัวอย่างดินที่ตรวจพบไส้เดือนฝอยรากปม โดยปลูกมะเขือเทศในตัวอย่างดินที่ตรวจพบไส้เดือนฝอยรากปม เมื่อตรวจสอบดีเอ็นเอที่สกัดได้จากตัวอ่อนระยะที่สองด้วยคู่ไพรเมอร์ 194/195 ได้ผลผลิตปฏิกิริยาขนาด 720 คู่เบส ซึ่งบ่งชี้ว่าเป็นไส้เดือนฝอยกลุ่มtropical species เช่น *M. incognita M. javanica* หรือ *M. arenaria* เมื่อตรวจลักษณะริ้วรอยย่นส่วนก้นพบว่าเป็นลักษณะของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita*

รหัสการทดลอง 03-04-59-04-01-00-07-59

คำหลัก : การเฝ้าระวังศัตรูพืช ไส้เดือนฝอยรากปม การแพร่กระจาย มาตรการสุขอนามัยพืช

คำนำ

ไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne chitwoodi* Golden, O'Bannon, Santo & Finley (Columbia root-knot nematode) และ *Meloidogyne fallax* Karssen (False Columbia root-knot nematode) เป็นไส้เดือนฝอยที่เป็นไส้เดือนฝอยศัตรูพืชกักกันประเภท A2 ของ European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO) ซึ่งจัดเป็นศัตรูพืชกักกันที่พบในพื้นที่ สำหรับประเทศไทยไส้เดือนฝอยรากปม *M. chitwoodi* อยู่ในรายชื่อไส้เดือนฝอยศัตรูพืชกักกันเช่นเดียวกัน แต่ยังไม่มีรายงานการตรวจพบไส้เดือนฝอย *M. chitwoodi* และ *M. fallax* ในประเทศไทย ไส้เดือนฝอยรากปม *M. chitwoodi* และ *M. fallax* เป็นไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่เข้าทำลายพืชทั้งใบเลี้ยงคู่และใบเลี้ยงเดี่ยวหลายชนิด เช่น มันฝรั่ง แครอท มะเขือเทศ (Santo *et al.*, 1980; O'Bannon *et al.*, 1982; Brinkman *et al.*, 1996; Karssen, 2002) มีรายงานการพบ *M. chitwoodi* ครั้งแรกในปี ค.ศ. 1980 ในแถบ Pacific Northwest ของสหรัฐอเมริกา ปัจจุบันมีรายงานการพบไส้เดือนฝอยชนิดนี้ในประเทศ อาเจนตินา เบลเยี่ยม เยอรมัน เนเธอร์แลนด์ โปรตุเกส สหรัฐอเมริกา เม็กซิโก และแอฟริกาใต้ สำหรับไส้เดือนฝอย *M. fallax* มีรายงานการพบครั้งแรกในปี 1992 ในประเทศเนเธอร์แลนด์ ซึ่งในระยะแรกคิดว่าเป็น race ใหม่ของ *M. chitwoodi* (Karssen, 1994; van Meggelen *et al.*, 1994) ต่อมาพบว่ามีความแตกต่างกันทางสัณฐานและ isozyme patterns จึงได้มีการจัดจำแนกเป็นชนิดใหม่คือ *M. fallax* (Karssen, 1996) หลังจากการพบครั้งแรกก็มีรายงานการพบ *M. fallax* อีกหลายแห่งในแหล่งปลูกมันฝรั่งแถบตะวันออกเฉียงใต้ของประเทศเนเธอร์แลนด์ (Karssen, 1996) ใกล้กับชายแดนของประเทศเยอรมันและเบลเยี่ยม และมีรายงานการพบในประเทศฝรั่งเศส (Daher *et al.*, 1996) นอกจากนั้นยังพบในประเทศอื่นๆ เช่น นิวซีแลนด์ ออสเตรเลีย และแอฟริกาใต้ (Marshall *et al.*, 2001; Nobbs *et al.*, 2001; Fourie *et al.*, 2001) ไส้เดือนฝอยรากปม *M. chitwoodi* และ *M. fallax* เข้าทำลายพืชเช่นเดียวกับไส้เดือนฝอยรากปมชนิดอื่นๆ สามารถชักนำเซลรากพืชให้สร้าง feeding site และทำให้พืชเกิดปุ่มปม เมื่อระบบรากถูกทำลายพืชจะแสดงอาการอ่อนแอ แคระแกรน ใบซีด จากการได้รับน้ำและแร่ธาตุไม่เพียงพอ ไส้เดือนฝอยทั้ง 2 ชนิดทำความเสียหายต่อรากและส่วนใต้ดินของพืช เช่น มันฝรั่ง แครอท ทำให้เกิดความเสียหายด้านคุณภาพ ความเสียหายเชิงปริมาณยังไม่ชัดเจน ระดับความเสียหายของหัวมันฝรั่ง (Van Riel, 1993) และแครอท (Wesemael & Moens, 2008) ขึ้นกับชนิดของพันธุ์ ความหนาแน่นของประชากรไส้เดือนฝอยในดิน อุณหภูมิ ฤดูปลูก และชนิดดิน จำนวนรุ่น (generation) ของไส้เดือนฝอยรากปมต่อฤดูปลูกก็เป็นส่วนสำคัญต่อระดับความเสียหาย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์และวิธีการ

สำรวจพื้นที่ปลูกมันฝรั่งแบบเจาะจง เพื่อตรวจหาไส้เดือนฝอยรากปม โดยดูลักษณะการถูกเข้าทำลายจากไส้เดือนฝอยรากปมของมันฝรั่ง หรือพืชชนิดอื่นๆ ในพื้นที่ปลูกมันฝรั่ง การสำรวจแบบเจาะจงเป็นการสำรวจเบื้องต้น เพื่อตรวจหาพืชที่แสดงอาการปมที่เกิดจากการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยรากปม เพื่อให้ได้ข้อมูลเบื้องต้นว่าในพื้นที่มีไส้เดือนฝอยรากปมหรือไม่

จัดทำคู่มือการสำรวจ และแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจเช่น ชื่อที่อยู่ที่ตั้งของแปลง วัน และเวลา สภาพดินฟ้าอากาศ พิกัดทางภูมิศาสตร์

<u>การเก็บตัวอย่างดิน และหัวมันฝรั่ง</u>

เก็บตัวอย่างดินโดยแบ่งพื้นที่เป็นแปลงย่อย (grid) ขนาด 10 x 10 ตารางเมตร สุ่มเก็บตัวอย่างดินโดยเดินเก็บในลักษณะสลับฟันปลาให้ทั่วพื้นที่ เก็บดินที่ความลึก 25 เซนติเมตร ด้วย auger ขนาด 1 นิ้ว ให้ได้ตัวอย่างดินประมาณ 4 ลิตรต่อพื้นที่ 10,000 ตารางเมตร คลุกเคล้าตัวอย่างดินให้ทั่ว แล้วแบ่งตัวอย่างดิน 200 มิลลิลิตร เพื่อตรวจหาไส้เดือนฝอยรากปมและเก็บตัวอย่างหัวมันฝรั่ง 200 หัวต่อแปลง

<u>การตรวจไส้เดือนฝอยจากตัวอย่างดินและหัวมันฝรั่ง</u>

แยกไส้เดือนฝอยออกจากตัวอย่างดินโดยวิธี Decanting and Sieving with Bearmann Tray และแยกไส้เดือนฝอยออกจากหัวมันฝรั่งตามวิธีใน EPPO Standard PM 3/69

แยกไส้เดือนฝอยจากตัวอย่างดินโดยคลุกเคล้าตัวอย่างดินให้ทั่ว ชั่งตัวอย่างดินหนัก 250 กรัม แยกไส้เดือนฝอยออกจากตัวอย่างดินโดยวิธีการกวนตัวอย่างดินในน้ำ 2 ลิตรและกรองน้ำส่วนบนผ่านตะแกรงโลหะที่มีขนาดช่อง 850 ไมโครเมตร วางบนตะแกรงที่มีขนาดช่อง 38 ไมโครเมตร ล้างตัวอย่างดินที่ค้างอยู่บนตะแกรงอันล่าง และนำตัวอย่างใส่ลงบนกระดาษกรอง ที่วางอยู่บนตะแกรงไนลอน วางลงในจานรองที่มีน้ำสะอาด (Decanting and Sieving with Baermann's Tray Technique) ตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงชนิดหัวกลับ

ตรวจตัวอย่างหัวมันฝรั่งโดยการบ่มหัวมันฝรั่งที่อุณหภูมิประมาณ 18°C ให้ได้อุณหภูมิรวมอย่างน้อย 2,150 day-degrees ซึ่งไส้เดือนฝอยที่ฝังตัวอยู่ในหัวมันฝรั่งจะสามารถเจริญเติบโตได้จนกระทั่งสามารถสังเกตอาการบนหัวมันฝรั่งได้ด้วยสายตา หากหัวมันฝรั่งมีการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอย หัวมันฝรั่งที่มีการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยรากปม บริเวณผิวของหัวมันฝรั่งจะมีลักษณะเป็นตุ่มหรือปุ่มปมนูนขึ้น ทำให้มันฝรั่งมีผิวไม่เรียบ แต่บางครั้งอาจไม่พบอาการที่ผิวหากไส้เดือนฝอยฝังตัวอยู่ลึก เมื่อผ่านหัวมันฝรั่งออกดูจะพบลักษณะแผลฉ่ำน้ำ และอาจพบตัวเต็มวัยเพศเมียและกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยรากปมฝังตัวอยู่ ซึ่งสามารถแยกตัวเต็มวัยเพศเมียของไส้เดือนฝอยมาตรวจสอบ โดยการเขี่ยตัวไส้เดือนฝอยจากเนื้อเยื่อมันฝรั่งโดยตรงหรือการย่อยเนื้อเยื่อมันฝรั่งด้วยเอ็นไซม์ cellulase และ pectinase

<u>วิธีการตรวจ และจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยรากปม M. chitwoodi และ M. fallax ปฏิบัติตามวิธีการใน EPPO Standard PM 7/41</u>

ในกรณีที่ตรวจพบอาการรากปม หรือหัวหูด จะสามารถได้ตัวไส้เดือนฝอยรากปมทุกระยะโดยเฉพาะตัวเต็มวัยเพศผู้ ตัวเต็มวัยเพศเมีย และตัวอ่อนระยะที่สอง ซึ่งสามารถจำแนกชนิดจาก

ลักษณะทางสัณฐาน โดยเปรียบเทียบกับลักษณะของ *M. chitwoodi* หรือ *M. fallax* ร่วมกับการจำแนกโดยวิธี PCR โดยใช้ไพรเมอร์จำเพาะต่อ *M. chitwoodi* หรือ *M. fallax* ซึ่งได้จาก sequence-characterized amplified regions (SCARs)

การตรวจสอบชนิดไส้เดือนฝอยรากปมด้วยวิธี PCR

ตรวจสอบชนิดไส้เดือนฝอยรากปมด้วยวิธี PCR โดยใช้แนวทางการจำแนกชนิดโดยใช้อณูชีววิทยา (molecular diagnostic key) ซึ่งพัฒนาโดย Adam *et al.* (2007)

สกัดดีเอ็นเอโดยใช้วิธีการตาม Schizas *et al.,* 1997 ร่วมกับคำแนะนำของ GeneReleaser® (BioVentures) ที่แนบมากับผลิตภัณฑ์ เขี่ยไส้เดือนฝอย 1 ตัว ใส่ลงบนหยด PCR Buffer II (500 mM KCl, 100 mM Tris-HCl, pH 8.3) 20 ไมโครลิตร บนสไลด์แก้ว ตัดตัวไส้เดือนฝอยออกเป็น 2-3 ท่อน โดยใช่ส่วนปลายของ pipette tip ดูดสารละลายทั้งหมดใส่ลงในหลอด microcentrifuge ขนาด 500 ไมโครลิตร นำหลอดแช่ในน้ำที่อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 10 นาที เติม proteinase K ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 2 ไมโครลิตร ลงในหลอดและบ่มที่ 55°C ใน water bath เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นนำหลอดใส่ใน heating block ที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 5 นาทีเพื่อหยุดการทำงานของ proteinase K ใส่ GeneReleaser® 20 ไมโครลิตรลงในหลอด นำหลอดใส่ในเตาไมโครเวฟ เป็นเวลา 6 นาที ถ้าเตาไมโครเวฟเป็นชนิด 750 วัตต์ (สามารถปรับเวลาตามกำลังไฟของเตาไมโครเวฟให้ได้ 4,500 วัตต์-นาที ซึ่งเป็นช่วงที่เหมาะสม) ตรวจสอบชนิดไส้เดือนฝอยรากปมโดยใช้ไพรเมอร์ และสภาวะปฏิกิริยา PCR ตาม Adam et al. (2007) (ภาคผนวก)

- การบันทึกข้อมูล

บันทึกที่ตั้งของแปลง วัน และเวลา สภาพดินฟ้าอากาศ พิกัดทางภูมิศาสตร์ บันทึกข้อมูลการตรวจไส้เดือนฝอยสกุลต่างๆ จากตัวอย่างดิน จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบไส้เดือนฝอยรากปม บันทึกผลการตรวจสอบชนิดไส้เดือนฝอยรากปมด้วยวิธี PCR

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2558 สิ้นสุด กันยายน 2559

กลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

เก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกมันฝรั่ง จ. เชียงราย จ.เชียงใหม่ และ จ. ตาก รวม 72 ตัวอย่าง แยกไส้เดือนฝอยจากตัวอย่างดิน ตรวจนับไส้เดือนฝอยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบไส้เดือนฝอยรากปมในตัวอย่างดิน 50 ตัวอย่าง ซึ่งมีปริมาณตัวอ่อนระยะที่สองในดินแตกต่างกัน (ตารางที่ 1) ซึ่งส่วนใหญ่มีปริมาณตัวอ่อนระยะที่สองในดินไม่มาก เพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยในตัวอย่างดินที่ตรวจพบไส้เดือนฝอยรากปมโดย ปลูกมะเขือเทศในตัวอย่างดินที่ตรวจพบไส้เดือนฝอยรากปม นำตัวเต็มวัยเพศเมียมาศึกษาลักษณะริ้วรอยย่นส่วนก้น พบว่าส่วนใหญ่มีลักษณะริ้วรอยย่นของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* ทดสอบคู่ไพรเมอร์ 194/195 ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของไส้เดือนฝอยรากปม กับตัวอย่างไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ที่เลี้ยงไว้ พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้

จึงใช้คู่ไพรเมอร์นี้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ตัวอย่างไส้เดือนฝอยรากปมที่เก็บจากแปลงมันฝรั่ง โดยนำกลุ่มไข่ของตัวเต็มวัยเพศเมียที่ได้ศึกษาลักษณะริ้วรอยย่นส่วนก้นแล้ว มาแช่ในน้ำสะอาดเพื่อให้ตัวอ่อนระยะที่สองฟักออกมาจากไข่ นำตัวอ่อนระยะที่สองที่ได้ไปสกัดดีเอ็นเอ ตรวจสอบดีเอ็นเอด้วยคู่ไพรเมอร์ 194/195 พบว่าตัวอย่างส่วนใหญ่ได้แถบดีเอ็นเอขนาด 720 คู่เบส ซึ่งบอกได้ว่าเป็น tropical species แต่หากเป็นไส้เดือนฝอยรากปม *M. chitwoodi* หรือ *M. fallax* จะได้แถบดีเอ็นเอขนาด 1600-1700 คู่เบส อย่างไรก็ตามพบบางตัวอย่างที่ให้แถบดีเอ็นเอขนาดใหญ่กว่า 720 คู่เบส แต่ไม่ถึง 1600-1700 คู่เบส ซึ่งต้องทำการศึกษาในลำดับต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ในปี 2559 เก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกมันฝรั่งรวม 72 แปลง ตรวจพบไส้เดือนฝอยรากปม 50 แปลง ตรวจสอบด้วยคู่ไพรเมอร์ 194/195 พบว่าเป็นไส้เดือนฝอยรากปมกลุ่ม tropical species เมื่อตรวจลักษณะริ้วรอยย่นส่วนก้นมีลักษณะของ *M. incognita*

เอกสารอ้างอิง

Adam, M. A. M., M.S., Phillips, and V.C. Blok. 2007. Molecular diagnostic key for identification for single juveniles of seven common and economically important species of root-knot nematode (*Meloidogyne* sp.). *Journal of Plant Pathology* 56: 190–197.

Brinkman, H., J.M. Goossens and H.R. Van Riel. 1996. Comparative host suitability of selected crop plants to *Meloidogyne chitwoodi* and *M. fallax*. Anzeiger für Schädlingskunde. *Pflanzenschutz Umweltschutz* 96: 127–129.

Daher, S., S. Gillet, D. Mugniéry and H. Marzin. 1996. Discovery in France and characteristics of the Dutch variant of *Meloidogyne chitwoodi*. Proceedings of the Third International Nematology Congress, p. 188. (Ed. Plant Protection Service), Gosier (GP).

Fourie, H., C. Zijlstra and A.H. McDonald. 2001. Identification of root-knot nematode species occurring in South Africa using the SCAR-PCR technique. *Nematology* 3: 675 – 689.

Karssen, G. 1994. The use of isozyme phenotypes for the identification of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). pp. 85–88. *In: Annual Report 1992 Diagnostic Centre*. Plant Protection Service, Wageningen (NL).

Karssen, G. 1996. Description of *Meloidogyne fallax* n. sp., a root-knot nematode from the Netherlands. *Fundamental and Applied Nematology* 19: 593–599.

Karssen, G. 2002. The Plant-Parasitic Nematode Genus *Meloidogyne* in Europe. Brill Leiden, Köln (DE).

Marshall, J.W., C. Zijlstra, and K.W.L. Knight. 2001. First record of *Meloidogyne fallax* in new Zealand. *Australasian Plant Pathology* 30: 283–284.

Nobbs, J.M., Q. Liu, D. Hartley, Z. Handoo, V.M. Williamson, and S. Taylor. 2001. First record of *Meloidogyne fallax* in Australia. *Australasian Plant Pathology* 30: 373.

O'Bannon, J.H., G.S. Santo, and A.P. Nyczepir. 1982. Host range of the Columbia root-knot nematode. *Plant Disease* 66: 1045 –1048.

Santo, G.S., J.H. O'Bannon, A.M. Finley, and A.M. Golden. 1980. Occurrence and host range of a new root-knot nematode (*Meloidogyne chitwoodi*) in the Pacific Northwest. *Plant Disease* 64: 951–952.

Van Riel, H.R. 1993. Comparison of potato cultivars in relation to their level of external symptoms on tubers caused by *Meloidogyne chitwoodi*. Mededelingen Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste

van Meggelen, J.C., G. Karssen, G.J.W. Janssen, B. Verkerk-Bakker, and Janssen R. 1994. A new race of *Meloidogyne chitwoodi*. *Fundamental and Applied Nematology* 17: 93–96.

Wesemael, W.M.L., and M. Moens. 2008. Quality damage on carrots (*Daucus carota* L.) caused by the root-knot nematode *Meloidogyne chitwoodi*. *Nematology* 10: 261–270.

Table 1 Number of soil sample collected in 2016

Total soil samples	Root-knot nematode detected samples	Number of soil samples classified by root-knot nematodes number in 250 g soil				
		1 – 10	11 – 50	51 – 150	151 - 250	> 250
72	50	25	16	4	1	4

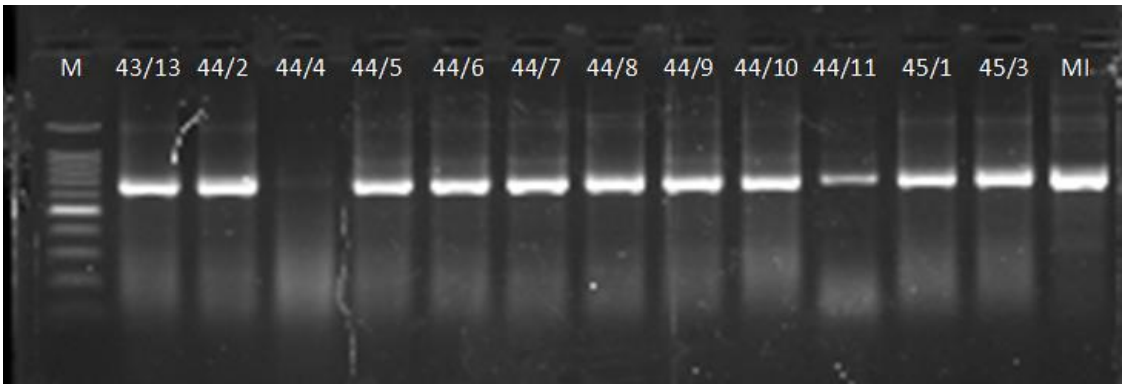


Figure 1 Root-knot nematodes DNA amplified with 194/195 primers

ภาคผนวก

Root-knot nematodes molecular diagnostic key (Adam *et al*., 2007)

1. Amplify the amplifly the IGS between 5S and 18S ribosomal genes using 194/195 primers			
a)	720-bp product	Tropical species.....	go to (2)
b)	780-bp product	*M. mayaguensis* (now *M. enterolobii*)	
c)	700-bp product	*M. hapla*.....	go to (3)
d)	1,700- to 1,800-bp products	*M. fallax and M. chitwoodi*.....	go to (3)
e)	Other size, clone and sequence		
2. Tropical RKN specific SCAR primers			
2.1 Fjav and Rjav primers			
a)	720-bp product	*M. javanica*	
b)	No product.....		go to (2.2)
2.2 MI-F and MI-R primers			
a)	999-bp product	*M. incognita*	
b)	No product.....		go to (2.3)
2.3 Far and Rar primers			
a)	420-bp product	*M. arenaria*	
3. JMV primers			
a)	540-bp product	*M. chitwoodi*	
b)	670-bp product	*M. fallax*	
c)	440-bp product	*M. hapla*	

Primer sequences, specificity and sources (Adam *et al*., 2007)

Code	Primer sequence 5'-3'	Specificity and source
194	TTAACTTGCCAGATCGGACG	5S-18S ribosome region
195	TCTAATGAGCCGTACGC	Blok et al. (1997)
Inc-K14-F	GGGATGTGTAAATGCTCCTG	*M. incognita*-specific SCAR
Inc-K14-R	CCCGCTACACCCTCAACTTC	Randig et al. (2002)
Fjav	GGTGCGCGATTGAACTGAGC	*M. javanica*-specific SCAR
Rjav	CAGGCCCTTCAGTGGAACTATAC	Zijlstra et al. (2000)
Far	TCGGCGATAGAGGTAAATGAC	*M. arenaria*-specific SCAR
Rar	TCGGCGATAGACACTACAAACT	Zijlstra et al. (2000)
JMV1	GGATGGCGTGCTTTCAAC	*M. hapla*-, *M. chitwoodi*- and
JMV2	TTTCCCCTTATGATGTTTACCC	*M. fallax*-specific IGS-SCAR
JMV hapla	AAAAATCCCCTCGAAAAATCCACC	Wishart et al. (2002)

PCR amplification profiles for different primers (Adam *et al*., 2007)

		45 cycles			
		50°C (194/195)			
		61°C (Far/Rar)			
		64°C (Fjav/Rjav)			
		64°C (Inc-K14-F/Inc-K14-R)			
94°C	94°C	50°C (JMV primers)			
2 mins	30 secs		72°C		
			90 secs (194/195)	72°C	
		30 secs	90 secs (JMV primers)	7 mins	4°C
			1 min for remaining primers		∞

การศึกษาสถานภาพของวัชพืช *Polygonum aviculare* L. และ *Polygonum convolvulus* L. ในแปลงกะหล่ำปลี และกะหล่ำดอก

Pest Status of Common Knotweed (*Polygonum aviculare* L.) and Black Bindweed (*Polygonum convolvulus* L.) in Cabbage and Cauliflower

ศิริพร ซึงสนธิพร[1/] ชลธิชา รักใคร่[2/] ธัญชนก จงรักไทย[1/] อัณศยา พรมมา[1/]

[1/]กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การสำรวจวัชพืชในแปลงกะหล่ำปลี และกะหล่ำดอก เพื่อศึกษาสถานภาพของศัตรูพืชกักกัน *Polygonum aviculare* L. และ *Polygonum convolvulus* L. โดยการสำรวจแบบสืบพบ และมีวัชพืชทั้งสองเป็นพืชเป้าหมาย การสำรวจทั้งสิ้น 14 แปลง ในพื้นที่ภาคเหนือ ภาคกลาง และตะวันออกเฉียงเหนือ ไม่พบวัชพืชทั้งสองชนิด พบผักไทรริน (*Polygonum convolvulus* L.) ซึ่งเป็นวัชพืชที่พบทั่วไปในพื้นที่ในภาคเหนือ

คำหลัก : วัชพืชกักกัน สถานภาพวัชพืชกักกัน *Polygonum aviculare* , *Polygonum convolvulus*

รหัสการทดลอง 03-04-59-04-01-00-08-59

คำนำ

ประเทศไทยเป็นแหล่งผลิตเมล็ดพันธุ์ผัก ทั้งเพื่อการปรับปรุงพันธุ์และเพื่อขยายพันธุ์ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อบริโภคในประเทศ และเพื่อการส่งออก อย่างไรก็ตามยังคงต้องการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ผักอีกจำนวนมากโดยเฉพาะอย่างยิ่งในพืชวงศ์ Brassicaceae เช่น กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก ที่ประเทศไทยไม่สามารถผลิตเมล็ดพันธุ์เองได้ เนื่องจากสภาพดินฟ้าอากาศไม่เหมาะสมต่อการติดเมล็ด ต้องนำเข้าเท่านั้น สมาชิกวงศ์พืชวงศ์ผักกาด หรือ Brassicaceae ที่รู้จักกันดี ได้แก่ *Brassica oleracea* (กะหล่ำ) *Brassica napus* (เรปสีด) *Raphanus sativus* (ผักกาดหัว) *Armoracia rusticana* (ฮอร์สเรดิช) *Arabidopsis thaliana* ซึ่งเป็นพืชที่มักถูกใช้เป็นพืชทดสอบในการศึกษาทางด้านชีวโมเลกุล เป็นต้น ประเทศไทยนำเข้าเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลี ในปี 2555 จำนวน 20.90 ตัน คิดเป็นมูลค่า 61.76 ล้านบาท และกะหล่ำดอก จำนวน 8.48 ตัน คิดเป็นมูลค่า 4.37 ล้านบาท (ที่มา ฝ่ายพันธุ์พืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร) จากการที่ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีมาจากนิวซีแลนด์จำนวนมากนั้น ทำให้มีการเสี่ยงในการติดมาของศัตรูพืชกักกันที่สำคัญที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์ได้ โดยเฉพาะวัชพืช *Polygonum aviculare* L., และ *Polygonum convolvulus* L. ซึ่งถูกกำหนดเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย จัดเป็นสิ่งต้องห้าม ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชและพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2550

วัชพืชดังกล่าวมีรายงานการแพร่ระบาดในนิวซีแลนด์ เมล็ดมีขนาดเล็กมากอาจติดปะปนเข้ามากับเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีได้ จึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการสำรวจสถานภาพของวัชพืชสองชนิดดังกล่าวในพื้นที่ผลิตกะหล่ำปลีของประเทศไทยอย่างเป็นระบบ เพื่อให้ได้ข้อมูลในการการสนับสนุนการออกประกาศเรื่องการปลอดศัตรูพืช ตลอดจนที่ดำเนินการโดย NPPO เป็นกระบวนการช่วยตรวจหาศัตรูพืชชนิดใหม่ได้ทันเวลา การให้การรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืช เป็นต้น การสำรวจ ติดตามและตรวจสอบศัตรูพืชเป็นงานพื้นฐานที่มีความจำเป็นสำหรับใช้ในการดำเนินการด้านอื่นๆ อีก เช่น การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การกำหนดพื้นที่ปลอดศัตรูพืช การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชและการรายงานศัตรูพืช เป็นต้น ซึ่งแนวทางการดำเนินงานจะสอดคล้องกับ ISPMs (International Standard for Phytosanitary Measures) ฉบับที่ 6 (Guidelines for Surveillance) และหากสามารถตรวจพบ (Early detection) และจัดการก่อนที่กลายเป็นวัชพืชร้ายแรง จะเป็นการป้องกันการเกิดวัชพืชร้ายแรงจากพืชต่างถิ่นที่นำเข้ามาได้

Polygonum aviculare L. (Fig.1) มีชื่อสามัญหลายชื่อ เช่น common knotweed, prostrate knotweed, birdweed, pigweed และ lowgrass เป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดในทวีปยุโรป ปัจจุบันพบแพร่กระจายไปเกือบทุกประเทศในเขตอบอุ่น (CAB International, 2015) เป็นวัชพืชประเภทใบกว้าง อายุฤดูเดียว-อายุข้ามปี ที่ขยายพันธุ์โดยเมล็ด สามารถสร้างเมล็ดได้ 125-200 เมล็ด/ต้น เมื่ออยู่ในสภาพที่มีการแข่งขันมาก โดยเฉลี่ยสามารถผลิตได้ 4,600 เมล็ด/ต้น (Holm *et al.* 1997) แต่มี

รายงานว่าต้นใหญ่สามารถผลิตเมล็ดได้ถึง 6,380 เมล็ด/ต้น (Stevens, 1932) เมล็ดมีการพักตัวเนื่องจากมีเปลือกหุ้มเมล็ดที่แข็งมาก เมล็ดสามารถงอกได้ในที่อุณหภูมิ 5-25 องศาเซลเซียส เมล็ดงอกได้เล็กน้อยในที่มืด อัตราการงอกสูงขึ้นเมื่อได้รับแสง เมล็ดที่งอกส่วนใหญ่เป็นเมล็ดที่อยู่ในดินชั้นบน หรือหน้าดิน (Chepil 1946, Baskin and Baskin 1990) เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำลงเหลือเพียง 10เปอร์เซ็นต์เมื่อผ่านไป 2 ปี แต่อย่างไรก็ตามยังพบว่าเมล็ดที่อยู่ในดินลึก ที่ไม่ถูกรบกวน นานถึง 60 ปี ยังมีชีวิตอยู่ (Campagna and Rapparini, 1997; Holm *et al*., 1997). *P. aviculare* สามารถเจริญเติบโตได้ดีในดินแทบทุกชนิด เจริญปกคลุมผิวดิน ทำให้พืชพรรณท้องถิ่นไม่สามารถเจริญเติบโตได้ในพื้นที่นั้น เนื่องจากรากและใบมีสารอัลลิโลเคมิค (Alsaadawi and Rice 1982, Kloot and Boyce 1982) สารอัลลิโลเคมิคที่มีใน *Polygonum aviculare* เป็นกลุ่มทีละลายน้ำได้ รวมถึงกรดไขมันและฟีนอลิคไกลโคไซด์ สามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชปลูก เช่น ผักกาดหอม ข้าว อัลฟาฟ่า และวัชพืชหลายชนิด รวมถึงหญ้าแพรก (*Cynodon dactylon*) และ *Chenopodium album* (CABI, 2015)

Polygonum convolvulus L. (Fig.2) มีชื่อสามัญหลายชื่อ เช่น black bindweed, climbing bindweed หรือ wild buckwheat เป็นวัชพืชประเภทใบกว้าง เถาเลื้อย อายุฤดูเดียว แตกแขนงได้ดีตั้งแต่โคนต้น เจริญแผ่บนดินและเลื้อยพันต้นพืชอื่น เป็นพืชที่มิถิ่นกำเนิดในยุโรปเอเชีย เป็นวัชพืชที่สามารถพบได้ทุกที่ที่มีการปลูกพืชในอเมริกาและยุโรป พืชชนิดนี้พบทั่วไปในอเมริกาใต้ ในแอฟริกาพบในโมรอคโคและตูนิเซีย ส่วนในทวีปเอเชีย พบตั้งแต่ญี่ปุ่นไปจนถึงอิหร่าน และลงมาอินเดีย จนถึงอินโดเนเซีย (Holm *et al*., 1991). ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดเท่านั้น แต่ละต้นสามารถผลิตได้มากถึง 30,00 เมล็ด (Stevens 1932, Forsberg and Best 1964) เมล็ดมีเปลือกแข็งทำให้มีการพักตัวหลายปี (Chippendale and Milton 1934, Roberts and Feast 1973, Conn and Deck 1995). เมล็ดงอกจากหน้าดินถึงลึกประมาณ 5 เซนติเมตรจากผิวดิน แต่ Forsberg and Best (1964) รายงานว่าเมล็ดที่อยู่ลึกถึง 19 เซนติเมตร ยังสามารถงอกได้ เมล็ดงอกได้ในช่วงอุณหภูมิ 2-30 องศาเซลเซียส แต่งอกได้ดีที่อุณหภูมิ 5-15 องศาเซลเซียส สามารถเจริญเติบโตได้ในดินหลายชนิด s (Hume et al. 1983) แต่เจริญเติบโตได้ไม่ดีภายใต้ร่มเงา (Haman and Peeper 1983) *Polygonum convolvulus* L. สามารถเจริญเติบโตปกคลุมพื้นที่และแพร่กระจายได้เร็วแล้ว เมล็ดและใบเป็นอาหารของนก (Wilson *et al*., 1999) ยังเป็นแหล่งอาศัยของเชื้อรา ไวรัส และไส้เดือนฝอย (Townshend and Davidson 1962, Cooper and Harrison 1973, Royer and Dickinson 1999)

ดังนั้นการทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสถานภาพของศัตรูพืชกักกัน *P. aviculare* L. และ *P. convolvulus* L. ในพื้นที่ปลูกกะหล่ำปลี และกะหล่ำดอกในประเทศไทย เพื่อใช้สนับสนุนการออกประกาศการปลอดศัตรูพืช โดยหน่วยงานองค์กรอารักขาพืชแห่งชาติ (NPPO) และเป็นข้อมูลในการเจรจาการค้า เพื่อประโยชน์ต่อการส่งออกและนำเข้าเมล็ดพันธุ์ผักในอนาคต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1) กล้องถ่ายรูปแบบดิจิตอล
2) กรรไกร มีด เสียม หรือพลั่ว สำหรับตัด/ขุด ตัวอย่างพืช
3) แผงอัดตัวอย่างพรรณไม้พร้อมกระดาษฟูก ฟองน้ำและหนังสือพิมพ์ พร้อมเชือกไส้ตะเกียงและป้ายชื่อสำหรับผูกตัวอย่างพืช
4) กระดาษติดตัวอย่างพืช
5) ขวดแก้ว และน้ำยาสำหรับดองตัวอย่างพืช (หากจำเป็น)
6) น้ำยาชุบตัวอย่างวัชพืช ประกอบด้วย ฟีนอล เมอคิวริคคลอไรด์ เอทธิลอัลกอฮอล์
7) เครื่องวัดพิกัดภูมิศาสตร์ (GPS)
8) สมุดบันทึก

วิธีการ

การเตรียมการสำรวจ ประกอบด้วยขั้นตอนต่างๆ ได้แก่ การศึกษารายละเอียดต่างๆ เกี่ยวกับพืชเป้าหมาย คือ *P. aviculare* L. และ *P. convolvulus* L. และการจัดทำคู่มือเกี่ยวกับพืชเป้าหมายทั้งสอง ซึ่งประกอบด้วยรูปภาพ ของต้นอ่อน ลักษณะใบ ช่อดอก และทรงต้น เพื่อใช้การสำรวจ และการสอบถามในพื้นที่สำรวจ

การสำรวจและเก็บตัวอย่าง พื้นที่เป้าหมายในการสำรวจคือแหล่งปลูกกะหล่ำปลี และกะหล่ำดอก เช่น จังหวัดเชียงใหม่ น่าน แม่ฮ่องสอน เชียงราย มหาสารคาม ตาก ลำพูน เพชรบูรณ์ เพชรบุรี เป็นต้น ดำเนินการสำรวจ เก็บตัวอย่าง แบบเฉพาะเจาะจง โดยการสำรวจแบบสืบพบ (Detection survey) โดยเดินสำรวจเป็นแนวเส้นตรง อย่างน้อย 3 แนว ตั้งฉากกับความยาวแปลง โดยสำรวจระหว่างแถวและบริเวณขอบแปลงกะหล่ำปลี / กะหล่ำดอก

การตรวจสอบวัชพืชเป้าหมาย *P. aviculare* L. และ *P. convolvulus* L. เมื่อพบพืชที่ไม่สามารถระบุชนิดได้ และมีลักษณะคล้ายพืชในสกุล *Polygonum* L. เก็บตัวอย่างสด นำมาปลูกในเรือนทดลองของกลุ่มวิจัยวัชพืช ศึกษารายละเอียดต่างๆ ของพืช แต่หากพืชนั้นมีดอก และลักษณะอื่นครบถ้วนที่จะสามารถใช้ตรวจสอบชนิดได้ เก็บตัวอย่างเพื่อจัดทำตัวอย่างแห้ง เพื่อพิสูจน์ว่าใช่พืชเป้าหมายหรือไม่ โดยนำลักษณะพืชที่ได้มาศึกษาเปรียบเทียบกับรูปภาพ จากฐานข้อมูลที่เชื่อถือได้ เช่น Weeds of Australia (keyserver.lucidcentral.org/), e-flora (efloras.org), Plantwise Knowledge Bank, CAB International, weed identification guide of Oregon State University, USDA Plant Database เป็นต้น

การบันทึกข้อมูล ถ่ายภาพสภาพแปลง และชนิดวัชพืชที่พบ บันทึกข้อมูลในรูปของ data sheet เพื่อใช้ในการวิเคราะห์สถานภาพศัตรูพืชทางสถิติ จัดทำรายงานผลการวิจัย

เวลาและสถานที่

การศึกษาในระยะเวลา 1 ปี (2559) ได้สำรวจในพื้นที่แปลงเกษตรกร ในแหล่งปลูกกะหล่ำปลี และกะหล่ำดอก ในภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคกลาง และศึกษาเพิ่มเติมที่กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การสำรวจแปลงกะหล่ำปลี ในภาคเหนือ ในจังหวัดเชียงใหม่ แม่ฮ่องสอน ตาก และลำพูน จำนวน 10 แปลง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 2 แปลง และภาคกลาง จังหวัดเพชรบุรี จำนวน 2 แปลง วัชพืชที่พบส่วนใหญ่เป็นวัชพืชที่พบทั่วไป (Table 1) ได้ตัวอย่างพืชแห้งทั้งสิ้น 320 ตัวอย่าง ยังไม่พบ *P. aviculare* L. และ *P. convolvulus* L. แต่พบวัชพืชที่มีลักษณะใกล้เคียงกับ *P. aviculare* L. คือ ผักไทรริน *Polygonum plebeium* R. Br. (Fig.3)

เอกสารอ้างอิง

Alsaadawi, I.S. and E.L. Rice. 1982. Allelopathic effects of Polygonum aviculare L. I. Vegetational patterning. *Journal of Chemical Ecology 8(7)*: 993-1009.

Baskin, J.M. and C.C. Baskin. 1990. The role of light and alternating temperatures on germination of *Polygonum aviculare* seeds exhumed on various dates. *Weed Research 30*: 397-402

CAB International. 2015. *Datasheet report for Polygonum aviculare (prostrate knotweed).* (Online) Available. http://www.cabi.org/cpc/datasheetreport?Dsid=42685 (10 Jun. 2015).

Campagna G and G. Rapparini. 1997. *Polygonum aviculare* L. (code: POLAV). *Informatore Agrario,* 53(1):60.

Chepil, W.S. 1946. Germination of weed seeds. I. Longevity, periodicity of germination, and vitality of seeds in cultivated soil. *Scientific agriculture 26*: 307-346.

Chippindale, H.G. and W.E.J. Milton. 1934. On the viable seeds present in the soil beneath pasture. *The Journal of Ecology 22(2)*: 508-531.

Conn, J.S. and R.E. Deck. 1995. Seed viability and dormancy of 17 weed species after 9.7 years of burial in Alaska. *Weed Science 43*: 583-585

Forsberg, D.E. and K.F. Best. 1964. The emergence and plant development of wild buckwheat (Polygonum convolvulus). *Canadian Journal of Plant Science 44*: 100-103.

Haman, C.D. and T.F. Peeper. 1983. The effect of shade on wild buckwheat. Proceedings, *Southern Weed Science Society*. P. 348

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

Holm LG, Pancho JV, Herberger JP, Plucknett DL, 1991. *A Geographic Atlas of World Weeds*. Malabar, Florida, USA: Krieger Publishing Company.

Holm, L., J. Doll, E. Holm, J. Pancho, and J. Herberger. 1997. *World weeds; natural histories and distribution*. John Wiley & Sons, Inc., New York, 1129pp

Hume, L., J. Martinez and K. Best. 1983. The biology of Canadian weeds. 60. Polygonum convolvulus L. *Canadian Journal of Plant Science 63*: 959-971.

Klott, P.M. and K.G. Boyce. 1982. Allelopathic effects of wireweed (*Polygonum aviculare*). *Australian Weeds 1(3)*: 11-14.

Roberts, H.A. and P.M. Feast. 1973. Emergence and longevity of seeds of annual weeds in cultivated and undisturbed soil. *The Journal of Applied Ecology 10(1)*: 133-143.

Royer, F., and R. Dickinson. 1999. *Weeds of the Northern U.S. and Canada. The University of Alberta press. 434 pp Cited by Helen Klein , 2011. black bindweed Fallopia convolvulus (Linnaeus) Á. Löve or Polygonum convolvulus L.* (Online) available. http://aknhp.uaa.alaska.edu/wp-content/uploads/2013/01/Fallopia_convolvulus_BIO_FACO.pdf (10 June 2015).

Stevens, O.A. 1932. The number and weight of seeds produced by weeds. American *Journal of Botany 19(9)*:784-794.

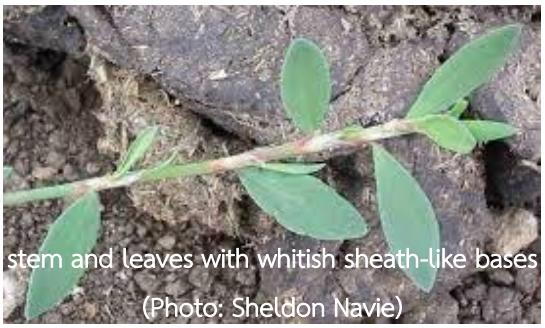
Townshend, J.L. and T.R. Davidson. 1962. *Some weed hosts of the northern root-knot nematode, Meloidogyne hapla Chitwood, 1949, in Ontario. Canadian Journal of Botany 40: 543-548. Cited by Helen Klein , 2011. black bindweed Fallopia convolvulus (Linnaeus) Á. Löve or Polygonum convolvulus L.* (Online) available. http://aknhp.uaa.alaska.edu/wp-content/uploads/2013/01/Fallopia_ convolvulus_BIO_FACO.pdf. (10 June 2015).

Wilson, J.D., A.J. Morris, B.E. Arroyo, S.C. Clark and R.B. Bradbury. 1999. *A review of the abundance and diversity of invertebrate and plant foods of granivorous birds in northern Europe in relation to agricultural change. Agriculture, Ecosystems and Environment 75: 13-30. Cited by Helen Klein , 2011. black bindweed Fallopia convolvulus (Linnaeus) Á. Löve or Polygonum convolvulus L.* (Online). Available. http://aknhp.uaa.alaska.edu/wp-content/uploads/2013/01/ Fallopia_convolvulus_BIO_FACO.pdf access on (10 June 2015).

Table 1 List of weeds found in cabbage and cauliflower in 2016.

Genus	Specific epithet	Author
Amaranthus	*viridis*	L.
Brachiaria	*reptans*	(L.) C.A. Gardner & C.E.Hubb.
Chloris	*barbata*	Sw.
Cleome	*rutidosperma*	DC.
Cleome	*viscosa*	L.
Coecinia	*grandis*	(L.) Voigt
Commelina	*benghalensis*	L.
Cyperus	*difformis*	Burm. f.
Cyperus	*iria*	L
Cyperus	*rotundus*	L.
Dactylocteneum	*aegyptium*	(L.) P. Beauv.
Echinochloa	*colona*	(L.) Link.
Echinochloa	*crus-galli*	(L.) Pal
Edipta	*prostrata*	L.
Eleusine	*indica*	(L.) Gaertn.
Eleutheranthera	*ruderalis*	(Sw.) Sch.Bip.
Eriochloa	*procera*	(Retz.) C. E. Hubb.
Euphorbia	*hirta*	L.
Fimbristyhs	*miliacea*	(L.) Vahl
Ipomoea	*aquatica*	L.
Ipomoea	*triloba*	L.
Jacquemontia	*paniculata*	(Burm. f.) Hallier f.
Leptochloa	*chinensis*	L.
Lindernia	*crustacea*	(L.) F.Muell.
Ludwigia	*hyssopifolia*	(G.Don) Exell
Marsilea	*crenata*	C.Presl
Oryza	*sativa*	L.
Phyllanthus	*amarus*	Schumach. & Thonn.
Polygonum	*plebeium*	R. Br.
Portulaca	*oleracea*	L.

Genus	Specific epithet	Author
Scoparia	*dulcis*	L.
Trianthema	*portulacastrum*	L.
Tridax	*procumbens*	L.
Vernonia	*cinerea*	(L.) Less.



(https://keyserver.lucidcentral.org/weeds/data/media/Html/polygonum_aviculare.htm)

Figure1 Habit of Common Knotweed (*Polygonum aviculare* L.)

(http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/polygonaceae/polygonum-convolvulus/fichas/pagina1.htm)

Figure2 Habit of Black Bindweed (*Polygonum convolvulus* L.)

Figure3 Habit of common knotweed (*Polygonum plebeium* R. Br.), a common weed in vegetable field in northern Thailand

ศึกษาชนิดและประเมินศักยภาพแมลงศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้ง *Phenacoccus solenopsis* Tinsley

Study on Species of Natural Enemies and Their Potentials in Controlling *Phenacoccus solenopsis* Tinsley (Hemiptera: Pseudococcidae)

รจนา ไวยเจริญ ชมัยพร บัวมาศ ประภัสสร เชยคำแหง พัชรีวรรณ จงจิตต์เมต

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาชนิดของแมลงศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้ง *Phenacoccus solenopsis* Tinsley (solenopsis mealybug, cotton mealybug) และประเมินศักยภาพในการควบคุม เพื่อทราบถึงศัตรูธรรมชาติที่สำคัญเพลี้ยแป้งชนิดนี้ ได้ดำเนินการเก็บรวบรวมเพลี้ยแป้ง *P. solenopsis* และศัตรูธรรมชาติบนพืชอาหารชนิดต่าง ๆ และนำมาตรวจสอบจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ ระหว่าง ตุลาคม 2558 ถึง กันยายน 2559 ผลการศึกษาพบศัตรูธรรมชาติ ดังนี้

- *ตัวเบียน* พบแตนเบียนออกมาจากเพลี้ยแป้ง *P. solenopsis* อย่างน้อย 2 ชนิด ได้แก่ แตนเบียน *Aenasius arizonensis* (Girault) ซึ่งจัดเป็นแมลงศัตรูธรรมชาติที่พบมากที่สุด และแตนเบียนที่ยังไม่สามารถจำแนกชนิดได้ จำนวน 1 ชนิด (ซึ่งอาจจะเป็น hyperparasite ของแตนเบียน *A. arizonensis*)

- *ตัวห้ำ* พบทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัย รวมทั้งหมดจำนวน 10 ชนิด แบ่งเป็น ตัวอ่อน จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ ด้วงเต่าลายหยัก *Menochilus sexmaculatus* (Fabricius) ด้วงเต่าลายขวาง *Coccinella transversalis* Fabricius ด้วงเต่าลายนีฟัส *Nephus ryuguus* (H. Kamiya) แมลงวันดอกไม้ และแมลงช้างปีกใส (2 ชนิด) และพบตัวเต็มวัย จำนวน 7 ชนิด ได้แก่ ด้วงเต่าลายหยัก *M. sexmaculatus* ด้วงเต่าลายขวาง *C. transversalis* ด้วงเต่าลายนีฟัส *N. ryuguus* ด้วงเต่าสีส้ม *Micrapis discolor* (Fabricius) ด้วงเต่าสตีธอรัส *Stethorus* sp. ด้วงเต่าดำ *Chilocorus* sp. และมวนตาโต *Geocoris* sp.

พบพืชอาหารชนิดต่าง ๆ ของเพลี้ยแป้ง *P. solenopsis* จำนวน 12 ชนิด ดังนี้

- พืชผัก ได้แก่ กระเจี๊ยบเขียว พริก มะเขือพวง และมะเขือเปราะ
- ไม้ดอกไม้ประดับ ได้แก่ ต้นชบา แพรเซี่ยงไฮ้ และลั่นทม
- วัชพืช ได้แก่ หญ้าไม้กวาด กะเม็ง หญ้ายาง ตำแยแมว และลูกใต้ใบ

คำหลัก : เพลี้ยแป้ง *Phenacoccus solenopsis* แมลงศัตรูธรรมชาติ

รหัสการทดลอง 03-05-59-01-01-00-01-59

คำนำ

เพลี้ยแป้ง *Phenacoccus solenopsis* Tinsley (solenopsis mealybug, cotton mealybug) เป็นเพลี้ยแป้งที่มีรายงานพบในประเทศไทย ชลิดา และคณะ (2555) รายงานว่า พบเพลี้ยแป้งชนิดนี้ดูดน้ำเลี้ยงบริเวณยอดอ่อน ใบอ่อน ขั้วดอกของชบา ชบาหนู มะเขือเปราะ มะเขือพวง มะแว้ง กระเจี๊ยบเขียว กระเจี๊ยบแดง ปอ คุณนายตื่นสาย ลั่นทมหัวลูกศร ทานตะวัน ผกากรอง ยาสูบ หญ้ายาง พันงูเขียว หญ้าขัดมอญ และเหลืองปรีดียาธร พบระบาดได้เป็นจำนวนมากบางฤดูกาล ยังไม่ค่อยมีรายงานการระบาดทำความเสียหายมากนัก ทั้งนี้ Ben-Dov (2009) รายงานพบเพลี้ยแป้งชนิดนี้จาก 35 แห่ง ในโซนที่มีความแตกต่างกันทางสภาพแวดล้อมทั่วโลก โดยพบในพืช 183 ชนิด ใน 52 วงศ์ เพลี้ยแป้ง *P. solenopsis* มีรายงานพบเป็นแมลงศัตรูครั้งแรกในฝ้ายในสหรัฐอเมริกา และต่อมามีรายงานระบาดทำความเสียหายรุนแรงในฝ้าย ในปากีสถาน และอินเดีย ระหว่างปี 2005-2009 (Mahmood *et al.*, 2011) และมีศักยภาพจะทำความระบาดรุนแรงในจีน (Wang *et al.*, 2009) อีกทั้ง Mahmood *et al.* (2011) รายงานการระบาดของเพลี้ยแป้ง *P. solenopsis* ในฝ้าย ผัก และไม้ดอกไม้ประดับหลายชนิด ระบาดทำความเสียหายอย่างรุนแรงในฝ้าย ในปี 2007 ในปากีสถาน และส่วนใหญ่สารป้องกันกำจัดแมลงไม่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดได้ และยากที่จะกำจัดให้หมดไป เพลี้ยแป้งชนิดนี้ในฝ้ายและพืชอื่น ๆ อยู่ในสถานภาพศัตรูพืชที่จำเป็นต้องหาวิธีป้องกันกำจัดที่เหมาะสม Muniappan (2011) รายงานว่า การระบาดของเพลี้ยแป้ง *P. solenopsis* ที่ทำความเสียหายรุนแรงในฝ้าย สามารถควบคุมได้จากการค้นพบแตนเบียน *Aenasius bambawalei* ซึ่งมีในท้องที่และประสบความสำเร็จในการควบคุมเพลี้ยแป้ง *P. solenopsis* ในภูมิภาคนี้ปัจจุบันพบเพลี้ยแป้ง *P. solenopsis* ในประเทศกัมพูชา ไทย และอินโดนีเซีย

Dhaliwal *et al.* (2010) รายงานว่า ปัญหาแมลงศัตรูพืชทางการเกษตรมีการเปลี่ยนแปลงไประหว่างต้นศตวรรษที่ 21 อันเนื่องมาจากระบบนิเวศ และเทคโนโลยีที่เปลี่ยนแปลงไป ในขณะที่ปัญหาความรุนแรงของ *Helicoverpa armigera* (Hubner) ในภาพรวมจะลดความรุนแรงลง ขณะเดียวกันก็มีหลักฐานให้เห็นว่า แมลงศัตรูพืชหลายชนิด เช่น เพลี้ยแป้ง *P. solenopsis* ในฝ้าย เพลี้ยอ่อนสำลีอ้อย (*Ceratovacuna lanigera* Zehntner) ในอ้อย และหนอนกระทู้ผัก (*Spodopter litura* (Fabricius)) ในพืชต่าง ๆ มีแนวโน้มที่จะมีความรุนแรงมากขึ้น นอกจากนี้ Shahid *et al.* (2014) กล่าวว่า เพลี้ยแป้ง *P. solenopsis* จัดเป็นแมลงศัตรูที่สำคัญของฝ้าย แต่เนื่องจากเป็นแมลงที่มีพืชอาหารหลากหลาย ทำให้พบได้ตลอดทั้งปี ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่า การทำลายของเพลี้ยแป้ง *P. solenopsis* อาจจะเพิ่มมากขึ้นในอนาคต

กิจกรรมวิจัยนี้ ยึดแนวทางการวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืชโดยชีววิธี คือ แนวทางเกษตรธรรมชาติที่ยั่งยืน โดยคำนึงถึงความสำคัญของแมลงศัตรูธรรมชาติพวกตัวห้ำตัวเบียน ซึ่งจะสำรวจชนิดของแมลงศัตรูธรรมชาติ รวมทั้งการประเมินศักยภาพในการนำไปใช้ประโยชน์

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาชนิดของแมลงศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้ง *P. solenopsis* และประเมินศักยภาพในการควบคุมเพลี้ยแป้งชนิดนี้ จากนั้นจึงหาแนวทางในการผลิตขยายให้ได้ปริมาณมากต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างแมลง เช่น กระดาษหนังสือพิมพ์ ถุงกระดาษ ถุงพลาสติก ยางรัด แอลกอฮอล์ มีด กรรไกร ที่ดูดแมลง กล่องพลาสติก กล่องเก็บความเย็น เป็นต้น
2. พืชอาหารเลี้ยงแมลงหวี่ขาว เช่น ต้นชบา หญ้ายาง เป็นต้น
3. อุปกรณ์เลี้ยงแมลง ได้แก่ กรงเลี้ยงแมลง กล่องเลี้ยงแมลง ถ้วยพลาสติก ปากคีบ หลอดทดลอง หลอดพลาสติก ผ้าดิบ ผ้าตาข่าย พู่กัน น้ำผึ้ง กระดาษชำระ สำลี กระบอกฉีดน้ำ ฯลฯ
4. อุปกรณ์การปลูกพืช เช่น กระถางต้นไม้ ดิน ปุ๋ย พลั่วมือ ฯลฯ
5. เครื่องวัดอุณหภูมิ-ความชื้น (Thermo hygrometer)
6. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ
7. กล้องถ่ายรูป
8. กล้องจุลทรรศน์

วิธีการ

1) ศึกษาชนิดแมลงศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้ง *P. solenopsis*

เก็บรวบรวมเพลี้ยแป้ง *P. solenopsis* และตัวห้ำที่พบทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัย เช่น ด้วงเต่าแมลงช้าง และมวน เป็นต้น จากต้นพืช เช่น ชบา กระเจี๊ยบเขียว พริก มะเขือ หญ้ายาง เป็นต้น โดยตัดชิ้นส่วนของพืชที่มีเพลี้ยแป้งอาศัยอยู่ใส่ในถุงกระดาษหรือห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ แล้วใส่ในถุงพลาสติก สำหรับแมลงศัตรูธรรมชาติระยะตัวเต็มวัย เก็บรวบรวมใส่กล่องพลาสติกใสที่บุฝากล่องด้วยตาข่าย นำกลับมาเลี้ยงและศึกษาเพื่อประเมินศักยภาพการควบคุมเพลี้ยแป้ง *P. solenopsis* ต่อในห้องปฏิบัติการ

1.1 แมลงเบียน ใส่เพลี้ยแป้งพร้อมพืชอาหารในกล่องพลาสติกใสที่มีฝากล่องเป็นตาข่าย เฝ้าสังเกตการเจริญเติบโตของเพลี้ยแป้ง หากพบแตนเบียนออกจากตัวอย่าง บางส่วนให้เก็บรวบรวมแตนเบียน ดองใน แอลกอฮอล์ 75-80% ตรวจสอบจำแนกชนิดของแตนเบียนที่พบ และบางส่วนนำไปทำการศึกษาประเมินศักยภาพการเบียนเพลี้ยแป้ง *P. solenopsis* ต่อไป

1.2 แมลงห้ำ หากเป็นตัวอ่อนของแมลงห้ำ นำมาเลี้ยงต่อในกล่องพลาสติกใสที่มีฝากล่องเป็นตาข่าย ให้เพลี้ยแป้ง *P. solenopsis* เป็นอาหาร เฝ้าสังเกตการเจริญเติบโตของตัวห้ำจนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัย เก็บตัวอย่างเพื่อจำแนกชนิด และบางส่วนทำการศึกษาประสิทธิภาพการกินเพลี้ยแป้ง *P. solenopsis* ต่อไป

การบันทึกข้อมูล

- ชนิดของพืชอาหารที่พบเพลี้ยแป้ง *P. solenopsis*
- ชนิดของแมลงศัตรูธรรมชาติที่พบ

2) ประเมินศักยภาพของแมลงศัตรูธรรมชาติในการควบคุมเพลี้ยแป้ง *P. solenopsis* ในห้องปฏิบัติการ โดยนำเพลี้ยแป้ง *P. solenopsis* และแมลงศัตรูธรรมชาติที่ได้จากขั้นตอนที่ 1 มาดำเนินการ ดังนี้

2.1 แมลงเบียน ใส่เพลี้ยแป้ง *P. solenopsis* จำนวน 10 ตัว พร้อมพืชอาหารในหลอดทดลองขนาด 25x150 มิลลิเมตร จากนั้นใส่แมลงเบียนแต่ละชนิด จำนวน 1 คู่ ปิดด้วยผ้าตาข่าย ทำการทดลองกับแตนเบียนจำนวน 10 คู่ เฝ้าสังเกตพฤติกรรมของแตนเบียน หลังจาก 24 ชั่วโมง นำเพลี้ยแป้งออกแล้วนำไปเลี้ยงในหลอดใหม่ แล้วใส่เพลี้ยแป้งเข้าไปใหม่ 10 ตัว ทำเช่นนี้ทุกวัน ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ตรวจนับจำนวนเพลี้ยแป้งที่ถูกเบียน จำนวนเพลี้ยแป้งและจำนวนวันที่พบแตนเบียนเจาะออกมา เก็บรวบรวมนับจำนวนตัวและจำแนกเพศแตนเบียน

2.2 แมลงห้ำ นำแมลงห้ำแต่ละชนิด มาแยกเลี้ยงในกล่องพลาสติกขนาด 6.5x9.0x4.5 เซนติเมตร ที่บุฝากล่องด้วยตาข่าย ใส่เพลี้ยแป้ง *P. solenopsis* จำนวน 10 ตัว ให้เป็นอาหาร ใส่แมลงห้ำกล่องละ 1 ตัว ตรวจนับจำนวนเพลี้ยแป้งที่ถูกกิน และใส่เพิ่มเข้าไปให้ครบ 10 ตัว ทำการทดลองเป็นเวลา 7 วัน

การบันทึกข้อมูล

- อัตราการเบียน เพลี้ยแป้ง *P. solenopsis*
- จำนวนตัว สัดส่วนเพศ และวงจรชีวิตแตนเบียนที่ออกมา
- ชนิด เพศ และอัตราการกินเพลี้ยแป้ง *P. solenopsis* ของแมลงห้ำ

สถานที่ทำการทดลอง

- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ
- แปลงปลูกพืช จังหวัด นนทบุรี ปทุมธานี ราชบุรี นครนายก สุพรรณบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ได้ดำเนินการศึกษาเป็นปีแรก ระหว่างเดือนตุลาคม 2558 ถึง กันยายน 2559 เป็นการศึกษาชนิดของแมลงศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้ง *P. solenopsis* โดยการเก็บรวบรวมเพลี้ยแป้ง *P. solenopsis* และแมลงศัตรูธรรมชาติบนพืชอาหารชนิดต่าง ๆ ซึ่งสามารถเก็บรวบรวมเพลี้ยแป้ง *P. solenopsis* ได้เกือบตลอดทั้งปี ในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน เช่น แปลงปลูกกระเจี๊ยบเขียว มะเขือเปราะ มะเขือพวง และพริก ต้นชบาจากแหล่งจำหน่าย ตามบ้านเรือน และภายในมหาวิทยาลัย วัชพืชชนิดต่าง ๆ บริเวณแปลงปลูกและในสภาพธรรมชาติ จากนั้นนำมาศึกษาในห้องปฏิบัติการ ผลการทดลองพบว่า

1) ศึกษาชนิดของแมลงศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้ง *P. solenopsis*

ชนิดของแมลงศัตรูธรรมชาติ จากการเก็บรวบรวมเพลี้ยแป้ง *P. solenopsis* และศัตรูธรรมชาติ และนำมาตรวจสอบจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ ผลการศึกษาพบศัตรูธรรมชาติ ดังนี้

- *ตัวเบียน* พบแตนเบียนออกมาจากเพลี้ยแป้ง *P. solenopsis* อย่างน้อย 2 ชนิด ได้แก่ แตนเบียน *Aenasius arizonensis* (Girault) (รูปที่ 1) ซึ่งจัดเป็นแมลงศัตรูธรรมชาติที่พบมากที่สุด จัดอยู่ในวงศ์ Encyrtidae และแตนเบียนที่ยังไม่สามารถจำแนกชนิดได้ จำนวน 1 ชนิด (ซึ่งอาจจะเป็น hyperparasite ของแตนเบียน *A. arizonensis*) (รูปที่ 2) ซึ่งชนิดของแตนเบียนที่พบมากที่สุดนั้นสอดคล้องกับรายงานของ Arif *et al.* (2012) ที่รายงานว่า แตนเบียน *Aenasius bambawalei* Hayat เป็นแมลงศัตรูธรรมชาติที่สำคัญของเพลี้ยแป้ง *P. solenopsis* ในปากีสถาน (*A. arizonensis* เป็นชื่อพ้องของ *A. bambawalei*)

- *ตัวห้ำ* พบทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัย ทั้งหมดจำนวน 10 ชนิด แบ่งเป็น ตัวอ่อน จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ ด้วงเต่าลายหยัก *Menochilus sexmaculatus* (Fabricius) ด้วงเต่าลายขวาง *Coccinella transversalis* Fabricius ด้วงเต่าลายนีฟัส *Nephus ryuguus* (H. Kamiya) แมลงวันดอกไม้ และแมลงช้างปีกใส (2 ชนิด) (รูปที่ 3) และพบตัวเต็มวัย จำนวน 7 ชนิด ได้แก่ ด้วงเต่าลายหยัก *M. sexmaculatus* ด้วงเต่าลายขวาง *C. transversalis* ด้วงเต่าลายนีฟัส *N. ryuguus* ด้วงเต่าสีส้ม *Micrapis discolor* (Fabricius) ด้วงเต่าสตีธอรัส *Stethorus* sp. ด้วงเต่าดำ *Chilocorus* sp. และมวนตาโต *Geocoris* sp. (รูปที่ 4) นอกจากนี้ยังพบแมงมุมอีกหลายชนิด

ชนิดของพืชอาหาร จากการเก็บรวบรวมเพลี้ยแป้ง *P. solenopsis* จากพืชชนิดต่าง ๆ พบพืชอาหาร จำนวน 12 ชนิด ดังนี้

- พืชผัก ได้แก่ กระเจี๊ยบเขียว พริก มะเขือพวง และมะเขือเปราะ (รูปที่ 5)
- ไม้ดอกไม้ประดับ ได้แก่ ต้นชบา แพรเซี่ยงไฮ้ และลั่นทม (รูปที่ 6)
- วัชพืช ได้แก่ หญ้าไม้กวาด กะเม็ง หญ้ายาง ตำแยแมว และลูกใต้ใบ (รูปที่ 7)

จากการทดลองพืชอาหารที่พบเพลี้ยแป้ง *P. solenopsis* เข้าทำลายส่วนใหญ่เป็นชนิดที่สอดคล้องกับรายงานของ Arief *et al.* (2009) ที่รายงานพบเพลี้ยแป้งชนิดนี้ในพืชอาหารชนิดต่าง ๆ ถึง 154 ชนิด ในวงศ์ต่าง ๆ ของ พืชไร่ พืชผัก ไม้ดอกไม้ประดับ และวัชพืช ส่วนใหญ่พบในพืชวงศ์ฝ้ายหรือวงศ์ชบา Malvaceae เช่น กระเจี๊ยบเขียว ฝ้าย ชบา วงศ์มะเขือ Solanaceae เช่น มะเขือ พริก มันฝรั่ง ยาสูบ วงศ์ทานตะวัน Asteraceae เช่น ทานตะวัน ดาวเรือง เดซี่ เบญจมาศ วงศ์เปล้า Euphorbiaceae เช่น ต้นคริสต์มาส หญ้ายาง ละหุ่ง ตำแยแมว วงศ์บานไม่รู้โรย Euphorbiaceae เช่น ผักโขม และ วงศ์แตง Cucurbitaceae เช่น แตงโม บวบ โดยพบในพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ เช่น ฝ้าย มะเขือ กระเจี๊ยบเขียว มะเขือเทศ งา ทานตะวัน และชบา ซึ่งสามารถทำให้พืชตายได้หากมีการระบาดรุนแรง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. จากการเก็บรวบรวมเพลี้ยแป้ง *P. solenopsis* และศัตรูธรรมชาติ จากสภาพธรรมชาติ และนำมาตรวจสอบจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ ผลการศึกษาพบศัตรูธรรมชาติ ดังนี้

- *ตัวเบียน* พบแตนเบียนออกมาจากเพลี้ยแป้ง *P. solenopsis* อย่างน้อย 2 ชนิด ได้แก่ แตนเบียน *A. arizonensis* ซึ่งจัดเป็นแมลงศัตรูธรรมชาติที่พบมากที่สุด และแตนเบียนที่ยังไม่สามารถจำแนกชนิดได้ จำนวน 1 ชนิด (ซึ่งอาจจะเป็น hyperparasite ของแตนเบียน *A. arizonensis*)

- *ตัวห้ำ* พบทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัย ทั้งหมดจำนวน 10 ชนิด แบ่งเป็น ตัวอ่อน จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ ด้วงเต่าลายหยัก *M. sexmaculatus* ด้วงเต่าลายขวาง *C. transversalis* ด้วงเต่าลายนีฟัส *N. ryuguus* แมลงวันดอกไม้ และแมลงช้างปีกใส (2 ชนิด) และพบตัวเต็มวัย จำนวน 7 ชนิด ได้แก่ ด้วงเต่าลายหยัก *M. sexmaculatus* ด้วงเต่าลายขวาง *C. transversalis* ด้วงเต่าลายนีฟัส *N. ryuguus* ด้วงเต่าสีส้ม *M. discolor* ด้วงเต่าสตีธอรัส *Stethorus* sp. ด้วงเต่าดำ *Chilocorus* sp. และมวนตาโต *Geocoris* sp.

2. พบพืชอาหารชนิดต่าง ๆ ของเพลี้ยแป้ง *P. solenopsis* จำนวน 12 ชนิด ดังนี้

- พืชผัก ได้แก่ กระเจี๊ยบเขียว พริก มะเขือพวง และมะเขือเปราะ
- ไม้ดอกไม้ประดับ ได้แก่ ต้นชบา แพรเซี่ยงไฮ้ และลั่นทม
- วัชพืช ได้แก่ หญ้าไม้กวาด กะเม็ง หญ้ายาง ตำแยแมว และลูกใต้ใบ

เอกสารอ้างอิง

ชลิดา อุณหวุฒิ ชมัยพร บัวมาศ ลักขณา บำรุงศรี และสิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์. 2555. อนุกรมวิธานเพลี้ยแป้งสกุล *Phenacoccus.* หน้า 2099-2116. *ใน รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2555* สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

Arif M.I., M. Rafiq, and A. Ghaffar. 2009. Host plants of cotton mealybug (*Phenacoccus solenopsis*): a new menace to cotton agroecosystem of Punjab, Pakistan. *Int.J.Agric.Biol.* 11 (2): 163-167.

Arif M.I., M. Rafiq, S. Wazir, N. Mehmood and A. Ghaffar. 2012. Studies on cotton mealybug, *Phenacoccus solenopsis* (Psuedococcidae: Homoptera), and its natural enemies in Punjab, Pakistan. *Int.J.Agric.Biol.* 14: 557-562.

Ben-Dov. 2009. *ScaleNet, Phenacoccus solenopsis.* [Online]. Available. http://www.sel.barc. usda.gov/catalogs/pseudoco/Phenacoccussolenopsis.htm [June 10, 2014].

Dhaliwal, G.S., V. Jindai and A.K. Dhawan. 2010. Insect Pest Problems and Crop Losses: Changing Trends. *Indian J. Eco.* 37(1): 1-7.

Mahmood, R., M.N. Aslam, G.S. Solangi and A. Samad. 2011. *Historical perspective and achievements in biological management of cotton mealy bug Phenacoccus solenopsis Tinsley in Pakistan.* [Online]. Available. https://www.icac.org/tis/regional_networks/asiannetworks/meeting_5/documents/papers/MahmoodR.pdf. (May 20, 2014)

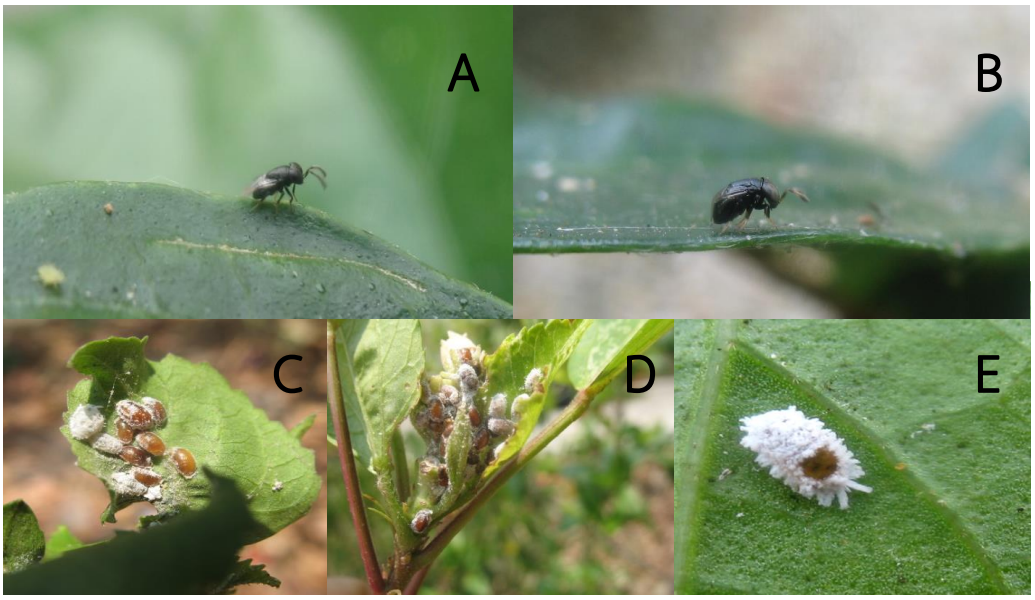
Muniappan, R. 2011. *Recent invasive hemipterans and their biological control in Asia.* [Online]. Available. http://www.icac.org/tis/regional_networks/asian_network/meeting_5/documents/papers/PapMuniappanR.pdf (May 20, 2014)

Sahito, H.A., G.H. Abro, T.S. Syed, S.A. Memon, B. Mal and S. Kaler. 2011. Screening of pesticides against cotton mealybug *Phenacoccus solenopsis* Tinley and its natural enemies on cotton crop. *Inter. Res. J. Biochem. Bioinf.* 1(9): 232-236.

Shahid, M.R., M.J. Arif, M.D. Gogi, and M.S. Iqbal. 2014. Relative food preference of *Phenacoccus solenopsis* Tinley (Hemiptera: Pseudococcidae) to different host plant species in Punjab, Pakistan. *Res. Plant. Sci.* 2(2): 42-44.

Wang, Y.P., S.A. Wu and R.Z. Zhang. 2009. Pest risk analysis of a new invasive pest, *Phenacoccus solenopsis* to China. *Chinese Bull. Entomol.* 46: 101-106.

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



รูปที่ 1 แตนเบียน *Aenasius arizonensis* (Girault)

A) ตัวเต็มวัยเพศผู้ B) ตัวเต็มวัยเพศเมีย

C-D) ลักษณะเพลี้ยแป้ง *P. solenopsis* ที่ถูกเบียนแล้วภายในตัวมีดักแด้ของแตนเบียน

E) รูเจาะของแตนเบียนบนตัวเพลี้ยแป้ง *P. solenopsis*

รูปที่ 2 แตนเบียนยังไม่ได้จำแนกชนิด

รูปที่ 3 ตัวอ่อนของตัวห้ำกินเพลี้ยแป้ง *P. solenopsis* ชนิดต่าง ๆ

A) ด้วงเต่าลายหยัก

B) ด้วงเต่าลายขวาง

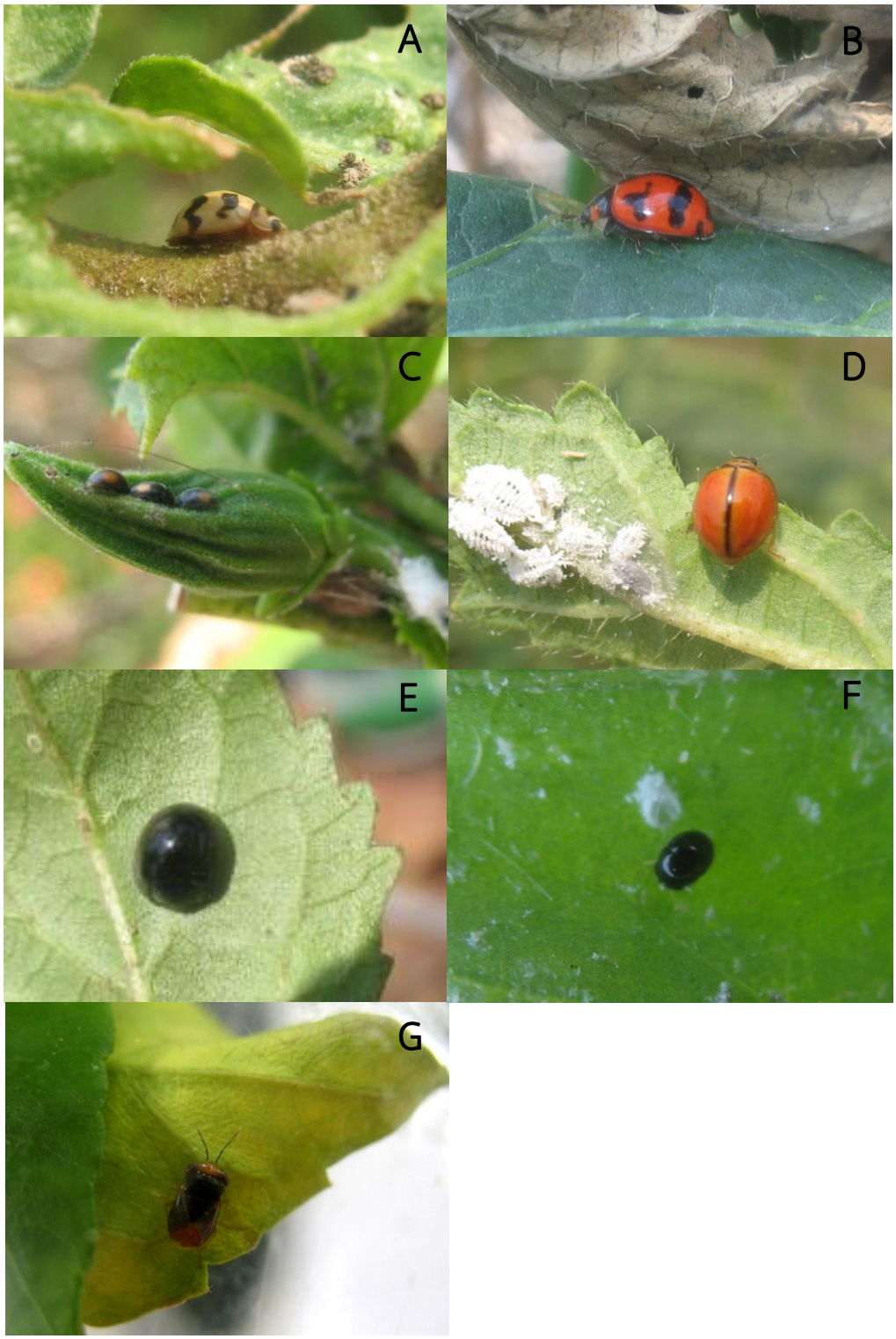
C) ด้วงเต่าลายนีฟัส

D) แมลงวันดอกไม้

E) แมลงช้างปีกใส

E) แมลงช้างปีกใส ชนิดที่ 1

F) แมลงช้างปีกใส ชนิดที่ 2



รูปที่ 4 ตัวเต็มวัยของตัวห้ำกินเพลี้ยแป้ง *P. solenopsis* ชนิดต่าง ๆ

A) ด้วงเต่าลายหยัก B) ด้วงเต่าลายขวาง C) ด้วงเต่าลายนีฟัส
D) ด้วงเต่าส้ม E) ด้วงเต่าดำ F) ด้วงเต่าสตีธอรัส
F) มวนตาโต

รูปที่ 5 เพลี้ยแป้ง *P. solenopsis* บนพืชผักชนิดต่าง ๆ

รูปที่ 6 เพลี้ยแป้ง *P. solenopsis* บนไม้ดอกไม้ประดับชนิดต่าง ๆ

รูปที่ 7 เพลี้ยแป้ง *P. solenopsis* บนวัชพืชชนิดต่าง ๆ

ศึกษาชีววิทยาและประสิทธิภาพของแมลงช้างปีกใส *Chrysoperla* sp.

Biology and Potential of Green Lacewing, *Chrysoperla* sp.

ประภัสสร เชยคำแหง รจนา ไวยเจริญ สาทิพย์ มาลี

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ปี 2559 เลี้ยงแมลงช้างปีกใส ได้ทั้ง 3 ชนิด คือ *C. sinica C. carnea* และ *C. rufirabris* ได้วงจรชีวิตแมลงช้างปีกใส 2 ชนิด คือ *C. carnea* และ *C. rufirabris* ระยะไข่จนเป็นตัวเต็มวัย เมื่อเลี้ยงแมลงช้างปีกใส 2 ชนิด ด้วยไข่ผีเสื้อข้าวสาร พบว่า *C. carnea* มีระยะ ไข่ 3 -5 วัน ระยะตัวอ่อน 9-11 วัน ดักแด้ 11-13 วัน และ เป็นตัวเต็มวัย 20-40 วัน และ *C. rufirabris* มีระยะ ไข่ 4-6 วัน ระยะตัวอ่อน 14-18 วัน ดักแด้ 12-15 วัน และ เป็นตัวเต็มวัย 22-35 วัน ตามลำดับ ที่อุณหภูมิห้อง 25 ± 2°C (ตารางที่ 1) *C. carnea* สามารถเลี้ยงด้วยไข่ผีเสื้อข้าวสารได้ดีกว่า *C. rufirabris* และในปี 2559 มีปัญหาในการเลี้ยงไข่ผีเสื้อข้าวสารทำให้มีผลกระทบกับงานทดลองค่อนข้างมาก ดังนั้นจึงต้องเร่งแก้ปัญหาดังกล่าว

คำหลัก : Biology, Green Lacewing, *Chrysoperla* sp.

รหัสการทดลอง 03-05-59-01-01-00-02-59

คำนำ

แมลงช้างปีกใส (Green Lawecings) เป็นแมลงศัตรูธรรมชาติที่มีประโยชน์มากชนิดหนึ่ง จัดอยู่ในอันดับ Neroptera วงศ์ Chrysopidae เป็นตัวห้ำที่มีประสิทธิภาพ เนื่องจากสามารถทำลายศัตรูพืชได้หลากหลายชนิด เช่น เพลี้ยอ่อน, ไรแมงมุม, เพลี้ยหอย, เพลี้ยแป้ง, เพลี้ยไก่แจ้, เพลี้ยจักจั่น, ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาว ไข่และตัวอ่อนของผีเสื้อบางชนิด และศัตรูพืชอีกหลายชนิดที่มีลำตัวอ่อนนุ่ม จึงทำให้แมลงช้างปีกใสเป็นแมลงห้ำที่ได้รับความสนใจในหลายๆ ประเทศ ทั่วโลกพบแมลงช้างปีกใสอยู่หลายสายพันธุ์ เช่นประเทศจีน พบแมลงช้างปีกใส *Chrysoperla sinica* ในสหรัฐอเมริกาพบ แมลงช้างปีกใส *Chrysoperla carnea* และ *Chrysoperla rufilabris* ซึ่งแมลงช้างปีกใสทั้ง 2 ชนิดนี้ มีการผลิตขยาย และขายเป็นการค้ามาตั้งแต่ปี 2530 (J.C. van Lenteren, 2003) นอกจากนี้ประเทศแถบยุโรปมีการใช้แมลงช้างปีกใสในการควบคุมเพลี้ยอ่อนในพืชหลายชนิด ได้แก่ พริกไทย มันฝรั่ง มะเขือเทศ และมะเขือชนิดอื่นๆ เป็นต้น (Hoffman and Fredsham, 1993) จากผลการวิจัยในต่างประเทศพบว่ามีการใช้แมลงช้างปีกใส ควบคุมเพลี้ยอ่อนในพริก ใช้ควบคุมไรในแอปเปิ้ล นอกจากนี้ยังใช้ควบคุมเพลี้ยจักจั่นในไร่องุ่นโดยใช้อัตราแมลงช้างปีกใส 1-16 ตัวต่อต้น สามารถควบคุมเพลี้ยจักจั่นลดลง 31% (Daana and YoKota, 1997) Tauben and Tauben (1993) รายงานว่าแมลงช้างปีกใสยังเคยถูกนำไปใช้ในไร่ฝ้ายของรัฐเท็กซัส สามารถลดประชากรของหนอนเจาะสมอฝ้ายได้ถึง 96% และยังนำไปใช้ในพืชอื่นๆ เช่นข้าวโพด ถั่ว กะหล่ำปลี และแอปเปิ้ล เพื่อควบคุมเพลี้ยอ่อนในศัตรูพืชดังกล่าว แต่ต้องปล่อยเป็นปริมาณมาก สำหรับประเทศไทย ก็มีความหลากหลายของสายพันธุ์แมลงช้างปีกใส ตามรายงานของ ศิริวรรณ และคณะ 2547 ได้สำรวจแมลงศัตรูธรรมชาติในภาคกลางของประเทศไทย พบแมลงช้างปีกใส *Chrysoperla* sp. และแมลงช้างปีกสีน้ำตาล *Hemerobius* sp. นอกจากนี้ อรพรรณ และคณะ 2547 สำรวจพบ แมลงช้างปีกใส *Mallada* sp. Walker. เป็นชนิดที่พบมากที่สุด ในประเทศไทยมีการใช้แมลงช้างปีกใสในการควบคุมศัตรูพืชกันน้อยมาก พิมลพร 2545 รายงานว่าแมลงช้างปีกใส เป็นแมลงห้ำทั่วไปกินอาหารได้หลายชนิดเหยื่อที่ชอบมากที่สุดคือเพลี้ยอ่อน แมลงช้าง 1 ตัวสามารถกินเพลี้ยอ่อนได้ 100-600 ตัวแมลงช้างปีกใสมีประโยชน์มากในการนำไปปล่อยในโรงเรือนที่ปลูกพืชและได้นำไปปล่อยควบคุมศัตรูแล้วเช่น ควบคุมเพลี้ยอ่อนบนกุหลาบ และในถั่วลันเตาสามารถลดการระบาดได้ดี ดังนั้นเพื่อการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี หรือภายใต้ระบบการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน การนำแมลงช้างปีกใสไปใช้มีความจำเป็นมากขึ้น การศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิต และศักยภาพในการผลิตรวมทั้งวิธีการนำไปใช้จึงมีความสำคัญในเบื้องต้น ปัจจุบันทั่วโลกให้ความสำคัญกับความปลอดภัยในการผลิตอาหารเพื่อผู้บริโภค และการป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยไม่ใช้สารเคมีเป็นอย่างมาก วิธีการหนึ่งที่ได้รับการยอมรับกันทั่วโลก ทั้งทางประเทศแถบยุโรป และอเมริกา คือ การควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี เมื่อประมาณ 30 ปีที่แล้ว นักวิชาการอาวุโสของกองกีฏและสัตววิทยาในสมัยนั้น ได้นำ แมลงช้างปีกใส (Green Lawceings) จากต่างประเทศมาเพื่อการวิจัย 3 ชนิด จาก ประเทศสหรัฐอเมริกา 2 ชนิด คือ *Chrysoperla carnea* และ *Chrysoperla rufirabris* จากประเทศจีน 1 ชนิด *Chrysoperla sinica* เข้ามาเพื่อการวิจัย แมลงช้างปีกใส (Green

Lacewings) เป็นแมลงศัตรูธรรมชาติที่มีประโยชน์มากชนิดหนึ่ง โดยเฉพาะเป็นตัวห้ำที่ช่วยควบคุมปริมาณแมลงศัตรูพืชที่มีขนาดเล็กหลายๆ ชนิด รวมทั้งแมลงศัตรูพืชที่มีลำตัวอ่อนนุ่มทั้งหลาย เช่น เพลี้ยอ่อน เพลี้ยแป้ง เพลี้ยไฟ ตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่น ไรแดง และตัวอ่อนแมลงหวี่ขาว เป็นต้น ปัจจุบันกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ได้ทำการเลี้ยงรักษาสายพันธุ์ของแมลงช้างปีกใส สกุล *Chrysoperla* ทั้ง 3 ชนิด คือ *Chrysoperla sinica, Chrysoperla carnea,* และ *Chrysoperla rufirabris* มาโดยตลอด ดั้งนั้นในงานทดลองเรื่องนี้จะศึกษาชีววิทยาและศักยภาพของแมลงช้างปีกใส ทั้ง 3 ชนิด โดยใช้ไข่ผีเสื้อข้าวสารเป็นเหยื่ออาหารเพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการที่จะคัดเลือกแมลงช้างปีกใสในสกุลนี้ที่มีศักยภาพไปผลิตขยายในปริมาณมากต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- แมลงช้างปีกใส 3 ชนิด
  - *Chrysoperla sinica*
  - *Chrysoperla carnea*
  - *Chrysoperla rufirabris*
- น้ำตาลทราย
- รำข้าว
- น้ำบริสุทธิ์
- หลอดทดลอง
- กล่องขนาด 35 x 45 x 12 เซนติเมตร
- กล่องขนาด 18 x 26 x 10 เซนติเมตร
- กล่องขนาด 8 x 12 x 6 เซนติเมตร
- กล่องขนาด 2.5 x 2.5 x 2 เซนติเมตร
- ผ้าขาวบาง ยางยืด
- กระดาษชำระ สำลี น้ำผึ้ง

วิธีการ

- แบบและวิธีการทดลอง

วิธีการดำเนินการตามขั้นตอนดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 ผลิตไข่ผีเสื้อข้าวสาร

ขั้นตอนที่ 2 เลี้ยงแมลงช้างปีกใส 3 ชนิด *C. sinica C. carnea* และ *C. rufirabris*

ขั้นตอนที่ 3 ศึกษาชีววิทยาของแมลงช้างปีกใส 3 ชนิด *C.* sinica *C. carnea* และ *C. rufirabris*

ขั้นตอนที่ 4 ศึกษาอัตราการกินไข่ผีเสื้อข้าวสารของแมลงช้างปีกใส *C. sinica C. carnea* และ *C. rufirabris*

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1 ผลิตไข่ผีเสื้อข้าวสารเพื่อเป็นอาหารแมลงช้างปีกใส

นำหนอนและตัวเต็มวัยผีเสื้อข้าวสารที่เก็บมาจากยุ้งฉางมาทำการเลี้ยงขยายในห้องปฏิบัติการ โดยนำรำละเอียดมาอบในตู้อุณหภูมิ 70-80 องศาเซลเซียส และใช้เวลาประมาณ 7- 8 ชั่วโมง หลังจากนั้นทิ้งรำข้าวที่อบแล้วไว้ให้เย็น ต่อจากนั้นนำรำข้าวมาใส่กล่องพลาสติกสี่เหลี่ยม ใส่รำข้าวกล่องละ 1 กิโลกรัม โดยกะให้รำข้าวที่ใส่ในกล่องหนาไม่เกิน 3 เซนติเมตร โรยไข่ผีเสื้อข้าวสาร 0.1 กรัม ต่อรำ 1 กิโลกรัม ปิดฝากล่อง นำไปเก็บในห้องที่มีอุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เก็บ 45-60 วัน ไข่ของผีเสื้อข้าวสารจะเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัย เก็บเกี่ยวตัวเต็มวัยผีเสื้อข้าวสารโดยใช้เครื่องดูดแมลง ดูดตัวเต็มวัยใส่ในตะกร้าโดยใช้เวลาในการดูดตัวเต็มวัยตะกร้าละ 5 นาที เป็นตัวกำหนดปริมาณ แล้วนำตะกร้าที่มีตัวเต็มวัยผีเสื้อข้าวสาร ไปไว้ในห้องวางไข่ ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง ให้นำตะกร้าที่มีตัวเต็มวัยของผีเสื้อข้าวสารมาแปรงเอาไข่ของผีเสื้อข้าวสารออก นำไข่มาทำความสะอาด แบ่งไข่ 80% ใช้เลี้ยงแมลงช้างปีกใส *C. sinica C. carnea* และ *C. rufirabris* อีก 20% ใช้ขยายพันธุ์ผีเสื้อข้าวสารต่อไป

ขั้นตอนที่ 2 เลี้ยงแมลงช้างปีกใส 3 ชนิด *C. sinica C. carnea* และ *C. rufirabris*

1. นำตัวเต็มวัยแมลงช้างปีกใส *C. sinica* ใส่ในโหลแก้วขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 นิ้ว สูง 5 นิ้ว ใส่โหลละ 30 ตัว (ตัวผู้ 10: ตัวเมีย 20) ปิดโหลด้วยผ้าขาวบาง ให้น้ำผึ้ง + ยีสต์ เป็นอาหารตัวเต็มวัย และให้วางสำลีชุบน้ำไว้บนผ้าขาวบางเพื่อให้ความชื้น หลังจากนั้นตัวเต็มวัยจะวางไข่รอบๆ โหล

2. เปลี่ยนย้ายโหลนำตัวเต็มวัยแมลงช้างปีกใสใส่โหลใหม่ให้อาหารและน้ำ นำโหลที่มีไข่แมลงช้างปีกใสไปทำการฟักโดยใช้ กระดาษชำระฉีกเป็นริ้วๆใส่ในโหล แล้วโรยด้วย ไข่ผีเสื้อข้าวสาร ปิดโหลด้วยผ้าขาวบาง วางไว้จนกระทั่งไข่ฟักเป็นตัวอ่อน หลังจากไข่ฟักเป็นตัวอ่อนประมาณ 5 วันให้นำไปเลี้ยงในกล่องพลาสติกขนาด 18 x 26 x 10 เซนติเมตร ให้ไข่ผีเสื้อข้าวสารเป็นอาหาร จนกระทั่งเข้าดักแด้

3. เก็บดักแด้ออกมาเตรียมออกเป็นตัวเต็มวัย นำตัวเต็มวัยไปเลี้ยงในโหลเลี้ยงตัวเต็มวัย ข้อ 1 ต่อไป

4. แมลงช้างปีกใส *C. carnea* และ *C. rufirabris* เลี้ยงวิธีการเดียวกันข้อ 1-3

ขั้นตอนที่ 3 ศึกษาชีววิทยาของแมลงช้างปีกใส 3 ชนิด *C. sinica C. carnea* และ *C. rufirabris*

นำไข่แมลงช้างปีกใส *C. sinica* ที่ได้จากการเลี้ยงในขั้นตอนที่ 2 เป็นไข่ที่วางในวันเดียวกัน จำนวน 100 ฟอง ใส่ในกล่องขนาด 2.5 x 2.5 x 2 เซนติเมตร กล่องละ 1 ฟอง เมื่อไข่ฟักเป็น

ตัวอ่อนใส่กระดาษชำระและโรยไข่ผีเสื้อข้าวสารเป็นอาหาร สังเกตการเจริญเติบโต ตลอดวงจรชีวิต และ ดำเนินการทดลองใน *C. carnea* และ *C. rufirabris* เช่นเดียวกัน

การบันทึกข้อมูล

- ระยะการเจริญเติบโต ระยะไข่ ตัวอ่อน ดักแด้ และตัวเต็มวัย

วิเคราะห์สถิติ

- ระยะการเจริญเติบโต

ขั้นตอนที่ 4 ศึกษาอัตราการกินไข่ผีเสื้อข้าวสารของแมลงช้างปีกใส *C. sinica* *C. carnea* และ *C. rufirabris*

นำตัวอ่อนวัย 1 วัย 2 และวัย 3 ของ *C. sinica* ที่มีอายุเท่ากัน จากขั้นตอนที่ 2 ระยะละ 50 ตัว ใส่ในกล่องขนาด 2.5x 2.5 x 2 เซนติเมตร กล่องละ 1 ตัว ให้ไข่ผีเสื้อข้าวสาร ครั้งละ 10-20 ฟอง หรืออย่างเพียงพอ นับจำนวนไข่ผีเสื้อข้าวสารที่แต่ละระยะของตัวอ่อนแมลงช้างปีกใสกิน ดำเนินการทดลองในแมลงช้างปีกใส *C. carnea* และ *C. rufirabris* เช่นเดียวกัน

การบันทึกข้อมูล

- จำนวนไข่ผีเสื้อข้าวสารที่ถูกกิน ในแต่ละช่วงระยะตัวอ่อนของแมลงช้างปีกใส

วิเคราะห์สถิติ

- จำนวนไข่ที่ถูกกินในแต่ละช่วงระยะตัวอ่อน

สถานที่ดำเนินการการทดลอง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ
สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

เวลาและสถานที่ ตุลาคม 2558 - กันยายน 2560
ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ปี 2559 วางแผนการทดลอง เตรียมอุปกรณ์ เลี้ยงไข่ผีเสื้อข้าวสาร เลี้ยงแมลงช้างปีกใส ได้ทั้ง 3 ชนิด คือ *C. sinica C. carnea* และ *C. rufirabris* ได้วงจรชีวิตแมลงช้างปีกใสทั้ง 2 ชนิดคือวงจรชีวิต *C. carnea* และ *C. rufirabris* ระยะไข่จนเป็นตัวเต็มวัย เมื่อเลี้ยง แมลงช้างปีกใส 2 ชนิด ด้วยไข่ผีเสื้อข้าวสาร พบว่า *C. carnea* มีระยะ ไข่ 3-5 วัน ระยะตัวอ่อน 9-11 วัน ดักแด้ 11-13 วัน และ เป็นตัวเต็มวัย 20-40 วัน และ *C. rufirabris* มีระยะ ไข่ 4-6 วัน ระยะตัวอ่อน 14-18 วัน ดักแด้ 12-15 วัน และเป็นตัวเต็มวัย 22-35 วัน ตามลำดับ ที่อุณหภูมิห้อง 25 ± 2°C (ตารางที่ 1) *C. carnea* สามารถเลี้ยงด้วยไข่ผีเสื้อข้าวสารได้ดีกว่า *C. rufirabris*

เอกสารอ้างอิง

พิมลพร นันทะ. 2545. แมลงช้างปีกใส. *ใน* : ศัตรูธรรมชาติหัวใจของ IPM. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 14-17.

ศิศิริวรรณ ทุนคุ้มทอง วิวัฒน์ เสือสะอาด. (2547). การสำรวจรวบรวมและประเมินผลศัตรูธรรมชาติของแมลงศัตรูพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจในประเทศไทย. รายงานผลงานประชุมวิชาการประจำปี 2547. ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ ประจำปี 2547 (22-25 มิถุนายน 2547) โรงแรมโนโวเทล โคราเลีย ริมเพ อำเภอแกลง จังหวัดระยอง

อรพรรณ เก็บรักษา กิตติยา สุขเสน วิวัฒน์ เสือสะอาด (2547). การสำรวจรวบรวมและประเมินผลศัตรูธรรมชาติของแมลงศัตรูพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจในเขตภาคกลางของประเทศไทย. รายงานผลงานประชุมวิชาการ ประจำปี 2547. ศูนย์ควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ ประจำปี 2547 (22-25 มิถุนายน 2547) โรงแรมโนโวเทล โคราเลีย ริมแพ อำเภอแกลง จังหวัดระยอง

Daane KM, Yokota GY, Rasmussen YD, et al. 1997. Effectiveness of leafhopper control varies with Lacewing release methods. Cal Ag 47(6):19-23

Fujiwara, C. and M. Nomura (1999) Effect of photoperiod and temperature on larval development of *Chrysoperla carnea* Stephens (Neuroptera: Chrysopidae). *Jpn. J. Appl. Entomol.Zool.* 43: 175-179

Hoffman, M.P. and Frodsham, A.C. 1993. Natural Enemies of Vegetable Insect Pests. Cooperative Extension, Cornell University Ithaca, N.Y 63 pp.

Van Lenteren. 2003. Quality control and production of biological control agents' laboratory of entomology Netherland.

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.

Checklist of Insect and Mites in Thailand http://www.dnp.go.th/foremic/Entomology/Forest_Insect_in_Thailand/Neuro... (September11, 2007)

Daane KM, Yokota GY, Rasmussen YD, et al. 1997. Effectiveness of leafhopper control varies with Lacewing release methods. Cal Ag 47(6):19-23.

Fujiwara, C. and M. Nomura. 1999. Effect of photoperiod and temperature on larval development of *Chrysoperla carnea* Stephens (Neuroptera: Chrysopidae). *Jpn. J. Appl. Entomol.Zool.* 43: 175-179.

Hoffman, M.P. and A.C. Frodsham. 1993. Natural Enemies of Vegetable Insect Pests. Cooperative Extension, Cornell University Ithaca, N.Y 63 pp.

Van Lenteren. 2003. Quality control and production of biological control agents' laboratory of entomology Netherland.

Tauben, M.J. and C.A. Tauben. 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.

ตารางที่ 1 แสดงวงจรชีวิตของ *Chrysoperla carnea* และ *Chrysoperla rufirabris* เลี้ยงด้วยไข่ผีเสื้อข้าวสารที่ อุณหภูมิห้อง 25 ± 2°C

Insect	Egg		Larva		Pupa		Adult	
	No.	Rang (Days)	No.	Rang (Days)	No.	Rang (Days)	No.	Rang (Days)
C. carnea	100	3-5	92	9-11	90	11-13	82	20-40
C. rufirabris	100	4-6	80	14-18	75	10-15	66	22-35

การศึกษาชนิด ชีววิทยาและศักยภาพการห้ำของมวนตาโตชนิดต่างๆ

The Study on Species Biology and Predatory Potential of Big-eyed Bugs

ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี
สาทิพย์ มาลี จอมสุรางค์ ดวงธิสาร นันทนัช พินศรี
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

จากการสำรวจเก็บตัวอย่างมวนตาโตจากแปลงปลูกพืชชนิดต่างๆ เช่น พริก มะเขือ ข้าวโพด ที่มีการเข้าทำลายของศัตรูพืชชนิดต่างๆ เช่น เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน ไรศัตรูพืช ในเขตจังหวัดนนทบุรี ปทุมธานี อยุธยา ลพบุรี สระบุรี อ่างทอง ชัยนาท นครนายก นครปฐม สุพรรณบุรี ราชบุรี กาญจนบุรี และเพชรบุรี ในช่วงเดือนตุลาคม 2558 – กันยายน 2559 พบมวนตาโตวัยต่างๆ จำนวน 137 ตัวอย่าง นำตัวอ่อนมาเพาะเลี้ยงให้เป็นตัวเต็มวัย เมื่อนำมาจำแนกชนิดพบว่า มวนตาโตที่พบเป็นชนิด *Geocaris ochropterus* Fieber

คำหลัก : มวนตาโต จำแนกชนิด เพาะเลี้ยง

รหัสการทดลอง 03-05-59-01-01-00-03-59

คำนำ

การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี เป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชที่สำคัญอีกวิธีหนึ่ง มีความปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม ผลผลิต เกษตรกรและผู้บริโภค ปัจจุบันเป็นที่ยอมรับกันอย่างกว้างขวางว่าการป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยชีววิธีเป็นองค์ประกอบสำคัญของการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน โดยอาศัยปัจจัยทางธรรมชาติ ได้แก่ แมลงศัตรูธรรมชาติจำพวก แมลงห้ำ แมลงเบียน และจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคกับแมลงศัตรูพืช (กองกีฏและสัตววิทยา, 2544)

แมลงห้ำ (Predators) เป็นสิ่งมีชีวิตที่ดำรงชีวิตอย่างอิสระ ไม่ต้องอาศัยอยู่ภายในเหยื่อ (prey) ด้วยการกินเหยื่อหรือศัตรูพืช โดยทั่วไปตัวห้ำจะกินเหยื่อได้หลายชนิด กินได้ทุกวัยและต่างชนิดกัน นอกจากนี้ตัวห้ำอีกหลายชนิดสามารถหาอาหารเสริมได้จากพืช เช่น น้ำหวานดอกไม้ เกสรดอกไม้ โดยไม่ได้ก่อความเสียหายแก่พืช แมลงห้ำส่วนมากจะกินเหยื่อในระยะตัวอ่อนในจำนวนมากๆเพื่อให้เจริญเติบโต (รัตนา, 2544; Frank and Slosser, 1996)

มวนตาโต (Big-eyed bugs) อยู่ในวงศ์ Lygaeidae ส่วนใหญ่อยู่ในสกุล Geocoris และสกุล Germalas โดยมวนตาโตในสกุล Geocoris เป็นชนิดที่พบมากที่สุด มีการกระจายอยู่ทั่วไปมาก โดยเฉพาะในทวีปเอเชียและเอเชียใต้ ปัจจุบันข้อมูลที่รวบรวมได้พบว่า มวนตาโตที่ได้ศึกษาทางอนุกรมวิธานแล้วมี 14 genera มวนชนิดนี้เป็นตัวห้ำที่มีศักยภาพอีกชนิดหนึ่ง สามารถนำไปใช้ในการควบคุมกำจัดแมลงศัตรูพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Sweet II, 2000)

Frank and Slosser (1996) มวนตาโตเป็นแมลงขนาดเล็ก ชอบอาศัยในที่อบอุ่น มีจุดเด่นที่ตาซึ่งค่อนข้างโตคล้ายไต ไม่มีขาจับ (grasping leg) อย่างเช่นขาหน้าของตั๊กแตนตำข้าวที่ใช้ในการจับเหยื่อ ทำให้การจับเหยื่อเป็นไปในลักษณะซุ่มรอแล้วค่อยโจมตีเหยื่อ แต่ข้อจำกัดเหล่านี้ไม่ได้เป็นอุปสรรคในการจับแมลงอื่นกินเป็นอาหาร แต่กลับพบว่า มวนตาโตสามารถกินแมลงได้หลากหลายชนิด

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างแมลง ได้แก่ ถุงพลาสติก ปากคีบ ตะกร้า กล่องเลี้ยงแมลงขนาดกระดาษ 15 x 21.5 x 4, 18x27x10.5 เซนติเมตร กล้องบันทึกภาพ

2. อุปกรณ์จำแนกชนิดแมลง ได้แก่ กล้องสเตอริโอไมโครสโคป เข็มเซ็ตแมลง การบูร กล่องเก็บตัวอย่างแมลง

3. อุปกรณ์เพาะเลี้ยงมวนตาโต ได้แก่ กล่องเลี้ยงแมลงขนาด 22x15x5 เซนติเมตร ปากคีบ น้ำผึ้ง น้ำกลั่น พู่กัน

วิธีการ

<u>การสำรวจและรวบรวมชนิดของมวนตาโตชนิดต่าง ๆ</u>

เก็บรวบรวมมวนตาโตชนิดต่างๆ จากแปลงเกษตรกร ได้แก่จังหวัดนนทบุรี ปทุมธานี อยุธยา ลพบุรี สระบุรี อ่างทอง ชัยนาท นครนายก นครปฐม สุพรรณบุรี ราชบุรี กาญจนบุรี และเพชรบุรี ใช้

หลอดดูดแมลงเพื่อเก็บรวบรวมแมลง ใส่ในกล่องพลาสติกขนาด 18x27x10.5 เซนติเมตร ที่รองด้วยกระดาษชำระ เก็บและนำมาเพาะเลี้ยงก่อนนำไปจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการของกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

การจำแนกชนิดของมวนตาโต

เตรียมตัวอย่างมวนตาโตเพื่อนำไปจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ โดยปักด้วยเข็มปักแมลงเบอร์ 0 นำตัวอย่างมวนตาโตมาจำแนกชนิดภายใต้กล้องสเตอริโอไมโครสโคป บันทึกภาพ และข้อมูลต่างๆที่เกี่ยวข้อง และเก็บตัวอย่างมวนตาโตในกล่องเก็บแมลง เพื่อเป็นตัวอย่างในการศึกษาเปรียบเทียบกับมวนตาตัวที่สำรวจพบต่อไป

การเพาะเลี้ยงมวนตาโตเพื่อศึกษาชีววิทยา

นำตัวอ่อนและตัวเต็มวัยมวนตาโตมาเพาะเลี้ยงโดยใช้ไข่ผีเสื้อข้าวสารและน้ำผึ้ง ทุก 48 ชั่วโมง ใส่ต้นอ่อนทานตะวันเพื่อใช้เป็นที่อาศัยและวางไข่ของมวนตาโต เมื่อมวนตาโตวางไข่นำไปศึกษาชีววิทยาและเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณต่อไป

การเก็บข้อมูลและบันทึกผลการทดลอง

- บันทึกข้อมูลจำนวนมวนตาโต ชนิดพืช แมลงศัตรูพืช และสถานที่เก็บตัวอย่าง
- บันทึกลักษณะต่างๆ ที่สำคัญของมวนตาโตเพื่อจำแนกชนิด

เวลาและสถานที่

- ตุลาคม 2558 – กันยายน 2559
- กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และแปลงเกษตรกรในจังหวัดต่างๆ ได้แก่ นนทบุรี ปทุมธานี อยุธยา ลพบุรี สระบุรี อ่างทอง ชัยนาท นครนายก นครปฐม ราชบุรี สุพรรณบุรี กาญจนบุรี และเพชรบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการเก็บตัวอย่างมวนตาโตจากแปลงปลูกพืชชนิดต่างๆ เช่น พริก มะเขือ ข้าวโพด โดยเก็บจากต้นพืชที่มีการเข้าทำลายของแมลง เช่น เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน ไรศัตรูพืช ในเขตจังหวัดนนทบุรี ปทุมธานี อยุธยา ลพบุรี สระบุรี อ่างทอง ชัยนาท นครนายก นครปฐม สุพรรณบุรี ราชบุรี กาญจนบุรี และเพชรบุรี ในช่วงเดือนตุลาคม 2558 – กันยายน 2559 โดยในบางพื้นที่ไม่พบมวนตาโต แต่ในบางพื้นที่เช่น กาญจนบุรี นครปฐม ซึ่งมีการปลูกพืชผักชนิดต่างตลอดทั้งปี จะพบมวนตาโตอาศัยอยู่ในแปลงปลูกพืชต่างๆ ตลอดทั้งปี ในบางพื้นที่ที่มีการใช้สารฆ่าแมลงจะพบมวนตาโตในปริมาณน้อยหรือไม่พบมวนตาโต พืชบางชนิดที่มีการใช้สารฆ่าแมลงน้อยหรือไม่ใช้สารฆ่าแมลง เช่น ข้าวโพด จะพบมวนตาโตวัยต่างๆ

เมื่อนำตัวอย่างมวนตาโตจากจำนวน 137 ตัวอย่าง มาจำแนกชนิดพบว่า มวนตาโตที่พบเป็นชนิด *Geocaris ochropterus* Fieber

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการเก็บตัวอย่างมวนตาโตจากแปลงปลูกพืชชนิดต่างๆ ในช่วงเดือนตุลาคม 2558 – กันยายน 2559 พบมวนตาโตจำนวน 1 ชนิด คือมวนตาโต *Geocaris ochropterus* Fieber

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่งานเพาะเลี้ยงแมลงตัวห้ำ อาคารวิจัยและพัฒนาศัตรูธรรมชาติ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่สนับสนุนการทำวิจัยครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ และขอบคุณเจ้าหน้าที่กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา ที่ช่วยในการจำแนกชนิดมวนตาโต

เอกสารอ้างอิง

กองกีฏและสัตววิทยา. 2544. การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีเพื่อการเกษตรยั่งยืน. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. 317 หน้า.

รัตนา นชะพงษ์. 2544. การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยใช้แมลงห้ำ. *ใน* การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีเพื่อการเกษตรยั่งยืน. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 87-110.

Frank, W.A. and Slosser, J.E. 1996. An Illustrated Guide to the Predaceous Insects of the Northern Texas Rolling Plains. Texas Agricultural Experiment Station.

Mead, F. W. 2001. Big-Eyed Bugs, Geocoris spp. (Insecta: Hemiptera Lygaeidae). Available Source: http://entomology.Ifas.Ufl./creatures. December 16, 2013.

Sweet II, M. H. 2000. Economic importance of predation big-eyed bugs (Geocoridae). *In* Heteroptera of economic importance. Schaefer, C. W. and A. R. Panizzi (eds.) CRCPress, New York. pp. 713-724.

สำรวจ คัดเลือก และศึกษาศักยภาพของด้วงเต่าตัวห้ำในแปลงผัก

Survey, Selection and Efficacy of Lady Beetle in Vegetable

ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี
สาทิพย์ มาลี นันทนัช พินศรี
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การสำรวจแปลงผักและแปลงเพาะปลูกพืชของเกษตรกร ระหว่างเดือนตุลาคม 2558 - กันยายน 2559 ในภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเพชรบูรณ์ เชียงใหม่ ภาคอีสาน ได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา เลย ภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดกาญจนบุรี ราชบุรี สุพรรณบุรี นครปฐม ปทุมธานี ทำการสำรวจ เก็บรวบรวมด้วงเต่าตัวห้ำจากแปลงปลูกพืชที่มีการเข้าทำลายของเพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน เพลี้ยแป้ง ไร เช่น หน่อไม้ฝรั่ง ข้าวโพด พริก มะเขือ แตงกวา ถั่วฝักยาว และคะน้า เมื่อนำมาจำแนกชนิดพบด้วงเต่าสีส้ม *Micraspis discolor* (Fabricius) ด้วงเต่าลายหยัก *Coccinella transversalis* Fabricius ด้วงเต่า *Propylea japonica* (Thunberg) ด้วงเต่า *Menochilus sexmaculatus* (Fabricius)

คำหลัก : ด้วงเต่า สำรวจ จำแนกชนิด

รหัสการทดลอง 03-05-59-01-01-00-04-59

คำนำ

ด้วงเต่าเป็นแมลงปีกแข็งในอันดับ Coleoptera วงศ์ Coccinellidae ชื่อสามัญ Lady beetle ทั่วโลกมีด้วงเต่า 490 สกุล 4,200 ชนิด (Sasaji, 1971) ในประเทศไทยพบด้วงเต่า 36 สกุล 75 ชนิด (Chunram and Sasaji, 1980) สมหมาย (2545) ได้รวบรวมด้วงเต่าจำนวน 133 ชนิด เป็นด้วงเต่าตัวห้ำ 112 ชนิด และเป็นด้วงเต่าศัตรูพืช 21 ชนิด ด้วงเต่าตัวห้ำสามารถทำลายศัตรูพืชได้หลายชนิด ได้แก่ ไข่ของผีเสื้อ เพลี้ยแป้ง หนอนขนาดเล็ก เพลี้ยอ่อน เพลี้ยหอย แมลงหวี่ขาว เพลี้ยจักจั่น เป็นต้น (กุศล, 2550) นอกจากจะกินแมลงศัตรูพืชเป็นอาหารแล้ว เมื่อขาดแคลนอาหารด้วงเต่าตัวห้ำสามารถกินน้ำหวานที่แมลงกลั่นออกมา (honeydew) จากดอกไม้และเกสรเพื่อดำรงชีวิตอยู่ได้ ด้วงเต่าตัวห้ำสามารถกินแมลงศัตรูพืชได้หลายชนิด แต่หากจะให้มีการเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ได้ดีนั้น จะต้องกินแมลงศัตรูพืชที่เหมาะสมเป็นอาหาร การเลี้ยงด้วงเต่าลายหยัก *Menochilus sexmaculatus* (F.) ด้วย turnip aphid, cowpea aphid, sugarcane aphid และ giant weed aphid ได้อัตราการขยายพันธุ์สุทธิ 20.46, 461.07, 107.08 และ 35.42 ตามลำดับ ด้วงเต่าลายสามารถที่จะกินอาหารได้เกือบตลอดชั่วชีวิต เช่น *M. sexmaculata* เลี้ยงด้วย *Aphis craccivora* ในระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัยเพศเมียสามารถกินได้เฉลี่ย 110.45 ± 4.04 และ 1,056.90 ± 59.83 ตัว ตามลำดับ ตลอดชีวิตสามารถกินได้เฉลี่ย 1,167.35 ± 67.92 ตัว (Roongfar, 1980) นอกจากความชอบอาหารที่แตกต่างกันแล้วยังมีปัจจัยอีกหลายอย่างที่มีผลกระทบต่อชนิดอาหารที่กินแตกต่างกัน เช่น การมีอยู่ของเหยื่ออาหารชนิดอื่นในบริเวณเดียวกัน หรือการมีอยู่ร่วมกันของเหยื่ออาหารและพืชอาหารที่ด้วงเต่าสามารถกินได้ในกรณีที่เป็นพวก omnivorous (Harmon *et al.*, 2000) รจนา และคณะ (2553) สำรวจและเก็บรวบรวมด้วงเต่าตัวห้ำจากแปลงมันสำปะหลังที่พบการระบาดของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู ได้มากกว่า 12 ชนิด ชนิดที่พบมากที่สุด ได้แก่ ด้วงเต่าลายหยัก *Menochilus sexmaculatus* (Fabricius) รองลงมา ได้แก่ *Micarpis discolor* (Fabricius), *Brumoides suturalis* (Fabricius), *Scymnus rectoides* Sasaji, *Nephus ryuguus* (H.Kamiya) และ *Coccinielle transversalis* Fabricius เป็นต้น ชนิดอื่นๆ พบได้บ้างเป็นบางแปลง ได้แก่ ด้วงเต่า *N. ryuguus*, *B. suturalis* และ *S. rectoides* การสำรวจและศึกษาประสิทธิภาพการเลี้ยงขยายพันธุ์เพื่อเพิ่มปริมาณด้วงเต่าตัวห้ำที่มีประสิทธิภาพสูง ก่อนนำไปปล่อยเพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืช จะเป็นการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีอีกวิธีการหนึ่งที่ช่วยให้เกิดความปลอดภัยในการบริโภคของมนุษย์

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างแมลง ได้แก่ ถุงพลาสติก ปากคีบ ตะกร้า กล่องเลี้ยงแมลงขนาด 19x28x11 เซนติเมตร กล้องบันทึกภาพ

2. อุปกรณ์จำแนกชนิดแมลง ได้แก่ กล้องสเตอริโอไมโครสโคป กล้องบันทึกภาพ จานเพาะเชื้อ เข็มเซ็ตแมลง กล่องเก็บตัวอย่างแมลง

3. อุปกรณ์เพาะเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำ ได้แก่ กล่องเลี้ยงแมลงขนาด 22x15x5 เซนติเมตร ปากคีบ น้ำผึ้ง น้ำกลั่น พู่กัน

วิธีการ

สำรวจ รวบรวมด้วงเต่าตัวห้ำจากแปลงปลูกผัก

1. สำรวจและเก็บตัวอย่างด้วงเต่าตัวห้ำชนิดต่างๆ จากแปลงผักและแปลงเพาะปลูกพืชของเกษตรกร ในภาคเหนือได้แก่ จังหวัดเพชรบูรณ์ เชียงใหม่ ภาคอีสานได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา เลย ภาคกลางได้แก่ จังหวัดกาญจนบุรี ราชบุรี สุพรรณบุรี นครปฐม ใส่ในกล่องพลาสติกขนาด 18x27x10.5 เซนติเมตร ที่รองด้วยกระดาษชำระ หากด้วงเต่าตัวห้ำที่พบเป็นระยะตัวอ่อน เก็บและนำมาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการให้เป็นตัวเต็มวัย ก่อนนำไปจำแนกชนิดต่อไป

2. นำด้วงเต่าตัวห้ำชนิดต่างๆ มาจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ ภายใต้กล้องสเตอริโอไมโครสโคป โดยใช้สีของลำตัว ลวดลายบนปีก และเก็บในกล่องเก็บแมลง

3. นำด้วงเต่าตัวห้ำส่วนที่เหลือมาเพาะเลี้ยงโดยใช้เพลี้ยอ่อนและน้ำผึ้ง เพื่อนำไปศึกษาชีววิทยาต่อไป

<u>การเก็บข้อมูลและบันทึกผลการทดลอง</u>

- บันทึกข้อมูลจำนวนด้วงเต่า ชนิดพืช แมลงศัตรูพืช สถานที่เก็บตัวอย่าง
- บันทึกลักษณะต่างๆ ที่สำคัญของด้วงเต่าตัวห้ำเพื่อจำแนกชนิด

สถานที่ทำการทดลอง

- ตุลาคม 2558 – กันยายน 2559
- กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และแปลงเกษตรกรในจังหวัดต่างๆ ได้แก่ นนทบุรี ปทุมธานี อยุธยา ลพบุรี สระบุรี อ่างทอง ชัยนาท นครนายก นครปฐม ราชบุรี สุพรรณบุรี กาญจนบุรี และเพชรบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การสำรวจแปลงผักและแปลงเพาะปลูกพืชของเกษตรกรที่มีการเข้าทำลายของศัตรูพืชชนิดต่างๆ เช่น เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน เพลี้ยแป้ง ไร เช่น หน่อไม้ฝรั่ง ข้าวโพด พริก มะเขือ แตงกวา ถั่วฝักยาว คะน้า ระหว่างเดือนตุลาคม 2558 - กันยายน 2559 ในภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเพชรบูรณ์ เชียงใหม่ ภาคอีสาน ได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา เลย ภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดกาญจนบุรี ราชบุรี สุพรรณบุรี นครปฐม ปทุมธานี เมื่อนำมาจำแนกชนิดพบด้วงเต่าสีส้ม *Micraspis discolor* (Fabricius) ด้วงเต่าลายหยัก *Coccinella transversalis* Fabricius ด้วงเต่า *Propylea japonica* (Thunberg) ด้วงเต่า *Menochilus sexmaculatus* (Fabricius) ด้วงเต่ามีพบมากที่สุดคือด้วงเต่าสีส้ม *Micraspis discolor* (Fabricius) รองลงมาได้แก่ ด้วงเต่า *Menochilus sexmaculatus* (Fabricius) นำด้วงเต่าบางส่วนมาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการโดยให้ไข่ผีเสื้อข้าวสาร และน้ำผึ้งเป็นอาหาร

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การสำรวจแปลงผักและแปลงเพาะปลูกพืชของเกษตรกร ระหว่างเดือนตุลาคม 2558 - กันยายน 2559 ในจังหวัดเพชรบูรณ์ เชียงใหม่ นครราชสีมา เลย กาญจนบุรี ราชบุรี สุพรรณบุรี นครปฐม ปทุมธานี จากแปลงปลูกพืช เช่น หน่อไม้ฝรั่ง ข้าวโพด พริก มะเขือ แตงกวา ถั่วฝักยาว และคะน้า พบด้วงเต่าสีส้ม *Micraspis discolor* (Fabricius) ด้วงเต่าลายหยัก *Coccinella transversalis* Fabricius ด้วงเต่า *Propylea japonica* (Thunberg) ด้วงเต่า *Menochilus sexmaculatus* (Fabricius)

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่งานเพาะเลี้ยงแมลงตัวห้ำ อาคารวิจัยและพัฒนาศัตรูธรรมชาติ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่สนับสนุนการทำวิจัยครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้

เอกสารอ้างอิง

กุศล ถมมา. 2550. ด้วงเต่าลายในสวนพริก. นสพ.กสิกร 80 (2): 64-65.

พิมลพร นันทะ. 2545. ศัตรูธรรมชาติ หัวใจของ IPM. กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 215 หน้า.

รจนา ไวยเจริญ อัมพร วิโนทัย และประภัสสร เชยคำแหง. 2553. ศึกษาพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำเพื่อใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. 735-750.

สมหมาย ชื่นราม. 2545. ด้วงเต่าในประเทศไทย. กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 211 หน้า.

Chunram, S. & Sasaji, H. (1980) A contribution to the Coccinellidae (Coleoptera) of Thailand. *Oriental Insects*, 14 (4), 473–491.

Harmon, J.P., A.R. Ives, J.E. Losey, A.C. Olson and K.S. Rauwald. 2000. *Coleomegilla maculata* (Coleoptera: Coccinellidae) predation on pea aphids promoted by proximity to dandelions. Oecologia 125(4): 543-548.

Roongfar, R. 1980. Study on the coccinellid, *Menochilus sexmaculata* (F.) (Coleoptera: Coccinellidae), and its roles as biological control agents. M.S. Thesis. Kasetsart University.749 p.

SASAJI, H. 1971. Fauna Japonica, Coccinellidae (Insecta: Coleoptera). Academic Press of Japan, Tokyo, Japan. 340 pp.

ศักยภาพของราสาเหตุโรคแมลงบางชนิดในการควบคุมเพลี้ยอ่อนดำ *Aphis craccivora* (Koch)

Efficacy Test of Some Insect Fungus to Control *Aphis craccivora* (Koch)

เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ เมธาสิทธิ์ คนการ

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราโรคแมลงในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม (สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร) จำนวน 7 ไอโซเลท (M1, M4, M5, M6, M7, M8 และ M9), เชื้อราบิวเวอเรีย สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร ไอโซเลท B4 และ *Isaria javanica* กับเพลี้ยอ่อนดำ ทำการทดสอบจำนวน 3 ครั้ง ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2559 – เดือนมีนาคม 2560 โดยปรับกำลังโคนิเดียที่ $1X10^8$ โคนิเดียต่อมล. พบว่า ผลการทดสอบครั้งที่ 1 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท M8 และ M9 มีประสิทธิภาพทำให้เพลี้ยอ่อนดำเป็นโรคได้ดีที่สุดที่ 95 และ 87.5% ตามลำดับ รองลงมาคือ เชื้อราบิวเวอเรีย B4 และเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท M1 โดยทำให้เกิดโรคที่ 82.50 และ 81.25% ตามลำดับ ผลการทดสอบครั้งที่ 2 พบว่าเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท M8 และ M9 ยังคงมีประสิทธิภาพทำให้เพลี้ยอ่อนดำเป็นโรคได้ดีที่สุดที่ 95 และ 81.25% ตามลำดับ รองลงมาคือ M1 และ B4 โดยทำให้เกิดโรคที่ 81.25 และ 79.50% ตามลำดับ ผลการทดสอบครั้งที่ 3 พบว่า เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท M8 และ M9 ยังคงมีประสิทธิภาพทำให้เพลี้ยอ่อนดำเป็นโรคได้ดีที่สุดที่ 90 และ 80% ตามลำดับ รองลงมาคือ M1 และ B4 โดยทำให้เกิดโรคที่ 88.75 และ 68.75% ตามลำดับ ดังนั้นจึงเลือกไอโซเลท M8, M9, M1 และ B4 เพื่อใช้ทำการศึกษาต่อในสภาพกึ่งโรงเรือนทดลอง โดยเลือกพื้นที่ทดสอบเพลี้ยอ่อนดำในเขต จ. กาญจนบุรี เนื่องจากถั่วฝักยาวที่เพิ่งเริ่มปลูกในพื้นที่ทดสอบ ยังไม่มีเพลี้ยอ่อนดำลงทำลาย จึงทำการระบาดเทียม ปัจจุบันอยู่ระหว่างรอการแพร่กระจายของเพลี้ยอ่อนดำ ที่เกิดจากการทำระบาดเทียม ซึ่งจะได้ศึกษาประสิทธิภาพราโรคแมลงที่คัดเลือกได้จากห้องปฏิบัติการเพื่อทำการทดสอบในพื้นที่สภาพกึ่งโรงเรือนทดลองต่อไป

คำหลัก : เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม, เชื้อราบิวเวอเรีย, เพลี้ยอ่อนดำ

รหัสการทดลอง 03-05-59-01-01-00-05-59

คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมมีการปลูกพืชผักเพื่อการบริโภคภายในประเทศและเพื่อการส่งออกเป็นจำนวนมาก ปัญหาที่มักพบคู่กับการปลูกพืชผักเสมอคือการระบาดของแมลงศัตรูพืช ซึ่งจะมีความแตกต่างกันไปในพืชแต่ละชนิด ถั่วฝักยาวเป็นพืชตระกูลถั่วนอกจากจะเป็นพืชผักที่มีคุณค่าทางอาหารแล้ว ยังเป็นพืชที่ช่วยบำรุงดิน สามารถปลูกได้ตลอดทั้งปี แต่จะปลูกได้ผลดีในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนพฤศจิกายน สามารถปลูกได้ทั่วทุกภาคของประเทศแหล่งปลูกที่สำคัญในเขตภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดราชบุรี นครปฐม สระบุรี ปทุมธานี อ่างทอง นครนายก แหล่งปลูกในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ นครราชสีมา หนองคาย อุดรธานี บุรีรัมย์ มหาสารคาม ร้อยเอ็ด แหล่งปลูกในภาคเหนือ ได้แก่ นครสวรรค์ เชียงใหม่ ลำปาง แหล่งปลูกในภาคใต้ ได้แก่ นครศรีธรรมราช สุราษฎร์ธานี และตรัง เป็นพืชที่ชอบอากาศค่อนข้างร้อนต้องการแสงแดดตลอดทั้งวัน อุณหภูมิที่เหมาะสมในการปลูกอยู่ระหว่าง 16 – 24 องศาเซลเซียส สามารถปลูกในดินได้ทุกชนิดแต่ปลูกได้ผลดีในดินร่วนปนทราย ที่มีการระบายน้ำดี สภาพความเป็นกรดด่าง (pH) อยู่ระหว่าง 5.5 – 6.0 แมลงศัตรูพืชที่มักพบอยู่เสมอคือ เพลี้ยอ่อนดำ *Aphis craccivora* (Koch) ซึ่งเข้าทำลายพืชในระยะที่เป็นตัวอ่อนและตัวเต็มวัยโดยการดูดกินน้ำเลี้ยงที่ใบอ่อน ยอดอ่อน ช่อดอก และฝักอ่อน เพลี้ยอ่อนจะถ่ายมูลที่เป็นของเหลวทำให้ต้นถั่วสังเคราะห์แสงได้น้อย ชะงักการเจริญเติบโต แคระแกรน ช่อดอกร่วง ฝักอ่อนบิดเบี้ยว เมล็ดลีบ ผลผลิตเสียหาย เนื่องจากเป็นพืชที่ผู้บริโภคนิยมบริโภคสด ทำให้มีโอกาสได้รับพิษจากสารฆ่าแมลงที่ปนเปื้อนในขั้นตอนการปลูก เพราะเกษตรกรส่วนใหญ่มักนิยมใช้สารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัด ซึ่งเป็นวิธีที่สะดวกและเห็นผลเร็วแต่มักมีข้อเสียในด้านพิษตกค้างของสารเคมีซึ่งส่งผลต่อสุขภาพของเกษตรกรผู้ใช้รวมทั้งผู้บริโภค ปัจจุบันจึงมีผู้ให้ความสนใจงานด้านการป้องกันและกำจัดศัตรูพืชโดยชีววิธีมากขึ้น การนำเชื้อจุลินทรีย์มาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชเป็นอีกหนึ่งวิธีที่ได้รับความสนใจนอกจากมีความปลอดภัยต่อสุขภาพของตัวเกษตรกรผู้ใช้รวมทั้งผู้บริโภคแล้ว ยังไม่ทำให้เกิดพิษตกค้างของสารฆ่าแมลงในสภาพแวดล้อม

เชื้อราโรคแมลงถือเป็นเชื้อราที่มีประโยชน์ใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชทางการเกษตร เชื้อราสาเหตุโรคแมลงต่างๆ เหล่านี้ ได้แก่ *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin, *Beauveria bassiana* (Balsamo), *Hirsutella thompsonii* (Fisher), *Paecilomyces* sp., *Lecanicillium lecanii* (Zimmerman) Zare & Gams, *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson, *Isaria* sp., *Aschersonia aleyrodis* Webber ฯลฯ เชื้อราเหล่านี้ถือเป็นเชื้อราที่มีประโยชน์ใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชทางการเกษตร เชื้อราบางชนิดมีการศึกษาและผลิตใช้ในเชิงการค้า ได้แก่ *Metarhizium*, *Beauveria*, *Nomeraea*, *Aspergillus*, *Paecilomyces* เป็นต้น โดยประเทศที่มีการใช้เชื้อราต่างๆ เหล่านี้ ได้แก่ อเมริกา เม็กซิโก ออสเตรเลีย โคลัมเบีย เป็นต้น (Wraight *et al*., 2001)

ปัจจุบันห้องปฏิบัติการเชื้อราโรคแมลงมีเชื้อราโรคแมลงที่เก็บรักษาไว้จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม (สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร), เชื้อราบิวเวอเรีย สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร และ *Isaria javanica* โดยแต่ละชนิดได้จากแหล่งที่มาแตกต่างกัน ความสามารถก่อให้เกิดโรคกับแมลง

ก็แตกต่างกันไปในแต่ละสายพันธุ์ จึงจำเป็นต้องศึกษาศักยภาพของเชื้อราโรคแมลงเหล่านี้เพื่อการนำไปใช้ที่ถูกต้อง งานวิจัยในปีงบประมาณ 2559 - 2560 จะได้ศึกษาศักยภาพของเชื้อราโรคแมลงต่างๆ เหล่านี้ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนดำ *Aphis craccivora* (Koch) ซึ่งเป็นแมลงศัตรูสำคัญในการปลูกถั่วฝักยาว เพื่อให้ทราบศักยภาพของเชื้อราแต่ละชนิด โดยจะทำการศึกษากับเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม (สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร) จำนวน 7 ไอโซเลท เชื้อราบิวเวอเรีย จำนวน 1 ไอโซเลท และเชื้อรา *Isaria javanica* และในอนาคตจะได้นำมาใช้ทดสอบกับแมลงศัตรูพืชที่สำคัญตัวอื่นๆ ผลที่ได้รับจะนำมาใช้เผยแพร่ต่อเกษตรกรและผู้สนใจต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ราสาเหตุโรคแมลงต่างๆ ที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม (สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร) ทั้ง 7 ไอโซเลท (M1, M4, M5, M6, M7, M8 และ M9), เชื้อราบิวเวอเรีย สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร ไอโซเลท B4 และ *Isaria javanica*
2. เพลี้ยอ่อนดำ *Aphis craccivora* (Koch)
3. ข้าวโพดบดหยาบ
4. Potato Dextrose Agar (PDA)
5. Potato Dextrose Broth (PDB)
6. เครื่องนับสปอร์ (Hemacytometer)
7. เครื่องเขย่าผสมสาร (Vortex)
8. หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)
9. ตู้เขี่ยเชื้อ
10. กล้องจุลทรรศน์
11. บีกเกอร์ ขนาด 250, 500, 1000 มล.
12. กระบอกตวง ขนาด 250, 500, 1000 มล.
13. ฟลาสก์ ขนาด 250, 500 มล.
14. ที่ดูดสปอร์ (Micropipet)
15. กล่องเลี้ยงแมลง
16. กรงเลี้ยงแมลง หรือ มุ้งตาข่าย
17. กระถางปลูกต้นไม้
18. เมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาว

- **แบบและวิธีการทดลอง**

1. **การทดสอบและคัดเลือกเชื้อราสาเหตุโรคแมลงชนิดต่างๆ ที่มีศักยภาพในการควบคุมเพลี้ยอ่อนดำ *Aphis craccivora* (Koch) ในห้องปฏิบัติการ (ปี 2559)**

   แบบและวิธีการทดลอง: วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ 10 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท M1 ความเข้มข้น 1 X 10^8 โคนิเดีย/มล.
กรรมวิธีที่ 2 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท M4 ความเข้มข้น 1 X 10^8 โคนิเดีย/มล.
กรรมวิธีที่ 3 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท M5 ความเข้มข้น 1 X 10^8 โคนิเดีย/มล.
กรรมวิธีที่ 4 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท M6 ความเข้มข้น 1 X 10^8 โคนิเดีย/มล.
กรรมวิธีที่ 5 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท M7 ความเข้มข้น 1 X 10^8 โคนิเดีย/มล.
กรรมวิธีที่ 6 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท M8 ความเข้มข้น 1 X 10^8 โคนิเดีย/มล.
กรรมวิธีที่ 7 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท M9 ความเข้มข้น 1 X 10^8 โคนิเดีย/มล.
กรรมวิธีที่ 8 เชื้อราบิวเวอเรีย ไอโซเลท B4 ความเข้มข้น 1 X 10^8 โคนิเดีย/มล.
กรรมวิธีที่ 9 *Isaria javanica* ความเข้มข้น 1 X 10^8 โคนิเดีย/มล.
กรรมวิธีที่10 น้ำเปล่า (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)

- เลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคแมลงชนิดต่างๆ ที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ราเขียวเมตาไรเซียม ทั้ง 7 ไอโซเลท, เชื้อราบิวเวอเรีย และ *Isaria javanica* บนเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ โดยชั่งเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ 200 กรัม เติมน้ำ 200 มิลลิลิตร ปิดปากถุงด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 ปอนด์/ ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงถ่ายหัวเชื้อที่เตรียมไว้ใส่ในอัตรา 1 มล./ถุง คลุกให้เชื้อ กระจายทั่วอาหาร นำไปวางบนชั้นที่อุณหภูมิห้อง (27 – 30°C) เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นนำถุงราเขียวที่เลี้ยงได้มาเติมน้ำผสม tween 80 (0.5%) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร/ถุง เขย่าให้โคนิเดียหลุด แล้วปรับกำลังโคนิเดียในแต่ละเชื้อให้เท่ากันที่ 1 X 10^8 โคนิเดีย/มล.

- ปลูกถั่วฝักยาวลงกระถาง สำหรับเป็นพืชอาหารของเพลี้ยอ่อน เก็บเพลี้ยอ่อนดำในธรรมชาติมาปล่อยบนต้นถั่วฝักยาว และเลี้ยงขยายพันธุ์เพลี้ยอ่อนเพื่อการทดสอบ

- เตรียมกล่องพลาสติกขนาด 7 X 10 ซ.ม จำนวน 4 กล่อง/กรรมวิธี (4 ซ้ำ) ตัดฟองน้ำหรือแผ่นโอเอซีสให้เท่าขนาดตัวกล่อง ใส่กล่องแล้ววางแผ่นสำลีบนฟองน้ำหรือแผ่นโอเอซีสใส่น้ำพอให้ฟองน้ำหรือแผ่นโอเอซีสดูดซับน้ำจนอิ่มตัว

- ตัดกิ่งหรือใบของต้นถั่วฝักยาวที่พบเพลี้ยอ่อนมากกว่า 20 ตัว/กิ่งหรือใบ นำสารแขวนลอยโคนิเดียเชื้อราเขียวแต่ละไอโซเลทที่เตรียมไว้พ่นให้ทั่ว นำสำลีชุบน้ำหุ้มที่ปลายก้านเพื่อคงความสดของพืชไว้ เก็บใส่กล่องพลาสติกที่เตรียมไว้ 4 กล่อง/กรรมวิธี (4 ซ้ำ) ปิดฝาเพื่อรักษาความชื้น

การบันทึกข้อมูล

- เก็บข้อมูลโดยการตรวจนับจำนวนแมลงที่เป็นโรคทุก 2 วัน นำมาคิดเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อเปรียบเทียบในแต่ละกรรมวิธี

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

- นำข้อมูลเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อของเพลี้ยอ่อนดำ มาวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

เวลาและสถานที่ : ตุลาคม 2558 - กันยายน 2559

ห้องปฏิบัติการเชื้อราโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตว-วิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

1. การทดสอบประสิทธิภาพราสาเหตุโรคแมลงในสภาพกึ่งโรงเรือนทดลอง (ปี 2560)

2.1 การเตรียมเชื้อราสาเหตุโรคแมลง

เลือกเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่คัดเลือกได้จากห้องปฏิบัติการ (ข้อ 1) โดยพิจารณาเทียบจากกรรมวิธีเปรียบเทียบ เลือกไอโซเลทที่ให้เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อของเพลี้ยอ่อนที่ดีที่สุด 3-4 กรรมวิธี นำเชื้อที่เลือกมาเลี้ยงขยายบนเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ โดยชั่งเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ 200 กรัม เติมน้ำ 200 มิลลิลิตร ปิดปากถุงด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 ปอนด์/ ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงถ่ายหัวเชื้อที่เตรียมไว้ใส่ในอัตรา 1 มล./ถุง คลุกให้เชื้อ กระจายทั่วอาหาร นำไปวางบนชั้นที่อุณหภูมิห้อง (27 – 30°C) เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นนำถุงราสาเหตุโรคแมลงที่เลี้ยงได้มาเติมน้ำผสม tween 80 (0.5%) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร/ถุง เขย่าให้โคนิเดียหลุด แล้วปรับความเข้มข้นโคนิเดียของแต่ละเชื้อให้เท่ากันที่ $1X10^8$ โคนิเดียต่อมล. เพื่อเตรียมทดสอบในเรือนทดลองต่อไป

2.2 วิธีการเตรียมพืชอาศัย

เตรียมดินใส่กระถางเพาะพันธุ์ถั่วฝักยาว ลงกระถาง รดน้ำให้ความชื้น ใส่ปุ๋ยเพื่อเร่งการเจริญเติบโตของต้นถั่วฝักยาว

2.3 วิธีการเตรียมเพลี้ยอ่อนดำ

ทำการระบาดเทียม โดยเก็บเพลี้ยอ่อนดำ *Aphis craccivora* (Koch) ในธรรมชาติ มาปล่อยบนต้นถั่วฝักยาวที่เลี้ยงขยายไว้ในเรือนทดลอง ทิ้งไว้ให้เพลี้ยอ่อนเพิ่มปริมาณอย่างสม่ำเสมอมากเพียงพอต่อการทดสอบ

2.4 การทดสอบในสภาพกึ่งโรงเรือนทดลอง

เลือกราสาเหตุโรคแมลงที่คัดเลือกได้จากห้องปฏิบัติการ (ข้อ 1) ในการทดสอบประสิทธิภาพ ดังนี้

แบบและวิธีการทดลอง: วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 เชื้อราบิวเวอเรีย สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร ไอโซเลท B4

กรรมวิธีที่ 2 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม (สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร) ไอโซเลท M1

กรรมวิธีที่ 3 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม (สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร) ไอโซเลท M8

กรรมวิธีที่ 4 เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม (สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร) ไอโซเลท M9

กรรมวิธีที่ 5 น้ำเปล่า (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)

ปลูกถั่วฝักยาวลงกระถางจำนวน 40 กระถาง โดยใช้ Treatment ละ 5 ซ้ำ (ซ้ำละ 2 กระถาง) ทำการระบาดเทียม โดยเก็บเพลี้ยอ่อนดำ *Aphis craccivora* (Koch) ในธรรมชาติ มาปล่อยบนต้นถั่วฝักยาวที่เลี้ยงขยายไว้ในเรือนทดลอง ทิ้งไว้ให้เพลี้ยอ่อนเพิ่มปริมาณอย่างสม่ำเสมอมากเพียงพอต่อ

การทดสอบ เริ่มพ่นเมื่อพบเพลี้ยอ่อนลงทำลายมากกว่า 20 ตัว/ใบ, กิ่ง พ่นซ้ำทุก 3-4 วัน ติดต่อกัน 2-3 ครั้ง สังเกตการเป็นโรคโดยสุ่มตัดมาส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จดบันทึกข้อมูลเพื่อการวิเคราะห์

หมายเหตุ : ใช้เครื่องสูบโยกสะพายหลัง ชนิดวัดแรงดันได้ในการทดสอบ

การบันทึกข้อมูล

- เก็บข้อมูลโดยการตรวจนับจำนวนแมลงที่เป็นโรคทุก 2 วัน นำมาคิดเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อเปรียบเทียบในแต่ละกรรมวิธี

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

- นำข้อมูลเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อของเพลี้ยอ่อน มาวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

เวลาและสถานที่ : ตุลาคม 2559 - กันยายน 2560

ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

พื้นที่ทดสอบ ในเขต จ.กาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราโรคแมลงในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม (สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร) จำนวน 7 ไอโซเลท (M1, M4, M5, M6, M7, M8 และ M9), เชื้อราบิวเวอเรีย สายพันธุ์กรมวิชาการเกษตร ไอโซเลท B4 และ *Isaria javanica* กับเพลี้ยอ่อนดำ ทำการทดสอบจำนวน 3 ครั้ง ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2559 – เดือนมีนาคม 2560 โดยเชื้อราโรคแมลงทั้งหมดที่ใช้ทดสอบจะปรับกำลังโคนิเดียที่ $1X10^{8}$ โคนิเดียต่อมล.

ผลการทดสอบครั้งที่ 1 พบว่า เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท M8 และ M9 มีประสิทธิภาพทำให้เพลี้ยอ่อนดำเป็นโรคได้ดีที่สุดที่ 95 และ 87.5% ตามลำดับ รองลงมาคือ เชื้อราบิวเวอเรีย B4 และ เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท M1 โดยทำให้เกิดโรคที่ 82.50 และ 81.25% ตามลำดับ

ผลการทดสอบครั้งที่ 2 พบว่าเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท M8 และ M9 ยังคงมีประสิทธิภาพทำให้เพลี้ยอ่อนดำเป็นโรคได้ดีที่สุดที่ 95 และ 81.25% ตามลำดับ รองลงมาคือ M1 และ B4 โดยทำให้เกิดโรคที่ 81.25 และ 77.50% ตามลำดับ

ผลการทดสอบครั้งที่ 3 พบว่า เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลท M8 และ M9 ยังคงมีประสิทธิภาพทำให้เพลี้ยอ่อนดำเป็นโรคได้ดีที่สุดที่ 90 และ 80% ตามลำดับ รองลงมาคือ M1 และ B4 โดยทำให้เกิดโรคที่ 88.75 และ 68.75% ตามลำดับ

ดังนั้นจากผลการทดสอบทั้ง 3 ครั้ง จึงเลือกไอโซเลท M8, M9, M1 และ B4 เพื่อใช้ทำการศึกษาในขั้นตอนต่อไป แต่เนื่องจากไม่สามารถหาโรงเรือนในการทดลองได้ จึงจำเป็นต้องทดสอบในสภาพกึ่ง

โรงเรือนทดลองแทน โดยเลือกพื้นที่ทดสอบในเขต จ.กาญจนบุรี ปลูกถั่วฝักยาวลงกระถาง ตามกรรมวิธีที่เตรียมไว้ ใส่ปุ๋ยบำรุงต้นรอให้ต้นถั่วฝักยาวโต และมีเพลี้ยอ่อนดำระบาด

เนื่องจากถั่วฝักยาวที่เพิ่งเริ่มปลูกในพื้นที่ทดสอบ ยังไม่มีเพลี้ยอ่อนดำลงทำลาย จึงสำรวจในบริเวณพื้นที่ปลูกใกล้เคียงในเขต อ.ท่าม่วง พบเพลี้ยอ่อนดำในแปลงปลูกเก่าที่เก็บผลผลิตแล้ว จึงเก็บมาทำการระบาดเทียมในพื้นที่ทดสอบ และรอให้เพลี้ยอ่อนดำที่เก็บใหม่ ระบาดเพิ่มในแปลงทดสอบ ปัจจุบันอยู่ระหว่างรอการแพร่กระจายของเพลี้ยอ่อนดำ ที่เกิดจากการทำระบาดเทียม ซึ่งจะได้ศึกษาประสิทธิภาพในพื้นที่สภาพกึ่งโรงเรือนทดลองต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราโรคแมลงในการควบคุมเพลี้ยอ่อนดำ *Aphis craccivora* (Koch) จำนวน 3 ครั้ง ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2559 – เดือนมีนาคม 2560 ผลการทดสอบเป็นไปในทิศทางเดียวกัน โดยได้คัดเลือกเชื้อราโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมเพลี้ยอ่อนดำ ในห้องปฏิบัติการจำนวน 4 ไอโซเลท คือ เชื้อราเขียวเมตาไรเซียมไอโซเลท M8, M9 และ M1 เชื้อราบิวเวอเรีย ไอโซเลท B4 ปัจจุบันอยู่ในขั้นตอนการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อในสภาพกึ่งโรงเรือนทดลอง โดยทำการศึกษาที่ จ.กาญจนบุรี เนื่องจากถั่วฝักยาวที่เพิ่งเริ่มปลูกในพื้นที่ทดสอบ ยังไม่มีเพลี้ยอ่อนดำลงทำลาย จึงทำการระบาดเทียม ปัจจุบันอยู่ระหว่างรอการแพร่กระจายของเพลี้ยอ่อนดำ ที่เกิดจากการทำระบาดเทียม ซึ่งจะได้ศึกษาประสิทธิภาพราโรคแมลงที่คัดเลือกได้จากห้องปฏิบัติการเพื่อทำการทดสอบในพื้นที่สภาพกึ่งโรงเรือนทดลองต่อไป

เอกสารอ้างอิง

Wraight, S.P., M.A. Jackson and S.L. de Kock. 2001. Production, stabilization and formation of fungal biocontrol agents, pp 253-287. In T.M. Butt, C. Jackson and N. Magan (eds.). Fungi an biocontrol agents progress, problems and potential. CABI publishing. 390 p.

Table 1 The average percent mortality of *Aphis craccivora* treated with 9 different of fungus isolates incubated at ambient temperature and observed for 7 days during October 2016 – March 2017.

Insect fungi	Number of *Aphis craccivora*	percent mortality of *Aphis craccivora* [1/] after treated		
		The first experiment	The second experiment	The third experiment
Beauveria sp. (B4)	80	82.50 ab	77.50 a	68.75 bc
Isaria javanica	80	71.25 bc	57.50 b	52.50 cd
Metarhizium sp. (M1)	80	81.25 ab	81.25 a	88.75 a
Metarhizium sp. (M4)	80	66.25 c	36.25 c	30.00 e
Metarhizium sp. (M5)	80	61.25 c	38.75 bc	36.25 de
Metarhizium sp. (M6)	80	65.00 c	31.25 c	38.75 de
Metarhizium sp. (M7)	80	65.00 c	33.75 c	33.75 de
Metarhizium sp. (M8)	80	95.00 a	95.00 a	90.00 a
Metarhizium sp. (M9)	80	87.50 a	81.25 a	80.00 ab
Control (distilled water)	80	0.00 d	0.00 d	0.00 f
CV (%)	-	13.0%	25.3%	24.7%

1/ Average of 4 replications, 20 adults/ replication

2/ In column, means followed by the same letter were not significantly different at the 95% level by DMRT.

สำรวจและศึกษาศักยภาพหอยน้ำสกุล *Clea* ในการเป็นตัวห้ำหอยน้ำศัตรูพืช

Survey of Aquatic Snail Genus *Clea* and a Potential as Predator of Aquatic Pest Snails.

ณัฐฐิญา กาญจนนิธิพัฒน์ ดาราพร รินทะรักษ์
อภินันท์ เอี่ยมสุวรรณสุข ปราสาททอง พรหมเกิด
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การสำรวจการแพร่กระจายของหอยน้ำสกุล *Clea* ในประเทศไทย ตั้งแต่เดือนมกราคม ถึงเดือนตุลาคม 2559 พบหอยน้ำสกุล *Clea* จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ *Clea helena* และ *Clea wykoffi* โดย *Clea Helena* เปลือกมีสีน้ำตาลเหลือง หรือมีแถบสีน้ำตาลเข้มรอบวงเปลือก ซึ่งสามารถพบแถบสีได้ 3 บริเวณ ได้แก่ บริเวณร่องระหว่างวงเปลือก รอบวงเปลือก และที่ฐานของวงตัว ผิวด้านนอกของเปลือกเป็นลายนูนขึ้นมา พบกระจายอยู่ทุกภาคของประเทศ ในขณะที่ *Clea wykoffi* มีวงเปลือกค่อนข้างกลมกว่า นูนที่เปลือกบางกว่า และมีแถบสีน้ำตาล 1 แถบคาดรอบวงเกลียวตัว และพบที่จังหวัดอุบลราชธานีเท่านั้น

การศึกษาศักยภาพในการเป็นตัวห้ำหอยน้ำศัตรูพืช คัดเลือกหอยน้ำศัตรูพืช 3 ชนิด ได้แก่ *Radix* sp. *Indoplanorbis* sp. และ *Physella* sp. เพื่อใช้เป็นอาหารของหอยน้ำสกุล *Clea* สังเกตพฤติกรรมการกิน บันทึกจำนวนและขนาดของหอยศัตรูพืชที่ถูกกิน เปรียบเทียบอัตราการกินของหอยตัวห้ำแต่ละชนิด ซึ่งอยู่ระหว่างการศึกษาในปี 2560

คำหลัก : *Clea* sp. หอยตัวห้ำ การสำรวจ หอยน้ำศัตรูพืช

รหัสการทดลอง 03-05-59-01-01-00-06-59

คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมที่สามารถผลิตพืชผลทางการเกษตรเพื่อบริโภคและส่งออกไปยังภูมิภาคต่างๆ ทั่วโลก ประชากรกว่าครึ่งหนึ่งของประเทศประกอบอาชีพเกษตรกร ดังนั้นการพัฒนาด้านการเกษตรเป็นการพัฒนาที่มีความสำคัญเป็นอย่างมาก เพราะจะส่งผลให้ประชากรส่วนใหญ่มีรายได้เพิ่มขึ้น และมีความเป็นอยู่ที่ดีขึ้น

พรรณไม้น้ำ นับว่าเป็นสินค้าเกษตรที่สำคัญชนิดหนึ่งที่สามารถสร้างรายได้และเป็นที่ต้องการของตลาดภายในประเทศและภายนอกประเทศ ซึ่งประเทศไทยเป็นประเทศที่มีศักยภาพในการเพาะขยายพันธุ์ไม้น้ำเนื่องจากมีภูมิอากาศและสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม สถิติการส่งออกพรรณไม้น้ำของไทยโดยเฉพาะที่มีใบรับรองปลอดศัตรูพืชจากกรมวิชาการเกษตร พบว่าในปี 2546 มีการส่งออกจำนวน 9,462 กิโลกรัม9,884,470 ต้น คิดเป็นมูลค่า 16.22 ล้านบาท ในปี 2547 มีการส่งออกจำนวน 164,187 กิโลกรัม 8,085,068 ต้น คิดเป็นมูลค่า 17.2 ล้านบาท ซึ่งตลาดนำเข้าที่สำคัญได้แก่ ญี่ปุ่น คิดเป็น 60% ของการส่งออกทั้งหมด นอกจากนั้นยังมี สหรัฐอเมริกา เนเธอร์แลนด์ เยอรมัน และโปแลนด์ ด้วย ส่วนชนิดของพรรณไม้น้ำที่มีการส่งออกมากที่สุด 5 อันดับแรก ได้แก่ *Cambomba, Egeria, Anubias, Aponogeton* และ *Nymphaea*

ปัญหาในการผลิตและการเลี้ยงพรรณไม้น้ำที่สำคัญได้แก่ หอยศัตรูพืชที่สร้างความเสียหายทั้งทางตรงและทางอ้อม เช่น การกัดกินส่วนต่างๆ ของพืช หรือการเจาะเนื้อเยื่อส่งผลให้บริเวณนั้นมีการเจริญผิดปรกติ เป็นต้น นอกจากนี้ยังเป็นปัญหาสำคัญต่อการส่งออกพรรณไม้น้ำไปยังต่างประเทศ เนื่องจากหอยศัตรูพืชบางชนิดมีขนาดเล็กมาก และไข่หอยมีลักษณะเป็นวุ้นใส หากติดไปกับส่วนต่างๆ ของต้นที่ส่งออก และมีการตรวจพบจะถูกทำลายทิ้งทันที ทำให้เกษตรกรสูญเสียรายได้ดังกล่าว โดยพบว่าหอยน้ำที่เป็นศัตรูพืชที่สำคัญและระบาดในประเทศไทย เช่น หอยลิมเนีย, *Lymnaea* sp. หอยเชอรี่, *Pomacea canaliculata* และหอยคัน, *Indoplanorbis exutus* เป็นต้น ซึ่งการกำจัดหอยศัตรูพืชในปัจจุบันเกษตรกรส่วนใหญ่นิยมใช้สารเคมี ซึ่งมีความสะดวกรวดเร็ว แต่อาจส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น ตกค้างลงในสิ่งแวดล้อม และที่สำคัญอาจมีการตกค้างในไม้น้ำ โดยเฉพาะพรรณไม้น้ำบางชนิดไม่ทนต่อสารเคมีอาจเกิดความเสียหายได้ รวมทั้งส่งผลต่อสุขภาพของเกษตรกรโดยตรง ซึ่งแตกต่างจากการควบคุมและกำจัดหอยศัตรูพืชโดยชีววิธีซึ่งไม่เป็นอันตรายต่อสุขภาพเกษตรกรและส่งผลดีต่อสิ่งแวดล้อมอีกด้วย

จากรายงานทางวิชาการพบว่า หอย *Clea helena* (Philippi, 1847) เป็นหอยน้ำที่พบตามแหล่งน้ำธรรมชาติในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้รวมทั้งประเทศไทยด้วย จัดเป็นหอยนักล่าที่กินหอยและไข่ของหอยชนิดอื่นเป็นอาหาร ได้รับฉายา “snail eating snail, killer snail, bubble bee snail หรือ assassin snail” ซึ่งในต่างประเทศเริ่มมีการศึกษาและนำหอยน้ำนักล่าชนิดดังกล่าวมาควบคุมหอยศัตรูพืชแล้ว มีรายงานว่าประเทศในทวีปยุโรปประสบความสำเร็จในการนำ *Cleahelena* (Philippi, 1847) มาควบคุมหอยน้ำที่แพร่ระบาดในพิพิธภัณฑ์สัตว์น้ำ (Behrendt, 2009; Schiffbauer, 2009; Smid, 2009) สำหรับในประเทศไทยพบว่าข้อมูลเกี่ยวกับการนำหอย

น้ำตัวห้ำกำจัดหรือควบคุมหอยน้ำศัตรูพรรณไม้น้ำมีน้อยมาก พบเพียงรายงานการสำรวจความหลากชนิดของหอยน้ำเท่านั้น ซึ่งมีรายงานครั้งแรกในประเทศไทยในปี ค.ศ. 1974 Brandt ได้ทำการสำรวจหอยน้ำที่พบในประเทศไทยและพบหอยสกุล *Clea* 3 ชนิด ได้แก่ *C. crooki* n. และ *C. siamensis* n. พบในแม่น้ำในประเทศไทยและลาว ส่วน *C. cambodiensis* SOW พบในประเทศไทยและกัมพูชา

Tesana (2002) ได้ทำการสำรวจความหลากชนิดของหอยบริเวณอ่างเก็บน้ำลำตะคอง จังหวัดนครราชสีมา พบหอยกาบน้ำจืดจำนวน 4 ชนิด หอยฝาเดียวจำนวน 10 ชนิด โดยพบว่าหอยฝาเดียวที่เป็น dominant species มี 3 ชนิด ได้แก่ *Clea helena*, *Bithynia siamensis goniomphalos* และ*Melanoides tuberculata* และพบว่า *Clea helena* เป็น major population ของหอยฝาเดียว โดยเก็บตัวอย่างได้มากที่สุด 944 ตัว พบมากในบริเวณแหล่งน้ำที่มีความลาดชัน และพื้นน้ำพบพวกอินทรียวัตถุทับถมอยู่ลักษณะเป็นโคลนสีดำโดยสามารถเก็บตัวอย่างได้มากที่สุดในฤดูหนาว ฤดูร้อน และฤดูฝน คิดเป็นร้อยละ 43.1, 28.8 และ 28.1 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Neeratanaphan and Phalaraks (2008) ที่เก็บตัวอย่างหอยน้ำจากบึงโจด จังหวัดขอนแก่น ซึ่งสามารถเก็บตัวอย่าง *Cleahelena* (Philippi, 1847) ได้เฉพาะในฤดูหนาวเท่านั้น

Krailas และคณะ ได้ทำการศึกษาความหลากชนิดของหอยน้ำบริเวณอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่พบหอยฝาเดียว 3 ชนิดเรียงลำดับจากมากไปน้อย ได้แก่ *Melanoides tuberculata, Clea helena และ Filopaludina m. martensi* โดยสามารถเก็บตัวอย่างได้ 359, 46 และ 42 ตัว ตามลำดับ โดยสามารถเก็บตัวอย่าง *Clea helena* ได้จากบริเวณน้ำตกกองแก้ว จำนวน 23 ตัว ลำธารลำตะคอง จำนวน 15 ตัว และน้ำตกเหวสุวัต จำนวน 8 ตัว (Krailas *et al.,* 2012)

สุชาติและประสิทธิ์ (2555) ทำการศึกษาความหลากหลาย ปริมาณและการแพร่กระจายของหอยน้ำจืดในแม่น้ำบางปะกงและแม่น้ำปราจีนบุรีพบหอยฝาเดียว 12 สกุล โดยหอยฝาเดียวที่พบมากที่สุด 3 ชนิดเรียงลำดับจากมากไปน้อย ได้แก่ *Iravadia* sp. *Bithynia* sp. และ *Clea* sp. คิดเป็นร้อยละ 73.66, 38.98 และ 19.81 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาหอยสกุล *Clea* ที่เก็บตัวอย่างได้ร้อยละ 19.81 หรือจำนวน 391 ตัว โดยเดือนมิถุนายนสามารถเก็บตัวอย่างได้มากที่สุด 207 ตัว เดือนที่เก็บตัวอย่างได้น้อยที่สุดคือเดือนธันวาคมจำนวน 15 ตัว สามารถเก็บตัวอย่างได้จากบริเวณแม่น้ำบางปะกง 390 ตัว และแม่น้ำปราจีนบุรี 1 ตัวเท่านั้น โดยส่วนใหญ่พบในดินที่มีลักษณะดินเหนียวปนทราย (silty clay) ซึ่งจากรายงานทางวิชาการของกรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง (2548)ระบุว่าแม่น้ำบางปะกงเป็นแม่น้ำที่ลักษณะเป็นระบบนิเวศน์น้ำกร่อย ดังนั้นการกระจายตัวของหอยสกุล *Clea* นับว่ามีความหลากหลายของถิ่นอาศัย (habitat) ได้แก่ ลำธาร อ่างเก็บน้ำ น้ำตก และน้ำกร่อย (สุชาติและประสิทธิ์, 2555; Tesana, 2002; Krailas *et al.,* 2012)

จากการศึกษาเอกสารพบว่าหอยสกุล *Clea* โดยเฉพาะ *Clea helena* พบเป็น native species ประเทศเขตร้อนในแถบตะวันตกของเขตอินโดแปซิฟิก (the tropical Indo-West Pacific regions) เช่น ประเทศจีน อินโดนีเซีย และไทย (Cameron and Carter, 1979; Coelho *et al.*, 2013) ซึ่งใน

ประเทศไทยมีข้อมูลด้านการแพร่กระจายของหอยสกุล *Clea* น้อยมาก และเนื่องจากหอยชนิดนี้มีพฤติกรรมเป็นสัตว์นักล่า (predator) และกินซาก (scavenger) (Coelho *et al.*, 2013) สามารถช่วยกำจัดหอยชนิดอื่นๆ ที่ไม่ต้องการ และกำจัดซากสิ่งมีชีวิตในน้ำป้องกันน้ำเน่าเสียได้ จึงควรทำการสำรวจการแพร่กระจาย รวมถึงศักยภาพในการเป็นตัวห้ำ เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาด้านการนำหอยชนิดนี้มาใช้กำจัดหอยศัตรูพรรณไม้น้ำโดยชีววิธีต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่าง ได้แก่ กล่องพลาสติกขนาดต่างๆ สเปรย์ฉีดน้ำ ถุงมือแพทย์ ปากคีบ ไฟฉาย พู่กัน กระดาษทิชชู่ กระดาษเอนกประสงค์ สวิง และกระชอน

2. เครื่องมือวัดขนาด ได้แก่ ไม้บรรทัด เวอร์เนียร์ ocular micrometer และ stage micrometer

3. เครื่องมือและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ ได้แก่ แว่นขยาย บีกเกอร์ จานแก้ว ขวดเก็บตัวอย่าง สไลด์ แผ่นปิดสไลด์ เครื่องมือวัดคุณภาพน้ำ

4. สารเคมี ได้แก่ แอลกอฮอล์ พาราฟินเหลว เดทตอล

5. อุปกรณ์ในการเพาะเลี้ยงหอย ได้แก่ ตู้เลี้ยงขนาด 25x40x26 เซนติเมตร (พร้อมฝาปิด) ทรายละเอียด อาหารปลาสำหรับเลี้ยงหอย พรรณไม้น้ำชนิดต่างๆ อุปกรณ์เพิ่มออกซิเจนในตู้เลี้ยง

6. อุปกรณ์ประกอบการถ่ายภาพ ได้แก่ กล้องถ่ายภาพดิจิทัล กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง

วิธีการ

1. เก็บตัวอย่างหอยน้ำศัตรูพืช

1.1 เก็บตัวอย่างหอยน้ำศัตรูพืช เก็บตัวอย่างตามแหล่งน้ำ เช่น แม่น้ำ คลอง อ่างเก็บน้ำ และในบ่อพรรณไม้น้ำประดับ นำตัวอย่างหอยมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานวิจัยสัตววิทยาการเกษตร โดยเตรียมตู้กระจกขนาด 25x40x26 เซนติเมตร รองพื้นตู้กระจกด้วยทรายละเอียดให้สูงจากพื้นตู้กระจกประมาณ 4 เซนติเมตร และใส่น้ำสะอาด 50 ลิตร

1.2 นำตัวอย่างหอยน้ำที่ได้มาวิเคราะห์ชื่อตามระบบอนุกรมวิธานของหอย

2. การศึกษาศักยภาพในการเป็นตัวห้ำหอยน้ำศัตรูพืช

2.1 คัดเลือกหอยน้ำศัตรูพืช 3 ชนิด ได้แก่ *Radix* sp. *Indoplanorbis* sp.และ *Physella* sp. โดยเลือกขนาดใกล้เคียงกัน เพื่อใช้เป็นอาหารของหอยน้ำสกุล *Clea* ในข้อ (2.2)

2.2 นำตัวอย่างหอยน้ำสกุล *Clea* ทุกชนิดที่เก็บตัวอย่างได้ (จำนวนชนิดมากหรือน้อยขึ้นกับการศึกษาในปี 2559) มาศึกษาการกินหอยน้ำศัตรูพืชที่คัดเลือกไว้ในข้อ (2.1) โดยใช้กล่องพลาสติกขนาด 15.5 x 22 x 7 เซนติเมตรเติมน้ำสะอาดให้สูงจากพื้นกล่อง 5 เซนติเมตร ใส่หอยน้ำสกุล *Clea* แต่ละชนิด (โดยกำหนดชนิดของหอย *Clea* เป็นชนิด A, B, C, ..., n) จำนวน 1 ตัว/กล่อง (แต่ละชนิดทดลอง 10 ซ้ำ) นำหอยศัตรูพืชที่เตรียมไว้มาทดลอง ดังนี้

2.2.1 หอย *Clea* ชนิด A 1 ตัว ต่อหอยศัตรูพืช *Radix* sp. 10 ตัว

หอย *Clea* ชนิด A 1 ตัว ต่อหอยศัตรูพืช *Indoplanorbis* sp. 10 ตัว

หอย *Clea* ชนิด A 1 ตัว ต่อหอยศัตรูพืช *Physella* sp. 10 ตัว

2.2.2 หอย *Clea* ชนิด B 1 ตัว ต่อหอยศัตรูพืช *Radix* sp. 10 ตัว

หอย *Clea* ชนิด B 1 ตัว ต่อหอยศัตรูพืช *Indoplanorbis* sp. 10 ตัว

หอย *Clea* ชนิด B 1 ตัว ต่อหอยศัตรูพืช *Physella* sp. 10 ตัว

2.2.3 หอย *Clea* ชนิด n 1 ตัว ต่อหอยศัตรูพืช *Radix* sp. 10 ตัว

หอย *Clea* ชนิด n 1 ตัว ต่อหอยศัตรูพืช *Indoplanorbis* sp. 10 ตัว

หอย *Clea* ชนิด n 1 ตัว ต่อหอยศัตรูพืช *Physella* sp. 10 ตัว

สังเกตพฤติกรรมการกิน บันทึกจำนวนและขนาดของหอยศัตรูพืชที่ถูกกินทุกๆ 24 ชั่วโมง เก็บหอยศัตรูพืชตัวที่ถูกกินและเติมให้ครบ 10 ตัว เป็นเวลา 7 วัน เปรียบเทียบอัตราการกินของหอยตัวห้ำแต่ละชนิด

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกพิกัดภูมิศาสตร์และข้อมูลกายภาพของสถานที่เก็บตัวอย่าง
2. บันทึกขนาดและชนิดของหอยน้ำศัตรูพืชที่เก็บตัวอย่าง
3. บันทึกลักษณะพฤติกรรมการกินหอยน้ำศัตรูพืชของหอย *Clea* ระเวลาในการกินอาหาร
4. บันทึกชนิดและจำนวนของหอยน้ำศัตรูพืชที่หอยตัวห้ำแต่ละชนิดชอบกิน อัตราการกินต่อสัปดาห์

เวลาและสถานที่

ดำเนินการทดลองตั้งแต่เดือนตุลาคม 2558 – กันยายน 2559 โดยเก็บตัวอย่างและรวบรวมข้อมูลการแพร่กระจายของหอยน้ำสกุล *Clea* จากแหล่งน้ำจืดตามธรรมชาติและบ่อเลี้ยงพรรณไม้น้ำจากทุกภาคในประเทศไทย นำมาเลี้ยงและวิเคราะห์ชนิด ณ กลุ่มงานวิจัยสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างหอยน้ำสกุล *Clea*

ได้ดำเนินการสำรวจและเก็บตัวอย่างหอยน้ำสกุล *Clea* ในแหล่งน้ำตามธรรมชาติและแหล่งน้ำที่มนุษย์สร้างขึ้นเพื่อการเกษตร นำมาศึกษาลักษณะและจำแนกชนิดตามระบบอนุกรมวิธานของหอยตามเอกสารของ Brandt (1974) และพบหอยน้ำสกุล *Clea* จำนวน 2 ชนิด ดังนี้

Phylum Mollusca

Class Gastropoda

Order Neogastropoda

Family Buccinidae

Genus *Clea*

Species *Clea helena* (Philippi, 1847)

Clea wykoffi (Brandt, 1974)

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Clea helena* (Philippi, 1847)

ชื่อพ้อง : *Anentome helelna*

ชื่อสามัญ : Assasin snail

ลักษณะสำคัญ

หอยเปลือกเดี่ยว เปลือกมีลักษณะเป็นทรงกรวยสูง (elongate conoidal) เปลือกแข็งและทึบแสง เปลือกชั้นบนสุดเป็นส่วนยอด (apex) ถูกสร้างขึ้นก่อนและเปลือกขดวนเป็นชั้นแต่ละชั้นเรียก วงเปลือก (whorl) เวียนเป็นเกลียวรอบแกนเปลือก (collumella) ในลักษณะเวียนขวา (dextral) และมีร่องระหว่างวงเปลือก (suture) ชั้นสุดท้ายของเปลือกมีขนาดใหญ่ที่สุดเรียกว่า วงเกลียวตัว (body whorl) มีความสูงประมาณ 2 ใน 3 ของความสูงเปลือก และมีปากเปลือก (aperture) ซึ่งเป็นช่องที่หอยยื่นหัวและแผ่นเท้าออกมาและเป็นทางให้น้ำและอากาศผ่านเข้าออก มีฝาปิด (operculum) สำหรับปิดปากเปลือก ลักษณะเป็นแผ่นแบนรูปวงรีคล้ายผลอัลมอนด์ (almond shaped) ช่วยป้องกันอันตรายจากศัตรูหรือรบกวนจากภายนอก ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยมีลักษณะเหมือนกันแตกต่างกันที่ขนาด และไม่สามารถจำแนกเพศได้จากลักษณะภายนอก

Clea helena มีจำนวนวงเปลือก 6-8 วง บางครั้งพบว่าส่วน apex อาจสึกกร่อน วงเปลือกอาจแบนหรือนูนโค้ง ความสูงเปลือกเฉลี่ย 19.35 มม. (11.91–23.65 มม.; 100 samples) ความกว้างวงเปลือกเฉลี่ย 9.23 มม. (7.37–11.47 มม.; 100 samples) เปลือกมีสีน้ำตาลเหลือง (olive-brown) หรือมีแถบสีน้ำตาลเข้ม (dark brown band) รอบวงเปลือก ซึ่งสามารถพบแถบสีได้ 3 บริเวณ ได้แก่ บริเวณร่องระหว่างวงเปลือก รอบวงเปลือก และที่ฐานของ body whorl ผิวด้านนอกของเปลือกเป็นลาย (sculpture) นูนขึ้นมา ได้แก่ สันนูนแข็งในแนวแกน (axial rib) โดยพบ 12-24 สันบน body whorl และช่วงวงเปลือกตอนบนพบเส้นรอบวง (spiral line) ขนาดเล็กละเอียดและค่อยๆ หยาบมาจนถึงบริเวณฐานของ body whorl ที่ฐานของ body whorl พัฒนาเป็นร่องท่อน้ำ (siphonal canal) มีความยาวประมาณ 2 ใน 3 ของความสูง body whorl มีร่องเปิดเพื่อใช้ยื่นงวง (siphon) ขณะเคลื่อนไหวหรือหาอาหาร งวงมี 2 อัน อันแรกเป็นส่วนที่ยื่นออกมาจาก siphonal canal พบได้ตลอดเวลาเมื่อมีการเคลื่อนที่เพื่อช่วยในการหาอาหาร หรือช่วยหายใจในกรณีที่ฝังตัวอยู่ที่พื้นทราย อีกอันเป็นอวัยวะในช่องปากพบเฉพาะช่วงที่มีการกินอาหาร โดยใช้ยื่นเข้าไปในตัวเหยื่อเพื่อดูดอาหารเข้าปาก

ถิ่นที่อยู่อาศัย

Clea helena พบอาศัยอยู่ในแหล่งน้ำธรรมชาติ แม่น้ำ หนอง บึง หรือแหล่งน้ำที่มนุษย์สร้างขึ้น เช่น เขื่อน คลองชลประทาน คลองส่งน้ำขนาดเล็ก โดยเกาะอยู่ตามพืชน้ำ เช่น ผักตบชวา เกาะที่ขอบปูนหรือขอบตลิ่งของแหล่งน้ำ หรือฝังตัวอยู่ตามพื้นทรายริมน้ำ พบอาศัยในน้ำนิ่งร่วมกับหอยน้ำหลายชนิด ได้แก่ *Radix* sp., *Indoplanorbis exuxtus*, *Lymnaea* sp. และ *Pomacaea canaliculata* แหล่งที่เก็บตัวอย่างมีค่าออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolved oxygen; Do) 4.3–9.4 mg/l ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 6.2-9 และอุณหภูมิ 22.1-34.4 องศาเซลเซียส

การแพร่กระจาย

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่าง *Clea helena* ตั้งแต่เดือนมกราคม – ตุลาคม 2559 พบในกระจายในแหล่งน้ำจืดทั่วทุกภาคของประเทศไทย ดังนี้

1. ภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดปทุมธานี ลพบุรี สุพรรณบุรี และเพชรบูรณ์
2. ภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย พะเยา
3. ภาคตะวันตก ได้แก่ จังหวัดราชบุรี และกาญจนบุรี
4. ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา ศรีสะเกษ อุบลราชธานี มหาสารคาม เลย และชัยภูมิ
5. ภาคตะวันออก ได้แก่ จังหวัดระยอง และชลบุรี
6. ภาคใต้ ได้แก่ จังหวัดสุราษฎร์ธานี

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Clea wykoffi* (Brandt, 1974)

ลักษณะสำคัญ

เปลือกเป็นรูปกรวย (conical) เปลือกแข็งแต่ไม่หนามาก เปลือกมีสีน้ำตาลเหลือง (olive-brown) ที่วงเปลือก body whorl มีแถบสีน้ำตาล 1 แถบคาดรอบวงเปลือกตำแหน่งต่ำกว่ากลางเปลือกลงไป เปลือกมีสันนูนแนวแกน (axial rib) รอบเปลือก ตัดกับเส้นรอบวงที่มีขนาดเล็กละเอียดที่บริเวณเปลือกช่วงบน และค่อยๆ หยาบมาจนถึงฐานวงเปลือกสุดท้าย จำนวนวงเปลือกทั้งหมดมี 5-6 วงเปลือก แต่ละวงเปลือกนูนออกค่อนข้างกลมและมีร่องแบ่งแต่ละเปลือกลึกและชัดเจน วงเกลียวตัวมีความสูง 2 ใน 3 ของความสูงเปลือก ที่ฐานของวงเกลียวตัวพัฒนาเป็นร่องท่อน้ำเป็นที่ยื่นของงวง (siphonal canal) ปากเปิดเปลือกรูปไข่ มีขนาด ½ เท่าของความสูงเปลือก ปากเปลือกด้านบนมีลักษณะเป็นมุมและค่อยๆ แผ่ขยายออกทางด้านล่าง ปากเปลือกด้านนอก (outer lip; peristome) บางและคมและค่อยๆ หนาเข้ามาด้านในจนถึงร่องท่อน้ำ

ลักษณะที่แตกต่างจาก *Clea helena* คือ วงเปลือกของ *Clea wykoffi* ค่อนข้างกลมกว่าและมีขนาดลดหลั่นขึ้นไปทางวงเปลือกด้านบน (spire) ลายนูนที่เปลือกบางกว่า และมีแถบสีน้ำตาล 1 แถบคาดรอบวงเกลียวตัว

การแพร่กระจาย

พบหอยชนิดนี้ที่แม่น้ำโขง อ.โขงเจียม จ.อุบลราชธานี โดยพบเกาะอยู่ขอบหินริมแม่น้ำ พบจำนวน 2 ตัวเท่านั้น และไม่สามารถเพาะเลี้ยงพันธุ์ในห้องปฏิบัติการได้

การศึกษาศักยภาพในการเป็นตัวห้ำหอยน้ำศัตรูพืช

คัดเลือกหอยน้ำศัตรูพืช 3 ชนิด ได้แก่ *Radix* sp. *Indoplanorbis* sp.และ *Physella* sp. โดยเลือกขนาดใกล้เคียงกัน เพื่อใช้เป็นอาหารของหอยน้ำสกุล สังเกตพฤติกรรมการกิน บันทึกจำนวนและขนาดของหอยศัตรูพืชที่ถูกกินทุกๆ 24 ชั่วโมง เก็บหอยศัตรูพืชตัวที่ถูกกินและเติมให้ครบ 10 ตัว เป็นเวลา 7 วัน เปรียบเทียบอัตราการกินของหอยตัวห้ำแต่ละชนิด ซึ่งงานวิจัยนี้ยังไม่สิ้นสุด ยังต้องศึกษาวิจัยต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

หอยน้ำสกุล *Clea* เป็นหอยน้ำที่มีพฤติกรรมล่าหอยน้ำตัวอื่นๆ เป็นอาหาร (carnivorous) ในต่างประเทศเริ่มมีการศึกษาด้านชีววิทยาและการเพาะเลี้ยง/แพร่ขยายพันธุ์ เพื่อประโยชน์ด้านการใช้ป้องกันกำจัดหอยศัตรูพืชและหอยที่ไม่ต้องการในพิพิธภัณฑ์สัตว์น้ำและในธุรกิจการเพาะเลี้ยงพรรณไม้น้ำ ในขณะที่ประเทศไทยมีข้อมูลการแพร่กระจายของหอยน้ำสกุล *Clea* ว่าเป็นหอยน้ำที่สามารถพบได้ตามแหล่งน้ำจืดกระจายทั่วทุกภาค จากการสำรวจและศึกษาศักยภาพหอยน้ำสกุล *Clea* ในการเป็นตัวห้ำหอยน้ำศัตรูพืช ดำเนินการสำรวจตั้งแต่เดือนมกราคม – ตุลาคม 2559 พบหอยน้ำสกุล *Clea* 2 ชนิด ได้แก่ ได้แก่ *Clea helena* ซึ่งเป็นชนิดที่พบได้ทุกภาคของประเทศไทย โดยอาศัยเกาะตามพืชน้ำ เกาะริมตลิ่ง หรือฝังตัวอยู่ในทรายหรืออยู่บนพื้นดินใกล้ฝั่ง และ *Clea wykoffi* พบเฉพาะที่จังหวัดอุบลราชธานีเท่านั้น จากนั้นจึงนำหอยน้ำสกุล *Clea* เพื่อศึกษาศักยภาพในการเป็นตัวห้ำหอยน้ำศัตรูพืชต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กรมทรัพยากรชายฝั่งทะเล. 2548. *ระบบนิเวศน้ำกร่อยแม่น้ำบางปะกง.* ศูนย์วิจัยทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งอ่าวไทยตอนบน, กระทรวงทรัพยากรและสิ่งแวดล้อม. 189 หน้า.

สุชาติ ผึ่งฉิมพลี และประสิทธิ์ นิยมไทย. 2555. *ความหลากหลาย ปริมาณและการแพร่กระจายของหอยน้ำจืดในแม่น้ำบางปะกงและแม่น้ำปราจีนบุรี.* กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 85 หน้า.

Beherendt, A.2009. *Anetomehelena*. A flexible predator amongst freshwater snails. *Datz*. 62(9): 35-37.

Brandt R.A.M. 1974. The non-marine aquatic Mollusca of Thailand. *Archivfür Molluskenkunde.* 105(1-4): 400-416.

Cameron, R.A.D. and Carter, M.A. 1979. Intra and Interspecific effects of population density on growth and activity in some Helicid land snails (Gastropoda: Pulmonata). *Journal of Animal Ecology.* 48:237-246.

Coelho, R.A., Dinis, T.M. and Reis, J. 2013. Effect of diet and stocking densities on life history traits of *Cleahelena* (Philippi 1847) reared in captivity. *J Aquac Res Development.* 4(5): 1-4.

Krailas, D., Chotesaengsri, S., Dechruksa, W., Namchote, S., Chuanprasit, C., Veeravechs ukij, N., Boonmekam, D. and Koonchornboon, T. 2012. Species diversity of aquatic mollusks and their cercarial infections; KhaoYai National Park, Thailand. *J Trop Med Parasitol.* 35(2):37-47.

Neeratanaphan, L. and Phalaraksh, C. 2008. Water quality and heavy metals contamination in sediment and edible mollusks at BuengJode reservoir, KhonKaen province. *KKU Res J.* 13(2): 197-207.

Schiffbauer, J. 2009. *Anetomehelena* (Merder, 1847) – the assassin snail. *Arthropoda.* 17(1): 60-65.

Smid, G.R. 2009. Biological control of harmful snails in aquaria using keongpenumbuh: *Anetomehelena* or *CleaHelena*. *Aquarium (Hilversum).* 79(2): 22-25.

Tesana, S. 2002. Diversity of mollusks in The Lam Ta Khong reservoir, Nakhon Ratchasima, Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 33(4): 733- 738.

การสำรวจและคัดเลือกเชื้อราสกุล *Aspergillus* ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดหอยศัตรูพืช

Survey and Isolation of Fungi Genus *Aspergillus* with Molluscicidal Activity.

อภินันท์ เอี่ยมสุวรรณสุข[1/] ณัฐฐิญา กาญจนนิธิพัฒน์[1/] ดาราพร รินทะรักษ์[1/]
ปราสาททอง พรหมเกิด[1/] ธิติยา สารพัฒน์[2/] มโนรัตน์ สุดสงวน[2/]
[1/] กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/] กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ดำเนินการศึกษา ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2558 ถึงเดือนกันยายน 2559 ออกเก็บตัวอย่างดินและหอยในพื้นที่ภาคเหนือ ได้แก่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ภาคตะวันออก ได้แก่ จังหวัดจันทบุรี ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา ได้ตัวอย่างดินทั้งหมด 5 ตัวอย่าง ทำการแยกเชื้อราสกุล *Aspergillus* ได้จากตัวอย่างดินทั้งหมดรวม 17 ไอโซเลต ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ 2 ไอโซเลต เชียงราย 3 ไอโซเลต นครราชสีมา 5 ไอโซเลต ขอนแก่น 2 ไอโซเลต เลย 1 ไอโซเลต ชัยภูมิ 1 ไอโซเลต ชุมพร 1 ไอโซเลต สุราษฎร์ธานี 2 ไอโซเลต และซึ่งจะดำเนินการเพิ่มปริมาณต่อในอาหารเหลวและทดสอบประสิทธิภาพการกำจัดหอยในห้องปฏิบัติการ และเก็บรักษาเชื้อราต่อไป

คำหลัก : เชื้อรา *Aspergillus* กำจัด หอยศัตรูพืช ประสิทธิภาพ คัดเลือก สำรวจ mollucicidal activity

---

รหัสการทดลอง 03-05-59-01-01-00-07-59

คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม มีการผลิตพืชนานาชนิดเพื่อบริโภคภายในประเทศและส่งออก ปีหนึ่งๆ ผลผลิตเกษตรสามารถทำรายได้ให้กับประเทศมากกว่าพันล้านบาท อย่างไรก็ตาม หอยศัตรูพืชเป็นหนึ่งในกลุ่มที่ทำความเสียหายให้กับพืชผัก ผลไม้ และไม้ดอกไม้ประดับ หอยทากบกหลายชนิดเช่น หอยทากยักษ์แอฟริกา (*Achatina fulica*) หอยทากสยามหรือหอยดักดาน (Cryptozona) หอยซัคซีเนีย (Succinea) เป็นต้นได้ทำความเสียหายให้กับพืชผัก และไม้ดอกไม้ประดับ หอยน้ำ เช่น หอยเชอรี่ (Pomacea) ทำความเสียหายแก่ข้าวและไม้น้ำหลายชนิด หอยคัน (Radix) ทำความเสียหายแก่ไม้น้ำประดับ เป็นต้น

การจัดการหอยศัตรูพืชโดยชีววิธี หมายถึง การใช้ศัตรูธรรมชาติ และวิธีทางไบโอเทคนิค ในการควบคุมหอยศัตรูพืช ศัตรูธรรมชาติที่สำคัญของหอยทากบก ได้แก่ ผู้ล่า เชื้อก่อโรคและปรสิต ผู้ล่าที่สำคัญได้แก่ นก สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม แมลงในอันดับ Diptera หอยนักล่า ตะขาบ กิ้งกือ โรคที่พบในหอยเกิดจากโปรโตซัว ราและแบคทีเรีย สำหรับปรสิตที่สำคัญได้แก่หนอนตัวกลม หนอนตัวแบน lung worm ด้วงดิน สปอโรซัว และตัวอ่อนของหิ่งห้อย (Sallam and El-Wakeil, 2012; Wilson, 2012; Barker, 2004)

เชื้อก่อโรคในหอย มีรายงานเกี่ยวกับเชื้อราเข้าทำลายไข่ของหอย เช่น *Pachonia chlamydosporium* เข้าทำลายไข่ของ *Deroceras reticulatum* และ *Arthrobotrys* sp. เข้าทำลายไข่ของ *Arion circumscriptus* กลุ่ม Microsporidia ที่มีรายงานได้แก่ *Steinhausia* sp. สามารถก่อให้เกิดโรคในหอย *Partula turgida* และ *Microsporidium novacastriensis* สามารถก่อให้เกิดโรคในหอย *D. reticulatum* กลุ่มแบคทีเรียที่มีรายงานว่าก่อโรคในหอยได้แก่ *Aeromonas hydrophila* ทำให้เกิดโรค leucodermia ในหอยและทาก เชื้อ *Bacillus pinottii* และ *Vibrio parahaemolyticus* สามารถก่อให้เกิดโรคในหอยน้ำ *Biomphalaria glabrata* เชื้อในสกุล *Escherichia Alcaligenes* และ *Bacillus* สามารถก่อให้เกิดโรคในหอย *Helix fram* สำหรับโปรโตซัวที่ก่อให้เกิดโรคในหอย *D. reticulatum* ได้แก่ *Tetrahymena rostrata* และ *T. limacis* หนอนตัวกลมที่มีประสิทธิภาพในการเป็นปรสิตและก่อให้เกิดโรคในหอยได้แก่ *Phasmarhabditis hermaphrodita* นอกจากนี้การใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ร่วมกับหนอนตัวกลม *Rhabditis* sp. สามารถใช้ควบคุมหอย *Eobania vermiculata* ในประเทศอียิปต์ (Sallam and El-Wakeil, 2012; Wilson, 2012) ในประเทศไทย Chobchuenchom and Bhumiratana (2003) ได้ทำการแยกเชื้อก่อโรคของหอยเชอรี่ *Pomacea canaliculata* พบว่าแบคทีเรีย *Pseudomonas fluorescens* และ *P. aeruginosa* ทำให้หอยเชอรี่ตายอย่างน้อย 80% ภายในเวลา 72 ชั่วโมง

นอกจากนี้ราและแบคทีเรียหลายชนิดสามารถสร้างสารประกอบที่มีฤทธิ์ฆ่าหอยได้ มีรายงานการเกี่ยวกับการค้นหาและคัดเลือกจุลินทรีย์ที่สร้างสารที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดหอยดังนี้ Stoessl *et al.* (1989) ได้สกัดสารกลุ่ม diterpenoid จาก *Cercospora traversiana* ซึ่งมีพิษต่อหอยและปลา ต่อมา Keller *et al.* (2002) ได้ทำการคัดเลือกเชื้อราจากประเทศในทวีปยุโรป 57

ตัวอย่าง นำมาทดสอบฤทธิ์ในการฆ่าแบคทีเรีย (bactericidal) รา (fungicidal) ตัวอ่อน (larvicidal) หอย (molluscicidal) และ antioxidant พบว่า linoleic acid ที่ได้จากเชื้อรามีฤทธิ์ในการกำจัดหอยได้ หลังจากนี้ Gao *et al*. (2008) พบว่า *Bacillus thuringiensis* บางสายพันธุ์จากประเทศจีนมีความเป็นพิษต่อหอย *Oncomelania hupensis* หลังจากนั้น Chen *et al*. (2009) นำราเอนโดไฟต์สายพันธุ์ JJ18 จากพืช *Pseudolarix kaempferi* มาสกัดสารและทดสอบฤทธิ์ในการฆ่าหอย ปรากฏว่ามีประสิทธิภาพในการกำจัด *O. hupensis* ถัดมา Guo *et al*. (2010) และ Guo *et al*. (2011) ได้แยกเชื้อราจากบริเวณไรโซสเฟียร์ของพืช *Phytolacca acinosa* พบเชื้อราสายพันธุ์ SL-30 ซึ่งสารสกัดของมันมีประสิทธิภาพในการกำจัด *O. hupensis* และได้ทำการหาสารออกฤทธิ์ปรากฏว่าเป็นสารกลุ่ม Gliotoxin ล่าสุด Molloy et al. (2013) ได้แยกเชื้อ *P. fluorescens* CL145A ซึ่งมีประสิทธิภาพในการควบคุมหอย *Dreissena polymorpha* และ *Dreissena rostriformis bugensis*

กรมวิชาการเกษตรได้ทำการวิจัยเพื่อป้องกันกำจัดหอยศัตรูพืชดังกล่าว ได้ข้อมูลเกี่ยวกับการป้องกันกำจัดโดยการใช้สารเคมี อย่างไรก็ตามยังคงมีข้อจำกัด เนื่องจากสารเคมีอาจมีการตกค้างในสิ่งแวดล้อมเป็นเวลานาน มีความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตที่ไม่ใช่กลุ่มเป้าหมาย เช่น หอย ปลา แมลง และสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ในระบบนิเวศเกษตร สารเคมีบางชนิดมีผลกระทบต่อพืชปลูก ทำให้พืชปลูกหยุดการเจริญเติบโตและตายลง อีกทั้งไม่สามารถประยุกต์ใช้กับระบบเกษตรอินทรีย์ซึ่งไม่ใช้สารเคมีเลย ทำให้ต้องหาทางเลือกใหม่สำหรับการป้องกันกำจัดหอยทากบกศัตรูพืชโดยไม่ใช้สารเคมี หนึ่งในทางเลือกที่สามารถทำได้คือ การจัดการศัตรูพืชโดยชีววิธี

การจัดการศัตรูพืชโดยชีววิธี จะใช้สิ่งมีชีวิตหรือผลผลิตจากสิ่งมีชีวิตไปกำจัดสิ่งมีชีวิตอีกชนิดหนึ่ง ทั้งนี้เชื้อรามีความน่าสนใจที่จะนำมาใช้ เนื่องจากเชื้อรามีความหลากหลายทางชีวภาพสูง หลายชนิดสามารถสร้างสารเมตาโบไลต์ทุติยภูมิหลายชนิด ซึ่งมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย เช่น การต้านเชื้อแบคทีเรีย (anti-bacteria) การต้านเซลล์มะเร็ง (anti-cancer) การฆ่าแมลง (insecticide) และการฆ่าหอย (molluscicide) ดังนั้นการศึกษานี้จะทำการค้นหาและคัดเลือกชนิดของเชื้อราสกุล Aspergillus ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดหอยทากบกศัตรูพืช ผลจากการศึกษานี้จะทำให้ได้เชื้อราที่มีประสิทธิภาพนำไปพัฒนาต่อ สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการอ้างอิงเชิงวิชาการ และมีความจำเป็นต่อการนำไปใช้จัดการหอยทากบกศัตรูพืชโดยไม่ใช้สารเคมีหรือระบบเกษตรอินทรีย์ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. กล่องพลาสติกขนาดต่างๆ กระดาษอเนกประสงค์
2. เวอร์เนีย (เครื่องมือวัดขนาดเปลือกหอย)
3. กล้องถ่ายรูปดิจิตอล
4. เครื่อง PCR
5. อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

6. ยาฆ่าหอย
7. เครื่อง UV transilluminator
8. เครื่อง autoclave
9. เครื่องอบความร้อน
10. เครื่องแก้วขนาดต่างๆ

วิธีการ

1) เก็บตัวอย่างดินและหอย

สุ่มเก็บตัวอย่างดินจากระบบนิเวศและสิ่งแวดล้อมที่หอยอาศัยอยู่ บันทึกลักษณะของระบบนิเวศและชนิดหอยที่พบบริเวณนั้น เก็บตัวอย่างหอยทากบกศัตรูพืชโดยใช้หอยดักดาน Cryptozona เมื่อใช้ทดสอบ วัดความกว้าง (shell height - SH) และความยาวเปลือก (shell width - SW)

2) การคัดแยกเชื้อราและทดสอบประสิทธิภาพ

2.1) การคัดแยกเชื้อรา

ในการศึกษานี้เลือกใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ 2 ชนิด ได้แก่ Rose Bengal Agar ซึ่งถือเป็นอาหารคัดเลือก (selective medium) จุลินทรีย์กลุ่มรา (mold) ยีสต์และ actinomycetes (Martin, 1950; Guo et al., 2010) และ Nutrient agar ซึ่งถือเป็นอาหารเพิ่มจำนวน (enrich medium)

สูตรการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Rose Bengal agar

Peptone	5	กรัม
Dextrose	10	กรัม
Monopotassium Phosphate	1	กรัม
Magnesium Sulfate	0.5	กรัม
Rose Bengal	0.05	กรัม
Agar	15	กรัม

นำสารมาชั่งและลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที รอให้เย็นลงประมาณ 40 ถึง 45 องศาเซลเซียส เติมสารละลาย chloramphenicol (0.1 กรัมchloramphenicol ใน 4 มิลลิลิตร ethanol) ลงไป 4 มิลลิลิตร

การเตรียมอาหารเหลว Rose Bengal broth ใส่สารตามสูตรการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อด้านบนยกเว้น agar และทำการเติมสารละลาย chloramphenicol เช่นเดียวกัน

สูตรการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar

Peptone	5	กรัม
beef extract	3	กรัม
NaCl	5	กรัม
Agar	15	กรัม

นำสารมาชั่งและลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที รอให้เย็น ปรับ pH ให้เป็น 7.0 ด้วย 0.1 M HCl หรือ 0.1 M NaOH

วิธีการคัดแยกเชื้อราดัดแปลงจาก Guo *et al.* (2010) โดยนำตัวอย่างดินที่เก็บได้มา 10 กรัม ใส่ลงไปในหลอดทดลองที่บรรจุน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 100 มิลลิลิตร (หลอดนี้ถือว่ามีความเข้มข้น 10-1) เจือจางทีละ 10 เท่า โดยนำสารจากหลอดความเข้มข้น 10-1 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดดลองที่บรรจุน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 90 มิลลิลิตร ทำเช่นนี้จนได้ความเข้มข้น 10-2 10-3 10-4 10-5 และ 10-6 จากนั้นนำสารไปเคลือบบนผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งในจานเพาะเชื้อดังนี้

- นำสารปริมาตร 0.1 มิลลิลิตรจากหลอดที่มีความเข้มข้น 10-2 10-3 10-4 ไปเคลือบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Rose Bengal Agar
- นำสารปริมาตร 0.1 มิลลิลิตรจากหลอดที่มีความเข้มข้น 10-4 10-5 10-6 ไปเคลือบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar (NA)

หลังจากนั้นบ่มไว้ประมาณ 3-7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นำเส้นใยของเชื้อราที่เจริญขึ้นมาถ่ายไปยังอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งจานใหม่ จนได้โคโลนีเดี่ยวของเชื้อราที่บริสุทธิ์ และนำมาตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบตาประกอบ สังเกตขนาด พื้นผิวของโคโลนี และลักษณะอื่นๆ

นำเชื้อราที่คัดแยกมาได้มาบ่มต่อใน Rose Bengal broth จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนเซลล์ออก นำส่วนน้ำใสมาปรับ pH ให้เป็นกลางด้วย 0.1 M NaOH หรือ 0.1 M HCl หลังจากนั้นนำไปเจือจางความเข้มข้น 100% 50% และ 25% และนำไปทดสอบประสิทธิภาพต่อไป

2.2) ทดสอบประสิทธิภาพ

นำหอยที่ได้จากในข้อ 13.1 ใส่ลงในกล่องพลาสติกขนาด 13 x 13 เซนติเมตร สูง 10 เซนติเมตร ภายในบรรจุดินหนา 5 เซนติเมตร กล่องละ 5 ตัว วางแผนการทดลองแบบ CRD 5 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นสารละลายจากเชื้อรา เข้มข้น 100%

กรรมวิธีที่ 2 พ่นสารละลายจากเชื้อรา เข้มข้น 50%

กรรมวิธีที่ 3 พ่นสารละลายจากเชื้อรา เข้มข้น 25%

กรรมวิธีที่ 4 พ่นสารละลาย 80% WP metaldehyde เข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 5 พ่นน้ำเปล่า (กรรมวิธีควบคุม)

สังเกตและนับจำนวนหอยที่ตายหลังเวลาผ่านไป 24 48 72 และ 96 ชั่วโมง เปรียบเทียบจำนวนหอยที่ตายด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ด้วยโปรแกรม IRRISTAT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และ 99%

นำเชื้อราที่มีประสิทธิภาพสูง (สารละลายทำให้หอยตาย 100% ภายใน 24 ชั่วโมง) มาถ่ายเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งจานใหม่ รอจนเชื้อเจริญเต็มที่ นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ทำการเตรียมเชื้อราเพื่อการเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลวตามวิธีการของ ATCC โดยนำหลอดพลาสติกขนาดเล็กบรรจุสารละลาย glycerol 10% นึ่งฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และหลอดพลาสติกขนาดเล็กบรรจุสารละลาย skim milk 20% นึ่งฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร กรณีของราที่สร้างสปอร์ ให้นำสปอร์มาเก็บรักษาในหลอดที่บรรจุ skim milk และราที่ไม่สร้างสปอร์ ให้นำสปอร์มาเก็บรักษาในหลอดที่บรรจุ glycerol และนำเก็บในไนโตรเจนเหลวเพื่อรอการผลิตขยายต่อไป

3) การระบุชนิดและยืนยันผล

นอกจากศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของโคโลนีเพื่อทำการระบุชนิดแล้ว ยังยืนยันผลด้วยวิธีทางอณูชีววิทยา โดยเพิ่มปริมาณยีน rDNA-ITS อ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ หลังจากนั้นทำการเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลใน GenBank และยืนยันผลด้วยการสร้าง phylogenetic tree

3.1) การสกัดดีเอ็นเอ

นำเส้นใยเชื้อรามาสกัดดีเอ็นเอโดยชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป ตรวจวัดคุณภาพของดีเอ็นเอด้วยวิธีเจลอิเล็กโตรโฟริซิส โดยเตรียมอะกาโรสเจล ความเข้มข้น 1% และนำไปใส่ในกล่องที่บรรจุทีบีอีบัฟเฟอร์ ผสมดีเอ็นเอกับสีย้อมในอัตราส่วน 1:5 และนำไปหยอดลงในหลุมของอะกาโรสเจล เปิดให้กระแสไฟฟ้าวิ่งผ่านที่ความต่างศักย์ 80 โวลต์เป็นเวลา 30 นาที นำอะกาโรสเจลมาย้อมด้วยเอทิเดียมโบรไมด์และนำไปส่องดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงยูวี เทียบขนาดกับดีเอ็นเอมาร์กเกอร์ หลังจากนั้นนำดีเอ็นเอที่สกัดได้ไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

3.2) การเพิ่มปริมาณยีน rDNA-ITS ด้วยพีซีอาร์

ทำการเพิ่มปริมาณยีน rDNA-ITS ซึ่งนิยมใช้เพื่อการระบุสกุลและชนิดของเชื้อราด้วยวิธีพีซีอาร์โดยใช้คู่ไพร์เมอร์ตามวิธีการของ Korabecna (2007) แต่ละไพร์เมอร์มีลำดับนิวคลีโอไทด์ดังนี้ ITS1 (5´TCC GTA GGT GAA CCT TGC GG 3´) และ ITS4 (5´TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC 3´)

ปฏิกิริยาพีซีอาร์ปริมาตร 50 µl ประกอบด้วยสารเคมีต่อไปนี้

10x buffer	5	µl
10 mM dNTP mix	1	µl
10 µM LCO1490 primer	1.5	µl
10 µM HCO2198 primer	1.5	µl
2 U/µl DyNazyme II Taq polymerase	0.5	µl
template DNA (ดีเอ็นเอของรา)	1	µl
น้ำกลั่นปลอดประจุปลอดเชื้อ	39.5	µl

นำสารทั้งหมดใส่ในหลอดพีซีอาร์และผสมให้เข้ากัน หลังจากนั้นนำไปใส่ในเครื่อง thermocycler ภายใต้อุณหภูมิดังนี้

- ช่วงเริ่มต้น

95°C เป็นเวลา 5 นาที 1 รอบ

- ช่วงเพิ่มปริมาณ

a) 95°C เป็นเวลา 1 นาที

b) 50°C เป็นเวลา 1 นาที

c) 72°C เป็นเวลา 1 นาที

ทำซ้ำเรียงตามลำดับจาก a) ถึง c) 35 รอบ

- ช่วงสุดท้าย

72°C เป็นเวลา 10 นาที 1 รอบ

หลังจากนั้นนำสารผสมดีเอ็นเอที่ผ่านการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ไปตรวจสอบว่ามีผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่ต้องการเกิดขึ้นหรือไม่ โดยเตรียมอะกาโรสเจล ความเข้มข้น 1.8% และนำไปใส่ในกล่องที่บรรจุทีบีอีบัฟเฟอร์ ผสมสารผสมดีเอ็นเอกับสีย้อมในอัตราส่วน 1:5 และนำไปหยอดลงในหลุมของอะกาโรสเจล เปิดให้กระแสไฟฟ้าวิ่งผ่านที่ความต่างศักย์ 80 โวลต์เป็นเวลา 30 นาที นำอะกาโรสเจลมาย้อมด้วยเอทิเดียมโบรไมด์และนำไปส่องดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงยูวี เทียบขนาดกับดีเอ็นเอมาร์กเกอร์ ถ้ามีผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่ต้องการขนาดประมาณ 600 คู่เบสเกิดขึ้นให้นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสรอการอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ต่อไป

3.3) การอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์

นำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ไปอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเครื่อง automated sequencer ที่มีให้บริการโดยบริษัทเอกชนที่รับจ้างอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จะนำไปวิเคราะห์และสร้างสร้างแผนภูมิต้นไม้ต่อไป

3.4) การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และสร้างแผนภูมิต้นไม้

นำไฟล์ที่ได้จากการอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเครื่อง automated sequencer มาวิเคราะห์และตัดบริเวณสัญญาณรบกวนออก เพื่อให้ได้ไฟล์ที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน coxI ทุกตัวอย่างหลังจากนั้นนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาจัดเรียงด้วยโปรแกรม MAFFT version 7 (Katoh and Standley, 2013) ทำการเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลใน GenBank โดยใช้โปรแกรม BLAST หลังจากนั้นนำมาสร้างแผนภูมิต้นไม้แสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการด้วยวิธีการ 3 วิธี ดังนี้

3.4.1) วิธี neighbor-joining

นำลำดับนิวคลีโอไทด์ไปสร้างแผนภูมิต้นไม้ด้วยวิธี neighbor-joining (Saitou and Nei, 1987) โดยใช้โปรแกรม MEGA version 5.1 (Tamura *et al.*, 2011) โดยใช้โมเดล Kimura-2 parameter และทดสอบความเชื่อมั่นของกิ่งด้วยวิธีบูทสแทร็ป 1,000 ซ้ำ

3.4.2) วิธี maximum likelihood

นำลำดับนิวคลีโอไทด์ไปทดสอบหาโมเดลที่เหมาะสมด้วยโปรแกรม jModeltest version 2 (Darriba *et al.*, 2012) และนำไปสร้างแผนภูมิต้นไม้ตามโมเดลที่เหมาะสมด้วยโปรแกรม PhyML version 3 (Guindon *et al.*, 2010) และทดสอบความเชื่อมั่นของกิ่งด้วยวิธีบูทสแทร็ป 1,000 ซ้ำ

3.4.3) วิธี Bayesian inference

นำลำดับนิวคลีโอไทด์ไปสร้างแผนภูมิต้นไม้ตามโมเดลที่เหมาะสมด้วยโปรแกรม MrBayes version 3.2.1 (Ronquist and Huelsenbeck, 2003) โดยตั้งค่า MCMC chain เท่ากับ 10,000,000 รอบ และตัด burn-in ออก 25% ก่อนสร้างแผนภูมิ

นำแผนภูมิที่ได้จากทั้ง 3 วิธีมารวมให้เป็นแผนภูมิเดียว เปรียบเทียบกับลำดับ นิวคลีโอไทด์ใน GenBank

การบันทึกข้อมูล

บันทึกลักษณะของโคโลนีเชื้อราที่แยกได้ สภาวะที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง ได้แก่ สูตรอาหาร ความเข้มข้น อุณหภูมิ ประสิทธิภาพของเชื้อราในการทำให้หอยตายเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม

เวลาและสถานที่

ดำเนินการทดลองตั้งแต่เดือนตุลาคม 2558 – กันยายน 2559 โดยเก็บตัวอย่างดินและหอยตามธรรมชาติและแปลงปลูกทั่วประเทศไทย นำมาแยกเชื้อและทดสอบ ณ กลุ่มงานวิจัยสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา และกลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

วางแผนการเก็บตัวอย่าง และได้อุปกรณ์สำหรับจัดเก็บตัวอย่าง จัดซื้อจัดหาอาหารเลี้ยงเชื้อ สารเคมี และเครื่องแก้วสำหรับใช้แยกเชื้อราได้

ออกเก็บตัวอย่างดินและหอยในพื้นที่ภาคเหนือ ได้แก่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ภาคตะวันออก ได้แก่ จังหวัดจันทบุรี ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา ได้ตัวอย่างดินทั้งหมด 5 ตัวอย่าง

ทำการแยกเชื้อราสกุล *Aspergillus* ได้จากตัวอย่างดินจังหวัดเชียงใหม่ 2 ไอโซเลต เชียงราย 3 ไอโซเลต นครราชสีมา 5 ไอโซเลต ขอนแก่น 2 ไอโซเลต เลย 1 ไอโซเลต ชัยภูมิ 1 ไอโซเลต ชุมพร 1 ไอโซเลต สุราษฎร์ธานี 2 ไอโซเลต และซึ่งจะดำเนินการเพิ่มปริมาณต่อในอาหารเหลวและทดสอบประสิทธิภาพการกำจัดหอยในห้องปฏิบัติการ และเก็บรักษาเชื้อราต่อไป

ลักษณะโคโลนีของเชื้อราชนิดนี้มีสีขาว เหลือง หรือน้ำตาล สปอร์มีสีเขียว ดำ หรือน้ำตาล เจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อ Rose Bengal Agar ภายใน 3 ถึง 5 วัน โดยมากพบระยะสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยจะสร้างอวัยวะสืบพันธุ์ที่เรียกว่า Conidiophore ซึ่งจะสร้าง conidia ซึ่งมีรูปร่างคล้ายน้ำพุ

เก็บตัวอย่างหอยได้น้อยมากในช่วงเดือนพฤศจิกายน ถึงเมษายน เนื่องจากเป็นช่วงฤดูแล้ง และเก็บตัวอย่างหอยได้มากขึ้นในเดือนพฤษภาคมและมิถุนายน ทั้งนี้สามารถเก็บตัวอย่างหอยดักดานได้

เป็นจำนวนมากในช่วงเดือนสิงหาคมและกันยายน และจะดำเนินการเลี้ยงเพื่อทดสอบประสิทธิภาพต่อไป

งานวิจัยนี้ยังไม่สิ้นสุด ยังต้องศึกษาวิจัยต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ATCC. Preservation and recovery of filamentous fungi. Tech bulletin no. 2.

Barker, G. M., editor. 2004. Natural Enemies of Terrestrial Molluscs. CABI publishing.

Chen, J., Han, B-X., Guo, S-B., Wang, Y., He, J., Zhou, X-K., Yang, X., and Han, F-A. 2009. Molluscicidal activity against *Oncomelania hupensis* of endophyte JJ18 from *Pseudolarix kaempferi* Gord. Pharmacognosy Research 1(6): 421-427.

Chobchuenchom, W., and Bhumiratana, A. 2003. Isolation and Characterization of Pathogens Attacking *Pomacea canaliculata*. World Journal of Microbiology & Biotechnology 19: 903–906.

Darriba, D., Taboada, G. L., Doallo, R. and Posada, D. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. Nature Methods 9(8): 772.

Gao, M., Li, R., Dai, S., Wu, Y., and Yi, D. 2008. Diversity of *Bacillus thuringiensis* Strains from Soil in China and Their Pesticidal Activities. Biological Control 44: 380–388.

Guindon S., Dufayard J.F., Lefort V., Anisimova M., Hordijk W., Gascuel O. 2010. New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. Systematic Biology, 59(3): 307-321.

Guo, D., Chen, J., Du, X., and Han. B. 2010. Screening Of Molluscicidal Strain Against *Oncomelania hupensis* From Rhizosphere Of Medicinal Plant *Phytolacca acinosa* Roxb. Pharmacognosy Magazine 6(23): 159-165.

Guo, D., Chen, J., Liu, Y., Yao, H., Han, F-A., and Pan, J. 2011. A high-performance molluscicidal ingredient against *Oncomelania hupensis* produced by a rhizospheric strain from *Phytolacca acinosa* Roxb. Pharmacognosy Magazine 7(28): 277–283.

Katoh, K. and Standley, D. M. 2013. MAFFT Multiple sequence alignment software version 7: Improvements in performance and usability. Molecular biology and evolution 30(4): 772-780.

Korabecna, M. 2007. The Variability in the Fungal Ribosomal DNA (ITS1, ITS2, and 5.8 S rRNA Gene): Its Biological Meaning and Application in Medical Mycology. In Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology, A. Méndez-Vilas, Editor. Formatex.

Keller, C., Maillard, M., Keller J., and Hostettmann, K. 2002. Screening of European Fungi for Antibacterial, Antifungal, Larvicidal, Molluscicidal, Antioxidant and Free-Radical Scavenging Activities and Subsequent Isolation of Bioactive Compounds. Pharmaceutical Biology 40(7): 518-525.

Martin, J. P. 1950. Use of Acid, Rose Bengal, and Streptomycin in the Plate Method for Estimating Soil Fungi. Soil Science 69: 215-232.

Molloy, D. P., Mayer, D. A., Gaylo, M. J., Morse, J. T., Presti, K. T., Sawyko, P. M., Karatayev, A. Y., Burlakova, L. E., Laruelle, F., Nishikawa, K. C., and Griffin, B. H. 2013. *Pseudomonas fluorescens* strain CL145A – A Biopesticide for the Control of Zebra and Quagga Mussels (Bivalvia: Dreissenidae). Journal of Invertebrate Pathology 113: 104–114.

Ronquist, F. and Huelsenbeck, J. P. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. Bioinformatics 19(12): 1572-1574.

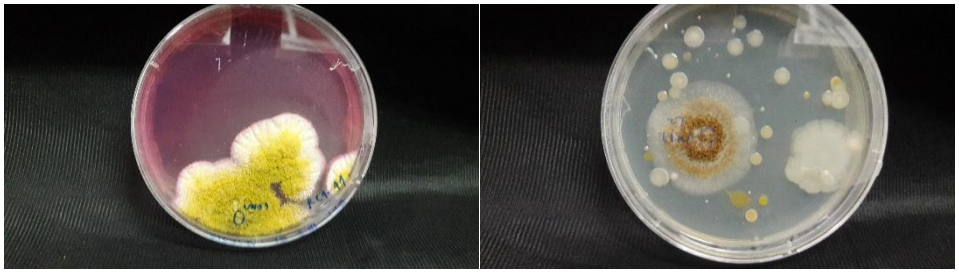
Saitou, N. and Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. Molecular Biology and Evolution 4(4): 406-425.

Sallam, A., and El-Wakeil, N. 2012. Biologicaland Ecological Studies on Land Snails and Their Control, Integrated Pest Management and Pest Control - Current and Future Tactics. Soloneski, S. Editor. InTech.

Stoessl, A., Cole, R. J., Abramowski, Z., Lester, H. H., and Towers, G. H. N. 1989. Some Biological Properties of Traversianal, a Strongly Molluscicidal Diterpenoid Aldehyde from *Cercospora traversiana*. Mycopathologia 106: 41-46.

Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M. and Kumar, S. 2011. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. Molecular biology and evolution 28: 2731-2739.

Wilson, M. J. 2012. Chapter XIII Pathogens and Parasites of Terrestrial Molluscs. In Manual of Techniques in Invertebrate Pathology. Elsevier.



รูปที่ 1 (ซ้าย และขวา) แสดงลักษณะของโคโลนีเชื้อรารูปแบบต่างๆ ที่แยกได้

การคัดเลือกและทดสอบเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีศักยภาพในการควบคุมเชื้อรา *Didymella bryoniae* สาเหตุโรคยางไหล

Screening and Control Efficacy of Antagonist Fungal for Controlling Gummy Stem Blight Disease caused by *Didymella bryoniae*

ทัศนาพร ทัศคร วัชรี วิทยวรรณกุล อภิรัชต์ สมฤทธิ์

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ในปี 2558-2559 ได้สำรวจและเก็บตัวอย่างต้นแตงแคนตาลูป และแตงเมล่อนที่ปกติ 10 ตัวอย่าง ต้นที่แสดงอาการโรคยางไหล 10 ตัวอย่าง และสุ่มเก็บตัวอย่างดิน 10 ตัวอย่าง ในพื้นที่ปลูกเกษตรกร จ.สุพรรณบุรี สระแก้ว และพะเยา เพื่อแยกหาเชื้อราปฏิปักษ์จากต้นพืชและดิน ซึ่งจากตัวอย่าง สามารถแยกได้เชื้อรา *Trichoderma* sp. จากดิน จำนวน 31 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท TC59-01 – TC59-031 และได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ที่คัดเลือกได้ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *D. bryoniae* สาเหตุโรคยางไหลในแตงเมล่อน พบว่า เชื้อราปฏิปักษ์ทั้ง 31 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพดีมากในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค และกลไกที่สำคัญในการยับยั้งเป็นแบบการแข่งขัน

คำหลัก : โรคยางไหล *Didymella bryoniae* การป้องกันกำจัดโรคโดยชีววิธี แตงเมล่อน

รหัสการทดลอง 03-05-59-01-02-00-01-59

คำนำ

พืชตระกูลแตง (cucurbitaceae) เป็นพืชเศรษฐกิจที่นิยมปลูกกันมากในทุกประเทศ ซึ่งมีหลายชนิดได้แก่ แตงกวา แตงร้าน ฟัก แฟง ฟักทอง มะระ บวบ แตงโม แตงเทศ (แคนตาลูป) และแตงเมล่อน เป็นต้น พืชตระกูลแตงที่นิยมปลูกในประเทศไทย มีทั้งเพื่อรับประทานผลสดและเพื่อผลิตเมล็ดพันธุ์ส่งต่างประเทศ ในการผลิตเมล็ดพันธุ์พืชตระกูลแตงเพื่อการส่งออกนั้นเกษตรกรจะปลูกพันธุ์พ่อและพันธุ์แม่จากเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ จึงอาจส่งผลให้เกิดปัญหาโรคของพืชตระกูลแตงเพิ่มมากขึ้น อาจเนื่องมาจากเมล็ดพันธุ์ไม่สะอาด มีการปนเปื้อนของเชื้อสาเหตุของโรคมากับเมล็ดพันธุ์ เมื่อนำเมล็ดที่มีเชื้อสาเหตุโรคมาปลูกจะทำให้เกิดการแพร่ระบาดของเชื้อสาเหตุโรคในแปลงปลูกด้วย (จุมพล และอรพรรณ, 2532) ซึ่งโรคที่สำคัญและทำความเสียหายให้กับพืชตระกูลแตงคือ โรคราแป้ง โรคราน้ำค้าง โรคแอนแทรคโนส โรคต้นแตกยางไหล และโรคเหี่ยวเหลืองของแตงเทศ

โรคยางไหล (Gummy Stem Blight) เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Didymella bryoniae* (Auersw.) Rehm. เป็นโรคสำคัญที่พบมีการระบาดและเข้าทำลายในพืชตระกูลแตง ประเทศไทยพบมีการระบาดในพืชตระกูลแตง ในพื้นที่ปลูกทางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ลักษณะอาการของโรคเริ่มแรกจะพบแผลฉ่ำน้ำที่บริเวณ ลำต้น กิ่ง ก้าน และใบ โดยเฉพาะบริเวณข้อต่อของลำต้นกับกิ่ง ลักษณะสำคัญของโรคคือ ที่แผลจะมียางเหนียวสีแดง (gummy ooze) ไหลเยิ้มออกมาจากแผล และเกาะแห้งอยู่ที่บริเวณแผล ซึ่งด้วยลักษณะอาการของโรคเช่นนี้ จึงได้มีการตั้งชื่อโรคตามอาการโรคที่พบ คือ โรคยางไหล ถ้าโรคมีการระบาดในระยะที่ติดผล จะทำให้ต้นแตงมีการเจริญเติบโตช้า ผลโตไม่เต็มที่ และในต้นที่อาการรุนแรงมาก ต้นจะเหี่ยวแห้งและยืนต้นตาย ทำให้ผลผลิตที่ได้ลดลง บางครั้งเกษตรกรจึงรีบเก็บผลผลิตก่อน ทั้งที่แตงยังสุกไม่เต็มที่ทำให้ผลผลิตของแตงไม่ได้คุณภาพ (ทัศนาพร และพีระวรรณ, 2552)

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

การป้องกันกำจัดโรคมีหลายวิธีด้วยกัน เช่น การเขตกรรมโดยการไถตากดินเพื่อฆ่าเชื้อโรคในดิน การปลูกพืชหมุนเวียนที่ไม่ใช่พืชอาศัยเพื่อตัดวงจรของเชื้อราสาเหตุโรคพืช การใช้พันธุ์ต้านทาน และการใช้สารเคมี สำหรับการใช้พันธุ์ต้านทานนั้นมีค่าใช้จ่ายสูงอีกทั้งการใช้สารเคมีทำให้ต้นทุนการผลิตสูง และเกิดการตกค้างของสารเคมีในพืช สภาพแวดล้อม รวมไปถึงเกษตรกรเอง เพื่อหลีกเลี่ยง

ปัญหาดังกล่าว ปัจจุบันได้มีการศึกษาการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีอย่างกว้างขวาง Sudisha และคณะ (2005) ได้ทดสอบผลของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ 2 ชนิด คือ เชื้อรา *T. hazianum* และ*Pseudomonas fluorescens* ในการควบคุมเชื้อรา *D. bryoniae* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิด สามารถยับยั้งการเกิดโรคได้และเพิ่มผลผลิตของแคนตาลูปด้วย และ Abd-El-Moity และคณะ (2009) ได้รายงานว่า การใช้เชื้อ *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis* ผสมร่วมกับเชื้อรา *T. hazianum* ในการป้องกันกำจัดโรคที่เกิดจากเชื้อราในพืชตระกูลแตงได้ดีเช่นเดียวกัน การเลือกใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคก็เป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการลดการใช้สารเคมีได้ ดังนั้นเพื่อให้การป้องกันกำจัดโรคยางไหลมีประสิทธิภาพและสามารถนำไปสู่การจัดการโรคแบบผสมผสานได้ จึงมีความจำเป็นที่จะต้องศึกษาและทดสอบเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีศักยภาพในการป้องกันกำจัดโรคยางไหลของพืชตระกูลแตง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อาหารเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการ
2. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติก กล่องเก็บความเย็น ปากกา กรรไกร ฯลฯ
3. อุปกรณ์เครื่องมือ และเครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการ
4. กล้องถ่ายภาพ

วิธีการ

1. การคัดเลือกเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีศักยภาพในการควบคุมเชื้อ *Didymella bryoniae* ในห้องปฏิบัติการ

1. การแยกเชื้อราปฏิปักษ์

เก็บตัวอย่างต้นพืชตระกูลแตง ที่แสดงอาการเป็นโรค และต้นที่ปกติ จากแหล่งปลูกที่สำคัญ เพื่อนำมาแยกหาเชื้อราปฏิปักษ์โดยวิธี leaf washing technique และเก็บตัวอย่างดินมาแยกหาเชื้อราปฏิปักษ์โดยวิธี Soil dilution plate โดยชั่งดิน จำนวน 10 กรัม ใส่ลงในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 90 มิลลิลิตร เขย่านาน 30 นาที จากนั้นนำสารแขวนลอยที่ได้ไปทำให้เจือจางโดยวิธี tenfold serial dilution โดยใช้ความเข้มข้นที่ 10^{-5}- 10^{-6} เท่าและใช้ micropipette ดูดสารละลายในแต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหาร Martin's Medium, NGA และ PDA จำนวน 4 ซ้ำต่อตัวอย่าง ใช้แท่งแก้วงอกระจายให้ทั่วผิวหน้าอาหาร บ่มเชื้อ 24 ชั่วโมง เมื่อมีราเจริญบนอาหาร ทำการบันทึกลักษณะของเชื้อ และแยกเชื้อเก็บไว้ให้บริสุทธิ์ เพื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งของเชื้อราปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *D. bryoniae* ในห้องปฏิบัติการต่อไป

2. การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย เชื้อรา *Didymella bryoniae* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย เชื้อรา *D. bryoniae* ในห้องปฏิบัติการโดยวิธี Dual Culture technique โดย เลี้ยงเชื้อรา *D. bryoniae* บนอาหาร PDA

อายุ 5 วัน ใช้ cock borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 ซ.ม เจาะเส้นใย รา *D. bryoniae* ย้ายไปวางห่างจากขอบจาน 1 ซ.ม. จากนั้นนำเชื้อราปฏิปักษ์ที่แยกได้จากข้อที่ 1 ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 5 วัน ใช้ cock borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 ซ.ม เจาะเส้นใย และย้ายไปวางห่างจากขอบจาน 1 ซ.ม. เช่นเดียวกัน โดยให้เชื้อราทั้งสองอยู่ตรงข้ามกัน ทำการบันทึกผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา โดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อรา *D. bryoniae* และขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราปฏิปักษ์ คัดเลือกเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยไว้ เพื่อการทดสอบขั้นตอนต่อไป

2. การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราปฏิปักษ์ในการควบคุมเชื้อรา *Dydimella bryoniae* สาเหตุโรคยางไหลในสภาพโรงเรือนทดลอง

เพาะกล้าและปลูกแตงเมล่อนหรือแคนตาลูปลงในกระถางเพื่อใช้ในการทดสอบ โดยใช้เชื้อราปฏิปักษ์ที่คัดเลือกได้จากข้อ 2 จำนวน 5 ไอโซเลท ในการทดสอบ โดย วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 ซ้ำ ซ้ำละ 20 ต้น 6 กรรมวิธีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 แช่เมล็ดแตงและพ่นด้วยเชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลทที่ 1
กรรมวิธีที่ 2 แช่เมล็ดแตงและพ่นเชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลทที่ 2
กรรมวิธีที่ 3 แช่เมล็ดแตงและพ่นชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลทที่ 3
กรรมวิธีที่ 4 แช่เมล็ดแตงและพ่นเชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลทที่ 4
กรรมวิธีที่ 5 แช่เมล็ดแตงและพ่นเชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลทที่ 5
กรรมวิธีที่ 6 แช่เมล็ดแตงและพ่นน้ำเปล่า (กรรมวิธีควบคุม)

1. ทำการแช่เมล็ดแตงทดสอบลงในสารแขวนลอยสปอร์เชื้อราแต่ละกรรมวิธี นาน 30 นาที แล้วผึ่งเมล็ดให้แห้ง จากนั้นนำเมล็ดไปปลูก จำนวน 10 เมล็ดต่อซ้ำ ทั้งหมด 4 ซ้ำ บันทึกการงอกและเปอร์เซนต์การเกิดโรคหลังการทดลอง 5 วัน

2. เมื่อต้นแตงมีอายุประมาณ 30 วัน ทำการปลูกเชื้อรา *D. bryoniae* สาเหตุโรคยางไหลด้วยวิธี toothpick's technique ที่บริเวณลำต้น นำกระถางที่ปลูกเชื้อสาเหตุโรคแล้วใส่ลงในถุงพลาสติกใส เพื่อบ่มเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำ spore suspension เชื้อราปฏิปักษ์ที่คัดเลือกได้แต่ละไอโซเลท ที่ความเข้มข้น 10^8 สปอร์/ม.ล. ไปพ่นให้ทั่วต้นแตง พ่นเชื้อราปฏิปักษ์ซ้ำทุก 7 วัน อย่างน้อย 4 ครั้ง บันทึกผลการทดสอบโดยตรวจการเกิดโรคและวัดขนาดของแผลที่เกิดขึ้นบนต้นแตงก่อนพ่นเชื้อราปฏิปักษ์ทุกครั้ง โดยเปรียบเทียบกับกรรมวิธีการปลูกเชื้อสาเหตุเพียงอย่างเดียว

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2558 - กันยายน 2559
ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
แปลงปลูกแตงเมล่อนของเกษตรกร จ.สุพรรณบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การแยกเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีศักยภาพในการควบคุมเชื้อรา *Dydimella bryoniae* สาเหตุโรคยางไหล

สำรวจและเก็บตัวอย่างต้นแตงแคนตาลูป และแตงเมล่อนที่ปกติ 10 ตัวอย่าง และต้นที่แสดงอาการโรคยางไหล 10 ตัวอย่าง และสุ่มเก็บตัวอย่างดิน 10 ตัวอย่าง ที่ จ.สุพรรณบุรี สระแก้ว และพะเยา ในปี 2558-2559 เพื่อแยกหาเชื้อราปฏิปักษ์จากต้นพืชและดิน พบว่า สามารถแยกได้เชื้อรา *Trichoderma* sp. จากดิน จำนวน 31 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท TC59-01 – TC59-031 (ตารางที่ 1) ส่วนการแยกจากส่วนของพืชพบว่า สามารถแยกได้เป็นเชื้อราสาเหตุโรค *D. bryoniae* และเชื้อราอื่นๆ ที่ไม่พบมีการสร้างสปอร์ จึงไม่ได้คัดเลือกมาใช้ในการทดสอบครั้งนี้

2. การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย เชื้อรา *Didymella bryoniae* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ที่คัดเลือกได้ จำนวน 31 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *D. bryoniae* ในห้องปฏิบัติการโดยวิธี Dual Culture technique ผลการทดลองพบว่า เชื้อรา *Trichoderma* sp. ทุกไอโซเลท สามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วและคลุมทับเส้นใยเชื้อรา *D. bryoniae* ภายใน 3 วัน ซึ่งทำให้เส้นใยซื้อราสาเหตุโรคไม่สามารถเจริญต่อไปได้ (ภาพที่1)(ตารางที่ 1)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

สำรวจและเก็บตัวอย่างต้นแตงแคนตาลูป และแตงเมล่อนที่ปกติ 10 ตัวอย่าง และต้นที่แสดงอาการโรคยางไหล 10 ตัวอย่าง และสุ่มเก็บตัวอย่างดิน 10 ตัวอย่าง ในปี 2558-2559 ที่ จ.สุพรรณบุรี สระแก้ว และพะเยา เพื่อแยกหาเชื้อราปฏิปักษ์จากต้นพืชและดิน ซึ่งสามารถแยกได้เชื้อรา *Trichoderma* sp.จากดิน จำนวน 31 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท TC59-01 – TC59-031 และได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ที่คัดเลือกในการควบคุมการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *D. bryoniae* สาเหตุโรคยางไหลในแตงเมล่อน พบว่า เชื้อราปฏิปักษ์ทั้ง 31 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพดีมากในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค กลไกในการยับยั้งเป็นแบบแข่งขัน

เอกสารอ้างอิง

ทัศนาพร ทัศคร และ พีระวรรณ พัฒนวิภาส. 2552. โรคยางไหลในแคนตาลูป. *จดหมายข่าวผลิใบ* ปีที่ 12 ฉบับที่ 3 ประจำเดือน เมษายน 2552. หน้า 2 - 3.

Abd-El-Moity, T.H, M.L Abed –El- Moneim, M.M.M. Tia, A.Z. Aly, M.R.A. Tohomy. 2009. Biological Control of some cucumber diseases under organic agriculture. แหล่งข้อมูล : http://www.actahort.org/members/showpdf?booknrarnr=608_28 (1 ก.ย. 2559)

Sudisha, J., S. R. Niranjana, S. Umesha, H. S. Prakash and H. Shekar Shetty. 2005. Transmission of seed-borne infection of muskmelon by *Didymella bryoniae* and effect of seed treatment on disease incidence and fruit yield. *Biological Control*. Vol.37 Issue 2, May. P 196-205.

Table 1 Efficacy of antagonistic fungal for controlling mycerial growth of *D. bryoniae*

Isolate	Source of Isolation	Ø colony of fungi [1/]		Mode of action
		Ø colony of *D. bryoniae*	Ø colony of *Trichoderma* sp.	
TC59-01	soil/corn	-	9.0	Competition
TC59-02	ดิน/ข้าวโพด	-	9.0	Competition
TC59-03	ดิน/ข้าวโพด	-	9.0	Competition
TC59-04	soil/corn	-	9.0	Competition
TC59-05	soil/corn	-	9.0	Competition
TC59-06	soil/corn	-	9.0	Competition
TC59-07	soil/corn	-	9.0	Competition
TC59-08	soil/corn	-	9.0	Competition
TC59-09	soil/corn	-	9.0	Competition
TC59-10	soil/corn	-	9.0	Competition
TC59-11	soil/melon	-	9.0	Competition
TC59-12	soil/melon	-	9.0	Competition
TC59-13	soil/melon	-	9.0	Competition
TC59-14	soil/melon	-	9.0	Competition
TC59-15	soil/melon	-	9.0	Competition
TC59-16	soil/melon	-	9.0	Competition
TC59-17	soil/melon	-	9.0	Competition
TC59-18	soil/melon	-	9.0	Competition
TC59-19	soil/melon	-	9.0	Competition
TC59-20	soil/cantalope	-	9.0	Competition
TC59-21	soil/cantalope	-	9.0	Competition
TC59-22	soil/cantalope	-	9.0	Competition
TC59-23	soil/cantalope	-	9.0	Competition
TC59-24	soil/cantalope	-	9.0	Competition
TC59-25	soil/cantalope	-	9.0	Competition
TC59-26	soil/cantalope	-	9.0	Competition
TC5927	soil/cantalope	-	9.0	Competition
TC59-28	soil/cantalope	-	9.0	Competition

Table 1 Efficacy of antagonistic fungal for controlling mycerial growth of *D. bryoniae* (continued)

Isolate	Source of Isolation	Ø colony of fungi [1/]		Mode of action
		Ø colony of *D. bryoniae*	Ø colony of *Trichoderma* sp.	
TC59-29	soil/cantalope	-	9.0	Competition
TC59-30	soil/cantalope	-	9.0	Competition
TC59-31	soil/cantalope	-	9.0	Competition
Control	-	9.0	9.0	-

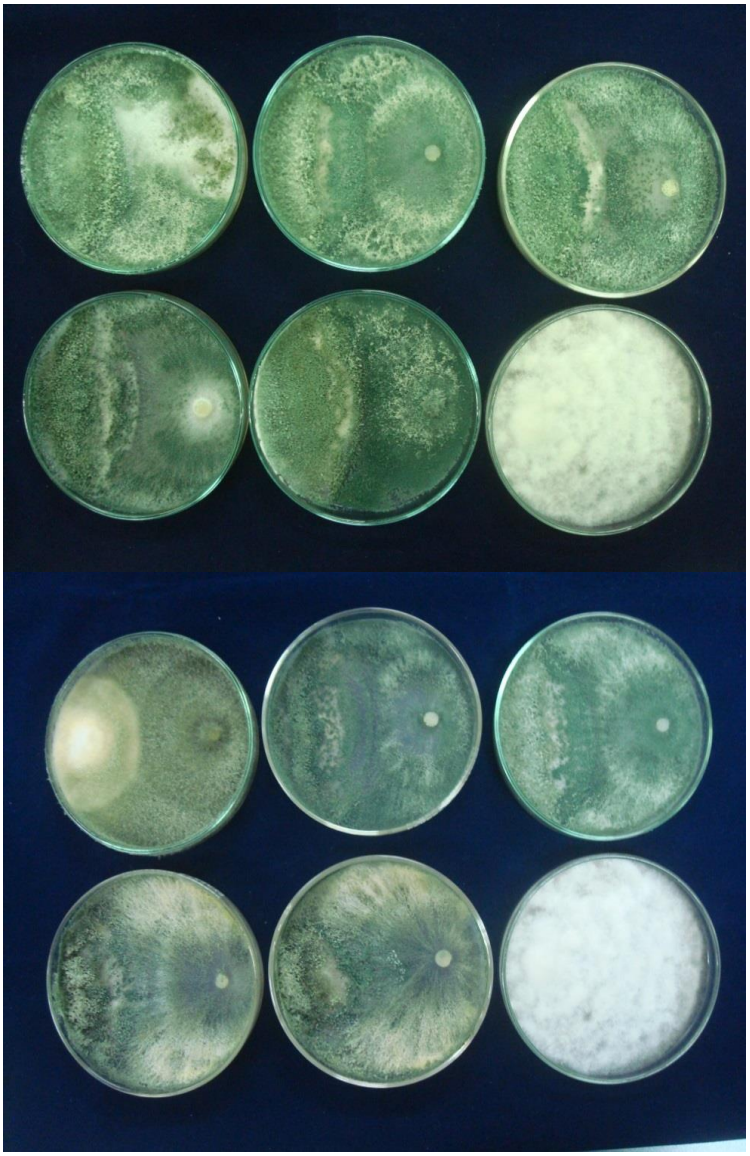


Figure 1 Efficacy of antagonistic fungal for controlling mycerial growth of *D. bryoniae*

การควบคุมโรคเน่าดำในกล้วยไม้ ที่มีสาเหตุจากเชื้อ *Phytophthora palmivora* (Butl.) โดยใช้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดเรืองแสง (*Neonothopanus nambi* Speg.)

Control of Black Rot on Orchids Caused by *Phytophthora palmivora* (Butl.) Using Bioactive Compound from Luminescent Mushroom, *Neonothopanus nambi* Speg.

สุรีย์พร บัวอาจ บุษราคัม อุดมศักดิ์ รุ่งนภา คงสุวรรณ์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การทดสอบสารออกฤทธิ์จากเห็ดเรืองแสงในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora palmivora* บนอาหาร PDA พบว่าสารออกฤทธิ์จากเห็ดเรืองแสงทั้งในรูปแบบของสารสกัด และน้ำคั้นจากเชื้อเห็ด (culture filtrate) ทุกความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora* ได้ดี คือ เส้นใยของเชื้อรา *P. palmivora* ไม่สามารถแผ่ขยายเส้นใยและเจริญเติบโต ซึ่งไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่ใช้สารเคมี ส่วนกรรมวิธีเปรียบเทียบที่ใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อพบเส้นผ่าศูนย์กลางของเส้นใยเชื้อราที่ 3, 5 และ 7 วัน เส้นใยแผ่และเจริญ 4.15, 7.3 และ 9.0 เซนติเมตร ตามลำดับ เช่นเดียวกับการทดสอบการยับยั้งการสร้าง sporangium ของเชื้อรา *P. palmivora* พบว่าสารออกฤทธิ์จากเห็ดเรืองแสงทั้งในรูปสารสกัด aurisin A และ culture filtrate ทุกความเข้มข้นสามารถยับยั้งการสร้าง sporangium และการเจริญของเส้นใยได้ดี โดยเฉพาะสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 100 และ 500 mg/l และ culture filtrate ที่ระดับความเข้มข้น 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้เส้นใยมีไม่สามารถแตกกิ่งก้านสาขาได้ รวมทั้งไม่สามารถสร้าง sporangium ได้เลย พบการสร้าง sporangium และเส้นใยเฉพาะบริเวณชิ้นวุ้น

ส่วนผลทดสอบการยับยั้งการเกิดแผลบนใบกล้วยไม้สกุลแวนดา ด้วยวิธี detached leaf technique ที่ 3 วัน หลังการปลูกเชื้อ จากการวัดขนาดของแผลที่เกิดขึ้นบนใบกล้วยไม้ พบว่า culture filtrate ที่ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลดีสุด (0.23 เซนติเมตร) โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.01$) กับกรรมวิธีที่ใช้สารเคมี (0.01 เซนติเมตร) แต่แตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.01$) กับกรรมวิธีเปรียบเทียบ ที่มีเพียงเชื้อรา *P. palmivora* (2.45 เซนติเมตร)

คำหลัก : กล้วยไม้ เห็ดเรืองแสง โรคเน่าดำ

รหัสการทดลอง 03-05-59-01-02-00-02-59

คำนำ

กล้วยไม้ (orchid) จัดเป็นไม้ดอกที่สำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย เพราะนอกจากจำหน่ายภายในประเทศแล้ว ยังมีการส่งออกต่างประเทศเป็นจำนวนมาก พันธุ์กล้วยไม้ที่เกษตรกรนิยมปลูกมีหลายสกุล เช่น กล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวาย, ม็อคคารา, ออนซิเดียม, คัทลียา, แอสโคเซนดา, อะแรนดา และแวนดา (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2544)

ปัจจุบันการปลูกกล้วยไม้มักประสบปัญหาด้านโรคพืชและแมลง ซึ่งทำให้ผลผลิตของกล้วยไม้ลดลง และไม่ได้มาตรฐาน (กรมวิชาการเกษตร, 2547) ปัญหาด้านโรคที่สำคัญของกล้วยไม้ คือ โรคเน่าดำ หรือโรคยอดเน่า หรือโรคเน่าเข้าไส้ (black rot) ที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Phytophthora palmivora* (Butl.) (Uchida, 1994) ซึ่งทำความเสียหายให้กับกล้วยไม้ได้หลายสกุล เช่น แวนดา, ที เอ็ม เอ, แวนดารอทไชเดียนา, อะแรนคริสติน, แคทลียา, มอลคารา และกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวาย เป็นต้น สามารถเกิดได้กับทุกส่วนของกล้วยไม้ตั้งแต่ ราก ใบ ยอด และดอก อาการของโรคที่พบ คือ จะเกิดจุดกลมฉ่ำน้ำสีน้ำตาลอ่อนจนถึงสีน้ำตาลเข้ม จากนั้นแผลจะลุกลามขยายทำให้ใบเน่า ถ้าอาการรุนแรงจะเข้าทำลายส่วนยอดและลำต้นทำให้เกิดอาการยอดเน่าดำ (นิยมรัฐ, 2544)

การป้องกันกำจัดโรคเน่าดำของกล้วยไม้โดยทั่วไปนั้นมักจะใช้สารเคมี เช่น fosetyl-Al และ metalaxyl ซึ่งเมื่อมีการใช้ติดต่อกันเป็นเวลานานมีผลทำให้เชื้อสาเหตุโรคเกิดการดื้อต่อสารเคมี และก่อให้เกิดสารพิษตกค้างเป็นอันตรายต่อผู้ใช้และทำลายสภาพแวดล้อมได้ ดังนั้นการนำวิธีการอื่นที่ปลอดภัยมาใช้ จึงเป็นแนวทางที่ควรให้ความสำคัญ ในต่างประเทศ Boehlendorf และคณะ (2004) รายงานว่าสาร aurisin A ที่แยกได้จากเห็ดในสกุล *Panus* sp. มีฤทธิ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิด เช่น *Pythium ultimum*, *Venturia inaequalis*, *Plasmopara viticola*, *Puccinia graminis* และ *Phytopthora infestans* ในประเทศไทย สุรีย์พร (2550) พบสาร Aurisin A ซึ่งสกัดได้จากเห็ดเรืองแสง *Neonothopanus nambi* โดยสาร Aurisin A มีผลออกฤทธิ์ต่อการตายของไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*) ซึ่งเป็นไส้เดือนฝอยสาเหตุโรคพืช จากการศึกษาโดยทดสอบสาร Aurisin A กับสิ่งมีชีวิตนอกเป้าหมาย พบว่า ไม่มีผลต่อสิ่งมีชีวิตที่มีประโยชน์ เช่น เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. กับ *Rhizobium* sp. นอกจากนี้ยังออกฤทธิ์ต่อเชื้อราชั้นต่ำสาเหตุโรคพืชในสกุล *Pythium* และ *Phytopthora* อีกด้วย ดังนั้นการศึกษานี้จึงสนใจที่จะนำสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดเรืองแสง *N. nambi* มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าดำของกล้วยไม้ ซึ่งยังไม่มีการศึกษามาก่อนเพื่อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งให้กับเกษตรกร และหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชต่อไป ซึ่งจะนำไปสู่การใช้ประโยชน์ของสารออกฤทธิ์จากเห็ดเรืองแสงได้อย่างถูกต้อง และพัฒนาต่อไปเพื่อใช้ในการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี อันจะเป็นแนวทางในการอนุรักษ์สภาพแวดล้อม เพื่อช่วยลดการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชในที่สุด

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เห็ดเรืองแสง (*Neonothopanus nambi*) ไอโซเลท PW2
2. เชื้อรา *Phytophthora palmivora* จากศูนย์เก็บเชื้อ culture collections
3. กล้วยไม้สกุลแวนดา
4. สารเคมีที่ใช้ในการสกัดสารออกฤทธิ์ เช่น เอทิลอะซีเตต (ethyl acetate, EtOAc)
5. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น จานอาหารเลี้ยงเชื้อ กล่องชื้น หลอดทดสอบ ตู้เขี่ยเชื้อ และเครื่อง rotary evaporator ฯลฯ
6. โรงเรือนปลูกกล้วยไม้

วิธีการ

1. แหล่งที่มาของเชื้อ

เชื้อเห็ดเรืองแสง (*Neonothopanus nambi*) ไอโซเลท PW2 ซึ่งแยกได้จากเห็ดเรืองแสงที่พบในเขตโคกภูตากา อำเภอภูเวียง จังหวัดขอนแก่น

เชื้อรา *Phytophthora palmivora* จากศูนย์เก็บเชื้อ culture collections กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และแยกเชื้อจากแปลงกล้วยไม้ของเกษตรกร

2. การเตรียมสารสกัดออกฤทธิ์จากเชื้อเห็ดเรืองแสง *N. nambi*

เลี้ยงเชื้อเห็ดเรืองแสงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน จากนั้นเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว MEB เป็นเวลา 30 วัน กรองเส้นใยและเก็บเส้นใยที่ได้นำไปอบที่ตู้อบ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน สำหรับใช้สกัดสารต่อไป และแยกเก็บน้ำคั้นจากเห็ดเรืองแสง (culture filtrate) เพื่อทดสอบเปรียบเทียบกับสารสกัด

การสกัดสารโดยนำเส้นใยแห้งมาบดให้ละเอียดโดยใช้เครื่องปั่น (blender) จากนั้นสกัดสารออกฤทธิ์ด้วยเอทิลอะซีเตต (ethyl acetate, EtOAc) จำนวน 3 ครั้ง เก็บสารละลายที่ได้มากรองและระเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดัน ด้วยเครื่อง rotary evaporator ได้ส่วนสกัดหยาบเอทิลอะซีเตต (crude EtOAc) เก็บ crude ที่ได้ไว้ทดสอบประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ต่อไป

การเตรียมสารสกัดจากเห็ดเรืองแสง *N. nambi* โดยเตรียมสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 0, 10, 50, 100 และ 500 mg/l โดยใช้ Dimethylsulfoxid (DMSO) เป็นตัวละลายร่วมกับน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เพื่อใช้เป็นสารทดสอบต่อไป

3. การทดสอบสารออกฤทธิ์จากเห็ดเรืองแสงในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora* ในสภาพห้องปฏิบัติการ

3.1 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. palmivora* บนอาหาร PDA

วางแผนการทดลอง Completely randomized designs (CRD) ประกอบด้วย 10 กรรมวิธี 4 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 สารสกัด aurisin A ที่ระดับความเข้มข้น 10 mg/l + เชื้อรา *P. palmivora*

กรรมวิธีที่ 2 สารสกัด aurisin A ที่ระดับความเข้มข้น 50 mg/l + เชื้อรา *P. palmivora*

กรรมวิธีที่ 3 สารสกัด aurisin A ที่ระดับความเข้มข้น 100 mg/l + เชื้อรา *P. palmivora*

กรรมวิธีที่ 4 สารสกัด aurisin A ที่ระดับความเข้มข้น 500 mg/l + เชื้อรา *P. palmivora*

กรรมวิธีที่ 5 culture filtrate ความเข้มข้น 35% + เชื้อรา *P. palmivora*

กรรมวิธีที่ 6 culture filtrate ความเข้มข้น 50% + เชื้อรา *P. palmivora*

กรรมวิธีที่ 7 culture filtrate ความเข้มข้น 75% + เชื้อรา *P. palmivora*

กรรมวิธีที่ 8 culture filtrate ความเข้มข้น 100% + เชื้อรา *P. palmivora*

กรรมวิธีที่ 9 สารเคมี metalaxyl 25% WP + เชื้อรา *P. palmivora*

กรรมวิธีที่ 10 น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ + เชื้อรา *P. palmivora* . (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)

วิธีปฏิบัติการทดลอง นำสารสกัดและ culture filtrate จากเห็ดเรืองแสง *N. nambi* ที่เตรียมไว้ ผสมกับอาหาร PDA ที่หลอมเหลวที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จากนั้นวางชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยของเชื้อรา *P. palmivora* อายุ 7 วัน โดยใช้ cork borer เบอร์ 3 เจาะวุ้นตรงปลายเส้นใยของเชื้อเห็ดเรืองแสง จำนวน 1 ชิ้น วางกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน

การบันทึกข้อมูล วัดการเกิดบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) โดยเส้นผ่าศูนย์กลางเส้นใยเชื้อราทุก 3, 5 และ 7 วัน เปรียบเทียบกับการเจริญที่มีเชื้อราเพียงอย่างเดียว

3.2 การทดสอบการยับยั้งการสร้าง sporangium

วางแผนการทดลอง CRD ประกอบด้วย 10 กรรมวิธี 4 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 สารสกัด aurisin A ที่ระดับความเข้มข้น 10 mg/l

กรรมวิธีที่ 2 สารสกัด aurisin A ที่ระดับความเข้มข้น 50 mg/l

กรรมวิธีที่ 3 สารสกัด aurisin A ที่ระดับความเข้มข้น 100 mg/l

กรรมวิธีที่ 4 สารสกัด aurisin A ที่ระดับความเข้มข้น 500 mg/l

กรรมวิธีที่ 5 culture filtrate ความเข้มข้น 35%

กรรมวิธีที่ 6 culture filtrate ความเข้มข้น 50%

กรรมวิธีที่ 7 culture filtrate ความเข้มข้น 75%

กรรมวิธีที่ 8 culture filtrate ความเข้มข้น 100%

กรรมวิธีที่ 9 สารเคมี metalaxyl 25% WP

กรรมวิธีที่ 10 น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)

วิธีปฏิบัติการทดลอง เลี้ยงเชื้อรา *P. palmivora* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน เมื่อเชื้อราเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ใช้ cork borer เบอร์ 3 เจาะวุ้นตรงปลายเส้นใยของเชื้อรา *P. palmivora* จำนวน 1 ชิ้น วางตรงกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้เตรียมสารออกฤทธิ์และ culture filtrate ตามกรรมวิธีที่วางไว้ โดยดูดสารออกฤทธิ์จำนวน 10 มล.ต่อจานอาหารเลี้ยง บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง และตั้งทิ้งไว้ในที่มีแสง

การบันทึกข้อมูล หลังการทดสอบตรวจดูลักษณะการเจริญของเส้นใยเชื้อราและการสร้าง sporangium ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ทุก 24, 48 และ 72 ชม. โดยเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ทดสอบ

3.3 การทดสอบการยับยั้งการเกิดแผลบนใบกล้วยไม้

ทดสอบด้วยวิธี detached leaf technique โดยวางแผนการทดลอง CRD ประกอบด้วย 10 กรรมวิธี 4 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 สารสกัด aurisin A ที่ระดับความเข้มข้น 10 mg/l + เชื้อรา *P. palmivora*

กรรมวิธีที่ 2 สารสกัด aurisin A ที่ระดับความเข้มข้น 50 mg/l + เชื้อรา *P. palmivora*

กรรมวิธีที่ 3 สารสกัด aurisin A ที่ระดับความเข้มข้น 100 mg/l + เชื้อรา *P. palmivora*

กรรมวิธีที่ 4 สารสกัด aurisin A ที่ระดับความเข้มข้น 500 mg/l + เชื้อรา *P. palmivora*

กรรมวิธีที่ 5 culture filtrate ความเข้มข้น 35% + เชื้อรา *P. palmivora*

กรรมวิธีที่ 6 culture filtrate ความเข้มข้น 50% + เชื้อรา *P. palmivora*

กรรมวิธีที่ 7 culture filtrate ความเข้มข้น 75% + เชื้อรา *P. palmivora*

กรรมวิธีที่ 8 culture filtrate ความเข้มข้น 100% + เชื้อรา *P. palmivora*

กรรมวิธีที่ 9 สารเคมี metalaxyl 25% WP + เชื้อรา *P. palmivora*

กรรมวิธีที่ 10 น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ + เชื้อรา *P. palmivora* (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)

กรรมวิธีที่ 11 น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)

วิธีปฏิบัติการทดลอง เตรียมใบกล้วยไม้สกุลแวนดา โดยฆ่าเชื้อที่ผิวใบด้วย 70%EtOH พ่น culture filtrate และสารสกัด aurisin A ที่ระดับความเข้มข้นที่ต่างๆ ลงบนใบกล้วยไม้ จากนั้นใช้เข็มทำแผลบนใบของกล้วย แล้วนำชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยเชื้อราเชื้อรา *P. palmivora* วางลงบนแผล บ่มเชื้อในกล่องชื้นนาน เมื่อครบ 24 ชม. จึงนำชิ้นวุ้นออก

การบันทึกข้อมูล วัดขนาดของแผลที่เกิดขึ้น (เซนติเมตร) ที่ 3, 5 และ 7 วัน หลังการปลูกเชื้อ

การวิเคราะห์ข้อมูล นำค่าผลการเกิดแผลบนใบกล้วยไม้ ไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างโดยวิธี DMRT KPIs

เวลาและสถานที่

ดำเนินการทดลอง ระหว่างเดือนตุลาคม 2558 ถึง กันยายน 2559 ณ ห้องปฏิบัติการ และโรงเรือนทดลอง กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดสอบสารออกฤทธิ์จากเห็ดเรืองแสงในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. palmivora* บนอาหาร PDA พบว่าสารออกฤทธิ์จากเห็ดเรืองแสงทั้งในรูปแบบของสารสกัด aurisin A และน้ำคั้นจากเชื้อเห็ด (culture filtrate) ทุกความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora* ได้ดี คือ เส้นใยของเชื้อรา *P. palmivora* ไม่สามารถแผ่ขยายเส้นใยและเจริญเติบโต

ซึ่งไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่ใช้สารเคมี ส่วนกรรมวิธีเปรียบเทียบที่ใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อพบเส้นผ่าศูนย์กลางของเส้นใยเชื้อราที่ 3, 5 และ 7 วัน เส้นใยแผ่และเจริญ 4.15, 7.3 และ 9.0 เซนติเมตร ตามลำดับ เช่นเดียวกับการทดสอบการยับยั้งการสร้าง sporangium ของเชื้อรา *P. palmivora* พบว่าสารออกฤทธิ์จากเห็ดเรืองแสงทั้งในรูปสารสกัด และ culture filtrate ทุกความเข้มข้นสามารถยับยั้งการสร้าง sporangium และการเจริญของเส้นใยได้ดี โดยเฉพาะสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 100 และ 500 mg/l และ culture filtrate ที่ระดับความเข้มข้น 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้เส้นใยมีการเจริญที่ผิดปกติ หงิกงอและไม่สามารถแตกกิ่งก้านสาขาได้ รวมทั้งไม่สามารถสร้าง sporangium ได้เลย พบการสร้าง sporangium และเส้นใยเฉพาะบริเวณวุ้นอาหาร (Figure 1)

ส่วนผลทดสอบการยับยั้งการเกิดแผลบนใบกล้วยไม้สกุลแวนดา ด้วยวิธี detached leaf technique ที่ 3 วัน หลังการปลูกเชื้อ พบว่า culture filtrate ที่ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลดีสุด โดยมีขนาดของแผลที่เกิดขึ้นบนใบกล้วยไม้ เพียง 0.23 เซนติเมตร ไม่แตกต่างจากกรรมวิธีที่ใช้สารเคมี ที่มีขนาดของแผล 0.01 เซนติเมตร แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่มีเพียงเชื้อรา *P. palmivora* โดยพบขนาดแผล 2.45 เซนติเมตร (Table 1)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์จากเห็ดเรืองแสงในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora* ในสภาพห้องปฏิบัติ ได้ผลดีทั้งในรูปแบบของสารสกัด aurisin A และ culture filtrate ของเชื้อเห็ด เห็นได้จากเชื้อราหยุดการเจริญเติบโตไม่สามารถสร้างเส้นใยและ sporangium ได้เลย โดยเฉพาะสารสกัดที่ความเข้มข้น 100, 500 mg/l และ culture filtrate ที่ระดับความเข้มข้น 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งนำไปทดสอบประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์จากเห็ดเรืองแสงในการควบคุมโรคเน่าดำของกล้วยไม้ในสภาพโรงเรือนต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2547. *เอกสารวิชาการกล้วยไม้.* กรมวิชาการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ. 152 หน้า.

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2544. *ทะเบียนเกษตรกรผู้ปลูกกล้วยไม้เพื่อการส่งออกปี 2544.* กลุ่มไม้ดอกไม้ประดับ, กรมส่งเสริมการเกษตร, กรมส่งเสริมการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ. 655 หน้า.

นิยมรัฐ ไตรศรี. 2544. *คู่มือโรคไม้ดอกไม้ประดับและการป้องกันกำจัด.* กลุ่มงานวิจัยโรคพืชผักไม้ดอกและไม้ประดับ, กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 90 หน้า.

สุรีย์พร บัวอาจ. 2550. *ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนไรโบโซมอลดีเอ็นเอของเห็ดเรืองแสง และผลของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดต่อไส้เดือนฝอยรากปม (Meloidogyne incognita Chitwood).* วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาโรคพืชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

Boehlendorf, B., S. Neff., T.C. Schuez., L.P. Molleyres, T. Winkler, M. Dobler, and Y. Huang. 2004. Isolation and characterization of compounds obtained from a fungal microorganism and preparation of some derivatives thereof. Brit. UK Patent Application.

Uchida, J. Y. 1994. Diseases of Orchids in Hawaii. *Plant Disease* 78: 220-224.

Table 1 Percentage of lesion length on orchids after inoculation with *Phytophthora palmivora* at 3 days.

Treatment	Means of lesion length (%)
aurisin A at 10 mg/l	2.16 e
aurisin A at 50 mg/l	2.31 e
aurisin A at100 mg/l	1.82 d
aurisin A at 500 mg/l	1.62 d
culture filtrate at 35%	1.24 c
culture filtrate at 50%	1.23 c
culture filtrate at 75%	0.49 b
culture filtrate at 100%	0.23 ab
metalaxyl 25% WP	0.01 a
Distilled water + *Phytophthora palmivora*	2.45 e
untreated	0.00 a
F-test	**
C.V.(%)	29.20

Means followed by the same letter are not significant different (P>0.05, DMRT).

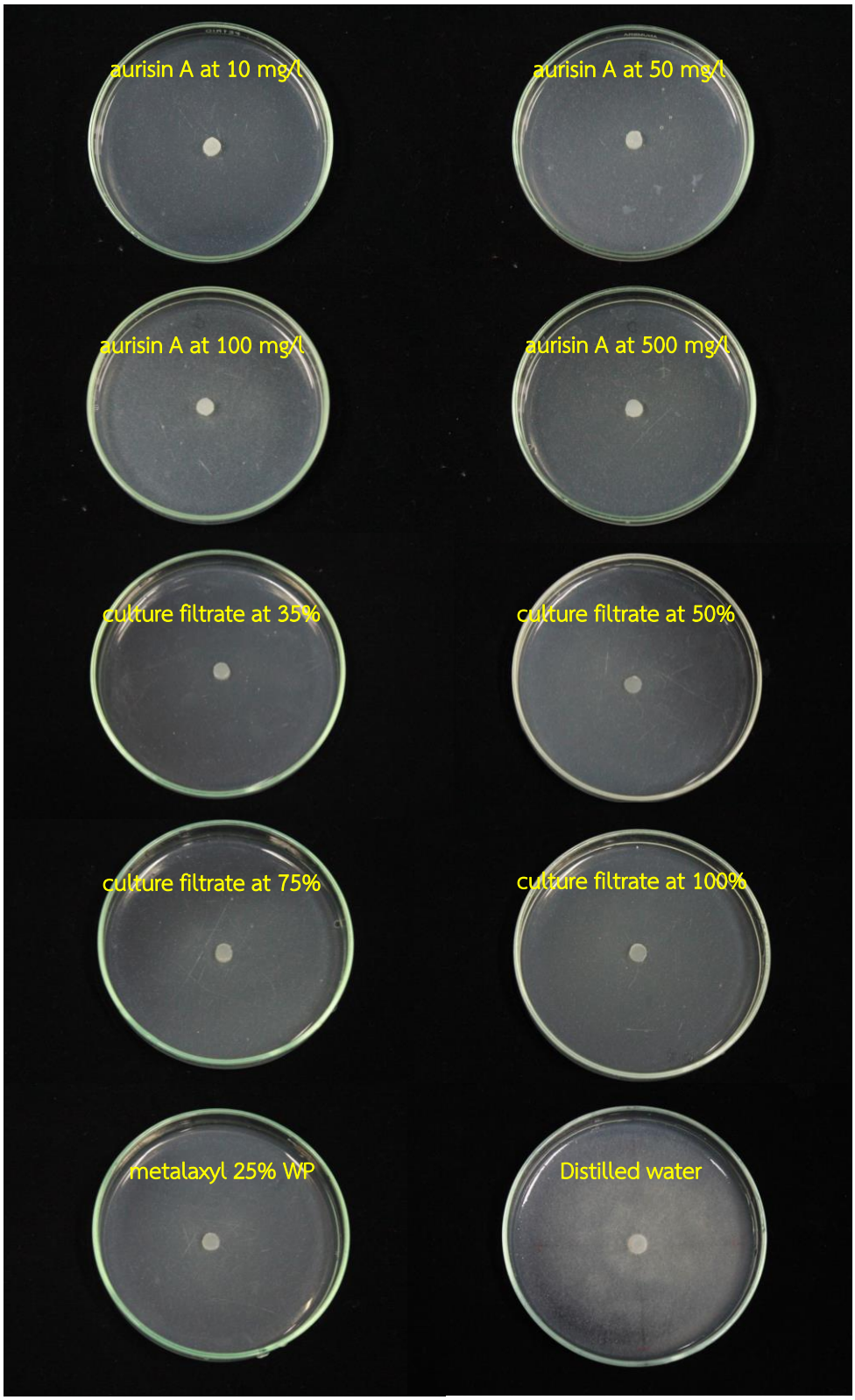


Figure 1 Effect of bioactive compound from *Neonothopanus nambi* to against hyphal growth of *Phytophthora palmivora* on PDA

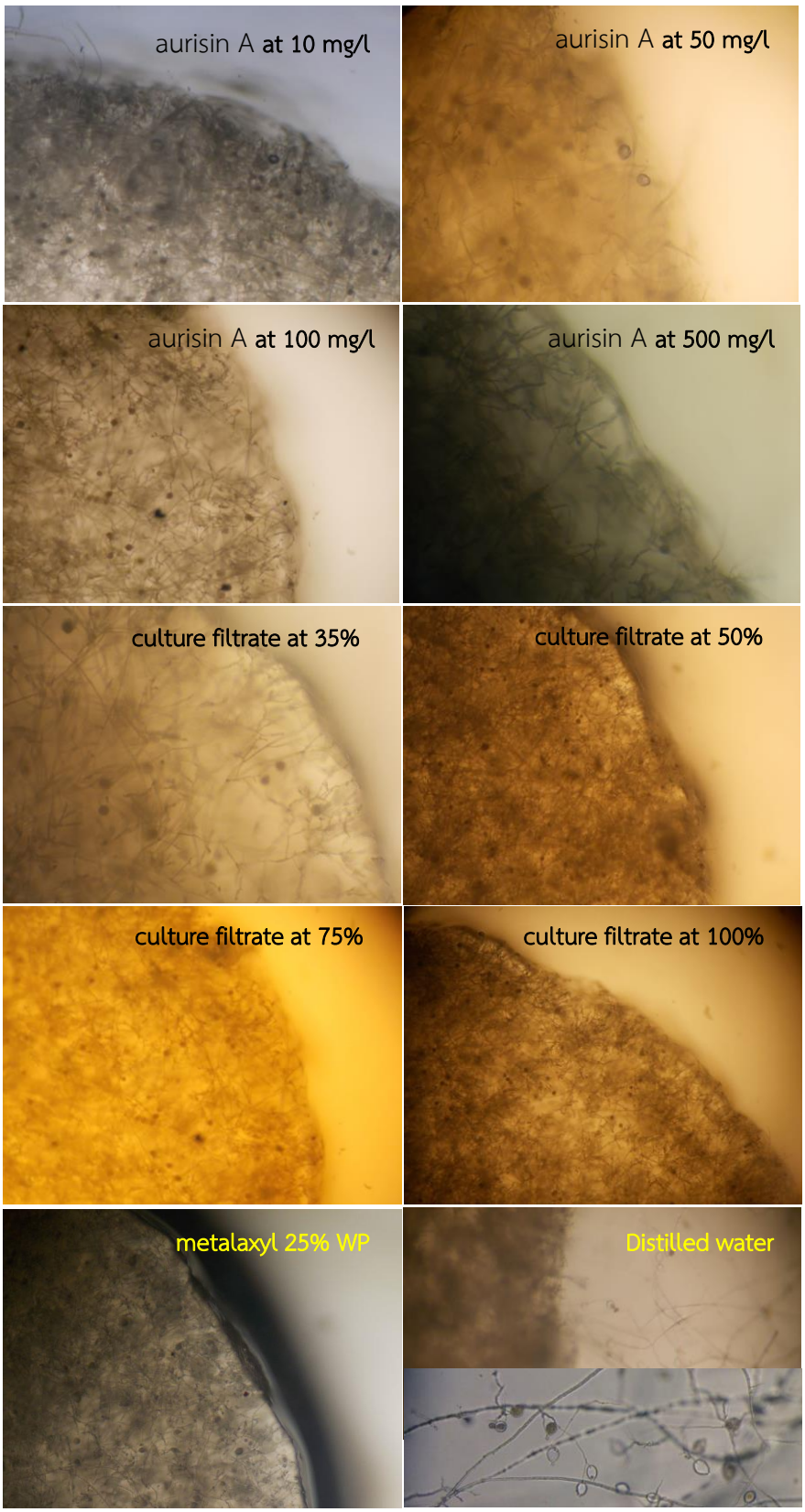
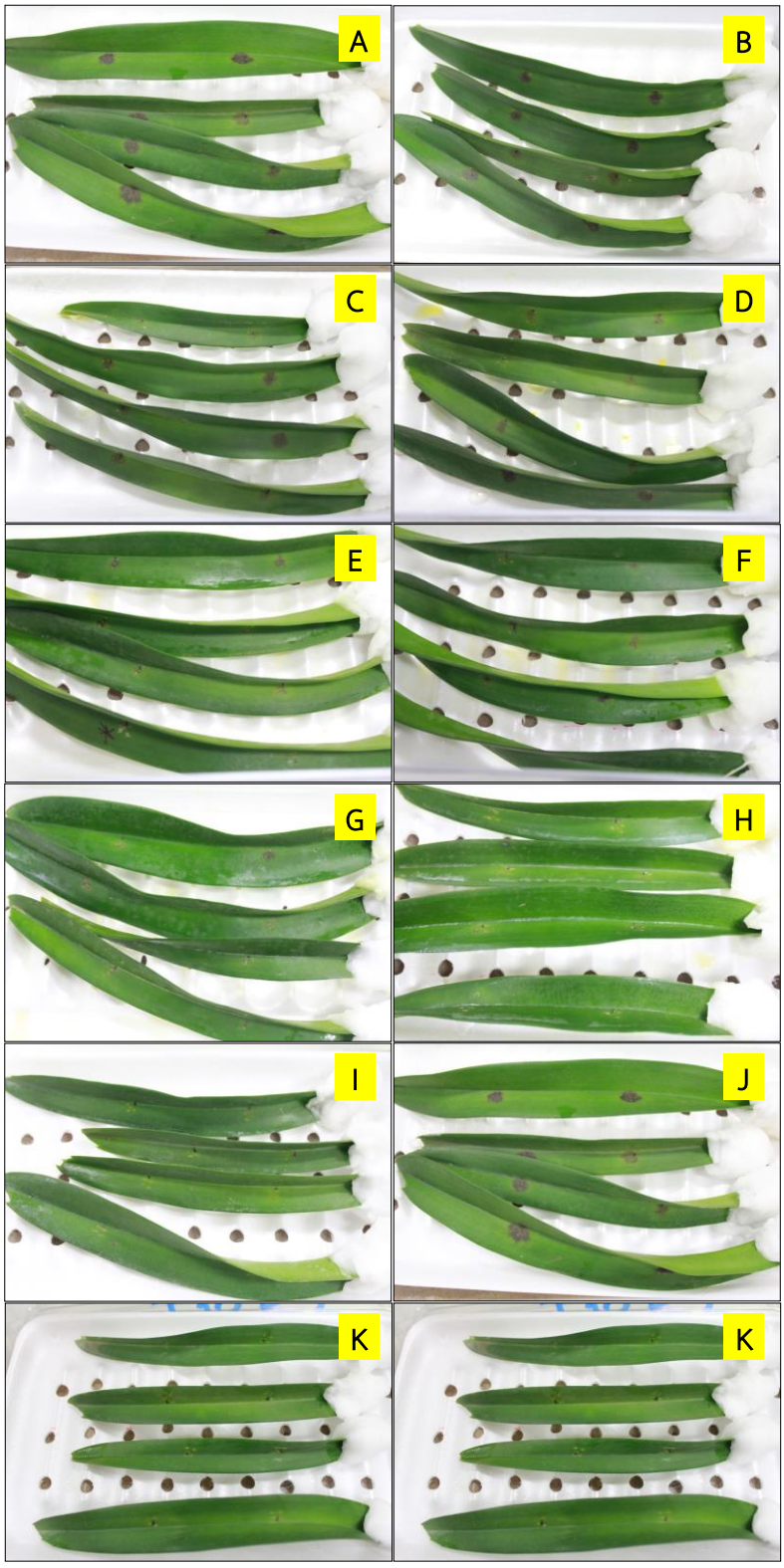


Figure 2 Effect of bioactive compound from *Neonothopanus nambi* to against sporangium production of *Phytophthora palmivora*



A: bioactive compound at 10 mg/l
B: bioactive compound at 50 mg/l
C: bioactive compound at 100 mg/l
D: bioactive compound at 500 mg/l
E: culture filtrate at 35%
F: culture filtrate at 50%
G: culture filtrate at 75%
H: culture filtrate at 100%
I: metalaxyl 25% WP
J: Distilled water+*P. palmivora*
K: untreated

Figure 3 Symptom of lesion length on orchids after inoculation with *Phytophthora palmivora* at 3 days

ศักยภาพของถั่วบราซิล (pinto peanut, *Arachis pintoi* Krapov. & W.C. Greg.) คลุมดินเพื่อควบคุมวัชพืชในสับปะรด

Potential of Pinto Peanut (*Arachis pintoi* Krapov. & W.C. Greg.) as Cover Crop for Weed Control in Pineapple

ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย[1/] คมสัน นครศรี[1/] อัณศยา พรมมา[1/] อมฤต ศิริอุดม[2/]

[1/]กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาศึกษาศักยภาพของถั่วบราซิล (pinto peanut, *Arachis pintoi* Krapov. & W.C. Greg.) คลุมดินเพื่อควบคุมวัชพืชในสับปะรด **ขั้นตอนที่ 1 ทำการศึกษาการเจริญเติบโตของถั่วบราซิลจากเมล็ดในดินร่วนปนทราย** พบว่า จำนวนต้นที่งอกเป็นต้นสมบูรณ์มีเพียง 60 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดส่วนใหญ่จะเริ่มงอกในสัปดาห์ที่ 2 หลังการปลูก เมื่อมีอายุได้ 45 วันจะเริ่มมีการเจริญเติบโตได้ดี ซึ่งจะมีจำนวนใบต่อต้น คือ 8 คู่ใบ ในระยะ 1 -2 เดือน ขั้นตอนที่ 2 **ศึกษาการเจริญเติบโตของถั่วบราซิลที่ขยายพันธุ์จากกิ่งปักชำ** พบว่า ทุกๆ ส่วนของถั่วบราซิลสามารถงอก และเจริญเติบโตได้ ดีแตกต่างกันไปออกไป แต่กิ่งหลักส่วนโคน และกิ่งหลักส่วนกลาง มีเปอร์เซ็นต์การรอดตายประมาณ 90 และ 70 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่กรรมวิธีอื่นมีเปอร์เซ็นต์การรอดตายต่ำ ประมาณ 10-20 เปอร์เซ็นต์ กิ่งหลัก และกิ่งกลาง มีแนวโน้มที่มีการเจริญเติบโตได้ดี หลังการปักชำประมาณ 12 วันจะเริ่มแตกใบ

การศึกษาศักยภาพของถั่วบราซิลจากกิ่งปักชำในการคลุมพื้นที่ ในกระถาง พบว่า ถั่วบราซิลที่ได้จากกิ่งปักชำมีการเจริญเติบโตได้ดีตั้งแต่ 1 เดือนหลังปลูก และเริ่มมีการคลุมพื้นที่ในกระถาง ในเดือนที่ 3 ในกรรมวิธี 1 ต้นต่อกระถาง และจะคลุมพื้นที่ได้อย่างรวดเร็วในกรรมวิธีที่มีจำนวนต้นมากขึ้น

คำหลัก : ศักยภาพการควบคุมวัชพืช ถั่วบราซิล คลุมดิน

รหัสการทดลอง 03-05-59-01-03-00-01-59

คำนำ

การจัดการวัชพืชในพืชปลูกสามารถทำได้ทั้งวิธีที่ใช้สารและไม่ใช้สารกำจัดวัชพืช การใช้สารกำจัดวัชพืชเป็นวิธีการที่เกษตรกรนิยมใช้เป็นอันดับแรก ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าการใช้สารกำจัดวัชพืชเป็นวิธีที่สะดวก สบาย รวดเร็ว ใช้ง่ายทำให้มีการใช้สารกำจัดวัชพืชกันอย่างแพร่หลาย เห็นได้จากการนำเข้าสารกำจัดวัชพืชใน ปี 2556 ที่ผ่านมา พบว่า การนำเข้าสารกำจัดวัชพืชระหว่างเดือน มกราคม-มิถุนายน มีทั้งหมด 77.2 ล้านตัน คิดเป็นมูลค่า 8188.1 ล้านบาท หรือมีการนำเข้าประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ ของวัตถุอันตรายทั้งหมด (นิรนาม, 2557) การใช้สารกำจัดวัชพืชของเกษตรกรมักพบอยู่เสมอว่า มีการใช้ไม่ถูกต้องตามหลักวิชาการหรือตามคำแนะนำ เช่น ใช้ปริมาณมากกว่าคำแนะนำ ใช้ไม่ถูกต้องตามระยะเวลา หรือ ใช้เครื่องพ่นไม่ไม่เป็นไปตามคำแนะนำ ซึ่งอาจมีผลทำให้มีผลกระทบกับสภาพแวดล้อม ผู้บริโภค หรือแม้แต่เกษตรกรผู้ปฏิบัติก็อาจจะได้ผลกระทบได้เช่นกัน รัฐบาลจึงได้มีนโยบายลดการใช้สารเคมีทางการเกษตรเพื่อความปลอดภัยทางอาหารและผู้บริโภค และมีนโยบายให้การสนับสนุนการใช้สารสกัดจากธรรมชาติและชีวภัณฑ์ในการกำจัดศัตรูพืชทดแทนสารกำจัดวัชพืช (อังคณา, 2552) การปลูกพืชคลุมดินควบคุมวัชพืช โดยใช้พืชตระกูลถั่วก็ถือได้ว่าเป็นชีวภัณฑ์ประเภทหนึ่งที่ใช้ควบคุมวัชพืช เช่นในกรณีของปาล์มน้ำมันและยางพารา ที่ใช้พืชตระกูลถั่ว *Calopogonium caeruleum* ปลูกคลุมดินควบคุมวัชพืช (นิรนาม, 2554) ถั่วบราซิล เป็นพืชตระกูลถั่วอีกชนิดหนึ่งที่ใช้ปลูกเป็นพืชคลุมดิน มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Arachis pintoi* Krapov. & W.C. Greg. อยู่ในวงศ์ Fabaceae มีชื่อสามัญ (common name) ว่า pinto peanut(Autralia), mani perenne (Spanish), kacang pinto (Indonesia) หรือ thua lisong tao(Thailand) ถั่วบราซิล ตระกูลเดียวกันกับ ถั่วลิสง เป็นพืชที่เป็นไม้เนื้ออ่อนอายุหลายปี (perennial herb) มีระบบรากที่แข็งแรง ที่เหง้าจะมีการแตกตัวของลำต้นบนดิน (stolon) มากมายเลื้อยรอบๆบริเวณต้น ใบมี 4 ใบย่อยเป็นรูปไข่ ดอกแบบ racemes สีเหลือง ฝักมีเพียง 1 ฝักเกิดที่ปลายเข็ม (peg) (Anonymous, 2014a) ถั่วบราซิล มีถิ่นกำเนิดในเขตภาคกลางของประเทศบราซิล เขตร้อนชื้น สามารถขึ้นได้ในดินร่วนทราย ทนแล้งได้ 3-4 เดือน แต่ไม่ทนในสภาพน้ำขัง ทนร่มเงาได้ 70-80 เปอร์เซ็นต์ สามารถตรึงไนโตรเจนได้ ใช้ปลูกเป็นพืชคลุมดินในพืชปลูกหลายชนิด เช่น มะม่วง อะโวกาโด กาแฟ กล้วย ปาล์มน้ำมัน มะคาเดเมีย โกโก้ มันสำปะหลัง ส้ม สับปะรด เป็นต้น พันธุ์ที่นิยมใช้มี 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ Golden glory ใช้เป็นพืชคลุมดินตกแต่งในสวนของ Hawaii และ พันธุ์ Amarillo ใช้เป็นอาหารสัตว์และพืชคลุมดินใน Australia (Anonymous, 2014b) ถ้าใช้เป็นอาหารสัตว์ เช่น โค กระบือ แกะ และ ม้า พบว่า ถั่วบราซิล มีน้ำหนักแห้งของ เถ้า โปรตีน คาร์โบไฮเดรท และเยื่อใย 2.7, 24.8, 70.7 และ 19.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Ferreira *et. al.*, 2012) จึงได้ทำการศึกษาลักษณะทางด้านเกษตรศาสตร์และศักยภาพของถั่วบราซิลที่ปลูกคลุมดินเพื่อประเมินประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการควบคุมวัชพืชด้วยชีววิธีที่ใช้ทดแทนสารกำจัดวัชพืช สำหรับนักวิชาการ เกษตรกร และผู้สนใจต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- เมล็ดพันธุ์ถั่วบราซิล และกิ่งปักชำ
- กระบะปูน ขนาด 1×1 เมตร
- ปุ๋ยเคมีสูตร 12-24-12
- สารป้องกันกำจัดโรคและแมลง
- เครื่องพ่นสารแบบโยกสะพายหลัง (knapsack sprayer) หัวพ่นรูปพัด
- เครื่องชั่งตวงสารเคมี
- ป้ายปักแปลง และถุงกระดาษ

วิธีการ

ขั้นตอนที่ 1 การศึกษาการเจริญเติบโตของถั่วบราซิลจากเมล็ด

1.1 ศึกษางอกและการเจริญเติบโตของถั่วบราซิลในดินร่วนปนทราย

นำเมล็ดถั่วบราซิลมาปลูกในกระบะปูน ขนาด 1×1 เมตร กระบะละ 50 เมล็ด จำนวน 20 กระบะ ในสภาพดินร่วนปนทราย หยอดเมล็ดลงหลุม รดน้ำทุกวัน เมื่อเมล็ดงอกคัดเลือกต้นที่มีขนาดเท่ากัน (งอกวันเดียวกัน) ลักษณะสมบูรณ์ แข็งแรง บันทึกการเจริญเติบโต

1.2 ศึกษาการเจริญเติบโตของถัวบราซิลที่ขยายพันธุ์จากกิ่งปักชำ

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ประกอบด้วย

กรรมวิธี 1 ขยายพันธุ์โดยใช้ กิ่งหลักส่วนโคน
กรรมวิธี 2 ขยายพันธุ์โดยใช้ กิ่งหลักส่วนกลาง
กรรมวิธี 3 ขยายพันธุ์โดยใช้ กิ่งหลักส่วนปลาย
กรรมวิธี 4 ขยายพันธุ์โดยใช้ กิ่งแขนงส่วนโคน
กรรมวิธี 5 ขยายพันธุ์โดยใช้ กิ่งแขนงส่วนปลาย

น้ำต้นถั่วบราซิลที่มีการเจริญเติบโตต้นสมบูรณ์แข็งแรง มาตัดตามกรรมวิธีที่กำหนด ยาวประมาณ 10 ซม. แล้วปักชำในกระบะสี่เหลี่ยม ขนาด 1×1 เมตร ลึก 20 เซนติเมตร ในสภาพดินร่วนปนทราย จำนวน 10 กิ่งต่อกระบะ จำนวน 20 กระบะ รดน้ำทุกวัน

บันทึกข้อมูล บันทึกข้อมูลการเกิดยอดใหม่และการเจริญเติบโต

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาศักยภาพในการควบคุมวัชพืชในสับปะรด

2.1 ศึกษาศักยภาพของถั่วบราซิลจากเมล็ดในการควบคุมวัชพืชในสับปะรด

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 7 กรรมวิธี 3 ซ้ำ ประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1 จำนวนต้นถั่วบราซิล 2 ต้นต่อตารางเมตร
กรรมวิธีที่ 2 จำนวนต้นถั่วบราซิล 3 ต้นต่อตารางเมตร
กรรมวิธีที่ 3 จำนวนต้นถั่วบราซิล 4 ต้นต่อตารางเมตร
กรรมวิธีที่ 4 จำนวนต้นถั่วบราซิล 5 ต้นต่อตารางเมตร
กรรมวิธีที่ 5 จำนวนต้นถั่วบราซิล 6 ต้นต่อตารางเมตร
กรรมวิธีที่ 6 กำจัดวัชพืชด้วยมือ (ระยะ 30 วันหลังปลูก)
กรรมวิธีที่ 7 ไม่กำจัดวัชพืช

นำต้นถั่วบราซิลที่เพาะจากเมล็ดที่มีอายุ 1 เดือน มาทดลองทดลองในแปลงขนาด 4X5 เมตร ปลูกสับปะรดเป็นแบบแถวเดี่ยว ใช้ระยะระหว่างแถว 100 เซนติเมตร หลังปลูกสับปะรดแล้ว จึงปลูกต้นถั่วบราซิลในระหว่างตามอัตราที่กำหนด การกำจัดวัชพืชให้กับถั่วบราซิลในระยะแรกของการเจริญเติบโต กำจัดวัชพืชด้วยมือที่ 30 และ 60 วันหลังปลูก

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกการเจริญเติบโตของถั่วบราซิล ได้แก่ ความยาวกิ่ง จำนวนกิ่งต่อต้น ที่ระยะ 1, 2, 3, เดือนหลังปลูก
- ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช เปอร์เซ็นต์การคลุมพื้นที่ทั้งหมด ที่ระยะ 1, 2, 3, 4 และ 5เดือนหลังปลูก
- สุ่มนับจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งของวัชพืช ในทุกกรรมวิธี กรรมวิธีละ 2 จุด จุดละ 1 ตารางเมตร ที่ระยะ 1, 2, 3, 4 และ 5 เดือนหลังปลูก นำข้อมูลมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ อธิบายผลและเขียนรายงานผลการทดลอง
- สุ่มวัดการเจริญเติบโตของสับปะรด ได้แก่ ความสูง และความกว้างทรงพุ่ม โดยสุ่มจากจำนวน 10 ต้น ที่เป็นตัวแทนของสับปะรดในแต่ละกรรมวิธี บันทึกข้อมูล 3 ครั้งที่ที่ระยะ 1, 2, 3, 4 และ 5 เดือนหลังปลูก
- บันทึกต้นทุนในแต่ละกรรมวิธี

2.2 ศึกษาศักยภาพของถั่วบราซิลจากกิ่งปักชำในการควบคุมวัชพืชในสับปะรด

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 7 กรรมวิธี 3 ซ้ำ ประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1 จำนวนต้นถั่วบราซิล 2 ต้นต่อตารางเมตร
กรรมวิธีที่ 2 จำนวนต้นถั่วบราซิล 3 ต้นต่อตารางเมตร
กรรมวิธีที่ 3 จำนวนต้นถั่วบราซิล 4 ต้นต่อตารางเมตร
กรรมวิธีที่ 4 จำนวนต้นถั่วบราซิล 5 ต้นต่อตารางเมตร

กรรมวิธีที่ 5 จำนวนต้นถั่วบราซิล 6 ต้นต่อตารางเมตร
กรรมวิธีที่ 6 กำจัดวัชพืชด้วยมือ (ระยะ 30 วันหลังปลูก)
กรรมวิธีที่ 7 ไม่กำจัดวัชพืช

นำต้นถั่วบราซิลที่ได้จากการปักชำที่มีอายุ 1 เดือน มาทดลองทดลองในแปลงขนาด 4X5 เมตร ปลูกสับปะรดเป็นแบบแถวเดี่ยว ใช้ระยะระหว่างแถว 100 เซนติเมตร หลังปลูกสับปะรดแล้ว จึงปลูกต้นถั่วบราซิลในระหว่างตามอัตราที่กำหนด การ

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกการเจริญเติบโตของถั่วบราซิล ได้แก่ ความยาวกิ่ง จำนวนกิ่งต่อต้น ที่ระยะ 1, 2, 3, เดือนหลังปลูก
- ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช เปอร์เซ็นต์การคลุมพื้นที่ทั้งหมด ที่ระยะ 1, 2, 3, 4 และ 5เดือนหลังปลูก
- สุ่มนับจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งของวัชพืช ในทุกกรรมวิธี กรรมวิธีละ 2 จุด จุดละ 1 ตารางเมตร ที่ระยะ 1, 2, 3, 4 และ 5 เดือนหลังปลูก นำข้อมูลมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ อธิบายผลและเขียนรายงานผลการทดลอง
- สุ่มวัดการเจริญเติบโตของสับปะรด ได้แก่ ความสูง และความกว้างทรงพุ่ม โดยสุ่มจากจำนวน 10 ต้น ที่เป็นตัวแทนของสับปะรดในแต่ละกรรมวิธี บันทึกข้อมูล 3 ครั้งที่ที่ระยะ 1, 2, 3, 4 และ 5 เดือนหลังปลูก
- บันทึกต้นทุนในแต่ละกรรมวิธี

เวลาและสถานที่ กลุ่มวิจัยวัชพืช กรมวิชาการเกษตร และแปลงเกษตรกร จังหวัดกาญจนบุรี
ระหว่างเดือนตุลาคม 2558- มิถุนายน 2559

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1.1 ศึกษางอกและการเจริญเติบโตของถั่วบราซิลในดินร่วนปนทราย

เมื่อนำเมล็ดพันธุ์มาจุ่มน้ำให้เปียกโชกทิ้งไว้ค้างคืน แล้วหยอดลงในหลุมลึกประมาณ 2 ซ.ม. รดน้ำเช้าและเย็นเมล็ดถั่วบราซิลเริ่มงอกประมาณ 2 สัปดาห์ ประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ จะทยอยงอกจนถึงสัปดาห์ที่ 3 หลังการปลูก แต่พบการงอกเพียง 80 เปอร์เซ็นต์ และเมล็ดที่เหลือ 20 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดเน่าและฝ่อ (Figure 1,2)

เมื่อศึกษาการเจริญเติบโตของถั่วบราซิลหลังงอกจากเมล็ด พบว่า จำนวนต้นที่งอกเป็นต้นสมบูรณ์มีเพียง 60 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นเมล็ดที่เริ่มงอกในสัปดาห์ที่ 2 หลังการปลูก ในขณะที่เมล็ดที่ทยอยงอกในสัปดาห์ที่ 2 ต้นจะมีขนาดเล็ก ระยะ 1 เดือนหลังการงอกจะมีการเจริญเติบโตช้า

จะมีจำนวนใบ 4 คู่ใบ ลักษณะใบเป็นใบประกอบที่มี 4 ใบย่อย (terrafoliolate) ลักษณะคล้ายใบหอก กว้างประมาณ 1 เซนติเมตร ยาวประมาณ 3 เซนติเมตร เมื่อมีอายุได้ 45 วันจะเริ่มมีการเจริญเติบโตได้ดี ซึ่งจะมีจำนวนใบต่อต้น คือ 8 คู่ใบ ในระยะ 1 -2 เดือน ยังไม่พบการแตกกิ่งและการออกดอกของถั่วบราซิล การเจริญเติบโตของถั่วบราซิลที่เพาะจากเมล็ดจะมีการเจริญเติบโตแบบแนวตั้ง การแตกกิ่งใหม่จะเป็นไปได้อย่างช้า ๆ ในระยะ 3 เดือน มีการแตกกิ่งใหม่จากกิ่งหลังเพียง 2-4 กิ่ง

1.2 ศึกษาการเจริญเติบโตของถั่วบราซิลที่ขยายพันธุ์จากกิ่งปักชำ

จะนำต้นถั่วบราซิลที่มีการเจริญเติบโต ประมาณ 5 เดือน ซึ่งลำต้นจะมีการเลื้อยไปกับดินและมีการแตกแขนง นำมาตัดตามกรรมวิธีคือ กิ่งหลักส่วนโคน กิ่งหลักส่วนกลาง กิ่งหลักส่วนปลาย กิ่งแขนงส่วนโคน และกิ่งแขนงส่วนปลาย มีความยาวประมาณ 10 เซนติเมตร พบว่า ทุกๆ ส่วนของถั่วบราซิลสามารถงอก และเจริญเติบโตได้ แตกต่างกันไปออกไป แต่กิ่งหลักส่วนโคน และกิ่งหลักส่วนกลาง มีเปอร์เซ็นต์การรอดตายประมาณ 90 และ 70 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่กรรมวิธีอื่นมีเปอร์เซ็นต์การรอดตายต่ำ ประมาณ 10-20 เปอร์เซ็นต์

กิ่งส่วนหลัก และกิ่งส่วนกลาง มีแนวโน้มที่มีการเจริญเติบโตได้ดี หลังการปักชำประมาณ 12 วันจะเริ่มแตกใบ และจะเจริญเติบโตได้ดีหลังแตกใบ ประมาณ 1 เดือน โดยจะเริ่มแตกยอดใหม่จำนวน 1-2 ยอด มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ในระยะ 2 เดือน มีการแตกกิ่งแขนงมากกว่า 10 กิ่ง มีความยาวกิ่งแขนงประมาณ 80-90 เซนติเมตร

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาศักยภาพในการควบคุมวัชพืชในสับปะรด

2.1 ศึกษาศักยภาพของถั่วบราซิลจากเมล็ดในการควบคุมวัชพืชในสับปะรด

การศึกษาศักยภาพของถั่วบราซิลจากเมล็ดในการคลุมพื้นที่ ในกระถาง โดยการนำถั่วบราซิลที่มีอายุ 1 เดือน มาปลูกในกระถาง จำนวน 1 , 2 , 3, 4, 5 ต้นต่อกระถาง เพื่อดูศักยภาพในการเจริญเติบโตและการคลุมพื้นที่ พบว่า ถั่วบราซิลที่งอกจากเมล็ดจะมีการเจริญเติบโตช้า เจริญเติบโตแบบแนวตั้ง ในระยะ 1 เดือนหลังปลูก ยังไม่พบการแตกกิ่งใหม่ แต่จะเริ่มแตกกิ่งแขนงในเดือนที่ 2 จำนวน 1-2 กิ่ง และเดือนที่ 3 มีจำนวนกิ่ง 3-5 กิ่ง มีความยาวประมาณ 15-25 เซนติเมตร

2.2 ศึกษาศักยภาพของถั่วบราซิลจากกิ่งปักชำ

การศึกษาศักยภาพของถั่วบราซิลจากกิ่งปักชำในการคลุมพื้นที่ ในกระถาง โดยการนำถั่วบราซิลจากกิ่งปักชำส่วนโคน ที่มีอายุ 1 เดือน มาปลูกในกระถาง จำนวน 1 , 2 , 3, 4, 5 ต้นต่อกระถาง เพื่อดูศักยภาพในการเจริญเติบโตและการคลุมพื้นที่ พบว่า ถั่วบราซิลที่ได้จากกิ่งปักชำมีการเจริญเติบโตได้ดีตั้งแต่ 1 เดือนหลังปลูก มีการเจริญเติบโตโดยการแตกกิ่งใหม่จำนวน 2-5 กิ่ง มีความยาวประมาณ 20-30 เซนติเมตร ในเดือนที่ 1-2 และเริ่มมีการคลุมพื้นที่ในกระถาง ในเดือนที่ 3 ในกรรมวิธี 1 ต้นต่อกระถาง และจะคลุมพื้นที่ได้อย่างรวดเร็วในกรรมวิธีที่มีจำนวนต้นมากขึ้น (Figure 5)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. จำนวนต้นที่งอกจากเมล็ดเป็นต้นสมบูรณ์มีเพียง 60 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดส่วนใหญ่จะเริ่มงอกในสัปดาห์ที่ 2 หลังการปลูก เมื่อมีอายุได้ 45 วันจะเริ่มมีการเจริญเติบโตได้ดี ซึ่งจะมีจำนวนใบต่อต้นคือ 8 คู่ใบ ในระยะ 1 -2 เดือน

2. ทุกๆ ส่วนขอถั่วบราซิลสามารถงอก และเจริญเติบโตได้ ดีแตกต่างกันไปออกไป แต่กิ่งหลักส่วนโคน และกิ่งหลักส่วนกลาง มีเปอร์เซ็นต์การรอดตายประมาณ 90 และ 70 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่กรรมวิธีอื่นมีเปอร์เซ็นต์การรอดตายต่ำ ประมาณ 10-20 เปอร์เซ็นต์ กิ่งหลัก และกิ่งกลาง มีแนวโน้มที่มีการเจริญเติบโตได้ดี หลังการปักชำประมาณ 12 วันจะเริ่มแตกใบ

3. ถั่วบราซิลที่ได้จากกิ่งปักชำมีการเจริญเติบโตได้ดีตั้งแต่ 1 เดือนหลังปลูก และเริ่มมีการคลุมพื้นที่ในกระถาง ในเดือนที่ 3 ในกรรมวิธี 1 ต้นต่อกระถาง และจะคลุมพื้นที่ได้อย่างรวดเร็วในกรรมวิธีที่มีจำนวนต้นมากขึ้น

เอกสารอ้างอิง

นิรนาม, 2557. รายงานสรุปการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตร ปี 2556. (ระบบออนไลน์). แหล่งที่มา http://www.doa.go.th/ard/FileUpload/StatisticsHazardType%2056.pdf. (2 มิถุนายน 2557).

อังคณา สุวรรณกุฎ. 2552. จัดระบบสารเคมีทางการเกษตร. จดหมายข่าว ผลิใบ. กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ; ปีที่ 12 ฉบับที่ 10 ประจำเดือนพฤศจิกายน. หน้า 10-15.

Anonymous. 2014a. *Arachis pintoi*.(Online). Available : http://www.tropicalforages.info/key/Forages/Media/Html/Arachis_pintoi.htm. (2014 June 2)

Anonymous. 2014b.Perennial peanut.(Online). Available : http://www.ctahr.hawaii.edu/sustainag/CoverCrops/perennial_peanut.asp. (2014 June 2)

Ferreira, A. L., R. M. Mauricio, L. G. R. Pereira, J. A. G. Azevedo, L. S. Oliveira and J. M. Pereira. 2012. Nutritional divergence in genotypes of forage peanut. Revista Brasileira de Zootecnia. 14(4):*On-line version* ISSN 1806-9290.

Figure 1 Seed

Figure 2 Seed growth at 3 month after

Figure 3 a : Cutting base

b: 45 days after germination.

c: 60 days after germination

Figure 4) ศักยภาพในการคลุมพื้นที่เป็นไปอย่างช้า ๆ แต่สามารถออกดอก ประมาณ 2-3 ดอก

Figure 4 Seed germination at 3 month

1 plant/m^2

2 plant/m^2

3 plant/m^2

4 plant/m^2

5 plant/m^2

Figure 5 1 month after plant

ประสิทธิภาพสารสกัดพลู (*Piper betle* L.) เพื่อควบคุมวัชพืช

The Effectiveness of Betel (*Piper betle* L.) Extract for Weed Control

อัณศยา พรมมา ศิริพร ซึงสนธิพร ธัญชนก จงรักไทย

กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดพลู (*Piper betle* L.) เพื่อควบคุมวัชพืช ในห้องปฏิบัติการ ทำการทดลอง ระหว่าง ตุลาคม 2558 - กันยายน 2559 ณ ห้องปฏิบัติการและเรือนทดลอง กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร โดยทำการทดสอบสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของพลู จำนวน 7 ส่วน ได้แก่ ใบอ่อน ใบแก่ ใบแก่เต็มที่ ก้านใบอ่อน ก้านใบแก่ ปล้อง และข้อ+ราก โดยแต่ละส่วนของพืช แยกเป็นตัวอย่างสด และตัวอย่างแห้ง นำไปทดสอบกับไมยราบยักษ์ (*Mimosa pigra* L.) พบว่า ตัวอย่างแห้งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกและการเจริญของไมยราบยักษ์ดีกว่าตัวอย่างสด และตัวอย่างแห้งใบอ่อน และก้านใบอ่อนมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตดีกว่าทุกตัวอย่างแห้ง เมื่อนำตัวอย่างแห้งใบอ่อน ไปสกัดสารด้วยตัวทำละลาย 6 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน (hexane) ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane) เอทิลอะซิเตท (ethyl acetate) แอซีโทน (acetone) เอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol) และเมทิลแอลกอฮอล์ (methyl alcohol) นำไปทดสอบกับไมยราบยักษ์พบว่า ตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของไมยราบยักษ์ดีกว่าตัวทำละลายอื่นๆ และเมื่อนำไปทดสอบกับวัชพืช 7 ชนิด ได้แก่ หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium* (L.) Willd.) หญ้าข้าวนก (*Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv.) ถั่วผี (*Phaseolus lathyroides* L.) ไมยราบเลื้อย (*Mimosa diplotricha* C. Wright ex Sauvalle) ไมยราบ (*Mimosa pudica* L.) ผักโขมหนาม (*Amaranthus spinosus* L.) และหงอนไก่ป่า (*Celosia argentea* L.) โดยใช้สารสกัดเทียบเท่าสกัดจากพลูอัตรา 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 และ 1.0 กรัม พบว่า สามารถยับยั้งการงอก และการเจริญของวัชพืชชนิดต่างๆ ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ที่อัตราต่างกัน โดยหญ้าปากควาย หงอนไก่ป่า และผักโขมหนาม ที่อัตรา 0.05, 0.1, 0.5 และ 1.0 กรัม หญ้าข้าวนก ที่อัตรา 0.1, 0.5 และ 1.0 กรัม และถั่วผี ไมยราบเลื้อย และไมยราบ ที่อัตรา 0.5 และ 1.0 กรัม

รหัสการทดลอง 03-05-59-01-03-00-02-59

คำนำ

การปลูกพืชของเกษตรกรมีปัญหาวัชพืชตั้งแต่เริ่มปลูก เนื่องจากวัชพืชขึ้นรบกวน แย่งน้ำ ธาตุอาหาร และแสงแดด (กลุ่มวิจัยวัชพืช, 2555) ทำให้พืชปลูกชะงักการเจริญเติบโต ต้นไม่สมบูรณ์ และอาจทำให้สูญเสียผลผลิตในที่สุด เช่น การปล่อยให้วัชพืชขึ้นในแปลงปลูกพริกนาน 3.2 สัปดาห์ หลังย้ายปลูก ทำให้พริกสูญเสียผลผลิต 5 เปอร์เซ็นต์ (Amador-Ramírez, 2002) และการไม่กำจัดวัชพืชเลยในมะเขือเทศ และกะหล่ำปลี ทำให้สูญเสียผลผลิตสูงถึง 80 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Tolman *et al.*, 2004) เพื่อลดปัญหาดังกล่าวเกษตรกรจึงจำเป็นต้องใช้สารกำจัดวัชพืช ซึ่งจากข้อมูลของสำนักเศรษฐกิจการเกษตร พบว่ามีการนำเข้าสารกำจัดวัชพืชมากที่สุด สูงถึงร้อยละ 81.8 ของปริมาณสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช (สำนักเศรษฐกิจการเกษตร, 2555) ซึ่งที่ผ่านมามีปัญหาการใช้สารกำจัดวัชพืชที่ไม่ถูกต้องตามหลักวิชาการ ก่อให้เกิดอันตรายต่อเกษตรกรผู้ใช้ ทำให้เกิดการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม และส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศน์ โดยในปี 2555 มีรายงานผู้ป่วยที่ได้รับสารพิษจากสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชจากการทำงานและสิ่งแวดล้อม จำนวน 1,509 ราย อัตราป่วย 2.35 ต่อประชากรแสนคน (แสงโฉม และ สุชาดา, 2555) ดังนั้นการนำสารจากธรรมชาติมาใช้ควบคุมวัชพืช จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับเกษตรกร เนื่องจากสารจากธรรมชาติไม่มีพิษตกค้าง สามารถสลายตัวได้เร็ว ไม่เป็นอันตรายต่อผู้ใช้ และปลอดภัยต่อผู้บริโภค โดยเฉพาะการปลูกพืชในระบบเกษตรอินทรีย์ที่ไม่ใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช โดยพบว่าปัจจุบันมีการนำสารจากธรรมชาติมาใช้ในระบบเกษตรอินทรีย์ในประเทศสหรัฐอเมริกาแล้ว คือ สาร pelargonic acid และ maize gluten (Duke *et al.*, 2000 อ้างโดย จำรูญ และคณะ, 2555)

ในประเทศไทยมีพืชหลายชนิดที่มีรายงานการทดลองว่ามีแนวโน้มในการควบคุมวัชพืชได้ เช่น ใบประยงค์ (ธนัชสัณห์ และคณะ, 2552) แมงลักป่า (จรัญญา และ คมสัน, 2554; ชอุ่ม และ ศิริพร, 2552; ชอุ่ม และ ศิริพร, 2551; ศิริพร, 2546) แว่นแก้ว (ทิพวรรณ และคณะ, 2552) หญ้าดอกขาว (วิมลพรรณ และอารีวรรณ, 2552; ศานิต และคณะ, 2552) นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดน้ำจากพลู (*Piper betle* L.) ยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนกและถั่วผีได้ดีที่สุด โดยที่ระดับความเข้มข้น 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการงอกของพืชทดสอบทั้งสองชนิดได้โดยสมบูรณ์ และพบว่า สารสกัดหยาบพลูจากเอทิลอะซิเตท มีผลต่อการยับยั้งการงอก และการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนก และถั่วผีมากที่สุด โดยสามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดพืชทดสอบ ทั้งสองชนิดได้โดยสมบูรณ์ ที่ระดับความเข้มข้น 2,500 ppm (ปริยาภรณ์ และคณะ, 2556) โดยในพลูมีน้ำมันหอมระเหย (Essential oil) ที่เรียกว่า cineole (ยุวดี, 2557) และจากการวิเคราะห์ พบว่ามีส่วนประกอบของ 1,8-cineole อยู่ 0.04 เปอร์เซ็นต์ (Rimando *et al.*, 1986) ซึ่งสาร 1,8-cineole เป็นสารธรรมชาติจากพืชที่มีรายงานว่าสามารถควบคุมวัชพืชได้ดี และปัจจุบันได้รับการดัดแปลงสูตรโครงสร้างเป็นสาร cinmethylene ที่มีประสิทธิภาพสูงมากขึ้นในการควบคุมวัชพืชใบแคบ และวัชพืชใบกว้างบางชนิด (Bhowmik, 1988 อ้างโดย จำรูญ และคณะ, 2555) โดยสารดังกล่าวถูกพัฒนาและจำหน่ายเป็นการค้าโดยบริษัท Shell ในประเทศสหรัฐอเมริกา (จำรูญ และคณะ, 2555) ดังนั้นจึงควร

ทำการศึกษาพัฒนา นำสารสกัดจากพลูมาใช้ประโยชน์ควบคุมวัชพืชเพื่อรองรับการผลิตพืชอินทรีย์ที่มีแนวโน้มความต้องการของตลาดเพิ่มขึ้น และเป็นทางเลือกให้กับเกษตรกรในการเลือกใช้สารจากธรรมชาติควบคุมวัชพืช

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1) พืชที่ใช้ในการทดลอง

- พลู (*Piper betel* L.) กิ่งและใบ
- เมล็ดวัชพืช 8 ชนิด ได้แก่ หญ้าข้าวนก (*Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv.) หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium* (L.) Willd.) ไมยราบเลื้อย (*Mimosa diplotricha* C. Wright ex Sauvalle) ไมยราบยักษ์ (*Mimosa pigra* L.) ไมยราบ (*Mimosa pudica* L.) ถั่วผี (*Phaseolus lathyroides* L.) ผักโขมหนาม (*Amaranthus spinosus* L.) และหงอนไก่ป่า (*Celosia argentea* L.)

2) สารเคมี

ตัวทำละลาย 6 ชนิด ได้แก่

- เฮกเซน (hexane)
- ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane)
- เอทิลอะซิเตท (ethyl acetate)
- แอซีโทน (acetone)
- เอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol)
- เมทิลแอลกอฮอล์ (methyl alcohol)

3) วัสดุอุปกรณ์

- เครื่องบดละเอียด (Homoginizer)
- เครื่องกลั่นระเหยความดันต่ำ (Vaccuum rotary evaporator)
- เครื่องกรองสุญญากาศ (Vacuum respirator)
- ตู้ควบคุมอุณหภูมิและแสง (Growth chamber)
- บีกเกอร์ กระบอกตวง ขวดแก้ว หลอดแก้วก้นตัด จานรองแก้ว กรวยกรอง ปิเปตต์ กระดาษกรอง และอุปกรณ์อื่นๆ ที่จำเป็น

วิธีการ

1. การเตรียมเมล็ดวัชพืช

วัชพืชที่ใช้ในการทดสอบมี 8 ชนิด ได้แก่ หญ้าข้าวนก (*Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv.) หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium* (L.) Willd.) ไมยราบเลื้อย (*Mimosa diplotricha*

C. Wright ex Sauvalle) ไมยราบยักษ์ (*Mimosa pigra* L.) ไมยราบ (*Mimosa pudica* L.) ถั่วผี (*Phaseolus lathyroides* L.) ผักโขมหนาม (*Amaranthus spinosus* L.) และหงอนไก่ป่า (*Celosia argentea* L.) เก็บเมล็ดผึ่งในร่มจนแห้ง ทำความสะอาด เลือกเฉพาะเมล็ดที่สมบูรณ์เก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส จนกว่าจะใช้

2. การสกัดสารจากพลูและผลของสารสกัดพลูต่อการงอกและการเจริญเติบโตในห้องปฏิบัติการ

ขั้นตอนที่ 1 การเลือกส่วนของพลูที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของวัชพืช

1) การเก็บรวบรวมพลู ทำการเก็บพลูแล้วแยกเป็นส่วน จำนวน 7 ส่วน ดังนี้

1.1) ใบอ่อน (ใบมีสีเขียวอ่อน แผ่นใบยังไม่แผ่เต็มที่ ใบที่ 1-3 นับจากยอดลงมา)

1.2) ใบแก่ (ใบที่แผ่นใบมีสีเขียวเข้ม แผ่เต็มที่)

1.3) ใบแก่เต็มที่ (เริ่มมีสีเหลือง)

1.4) ก้านใบอ่อน

1.5) ก้านใบแก่

1.6) ปล้อง

1.7) ข้อ+ราก

โดยแต่ละส่วนของพืช แยกเป็นตัวอย่างสด และตัวอย่างแห้ง

2) การเตรียมสารสกัดจากตัวอย่างสด นำตัวอย่างพืช 10 กรัม มาตัดเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วนำไปบดกับสารละลาย 70% เมทานอล 100 มิลลิลิตร ด้วยเครื่องบดละเอียด แล้วแช่ไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 48-72 ชั่วโมง นำมากรองเอากากออกด้วยกระดาษกรอง วัดปริมาตร และนำสารละลายที่ได้ไปเก็บในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะใช้ (ทำส่วนละ 3 ซ้ำ)

3) การเตรียมสารสกัดจากตัวอย่างแห้ง นำตัวอย่างพืชไปตากให้แห้งภายใต้ร่มเงา หรืออบในตู้อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม ตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ และบดด้วยเครื่องบดละเอียด ปฏิบัติเช่นเดียวกับการเตรียมสารสกัดจากตัวอย่างสด

4) การทดสอบผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของวัชพืชทดสอบ นำสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของพลูสดและแห้งที่เตรียมไว้ นำมากลั่นระเหยแห้งให้มีปริมาตร 30 มิลลิลิตร ตวง 6 มิลลิลิตร (เทียบเท่าสกัดจากพลู 2 กรัม) แบ่งออก 3 มิลลิลิตร (เทียบเท่าสกัดจากพลู 1 กรัม) ใส่ในจานแก้วที่บรรจุกระดาษกรอง (Whatman no.4) 1 แผ่น เติมสารละลายที่เหลือด้วย 70% เมทานอล 3 มิลลิลิตร ตวง 3 มิลลิลิตร (เทียบเท่าสกัดจากพืช 0.5 กรัม) ใส่ในจานแก้วบรรจุกระดาษกรอง 1 แผ่น เติมสารละลายที่เหลือด้วย 70% เมทานอล 12 มิลลิลิตร ตวง 3 มิลลิลิตร (เทียบเท่าสกัดจากพืช 0.1 กรัม) ใส่ในจานแก้วบรรจุกระดาษกรอง 1แผ่น และทำเช่นเดียวกันนี้ จนได้สารสกัดเทียบเท่าสกัดจากพลูอัตรา 1.0, 0.5, 0.1, 0.05 และ 0.01 กรัม ตามลำดับ ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง เพื่อให้เมทานอลระเหยแห้ง สำหรับชุดควบคุมให้ตวง 70% เมทานอล 3 มิลลิลิตร ใส่ในจานแก้วบรรจุกระดาษกรอง และทิ้งไว้ให้แห้งเช่นเดียวกัน ทำ 3 ซ้ำ

นำเมล็ดไมยราบยักษ์แช่ในน้ำร้อน และปล่อยให้เย็นทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 12 ชั่วโมง เลือกเมล็ดพองเต่ง ไม่มีร่องรอยแมลงกัดกิน จำนวน 50 เมล็ด ใส่ในจานแก้วที่ใส่สารสกัดจากส่วนต่างๆ ของพลูที่เตรียมไว้ เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ปิดฝา วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง บันทึกจำนวนเมล็ดงอก สุ่มวัดความยาวรากและต้น จำนวนซ้ำละ 10 ต้น หลังเริ่มทดลอง 7 วัน นำผลที่ได้ไปคำนวณหาค่าเฉลี่ย และนำค่าเฉลี่ยไปคำนวณประสิทธิภาพการยับยั้งการงอกและการเจริญ ดังนี้

- การยับยั้งการงอก (%) = [(A-B)/A] x 100

  A = ค่าเฉลี่ย (จาก 3 ซ้ำ) จำนวนเมล็ดงอกในชุดควบคุม

  B = ค่าเฉลี่ย (จาก 3 ซ้ำ) จำนวนเมล็ดงอกในชุดที่ได้รับสารสกัด

- การยับยั้งการเจริญ (%) = [(A-B)/A] x 100

  A = ค่าเฉลี่ย (จาก 3 ซ้ำ) ความยาวราก/ต้นไมยราบเลื้อยในชุดควบคุม

  B = ค่าเฉลี่ย (จาก 3 ซ้ำ) ความยาวราก/ต้นไมยราบเลื้อยในชุดที่ได้รับสารสกัด

ขั้นตอนที่ 2 การเลือกตัวทำละลายสำหรับสกัดพลูที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของวัชพืช

นำส่วนของพืชที่ให้ผลยับยั้งการงอกและการเจริญของไมยราบยักษ์ที่ดีที่สุดในขั้นตอนที่ 1 หนัก 10 กรัม มาบดละเอียดในตัวทำละลายแต่ละชนิด ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และแช่ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 48-72 ชั่วโมง กรองกากออก และลดปริมาตรให้เหลือ 30 มิลลิลิตร และนำไปทดสอบกับการงอกและการเจริญของไมยราบเลื้อย โดยใช้สารสกัดเทียบเท่าสกัดจากพลูอัตรา 0.01, 0.05, 0.1 และ 0.5 กรัม บันทึกผล เช่นเดียวกับขั้นตอนที่ 1

ขั้นตอนที่ 3 ประสิทธิภาพของสารสกัดจากพลูในการยับยั้งการเจริญของวัชพืชในสภาพห้องปฏิบัติการ

ใช้สารละลายที่ให้ผลในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของไมยราบยักษ์ที่ดีสุดนำมาใช้สกัดตัวอย่างพลู น้ำหนัก 100 กรัม ตามวิธีการเช่นเดียวกับขั้นตอนที่ 1 (3 ซ้ำ) และนำไปทดสอบกับการงอกของวัชพืชจำนวน 7 ชนิด ได้แก่ หญ้าข้าวนก หญ้าปากควาย ถั่วผี ไมยราบเลื้อย ไมยราบ ผักโขมหนาม และหงอนไก่ป่า โดยใช้สารสกัดเทียบเท่าสกัดจากพลูอัตรา 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 และ 1.0 กรัม ปฏิบัติและบันทึกผลเช่นเดียวกับขั้นตอนที่ 1 สารสกัดที่เหลือแช่ในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะใช้

เวลาและสถานที่

ทำการทดลอง ระหว่าง ตุลาคม 2558 - กันยายน 2559 ณ ห้องปฏิบัติการ และเรือนทดลอง กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การเลือกส่วนของพลูที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของวัชพืช

ผลการทดสอบสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของพลู จำนวน 7 ส่วน ได้แก่ ใบอ่อน ใบแก่ ใบแก่เต็มที่ ก้านใบอ่อน ก้านใบแก่ ปล้อง และข้อ+ราก โดยแต่ละส่วนของพืช แยกเป็นตัวอย่างสด และตัวอย่างแห้ง พบว่า ตัวอย่างแห้งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอก การเจริญเติบโตของรากและลำต้นไมยราบยักษ์ดีกว่าตัวอย่างสด และตัวอย่างแห้งใบอ่อน และก้านใบอ่อนมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอก การเจริญเติบโตของรากและลำต้นไมยราบยักษ์ดีกว่าทุกตัวอย่างแห้ง (Table 1-2)

ตัวอย่างแห้งใบอ่อน และก้านใบอ่อนมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของไมยราบยักษ์ใกล้เคียงกัน แต่เนื่องจากใบอ่อนมีปริมาณเพียงพอสำหรับใช้ในการทดลองขั้นต่อไป จึงเลือกตัวอย่างแห้งใบอ่อนใช้ในการเลือกตัวทำละลายสำหรับสกัดพลูที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของวัชพืช

2. การเลือกตัวทำละลายสำหรับสกัดพลูที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของวัชพืช

นำตัวอย่างแห้งใบอ่อน แช่ในตัวทำละลาย 6 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน (hexane) ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane) เอทิลอะซิเตท (ethyl acetate) แอซีโทน (acetone) เอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol) และเมทิลแอลกอฮอล์ (methyl alcohol) กรองสาร และทำการระเหยแห้ง แล้วนำไปทดสอบกับเมล็ดไมยราบยักษ์พบว่า ตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอก การเจริญเติบโตของรากและลำต้นไมยราบยักษ์ดีกว่าตัวทำละลายอื่นๆ (Table 3)

3. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากพลูในการยับยั้งการเจริญของวัชพืชในสภาพห้องปฏิบัติการ

นำสารสกัดพลู (ใช้เอทิลอะซิเตทเป็นตัวทำละลาย) ไปทดสอบกับวัชพืชจำนวน 7 ชนิด ได้แก่ หญ้าปากควาย หญ้าข้าวนก ถั่วผี ไมยราบเลื้อย ไมยราบ ผักโขมหนาม และหงอนไก่ป่า โดยใช้สารสกัดเทียบเท่าสกัดจากพลูอัตรา 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 และ 1.0 กรัม ได้ผลการทดลองดังนี้

หญ้าปากควาย หงอนไก่ป่า และผักโขมหนาม ที่อัตรา 0.05, 0.1, 0.5 และ 1.0 กรัม สามารถยับยั้งการงอก การเจริญเติบโตของรากและลำต้นได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนถั่วผี และไมยราบเลื้อย ที่อัตรา 0.5 และ 1.0 กรัม สามารถยับยั้งการงอก การเจริญเติบโตของรากและลำต้นได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนหญ้าขาวนก ที่อัตรา 0.05 กรัม สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของรากได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และที่อัตรา 0.1, 0.5 และ 1.0 กรัม สามารถยับยั้งการงอก การเจริญเติบโตของรากและลำต้นได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และไมยราบ ที่อัตรา 0.1 กรัม สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของรากและลำต้นได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และที่ที่อัตรา 0.5 และ 1.0 กรัม สามารถยับยั้งการงอก การเจริญเติบโตของรากและลำต้นได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (Table 4)

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มวิจัยวัชพืช. 2555. *คำแนะนำการควบคุมวัชพืช และการใช้สารกำจัดวัชพืชปี 2554*. พิมพ์ครั้งที่ 1 กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. กรุงเทพฯ. 144 หน้า.

จรัญญา ปิ่นสุภา และ คมสัน นครศรี. 2554. วิจัยและพัฒนาสารจากแมงลักป่าเพื่อการป้องกันกำจัดวัชพืช. *ใน: รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์*. 659 หน้า.

จำรูญ เล้าสินวัฒนา มณทินี ธีรารักษ์ และ นายจตุพล ฮุยเป้า. 2555. *รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์: การพัฒนาศักยภาพและพฤติกรรมของสารธรรมชาติกำจัดวัชพืชจากประยงค์ในสภาพแปลง*. คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 112 หน้า.

ชอุ่ม เปรมัษเฐียร และ ศิริพร ซึงสนธิพร. 2551. ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารจากแมงลักป่าเพื่อให้ได้สารที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชสูงสุด. *ใน: รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2550 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์*. 650 หน้า.

ชอุ่ม เปรมัษเฐียร และ ศิริพร ซึงสนธิพร. 2552. ศึกษาอัตราของสารสกัดจากแมงลักป่าที่เหมาะสมในการควบคุมวัชพืชก่อนและหลังพืชและวัชพืชงอก. *ใน: รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2551 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์*. 649 หน้า.

ทิพวรรณ แสงทอง จำรูญ เล้าสินวัฒนา และพัชนี เจริญยิ่ง. 2552. ผลของออโดรีนต่อระยะการเจริญเติบโตของเมล็ดผักโขม. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร*. 40(3) (พิเศษ): 62-65.

ธนัชสัณห์ พูนไพบูลย์พิพัฒน์ สุธีรดา ฉิมน้อย จำรูญ เล้าสินวัฒนา และพัชนี เจริญยิ่ง. 2552. ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของผลิตภัณฑ์จากใบประยงค์. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร*. 40(3) (พิเศษ): 295-298.

ปริยาภรณ์ เนตรสว่าง ภัทริน วิจิตรตระการ จำรูญ เล้าสินวัฒนา และ มณทินี ธีรารักษ์. 2556. ผลของสารสกัดจากพืชวงศ์ Piperaceae ต่อการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ. *ใน: การประชุมอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 11*. ณ เซ็นทาราคอนเวนชันเซนเตอร์ ขอนแก่น ระหว่างวันที่ 26–28 พฤศจิกายน 2556. หน้า 1447-1454.

ยุวดี จอมพิทักษ์. 2557. *พลู*. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: http://www.ajareeherb.com/2010-06-10-03-39-49/2010-07-05-08-34-03.html. (30 พฤษภาคม 2557).

วิมลพรรณ รุ่งพรหม และ อารีวรรณ ประสันทะวงษ์. 2552. สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากหญ้าดอกขาว (*Leptochloa chinensis* (L.) Ness). *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร*. 40: 1(พิเศษ): 118-120.

ศานิต สวัสดิกาญน์ วิมลพรรณ รุ่งพรหม และ ศิริรัตน์ ศิริพรวิศาล. 2552. ผลของสารสกัดจากลำต้นหญ้าดอกขาวต่อการงอกและการเจริญเติบโตของวัชพืช 3 ชนิด. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร*. 40: 1(พิเศษ): 157-160.

ศิริพร โอโกโนกิ. 2546. *โครงการวิจัยและพัฒนาพืชสมุนไพร. เอกสารประกอบการสัมมนา การเผยแพร่ผลงานวิจัยด้านการพัฒนาสมุนไพร*. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: http://pikul.lib.ku.ac.th/cgibin/agdb4.exe?rec_id=011701&database=agdb4&search_type=link&table=mona&back_path=/agdb4/mona&lang=thai&format_name=TFMON (26 มีนาคม 2558).

แสงโฉม ศิริพานิช และ สุชาดา มีศรี. 2555. *สรุปรายงานการเฝ้าระวังโรค ประจำปี 2555: พิษสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช*. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: http://boe.moph.go.th/ (26 มีนาคม 2557).

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2555. *ปริมาณและมูลการนำเข้าสารกำจัดศัตรูพืช ปี 2555*. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: http://www.oae.go.th/ewt_news.php?nid=146 (1 พฤษภาคม 2557).

Amador-Ramírez , M.D. 2002. Critical period of weed control in transplanted chilli pepper. *Weed research*. 42(3): 203-209.

Rimando, A. M., B. H. Han, J. H. Park and M. C. Cantoria. 1986. Studies on the constituents of Philippine Piper betle leaves. *Arch. Pharm. Res*. 9(2): 93-97.

Tolman, J.H., D.G.R. McLeod and C.R. Harris. 2004. Cost of crop losses in processing tomato and cabbage in southwestern Ontario due to insects, weeds and/or diseases. *Canadian journal of plant science*. 915-921.

Table 1 Effect of extract from fresh *Piper betle* L. on seed germination and seedling growth in *Mimosa pigra* L.

P.betle L.	Concentration (g)	Inhibition (%)					
		Seed germination		Root growth		Stem growth	
		Water	Methyl alcohol	Water	Methyl alcohol	Water	Methyl alcohol
Young leaves	0.01	6.91	11.68	21.32	23.85	0.64	1.84
	0.05	12.91	17.38	29.54	31.81	10.67	11.75
	0.1	-0.60	4.56	39.74	41.68	7.11	8.23
	0.5	6.91	11.68	71.21	72.14	25.79	26.68
	1.0	27.93	31.62	78.49	79.18	45.48	46.13
Old leaves	0.01	-15.62	-9.69	-18.03	-14.23	-8.16	-6.85
	0.05	-6.61	-1.14	-10.34	-6.78	2.24	3.42
	0.1	-21.62	-15.38	11.48	14.33	0.93	2.13
	0.5	17.42	21.65	51.00	52.58	20.85	21.80
	1.0	-0.60	4.56	37.23	39.25	18.37	19.36
Oldest leaves	0.01	-9.61	-3.99	27.40	29.73	6.24	7.37
	0.05	9.91	14.53	22.39	24.89	5.73	6.86
	0.1	-8.11	-2.56	25.79	28.18	6.67	7.80
	0.5	17.42	21.65	45.28	47.04	16.99	18.00
	1.0	20.42	24.50	51.54	53.10	27.17	28.05
Young petiole	0.01	-2.10	3.13	34.37	36.48	3.33	4.50
	0.05	-6.61	-1.14	25.43	27.83	-1.10	0.11
	0.1	-18.62	-12.54	23.64	26.10	-3.65	-2.40
	0.5	15.92	20.23	57.57	58.94	25.93	26.83
	1.0	-2.10	3.13	72.46	73.35	29.93	30.78
Old petiole	0.01	-12.61	-6.84	11.84	14.68	-8.74	-7.42
	0.05	-2.10	3.13	30.08	32.33	-3.72	-2.47
	0.1	-21.62	-15.38	24.89	27.31	-1.61	-0.39
	0.5	-2.10	3.13	53.51	55.00	11.54	12.61
	1.0	-18.62	-12.54	68.53	69.54	23.97	24.89
Internode	0.01	-15.62	-9.69	15.41	18.14	0.20	1.41
	0.05	-20.12	-13.96	12.91	15.71	2.02	3.20
	0.1	-18.62	-12.54	19.17	21.77	2.17	3.35
	0.5	-15.62	-9.69	32.94	35.10	15.83	16.85
	1.0	3.90	8.83	68.53	69.54	28.55	29.41
Node+Root	0.01	-18.62	-12.54	-3.00	0.31	-9.97	-8.65
	0.05	-24.62	-18.23	-5.87	-2.46	-4.88	-3.62
	0.1	3.90	8.83	10.23	13.12	4.49	5.64
	0.5	23.42	27.35	71.92	72.83	44.11	44.78
	1.0	5.41	10.26	54.04	55.52	20.92	21.87

Table 2 Effect of extract from dry *Piper betle* L. on seed germination and seedling growth in *Mimosa pigra* L.

P.betle L.	Concentration (g)	Inhibition (%)					
		Seed germination		Root growth		Stem growth	
		Water	Methyl alcohol	Water	Methyl alcohol	Water	Methyl alcohol
Young leaves	0.01	-30.95	12.70	24.05	40.47	9.82	17.07
	0.05	0.79	33.86	52.76	62.98	52.41	56.24
	0.1	44.44	62.96	64.80	72.41	64.97	67.79
	0.5	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
	1.0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Old leaves	0.01	-26.98	15.34	12.12	31.12	17.72	24.33
	0.05	24.60	49.74	65.21	72.73	61.78	64.85
	0.1	-54.76	-3.17	58.69	67.62	46.92	51.18
	0.5	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
	1.0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Oldest leaves	0.01	-70.63	-13.76	-41.24	-10.70	-18.90	-9.34
	0.05	-26.98	15.34	35.15	49.17	36.30	41.42
	0.1	12.70	41.80	47.70	59.01	52.41	56.23
	0.5	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
	1.0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Young petiole	0.01	16.67	44.44	52.62	62.87	13.23	20.20
	0.05	16.67	44.44	64.91	72.50	45.07	49.48
	0.1	52.38	68.25	66.69	73.89	62.88	65.86
	0.5	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
	1.0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Old petiole	0.01	-46.83	2.12	-26.59	0.78	-6.17	2.36
	0.05	-11.11	25.93	17.83	35.60	13.96	20.87
	0.1	-15.08	23.28	36.04	49.87	10.69	17.87
	0.5	64.29	76.19	88.16	90.72	100.00	100.00
	1.0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Internode	0.01	-58.73	-5.82	-6.60	16.45	-7.26	1.36
	0.05	-15.08	23.28	18.70	36.28	5.55	13.14
	0.1	-74.60	-16.40	29.82	45.00	1.66	9.56
	0.5	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
	1.0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Node+Root	0.01	-86.51	-24.34	11.17	30.37	-11.93	-2.94
	0.05	-98.41	-32.28	-4.82	17.84	-1.93	6.26
	0.1	-42.86	4.76	65.36	72.85	36.04	41.18
	0.5	-7.14	28.57	61.36	69.71	44.31	48.78
	1.0	94.05	96.03	91.12	93.04	88.03	89.00

Table 3 Effect of solvent on seed germination and seedling growth in *Mimosa pigra* L.

Solvents	Concentration (g)	Inhibition (%)					
		Seed germination		Root growth		Stem growth	
		Water	Solvent	Water	Solvent	Water	Solvent
Hexane	0.01	-16.60	-19.48	-3.29	0.47	15.71	13.55
	0.05	-6.38	-9.01	7.27	10.64	9.77	7.45
	0.1	-4.68	-7.27	-6.64	-2.75	10.04	7.73
	0.5	10.64	8.43	-1.52	2.18	23.67	21.71
Dichloromethane	0.01	7.23	17.42	42.29	32.19	26.39	10.89
	0.05	8.09	18.18	47.31	38.08	29.22	14.32
	0.1	78.72	81.06	90.80	89.19	94.05	92.80
	0.5	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Ethyl acetate	0.01	-1.28	-0.28	11.66	17.75	11.50	5.90
	0.05	65.11	65.45	81.60	82.87	74.32	72.70
	0.1	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
	0.5	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Acetone	0.01	-6.38	-18.67	16.47	23.07	14.22	5.25
	0.05	45.53	39.24	45.88	50.16	30.82	23.59
	0.1	96.60	96.20	93.60	94.11	90.90	89.95
	0.5	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Ethyl alcohol	0.01	-11.49	-25.16	11.55	17.70	11.15	6.88
	0.05	43.83	36.94	56.82	59.82	43.80	41.10
	0.1	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
	0.5	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Methyl alcohol	0.01	6.38	-10.74	5.70	0.15	9.10	6.18
	0.05	38.72	27.52	50.03	47.08	31.47	29.27
	0.1	80.43	76.85	84.88	83.99	77.53	76.81
	0.5	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

Table 4 Effect of extract from *Piper betle* L. on seed germination and seedling growth on weed 7 species.

Weed species	Concentration (g)	Inhibition (%)					
		Seed germination		Root growth		Stem growth	
		Water	Ethyl acetate	Water	Ethyl acetate	Water	Ethyl acetate
Dactyloctenium aegyptium (L.) Willd.	0.01	-27.72	-27.72	57.63	62.65	58.73	61.62
	0.05	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
	0.1	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
	0.5	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
	1.0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Echinochloa crus-galli (L.) P. Beauv.	0.01	0.35	-10.90	0.41	15.07	14.39	5.38
	0.05	82.14	80.13	100.00	100.00	85.13	83.56
	0.1	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
	0.5	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
	1.0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Phaseolus lathyroides L.	0.01	-2.49	3.03	0.05	-1.22	-7.40	-15.74
	0.05	-0.71	4.71	0.41	-0.85	-17.82	-26.96
	0.1	4.03	9.19	-1.88	-3.17	-6.36	-14.62
	0.5	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
	1.0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Mimosa diplotricha C. Wright ex Sauvalle	0.01	0.53	1.37	12.27	10.89	-8.54	-6.22
	0.05	2.13	2.95	25.25	24.07	-1.76	0.41
	0.1	51.60	52.00	69.15	68.66	66.69	67.40
	0.5	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
	1.0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Mimosa pudica L.	0.01	-0.94	-3.37	-0.94	10.73	1.34	2.95
	0.05	33.80	32.21	35.93	43.34	28.33	29.50
	0.1	95.77	95.67	100.00	100.00	100.00	100.00
	0.5	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
	1.0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Celosia argentea L.	0.01	26.83	31.82	84.26	82.17	74.47	72.84
	0.05	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
	0.1	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
	0.5	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
	1.0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Amaranthus spinosus L.	0.01	86.36	84.69	98.96	98.83	96.11	95.96
	0.05	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
	0.1	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
	0.5	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
	1.0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

การพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายแตนเบียน *Goniozus nephantidis* (Muesebeck) ควบคุมหนอนหัวดำมะพร้าว *Opisina arenosella* Walker

Development Technology Mass Rearing on Parasitoid; *Goniozus nephantidis* for Controlling Black Headed Caterpillar; *Opisina arenosella*

พัชรีวรรณ จงจิตเมตต์ รจนา ไวยเจริญ
ประภัสสร เชยคำแหง ภัทรพร สรรพนุเคราะห์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายแตนเบียนควบคุมหนอนหัวดำมะพร้าว แบ่งขั้นตอนการดำเนินงานออกเป็น 2 ขั้นตอน โดยการทดสอบในปีแรกเป็นการศึกษาชีววิทยา และนิเวศวิทยา ของแตนเบียน *Goniozus nephantidis* ด้วยการเพาะเลี้ยงในแมลงอาศัยหนอนหัวดำมะพร้าว และหนอนผีเสื้อข้าวสาร โดยศึกษาวงจรชีวิต, อัตราการเบียนหนอนหัวดำมะพร้าว, อัตราการวางไข่, อัตราการฟักออกเป็นตัวอ่อน, อัตราการออกเป็นตัวเต็มวัย เพศผู้ เพศเมีย, อัตราการผสมพันธุ์ ที่อุณหภูมิ 30°C ทำการทดลองเปรียบเทียบแบบ T-Test มี 2 กรรมวิธี 30 ตัวอย่าง กรรมวิธีที่ 1 เพาะเลี้ยงขยายแตนเบียนด้วยหนอนหัวดำมะพร้าว กรรมวิธีที่ 2 เพาะเลี้ยงขยายแตนเบียนด้วยหนอนผีเสื้อข้าวสาร เริ่มการทดลองเดือนตุลาคม 2558 – กันยายน 2559 ที่กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ผลการทดสอบพบว่า

แตนเบียนโกนีโอซัสที่เลี้ยงขยายด้วยหนอนหัวดำมะพร้าวให้ผลผลิตรุ่นลูกได้ 4 รุ่น โดยรุ่นลูกที่ 1 สามารถเบียนติดต่อกันได้ 6 ครั้ง รวมเพศผู้และเพศเมียที่เป็นผลผลิตจากรุ่นลูกที่ 1 คิดเป็นอัตราส่วนเพศผู้ : เพศเมีย เท่ากับ 1 : 11.28 และคิดเป็นจำนวนเพศเมียเพิ่มขึ้น 33.83 เท่า

รุ่นลูกที่ 2 สามารถเบียนติดต่อกันได้ 5 ครั้ง รวมเพศผู้และเพศเมียที่เป็นผลผลิตจากรุ่นลูกที่ 2 คิดเป็นอัตราส่วนเพศผู้ : เพศเมีย เท่ากับ 1 : 1.18 และคิดเป็นจำนวนเพศเมียเพิ่มขึ้น 6.42 เท่า

รุ่นลูกที่ 3 สามารถเบียนติดต่อกันได้ 3 ครั้ง รวมเพศผู้และเพศเมียที่เป็นผลผลิตจากรุ่นลูกที่ 3 คิดเป็นอัตราส่วนเพศผู้ : เพศเมีย เท่ากับ 1 : 4.04 และคิดเป็นจำนวนเพศเมียเพิ่มขึ้น 5.33 เท่า

รุ่นลูกที่ 4 สามารถเบียนติดต่อกันได้ 6 ครั้ง รวมเพศผู้และเพศเมียที่เป็นผลผลิตจากรุ่นลูกที่ 4 คิดเป็นอัตราส่วนเพศผู้ : เพศเมีย เท่ากับ 1 : 2.77 และคิดเป็นจำนวนเพศเมียเพิ่มขึ้น 12 เท่า

แตนเบียนโกนีโอซัสที่เลี้ยงขยายด้วยหนอนผีเสื้อข้าวสาร ให้ผลผลิตรุ่นลูกได้ 2 รุ่น โดยรุ่นลูกที่ 1 สามารถเบียนติดต่อกันได้ 8 ครั้ง รวมเพศผู้และเพศเมียที่เป็นผลผลิตจากรุ่นลูกที่ 1 คิดเป็น

รหัสการทดลอง 03-05-59-02-01-00-01-59

อัตราส่วนเพศผู้ : เพศเมีย เท่ากับ 1 : 1.43 และคิดเป็นจำนวนเพศเมียเพิ่มขึ้น 13.34 เท่า

รุ่นลูกที่ 2 สามารถเบียนติดต่อกันได้ 6 ครั้ง รวมเพศผู้และเพศเมียที่เป็นผลผลิตจากรุ่นลูกที่ 2 คิดเป็นอัตราส่วนเพศผู้ : เพศเมีย เท่ากับ 1 : 1.33 และคิดเป็นจำนวนเพศเมียเพิ่มขึ้น 8 เท่า

คำหลัก : การผลิตขยาย แตนเบียน โกนีโอซัส เนแฟนติดีส หนอนหัวดำมะพร้าว

คำนำ

แตนเบียน *Goniozus nephantidis* เป็นแมลงที่จัดอยู่ในวงศ์ Bethylidae อันดับ Hymenoptera เป็นแตนเบียนชนิดที่สำคัญที่เป็นแมลงศัตรูธรรมชาติของหนอนหัวดำมะพร้าว โดยพบว่าสามารถลงทำลายหนอนหัวดำมะพร้าวได้ดีมากทั้งในอินเดียและศรีลังกา กรมวิชาการเกษตรนำเข้าแตนเบียนชนิดนี้จากสาธารณรัฐสังคมนิยมประชาธิปไตยศรีลังกา เมื่อวันที่ 28 เมษายน 2555 และได้ผ่านการทดสอบตามขั้นตอนกระบวนการกักกันศัตรูพืชต่างถิ่นเรียบร้อยแล้วนั้น (อัมพร, 2555) ปัจจุบันได้เร่งผลิตขยายเพื่อนำไปปล่อยควบคุมหนอนหัวดำมะพร้าวในพื้นที่ระบาด แต่ปริมาณแตนเบียนที่ผลิตได้ยังไม่เพียงพอกับการนำไปใช้ควบคุมการระบาดของหนอนหัวดำมะพร้าว อีกทั้งยังไม่เคยมีรายงานการเลี้ยงขยายแตนเบียนชนิดนี้ในประเทศไทยมาก่อน ทั้งสภาพอุณหภูมิ ปัจจัยต่างๆ ในการเพาะเลี้ยงอาจยังแปรปรวนไม่คงที่ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาเพิ่มเติมถึงชีววิทยาและพฤติกรรมของแตนเบียนชนิดนี้ในสภาพปัจจัยที่มีในประเทศไทย และศึกษาพัฒนาต่อยอดวิธีการเพาะเลี้ยงขยายปริมาณและการเก็บรักษาเพื่อนำไปใช้ควบคุมหนอนหัวดำมะพร้าวในประเทศไทยได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ข้อมูลที่จะได้จากงานวิจัยนี้จะทำให้ทราบถึงปัจจัยต่างๆ และวิธีการที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงขยายปริมาณแตนเบียนชนิดนี้ จากนั้นจึงจะได้เผยแพร่ข้อมูลให้กับเจ้าหน้าที่ของหน่วยงานที่รับผิดชอบได้ดำเนินการต่อ เพื่อช่วยเหลือเกษตรกรผู้ปลูกมะพร้าวต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. พ่อแม่พันธุ์แมลงอาศัย 2 ชนิด ได้แก่ หนอนหัวดำมะพร้าว และหนอนผีเสื้อข้าวสาร
2. พ่อแม่พันธุ์แตนเบียน *Goniozus nephantidis*
3. อาหารเทียมสำหรับเลี้ยงหนอนผีเสื้อข้าวสาร
4. น้ำผึ้ง
5. หลอดพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.8 ซม. สูง 6 ซม.
6. หลอดพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 ซม. สูง 4 ซม.
7. กระดาษ
8. พู่กัน

วิธีการ

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาชีววิทยา และนิเวศวิทยา ของแตนเบียน *Goniozus nephantidis* ด้วยการเพาะเลี้ยงในแมลงอาศัยหนอนหัวดำมะพร้าว และหนอนผีเสื้อข้าวสาร (ปี 2559)

ศึกษาวงจรชีวิต, อัตราการเบียนหนอนหัวดำมะพร้าว, อัตราการวางไข่, อัตราการฟักออกเป็นตัวอ่อน, อัตราการออกเป็นตัวเต็มวัย เพศผู้ เพศเมีย, อัตราการผสมพันธุ์ ที่อุณหภูมิ 30°C (Sreekanth and Muralimohan, 2013)

แบบและวิธีการทดลอง

ทำการทดลองเปรียบเทียบแบบ T-Test มี 2 กรรมวิธี 30 ตัวอย่าง

1. เพาะเลี้ยงขยายแตนเบียนด้วยหนอนหัวดำมะพร้าว
2. เพาะเลี้ยงขยายแตนเบียนด้วยหนอนผีเสื้อข้าวสาร

วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. เลี้ยงขยายปริมาณแมลงอาศัยทั้ง 2 ชนิด คือ หนอนหัวดำมะพร้าว และหนอนผีเสื้อข้าวสาร ตามวิธีการของ อัมพร และคณะ (2556) จนกระทั่งได้หนอนวัยสุดท้ายจึงนำไปเลี้ยงขยายแตนเบียน

2. คัดเลือกแตนเบียนเพศเมียที่แข็งแรงและได้รับการผสมพันธุ์แล้ว โดยใช้พู่กันขนาดเล็กเขี่ยแตนเพศเมียออกมาอย่างเบามือใส่ในขวดพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.8 ซม. สูง 6 ซม.

3. นำหนอนหัวดำมะพร้าว และหนอนผีเสื้อข้าวสารสำหรับเพาะเลี้ยงใส่ในขวดที่มีแตนเบียนเพศเมียบรรจุอยู่ โดยใช้หนอนหนึ่งตัวต่อแตนเบียนหนึ่งตัว ให้น้ำผึ้ง 10% เป็นอาหารสำหรับแตนเบียน ปิดฝาที่มีรูสำหรับระบายอากาศ

4. นำขวดทดสอบตั้งไว้ที่อุณหภูมิ 30°C แตนจะเริ่มเบียนและวางไข่

5. เมื่อครบ 3 วัน นำหนอนที่มีไข่แตนเบียนวางในกระดาษที่พับเป็นรูปกระบะขนาด 1 ซม. 3 ซม. วางหนอน 1 ตัวต่อหนึ่งกระบะ จากนั้นตรวจนับจำนวนไข่ของแตนเบียนบนตัวหนอนภายใต้กล้องจุลทรรศน์

6. นำกระบะตัวหนอนเก็บใส่ในหลอดพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 ซม. สูง 4 ซม. ที่ฝาเจาะรูระบายอากาศขวดละ 1 กระบะ บันทึกการเจริญเติบโต จำนวนหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย เพศผู้ เพศเมีย ทุก 24 ชั่วโมง

7. นำหนอนตัวใหม่ชนิดเดิม ปล่อยซ้ำลงไปในขวดแตนเบียนที่ได้เก็บหนอนทดสอบออกไปแล้ว และทำเช่นเดียวกันนี้จนกว่าแตนเบียนเพศเมียตาย หรือไม่วางไข่แล้ว บันทึกอัตราการเบียนของเพศเมีย

8. สำหรับในหลอดพลาสติกเมื่อแตนเบียนออกจากดักแด้แล้ว ให้น้ำผึ้ง 10% เป็นอาหาร และปล่อยไว้เป็นเวลา 4 วัน เพื่อให้ผสมพันธุ์ จากนั้นนำแตนเบียนเพศเมียออกมาเบียนหนอนชนิดเดิมต่อไป บันทึกอัตราการเบียนของแตนเบียนเพศเมียรุ่นลูกที่ 1

9. ทำการทดสอบในลักษณะเดียวกันนี้ต่อๆ กันไปนาน 6 เดือน หรือ 1 ปี ขึ้นอยู่กับความแข็งแรงของแตนเบียนและสภาพปัจจัยต่างๆ โดยเก็บบันทึกข้อมูลที่ได้ทั้งหมดแล้วนำมาวิเคราะห์เปรียบเทียบข้อมูลทางสถิติ

การบันทึกข้อมูล

- นับจำนวนไข่ของแตนเบียนบนตัวหนอนในวันที่ 3 หลังจากปล่อยแตนเบียน
- บันทึกการเจริญเติบโต จำนวนหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัยเพศผู้ เพศเมีย ทุก 24 ชั่วโมง
- บันทึกอัตราการเบียนของแตนเบียนเพศเมีย
- เก็บบันทึกข้อมูลในลักษณะเดียวกันนี้ต่อๆ กันไปนาน 6 เดือน หรือ 1 ปี
- คำนวณต้นทุนการผลิต

ระยะเวลาการทดลอง ตุลาคม 2558 – กันยายน 2559

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาระยะเวลาการเก็บรักษาแตนเบียนที่อุณหภูมิ อัตราการบรรจุที่เหมาะสม พร้อมทั้งทดสอบประสิทธิภาพแตนเบียนก่อนนำไปใช้ประโยชน์ (ปี 2560)

ดำเนินการเก็บรักษาแตนเบียนที่อัตราการบรรจุแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่ระดับอุณหภูมิแตกต่างกัน 3 ระดับ จากนั้นจึงนำมาทดสอบประสิทธิภาพการเบียนหนอนหัวดำมะพร้าววัยสุดท้าย

แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 กรรมวิธี 20 ตัวอย่าง

กรรมวิธีที่ 1 เก็บบรรจุแตนเบียนเพศเมียจำนวน 5 ตัว/ขวด

กรรมวิธีที่ 2 เก็บบรรจุแตนเบียนเพศเมียจำนวน 10 ตัว/ขวด

กรรมวิธีที่ 3 เก็บบรรจุแตนเบียนเพศเมียจำนวน 20 ตัว/ขวด

ทำการทดลองที่ 3 อุณหภูมิ ได้แก่ 10, 15 และ 20 องศาเซลเซียส

วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. บรรจุแตนเบียนเพศเมียที่ผสมพันธุ์แล้ว ตามจำนวนในแต่ละวิธีการ ลงในขวดพลาสติกใส พร้อมฝาปิดมีรูระบายอากาศ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.8 ซม. สูง 6 ซม. โดยแบ่งเป็น 2 ชุดคือ สำหรับทดสอบระยะเวลาการเก็บรักษาอัตราการอยู่รอดของแตนเบียน และสำหรับนำออกมาทดสอบประสิทธิภาพแตนเบียน

2. นำเก็บที่อุณหภูมิต่างๆ ตามวิธีการ ตรวจนับจำนวนแตนเบียนที่ตาย ทุกวันเว้นวัน

3. เมื่อครบทุกๆ 10 วัน นำแตนเบียนแต่ละวิธีการออกมาทดสอบประสิทธิภาพการเบียนหนอนหัวดำมะพร้าว โดยสุ่มแตนเบียนเพศเมียออกมาขวดละ 1 ตัว/ขวด ทำ 20 ขวด (ขวดละซ้ำ) แล้วปล่อยไปในหลอดพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.8 ซม. สูง 6 ซม. หลอดละ 1 ตัว ที่มีหนอนหัวดำมะพร้าวขนาดวัยสุดท้ายอยู่ 1 ตัว ให้น้ำผึ้ง 10% เป็นอาหารสำหรับแตนเบียน ปิดฝาที่มีรูสำหรับระบายอากาศ นำเก็บที่อุณหภูมิ 30°C

4. เมื่อครบ 3 วัน นำหนอนที่มีไข่แตนเบียนออกมาวางในกระดาษที่พับเป็นรูปกระบะขนาด 1 ซม. 3 ซม. วางหนอน 1 ตัวต่อหนึ่งกระบะ จากนั้นตรวจนับจำนวนไข่ของแตนเบียนบนตัวหนอนภายใต้กล้องจุลทรรศน์

5. นำกระบะตัวหนอนเก็บใส่ในหลอดพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 ซม. สูง 4 ซม. ที่ฝาเจาะรูระบายอากาศขวดละ 1 กระบะ บันทึกการเจริญเติบโต จำนวนหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัยเพศผู้ เพศเมีย ทุก 24 ชั่วโมง

6. เมื่อครบ 3 วัน นำหนอนหัวดำมะพร้าวตัวใหม่ ปล่อยซ้ำลงไปในขวดแตนเบียนที่ได้เก็บหนอนทดสอบออกไปแล้ว และทำเช่นเดียวกันนี้จนกว่าแตนเบียนเพศเมียตาย หรือไม่วางไข่แล้ว

7. บันทึกอัตราการเบียนของแตนเบียนเพศเมีย จำนวนไข่ หนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัยเพศผู้ เพศเมีย

บันทึกข้อมูล

- ระยะเวลาการเก็บรักษาแตนเบียน โดยบันทึกจำนวนแตนเบียนที่รอด ทุกวันเว้นวัน จนกระทั่งแตนเบียนทดสอบตายหมด
- ประสิทธิภาพแตนเบียนหลังเก็บรักษาทุกๆ 10 วัน โดยบันทึกอัตราการเบียนของเพศเมีย อัตราการเจริญเติบโต จำนวนไข่ หนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัยเพศผู้ เพศเมีย

ระยะเวลาการทดลอง ตุลาคม 2559 – กันยายน 2560

เวลาและสถานที่

- ตุลาคม 2558 - กันยายน 2560
- กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

แตนเบียนโกนีโอซัสที่เลี้ยงขยายด้วยหนอนหัวดำมะพร้าว (ตารางที่ 1) ให้ผลผลิตรุ่นลูกได้ 4 รุ่น โดยรุ่นลูกที่ 1 สามารถเบียนติดต่อกันได้ 6 ครั้ง การเบียนครั้งที่ 1 ให้ไข่ หนอน ดักแด้ เพศผู้ และเพศเมีย (ฟอง, ตัว, ดักแด้, ตัว, ตัว) เฉลี่ย 12.33 10 4.83 0.5 และ 4.33 การเบียนครั้งที่ 2 เฉลี่ย 19 18 10 1 และ 9 การเบียนครั้งที่ 3 เฉลี่ย 7.75 5.75 5.75 0 และ 5.5 การเบียนครั้งที่ 4 เฉลี่ย 11.5 10.5 10.5 0.5 และ 8 การเบียนครั้งที่ 5 เฉลี่ย 13 8 7 1 และ 6 และการเบียนครั้งที่ 6 เฉลี่ย 1 1 1 0 และ 1 ตามลำดับ รวมเพศผู้และเพศเมียที่เป็นผลผลิตจากรุ่นลูกที่ 1 คิดเป็นอัตราส่วนเพศผู้ : เพศเมีย เท่ากับ 1 : 11.28 และคิดเป็นจำนวนเพศเมียเพิ่มขึ้น 33.83 เท่า

รุ่นลูกที่ 2 สามารถเบียนติดต่อกันได้ 5 ครั้ง การเบียนครั้งที่ 1 ให้ไข่ หนอน ดักแด้ เพศผู้ และเพศเมีย (ฟอง, ตัว, ดักแด้, ตัว, ตัว) เฉลี่ย 7.75 2.33 3 0.75 และ 0.75 การเบียนครั้งที่ 2 เฉลี่ย 5.33 3.67 3.67 0.66 และ 2.67 การเบียนครั้งที่ 3 เฉลี่ย 4 3 2 0 และ 2 การเบียนครั้งที่ 4 เฉลี่ย 3 3 3 2 และ 1 และการเบียนครั้งที่ 5 เฉลี่ย 3 2 2 2 และ 0 ตามลำดับ รวมเพศผู้และเพศเมียที่เป็นผลผลิตจากรุ่นลูกที่ 2 คิดเป็นอัตราส่วนเพศผู้ : เพศเมีย เท่ากับ 1 : 1.18 และคิดเป็นจำนวนเพศเมียเพิ่มขึ้น 6.42 เท่า

รุ่นลูกที่ 3 สามารถเบียนติดต่อกันได้ 3 ครั้ง การเบียนครั้งที่ 1 ให้ไข่ หนอน ดักแด้ เพศผู้ และเพศเมีย (ฟอง, ตัว, ดักแด้, ตัว, ตัว) เฉลี่ย 4.33 4 3.33 0.33 และ 3 การเบียนครั้งที่ 2 เฉลี่ย 4.67 2.67 2 0.66 และ 1 การเบียนครั้งที่ 3 เฉลี่ย 3.33 1.67 1.67 0.33 และ 1.33 รวมเพศผู้และเพศเมียที่เป็นผลผลิตจากรุ่นลูกที่ 3 คิดเป็นอัตราส่วนเพศผู้ : เพศเมีย เท่ากับ 1 : 4.04 และคิดเป็นจำนวนเพศเมียเพิ่มขึ้น 5.33 เท่า

รุ่นลูกที่ 4 สามารถเบียนติดต่อกันได้ 6 ครั้ง การเบียนครั้งที่ 1 ให้ไข่ หนอน ดักแด้ เพศผู้ และเพศเมีย (ฟอง, ตัว, ดักแด้, ตัว, ตัว) เฉลี่ย 5.33 4.66 4.66 0.33 และ 4 การเบียนครั้งที่ 2 เฉลี่ย 4 3 3 3 และ 0 การเบียนครั้งที่ 3 เฉลี่ย 3.5 3.5 3.5 1 และ 2 การเบียนครั้งที่ 4 เฉลี่ย 2 2 2 0 และ 2 การเบียนครั้งที่ 5 เฉลี่ย 2 2 2 0 และ 2 และการเบียนครั้งที่ 6 เฉลี่ย 2 2 2 0 และ 2 ตามลำดับ รวมเพศผู้และเพศเมียที่เป็นผลผลิตจากรุ่นลูกที่ 4 คิดเป็นอัตราส่วนเพศผู้ : เพศเมีย เท่ากับ 1 : 2.77 และคิดเป็นจำนวนเพศเมียเพิ่มขึ้น 12 เท่า

แตนเบียนโกนีโอซัสที่เลี้ยงขยายด้วยหนอนผีเสื้อข้าวสาร (ตารางที่ 2) ให้ผลผลิตรุ่นลูกได้ 2 รุ่น โดยรุ่นลูกที่ 1 สามารถเบียนติดต่อกันได้ 8 ครั้ง การเบียนครั้งที่ 1 ให้ไข่ หนอน ดักแด้ เพศผู้ และเพศเมีย (ฟอง, ตัว, ดักแด้, ตัว, ตัว) เฉลี่ย 9.86 8.36 6 0.21 และ 0.71 การเบียนครั้งที่ 2 เฉลี่ย 9 7.4 6.2 1 และ 0.6 การเบียนครั้งที่ 3 เฉลี่ย 9.45 8.18 7.91 1.64 และ 2.73 การเบียนครั้งที่ 4 เฉลี่ย 9.28 6.82 6.82 0.55 และ 2.27 การเบียนครั้งที่ 5 เฉลี่ย 8 7.25 7 3 และ 2.5 การเบียนครั้งที่ 6 เฉลี่ย 7.57 6.57 6 0.29 และ 1.86 การเบียนครั้งที่ 7 เฉลี่ย 6.89 6.44 5.33 1.11 และ 1.67 และการเบียนครั้งที่ 8 เฉลี่ย 8 4 4 1.5 และ 1 ตามลำดับ รวมเพศผู้และเพศเมียที่เป็นผลผลิตจากรุ่นลูกที่ 1 คิดเป็นอัตราส่วนเพศผู้ : เพศเมีย เท่ากับ 1 : 1.43 และคิดเป็นจำนวนเพศเมียเพิ่มขึ้น 13.34 เท่า

รุ่นลูกที่ 2 สามารถเบียนติดต่อกันได้ 6 ครั้ง การเบียนครั้งที่ 1 ให้ไข่ หนอน ดักแด้ เพศผู้ และเพศเมีย (ฟอง, ตัว, ดักแด้, ตัว, ตัว) เฉลี่ย 12 12 10 0 และ 0 การเบียนครั้งที่ 2 เฉลี่ย 4.5 4 4 1 และ 3 การเบียนครั้งที่ 3 เฉลี่ย 3 3 3 1 และ 2 การเบียนครั้งที่ 4 ไม่ได้ผลผลิตคือ 0 0 0 0 และ 0 การเบียนครั้งที่ 5 เฉลี่ย 5 5 4 1 และ 3 และการเบียนครั้งที่ 6 เฉลี่ย 3 3 0 0 และ 0 ตามลำดับ รวมเพศผู้และเพศเมียที่เป็นผลผลิตจากรุ่นลูกที่ 2 คิดเป็นอัตราส่วนเพศผู้ : เพศเมีย เท่ากับ 1 : 1.33 และคิดเป็นจำนวนเพศเมียเพิ่มขึ้น 8 เท่า

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

แตนเบียนโกนีโอซัสที่เลี้ยงขยายด้วยหนอนหัวดำมะพร้าวให้ผลผลิตรุ่นลูกได้ 4 รุ่น โดยรุ่นลูกที่ 1 สามารถเบียนติดต่อกันได้ 6 ครั้ง รวมเพศผู้และเพศเมียที่เป็นผลผลิตจากรุ่นลูกที่ 1 คิดเป็นอัตราส่วนเพศผู้ : เพศเมีย เท่ากับ 1 : 11.28 และคิดเป็นจำนวนเพศเมียเพิ่มขึ้น 33.83 เท่า

รุ่นลูกที่ 2 สามารถเบียนติดต่อกันได้ 5 ครั้ง รวมเพศผู้และเพศเมียที่เป็นผลผลิตจากรุ่นลูกที่ 2 คิดเป็นอัตราส่วนเพศผู้ : เพศเมีย เท่ากับ 1 : 1.18 และคิดเป็นจำนวนเพศเมียเพิ่มขึ้น 6.42 เท่า

รุ่นลูกที่ 3 สามารถเบียนติดต่อกันได้ 3 ครั้ง รวมเพศผู้และเพศเมียที่เป็นผลผลิตจากรุ่นลูกที่ 3 คิดเป็นอัตราส่วนเพศผู้ : เพศเมีย เท่ากับ 1 : 4.04 และคิดเป็นจำนวนเพศเมียเพิ่มขึ้น 5.33 เท่า

รุ่นลูกที่ 4 สามารถเบียนติดต่อกันได้ 6 ครั้ง รวมเพศผู้และเพศเมียที่เป็นผลผลิตจากรุ่นลูกที่ 4 คิดเป็นอัตราส่วนเพศผู้ : เพศเมีย เท่ากับ 1 : 2.77 และคิดเป็นจำนวนเพศเมียเพิ่มขึ้น 12 เท่า

แตนเบียนโกนีโอซัสที่เลี้ยงขยายด้วยหนอนผีเสื้อข้าวสาร ให้ผลผลิตรุ่นลูกได้ 2 รุ่น โดยรุ่นลูกที่ 1 สามารถเบียนติดต่อกันได้ 8 ครั้ง รวมเพศผู้และเพศเมียที่เป็นผลผลิตจากรุ่นลูกที่ 1 คิดเป็นอัตราส่วนเพศผู้ : เพศเมีย เท่ากับ 1 : 1.43 และคิดเป็นจำนวนเพศเมียเพิ่มขึ้น 13.34 เท่า

รุ่นลูกที่ 2 สามารถเบียนติดต่อกันได้ 6 ครั้ง รวมเพศผู้และเพศเมียที่เป็นผลผลิตจากรุ่นลูกที่ 2 คิดเป็นอัตราส่วนเพศผู้ : เพศเมีย เท่ากับ 1 : 1.33 และคิดเป็นจำนวนเพศเมียเพิ่มขึ้น 8 เท่า

จากผลการทดลองพบว่าแตนเบียนพ่อแม่พันธุ์ที่ได้จากการเลี้ยงขยายด้วยหนอนหัวดำมะพร้าวเป็นแมลงอาศัย สามารถให้ลูกรุ่นที่ 1 ที่เบียนแมลงอาศัยติดต่อกันได้มากกว่า 6 ครั้ง ทั้งในหนอนหัวดำมะพร้าวและหนอนผีเสื้อข้าวสาร แต่หลังจากทำการเบียนต่อในรุ่นลูกรุ่นที่ 2 3 และ 4 พบว่าผลผลิตลดน้อยลง สาเหตุจากความแข็งแรงของแตนเบียน และบางครั้งการตัดสินใจเลือกใช้หนอนแมลงอาศัยที่ไม่สมบูรณ์ มีผลทำให้ได้ผลผลิตรุ่นลูกต่ำและไม่แข็งแรง ซึ่งการเพาะเลี้ยงขยายหนอนเพื่อใช้เป็นแมลงอาศัยมีความสำคัญต่อการเลี้ยงขยายปริมาณแตนเบียน ดังนั้นควรทำการทดสอบเพื่อยืนยันผลอีกครั้งและวิเคราะห์ผลทางสถิติ

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นางสาวเกศรา นพอาจ ผู้ช่วยนักวิจัย ที่ได้ดำเนินงานช่วยปฏิบัติงานทดลองให้บรรลุตามวัตถุประสงค์

เอกสารอ้างอิง

อัมพร วิโนทัย. 2555. รายงานความก้าวหน้าโครงการ “การนำเข้าแตนเบียนหนอนหัวดำมะพร้าว *Goniozus nephantidis* เพื่อทดสอบความปลอดภัยและใช้ควบคุมหนอนหัวดำมะพร้าว”. 3 หน้า.

อัมพร วิโนทัย พัชรีวรรณ มณีสาคร และสุวัฒน์ พูลพาน. 2556. การเพาะเลี้ยงและใช้ประโยชน์จากแตนเบียนหนอนหัวดำมะพร้าว โกนิโอซัส นีแฟนติดีส (*Goniozus nephantidis*). จัดพิมพ์โดย สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 14 หน้า.

Sreekanth, P.N. and K. Muralimohan. 2013. Effect of Temperature on the Reproductive biology of *Goniozus nephantidis* Muesebeck (Hymenoptera: Bethylidae), a larval parasitoid of *Opisina arenosella* (Walker). International Journal of Advanced Biological Research. 3(1): 58 - 60.

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยของจำนวนแตนเบียนแต่ละระยะการเจริญเติบโตโดยแมลงอาศัยหนอนหัวดำมะพร้าว

รุ่นลูกที่	เบียนครั้งที่	ค่าเฉลี่ยของจำนวนแตนเบียนแต่ละระยะการเจริญเติบโต						
		ไข่	หนอน	ดักแด้	เพศผู้	เพศเมีย	เพศผู้:เพศเมีย	อัตราการเพิ่ม
1	1	12.33	10	4.83	0.5	4.33	1 : 11.28	33.83
	2	19	18	10	1	9		
	3	7.75	5.75	5.75	0	5.5		
	4	11.5	10.5	10.5	0.5	8		
	5	13	8	7	1	6		
	6	1	1	1	0	1		
	รวม	64.58	52.95	39.08	3	33.83		
	เฉลี่ย	10.76	8.83	6.51	0.5	5.64		
2	1	7.75	2.33	3	0.75	0.75	1 : 1.18	6.42
	2	5.33	3.67	3.67	0.66	2.67		
	3	4	3	2	0	2		
	4	3	3	3	2	1		
	5	3	2	2	2	0		
	รวม	23.08	14	13.67	5.41	6.42		
	เฉลี่ย	4.62	2.8	2.73	1.08	1.28		
3	1	4.33	4	3.33	0.33	3	1 : 4.04	5.33
	2	4.67	2.67	2	0.66	1		
	3	3.33	1.67	1.67	0.33	1.33		
	รวม	12.33	8.34	7	1.32	5.33		
	เฉลี่ย	4.11	2.78	2.33	0.44	1.78		
4	1	5.33	4.66	4.66	0.33	4	1 : 2.77	12
	2	4	3	3	3	0		
	3	3.5	3.5	3.5	1	2		
	4	2	2	2	0	2		
	5	2	2	2	0	2		
	6	2	2	2	0	2		
	รวม	18.83	17.16	17.16	4.33	12		
	เฉลี่ย	3.14	2.86	2.86	0.72	2		

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยของจำนวนแตนเบียนแต่ละระยะการเจริญเติบโตโดยแมลงอาศัยหนอนผีเสื้อข้าวสาร

รุ่นลูกที่	เบียนครั้งที่	ค่าเฉลี่ยของจำนวนแตนเบียนแต่ละระยะการเจริญเติบโต						
		ไข่	หนอน	ดักแด้	เพศผู้	เพศเมีย	เพศผู้:เพศเมีย	อัตราการเพิ่ม
1	1	9.86	8.36	6	0.21	0.71	1 : 1.43	13.34
	2	9	7.4	6.2	1	0.6		
	3	9.45	8.18	7.91	1.64	2.73		
	4	9.28	6.82	6.82	0.55	2.27		
	5	8	7.25	7	3	2.5		
	6	7.57	6.57	6	0.29	1.86		
	7	6.89	6.44	5.33	1.11	1.67		
	8	8	4	4	1.5	1		
	รวม	68.05	55.02	49.26	9.3	13.34		
	เฉลี่ย	8.51	6.88	6.16	1.16	1.67		
2	1	12	12	10	0	0	1 : 1.33	8
	2	4.5	4	4	1	3		
	3	3	3	3	1	2		
	4	0	0	0	0	0		
	5	5	5	4	1	3		
	6	3	3	0	0	0		
	รวม	27.5	27	21	3	8		
	เฉลี่ย	4.58	4.5	3.5	0.5	1.33		

การพัฒนาเทคนิคการผลิตขยายแมลงช้างปีกใส *Plesiochrysa ramburi*

Technology Development for Mass Production of Green lacewing, *Plesiochrysa ramburi*

ประภัสสร เชยคำแหง รจนา ไวยเจริญ สาทิพย์ มาลี
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

เลี้ยงขยายเพลี้ยแป้ง 3 ชนิด คือ เพลี้ยแป้งลาย *Ferrisia virgata* เพลี้ยแป้งแจ็คเบียด *Phenacoccus jackbeardsleyi* เพลี้ยแป้งสีชมพู *Phenacoccus manihoti* พบว่าการเลี้ยงแมลงช้างปีกใส *P. ramburi* ด้วยเพลี้ยแป้งสีชมพู *P. manihoti* จะได้ดักแด้ และตัวเต็มวัยมากที่สุด รองลง มาเป็นเพลี้ยแป้งแจ็คเบียดส์ *P. jackbeardsleyi* และเพลี้ยแป้งลาย *F. virgata* คือ 86 : 79 77 : 70 และ 63 : 35 ตามลำดับ นำตัวเต็มวัยที่ได้จากการเลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้งทั้ง 3 ชนิด ไปศึกษาอัตราการวางไข่ต่อไป

คำหลัก : การพัฒนาการเลี้ยง, *Plesiochrysa ramburi*, เพลี้ยแป้ง

รหัสการทดลอง 03-05-59-02-01-00-02-59

คำนำ

แมลงช้างปีกใส (Green Lawings) เป็นแมลงศัตรูธรรมชาติที่มีประโยชน์มากชนิดหนึ่ง โดยเฉพาะแมลงช้างปีกใส *Plesiochrysa ramburi* เป็นตัวห้ำที่ช่วยควบคุมปริมาณเพลี้ยแป้งในแปลงมันสำปะหลัง และเป็นตัวห้ำที่กินเพลี้ยแป้งได้มีประสิทธิภาพ จากการศึกษาพบว่าเหยื่ออาหารที่ชอบคือเพลี้ยแป้งเมื่อเปรียบเทียบกับ ไข่ผีเสื้อข้าวสาร และเพลี้ยอ่อน ดังนั้นในการเลี้ยงปริมาณมากจึงใช้เพลี้ยแป้งเป็นเหยื่ออาหารแต่ในบางครั้งเพลี้ยแป้งที่ใช้เลี้ยงก็มีหลายชนิด เพลี้ยแป้งบางชนิดสังเกตว่าทำให้ปริมาณของแมลงช้างปีกใส ชนิดนี้ลดปริมาณลง จึงต้องมีการคัดเลือกเพลี้ยแป้งเพื่อทำให้ประสิทธิภาพในการผลิตแมลงช้างปีกใสเหมาะสม รวมทั้งจำนวนแมลงปีกใสที่ใส่ในภาชนะที่ใช้เลี้ยงให้มีปริมาณที่เหมาะสมด้วย แมลงช้างปีกใส (Green Lawings) เป็นแมลงศัตรูธรรมชาติที่มีประโยชน์มากชนิดหนึ่ง จัดอยู่ในอันดับ Neroptera วงศ์ Chrysopidae เป็นตัวห้ำที่มีประสิทธิภาพ เนื่องจากสามารถทำลายเหยื่อศัตรูพืชได้หลายชนิด เช่น ไข่และตัวอ่อนของผีเสื้อบางชนิด เพลี้ยอ่อน, ไรแมงมุม, เพลี้ยหอย, เพลี้ยแป้ง, เพลี้ยไก่แจ้, เพลี้ยจักจั่น, ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาว และเหยื่อศัตรูพืชอีกหลายชนิดที่ลำตัวอ่อนนุ่ม จึงทำให้แมลงช้างปีกใสเป็นแมลงห้ำที่ได้รับความสนใจในหลายๆ ประเทศ ทั่วโลกพบแมลงช้างปีกใสอยู่หลายสายพันธุ์ เช่นประเทศจีน พบแมลงช้างปีกใส *Chrysoperla sinica* ในสหรัฐอเมริกาพบ แมลงช้างปีกใส *Chrysoperla carnea* และ *Chrysoperla rufilabris* ซึ่งแมลงช้างทั้ง 2 ชนิดนี้ ในต่างประเทศมีการผลิตขยายแมลงช้างปีกใส *Chrysopera carnea* และ *Chrysopera rufilabris* ขายเป็นการค้ามาตั้งแต่ปี 2530 (J.C. van Lenteren, 2003) นอกจากนี้ในประเทศแถบยุโรปมีการใช้แมลงช้างปีกใสในการควบคุมเพลี้ยอ่อนในพืชในแถบยุโรปได้นำไปใช้ในการควบคุมเพลี้ยอ่อน ในพืชหลายชนิด ได้แก่ พริกไทย มันฝรั่ง มะเขือเทศ และมะเขือชนิดอื่นๆ (Hoffman and Fredsham, 1993) จากผลการวิจัยในต่างประเทศพบว่าใช้แมลงช้างปีกใส ควบคุมเพลี้ยอ่อนในพริกใช้ควบคุมไรในแปลงแอปเปิ้ล นอกจากนี้ยังใช้ควบคุมเพลี้ยจักจั่นในไร่องุ่นโดยใช้อัตราแมลงช้างปีกใส 1-16 ตัวต่อต้น สามารถควบคุมเพลี้ยจักจั่นลดลง 31% (Daana and YoKota, 1997) นอกจากนี้ Tauben and Tauben (1993) รายงานว่าแมลงช้างปีกใสยังเคยถูกนำไปใช้ในไร่ฝ้ายของรัฐเท็กซัส สามารถลดประชากรของหนอนเจาะสมอฝ้ายได้ถึง 96% และยังนำไปใช้ในพืชอื่นๆ เช่นข้าวโพด ถั่ว กะหล่ำปลี และแอปเปิ้ล เพื่อควบคุมเพลี้ยอ่อนศัตรูพืชดังกล่าว แต่ต้องปล่อยเป็นปริมาณมาก สำหรับประเทศไทย ก็มีความหลากหลายของสายพันธุ์แมลงช้างปีกใส ตามรายงานของ ศิริวรรณ และคณะ 2547 ได้สำรวจแมลงศัตรูธรรมชาติในภาคกลางของประเทศไทย พบแมลงช้างปีกใส *Chrysoperla* sp. และแมลงช้างปีกสีน้ำตาล *Hemerobius* sp. นอกจากนี้ อรพรรณ และคณะ 2547 สำรวจพบแมลงช้างปีกใส *Mallada* sp. Walker. เป็นชนิดที่พบมากที่สุด ในประเทศไทยมีการใช้แมลงช้างปีกใสในการควบคุมศัตรูพืชกันน้อยมาก พิมลพร 2545 รายงานว่าแมลงช้างปีกใส เป็นแมลงห้ำทั่วไปกินอาหารได้หลายชนิดเหยื่อที่ชอบมากที่สุดคือเพลี้ยอ่อน แมลงช้าง 1 ตัวสามารถกินเพลี้ยอ่อนได้ 100-600 ตัวแมลงช้างปีกใสมีประโยชน์มากในการนำไปปล่อยในโรงเรือนที่ปลูกพืชและได้นำไปปล่อยควบคุมศัตรูแล้วเช่น ควบคุมเพลี้ยอ่อนบนกุหลาบ และในถั่วลันเตาสามารถลดการระบาดได้ดี ดังนั้น

เพื่อการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี หรือภายใต้ระบบการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน การนำแมลงช้างปีกใสไปใช้มีความจำเป็นมากขึ้น การศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิต และศักยภาพในการผลิตรวมทั้งวิธีการนำไปใช้จึงมีความสำคัญในเบื้องต้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- แมลงช้างปีกใส *Plesiochrysa ramburi*
- เพลี้ยแป้งลาย *Ferrisia virgata*
- เพลี้ยแป้งแจ็คเบียดส์ *Phenacoccus jackbeardsleyi*
- เพลี้ยแป้งสีชมพู *Phenacoccus manihoti*
- เพลี้ยแป้งสีเหลือง *Paracoccus marginatus*
- เพลี้ยแป้งชบา *Maconellicoccus hirsutus*
- ฟักทอง
- น้ำบริสุทธิ์
- กล่องขนาด กxยxส 35 x 45 x 12 ซม.
- กล่องขนาด กxยxส 18 x 26 x 10 ซม.
- กล่องขนาด กxยxส 8 x 12 x 6 ซม.
- ผ้าขาวบาง ยางยืด
- กระดาษทิชชู สำลี น้ำผึ้ง

วิธีการ

- แบบและวิธีการทดลอง

ประกอบด้วย 2 การทดลองย่อย

1. ชนิดของเหยื่ออาหารต่อการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการขยายพันธุ์ของแมลงช้างปีกใส *P. ramburi*

2. จำนวนตัวเต็มวัยแมลงช้างปีกใส *P. ramburi* ที่เหมาะสมต่อภาชนะการผลิต

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

การทดลองที่ย่อยที่ 1 ชนิดของเหยื่ออาหารต่อการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการขยายพันธุ์ของแมลงช้างปีกใส *P. ramburi*

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 10 ซ้ำ จำนวน 5 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 เพลี้ยแป้งลาย *Ferrisia virgata*

กรรมวิธีที่ 2 เพลี้ยแป้งแจ็คเบียดส์ *Phenacoccus jackbeardsleyi*

กรรมวิธีที่ 3 เพลี้ยแป้งสีชมพู *Phenacoccus manihoti*

กรรมวิธีที่ 4 เพลี้ยแป้งสีเหลือง *Paracoccus marginatus*

กรรมวิธีที่ 5 เพลี้ยแป้งชบา *Maconellicoccus hirsutus*

เลี้ยงเพลี้ยแป้งทั้ง 5 ชนิดบนผลฟักทองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20-25 เซนติเมตร โดยแยกชนิดเพลี้ยแป้ง ชนิดละ 10 ผล จนมีปริมาณมากเพียงพอ นำผลฟักทองที่มีเพลี้ยแป้งแต่ละชนิดใส่ในกล่องที่มีไข่แมลงช้างปีกใส *P. ramburi* จำนวน 100 ฟอง ต่อกล่อง ใส่ผลฟักทอง 1 ผลต่อ กล่อง ปิดฝากล่องวางไว้จนกระทั้ง เข้าดักแด้ และออกเป็นตัวเต็มวัย

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกระยะเวลาการเจริญเติบโตจากระยะไข่จนกระทั้งเป็นตัวเต็มวัย
- จำนวนดักแด้ที่ได้ และเปอร์เซ็นต์การฟัก
- อัตราส่วนเพศผู้-เพศเมีย
- อัตราการวางไข่ของตัวเต็มวัยที่ได้จากการเลี้ยงใน 5 กรรมวิธี

การทดลองที่ย่อยที่ 2 จำนวนตัวเต็มวัยแมลงช้างปีกใส *P. ramburi* ที่เหมาะสมต่อภาชนะการผลิต วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 5 ซ้ำ จำนวน 5 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 ใช้อัตราส่วนตัวเต็มวัย *P. ramburi* เพศผู้: เพศเมีย 40: 40

กรรมวิธีที่ 2 ใช้อัตราส่วนตัวเต็มวัย *P. ramburi* เพศผู้: เพศเมีย 40: 60

กรรมวิธีที่ 3 ใช้อัตราส่วนตัวเต็มวัย *P. ramburi* เพศผู้: เพศเมีย 40: 80

กรรมวิธีที่ 4 ใช้อัตราส่วนตัวเต็มวัย *P. ramburi* เพศผู้: เพศเมีย 40: 100

กรรมวิธีที่ 5 ใช้อัตราส่วนตัวเต็มวัย *P. ramburi* เพศผู้: เพศเมีย 40: 120

นำตัวเต็มวัยแมลงช้างปีกใสทั้ง 5 อัตราอัตราละ 5 กล่อง ใส่ในกล่องขนาด 35X45X12 เซนติเมตร ซึ่งเป็นภาชนะที่เหมาะสมในการใส่ผลฟักทอง ปิดฝากล่องด้วยผ้าขาวบาง ให้อาหารตัวเต็มวัยด้วยน้ำผึ้ง ทุกๆ 3 วันเปลี่ยนย้ายกล่องใหม่ จนกระทั้งตัวเต็มวัยตายหมด

การบันทึกข้อมูล

- อัตราการวางไข่ที่ได้
- อัตราการตายของตัวเต็มวัย
- ต้นทุนการผลิต

เวลาและสถานที่ ตุลาคม 2558 - กันยายน 2560

ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

เลี้ยงขยายเพลี้ยแป้ง 3 ชนิด คือ เพลี้ยแป้งลาย *Ferrisia virgata* เพลี้ยแป้งแจ็คเบียดส์ *Phenacoccus jackbeardsleyi* เพลี้ยแป้งสีชมพู *Phenacoccus manihoti* วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 10 ซ้ำ นำผลฟักทองที่มีเพลี้ยแป้งแต่ละชนิดใส่ในกล่องที่มี ไข่แมลงช้าง 100 ฟอง ต่อกล่อง ต่อฟักทอง 1 ผล บันทึกระยะเวลาการเจริญเติบโตจากระยะไข่จนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัย จากการทดลอง ได้จำนวนดักแด้ และตัวเต็มวัย พบว่าการเลี้ยงแมลงช้างปีกใส *P. ramburi* ด้วยเพลี้ยแป้งสีชมพู

P. manihoti จะได้ดักแด้ และตัวเต็มวัยมากที่สุด รองลงมาเป็น เพลี้ยแป้งแจ็คเบียดส์ *P. jackbeardsleyi* และเพลี้ยแป้งลาย *F. virgata* คือ 86 : 79 77 : 70 และ 63 : 35 ตามลำดับ (ตารางที่1) นำตัวเต็มวัยที่ได้จากการเลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้งทั้ง 3 ชนิด ไปศึกษาอัตราการวางไข่ ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

บุปผา เหล่าสินชัย ชลิดา อุณหวุฒิ. 2543. เพลี้ยแป้ง และเพลี้ยหอยศัตรูพืชที่สำคัญ. กลุ่มงานอนุกรมวิธาน กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. ISBN 974-7466-79-1 68 หน้า.

Ackery, P.R. 1990. Biocontrol potential of African lycaenid butterflies entomophagous on Homoptera. Journal of African Zoology. 104,581-591.

Anegunda S, Dinesh Melally G, Venkatesha. 2010. Development, life history Characteristics and behaviour of mealybug predator, *Spalgis epius* (Westwood) (Lepidoptera: Lycaenidae) on *Planococcus citri* (Risso) (Homoptera: Pseudococcidae) J Pest Sci DOI 10.1007/s 10340-010-0303-8.

Balduf, W. V. 1938. The rise of entomophagy among Lepidoptera. Amer. Nat., 72: 358-379.

Lohman DJ, Samarita VU. 2009. The biology of carnivorous butterfly larvae (Lepidoptera: Miletini) and their ant-tended hemipteran prey in Thailand and Philippines. J nat Hist. 43: 569-581

ตารางที่ 1 แสดงอัตราการเจริญเติบโตของแมลงช้างปีกใส *P. ramburi* กับอาหาร 3 ชนิด คือ เพลี้ยแป้งสีชมพู *P. manihoti* เพลี้ยแป้งแจ็คเบียดส์ *P. jackbeardsleyi* และเพลี้ยแป้งลาย *F. virgata*

แมลงช้างปีกใส *P. ramburi*	**เพลี้ยแป้งลาย** *F. virgata*	**เพลี้ยแป้งแจ็คเบียดส์** *P. jackbeardsleyi*	**เพลี้ยแป้งสีชมพู** *P. manihoti*
ระยะเวลา (วัน) (ไข่ – ตัวเต็มวัย)	36-46 วัน	44-58	41-55
ดักแด้	63	77	86
ตัวเต็มวัย	55	70	79
ตัวผู้:ตัวเมีย	19 : 36	29 : 41	29-50

ศึกษาประสิทธิภาพการกินเหยื่อและการเลี้ยงขยายผีเสื้อตัวห้ำ *Spalgis epius* (Westwood)

Feeding Capacity and Mass Rearing of *Spalgis epius* (Westwood)

ประภัสสร เชยคำแหง รจนา ไวยเจริญ สาทิพย์ มาลี

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ในปี 2559 ได้สำรวจเพื่อจะเก็บรวบรวมตัวอ่อนหรือดักแด้ผีเสื้อตัวห้ำ จากการสำรวจผีเสื้อตัวห้ำในรอบ 10 เดือน ระหว่าง เดือนตุลาคม 2558 – กรกฎาคม 2559 ที่ จังหวัดนครราชสีมา นครปฐม ปทุมธานี และนครนายก ไม่พบผีเสื้อตัวห้ำ และได้นำเพลี้ยแป้งที่เลี้ยงไว้บนฟักทองไปวางไว้ในแหล่งที่เคยพบผีเสื้อตัวห้ำ เดือนสิงหาคม 2559 – กันยายน 2559 พบตัวหนอนผีเสื้อตัวห้ำ จำนวน 18 ตัว อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา นำกลับมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

คำหลัก : Lycaenidae, *Spalgis epius*, เพลี้ยแป้งการเลี้ยงขยาย, ประสิทธิภาพ

รหัสการทดลอง 03-05-59-02-01-00-03-59

คำนำ

ปัจจุบันการระบาดของแมลงศัตรูพืชมีเพิ่มขึ้นโดยเฉพาะแมลงในอันดับ Hemiptera เช่น เพลี้ยแป้งการระบาดในบางพืชจะรุนแรง และทำความเสียหายในวงกว้าง ทำให้เกษตรกรต้องพ่นสารเคมีมากขึ้นซึ่งจะได้ผลระยะหนึ่งเท่านั้นทำให้เพิ่มต้นทุนการผลิตในการปลูกพืช และเกิดอันตรายต่อผู้ใช้ รวมทั้งแมลงต้านทานสารเคมีเพิ่มขึ้น ปัจจุบันนโยบายของรัฐบาล ต้องการให้ลดการใช้สารเคมีและลดต้นทุนในการผลิต ดังนั้นการใช้แมลงศัตรูธรรมชาตินำจะเป็นทางเลือกที่ดี ปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม และผู้ใช้ และเป็นการควบคุมที่ยั่งยืน การใช้ศัตรูธรรมชาติ ควรมีความหลากหลายมีหลายๆชนิดให้เลือกได้ จากการสำรวจแมลงศัตรูธรรมชาติในแหล่งที่มีการระบาดของเพลี้ยแป้งพบแมลงศัตรูธรรมชาติหลายชนิด ชนิดที่พบมากในแหล่งที่มีการระบาดอีกชนิดหนึ่งพบที่แปลงปลูกน้อยหน่า และมันสำปะหลัง คือ หนอนผีเสื้อในสกุล Spalgis หรือเรียกว่า ผีเสื้อหนอนหน้าลิง apefly, *Spalgis epius* (Westwood) (Lepidoptera: Lycaenidae) ในรายงานจัดเป็นตัวห้ำที่สำคัญที่คอยควบคุมเพลี้ยแป้ง จากรายงานพบว่าผีเสื้อชนิดนี้ เป็นศัตรูธรรมชาติที่ลงทำลายเพลี้ยแป้งในหลาย ๆ สกุล เช่น ในสกุล *Pseudococcidae* sp. *Ferriisia* sp. และ *Maconellicoccus* sp. (Anegunda *et al.* 2010) นอกจากนั้นยังพบลงทำลายเพลี้ยอ่อน ตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่น และเพลี้ยหอย (Balduf, 1938) แมลงในอันดับ Lepidoptera กว่า 99 เปอร์เซ็นต์จัดเป็นศัตรูพืช แต่ในจำนวนนี้มีอยู่ประมาณ 120 ชนิดหรือประมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบว่าอยู่ใน subfamily Miletinae family Lycaenidae ดำรงชีวิตโดยกินแมลงอื่นเป็นอาหาร เช่น ตัวอ่อนมด และแมลงในอันดับ Homoptera (Pierce 1995). ในประเทศอินเดียAitken 1894 ได้รายงานเป็นครั้งแรกว่าผีเสื้อในสกุล Spalgis หรือเรียกว่าผีเสื้อหนอนหน้าลิง apefly, *Spalgis epius* (Lepidoptera: Lycaenidae: Miletinae) จัดว่าเป็นตัวห้ำที่สำคัญของเพลี้ยแป้ง เป็นตัวห้ำที่ลงทำลายเพลี้ยแป้งในหลายสกุล เช่น ในสกุล *Pseudococcidae* sp. *Ferriisia* sp. และ *Maconellicoccus* sp. (Anegunda *et al.* 2010) นอกจากนั้นยังพบลงทำลายเพลี้ยอ่อน ตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่น และเพลี้ยหอย (Balduf, 1938) ในประเทศอัฟริการายงานว่า ผีเสื้อในสกุล Spalgis จัดเป็น bioagents ชนิดหนึ่ง (Ackery 1990) Gowda *et al.* 1996 รายงานว่า *S. epius* เป็นตัวห้ำที่สำคัญของเพลี้ยแป้งในประเทศอินเดีย ตัวหนอนของผีเสื้อตัวห้ำ *S. epius* มีประสิทธิภาพมากในการควบคุมเพลี้ยแป้ง *Planococcus citri* ในต้นกาแฟ และเพลี้ยแป้ง *Maconellicoccus hirsutus* ในต้นหม่อน (mulberry) Mani and Krishnamoorthy, 1996 รายงานว่าหนอนผีเสื้อ S. *epius* ลงทำลายได้ทั้งเพลี้ยแป้ง และเพลี้ยหอย

ในประเทศไทย บุปผา และชลิดา (2543) รายงานว่า หนอนผีเสื้อชนิดนี้เป็นตัวห้ำ พบลงทำลายเพลี้ยแป้ง *P. lilacinus* และ *P. minor* ตัวหนอนมีลักษณะขนาดเล็ก ลำตัวยาวประมาณ 5-10 มม. กว้าง 3.0-3.5 มม. ลำตัวประกอบด้วยขนเล็กๆ ละเอียด และปกคลุมด้วยสารสีขาวคล้ายแป้ง ทำให้ดูคล้ายเพลี้ยแป้ง ดักแด้สีดำลักษณะคล้ายหอยตัวเล็กๆ หรือบางรายงานกล่าวว่าดักแด้มีลักษณะคล้ายหน้าลิงจึงมีชื่อเรียกว่าผีเสื้อหนอนหน้าลิง Apefly ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางวันขนาดเล็ก ปีกด้านบนสีน้ำตาลแกมเทา ด้านล่างสีขาวอมเทา Lohman and Samarita (2009) รายงานว่า ใน

แถบทวีปเอเชียพบผีเสื้อชนิดนี้ใน ประเทศบังคลาเทศ อินเดีย พม่า ศรีลังกา ฟิลิปปินส์ เกาะชวา ออสเตรเลีย ไต้หวัน จีน (มณฑลไหหนาน และยูนาน) ลาว เวียดนาม สิงค์โปร์ ฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย และประเทศไทย จากการสำรวจพบตัวหนอนของ *S. epius* เป็นตัวห้ำของเพลี้ยแป้งในน้อยหน่า มันสำปะหลัง มะละกอ และมะเขือ สอดคล้องกับ ประเทศอินเดียรายงานว่า *S. epius* เป็นตัวห้ำที่สำคัญของเพลี้ยแป้ง ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยเรื่องนี้เพื่อทำการศึกษาวิธีการและรูปแบบการเพาะเลี้ยงผีเสื้อตัวห้ำ *S. epius* ให้สามารถเพิ่มปริมาณในห้องปฏิบัติการได้ และเป็นรูปแบบที่สามารถถ่ายทอดเพื่อนำไปใช้ควบคุมศัตรูพืชต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- ผีเสื้อตัวห้ำ *Spalgis epius* (Westwood)
- โรงเรือนเลี้ยงผีเสื้อ ขนาดความสูง 2 เมตร
- เพลี้ยแป้ง
- ฟักทอง
- น้ำบริสุทธิ์
- หลอดทดลอง
- กล่องขนาด กxยxส 35 x 45 x 12 ซม.
- กล่องขนาด กxยxส 18 x 26 x 10 ซม.
- กล่องขนาด กxยxส 8 x 12 x 6 ซม.
- ผ้าขาวบาง ยางยืด
- กระดาษทิชชู สำลี น้ำผึ้ง

วิธีการ

- แบบและวิธีการทดลอง

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

ประกอบด้วย 2 การทดลองย่อย

1. ศึกษาประสิทธิภาพของผีเสื้อตัวห้ำ *S. epius* ในการกินเพลี้ยแป้งลาย *Ferrisia virgata*
2. ศึกษาวิธีการเลี้ยงขยายผีเสื้อตัวห้ำ *S. epius*

การทดลองที่ย่อยที่ 1 ศึกษาประสิทธิภาพของผีเสื้อตัวห้ำ *S. epius* ในการกินเพลี้ยแป้งลาย

1. เก็บรวบรวมตัวอ่อน ดักแด้ ของผีเสื้อตัวห้ำ *S. epius* นำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการด้วยเพลี้ยแป้ง
2. เลี้ยงขยายเพลี้ยแป้งลายบนฟักทองให้มีปริมาณมาก เพื่อใช้เลี้ยงตัวหนอนของผีเสื้อตัวห้ำ
3. นำตัวหนอนผีเสื้อตัวห้ำวัย 2 ที่มีอายุเท่ากัน จำนวน 30 ตัว ใส่ในกล่องกลมใสขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.5 x 2.5 เซนติเมตร กล่องละ 1 ตัว จำนวน 30 กล่อง ภายในกล่องมีชิ้นฟักทองที่มี

เพลี้ยแป้งลาย วัย 1 เป็นอาหาร ใส่เพลี้ยแป้งลายวันละ 30-40 ตัว และนับจำนวนตัวที่ถูกกินทุกวันถ้าอาหารที่ใส่ไม่เพียงพอให้เพิ่มปริมาณได้ นับปริมาณเพลี้ยแป้งที่ผีเสื้อตัวห้ำกินจนกระทั่งเข้าดักแด้

การบันทึกข้อมูล

บันทึกอัตราการกินเพลี้ยแป้งลายของผีเสื้อตัวห้ำตั้งแต่ระยะวัย 2 จนกระทั่งเข้าดักแด้

การทดลองย่อยที่ 2 ศึกษาวิธีการเลี้ยงขยายผีเสื้อตัวห้ำ *S. epius*

1. เก็บรวบรวม ผีเสื้อตัวห้ำ *S. epius* นำมาเลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้งในห้องปฏิบัติการ

2. เลี้ยงขยายเพลี้ยแป้ง 3 ชนิด คือ เพลี้ยแป้งลาย *Ferrisia virgata* เพลี้ยแป้งสีชมพู *Phenacoccus manihoti* และเพลี้ยแป้งสีเหลือง *Paracoccus marginatus* บนฟักทองให้มีปริมาณมากเพียงพอเพื่อใช้เลี้ยงผีเสื้อตัวห้ำ

3. นำตัวเต็มวัยผีเสื้อตัวห้ำทั้งเพศผู้ และเพศเมีย ใส่ในกรงขนาด 2x2 เมตร วางผลฟักทองที่มีเพลี้ยแป้งทั้ง 3 ชนิด ชนิดละ 10 ลูก ไว้ในกรง หลังจากนั้น 3 วัน นำผลฟักทองมาตรวจดูการวางไข่ในเพลี้ยแป้งแต่ละชนิด และนำผลฟักทองที่มีไข่ของผีเสื้อตัวห้ำนำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ จนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัย

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกจำนวนไข่ของผีเสื้อตัวห้ำที่วางบนเพลี้ยแป้ง 3 ชนิด
- บันทึกการเจริญเติบโต วงจรชีวิต อัตราส่วนเพศผู้ เพศเมีย ของผีเสื้อตัวห้ำบนเพลี้ยแป้ง 3 ชนิด
- บันทึกเปอร์เซ็นต์การรอดของผีเสื้อตัวห้ำ
- ต้นทุนการผลิต

เวลาและสถานที่ ตุลาคม 2558 - กันยายน 2561

ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

สำรวจเก็บรวบรวมตัวอ่อนหรือดักแด้ผีเสื้อตัวห้ำ จากการสำรวจผีเสื้อตัวห้ำในรอบ 10 เดือน ตุลาคม 2558 – กรกฎาคม 2559 ที่ จังหวัด นครราชสีมา นครปฐม ปทุมธานี และ นครนายก ไม่พบผีเสื้อตัวห้ำ และได้นำเพลี้ยแป้งที่เลี้ยงไว้บนฟักทองไปวางไว้ในแหล่งที่เคยพบผีเสื้อตัวห้ำ เดือน สิงหาคม 2559 – กันยายน 2559 พบตัวหนอนผีเสื้อตัวห้ำ จำนวน 18 ตัว นำกลับมาเลี้ยง ในห้องปฏิบัติการ

เอกสารอ้างอิง

บุปผา เหล่าสินชัย ชลิดา อุณหวุฒิ. 2543. เพลี้ยแป้ง และเพลี้ยหอยศัตรูพืชที่สำคัญ. กลุ่มงานอนุกรมวิธาน กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. ISBN 974-7466-79-1 68 หน้า.

Ackery, P.R. 1990. Biocontrol potential of African lycaenid butterflies entomophagous on Homoptera. Journal of African Zoology. 104,581-591.

Anegunda S, Dinesh Melally G, Venkatesha. 2010. Development, life history Characteristics and behaviour of mealybug predator, Spalgis *epius* (Westwood) (Lepidoptera: Lycaenidae) on *Planococcus citri* (Risso)(Homoptera: Pseudococcidae) J Pest Sci DOI 10.1007/s 10340-010-0303-8.

Balduf, W. V. 1938. The rise of entomophagy among Lepidoptera. Amer. Nat., 72: 358-379.

Lohman DJ, Samarita VU. 2009. The biology of carnivorous butterfly larvae (Lepidoptera: Miletini) and their ant-tended hemipteran prey in Thailand and Philippines. J nat Hist 43: 569-581.

ชะลอพัฒนาการของหนอนนกเพื่อใช้เลี้ยงขยายแมลงศัตรูธรรมชาติ

Slow Down the Development of Mealworm for Mass Rearing Natural Enemies

สาทิพย์ มาลี รจนา ไวยเจริญ

ประภัสสร เชยคำแหง พัชรีวรรณ จงจิตเมตต์

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาการชะลอพัฒนาการของหนอนนกเพื่อใช้เลี้ยงขยายแมลงศัตรูธรรมชาติ ดำเนินการในห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ระหว่าง ตุลาคม 2558-กันยายน 2560 ในปี 2559 ได้ดำเนินการศึกษาชะลอการพัฒนาระยะหนอนของหนอนนกตามกรรมวิธีที่กำหนด พบว่า การเก็บหนอนในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 10±0.5 องศาเซลเซียส หนอนนกจะมีอายุในระยะหนอนได้ยาวนานกว่าหนอนนกที่เลี้ยงในอุณหภูมิห้องประมาณ 50 วัน โดยการเก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 5 วัน/อุณหภูมิห้อง 1 วัน หนอนนกเข้าดักแด้ได้มากที่สุด 74.75% ในปี 2560 จะได้ตรวจสอบคุณภาพหนอนนกและดักแด้หนอนนกที่ได้จากการชะลอการพัฒนาการโดยนำไปเลี้ยงมวนตัวห้ำต่อไป

คำหลัก : การควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี มวนเพชฌฆาต หนอนนก

รหัสการทดลอง 03-05-59-02-01-00-04-59

คำนำ

การผลิตขยายและการนำชีวินทรีย์ชนิดต่าง ๆ มาใช้ประโยชน์เป็นงานวิจัยและพัฒนาที่ต้องอาศัยข้อมูลพื้นฐานที่ได้จากการศึกษาชีวินทรีย์ทั้งที่มีอยู่ในประเทศ หรือชนิดใหม่ๆ ที่นำเข้าจากต่างประเทศ ต้องวิจัยพัฒนาขบวนการที่เหมาะสมในการผลิตและการนำไปใช้ประโยชน์ในสภาพไร่ หากพบว่ามีศักยภาพที่สามารถนำมาผลิตขยายให้ได้ปริมาณมาก มีรูปแบบการผลิตที่เป็นระบบที่สามารถผลิตได้อย่างต่อเนื่อง จะต้องมีการศึกษาประสิทธิภาพ อัตราการใช้ เวลาที่เหมาะสม ตลอดจนมีรูปแบบบรรจุภัณฑ์ที่สามารถรักษาคุณภาพชีวินทรีย์ที่ผลิตได้ และนำไปใช้ได้สะดวก และเป็นงานวิจัยที่ต้องเร่งวิจัยอย่างครบวงจร เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ชีวินทรีย์ที่ดี มีคุณภาพ สามารถนำไปใช้ควบคุมศัตรูพืชได้ดี

มวนเพชฌฆาต *Sycanus versicolor* Dohrn เป็นแมลงห้ำที่มีประสิทธิภาพในการทำลายแมลงศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจหลายชนิด เช่น หนอนกระทู้หอม หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนกระทู้ผัก และหนอนใยผัก เป็นต้น ซึ่งศัตรูพืชเหล่านี้กำลังเป็นปัญหากับพืชผัก ไม้ดอก ไม้ผล และพืชไร่หลายชนิดเนื่องจากแมลงดังกล่าวสามารถสร้างความต้านทานต่อสารเคมีฆ่าแมลงจึงมีแนวโน้มว่าจะเพิ่มความสำคัญมากขึ้นเรื่อยๆ

มวนเพชฌฆาต *S. versicolor* สามารถใช้หนอนนกเป็นเหยื่อในการเลี้ยงขยายได้ ซึ่งการผลิตหนอนนกสามารถใช้อาหารไก่เลี้ยงซึ่งไม่เสียแรงงานในการเตรียมอาหาร และมีราคาถูกกว่าใช้อาหารชนิดอื่น ๆ มาก อย่างไรก็ตามวงจรชีวิตของหนอนนกในระยะที่เป็นตัวหนอนนั้นมีระยะเวลาเพียง 2-3 เดือนเท่านั้น ปริมาณหนอนนกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในบางช่วงเวลาอาจมีมากจนเกินไปหรือบางช่วงอาจไม่เพียงพอ ดังนั้นศึกษาวิธีการยืดอายุหนอนนกยาวนานขึ้นและยังสามารถใช้เลี้ยงมวนเพชฌฆาต *Sycanus versicolor* Dohrn ได้อย่างมีประสิทธภาพ จะสามารถทำให้กระบวนการผลิตมวนเพชฌฆาต *Sycanus versicolor* Dohrn เพื่อให้ได้ปริมาณมากแต่มีคุณภาพตามที่ต้องการ และมีต้นทุนการผลิตต่ำ ผลิตได้ง่าย เป็นระบบ และรวดเร็ว

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. หนอนนก
2. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ
3. อาหารไก่
4. มวนเพชฌฆาต
5. กล่องเลี้ยงแมลง

วิธีการ

การชะลอการพัฒนาหนอนนกเพื่อใช้เลี้ยงขยายแมลงศัตรูธรรมชาติ

ดำเนินการทดลองแบบ CRD มี 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธีดังนี้

1. เก็บหนอนนกในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 5 วัน เลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง 1 วัน สลับกัน จนเข้าดักแด้

2. เก็บหนอนนกในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 10 วัน เลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง 1 วัน สลับกัน จนเข้าดักแด้
3. เก็บหนอนนกในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 15 วัน เลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง 1 วัน สลับกัน จนเข้าดักแด้
4. เก็บหนอนนกในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 20 วัน เลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง 1 วัน สลับกัน จนเข้าดักแด้
5. เลี้ยงที่อุณหภูมิห้องตลอดการเจริญเติบโต

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1 การชะลอการพัฒนาหนอนนก

นำหนอนนกอายุ 1 เดือน ใส่ในกล่องพลาสติก กล่องละ 100 ตัว จำนวน 20 กล่อง โดยใช้อาหารไก่เป็นอาหารเลี้ยงหนอนนก ใส่ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 10±0.5 องศาเซลเซียส ตามกรรมวิธี เมื่อครบตามระยะเวลาตามกรรมวิธีที่กำหนด นำหนอนนกที่เลี้ยงในตู้ควบคุมอุณหภูมิออกมาเลี้ยงที่อุณหภูมิห้องและให้อาหารเพิ่มเติมเป็นเวลา 1 วัน จากนั้นนำกลับเข้าไปเลี้ยงในตู้ควบคุมอุณหภูมิตามกรรมวิธีที่กำหนดเช่นเดิม ดำเนินการซ้ำเช่นนี้จนหนอนนกเข้าดักแด้

การบันทึกข้อมูล

บันทึกระยะเวลาการเจริญเติบโตของหนอนนกจนเข้าดักแด้

บันทึกน้ำหนักหนอนนกสัปดาห์ละ 1 ครั้ง

บันทึกน้ำหนักของดักแด้หนอนนก

ขั้นตอนที่ 2 การตรวจสอบคุณภาพหนอนนกและดักแด้หนอนนก

นำหนอนนกและดักแด้หนอนนกที่ได้จากกรรมวิธีต่างๆ ไปใช้เลี้ยงมวนเพชฌฆาตเปรียบเทียบกับการเลี้ยงมวนเพชฌฆาตด้วยหนอนนกที่เลี้ยงในอุณหภูมิปกติ โดยนำไข่มวนจาก stock culture ในห้องปฏิบัติการ ใส่ในกล่องพลาสติก จำนวน 3 กลุ่ม/กล่อง จำนวน 10 กล่อง หลังจากนั้นประมาณ 15 วัน ไข่มวนจะฟักเป็นตัวอ่อนวัย 1 ในแต่ละกล่องนำมวนออกให้เหลือจำนวน 150 ตัว/กล่อง ระยะตัวอ่อนวัย 1-2 เลี้ยงด้วยดักแด้หนอนนก ระยะตัวอ่อนวัย 3 – 5 และตัวเต็มวัย เลี้ยงด้วยหนอนนก เก็บดักแด้หนอนนกและหนอนนกที่ถูกกิน 2 ครั้ง/สัปดาห์ พร้อมใส่อาหารใหม่ลงไป เปลี่ยนกล่องที่เลี้ยง 1 ครั้ง/สัปดาห์ จนมวนเป็นตัวเต็มวัยตาย ตรวจผลพร้อมบันทึกจำนวนดักแด้หนอนนกและหนอนนกที่ถูกกิน ดังนี้

การบันทึกข้อมูล

บันทึกระยะเวลาการเจริญเติบโตของมวนเพชฌฆาตแต่ละระยะการเจริญเติบโต

บันทึกอัตราการวางไข่ของมวนเพชฌฆาต

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาการชะลอพัฒนาการของหนอนนกเพื่อใช้เลี้ยงขยายแมลงศัตรูธรรมชาติ ดำเนินการในห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ในปี 2559 ได้ดำเนินการศึกษาชะลอการพัฒนาระยะหนอนของหนอนนกตามกรรมวิธีที่กำหนด พบว่า การเก็บหนอนในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 10±0.5 องศาเซลเซียส หนอนนกจะมีอายุในระยะหนอนได้ยาวนานกว่าหนอนนกที่เลี้ยงในอุณหภูมิห้องประมาณ 50 วัน

เอกสารอ้างอิง

รัตนา นชะพงษ์ และคณะ. 2548. อนุกรมวิธานมวนในสกุล *Sycanus* และ *Polytoxus* วงศ์ Reduviidae และการเก็บรักษา. รายงาน ผลการวิจัยฉบับย่อ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

รัตนา นชะพงษ์ และคณะ. 2555. การผลิตขยายมวนพิฆาตเพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืช. รายงานผลการวิจัยประจำปี2555. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

Grundy, P.R. 2007. Utilizing the assassin big, *Pristhesancus plagipennis* (Hemiptera: Reduviidae), as a biological control agent within an integrated pest management programme for *Helicoverpa* spp. (Lepidoptera: Noctuidae) *Creontiades* spp. (Hemiptera: Miridae) in cotton (ออนไลน์). เข้าถึงได้จาก http//journals.cambridge.org. สืบค้น 8 มีนาคม 2550.

Grundy, P.R., and D.A. Maelzer. 2002. Augmentation of the assassin bug *Pristhesancus plagipennis* (Walker) (Hemiptera: Reduviidae) as a biological control agent for *Helicoverpa* spp. in cotton (ออนไลน์). เข้าถึงได้จาก http//www.blackwell-synergy.com. สืบค้น 24 กันยายน2550.

Sahayaraj, K. 2002. Small-scale laboratory rearing of a reduviid predator, *Rhynocoris marginatus* Fab. (Hemiptera: Reduviidae) on *Corcyra cephalonica* stainton larvae by larval card method. Journal of Central European Agriculture. 3(4)

Sahayaraj, K. and M. G. Paulraj. 2001. Rearing and life table of reduviid predator *Rhynocoris marginatus* Fab. (Hemiptera: Reduviidae) on *Spodoptera litura* Fab. (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. Journal of Applied Entomology, 125(6): 321-325(5)

Sahayaraj, K. and P. Sathiamoorthi. 2002. Influence of different diets of *Corcyra cephalonica* on life history of a reduviid predator *Rhynocoris marginatus* (ออนไลน์). เข้าถึงได้จาก http//www.agr.hr/jeca/issues/jcea3-1/jcea31_8.html. สืบค้น 8 มีนาคม 2550.

Slater, J. A. and R. M. Baranowski. 1978. How to know the true Bugs. (ออนไลน์) เข้าได้จาก http//www.ojibway.ca/bugs.asp. สืบค้น 8 มีนาคม 2550.

ตารางที่ 1 ระยะการการเจริญในระยะหนอนของหนอนนกที่เก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิช่วงเวลาต่างๆ

กรรมวิธี	จำนวนหนอนนกเริ่มต้น (ตัว)	จำนวนดักแด้ที่ได้ (ดักแด้)	ระยะเวลา (วัน)
ตู้ควบคุม 5 วัน/อุณหภูมิห้อง 1 วัน	100	74.75	88
ตู้ควบคุม 10 วัน/อุณหภูมิห้อง 1 วัน	100	70.25	84
ตู้ควบคุม 15 วัน/อุณหภูมิห้อง 1 วัน	100	59.25	84
ตู้ควบคุม 20 วัน/อุณหภูมิห้อง 1 วัน	100	52.25	84
อุณหภูมิห้อง	100	97.50	36

ตารางที่ 2 อัตราการอยู่รอดของหนอนนกหลังเก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 10± 0.5 องศาเซลเซียส

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของหนอนนก(%)
เก็บในตู้ควบคุม 5 วัน	99.75
เก็บในตู้ควบคุม 10 วัน	99.75
เก็บในตู้ควบคุม 15 วัน	99.75
เก็บในตู้ควบคุม 20 วัน	98.25
เก็บในอุณหภูมิห้อง	99.00

การใช้มวนเพชฌฆาตควบคุมหนอนเจาะฝักข้าวโพดในข้าวโพดหวาน

Use of Assissasin Bug for Control Corn Ear

สาทิพย์ มาลี รจนา ไวยเจริญ

ประภัสสร เชยคำแหง พัชรีวรรณ จงจิตเมตต์

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การใช้มวนเพชฌฆาตควบคุมหนอนเจาะฝักข้าวโพดในข้าวโพดหวาน ดำเนินการระหว่าง ตุลาคม 2558- กันยายน 2561 ในปี 2559 ดำเนินการสำรวจพบการระบาดของหนอนเจาะฝักข้าวโพดในแปลงเกษตรกรในจังหวัดชลบุรี และดำเนินการทดสอบอัตราการปล่อยมวนเพชฌฆาตที่เหมาะสมในการควบคุมหนอนเจาะฝักข้าวโพด ในแปลงข้าวโพดหวานในจังหวัดชลบุรี ผลการทดลอง พบว่า กรรมวิธีปล่อยมวนเพชฌฆาตอัตรา 1 2 และ 3 ตัวต่อต้น มีเปอร์เซ็นต์ฝักที่ถูกหนอนเจาะฝักข้าวโพดทำลายในระดับต่ำใกล้เคียงกัน ระหว่าง 1.61-4.39% ส่วนกรรมวิธีไม่ควบคุมมีเปอร์เซ็นต์ฝักที่ถูกหนอนเจาะฝักข้าวโพดทำลายสูงถึง 14.97% ในปี 2560 จะได้ดำเนินการศึกษาการใช้มวนเพชฌฆาตเปรียบเทียบกับการใช้สารฆ่าแมลงในการควบคุมหนอนเจาะฝักข้าวโพดต่อไป

คำหลัก : การควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี มวนเพชฌฆาต หนอนเจาะฝักข้าวโพด ข้าวโพดหวาน

รหัสการทดลอง 03-05-59-02-01-00-05-59

คำนำ

การควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีเป็นองค์ประกอบหลักในการแก้ไขปัญหาศัตรูพืชที่ทำลายผลผลิตทางการเกษตร ศัตรูพืชสร้างความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง พิษตกค้างของสารฆ่าแมลงในผลผลิตที่ใช้บริโภคและสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ยังช่วยลดการใช้สารฆ่าแมลงและลดมูลค่าการนำเข้าของสารฆ่าแมลง ดังนั้นความพยายามในการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีจึงเป็นสิ่งที่ขาดไม่ได้ในปัจจุบันและอนาคต

ข้าวโพดหวาน เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ สามารถใช้บริโภคได้ทั้งในรูปฝักสดและแปรรูป ทั้งบริโภคภายในประเทศและส่งออกต่างประเทศ ปัญหารสำคัญอย่างหนึ่งในการปลูกข้าวโพดหวานคือปัญหาแมลงศัตรูรบกวน ในประเทสไทยมีรายงานว่าข้าวโพดมีแมลงศัตรูมากถึง 76 ชนิด หนอนเจาะฝักข้าวโพดนับเป็นแมลงศัตรูที่สำคัญที่สร้างความเสียหายให้แก่ข้าวโพดหวานเป็นอย่างมาก เนื่องจากสามารถเข้าทำลายในช่วงที่ข้าวโพดหวานยังไม่ติดดอกจนถึงติดฝัก ปัจจุบันเกษตรกรมักใช้สารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัด ซึ่งทำให้เกิดปัญหาสารตกค้างในผลผลิต และยังส่งผลกระทบต่อแมลงศัตรูธรรมชาติอื่นๆ

มวนเพชฌฆาต เป็นแมลงห้ำที่มีคุณสมบัติการทำลายหนอนได้หลายชนิดเหมือนกับมวนพิฆาต การผลิตขยายให้ได้ปริมาณมากเพื่อใช้เป็นชีวภัณฑ์สามารถทำได้ง่าย รวมทั้งต้นทุนการผลิตต่ำ ดังนั้นมวนเพชฌฆาตจึงเป็นมวนตัวห้ำอีกชนิดหนึ่งที่มีประสิทธิภาพน่าสนใจในการนำมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชเพื่อเพิ่มทางเลือกและลดการใช้สารเคมีทางการเกษตรอีกด้วย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. มวนเพชฌฆาต
2. สารฆ่าแมลง
3. ถังพ่นสารกำจัดศัตรูพืช
4. เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวาน

วิธีการ

1. ศึกษาอัตราการปล่อยมวนเพชฌฆาตที่เหมาะสมในการควบคุมหนอนเจาะฝักข้าวโพด(2559-2560)

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 5 ซ้ำ 4 กรรมวิธี

1. ปล่อยมวนเพชฌฆาตอัตรา 3 ตัวต่อต้น (288 ตัว/แปลงย่อย)
2. ปล่อยมวนเพชฌฆาตอัตรา 2 ตัวต่อต้น (192 ตัว/แปลงย่อย)
3. ปล่อยมวนเพชฌฆาตอัตรา 1 ตัวต่อต้น (96 ตัว/แปลงย่อย)
4. ไม่ควบคุม

ปลูกข้าวโพดหวานในแปลงย่อยขนาด 6x6 เมตร จำนวน 20 แปลง ระยะปลูก 0.75x0.25 เมตร เมื่อข้าวโพดหวานอายุ 48-58 วัน สำรวจจาก 4 แถวกลางมีจำนวน 24 ต้นต่อแถว โดยสำรวจ

หนอนเจาะฝักข้าวโพดจำนวน 20 ต้น/แปลงย่อย ทุก 7 วัน ทำการทดลองกรรมวิธีที่กำหนด เมื่อพบหนอนหนอนเจาะฝักข้าวโพดเฉลี่ยเกิน 0.5 ตัว/ต้น

-บันทึกจำนวนหนอนหนอนเจาะฝักข้าวโพด ก่อนปล่อยมวนเพชฌฆาต และหลังปล่อยมวนเพชฌฆาต 7 วัน

-บันทึกจำนวนแมลงศัตรูธรรมชาติที่พบทั้งก่อนและหลังการปล่อยมวนเพชฌฆาต

-บันทึกผลผลิตและคุณภาพผลผลิต

2. การใช้มวนเพชฌฆาตเปรียบเทียบการการใช้สารฆ่าแมลงในการควบคุมหนอนเจาะฝักข้าวโพด (2560-2561)

ปลูกข้าวโพดหวานในแปลงขนาด 1 ไร่ จำนวน 2 แปลง ระยะปลูก 0.75x0.25 เมตร

แปลงที่ 1 เมื่อข้าวโพดหวานอายุ 48-58 วันสำรวจหนอนเจาะฝักข้าวโพด ทุก 7 วัน เมื่อพบหนอนหนอนเจาะฝักข้าวโพดเฉลี่ยเกิน 0.5 ตัว/ต้น ปล่อยมวนเพชฌฆาตอัตราที่เหมาะสมจากการทดลองในข้อ 1

แปลงที่ 2 เมื่อข้าวโพดหวานอายุ 48-58 วัน สำรวจหนอนเจาะฝักข้าวโพด ทุก 7 วัน เมื่อพบหนอนหนอนเจาะฝักข้าวโพดเฉลี่ยเกิน 1 ตัว/ต้น พ่นด้วยสารฆ่าแมลง ฟิโปรนิล 5%sc อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร

-บันทึกจำนวนหนอนหนอนเจาะฝักข้าวโพด ก่อนปล่อยมวนเพชฌฆาต และหลังปล่อยมวนเพชฌฆาต 7 วัน

-บันทึกจำนวนแมลงศัตรูธรรมชาติที่พบทั้งก่อนและหลังการปล่อยมวนเพชฌฆาต

-บันทึกผลผลิตและคุณภาพผลผลิต

3. ศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่ใช้ในข้าวโพดหวานที่มีต่อมวนเพชฌฆาต (2561)

ทดสอบผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่ใช้ในข้าวโพดหวานกับตัวอ่อนมวนเพชฌฆาตระยะที่ 4 โดยใช้มวนเพชฌฆาตจำนวน 10 ตัว/ซ้ำ หยด acetone น้ำกลั่น และสารฆ่าแมลง ในหลอดแก้วทดลอง 1 ชนิด/2หลอด/ซ้ำ เอียงหลอดไปมาให้สารสัมผัสพื้นที่ด้านในหลอดแก้วให้ทั่ว แล้วตั้งทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้องนาน 2 – 4 ชั่วโมง ใส่มวนเพชฌฆาตระยะตัวอ่อนวัย 4 จำนวน 5 ตัว/หลอด พร้อมใส่ดักแด้หนอนนกเพื่อเป็นอาหารแก่มวนเพชฌฆาต และตรวจนับมวนเพชฌฆาตที่ตายที่ 48 ชั่วโมง

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 4 ซ้ำ 12 กรรมวิธี

1. คาร์บาริล(carbaryl) 85%WP	อัตรา 40 กรัม/ น้ำ 20 ลิตร
2. คาร์โบซัลแฟน (carbosulfan) 20%EC	อัตรา 40 มล./ น้ำ 20 ลิตร
3. คลอร์ไพริฟอส(chlorpyrifos) 40%EC	อัตรา 20 มล./ น้ำ 20 ลิตร
4. อิมิดาโคลพริด(imidacloprid) 10%SL	อัตรา 20 มล./ น้ำ 20 ลิตร
5. ฟิโปรนิล(fipronil) 5%SC	อัตรา 15 มล./ น้ำ 20 ลิตร
6. เบตาไซฟลูทริน(betacyfluthrin) 2.5%EC	อัตรา 40 มล./ น้ำ 20 ลิตร
7. ไดอะซินอน(diazinon) 60%EC	อัตรา 15 มล./ น้ำ 20 ลิตร

8. ฟลูเฟนนอกซูรอน(flufenoxzuron) 5%EC อัตรา 30 มล./ น้ำ 20 ลิตร

9. คลอร์ฟลูอาซูรอน(chlorfluazuron) 5%EC อัตรา 30 มล./ น้ำ 20 ลิตร

10. เดลทาเมทริน(deltamethrin) 3%EC อัตรา 10 มล./ น้ำ 20 ลิตร

11. ไตรฟลูมูรอน(triflumuron) 25%WP อัตรา 30 กรัม/ น้ำ 20 ลิตร

12. เทฟลูเบนซูรอน(teflubenzuron) 5%EC อัตรา 25 มล./ น้ำ 20 ลิตร

การบันทึกข้อมูล

จำนวนมวนเพชฌฆาตที่ตายในแต่ละซ้ำหลังการทดสอบ ข้อมูลที่ได้นำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

สถานที่ทำการทดลอง

แปลงเกษตรกร จ.ชลบุรี หรือ กาญจนบุรี จำนวน 4 แปลง

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

สำรวจพบการระบาดของหนอนเจาะฝักข้าวโพดในแปลงเกษตรกรในจังหวัดชลบุรี และดำเนินการทดสอบอัตราการปล่อยมวนเพชฌฆาตที่เหมาะสมในการควบคุมหนอนเจาะฝักข้าวโพด ในแปลงข้าวโพดหวานในจังหวัดชลบุรี ผลการทดลอง พบว่า กรรมวิธีปล่อยมวนเพชฌฆาตทุกอัตรา และกรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลง ฟิโปรนิล 5%sc อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์ฝักที่ถูกหนอนเจาะฝักข้าวโพดทำลายในระดับต่ำใกล้เคียงกัน ระหว่าง 1.61-4.39% ส่วนกรรมวิธีไม่ควบคุมมีเปอร์เซ็นต์ฝักที่ถูกหนอนเจาะฝักข้าวโพดทำลายสูงถึง 14.97% (ตารางที่ 1)

เอกสารอ้างอิง

รัตนา นชะพงษ์ และคณะ. 2548. อนุกรมวิธานมวนในสกุล *Sycanus* และ *Polytoxus* วงศ์ Reduviidae และการเก็บรักษา. รายงาน ผลการวิจัยฉบับย่อ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

รัตนา นชะพงษ์ และอุราพร หนูนารถ. 2554. การใช้มวนเพชฌฆาต Sycanus versicolor Dohrn. ควบคุมแมลงศัตรูพืชในหน่อไม้ฝรั่ง. ผลการวิจัยประจำปี 2554. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

Grundy, P.R. 2007. Utilizing the assassin big, *Pristhesancus plagipennis* (Hemiptera: Reduviidae), as a biological control agent within an integrated pest management programme for *Helicoverpa* spp. (Lepidoptera: Noctuidae) *Creontiades* spp. (Hemiptera: Miridae) in cotton (ออนไลน์). เข้าถึงได้จาก http//journals.cambridge.org. สืบค้น 8 มีนาคม 2550.

Grundy, P.R., and D.A. Maelzer. 2002. Augmentation of the assassin bug *Pristhesancus plagipennis* (Walker) (Hemiptera: Reduviidae) as a biological control agent for *Helicoverpa* spp. in cotton (ออนไลน์). เข้าถึงได้จาก http//www.blackwell-synergy.com. สืบค้น 24 กันยายน2550.

Sahayaraj, K. 2002. Small-scale laboratory rearing of a reduviid predator, *Rhynocoris marginatus* Fab. (Hemiptera: Reduviidae) on *Corcyra cephalonica* stainton larvae by larval card method. Journal of Central European Agriculture. 3(4)

Sahayaraj, K. and M. G. Paulraj. 2001. Rearing and life table of reduviid predator *Rhynocoris marginatus* Fab. (Hemiptera: Reduviidae) on *Spodoptera litura* Fab. (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. Journal of Applied Entomology, 125(6): 321-325(5)

Sahayaraj, K. and P. Sathiamoorthi. 2002. Influence of different diets of *Corcyra cephalonica* on life history of a reduviid predator *Rhynocoris marginatus* (ออนไลน์). เข้าถึงได้จาก http//www.agr.hr/jeca/issues/jcea3-1/jcea31_8.html. สืบค้น 8 มีนาคม 2550.

Slater, J. A. and R. M. Baranowski. 1978. How to know the true Bugs. (ออนไลน์) เข้าได้จาก http//www.ojibway.ca/bugs.asp. สืบค้น 8 มีนาคม 2550.

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์ฝักข้าวโพดหวานที่ไม่ถูกหนอนเจาะฝักข้าวโพดทำลาย

กรรมวิธี	ฝักดี(%)	ฝักถูกทำลาย(%)
ปล่อยมวนเพชฌฆาตอัตรา 5 ตัวต่อต้น	98.39	1.61
ปล่อยมวนเพชฌฆาตอัตรา 3 ตัวต่อต้น	95.95	4.05
ปล่อยมวนเพชฌฆาตอัตรา 1 ตัวต่อต้น	95.61	4.39
ไม่ควบคุม	85.03	14.97

การเพาะเลี้ยงมวนตัวห้ำ *Cardiastethus exiguus* Poppius (Hemiptera:Anthocoridae)

Mass Rearing of Anthocorid Predator, *Cardiastethus exiguus* Poppius (Hemiptera: Anthocoridae)

อทิติยา แก้วประดิษฐ์ พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ พลอยชมพู กรวิภาสเรือง
อัจฉราภรณ์ ประเสริฐผล รจนา ไวยเจริญ
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

มวนตัวห้ำ *Cardiastethus exiguus* Poppius (Hemiptera: Anthocoridae) เป็นแมลงศัตรูธรรมชาติที่มีประสิทธิภาพในการกินแมลงศัตรูพืชหลายชนิด แต่ในประเทศไทยยังไม่มีการศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณของมวนตัวห้ำ *C. exiguus* จึงจำเป็นต้องศึกษาอาหาร วัสดุ และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงมวนตัวห้ำ *C. exiguus* จากการทดลองพบว่า การศึกษาอาหารที่เหมาะสม 2 ชนิด ได้แก่ เลี้ยงด้วยไข่ผีเสื้อข้าวสารมีอัตราการขยายพันธุ์สุทธิ (R_o) เท่ากับ 11.88 เท่า ซึ่งสูงกว่าเมื่อเลี้ยงด้วยละอองเกสรธูปฤาษี มีอัตราการขยายพันธุ์สุทธิ (R_o) เพียง 0.790 เท่า การทดสอบวัสดุสำหรับการวางไข่ มวนตัวห้ำวางไข่บนกระดาษทิชชูอเนกประสงค์ได้มากที่สุด เท่ากับ 130.00±8.87 ฟองต่ออายุขัย และมีเปอร์เซ็นต์การฟักมากที่สุด เท่ากับ 91.47 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับอีก 7 กรรมวิธี การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการวางไข่และการฟักของไข่ มวนตัวห้ำไม่วางไข่ที่อุณหภูมิ 10 และ15 องศาเซลเซียส ระดับอุณหภูมิที่มวนตัวห้ำวางไข่ได้มากที่สุดคือที่อุณหภูมิในห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิเพิ่ม-ลดในแต่ละช่วงวัน 28± 5 องศาเซลเซียส) และที่อุณหภูมิคงที่ 25 องศาเซลเซียส ได้จำนวนไข่เฉลี่ย 112.75±3.77 และ 90.34±1.28 ฟองต่ออายุขัย และเปอร์เซ็นต์การฟัก 89.68±0.53 และ 90.34±1.28 ตามลำดับ ทั้งสองกรรมวิธีนี้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ซึ่งจำนวนไข่เฉลี่ยและเปอร์เซ็นต์การฟัก เท่ากับ17.75±5.73 ฟอง 75.48±12.14 เปอร์เซ็นต์

รหัสการทดลอง 03-05-59-02-01-00-07-59

คำนำ

เพลี้ยไฟ ไรแดง ไรขาว แมลงหวี่ขาว และเพลี้ยแป้ง เป็นศัตรูพืชจำพวกปากดูด ที่สำคัญในประเทศไทย เกษตรกรส่วนใหญ่ใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัด ซึ่งสามารถทำให้ประชากรของแมลงศัตรูพืชลดลงชั่วคราวเท่านั้น เนื่องจากแมลงในกลุ่มนี้มีขนาดเล็กและมีวงชีวิตสั้น และสามารถปรับตัวสร้างความต้านต่อสารเคมีได้รวดเร็ว เป็นสาเหตุของการเกิดปัญหาสารเคมีตกค้างในผลผลิตและสิ่งแวดล้อม เป็นอันตรายต่อผู้ใช้ จากการได้รับสารพิษที่เข้าไปสะสมในร่างกาย และยังส่งผลกระทบไปสู่ผู้บริโภคที่ต้องบริโภคผลผลิตที่มีสารพิษตกค้าง

ทางเลือกหนึ่งของการควบคุมศัตรูพืชของเกษตรกร คือการใช้ชีววิธี เพื่อลดระดับความเสียหายของศัตรูพืชให้ต่ำลง และไม่สูงจนก่อให้เกิดความเสียหายต่อพืช เป็นวิธีการที่ใช้ประโยชน์ของปรากฏการณ์ธรรมชาติด้วยการให้ศัตรูธรรมชาติของศัตรูพืชนั้นๆ ควบคุมศัตรูพืชซึ่งเป็นวิธีการที่ได้ใช้ทรัพยากรธรรมชาติหรือศัตรูธรรมชาติที่มีอยู่แล้วให้เกิดประโยชน์ และยังเป็นการลดปัญหาสารตกค้างในผลผลิตและสิ่งแวดล้อม

มวนตัวห้ำชนิด *Cardiastethus exiguus* Poppius ซึ่งเป็นแมลงที่พบเป็นครั้งแรกในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ จากการทดสอบเบื้องต้นพบว่ามวนตัวห้ำ *C. exiguus* ทั้งระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัย เป็นมวนตัวห้ำที่กินเพลี้ยไฟ เพลี้ยแป้ง ไรแดง แมลงหวี่ขาว ไข่และหนอนของผีเสื้อขนาดเล็ก โดยใช้ปากดูดของเหลวออกจากลำตัวเหยื่อจนทำให้เหยื่อตายในที่สุด (อทิติยา และคณะ, 2557)

ทั้งนี้เนื่องจากในประเทศไทยยังไม่มีการศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณของมวนตัวห้ำ *C. exiguus* จึงจำเป็นต้องศึกษาตั้งแต่อาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงมวนตัวห้ำ *C. exiguus* รวมทั้งปัจจัยที่เหมาะสมต่อการวางไข่ของมวนตัวห้ำ *C. exiguus* การศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่มีต่อมวนตัวห้ำ *C. exiguus* รวมถึงอัตราการปลดปล่อยมวนตัวห้ำ *C. exiguus* เพื่อเป็นแนวทางการนำไปใช้ในการควบคุมศัตรูพืช และสามารถนำไปพัฒนาต่อเพื่อประยุกต์ใช้ในสภาพไร่ต่อไป

อาหารเทียมที่ใช้นำมาเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณมวนในกลุ่ม Anthocoridae ในต่างประเทศมีดังนี้ Yano (2002) รายงานว่าอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงมวนตัวห้ำ *Orius sauteri* (Poppius) (Heteroptera: Anthocoridae) คือไข่ผีเสื้อ *Ephestia kuehniella Zeller* (Lepidoptera: Pyralidae) และ Cocuzza (1997) ทำการศึกษาอาหารที่เหมาะสมที่ใช้เพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณมวนตัวห้ำ 2 ชนิด *Orius laevigatus* (Fieber) และ *Orius albidipennis* (Reuter) (Heteroptera: Anthocoridae) มี 3 กรรมวิธี ได้แก่ 1) ไข่ผีเสื้อ *E. Kuehniella* 2) ไข่ผีเสื้อ *E. Kuehniella* ผสมกับละอองเกสร 3) ละอองเกสร จากผลการทดลองรายงานว่า มวนตัวห้ำที่กินไข่ผีเสื้อ *E. Kuehniella* มีขนาดตัวที่ใหญ่อายุยืนกว่ามวนตัวห้ำที่กิน ละอองเกสรเพียงอย่างเดียว

ในประเทศไทยนำไข่ผีเสื้อข้าวสาร *Corcyra cephalonica* (Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae) มาใช้เลี้ยงแมลงศัตรูธรรมชาติหลายชนิดได้แก่ แมลงช้างปีกใส *Mallada basalis*

(Walker) *Plesiochrysa ramburi* Schneider (Neuroptera: Chrysopidae) (อรพรรณ, 2548) (โสภณ, 2552)

นอกจากไข่ผีเสื้อข้าวสารที่นำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณศัตรูธรรมชาติแล้ว ยังมีละอองเกสรธูปฤาษีที่นำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงไรตัวห้ำ *Amblyseius cinctus* (มานิตาและคณะ, 2554)

วัตถุประสงค์ของวิจัยครั้งนี้คือ ศึกษาอาหารที่เหมาะสมใช้เพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณมวนตัวห้ำ การทดสอบวัสดุที่เหมาะสมสำหรับการวางไข่และการฝักของไข่ และระดับอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการวางไข่และการฟักของไข่

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ระยะตัวอ่อนของมวนตัวห้ำ *Cardiastethus exiguus* Poppius
2. กระดาษฟาง
3. กระดาษทิชชูม้วน เรียกกันว่า “Toilet Tissue”
4. ทิชชูเช็ดหน้า หรือ “Facial Tissue”
5. ทิชชูเช็ดปาก“Napkin”
6. ทิชชูอเนกประสงค์ ได้แก่ “Hand Towel” และ “Kitchen Towel”
7. กระดาษหนังสือพิมพ์
8. กระดาษพิมพ์เอกสาร 80 แกรม
9. กระดาษพิมพ์เอกสาร 80 แกรมที่ใช้แล้ว (Reuse)
10. ไข่ผีเสื้อข้าวสาร *Corcyra cephalonica* (Stainton)
11. กล่องสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด 8x10x5 เซนติเมตร
12. เกสรดอกธูปฤาษี *Typha angustifolia*
13. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ
14. กล้องจุลทรรศน์เตอริโอ
15. ห้องปฏิบัติการควบคุมอุณหภูมิ (27-28 องศาเซลเซียส)
16. กล้องจุลทรรศน์/ stereo microscope

วิธีการ

1. ศึกษาอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณมวนตัวห้ำ

การศึกษาตารางชีวิตแบบ biological life table

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

รวบรวมไข่ของมวนตัวห้ำ จำนวน 100 ฟองใส่กล่องพลาสติกใสขนาดกว้าง 8x10x5 เซนติเมตร วางกระดาษชำระขนาด 7x10 เซนติเมตร เพื่อดูดความชื้นในกล่อง เมื่อไข่ฟักเป็นตัวอ่อน แยกตัวอ่อนโดยใช้พู่กันเบอร์ 0 เขี่ยแต่ละตัวไปเพาะเลี้ยงใน Petri dish ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร สูง 1 เซนติเมตร ซึ่งมีฝาปิดสนิทกล่องละ 1 ตัว และ รองด้วยกระดาษชำระ ให้อาหารที่ต้องการศึกษา (ไข่ผีเสื้อข้าวสารและละอองเกสรธูปฤาษี) เป็นอาหารทุกวัน

- การบันทึกข้อมูล

จำนวนมวนตัวห้ำที่รอดชีวิตทุกๆ วัน จนกระทั่งมวนตัวห้ำ เป็นตัวเต็มวัย นำตัวเต็มวัยทั้งตัวผู้และตัวเมีย ไปเพาะเลี้ยง ใน Petri dish บันทึกข้อมูลจำนวนตัวเต็มวัยที่รอดชีวิตทุกๆ วัน จนกระทั่งตัวเต็มวัยตาย และนับจำนวนไข่ที่ตัวเต็มวัยวางทุกวัน ข้อมูลที่ได้จะนำไปสร้างตารางชีวิตแบบ biological life table โดยใช้เทคนิคของ Napompeth (1973) และ อินทวัฒน์ (2548)

นำผลจากการศึกษา โดยพิจารณาค่าต่างๆ จากคุณลักษณะทางชีววิทยา มาเปรียบเทียบ จากการเลี้ยงมวนตัวห้ำ ด้วยอาหารทั้ง 2 ชนิด ได้แก่ ไข่ผีเสื้อข้าวสาร และละอองเกสรธูปฤาษี เพื่อวิเคราะห์อาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงมวนตัวห้ำ

2. ศึกษาวัสดุสำหรับการวางไข่ของมวนตัวห้ำ *C. exiguus*

เนื่องจากไข่ของมวนตัวห้ำมีขนาดเล็กซึ่งยากต่อการเก็บรวบรวม และมวนตัวห้ำมีพฤติกรรมการกินกันเอง จึงต้องหามีวัสดุที่เหมาะสมในการวางไข่ และเพิ่มพื้นที่ในการหลบซ่อนตัวเพื่อลดปัญหาการกินกันเอง ในการทดลองนี้จึงเลือกกระดาษชนิดต่างๆ มาใช้เพราะกระดาษเป็นวัสดุที่หาง่าย และมีราคาถูก

- แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ Completely Ramdomized Design (CRD) มีทั้งหมด 8 กรรมวิธีๆ ละ 4 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 กระดาษฟาง

กรรมวิธีที่ 2 กระดาษทิชชูม้วน เรียกกันว่า “Toilet Tissue”

กรรมวิธีที่ 3 ทิชชูเช็ดหน้า หรือ “Facial Tissue”

กรรมวิธีที่ 4 ทิชชูเช็ดปาก“Napkin”

กรรมวิธีที่ 5 ทิชชูอเนกประสงค์ ได้แก่ “Hand Towel” และ “Kitchen Towel”

กรรมวิธีที่ 6 กระดาษหนังสือพิมพ์

กรรมวิธีที่ 7 กระดาษพิมพ์เอกสาร 80 แกรม

กรรมวิธีที่ 8 กระดาษพิมพ์เอกสาร 80 แกรมที่ใช้แล้ว (Reuse)

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

ตัดกระดาษขนาด 10X8 เซนติเมตร ในทุกกรรมวิธี ใส่ในกล่องสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด 8X10X5 เซนติเมตร กล่องละ 1 แผ่น ใส่ตัวเต็มวันเพศเมียที่มีอายุ 1 วัน จำนวน 5 ตัว โดยทุกกรรมวิธีใส่ไข่ผีเสื้อข้าวสาร 0.1 กรัม เป็นอาหารทุกวัน

- การบันทึกข้อมูล

- นับจำนวนไข่ของมวนตัวห้ำ และเปอร์เซ็นต์การฟักของไข่ทุกวันจนมวนตัวห้ำตาย
- นำข้อมูลจำนวนไข่ของมวนตัวห้ำที่วางได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ

3. ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการวางไข่มวนตัวห้ำ *C. exiguus*

เมื่อได้วัสดุที่เหมาะสมในการวางไข่ของมวนตัวห้ำในขั้นตอนที่ 1 จะเลือกวัสดุที่ดีที่สุดและนำมาทำการทดลองในขั้นที่ 2

- แบบและวิธีการทดลอง

ทำการศึกษาระดับอุณหภูมิที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงมวนตัวห้ำ *C. exiguus* วางแผนการทดลองแบบ Completely Ramdomized Design (CRD) มีทั้งหมด 5 กรรมวิธีๆ ละ 4 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 อุณหภูมิที่ 10 องศาเซลเซียส

กรรมวิธีที่ 2 อุณหภูมิที่ 15 องศาเซลเซียส

กรรมวิธีที่ 3 อุณหภูมิที่ 20 องศาเซลเซียส

กรรมวิธีที่ 4 อุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส

กรรมวิธีที่ 5 อุณหภูมิที่ห้องปฏิบัติการ

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

นำวัสดุที่ได้จากขั้นตอนที่ 1 มาใช้ทดลองกับทุกกรรมวิธี โดยทุกกรรมวิธีใส่ไข่ผีเสื้อข้าวสาร 0.1 กรัม เป็นอาหารทุกวัน

- การบันทึกข้อมูล

- นับจำนวนไข่ของมวนตัวห้ำ และเปอร์เซ็นต์การฟักของไข่ ทุกวันจนมวนตัวห้ำตาย
- นำข้อมูลจำนวนไข่ของมวนตัวห้ำที่วางได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ

เวลาสถานที่

-เริ่มต้นตุลาคม ปี 2558 สิ้นสุด กันยายน ปี 2559

-ห้องปฏิบัติการและเรือนทดลอง กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ศึกษาอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณมวนตัวห้ำ *C. exiguus*

จากการศึกษาตารางชีวิตแบบ biological life table ของมวนตัวห้ำ เมื่อเลี้ยงด้วยอาหาร 2 ชนิด ได้แก่ ไข่ผีเสื้อข้าวสาร และละอองละอองเกสรธูปฤาษี นำข้อมูลมาคำนวณค่าคุณลักษณะทางชีววิทยาของมวนตัวห้ำ ได้ค่าอัตราการขยายพันธุ์สุทธิ (net reproductive rate, R_o) ชั่วอายุขัยของกลุ่ม (cohort generation time, T_c) ความสามารถในการขยายพันธุ์ทางกรรมพันธุ์ (capacity for increase, r_c) และอัตราการเพิ่มแท้จริง (finite rate of increase, λ) ของมวนตัวห้ำ เมื่อเลี้ยงด้วยไข่ผีเสื้อข้าวสาร มีค่าต่างๆ เท่ากับ 11.880, 37.367, 0.069 และ 1.071 ตามลำดับ และเมื่อเลี้ยงด้วยละอองละอองเกสรธูปฤาษีมีค่าต่างๆเท่ากับ 0.790 31.000 -0.235 และ 0.992 ตามลำดับ และทุกค่ามีค่าสูงกว่ามวนตัวห้ำที่เลี้ยงด้วยละอองละอองเกสรธูปฤาษี (Table 1) ถึงแม้ว่า ค่า ชั่วอายุขัยของกลุ่มของมวนตัวห้ำที่เลี้ยงด้วยไข่ผีเสื้อข้าวสารมีค่าสูงกว่าเมื่อเลี้ยงด้วยธูปฤาษี แต่ก็สูงกว่าเล็กน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับค่าอื่นๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ค่าค่าอัตราการขยายพันธุ์สุทธิเมื่อเลี้ยงด้วยไข่ผีเสื้อข้าวสารมีค่าสูงกว่าเมื่อเลี้ยงด้วยเกสรธูปฤษี 11 เท่า ดังนั้นไข่ผีเสื้อข้าวสารจึงเป็นอาหารที่มีความเหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณมวนตัวห้ำ ตาม Table 1

Maneerat (2007) เลี้ยงมวนตัวห้ำ *Wollastoniella rotunda* Yasunaga & Miyamoto ซึ่งเป็นมวนตัวห้ำอยู่ในวงศ์ Anthocoridae วงศ์เดียวกับกับมวนตัวห้ำ *C. exiguus* พบว่าเมื่อเลี้ยงด้วยไข่ผีเสื้อข้าวสาร ให้ค่าอัตราการขยายพันธุ์สุทธิ R_o เท่ากับ 0.140 เท่า ซึ่งมีค่าน้อยกว่าการทดลองในครั้งนี้อาจเป็นเพราะเป็นแมลงต่างชนิดกันและสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน

Tommasini และ Nicoli (1993) ได้ทดสอบเลี้ยงมวนตัวห้ำ *Orius* (Anthocoridae) 4 ชนิด ได้แก่ *O. majusculus* (Reuter) *O. laevigatus* (Fieber) *O. niger* Wolff และ *O. insidiosus* (Say) ด้วยเพลี้ยไฟ *Franklinella occidentalis* (Perg) และไข่ของผีเสื้อ *E. kuehniella* ได้ค่าของ R_o ที่แตกต่างกันแต่เนื่องจากค่าของ T_c ก็มีความแตกต่างกันอย่างเด่นชัด เมื่อพิจารณาค่าของ r_c สรุปได้ว่าการเลี้ยงด้วยเหยื่อเพลี้ยไฟ *F. occidentalis* ให้ค่าของ r_c สูงกว่าเมื่อเลี้ยงด้วยไข่ของผีเสื้อ *E. kuehniella* ดังนั้นการเลี้ยงด้วยเพลี้ยไฟ *F. occidental* จึงดีกว่าการเลี้ยงด้วยไข่ของผีเสื้อ *E. kuehniella* ซึ่งแตกต่างจากการทดลองนี้

2. ศึกษาวัสดุสำหรับการวางไข่ของมวนตัวห้ำ *C. exiguus*

จากผลการทดลองพบว่า มวนตัวห้ำ *C. exiguus* สามารถวางไข่ได้สูงบน กระดาษทิชชู่ม้วนเล็กและกระดาษทิชชู่อเนกประสงค์ วางไข่ได้เฉลี่ย 109.75±7.27 และ130.00±8.87 ฟองต่ออายุขัย และมีเปอร์เซ็นต์การฟักเฉลี่ย 91.33±2.02 91.47±1.01 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับอีก 6 กรรมวิธี ตามรายละเอียดใน Table

วัสดุที่เหมาะสมในการวางไข่ของมวนตัวห้ำ คือ กระดาษทิชชู่อเนกประสงค์ มากที่สุด เนื่องจากกระดาษชนิดนี้มีเนื้อกระดาษหนา หยาบ มีลอยคลื่นกระดาษ ให้สามารถยึดเกาะกับไข่ได้ดี และเหมาะสมในการวางไข่ และลดปัญหาการกินกันเองของมวนตัวห้ำ เนื่องจากกระดาษมี 2 ชั้น

ส่วนกระดาษที่ กระดาษ A4 กระดาษรียูส กระดาษหนังสือพิมพ์ มวนตัวห้ำสามารถวางไข่ได้ แต่มีปริมาณน้อยกว่าวางบนกระดาษทิชชู่ เพราะกระดาษชนิดนี้มีผิวเรียบ ละเอียด และไม่มีที่หลบซ่อนตัวให้กับมวนตัวห้ำ ส่วนกระดาษหนังสือพิมพ์มีการวางไข่น้อยที่สุดอาจเกิดจากกลิ่นของหมึกพิมพ์ที่ติดกับกระดาษทำให้มวนตัวห้ำไม่ชอบวางไข่บนกระดาษหนังสือพิมพ์

3. ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการวางไข่มวนตัวห้ำ *C. exiguus*

จากผลการทดลองในขั้นตอนที่ 1 มวนตัวห้ำสามารถวางไข่ได้มากที่สุดและมีเปอร์เซ็นต์การฟักสูงที่สุดบนทิชชู่อเนกประสงค์ จึงเลือกกระดาษทิชชู่อเนกประสงค์มาใช้ในการทดลองในขั้นตอนนี้

จากผลการทดลอง ที่อุณหภูมิ 10 และ 15 องศาเซลเซียส มวนตัวห้ำไม่สามารถวางไข่ได้แต่มีชีวิตรอดถึง 8 สัปดาห์ แต่ในอุณหภูมิที่ 20 และ 25 และที่อุณหภูมิในห้องปฏิบัติการ มวนตัวห้ำวางไข่ได้เฉลี่ยเท่ากับ 17.75±5.73 112.75±3.77 114.50±6.19 ฟอง ตามลำดับ และมีเปอร์เซ็นต์การฟักเท่ากับ 75.48±12.14 90.34±1.28 และ 89.68±0.53 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 3)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

อาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงมวนตัวห้ำคือ ไข่ผีเสื้อข้าวสาร มีค่าอัตราการขยายพันธุ์ R_o เท่ากับ 11.88 เท่า กระดาษทิชชู่อเนกประสงค์เป็นวัสดุที่เหมาะสมในการวางไข่ของมวนตัวห้ำ โดยมวนตัวห้ำวางไข่เฉลี่ยเท่ากับ 130.0±8.87 ฟอง อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ (28±5°C) เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการวางไข่ของมวนตัวห้ำ มวนตัวห้ำสามารถวางไข่ได้สูงที่สุดเท่ากับ 112.75±3.77 ฟองต่ออายุขัย

เอกสารอ้างอิง

มานิตา คงชื่นสิน พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ พลอยชมพู กรวิภาสเรือง วิมลวรรณ โชติวงศ์. 2554. การใช้และอนุรักษ์ไรตัวห้ำ *Amblyseius cinctus* เพื่อควบคุมไรแมงมุมเทียมกล้วยไม้ เพื่อควบคุมไรแมงมุมเทียมกล้วยไม้ *Tenuipalpus pacificus* . หน้า 268-274 *ใน* รายงานผลการวิจัยประจำปี 2554. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

อทิติยา แก้วประดิษฐ์ พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ พลอยชมพู กรวิภาสเรือง อัจฉราภรณ์ ประเสริฐผล และรจนา ไวยเจริญ. 2557. การศึกษาชีววิทยาและความชอบของมวนตัวห้ำ *Cardiastethus exiguus* Poppius (Hemiptera: Anthocoridae) ที่มีต่อเหยื่อ.หน้า 31-43. *ใน* การประชุมสัมมนาวิชาการอารักขาพืช. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร 3-5 กันยายน 2557. ณ เดอะกรีนเนอรี่ รีสอร์ท นครราชสีมา.

อรพรรณ เกินอาษา ดวงทิพย์ กันฐา โสภณ อุไรชื่น. 2548. การศึกษาความเป็นไปได้ในการพัฒนาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงแมลงช้างปีกใส *Mallada basalis* (Walker) และ *Plesiochrysa ramburi* Schneider (Neuroptera : Chrysopidae) ในเชิงพาณิชย์". กรุงเทพมหานคร สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

โสภณ อุไรชื่น. 2552. การพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตแมลงช้างปีกใส *Mallada basalis* (Walker) (Neuroptera : Chrysopidae) ในเชิงพาณิชย์. กรุงเทพมหานคร สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

อินทวัฒน์ บุรีค้า. 2548. *นิเวศวิทยาวิเคราะห์ทางกีฏวิทยา*. ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม

Cocuzza G. E., P. De Clercq, M. Van de Veire, A. De Cock, D. Degheele and V. Vacante. 1997. Reproduction of *Orius laevigatus* and *Orius albidipennis* on pollen and *Ephestia kuehniella* eggs. Entomologia Experimentalis et Applicata 82: 101-104 pp.

Maneerat T. 2007. *Potential of Anthocorid Bug, Wollastoniella rotunda Yasunaga & Miyamoto (Hemiptera: Anthocoridae) for Biological Control of Thrips palmi Karny (Thysanoptera: Thripidae).* M.S. Thesis. Entomology. Kasetsart University, Bangkok. 88 pp.

Napompeth, B. 1973. *Ecology and Population Dynamics of the Cron Planthopper, Peregrinus maidis (Ashmead) (Homoptera: Delphacidae), in Hawaii:* Ph.D. Dissertation. Entomology. University of Hawaii. Hawaii. 257 pp.

Tommasini M. G., and G. Nicoli 1993. *Adult activity of four Orius species reared on two preys.* IOBC/WPRS Bull., 16 (2): 181-184.

Yano E.,K. Watanabe and K. Yara. 2002. Life history parameters of *Orius sauteri* (Poppius) (Het., Anthocoridae) reared on *Ephestia kuehniella* eggs and the minimum amount of the diet for rearing individuals. Applied Entomology 389-394 pp.

Table 1 Biological attributes of *Cardiastethus exiguus* Poppiuso when fed on *Corcyra cephalonica* (Stainton) and *Typha angustifolia* laboratory condition (28± 2 °C and 75 ± 2 % RH).

Biological attribute	Prey	
	C. cephaloniga	*Typha angustifolia*
Net reproductive rate of increase (Ro)	11.880	0.790
Cohort generation time (Tc)	37.367	31.000
Capacity for increase (rc)	0.069	-0.235
Finite rate of increase (λ)	1.071	0.992

Table 2 The number of eggs laid predators, *Cardiastethus exiguus* Poppius on substrate

substrate	Number of laid egg	Hatchability (%)
	Mean±S.D.[1/]	
Toilet tissue	109.75+7.27b	91.33±2.02a
Kitchen towel	130.00+8.87a	91.47±1.01a
Reuse paper	22.75+6.13d	84.24±3.46ab
News paper	11.5+4.93e	81.24±5.69c
Facial tissue	35.75+5.56c	84.23±3.40ab
Paper Napkin	29.75+6.13cd	87.24±1.06ab
Straw paper	25.50+5.06d	86.58±2.98b
A4 Paper	21.75+4.19d	84.92±0.69ab

[1/] Means in the same column followed by the different superscript are significantly different (P<0.05) by DMRT.

Table 3 The effect temperature for laid egg and hatchability of *Cardiastethus exiguus* Poppius.

Temperature (°C)	Number of egg/female	Hatchability (%)
	Mean±S.D.[1/]	
10	0	0
15	0	0
20	17.75±5.73b	75.48±12.14b
25	112.75±3.77a	90.34±1.28a
laboratory condition (28± 5 °C)	114.50±6.19a	89.68±0.53a

[1/] Means in the same column followed by the different superscript are significantly different (P<0.05) by DMRT.

การผลิตและการใช้ไรตัวห้ำ *Amblyseius* spp. ควบคุมเพลี้ยไฟ

Mass Production and Utilization of Predatory Mites, *Amblyseius* spp. for Controlling Thrips

อทิติยา แก้วประดิษฐ์ พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ พลอยชมพู กรวิภาสเรือง
อัจฉราภรณ์ ประเสริฐผล วิมลวรรณ โชติวงศ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาชีววิทยาของไรตัวห้ำ *Amblyseius californicus* McGregor (Acari: Phytoseiidae) และ ไรตัวห้ำ *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot. (Arachnida: Mesostigmata: Phytoseiidae) เมื่อเลี้ยงด้วยเพลี้ยไฟฝ้าย พบว่า ไรตัวห้ำเพศเมียเจริญจากไข่เป็นตัวเต็มวัยใช้เวลานานเฉลี่ย 4.20 วัน และ 4.05 วัน ตามลำดับ มีระยะการวางไข่นานประมาณ 16 วัน และ 18 วัน ตามลำดับ วางไข่ได้เฉลี่ย 49.40 และ 52.25 ฟอง ตามลำดับ การทดสอบอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณไรตัวห้ำ *A. californicus* และ *A. swirskii* คือ ไข่ผีเสื้อข้าวสาร มีอัตราการขยายพันธุ์สุทธิ (Ro) เท่ากับ เท่ากับ 3.05 และ 20.95 เท่า ตามลำดับ

รหัสการทดลอง 03-05-59-02-01-00-08-59

คำนำ

เนื่องจากในขณะนี้เพลี้ยไฟ เป็นศัตรูที่สำคัญของพืชเศรษฐกิจหลายชนิด การปนเปื้อนของสารกำจัดศัตรูพืชที่ใช้ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชเป็นอุปสรรคหนึ่งที่ทำให้การผลิตพืชส่งออกมีปัญหา มีการกีดกันทางการค้า นอกจากนั้นมีรายงานการวิวัฒนาการการดื้อยาของศัตรูพืชในบางพื้นที่ที่ใช้สารฆ่าแมลงติดต่อกันเป็นเวลานานเพลี้ยไฟ และแมลงหวี่ขาว มักลงระบาดบนผลผลิตอย่างต่อเนื่อง การเว้นระยะการเก็บเกี่ยวหลังพ่นสารฆ่าแมลงในพืชบางชนิดทำได้ยาก ดังนั้นการแก้ปัญหาอีกทางหนึ่งก็คือ หาทางลดการระบาดของ เพลี้ยไฟ โดยไม่ใช้สารเคมี พยายามอนุรักษ์ศัตรูธรรมชาติของศัตรูพืชดังกล่าวไว้ให้มากที่สุด หรือใช้การควบคุมโดยชีววิธี (biological control) โดยการเพิ่มปริมาณศัตรูธรรมชาติให้มีมากเพิ่มขึ้นในแปลงปลูก ในโครงการวิจัยนี้จึงได้มีแนวคิดที่จะนำเข้าไรตัวห้ำพันธุ์ต่างประเทศที่มีศักยภาพในการควบคุมเพลี้ยไฟมากที่สุดในขณะนี้ เช่น *A. swirskii* Athias-Henriot มาศึกษาวิจัยเพื่อได้ศัตรูธรรมชาติที่สำคัญของเพลี้ยไฟและแมลงหวี่ขาว สามารถแนะนำให้เกษตรกรใช้ได้

ไรตัวห้ำ ในวงศ์ Phytoseiidae เป็นศัตรูธรรมชาติของไรศัตรูพืช รวมทั้งแมลงศัตรูพืชบางชนิด เช่น เพลี้ยไฟ แมลงหวี่ขาว ไรตัวห้ำที่ผลิตเป็นการค้าและใช้อย่างแพร่หลายในประเทศแถบยุโรปและอเมริกาในขณะนี้ มีหลายชนิด เช่น *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot, *Metaseiulus occidentalis* Nesbitt, *A. californicus* (McGregor), *A. cucumeris* (Oudemans) และ *A. swirskii* Athias-Henriot เป็นต้น สำหรับในประเทศไทย กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม กลุ่มกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร ได้ดำเนินการวิจัยและทำการผลิตขยายไรตัวห้ำได้แล้วหลายชนิด ได้แก่ *A. longispinosus P. persimilis*, *A. californicus* ซึ่งได้รับผลสำเร็จในการนำไปใช้ควบคุมไรศัตรูสตรอเบอรี่ (มานิตา และคณะ, 2539: มานิตา และคณะ, 2542: มานิตา และคณะ, 2543) และไม้ดอกไม้ประดับ เช่น กุหลาบ (มานิตา และคณะ, 2552) และได้ถ่ายทอดเทคโนโยลีการใช้ไรตัวห้ำนี้ให้แก่โครงการหลวง และเกษตรกรบางรายแล้ว แต่อุปสรรคอย่างหนึ่งในการใช้ไรตัวห้ำในแปลงปลูกพืช ก็คือต้องปล่อยไรตัวห้ำ ร่วมกับการใช้สารป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ ที่มักระบาดในเวลาเดียวกัน ซึ่งในขณะนี้ยังไม่มีศัตรูธรรมชาติที่สามารถนำไปใช้ปล่อยให้ควบคุมเพลี้ยไฟ

สำหรับไรตัวห้ำที่สามารถควบคุมเพลี้ยไฟได้ ที่ได้ศึกษาเบื้องต้นไปแล้วนั้น ได้แก่ *A. cucumeris* ซึ่งเป็นไรตัวห้ำที่ใช้ควบคุมเพลี้ยไฟได้หลายชนิดและขายเป็นการค้าแล้วในต่างประเทศ (Hirose, 1990) จากการนำเข้าไรตัวห้ำชนิดนี้มาศึกษาในประเทศไทย พบว่าใช้ควบคุมเพลี้ยไฟ *T. palmi* และ *Scirtothrips dorsalis* ได้ในการทดสอบสภาพเรือนทดลอง แต่เมื่อนำไปใช้ในพริกสภาพไร่ พบว่าไรตัวห้ำชนิดนี้ยังมีประสิทธิภาพไม่ดีพอ จึงยังไม่สามารถถ่ายทอดสู่เกษตรกรได้ ดังนั้นในกาวิจัยนี้จึงได้นำเข้าไรตัวห้ำ *A. swirskii* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ต่างประเทศ (http://www.biobest.be/producten/111/3/0/0/) เป็นไรตัวห้ำประจำถิ่นของประเทศแถบเมดิเตอริเนียน ได้แก่ อิสราเอล อียิปต์ กรีซ และตรุกี ซึ่งมีสภาพแวดล้อมใกล้เคียงกับประเทศไทย มีการนำเข้าไรตัวห้ำชนิดนี้ไปยังประเทศทางยุโรป หลายประเทศ ไรตัวห้ำ *A. swirskii* มีประสิทธิภาพสูงสามารถใช้ควบคุมได้ทั้งเพลี้ย

ไฟและแมลงหวี่ขาว (http://www.allaboutswirskii.com) ซึ่งส่วนใหญ่แมลงทั้ง 2 ชนิดที่มีการระบาดรุนแรงในประเทศไทย มักไม่ใช่แมลงพันธุ์พื้นเมืองของไทย แต่เป็นแมลงรุกรานต่างถิ่น (invasive pest species) ดังนั้นจึงควรที่มีการศึกษาศัตรูธรรมชาติที่เป็นพันธุ์ต่างถิ่นด้วยกัน โดยหัวหน้าการทดลองเป็นผู้รับผิดชอบในการนำมาทดสอบประสิทธิภาพเบื้องต้นในห้องปฏิบัติการที่มิดชิด และปฏิบัติตามเงื่อนไขของการนำเข้าซึ่งสิ่งต้องห้ามของกองควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ก่อนที่จะมีการทดลองปล่อยไรตัวห้ำทั้งให้ควบคุมไรศัตรูพืชในสภาพไร่

เพื่อแก้ไขปัญหาดังกล่าวข้างต้น และเพื่อส่งเสริมการลดการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยใช้วิธีป้องกันกำจัดแบบชีววิธี หรือแบบผสมผสาน การวิจัยนี้จึงประกอบไปด้วย การศึกษาชีวประวัติและประสิทธิภาพในการกินเหยื่อของไรตัวห้ำ *A. swirskii* ในห้องปฏิบัติการ เมื่อได้ผลว่าสามารถใช้ไรตัวห้ำนี้ควบคุมเพลี้ยไฟ ชนิดใดได้บ้าง จึงมีการวิจัยหาเทคโนโลยีการผลิตและการใช้ไรตัวห้ำ *A. swirskii* ควบคุมเพลี้ยไฟในแปลงปลูกพืชต่อไป นอกจากนั้นยังมีการศึกษาวิจัยเพื่อหาเทคโนโลยีการใช้ไรตัวห้ำ *A. longispinosus* ควบคุมไรแมงมุมศัตรูพืช ร่วมกับการใช้ไรตัวห้ำ *A. swirskii* ควบคุมเพลี้ยไฟ ในแปลงปลูกพืช เพื่อลดการใช้สารฆ่าแมลง-ไร เป็นการลดพิษตกค้างของสารกำจัดศัตรูพืชในผลผลิตและลดมลพิษในสภาพแวดล้อม

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ไรตัวห้ำ *A. californicus* และ ไรตัวห้ำ *A. swirskii*
2. ไข่ผีเสื้อข้าวสาร *Corcyra cephalonica* (Stainton)
3. กล้องจุลทรรศน์เตอริโอ
4. เกสรดอกธูปฤาษี
5. ห้องปฏิบัติการควบคุมอุณหภูมิ (27-28 องศาเซลเซียส)

วิธีการ

การเตรียมพ่อแม่พันธุ์ไรตัวห้ำ *A. californicus* และ ไรตัวห้ำ *A. swirskii*

การเพาะเลี้ยงไรตัวห้ำ *A. californicus*

เพาะเลี้ยงพ่อ-แม่พันธุ์ไรแดงหม่อนเพื่อเป็นอาหารให้กับไรตัวห้ำ *A. californicus*โดยทำการเก็บไรแดงหม่อนจากต้นถั่วฝักยาวหรือมันสำปะหลัง นำมาเลี้ยงบนใบหม่อนที่ อายุประมาณ 2-3 สัปดาห์ ในห้องปรับอากาศที่มีอุณหภูมิประมาณ 27-28 องศาเซลเซียส เขี่ยไรแดงหม่อนเพศเมียและเพศผู้ ประมาณ 20-30 คู่ วางบนใบหม่อนด้านใต้ใบ จากนั้นวางใบหม่อนหงายใบบนสำลีซึ่งอยู่ในถาดพลาสติก หล่อน้ำให้ท่วมสำลีเพื่อให้ใบหม่อนสดอยู่ได้เป็นเวลานาน และไรแดงหม่อนที่อาศัยอยู่บนใบไม่สามารถเดินหนีออกจากใบได้ นำถาดวางบนชั้นที่ใช้หลอดฟลูออเรสเซนส์ให้แสงนาน 9 ชั่วโมงต่อวัน ปล่อยทิ้งให้ไรแดงหม่อนเจริญพันธุ์ขยายประชากรจนใบหม่อนเริ่มเหี่ยว ทำการขยายไรแดงหม่อน

ต่อไป โดยตัดใบหม่อนที่เหี่ยวแล้วเป็นชิ้นเล็ก ๆ นำไปวางบนใบใหม่ ซึ่งใบเก่า 1 ใบ สามารถขยายต่อไปยังใบใหม่ได้ 3-4 ใบ

ทำการเพาะเลี้ยงไรตัวห้ำ *A. californicus* เลี้ยงในห้องปรับอากาศเช่นเดียวกับการเลี้ยงไรแดงหม่อน โดยเขี่ยไรตัวห้ำเพศเมียและเพศผู้ลงบนใบหม่อนที่มีพ่อ-แม่พันธุ์ไรแดงหม่อนอยู่ ประมาณ 10-20 คู่ เพื่อให้ไรตัวห้ำกินไรแดงหม่อนขยายพันธุ์เพิ่มมากขึ้น นำถาดเลี้ยงวางบนชั้นที่ใช้หลอดฟลูออเรสเซนส์ให้แสงนาน 9 ชั่วโมงต่อวัน ไรตัวห้ำจะสามารถเพิ่มปริมาณไรตัวห้ำได้เพียงพอต่อการทดลอง

การเพาะเลี้ยงไรตัวห้ำ *A. swirskii*

ทำการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณเลี้ยงไรตัวห้ำ *A. swirskii* ใน เพลดแก้วขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7 เซนติเมตร สูง 1.5 เซนติเมตร ใส่กระดาษกรองขนาด 1x1 เซนติเมตรเพื่อเป็นที่หลบและวางไข่ของไรตัวห้ำ และให้ไข่ผีเสื้อข้าวสาร *C. cephalonica* 0.1 กรัมเพื่อเป็นอาหารทุกสัปดาห์ ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากกลุ่มงานการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ

การเพาะเลี้ยงเพลี้ยไฟ

เพลี้ยไฟเพื่อมาให้เป็นอาหารของไรตัวห้ำทั้ง 2 ชนิด โดยทำการปลูกต้นมะเขือในถุงเพาะชำขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 11 เซนติเมตร สูง 13 เซนติเมตร นำต้นมะเขืออายุ 2 เดือนปลูกในถุงเพาะชำไว้แล้วประมาณ 12-16 ต้น ใส่ในกรงขนาดกว้าง 48 เซนติเมตร ยาว 48 เซนติเมตร สูง 57 เซนติเมตร ทุกด้านปิดด้วยลวดตาข่ายถี่ และรองบริเวณฐานกรงด้วยถาดอะลูมิเนียมขนาดกว้าง 53.5 ยาว 53.5 เซนติเมตร เพื่อสะดวกในการให้น้ำกับมะเขือ จากนั้นเก็บใบมะเขือที่มีเพลี้ยไฟฝ้ายลงทำลายมาวางบนต้นมะเขือที่เตรียมไว้ในแต่ละกรงข้างต้นเพื่อให้เพิ่มปริมาณมาใช้ในการทดลอง

เวลาสถานที่

-เริ่มต้นตุลาคม ปี 2558 สิ้นสุด กันยายน ปี 2563

-ห้องปฏิบัติการและเรือนทดลอง กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

1. การศึกษาคุณลักษณะทางชีววิทยาของไรตัวห้ำ *A. californicus* และ *A. swirskii*

รวบรวมไข่ของไรตัวห้ำ *A. californicus* และ ไรตัวห้ำ *A. swirskii* ชนิดละ 50 ฟอง นำไข่ที่ได้มาแยกเลี้ยงเดี่ยว ๆ บนใบหม่อนที่ตัดเป็นแผ่นวงกลมเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.7 เซนติเมตร วางบนแผ่นสำลีชุ่มน้ำในกล่องพลาสติกขนาด 10x24x2 เซนติเมตร ที่แบ่งเป็นช่องย่อย 14 ช่อง (กล่องใส่พระเครื่อง) ช่องละ 1 ฟอง จากนั้นเมื่อไข่ฟักจึงให้เพลี้ยไฟระยะตัวอ่อนเป็นอาหาร บันทึกระยะเวลาการเจริญเติบโตทุก ๆ 6 ชั่วโมง จนกระทั่งตัวเต็มวัยตาย

การบันทึกข้อมูล

- รูปร่างลักษณะ สี ขนาดของไข่ และตัวเต็มวัย
- ระยะชีพจักร ทุกระยะการเจริญเติบโต และอายุขัยของตัวเต็มวัย

2. การศึกษาอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงไรตัวห้ำ *A. californicus* และ *A. swirskii*

การศึกษาตารางชีวิตของไรตัวห้ำ *A. californicus* และ *A. swirskii* ทำการศึกษาทั้ง biological life table โดยใช้เหยื่อ 3 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยไฟ ไข่ผีเสื้อข้าวสาร *Corcyra cephalonica* (Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae) ละอองเกสรดอกธูปฤาษี *Typha angustifolia*

รวบรวมไข่ของไรตัวห้ำ *A. californicus* และ *A. swirskii* ที่เลี้ยงจากห้องปฏิบัติการ จำนวน 100 ฟองนำไข่ที่ได้มาแยกเลี้ยงเดี่ยว ๆ บนใบหม่อนที่ตัดเป็นแผ่นวงกลมเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.7 เซนติเมตร วางบนแผ่นสำลีชุ่มน้ำในกล่องพลาสติกขนาด 10x24x2 เซนติเมตร ที่แบ่งเป็นช่องย่อย 14 ช่อง (กล่องใส่พระเครื่อง) ช่องละ 1 ฟอง (ภาพที่ 1) จากนั้นเมื่อไข่ฟักจึงให้ไรขาวพริกเป็นอาหาร บันทึกระยะเวลาการเจริญเติบโตทุก ๆ 6 ชั่วโมง จากระยะไข่ ตัวอ่อนวัยต่าง ๆ จนเป็นตัวเต็มวัย เขี่ยไรตัวห้ำตัวผู้ที่เลี้ยงไว้ใส่ลงไปบนใบให้ผสมพันธุ์กับไรตัวห้ำที่เป็นตัวเต็มวัยตัวเมียทันที บันทึกจำนวนไข่และการตายของตัวเมียที่เกิดขึ้นทุก ๆ 24 ชั่งโมง จนกระทั่งตัวเมียตาย

การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลจำนวนไข่ของไรตัวห้ำทุกๆ วัน จนกระทั่งไรตัวห้ำตายและข้อมูลที่ได้ไปสร้างตารางชีวิตแบบ biological life table ตามวิธีการของ Napompeth (1973) และอินทวัฒน์ (2548)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การศึกษาคุณลักษณะทางชีววิทยาของไรตัวห้ำ *A. californicus* และ *A. swirskii*

ชีววิทยาของไรตัวห้ำ *A. californicus* เมื่อเลี้ยงด้วยเพลี้ยไฟพบว่า ลำตัวมีสีขาวนวล เหลือง ขึ้นอยู่กับอาหารที่ไรตัวห้ำกิน ไข่มีรูปร่างยาวรีสีขาวใส ขนาด 0.15 มิลลิเมตร (Table 1) และเปลี่ยนเป็นสีขาวนวลเมื่อใกล้ฟัก มีระยะการเจริญเติบโต 5 ระยะเหมือนไรตัวห้ำในวงศ์ Phytoseiidae อื่น ๆ คือ ระยะไข่ ตัวอ่อนวัย 1 (larva) ตัวอ่อนวัย 2 (protonymph) ตัวอ่อนวัย 3 (deutonymph) และตัวเต็มวัย ไรตัวห้ำเพศเมียใช้เวลาในการเจริญเติบโตจากไข่จนเป็นตัวเต็มวัยเฉลี่ยนาน 4.20 วัน วางไข่ได้ 3.47 ฟอง/วัน จำนวนไข่ทั้งหมด 49.4 ตัว(Table 2)

ส่วนลักษณะชีววิทยาของไรตัวห้ำ *A. swirskii* มีสีลำตัวคล้ายกับไรตัวห้ำ *A. californicus* ต่างกันตรงที่ขนาดตัวของไรตัวห้ำ *A. swirskii* จะมีขนาดใหญ่กว่าไรตัวห้ำ *A. californicus* ทุกระยะการเจริญเติบโต (Table 1) ระยะตัวอ่อนวัยที่ 1 (larva) ไรตัวห้ำ *A. swirskii* จะมีลักษณะพิเศษคือปลายท้องจะมีเส้นขนยาวยื่นออกมา 2 เส้น ไรตัวห้ำเพศเมียใช้เวลาในการเจริญเติบโตจากไข่จนเป็นตัวเต็มวัยเฉลี่ยนาน 4.05 วัน วางไข่ได้ 3.63 ฟอง/วัน จำนวนไข่ทั้งหมด 25.25 ตัว (Table 2)

2. การศึกษาอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงไรตัวห้ำ *A. californicus* และ *A. swirskii*

จากการศึกษาตารางชีวิตแบบ biological life table ของไรตัวห้ำ *A. californicus* และ *A. swirskii* เมื่อเลี้ยงด้วยอาหาร 3 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยไฟฝ้าย ไข่ผีเสื้อข้าวสาร และละอองละอองเกสรธูปฤาษี นำข้อมูลมาคำนวณค่าคุณลักษณะทางชีววิทยาของไรตัวห้ำทั้งสองชนิด พบว่า ไรตัวห้ำ *A. swirskii* ให้คุณลักษณะทางชีววิทยาทุกค่าสูงกว่าไรตัวห้ำ *A. californicus* ดังนี้ ได้ค่าอัตราการขยายพันธุ์สุทธิ (net reproductive rate, R_o) 28.64 ชั่วอายุขัยของกลุ่ม (cohort generation time, T_C) ความสามารถในการขยายพันธุ์ทางกรรมพันธุ์ (capacity for increase, r_c) และอัตราการเพิ่มแท้จริง (finite rate of increase, λ) เมื่อเลี้ยงด้วยเพลี้ยไฟฝ้าย มีค่าต่างๆ เท่ากับ 28.64 15.35 0.22 และ 1.29 ตามลำดับ ซึ่งมีค่ามากกว่าอาหารอีก 2 ชนิด (Table 3 and 4)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ชีวประวัติของไรตัวห้ำ *A. californicus* และ *A. swirskii* เพศเมีย พบว่ามีวงจรชีวิตสั้น จากไข่เป็นตัวเต็มวัยใช้เวลานานเฉลี่ย 4.20 และ 1.05 วัน ตามลำดับ ระยะการวางไข่นาน 16 และ 18 วัน วางไข่เฉลี่ย 49.40 และ 52.25 ฟอง อาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณไรตัวห้ำ *A. californicus* และ *A. swirskii* คือ ไข่ผีเสื้อข้าวสาร มีอัตราการขยายพันธุ์สูงสุดเท่ากับ 3.05 และ 20.95 เท่า

เอกสารอ้างอิง

อินทวัฒน์ บุรีค้า. 2548. *นิเวศวิทยาวิเคราะห์ทางกีฏวิทยา*. ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม

Anonymous. 2014. Biological control: Beneficial insects and mites: Swirskii-System http://www.biobest.be/producten/111/3/0/0/ สืบค้นเมื่อ 18 มิถุนายน 2557

Hirose, Y. 1990. Prospective use of natural enemies to control *Thrips palmi* (Thysanoptera :Thripidae). *In* The Use of Natural Enemies to Control Agricultural Pests, FFTC Book, Series No. 40 p. 135-141.

Napompeth, B. 1973. *Ecology and Population Dynamics of the Cron Planthopper, Peregrinus maidis (Ashmead) (Homoptera: Delphacidae), in Hawaii:* Ph.D. Dissertation. Entomology. University of Hawaii. Hawaii. 257 pp.

Table 1 Body size of various stages of development of *Amblyseius californicus* McGregor (Acari: Phytoseiidae) and *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot. (Arachnida: Mesostigmata: Phytoseiidae) when fed with *Thrips palmi* Karny larvae eggs under laboratory condition (28 ± 2 oC and 75 ± 2 % RH).

Stage of development	Body measuring of development of			
	A. californicus		*A. swirskii*	
	Mean ±S.D.			
	width	Length	width	Length
Egg	0.15±0.00	0.20±0.01	0.17±0.01	0.22±0.02
Larval	0.15±0.00	0.21±0.01	0.18±0.02	0.23±0.02
Protonymph	0.16±0.01	0.23±0.01	0.18±0.02	0.26±0.01
Deutonymph	0.18±0.0	0.26±0.02	0.20±0.01	0.32±0.02
Adult	0.19±0.01	0.28±0.02	0.22±0.01	0.39±0.03

Table 2 Duration of various developmental stages of *Amblyseius californicus* McGregor (Acari: Phytoseiidae) and *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot. (Arachnida: Mesostigmata: Phytoseiidae) when fed with *Thrips palmi* Karny larvae under laboratory condition (28 ± 2 o C and 75 ± 2 % RH).

Stage of development	Mean + S.D.	
	A. californicus	*A. swirskii*
Egg (day)	1.47±0.08	1.50±0.28
Larval (day)	0.83±0.10	0.67±0.04
Protonymph (day)	0.90±0.09	0.88±0.72
Deutonymph (day)	1.00±0.13	1.00±0.13
Egg - Adult (day)	4.20±0.40	4.05±1.17
Adult : Female (day)	16.15±2.10	18.19±3.34
Male (day)	6.65±2.08	8.95±1.85
Daily Fecundity	3.47±1.25	3.63±0.65
Total Facundity	49.40±5.66	52.25±5.25

Table 3. Biological attributes of *Amblyseius californicus* McGregor (Acari: Phytoseiidae) และ when fed on preys under laboratory condition (28 ± 2 o C and 75 ± 2 % RH).

Biological attribute	Prey		
	Thrips palmi	*Typha angustifolia*	*C. cephaloniga*
Net reproductive rate of increase (Ro)	7.67	2.76	3.05
Cohort generation time (Tc)	15.21	13.28	13.42
Capacity for increase (rc)	0.13	0.07	0.08
Finite rate of increase (λ)	1.14	1.07	1.08

Table 4. Biological attributes of *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot. (Arachnida: Mesostigmata: Phytoseiidae) when fed on preys under laboratory condition (28 ± 2 o C and 75 ± 2 % RH).

Biological attribute	Prey		
	Thrips palmi	*Typha angustifolia*	*C. cephaloniga*
Net reproductive rate of increase (Ro)	28.64	16.24	20.95
Cohort generation time (Tc)	15.38	14.69	16.76
Capacity for increase (rc)	0.22	0.19	0.18
Finite rate of increase (λ)	1.29	1.15	1.19

การผลิตขยายและใช้หอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae ควบคุมหอยทากศัตรูพืชโดยชีววิธี
Mass Cultures and the Using of Predatory Snail, Streptaxidae for Biological Snail Pest Control

ดาราพร รินทะรักษ์ อภินันท์ เอี่ยมสุวรรณสุข ณัฐฐิญา กาญจนนิธิพัฒน์
ปราสาททอง พรหมเกิด ทรงทัพ แก้วตา
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

สำรวจและเก็บตัวอย่างหอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae ในพื้นที่เขาหินปูนและพื้นที่เกษตรกรรมตามภาคต่างๆของประเทศไทย นำมาจำแนกชนิดตามระบบอนุกรมวิธาน ตามเอกสารของ Abbott (1989), Hemmen and Hemmen (2001), Naggs (1989) , Panha (1996) และ Vaught (1989) พบว่ามีหอยทากที่เป็นหอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae จำนวน 6 genus 7 species คือ หอยนักล่าสีส้ม; *Gulella bicolor* (Hutton, 1843), หอยนักล่าสยาม; *Perrottetia siamensis* (Pfeiffer,1862), *Haploptychius petitii* (Gould, 1844), *Odontartemon costulatus* (Moellendorff, 1883), *Haploptychius* sp., *Oophana* sp. และ *Discartemon* sp. นอกจากนี้พบทากกินเนื้อวงศ์ Rathouisiidae จำนวน 1 species ได้แก่ *Atopos sarasini* (Collinge,1902) ศึกษา feeding behavior ของหอยทากตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae จำนวน 6 genus ในห้องปฏิบัติการเพื่อคัดเลือกชนิดที่มีศักยภาพมากที่สุด พบว่าหอยตัวห้ำทุกชนิดมีศักยภาพในการกินหอยและไข่หอยที่มีขนาดใกล้เคียงหรือขนาดใหญ่กว่าเล็กน้อย เฉลี่ยสัปดาห์ละ 2-3 ตัว พบพฤติกรรมการไล่ตามเหยื่อที่มีขนาดเล็กหรืออ่อนแอกว่า โดยพบว่าหอยนักล่าสยาม; *P. siamensis* (Pfeiffer,1862) มีศักยภาพมากที่สุด สามารถกินหอยดักดานขนาดเล็กได้ 1-1.5 ตัว/ วัน ใช้เวลาในการกินเหยื่อเฉลี่ย 3 - 5 นาที/ ตัว จึงศึกษาชนิดของอาหารที่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์และเจริญเติบโตของหอยตัวห้ำ ตามแผนการทดลอง CRD ให้อาหารที่แตกต่างกัน 5 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ และแต่ละซ้ำใส่หอยตัวห้ำตัวเต็มวัยที่มีขนาด 8-9 มิลลิเมตร จำนวน 5 ตัว /ซ้ำ ผลการทดลองพบว่ากรรมวิธีที่ให้อาหารเป็นหอยดักดาน จำนวน 20 ตัว ร่วมกับอาหารสูตร B จำนวน 10 กรัม ทำให้นักล่าสยาม; *P. siamensis* สามารถขยายพันธุ์และวางไข่ได้ดีที่สุด อย่างไรก็ตามยังต้องศึกษาชนิดของอาหารที่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์ และเจริญเติบโตของหอยตัวห้ำร่วมกับการศึกษาปัจจัยอื่นๆเพื่อให้ได้วิธีการที่เหมาะสมยิ่งขึ้น เพื่อเพิ่มปริมาณการผลิตซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการนำมาใช้ขยายผลควบคุมหอยทากศัตรูพืชโดยชีววิธี ต่อไป

คำหลัก : การเพาะเลี้ยงหอยทาก หอยตัวห้ำ Streptaxidae การควบคุมหอยทากโดยชีววิธี

รหัสการทดลอง 03-05-59-02-01-00-09-59

คำนำ

สถานการณ์ปัจจุบัน ยังพบการระบาดของหอยศัตรูพืชในแหล่งผลิตพืชเศรษฐกิจที่สำคัญหลายชนิด อาทิเช่น กล้วยไม้ และไม้ดอกไม้ประดับชนิดต่างๆ เป็นจำนวนมาก อันนำมาสู่ปัญหาในการส่งออกกล้วยไม้ แม้จะมีการนำเอาวิธีการต่างๆมาใช้ควบคุมแต่ก็ไม่สามารถกำจัดหอยเหล่านี้ให้หมดไปโดยสิ้นเชิง การใช้สารเคมีเป็นจำนวนมากในการกำจัดและป้องกันศัตรูพืชเศรษฐกิจ ตลอดจนใช้ช่วยในการเก็บรักษาผลผลิตทางเกษตรกรรม ทำให้ผลเสียที่ตามมา คือการเกิดมลภาวะและพิษตกค้างจากสารเคมีเหล่านี้ การวิจัยและพัฒนาวิธีทางชีวภาพ จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการพัฒนาเทคโนโลยีการควบคุมจัดการหอยทากศัตรูพืชเพื่อลดหรือทดแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์ แนวความคิดในการใช้หอยตัวห้ำมาควบคุมหอยทากศัตรูพืชนั้น เนื่องมาจากพฤติกรรมของหอยตัวห้ำที่มักออกหากินในช่วงเวลากลางคืนและแหล่งอาศัยที่มีลักษณะเหมือนกับหอยทากบกศัตรูพืชหลายชนิด อีกทั้งการใช้หอยตัวห้ำมาควบคุมหอยทากในประเทศไทยยังไม่เคยมีการศึกษามาก่อน

ในปี 2554 – 2556 ผู้วิจัยจึงได้เริ่มสำรวจหอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae ที่มีในประเทศไทย นำมาจำแนกชนิดและศึกษาพฤติกรรมการกินหอยศัตรูพืชชนิดต่างๆ เพื่อคัดเลือกหอยตัวห้ำชนิดที่มีศักยภาพสำหรับการพัฒนามาใช้ควบคุมหอยศัตรูพืชโดยชีววิธี ซึ่งได้สำรวจพบหอยทากที่เป็นหอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae จำนวน 5 genus 6 species ได้แก่ หอยนักล่าสีส้ม, *Gulella bicolor* (Hutton, 1843), หอยนักล่าสยาม, *Perrottetia siamensis* (Pfeiffer,1862), *Haploptychius petitii* (Gould, 1844), *Haploptychius* spp., *Oophana* spp. และ *Discartemon* spp. เมื่อศึกษา feeding behavior ของหอยทากตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae ทั้ง 5 genus ในห้องปฏิบัติการ พบว่าหอยตัวห้ำทุกชนิดมีศักยภาพในการกินหอยและไข่หอยที่มีขนาดใกล้เคียงหรือขนาดใหญ่กว่าเล็กน้อย เช่น หอยชัคซิเนีย หอยเลขหนึ่งและหอยดักดาน โดยเฉลี่ยสัปดาห์ละ 2-3 ตัว และพบพฤติกรรมการไล่ตามเหยื่อโดยเฉพาะอย่างยิ่งเหยื่อที่มีขนาดเล็กหรืออ่อนแอกว่า จากการสังเกตพบว่ามีหอย 2 ชนิดที่น่าจะมีศักยภาพสูงในการควบคุมหอยศัตรูพืช ได้แก่ หอยนักล่าสยาม, *P. siamensis* และ *Oophana* spp. โดยพบว่าหอยนักล่าสยาม; *P. siamensis* (Pfeiffer,1862) มีศักยภาพมากที่สุด สามารถกินหอยดักดานขนาดเล็กได้ 1-1.5 ตัว/ วัน ใช้เวลาในการกินเหยื่อเฉลี่ย 3 - 5 นาที/ ตัว

จากผลการศึกษาข้างต้นในห้องปฏิบัติการ พบว่าหอยตัวห้ำในวงศ์ Streptaxidae หลายชนิดมีศักยภาพในการกินหอยศัตรูพืช หอยตัวห้ำดังกล่าวจึงเป็นสิ่งมีชีวิตอีกชนิดหนึ่งที่น่าสนใจในการนำมาใช้เพื่อควบคุมหอยศัตรูพืชโดยชีววิธี แต่ขั้นตอนศึกษาวิจัยและการพัฒนานำไปใช้ประโยชน์ยังไม่สมบูรณ์ ดังนั้นการคัดเลือกชนิดเพิ่มเติมรวมไปถึงการศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงหอยตัวห้ำชนิดที่มีศักยภาพสูง จึงมีความจำเป็นในแง่ของการเป็นข้อมูลพื้นฐานอันนำไปสู่การพัฒนาผลิต ขยายให้ได้ปริมาณมากและมีคุณภาพเพื่อนำไปใช้ในการจัดการหอยทากศัตรูพืชร่วมกับวิธีการต่างๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพซึ่งจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในทางเกษตรกรรม

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างหอย ได้แก่ กล่องพลาสติกขนาดต่างๆ สเปรย์ฉีดน้ำ ถุงมือแพทย์ คีมคีบ พู่กัน ไฟฉาย กระดาษทิชชูอเนกประสงค์

- อุปกรณ์สำหรับเพาะเลี้ยงหอย ได้แก่ ตู้กระจกขนาด 25x40x26 เซนติเมตร อ่างซีเมนต์/ ตู้กระจก/ ดิน และวัสดุสำหรับให้หอยวางไข่ ได้แก่ กาบมะพร้าว ขุยมะพร้าว และอิฐแผ่น

- อาหารสำหรับหอยทดลอง เช่น อาหารปลา ผักสดชนิดต่างๆ เช่น ผักกาดขาว แตงกวาฯลฯ

- เครื่องมือและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น เวอร์เนียร์ thermo-hygrometer, forceps และเครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ และความชื้นในดิน

- อุปกรณ์ประกอบการถ่ายภาพ ได้แก่ กล้องถ่ายภาพดิจิตอล และกล้องจุลทรรศน์

- เอกสารประกอบการศึกษาชีววิทยาและการจำแนกชนิดหอยทาก

- หอยตัวห้ำ สำหรับเป็นแม่พันธุ์

- หอยศัตรูพืช (ใช้หอยดักดาน) สำหรับเลี้ยงหอยตัวห้ำ และอาหารเสริมชนิดต่างๆ เช่น รำละเอียด และผงแคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) เป็นต้น

- เครื่องวัดพิกัดภูมิศาสตร์ (GPS) สำหรับระบุพิกัด ที่เก็บตัวอย่างหอยทากตัวห้ำ

วิธีการ

ขั้นตอนที่1 ทดสอบความชอบกินหอยทากศัตรูพืชของหอยตัวห้ำในห้องปฏิบัติการ

- เก็บรวบรวมหอยทากศัตรูพืช 5 ชนิด (ต้องเป็นชนิดที่พบในสวนกล้วยไม้หรือแหล่งเกษตรกรรม)ได้แก่ หอยดักดาน หอยซัคซิเนีย หอยเจดีย์เล็ก หอยเจดีย์ใหญ่ และหอยเลขหนึ่ง จากพื้นที่เกษตรกรรมต่างๆ มาพัก/ เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

- ทำการทดสอบในกล่องพลาสติก โดยหอยทากศัตรูพืช 5 ชนิดๆ ละ 10 ตัว ใส่หอยตัวห้ำ (ใช้หอยนักล่าสยาม, *Perrottetia siamensis*) ตัวเต็มวัยกล่องละ 1 ตัว ตรวจนับจำนวนหอยทากศัตรูพืชที่ถูกกินแต่ละชนิด และเพิ่มเข้าไปใหม่ให้ได้จำนวนชนิดละ 10 ตัว เลือกชนิดที่ชอบกิน ไปเพาะเลี้ยงเป็นเหยื่อต่อไป

- เพาะเลี้ยงหอยทากศัตรูพืชชนิดที่หอยตัวห้ำชอบกิน ในตู้กระจกขนาด 25x40x26 เซนติเมตร รองพื้นตู้กระจก ด้วยดินผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ให้สูงจากพื้นตู้กระจกประมาณ 5 เซนติเมตร ให้อาหารเป็นอาหารปลาชนิดเม็ด และผักกาดขาว ให้ความชื้นโดยฉีดพ่นน้ำ วันละ 1 ครั้ง ในช่วงเช้าเวลา 8.00-9.00 น.

- คัดเลือกหอยทากศัตรูพืช ที่มีขนาดความกว้างของเปลือกประมาณ 0.5 เซนติเมตร (อายุประมาณ 7 วัน) สำหรับใช้เป็นอาหารหอยตัวห้ำ ในขั้นตอนต่อไป

บันทึกผลการทดลอง ดังนี้

- บันทึกจำนวนหอยศัตรูพืชชนิดต่างๆที่หอยตัวห้ำกินแต่ละวัน

ขั้นตอนที่2 การศึกษาการเพาะเลี้ยงหอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae

เก็บรวบรวมหอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae ชนิดที่มีศักยภาพดี (ใช้หอยนักล่าสยาม, *P. siamensis*) สำหรับเป็นแม่พันธุ์ โดยเก็บรวบรวมจากพื้นที่เกษตรกรรมภาคต่างๆ นำตัวอย่างที่ได้มาวิเคราะห์ชื่อในห้องปฏิบัติการตามระบบอนุกรมวิธานของหอย เปรียบเทียบกับเอกสารหอยทากบกทั้งในและต่างประเทศ ตามเอกสารของ Abbott (1989), และ Hemmen and Hemmen (2002) , Panha (1996) และ Vaught (1989)

ดำเนินการเพาะเลี้ยงหอยตัวห้ำ ซึ่งประกอบด้วย 2 หัวข้อ ดังนี้

2.1 ศึกษาชนิดของอาหารที่เหมาะสม ต่อการเจริญเติบโตของหอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae

2.1.1 การทดลองนี้ใช้หอยนักล่าสยาม, *P. siamensis* ซึ่งมีศักยภาพดีและได้คัดเลือกชนิดมาแล้วในปี 2554-2556 ดำเนินการนำโดยหอยตัวห้ำมาเลี้ยงในอ่างซีเมนต์ เส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เมตร ในโรงเรือนที่มีอากาศถ่ายเทสะดวก ที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส รองพื้นอ่างด้วยดินผสมขุยมะพร้าว (อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เพื่อฆ่าปรสิตบางชนิด) อัตราส่วน 1:1 ให้สูงจากพื้นอ่างซีเมนต์ ประมาณ 10 เซนติเมตร และวางวัสดุสำหรับให้หอยวางไข่ ได้แก่ กาบมะพร้าวและอิฐแผ่น ให้ความชื้นโดยฉีดพ่นน้ำวันละ 1ครั้ง ในช่วง 8.00-9.00 น. วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยให้อาหารที่แตกต่างกัน 5 กรรมวิธี กรรมวิธีละ10 ซ้ำ และแต่ละซ้ำใส่หอยตัวห้ำที่มีขนาด 8-9 มิลลิเมตร ซึ่งเป็นขนาดตัวเต็มวัย จำนวน 1 ตัว /ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 หอยศัตรูพืช (ขนาดเปลือก 0.5 เซนติเมตร) จำนวน 10 ตัว

กรรมวิธีที่ 2 อาหารสูตร A จำนวน 10 กรัม

กรรมวิธีที่ 3 อาหารสูตร B จำนวน 10 กรัม

กรรมวิธีที่ 4 หอยศัตรูพืช จำนวน 10 ตัว + อาหารสูตร A จำนวน 10 กรัม

กรรมวิธีที่ 5 หอยศัตรูพืชจำนวน 10 ตัว + อาหารสูตร B จำนวน 10 กรัม

อาหารสูตร A ประกอบด้วย อาหารปลา: รำละเอียด: ผงแคลเซียมคาร์บอเนต (อัตราส่วน 2:1:1)

อาหารสูตร B ประกอบด้วย อาหารปลา: แป้งข้าวโพด: ผงแคลเซียมคาร์บอเนต (อัตราส่วน 2:1:1)

2.1.2 บันทึกผลการทดลอง ดังนี้

- วัดการเจริญเติบโต โดยชั่งน้ำหนักและวัดขนาดเปลือกหอยตัวห้ำ สัปดาห์ละ 1 ครั้ง
- บันทึกจำนวนหอยศัตรูพืชและปริมาณอาหารกรรมวิธีต่างๆที่หอยตัวห้ำกินแต่ละวัน

2.2ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการฟักไข่และอัตราการรอดของตัวอ่อนหอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae

2.2.1 นำไข่หอยตัวห้ำ *P. siamensis* มาแยกใส่กล่องพลาสติก ขนาด 15.5x22x7 เซนติเมตร รองพื้นกล่องพลาสติกด้วยดินผสมขุยมะพร้าว (อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เพื่อฆ่าปรสิตบางชนิด) อัตราส่วน 1:1 ให้หนา 2 เซนติเมตร โดยอาหารที่ใช้ทดลองในช่วงการ

ฟักไข่และเพาะเลี้ยงตัวอ่อนหอยตัวห้ำทุกกรรมวิธี ให้เป็นอาหารสูตรผสมซึ่งประกอบด้วย อาหารปลา: แป้งข้าวโพด: รำละเอียด: ผงแคลเซียมคาร์บอเนต (อัตราส่วน 1:1:1:1) ที่ดัดแปลงจากสูตรของ ธนพันธ์ (2528) ปริมาณ 2-3 กรัม/ สัปดาห์ โดยเก็บเศษอาหารเก่าทิ้งทุกครั้งที่เปลี่ยนอาหารใหม่แต่ละครั้ง ให้ความชื้นโดยฉีดพ่นน้ำวันละ 1 ครั้ง ในช่วง 8.00 - 9.00 น.

ดำเนินการทดลอง 2 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 10 ซ้ำ แต่ละซ้ำใส่ไข่หอยตัวห้ำจำนวน 1 กลุ่มไข่ (cluster) / กล่อง โดยกำหนดอุณหภูมิที่แตกต่างกัน เป็นกรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ฟักไข่ในสภาพโรงเรือน

กรรมวิธีที่ 2 ฟักไข่ในสภาพห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส)

2.2.2 บันทึกผลการทดลอง ดังนี้

- บันทึกอุณหภูมิในสภาพโรงเรือน ของกรรมวิธีที่ 1 ตลอดการทดลอง
- บันทึกจำนวนไข่แต่ละ cluster เพื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์การฟักของไข่หอยตัวห้ำแต่ละกรรมวิธี
- บันทึกจำนวนตัวอ่อนของหอยตัวห้ำที่ฟักจากไข่ เพื่อคำนวณอัตราการรอดในแต่ละกรรมวิธี
- วัดการเจริญเติบโต โดยชั่งน้ำหนักและวัดขนาดเปลือกตัวอ่อนหอยตัวห้ำ สัปดาห์ละ 1 ครั้ง

เพื่อจัดทำแผนภูมิการเจริญเติบโต

2.3 <u>ศึกษาอัตราที่เหมาะสม เพื่อผลิตขยายหอยตัวห้ำให้ได้ปริมาณมาก</u>

2.3.1 ทดสอบหาอัตราของแม่พันธุ์ที่เหมาะสมโดยใส่หอยตัวห้ำตัวเต็มวัย 5, 10, และ 20 ตัว ลงในอ่างซีเมนต์ เส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เมตร ในโรงเรือนที่มีอากาศถ่ายเทสะดวก ที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส รองพื้นอ่างด้วยดิน : ขุยมะพร้าว (อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เพื่อฆ่าปรสิตบางชนิด) อัตราส่วน 1:1 ให้สูงจากพื้นอ่างซีเมนต์ ประมาณ 10 เซนติเมตร และวางวัสดุสำหรับให้หอยวางไข่ ได้แก่ กาบมะพร้าวและอิฐแผ่น ให้ความชื้นโดยฉีดพ่นน้ำวันละ 1ครั้ง และให้อาหารชนิดที่เหมาะสม (จากขั้นตอน 2.1) ทิ้งไว้ 1 เดือน จากนั้นนำตัวเต็มวัยออก ตรวจนับจำนวนไข่ และตัวอ่อนที่พบ ทุก 1 สัปดาห์

2.3.2 การบันทึกข้อมูล

- จำนวนไข่ และตัวอ่อนของหอยตัวห้ำ
- อัตราการฟัก และอัตราการรอดของตัวอ่อนหอยตัวห้ำ
- บันทึกขนาด อายุ และลักษณะของหอยที่เริ่มจับคู่ผสมพันธุ์
- บันทึกลักษณะ และจำนวนของไข่หอย/กลุ่ม ขนาดของไข่ และขนาดของกลุ่มไข่
- บันทึกระยะเวลา ตั้งแต่หอยเริ่มวางไข่จนตัวอ่อนหอยฟักออกจากไข่ ขนาดของลูกหอยที่เพิ่งฟัก และพฤติกรรมการกินของลูกหอยที่เพิ่งฟักจากไข่จนถึงระยะตัวเต็มวัย

- บันทึกอุณหภูมิ pH ดิน ความชื้นดิน ความชื้นสัมพัทธ์บริเวณเลี้ยงหอย เป็นช่วงๆ ตลอดการทดลอง

2.4 ศึกษาอัตราการปล่อยหอยตัวห้ำในสภาพแปลงทดลอง โดยปฏิบัติดังนี้

2.4.1 ดำเนินการทดลองในสวนกล้วยไม้ และกำหนดขนาดแปลงย่อยโดยกั้นตาข่ายขนาดพื้นที่ 1 ตารางเมตร ตามบริเวณพื้นดินและทางเดินในสวนกล้วยไม้ นับจำนวนหอยศัตรูพืชที่ใช้เป็นเหยื่อ 30 ตัว/ plot วางแผนการทดลองแบบ RCB 5 กรรมวิธีๆละ 4 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ปล่อยหอยตัวห้ำตัวเต็มวัย จำนวน 1 ตัว

กรรมวิธีที่ 2 ปล่อยหอยตัวห้ำตัวเต็มวัย จำนวน 2 ตัว

กรรมวิธีที่ 3 ปล่อยหอยตัวห้ำตัวเต็มวัย จำนวน 3 ตัว

กรรมวิธีที่ 4 วางเหยื่อ (ปลายข้าวแช่สารสกัดกากชา) อัตรา 1 กิโลกรัม/ น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 ควบคุม

ประเมิน และตรวจนับจำนวนหอยศัตรูพืชที่ถูกกินหลังการปล่อยหอยตัวห้ำ ทุกๆ 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 5 วัน

2.4.2 ดำเนินการทดลองในสวนกล้วยไม้ โดยเริ่มสุ่มนับประชากรหอยศัตรูพืชที่จะทดลอง บริเวณพื้นดินซึ่งเป็นแหล่งอาศัยของหอย โดยใช้ตารางสุ่มขนาด 0.5 ตารางเมตร จำนวน 20 จุด/ไร่ ถ้าพบหอยเฉลี่ยมากกว่า 10 ตัว/ตารางเมตร ตามมาตรฐาน GAP การควบคุมหอยกล้วยไม้ จึงจะกำหนดเป็นแปลงทดลอง โดยกั้นแปลงย่อย ขนาดพื้นที่ 0.5 x 5 เมตร จำนวน 5 จุด/ ไร่ แล้วจึงปล่อยหอยตัวห้ำตามอัตราที่คุ้มค่า และมีประสิทธิภาพมากที่สุด (จากข้อ 2.4.1) ประเมิน และตรวจนับจำนวนหอยศัตรูพืชที่หลังการปล่อยหอยตัวห้ำ ทุกๆ 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 1 เดือน และสุ่มนับประชากรหอยตัวห้ำและหอยศัตรูพืชที่เป็นเหยื่อ ทุกเดือนๆละ 1 ครั้งตลอดทั้งปี โดยเปรียบเทียบกับแปลงควบคุม

2.4.3 การบันทึกข้อมูล

- บันทึกจำนวนหอยศัตรูพืชที่มีชีวิตในแปลงทดลอง 5 วัน
- จำนวนประชากรหอยตัวห้ำและหอยศัตรูพืชในสวนกล้วยไม้แต่ละเดือน
- ความชื้นและความเป็นกรด- ด่างของดิน
- หาต้นทุนที่ใช้ควบคุมหอยทั้งแปลงทดลองและแปลงของเกษตรกร
- ข้อมูลความพึงพอใจของเกษตรกร
- 1 ครั้ง เพื่อจัดทำแผนภูมิการเจริญเติบโต

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาเริ่มต้น ตุลาคม 2558 สิ้นสุด กันยายน 2562 รวม 4 ปี

สถานที่ : พื้นที่เกษตรกรรมและป่าธรรมชาติ ตามภาคต่างๆ ของประเทศไทย

: ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสำรวจและการจำแนกชนิดของหอยทากตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae

ผลการสำรวจ/ เก็บตัวอย่างหอยทากตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae ในปี 2554-2556 และบันทึกพิกัดภูมิศาสตร์พื้นที่ๆเก็บตัวอย่างตามแผนการสำรวจ เพื่อนำข้อมูลไปจัดทำแผนที่การกระจายพันธุ์ของหอยทากตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae ที่มีในประเทศไทย โดยนำข้อมูลที่ได้เก็บรวบรวมมาแล้วบางส่วนเตรียมจัดทำแผนที่การกระจายพันธุ์ของหอยทากตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae โดยใช้โปรแกรม Arc Gis และ ArcView ได้สำรวจในพื้นที่ภาคต่างๆ และจำแนกชนิดตามระบบอนุกรมวิธานของหอย ตามเอกสารของ Abbott (1989), Hemmen and Hemmen (2001), Naggs (1989), Panha (1996) และ Vaught (1989) ดังนี้

ภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน ลำปาง ตาก และนครสวรรค์ ได้ตัวอย่างหอยทาก 84 ตัวอย่าง นำมาจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ สามารถจำแนกได้เป็น 9 ชนิด ดังนี้ *Cryptozona* sp., *Sarika* sp., *Parmarion* sp., *Hemiplecta* sp., *Pyramidulus* sp. *Durgella* sp., *Cryptaustenia* sp., *Haploptychius* sp. และ *Cyclophorus* sp. โดยจัดเป็นหอยทากชนิดที่เป็นศัตรูพืช 3 ชนิด คือ *Cryptozona* sp., *Sarika* sp. และ *Parmarion* sp. และเป็นหอยทากตัวห้ำที่อยู่ในวงศ์ Streptaxidae จำนวน 1 ชนิด คือ *Haploptychius* sp. (Figure 1) ซึ่งพบในเขตอุทยานแห่งชาติดอยฟ้าห่มปก จังหวัดเชียงใหม่

ภาคกลางและภาคตะวันตก ได้แก่ จังหวัดนครนายก สมุทรสาคร สมุทรสงคราม นครปฐม ตาก กาญจนบุรี และราชบุรี ได้หอยทาก 120 ตัวอย่าง นำมาจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ สามารถจำแนกได้เป็น 16 ชนิด ดังนี้ *Cryptozona* sp., *Sarika* sp., *Parmarion* sp., *Hemiplecta* sp., *Cyclophorus* sp., *Megaustenia* sp., *Durgella* sp., *Cryptaustenia* sp., *Haploptychius petitii* (Gould, 1844), *Gulella bicolor* (Hutton, 1834) ,*Oophana* sp., *Lamellaxis gracilis, Prosopeas walkeri, Succinea sp., Ovachlamys fulgens* และ *Amphidromus glaucolarynx* โดยจัดเป็นหอยทากชนิดที่เป็นศัตรูพืช 7 ชนิด คือ *Cryptozona* sp., *Sarika* sp., *Lamellaxis gracilis, Prosopeas walkeri, Succinea sp., Ovachlamys fulgens* และ *Parmarion* sp. และพบว่ามีหอยทากที่เป็นหอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae 2 species คือ *Haploptychius petitii* (Gould, 1844) (Figure 2) และ *Gulella bicolor* (Hutton, 1834) (Figure 3 และ Figure 4) และอีก 1 genus คือ *Oophana* sp. (Figure 5)

ภาคตะวันออกและตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดชลบุรี ตราด จันทบุรี ปราจีนบุรี ฉะเชิงเทรา และนครราชสีมา ได้หอยทาก 138 ตัวอย่าง นำมาจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ สามารถจำแนกได้เป็น 16 ชนิด ดังนี้ *Cryptozona* sp., *Sarika* sp., *Macrochlamys* sp., *Parmarion* sp., *Hemiplecta* sp., *Cyclophorus* sp., *Leptopoma* sp., *Durgella* sp., *Bradybeana* sp., *Gulella bicolor* (Hutton, 1834), *Perrottetia siamensis* (Pfeiffer,1862) *Prosopeas walkeri, Succinea sp., Ovachlamys fulgens, Amphidromus schomburgki* และ *Amphidromus atricallosus*

โดยจัดเป็นหอยทากชนิดที่เป็นศัตรูพืช 6 ชนิด คือ *Cryptozona* sp., *Sarika* sp., *Prosopeas walkeri, Succinea sp., Ovachlamys fulgens* และ *Parmarion* sp. พบหอยตัวห้ำที่อยู่ในวงศ์ Streptaxidae 2 species คือหอยนักล่าสยาม; *Perrottetia siamensis* (Pfeiffer,1862) (Figure 6 และ Figure 7) และหอยนักล่าสีส้ม; *Gulella bicolor* (Hutton, 1834)

ภาคใต้ ได้แก่ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร พังงา สงขลา และสุราษฎร์ธานี ได้หอยทาก 184 ตัวอย่าง พบหอยทากตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae 1 genus คือ *Discartemon* sp. (Figure 8)

ปี 2559 สำรวจได้ตัวอย่างหอยตัวห้ำเพิ่มเติม 2 สกุล พบว่าเป็นหอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae คือ *Odontartemon costulatus* (Moellendorff, 1883) และพบทากกินเนื้อวงศ์ Rathouisiidae จำนวน 1 สกุล 1 species ได้แก่ *Atopos sarasini* (Collinge ,1902) โดยพบว่าทากกินเนื้อดังกล่าว มีศักยภาพในการกินหอยดักดานศัตรูพืชได้ดี คือสามารถกินหอยดักดานขนาดเล็กได้ 4 ตัว / วัน

2. การศึกษาการเพาะเลี้ยงหอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae

ได้เตรียมศึกษาชนิดของอาหารที่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์และเจริญเติบโตของหอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae ตามแผนการทดลอง โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD โดยให้อาหารที่แตกต่างกัน 5 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ และแต่ละซ้ำใส่หอยตัวห้ำที่มีขนาด 8-9 มิลลิเมตร ซึ่งเป็นขนาดตัวเต็มวัย จำนวน 5 ตัว /ซ้ำ ผลการทดลองพบว่ากรรมวิธีที่ 5 ให้อาหารเป็นหอยดักดาน จำนวน 20 ตัว ร่วมกับอาหารสูตร B จำนวน 10 กรัม ทำให้นักล่าสยาม, *P. siamensis* สามารถขยายพันธุ์และวางไข่ได้ดีที่สุด (Table 2) อย่างไรก็ตาม ในปีต่อไปยังต้องศึกษาชนิดของอาหารที่เหมาะสม ต่อการขยายพันธุ์ และเจริญเติบโตของหอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae ร่วมกับการศึกษาปัจจัยอื่นๆเพื่อให้ได้วิธีการที่เหมาะสมยิ่งขึ้น โดยรูปแบบการพัฒนาการเพาะเลี้ยงหอยตัวห้ำจำเป็นต้องสังเกตการเจริญเติบโตของหอยร่วมกับวิธีการเพาะเลี้ยงหอยชนิดอื่นๆแบบดั้งเดิม ซึ่งในการเพาะเลี้ยงให้ได้จำนวนมากขึ้นจึงมีการเปลี่ยนแปลงธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมเพื่อเพิ่มปริมาณการผลิตซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการนำมาใช้ขยายผลควบคุมหอยทากศัตรูพืชโดยชีววิธี ต่อไป

ข้อสังเกต :

- pH ของดินในพื้นที่ๆเก็บตัวอย่าง อยู่ในช่วง 7.0 - 7.4 โดยส่วนใหญ่พบตัวอย่างหอยตัวห้ำในสภาพที่เป็นภูเขาหินปูน และความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ 60% ขึ้นไป

- จากการสำรวจ พบว่าจังหวัดที่มีความหลากชนิดของหอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae มากที่สุดคือ จังหวัดกาญจนบุรี โดยสำรวจพบ 3 genus ได้แก่ *Haploptychius petitii* (Gould, 1844), *Gulella bicolor* (Hutton, 1834) และ *Oophana* sp. และจังหวัดที่สามารถเก็บตัวอย่างหอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae ได้มากที่สุดคือ จังหวัดนครราชสีมา (Table1)

พฤติกรรมการกิน (feeding behavior)

ศึกษา feeding behavior ของหอยทากตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae จำนวน 5 genus ได้แก่ *G. bicolor* (Hutton, 1843), *P. siamensis* (Pfeiffer,1862), *H. petitii* (Gould, 1844), *Oophana* sp. และ *Discartemon* sp. ในห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานวิจัยสัตววิทยาการเกษตร เพื่อคัดเลือกชนิดที่มีศักยภาพมากที่สุดในห้องปฏิบัติการ พบว่าหอยตัวห้ำทุกชนิดมีศักยภาพในการกินหอยและไข่หอยที่มีขนาดใกล้เคียงหรือขนาดใหญ่กว่าเล็กน้อย เช่น หอยซัคซิเนีย และหอยดักดาน (Figure 9) โดยเฉลี่ยสัปดาห์ละ 2-3 ตัว นอกจากนี้ยังพบพฤติกรรมการไล่ตามเหยื่อ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเหยื่อที่มีขนาดเล็กหรืออ่อนแอกว่า โดยพบว่าหอยนักล่าสยาม; *P. siamensis* (Pfeiffer, 1862) มีศักยภาพมากที่สุด กล่าวคือสามารถกินหอยดักดานขนาดเล็ก (น้ำหนักเฉลี่ย 0.07 กรัม ขนาด 6.15 มิลลิเมตร) 1-1.5 ตัว/วัน และใช้เวลาในการกินเหยื่อเฉลี่ย 3 - 5 นาที/ ตัว

ผลกระทบของหอยตัวห้ำต่อสิ่งแวดล้อม โดยทำการทดลองในกล่องพลาสติก ขนาด 15.5x22x7 เซนติเมตร ใส่หอยตัวห้ำ 5 genus และให้อาหารเป็นหนอนกระทู้หอม และหนอนกระทู้ผัก สังเกตการณ์ทดลองเป็นเวลา 1 สัปดาห์ พบว่าหอยตัวห้ำไม่ชอบกินเหยื่อทั้ง 2 ชนิด จึงสรุปว่าหอยตัวห้ำที่สำรวจพบทั้ง 5 genus ไม่มีผลกระทบต่อหนอนกระทู้หอมและหนอนกระทู้ผัก

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจชนิดหอยตัวห้ำในพื้นที่เขาหินปูนและพื้นที่เกษตรกรรมอื่นตามภาคต่างๆของประเทศไทย ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2556 พบว่ามีหอยทากที่เป็นหอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae จำนวน 5 genus 6 species คือ หอยนักล่าสีส้ม; *Gulella bicolor* (Hutton, 1843), หอยนักล่าสยาม; *Perrottetia siamensis* (Pfeiffer,1862), *Haploptychius petitii* (Gould, 1844), *Haploptychius* sp., *Oophana* sp. และ *Discartemon* sp. (Table 3) ผลการศึกษา feeding behavior ของหอยทากตัวห้ำทั้ง 5 genus ในห้องปฏิบัติการ พบว่าหอยตัวห้ำทุกชนิดมีพฤติกรรมการไล่ตามเหยื่อ และมีศักยภาพในการกินหอยและไข่หอยที่มีขนาดใกล้เคียงหรือขนาดใหญ่กว่าเล็กน้อย เฉลี่ยสัปดาห์ละ 2-3 โดยเฉพาะอย่างยิ่งหอยนักล่าสยาม; *P. siamensis* (Pfeiffer,1862) มีศักยภาพมากที่สุด สามารถกินหอยดักดานขนาด 6.15 มิลลิเมตร (น้ำหนักเฉลี่ย 0.07 กรัม) ได้ 1-1.5 ตัว/ วัน ซึ่งการทราบข้อมูลพื้นฐาน เช่น วงจรชีวิต ชีววิทยา นิเวศวิทยา และพฤติกรรมการกินหอยหรือลักษณะการล่าของหอยทากตัวห้ำ จะเป็นประโยชน์ในการคัดเลือกหอยทากตัวห้ำชนิดที่มีศักยภาพเพื่อพัฒนามาใช้ควบคุมหอยศัตรูพืชโดยชีววิธี และช่วยลดปริมาณการใช้สารเคมีเกินความจำเป็น เพื่อประโยชน์ทางด้านเกษตรกรรมอย่างยั่งยืนต่อไป

<u>คำแนะนำ</u> ช่วงฤดูแล้งหอยจะมีการพักตัวและหลบซ่อนอยู่ตามบริเวณใต้เปลือกไม้หรือใต้ผิวดิน ทำให้เก็บตัวอย่างหอยตัวห้ำที่ยังมีชีวิตได้ค่อนข้างน้อย จึงเป็นข้อจำกัดในการนำตัวอย่างหอยตัวห้ำแต่ละชนิดมาศึกษาชีววิทยา และเนื่องจากการสำรวจหอยตัวห้ำในประเทศไทย มีผู้ศึกษาค่อนข้างน้อย จึงควรมีการสำรวจชนิดที่มีในประเทศไทยเพิ่มเติมเพื่อได้ข้อมูลที่สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ดร. จีรศักดิ์ สุจริต อาจารย์คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้คำแนะนำและยืนยันชนิดหอยตัวห้ำที่สำรวจพบ ขอขอบคุณ ผศ. พงษ์รัตน์ ดำรงโรจน์วัฒนา อาจารย์คณะวิทยาศาสตร์หมาวิทยาลัยบูรพา ที่ให้ความอนุเคราะห์เอกสารในการจำแนกชนิดหอยทาก และท้ายที่สุด ขอขอบคุณนางสาวณัฐกานต์ ถาแก้ว นักวิทยาศาสตร์ และนางทัศวรรณ พุ่มกาหลง นักวิชาการเกษตร ที่ช่วยปฏิบัติงานภาคสนามและบันทึกข้อมูลที่จำเป็นตลอดการทดลอง จึงขอขอบคุณไว้ ณ ที่นี้

เอกสารอ้างอิง

ดาราพร รินทะรักษ์ อภินันท์ เอี่ยมสุวรรณสุข ณัฐฐิญา กาญจนนิธิพัฒน์ ปราสาททอง พรหมเกิด และทรงทัพ แก้วตา.2558. ศึกษาการเพาะเลี้ยงหอยตัวห้ำวงศ์ Streptaxidae เพื่อกำจัดหอยศัตรูพืชโดยชีววิธี. *ใน* รายงานผลการค้นคว้าวิจัยประจำปี 2558. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. หน้า 809-827.

ชมพูนุท จรรยาเพศ ปราสาททอง พรหมเกิด ดาราพร รินทะรักษ์ สมเกียรติ กล้าแข็ง และ ปิยาณี หนูกาศ. 2553. ความหลากชนิดของหอยทากและทากในแหล่งสงวนชีวมณฑลสะแกราช. *ใน* รายงานผลการค้นคว้าวิจัยประจำปี 2553. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. หน้า 2112-2125.

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

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

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

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

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

Naggs, F. 1989. *Gulella bicolor* (Hutton) and its implication for the taxonomy of Streptaxidae. Journal of Conchology.33: 165-168.

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

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

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

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

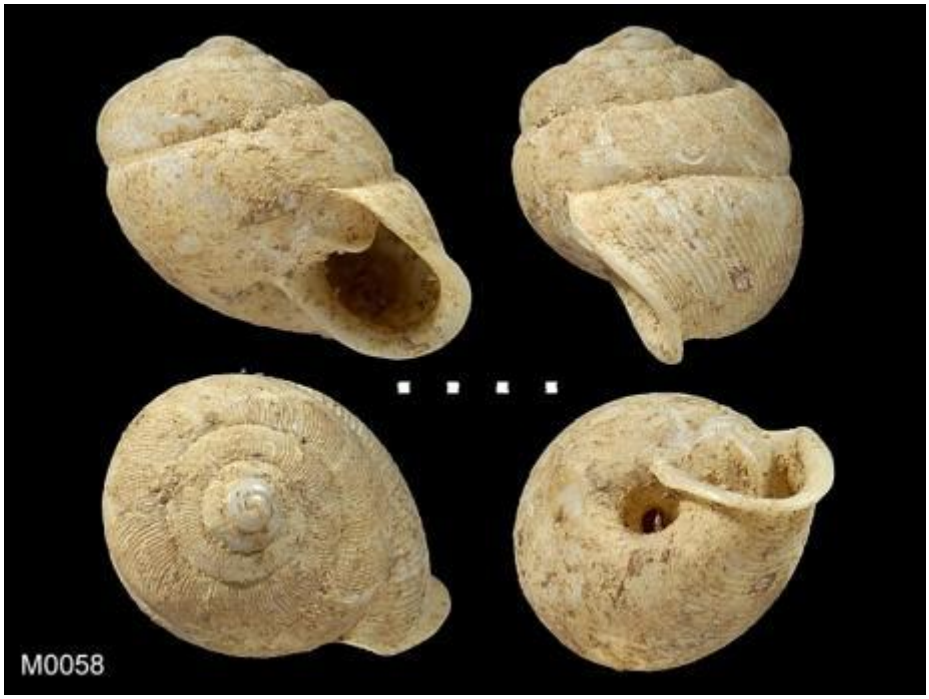
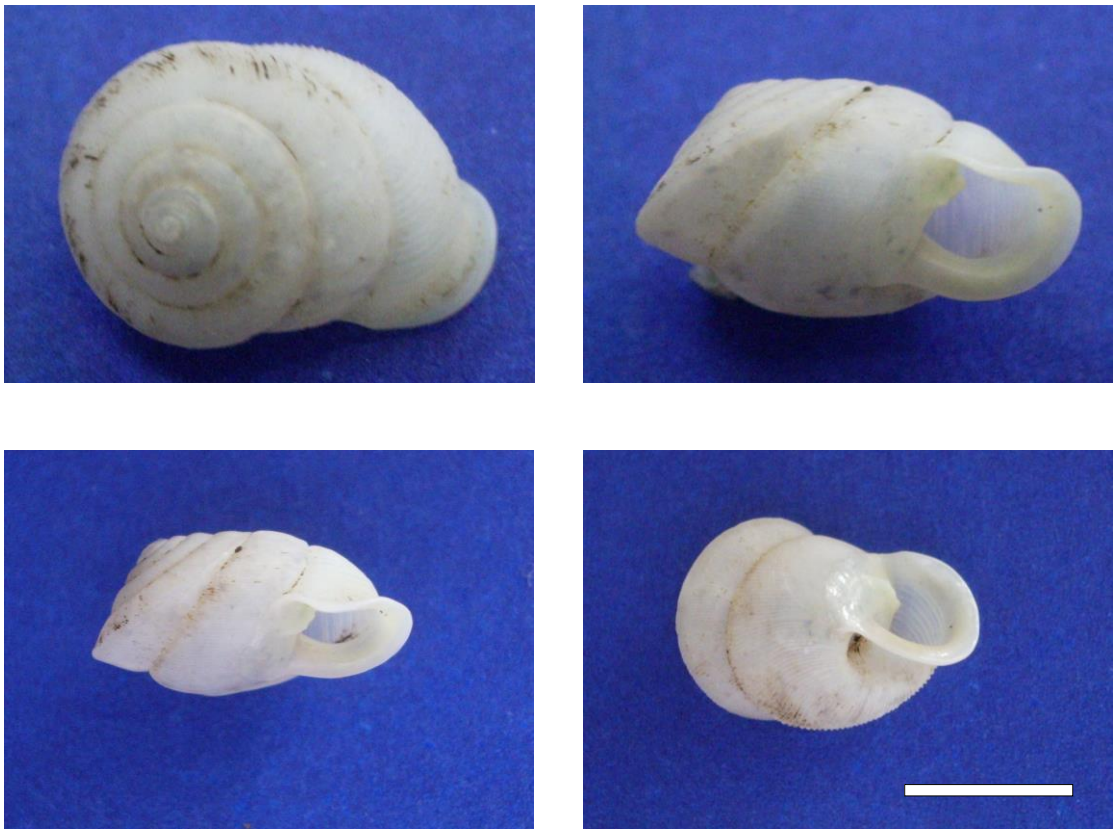


Figure 1 : Shell morphology of *Haploptychius* sp.
(Pictures by http://malaypeninsularsnail.lifedesks.org/



Bar Scale = 1 C.M.

Figure 2 : Shell morphology of *Haploptychius petitii* (Gould, 1844)

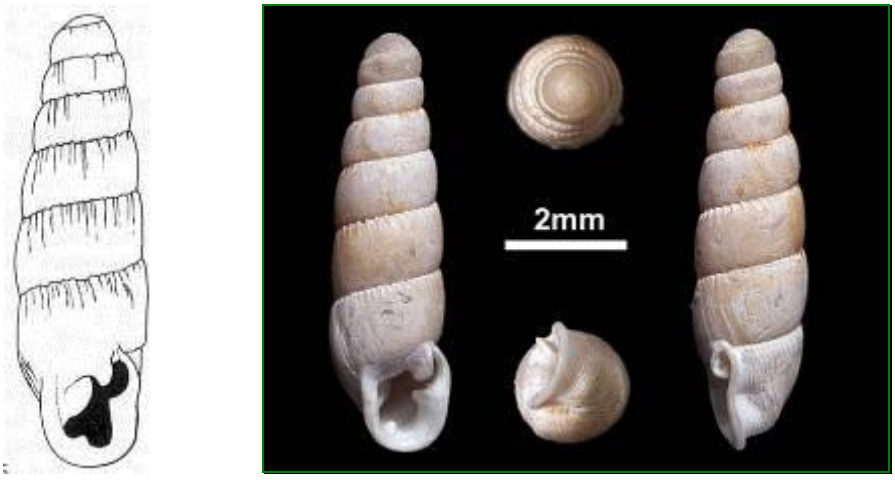
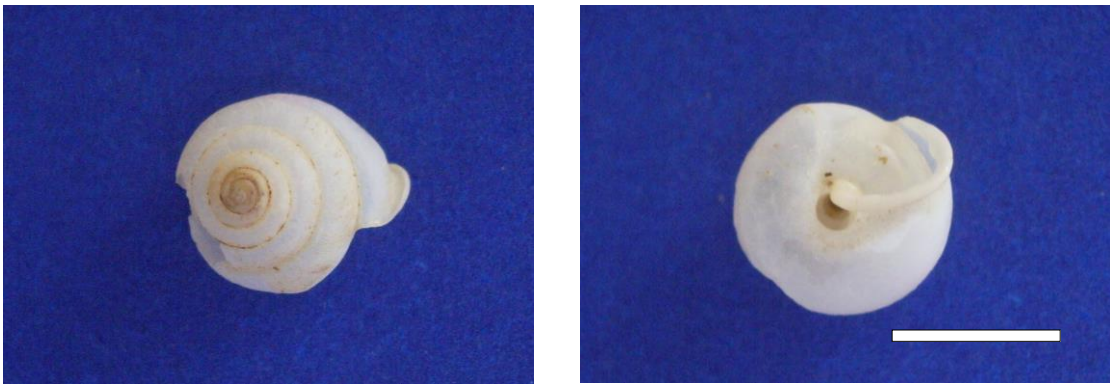


Figure 3 : Shell morphology of *G. bicolor* (Hutton,1834)

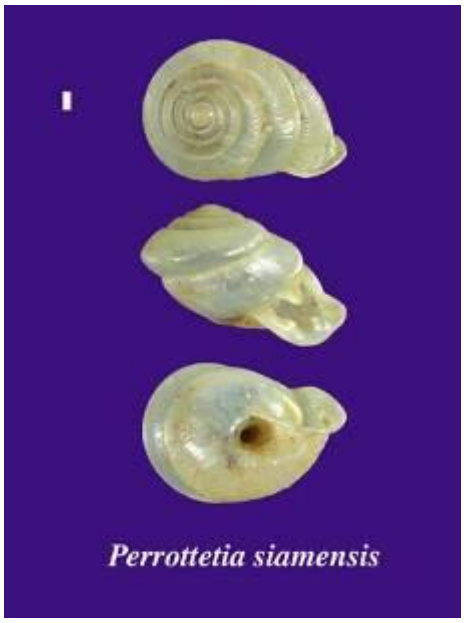
(Pictures by http://www.nhm.ac.uk)

Figure 4 : Living specimen of the two-toned snail; *Gulella bicolor* (Hutton,1834)



Bar Scale = 1 C.M.

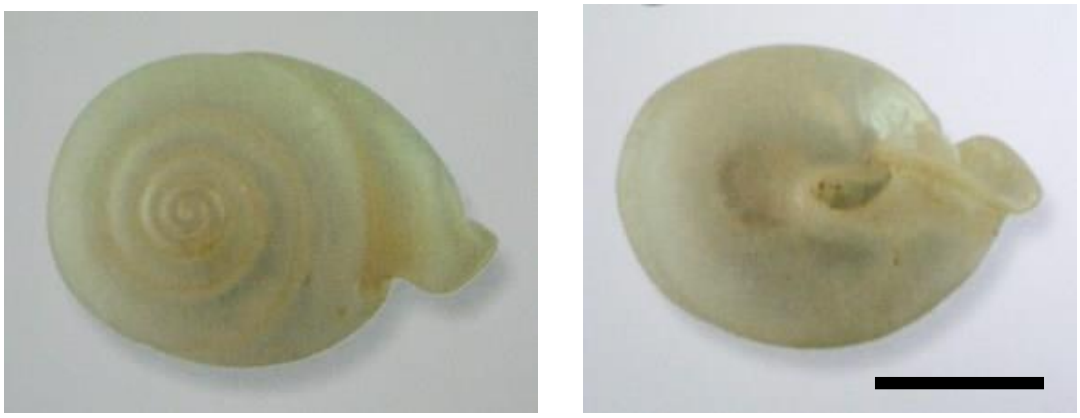
Figure 5 : Shell morphology of *Oophana* sp.



Bar Scale = 1 C.M.

Figure 6 : Shell morphology of *Perrottetia siamensis* (Pfeiffer,1862)

Figure 7 : Living specimens of *Perrottetia siamensis* (Pfeiffer,1862)



Bar Scale = 5 M.M.

Figure 8 : Shell morphology of *Discartemon* sp.

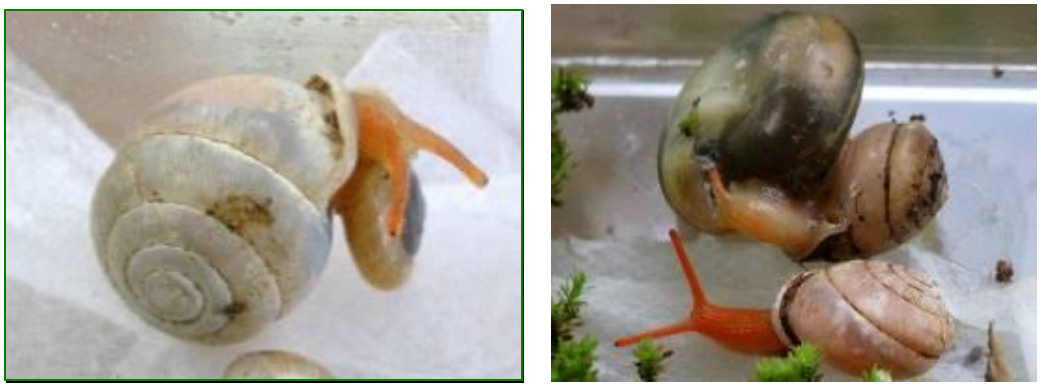


Figure 9 : The predatory snail*; Perrottetia siamensis* (Pfeiffer,1862) feeding on *Cryptozona* sp.

Table 1 : Sample collection sites and sample sizes of predatory snail : Family Steptaxidae

		Abbreviation	Sample size
Gulella bicolor	Kanchanaburi	GbKBW	32
	Chonburi	GbCBE	8
	Samuthsakorn	GbSSaC	10
	Nakhonpathom	GbNPC	3
Perrottetia	Nakornratchasima	PsNRNE	42
	Nakhonnayok	PsNNC	18
Haploptychius	Kanchanaburi	HpKBW	6
Oophana sp.	Kanchanaburi	O-KBW	2
Haploptychius sp.	Chiangmai	H-CMN	3
Discartemon sp.	Phangnga	D-PGS	5
	Songkhla	D-SKS	5
	Chumporn	D-CPS	37
	Suratthani	D-SRS	23

Abbreviations: Gb, *Gulella bicolor* ; Ps, *Perrottetia siamensis* ; Hp, *Haploptychius petitii* ; O -, *Oophana* sp. ; H-, *Haploptychius sp.*; D-, *Discartemon* sp.
N = north, NE= northeast, C = Central region, W= west, S = South

Table 2: Density of snails and egg batches, clutch size and characteristics of egg-batch dispersion in 5 treatments of *P. Siamensis* (Pfeiffer,1862)

Treatment	No. of adult per m^2	No. of egg per m^2	Clutch size	Distance to nearest neighbour batch	Proportion of egg deposited within a nearest neighbour distance of	
	x±SE	x±SE	x±SE	x (N)	≤5cm	≤ 10 cm
1	5.1 ±0.8	12.0±0.1	22.6±0.9	11. (6)	0.29	0.45
2	2.6±1.1	6.5±0.4	16.0±0.3	10. (3)	0.39	0.58
3	4.8±1.3	3.8±0.2	9.2±0.5	14. (7)	0.21	0.43
4	1.3±1.2	5.2±0.5	19.2±0.5	11. (6)	0.2	0.15
5	5.5± 1.6	14.3±0.2	20.3±0.5	14. (7)	0.2	-

Table 3 : Lists of predatory land snails, **Family** Streptaxidae which were collected from Thailand including habitat and status. (2010-2013)

Taxonomic Classification	Habitat	Status
Class Gastropoda (gastropods, slugs, and snails)		
Subclass Pulmonata		
Order Stylommatophora		
Superfamily : Streptaxoidae		
Family Streptaxidae		
☆ **Genus** ***Gulella (Huttonella)***		
Species *Gulella bicolor* (Hutton,1834)	Ground	Introduced
☆ **Genus** ***Perrottetia***		
Species *Perrottetia siamensis* (Pfeiffer,1862)	Ground	Indigenous
☆ **Genus** ***Haploptychius***		
Species *Haploptychius petitii* (Gould, 1844)	Ground	Indigenous
Species *Haploptychius sp.*	Ground	Indigenous
☆ **Genus** ***Oophana***		
Species *Oophana* sp.	Ground	Indigenous
☆ **Genus** ***Discartemon***		
Species *Discartemon* sp.	Ground	Indigenous

ศึกษาและพัฒนาวิธีการเก็บรักษา สารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ของ *Sarcocystis singaporensis* โดยใช้ Potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$) เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาสำหรับผลิตเป็นเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู

Study and Development of Storage Method for Sporocysts Suspension of *Sarcocystis singaporensis* by Using Potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$) to Stretch Shelf Life for Producing of Bio-rodenticide Bait.

วิชาญ วรรธนะไกวัล ปราสาททอง พรหมเกิด ดาราพร รินทะรักษ์
ปิยาณี หนูกาฬ ทรงทัพ แก้วตา
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การเก็บรักษาสปอร์โรซีสต์ของปรสิตโปรโตซัว *Sarcocystis singaporensis* ในการศึกษาครั้งนี้ ทำการเปรียบเทียบกรรมวิธีการเก็บรักษาเชื้อที่แตกต่างกัน 3 กรรมวิธี ได้แก่ การล้างด้วยวิธี Sheather's sucrose flotation/ Saturate NaCl solution และน้ำประปา เก็บรักษาลงในสารละลาย 2% potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$) ที่อุณหภูมิ 4-10°C โดยเปรียบเทียบกับวิธีการล้างแบบปกติด้วยน้ำประปา ทำการทดลองหาศักยภาพความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อกับหนูทดลอง และเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของเชื้อ ทุก 6 เดือน เป็นระยะเวลา 3 ปี พบว่าศักยภาพความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อกับหนูทดลอง ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาเชื้อ 6 เดือน และ 1 ปี นั้น สามารถทำให้หนูทดลองตาย 100% ในทุกกรรมวิธี ในขณะที่เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของเชื้อที่ระยะเวลาการเก็บรักษาเชื้อ 6 เดือน และ 1 ปี นั้น อยู่ที่ 93-95% และ 60-81% ตามลำดับ

คำหลัก : *Sarcocystis singaporensis* ความรุนแรงในการก่อโรค เปอร์เซ็นต์การมีชีวิต Potassium dichromate การเก็บรักษาสปอร์โรซีสต์

รหัสการทดลอง 03-05-59-02-01-00-16-59

คำนำ

หนูเป็นสัตว์ศัตรูพืชที่สร้างความเสียหายให้แก่พืชหลายชนิด เช่น ข้าว ข้าวโพด อ้อย ถั่วเหลือง และปาล์มน้ำมัน เป็นต้น ซึ่งนอกจากการทำลายผลิตผลทางการเกษตรแล้ว หนูยังเป็นแหล่งรังโรคที่สำคัญที่ถ่ายทอดสู่มนุษย์ และสัตว์เลี้ยงอีกด้วย เช่น กาฬโรค ซึ่งมีหมัดที่อาศัยอยู่บนตัวหนูเป็นพาหะ, Leptospirosis หรือโรคฉี่หนูที่มีสาเหตุจากแบคทีเรียกลุ่ม *Leptospira*, โรค Spotted fever มีสาเหตุจาก *Rickettsia* bacteria โดยมีไรที่อาศัยอยู่บนตัวหนูเป็นพาหะ รวมไปถึงโรคที่เกี่ยวกับระบบทางเดินอาหารต่างๆ ที่มีหนูเป็นพาหะนำโรค เป็นต้น (ยุวลักษณ์ และคณะ, 2544)

การป้องกันกำจัดหนูโดยการใช้สารกำจัดหนู (rodenticide) ในปัจจุบันมีการใช้สารเคมีกำจัดหนู 2 ประเภท คือประเภทออกฤทธิ์เร็ว (acute rodenticide) และประเภทออกฤทธิ์ช้า (chronic rodenticide) ซึ่งทั้ง 2 ประเภท สามารถลดจำนวนหนูลงได้อย่างรวดเร็ว ซึ่งการใช้สารกำจัดหนูออกฤทธิ์เร็วบ่อยครั้ง จะทำให้หนูเข็ดขยาดต่อสารพิษนั้น นอกจากนี้เนื่องจากสารเคมีที่ใช้กำจัดหนูเหล่านี้มีอันตรายต่อสิ่งแวดล้อมและมนุษย์ สารเคมีเหล่านี้ไม่ได้มีอันตรายเฉพาะหนูเท่านั้น แต่ยังรวมถึงสัตว์ชนิดอื่นและมนุษย์ที่ได้รับสารกำจัดหนูทั้งทางตรงและทางอ้อม ทำให้ได้รับอันตรายจากสารเคมีกำจัดหนูอาจร้ายแรงถึงขั้นเสียชีวิต ซึ่งส่งผลให้ระบบลูกโซ่อาหารในธรรมชาติ ส่งผลให้ห่วงโซ่อาหารนั้นเสียสมดุลในที่สุด

Sarcocystis singaporensis Zamen & Colley (1976) เป็นปรสิตโปรโตซัวที่มีความ จำเพาะต่อสัตว์อาศัย 2 ชนิด คือ หนูและงูเหลือมพบแพร่ระบาดในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ปรสิตโปรโตซัวชนิดนี้ขยายพันธุ์แบบอาศัยเพศในเซลล์บุผิวลำไส้ของงูเหลือม (*Python reticulatus*) และในระยะสุดท้ายของการเจริญเติบโตมีการสร้างสปอร์โรซีสต์ (sporocysts) ซึ่งจะปะปนออกมาพร้อมมูลงูสู่สิ่งแวดล้อมภายนอก และเข้าสู่สัตว์อาศัยตัวกลางโดยการปนเปื้อนไปกับน้ำและอาหารของสัตว์อาศัยตัวกลางเหล่านั้น ซึ่งก็คือสกุลหนูท้องขาว (*Rattus* spp.) และในสกุลหนูพุก (*Bandicota* spp.) ซึ่งปรสิตโปรโตซัวชนิดนี้ขยายพันธุ์แบบไม่มีเพศในสัตว์อาศัยตัวกลางและในระยะสุดท้ายของการเจริญเติบโตจะมีการสร้างซาร์โคซีสต์ (sarcocysts) ซึ่งภายในมีแบรดิซ้อยต์ (bradyzoites) บรรจุอยู่ซึ่งฝังตามกล้ามเนื้อลำตัวหนู ในระยะนี้เป็นระยะที่พร้อมเข้าสู่สัตว์อาศัยสุดท้าย เมื่อหนูซึ่งเป็นสัตว์อาศัยตัวกลางถูกงูเหลือมกิน ปรสิตโปรโตซัวชนิดนี้ก็จะเริ่มวงจรชีวิตใหม่อีกครั้ง

กรมวิชาการเกษตรและองค์การความช่วยเหลือทางด้านวิชาการของสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมัน (GTZ) และบริษัทไบเออร์ จำกัด ได้ร่วมกันทำการวิจัยด้านต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับปรสิตโปรโตซัวชนิดนี้ ตั้งแต่ปี 2536 – 2545 จนมีการผลิตปรสิตโปรโตซัว *S. singaporensis* ระยะสปอร์โรซีสต์เป็นสารชีวินทรีย์กำจัดหนู (bio-rodenticide) ที่มีการนำไปใช้ในภาคการเกษตรและตามโรงงานบ้านเรือนกันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน

การผลิตขยายปรสิตโปรโตซัว *S. singaporensis* ระยะสปอร์โรซีสต์ ในงูเหลือมติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน ทำให้เชื้อโปรโตซัวที่ได้อ่อนแอลง และการปนเปื้อนจากค็อคซิเดียโปรโตซัวชนิดอื่นส่งผลให้ไม่สามารถทำให้หนูติดเชื้อป่วยตายได้ จึงจำเป็นต้องมีการดักหนูติดเชื้อโปรโตซัวชนิดนี้จาก

ธรรมชาติมาให้งูเหลือมกินเป็นอาหาร เพื่อเพิ่มศักยภาพของสปอร์โรซีสต์ในการทำให้เกิดโรคที่รุนแรงต่อหนู ซึ่งทำให้กระบวนการผลิตสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์และเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนูที่มีศักยภาพสูงขาดความสม่ำเสมอ ไม่ต่อเนื่อง ซึ่งหนูติดเชื้อโปรโตซัวจากธรรมชาติโดยมากมักมีโปรโตซัวชนิดอื่นๆ ปะปนอยู่ ทำให้ประสิทธิภาพความรุนแรงในการก่อโรคกับหนูจึงไม่เท่ากัน ดังนั้นขั้นตอนการคัดแยกเชื้อจากมูลงูและวิธีการเก็บรักษาสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์จึงมีความสำคัญ ทำให้สปอร์โรซีสต์ของเชื้อยังคงมีชีวิตและมีประสิทธิภาพในการทำให้หนูติดเชื้อป่วยและตายได้

ด้วยเหตุนี้เองการศึกษาครั้งนี้จึงต้องทราบเทคนิคและวิธีการเก็บรักษาโปรโตซัว *S. singaporensis* ระยะสปอร์โรซีสต์ให้มีความบริสุทธิ์สูง อีกทั้งยังคงความรุนแรงในการก่อโรคกับหนูทดลองและสามารถมีชีวิตอยู่ได้เป็นระยะเวลานาน เพื่อการผลิตเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนูสำเร็จรูปที่มีประสิทธิภาพสูง ในการกำจัดหนูอย่างสม่ำเสมอเป็นจำนวนมาก และเป็นการสนับสนุนลดการใช้สารเคมีเพื่อการเกษตรที่ยั่งยืนต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- สารเคมี; potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$), sucrose, sodium chloride (NaCl) และสีย้อม nucleic acid (QIAGEN, Live/Dead backlight viability kit)

- สัตว์ทดลอง; หนูท้องขาวและงูเหลือม (มูลงูเหลือม)

- วัสดุและอุปกรณ์; กรงทดลอง, กรงดักหนู, กรงเลี้ยงหนู, ตะแกรงกรอง, เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge), หลอดปั่นขนาด 1.5, 15 และ 50 มิลลิลิตร, ตู้เย็น, petridish, เครื่องชั่งสาร, pipette และกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (light microscope)

วิธีการ

1. การเตรียมสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์

ชั่งมูลงู 5 กรัม ละลายน้ำ 30 มิลลิลิตร นำไปกรองผ่านตะแกรงกรองละเอียด ปั่นสารแขวนลอยมูลงูที่ผ่านการกรองแล้วที่ความเร็วรอบ 3,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนใสทิ้ง ทำการปั่นล้าง ประมาณ 2-3 รอบ จนกว่าสารส่วนใสด้านบนตะกอนจะใส

2. การล้างสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์

กรรมวิธีที่ 1; วิธี Sheather's sucrose flotation (Sheather, 1923)

นำสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ของ *S. singaporensis* ที่ผ่านการปั่นล้างแล้ว ทำการล้างด้วยวิธี Sheather's sucrose flotation (Sheather, 1923) โดยผสมสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ที่ได้ผสมกับ สารละลาย Sheather's sucrose flotation (ชั่ง sucrose 454 กรัมละลายในน้ำ 355 มิลลิลิตร) จากนั้นปั่นสารแขวนลอยที่ความเร็วรอบ 3,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที เก็บส่วนใสด้านบนของสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ที่ได้

กรรมวิธีที่ 2; วิธี Saturate NaCl solution (Bhat and Jithendran, 1995)

นำสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ของ *S. singaporensis* ที่ผ่านการปั่นล้างแล้ว ทำการล้างด้วยวิธี Saturate NaCl solution (Bhat and Jithendran, 1995) โดยผสมสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ที่ได้ผสมกับ สารละลาย Saturate NaCl solution (ชั่ง NaCl 311 กรัมละลายในน้ำ 1 ลิตร) จากนั้นปั่นสารแขวนลอยที่ความเร็วรอบ 3,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที เก็บส่วนใสด้านบนของสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ที่ได้

กรรมวิธีที่ 3 และ 4; วิธีการล้างแบบปกติ

นำสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ของ *S. singaporensis* ที่ผ่านการปั่นล้างแล้ว เก็บส่วนใสด้านบนของสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ที่ได้

3. การเก็บสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์

นับจำนวนสปอร์โรซีสต์ที่ได้ ให้มีจำนวนสปอร์โรซีสต์อยู่ $2x10^6$ ซีสต์ นำส่วนใสของสารแขวนลอยผสมลงในสารละลาย 2% potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$) ในอัตราส่วน 1 ส่วน ของสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ ต่อ 5 ส่วนของ 2% $K_2Cr_2O_7$ (Duszynski, 1997) ลงใน petridish บ่มที่อุณหภูมิห้อง ($23^{\circ}C$ – $27^{\circ}C$) เป็นเวลา 7 วัน เก็บสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ที่อุณหภูมิ 4-$10^{\circ}C$ (ยกเว้นในกรรมวิธีที่ 4 เก็บสารแขวนลอยที่ได้โดยไม่ผสมลงในสารละลาย 2% $K_2Cr_2O_7$)

4. ทดสอบเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของสปอร์โรซีสต์และเปอร์เซ็นต์การตายของหนูทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 4 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 เก็บรักษาสปอร์โรซีสต์ที่ผ่านการล้างด้วยวิธี Sheather's sucrose flotation (Sheather, 1923) ลงในสารละลาย 2% potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$) ที่อุณหภูมิ 4-$10^{\circ}C$

กรรมวิธีที่ 2 เก็บรักษาสปอร์โรซีสต์ที่ผ่านการล้างด้วยวิธี Saturate NaCl solution (Bhat and Jithendran, 1995) ลงในสารละลาย 2% potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$) ที่อุณหภูมิ 4-$10^{\circ}C$

กรรมวิธีที่ 3 เก็บรักษาสปอร์โรซีสต์ที่ผ่านการล้างด้วยน้ำประปา ลงในสารละลาย 2% potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$) ที่อุณหภูมิ 4-$10^{\circ}C$

กรรมวิธีที่ 4 เก็บรักษาสปอร์โรซีสต์ที่ผ่านการล้างด้วยน้ำประปา ที่อุณหภูมิ 4-$10^{\circ}C$

ทำการทดลองโดยใช้สารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ของ *S. singaporensis* ที่มีความรุนแรงในการทำให้เกิดโรคในหนูสูงมาทำการทดลอง โดยเก็บสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ ที่ได้จากการล้างด้วยวิธี Sheather's sucrose flotation/ Saturate NaCl solution/ น้ำประปา ในหลอดทดลองจำนวน 6 หลอดทดลอง/วิธีการล้าง ซึ่งในแต่ละหลอดทดลองมีสปอร์โรซีสต์อยู่ $2x10^6$ ซีสต์ เก็บรักษาลงในสารละลาย 2% potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$) ที่อุณหภูมิ 4-$10^{\circ}C$ โดยเปรียบเทียบกับวิธีการล้างด้วยน้ำประปาทดสอบศักยภาพความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อ ด้วยวิธี bioassay โดยการให้สารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ทางปากกับหนูท้องขาว ซ้ำละ 4 ตัว นับเปอร์เซ็นต์การตายของหนูทดลองในแต่ละกรรมวิธี และตรวจสอบการมีชีวิตของสปอร์โรซีสต์ โดยการใช้สีย้อม nucleic acid (QIAGEN,

Live/Dead backlight viability kit) นับเปอร์เซนต์การมีชีวิตของสปอร์โรซีสต์ในแต่ละกรรมวิธี และสังเกตการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ชนิดอื่นในสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4-10°C ทดสอบทุก 6 เดือน เป็นระยะเวลา 3 ปี วิเคราะห์ข้อมูลในแต่ละกรรมวิธีโดยวิธีทางสถิติที่เหมาะสม และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในกรรมวิธีต่างๆ

การบันทึกข้อมูล

1. เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของ *S. singaporensis* ระยะสปอร์โรซีสต์
2. เปอร์เซ็นต์การตายของหนูทดลอง

เวลาและสถานที่

เก็บรวบรวมข้อมูลระหว่างเดือนตุลาคม 2558 - กันยายน 2559 ภายในกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการทดลองพบว่า การทดลองหาศักยภาพความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อกับหนูทดลองที่ระยะเวลาการเก็บรักษาเชื้อ 6 เดือน และ 1 ปี นั้น สามารถทำให้หนูทดลองตาย 100% ในทุกกรรมวิธี ในขณะที่การทดลองหาเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของเชื้อที่ระยะเวลาการเก็บรักษาเชื้อ 6 เดือน และ 1 ปี นั้น สปอร์โรซีสต์ของเชื้อมีเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตอยู่ที่ 93-95% และ 60-81% ตามลำดับ

การทดลองงานวิจัยนี้ยังไม่สิ้นสุด ยังต้องทำการศึกษาวิจัยต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ เสริมศักดิ์ หงส์นาค T. Jaekel กรแก้ว เสือสะอาด ปราสาททอง พรหมเกิด และ ชูวิทย์ สุขปราการ. 2542. การใช้โปรโตซัว *Sarcocystis singaporensis* ชีวินทรีย์กำจัดหนูชนิดใหม่ เพื่อควบคุมหนูในประเทศไทย. 43 หน้า.

ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ เสริมศักดิ์ หงส์นาค กรแก้ว เสือสะอาด เกรียงศักดิ์ หามะฤทธิ์ ปิยาณี หนูกาฬ และพวงทอง บุญทรง. 2544. หนูและการป้องกันกำจัด. กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. 136หน้า.

Bhat, T.K. and K.P. Jithendran. 1995. Eimeria magna: the effect of varying inoculums size on the course of infection in Angora rabbit. World Rabbit Science. 3163-165.

Beaver, P.C., and J.R. Maleckar. 1981. *Sarcocystis singaporensis* Zaman & Colley (1975) 1976. *Sarcocystis villivillosi* sp.p, and *Sarcocystis zamani* sp.n.: Development, morphology and persistence in the laboratory rat, *Rattus norvegicus*. Journal of Parasitology. 67: 241-256.

Brehm, H. and W. Frank. 1980. Der Entwicklungskreislauf von *Sarcocystis singaporensis* Zaman & Colley 1976, in End- and Zwischenwirt. Zeitschr.fuer Parasittenkunde. 62: 15-30.

Dolnik, O. 2006. The relative stability of chronic *Isospora sylvianthina* (Protozoa: Apicomplexa) infection in blackcaps (*Sylvia atricapilla*): evaluation of a simpleified method of estimating isospoan infection intensity in passerine birds. Parasitology research. 100: 155-160.

Duszynski, O. and P.O. Wilber. 1996. A Guideline for the preparation of species descriptions in the *Eimeriidae*. Journal of parasitology. 83: 333-336.

Duszynski, O. and S.L.Gardner. 1990. Fixing coccidian oocyst is not an adequate solution to the problem of preserving protozoan type material. Journal of parasitology. 77: 52-57.

Fayer, R. and T. Nerad. 1996. Effect of low Temperatures on Viability of *Cryptosporidium Pavum* Oocysts. Apply and Environment Microbiology. 62: 1431-1433.

Haefner, U. and W. Frank. 1984. Host specificity and host range of the genus Sarcocystis in three snake-rodent life cycles. Zb1.Bak.Hyg., Orig. A 256: 296-299.

Jaekel, T., H. Burgstaller and W. Frank. 1996. *Sarcocystis singaporensis*: Studies on host specificity, pathogenicity, and potential use as a biocontrol agent of wild rats. Journal of Parasitology. 82: 280-287.

Sheather, A.L. 1923. The detection of intestinal protozoa and mange parasites by a flotation technique. Journal of Comparative Pathology. 36: 266-275.

การพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์ *Bacillus subtilis* ไอโซเลท 20W16 หรือ 20W33 เพื่อใช้ควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก

Formulation of *Bacillus subtilis* 20W16/20W33 Isolate for Biological Control of *Colletotrichum gloeosporioides* Fungi Causal Agent *of* Chilli Anthracnose Disease

บุษราคัม อุดมศักดิ์ สุรีย์พร บัวอาจ
ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล บูรณี พั่ววงษ์แพทย์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Progress report

Because of the efficacy test of *Bacillus* spp. antagonists for controlling chilli anthracnose disease cause by *Colletotrichum gloeosporioides* (Cg) under field trial during October 2013 – September 2015 in Kanchanaburi province, showed that the bacteria *B. subtilis* 20W33 and 20W16 isolates were high potential for controlling the disease. Maximizing the potential for successfully using in farmer farm need to developing and deploying a bioproduct. Six of liquid solution bioproducts be set, which were cane molasses 20 grams, cane molasses+ sodium benzoate 0.05% W/V, cane molasses +soybean meal 1: 1 ratio + K_2HPO_4 0.5 %W/V ,cane molasses+ soybean meal 1: 1 ratio + sodium benzoate 0.05% W/V , fish fertilizer + soybean meal 1: 1 ratio and fish fertilizer + soybean meal 1: 1 ratio + sodium benzoate 0.05% W/V per litre of water. The liquid bioproducts be maintained at room temperature (28$\pm$ 2 $^{\circ}$C) and in the fridge (5 $\pm$ 2 $^{\circ}$C) condition. The viability cell of bacteria be assessed on potato sucrose agar medium by dilution plate technique every month. After formulation, the results showed that all of bioproducts had 10^8 cfu/ml of viability endospores. After 4 months storage at room temperature and fridge condition, the treatments of the bioproduct with fish fertilizer + soybean meal 1: 1 ratio + sodium benzoate 0.05% W/V and fish fertilizer + soybean meal 1: 1 ratio per litre of water showed the highest viability endospores were 6.2 x 10^8 and 5.7 x 10^8 cfu/ml, respectively.

Keywords : *Bacillus subtilis,* bioproduct, Chilli, *Colletotrichum gloeosporioides*

รหัสการทดลอง 03-05-59-02-02-00-01-59

รายงานความก้าวหน้า

จากการทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus subtilis* (Bs) ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสพริก สาเหตุจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* (Cg) ระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2556 ถึง เดือนกันยายน พ.ศ. 2558 ในสภาพแปลงปลูกที่ จ. กาญจนบุรี พบว่าไอโซเลท 20W16 และ 20W33 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมโรค จึงได้นำเอา Bs ไอโซเลท 20W 16 มาพัฒนาเป็นสารชีวภัณฑ์ให้เหมาะสมต่อการนำไปใช้ในระดับแปลงปลูก โดยทำการผสมปรุงแต่งเป็นชีวภัณฑ์เอ็นโดสปอร์ของแบคทีเรีย *B. subtilis* ไอโซเลท 20 W 16 สูตรเหลว โดยเลี้ยง Bsในอาหาร 6 สูตร ได้แก่ สูตรที่ 1 กากน้ำตาล สูตรที่ 2 กากน้ำตาล + โซเดียมเบนโซเอท 0.05% W/V สูตรที่ 3 กากน้ำตาล +กากถั่วเหลือง สูตรที่ 4 กากน้ำตาล + กากถั่วเหลือง + โซเดียมเบนโซเอท 0.05% W/V สูตรที่ 5 ปลาหมัก (ปุ๋ยปลา) + กากถั่วเหลือง และสูตรที่ 6 ปลาหมัก (ปุ๋ยปลา) + กากถั่วเหลือง + โซเดียมเบนโซเอท 0.05% W/V เก็บไว้ในสภาพอุณหภูมิห้องปฏิบัติการ (28± 2 องศาเซลเซียส) และ ในตู้เย็นธรรมดาที่อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส ทำการตรวจนับปริมาณเอ็นโดสปอร์ในอาหารเหลว 6 สูตร ทุกๆ เดือน ด้วยวิธี dilution plate technique บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PSA ผลการทดลอง พบว่า ผลิตภัณฑ์ทั้ง 6 สูตร มีปริมาณเอ็นโดสปอร์เริ่มต้น 10^8 cfu/ml โดยสูตรที่ 3 มีปริมาณเอ็นโดสปอร์สูงสุด คือ 4.9 x 10^8 cfu/ml เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 4 เดือน พบว่า ผลิตภัณฑ์สูตรที่ 6 คือสูตร ปลาหมัก (ปุ๋ยปลา) + กากถั่วเหลือง + โซเดียมเบนโซเอท 0.05% W/V ที่เก็บไว้ทั้งในอุณหภูมิห้องปฏิบัติการ และในตู้เย็น มีปริมาณเอ็นโดสปอร์สูงที่สุดคือ 6.2 x 10^8 cfu/ml รองลงมาได้แก่สูตรที่ 5 คือสูตร ปลาหมัก (ปุ๋ยปลา) + กากถั่วเหลือง มีปริมาณเอ็นโดสปอร์เท่ากับ 5.7 x 10^8 cfu/ml

คำหลัก : บาซิลลัส ซับทิลิส พริก โรคแอนแทรคโนส เอ็นโดสปอร์

คำนำ

โรคแอนแทรคโนสของพริก นับว่าเป็นโรคที่สำคัญของเกษตรกรผู้ปลูกพริกเป็นอย่างมาก โรคนี้เกิดจากเชื้อรา *Collectotrichum* sp. ที่พบเข้าทำลายพริกก็มีอยู่ 3 ชนิดด้วยกัน *C. gloespoloides* *C. capcisi* และ *C. piperatum* ผลพริกที่ถูกเชื้อราสาเหตุโรคเข้าทำลายจะมีอาการตามชนิดของเชื้อรา โดยปกติในพริกผลใหญ่เชื้อราสาเหตุที่เข้าทำลาย คือ *C. gloespoloides* อาการของโรคมักพบบนผลพริกที่เริ่มสุก หรือระยะก่อนที่ผลพริกจะเปลี่ยนสี อาการเริ่มแรกจะประกฏเป็นวงกลมช้ำสีน้ำตาล เนื่อเยื่อบุ๋มลึกลงไปจากระดับเดิมเล็กน้อย และจะค่อยๆ ขยายกว้างออกไปเป็นวงกลมหรือวงรีรูปไข่ ซึ่งมองเห็นลักษณะของเชื้อราที่เจริญภายใต้เนื้อเยื่อของพืชขยายออกไปในลักษณะที่เป็นวงกลมสีดำซ้อนกันเป็นชั้น เมื่อมีความชื้นจะเห็นเป็นเมือกเยิ้มสีส้มอ่อนๆ บริเวณแผลบนผลพริก ทำให้แผลขยายตัวและผลพริกจะเน่าและร่วงก่อนเก็บเกี่ยว ผลพริกนี้เมื่อนำไปตากแห้งจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองซีด โดยโรคนี้มักระบาดมากในสภาพความชื้นสูง โดยเฉพาะในช่วงที่พริกกำลังให้ผลผลิต และเชื้อราสามารถติดไปกับเมล็ด (ศิริพงษ์ และพรพิมล, 2554) เกษตรกรส่วนใหญ่มักเลือกใช้วิธีการควบคุมโรค

พืชโดยใช้สารเคมี เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย สะดวก และได้ผลรวดเร็ว ซึ่งผลจากการใช้สารเคมีที่ไม่ถูกวิธี หรือใช้มากจนเกินไป ส่งผลเสียตามมาหลายประการ เช่น เกิดการดื้อยาของเชื้อโรค มีสารตกค้างในผลิตผล ตลอดจนเกิดการปนเปื้อนของสารเคมีในสภาพธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม เกิดผลเสียโดยตรงต่อผู้ใช้ได้แก่ตัวเกษตรกรเองและผู้บริโภค นอกจากนี้โดยทางอ้อม ส่งผลถึงการกีดกันทางการค้าเนื่องมาจากภายใต้เงื่อนไขข้อตกลงขององค์การการค้าโลก (WTO) สินค้าทางการเกษตรที่จะส่งไปขายยังประเทศคู่ค้าจะต้องมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ดังนั้น การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี จึงเป็นทางเลือกใหม่ที่มีบทบาทสำคัญต่อการควบคุมโรคพืชทั้งในปัจจุบันและอนาคต เพื่อลดปัญหาจากการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชดังกล่าวที่นับวันจะเพิ่มปริมาณมากขึ้นเรื่อยๆ ที่ผ่านมาได้มีการศึกษาวิจัยทั้งในประเทศและต่างประเทศ ที่จะนำจุลินทรีย์ ซึ่งเรียกว่า “จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonist)” ในธรรมชาติมาควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืช และในปัจจุบันก็เป็นที่ยอมรับว่าเป็นวิธีที่มีโอกาสสูงในการนำไปเป็นกลยุทธ์ป้องกันกำจัดโรคพืช เนื่องจากมีการนำไปใช้อย่างได้ผลดีและสามารถพัฒนาเป็นการค้าได้หลายชนิด

Bacillus เป็นแบคทีเรียที่มีความสำคัญต่อการนำมาใช้ในการป้องกันกำจัดโดยชีววิธี เนื่องจากแบคทีเรียชนิดนี้สามารถพบได้ทั่วๆ ไป ในดินปลูก ปุ๋ยคอก วัสดุปลูก รากพืช และผิวใบ ฯลฯ แบคทีเรียนี้สามารถหลั่งสารประกอบต่างๆ ที่สร้างขึ้นออกสู่ภายนอกเซลล์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ แบคทีเรียนี้เพียงไม่กี่ Species ที่เป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคกับคน ส่วนใหญ่มีความปลอดภัย แบคทีเรียนี้เป็น aerobic bacteria ที่สร้างสปอร์ที่เรียกว่า endospore ที่มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมเพื่อการอยู่รอด 1 spore ใน 1 เซลล์เท่านั้น พบมีตามดินในสภาพในสภาพแวดล้อมต่างๆ แบคทีเรียจำพวกนี้พบได้ทั่วไปในดิน เจริญเติบโตได้โดยใช้สารอาหารจากการย่อยสลาย ของซากพืชและซากอื่นๆ แบคทีเรียจำพวกนี้สร้างและหลั่งเอนไซม์จำพวก carbohydrase และ protease ออกนอกเซลล์ได้หลายชนิด

ณัฏฐิมาและคณะ (2548) ได้ทำการแยกเชื้อ *Bacillus* sp. จากดิน, รากพืชและปุ๋ยคอก ได้จำนวน 525 ไอโซเลทมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* พบว่า มี 4 ไอโซเลท ที่สามารถควบคุมและลดการเกิดโรคเหี่ยวของขิงได้ประมาณ 70-100%

บุษราคัม และ ณัฏฐิมา (2550) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* ซึ่งแยกจากดินปลูก ปุ๋ยคอก และวัสดุปลูกจากแหล่งต่างๆ จำนวน 80 ไอโซเลท เพื่อทดสอบความสามารถในการควบคุมเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริกบนผลพริก พบว่ามี 13 ไอโซเลท ได้แก่ 17G18 20W33 2G7 20W16 20W1 20W8 20W5 1G8 2G23 22W8 19W36 22W10 และ 20W3 ที่สามารถควบคุมการเกิดโรคบนผลพริกได้ โดยไอโซเลท 20W16 22W8 และ 1G8 มีประสิทธิภาพในการยั้บยั้งการเกิดโรคสูงสุด

พากเพียร และคณะ (2544) ได้ทดสอบ เชื้อ *Bacillus Subtilis* ซึ่งได้รับการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สูตรเหลว (TRF สูตร A และ TRF สูตร B) ในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าว (*Rhizoctonia solani* Khun.) ในสภาพแปลงนาทดลอง ใช้ข้าวพันธุ์ กข 23 พบว่า การใช้ TRF สูตร A, TRF สูตร B,

Larminar WP, Agroguard Liq. มีเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค 50.48, 52.53, 54.59 และ 55.18 ตามลำดับ ซึ่งทุกกรรมวิธี จะมีระดับความรุนแรงของโรคต่ำกว่ากรรมวิธี เปรียบเทียบอย่างนัยสำคัญทางสถิติซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคสูงถึง 65.46 เปอร์เซ็นต์

ได้มีการศึกษาความปลอดภัยของ *B. subtilis* ต่อคน โดย อมรรัตน์ และ มณจันทร์ (2539) ได้ทำการศึกษาความเป็นพิษของชีวภัณฑ์ประเภทแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ AP-01 และ *B. subtilis* AP-04 สำหรับป้องกันกำจัดโรคพืช ในหนูถีบจักรเพื่อยืนยันความปลอดภัยนี้ โดยได้ทดสอบความเป็นพิษของแบคทีเรียนี้ชนิดผง 2 ชนิด โดยผสมกับอาหารในอัตรา 1:10 โดยน้ำหนักซึ่งเป็นอัตราที่แนะนำใช้ทาแผลบนต้นพืช ทำการทดสอบกับหนูถีบจักร ให้อาหารทางปากในอัตรา 10 กรัมต่อวันต่อตัวโดยเฉลี่ย เป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่าหนูในกลุ่มทดลองที่ได้รับชีวภัณฑ์แบคทีเรียผสมอาหารทั้ง 2 ชนิด มีอัตราการเจริญเติบโตไม่แตกต่างจากหนูกลุ่มที่ได้รับอาหารปกติ และจากการตรวจทางพยาธิวิทยาไม่พบลักษณะรอยโรคที่อวัยวะภายใน และไม่มีการเปลี่ยนแปลงที่ผิดปกติใดๆ ทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อตับ กระเพาะอาหาร และลำไส้เกิดขึ้น

B. subtilis เป็นจุลินทรีย์ที่สามารถเพาะเลี้ยงได้ง่าย และมีการสร้างสปอร์ที่ทนทานกว่าเซลล์ปกติ (vegetative cell) จุลินทรีย์ชนิดนี้สามารถใช้แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนเชิงซ้อนที่มีอยู่ในวัตถุดิบเหลือใช้ทางการเกษตร เช่น กากเมล็ดฝ้าย และกากน้ำตาลได้ ส่วนเกลือแร่ต่างๆมักต้องการในปริมาณน้อย การเติมเกลือแร่บางชนิด เช่น แคลเซียมและแมงกานิส จะเพิ่มอัตราการสร้างสปอร์ได้ โดยไวรุจน์และคณะ (2550) ได้รายงานไว้ว่า ในการผลิตสปอร์ของ *B. subtilis* นั้น สามารถใช้กากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตได้ดี แต่อาจเกิดปัญหาเรื่องฟองในการผลิตระดับใหญ่ กากถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบที่เหมาะสม และบุษราคัมและคณะ (2553) ได้รายงานไว้ว่า สูตรที่เหมาะสมต่อการนำมาใช้ในขบวนการแปรรูป *B. subtilis* คือสูตร FFS1 ซึ่งเป็นส่วนผสมของ โปรตีนปลา (เศษปลาหมักหรือปุ๋ยปลา) 10 ม.ล. ผสมกากถั่วเหลือง 10 กรัมในน้ำกลั่น 1,000 ม.ล.เนื่องจากส่วนผสมมีราคาถูก หาซื้อง่าย และใช้เวลาการเลี้ยงในระยะสั้นที่สุด และการเลี้ยงแบคทีเรีย ในสภาพเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 และ 200 รอบต่อนาที เป็นสภาพที่เหมาะสมต่อการสร้างเอ็นโดสปอร์ของ *B. subtilis*

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. วัสดุทางการเกษตร เช่น กากน้ำตาล กากถั่วเหลือง ปลาหมัก (ปุ๋ยปลา)
2. แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ไอโซเลท 20W16 และ 20W33
3. สารเคมีในห้องปฏิบัติการ เช่น โซเดียมเบนโซเอท K_2HPO_4
4. อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ PSA
5. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องชั่ง จานเลี้ยงเชื้อ เข็มเขี่ย เป็นต้น

วิธีการ

ศึกษาการผสมปรุงแต่งผลิตภัณฑ์เอ็นโดสปอร์แบคทีเรีย *B. subtilis* สูตรเหลว (ปีพ.ศ. 2559) วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำ (ซ้ำละ 4 ฟาสก์ขนาด 250 ม.ล.) ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 สูตรที่ 1 กากน้ำตาล (cane molasses) 20 มล. (grams) ต่อน้ำ 1 ลิตร (litre of water)

กรรมวิธีที่ 2 สูตรที่ 2 กากน้ำตาล (cane molasses) 20 กรัม (grams) ต่อน้ำ 1 ลิตร (litre of water) + โซเดียมเบนโซเอท (Sodium benzoate) 0.05% W/V

กรรมวิธีที่ 3 สูตรที่ 3 กากน้ำตาล (cane molasses) + กากถั่วเหลือง (soybean meal) อัตรา 1: 1 + ไดโพแทสเซียมฟอสเฟต (K_2HPO_4) 0.5 %W/V

กรรมวิธีที่ 4 สูตรที่ 4 กากน้ำตาล (cane molasses) + กากถั่วเหลือง (soybean meal) อัตรา 1: 1 + โซเดียมเบนโซเอท (Sodium benzoate) 0.05% W/V

กรรมวิธีที่ 5 สูตรที่ 5 ปลาหมัก (ปุ๋ยปลา: fish fertilizer) + กากถั่วเหลือง (soybean meal) อัตรา 1: 1

กรรมวิธีที่ 6 สูตรที่ 6 ปลาหมัก (ปุ๋ยปลา: fish fertilizer) + กากถั่วเหลือง (soybean meal) อัตรา 1: 1 + โซเดียมเบนโซเอท (Sodium benzoate) 0.05% W/V ทุกกรรมวิธีเติมน้ำเปล่าจนครบ 1 ลิตร

ปฏิบัติการทดลอง ดังนี้

1. เลี้ยงแบคทีเรีย *B. subtilis* ในอาหารแข็ง PSA เป็นเวลา 24 ช.ม. จากนั้นย้ายเชื้อลงในอาหารเหลว PSB 1 ลูปต่ออาหาร 250 ม.ล. บ่มเชื้อบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 72 ช.ม. เพื่อทำเป็น inoculums

2. เมื่อครบกำหนดแล้ว ย้ายเชื้อจาก Inoculum ลงในอาหารสูตรต่างๆ ทั้ง 6 กรรมวิธี ปริมาณ 10% โดยปริมาตร

3. เติม $Cacl_2.2H_2O$ 0.65 กรัม/ลิตร และ $MnSO_4 . 2H_2O$ 0.15 กรัม/ลิตร ลงในอาหารสูตรต่างๆ เพื่อกระตุ้นการสร้างสปอร์ (ไวรุจน์ และคณะ, 2550)

4. เติมยูเรียปริมาณ 1 กรัม/ลิตร ลงไปในอาหารทุกสูตร

5. นำไปเขย่าบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 วัน

6. จากนั้นแบ่งเก็บไว้ 2 แหล่ง คือ เก็บในสภาพอุณหภูมิปกติ (28$\pm$ 2 องศาเซลเซียส) และในตู้เย็นธรรมดาที่ 18 องศาเซลเซียส

7. ตรวจเช็คการมีชีวิตรอด (Viability) ของเซลล์ *B. subtilis* ในผลิตภัณฑ์ โดยตรวจนับปริมาณเซลล์จากเดือนเริ่มต้นและทุกๆ เดือน โดยวิธี dilution plate techniqueและนับความเข้มข้นของสปอร์ โดยแช่น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที (ไวรุจน์ และคณะ, 2550) หรือที่ 65 องศาเซลเซียส นาน 1 ชม. เพื่อฆ่าเซลล์ปกติ และเหนี่ยวนำให้สปอร์งอกก่อนโดยการย้ายลงอาหาร PSB เขย่าเป็นเวลา 48 ชม. แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหารแข็ง PSA โดยวิธี dilution plate technique

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น 1 ตุลาคม พ.ศ. 2559 สิ้นสุด 30 กันยายน พ.ศ. 2560

สถานที่ดำเนินการทดลอง ที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการทดลอง พบว่า ชีวภัณฑ์ทั้ง 6 สูตร มีปริมาณเอ็นโดสปอร์เริ่มต้น 10^8 cfu/ml โดยสูตรที่ 3 มีปริมาณเอ็นโดสปอร์สูงสุด คือ 4.9 x 10^8 cfu/ml เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 4 เดือน พบว่า ชีวภัณฑ์สูตรที่ 6 คือสูตร ปลาหมัก (ปุ๋ยปลา) + กากถั่วเหลือง + โซเดียมเบนโซเอท 0.05% W/V ที่เก็บไว้ทั้งในอุณหภูมิห้องปฏิบัติการ และในตู้เย็น มีปริมาณเอ็นโดสปอร์สูงที่สุดคือ 6.2 x 10^8 cfu/ml รองลงมาได้แก่สูตรที่ 5 คือสูตร ปลาหมัก (ปุ๋ยปลา) + กากถั่วเหลือง มีปริมาณเอ็นโดสปอร์เท่ากับ 5.7 x 10^8 และ 4.6 x 10^8 cfu/ml ตามลำดับ (Table 1)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากผลการทดลอง สรุปได้ว่า หลังการเก็บรักษาชีวภัณฑ์เป็นเวลา 4 เดือน ผลิตภัณฑ์เหลวทุกสูตรยังคงมีปริมาณเอ็นโดสปอร์ไม่เปลี่ยนแปลงมากจากปริมาณเริ่มต้น คืออยู่ในระดับ 10^8 cfu/ml และพบว่าการเก็บผลิตภัณฑ์เหลวในตู้เย็นธรรมดาที่อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส ยังไม่มีความแตกต่างกับการเก็บสภาพอุณหภูมิห้องปฏิบัติการ (28$\pm$ 2 องศาเซลเซียส)

ดังนั้น ชีวภัณฑ์เหลวทุกสูตร สามารถนำไปทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก ในแปลงทดลองได้เนื่องจาก ปริมาณเอ็นโดสปอร์อยู่ในระดับ 10^8 cfu/ml เท่ากัน โดยชีวภัณฑ์สูตรที่ 5 กับสูตรที่ 6 เป็นชีวภัณฑ์ที่เหมาะสมที่จะนำไปทดสอบหลังการเก็บรักษาไว้เป็นเวลา 4 เดือน

เอกสารอ้างอิง

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล รัศมี ฐิติเกียรติพงษ์ อรพรรณ วิเศษสังข์ และ วงศ์ บุญสืบสกุล. 2548. การใช้เชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิง. หน้า 90-105. *ใน: รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม 2548*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

บุษราคัม อุดมศักดิ์ และ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล. 2550. สำรวจรวบรวมและศึกษาสายพันธุ์แบคทีเรียกลุ่ม Bacillus ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืช: ศึกษาสายพันธุ์แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชเศรษฐกิจ. หน้า 896-913. *ใน: รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2550*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

บุษราคัม อุดมศักดิ์ และ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล. 2553. การพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์เอ็นโดสปอร์ *Bacillus subtilis* ควบคุมโรคเหี่ยวของขิง. หน้า 988 -1005. *ใน: รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

พากเพียร อรัญนารถ นงรัตน์ นิลพานิชย์ วิชิต ศิริสันธนะ และ สมคิด ดิสถาพร. 2544. ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* ในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าว. *วารสารวิชาการเกษตร*.ม.ค.- เม.ย. 2544, 19(1) : 4-12

ศิริพงษ์ คุ้มภัย และพรพิมล อธิปัญญาคม. 2554. โรคแอนแทรคโนสพริก. หน้า 3-4. *ใน: คู่มือโรคผักและการป้องกันกำจัด.* กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

อมรรัตน์ ทัศนกิจและมณจันทร์ เมฆธน. 2539. การศึกษาความเป็นพิษของชีวภัณฑ์ประเภทแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ AP-01 และ B. subtilis AP-04 สำหรับป้องกันกำจัดโรคพืชในหนูถีบจักร. หน้า 99-104. *ใน: การประชุมทางวิชาการของหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 34.* มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 30 มกราคม - 1 กุมภาพันธ์ 2539 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ.

Table 1 The survival of *Bacillus subtilis* 20W16 in 6 types of liquid solution bioproducts after 4 months preservation at 18^0 c and 25 $\pm$ 3^0 c temperature.

Treatments	amount of *Bacillus subtilis* colonies (cfus/ml)		
	0 month	4 months (18^0 c)	4 months (25 $\pm$ 3^0 c)
cane molasses	0.3×10^8	1.0×10^8	3.5×10^8
cane molasses + sodium benzoate 0.05% W/V	0.9×10^8	2.2×10^8	3.2×10^8
cane molasses +soybean meal + K_2HPO_4 0.5 %W/V	4.9×10^8	4.2×10^8	1.3×10^8
cane molasses + soybean meal + Sodium benzoate 0.05% W/V	1.4×10^8	1.6×10^8	2.5×10^8
fish fertilizer + soybean meal	1.3×10^8	4.6×10^8	5.7×10^8
fish fertilizer + soybean meal + sodium benzoate 0.05% W/V	4.5×10^8	6.2×10^8	6.2×10^8

การทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสพริกที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum capsici* (Syd. & P. Syd.) Butl. & Bisby

Efficacy of *Bacillus subtilis* to Control Anthracnose Disease of Chili Caused by *Colletotrichum capsici* (Syd. & P. Syd.) Butl. & Bisby

ธารทิพย ภาสบุตร
อภิรัชต์ สมฤทธิ์ อมรรัชฎ์ คิดใจเดียว ทิพวรรณ กันหาญาติ
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ B23/2 20W15 20W19 19W6 ในการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสพริกที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum capsici* (Cc) ทำการทดลองที่ อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี ระหว่างเดือนสิงหาคม ถึงเดือน ตุลาคม พ.ศ. 2559 โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB (Randomized Complete Block) จำนวน 3 ซ้ำ 8 กรรมวิธีได้แก่ กรรมวิธีที่1 ปลูกเชื้อ Cc และพ่น Bs 20W19 กรรมวิธีที่ 2 ปลูกเชื้อ Cc และพ่น Bs B23/2 กรรมวิธีที่ 3 ปลูกเชื้อ Cc และพ่น Bs 20W15 กรรมวิธีที่ 4 ปลูกเชื้อ Cc และพ่น Bs 20W16 กรรมวิธีที่ 5 ปลูกเชื้อ Cc และพ่น Bs 19W16 กรรมวิธีที่ 6 ปลูกเชื้อ Cc และ พ่นน้ำเปล่า กรรมวิธีที่ 7 ปลูกเชื้อ Cc และพ่น mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และ กรรมวิธีที่ 8 ไม่ปลูกเชื้อ Cc และ พ่นน้ำเปล่า ผลการทดลองพบว่า *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ B23/2 และ 20W16 มีแนวโน้มในการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสพริกที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum capsici* ในสภาพแปลงทดลองได้

คำหลัก : โรคแอนแทรคโนส พริก *Colletotrichum capsici*

รหัสการทดลอง 03-05-59-02-02-00-02-59

คำนำ

พริก (Chili) เปนพืชผักที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจที่ใชบริโภคภายทั้งในประเทศและสงออกไปตางประเทศ ในการผลิตพริกมักประสบปญหาศัตรูพืชหลายชนิด เช่น ปัญหาวัชพืช ปัญหาแมลงศัตรูพืชและปัญหาโรคพืช โดยเฉพาะด้านโรคพืช พบว่าโรคแอนแทรคโนสเป็นโรคที่สำคัญโรคหนึ่งของพริก มีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides, Colletotrichum capsici* และ *Colletotrichum acutatum* (รัติยาและคณะ, 2553) การป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนส สำหรับการปลูกพริกเปนการคา เกษตรกรนิยมใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืชครั้งละหลายชนิดและใชบอยครั้ง ทั้งนี้เนื่องจากสะดวก รวดเร็วและงายตอการปฏิบัติ แต่พบว่า จากการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืชในปริมาณมาก กอให้เกิดอันตรายตอเกษตรกรผูใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช ผู้บริโภคผลผลิต และเกิดมลพิษต่อสิ่งแวดลอม รวมทั้งในบางครั้งมีการตรวจพบสารพิษตกค้างบนผลผลิตเป็นปญหาตอการ สงผลผลิตออกไปขายต่างประเทศ ปัจจุบันมีการศึกษาวิจัยการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการป้องกันกำจัดโรคพืชมากขึ้น เช่น แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ซึ่งมีรายงานว่า สามารถควบคุมจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชได้หลายชนิด จากการศึกษาของ Baker และคณะ (1985) ได้ศึกษา *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ PPl-3 และ APPL-1พบว่าสามารถใช้ในการควบคุมโรคราสนิมของถั่วเหลืองที่เกิดจากเชื้อ *Uromyces appendiculatus* ได้ ณัฏฐิมาและคณะ (2547) ศึกษาการใช้ *Bacillus* spp. เพื่อควบคุมโรคเหี่ยวของขิงและมะเขือเทศที่เกิดจากแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* บุษราคัมและณัฏฐิมา (2550) ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* ซึ่งแยกจากดินปลูก ปุ๋ยคอก และวัสดุปลูกจากแหล่งต่างๆ จำนวน 80 ไอโซเลท ในการควบคุมเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริกบนผลพริก พบว่ามี 13 ไอโซเลท ได้แก่ 17G18 20W33 2G7 20W16 20W1 20W8 20W5 1G8 2G23 22W8 19W36 22W10 และ 20W3 ที่สามารถควบคุมการเกิดโรคบนผลพริกได้ โดยไอโซเลท 20W16 22W8 และ 1G8 มีประสิทธิภาพยั้บยั้งการเกิดโรคได้สูงสุด

ดังนั้นจึงได้นำแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* มาทดสอบประสิทธิภาพการยั้บยั้งการเกิดโรค แอนแทรคโนสพริกที่เกิดจากเชื้อรา *C. capsici* โดยเฉพาะสายพันธุ์ B23/2 20W15 20W19 19W6 และ 20W16 ที่ผ่านการทดสอบแล้วว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. capsici* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริกในห้องปฏิบัติการ มาทำการทดสอบประสิทธิภาพในสภาพแปลงทดลอง เพื่อได้สายพันธุ์แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* อย่างน้อย 1 สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพ สำหรับการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ เพื่อนำไปใช้ป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสพริกร่วมกับ *B. subtilis* สายพันธุ์ 20W16 (บุษราคัม และคณะ, 2553) ในสภาพแปลงปลูกของเกษตรกรต่อไป

วิธีการดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ต้นกล้าพริก
2. แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* (Bs)

3. รา *Colletotrichum capsici* (Cc)
4. อาหารเลี้ยงเชื้อ เช่น PDA PSA PDA สำเร็จรูป วุ้น มันฝรั่ง ฯ
5. ปุ๋ยเคมี ปุ๋ยคอก ปุ๋ยหมัก สารเคมีกำจัดแมลง
6. เครื่องพ่นสารทดสอบ เครื่องพ่นเชื้อสาเหตุโรคพืช
7. เครื่องชั่งน้ำหนัก และอุปกรณ์การตวงวัดสารทดลอง
8. ป้ายปักแปลง
9. อุปกรณ์สำหรับการบันทึกข้อมูล
10. ที่พ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช

วิธีการ

การทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสพริกที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum capsici* (Syd. & P. Syd.) Butl. & Bisby

1. การเตรียมแปลงทดลอง

ตากดินก่อนปลูกพืช 2-3 สัปดาห์ ปรับพื้นที่และไถพรวนดิน เพาะกล้าในกระบะหรือแปลงเพาะเมล็ดจนต้นกล้ามี ใบจริง 3-5 ใบหรือต้นพริกอายุ 25-30 วัน เตรียมแปลงทดลองขนาดแปลงย่อย 4x 6 เมตร แต่ละแปลงย่อยห่างกัน 1 เมตร ย้ายต้นกล้าพริกลงปลูกในแปลง ปลูกพริกในระยะ 50 x 80 เซนติเมตร (ระยะต้นxระยะแถว) ดูแลให้น้ำ ใส่ปุ๋ย พ่นสารฆ่าแมลงจนออกดอกและติดผล

2. การเตรียมสารแขวนลอยสปอร์ (spore suspension) ของเชื้อรา *C. capsici* และการปลูกเชื้อ

เลี้ยงเชื้อรา *C. capsici* (Cc) บนอาหาร PDA เป็นเวลา 14 วัน ล้างสปอร์ด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ ปรับให้มีความเข้มข้น 10^8 สปอร์ (โคนิเดีย) ต่อมิลลิลิตร นำสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราที่ได้ไปปลูกเชื้อโดยการพ่น (spray inoculation) ลงบนผลพริกที่เริ่มเปลี่ยนสีจนทั่ว

3. เตรียมเซลล์แขวนลอย (cell suspension) ของแบคทีเรีย *B. subtilis* และการทดสอบ

นำแบคทีเรีย *B. subtilis* (Bs) สายพันธุ์ B23/2 20W15 20W19 19W6 และ 20W16 มาเลี้ยงบนอาหารเหลว TSA เป็นเวลา 36 ชั่วโมง นำเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย ที่ได้มาปรับให้มีความเข้มข้น 10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร นำมาพ่นบนผลพริกที่ได้รับการปลูกเชื้อรา *C. capsici* โดยพ่น *B. subtilis* ทุก 7 วัน อย่างน้อย 5 ครั้งหรือตามความเหมาะสม

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 3 ซ้ำ 8 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ปลูกเชื้อ Cc + พ่น Bs 20W19
กรรมวิธีที่ 2 ปลูกเชื้อ Cc + พ่น Bs B23/2
กรรมวิธีที่ 3 ปลูกเชื้อ Cc + พ่น Bs 20W15
กรรมวิธีที่ 4 ปลูกเชื้อ Cc + พ่น Bs 20W16
กรรมวิธีที่ 5 ปลูกเชื้อ Cc + พ่น Bs 19W16
กรรมวิธีที่ 6 ปลูกเชื้อ Cc + พ่นน้ำเปล่า (Control +)
กรรมวิธีที่ 7 ปลูกเชื้อ Cc + พ่น mancozeb 80% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 8 ไม่ปลูกเชื้อ Cc + พ่นน้ำเปล่า (Control -)

4. การบันทึกข้อมูล

ประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรคโนสก่อนพ่น Bs และ mancozeb 80% WP ทุกครั้ง และหลังพ่นครั้งสุดท้ายที่ 7 และ 14 วัน โดยสุ่มเก็บผลพริกจากต้นพริกจำนวน 20 ต้นต่อแปลงย่อย เก็บผลพริกระยะเก็บเกี่ยว นับจำนวนผลพริกทั้งหมดและผลพริกที่เป็นโรคแอนแทรคโนส นำมาคิดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น เดือน ตุลาคม พ.ศ. 2558 สิ้นสุด เดือน กันยายน พ.ศ. 2559

แปลงทดลอง จ.กาญจนบุรี และห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสพริกที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum capsici*

แปลงทดลองที่ 1 ที่อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี

การประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรคโนสครั้งที่ 1

ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรคโนสในพริกครั้งที่ 1 พบว่า กรรมวิธีที่ 1 ถึง 8 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรคโนส 1.9 2.09 1.78 2.47 1.77 1.55 1.09 และ 1.95 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรคโนสครั้งที่ 2

ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรคโนสในพริกครั้งที่ 2 พบว่า กรรมวิธีที่ 1 ถึง 8 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรคโนส 31.23 28.32 23.36 19.55 32.13 29.44 23.03 และ 17.13 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรคโนสครั้งที่ 3

ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรคโนสในพริกครั้งที่ 3 พบว่า กรรมวิธีที่ 1 ถึง 8 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรคโนส 34.42 15.05 38.89 10.96 27.88 15.81 15.57 และ 9.54 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรคโนสครั้งที่ 4

ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรคโนสในพริกครั้งที่ 4 พบว่า กรรมวิธีที่ 1 ถึง 8 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรคโนส 25.41 13.95 12.73 21.79 19.58 30.34 24.88 และ 17.21 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรคโนสครั้งที่ 5

ผลการประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรคโนสในพริกครั้งที่ 5 พบว่า กรรมวิธีที่ 1 ถึง 8 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรคโนส 24.80 13.05 11.73 19.90 17.58 29.30 25.78 และ 16.58 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

จากผลการทดสอบพบว่า *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ B23/2 และ 20W16 มีแนวโน้มในการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสพริกที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum capsici* ในสภาพแปลงทดลองได้ แต่เนื่องจากการทดลองครั้งนี้ประสบปัญหาผลพริกถูกแมลงวันทองเข้าทำลาย แปลงทดลองอยู่ในที่ที่เคยมีโรคแอนแทรคโนสระบาดรุนแรง อีกทั้งในช่วงท้ายของการทดสอบต้นพริกไม่ออกดอก ไม่ติดผล จึงทำให้ไม่สามารถทดสอบให้ครบตามแผนการทดลองที่วางไว้ได้ จึงยังไม่สามารถสรุปผลการทดลองได้ จึงต้องทำการทดสอบเพิ่มเติมต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล วงศ์ บุญสืบสกุล อรพรรณ วิเศษสังข์ และทัศนาพร ทัศคร. 2547. การศึกษาการใช้ประโยชน์จากเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงและมะเขือเทศ. หน้า 115-126. *ใน : รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2547.* กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

บุษราคัม อุดมศักดิ์ และณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล. 2550. สำรวจรวบรวมและศึกษาสายพันธุ์แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืช : ศึกษาสายพันธุ์แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชเศรษฐกิจ. หน้า 896-913. *ใน : รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2550.* สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

บุษราคัม อุดมศักดิ์ และณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล. 2553. ศึกษาสายพันธุ์แบคทีเรียสกุล *Bacillus* ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชเศรษฐกิจ. รายงานความก้าวหน้า ผลงานวิจัยปี 2553. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

รัติยา พงศพิสุทธา วรานันท วิญญูรัตน , โชติรส รอดเกตุ และเทพพนม แสงเพลิง. 2553. ความผันแปรทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก. *วารสารวิทยาศาสตรเกษตร.* ปที่ 41 ฉบับที่ 1 (พิเศษ) มกราคม-เมษายน. 318 -321.

Baker, C.J., Stavely, J.R. and Mock, N. 1985. Biocontrol of bean rust by *Bacillus subtilis* under field conditions. *Plant Dis.* 69 : 770-772.

การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเน่าสีน้ำตาลของกล้วยไม้สาเหตุจากแบคทีเรีย *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli*

Efficacy Test of Bacterial Antagonist to Control Bacterial Brown Rot of Orchid Caused by *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli*

ทิพวรรณ กันหาญาติ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล
บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ รุ่งนภา ทองเครื่ง
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเน่าสีน้ำตาลของกล้วยไม้สาเหตุจากแบคทีเรีย *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli* ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2558 – กันยายน 2559 โดยนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าสีน้ำตาลของกล้วยไม้ได้ดีในสภาพเรือนทดลอง จำนวน 3 ไอโซเลท มาทดสอบในสภาพแปลง วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ได้แก่ กรรมวิธีพ่นแบคทีเรียปฏิปักษ์ BS5 BS23 และ BS40 เปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นด้วยสารป้องกันกำจัดโรคพืช thiram 80% WG และกรรมวิธีพ่นด้วยน้ำเปล่า ดำเนินการทดลองโดยปลูกเชื้อ *B. gladioli* pv. *gladioli* บนกล้วยไม้ และเริ่มพ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์หลังจากกล้วยไม้เริ่มแสดงอาการของโรค พ่นทุก 7 วัน จำนวน 5 ครั้ง พบว่ากรรมวิธีพ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ BS5 BS23 และ BS40 สามารถควบคุมโรคเน่าสีน้ำตาลของกล้วยไม้ได้ดีไม่แตกต่างกับกรรมวิธีพ่นด้วยสารป้องกันกำจัดโรคพืช thiram 80% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีระดับความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 1.34 1.36 1.33 และ 1.30 ตามลำดับ โดยทั้ง 4 กรรมวิธีมีระดับความรุนแรงของโรคแตกต่างจากกรรมวิธีพ่นด้วยน้ำเปล่า ระดับความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 1.47 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

คำหลัก : โรคเน่าสีน้ำตาล แบคทีเรียปฏิปักษ์

รหัสการทดลอง 03-05-59-02-02-00-03-59

คำนำ

กล้วยไม้เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย เนื่องจากเป็นพืชที่มีการส่งออกทั้งในรูปของกล้วยไม้ตัดดอกและต้นกล้วยไม้ โดยมีมูลค่าการส่งออกประมาณ 2,000 ล้านบาทในปี 2558 กล้วยไม้ที่เกษตรกรนิยมปลูกมีหลายสกุล เช่น กล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวาย ม็อคคาร่า ออนซิเดียม แวนด้า แอสโคเซนดา อะแรนดา ฟาแลนนอปซิส และคัทลียา ซึ่งแหล่งปลูกที่สำคัญ คือ จังหวัดนครราชสีมา สุพรรณบุรี พระนครศรีอยุธยา นนทบุรี กรุงเทพมหานคร ชลบุรี สมุทรสาคร นครปฐม กาญจนบุรี และราชบุรี (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2559; สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร, 2559) ปัญหาสำคัญที่เกษตรกรมักพบในการผลิตกล้วยไม้คือการระบาดของโรคพืช ซึ่งทำให้ผลผลิตกล้วยไม้ต่ำและไม่ได้มาตรฐาน โดยเฉพาะโรคเน่าสีน้ำตาล (bacterial brown rot) ของกล้วยไม้เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli* หากเกิดการระบาดรุนแรงจะทำให้กล้วยไม้เน่าตายทั้งต้น ไม่ได้ผลผลิต สารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคพืชที่มีสาเหตุจากแบคทีเรียมีน้อย อีกทั้งการใช้ติดต่อกันเป็นเวลานานจะมีผลทำให้เชื้อสาเหตุโรคเกิดการดื้อสารเคมีและทำให้มีสารเคมีตกค้าง ดังนั้นการศึกษานี้จึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการควบคุมโรคเน่าสีน้ำตาลของกล้วยไม้โดยใช้ชีววิธี โดยมีวัตถุประสงค์ในการศึกษาครั้งนี้ เพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าสีน้ำตาลของกล้วยไม้ในสภาพแปลงเกษตรกร ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้คาดหวังว่าจะสามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการลดการใช้สารเคมีได้อีกทางหนึ่ง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่องแก้วและอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ
2. เครื่องชั่ง
3. หม้อนึ่งความดันไอ
4. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ
5. เครื่องเขย่าชนิดควบคุมอุณหภูมิ
6. ตู้อบ
7. เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง
8. ปิเปต
9. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ
10. สารป้องกันกำจัดโรคพืช thiram 80% WG
11. เชื้อแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* และเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์
12. สารป้องกันกำจัดโรคพืช thiram 80% WG
13. เครื่องพ่นมือ
14. กล้วยไม้

วิธีการ

1. การเตรียมเชื้อ *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli* สำหรับปลูกเชื้อบนกล้วยไม้

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนอาหาร PSA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำเชื้อมาละลายในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ แล้ววัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่นแสง 600 นาโนเมตร ปรับให้มีความเข้มข้นเชื้อประมาณ 10^8 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร ปลูกเชื้อบนต้นกล้วยไม้โดยใช้วิธีการพ่น

2. การเตรียมเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สำหรับพ่นบนกล้วยไม้

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีแนวโน้มว่ามีประสิทธิภาพดีจำนวน 3 ไอโซเลท ในอาหาร TSB บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำเชื้อมาละลายในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ปรับความเข้มข้นของเชื้อให้มีความเข้มข้นประมาณ 10^9 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร ก่อนนำไปพ่นให้ทั่วต้นกล้วยไม้ด้วยเครื่องพ่นมือ

3. การวางแผนการทดลอง วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี โดยมีกรรมวิธีทดลอง ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์ BS5

กรรมวิธีที่ 2 พ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์ BS23

กรรมวิธีที่ 3 พ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์ BS40

กรรมวิธีที่ 4 พ่นด้วยสารป้องกันกำจัดโรคพืช thiram 80% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (เกษตรกร)

กรรมวิธีที่ 5 พ่นด้วยน้ำเปล่า (control)

ทำการพ่นให้ทั่วต้นกล้วยไม้ทุกๆ 7 วัน จำนวน 5 ครั้ง

4. การบันทึกข้อมูล

ตรวจสอบการเกิดโรคของกล้วยไม้ก่อนพ่นทุกครั้ง ประเมินระดับความรุนแรงของทุกใบในแต่ละต้น จำนวน 20 ต้นต่อซ้ำ โดยแบ่งระดับความรุนแรงของโรคเป็น 6 ระดับ ดังนี้

ระดับ 1 ใบไม่ปรากฏอาการของโรค

ระดับ 2 ใบปรากฏอาการของโรคร้อยละ 1-5 ของพื้นที่ใบ

ระดับ 3 ใบปรากฏอาการของโรคร้อยละ 6-10 ของพื้นที่ใบ

ระดับ 4 ใบปรากฏอาการของโรคร้อยละ 11-25 ของพื้นที่ใบ

ระดับ 5 ใบปรากฏอาการของโรคร้อยละ 26-50 ของพื้นที่ใบ

ระดับ 6 ใบปรากฏอาการของโรคมากกว่าร้อยละ 50 ของพื้นที่ใบ

5. การวิเคราะห์ข้อมูล

นำค่าความรุนแรงที่ประเมินได้มาหาค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของโรค วิเคราะห์ผลการทดลองโดยวิธี Analysis of Variance และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2558 – กันยายน 2559

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร และสวนกล้วยไม้ของเกษตรกร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การเตรียมเชื้อ *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli* และเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* และเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ BS5 BS23 และ BS40 นำมาทดสอบประสิทธิภาพในห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันคุณสมบัติการเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่สามารถการควบคุมเชื้อ *B. gladioli* pv. *gladioli* สาเหตุโรคเน่าสีน้ำตาลของกล้วยไม้ก่อนนำไปใช้ในการทดสอบในสภาพแปลงเกษตรกร จากนั้นเลี้ยงเพิ่มปริมาณโดยเชื้อแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* ปรับให้มีความเข้มข้นเชื้อประมาณ 10^8 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร และเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ BS5 BS23 และ BS40 ปรับให้มีความเข้มข้นเชื้อประมาณ 10^9 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร เพื่อใช้ในการทดสอบในสภาพแปลง

2. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเน่าสีน้ำตาลของกล้วยไม้

เตรียมแปลงกล้วยไม้สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเน่าสีน้ำตาลของกล้วยไม้ โดยปลูกเชื้อ *B. gladioli* pv. *gladioli* บนกล้วยไม้ และเริ่มทำการทดลองตามแผนการทดลองที่วางไว้ เริ่มพ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์หลังจากกล้วยไม้เริ่มแสดงอาการของโรค พ่นทุก 7 วัน จำนวน 5 ครั้ง พบว่ากรรมวิธีพ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ BS5 BS23 และ BS40 สามารถควบคุมโรคเน่าสีน้ำตาลของกล้วยไม้ได้ดีไม่แตกต่างกับกรรมวิธีพ่นด้วยสารป้องกันกำจัดโรคพืช thiram 80% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีระดับความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 1.34 1.36 1.33 และ 1.30 ตามลำดับ โดยทั้ง 4 กรรมวิธีมีระดับความรุนแรงของโรคแตกต่างจากกรรมวิธีพ่นด้วยน้ำเปล่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 1) อย่างไรก็ตาม การระบาดของโรคเน่าสีน้ำตาลของกล้วยไม้น้อยทำให้การทดสอบประสิทธิภาพเห็นผลไม่ชัดเจน

ในประเทศไทยมีรายงานการนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์มาใช้ควบคุมโรคพืชในไม้ดอกไม่มากนัก เสมอใจและคณะ (2551) ทำการศึกษาเพื่อหาแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่สามารถควบคุม *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* เชื้อสาเหตุโรคใบไหม้ของหน้าวัว โดยแยกเชื้อแบคทีเรียจากวัสดุปลูกหน้าวัว ใบหน้าวัวที่เป็นโรคและใบปกติ จำแนกเชื้อได้เป็น *B. subtilis* ทำการทดสอบการควบคุมโรคใบไหม้กับหน้าวัวสายพันธุ์ Casino และ Tropical ในเรือนทดลอง โดยการพ่นแต่ละกลุ่มของ B1228, B1317 และ B1348 ผลการทดลองพบว่า การใช้เชื้อผสม 3 ชนิด มีประสิทธิภาพการยับยั้งสูงสามารถลดการเกิดโรคได้ 81-89% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม สำหรับในกล้วยไม้ ปิยรัตน์และคณะ (2553) ทดสอบแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* บนกล้วยไม้สกุลแวนด้าลูกผสมอายุ 4 เดือน โดยพ่นเซลล์แขวนลอย

แบคทีเรียปฏิปักษ์ 5 ไอโซเลท ได้แก่ NA18, KA28, KA33, KA34, KA35 และชีวภัณฑ์ผงอัดเม็ดฟู่ของแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท KA33 เปรียบเทียบกับการพ่นน้ำเปล่า ผลการทดสอบหลังจากพ่นแบคทีเรียปฏิปักษ์ควบคุมโรคตามกรรมวิธี 5 ครั้ง พบว่าทุกกรรมวิธีให้ผลในการควบคุมโรคได้ดีกว่าการพ่นด้วยน้ำเปล่า โดยกรรมวิธีการพ่นเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท KA28 กล้วยไม้แสดงอาการโรคต่ำสุด รองลงมาคือ เซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท KA33 กรรมวิธีการพ่นชีวภัณฑ์แบคทีเรียไอโซเลท KA33 ให้ผลในการควบคุมโรคใกล้เคียงกับการพ่นเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท KA34 และ KA35 และในปี 2555 สุรีย์พร และคณะ ได้คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จาก culture collections และแยกเก็บจากบริเวณผิวใบของกล้วยไม้จังหวัดกาญจนบุรีเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเน่าเละ *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (Ecc) และ *E. chrysanthemi* (Ech) แล้วทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิดในสภาพโรงเรือน พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลต BK2, BK5, BK9 และ BK12 สามารถควบคุมได้ทั้ง Ecc และ Ech ส่วนไอโซเลต 17G18 ไม่สามารถควบคุมเชื้อแบคทีเรีย Ecc ได้ โดยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลต BK2, BK5, BK9 และ BK12 สามารถควบคุมเชื้อแบคทีเรีย Ech ได้ดีกว่า Ecc (สุรีย์พรและคณะ, 2555) และยังไม่มีรายงานการนำแบคทีเรียปฏิปักษ์มาใช้ในการควบคุมโรคเน่าสีน้ำตาลของกล้วยไม้ที่เกิดจากเชื้อ *B. gladioli* pv. *gladioli*

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. gladioli* pv. *gladioli* ในสภาพเรือนทดลองจำนวน 3 ไอโซเลท เพื่อใช้ทดสอบในสภาพแปลงปลูก พบว่ากรรมวิธีพ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ BS5 BS23 และ BS40 สามารถควบคุมเชื้อ *B. gladioli* pv. *gladioli* สาเหตุโรคเน่าสีน้ำตาลของกล้วยไม้ได้ดี มีระดับความรุนแรงของโรคแตกต่างจากกรรมวิธีพ่นด้วยน้ำเปล่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตาม การระบาดของโรคเน่าสีน้ำตาลของกล้วยไม้น้อยทำให้การทดสอบประสิทธิภาพในปีแรกเห็นผลไม่ชัดเจนต้องรอผลการทดสอบประสิทธิภาพในครั้งต่อไปจะช่วยให้สามารถสรุปผลได้ดีขึ้น

เอกสารอ้างอิง

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2559. *สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปี 2558*. โรงพิมพ์สำนักงานพระพุทธศาสนาแห่งชาติ, กรุงเทพฯ. 215 หน้า.

สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร. 2559. *สถานการณ์สินค้าเกษตรที่สำคัญและแนวโน้ม ปี 2559*. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ. 239 หน้า.

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ สุรีย์พร บัวอาจ อัจฉรา พยัพพานนท์ และดวงพร อมัตรัตนะ. 2553. การควบคุมโรคใบจุดเหลืองของกล้วยไม้สกุลแวนด้าโดยชีววิธี. หน้า 2390-2402. *ใน : รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

สุรีย์พร บัวอาจ ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล บุษราคัม อุดมศักดิ์ และรุ่งนภา คงสุวรรณ์. 2553. คัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีศักยภาพในการควบคุมเชื้อแบคทีเรีย *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* และ *E. chrysanthemi* สาเหตุโรคเน่าเละกล้วยไม้. หน้า 857-884. *ใน : รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2555.* สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

เสมอใจ ชื่นจิตต์ วสันณ์ เพชรรัตน์ และพรศิลป์ จันทวีเมือง. 2551. การประเมินการควบคุมโรคใบไหม้ของหน้าวัวด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์. *ว. วิทยาศาสตร์การเกษตร* 39 : 195-198.

Table 1 Efficacy test of bacterial antagonist to control bacterial brown rot of orchid caused by *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli*

Treatment	Average of disease severity level
1. Sprayed with bacterial antagonist BS3	1.34 a[1/]
2. Sprayed with bacterial antagonist BS23	1.36 a
3. Sprayed with bacterial antagonist BS40	1.33 a
4. Sprayed with thiram 80% WG	1.30 a
5. Sprayed with water (Control)	1.47 b
CV (%)	4.28

[1/] Mean values with the same letters in the columns are not significantly different (P<0.05) by DMRT.

การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคใบจุดน้ำตาลของกล้วยไม้สาเหตุจากแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae*

Efficacy of Antagonistic Bacteria for Control of Bacterial Brown Spot of Orchids Caused by *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae*

รุ่งนภา ทองเครื่ง ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล บูรณี พั่ววงษ์แพทย์
ทิพวรรณ กันหาญาติ
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคใบจุดสีน้ำตาลของกล้วยไม้ในสภาพแปลงปลูกกล้วยไม้สกุลแวนดา จังหวัดนครปฐม พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท BVB-2 และ BVR-37 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคใบจุดสีน้ำตาลมีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีใช้สารเคมี thiram 80% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (กรรมวิธีควบคุม) ส่วนกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท BVS-43 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคใบจุดสีน้ำตาลมีไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีใช้สารเคมี thiram 80% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (กรรมวิธีควบคุม)

คำหลัก : โรคใบจุดสีน้ำตาล กล้วยไม้สกุลแวนดา แบคทีเรียปฏิปักษ์ Bacterial Brown Spot, Orchids, Antagonistic Bacteria

---

รหัสการทดลอง 03-05-59-02-02-00-04-59

คำนำ

โรคใบจุดสีน้ำตาลของกล้วยไม้มีสาเหตุจากเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* ลักษณะอาการที่พบเริ่มแรกแผลจะมีอาการฉ่ำน้ำสีเหลืองอ่อน มีวงสีเหลืองล้อมรอบ แล้วแผลจะมีการพัฒนาขยายขนาดใหญ่ขึ้น ส่วนเนื้อเยื่อบริเวณกลางแผลมีการยุบตัวลงไปจากผิวใบ เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหรือสีดำ มีลักษณะแข็ง แผลมีรูปร่างไม่แน่นอน พบได้ทั้งใบแก่และใบอ่อน มีการระบาดรุนแรงในช่วงฤดูฝน อาจจะพบลักษณะอาการอีกแบบคือ แผลสีขาว เป็นวงสีน้ำตาลหรือเทา ที่ขอบแผลชั้นกลาง จะเป็นสีดำขรุขระ รูปร่างไม่แน่นอน ขอบแผลนอกสุดมีสีเหลืองล้อมรอบ (Divinagracia *et al.*,1984) เชื้อแบคทีเรีย *A. avenae subsp. cattleyae* สามารถเข้าสู่ใบกล้วยไม้ได้ทางบาดแผล (wound) ช่องเปิดธรรมชาติของใบ (hydrathods) เชื้อสามารถแพร่กระจายโดยกระเด็นไปกับน้ำที่ใช้รด โดยเฉพาะวิธีการให้น้ำแบบเหนือทรงพุ่มจะส่งผลให้เชื้อสามารถแพร่กระจายไปได้ดี (Miller, 1990) โดยจะพบการระบาดของโรคนี้มากในกล้วยสกุลแคทลียา ฟาแลนนอปซิส แวนดา ซิมบิเดียม เดนโดรเบียม และออนซิเดียม (Willems *et al.*, 1992) จากการศึกษาระบบนิเวศวิทยา เชื้อแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *cattleyae* จัดอยู่ในกลุ่มเชื้อแบคทีเรียที่อาศัยในดินได้ระยะสั้น (นิพนธ์, 2533) เชื้อแบคทีเรียสามารถอยู่รอดในเศษซากใบกล้วยไม้ที่เกิดโรคได้ช่วงระยะหนึ่ง เมื่อเศษซากพืชดังกล่าวย่อยสลายไป เชื้อแบคทีเรียก็จะตายเพราะสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการดำรงชีพ การป้องกันกำจัดสามารถทำได้โดยปลูกกล้วยไม้ปลอดโรค กำจัดกล้วยไม้ที่เป็นโรคและวัสดุปลูกออกจากแปลงไปเผาทำลายไม่นำวัสดุปลูกเก่ามาใช้อีก ควบคุมความชื้นไม่ควรใช้สปริงเกอร์หากพบโรคระบาดมาก (กรมวิชาการเกษตร, 2553)

ปัจจุบันการใช้เชื้อปฏิปักษ์ (antagonist) ควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืช เป็นวิธีหนึ่งที่ได้รับความนิยม โดยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สกุล *Bacillus* เป็นกลุ่มที่ได้รับความนิยมในอันดับต้นๆ เนื่องจากมีคุณสมบัติเด่นหลายประการ เช่น สามารถสร้างเอนโดสปอร์ (endospore) ที่ทนทานต่อ สารเคมี รังสี และความร้อนได้ดีกว่าเซลล์ปกติ (Kloepper *et al.*, 2004) แบคทีเรียสกุล *Bacillus* ยังมีกลไกการเป็นปฏิปักษ์ที่สำคัญหลายรูปแบบ เช่น สามารถสร้างสารปฏิชีวนะและเอนไซม์ได้ (Shoda, 2000 ; พิศาล, 2551) นอกจากนี้ยังพบว่า แบคทีเรีย *Bacillus* หลายชนิด เป็น Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) ที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ข้าวฟ่าง ถั่วเหลือง พริก มะเขือเทศ อ้อย เป็นต้น (Raj *et al.*, 2003; ณัฐธิญา, 2550; Domenech *et al.*, 2006; ชลิดา และนัฐพร, 2550) สำหรับการนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์มาใช้ในการคบคุมโรคพืชที่เกิดจากแบคทีเรีย

ในประเทศไทยมีรายงานการนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สกุล *Bacillus* มาใช้ควบคุมเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชค่อนข้างหลากหลาย มีการใช้เชื้อ *Bacillus subtilis* ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงและมะเขือเทศ ซึ่งพบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงถึง 60% (ณัฏฐิมาและคณะ, 2547) และมีการศึกษาการใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ DOA-WB4 ที่แยกได้จากดินบริเวณรากต้นมันฝรั่งที่ไม่เป็นโรคในพื้นที่ที่มีการระบาด

ของโรค สามารถป้องกันควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวของมันฝรั่งที่เกิดจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ได้ (วงศ์ *et al.*, 2548) มีการทดลองนำ *Bacillus subtilis* มาใช้ควบคุมเชื้อแบคทีเรีย *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* และ *Erwinia chrysanthemi* สาเหตุโรคเน่าเละในกล้วยไม้ ในสภาพโรงเรือนปลูกพืชทดลองพบว่าเชื้อ *Bacillus subtilis* มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อแบคทีเรีย *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* และ *Erwinia chrysanthemi* สาเหตุโรคเน่าเละในกล้วยไม้ได้ (สุรีย์พร และคณะ, 2555) นอกจากนี้มีรายงานว่าเชื้อ *Bacillus subtilis* สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* ไอโซเลต SK และ KK9 สาเหตุโรคผลเน่าจากแบคทีเรีย (bacterial fruit blotch) ได้และได้พัฒนาเป็นชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* เพื่อการเคลือบเมล็ดและพ่นทางใบสำหรับควบคุมแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (กุศลและพิศาล, 2556)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แปลงกล้วยไม้แวนดา
2. แบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae*
3. เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ใช้ในการทดลอง จำนวน 3 ไอโซเลท
4. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงแบคทีเรีย เช่น Trytic Soy Agar (TSA), Tryptic Soy Broth (TSB), Wakimoto's medium (PSA) ฯลฯ
5. สารป้องกันกำจัดโรคพืช thiram 80% WG
6. เครื่องพ่นสาร
8. ป้ายพลาสติก

วิธีการ

1. การเตรียมเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* สำหรับปลูกเชื้อบนกล้วยไม้

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนอาหาร Wakomoto's medium บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36 ชั่วโมง นำเชื้อแบคทีเรียละลายในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ แล้ววัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงด้วยเครื่อง spectrophotometor ที่ความยาวคลื่นแสง 600 นาโนเมตร ปรับให้ได้ค่า OD เท่ากับ 0.2 ($1.0x10^8$ หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร) ปลูกเชื้อทดสอบด้วยวิธีสเปรย์สารละลายเชื้อแบคทีเรียบนต้นกล้วยไม้

2. การเตรียมสารละลายเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์บนอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) เป็นเวลา 36 ชั่วโมง และนำเชื้อแบคทีเรียไปเขย่าในอาหาร Tryptic Soy Broth (TSB) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลายเชื้อที่ได้ไปผสมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ปรับความเข้มข้นของเชื้อให้มีความเข้มข้นประมาณ 10^9 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร ก่อนนำไปพ่นให้ทั่วต้นกล้วยไม้ด้วยเครื่องมือพ่น

3. การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำๆ ละ 15 ต้น (ทำการทดลองในกล้วยไม้สกุลแวนดา ที่มีอายุประมาณ 2 ปี)

กรรมวิธีที่ 1 ปลูกเชื้อและพ่นด้วยสารละลายเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ไอโซเลทที่ 1

กรรมวิธีที่ 2 ปลูกเชื้อและพ่นด้วยสารละลายเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ไอโซเลทที่ 2

กรรมวิธีที่ 3 ปลูกเชื้อและพ่นด้วยสารละลายเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ไอโซเลทที่ 3

กรรมวิธีที่ 4 ปลูกเชื้อและพ่นด้วยสารป้องกันกำจัดโรคพืช thiram 80% WG อัตรา 20 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร (วิธีเกษตรกร)

กรรมวิธีที่ 5 ปลูกเชื้อและสเปรย์ด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)

ทำการพ่นให้ทั่วต้นกล้วยไม้ทุกๆ 7 วัน จำนวน 5 ครั้ง

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

ตรวจสอบการเกิดโรคของกล้วยไม้ก่อนพ่นทุกครั้ง ประเมินระดับความรุนแรงของทุกใบในแต่ละต้น จำนวน 15 ต้นต่อซ้ำ โดยการตรวจนับจำนวนและวัดขนาดของแผลที่แสดงอาการของโรคใบจุดสีน้ำตาล

<u>การวิเคราะห์ข้อมูล</u>

นำเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของกล้วยไม้ที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยความรุนแรงของโรค วิเคราะห์ผลการทดลองโดยวิธี Analysis of Variance และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2558 - กันยายน 2559

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช แปลงปลูกกล้วยไม้จังหวัดนครปฐม

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ทำการทดลองในแปลงปลูกกล้วยไม้สกุลแวนดา จังหวัดนครปฐม ผลการทดลองพบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท BVB-2 และ BVR-37 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคใบจุดสีน้ำตาลมีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีใช้สารเคมี thiram 80% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (กรรมวิธีควบคุม) ส่วนกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท BVS-43 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคใบจุดสีน้ำตาลมีไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีใช้สารเคมี thiram 80% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (กรรมวิธีควบคุม) (Table 1)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากผลการทดลองพบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท BVB-2 และ BVR-37 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบจุดสีน้ำตาลของกล้วยไม้ในสภาพแปลงเกษตรกรได้

เอกสารอ้างอิง

กุศล ถมมา และพิศาล ศิริธร. 2556. ชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* B076 เพื่อการเคลือบเมล็ดและพ่นทางใบเพื่อควบคุมแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. *แก่นเกษตร* 40(1): 339-345.

ชลิดา เล็กสมบูรณ์ และนัฐพร จำปี. 2550. ผลของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* ต่อการเจริญเติบโตของอ้อย. หน้า 296-302. *ใน: เอกสารการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 8*. 20-22 พฤศจิกายน 2550. โรงแรมอมรินทร์ลากูน. พิษณุโลก.

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล วงศ์ บุญสืบสกุล อรพรรณ วิเศษสังข์ และ ทัศนาพร ทัศคร. 2547. การศึกษาการใช้ประโยชน์จากเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงและมะเขือเทศ. หน้า 115-126. *ใน: รายงานผลการวิจัยประจำปี 2547*. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช.

ณัฐธิญา เบือนสันเทียะ Gary Y. Yuen และ สุดฤดี ประเทืองวงษ์. 2550. สาร indole-3-acetic acid ของเชื้อ *Bacillus amyloloquefaciens* KPS46 ที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของถั่วเหลือง. หน้า 186-205 *ใน: เอกสารการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 8*. 20-22 พฤศจิกายน 2550. โรงแรมอมรินทร์ลากูน. พิษณุโลก.

นิพนธ์ ทวีชัย. 2533. *นิเวศวิทยาของเชื้อแบคทีเรียโรคพืช*. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 133 หน้า.

พิศาล ศิริธร. 2551. การใช้แบคทีเรีย *Bacillus* ควบคุมโรคพืชในระบบการผลิตพืชที่ยั่งยืน. *โรคพืช มข ปริทรรศน์* 2: 26-36.

วงศ์ บุญสืบสกุล วิวัฒน์ ภานุอำไพ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล รุ่งนภา คงสุวรรณ์ และปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์. 2548. การใช้ประโยชน์จากเชื้อ *Bacillus subtillis* ต่อการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่ง. หน้า 1452-1459. *ใน: รายงานผลการวิจัยประจำปี 2548*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กทม. 22 หน้า.

สุรีย์พร บัวอาจ ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล บุษราคัม อุดมศักดิ์ และรุ่งนภา คงสุวรรณ์. 2555. คัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีศักยภาพ ในการควบคุมเชื้อแบคทีเรีย *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* และ *Erwinia chrysanthemi* สาเหตุโรคเน่าเละกล้วยไม้. หน้า 857-883. *ใน: รายงานผลการวิจัยประจำปี 2555*. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช.

Divinagracia, G.G., B.L. Candole and E.T. Cadapan. 1984. Some studies on bacterial brown spot of orchids caused by *Pseudomonas cattleyae* (Pavarino) saverlesco. *Summary in Philippine Phytopathology* 20: 3-4.

Kloepper, J.W., C.M. Ryu, and S. Zhang. 2004. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Phytopathology* 94: 1259-1266.

Miller, J.W. 1990. Bacterial brown spot of orchid caused by *Pseudomonas cattleyae.* **Plant Pathology Circular** 330.

Raj, S. N., S.A. Deepak, P. Basavaraju, H. S. Shetty, M. S. Reddy, and J. W. Kloepper. 2003. Comparative performance of formulations of plant growth promoting rhizobacteria in growth promotion and suppression of downy mildew in pearl millet. *Crop Protection.* 22: 597-588.

Shoda, M. 2000. Bacterial control of plant diseases. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 89(6): 515-521.

Willems, A., M. Goor, S. Thielemans, M. Gillis, K. Kersters, and J.D. Ley. 1992. Transfer of several phytopathogenic *Pseudomonas* species to *Acidovorax* as *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* subsp. nov., comb. nov., *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli, Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae,* and *Acidovorax konjaci. International Journal Systemic Bacterial.* 42: 107-119.

Table 1 The efficiency of antagonistic bacteria for control bacterial brown spot of orchid

กรรมวิธี	ระดับความรุนแรงของการเกิดโรค
กรรมวิธีที่ 1 ปลูกเชื้อและใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ BVB-2	3.35 ab[1/]
กรรมวิธีที่ 2 ปลูกเชื้อและใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ BVR-37	3.15 a
กรรมวิธีที่ 3 ปลูกเชื้อและใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ BVS-43	3.70 bc
กรรมวิธีที่ 4 ปลูกเชื้อและพ่นด้วยสารป้องกันกำจัดโรคพืช thiram 80% WG อัตรา 20 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร (วิธีเกษตรกร)	4.00 c
กรรมวิธีที่ 5 ปลูกเชื้อและสเปรย์ด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)	4.05 c
CV (%)	2.18

[1/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่ปรากฏอยู่ในแต่ละคอลัมน์แตกต่างกัน หมายถึง ข้อมูลดังกล่าวมีความ แตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธีDuncan's New Multiple Range Test (DMRT)

การผลิตขยายและการใช้แบคทีเรีย *Pasteuria penetrans* ไอโซเลตไทยในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita*

Production and Application of Endemic *Pasteuria penetrans* Isolates for the Control of Root-knot Nematode *Meloidogyne incognita*

ไตรเดช ข่ายทอง ธิติยา สารพัฒน์ รุ่งนภา ทองเครั่ง
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Progress report

Efficacy of endemic antagonistic bacteria *P. penetrans* for root-knot nematodes control was carried out in 2016. *P. penetrans* potato, hausa potato and chili isolates were tested against 3 *Meloidogyne incognita* populations (Tak, Chantaburi and Khon Kaen). Spore attachment of *P. penetrans* isolates to the cuticle of second stage juveniles of 3 *M. incognita* populations was tested and the highest number of spore attachment of all *P. penetrans* isolates was in Tak population. Efficacy of 3 *P. penetrans* isolates for the control of *M. incognita* population from Tak province in pot experiment in greenhouse was carried out by mixing of spores at 3,000 10,000 and 100,000 spores/1 g soil to control root-knot nematode on tomato (*Solanum lycopersicum* cv. Sida). Potato isolate of *P. penetrans* at 100,000 spores/1 g soil gave the greatest reduction in nematode number in the soil and the number of eggmasses on the root system in comparison with the untreated control. However, from the results, all *P. penetrans* isolates had potential for the control of *M. incognita* population used in this experiment in a long-term manner due to 100 percent of spore attachment on second stage juveniles when high concentration of spores was used. Moreover, all *P. penetrans* isolates gave high infection percentage in adult female nematode.

Keywords : biocontrol, parasitic bacteria, biopesticide, root-knot disease

---

รหัสการทดลอง 03-05-59-02-02-00-05-59

รายงานความก้าวหน้า

การทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตมันฝรั่ง มันขี้หนู และพริก ในการเกาะผนังลำตัวของตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* ระยะที่สอง ประชากรจาก จ. ตาก จ.จันทบุรี และ จ. ขอนแก่น และประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ประชากรจาก จ. ตาก ดำเนินการในปีงบประมาณ 2559 พบว่าสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตมันฝรั่ง มันขี้หนู และ พริก สามารถเกาะผนังลำตัวของตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ระยะที่สองประชากรจาก จ.ตาก ได้ดีที่สุด การทดสอบการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ประชากรจาก จ.ตาก ของแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลต ในกระถางทดลอง โดยการคลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรียอัตรา 3,000 10,000 และ 100,000 สปอร์ต่อดิน 1 กรัม พบว่าแบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตมันฝรั่ง อัตรา 100,000 สปอร์ต่อดิน 1 กรัม มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการลดประชากรไส้เดือนฝอยรากปมในดิน และลดการสร้างกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยรากปมบนรากมะเขือเทศได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม อย่างไรก็ตามผลการทดลองที่ได้พบว่าแบคทีเรีย *P. penetrans* ทุกไอโซเลต มีศักยภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมประชากรจาก จ. ตาก ได้ในระยะยาว เนื่องจากสปอร์ของแบคทีเรียทุกไอโซเลตสามารถเกาะผนังลำตัวของตัวอ่อนไส้เดือนฝอยในดินได้ 100 เปอร์เซ็นต์เมื่อมีปริมาณสปอร์ในดินสูง นอกจากนี้แบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลตมีเปอร์เซ็นต์ในการเข้าทำลายและสร้างสปอร์ในตัวเต็มวัยเพศเมียสูงเช่นเดียวกัน

คำหลัก : ชีววิธี แบคทีเรียปฏิปักษ์ สารชีวภัณฑ์ การกำจัดศัตรูพืช โรครากปม

คำนำ

ไส้เดือนฝอยรากปม (Root-knot nematodes: *Meloidogyne* spp.) มีพืชอาศัยมากกว่า 2,000 ชนิด แพร่ระบาดและทำลายพืชปลูกหลายชนิดในประเทศไทย เช่น พริก มะเขือเทศ มันฝรั่ง ปทุมมา และฝรั่ง เป็นต้น โดยไส้เดือนฝอยรากปมชนิดที่สำคัญ คือ *M. incognita* และ *M. javanica* แนวทางการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม นอกจากการเขตกรรม และการใช้สารเคมีแล้ว การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมแบบชีววิธีเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่มีความเป็นไปได้

แบคทีเรีย *P. penetrans* เป็นหนึ่งในศัตรูธรรมชาติที่มีการศึกษามาเป็นระยะเวลานาน และพบว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมได้ (Gowen *et al.*, 2008) *Pasteuria* spp. เป็นแบคทีเรียปรสิต ที่สร้างเอ็นโดสปอร์ ติดสีแกรมบวก เป็นปรสิตที่ต้องเจริญเติบโตในสิ่งมีชีวิตนั้นๆ เพื่อการครบวงชีวิต (obligate parasite) การจำแนกชนิดของ *Pasteuria* spp. ปัจจุบันยังไม่ชัดเจน แต่มีการแบ่งออกอย่างคร่าวๆ เป็น 6 สปีชีส์ คือ *P. ramosa* เป็นปรสิตของ water flea (*Daphnia magna*) *P. thornei* เป็นปรสิตของไส้เดือนฝอยรากแผล *Pratylenchus penetrans P. nishizawae* เป็นปรสิตของไส้เดือนฝอย *Heterodera* spp. และ *Globodera* spp. *P. usage* เป็นปรสิตของไส้เดือนฝอย *Belonolaimus longicaudatus P. hartismeri* เป็นปรสิตของไส้เดือนฝอยรากปม *M.*

ardensis สำหรับ *P. penetrans* เป็นปรสิตของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* spp. (Gowen *et al*., 2008)

Chen and Dickson (1998) ได้รวบรวมงานวิจัยเกี่ยวกับ *P. penetrans* ทั้งประวัติของแบคทีเรียชนิดนี้ รวมทั้งชีววิทยา นิเวศวิทยา และการใช้แบคทีเรียชนิดนี้ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมแบบชีววิธี *P. penetrans* เข้าทำลายไส้เดือนฝอย โดยสปอร์ที่อยู่ในดินจะเกาะติดกับผนังลำตัวของตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอย เมื่อไส้เดือนฝอยเข้าทำลายรากพืช และเริ่มชักนำเซลพืชเพื่อสร้างแหล่งอาหาร (feeding site) สปอร์ของ *P. penetrans* จะสร้าง germ tube แทงทะลุผ่านผนังลำตัวและพัฒนาเป็น dichotomous septate mycelium ในช่องว่างภายในลำตัวของไส้เดือนฝอย ต่อมา mycelium จะเข้าสู่ระยะ sporogenesis และสุดท้ายจะพัฒนาเป็น single sporangia ที่มี endospore อยู่ภายใน การสร้างสปอร์ของ *P. penetrans* ภายในตัวเต็มวัยเพศเมียของไส้เดือนฝอยรากปม จะทำลายการสร้างไข่ ทำให้ไส้เดือนฝอยไม่สามารถขยายพันธุ์ได้ และในระยะยาวจะทำให้ประชากรในดินลดลง ตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมระยะที่สอง หากมีสปอร์ของ *P. penetrans* เกาะอยู่ที่ผนังลำตัวจำนวนมาก จะทำให้ความสามารถในการเคลื่อนที่และการเข้าทำลายรากพืชลดลง (Sano and Gaspard, 1995; Adiko and Gowen, 1999)

มีรายงานถึงประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมของ *P. penetrans* ในพืชหลายชนิด เช่น มะเขือเทศ พริก ยาสูบ กระเจี๊ยบ องุ่น และข้าวสาลี เป็นต้น (Chen and Dickson, 1998) เอ็นโดสปอร์ของ *P. penetrans* สายพันธุ์ P20 จำนวน 10,000 สปอร์ต่อดิน 1 กรัม สามารถควบคุมไส้เดือนฝอย *M. arenaria* race1 ในถั่วลิสงได้ (Chen *et al*., 1996) สปอร์จำนวนน้อยของ *P. penetrans* ในดิน สามารถเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ จนถึงระดับที่สามารถควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมได้ (Chen *et al*., 1996; Oostendrop *et al*., 1991) ในการทดลองในกระถางพบว่า *P. penetrans* สามารถเพิ่มปริมาณได้มากกว่า 100 เท่า ภายใน 2-3 รอบของการปลูกพืช (Ali *et al*., 2005) ในแปลงปลูกยาสูบที่มีการระบาดอย่างรุนแรงของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* race1 และ *M. javanica* แต่ต่อมาพบว่ามีการระบาดลดลง เมื่อนำดินจากแปลงที่มีการระบาดลดลง (suppressive soil) มาวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการพบว่า *P. penetrans* เป็นปัจจัยที่ทำให้การระบาดลดลง (Weibelzahl-Fulton *et al*., 1996) กลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ได้รวบรวมและคัดเลือกแบคทีเรียชนิดนี้ในประเทศไทย เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม ซึ่งเป็นสาเหตุโรครากปมของพืชหลายชนิด ปัจจุบันได้รวบรวมแบคทีเรียชนิดนี้จากพื้นที่ต่างๆของประเทศไทยได้หลายไอโซเลต (Khaithong *et al.,* 2012) และพบว่าบางไอโซเลตสามารถลดการสร้างกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ได้ (ไตรเดช และคณะ, 2558)

Stiring and Wachtel (1980) เสนอวิธีการผลิตสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* โดยใช้ไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* spp. ที่มีสปอร์ของ *P. penetrans* เกาะบนผนังลำตัว จำนวน 5,000 ตัวต่อกระถางและแนะนำว่าสามารถปรับระดับของ inoculum เพื่อเพิ่มปริมาณการผลิตสปอร์

ได้ Alves *et al*. (2008) ศึกษาปริมาณ inoculum และอายุของต้นมะเขือเทศที่เหมาะสมในการผลิตสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* พบว่าการใช้ต้นมะเขือเทศอายุ 30 และ 45 วันปลูกในกระถางความจุ 4 ลิตร และใส่ไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* spp. ที่มีสปอร์ของ *P. penetrans* เกาะบนผนังลำตัว อัตรา 20,000 ตัวต่อกระถาง สามารถผลิตสปอร์ได้มากกว่าการใส่ไส้เดือนฝอยจำนวน 5,000 ตัวต่อกระถางถึง 19 เท่า Rodrigues *et al*. (2003) ทดสอบพืช 4 ชนิดคือ มะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum*), ยาสูบ (*Nicotiana tabacum*) แตงกวาเจอร์กิ้น (*Cucumis anguria*) และโทงเทง (*Physalis angulata*) โดยการปลูกเชื้อด้วย *Meloidogyne* spp. พบว่ามะเขือเทศและโทงเทงเป็นพืชที่เหมาะสมกับการเพิ่มปริมาณสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* มากที่สุด

โดยทั่วไปแบคทีเรีย *P. penetrans* จะมีความจำเพาะเจาะจงในการเข้าทำลายต่อไส้เดือนฝอยแต่ละสกุล Tzortzkakis *et al*. (1996) ทดสอบศักยภาพของ แบคทีเรีย *P. penetrans* ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม พบว่าการเกาะของสปอร์แบคทีเรียบนผนังลำตัวของไส้เดือนฝอยรากปมมีความแปรปรวนที่เกิดจากความหลากหลายของ biotypes ของประชากรไส้เดือนฝอยรากปม ความสัมพันธ์ของอัตราการเกาะของสปอร์ กับความเข้มข้นของสปอร์ไม่เป็นลักษณะเชิงเส้นตรง (linear) ถึงแม้ว่าจะใช้สปอร์ที่ความเข้มข้นสูง ก็ไม่สามารถมั่นใจได้ว่าสปอร์จะเกาะและเข้าทำลายไส้เดือนฝอยทุกตัว นอกจากนี้ยังพบว่าการที่มีตัวอ่อนระยะที่สองที่มีสปอร์ของแบคทีเรียติดอยู่จำนวนมาก ไม่ได้ลดการสร้างกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยได้มากขึ้นเสมอไป ทั้งนี้เป็นผลจากความแตกต่างของ biotypes ของไส้เดือนฝอยรากปม ตัวอ่อนระยะที่สองที่อาศัยอยู่ในดินหรือตัวอ่อนที่ใส่ลงในดินโดยการปลูกเชื้อ จะมีโอกาสสัมผัสกับสปอร์ของแบคทีเรียมากกว่าตัวอ่อนไส้เดือนฝอยที่ฟักออกจากกลุ่มไข่ที่อยู่ภายในหรือติดอยู่กับราก เนื่องจากตัวอ่อนที่ฟักออกมาจากกลุ่มไข่มีระยะทางในการเคลื่อนที่เข้าทำลายรากสั้นกว่า (Stirling, 1984) คุณสมบัติเหล่านี้จึงเป็นข้อจำกัดของการใช้แบคทีเรีย *P. penetrans* ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม เนื่องจากไส้เดือนฝอยรากปมมีความหลากหลายของชนิดและ biotypes ทำให้บางครั้งการใช้แบคทีเรีย *P. penetrans* เพียงอย่างเดียวในการควบคุมอาจไม่เพียงพอ (Tzortzakakis, *et al*., 1997; Cetintas and Dickson, 2004) แบคทีเรีย *P. penetrans* สามารถลดการสร้างกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยได้ แต่ไม่สามารถควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมได้อย่างสมบูรณ์ (Darban *et al*., 2005) เนื่องจากตัวอ่อนที่รอดจากการเข้าทำลายของแบคทีเรียยังคงสามารถเข้าทำลายรากและสร้างไข่ได้ในเวลาอันรวดเร็ว การใช้แบคทีเรีย *P. penetrans* ให้มีประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมจึงควรใช้ร่วมกับวิธีการอื่นๆ (Tzortzakakis and Gowen, 1994) ซึ่งสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* นั้นสามารถใช้ร่วมกับสารป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอย (Daudi and Gowen, 1992) ร่วมกับอินทรียวัตถุชนิดต่างๆ ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม (Chaudhary and Kaul, 2013) หรือร่วมกับจุลินทรีย์ปฏิปักษ์อื่นๆ ของไส้เดือนฝอยรากปมได้ (Frans *et al*., 1992)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยรากปม

เลี้ยงไส้เดือนฝอยรากปมในรากมะเขือเทศในกระถาง โดยเริ่มจาก 1 กลุ่มไข่ เพื่อให้ได้สายพันธุ์ที่บริสุทธิ์สำหรับการทดลอง ขยายเพิ่มปริมาณในรากมะเขือเทศพันธุ์สีดา แยกไข่ไส้เดือนฝอยจากรากโดยการตัดรากปมเป็นชิ้นขนาดยาวประมาณ 1 เซนติเมตร และเขย่าใน 0.52 % Sodium Hypochlorite (คลอร็อก 10%) และเก็บไข่ไส้เดือนฝอยโดยการล้างผ่านตะแกรงที่มีขนาดช่อง 25 ไมโครเมตร ด้วยน้ำสะอาด (Hussey and Barker, 1973) นำไข่ไส้เดือนฝอยใส่ลงบนตะแกรงไนลอนขนาดเล็กที่มีขนาดช่องประมาณ 25 ไมโครเมตร ซึ่งวางในจานเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เก็บตัวอ่อนระยะที่สอง ซึ่งฟักออกมาจากไข่และอยู่ในน้ำในจานเลี้ยงเชื้อไปใช้

การเตรียมสปอร์ของ *P. penetrans* เพื่อใช้ในการทดลอง

นำตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมระยะที่สองที่มีสปอร์ของ *P. penetrans* ติดอยู่ที่ผนังลำตัวโดยวิธีปั่นเหวี่ยง (Hewlett and Dickson, 1994) ไปเลี้ยงในต้นมะเขือเทศพันธุ์สีดาอายุ 30 วันที่ปลูกในดินอบฆ่าเชื้อ เก็บรากมะเขือเทศ 60 วันหลังใส่เชื้อ ล้างน้ำให้สะอาด แยกตัวเต็มวัยเพศเมียของไส้เดือนฝอยรากปมที่ถูกเข้าทำลายใส่ในหลอด microcentrifuge tube ในน้ำกลั่น บดด้วยแท่งพลาสติก ปรับความเข้มข้นของสปอร์ที่ได้ด้วยน้ำกลั่น

การย้อมรากเพื่อตรวจนับกลุ่มไข่

ย้อมรากโดยการแช่รากในสาร Phloxine B ความเข้มข้น 15 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 15 – 20 นาที ล้างด้วยน้ำสะอาด ตรวจนับจำนวนกลุ่มไข่บนรากด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope)

การตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอยภายในราก จำนวนตัวเต็มวัยเพศเมียที่ถูกเข้าทำลาย และจำนวนสปอร์ภายในตัวเต็มวัยเพศเมียที่ถูกเข้าทำลาย

ย้อมรากด้วย acid fuchsin โดยแช่รากในสารละลาย chlorox 10% 4 นาที ล้างผ่านน้ำ 45 วินาที แล้วแช่น้ำทิ้งไว้ 15 นาทีเพื่อล้างคลอร็อกซ์ออกให้หมด นำรากใส่ลงในบีกเกอร์ที่มีน้ำ 30-50 มิลลิลิตร ใส่สีย้อมราก acid fuchsin 1 มิลลิลิตร (เตรียมจาก acid fuchsin 3.5 กรัม + acetic acid 250 มิลลิลิตร + น้ำกลั่น 750 มิลลิลิตร) ต้มรากเป็นเวลา 30 วินาทีในเตาไมโครเวฟจนเดือด ตั้งทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำรากไปล้างน้ำให้สะอาด นำรากใส่ลงในบีกเกอร์ที่มี acidified glycerine 20-30 มิลลิลิตร นำไปต้มในเตาไมโครเวฟอีกครั้งจนเดือด ทิ้งไว้ให้เย็น ตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอยภายในรากโดยใช้เข็มเขี่ยแยกไส้เดือนฝอยออกจากราก และวัดเปอร์เซ็นต์ตัวเต็มวัยเพศเมียที่ถูกแบคทีเรีย *P. penetrans* เข้าทำลาย โดยสุ่มตัวเต็มวัยเพศเมียจำนวน 20 ตัว วางลงบนสไลด์แก้วปิดทับด้วยสไลด์แก้วอีกแผ่นแล้วตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงชนิดหัวกลับ (inverted microscope) ตรวจนับจำนวนสปอร์ภายในตัวเต็มวัยเพศเมีย โดยนำตัวเต็มวัยเพศเมียที่ถูกเข้าทำลาย

บดในน้ำ 0.5 มิลลิลิตร ดูดใส่ลงในหลอดทดลองแล้วเติมน้ำ 9.5 มิลลิลิตร เขย่าให้ทั่วโดยใช้เครื่องผสมสารนาน 30 วินาที ตรวจนับจำนวนสปอร์โดยใช้ Haemacytometer

การแยกตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยรากปมจากตัวอย่างดิน

แยกไส้เดือนฝอยจากตัวอย่างดินโดยคลุกเคล้าตัวอย่างดินให้ทั่ว ชั่งน้ำหนัก และกวนในน้ำ 2 ลิตร กรองน้ำส่วนบนผ่านตะแกรงโลหะที่มีขนาดช่อง 850 ไมโครเมตร วางบนตะแกรงที่มีขนาดช่อง 38 ไมโครเมตร ล้างตัวอย่างดินที่ค้างอยู่บนตะแกรงอันล่าง และนำตัวอย่างใส่ลงบนกระดาษกรอง ที่วางอยู่บนตะแกรงไนลอน วางลงในจานรองที่มีน้ำสะอาด

ทดสอบการเกาะของสปอร์แบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตต่างๆ บนผนังลำตัวของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* (2559)

วางแผนการทดลองแบบ factorial in CRD 3 x 3 จำนวน 5 ซ้ำ โดยมีปัจจัย A คือแบคทีเรีย *P. penetrans* 3 ไอโซเลต (A1, A2, A3) และปัจจัย B คือประชากรไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* 3 ประชากร (B1, B2, B3) โดยมีกรรมวิธีต่างๆ คือ

กรรมวิธีที่ 1 = A1B1 : *P. penetrans* (มันฝรั่ง) + *M. incognita* (จ.ตาก)
กรรมวิธีที่ 2 = A1B2 : *P. penetrans* (มันฝรั่ง) + *M. incognita* (จ. จันทบุรี)
กรรมวิธีที่ 3 = A1B3 : *P. penetrans* (มันฝรั่ง) + *M. incognita* (จ.ขอนแก่น)
กรรมวิธีที่ 4 = A2B1 : *P. penetrans* (มันขี้หนู) + *M. incognita* (จ.ตาก)
กรรมวิธีที่ 5 = A2B2 : *P. penetrans* (มันขี้หนู) + *M. incognita* (จ. จันทบุรี)
กรรมวิธีที่ 6 = A2B3 : *P. penetrans* (มันขี้หนู) + *M. incognita* (จ.ขอนแก่น)
กรรมวิธีที่ 7 = A3B1 : *P. penetrans* (พริก) + *M. incognita* (จ.ตาก)
กรรมวิธีที่ 8 = A3B2 : *P. penetrans* (พริก) + *M. incognita* (จ. จันทบุรี)
กรรมวิธีที่ 9 = A3B3 : *P. penetrans* (พริก) + *M. incognita* (จ.ขอนแก่น)

ทดสอบการเกาะของแบคทีเรีย *P. penetrans* 3 ไอโซเลตคือ ไอโซเลตจากมันฝรั่ง (PP122) มันขี้หนู (PP 720) และ พริก (PPR 70) กับประชากรไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* จาก 3 แหล่งคือ มันฝรั่ง จ.ตาก พริกไทย จ. จันทบุรี และมะเขือเทศ จ.ขอนแก่น โดยใช้สปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* อัตรา 20,000 สปอร์/มิลลิลิตร นำตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมระยะที่สอง 300 ตัว ใส่ลงในเซลแขวนลอยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร บ่มที่ 28°C นาน 24 ชั่วโมง กรองผ่านตะแกรงขนาดช่อง 38 ไมโครเมตรเพื่อแยกสปอร์ออกจากไส้เดือนฝอย สุ่มตรวจนับการเกาะของสปอร์แบคทีเรียจากไส้เดือนฝอย 30 ตัว

ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตต่างๆ ในการควบคุมประชากรไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* (2559)

วางแผนการทดลองแบบ CRD 9 กรรมวิธี 5 ซ้ำ โดยมีกรรมวิธีต่างๆ คือ

กรรมวิธีที่ 1 *P. penetrans* (มันฝรั่ง) อัตรา 3,000 สปอร์/ดิน 1 กรัม
กรรมวิธีที่ 2 *P. penetrans* (มันฝรั่ง) อัตรา 10,000 สปอร์/ดิน 1 กรัม

กรรมวิธีที่ 3 *P. penetrans* (มันฝรั่ง) อัตรา 100,000 สปอร์/ดิน 1 กรัม
กรรมวิธีที่ 4 *P. penetrans* (มันขี้หนู) อัตรา 3,000 สปอร์/ดิน 1 กรัม
กรรมวิธีที่ 5 *P. penetrans* (มันขี้หนู) อัตรา 10,000 สปอร์/ดิน 1 กรัม
กรรมวิธีที่ 6 *P. penetrans* (มันขี้หนู) อัตรา 100,000 สปอร์/ดิน 1 กรัม
กรรมวิธีที่ 7 *P. penetrans* (พริก) อัตรา 3,000 สปอร์/ดิน 1 กรัม
กรรมวิธีที่ 8 *P. penetrans* (พริก) อัตรา 10,000 สปอร์/ดิน 1 กรัม
กรรมวิธีที่ 9 *P. penetrans* (พริก อัตรา 100,000 สปอร์/ดิน 1 กรัม
กรรมวิธีที่ 10 ไม่คลุกดินด้วยสปอร์ของ *P. penetrans*

ย้ายมะเขือเทศพันธุ์สีดาอายุ 4 สัปดาห์ปลูกลงในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 นิ้ว ที่ใส่ดินอบฆ่าเชื้อหนัก 200 กรัมที่คลุกด้วยผงสปอร์ของ *P. penetrans* ปริมาณตามกรรมวิธี ใส่ตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยรากปมจำนวน 600 ตัว ลงในกระถาง โดยเจาะดินรอบต้นมะเขือเทศจำนวน 4 ช่อง ใช้ไปเปตหยอดตัวอ่อนไส้เดือนฝอยที่อยู่ในน้ำลงในช่องแล้วกลบดินปิด ตรวจผลการทดลอง 60 วันหลังใส่ตัวอ่อนไส้เดือนฝอย โดยวัดระดับการเกิดปมที่รากของมะเขือเทศด้วยการให้คะแนน ระดับ 0 = ไม่เกิดปม, 1 = เกิดปมเล็กน้อย (<10%), 2 =เกิดปม 11-25% ของระบบราก, 3 = เกิดปม 26-50% ของระบบราก, 4 = เกิดปม 51-75% ของระบบราก, 5 = เกิดปมมากกว่า 75% ของระบบราก ตรวจนับจำนวนตัวอ่อนระยะที่สองในดินทั้งหมด และจำนวนตัวอ่อนระยะที่สองที่มีสปอร์เกาะ ตรวจนับจำนวนกลุ่มไข่ทั้งหมดบนราก ตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอยภายในรากและวัดเปอร์เซ็นต์ตัวเต็มวัยเพศเมียของไส้เดือนฝอยรากปมที่ถูก *P. penetrans* เข้าทำลาย ทำการทดลองทั้งหมด 3 การทดลองโดยใช้ประชากรไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* จาก 3 แหล่งคือ มันฝรั่ง จ. ตาก พริกไทย จ. จันทบุรี และมะเขือเทศ จ.ขอนแก่น

วิเคราะห์ผลการทดลองด้วยวิธี Analysis of Variance และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT แปลงข้อมูลจำนวนนับให้อยู่ในรูป log (x+1) ก่อนวิเคราะห์ข้อมูล

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2558 สิ้นสุด กันยายน 255๙

กลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การเกาะของสปอร์แบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตต่างๆ บนผนังลำตัวของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita*

การทดสอบการเกาะผนังลำตัวตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมระยะที่สอง ของสปอร์แบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตมันฝรั่ง มันขี้หนู และ พริก กับประชากรไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* 3 ประชากร คือ จ.ตาก จ.จันทบุรี และ จ.ขอนแก่น พบว่าแบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตมันฝรั่ง มันขี้หนู และ พริก สามารถเกาะผนังลำตัวของตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ระยะที่สอง

ประชากรจาก จ.ตาก ได้ดีที่สุด โดยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตมันฝรั่ง มันขี้หนู และพริก สามารถเกาะผนังลำตัวของ *M. incognita* จ.ตาก เฉลี่ย 37.3 30.8 และ 9.4 สปอร์/ตัว ตามลำดับ แต่ต่าเฉลี่ยจำนวนสปอร์บนผนังลำตัวของ *P. penetrans* ไอโซเลตพริก น้อยกว่าไอโซเลตมันฝรั่งและมันขี้หนูอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 1) อย่างไรก็ตามแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลต เกาะผนังลำตัวของ *M. incognita* ประชากร จ.จันทบุรี และ จ.ขอนแก่น ได้น้อยมาก และสปอร์ของ *P. penetrans* ไอโซเลตพริก ไม่เกาะผนังลำตัวของตัวอ่อนระยะที่สอง *M. incognita* ประชากร จ.จันทบุรี ส่วนสปอร์ของ *P. penetrans* ไอโซเลตมันขี้หนู ไม่เกาะผนังลำตัวของตัวอ่อนระยะที่สอง *M. incognita* ประชากร จ.ขอนแก่น

ประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตต่างๆ ในการควบคุมประชากรไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita*

การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตมันฝรั่ง มันขี้หนู และพริก ที่ระดับปริมาณสปอร์ในดิน 3,000 10,000 และ 100,000 สปอร์/ดิน 1 กรัม ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ประชากร จ.ตาก พบว่าค่าเฉลี่ยจำนวนตัวอ่อนระยะที่สองในดินลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อปริมาณสปอร์ในดินเพิ่มขึ้น โดยกรรมวิธีที่มีจำนวนตัวอ่อนไส้เดือนฝอยในดินน้อยที่สุดคือกรรมวิธีคลุกดินด้วยสปอร์แบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตมันฝรั่ง อัตรา 100,000 สปอร์ต่อดิน 1 กรัม มีจำนวนตัวอ่อนไส้เดือนฝอยในดิน 332 ตัว รองลงมาคือกรรมวิธีคลุกดินด้วยสปอร์แบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตมันขี้หนู อัตรา 100,000 สปอร์ต่อดิน 1 กรัม มีจำนวนตัวอ่อนไส้เดือนฝอยในดิน 1,070 ตัว แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่คลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* ซึ่งมีจำนวนตัวอ่อนไส้เดือนฝอยในดิน 5,024 ตัว จำนวนกลุ่มไข่ต่อรากในกรรมวิธีคลุกดินด้วยสปอร์แบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตมันฝรั่ง อัตรา 100,000 สปอร์ต่อดิน 1 กรัม มีจำนวนน้อยที่สุดคือ 6 กลุ่มไข่ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุมซึ่งมีกลุ่มไข่ 56 กลุ่มไข่ต่อราก เปอร์เซ็นต์ตัวอ่อนระยะที่สองในดินที่มีสปอร์เกาะ เพิ่มขึ้นในกรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสปอร์ของ *P. penetrans* ทุกไอโซเลตในอัตราที่สูงขึ้น โดยเปอร์เซ็นต์ตัวอ่อนระยะที่สองในดินที่มีสปอร์เกาะสูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ในกรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสปอร์แบคทีเรีย *P. penetrans* ทุกไอโซเลต อัตรา 100,000 สปอร์ต่อดิน 1 กรัม เปอร์เซ็นต์ตัวเต็มวัยเพศเมียที่ถูกแบคทีเรีย *P. penetrans* เข้าทำลายและมีสปอร์อยู่ภายในแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในบางกรรมวิธี กรรมวิธีที่มีเปอร์เซ็นต์ตัวเต็มวัยเพศเมียที่ถูกเข้าทำลายสูงที่สุดคือ กรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสปอร์ของ *P. penetrans* ไอโซเลตมันฝรั่ง อัตรา 100,000 สปอร์ต่อดิน 1 กรัม และกรรมวิธีที่มีเปอร์เซ็นต์ตัวเต็มวัยเพศเมียที่ถูกเข้าทำลายต่ำที่สุดคือ กรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสปอร์ของ *P. penetrans* ไอโซเลตมันขี้หนู อัตรา 3,000 สปอร์ต่อดิน 1 กรัม ระดับการเกิดปมที่รากในกรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสปอร์แบคทีเรีย *P. penetrans* อัตรา 100,000 สปอร์ต่อดิน 1 กรัม จะมีระดับการเกิดปมที่รากต่ำกว่า เมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสปอร์แบคทีเรีย *P. penetrans* อัตราต่ำกว่า และกรรมวิธีที่ไม่คลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย

จากผลการทดลองที่ได้พบว่าสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* แต่ละโซเลตมีความสามารถในการเกาะผนังลำตัวของตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมระยะที่สองแตกต่างกัน ทั้งในประชากรไส้เดือนฝอยเดียวกันและต่างประชากร ซึ่งสอดคล้องกับ Tzortzkakis *et al.* (1996) ที่ทดสอบศักยภาพของแบคทีเรีย *P. penetrans* ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม พบว่าการเกาะของสปอร์แบคทีเรียบนผนังลำตัวของไส้เดือนฝอยรากปมมีความแปรปรวนที่เกิดจากความหลากหลายของ biotypes ของประชากรไส้เดือนฝอยรากปม ดังนั้นการนำแบคทีเรีย *P. penetrans* ไปใช้ในการควบคุมประชากรของไส้เดือนฝอยรากปม จำเป็นต้องตรวจสอบเบื้องต้นว่า แบคทีเรีย *P. penetrans* สามารถเกาะและเข้าทำลายไส้เดือนฝอยรากปมประชากรนั้นๆ หรือไม่

การคลุกดินด้วยสปอร์ของ *P. penetrans* ไอโซเลต มันฝรั่ง มันขี้หนู และ พริก เพื่อควบคุมประชากรไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* จาก จ.ตาก สามารถลดปริมาณตัวอ่อนไส้เดือนฝอยในดินเมื่อสิ้นสุดการทดลอง การสร้างกลุ่มไข่บนรากในเกือบทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม ยกเว้นกรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตมันฝรั่ง อัตรา 100,000 สปอร์ต่อดิน 1 กรัม ซึ่งจากผลการทดลองที่ได้สปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตมันฝรั่ง มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการใช้ควบคุมประชากรไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* จาก จ.ตาก อย่างไรก็ตามเมื่อตรวจสอบเปอร์เซ็นต์ไส้เดือนฝอยรากปมเพศเมียที่ถูกเข้าทำลายพบว่าไม่แตกต่างกันมากนักระหว่างแบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตต่างๆ ซึ่งตัวเต็มวัยเพศเมียจะมีสปอร์ของแบคทีเรียอยู่ภายในและจะออกมาสู่ดินเมื่อตัวไส้เดือนฝอยย่อยสลาย สปอร์จะเกาะผนังลำตัวของตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมในดินและเข้าทำลายต่อไป ซึ่งในระยะยาวแบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตอื่นๆ อาจสามารถควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* จาก จ.ตาก ได้ดีเช่นเดียวกัน ซึ่งสอดคล้องกับผลการตรวจตัวอ่อนระยะที่สองในดินที่มีสปอร์เกาะ พบว่าตัวอ่อนระยะที่สองมีสปอร์เกาะ 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อคลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* ทุกไอโซเลตในอัตรา 100,000 สปอร์ต่อดิน 1 กรัม จากผลการทดลองที่ได้ทำให้สามารถคาดได้ว่าแบคทีเรีย *P. penetrans* ทุกไอโซเลตจะสามารถควบคุมประชากรไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* จาก จ.ตาก ได้ในระยะยาว

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

แบคทีเรียปฏิปักษ์ *P. penetrans* ไอโซเลตไทยจากหัวมันฝรั่ง มันขี้หนูและพริก มีความแตกต่างกันในการเกาะผนังลำตัวของตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยรากปมประชากรต่างๆ การนำสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* ไปใช้ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมจึงจำเป็นต้องทดสอบว่าสปอร์ของ *P. penetrans* สามารถเกาะและเข้าทำลายไส้เดือนฝอยรากปมประชากรนั้นๆได้หรือไม่ การทดสอบแบคทีเรียปฏิปักษ์ *P. penetrans* ไอโซเลต มันฝรั่ง มันขี้หนู และพริก ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ประชากรจาก จ.ตาก พบว่าทุกไอโซเลตมีประสิทธิภาพในการ

ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมได้ โดยเมื่อมีปริมาณสปอร์ในดินสูงขึ้นจะทำให้การควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

Adiko, A. and S.R. Gowen. 1999. Effects of spores of *Pasteuria penetrans* on the motility of second-stage juveniles of *Meloidogyne incognita*. *Russian Journal of Nematology* 7:5–6.

Ali D.D., P.M. Ali, B.A. Ghaffar and M.S. Ahmed. 2005. The effect of different initial densities of nematode (*Meloidogyne javanica*) on the build-up of *Pasteuria penetrans* population. *Journal of Zhejiang University SCIENCE* 6B:113-118.

Chen, Z.X., D.W. Dickson, R. McSorley, D.J. Mitchell, and T.E. Hewlett. 1996. Suppression of *Meloidogyne arenaria* race 1 by soil application of endospores of *Pasteuria penetrans*. *Journal of Nematology* 28:159-168.

ไตรเดช ข่ายทอง ธิติยา สารพัฒน์ มนตรี เอี่ยมวิมังสา และปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์. 2558. *Pasteuria penetrans* แบคทีเรียปฏิปักษ์ของไส้เดือนฝอยรากปม. หน้า 193-200. *ใน: การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 12*. 20-22 ตุลาคม 2558 ณ โรงแรมดุสิต ไอส์แลนด์ รีสอร์ท จังหวัดเชียงราย

Adiko, A. and S.R. Gowen. 1999. Effects of Spores of *Pasteuria penetrans* on the Motility of Second- stage Juveniles of *Meloidogyne incognita*. *Russian Journal of Nematology* 7:5–6.

Ali D.D., P.M. Ali, B.A. Ghaffar and M.S. Ahmed. 2005. The Effect of Different Initial Densities of Nematode (*Meloidogyne javanica*) on the Build-up of *Pasteuria penetrans* Population. *Journal of Zhejiang University Science* 6B:113-118.

Alves, F.R., L.G. de Freitas, P.R.P. Martinelli, S. Ferras and L.A. Maffia. 2008. Influence of Inoculum Densities of *Meloidogyne* spp. and Host Plant Age on the Mass Production of *Pasteuria penetrans*. *Nematologia Brasileira* 32: 13-19.

Cetintas, R. and D. W. Dickson. 2004. Persistence and Suppressiveness of *Pasteuria penetrans* to *Meloidogyne arenaria* Race 1. *Journal of Nematology* 36: 540-549.

Chaudhary K. K. and R. K. Kaul. 2013. Efficacy of *Pasteuria penetrans* and Various Oil Seed Cakes in Management of *Meloidogyne incognita* in Chilli pepper (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Agricultural Science and Technology* 15: 617-626.

Chen, Z.X., D.W. Dickson, R. McSorley, D.J. Mitchell, and T.E. Hewlett. 1996. Suppression of *Meloidogyne arenaria* race 1 by Soil Application of Endospores of *Pasteuria penetrans*. *Journal of Nematology* 28:159-168.

Chen, Z.X. and D.W. Dickson. 1998. Review of *Pasteuria penetrans*: Biology, Ecology, and Biological Control Potential. *Journal of Nematology* 30:313-340.

Daudi, A.T. and S.R. Gowen. 1992. The Potential for Managing Root-knot Nematodes by Use of *Pasteuria penetrans* and Oxamyl. *Nematologia Mediterranea* 20: 241-244.

Frans, A. A., M. De Leij, K. G. Davies and B. R. Kerry. 1992. The Use of *Verticillium chlamydosporium* Goddard and *Pasteuria penetrans* (Thorne) Sayre & Starr Alone and in Combination to Control Plant Parasitic Root-knot Nematodes: *Meloidogyne* spp. *Fundamental and Applied Nematology* 15: 235-242.

Gowen, S, K.G. Davies and B. Pembroke. 2008. Potential Use of *Pasteuria* spp. in the Management of Plant Parasitic Nematodes. Pp. 205-219. In: Ciancio, A. and K.G. Mukerji, eds. *Integrated Management and Biocontrol of Vegetable and Grain Crops Nematodes*. Springer, Dordrecht, The Netherlands.

Hewlett, T.E. and D.W. Dickson. 1993. A Centrifugation Method for Attaching Endospores of *Pasteuria* spp. to Nematodes. *Supplement to Journal of Nematology* 25(4S): 785-788.

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.

Khaithong, T., M. Iemwimangsa, T. Sarapat, and P. Thammakijjawat. 2012. Collection of *Pasteuria penetrans* in Thailand. Page 133. *In: The International Conference on Tropical and Sub- tropical Plant Diseases*. Feb. 7-10, 2012. Chiang Mai, Thailand.

Melki, K.C., I.O. Giannakou, R. Pembroke and S.R. Gowen. 1998. The cumulative build-up of *Pasteuria penetrans* spores in root-knot nematode infested soil and the effect of soil applied fungicides on its infectivity. *Fundamental and Applied Nematology* 21: 679-683.

Oostendrop, M., D.W. Dickson and D.J. Mitchell. 1991. Population Development of *Pasteuria penetrans* on *Meloidogyne arenaria*. *Journal of Nematology* 23:58-64.

Rodrigues, A.K., L.G. Freitas, A.A. Azevedo and S. FERRAZ. 2003. Development of *Pasteuria penetrans* in *Meloidogyne* spp. Parasitizing Different Host Plants. *Fitopatologia Brasileira*. 28: 267-272.

Sano, Z. and J.T. Gaspard. 1995. Differences in Mortality and Reproduction of *Meloidogyne incognita* Infected with Varied Amounts of *Pasteuria penetrans*. *Japanese Journal of Nematology* 25:129.

Stirling G.R. and M.F. Wachtel. 1980. Mass Production of *Bacillus penetrans* for the Biological Control of Root-knot Nematodes. *Nematologica* 26:308–312.

Stirling, G.R. 1984. Biological control of *Meloidogyne javanica* by *Bacillus penetrans*. *Phytopathology* 74: 55-60.

Tzortzakakis, E. A. and S.R. Gowen. 1994. Resistance of a Population of *Meloidogyne* spp. to Parasitism by the Obligate Parasite *Pasteuria penetrans*. *Nematologica* 40:258-266.

Tzortzakakis, E. A., A. G. D. R. Channer, S. R. Gowen and R. Ahmed. 1997. Studies on the Potential Use of *Pasteuria penetrans* as a Biocontrol Agent of Root-knot Nematodes (*Meloidogyne* spp.). *Plant Pathology* 46:44–55.

Weibelzahl-Fulton, E., D.W. Dickson and E.B. Whitty. 1996. Suppression of *Meloidogyne incognita* and *M. javanica* by *Pasteuria penetrans* in Field Soil. *Journal of Nematology* 28:43-49.

Table 1 Average number of spore attachment on 30 second stage juveniles of 3 *P. penetrans* isolates (potato, hausa potato, chili) on 3 population (Tak, Chantaburi, Khon Kaen) of *M. incognita*

P. penetrans isolates	*M. incognita* population†		
	Tak	Chantaburi	Khon Kaen
Potato	37.3 a	1.7 c	0.1 c
Hausa Potato	30.8 a	0.6 c	0 c
Chili	9.4 b	0 c	0.1 c

†Numbers in the same column with the same letter are not significantly different at 95% level by DMRT

Table 2 Average number of second stage juveniles (J2) in the soil, eggmasses number on root system, percentage of spore-encumbered J2, percentage of infected female, and root gall index.

Treatment	Number of J2 in the soil †	Number of eggmasses on root system†	% spore - encumbered J2†	% infected female	Root gall index
Potato (3,000)	5,763 c	49 bc	25.0 d	68.8 ab	2.3
Potato (10,000)	4,078 c	61 bc	51.7 c	66.4 ab	2.4
Potato (100,000)	332 a	6 a	100.0 a	87.7 a	1.0
Hausa Potato (3,000)	5,660 c	51 bc	26.8 d	46.0 b	2.6
Hausa Potato (10,000)	2,286 bc	33 bc	44.4 c	59.3 ab	2.4
Hausa Potato (100,000)	1,070 ab	30 ab	100.0 a	72.0 ab	1.8
Chili (3,000)	9,727 c	52 bc	25.3 d	51.7 ab	2.7
Chili (10,000)	8,142 c	75 c	71.8 b	80.0 a	3.0
Chili (100,000)	3,456 bc	63 bc	100.0 a	84.0 a	2.2
Untreated (Control)	5,024 c	56 bc	0.0 e	0 c	2.8
F-test	**	**	**	**	
C.V. (%)	18.23	28.1	7.3	33.49	

† Numbers in the same column with the same letter are not significantly different at 95% level by DMRT

* = Significantly different at 95% level

** = Significantly different at 99% level

การใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง (*Neonothopanus nambi*) ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *(Meloidogyne incognita Chitwood)* ในพริก

Using of Spawn Luminescent Mushroom (*Neonothopanus nambi* Speg.) on Root-Knot Nematode (*Meloidogyne incognita* Chitwood) in Chilli

สุรีย์พร บัวอาจ[1/] บุษราคัม อุดมศักดิ์[1/] ไตรเดช ข่ายทอง[1/] รุ่งนภา คงสุวรรณ์[1/]
พเยาว์ พรหมพันธุ์ใจ[2/]
[1/] กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/] กลุ่มวิชาการ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 4

รายงานความก้าวหน้า

จากการทดสอบอัตราการใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสงในแปลงเพาะพริกขนาดเล็ก โดยใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง *N. nambi* อัตรา 10, 15, 20 และ 25 กิโลกรัมต่อตารางเมตร ในแปลงทดลองขนาด 1 x 2.7 เมตร โดยใช้พริกพันธุ์หัวเรือ เมื่อพริกอายุ 30 วัน พบว่าทุกอัตราการใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสงสามารถควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมได้ โดยเฉพาะกรรมวิธีการก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง อัตรา 25 กิโลกรัมต่อตารางเมตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากปมเพียง 0.36 เปอร์เซ็นต์ รองลง คือ อัตรา 20, 15 และ 10 กิโลกรัมต่อตารางเมตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากปม 0.83, 0.99 และ 2.24 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับกรรมวิธีเปรียบเทียบที่มีไส้เดือนฝอยรากปมเพียงอย่างเดียว โดยพบการเกิดปมสูง ถึง 100 เปอร์เซ็นต์

คำหลัก : ก้อนเชื้อเห็ด ไส้เดือนฝอยรากปม

รหัสการทดลอง 03-05-59-02-02-00-06-59

คำนำ

พริก (*Capsicum annuum* L.) เป็นพืชผักในวงศ์ Solanaceae ที่สามารถปลูกและเจริญเติบโตได้ดีทั่วทุกภาคของประเทศไทย และยังปลูกได้ตลอดทั้งปี แหล่งปลูกพริกที่สำคัญอยู่ในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งจังหวัดที่มีแหล่งปลูกพริกมาก ได้แก่ นครราชสีมา อุบลราชธานี ศรีสะเกษ ชัยภูมิ เชียงใหม่ นครสวรรค์ เพชรบูรณ์ เลย และกาญจนบุรี (ศศิธร, 2545) ในประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกพริกประมาณ 474,717 ไร่ ให้ผลผลิตประมาณ 333,672 ตัน มีการส่งออกทั้งในรูปผลสดและแปรรูป คิดเป็นมูลค่ากว่า 900 ล้านบาทต่อปี (วรรณภา และคณะ, 2550)

ปัญหาด้านโรคพืชที่สำคัญของพริก คือ โรครากปมที่เกิดจากไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita* Chitwood) ซึ่งส่งผลกระทบต่อพริกทั้งด้านปริมาณและคุณภาพเป็นอย่างมาก (ยุวดี และคณะ, 2550) ในปี พ.ศ. 2550 จังหวัดอุบลราชธานีประสบปัญหาการแพร่ระบาดของโรครากปมพริก พื้นที่การปลูกพริกของจังหวัดอุบลราชธานีและพื้นที่ใกล้เคียงกว่า 1,629 ไร่ เป็นสาเหตุทำให้พริกมีผลผลิตและคุณภาพลดลงตั้งแต่ร้อยละ 50-100 คิดเป็นมูลค่าความเสียหาย 50-80 ล้านบาท ทำให้เกิดความเสียหายมากถึงร้อยละ 100 (สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 4, 2550) การป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอยรากปมมีหลายวิธี เช่น การไถพรวน การไขน้ำท่วม การปลูกพืชหมุนเวียน (จรัส และคณะ, 2534) การใช้อินทรียวัตถุ การใช้พันธุ์ต้านทาน และการใช้สารเคมีเป็นต้น ซึ่งการป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอยโดยการใช้สารเคมีนั้น เป็นวิธีที่มีการลงทุนสูง และสารเคมีเหล่านี้เป็นอันตรายต่อผู้ใช้ที่ขาดความรู้และความระมัดระวัง ทำให้มีสารพิษตกค้างเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค และสภาพแวดล้อมได้ ดังนั้นการนำวิธีการอื่นที่ปลอดภัยและประหยัดค่าใช้จ่ายมาใช้ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม จึงเป็นแนวทางที่ควรให้ความสำคัญ (Jatala, 1986) การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (biological control) เป็นอีกทางเลือกหนึ่ง ที่มีการศึกษาและนำมาใช้กันมาก เนื่องจากเป็นวิธีที่ปลอดภัยต่อสิ่งมีชีวิต และไม่ทำลายสภาพแวดล้อม

ปัจจุบันได้มีข้อมูลการใช้ประโยชน์จากเห็ดเรืองแสงที่พบในเขต พื้นที่อนุรักษ์พันธุกรรมพืชโดยสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาสยามบรมราชกุมารี โดย สุรีย์พร (2546) และ วีระศักดิ์ และคณะ (2548) ได้นำเห็ดเรืองแสงในเขตโคกภูตากา ได้แก่ ไอโซเลท PW1 และไอโซเลท PW2 กับไอโซเลทที่พบในเขตมหาวิทยาลัยขอนแก่น (KKU) อีก 1 ไอโซเลท มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม (*M. incognita*) พบว่า ทุกไอโซเลทสามารถควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมได้ดี ต่อมา สุรีย์พร (2550) ได้ทดสอบประสิทธิภาพโดยใช้เส้นใยจากก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสงในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม พบว่า เส้นใยจากก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง ไอโซเลท PW2 มีประสิทธิภาพดีที่สุด คือ สามารถลดการเกิดปมที่ราก คิดเป็น 73% เมื่อสกัดและแยกสารออกฤทธิ์จากเห็ดเรืองแสง โดยใช้ Thin layer chromatography (TLC) พบสารออกฤทธิ์ที่น่าสนใจบนแผ่น TLC เมื่อนำมาทดสอบ พบว่า มีประสิทธิภาพต่อการตายของตัวอ่อนระยะที่ 2 (J2) ของไส้เดือนฝอยรากปม หลังการใช้สารละลายจากเห็ดที่สกัดได้จากแถบที่น่าสนใจ จากนั้น สุรีย์พร (2554) ได้วิเคราะห์โครงสร้างของสารด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี สรุปว่า สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีผลต่อไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ที่ได้จาก

เห็ดเรืองแสง ทั้ง 3 ไอโซเลท คือ สาร aurisin A ซึ่งพบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 500 mg/L มีผลต่อการตายของ J2 ได้ 100% ในเวลา 1 นาที จากนั้นได้จดอนุสิทธิบัตรขั้นตอนการใช้ก้อนเชื้อในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม และจดสิทธิบัตรชื่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ aurisin A เป็นที่เรียบร้อยแล้ว

Bua-art และคณะ (2012) ได้ประยุกต์ใช้ประโยชน์จากเห็ดเรืองแสง ไอโซเลท PW2 ในรูปแบบของก้อนเชื้อเห็ด เพื่อความสะดวก ประหยัดและง่ายต่อการนำไปใช้ประโยชน์ได้จริง โดยนำก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสงรองก้นหลุมก่อนปลูกพริกพันธุ์หัวเรือ ในอัตรา 10, 20, 30, 40 และ 50 กรัมต่อกระถาง จากการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การเกิดปมที่รากพริก เมื่อครบ 45 วัน หลังปลูกเชื้อด้วยไส้เดือนฝอยรากปม M. incognita จำนวน 2,000 ไข่/กระถาง พบว่า ทุกอัตราการใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง สามารถควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมได้ดี โดยเฉพาะที่อัตรา 10 กรัมต่อกระถาง สามารถควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมได้ดีที่สุด ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากปมเพียง 12.40 เปอร์เซ็นต์ และอัตราการใช้ก้อนเชื้อเห็ดรองลงมาที่อัตรา 20, 40, 30 และ 50 กรัมต่อกระถาง ให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ คือ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากปม 23.20, 25.40, 30.00 และ 30.40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งทุกอัตราการใช้ก้อนจากเชื้อเห็ดเรืองแสง มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่มีไส้เดือนฝอยรากปมเพียงอย่างเดียว หรือการใช้สารเคมี carbofuran® ที่พบการเกิดปมสูงถึง 75.60 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังนั้นจากการศึกษานี้ ชี้ให้เห็นถึงแนวทางการใช้ประโยชน์จากเห็ดเรืองแสง *N. nambi* ไปใช้ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม ซึ่งจะนำไปสู่การใช้ประโยชน์ของสารออกฤทธิ์จากเห็ดเรืองแสงได้อย่างถูกต้อง และพัฒนาต่อไปเพื่อใช้ในการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี อันจะเป็นแนวทางในการอนุรักษ์สภาพแวดล้อม เพื่อช่วยลดการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เห็ดเรืองแสง (*Neonothopanus nambi*) ไอโซเลท PW2
2. ไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*, Mi)
3. พริกพันธุ์หัวเรือ
4. อุปกรณ์ในการแยกไส้เดือนฝอย ได้แก่ ตะแกรง กรวย กล้องสเตอริโอ เป็นต้น
5. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดทดสอบ ตู้เขี่ยเชื้อ ฯลฯ
6. วัสดุในการเพาะเห็ด และโรงเรือนเพาะเห็ด
7. โรงเรือน และห้องบ่มก้อนเชื้อเห็ด
8. ดินปลูก และแปลงปลูกพริกของเกษตรกร

วิธีการ

การทดลองที่ 1 ทดสอบอัตราการใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสงในแปลงเพาะพริกขนาดเล็ก

1. เตรียมอุปกรณ์ และเตรียมเลี้ยงเชื้อเห็ดเรืองแสง *Neonothopanus nambi* ไอโซเลต PW2 ซึ่งแยกได้จากเห็ดเรืองแสง ที่พบในเขตโคกภูตากา อำเภอเวียงเก่า จังหวัดขอนแก่น โดยเลี้ยง

เชื้อเห็ดในอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) จากนั้นเก็บรักษาเชื้อเห็ดที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เพื่อสะดวกในการนำมาใช้การศึกษา

2. เตรียมก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง *N. nambi* โดยนำขวดหัวเชื้อข้าวฟ่างนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 30 นาที ปล่อยให้เย็น จากนั้นนำเชื้อเห็ดเรืองแสงที่เลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 5 วัน ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.9 เซนติเมตร เจาะตรงปลายเส้นใย แล้วใช้เข็มเขี่ยเชื้อลงในขวดข้าวฟ่าง โดยให้ชิ้นวุ้นอยู่กึ่งกลางของขวดหัวเชื้อข้าวฟ่าง ลนปากขวด ปิดจุกสำลี หุ้มกระดาษ และรัดด้วยหนังยาง บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน เส้นใยเจริญเต็มขวดข้าวฟ่าง จากนั้นย้ายเชื้อลงในก้อนเชื้อขี้เลื่อยนึ่งฆ่าเชื้อ นำหัวเชื้อข้าวฟ่างที่เส้นใยเจริญเต็มขวด เขย่าให้เมล็ดข้าวฟ่างร่วนออกจากกัน จากนั้นเทเมล็ดข้างฟ่างที่มีเชื้อเจริญเต็มขวด ประมาณ 15-20 เมล็ดลงบนก้อนเชื้อขี้เลื่อยที่นึ่งฆ่าเชื้อ แล้วนำไปเก็บในโรงบ่มเชื้อจนกว่าเส้นใยจะเดินเต็มก้อน จึงนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

3. แยกและเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*) โดยเก็บตัวอย่างโรครากปมจากแปลงปลูกพริกที่มีการระบาด ในเขตพื้นที่จังหวัดอุบลราชธานี ทำการเพิ่มปริมาณในพริกพันธุ์หัวเรือ ในแปลงทดลองขนาด 1 x 2.70 เมตร เป็นระยะเวลา 45 วัน เพื่อครบชีพจักรของไส้เดือนฝอยรากปม

4. เตรียมไข่ไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* โดยนำรากพริกที่เพิ่มปริมาณไว้ (ข้อ 3) ที่แสดงอาการรากปมและมีกลุ่มไข่สีน้ำตาลชัดเจน นำมาล้างให้สะอาด ตัดรากเป็นชิ้นสั้นๆ ขนาดประมาณ 1-2 เซนติเมตร นำมาแช่ในโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) 0.5 เปอร์เซ็นต์ แล้วใช้แท่งแก้วกวนนาน 4 นาที เพื่อละลายสารที่ห่อหุ้มไข่ให้ไข่หลุดออกจากกัน (Barker, 1985) แล้วรินผ่านตะแกรงหยาบขนาด 32 เมช (mesh) เพื่อแยกเศษรากออกจากไข่ไส้เดือนฝอย ใช้สายยางฉีดน้ำไล่ไข่ที่อยู่บนตะแกรงลงในกะละมังพลาสติก เติมน้ำลงในกะละมังพลาสติกเกือบเต็มเพื่อเจือจางสาร NaOCl ที่ตกค้างอยู่ จากนั้นเทผ่านตะแกรงละเอียดขนาด 500 เมช ใช้สายยางฉีดน้ำไล่ไข่ที่อยู่บนตะแกรงลงในกะละมังพลาสติกขนาดเล็กอีกครั้ง เติมน้ำลงในกะละมังพลาสติกเกือบเต็มแล้วเทผ่านตะแกรงละเอียดขนาด 500 เมช ทำเช่นนี้อีก 3 ครั้ง เพื่อให้มั่นใจว่าไข่ไส้เดือนฝอยที่แยกได้ปราศจาก NaOCl และครั้งสุดท้ายเมื่อเทผ่านตะแกรงละเอียดขนาด 500 เมช ใช้สายยางฉีดน้ำไล่ไข่ที่อยู่บนตะแกรงลงในบีกเกอร์ จากนั้นนำไปคำนวณหาความหนาแน่นของปริมาณไข่ไส้เดือนฝอยต่อปริมาตรน้ำ 1 มิลลิลิตร โดยสุ่มจากบีกเกอร์ 3 ครั้งๆ ละ 5 มิลลิลิตร เทใส่ถาดนับซึ่งเป็นถาดพลาสติกสี่เหลี่ยมขนาด 6x6 ตารางเซนติเมตร ที่ก้นถาดขีดเป็นช่องสี่เหลี่ยมเล็กๆ ขนาดเท่ากันที่จำนวน 16 ช่อง นับไข่ไส้เดือนฝอยใต้กล้องสเตอริโอ แล้วคำนวณย้อนกลับว่าน้ำในบีกเกอร์มีไข่จำนวนเท่าใด ต่อปริมาตร 1 มิลลิลิตร โดยใช้ค่าเฉลี่ยจากการนับ 3 ครั้ง จากนั้นเตรียมไข่ไส้เดือนฝอยให้มีความเข้มข้นประมาณ 2,000 ไข่ต่อมิลลิลิตร (โดยคำนวณจากสมการในการเตรียมความเข้มข้นของสารละลายที่ต้องการ $C_1V_1 = C_2V_2$ โดย C_1 คือ ความเข้มข้นที่มีอยู่ (ความเข้มข้นเริ่มต้น), V_1 คือ ปริมาณที่ต้องนำมาจาก

ความเข้มข้นเริ่มต้น, C_2 คือ ความเข้มข้นใหม่ที่ต้องการและ V_2 คือ ปริมาณที่ต้องการเตรียม) เก็บไว้ในบีกเกอร์ และเขย่าทุกครั้งก่อนใช้ทดสอบ

5. เตรียมแปลงเพาะพริก ขนาดแปลง 1 x 2.70 เมตร จำนวน 6 แปลง จากนั้นปลูกถั่วเขียวแทนพริก 3 เมล็ดต่อหลุม เมื่อถั่วเขียวอายุได้ 14 วัน ทำการถอนให้เหลือ สองต้นต่อหลุม จากนั้นใส่ไข่ไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* จำนวน 2,000 ฟองต่อหลุม ทั้ง 6 แปลง เมื่อถั่วเขียวอายุครบ 45 วัน ตัดต้นถั่วเขียวทิ้งโดยตัดห่างจากโคนต้นถั่วเขียวประมาณ 1 นิ้ว แล้วปรับสภาพดินเพื่อเตรียมการเพาะพริกต่อไป

6. ทดสอบอัตราการใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสงในแปลงเพาะพริก ตามที่ได้เตรียมแปลงเพาะกล้าพริกขนาดแปลงทดลองย่อย 1 x 2.7 เมตร โดยวางแผนการทดลอง Randomized Complete Block Design (RCB) ประกอบด้วย 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธี 1 ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง 10 กิโลกรัม/ตารางเมตร ผสมดินก่อนปลูกพริก

กรรมวิธี 2 ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง 15 กิโลกรัม/ตารางเมตร ผสมดินก่อนปลูกพริก

กรรมวิธี 3 ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง 20 กิโลกรัม/ตารางเมตร ผสมดินก่อนปลูกพริก

กรรมวิธี 4 ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง 25 กิโลกรัม/ตารางเมตร ผสมดินก่อนปลูกพริก

กรรมวิธี 5 ตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร (เผาแกลบ)

กรรมวิธี 6 ไม่ใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)

วิธีปฏิบัติการทดลอง นำก้อนเชื้อของเห็ดเรืองแสงที่มีเส้นใยเดินเต็มถุงมาขยี้ให้ก้อนเชื้อแยกออกจากกัน แล้วดำเนินการตามกรรมวิธีที่วางไว้ ส่วนในกรรมวิธี 6 ให้โรยด้วยแกลบดิบ แล้วเผาเป็นเวลา 7 ชม. จากนั้นกลบด้วยดิน พักดินให้เย็น จากนั้นนำเมล็ดพริกพันธุ์หัวเรือ ที่แช่เมล็ดในน้ำอุ่น 50-55 องศาเซลเซียส นาน 15-20 นาที หว่านลงในแปลง เมื่อต้นกล้าอายุ 15-20 วัน ใส่ปุ๋ยยูเรีย ดูแลตามปกติ

<u>การบันทึกข้อมูล</u> เมื่อพริกอายุ 30 วัน ประเมินดูระดับความรุนแรงของโรครากปม โดยวัดดรรชนีการเกิดปมที่ระบบรากตามวิธีของ Kinloch (1990) ซึ่งแบ่งเป็น 5 ระดับ ดังนี้ 0 ไม่มีปม, 1 มีปมเกิดขึ้นเล็กน้อย, 2 เกิดปมน้อยกว่า 25%, 3 เกิดปม 25-50%, 4 เกิดปม 50-75%, และ 5 เกิดปมมากกว่า 75% ของระบบราก

<u>การวิเคราะห์ข้อมูล</u> นำค่าเปอร์เซ็นต์การเกิดปมที่ราก ไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างโดยวิธี DMRT

เวลาและสถานที่

ดำเนินการทดลอง ระหว่างเดือนตุลาคม 2558 ถึง กันยายน 2559 ณ ห้องปฏิบัติการ และโรงเรือนทดลอง กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการทดสอบอัตราการใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสงในแปลงเพาะพริก โดยใช้เชื้อเห็ดเรืองแสง *N. nambi* อัตรา 10, 15, 20 และ 25 กิโลกรัมต่อตารางเมตร ในแปลงทดลองย่อยขนาด 1 x 2.7 เมตร ผลการทดสอบพบว่า เมื่อพริกอายุ 30 วัน ทุกอัตราการใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสงสามารถควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมได้ดี โดยเฉพาะการใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง อัตรา 25 กิโลกรัมต่อตารางเมตร โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากปมเพียง 0.36 เปอร์เซ็นต์ รองลง คือ อัตรา 20, 15 และ 10 กิโลกรัมต่อตารางเมตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากปม 0.83, 0.99 และ 2.24 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับกรรมวิธีเปรียบเทียบที่มีไส้เดือนฝอยรากปมเพียงอย่างเดียว โดยพบการเกิดปมสูง ถึง 100 เปอร์เซ็นต์

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการทดสอบการใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสงในแปลงเพาะพริก พบว่า สามารถลดการเกิดโรครากปมได้ถึง 99.64 เปอร์เซ็นต์ จากการใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง อัตรา 25 กิโลกรัมต่อตารางเมตร ซึ่งพบการเกิดรากปม เพียง 0.36 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งถือว่าได้ผลดี แต่ถ้ามองในแง่ด้านการผลิตเกษตรกรคงอยากได้ต้นกล้าที่ปลอดโรคเพื่อมาปลูกในแปลง เพราะในสภาพแปลงจริงหนีไม่พ้นปัญหาโรครากปมอยู่แล้ว ซึ่งปัจจุบันเกษตรกรที่จังหวัดอุบลราชธานี ไม่นิยมเพาะกล้าพริกในแปลงพริกขนาดย่อมแล้ว เนื่องจากในพื้นที่มีการระบาดของไส้เดือนฝอยรากปมเยอะ เกษตรกรจึงไม่อยากเสี่ยงต่อการเกิดโรคตั้งแต่การเริ่มต้นปลูก จึงยอมลงทุนเพาะพริกในกระบะเพาะ แม้จะมีต้นทุนที่สูงขึ้นแต่ได้ต้นกล้าพริกที่ปลอดจากไส้เดือนฝอยรากปม หากแต่ถ้าเกษตรกรบางรายไม่อยากลงทุนสูงตั้งแต่เริ่มปลูก แนะนำให้หว่านด้วยก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสงผสมดินก่อนเพาะเมล็ดพันธุ์พริก ก็จะสามารถลดโรครากปมได้เช่นกันก็จะเป็นผลดีต่อเกษตรกร คือ ลดต้นทุนการผลิต และลดโรคได้อีกด้วย

เอกสารอ้างอิง

จรัส ชื่นราม มนตรี เอี่ยมวิมังสา และสมควร คีรีวัลย์. 2534. การป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood ศัตรูพริกโดยวิธีการปลูกพืชหมุนเวียน. **วารสารวิชาการเกษตร** 9(2): 88-92.

ยุวดี ชูประภาวรรณ วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์ อนันต์ หิรัญสาลี และนิวัฒ เสนาะเมือง. 2550. การประเมินประสิทธิภาพเชื้อราในดินต่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* สาเหตุโรครากปมพริก. *วารสารแก่นเกษตร* 35(2): 189-195.

วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์ สุรีย์พร บัวอาจ อนันต์ หิรัญสาลี และนิวัฒ เสนาะเมือง. 2548. การศึกษาเบื้องต้นของสาร secondary metabolite จากเห็ดเรืองแสง (*Omphalotus* sp.) ต่อไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*). *วารสารเห็ดไทย*: 69-79.

วรรณภา เสนาดี อทิพัฒน์ บุญเพิ่มราศี และรุจินี สันติกุล. 2550. พริกพืชผักเศรษฐกิจชุบชีวิตชาวสวนไทย. *วารสารเคหการเกษตร* 31(12): 73-80.

ศศิธร วุฒิวณิชย์. 2545. *โรคของผักและการควบคุมโรค*. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4. 2550. *การควบคุมเมลงศัตรูพืชแบบผสมผสาน*. กรมวิชาการเกษตร.

สุรีย์พร บัวอาจ. 2546. *ผลของสาร secondary metabolite ของเห็ดเรืองแสง (Omphalotus sp.) ต่อไส้เดือนฝอยรากปม (Meloidogyne incognita Chitwood)*. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาโรคพืชวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สุรีย์พร บัวอาจ. 2550. *ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนไรโบโซมอลดีเอ็นเอของเห็ดเรืองแสง และผลของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดต่อไส้เดือนฝอยรากปม (Meloidogyne incognita Chitwood)*. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาโรคพืชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สุรีย์พร บัวอาจ. 2554. *ผลของสารออกฤทธิ์จากเห็ดเรืองแสง (Neonothopanus nambi Speg.) ต่อไส้เดือนฝอยรากปม (Meloidogyne incognita Chitwood) และสิ่งที่มีชีวิตนอกเป้าหมาย*. วิทยานิพนธ์ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

Bua-art, B. Udomsak, N. Tangchitsomkid, W. Saksirirak, S. Kanokmedhakul, and R. Lekprom. 2012. Characterization and Effect of Bioactive Compounds from Luminescent Mushroom, *Neonothopanus nambi* Speg. on Root-Knot Nematode (*Meloidogyne incognita* Chitwood) of Vegetables. Biocontrol of Plant Pathogens in Sustainable Agriculture. 24-27 June 2012, Reims Champagne Ardennes University, Reims, France.

Barker, K.R. 1985. Nematode extraction and bioassay. Pp: 19-35. *In:* K.R. Barker, C.C. Carter, and J.N. Sasser (eds.). *An Advanced Treatise on Meloidogyne, Vollume II, Methodogy*. North Carolina State University Graphics. Raleigh, North Calorina.

Jatala, P. 1986. Biological control of plant-parasitic nematodes. *Annual Review of Phytopathology* 24: 453-489.

Kinloch RA. 1990. Screening for resistance to root-knot nematodes. pp. 16–23. *In:* Starr JL, editor. *Methods for Evaluating Plant Species for Resistance to Plant-Parasitic Nematodes*. Hyattsville: The Society of Nematologists.

Table 1 Galling percentage of chili variety Haurue treated with mycelium from spawn of *Neonothopanus nambi* were evaluated at 30 days after treatment.

Treatment	Root galling (%)
luminescent mushroom spawn 10 kg/m^2	2.24 a
luminescent mushroom spawn 15 kg/m^2	0.99 a
luminescent mushroom spawn 20 kg/m^2	0.83 a
luminescent mushroom spawn 25 kg/m^2	0.36 a
Burning Rice Husk	24.06 b
untreated	100.00 c
F-test	**
C.V.(%)	10.46

Means followed by the same letter are not significant different (P>0.05, DMRT).

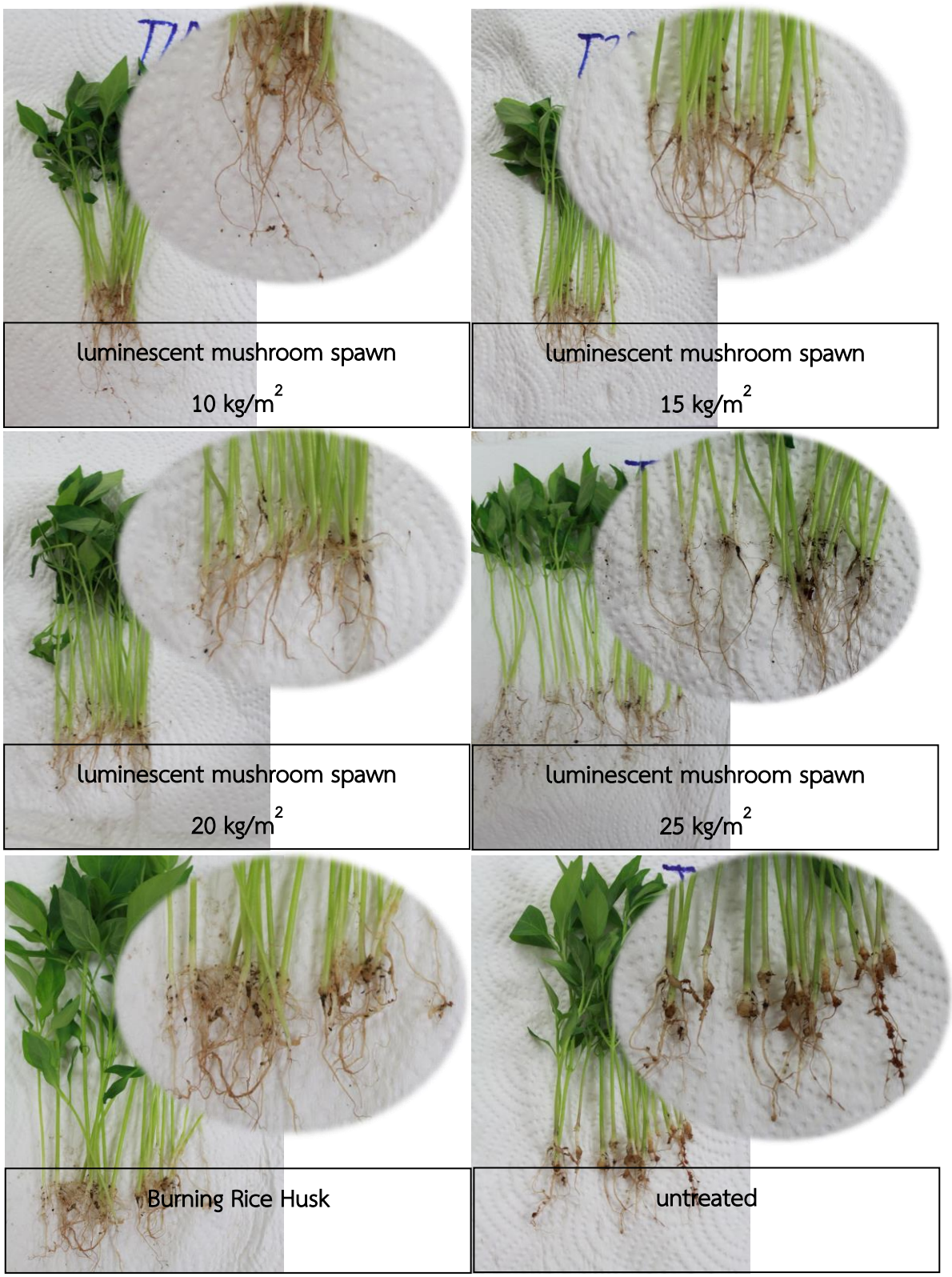


Figure 1 Root knot symptom of chili variety Haurue treated with mycelium from spawn of *Neonothopanus nambi* were evaluated at 30 days after treatment.

การทดสอบประสิทธิภาพของก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง (*Neonothopanus nambi* Speg.) ต่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita* Chitwood) ในมันฝรั่ง

Efficacy of Luminescent Mushroom Spawn, *Neonothopanus nambi* Speg. on Root-Knot Nematode (*Meloidogyne incognita* Chitwood) in Potato

สุรีย์พร บัวอาจ[1/] บุษราคัม อุดมศักดิ์[1/] ไตรเดช ข่ายทอง[1/] สิทธิศักดิ์ แสไพศาล[1/]
วราภรณ์ อุดมด์[2/]
[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรตาก สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2

รายงานความก้าวหน้า

การทดสอบอัตราการใช้เห็ดเรืองแสงในการควบคุมโรครากปมของมันฝรั่งในสภาพเรือนทดลอง โดยนำก้อนเชื้อของเห็ดเรืองแสงที่มีเส้นใยเดินเต็มถุงมาขยี้ให้ก้อนเชื้อแยกออกจากกัน แล้วรองก้นหลุมก่อนปลูกมันฝรั่ง ในอัตรา 10, 20, 30, 40 และ 50 กรัมต่อกระถาง ครบ 45 วัน สุ่มรากมันฝรั่ง 1 กรัม แล้วนำไปย้อมสี acid fuchsin เพื่อตรวจนับจำนวนกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยรากปมต่อน้ำหนักราก พบว่า กรรมวิธีที่ใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสงในอัตรา 40 และ 30 กรัมต่อกระถาง ให้ผลดีที่สุด และไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารเคมี ซึ่งพบระดับความรุนแรงของโรครากปมเพียง 26.00 และ 45.40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนการใช้สารเคมี มีระดับความรุนแรงของโรครากปม 20.80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับกรรมวิธีเปรียบเทียบที่มีไส้เดือนฝอยรากปมเพียงอย่างเดียว ซึ่งพบระดับความรุนแรงของโรครากปม ถึง 203 เปอร์เซ็นต์

คำหลัก : มันฝรั่ง เห็ดเรืองแสง ไส้เดือนฝอยรากปม

รหัสการทดลอง 03-05-59-02-02-00-07-59

คำนำ

มันฝรั่ง (potato: *Solanum tuberosum*) จัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของโลก เดิมเป็นพืชพื้นเมืองของทวีป อเมริกา ต่อมาได้มีการขยายปลูกกันอย่างแพรหลาย โดยเฉพาะประเทศจีนที่มีผลผลิตมาก เป็นอันดับดับหนึ่งของโลก โดยมีแนวโน้มของปริมาณความต้องการที่เพิ่มสูงขึ้นในอนาคต ทุกวันนี้มันฝรั่งเป็นพืชที่มีความสำคัญเป็นอันดับ 4 รองจากข้าวโพด ข้าวเจ้า และข้าวสาลี ซึ่งปลูกอยู่ใน 150 ประเทศทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทย (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2541) การปลูกมันฝรั่งในประเทศไทย มี 2 ประเภท คือ การปลูกสำหรับบริโภคสด และการปลูกเพื่อส่งโรงงานแปรรูป เกษตรกรในภาคเหนือ นิยมปลูกมัน ฝรั่ง เนื่องจากให้ผลตอบแทนสูงเมื่อเทียบกับพืชอื่นๆ หลายชนิด โดยจะมีกำไรอยู่ระหว่าง 6,000-9,000 บาท ต่อไร่ แหล่งปลูกที่สำคัญอยู่ในจังหวัดเชียงใหม่และตาก ซึ่งมีผลผลิตรวมกัน ประมาณร้อยละ 90 ของผลผลิตทั้งหมด (วินิจ, 2551)

ปัญหาสำคัญในการเพิ่มผลผลิตต่อไร่ของมันฝรั่ง คือ โรครากปมที่เกิดจากไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita* Chitwood) ซึ่งส่งผลกระทบทั้งด้านปริมาณและคุณภาพเป็นอย่างมาก (Ingham และคณะ, 2557)

การป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอยรากปมมีหลายวิธี เช่น การไถพรวน การไขน้ำท่วม การปลูกพืชหมุนเวียน (จรัส และคณะ, 2534) การใช้อินทรียวัตถุ การใช้พันธ์ต้านทาน และการใช้สารเคมีเป็นต้น (นิรมิต, 2529) ซึ่งการป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอยโดยการใช้สารเคมีนั้น เป็นวิธีที่มีการลงทุนสูง และสารเคมีเหล่านี้เป็นอันตรายต่อผู้ใช้ที่ขาดความรู้และความระมัดระวัง ทำให้มีสารพิษตกค้างเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค และสภาพแวดล้อมได้ ดังนั้นการนำวิธีการอื่นที่ปลอดภัยและประหยัดค่าใช้จ่ายมาใช้ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม จึงเป็นแนวทางที่ควรให้ความสำคัญ (Jatala, 1986) การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (biological control) เป็นอีกทางเลือกหนึ่ง ที่มีการศึกษาและนำมาใช้กันมาก เนื่องจากเป็นวิธีที่ปลอดภัยต่อสิ่งมีชีวิต และไม่ทำลายสภาพแวดล้อม

ปัจจุบันได้มีการศึกษาโดยการนำสารพิษจากเห็ดเรืองแสงมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมของพืชหลายชนิด สุรีย์พร (2550) ได้ศึกษาถึงประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์จากเห็ดเรืองแสง *Neonothopanus nambi* จำนวน 3 ไอโซเลต ได้แก่ PW1, PW2 และ KKU พบว่า การใช้ culture filtrates จากเห็ดเรืองแสง ไอโซเลต PW1 ปริมาตร 30 มิลลิลิตรต่อกระถาง สามารถลดจำนวนการเกิดปมที่รากได้ดีที่สุด คิดเป็น 81 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการทดสอบประสิทธิภาพโดยใช้เส้นใยจากก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสงควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมในมะเขือเทศ พบว่า ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง ไอโซเลต PW2 ที่ผสมดินในอัตรา 30 กรัมต่อกระถาง มีประสิทธิภาพดีที่สุด คือสามารถลดจำนวนการเกิดปมที่รากคิดเป็น 73 เปอร์เซ็นต์ และต่อมาได้มีการศึกษาประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดเรืองแสง *N. nambi* ต่อไส้เดือนฝอยรากปม (*M. incognita*) ในพริกผลพบว่า หลังปลูกเชื้อด้วยเส้นใยจากก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง *N. nambi* ที่อัตรา 10, 20, 30, 40 และ 50 กรัมต่อกระถาง พบว่า ทุกอัตราการใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง สามารถควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมได้ทุกอัตรา โดยเฉพาะที่อัตรา 10 กรัมต่อกระถาง สามารถลดจำนวนการเกิดปมที่รากได้ดีที่สุด คือ 84.6 เปอร์เซ็นต์

โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดปมเพียง 12.40 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติ และเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่มีไส้เดือนฝอยรากปมเพียงอย่างเดียว หรือการใช้สารเคมี carbofuran® พบการเกิดปมสูงถึง 75.60 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังนั้นจากการศึกษานี้ชี้ให้เห็นถึงแนวทางการนำเอาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดเรืองแสง *N. nambi* ไปใช้ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม ซึ่งจะนำไปสู่การใช้ประโยชน์ของสารออกฤทธิ์จากเห็ดเรืองแสงได้อย่างถูกต้อง และพัฒนาต่อไปเพื่อใช้ในการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี อันจะเป็นแนวทางในการอนุรักษ์สภาพแวดล้อม เพื่อช่วยลดการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชในที่สุด

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เห็ดเรืองแสง (*Neonothopanus nambi*) ไอโซเลท PW2
2. ไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*, Mi)
3. มันฝรั่งพันธุ์แอตแลนติค
4. อุปกรณ์ในการแยกไส้เดือนฝอย ได้แก่ ตะแกรง กรวย กล้องสเตอริโอ เป็นต้น
5. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดทดสอบ ตู้เขี่ยเชื้อ ฯลฯ
6. วัสดุในการเพาะเห็ด และโรงเรือนเพาะเห็ด
7. โรงเรือน และห้องบ่มก้อนเชื้อเห็ด
8. ดินปลูก และกระถางดินปลูก

วิธีการ

การทดลองที่1 การทดสอบอัตราการใช้เห็ดเรืองแสงในการควบคุมโรครากปมของมันฝรั่งในสภาพเรือนทดลอง

1. เตรียมอุปกรณ์ และเตรียมเลี้ยงเชื้อเห็ดเรืองแสง *Neonothopanus nambi* ไอโซเลต PW2 ซึ่งแยกได้จากเห็ดเรืองแสง ที่พบในเขตโคกภูตากา อำเภอเวียงเก่า จังหวัดขอนแก่น โดยเลี้ยงเชื้อเห็ดในอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) จากนั้นเก็บรักษาเชื้อเห็ดที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เพื่อสะดวกในการนำมาใช้การศึกษา

2. เตรียมก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง *N. nambi* โดยนำขวดหัวเชื้อข้าวฟ่างนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 30 นาที ปล่อยให้เย็น จากนั้นนำเชื้อเห็ดเรืองแสงที่เลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 5 วัน ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.9 เซนติเมตร เจาะตรงปลายเส้นใย แล้วใช้เข็มเขี่ยเชื้อลงในขวดข้าวฟ่าง โดยให้ชิ้นวุ้นอยู่กึ่งกลางของขวดหัวเชื้อข้าวฟ่าง ลนปากขวด ปิดจุกสำลี หุ้มกระดาษ และรัดด้วยหนังยาง บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน เส้นใยเจริญเต็มขวดข้าวฟ่าง จากนั้นย้ายเชื้อลงในก้อนเชื้อขี้เลื่อยนึ่งฆ่าเชื้อ นำหัวเชื้อข้าวฟ่างที่เส้นใยเจริญเต็มขวด เขย่าให้เมล็ดข้าวฟ่างร่วนออกจากกัน เทเมล็ดข้างฟ่างที่มีเชื้อ

เจริญเต็มขวด ประมาณ 15-20 เมล็ดลงบนก้อนเชื้อขี้เลื่อยที่นึ่งฆ่าเชื้อ แล้วนำไปเก็บในโรงบ่มเชื้อจนกว่าเส้นใยจะเดินเต็มก้อน จึงนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

3. เตรียมไข่ไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* นำไส้เดือนฝอยที่แยกได้จากมันฝรั่งมาขยายและเพิ่มปริมาณในต้นมะเขือเทศ จากนั้นเมื่อต้นมะเขือเทศอายุ 45 วัน นำรากมะเขือเทศที่แสดงอาการรากปม และมีกลุ่มไข่สีน้ำตาลชัดเจน นำมาล้างให้สะอาด ตัดรากเป็นชิ้นสั้นๆ ขนาดประมาณ 1-2 เซนติเมตร นำมาแช่ในโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) 0.5 เปอร์เซ็นต์ แล้วใช้แท่งแก้วกวนนาน 4 นาที เพื่อละลายสารที่ห่อหุ้มไข่ให้ไข่หลุดออกจากกัน (Barker, 1985) แล้วรินผ่านตะแกรงหยาบขนาด 32 เมช (mesh) เพื่อแยกเศษรากออกจากไข่ไส้เดือนฝอย ใช้สายยางฉีดน้ำไล่ไข่ที่อยู่บนตะแกรงลงในกะละมังพลาสติก เติมน้ำลงในกะละมังพลาสติกเกือบเต็มเพื่อเจือจางสาร NaOCl ที่ตกค้างอยู่ จากนั้นเทผ่านตะแกรงละเอียดขนาด 500 เมช ใช้สายยางฉีดน้ำไล่ไข่ที่อยู่บนตะแกรงลงในกะละมังพลาสติกขนาดเล็กอีกครั้ง เติมน้ำลงในกะละมังพลาสติกเกือบเต็มแล้วเทผ่านตะแกรงละเอียดขนาด 500 เมช ทำเช่นนี้อีก 3 ครั้ง เพื่อให้มั่นใจว่าไข่ไส้เดือนฝอยที่แยกได้ปราศจาก NaOCl และครั้งสุดท้ายเมื่อเทผ่านตะแกรงละเอียดขนาด 500 เมช ใช้สายยางฉีดน้ำไล่ไข่ที่อยู่บนตะแกรงลงในบีกเกอร์ จากนั้นนำไปคำนวณหาความหนาแน่นของปริมาณไข่ไส้เดือนฝอยต่อปริมาตรน้ำ 1 มิลลิลิตร โดยสุ่มจากบีกเกอร์ 3 ครั้งๆ ละ 5 มิลลิลิตร เทใส่ถาดนับซึ่งเป็นถาดพลาสติกสี่เหลี่ยมขนาด 6x6 ตารางเซนติเมตร ที่ก้นถาดขีดเป็นช่องสี่เหลี่ยมเล็กๆ ขนาดเท่ากันที่จำนวน 16 ช่อง นับไข่ไส้เดือนฝอยใต้กล้องสเตอริโอ แล้วคำนวณย้อนกลับว่าน้ำในบีกเกอร์มีไข่จำนวนเท่าใด ต่อปริมาตร 1 มิลลิลิตร โดยใช้ค่าเฉลี่ยจากการนับ 3 ครั้ง จากนั้นเตรียมไข่ไส้เดือนฝอยให้มีความเข้มข้นประมาณ 2,000 ไข่ต่อมิลลิลิตร (โดยคำนวณจากสมการในการเตรียมความเข้มข้นของสารละลายที่ต้องการ $C_1V_1 = C_2V_2$ โดย C_1 คือ ความเข้มข้นที่มีอยู่ (ความเข้มข้นเริ่มต้น), V_1 คือ ปริมาณที่ต้องนำมาจากความเข้มข้นเริ่มต้น, C_2 คือ ความเข้มข้นใหม่ที่ต้องการและ V_2 คือ ปริมาณที่ต้องการเตรียม) เก็บไว้ในบีกเกอร์ และเขย่าทุกครั้งก่อนใช้ทดสอบ

4. เตรียมหัวพันธุ์มันฝรั่ง ใช้หัวมันฝรั่งพันธุ์แอตแลนติค ซึ่งเป็นพันธุ์ที่มีการปลูกมากที่สุดในประเทศไทย ซึ่งเป็นพันธุ์อ่อนแอ และมีการระบาดของโรครากปมอย่างรุนแรง

5. การทดสอบ โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCB) ประกอบด้วย 8 กรรมวิธี จำนวน 5 ซ้ำ

กรรมวิธี 1 ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง อัตรา 10 กรัม/กระถาง+Mi 3,000 ฟอง/กระถาง

กรรมวิธี 2 ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง อัตรา 20 กรัม/กระถาง+Mi 3,000 ฟอง/กระถาง

กรรมวิธี 3 ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง อัตรา 30 กรัม/กระถาง+Mi 3,000 ฟอง/กระถาง

กรรมวิธี 4 ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง อัตรา 40 กรัม/กระถาง+Mi 3,000 ฟอง/กระถาง

กรรมวิธี 5 ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง อัตรา 50 กรัม/กระถาง+Mi 3,000 ฟอง/กระถาง

กรรมวิธี 6 สารเคมี cadusafos 0.25 กรัม/กระถาง+Mi 3,000 ฟอง/กระถาง

กรรมวิธี 7 ใส่เฉพาะ Mi 3,000 ฟอง/กระถาง อย่างเดียว (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)

กรรมวิธี 8 ไม่ใส่เชื้อ+ไม่ใส่ Mi (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)

วิธีปฏิบัติการทดลอง นำก้อนเชื้อของเห็ดเรืองแสงที่มีเส้นใยเดินเต็มถุงมาขยี้ให้ก้อนเชื้อแยกออกจากกันแล้วคลุกเคล้าให้เข้ากัน จากนั้นเตรียมดินปลูกลงในกระถางดิน ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 20 เซนติเมตร ตามด้วยอัตราของก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสงที่กำหนด คือ 10, 20, 30, 40 และ 50 กรัมต่อกระถาง โดยการรองก้นหลุมก่อนปลูกด้วยหัวพันธุ์มันฝรั่ง ที่เตรียมไว้ข้างต้น จำนวน 1 หัวต่อกระถาง จากนั้นใช้ micropipette ดูดไข่ไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ปริมาตร 3,000 ไมโครลิตร (มีความเข้มข้นของไข่ไส้เดือนฝอยประมาณ 3,000 ไข่ต่อมิลลิลิตร) รองก้นกระถางด้วยถาดรอง และดูแลรดน้ำตามปกติ

การบันทึกข้อมูล เมื่อมันฝรั่งอายุครบ 45 วัน ล้างรากมันฝรั่ง จากนั้นตัดรากแล้วนำรากมาชั่ง 1 กรัม จึงนำไปย้อมสีเพื่อตรวจนับจำนวนกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยรากปมต่อน้ำหนักราก เพื่อวัดระดับความรุนแรงของโรครากปมในมันฝรั่ง

การวิเคราะห์ข้อมูล นำค่าจำนวนกลุ่มไข่ที่นับได้ ไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างโดยวิธี DMRT

เวลาและสถานที่

ดำเนินการทดลอง ระหว่างเดือนตุลาคม 2558 ถึง กันยายน 2559 ณ ห้องปฏิบัติการ และโรงเรือนทดลอง กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดสอบอัตราการใช้เห็ดเรืองแสงในการควบคุมโรครากปมของมันฝรั่งในสภาพเรือนทดลอง โดยนำก้อนเชื้อของเห็ดเรืองแสงที่มีเส้นใยเดินเต็มถุงมาขยี้ให้ก้อนเชื้อแยกออกจากกัน แล้วรองก้นหลุมก่อนปลูกด้วยหัวพันธุ์มันฝรั่ง ในอัตรา 10, 20, 30, 40 และ 50 กรัมต่อกระถาง เมื่อมันฝรั่งอายุครบ 45 วัน ทำการล้างรากมันฝรั่ง จากนั้นตัดรากแล้วนำรากมาชั่ง 1 กรัม จึงนำไปย้อมสีเพื่อตรวจนับจำนวนกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยรากปมต่อน้ำหนักราก เพื่อวัดระดับความรุนแรงของโรครากปมในมันฝรั่ง พบว่า กรรมวิธีที่ใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสงในอัตรา 40 และ 30 กรัมต่อกระถาง ให้ผลดีสุดและไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารเคมี ซึ่งพบระดับความรุนแรงของโรครากปมเพียง 26.00 และ 45.40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนการใช้สารเคมี มีระดับความรุนแรงของโรครากปม 20.80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับกรรมวิธีเปรียบเทียบที่มีไส้เดือนฝอยรากปมเพียงอย่างเดียว ซึ่งพบระดับความรุนแรงของโรครากปม ถึง 203 เปอร์เซ็นต์ (Table 1)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง อัตรา 40 และ 30 กรัมต่อกระถาง ให้ผลดีไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารเคมี ซึ่งพบระดับความรุนแรงของโรครากปมเพียง 26.00 และ 45.40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับกรรมวิธีเปรียบเทียบที่มีไส้เดือนฝอยรากปมเพียงอย่างเดียว พบระดับความรุนแรงของโรครากปม ถึง 203 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นการทดสอบในสภาพแปลงควรใช้อัตราของก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสงในช่วง 30, 35, 40 และ 45 กรัม เพื่อทราบอัตราที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดและประหยัดต้นทุน

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2541. *การปลูกมันฝรั่ง*. พิมพ์ครั้งที่ 1 กรุงเทพฯ :โรงพิมพ์ชุมนุม สหกรณ์การเกษตร แห่งประเทศไทย.

จรัส ชื่นราม มนตรี เอี่ยมวิมังสา และสมควร คีรีวัลย์. 2534. การป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood ศัตรูพริกโดยวิธีการปลูกพืชหมุนเวียน. *วารสารวิชาการเกษตร* 9(2): 88-92.

นิรมิต ประทุมรัตน์. 2529. แนวทางในการควบคุมไส้เดือนฝอยศัตรูพืชโดยชีววิธี. *วารสารแก่นเกษตร* (4): 175-180.

วินิจ วงกลม. 2551. *การใช้เทคโนโลยีการผลิตมันฝรั่งส่งโรงงานแปรรูปของเกษตรกร อำเภอพบพระ จังหวัดตาก*. สำนักงานเกษตรจังหวัดตาก กรมส่งเสริมการเกษตร.

สุรีย์พร บัวอาจ. 2550. *ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนไรโบโซมอลดีเอ็นเอของเห็ดเรืองแสง และผลของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดต่อไส้เดือนฝอยรากปม (Meloidogyne incognita Chitwood)*. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาโรคพืชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

Barker, K.R. 1985. Nematode extraction and bioassay. Pp: 19-35. *In:* K.R. Barker, C.C. Carter, and J.N. Sasser (eds.). *An Advanced Treatise on Meloidogyne, Vollume II, Methodogy*. North Carolina State University Graphics. Raleigh, North Calorina.

Ingham, R. E., P. B. Hamm, M. Baune, N. L. David and N. M Wade. 2007. Control of Meloidogyne Chitwoodi in potato with shank-injected metam sodium and other nematicides. *Journal of Nematology* 39(2): 161–168.

Jatala, P. 1986. Biological control of plant-parasitic nematodes. *Annual Review of Phytopathology* 24: 453-489.

Table 1 The severity of root-knot nematodes (*Meloidogyne incognita*; Mi) of potato after inoculation with 3,000 eggs at 45 days.

Treatment	numbers of egg masses of the root-knot nematode (Mi) at 1 g/ root weight
luminescent mushroom spawn at 10 g/pot	197.40 c
luminescent mushroom spawn at 20 g/pot	167.40 cb
luminescent mushroom spawn at 30 g/pot	45.40 a
luminescent mushroom spawn at 40 g/pot	26.00 a
luminescent mushroom spawn at 50 g/pot	145.80 b
cadusafos 0.25 g/pot	20.80 a
Mi 3,000 eggs only	203.20 c
untreated	0.00 a
F-test	**
C.V.(%)	36.62

Means followed by the same letter are not significant different (P>0.05, DMRT).

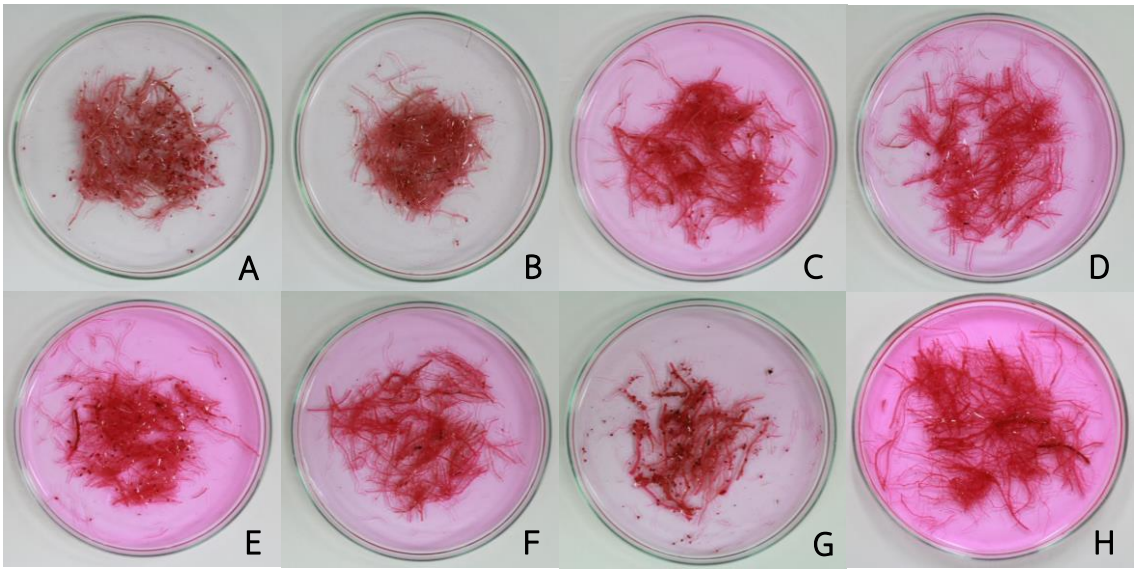


Figure 1 Root knot symptom of potato treated with mycelium from spawn of *Neonothopanus nambi* were evaluated at 45 days after staining of acid fuchsin.

A: luminescent mushroom spawn at 10 g
B: luminescent mushroom spawn at 20 g
C: luminescent mushroom spawn at 30 g
D: luminescent mushroom spawn at 40 g
E: luminescent mushroom spawn at 50 g
F: cadusafos at 0.25 g
G: *Meloidogyne incognita* only
H: untreated

การสังเคราะห์เทคโนโลยีการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูโดยชีววิธีในหน่อไม้ฝรั่ง

Synthesizing Technology of Using Biological Control on Insect Pest of Asparagus

สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี[1/] ภัทรพร สรรพนุเคราะห์[1/] สาทิพย์ มาลี[1/] รจนา ไวยเจริญ[1/]
นันทนัช พินศรี[1/] สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต[1/] เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์[1/] ประภัสสร เชยคำแหง[1/]
อิศเรส เทียนทัด[1/] วิไลวรรณ เวชยันต์[1/] พัชรีวรรณ จงจิตเมตต์[1/] สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น[2/]
[1/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การสังเคราะห์เทคโนโลยีการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูโดยชีววิธีในหน่อไม้ฝรั่ง ได้ทำการศึกษาปัจจัยทางสังคมและเศรษฐกิจของเกษตรกรในพื้นที่โครงการ เพื่อให้ทราบถึงความรู้เกี่ยวกับการควบคุมศัตรู พืชโดยชีววิธีของเกษตรกร ทัศนคติในการใช้ชีววิธีในการควบคุมศัตรู พืชของเกษตรกร การปฏิบัติเกี่ยวกับการใช้ชีววิธีในการควบคุมศัตรู พืชของเกษตรกร ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมศัตรู พืชโดยชีววิธี และปัญหาและข้อเสนอแนะของเกษตรกร ใช้วิธีการสุ่มตัวอย่างแบบง่าย จำนวนกลุ่มตัวอย่าง 50 ราย เครื่องมือเก็บรวบรวมข้อมูลใช้แบบสัมภาษณ์ วิเคราะห์ข้อมูล โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล ได้แก่ ค่าร้อยละ ค่าความถี่ ค่าเฉลี่ย ค่าต่ำสุด ค่าสูงสุด ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และหาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรโดยใช้วิธีการวิเคราะห์การถดถอยพหุคูณ จากแบบสอบถามพบว่า เกษตรกรผู้ตอบแบบสอบส่วนใหญ่เป็นเพศชาย มีอายุเฉลี่ยมากกว่า 50 ปีขึ้นไป การศึกษาอยู่ในระดับประถมศึกษา มีสมาชิกในครอบครัวเฉลี่ย 4.6 คน การใช้แรงงานในหน่อไม้ฝรั่งเฉลี่ย 2.6 คน รายได้ส่วนใหญ่มาจากผลผลิตจากหน่อไม้ฝรั่งและพืชผลทางการเกษตรอื่นๆ ส่วนใหญ่เป็นสมาชิกในกลุ่มต่างๆ ได้แก่ กลุ่มสหกรณ์/ธกส. กลุ่มเกษตรกร และกลุ่มธรรมชาติ โดยมีแหล่งเงินทุนจาก ธกส. และแหล่งเงินกู้อื่นๆ ในปีที่ผ่านมาเคยได้รับความรู้จากการบรรยาย สาธิต และฝึกอบรมเรื่องที่เกี่ยวกับหน่อไม้ฝรั่งเฉลี่ย 1.8 ครั้ง เคยได้รับข้อมูลข่าวสารเกี่ยวกับการปลูกหน่อไม้ฝรั่งจากเจ้าหน้าที่ส่งเสริมการเกษตรของรัฐ เจ้าหน้าที่บริษัทเอกชน เอกสารเผยแพร่และเพื่อนบ้านตามลำดับ ความรู้ความเข้าใจของเกษตรกรผู้ปลูกหน่อไม้ฝรั่งต่อวิธีการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่งโดยชีววิธีอย่างไร พบว่าเกษตรกรมีความเข้าใจการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่งโดยชีววิธีระดับปานกลาง ส่วนใหญ่เคยนำวิธีป้องป้องกันกำจัดแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่งโดยชีววิธีมาใช้ในแปลงในระดับปานกลาง การได้รับความรู้เกี่ยวกับการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่งโดยชีววิธีจากหน่วยงานราชการที่เกี่ยวข้องในระดับปานกลางถึงมาก โดยเกษตรกรคิดว่าการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่งโดยชีววิธีจะช่วยเพิ่มราคาผลผลิตให้ดีขึ้น ช่วยลดต้นทุนการผลิต และคิดว่า

รหัสการทดลอง 03-05-59-03-00-00-01-59

การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่งโดยชีววิธีมีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงศัตรูพืชอย่างยั่งยืน ผลผลิตจากการปลูกหน่อไม้ฝรั่งที่ใช้วิธีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชชีววิธีดีกว่าวิธีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชอย่างเดียว โดยโครงการการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่งโดยชีววิธีสอดคล้องตามความต้องการและความคาดหวังของเกษตรกร โดยสรุปเกษตรกรมีความพึงพอใจในระดับปานกลางต่อการดำเนินงานตามโครงการการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่งโดยชีววิธีของภาครัฐ

การทดสอบเทคโนโลยีการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีในหน่อไม้ฝรั่ง ดำเนินการทดสอบในแปลงเกษตรกรที่จังหวัดนครปฐม 1 แปลง จังหวัดกาญจนบุรี 3 แปลง ตลอดการศึกษาทุกแปลงในโครงการพบว่ามีการระบาดของแมลงศัตรูพืชไม่แตกต่างกัน โดยพบการระบาดเพลี้ยไฟตลอดฤดูกาลผลิต และพบหนอนบางชนิดในปริมาณต่ำได้แก่ หนอนกระทู้หอมและหนอนร่าน

คำหลัก : การสังเคราะห์เทคโนโลยี ชีววิธี หน่อไม้ฝรั่ง

คำนำ

การผลิตชีวผลิตภัณฑ์ไวรัส เอ็นพีวี นอกจากต้องผลิตเชื้อให้มีความเข้มข้นและมีคุณภาพตรงตามมาตรฐานแล้ว ยังต้องคำนึงถึงสูตรสำเร็จรูปก่อนบรรจุในบรรจุภัณฑ์เพื่อนำไปวางจำหน่ายหรือแจกจ่าย เนื่องไวรัส เอ็นพีวี ผลิตจากตัวหนอนซึ่งเป็นแมลงอาศัยโดยตรง ประสิทธิภาพของไวรัส เอ็นพีวี จะคงที่อยู่ได้นานเพียงใดขึ้นอยู่กับการทำสูตรสำเร็จ (formulation) ซึ่งโดยหลักการผลิตจุลินทรีย์กำจัดแมลงนั้น จุลินทรีย์ที่ผลิตได้ควรเก็บไว้ได้นานเกินกว่า 12 เดือน (Hunter-Fujita *et al.*,1998) ดังนั้นการพัฒนาส่วนผสมต่างๆของไวรัส เอ็นพีวีนี้ จึงมีวัตถุประสงค์หลายประการ อาทิ เพิ่มประสิทธิภาพให้กับเชื้อเมื่อนำไปฉีดพ่นในสภาพไร่ และชลอการเสื่อมสภาพของชีวผลิตภัณฑ์ให้มีอายุการเก็บยาวนานขึ้น ประการสำคัญ เนื่องจากประเทศไทยมีสภาพอากาศร้อนชื้น ทำให้ชีวผลิตภัณฑ์เสื่อมสภาพได้ง่าย การวิจัยเพื่อพัฒนาสูตรสำเร็จเพื่อให้เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไวรัส เอ็นพีวี ในสภาพอากาศร้อนในประเทศไทยจึงมีความสำคัญมากกว่าประเทศที่มีอากาศเย็น อย่างในยุโรปและอเมริกา รูปแบบการทำสูตรสำเร็จที่เหมาะสมของแต่ละชนิดจุลินทรีย์และสภาพแวดล้อมมีส่วนสำคัญต่อการเก็บรักษาและต่อประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ชนิดนั้นๆ (ทิพย์วดี, 2549) การใช้ Mixture design เพื่อพัฒนาหาสูตรที่เหมาะสม โดยเฉพาะกรณีส่วนผสมที่มีมากกว่า 1 ชนิด เป็นวิธีการที่เหมาะสมในการหาส่วนผสมที่มีหลายชนิด โดยเฉพาะเมื่อส่วนผสมมีการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วน ส่วนผสมที่เหลือย่อมมีการเปลี่ยนแปลงด้วย และผลรวมทั้งหมดจะเท่ากับ 1 หรือ 100 เปอร์เซ็นต์ (ศิริลักษณ์, 2533) ดังนั้นชีวผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาสูตรสำเร็จรูปนี้ จะช่วยให้การใช้ชีวผลิตภัณฑ์เป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ โดยประสิทธิภาพในการทำลายแมลงศัตรูพืชไม่ลดลง เพิ่มศักยภาพในการเข้าทำลายแมลงศัตรูพืชเมื่อเทียบกับสูตรดั่งเดิมที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน และยืดอายุการเก็บรักษาได้นานขึ้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แปลงหน่อไม้ฝรั่งในจังหวัดนครปฐมและกาญจนบุรี
2. ชีวภัณฑ์ ได้แก่ มวนพิฆาต แมลงช้างปีกใส แตนเบียนไข่ *Trichogramma* sp. แบคทีเรีย บีที เชื้อไวรัส ไวรัส เอ็นพีวี ชนิดหนอนกระทู้หอม และหนอนเจาะสมอฝ้าย, สารกำจัดโรคพืช Carbendazim
3. ปุ๋ยเคมีสูตร 16-16-16 และปุ๋ยอินทรีย์
4. สารเคมีอื่นๆ ได้แก่ กาวเหนียวดักแมลงและสารเพิ่มฤทธิ์ เป็นต้น

วิธีการ แบ่งเป็น 3 ขั้นตอน คือ

วิธีปฏิบัติการทดลอง มีดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 สำรวจสภาวะการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่งและเก็บรวบรวมข้อมูลเบื้องต้นของเกษตรกร

1.1 จัดทำบัญชีรายชื่อเกษตรกรผู้ปลูกหน่อไม้ฝรั่งใน อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม และ อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี แล้วสุ่มตัวอย่างเกษตรกรมาจังหวัดละ 25 ราย รวมทั้งหมด 50 ราย

1.2 สร้างแบบสอบถามเกี่ยวกับการปลูกหน่อไม้ฝรั่งโดยเน้นแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่ง แล้วทดสอบแบบสอบถามพร้อมปรับแก้ให้เหมาะสมก่อนนำไปใช้สำรวจเกษตรกร

1.3 เก็บรวบรวมข้อมูลด้วยแบบสัมภาษณ์ โดยใช้วิธีสัมภาษณ์จากเกษตรกรผู้ปลูกหน่อไม้ฝรั่งที่สุ่มเลือกมาจากข้อ 1.1 จำนวนจังหวัดละ 25 ราย รวมทั้งสิ้น 50 ราย

1.4 วิเคราะห์ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป เพื่อหาค่าสถิติพื้นฐาน ได้แก่ ค่าร้อยละ ค่าเฉลี่ย ค่าสูงสุด-ค่าต่ำสุด และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน แล้วสรุปประเมินผลเพื่อกำหนดแนวทางการดำเนินงานและคัดเลือกพื้นที่เป้าหมายสำหรับดำเนินการต่อไป

ขั้นตอนที่ 2 หลังจากที่ทราบปัญหาของแมลงศัตรูพืชในหน่อไม้ฝรั่ง.ในขั้นตอนที่ 1 จึงได้นำปัญหามาสังเคราะห์ แล้วทำแปลงทดสอบเพื่อสังเคราะห์เทคโนโลยี โดยใช้เทคโนโลยีการป้องกันกำจัดแมลงโดยชีววิธี

2.1 เลือกเกษตรกรจากที่ได้คัดเลือกมาจากข้อ 1 จังหวัดละ 3 ราย รวมทั้งหมด 6 ราย มาชี้แจงทำความเข้าใจ โดยอธิบายรายละเอียดของโครงการ พร้อมทั้งถ่ายทอดความรู้หลักการป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยชีววิธี

2.2 ดำเนินการสังเคราะห์เทคโนโลยีป้องกันกำจัดแมลงโดยชีววิธีในแปลงเกษตรกรทั้ง 3 ราย โดยแบ่งแปลงของเกษตรกรในแต่ละรายออกเป็น 2 ส่วน คือ

2.2.1 แปลงสังเคราะห์ ดำเนินงานโดยใช้พื้นที่แปลงละ 1 ไร่ จำนวน 6 แปลง อยู่ในจังหวัดนครปฐมและจังหวัดกาญจนบุรี จังหวัดละ 3 แปลง ติดตั้งกับดักกาวเหนียวสีเหลืองขนาดกว้าง 10 ซม. และยาว 10 ซม. ในอัตรา 80 กับดักต่อไร่ โดยทำการตรวจนับแมลงศัตรูพืชทุกสัปดาห์ทั้งในกับดักและในแปลง เมื่อพบแมลงศัตรูพืชให้ปฏิบัติดังนี้

<u>เพลี้ยไฟ</u> เมื่อพบตัวเต็มวัยในกับดัก หรือพบตัวเต็มวัยหรือตัวอ่อนในแปลง

- ปล่อยมวนตัวห้ำ *Orius* sp. อัตรา 800-1,000 ตัวต่อไร่
- หลังจากปล่อยมวนตัวห้ำแล้วพบว่าประชากรเพลี้ยไฟยังคงสูงขึ้น ให้พ่นด้วยน้ำสบู่กำจัดแมลง (Insecticidal soap) อัตรา 100-200 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นทุก 3 วัน ติดต่อกัน 2-3 ครั้ง (สาลี่, 2558)

<u>แมลงหวี่ขาว</u> เมื่อพบตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวในกับดัก หรือพบตัวเต็มวัยหรือตัวอ่อนในแปลง

- ปล่อยมวนตัวห้ำ *Orius* sp. อัตรา 800-1,000 ตัวต่อไร่
- หลังจากปล่อยมวนตัวห้ำแล้วพบว่าประชากรเพลี้ยไฟยังคงสูงขึ้น ให้พ่นด้วยน้ำสบู่กำจัดแมลง (Insecticidal soap) อัตรา 100-200 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร ติดต่อกัน 2-3 ครั้ง

<u>หนอนกระทู้ผัก</u> เนื่องจากหนอนมีขนาดใหญ่ จึงก่อให้เกิดความเสียหายต่อพืชอย่างรุนแรง โดยที่มีนิสัยชอบหลบซ่อนในตอนกลางวัน จึงมักรอดพ้นจากสารเคมีกำจัดแมลง และสามารถสร้างความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลงได้ดี

- เมื่อสำรวจพบหนอนกระทู้ผักในแปลง ให้ปล่อยมวนพิฆาตวัย 3 อัตรา 3,200 ตัวต่อไร่
- เมื่อพบว่าประชากรหนอนกระทู้ผักถึงระดับเศรษฐกิจ จึงเริ่มพ่นเชื้อไวรัส เอ็นพีวี หนอนกระทู้ผัก อัตรา 60 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง หรือแบคทีเรีย บีที อัตรา 60-100 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร หรือแบคทีเรีย บีที อัตรา 60-100 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร ทุกสัปดาห์

<u>หนอนกระทู้หอม</u> พบเข้าทำลายในระยะหน่อไม้เริ่มแทงหน่อหลังจากพักต้น โดยกัดกินทำลายบริเวณยอด

- เมื่อสำรวจพบหนอนกระทู้ผักในแปลง ให้ปล่อยมวนพิฆาตวัย 3 อัตรา 3,200 ตัวต่อไร่
- เมื่อพบว่าประชากรหนอนกระทู้หอมเกิน 3 ตัวต่อกอ จึงเริ่มพ่นเชื้อไวรัส เอ็นพีวี หนอนกระทู้หอม อัตรา 30 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง ทุกสัปดาห์

<u>หนอนเจาะสมอฝ้าย</u> มักพบระบาดเป็นครั้งคราวในระยะที่หน่อไม้ฝรั่งติดดอกและผล หนอนจะกัดกินยอดอ่อนหรือผลของหน่อไม้ฝรั่ง และยังพบว่าเมื่อหนอนเคลื่อนที่ลงโคนต้นจะกัดกินหน่ออ่อนที่เพิ่งโผล่พ้นผิวดิน ทำให้เกิดความเสียหายจำหน่ายไม่ได้

- สำรวจตรวจนับกลุ่มไข่หนอนเจาะสมอฝ้ายทุกสัปดาห์ เมื่อพบกลุ่มไข่หนอนให้เริ่มปล่อยแตนเบียนไข่ *Trichogramma* spp. อัตรา 40,000-60,000 ตัวต่อไร่ จำนวน 4-6 ครั้งต่อฤดู
- เมื่อสำรวจพบหนอนกระทู้ผักในแปลง ให้ปล่อยมวนพิฆาตวัย 3 อัตรา 3,200 ตัวต่อไร่

- และเมื่อพบว่าประชากรหนอนเจาะสมอฝ้ายระบาดไม่ลดลง จึงเริ่มพ่นเชื้อไวรัสเอ็นพีวี หนอนเจาะสมอฝ้าย อัตรา 30 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง หรือแบคทีเรีย บีที อัตรา 60-100 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร ทุกสัปดาห์

การปฏิบัติดูแลป้องกันกำจัดโรคพืชและวัชพืชในแปลงสังเคราะห์ให้ปฏิบัติตามคำแนะนำในเอกสารการจัดการศัตรูหน่อไม้ฝรั่งเพื่อการส่งออก ปี 2556 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2.2.2 แปลงเกษตรกร ใช้พื้นที่ของเกษตรกรรายเดียวกับที่ใช้เป็นแปลงสังเคราะห์ โดยใช้พื้นที่ขนาดแปลงละ 1 ไร่ จำนวน 6 แปลงเช่นเดียวกัน แต่ให้เกษตรกรเป็นผู้ดูแลปฏิบัติตามวิธีที่ตนเองปฏิบัติอยู่เดิม โดยทำการตรวจนับแมลงศัตรูพืชในแปลงทุกสัปดาห์

<u>การเก็บข้อมูล</u>

- บันทึกจำนวนแมลงศัตรูพืชที่พบบนกับดักและในแปลงปลูกทุกสัปดาห์ทั้งแปลงสังเคราะห์และแปลงเกษตรกร

- บันทึกรายละเอียดการใช้ศัตรูธรรมชาติและการใช้สารเคมีกำจัดแมลงของเกษตรกรทุกครั้งตลอดระยะการทดลอง

- บันทึกผลผลิตเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์เปรียบเทียบแต่ละปัจจัยระหว่างแปลงสาธิตกับแปลงเกษตรกร โดยใช้สถิติทดสอบ T-test ด้วยโปรแกรมสถิติ

ขั้นตอนที่ 3 การประเมินผลโครงการและประชุมเกษตรกรเพื่อถ่ายทอดเทคโนโลยีและแลกเปลี่ยนข้อมูล มีขั้นตอนการดำเนินงานดังนี้

- สำรวจทัศนคติและความพึงพอใจของเกษตรกรหลังสิ้นสุดโครงการด้วยการสัมภาษณ์โดยใช้แบบสอบถาม

- ประชุมสรุปผลการดำเนินงานและแลกเปลี่ยนข้อมูลร่วมกันระหว่างเกษตรกรและผู้ดำเนินงาน

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา : ตุลาคม 2558 – กันยายน 2559

สถานที่ : แปลงเกษตรกรจังหวัดนครปฐมและกาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากแบบสอบถามที่แยกวิเคราะห์ตามหัวข้อแบบสอบถาม ดังนี้ **ข้อมูลส่วนตัวของผู้ปลูกหน่อไม้ฝรั่ง** พบว่าเกษตรกรผู้ตอบแบบสอบส่วนใหญ่เป็นเพศชาย มีอายุเฉลี่ยมากกว่า 50 ปีขึ้นไป การศึกษาอยู่ในระดับประถมศึกษา มีสมาชิกในครอบครัวเฉลี่ย 4.6 คน การใช้แรงงานในหน่อไม้ฝรั่งเฉลี่ย 2.6 คน รายได้ส่วนใหญ่มาจากผลผลิตจากหน่อไม้ฝรั่งและพืชผลทางการเกษตรอื่นๆ ส่วนใหญ่เป็นสมาชิกในกลุ่มต่างๆ ได้แก่ กลุ่มสหกรณ์/ธกส. กลุ่มเกษตรกร และกลุ่มธรรมชาติ โดยมีแหล่ง

เงินทุนจาก ธกส. และแหล่งเงินกู้อื่นๆ ในปีที่ผ่านมาเคยได้รับความรู้จากการบรรยาย สาธิต และฝึกอบรมเรื่องที่เกี่ยวกับหน่อไม้ฝรั่งเฉลี่ย 1.8 ครั้ง เคยได้รับข้อมูลข่าวสารเกี่ยวกับการปลูกหน่อไม้ฝรั่งจากเจ้าหน้าที่ส่งเสริมการเกษตรของรัฐ เจ้าหน้าที่บริษัทเอกชน เอกสารเผยแพร่ และเพื่อนบ้านตามลำดับ

ข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับหน่อไม้ฝรั่ง ที่ตั้งแปลงปลูกหน่อไม้ฝรั่งในโครงการอยู่ในพื้นที่ จ.นครปฐมและกาญจนบุรี ลักษณะการถือครองที่ดินมีเอกสารสิทธิ์เป็น นส.3 ก และ โฉนด ขนาดพื้นที่ปลูกหน่อไม้ฝรั่งทั้งหมด 1.8 ไร่ ประวัติการใช้ประโยชน์พื้นที่ก่อนปลูกหน่อไม้ฝรั่ง ปลูกแทนพืชผัก ที่นา และหน่อไม้ฝรั่ง ลักษณะสภาพพื้นที่ปลูกหน่อไม้ฝรั่งที่ราบ ที่ราบ มีน้ำท่วมขังในฤดูฝน พันธุ์หน่อไม้ฝรั่งที่ใช้ปลูก **บร็อคอินพรู๊ฟ** และอื่นๆ แหล่งที่มาของพันธุ์หน่อไม้ฝรั่งได้จากขยายพันธุ์เองหรือจากแหล่งเชื่อถือได้จากหน่วยงานของรัฐ การใส่ปุ๋ยหน่อไม้ฝรั่งโดยพิจารณาจากอายุหน่อไม้ฝรั่ง สำหรับแมลงศัตรูหน่อไม้ที่สำคัญเรียงตามลำดับได้แก่ เพลี้ยไฟ แมลงหวี่ขาว และหนอนกระทู้หอม **ความรู้ความเข้าใจของเกษตรกรผู้ปลูกหน่อไม้ฝรั่งต่อวิธีการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่งโดยชีววิธีอย่างไร** พบว่าเกษตรกรมีความเข้าใจการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่งโดยชีววิธีระดับปานกลาง เคยนำวิธีป้องป้องกันกำจัดแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่งโดยชีววิธีมาใช้ในแปลงในระดับปานกลาง การได้รับความรู้เกี่ยวกับการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่งโดยชีววิธีจากหน่วยงานราชการที่เกี่ยวข้องในระดับปานกลางถึงมาก โดยเกษตรกรคิดว่าการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่งโดยชีววิธีจะช่วยเพิ่มราคาผลผลิตให้ดีขึ้น ช่วยลดต้นทุนการผลิต และคิดว่าการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่งโดยชีววิธีมีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงศัตรูพืชอย่างยั่งยืน ผลผลิตจากการปลูกหน่อไม้ฝรั่งที่ใช้วิธีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชชีววิธีดีกว่าวิธีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชอย่างเดียว โดยโครงการการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่งโดยชีววิธีสอดคล้องตามความต้องการและความคาดหวังของเกษตรกร โดยสรุปเกษตรกรมีความพึงพอใจในระดับปานกลางต่อการดำเนินงานตามโครงการการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่งโดยชีววิธีของภาครัฐ

การทดสอบเทคโนโลยีการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูโดยชีววิธีในหน่อไม้ฝรั่ง ดำเนินการทดสอบในแปลงเกษตรกรในจังหวัดนครปฐม 3 แปลง จังหวัดกาญจนบุรี 3 แปลง โดยในแต่ละรายแบ่งแปลงออกเป็นสองส่วนเท่าๆ กัน โดยแปลงแรกเป็นแปลงสังเคราะห์เทคโนโลยีที่ใช้เทคโนโลยีการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่งโดยชีววิธี และแปลงส่วนที่สองดำเนินการตามวิธีของเกษตรกร ผลการทดลองพบว่า เกษตรกรในจังหวัดนครปฐมไม่สามารถดำเนินการได้ตลอดโครงการ เหลือเพียงเกษตรกร 1 ราย เนื่องจากการระบาดของโรคต้นไหม้อย่างรุนแรง ทำให้เกษตรกรต้องไถพืชทิ้งโดยปลูกพืชอื่นทดแทน สำหรับเกษตรกรในจังหวัดกาญจนบุรีที่เข้าร่วมโครงการทั้ง 3 ราย สามารถดำเนินการจนสิ้นสุดฤดูกาล รวมเกษตรกรที่เข้าร่วมโครงการทั้งหมด 4 โครงการ ตลอดการศึกษาทุกแปลงในโครงการพบการระบาดของแมลงศัตรูพืชไม่แตกต่างกัน โดยพบการระบาดเพลี้ยไฟค่อนข้างสูงตลอดฤดูกาลผลิต และพบหนอนบางชนิดในปริมาณต่ำเพียง 2 ชนิด ได้แก่ หนอนกระทู้หอมและหนอนร่าน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การสังเคราะห์เทคโนโลยีการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูโดยชีววิธีในหน่อไม้ฝรั่ง ได้ทำการศึกษาปัจจัยทางสังคมและเศรษฐกิจของเกษตรกรในพื้นที่โครงการ เพื่อให้ทราบถึงความรู้เกี่ยวกับการควบคุมศัตรู พืชโดยชีววิธีของเกษตรกร ทัศนคติในการใช้ชีววิธีในการควบคุมศัตรู พืชของเกษตรกร การปฏิบัติเกี่ยวกับการใช้ชีววิธีในการควบคุมศัตรู พืชของเกษตรกร ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมศัตรู พืชโดยชีววิธี และปัญหาและข้อเสนอแนะของเกษตรกร ใช้วิธีการสุ่มตัวอย่างแบบง่าย จำนวนกลุ่มตัวอย่าง 50 ราย จากแบบสอบถามพบว่า เกษตรกรผู้ตอบแบบสอบส่วนใหญ่เป็นเพศชาย มีอายุเฉลี่ยมากกว่า 50 ปีขึ้นไป การศึกษาอยู่ในระดับประถมศึกษา มีสมาชิกในครอบครัวเฉลี่ย 4.6 คน การใช้แรงงานในหน่อไม้ฝรั่งเฉลี่ย 2.6 คน รายได้ส่วนใหญ่มาจากผลผลิตจากหน่อไม้ฝรั่งและพืชผลทางการเกษตรอื่นๆ ส่วนใหญ่เป็นสมาชิกในกลุ่มต่างๆ ได้แก่ กลุ่มสหกรณ์/ธกส. กลุ่มเกษตรกร และกลุ่มธรรมชาติ โดยมีแหล่งเงินทุนจาก ธกส. และแหล่งเงินกู้อื่นๆ ในปีที่ผ่านมาเคยได้รับความรู้จากการบรรยาย สาธิต และฝึกอบรมเรื่องที่เกี่ยวกับหน่อไม้ฝรั่งเฉลี่ย 1.8 ครั้ง เคยได้รับข้อมูลข่าวสารเกี่ยวกับการปลูกหน่อไม้ฝรั่งจากเจ้าหน้าที่ส่งเสริมการเกษตรของรัฐ เจ้าหน้าที่บริษัทเอกชน เอกสารเผยแพร่ และเพื่อนบ้านตามลำดับ ความรู้ความเข้าใจของเกษตรกรผู้ปลูกหน่อไม้ฝรั่งต่อวิธีการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่งโดยชีววิธีอย่างไร พบว่าเกษตรกรมีความเข้าใจการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่งโดยชีววิธีระดับปานกลาง ส่วนใหญ่เคยนำวิธีป้องป้องกันกำจัดแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่งโดยชีววิธีมาใช้ในแปลงในระดับปานกลาง การได้รับความรู้เกี่ยวกับการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่งโดยชีววิธีจากหน่วยงานราชการที่เกี่ยวข้องในระดับปานกลางถึงมาก โดยเกษตรกรคิดว่าการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่งโดยชีววิธีจะช่วยเพิ่มราคาผลผลิตให้ดีขึ้น ช่วยลดต้นทุนการผลิต และคิดว่าการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่งโดยชีววิธีมีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงศัตรูพืชอย่างยั่งยืน ผลผลิตจากการปลูกหน่อไม้ฝรั่งที่ใช้วิธีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชชีววิธีดีกว่าวิธีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชอย่างเดียว โดยโครงการการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่งโดยชีววิธีสอดคล้องตามความต้องการและความคาดหวังของเกษตรกร โดยสรุปเกษตรกรมีความพึงพอใจในระดับปานกลางต่อการดำเนินงานตามโครงการการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่งโดยชีววิธีของภาครัฐ

การทดสอบเทคโนโลยีการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูโดยชีววิธีในหน่อไม้ฝรั่ง ผลการทดลองตลอดการศึกษาพบว่า ทุกแปลงในโครงการมีการระบาดของแมลงศัตรูพืชไม่แตกต่างกัน โดยพบการระบาดเพลี้ยไฟตลอดฤดูกาลผลิต และพบหนอนบางชนิดในปริมาณต่ำ ได้แก่ หนอนกระทู้หอมและหนอนร่

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านในหน่วยปฏิบัติงานจุลินทรีย์กำจัดแมลง อาคารวิจัยและพัฒนาศัตรูธรรมชาติ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่ให้การสนับสนุนในการทำวิจัยครั้งนี้จนสำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

ทิพย์วดี อรรถธรรม. 2549. ไวรัสของแมลง : นิวคลีโอโพลิฮีโดรไวรัส. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 395 น.

ศิริลักษณ์ สินธวาลัย. 2533. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ทางโภชนาการ. ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 264 น.

สาลี่ ชินสถิต. 2558. การผลิตพืชอินทรีย์. กลุ่มพัฒนาระบบตรวจรับรองมาตรฐานการผลิต กองพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าพืช กรมวิชาการเกษตร. 57 น.

Gudauskas, R. T. and D. Canerday. 1968. The effect of heat, buffer salt and H-ion concentration and ultraviolet and ultraviolet light on the infectivity of *Heliothis* and *Trichoplusia* nuclear polyhedrosis viruses. J. Inverterbrate pathol. 12 (3): 405-411.

Hunter-Fujita, F.R., Enteistle, P.F., Evans,H.F. and Crook, N.E. 1998. Insect Viruses and Pest Management. John Wiley & Sons, Inc., New York. 620 p.

Montgomery, D.C. 2005. Design and analysis of experiments. 6th ed. John Wiley & Sons.Inc. USA

ภาคผนวก

ตารางที่1 ความรู้ความเข้าใจของเกษตรกรผู้ปลูกหน่อไม้ฝรั่งต่อวิธีการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่งโดยชีววิธี

ทัศนคติของเกษตรกรผู้ปลูกหน่อไม้ฝรั่ง	ระดับความคิดเห็น					mean	S.D.	ความหมาย
	มากที่สุด	มาก	ปานกลาง	น้อย	น้อยที่สุด			
1. ท่านมีความเข้าใจการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่งโดยชีววิธีมากน้อยอย่างไร	20 (40%)	-	30 (60%)	-	-	3.8	.85	ปานกลาง
2. ท่านเคยนำวิธีป้องป้องกันกำจัดแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่งโดยชีววิธีมาใช้ในแปลงของท่านมากน้อยอย่างไร	-	10 (20%)	30 (60%)	10 (20%)	-	2.8	.56	ปานกลาง

ตารางที่1 ความรู้ความเข้าใจของเกษตรกรผู้ปลูกหน่อไม้ฝรั่งต่อวิธีการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่งโดยชีววิธี (ต่อ)

ทัศนคติของเกษตรกรผู้ปลูกหน่อไม้ฝรั่ง	ระดับความคิดเห็น					mean	S.D.	ความหมาย
	มากที่สุด	มาก	ปานกลาง	น้อย	น้อยที่สุด			
3. การได้รับความรู้เกี่ยวกับการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่งโดยชีววิธีจากหน่วยงานราชการที่เกี่ยวข้อง	-	20 (40%)	20 (40%)	10 (20%)	-	3.2	.64	ปานกลางถึงมาก
4. ท่านคิดว่าการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่งโดยชีววิธีจะช่วยเพิ่มราคาผลผลิตให้ดีขึ้น	-	20 (40%)	30 (60%)	-	-	3.4	.8	ปานกลาง
5. การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่งโดยชีววิธีจะช่วยในการลดต้นทุนการผลิต	-	30 (60%)	20 (40%)	-	-	3.4	.74	มาก
6. การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่งโดยชีววิธีมีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงศัตรูพืชอย่างยั่งยืน	10 (20%)	20 (40%)	20 (40%)	-	-	3.8	.66	ปานกลางถึงมาก
7. ผลผลิตจากการปลูกหน่อไม้ฝรั่งที่ใช้วิธีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชชีววิธีดีกว่าวิธีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชอย่างเดียว	10 (20%)	10 (20%)	30 (60%)	-	-	3.8	.72	ปานกลาง

ตารางที่1 ความรู้ความเข้าใจของเกษตรกรผู้ปลูกหน่อไม้ฝรั่งต่อวิธีการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่งโดยชีววิธี (ต่อ)

ทัศนคติของเกษตรกรผู้ปลูกหน่อไม้ฝรั่ง	ระดับความคิดเห็น					mean	S.D.	ความหมาย
	มากที่สุด	มาก	ปานกลาง	น้อย	น้อยที่สุด			
8. โครงการการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่งโดยชีววิธีสอดคล้องตามความต้องการและความคาดหวังของท่าน	10 (20%)	-	30 (60%)	10 (20%)	-	3.2	.57	ปานกลาง
9. โดยสรุปท่านมีความพึงพอใจมากน้อยเพียงใดในการดำเนินงานตามโครงการการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่งโดยชีววิธีของภาครัฐ	-	20 (40%)	30 (60%)	-	-	3.4	.98	ปานกลาง

การคัดเลือกสารป้องกันกำจัดโรคพืชเพื่อป้องกันกำจัดโรคโคนเน่าและหัวเน่ามันสำปะหลังที่เกิดจากรา *Phytophthora melonis*

Screening Fungicides for Control of Cassava Soft Root Rot caused by *Phytophthora melonis*

อมรรัชฎ์ คิดใจเดียว[1/] สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ[1/] พรพิมล อธิปัญญาคม[2/]
เมธาพร พุฒขาว[3/] พิมพา ธิตานนท์[1/]
[1/] กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/] ผู้เชี่ยวชาญ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[3/]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพัทลุง สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 8

Abstract

Cassava soft root rot is new important diseases in Thailand. It can cause serious problem in many varieties of cassava and identified as *Phytophthora melonis.* Eleven fungicides were selected and tested for their effectiveness in inhibiting the growth of *P. melonis* on culture media by poison food technique at the recommended rate in the laboratory condition. The results showed that eight fungicides could completely inhibit the mycelial growth of the fungus, including dimethomorph 50% WP rate of 10 grams per 20 liters of water, cymoxanil + mancozeb 72% WP rate of 50 grams per 20 liters of water, fosetyl-Al 80% WP rate of 50 grams per 20 liters of water, metalaxyl 25% WP rate of 40 grams per 20 liters of water, phosphonic acid 40% W/V SL rate of 65 ml. per 20 liters of water, metalaxyl + mancozeb 72% WG rate of 80 grams per 20 liters of water, etridiazole 24% W/V EC rate of 20 ml per 20 liters of water and iprodione 50% WP rate of 60 grams per 20 liters of water. Then, eight fungicides used for efficacy test on cassava stalks were conducted under greenhouse conditions by randomized complete block design with 4 replicates. The results showed that iprodione 50% WP rate of 60 grams per 20 liters of water can be detected *P. melonis*.

Keywords : fungicide, Soft root rot, Cassava, *Phytophthora melonis*

โครงการวิจัยเร่งด่วน

บทคัดย่อ

การทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดโรคพืช 11 ชนิด (ที่อัตราแนะนำตามฉลาก) ในการยับยั้งการเจริญเส้นใยของรา *Phytophthora melonis* สาเหตุโรคโคนเน่าและหัวเน่าของมันสำปะหลัง โดย poisoned food technique ในห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ พบว่า มี 8 ชนิด ที่สามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยของรา *P. melonis* ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ สาร dimethomorph 50% WP อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร สาร cymoxanil+mancozeb 72% WP อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร สาร fosetyl-Al 80% WP อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร สาร metalaxyl 25% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร สาร phosphonic acid 40% W/V SL อัตรา 65 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร สาร metalaxyl +mancozeb 72% WG อัตรา 80 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร สาร etridiazole 24% W/V EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ สาร iprodione 50% WP อัตรา 60 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืชในเรือนทดลองโดยวางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ พบว่า การใช้ iprodione 50% WP อัตรา 60 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร สามารถตรวจพบรา *P. melonis* บนเหง้ามันสำปะหลัง

คำหลัก : สารป้องกันกำจัดโรคพืช โรคโคนเน่าและหัวเน่า มันสำปะหลัง *Phytophthora melonis*

คำนำ

มันสำปะหลัง (cassava; tapioca : *Manihot esculenta* (L.) Crantz) เป็นพืชหัวชนิดหนึ่งเป็นพืชอาหารที่สำคัญอันดับ 5 รองจากข้าวสาลี ข้าวโพด ข้าว และมันฝรั่ง มันสำปะหลังเป็นพืชไร่เศรษฐกิจพืชหนึ่งที่สำคัญของประเทศไทย มีพื้นที่ปลูกมากกว่า 7.6 ล้านไร่ต่อปี ผลผลิตเฉลี่ย 3.7 ตันต่อไร่ พื้นที่ปลูกส่วนใหญ่อยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มีพื้นที่ปลูก 4.2 ล้านไร่ ภาคกลาง 2.2 ล้านไร่และภาคเหนือ 1.1 ล้านไร่ต่อปี ให้ผลผลิตรวมประมาณ 26.6 ล้านตันต่อปี พื้นที่ปลูกส่วนใหญ่มีสภาพความอุดมสมบูรณ์ต่ำและอาศัยน้ำฝน (สำนักงานเศรษฐกิจเกษตร, 2550) มันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศต่อเนื่องมาเป็นระยะเวลายาวนาน ในอดีตที่ผ่านมาส่วนหนึ่งจะมุ่งไปที่การผลิตแป้งเพื่อใช้ในอุสาหกรรมอาหารและการแปรรูป อีกส่วนหนึ่งเป็นเรื่องของการผลิตมันเส้นและมันอัดเม็ดเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ซึ่งเป็นการจำกัดการใช้ประโยชน์จากมันสำปะหลัง แต่ผลผลิตมันสำปะหลังโดยเฉลี่ยทั้งประเทศยังอยู่ในเกณฑ์ต่ำในขณะที่ความต้องการใช้ในประเทศและการส่งออกมีมากขึ้น นอกจากนี้ยังเป็นพืชทดแทนพลังงานที่สำคัญ จำเป็นต้องเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตด้วยเทคโนโลยีด้านพันธุ์และการจัดการที่ดี ซึ่งมันสำปะหลังแต่ละพันธุ์มีศักยภาพการให้ผลผลิตแต่ละพื้นที่แตกต่างกัน รวมทั้งการป้องโรคแมลงศัตรูที่ทำความเสียต่อผลผลิต นับเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่จะสามารถยกระดับผลผลิตให้สูงขึ้น

โรคมันสำปะหลัง มีมากกว่า 30 โรค โดยการเข้าทำลายของเชื้อรา แบคทีเรีย ไวรัส ไฟโตพลาสมา และไส้เดือนฝอย อีกทั้งยังรวมไปถึงโรคที่เกิดจากสิ่งไม่มีชีวิต เช่น การขาดธาตุแมกนีเซียม การขาดธาตุเหล็ก เป็นต้น เมื่อมันสำปะหลังเป็นโรคทำให้ผลผลิตลดลง ลดศักยภาพการสังเคราะห์แสง หรือก่อให้เกิดอาการหัวเน่า รวมไปถึงการเข้าทำลายบริเวณท่อน้ำท่ออาหารทำให้เกิดอาการเหี่ยวทั้งต้นได้ ซึ่งในประเทศไทยพบโรคที่สำคัญของมันสำปะหลัง 4 โรค ได้แก่ โรคใบไหม้ (Cassava Bacterial Blight, CBB) โรคแอนแทรคโนส (Cassava Anthracnose Disease, CAD) โรครากและหัวเน่า และโรคใบจุดสีน้ำตาล ซึ่งโรคเหล่านี้ทำความเสียหายให้มันสำปะหลังได้ตั้งแต่ระยะต้นกล้าจนถึงให้ผลผลิต (ภานุวัฒน์ มูลจันทะ, 2557) สำหรับโรคเน่ามีรายงานเกี่ยวกับโรคนี้ประมาณปี 2556 จากการตรวจเชื้อสาเหตุรายงานว่าเป็นรา *Phytophthora* spp. ซึ่งรานี้มีรายงานการเข้าทำลายมันสำปะหลังได้หลายช่วงอายุมันสำปะหลัง เช่น *P. nicotianae* เข้าทำลายระยะกล้า (Rungsi *et al.*, 2012) นอกจากนี้ ยังมีรายงานหลากหลาย เช่น เกิดจากรา *P. meadii* (http://www.thairat.co.th/content/442798) หรือ เกิดจากรา *P. melonis* (รังษี และคณะ, 2556; Rungsi *et al.*, 2014) และมีรายงานการระบาดอย่างรุนแรงของโรครากเน่าหัวเน่ามันสำปะหลังในพื้นที่ อ.เสิงสาง, ครบุรี จ.นครราชสีมา และ อ.น้ำยืน จ.อุบลราชธานี (ชาติชาย, 2557) จ.บุรีรัมย์ กำแพงเพชร เชียงราย ปราจีนบุรี และฉะเชิงเทรา เป็นต้น (คณะสำรวจภาวการณ์การผลิตและการค้ามันสำปะหลัง, 2557)

สารเคมีที่ใช้ป้องกันกำจัดโรครากเน่า สำหรับรา *Pythium* spp. และ *Phytophthora* spp. ได้แก่ mefenoxam (high risk), etridiazole (low risk), propamocarb (low risk), dimethomorph, fosetyl-A1 potassium (low risk), phosphorus acid salts, phosphate, thiophanate methyl + etridiazole, thiophanate methyl (high risk), iprodione (high risk), triflumizole (medium risk) และ PCNB (low risk) (Anonymous, 2015)

ในประเทศไทยมีคำแนะนำการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชที่มีสาเหตุจากรา *Phytophthora* spp. กับพืชต่างๆ เช่น มะนาว ส้ม สับปะรด ทุเรียน กล้วยไม้ เป็นต้น สารเคมีเหล่านี้ได้แก่ phosphorous acid 40%W/V SL, phosphonic acid 40% W/V SL, fosetyl-Al 80% WP, metalaxyl 5% GR, metalaxyl 25% WP, etridiazole 24% W/V EC นอกจากนี้ยังแนะนำให้ใช้ชีวภัณฑ์บางชนิด ได้แก่ *Trichoderma harzianum* (กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, 2546; อรพรรณ, 2552) แต่ยังไม่มีคำแนะนำที่ออกมาเป็นทางการโดยกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จึงควรมีการศึกษาการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคมันสำปะหลัง ที่เกิดจากรา *Phytophthora* spp. เพื่อแนะนำให้เกษตรกรใช้ ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สารป้องกันกำจัดโรคพืช 11 ชนิด
2. หัวและต้นมันสำปะหลังที่แสดงอาการโคนเน่าและหัวเน่า

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ Potato Dextrose Agar (PDA), Carrot Agar (CA), V8 Agar
4. สารเคมี ได้แก่ ampicillin, rifampicin, nystatin, PCNB
5. เครื่องชั่งน้ำหนัก และอุปกรณ์การตวงวัดสารทดลอง
6. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ ขวดดูแรน บีกเกอร์ กล้องจุลทรรศน์ ตู้ปลอดเชื้อ หม้อนึ่งความดัน ตู้อบลมร้อน
7. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างโรคพืช ได้แก่ กรรไกรตัดแต่งกิ่ง เสียบ ถุงพลาสติก ปากกาเคมี ยาง
8. อุปกรณ์สำหรับการบันทึกข้อมูล

วิธีการ

ขั้นตอนที่ 1 การคัดเลือกสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการยับยั้งราสาเหตุโรคโคนเน่า-หัวเน่ามันสำปะหลังที่เกิดจากรา *Phytophthora melonis* ในห้องปฏิบัติการ

วางแผนการทดลอง Completely Randomized Design (CRD) 4 ซ้ำ (ซ้ำละ 5 จานเลี้ยงเชื้อ) ประกอบด้วยสารป้องกันกำจัดโรคพืช 11 ชนิด (อัตราแนะนำการใช้บนฉลาก) และกรรมวิธีเปรียบเทียบไม่ใส่สารป้องกันกำจัดโรคพืช ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 dimethomorph 50% WP อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 2 cymoxanil+mancozeb 8%+64% WP อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 3 propamocarb hydrochloride 72.2% W/V SL อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 4 iprodione 75% WG อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 5 fosetyl-Al 80% WG อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 6 metalaxyl 25% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 7 phosphonic acid 40% W/V SL อัตรา 65 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 8 mancozeb + metalaxyl – M 64+4% WG อัตรา 80 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 9 triflumizole 30% WP อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 10 etridiazole 24% W/V EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 11 iprodione 50% WP อัตรา 60 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 12 น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (กรรมวิธีควบคุม)

1. การแยกราสาเหตุโรค

สำรวจและเก็บตัวอย่างต้นและหัวมันสำปะหลังที่แสดงอาการโคนเน่า-หัวเน่า จากแปลงเกษตรกร อ.มวกเหล็ก อ.แก่งคอย จ.สระบุรี และ อ.เสิงสาง จ.นครราชสีมา นำมาแยกเชื้อราสาเหตุโรค โดยวิธี tissue transplanting จากส่วนของแผลบริเวณโคนต้นมันสำปะหลัง โดยถากส่วนเปลือกต้นออก ตัดชิ้นเนื้อเยื่อลำต้นส่วนสีดำเชื่อมต่อกับส่วนสีขาว เป็นชิ้นเล็กๆ ล้าง 3 ครั้ง ด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ วางบนกระดาษนึ่งฆ่าเชื้อให้ชิ้นพืชแห้ง วางชิ้นส่วนพืชบนอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะ นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25-27 องศาเซลเซียส หลังจากที่มีเชื้อเจริญออกมาจากขอบชิ้นพืช นำเชื้อที่แยกได้ตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์และพิสูจน์โรคต่อไป

2. การพิสูจน์โรค

นำเชื้อราที่แยกได้จากข้อ 1 มาพิสูจน์โรค ตามวิธีการของ Koch (Koch' postulation) โดยเลี้ยงเชื้อราบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ตัดวุ้นอาหารบริเวณส่วนปลายเส้นใยของรา วางบนใบมันสำปะหลังที่ทำแผลด้วย cork borer แล้ว ใส่กล่องพลาสติกให้ความชื้น ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อใบมันสำปะหลังแสดงอาการ นำมาแยกเชื้อราซ้ำอีกครั้ง นำเชื้อที่แยกได้มาตรวจสอบลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3. การเตรียมเชื้อสาเหตุโรค

โดยนำรา *Phytophthora* sp. ที่แยกได้จากตัวอย่างอาการโคนเน่า-หัวเน่ามันสำปะหลัง เลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ตัดวุ้นอาหารบริเวณส่วนปลายเส้นใยของรา เพื่อนำไปทดสอบ

4. การทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคโคนเน่า-หัวเน่ามันสำปะหลังที่เกิดจากรา *Phytophthora* sp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ด้วยวิธี poisoned food technique โดยวางชิ้นวุ้นที่มีราสาเหตุโรคที่เตรียมจากข้อ 3 ตรงกลางจานเลี้ยงเชื้อที่มีสารป้องกันกำจัดโรคพืชชนิดต่างๆ วางจานเลี้ยงเชื้อทดสอบไว้ในห้องปฏิบัติการ ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส (ทดสอบบนอาหาร 2 ครั้ง)

- วัดและบันทึกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของรา เมื่อราในกรรมวิธีควบคุมเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อ แล้วนำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของราบนอาหาร PDA โดยใช้สูตรตามวิธีการของ Vincent (Mishra and Gupta, 2012) คือ

$$I = \frac{C - T}{C} \times 100$$

I = เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของรา

C = เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีราในกรรมวิธีควบคุม

T = เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีราในกรรมวิธีทดสอบ

คัดเลือกสารป้องกันกำจัดโรคพืชที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราไปทดสอบในระดับเรือนทดลอง

ขั้นตอนที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการป้องกันกำจัดโรคโคนเน่า-หัวเน่ามันสำปะหลังที่เกิดจากรา *Phytophthora melonis* ในโรงเรือน

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) จำนวน 4 ซ้ำ 10 กรรมวิธี ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 dimethomorph 50% WP อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 cymoxanil+mancozeb 8%+64% WP อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 fosetyl-Al 80% WG อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 metalaxyl 25% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 phosphonic acid 40% W/V SL อัตรา 65 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 mancozeb + metalaxyl – M 64+4% WG อัตรา 80 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 7 etridiazole 24% W/V EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 8 iprodione 50% WP อัตรา 60 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 9 น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (กรรมวิธีควบคุม)

กรรมวิธีที่ 10 น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ-P. (กรรมวิธีควบคุม)

โดยการแช่ท่อนพันธุ์ด้วยสารป้องกันกำจัดโรคพืชก่อนปลูก 10 นาที ทิ้งให้แห้ง นำไปปลูกในกระถาง และพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืชครั้งแรก เมื่อเริ่มปรากฏอาการ และพ่นซ้ำ 2 ครั้ง ทุก 7 วัน ประเมินระดับการเกิดโรคบนใบ ก่อนพ่นสารทุกครั้งและหลังพ่นสารครั้งสุดท้าย โดยการประเมินระดับการเกิดโรคบนใบ ดังนี้ (Benjamin, K. and R.M. Bates,2012)

ระดับ 1 = no necrosis (healthy)

ระดับ 2 = 1 – 33 % necrosis (mild symptoms)

ระดับ 3 = 34 – 67 % necrosis (moderate symptoms)

ระดับ 4 = 68 – 99 % necrosis (severe symptoms)

ระดับ 5 = 100 % necrosis (dead)

การเตรียมรา *Phytophthora melonis* สาเหตุโรค

ครั้งที่ 1 เตรียมเชื้อตามวิธีของ Yoshimura *et al.* (1985) (ดัดแปลง) โดยเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็ง V8 (V8 agar) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน ใส่น้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 20 มิลลิลิตรต่อจานอาหาร ทิ้งไว้ 6 วัน (เพื่อพัฒนาสปอร์แรงเจียม) เปลี่ยนน้ำใหม่ โดยใส่น้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 20 มิลลิลิตรต่อจานอาหาร นำจานอาหารไปใส่ในตู้เย็น เป็นเวลา 30 นาที (เพื่อให้เชื้อปล่อยซูโอสปอร์ออกมาในน้ำ) เมื่อครบเวลา นำจานอาหารมาขูดเส้นใยบนผิวหน้าอาหาร ทิ้งไว้ รอนำไปปลูกเชื้อกับพืชทดสอบ โดยปลูกเชื้อโรคในกระถางปลูกมันสำปะหลัง (กรรมวิธีที่ 1-9) โดยนำใช้สารแขวนลอยราที่เตรียมไว้ 20 มิลลิลิตรต่อ 1 กระถาง

ครั้งที่ 2 และ 3 เตรียมเชื้อตามวิธีของ Holmes and Benson (1994) (ดัดแปลง) ด้วยวิธี rice grain method โดยชั่งข้าวสาร 25 กรัม ใส่ขวดรูปชมพู่ เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร นึ่งฆ่าเชื้อ 20 นาที ทิ้งไว้ 1 คืน เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร แล้วนึ่งฆ่าเชื้อ 20 นาที อีกครั้ง ทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร เจาะขอบโคโลนีรา *P. melonis* ที่เลี้ยงบนอาหารพีดีเอ ใส่ในขวดรูปชมพู่ ขวดละ 1-2 ชิ้น เขย่าทุกวัน เป็นเวลา 14 วัน นำไปปลูกเชื้อเพิ่มเติมในกระถางที่ปลูกมันสำปะหลัง การปลูกเชื้อครั้งที่ 2 ใช้ข้าวสารที่มีราเจริญปกคลุม 1-2 กรัมต่อกระถาง คลุกโคนกิ่งมันสำปะหลัง การปลูกเชื้อครั้งที่ 3 ใช้ข้าวสารที่มีราเจริญปกคลุม 10 กรัมต่อกระถางคลุกโคนกิ่งมันสำปะหลัง เมื่อปลูกเชื้อเสร็จ ปิดปากถุงพลาสติกให้ความชื้นให้เหมาะต่อการเจริญของรา *P. melonis*

การบันทึกข้อมูล

- ระดับการเกิดโรคบนใบ
- บันทึกผลกระทบของสารทดลองต่อพืช

เวลาและสถานที่

เมษายน 2558 – กันยายน 2559

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1 การคัดเลือกสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการยับยั้งราสาเหตุโรคโคนเน่า-หัวเน่ามันสำปะหลังที่เกิดจากรา *Phytophthora melonis* ในห้องปฏิบัติการ

1. การแยกราสาเหตุโรค

สำรวจและเก็บตัวอย่างต้นและหัวมันสำปะหลังที่แสดงอาการโคนเน่า-หัวเน่า จากแปลงเกษตรกร อ.มวกเหล็ก อ.แก่งคอย จ.สระบุรี และ อ.เสิงสาง จ.นครราชสีมา นำมาแยกเชื้อราสาเหตุโรค โดยวิธี tissue transplanting เมื่อนำมาตรวจสอบลักษณะของเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเป็นรา *Phytophthora* sp. เก็บเชื้อบริสุทธิ์เก็บไว้ศึกษาต่อไป

2. การพิสูจน์โรค

นำเชื้อราที่แยกได้จากข้อ 1 มาพิสูจน์โรค ตามวิธีการของ Koch (Koch' postulation) เมื่อใบมันสำปะหลังแสดงอาการของโรค นำมาแยกเชื้อราซ้ำอีกครั้ง ให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ เมื่อนำมาตรวจสอบลักษณะของเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า เป็นรา *Phytophthora* sp. สาเหตุโรคโคนเน่า-หัวเน่า เมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวโมกุล พบว่าเป็น *Phytophthora melonis*

3. การทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคโคนเน่า-หัวเน่ามันสำปะหลังที่เกิดจากรา *P. melonis* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ด้วยวิธี poisoned food technique ใช้อัตราแนะนำการใช้บนฉลาก วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ (ซ้ำละ 5 จานเลี้ยงเชื้อ) (โดยทำการทดสอบ 2 ครั้ง ซึ่งให้ผลการทดสอบ ที่สอดคล้องกันทั้ง 2 ครั้ง)

หลังจากย้ายชิ้นวุ้นที่มีเชื้อรา *P. melonis* มาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อพีดีเอที่ผสมสารป้องกันกำจัดโรคพืชแต่ละชนิด เป็นเวลา 7 วัน เมื่อวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเชื้อรา *P. melonis* มีการเจริญของเส้นใยเฉลี่ยแตกต่างกัน พบว่า มีสารป้องกันกำจัดโรคพืช 8 ชนิด ได้แก่ สาร dimethomorph 50% WP, สาร cymoxanil+mancozeb 72% WP, สาร fosetyl-Al 80% WP, สาร metalaxyl 25% WP, สาร phosphonic acid 40% W/V SL, สาร metalaxyl+mancozeb 72% WG, สาร etridiazole 24% W/V EC และ สาร iprodione 50% WP ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. melonis* ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (Table 1)

ซึ่งสอดคล้องกับ รายงานของ Guo Han *et al.* (2013) ได้ศึกษาสารป้องกันกำจัดโรครากเน่ามันสำปะหลัง ที่เกิดจากรา *P. palmivora* โดยวิธี hypha growth rate พบว่า 56% mancozeb, 8% oxadixyl WP, 5% flumorph, 45% phossethyl-Al WP, 15% metalaxyl และ 10% propamocab

hydrochloride มีค่า EC50 ต่ำที่สุดและให้ผลยับยั้งราสาเหตุโรคได้ดีที่สุด และแนะนำให้นำไปใช้ควบคุมโรครากเน่ามันสำปะหลังในสภาพไร่ได้ และสอดคล้องกับคำแนะนำการใช้สารป้องกันกำจัดโรค ที่เกิดจากรา *Phytophthora* sp. กับพืชต่างๆ เช่น มะนาว ส้ม สับปะรด ทุเรียน กล้วยไม้ เป็นต้น สารเคมีเหล่านี้ ได้แก่ phosphorous acid 40%W/V SL, phosphonic acid 40% W/V SL, fosetyl-Al 80% WP, metalaxyl 5% GR, metalaxyl 25% WP, etridiazole 24% W/V EC (กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, 2546; อรพรรณ, 2552)

ขั้นตอนที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการป้องกันกำจัดโรคโคนเน่า-หัวเน่ามันสำปะหลังที่เกิดจากรา *Phytophthora melonis* ในโรงเรือน

การปลูกเชื้อสาเหตุโรคทั้ง 3 ครั้ง ไม่ทำให้ต้นมันสำปะหลังแสดงอาการในส่วนเหนือดิน จึงได้ถอนต้นมันสำปะหลัง มาทำการแยกราสาเหตุโรค โดยวิธี tissue transplanting จากส่วนเหง้าที่อยู่ใต้ดิน พบว่า กรรมวิธีที่แช่ท่อนพันธุ์มันสำปะหลังก่อนปลูกด้วยสาร iprodione 50% WP อัตรา 60 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีแช่ท่อนพันธุ์ด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (กรรมวิธีควบคุม+P) มี รา *P. melonis* เจริญจากชิ้นพืชที่ทำการแยกเชื้อ 20 และ 100 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีอื่นๆ ไม่ปรากฏการเจริญของราสาเหตุโรคพืชออกมาจากชิ้นพืชที่นำมาแยกเชื้อ

ต้นมันสำปะหลัง ไม่แสดงอาการของการเป็นโรคในส่วนเหนือดิน จึงไม่ทำการพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืชตามกรรมวิธี

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การคัดเลือกสารป้องกันกำจัดโรคพืช จำนวน 11 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญของรา *P. melonis* สาเหตุโรคโคนเน่าและหัวเน่าของมันสำปะหลัง โดย poisoned food technique ในห้องปฏิบัติการ พบว่า มีสารทดสอบ 8 ชนิด ที่สามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยของรา *P. melonis* ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ สาร dimethomorph 50% WP อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร สาร cymoxanil+mancozeb 72% WP อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร สาร fosetyl-Al 80% WP อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร สาร metalaxyl 25% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร สาร phosphonic acid 40% W/V SL อัตรา 65 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร สาร metalaxyl+mancozeb 72% WG อัตรา 80 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร สาร etridiazole 24% W/V EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ สาร iprodione 50% WP อัตรา 60 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

การทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดโรคพืช จำนวน 8 ชนิด ในการป้องกันกำจัดโรคโคนเน่า-หัวเน่ามันสำปะหลัง ที่เกิดจากรา *P. melonis* ในโรงเรือน พบว่า การแช่ท่อนพันธุ์มันสำปะหลัง 10 นาที ก่อนปลูกด้วย สาร iprodione 50% WP อัตรา 60 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร รา *P. melonis* ยังสามารถเข้าเจริญที่เหง้ามันสำปะหลังได้

เอกสารอ้างอิง

กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. 2546. *เอกสารวิชาการ คำแนะนำการป้องกันกำจัดโรคพืชด้วยสารเคมี*. 171 หน้า.

คณะสำรวจภาวการณ์การผลิตและการค้ามันสำปะหลัง. 2557. *การสำรวจภาวะการผลิตและการค้ามันสำปะหลัง ฤดูการผลิตปี 2557/58*. ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 115 หน้า.

ชาติชาย ศิริพัฒน์. 2557. รากเน่า..หัวเน่า ระบาดหนักไร่มันสำปะหลัง. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : http://www.thairat.co.th/content/442798. (13 ตุลาคม 2557)

ภานุวัฒน์ มูลจันทะ. 2557. โรคมันสำปะหลัง. *ใน*: เอกสารประกอบการบรรยายเรื่อง การฝึกอบรมหลักสูตร การใช้สารเคมีและการพ่นสารเคมี อย่างถูกวิธีในแปลงมันสำปะหลัง รุ่นที่ 1. วันที่ 14-15 พฤษภาคม 2557 ศูนย์วิจัยพืชไร่อุบลราชธานี จังหวัดอุบลราชธานี.

รังษี เจริญสถาพร ธีรนันท์ แซ่ลี้ อัมพร จุลคต ศักดา เชิดชู และ ฤทัยรัตน์ น้อยจาด. 2556. *Phytophthora* สาเหตุโรครากและหัวเน่าของมันสำปะหลังในประเทศไทย. หน้า 260-261. *ใน : การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 11*. 26-28 พฤศจิกายน 2556. โรงแรมเซนทารา แอนด์คอนเวนชั่นเซนเตอร์, จังหวัดขอนแก่น.

อรพรรณ วิเศษสังข์. 2552. *คู่มือการเลือกใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช*. โรงพิมพ์ชุมนุนสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. 128 หน้า.

Anonymous. 2015. *Fungal root rots and chemical fungicide use*. (Online). Available : http://extension.psu.edu/pests/plant-diseases/all-fact-sheets/fungal-root-rots-and-chemical-fungicide-use. (March 3, 2015)

Benjamin, K. Hoover and R.M. Bates. 2012. Fungicide Efficacy in Prevention of Root Rot Incited by *Phytophthora cactorum* and *Phytophthora drechsleri* in Fraser Fir Seedling. *Horttechnology* 22(4): 470-475.

Guo Han, Zhu Tian-cheng, Li Chao-ping, Shi Tao and Huang Gui-xiu. 2013. *Screening for fungicide against Phytophthora palmivora of cassava root rot*. (Online). Available : http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-HBNY201311021.htm. (February 18, 2015)

Holmes, K.A. and D.M. Benson. 1994. Evaluation of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* for Biocontrol of *Phytophthora parasitica* on *Catharanthus roseus*. *Plant Dis*. 78(2): 193-199.

Misha, R.K. and R.P. Gupta. 2012. *In vitro* evaluation of plant extracts, bio-agents and fungicides against Purple blotch and *Stemphylium* blight of onion. *J. Med. Plants Res*. 6(45): 5658-5661.

Charaensataporn, R., A. Kitjaideaw, T. Salee and R. Noijad. 2012. Phytophthora Seedling Blight of Cassava.(ab.) p. 66. *In : The International Conference on Tropical and Sub-tropical Plant Diseases*. February 7-10, 2012. The Empress Hotel, Chiang Mai.

Charaensataporn, R., T. Salee, U. Chulkod and S. Cheadchoo. 2014. Phytophthora Root and Tuber Rot of Cassava in Thailand.(ab.) p. 66. *In: The 5th Asian Conference on Plant Pathologyases*. November 3-6, 2014. The Empress Hotel, Chiang Mai.

Yoshimura, M.A., Uchida, J.Y. and Aragaki, M. 1985. Etiology and Control of Poinsettia Blight Caused by *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* and *P. drechsleri*. *Plant Disease* 69: 511-513.

Table 1 Efficiency of fungicide on *Phytophthora melonis* mycelium growth at 7 day after inoculation.

Fungicides	Application rate (g., ml./20 liters)	% mycelium growth inhibition	Mycelium growth character
T1: dimethomorph 50% WP	10	100.00	Not growth
T2: cymoxanil+mancozeb 8%+64% WP	50	100.00	Not growth
T3: propamocarb hydrochloride 72.2% W/V SL	10	5.56	Normal growth
T4: iprodione 75% WG	40	80.94	Normal growth
T5: fosetyl-Al 80% WG	50	100.00	Not growth
T6: metalaxyl 25% WP	40	100.00	Not growth
T7: phosphonic acid 40% W/V SL	65	100.00	Not growth
T8: mancozeb + metalaxyl – M 64+4% WG	80	100.00	Not growth
T9: triflumizole 30% WP	20	72.50	Normal growth
T10: etridiazole 24% W/V EC	20	100.00	Not growth
T11: iprodione 50% WP	60	100.00	Not growth
T12: distilled water (control)	-	0.00	Normal growth

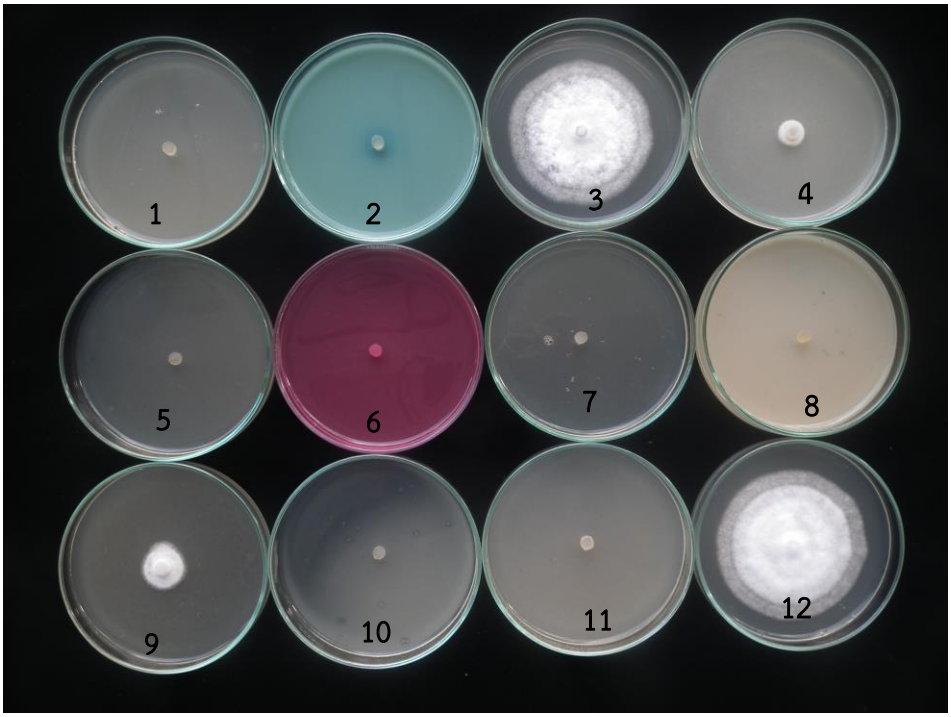


Figure 1 Efficiency of fungicide to control *Phytophthora melonis*, at 3 day after inoculation.

1) dimethomorph 50% WP 2) cymoxanil+mancozeb 8%+64% WP 3) propamocarb hydrochloride 72.2% W/V SL 4) iprodione 75% WG 5) fosetyl-Al 80% WG 6) metalaxyl 25% WP 7) phosphonic acid 40% W/V SL 8) mancozeb + metalaxyl – M 64+4% WG 9) triflumizole 30% WP 10) etridiazole 24% W/V EC 11) iprodione 50% WP 12) control

Figure 2 Efficiency of fungicide to control *Phytophthora melonis*, at 7 day after inoculation.

การคัดเลือกสารป้องกันกำจัดโรคพืชเพื่อป้องกันกำจัดโรคโคนเน่าและหัวเน่าของมันสำปะหลัง ที่เกิดจากรา *Sclerotium rolfsii* Sacc.

Screening of Fungicides for the Control of Cassava Stem and Root Rot Disease caused by *Sclerotium rolfsii* Sacc.

สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ [1/] อมรรัชฎ์ คิดใจเดียว [1/] พรพิมล อธิปัญญาคม [2/] เมธาพร พุฒขาว [3/]

[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]ผู้เชี่ยวชาญด้านโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[3/]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพัทลุง สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 8

Abstract

An efficacy tests of fungicides for control stem and root rot disease of cassava caused by *Sclerotium rolfsii* Sacc. were undertaken in both laboratory and pot trial at Plant Pathology Research Group, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture, Bangkok during April 2015 – September 2016. Nine formulations of fungicides : 15 g/20 L of water carboxin 75% WP, 60 g/20 L of water cymoxanil + mancozeb 72% WP, 20 ml/20 L of water difenoconazole 25% W/V EC, 20 ml/20 L of water etridiazole 24% W/V EC, 40 ml/20 L of water etridiazole + quintozene 6% + 24% W/V EC, 50 g/20 L of water iprodione 50% WP, 60 g/20 L of water mancozeb 80% WP, 15 ml/20 L of water propiconazole 25% W/V EC and 50 g/20 L of water tolclofos-methyl 50% WP were used in the study. The fungicides were sprayed firstly on surface soil of cassava planting pots after 2 days infested soil with *S. rolfsii*. Spraying of fungicides was done repeatedly 7 days for 2 times. A result of the study revealed that 40 ml/20 L of water etridiazole + quintozene 6% + 24% W/V EC and 20 ml/20 L of water etridiazole 24% W/V EC had an appropriated efficacy to control a stem and root rot disease of cassava caused by *S. rolfsii*. However, all tested fungicides have not showed a pytotoxicity to cassava.

Keywords : Fungicide, stem and root rot disease , cassava, *Sclerotium rolfsii*

โครงการวิจัยเร่งด่วน

บทคัดย่อ

ทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการป้องกันกำจัดโรคโคนเน่าหัวเน่าของมันสำปะหลัง ที่เกิดจากรา *Sclerotium rolfsii* Sacc. ทั้งในห้องปฏิบัติการ และการทดลองในกระถางที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ ระหว่าง เมษายน 2558 - กันยายน 2559 ทดสอบสาร 9 ชนิด ได้แก่ สาร carboxin 75% WP อัตรา 15 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร, cymoxanil+mancozeb 72% WP อัตรา 60 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร, difenoconazole 25% W/V EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, etridiazole 24% W/V EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, etridiazole+quintozene 6% + 24% W/V EC อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, iprodione 50% WP อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร, mancozeb 80% WP อัตรา 60 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร, propiconazole 25% W/V EC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ tolclofos-methyl 50% WP อัตรา 20 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร โดยพ่นสารลงดินบริเวณโคนต้นมันสำปะหลัง จำนวน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน พ่นสารครั้งแรกหลังปลูกเชื้อสาเหตุโรค 2 วัน พบว่า สาร etridiazole + quintozene 6% + 24% W/V EC อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ etridiazole 24% W/V EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคโคนเน่าหัวเน่าของมันสำปะหลัง ที่เกิดจาก รา *S. rolfsii* และทุกกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองไม่พบความเป็นพิษต่อพืช

คำหลัก : สารป้องกันกำจัดโรคพืช โรคโคนเน่าและหัวเน่า, มันสำปะหลัง, *Sclerotium rolfsii*

คำนำ

มันสำปะหลัง (cassava; tapioca : *Manihot esculenta* (L.) Crantz) เป็นพืชหัวชนิดหนึ่ง ซึ่งเป็นพืชอาหารที่สำคัญอันดับ 5 รองจากข้าวสาลี ข้าวโพด ข้าว และมันฝรั่ง มันสำปะหลังเป็นพืชไร่เศรษฐกิจพืชหนึ่งที่สำคัญของประเทศไทย ในปี พ.ศ. 2558 ประเทศไทยมีพื้นที่เพาะปลูกมันสำปะหลังทั้งสิ้นประมาณ 8.96 ล้านไร่ ผลผลิต 32.36 ล้านตัน ผลผลิตต่อไร่ 3.56 ตัน ส่งออกผลิตภัณฑ์มันสำปะหลัง ในรูปแบบของมันเส้น มันอัดเม็ด และแป้งมันสำปะหลัง ปริมาณ 11.19 ล้านตัน มูลค่า 111,716 ล้านบาท มีพื้นที่เพาะปลูกมากที่สุด ในภาคตะวันออก เฉียงเหนือ รองลงมา คือ ภาคกลาง และภาคเหนือ ในปี 2558 จังหวัดที่มีพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังมากที่สุด 5 ลำดับแรก คือ กาญจนบุรี นครราชสีมา นครสวรรค์ ขอนแก่น และอุดรธานี (สำนักงานเศรษฐกิจเกษตร, 2558) เนื้อที่เก็บเกี่ยวทั้งประเทศมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เนื่องจากราคาที่เกษตรกรขายได้อยู่ในเกณฑ์ดี และมีนโยบายภาครัฐส่งเสริมให้ปลูกทดแทนในพื้นที่นาที่ไม่เหมาะสมในการเพาะปลูกข้าว ประกอบกับมีการใช้มันสำปะหลังเป็นแหล่งวัตถุดิบในการผลิตแป้งมันสำปะหลัง เอทานอล และไบโอพลาสติก (ศานิต, 2557; สำนักงานเศรษฐกิจเกษตร, 2558) ทำให้มันสำปะหลังมีความต้องการทางการตลาดเพิ่มสูงขึ้น จึงเป็นเหตุให้มีการปลูกติดต่อกันตลอดทั้งปี ส่งผลให้มีการสะสมและแพร่ระบาดของเชื้อสาเหตุโรคเพิ่มขึ้นทุกปี

โรคมันสำปะหลัง มีมากกว่า 30 โรค โดยการเข้าทำลายของเชื้อรา แบคทีเรีย ไวรัส ไฟโตพลาสมา และไส้เดือนฝอย รวมถึงโรคที่เกิดจากสิ่งไม่มีชีวิต เช่น การขาดธาตุแมกนีเซียม การขาดธาตุเหล็ก เป็นต้น เมื่อมันสำปะหลังเป็นโรคทำให้ผลผลิตลดลง ลดศักยภาพการสังเคราะห์แสง หรือก่อให้เกิดอาการหัวเน่า รวมไปถึงการเข้าทำลายบริเวณท่อน้ำท่ออาหารทำให้เกิดอาการเหี่ยวทั้งต้นได้ (อรุณี, 2547; กลุ่มอนุรักษ์ดินและน้ำ, 2560) Hillocks and Wydra (2002) กล่าวว่า ในเขตร้อนชื้นโดยเฉพาะภูมิภาคแอฟริกาตะวันตก โรคเน่าของมันสำปะหลังที่เกิดจากรา *Sclerotium rolfsii* Sacc. เป็นโรคที่พบได้ทั่วไป และมักพบเข้าทำลายเมื่อพืชอายุมาก ส่วนในลาตินอเมริกา มีรายงานว่าเข้าทำลายท่อนพันธุ์ที่อายุน้อย และพบเส้นใยราขึ้นคลุมบนผิวหัวมันสำปะหลังที่โตเต็มที่ พืชที่เป็นโรคจะพบเส้นใยสีขาวทำลายราก โดยบางครั้งพบเกิดแผลเนื้อเยื่อตาย (necrosis) หรือบางครั้งทำให้รากเน่า หากสภาพอากาศชื้นอาจพบสเคลอโรเทียมของราเป็นเม็ดกลม สีน้ำตาล ปนอยู่กับเส้นใยบนรากที่อยู่ติดผิวดิน มักพบรา *S. rolfsii* Sacc. เข้าทำลายพืชร่วมกับเชื้อโรคอื่นๆ Banito *et al.* (2010) รายงานจากการเก็บตัวอย่างโรครากเน่าโคนเน่าของมันสำปะหลังในประเทศโตโก แยกเชื้อได้รา จำนวน 39 สายพันธุ์ พบรา *Botrydiplodia theobromae* มากที่สุด คือ 51.3 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ *Fusarium* sp.พบ 33.3 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่พบ *Sclerotium rolfsii* และ *Pythium* sp. น้อย Messiga *et al.* (2004) ศึกษาการเกิดโรครากเน่าของมันสำปะหลังในแปลงเกษตรกร จำนวน 62 แปลง ในเมือง Pouma ประเทศแคเมอรูน โดยเก็บข้อมูลเมื่อมันสำปะหลัง อายุ 6, 9 และ 12 เดือนหลังปลูก พบว่าโรครากเน่าพบมากที่สุดเมื่อมันสำปะหลังอายุ 9 เดือนหลังจากปลูก และพบเชื้อสาเหตุโรค ได้แก่ *Botryodiplodia theobromae*, *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium* sp., A*rmillaria* sp. และ *Sclerotium rolfsii*

ในประเทศไทยพบโรคที่สำคัญของมันสำปะหลัง ได้แก่ โรคใบไหม้ (Cassava Bacterial Blight, CBB) โรคแอนแทรคโนส (Cassava Anthracnose Disease, CAD) โรครากและหัวเน่า และโรคใบจุดสีน้ำตาล ซึ่งโรคเหล่านี้ทำความเสียหายให้มันสำปะหลังได้ตั้งแต่ระยะต้นกล้าจนถึงให้ผลผลิต (ภานุวัฒน์, 2557) สุทธิสา (2558) ได้ศึกษาหาสาเหตุของโรคต้นและรากเน่าของมันสำปะหลัง ที่เก็บตัวอย่างจากพื้นที่ๆ มีการแพร่ระบาดของโรคใน 3 จังหวัด 6 อำเภอ ได้แก่ อ.เมือง อ.ครบุรี และ อ.เสิงสาง จ.นครราชสีมา อ.ตากฟ้า และ อ.ตาคลี จ.นครสวรรค์ และ อ.เทพสถิตย์ จ.ชัยภูมิ ในระหว่างเดือนมิถุนายน 2556-พฤษภาคม 2558 โดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบเชื้อรา 5 สกุล คือ *Lasiodiplodia* spp. พบมากที่สุด 54 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ *Fusarium* spp., *Neoscytalidium* sp., *Phytophthora* spp., *Sclerotium* sp. และเชื้อราชนิดอื่น จำนวน 29, 7, 4, 1 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และจำแนกชนิดของรา *Lasiodiplodia* spp. และ *Neoscytalidium* sp. โดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวโมเลกุล ได้ *Lasiodiplodia theobromae*, *L. euphorbicola* และ *Neoscytalidium hyalinum*

เนื่องจากโรคโคนเน่าหัวเน่าของมันสำปะหลังเป็นโรคที่มีความสำคัญต่อผลผลิตมันสำปะหลัง ซึ่งจะมีผลกระทบต่ออุตสาหกรรมต่าง ๆ ที่ใช้มันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบ คำแนะนำการใช้สารป้องกัน

กำจัดโรคโคนเน่าหัวเน่าของมันสำปะหลังโดยตรงยังไม่มี ดังนั้นจึงได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดโรคพืช เพื่อคัดเลือกให้ได้สารที่มีประสิทธิภาพและอัตราการใช้ที่เหมาะสมในการป้องกันกำจัดโรคโคนเน่าหัวเน่าของมันสำปะหลัง ที่เกิดจาก รา *Sclerotium rolfsii* Sacc. เพื่อเป็นคำแนะนำให้แก่เกษตรกรใช้ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. รา *Sclerotium rolfsii* สาเหตุโรคโคนเน่าหัวเน่าของมันสำปะหลัง
2. อาหารเลี้ยงรา Potato Dextrose Agar (PDA)
3. วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น จานเลี้ยงเชื้อ หลอดทดลอง cork borer เข็มเขี่ย ตะเกียงแอลกอฮอล์ ไปเปต เครื่องเขย่าสารละลาย และอุปกรณ์การตวงวัดสารทดลอง
4. อุปกรณ์ปลูกพืชทดลอง เช่น ดินสำหรับปลูกพืช กระถาง ปุ๋ยเคมี และถังพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช
5. ท่อนพันธุ์มันสำปะหลัง สายพันธุ์ CMR 43-08-89
6. สารป้องกันกำจัดโรคพืชที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ สาร carboxin 75% WP, cymoxanil + mancozeb 72% WP, difenoconazole 25% W/V EC, etridiazole 24% W/V EC, etridiazole + quintozene 6% + 24% W/V EC, iprodione 50% WP, mancozeb 80% WP, propiconazole 25% W/V EC, และ tolclofos-methyl 50% WP

วิธีการ

1. ทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการยับยั้งรา *Sclerotium rolfsii* สาเหตุโรคโคนเน่าหัวเน่าของมันสำปะหลัง ในห้องปฏิบัติการ

เตรียมเชื้อสาเหตุโรค

โดยนำรา *S. rolfsii* ที่แยกได้จากตัวอย่างโรคโคนเน่าหัวเน่าของมันสำปะหลัง มาเลี้ยงบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ตัดวุ้นอาหารบริเวณส่วนปลายเส้นใยของรา เพื่อนำไปทดสอบ

ทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการยับยั้งรา *Sclerotium rolfsii* โดยวิธี poisoned food technique

โดยนำสารป้องกันกำจัดโรคพืชที่ต้องการทดสอบแต่ละชนิด เจือจางในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ ปรับให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ แล้วนำไปผสมกับอาหาร PDA ที่หลอมเหลว ซึ่งมีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส ให้ได้ความเข้มข้นของสารป้องกันกำจัดโรคพืช ตามอัตราที่แนะนำในฉลาก เขย่าให้อาหารและสารทดสอบผสมเข้ากันทั่วถึง แล้วเทลงในจานแก้วเลี้ยงเชื้อ เมื่อผิวหน้าอาหารแห้ง จึงวางชิ้นวุ้นที่มีเชื้อ *S. rolfsii* ตรงกลางจานเลี้ยงเชื้อ วางจานเลี้ยงเชื้อทดสอบนี้ไว้ในห้องปฏิบัติการ ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส ทำการทดลองจำนวน 10 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 20 จานอาหารเลี้ยงเชื้อ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 สาร carboxin 75% WP ความเข้มข้น 750 ppm.

กรรมวิธีที่ 2 สาร cymoxanil+mancozeb 72% WP ความเข้มข้น 3,000 ppm.

กรรมวิธีที่ 3 สาร difenoconazole 25% W/V EC ความเข้มข้น 1,000 ppm.

กรรมวิธีที่ 4 สาร etridiazole 24% W/V EC ความเข้มข้น 1,000 ppm.

กรรมวิธีที่ 5 สาร etridiazole+quintozene 6% + 24% W/V EC ความเข้มข้น 2,000 ppm.

กรรมวิธีที่ 6 สาร iprodione 50% WP ความเข้มข้น 2,500 ppm.

กรรมวิธีที่ 7 สาร mancozeb 80% WP ความเข้มข้น 3,000 ppm.

กรรมวิธีที่ 8 สาร propiconazole 25% W/V EC ความเข้มข้น 750 ppm.

กรรมวิธีที่ 9 สาร tolclofos-methyl 50% WP ความเข้มข้น 1,000 ppm.

กรรมวิธีที่ 10 น้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ (กรรมวิธีควบคุม)

การบันทึกข้อมูล

- วัดและบันทึกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของรา *S. rolfsii* เมื่อราในกรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีสารป้องกันกำจัดโรคพืชเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อ แล้วนำมาคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของรา โดยใช้สูตรตามวิธีการของ Vincent (1927) คือ

$$I = \frac{C - T}{C} \times 100$$

I = เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของรา

C = เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีราในกรรมวิธีควบคุม

T = เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีราในกรรมวิธีทดสอบ

- บันทึกความผิดปกติของเส้นใยรา

2. ทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการป้องกันกำจัดโรคโคนเน่าหัวเน่าของมันสำปะหลังที่เกิดจากรา *Sclerotium rolfsii* ในกระถาง

เตรียมพืชทดสอบ

ปลูกมันสำปะหลัง สายพันธุ์ CMR 43-08-89 ในกระถางขนาด 15 นิ้ว รดน้ำตามปกติ และหมั่นตรวจดูแมลงศัตรู หากพบให้พ่นสารป้องกันกำจัดแมลง

เตรียมรา *Sclerotium rolfsii* สาเหตุโรค

โดยนำรา *S. rolfsii* มาเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 25-27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ตัดวุ้นอาหารบริเวณส่วนปลายเส้นใยของรา ใส่ลงในถุงข้าวฟ่างสุกที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว เลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 25-27 องศาเซลเซียส จนกระทั่งราเจริญเต็มบนข้าวฟ่าง ซึ่งใช้เวลา 14 วัน

ทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการป้องกันกำจัดโรคโคนเน่าหัวเน่าของมันสำปะหลังที่เกิดจาก รา *Sclerotium rolfsii*

- ปลูกเชื้อสาเหตุโรค โดยใส่รา *S. rolfsii* ในรูปเส้นใยและเม็ดสเคลอโรเทียม ที่เลี้ยงบนเมล็ดข้าวฟ่าง จำนวน 10 กรัม ลงดินบริเวณโคนต้นมันสำปะหลัง อายุ 3 เดือน ซึ่งปลูกอยู่ในกระถางขนาด 15 นิ้ว

- พ่นสารทดสอบตามกรรมวิธีที่กำหนดลงดินบริเวณโคนต้นมันสำปะหลัง จำนวน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน โดยพ่นสารครั้งแรกหลังปลูกเชื้อสาเหตุโรค 2 วัน

- วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) จำนวน 4 ซ้ำ ซ้ำละ 10 กระถาง 11 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 สาร carboxin 75% WP อัตรา 15 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 สาร cymoxanil+mancozeb 72% WP อัตรา 60 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 สาร difenoconazole 25% W/V EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 สาร etridiazole 24% W/V EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 สาร etridiazole+quintozene 6% + 24% W/V EC อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 สาร iprodione 50% WP อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 7 สาร mancozeb 80% WP อัตรา 60 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 8 สาร propiconazole 25% W/V EC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 9 สาร tolclofos-methyl 50% WP อัตรา 20 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 10 น้ำเปล่า

กรรมวิธีที่ 11 พืชปกติ (ไม่ใส่เชื้อ *S. rolfsii*)

- ประเมินการเกิดโรค ก่อนพ่นสารทุกครั้งและหลังพ่นสารครั้งสุดท้าย 7, 14, 28, 60, 90, 120, 150, 180 และ 210 วัน โดยนับจำนวนต้นมันสำปะหลังที่แสดงอาการของโรคโคนเน่าหัวเน่า

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกจำนวนต้นมันสำปะหลังที่แสดงอาการของโรคโคนเน่าหัวเน่า แล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค และวิเคราะห์เปรียบเทียบผลทางสถิติโดย Duncan's multiple range test (DMRT)

- บันทึกผลกระทบของสารทดลองต่อพืช

เวลาและสถานที่

เวลา **เริ่มต้น** เมษายน 2558 **สิ้นสุด** กันยายน 2559

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการยับยั้งรา *Sclerotium rolfsii* สาเหตุโรคโคนเน่าหัวเน่าของมันสำปะหลัง ในห้องปฏิบัติการ

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืช จำนวน 9 ชนิด ในการยับยั้งรา *S. rolfsii* โดยวิธี poisoned food technique พบว่า สารทดสอบทุกชนิด มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *S. rolfsii* โดยยับยั้งการเจริญ 100% ยกเว้น สาร iprodione 50% WP ยับยั้งการเจริญของเส้นใยราได้ 86.80% และพบว่าเส้นใยหนาเจริญไม่ปกติ ในขณะที่กรรมวิธีเปรียบเทียบ ซึ่งใช้น้ำนึ่งฆ่าเชื้อ ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยราได้ คัดเลือกสารที่มีประสิทธิภาพดี สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *S. rolfsii* ได้มากกว่า 80%ขึ้นไป ได้จำนวน 9 ชนิด คือ carboxin 75% WP, cymoxanil+mancozeb 72% WP, difenoconazole 25% W/V EC, etridiazole 24% W/V EC, etridiazole+quintozene 6% + 24% W/V EC, iprodione 50%, mancozeb 80% WP, propiconazole 25% W/V EC และ tolclofos-methyl 50% WP (Table 1) นำไปทดสอบประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคโคนเน่าหัวเน่าของมันสำปะหลังในกระถาง

2. ทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการป้องกันกำจัดโรคโคนเน่าหัวเน่าของมันสำปะหลังที่เกิดจาก รา *Sclerotium rolfsii* ในกระถาง

ทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืช จำนวน 9 ชนิด ที่มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งรา *S. rolfsii* ที่คัดเลือกได้จากการทดสอบในห้องปฏิบัติการ ตามกรรมวิธีที่กำหนด โดยพ่นสารลงดินบริเวณโคนต้นมันสำปะหลัง จำนวน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน พ่นสารครั้งแรกหลังปลูกเชื้อสาเหตุโรค 2 วัน และประเมินการเกิดโรค ก่อนพ่นสารทุกครั้งและหลังพ่นสารครั้งสุดท้ายที่ 7, 14, 28, 60, 90, 120, 150, 180 และ 210 วัน พบว่าพืชแสดงอาการเหี่ยวเมื่อประเมินโรคหลังพ่นสารครั้งสุดท้าย 180 วัน จึงนับจำนวนต้นมันสำปะหลังที่แสดงอาการของโรคโคนเน่าหัวเน่า หลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย 180 และ 210 วัน (อายุพืช 9 และ 10 เดือน) ได้ผลการทดลองดังนี้

ก่อนพ่นสารทดลอง พบว่าทุกกรรมวิธี ไม่พบต้นมันสำปะหลังแสดงอาการโรค พบเพียงรา *S. rolfsii* เจริญบนดินบริเวณโคนต้นมันสำปะหลัง

หลังพ่นสารทดลองครั้งสุดท้าย 180 วัน พบว่า กรรมวิธีพ่นสาร carboxin 75% WP อัตรา 15 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร, difenoconazole 25% W/V EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, iprodione 50% WP อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร, tolclofos-methyl 50% WP อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และ กรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไม่แตกต่างกันทางสถิติ คือ 35.0, 32.5, 27.5, 32.5 และ 55.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีพ่นสาร cymoxanil + mancozeb 72% WP อัตรา 60 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร, etridiazole 24% W/V EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, etridiazole+quintozene 6% + 24% W/V EC อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, mancozeb 80% WP อัตรา 60 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร, propiconazole 25% W/V EC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพืชปกติ (ไม่ใส่เชื้อ *S. rolfsii*) มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค

ไม่แตกต่างกันทางสถิติ คือ 20.0, 15.0, 17.5, 25.0, 25.0 และ 0.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่น้อยกว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า

หลังพ่นสารทดลองครั้งสุดท้าย 210 วัน พบว่า กรรมวิธีพ่นสาร carboxin 75% WP อัตรา 15 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร, cymoxanil+mancozeb 72% WP อัตรา 60 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร, difenoconazole 25% W/V EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, iprodione 50% WP อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร, mancozeb 80% WP อัตรา 60 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร, propiconazole 25% W/V EC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, tolclofos-methyl 50% WP อัตรา 20 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไม่แตกต่างกันทางสถิติ คือ 72.5, 65.0, 80.0, 65.0, 65.0, 77.5, 70.0 และ 90.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่ กรรมวิธีพ่นสาร etridiazole 24% W/V EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ etridiazole+quintozene 6% + 24% W/V EC อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไม่แตกต่างกันทางสถิติ คือ 52.5 และ 42.5 เปอร์เซ็นต์ แต่น้อยกว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า และมากกว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพืชปกติ (ไม่ใส่เชื้อ *S. rolfsii*) ที่มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 0.0 เปอร์เซ็นต์ (Table 2)

จากผลการทดลอง สารที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคโคนเน่าหัวเน่าที่เกิดจาก รา *S. rolfsii* ได้ดี คือ สาร etridiazole+quintozene 6% + 24% W/V EC อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ etridiazole 24% W/V EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และทุกกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองไม่พบความเป็นพิษต่อพืช

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการป้องกันกำจัดโรคโคนเน่าหัวเน่าของมันสำปะหลัง ที่เกิดจาก รา *S. rolfsii* โดยทดสอบในห้องปฏิบัติการ แล้วคัดเลือกสารที่มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งการเจริญของรา *S. rolfsii* นำไปทดสอบประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคโคนเน่าหัวเน่าของมันสำปะหลังในกระถาง โดยพ่นสารทดสอบลงดินบริเวณโคนต้นมันสำปะหลัง จำนวน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน พ่นสารครั้งแรกหลังปลูกเชื้อสาเหตุโรค 2 วัน พบว่า สารที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคโคนเน่าหัวเน่าได้ดี คือ สาร etridiazole + quintozene 6% + 24% W/V EC อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ etridiazole 24% W/V EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และทุกกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองไม่พบความเป็นพิษต่อพืช

เนื่องจากเกษตรกรมักพบว่ามันสำปะหลังเป็นโรคโคนเน่าหัวเน่า ที่เกิดจาก รา *S. rolfsii* โดยพบหัวมันถูกราทำลาย เมื่อเก็บเกี่ยวขึ้นมาจากดิน จึงทำให้ไม่สามารถป้องกันกำจัดโรคได้ทัน ดังนั้น เพื่อเป็นการป้องกันกำจัดโรคได้ทัน จึงแนะนำให้พ่นสาร etridiazole+quintozene 6% + 24% W/V EC อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ etridiazole 24% W/V EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร โดยพ่นสารลงดินบริเวณโคนต้นมันสำปะหลัง อย่างน้อย 2 ครั้ง ทุกๆ 7 วัน ในช่วงที่มัน

สำปะหลังผลิตหัวแล้วจนกระทั่งเก็บเกี่ยว ซึ่งเป็นช่วงที่มักพบโรคนี้ สอดคล้องกับรายงานของ Messiga *et al.* (2004)

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มอนุรักษ์ดินและน้ำ. 2560. *มันสำปะหลัง.* เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 1001-Do 46.01 สำนักวิจัยและพัฒนาการจัดการที่ดิน กรมพัฒนาที่ดิน. 92 หน้า. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : http://www.ldd.go.th/Lddwebsite/web_ord/Technical/pdf/P_Technical06013.pdf (19 มีนาคม 2560)

ภานุวัฒน์ มูลจันทะ. 2557. *โรคมันสำปะหลัง.* เอกสารประกอบการบรรยายเรื่อง การฝึกอบรมหลักสูตร การใช้สารเคมีและการพ่นสารเคมี อย่างถูกวิธีในแปลงมันสำปะหลัง รุ่นที่ 1 ระหว่างวันที่ 14-15 พฤษภาคม 2557. ศูนย์วิจัยพืชไร่อุบลราชธานี จังหวัดอุบลราชธานี.

ศานิต สวัสดิกาญจน์. 2557. *พืชอุตสาหกรรม.* โอเดียนสโตร์ กรุงเทพฯ. 530 หน้า

สุทธิสา ดัชนีย์. 2558. *การระบุเชื้อราสาเหตุโรคต้นและรากเน่าดำของมันสำปะหลัง.* วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. สาขาวิชาพืชศาสตร์. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี นครราชสีมา. 130 หน้า.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2558. *สถานการณ์สินค้าเกษตรที่สำคัญและแนวโน้มปี 2559.* ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. กรุงเทพ. 241 หน้า.

อรุณี วงษ์กอบรัษฎ์. 2547. โรค แมลง และศัตรูของมันสำปะหลัง. หน้า 58-74. *ใน* : *มันสำปะหลัง.* เอกสารวิชาการ ลำดับที่ 7/2547. กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

Banito, A., K.E. Kpemoua, B. Bissang and K. Wydra. 2010. Assesment of Cassava Root and Stem Rots in Ecozone of Togo and Evaluation of the Pathogen Virulence. *Pak. J. Bot.* 42(3): 2059-2068.

Hillocks, R. J. and K. Wydra. 2002. Bacterial, fungal and nematode diseases, Charpter 13. pp. 261-280. *In* : Hillocks, R. J., J. M. Thresh and A. C. Bellotti, eds. *Cassava : biology, production and utilization.* CABI Publishing, Wallingford, U.K.

Messiga, A. J. N. A., M. Mwangi, R. Bandyopadhay and C. Nolte. 2004. The status of fungal tuber rots as a constraint to cassava production in the Pouma district of Cameroon. Pages 719-722. *In* : *the proceedings of the 9th Triennial Symposium of the International Society for Tropical Root Crops - Africa Branch.* 31st Oct. – 5th Nov. 2004, Whitesands Hotel, Mombasa, KENYA.

Vincent, J. M. 1927. Distortion of fungal hyphae in presence of certain inhibitors. *Nature*. 159: 850.

Table 1 Effect of fungicides on mycelia growth of *Sclerotium rolfsii* on PDA stored at 25-27 C for 3 days.

Fungicide	Mycelia growth inhibition (%)	Mycelia growth character
1. carboxin 75% WP	100	no mycelia growth
2. cymoxanil+mancozeb 72% WP	100	no mycelia growth
3. difenoconazole 25% W/V EC	100	no mycelia growth
4. etridiazole 24% W/V EC	100	no mycelia growth
5. etridiazole+quintozene 6% + 24% W/V EC	100	no mycelia growth
6. iprodione 50% WP	86.8	abnormal growth
7. mancozeb 80% WP	100	no mycelia growth
8. propiconazole 25% W/V EC	100	no mycelia growth
9. tolclofos-methyl 50% WP	100	no mycelia growth
10. control (distilled water)	0.0	normal growth

Table 2 Efficacy of fungicides for control of cassava stem and root rot disease caused by *Sclerotium rolfsii*, pot trial at Plant Pathology Research Group, DOA, Bangkok.

Treatment	Rate of application (per 20 L water)	Disease Incidence (%) [1/]		
		Before application	After 2nd application	
			180 days	210 days
1. carboxin 75% WP	15 g	0.0	35.0 bc [2/]	72.5 bcd
2. cymoxanil + mancozeb 72% WP	60 g	0.0	20.0 ab	65.0 bcd
3. difenoconazole 25% W/V EC	20 ml	0.0	32.5 bc	80.0 cd
4. etridiazole 24% W/V EC	20 ml	0.0	15.0 ab	52.5 bc
5. etridiazole + quintozene 6% +24% W/V EC	40 ml	0.0	17.5 ab	42.5 b
6. iprodione 50% WP	50 g	0.0	27.5 abc	65.0 bcd
7. mancozeb 80% WP	60 g	0.0	25.0 ab	65.0 bcd
8. propiconazole 25% W/V EC	15 ml	0.0	25.0 ab	77.5 cd
9. tolclofos-methyl 50% WP	20 g	0.0	32.5 bc	70.0 bcd
10. control (water)		0.0	55.0 c	90.0 d
11. healthy plant (non-*S. rolfsii*)		0.0	0.0 a	0.0 a
CV (%)			70.37	29.78

[1/] Means of four replications

[2/] Means followed by the same letter within a column are not significantly different at P = 0.05 according to Duncan's Multiple Range Test

ศึกษาสาเหตุอาการแตกพุ่มแจ้ของมันสำปะหลังที่เกิดจากไรสี่ขาบนใบมันสำปะหลัง

Study on Witches Bloom of Cassava Cause by Eriophyid Mites

พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ พลอยชมพู กรวิภาสเรือง

อัจฉราภรณ์ ประเสริฐผล

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

Witches Bloom of cassava in Thailand has been found since 2014 and the causes of this symptom is not clearly identify. One of the pest that causes witches bloom symptom is eriophyid mites that was found and reported in Colombia and Brazil. To study the causes of witches bloom symptom, cassava which shown witches bloom symptom were collected from cassava fields in some provinces of Thailand. The sample were examined for the witches bloom caused, the eriophyid mites. The shoot, leave and the apical bud were the target point of examined. The result shown that no eriophyid mite pest was found in this study but the other cassava mite pests were found as follow, *Tetranychus truncates* Ehara., *Tetranychus kanzawai* Kishida., *Oligonychus biharensis* (Hirst) and *Eutetranychus africanus* (Tucker)

Keywords : cassava, Witches Bloom, mites

บทคัดย่อ

ปัจจุบันใบมันสำปะหลังของประเทศไทยมีรายงานการพบอาการหงิกลักษณะเป็นพุ่มไม้กวาด ยังไม่ทราบสาเหตุที่แน่ชัดว่าลักษณะของการเข้าทำลายดังกล่าวนั้น เกิดจากโรคหรือเกิดจากศัตรูชนิดอื่น ทุกหน่วยงานจึงเร่งศึกษาและวิจัยเพื่อให้ทราบสาเหตุที่แน่ชัดของอาการหงิกดังกล่าว อย่างไรก็ตามมีรายงานพบไรสี่ขาบนมันสำปะหลังทำให้เกิดอาการหงิกคล้ายอาการดังกล่าวในประเทศโคลอมเบีย และประเทศบราซิล ดังนั้นเพื่อให้ทราบถึงสาเหตุของอาการหงิกดังกล่าวว่าเกิดจากการเข้าทำลายของไรสี่ขาหรือไม่จึงทำการเก็บตัวอย่างมันสำปะหลังที่แสดงอาการแตกพุ่มแจ้ จากแปลงมันสำปะหลัง ในจังหวัดต่าง ๆ รวมทั้งสิ้น 11 จังหวัด ตั้งแต่ตุลาคม 2557 ถึงกันยายน 2559 นำมาตรวจหาไรสี่ขาที่อาจเป็นสาเหตุของอาการแตกพุ่มแจ้ โดยตรวจที่ใบและบริเวณตาของยอดมันสำปะหลัง ผลการตรวจพบว่า ไม่พบไรสี่ขาในวงศ์ Eriophyidae ที่เป็นศัตรูสำคัญในมันสำปะหลัง แต่พบไรศัตรูมันสำปะหลังชนิดอื่น ๆ รวมทั้งสิ้น 6 ชนิด คือ ไรแดงหม่อน *Tetranychus truncates* Ehara. ไรแมงมุมคันซาวา *Tetranychus kanzawai* Kishida. ไรแดงชมพู่ *Oligonychus biharensis*

โครงการวิจัยเร่งด่วน

(Hirst) ไรแดงแอฟริกัน *Eutetranychus africanus* (Tucker) *Oligonychus* sp. และ *Tetranychus* sp.

คำหลัก : มันสำปะหลัง พุ่มไม้กวาด ไร

คำนำ

มันสำปะหลังเป็นพืชอาหารเขตร้อนที่สำคัญในโลกเป็นอันดับ 5 รองมาจาก ข้าวสาลี ข้าวโพด ข้าวและ มันฝรั่ง (กรมวิชาการเกษตร, 2550) ในประเทศไทยมีพื้นที่เพาะปลูกมันสำปะหลังทั้งหมด 7,750,413 ไร่ ส่วนใหญ่ปลูกมากทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มีการส่งออกแปรรูปมันสำปะหลังเป็นแบบต่าง ๆ เช่น มันสำปะหลังอัดเม็ด มันสำปะหลังฝอย แป้งมันสำปะหลัง (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2552) มันสำปะหลังเป็นพืชที่มีศัตรูพืชหลายชนิด เช่น เพลี้ยแป้ง เพลี้ยหอย แมลงหวี่ขาว ปลวก แมลงนูนหลวง ด้วงหนวดยาว และไรศัตรูมันสำปะหลัง ซึ่งจากการสำรวจพบ 2 ชนิดที่เป็นศัตรูสำคัญ คือไรแดงหม่อน Mulberry red mite (*Tetranychus truncatus* Ehara) และ Cassava Red mite (*Oligonychus biharensis* Hirst) โดยไรแดงหม่อนจะเข้าทำลายดูดกินน้ำเลี้ยงตามใต้ใบส่วนล่างของมันสำปะหลัง และขยายปริมาณขึ้นสู่ส่วนยอด ส่วนไรแดงมันสำปะหลัง (Cassava Red mite) ดูดกินน้ำเลี้ยงบนหลังใบส่วนยอดและขยายปริมาณลงสู่ส่วนล่าง การเข้าทำลายของไรแดงทำให้ใบเหลืองซีดเป็นรอยขีด ใบม้วนงอ และร่วง (กรมวิชาการเกษตร, 2547) สำหรับชีววิทยาของไรแดงหม่อนระยะไข่จนถึงตัวเต็มวัยใช้เวลา 9-10 วัน ระยะไข่ใช้เวลา 3-4 วัน ตัวอ่อนมี 3 ระยะใช้เวลา 6-10 วัน (วัฒนาและคณะ, 2544) ไรแดงหม่อนนอกจากเข้าทำลายมันสำปะหลังแล้วยังเข้าทำลายพืชปลูกอื่น ๆ อีกหลายชนิดรวม 62 ชนิด ด้วยกัน เช่น กระเจี๊ยบมอญ บวบเหลี่ยม ละหุ่ง ถั่วพู ชมพู่ พุทรา ข้าวโพด และมีเขตแพร่กระจาย 10 ประเทศรวมทั้งประเทศไทยด้วย (Bolland, 1998) ในปี พ.ศ. 2525 วัฒนาและคณะได้ศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานของไรศัตรูมันสำปะหลังในประเทศไทย และจำแนกชนิดไรศัตรูมันสำปะหลังไว้ 8 ชนิดด้วยกัน เป็นไรที่อยู่ในวงศ์ Tetranychidae 6 ชนิด ได้แก่ *Tetranychus truncatus* Ehara, *Tetranychus marianae* McGregor, *Oligonychus biharensis* (Hirst), *Oligonychus coffeae* (Nietner), *Eutetranychus orientalis* (Klein), *Schizotetranychus leguminosus* Ehara. และอยู่ในวงศ์ Tenuipalpidae 2 ชนิด คือ *Brevipalpus californicus* (Banks), *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) ส่วนในปี 2559 พลอยชมพูและคณะ ได้สำรวจชนิดของไรศัตรูมันสำปะหลังในประเทศไทย และได้พบไรศัตรูมันสำปะหลังทั้งหมด 2 วงศ์ 13 ชนิด ซึ่งเป็นไรชนิดใหม่ 1 ชนิด

ในปี 1984 Boczek and Davis รายงานว่าไรสี่ขาที่พบในมันสำปะหลัง คือ *Calacarus guerreroi* Boczek and Davis ซึ่งเป็นไรสี่ขาชนิดใหม่ที่ยังไม่มีรายงานมาก่อน และเป็นไรสี่ขาชนิดแรกที่พบบนมันสำปะหลัง โดยลักษณะการทำลายจะทำให้ใบมันสำปะหลังม้วนงอขึ้น เมื่อเวลาผ่านไป ใบที่ถูกทำลายจะค่อย ๆ หดเล็กลง ซึ่งสามารถพบการทำลายบริเวณด้านบนใบโดยเฉพาะใบล่าง ๆ ของต้นมันสำปะหลัง โดยพบในประเทศ โคลอมเบีย และมีรายงานการพบเฉพาะในโคลอมเบียเท่านั้น

ในปี 2009 Damasceno and Navia ได้รายงานการพบไรสี่ขา *Procalacarus giustolinii* ซึ่งเป็นไรสี่ขาชนิดใหม่ที่พบบนมันสำปะหลัง โดยพบการทำลายด้านบนใบของมันสำปะหลัง เมื่อมีการระบาด จะทำให้ใบมันสำปะหลังซีดขาว ใบม้วน มีอาการใบสนิมเล็กน้อย และทำการแตกใบลดลง พบมากในส่วนล่างของลำต้นมันสำปะหลัง โดยพบในมันสำปะหลังที่ปลูกในเขตกึ่งแล้ง ภาคเหนือของรัฐ Minas Gerias ของประเทศ บราซิล ซึ่งเป็นไรสี่ขาชนิดที่ 2 ที่พบในมันสำปะหลัง

ปัจจุบันในประเทศไทยเริ่มพบมันสำปะหลังที่มีอาการใบหงิกม้วนงอขึ้น และใบหดเล็กลง ในหลายเขตที่ปลูกมันสำปะหลังในประเทศไทย ทั้งทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือตอนล่าง และภาคตะวันออก อาการดังกล่าวมีลักษณะคล้ายคลึงกับการทำลายของไรสี่ขามันสำปะหลังที่มีรายงานจากต่างประเทศ ซึ่งแต่เดิมไม่มีรายงานลักษณะอาการดังกล่าวในมันสำปะหลัง จึงควรมีการสำรวจหาสาเหตุของอาการดังกล่าวว่าเกิดจากการทำลายของไรสี่ขามันสำปะหลังหรือไม่ เพื่อเป็นข้อมูลในการศึกษาหาวิธีป้องกันกำจัดและจัดทำคำแนะนำให้เกษตรกรผู้ปลูกมันสำปะหลังต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างไร: ได้แก่ ถุงพลาสติกใสขนาดต่าง ๆ กล่องพลาสติก พู่กันเบอร์ 0, ขวดดองตัวอย่างไร ขนาด 1 แดรม บรรจุแอลกอฮอล์ 70% พู่กัน กล่องพลาสติกรักษาความเย็น ขนาด 68 ควอทซ์ แว่นขยาย (กำลังขยาย 20x) และกรวยแยกไร (Berlese Tullgren funnel)
2. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการเตรียมตัวอย่างไร เพื่อการศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธาน: ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์ (stereo microscope) โคมไฟ พู่กันเบอร์ 0 เข็มเขี่ยปลายแหลม แผ่นกระจกปิดสไลด์ สไลด์ สำลี แผ่นพลาสติกเจาะรู จานแก้ว กล่องใส่สไลด์ แป้นหมุนสำหรับผนึกขอบสไลด์ น้ำยาสำหรับผนึกขอบสไลด์ สารเคมีสำหรับใช้เตรียมน้ำยาเมาท์ ตู้อบ/เครื่องอุ่นสไลด์ ตั้งอุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียส
3. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการตรวจจำแนกชนิดของไร: ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope และคู่มือการจำแนก key สำหรับใช้จำแนกชนิดของไรในวงศ์ Eriophyidae

วิธีการ

- แบบและวิธีการทดลอง

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

การเก็บตัวอย่างและการทำสไลด์ถาวร

1) เก็บใบของมันสำปะหลัง ที่แสดงอาการผิดปกติลงในกล่องพลาสติก หรือถุงกระดาษพับปากถุง

2) บันทึกข้อมูลเกี่ยวกับตัวอย่างไร เช่น ชื่อพืช ผู้เก็บ สถานที่ที่เก็บตัวอย่างไร บันทึกข้อมูลพิกัดทางภูมิศาสตร์ จากนั้นนำตัวอย่างแช่ลงในกระติกน้ำแข็งก่อนนำกลับมายังห้องปฏิบัติการ

3) การทำสไลด์ถาวรภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด Stereomicroscope หยด Hoyer's solution ลงบนสไลด์ 1 หยด ใช้พู่กันเขี่ยตัวไรลงบนหยดน้ำยา จัดตัวอย่างไรให้อยู่ในสภาพที่เห็นส่วนต่าง ๆ ได้ชัดเจน

4) จัดท่าทางของไรสี่ขาให้อยู่ในท่าคว่ำ และท่าตะแคงข้าง เพื่อตรวจดูลักษณะต่าง ๆ ที่ใช้ในการจำแนก จากนั้นปิดสไลด์ด้วย กระจกปิดสไลด์ ใช้ปากกาเขียนแก้ววงกลมล้อมรอบตัวไรทันทีหลังจากทำสไลด์เรียบร้อยแล้ว เพื่อสะดวกในการหาตัวไรได้ง่ายขึ้น

5) นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ประมาณ 1 สัปดาห์ ผนึกขอบกระจกสไลด์ด้วยน้ำยาทาเล็บ และปิดป้ายบันทึกข้อมูลเกี่ยวกับ สถานที่เก็บ วันที่ ชื่อผู้เก็บและพืชอาศัยที่ด้านขวามือของแผ่นสไลด์

6) ตรวจจำแนกชนิดไรสี่ขาบนใบมันสำปะหลังที่ทำเป็นแผ่นสไลด์ถาวรแล้ว ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope ที่มีกำลังขยายสูง โดยอาศัยหลักการทางด้านอนุกรมวิธาน

บันทึกข้อมูล

- การบันทึกรายละเอียดบนแผ่นสไลด์ที่อบแห้งแล้ว ด้านขวาเขียนรายละเอียดเกี่ยวกับพืชอาหาร วัน เดือน ปี สถานที่ และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง ด้านซ้ายมือเขียนชื่อวิทยาศาสตร์ เพศ ชื่อผู้จำแนก เป็นภาษาอังกฤษ
- วาดรูปแสดงลักษณะสำคัญที่ใช้ในการจำแนกชนิด นำตัวอย่างเข้าเก็บในพิพิธภัณฑ์โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามหลักสากล

ระยะเวลา ตุลาคม 2557 - กันยายน 2559

สถานที่ แปลงมันสำปะหลังในจังหวัด ระยอง กำแพงเพชร อุทัยธานี นครสวรรค์ พิษณุโลก สุโขทัย นครราชสีมา ขอนแก่น สระแก้ว สกลนคร ร้อยเอ็ด

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการเก็บตัวอย่างมันสำปะหลังที่แสดงอาการแตกพุ่มแจ้ในแปลงมันสำปะหลัง ในจังหวัดต่าง ๆ รวมทั้งสิ้น 11 จังหวัด เพื่อนำมาตรวจหาไรสี่ขาที่อาจเป็นสาเหตุของอาการแตกพุ่มแจ้ โดยตรวจที่ใบและบริเวณตาของยอดมันสำปะหลัง ไม่พบไรสี่ขาในวงศ์ Eriophyidae แต่พบไรศัตรูมันสำปะหลังชนิดอื่นรายละเอียดตาม ตารางที่ 1 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ พลอยชมพู และคณะ (2559) ที่ทำการศึกษาอนุกรมวิธาน และ เขตแพร่กระจายของไรศัตรูมันสำปะหลังในประเทศไทย และผลการศึกษาก็ไม่พบไรสี่ขาในวงศ์ Eriophyidae เช่นเดียวกัน (ผนวก 1.)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจมันสำปะหลังที่แสดงอาการแตกพุ่มแจ้ในแหล่งปลูกมันสำปะหลังทั้งในเขตภาคตะวันออก ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยนำตัวอย่างของมันที่แสดงอาการมาตรวจหาไรสี่ขาซึ่งเป็นสาเหตุของอาการแตกพุ่มแจ้ ปรากฏว่า ทุกตัวอย่างที่นำมาตรวจสอบ ไม่พบไรสี่ขาที่เป็นสาเหตุของอาการดังกล่าว แต่พบไรศัตรูมันสำปะหลังชนิดต่าง ๆ ซึ่งไม่ได้เป็นสาเหตุของอาการ

ดังกล่าว จึงสามารถสรุปได้ว่า ไม่มีไรสี่ขาในวงศ์ Eriophyidae ที่เป็นสาเหตุของอาการแตกพุ่มแจ้ในประเทศไทย

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2547. เอกสารวิชาการมันสำปะหลัง. สถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพ. 124 หน้า

กรมวิชาการเกษตร. 2550. เอกสารวิชาการเทคนิคการปรับปรุงพันธุ์มันสำปะหลัง. กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพ. 67 หน้า

พลอยชมพู กรวิภาสเรือง, มานิตา คงชื่นสิน, พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์, วิมลวรรณ โชติวงศ์ และอัจฉราภรณ์ ประเสริฐผล. 2559. อนุกรมวิธานและเขตแพร่กระจายของไรศัตรูมันสำปะหลังในประเทศไทย ใน: รายงานผลงานวิจัย ประจำปี 2558 เล่มที่ 1. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 90-128.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2552. การผลิตสินค้าการเกษตรที่ สำคัญ.http://www.oae.go.th /main/php filename=index.

วัฒนา จารณศรี, มานิตา คงชื่นสิน, เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ และพิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์. 2544. ไรศัตรูพืชและการป้องกันกำจัด. เอกสารวิชาการของกองกีฏและสัตววิทยา ปี พ.ศ. 2544. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ. 192 น.

Boczek, J, and Davis, R. 1984. New Species of Eriophyid Mites (ACARI: ERIOPHYOIDEA). Florida Entomologist. 67.(2) June, 1984. p. 198-213.

Bolland, H. R., J. Gutierrez and C. H. W. Flechtmann. 1998. World Catalogue of the Spider Mite Family (Acari: Tetranychidae). Koninklijke Brill NV. Netherlands. 392 pp.

Damasceno, M, R, A. and Navia, D. 2009. A New Cassava Eriophyid Mite from Brazil. International Journal of Acarology. Vol.23. No. 35. October. 2009. P.371-376.

ตารางที่ 1 ไรศัตรูที่พบบนใบ ยอด และ ตา มันสำปะหลังที่แสดงอาการแตกพุ่มแจ้

ชื่อวิทยาศาสตร์	สถานที่	พิกัดภูมิศาสตร์
Eutetranychus africanus (Tucker)	ระยอง	N 12.44.202 E 101.08.122
		N 12.44.016 E 101.08.342
	ร้อยเอ็ด	N 16.21.469 E 103.59.169
		N 16.21.053 E 103.36.128
Oligonychus biharensis (Hirst)	ระยอง	N 12.44.005 E 101.08.441
		N 12.44.202 E 101.08.122
		N 12.43.984 E 101.08.438
		N 12.43.984 E 101.08.438
		N 12.44.016 E 101.08.342
		N 12.86.499 E 101.35.991
	ร้อยเอ็ด	N 16.21.469 E 103.59.169
		N 16.21.053 E 103.36.128
	นครราชสีมา	N 14.20.381 E 101.56.200

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ชื่อวิทยาศาสตร์	สถานที่	พิกัดภูมิศาสตร์
Oligonychus sp.	นครราชสีมา	N 14.53.169 E 101.38.730
	กำแพงเพชร	N 15.96.441 E 099.68.143
Tetranychus kanzawai	พิษณุโลก	N 16.54.110 E 100.41.432
	สุโขทัย	N 17.32.875 E 099.53.783
		N 17.09.418 E 099.52.056
Tetranychus truncatus Ehara	อุทัยธานี	N 15.09.724 E 099.41.503
		N 15.11.904 E 099.38.216
		N 15.17.982 E 099.41.204
	นครสวรรค์	N 16.05.449 E 100.07.328
	นครราชสีมา	N 14.31.141 E 101.52.690
		N 14.53.055 E 101.38.769
	กำแพงเพชร	N 15.96.441 E 099.68.143
	สุโขทัย	N 17.32.875 E 099.53.783
	ระยอง	N 12.44.016 E 101.08.342

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ชื่อวิทยาศาสตร์	สถานที่	พิกัดภูมิศาสตร์
Tetranychus truncatus Ehara	ระยอง	N 12.86.499 E 101.35.991
	นครราชสีมา	N 14.53.169 E 101.38.730
		N 14.53.120 E 101.38.706
	นครราชสีมา	N 14.53.169 E 101.38.730
	ร้อยเอ็ด	N 16.21.469 E 103.59.169
	ขอนแก่น	N 11.29.005 E 102.49.247
	สกลนคร	N 17.08.357 E 104.03.651
	สระแก้ว	N 13.53.427 E 101.56.201
Tetranychus sp.	อุทัยธานี	N 15.08.840 E 099.40.364
	นครราชสีมา	N 14.53.169 E 101.38.730
	สุโขทัย	N 17.32.875 E 099.53.783

ภาคผนวก 1

Table 1. Mite pests found on casava in Thailand. (พลอยชมพู และคณะ. 2559)

Family	Scientific name of mite	Location	GPS	
Tenuipalpidae	*Brevipalpus californicus* (Banks)	Chatuchak, Bangkok	N13°50. 51.262'	E100°34.18.996'
	Brevipalpus phoenicis (Geijskes)	Mueang District, Roi Et Province	N16°04.556'	E103°36.571'
		Pong Nam Ron District, Chanthaburi Province	N13.°05.10.442'	E102°26.41.899'
		Si Racha District, Chon Buri Province	N13°11.673'	E101°00.199'
Tetranychidae	*Eutetranychus africanus* (Tucker)	Bo Phloi District, Kanchanaburi Province	N14°29.26.31'	E099°28.11.754'
		Dan Khun Thot District, Nakhon Ratchasima Province	N15°30.3.125'	E101°09.18.546'
		Dan Khun Thot District, Nakhon Ratchasima Province	N15°07.29.23'	E101°31.42.834'
		Khong District, Nakhon Ratchasima Province	N15°22.32'	E102°27.771'
		Laem Chabang District, ChonBuri Province	N13°05.53.176'	E100°55.24.903'
		Laplae District, Uttaradit Province	N17°35.606'	E099°59.033'
		Mueang District, Kalasin Province	N16°36.528'	E101°31.420'
		Mueang District, Kanchanaburi Province	N13°58.919'	E 099°27.545'
		Mueang District District, Rayong Province	N12°42.28.821'	E101°11.7.166'
			N12°44.202'	E101°08.122'
			N12°45.074'	E101°09.544'

Table 1 (Continued).

Family	Scientific name of mite	Location	GPS	
Tetranychidae	*Eutetranychus africanus* (Tucker)	Mueang District District, Rayong Province	N13°48.31.277'	E099°25.8.642'
		Mueang District, Roiet Province	N16°04.708'	E103°36.367'
			N16°04.053'	E103°36.128'
		Yang Chum Noi District, Si Sa Ket Province	N13°37.729'	E102°50.137'
		Non Sila District, Khon Kaen Province	N15°55.495'	E102°40.313'
		Si Prachan District, Suphan Buri Province	N14°35.6.453'	E100°08.48.834'
		Sikhio District, Nakhon Ratchasima Province	N14°52.20.371'	E101°38.54.764'
	Eutetranychus sp.	Nang Rong District, Buri Ram Province	N15°16.707'	E104°24.670'
	Neotetranychus lek Flechtmann	Bo Rai District, Trat Province	N12°34.35.014'	E102°35..01.787'
		Chiang Dao District, Chiang Mai Province	N19°29.366'	E098°58.696'
		Kantharalak District, Si Sa Ket Province	N14°37.189'	E104°43.544'
		Li District, Lamphun Province	N17°45.753'	E089°59.634'
		Mae Rim District, Chiang Mai Province	N18°53.35.797'	E098°50.7.426'
		Mae Taeng District, Chiang Mai Province	N19°05.242'	E099°00.99'
		Mueang District, Chiang Rai Province	N19°53.43.811'	E099°51.4.554'

Table 1 (Continued).

Family	Scientific name of mite	Location	GPS	
Tetranychidae	*Neotetranychus lek* Flechtmann	Mueang District, Rayong Province	N12°42.28.821'	E101°11.07.166'
			N12°43.07.051'	E101°07.36.97'
			N12°44.5.722'	E101°08.9.216'
		Pak Chong District, Nakhon Ratchasima Province	N14°43.46.915'	E101°30.22.932'
			N14°41.14.47'	E101°17.18.042'
		Phu Sing District, Si Sa Ket Province	N14°28.967'	E104°03.493'
			N14°32.678'	E104°05.508'
		Samoeng District, Chiang Mai Province	N18°49.42.838'	E098°43.59.97'
		San Sai District, Chiang Mai Province	N18°59.'58.168	E098°58.41.449'
			N19°00.508'	E098°58.490'
			N18°57.673'	E098°59.226'
		Wang Nam Khiao District, Nakhon Ratchasima Province	N14°21.645'	E101°50.683'
		Yang Chum Noi District, Si Sa Ket Province	N14°57.406'	E104°37.733'

Table 1 (Continued).

Family	Scientific name of mite	Location	GPS	
Tetranychidae	*Neotetranychus* sp.	Li District, Lamphun Province	N17°45.753'	E089°59.634'
		Mueang District, Rayong Province	N12°44.5.722'	E101°08.9.216'
	Oligonychus biharensis (Hirst)	Ban Dan District, Buri Ram Province	N15°08.570'	E103°11.199'
		Bang Len District, Nakhon Pathom Province	N14°02.8.047'	E100°10.30.198'
		Ban Khai District,Rayong Province	N12°86.499'	E101°35.991'
		Bo Phloi District, Kanchanaburi Province	N14°29.26.313'	E099°28.12.089'
		Cha-am District, Phetchaburi Province	N12°37.624'	E099°51.972'
			N12°43.992'	E099°49.636'
		Chatuchak, Bangkok	N13°50.52.544'	E100°34.18.995'
			N13°50.51.262'	E100°34.18.996'
		Dan Khun Thot District, Nakhon Ratchasima Province	N15°30.3.125'	E101°09.18.546'
		Dan Makham Tia District, Kanchanaburi Province	N13°51.9.404'	E099°19.59.732'
		Kamphaeng Saen District, Nakhon Pathom Province	N14°01.24.988'	E099°58.21.758'
		Kantharalak District, Si Sa Ket Province	N14°43.0.23'	E104°37.06.0'

Table 1 (Continued).

Family	Scientific name of mite	Location	GPS	
Tetranychidae	*Oligonychus biharensis* (Hirst)	Khon Buri District, Nakhon Ratchasima Province	N14°16.25.874'	E102°04.50.969'
		Khun Han District, Si Sa Ket Province	N14°41.08.0'	E104°28.08.2'
		Lahan Sai District, Buri Ram Province	N14°24.775'	E102°56.185'
		Lao Khwan District, Kanchanaburi Province	N14°36.11.394'	E099°43.10.196'
			N14°24.55.832'	E099°46.5.448'
			N14°44.17.258'	E099°41.43.657'
		Mueang District, Kamphaeng Phet Province	N16°21.751'	E099°33.808'
		Mueang District, Kanchanaburi Province	N14°07.659'	E099°29.815'
		Mueang District, Rayong Province	N12°44.1.6'	E101°08.34.2'
			N12°44.22.06'	E101°08.32.24'
			N12°44.005'	E101°08.441'
			N12°44.202'	E101°08.122'
			N12°43.984'	E101°08.438'
			N13°48.31.277'	E099°25.8.642'
			N12°42.28.821'	E101°11.7.166'
			N12°43.7.051'	E101°07.36.97'

Table 1 (Continued).

Family	Scientific name of mite	Location	GPS	
Tetranychidae	*Oligonychus biharensis* (Hirst)	Mueang District, Rayong Province	N12°44.1.29'	E101°08.13.41'
			N12°45.074'	E101°09.544'
		Mueang District, Roiet Province	N16°04.708'	E103°36.367'
			N16°04.053'	E103°36.128'
		Nang Rong District, Buri Ram Province	N14°38.700'	E102°40.537'
		Non Sila District, Khon Kaen Province	N15°55.495'	E102°40.313'
		Nong Bunmak District, Nakhon Ratchasima Province	N14°52.2.063'	E103°25.34.838'
		Pak Chong District, Nakhon Ratchasima Province	N14°38.36.815'	E101°11.24.557'
			N14°41.4.025'	E101°17.18.05'
			N14°43.46.915'	E101°30.22.932'
		Phonthong District, Roiet Province	N16°21.469'	E103°59.169'
		Photharam District, Ratchaburi Province	N13°44.673'	E099°47.135'
			N13°43.337'	E099°39.669'
		Phran Kratai District, Kamphaeng Phet Province	N16°34.1.262'	E099°41.32.595'
		Phu Sing District, Si Sa Ket Province	N14°33.803'	E104°08.589'
		Sanam Chai Khet District, Chachoengsao Province	N13°44.194'	E101°32.594'

Table 1 (Continued).

Family	Scientific name of mite	Location	GPS	
Tetranychidae	*Oligonychus biharensis* (Hirst)	Si Prachan District, Suphan Buri Province	N13°38.073'	E101°30.011'
			N14°35.6.453'	E100°08.48.834'
		Si Thep District, Phetchabun Province	N15°21.455'	E101°07.882'
		Sikhio District, Nakhon Ratchasima Province	N14°52.20.371'	E101°38.54.764'
			N15°06.49.394'	E101°30.11.798'
			N14°52.20.371'	E101°38.54.754'
			N14°52.55.89'	E101°39.56.59'
		Tak Fa District, Nakhon Sawan Province	N15°20.56.407'	E100°31.36.783'
		Wang Nam Khiao District, Nakhon Ratchasima Province	N14°23.060'	E101°44.818'
			N14°20.381'	E101°56.200'
	Oligonychus sp.	Kantharalak District, Si Sa Ket Province	N14°37.189'	E104°43.544'
		Khanu Woralaksaburi District, Kamphaeng Phet Province	N15°96.441'	E099°681.143'
		Lao Khwan District, Kanchanaburi Province	N14°36.11.394'	E099°43.10.196'
		Mueang District, Rayong Province	N12°44.1.29'	E-101°8.13.41'
			N13°48.31.277'	E-099°25.8.642'

Table 1 (Continued).

Family	Scientific name of mite	Location	GPS	
Tetranychidae	*Oligonychus* sp.	Pak Chong District, Nakhon Ratchasima Province	N14°38.373'	E-101°33.124'
		Rasi Salai District, Si Sa Ket Province	N15°16.460'	E104°19.022'
		Sikhio District, Nakhon Ratchasima Province	N14°53.169'	E101°38.730'
	Tetranychus kanzawai Kishida	Ban Tak District, Tak Province	N17°09.529'	E99°08.186'
		Hua Hin District, Prahuap Khiri Khan Province	N12°31.134'	E099°50.345'
		Kanthararom District, Si sa ket Province	N15°06.387'	E104°38.936'
		Khao Khitchakut District, Chanthaburi Province	N12°48.59.272'	E102°07.21.237'
		Khon Sawan District, Chaiyaphum Province	N15°56.570'	E102°10.331'
		Mancha Khiri District, Khon Kaen Province	N16°13.159'	E102°33.510'
		Mueang District, Buri Ram Province	N14°55.750'	E103°01.593'
		Mueang District, Phuket Province	N07°59.10.269'	E098°19.32.114'
		Mueang District, Si sa ket Province	N15°06.217'	E104°24.920'
		Mueang District, Phitsanulok Province	N16°54.110'	E100°21.432'
		Pak Chong District, Nakhon Ratchasima Province	N14°40.20.19'	E101°34.10.51'
			N14°38.36.815'	E101°11.24.557'

Table 1 (Continued).

Family	Scientific name of mite	Location	GPS	
	Tetranychus kanzawai Kishida	Pak Chong District, Nakron Ratchasima Province	N14°36.58.771'	E101°30.18.707'
			N14°41.14.47'	E101°17.18.042'
			N14°36.58.898'	E101°25.17.902'
		Sangkha District, Kanchanaburi Province	N14°40.616'	E103°48.583'
		Si Samrong District, Sukhothai Province	N17°09.418'	E099°52.056'
		Si Satchanalai District, Sukhothai Province	N11°32.857'	E099°53.783'
		Tak Fa District, Nakhon Sawan Province	N15°20.56.407'	E100°31.36.783'
			N15°29.537'	E100°28.242'
	Tetranychus piercei McGregor	Ban Tak District, Tak Province	N17°09.529'	E99°08.186'
		Chatuchak, Bangkok	N13°50.51.262'	E100°34.18.996'
		Laplae District, Uttaradit Province	N17°35.606'	E099°59.033'
		Mae Taeng District, Chiang Mai Province	N19°05.242'	E099°00.99'
		Rasi Salai District, Si Sa Ket Province	N15°16.460'	E104°19.022'
			N15°16.460'	E104°19.002'

Table 1 (Continued).

Family	Scientific name of mite	Location	GPS	
Tetranychidae	*Tetranychus truncatus* Ehara	Ban Tak District, Tak Province	N17°09.529'	E99°08.186'
		Khiri Mat District, Sukhothai Province	N16°46.715'	E099°44.574'
			N16°46.718'	E099°44.574'
		Khon Sawan District, Chaiyaphum Province	N15°56.570'	E102°10.331'
		Khong District, Nakhon Ratchasima Province	N15°22.32'	E102°27.771'
		Mancha Khiri District, Khon Kaen Province	N16°13.159	E102°33.510'
		Mueang District, Roi Et Province	N16°04.558'	E103°36.571'
			N16°04.708'	E103°36.367'
		Non Sa-at District, Udon Thani Province	N16°56.496'	E102°53.393'
		Phu Sing District, Si Sa Ket Province	N14°28.967'	E104°03.493'
		Pran Buri District, Prahcuap Khiri Khan Province	N12°20.130'	E099°59.953'
		Si Thep District, Phetchabun Province	N15°21.455'	E101°07.882'
		Sikhio District, Nakhon Ratchasima Province	N14°53.6.6'	E101°38.38.8'
			N14°53.169'	E101°38.730'
		Sung Noen District, Nakhon Ratchasima Province	N14°52.11.48'	E101°47.56.28'
		Bamnet Narong District, Chaiyaphum Province	N15°27.45.839'	E101°38.34.706'

Table 1(Continued).

Family	Scientific name of mite	Location	GPS	
Tetranychidae	*Tetranychus truncatus* Ehara	Ban Khai District,Rayong Province	N12°86.499'	E101°35.991'
		Ban Rai District, Uthai Thani Province	N15°09.724'	E099°41.503'
		Bo Phloi District, Kanchanaburi Province	N14°29.26.313'	E099°28.12.089'
			N14°15.035'	E099°30.288'
			N14°29.26.31'	E099°28.11.754'
		Bueng Na Rang District, Phichit Province	N16°05.449'	E100°07.528'
		Cha-am District, Phetcahburi Province	N12°43.992'	E099°49.636'
		Chatuchak, Bangkok	N13°50.51.262'	E100°34.18.996'
			N13°50.52.544'	E100°34.18.995'
		Dan Khun Thot District, Nakhon Ratchasima Province	N15°07.29.23'	E101°31.42.834'
			N15°30.3.125'	E101°09.18.546'
		Dan Makham Tia District, Kanchanaburi Province	N13°51.9.404'	E099°19.59.732'
		Hua Hin District, Prahcuap Khiri Khan Province	N12°31.134'	E099°50.345'
		Huai Khot District, Uthai Thani Province	N15°11.904'	E099°38.266'
			N15°17.982'	E099°41.204'
		Kamphaeng Saen District, Nakhon Pathom Province	N14°01.24.988'	E099°58.21.758'

Table 1(Continued).

Family	Scientific name of mite	Location	GPS	
Tetranychidae	*Tetranychus truncatus* Ehara	Khanu Woralaksaburi District, Kamphaeng Phet Province	N15°58.6.398'	E099°38.52.739'
			N15°96.441'	E099°681.143'
		Khon Buri District, Nakhon RatchasimaProvince	N14°16.25.874'	E102°04.50.969'
		Lao Khwan District, Kanchanaburi Province	N14°36.11.394'	E099°43.10.196'
		Mueang District, Kamphaeng Phet Province	N16°31.14.581'	E099°29.46.742'
		Mueang District, Rayong Province	N12°44.5.722'	E101°8.9.216'
			N12°43.7.051'	E101°7.36.97'
			N12°44.1.29'	E101°8.13.41'
			N12°44.1.6'	E101°8.34.2'
			N13°48.31.277'	E099°25.8.642'
			N12°39.56.041'	E101°14.11.702 '
		Mueang District, Sa Kaeo Province	N13°55.427'	E101°56.201'
		Mueang District, Buri Ram Province	N14°55.750'	E103°01.593'
		Mueang District, Kanchanaburi Province	N13°58.919'	E099°27.545'
		Mueang District, Khon Kaen Province	N16°21.1.62'	E102°48.9.018'

Table 1(Continued).

Family	Scientific name of mite	Location	GPS	
Tetranychidae	*Tetranychus truncatus* Ehara	Mueang District, Khon Kaen Province	N16°29.005'	E102°49.247'
		Mueang District, Sakon Nakhon Province	N17°08.357'	E104°03.651'
		Pak Chong District, Nakhon Ratchasima Province	N14°43.47.475'	E101°26.10.788'
			N14°41.6.114'	E101°17.18.048'
			N14°41.14.47'	E101°17.18.042'
			N14°26.48.407'	E101°50.6.738'
		Phanna Nikhom District, Sakon Nakhon Province	N17°10.27.576'	E103°51.23.881'
		Photharam District, Ratchaburi Province	N13°44.673'	E099°47.135'
		Pong Nam Ron District, Chanthaburi Province	N13°05.10.442'	E102°26.41.899'
		Sanam Chai Khet District, Chachoengsao Province	N13°38.090'	E101°30.085'
			N13°44.194'	E101°32.594'
		Si Maha Phot District, Prachin Buri Province	N13°52.657'	E101°33.748'
		Si Satchanalai District, Sukhothai Province	N11°32.857'	E099°53.783'
		Sikhio District, Nakhon Ratchasima Province	N14°52.20.371'	E101°38.54.764'
			N15°06.49.394'	E101°30.11.798'
			N14°52.20.371'	E101°38.54.764'

Table 1 (Continued).

Family	Scientific name of mite	Location	GPS	
Tetranychidae	*Tetranychus truncatus* Ehara	Sikhio District, Nakhon Ratchasima Province	N14°53.055'	E101°38.769'
			N14°53.120'	E101°38.706'
			N14°53.169'	E101°38.730'
		Tak Fa District, Nakhon Sawan Province	N45°29.537'	E100°28.242'
			N15°20.55.83'	E100°31.36.23'
			N15°20.56.407'	E100°31.36.783'
		Wang Nam Khiao District, Nakhon Ratchasima Province	N14°31.141'	E101°52.690'
	Tetranychus sp.	Ban Dan District, Buri Ram Province	N15°08.570'	E103°11.199'
		Ban Rai District, Uthai Thani Province	N15°08.840'	E099°40.364'
		Chai Badan District, Lop Buri Province	N15°14.0.776'	E101°06.50.984'
		Dan Khun Thot District, Nakhon Ratchasima Province	N15°30.3.125'	E101°09.18.546'
		Dan Sai District, Loei Province	N17°18.996'	E101°14.800'
		Don Chedi District, Suphan Buri Province	N14°35.31.676'	E100°03.6.116'
		Hua Hin District, Prachuap Khiri Khan Province	N12°31.134'	E099°50.345'
		Kamphaeng Saen District, Nakhon Pathom Province	N14°01.24.988'	E099°58.21.758'

Table 1 (Continued).

Family	Scientific name of mite	Location	GPS	
Tetranychidae	*Tetranychus* sp.	Khiri Mat District, Sukhothai Province	N16°46.715'	E099°44.574'
		Mae Taeng District, Chiang Mai Province	N19°05.242'	E099°00.99'
		Mancha Khiri District, Khon Kaen Province	N16°13.159'	E102°33.510'
		Mueang District, Rayong Province	N12°42.28.821'	E101°11.7.166'
		Mueang District, Roi Et Province	N16°04.558'	E103°36.571'
		Pak Chong District, Nakhon Ratchasima Province	N14°41.14.47'	E101°17.18.042'
		Photharam District, Ratchaburi Province	N13°44.673'	E099°47.135'
		Phu Sing District, Si Sa Ket Province	N14°33.803'	E104°08.589'
			N14°28.967'	E104°03.493'
		Pran Buri District, Prachuap Khiri Khan Province	N17°20.130'	E099°59.953'
		Rasi Salai District, Si Sa Ket Province	N15°16.460'	E104°19.002'
		Si Satchanalai District, Sukhothai Province	N11°32.857'	E099°53.783'
		Sikhio District, Nakhon Ratchasima Province	N14°52.20.371'	E101°38.54.764'
			N14°53.169'	E101°38.730'
		Sung Noen District, District, Nakhon Ratchasima Province	N14°52.11.48'	E101°47.56.28'

Table 1(Continued).

Family	Scientific name of mite	Location	GPS	
Tetranychidae	*Tetranychus truncatus* Ehara	Tak Fa District, Nakhon Sawan Province	N15°20.55.83'	E100°31.36.23'
			N15°20.56.407'	E100°31.36.783'
	Tetranychus urticae Koch	Dan Sai District, Loei Province	N17°18.996'	E101°14.800'
	Tetranychus marianae McGregor	Sanam Chai Khet District, Chachoengsao Province	N13°38.090'	E101°30.085'

การจัดการศัตรูพืชแบบบูรณาการเพื่อแก้ปัญหาโรคโคนเน่าหัวเน่ามันสำปะหลัง

Integrated Pest Management of Cassava Stem and Tuber Rot Disease Caused by *Phytophthora*

จรรยา มณีโชติ[1/] รังษี เจริญสถาพร[2/] ธรรมรัตน์ ทองมี[2/] วารีย์ ทองมี[2/] จรัญญา ปิ่นสุภา[/3]
ปรัชญา เอกฐิน[3/] ยุรวรรณ อนันตนมณี[4/] เบญจมาศ คำสีบ[5/] เสาวรีย์ บำรุง[5/] สายชล แสงแก้ว[5/]

[1/]ผู้เชี่ยวชาญ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิชาการ สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน
[3/]กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[4/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[5/]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครราชสีมา สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4

Abstract

Integrated pest management for solvimg problem of cassava stem and tuber rot disease project was conducted Nakorn Ratchasima and Ubon Ratchthani provinces during March 2015-September 2016. It was comprised of two activities including integrated pest management (IPM) of cassava stem and tuber rot disease caused by *Phytophthora* and integrated weed management (IWM) to reduce cost of weed control. Activity 1, two different methods were introduced according to the level of yield loss. In six farmers' fields where cassava yield loss were <50%, IPM was practiced. In two farmers fields where cassava yield loss were >50%, two rotation crops (maize and sugarcane) were examined. At cassava yield loss <50%, six varieties of cassava i.e. Rayong 5 Rayong 11 Rayong 72 HB60 Kasetsart 50 and CMR 43-08-89 were used as treatments with 4 replications in CRD. All treatments were treated with IPM compared with farmer practices in six sites. At cassava yield loss >50%, maize and sugarcane were separately planted in two fields and soil samples were tested for disease severity using baiting technique in the glasshouse every three months. Activity 2, IWM were practiced in two farmers' field to reduce cost of annual weeds and perennial vine weeds control. Also, the adoption of IPM technology by 150 farmers were evaluated at the end of the project.

โครงการวิจัยเร่งด่วน

The results from untreated six fields confirmed that two varieties of cassava, Rayong 5 and Rayong 72, were tolerant to the disease with dead plants ranged between 10.4%-29.7%. In contrast, CMR 43-08-89 was sensitive variety with high percentage of dead plants ranged from 23.3% to 70.0%. In six IPM fields, the number of dead plants in two tolerant varieties, Rayong 5 and Rayong 72, was decreased to 0.4-7.1% resulting in higher cassava yield of 4.5-5.5 tones per rai. However, IPM could reduce the number of dead plants in sensitive variety CMR 43-08-89 to 11.7%-42.1% giving a range of yield between 2.4- 3.2 tons per rai. In addition, maize and suagercane were possible to rotate with cassava with no infection of Phythopthora. After a period of 19 months of crop rotation, the number of infected cassava plants were reduced to 3.3% and 18.5% in maize and sugarcane, respectively. In second activity, an application of pre-emergence herbicides was effective to control annual weeds and weed control cost was reduced by 60% when compared to hand weeding. Pre-planting application with non selective herbicide to eradicate perennial vine weeds was cheaper than hand weeding by 70%. Interestingly, 69% of all farmers accepted the two tolerant varieties, Rayong 5 and Rayong 72, to replace the sensitive variety CMR 43-08-89. But the adoption of fungicide, fosetyl-aluminium, was only 35%. The wide spacing to increase ventilation and dead plants removal were highly adopted by 93% and 91%, respectively. Replacement of hand weeding with herbicide application was adopted by 78% of total 150 farmers because it not only reduce the cost of production but also prevent the chance of disease infection through the root wound. In conclusion, 62% of total 150 farmers adopted integrated pest manaagement to solve the cassava stem and root rot disease caused by *Phythophthora*.

Keywords : cassava stem and tuber rot disease, Phytophthora, Integrated pest management, crop rotation, integrated weed management, insecticides, fungicides, herbicides

บทคัดย่อ

โครงการวิจัยการจัดการศัตรูพืชแบบบูรณาการเพื่อแก้ปัญหาโรคโคนเน่าหัวเน่ามันสำปะหลัง ดำเนินการตั้งแต่เดือนมีนาคม 2558 -กันยายน 2559 ในจังหวัดนครราชสีมาและอุบลราชธานี แบ่งเป็น 2 กิจกรรม ได้แก่ กิจกรรมการป้องกันกำจัดโรคโคนเน่าหัวเน่าสาเหตุจากเชื้อรา *Phytophthora* และกิจกรรมการลดต้นทุนการกำจัดวัชพืช ในกิจกรรมที่ 1 ทดสอบเทคโนโลยีการจัดการโรค 2 วิธี วิธีที่ 1 ทดสอบในพื้นที่มีการระบาดและผลผลิตเสียหายน้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 6 แปลง โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธีคือพันธุ์มันสำปะหลัง 6 พันธุ์ ได้แก่ ระยอง 5 ระยอง 11 ระยอง 72 ห้วยบง 60 เกษตรศาสตร์ 50 และ CMR 43-08-89 และทดสอบร่วมกับการจัดการศัตรูพืชแบบบูรณาการ (IPM) เปรียบเทียบกับวิธีเกษตรกร วิธีที่ 2 ทดสอบในพื้นที่มีการระบาดและผลผลิตเสียหายมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์จำนวน 2 แปลง โดยปลูกข้าวโพดและอ้อย เป็นพืชหมุนเวียนเพื่อตัดวงจรการระบาดของโรค และสุ่มตัวอย่างดินเพื่อทดสอบความรุนแรงของโรคด้วยวิธี baiting method ในกิจกรรมที่ 2 ทดสอบเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานเพื่อลดต้นทุนการกำจัดในแปลงเกษตรกร 2 รายที่มีปัญหาวัชพืชฤดูเดียวและวัชพืชเถาเลื้อยข้ามปี และเมื่อสิ้นสุดโครงการ ได้ประเมินการยอมรับเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสานของเกษตรกร จำนวน 150 ราย ผลการศึกษาพบว่า ในกิจกรรมที่ 1 กรณีผลผลิตเสียหายน้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ในแปลงเกษตรกร พบว่าพันธุ์ระยอง 5 และ ระยอง 72 มีจำนวนต้นเป็นโรค ตั้งแต่ 10.4-29.7 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่พันธุ์ CMR 43-08-89 72 มีจำนวนต้นเป็นโรค ตั้งแต่ 23.3-70.0 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อใช้พันธุ์ระยอง 5 และ ระยอง 72 ร่วมกับวิธี IPM พบจำนวนต้นเป็นโรคเพียง 0.4-7.1 เปอร์เซ็นต์และได้ผลผลิต 4.5-5.5 ตันต่อไร่ ในขณะที่พันธุ์ CMR 43-08-89 72 มีจำนวนต้นเป็นโรค ลดลงเหลือ 11.7-42.1 เปอร์เซ็นต์และได้ผลผลิตระหว่าง 2.4-3.2 ตันต่อไร่ ส่วนกรณีที่ 2 ใช้ข้าวโพดและอ้อยปลูกแทนมันสำปะหลังในพื้นที่ผลผลิตเสียหายมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ นาน 19 เดือน พบจำนวนต้นมันสำปะหลังเป็นโรคเพียง 3.3 และ 18.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในกิจกรรมที่ 2 พบว่าการลดต้นทุนการกำจัดวัชพืชฤดูเดียว โดยใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอกแทนการใช้แรงงานสามารถควบคุมวัชพืชได้ดี และลดต้นทุนได้ถึง 60 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการจัดการวัชพืชข้ามปี/เถาเลื้อยโดยใช้สารกำจัดวัชพืชเถาเลื้อยปลูกมันสำปะหลังตามด้วยสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอกแทนการใช้แรงงาน สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี และลดต้นทุนได้ถึง 70 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับวิธีเกษตรกร เมื่อประเมินการยอมรับเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืชแบบบูรณาการ (IPM) เพื่อแก้ปัญหาโรคโคนเน่าหัวเน่าในมันสำปะหลัง พบว่า 69 เปอร์เซ็นต์ของเกษตรกรยอมรับการใช้พันธุ์ทนทาน 55 เปอร์เซ็นต์ของเกษตรกรยอมรับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลง 35 เปอร์เซ็นต์ของเกษตรกรยอมรับการใช้สาร fosetyl-aluminium เพื่อป้องกันกำจัดโรคโคนเน่าหัวเน่า 93 เปอร์เซ็นต์ของเกษตรกรยอมรับการปรับระยะปลูกให้กว้างขึ้น 91 เปอร์เซ็นต์ของเกษตรกรยอมรับวิธีการถอนต้นเป็นโรคทิ้งนอกแปลง ที่น่าสนใจคือ 78 เปอร์เซ็นต์ของเกษตรกรยอมรับการใช้สารกำจัดวัชพืช เนื่องจากสามารถลดต้นทุนการผลิตและป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อราไฟท็อปธอร่าเมื่อรากเกิดบาดแผล ทั้งนี้ ในภาพรวม พบว่า

62 เปอร์เซ็นต์ของเกษตรกรทั้งหมด 150 ราย ยอมรับเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืชแบบบูรณาการเพื่อแก้ปัญหาโรคโคนเน่าหัวเน่าในมันสำปะหลัง

คำหลัก : มันสำปะหลัง โรคโคนเน่าหัวเน่า เชื้อราไฟท็อปธอร่า การจัดการศัตรูพืชแบบบูรณาการ พืชหมุนเวียน การจัดการวัชพืชแบบผสมผสาน สารกำจัดแมลง สารกำจัดโรค สารกำจัดวัชพืช

คำนำ

สืบเนื่องจากหนังสือร้องเรียนเรื่องปัญหามันสำปะหลังรากและหัวเน่า ของเลขาธิการสมาพันธ์ชาวไร่มันสำปะหลังแห่งประเทศไทย เลขที่ ๐๒๑/๒๕๕๗ ลงวันที่ ๒๓ พฤศจิกายน ๒๕๕๗ โดยขอให้กรมวิชาการเกษตรส่งนักวิชาการเข้าไปศึกษาถึงปัญหาและหาแนวทางในการป้องกันและหาแนวทางแก้ไขปัญหาให้กับเกษตรกรปลูกมันสำปะหลังในจังหวัดนครราชสีมาโดยเร่งด่วน จากผลการวิเคราะห์พื้นที่เสี่ยงต่อการระบาดของศัตรูพืชสำคัญในมันสำปะหลังระหว่างปี 2555-2557 (โครงการบริหารจัดการศัตรูพืชแบบบูรณาการในมันสำปะหลัง ซึ่งกรมวิชาการเกษตรได้รับการสนับสนุนงบประมาณจาก สวทช.) ทราบว่า สาเหตุโรคหัวมันเน่ามาจากเชื้อรา *Phythopthora meadii* ซึ่งสามารถสร้างส่วนขยายพันธุ์ที่แพร่กระจายไปกับน้ำได้รวดเร็วและอาศัยอยู่ในดินได้นาน 2 ปี จากการลงตรวจสอบในพื้นที่ตามข้อร้องเรียนจากเกษตรกรหลายจังหวัด ในปี 2558 พบว่าโรคนี้มีการระบาดแผ่ออกไปในวงกว้าง การระบาดรุนแรงในภาคกลาง ตะวันออก และตะวันออกเฉียงเหนือที่ จังหวัดนครราชสีมา สระแก้ว สระบุรี อุบลราชธานี สระบุรี บุรีรัมย์ ปราจีนบุรี ลพบุรี ฉะเชิงเทรา ระยอง และชลบุรี พื้นที่ในการระบาดไม่ต่ำกว่า 50,000 ไร่ ส่งผลกระทบต่อเกษตรกรไม่ต่ำกว่า 5,000 ครัวเรือน สามารถสร้างระดับความเสียหายต่อผลผลิตได้ตั้งแต่ 20-100 เปอร์เซ็นต์

ในปี พ.ศ. 2555 (รังษี และ คณะ, 2556) ได้พบการระบาดของโรคหัวมันเน่าในโรครากเน่าหัวเน่า ที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* จังหวัดระยองและนครราชสีมา และตรวจสอบเชื้อสาเหตุเป็นรา *Phytophthora melonis* (*Charoensataton et al*., 2014) ซึ่งเป็นเชื้อราที่สามารถสร้างส่วนขยายพันธุ์ที่ว่ายน้ำได้ ทำให้การระบาดแพร่กระจายไปยังแปลงข้างเคียงหลังจากมีฝนตกหนักและน้ำท่วม ดังนั้นปริมาณความชื้นและน้ำจึงเป็นปัจจัยสำคัญต่อการขยายพันธุ์อย่างรวดเร็วของเชื้อรา เมื่อเข้าช่วงฤดูฝนที่มีปริมาณน้ำฝนและความชื้นในดินสูงติดต่อกันเป็นเวลาหลายสัปดาห์ โรคจะระบาดรุนแรง

เชื้อรา *Phytophthora* มีส่วนขยายพันธุ์ที่สามารถพักตัวในดินได้นาน 3-6 ปี เรียกว่า Oospore (Krober, 1980) การปลูกพืชหมุนเวียนเป็นการลดปริมาณเชื้อ *Phytophthora* ในดิน เพื่อลดความรุนแรงในการก่อให้เกิดโรคกับพืชหลักที่ต้องการปลูก ดังนั้นการปลูกพืชหมุนเวียนจึงเป็นวิธีการหนึ่งที่จะทำให้เกษตรกรมีผลผลิตขายทดแทนการปลูกมันสำปะหลังในพื้นที่ที่ประสพปัญหาการระบาดของโรคโคนเน่าหัวเน่า วิธีการปลูกพืชหมุนเวียนเพื่อตัดวงจรการระบาดของโรค มีรายงานใช้ในพืชหลายชนิด เช่น โรคผลเน่าของแตงโมที่เกิดจากเชื้อ *P. cactorum* ต้องใช้ระยะเวลาในการเปลี่ยนพืชปลูกนานถึง 4 ปี (Wiant and Tucker, 1940) โรค Pink Rot หรือ Tube Rot ในมันฝรั่ง *P. erythroseptica*

ต้องใช้เวลาเปลี่ยนพืชปลูกอย่างน้อย 4 ปี (Lonsdale *et al.*, 1980) และโรค Black Shank ในยาสูบ *P. nicotianae P. pairasitica* สามารถอยู่ในดินได้มากกว่า 5 ปี (Lucas, 1975) การอยู่รอดของ *Phytophthora* ในดิน ในรูปของ Oospore หรือ Chlamydospore สามารถถูกประเมินได้หลายวิธี เช่น การใช้อาหารคัดเลือกจำเพาะกลุ่มรา (Selective mediam) เหยื่อที่จำเพาะล่อร่วมกับอาหารคัดเลือกจำเพาะกลุ่มรา (Baiting with selective hosts) เซรุ่มวิทยา (Serological methods) และชีวโมเลกุลวิทยา (Biomolecular mothods) การใช้เหยื่อที่จำเพาะล่อร่วมกับอาหารคัดเลือกจำเพาะกลุ่มรา มีรายงานดังนี้เช่นการใช้ต้นกล้าดอกคำฝอยเป็นเหยื่อล่อเชื้อ *P. cactorum* (Banihashemi and Mitchell, 1975) การใช้ต้นกล้าของ Persea indica seedling เป็นเหยื่อล่อเชื้อ *P. cinnamomi* (Zentmyer, 1980) ต้นกล้าแคนตาลูปล่อเชื้อ *P. drechsleri (*Alavi and Strange, 1979) เป็นต้น

การควบคุมโรคโคนเน่าหัวเน่ามันสำปะหลังมีหลายวิธีการเช่น รังษี และคณะ (2557) ได้ทดสอบสารเคมีในการป้องกันกำจัด พบว่า มีสารกำจัดโรคหลายชนิดสามารถยับยั้งอาการโรคได้ รวมทั้งเชื้อรา *Trichoderma* แต่สารที่ให้ประสิทธิภาพสูงสุดคือ fosetyl-aluminium อัตรา 50 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร จากนั้นจึงได้นำไปทดสอบในแปลงเกษตรกรอำเภอเสิงสาง 2 รายที่มีการระบาดของโรค ผลผลิตเสียหาย 30-50 เปอร์เซ็นต์ในฤดูก่อนเริ่มทดสอบ พบว่ากรรมวิธี ที่ใช้ fosetyl aluminuim อัตรา 50 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร ให้ผลดีในการควบคุมโรคหัวมันเน่า แต่ความรุนแรงของโรคนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยอีกหลายประการเช่นการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนสูงเกินไป การให้น้ำหยดเสริมเร่งการเจริญเติบโต การใช้ปุ๋ยมูลไก่โรยรอบโคนต้น จึงมีการศึกษาปัจจัยต่างๆที่ทำให้การระบาดของโรคลดน้อยลง เช่น การใช้การไถระเบิดดินดานก่อนปลูก การยกร่องปลูก การใช้พันธุ์ทนทาน การใช้ระยะปลูกที่กว้างขึ้น การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดวัชพืชแทนการใช้แรงงาน ลดการใช้ปุ๋ยไนโตรเจน เพิ่มปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์ พ่นสาร fosetyl-aluminium เมื่อพบต้นเป็นโรคมากกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตาม หากพบพื้นที่ที่ผลผลิตมันสำปะหลังลดลงมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ วิธีการดังกล่าวข้างต้นไม่สามารถรักษาระดับผลผลิตได้ จำเป็นต้องเปลี่ยนไปปลูกพืชที่ไม่ใช่พืชอาศัยของเชื้อราชนิดนี้ ได้แก่ อ้อย หรือข้าวโพด เนื่องจากข้อมูลการคงอยู่ในดินของเชื้อ *P. melonis* สาเหตุโรคโคนเน่ารากเน่ามีอยู่อย่างจำกัด และยังไม่มีข้อมูลการศึกษาพืชหมุนเวียนที่เหมาะสม การศึกษานี้จึงเป็นการทดสอบการปลูกพืชหมุนเวียนเพื่อลดการเพิ่มประชาการของ *P. melonis* ที่เป็นสาเหตุโรคโคนเน่าหัวเน่ามันสำปะหลังในดิน และทดแทนรายได้ที่ลดไปจากการปลูกมันสำปะหลังซึ่งมีผลผลิตเสียหาย เนื่องจากเป็นโรคโคนเน่าหัวเน่า โดยใช้อ้อยโรงงาน และข้าวโพดหวานผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสม เป็นพืชหมุนเวียน

วัชพืชเป็นศัตรูพืชที่สำคัญที่ทำให้ผลผลิตมันสำปะหลังลดลง การปลูกมันสำปะหลังโดยไม่มีการกำจัดวัชพืช ทำให้ผลผลิตเสียหายได้ตั้งแต่ 10-95 เปอร์เซ็นต์ (Barios, 1973; Doll and Piedrahita, 1973: Harper, 1973; Piedrahita and Doll, 1974; Moody and Izumah, 1974) การควบคุมวัชพืชในมันสำปะหลังนั้น จำเป็นต้องมีคำแนะนำในการป้องกันกำจัดวัชพืชแบบผสมผสาน โดยเฉพาะพื้นที่ที่ประสพปัญหาโรคโคนเน่าหัวเน่ามันสำปะหลัง หากใช้การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานคน

เช่น จอบถาก หรือการใช้เครื่องจักรกลทางการเกษตร อาจทำให้เกิดบาดแผลที่ต้นมันสำปะหลังเป็นช่องทางของโรคเข้าสู่ต้นพืชได้ อีกทั้งการป้องกันกำจัดวัชพืชจึงมีความเฉพาะเจาะจงต่อชนิดวัชพืช ชนิดของดินและสภาพภูมิอากาศ เพื่อการป้องกันกำจัดที่มีประสิทธิภาพและต้นทุนในการกำจัดวัชพืช ปัจจุบันมีคำแนะนำการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนวัชพืชงอกในมันสำปะหลัง ทั้งชนิดเดี่ยวและผสม ให้เกษตรกรได้เลือกใช้สารกำจัดวัชพืชให้ถูกชนิดวัชพืชและเหมาะสมกับชนิดของดิน แต่การกำจัดวัชพืชในมันสำปะหลังอย่างมีประสิทธิภาพนั้น จำเป็นต้องใช้หลายวิธีการร่วมกัน คือ วิธีการเตรียมแปลงที่ถูกต้องกับชนิดวัชพืช การเลือกใช้พันธุ์มันสำปะหลังที่เจริญเติบโตแข่งขันกับวัชพืชได้ดี ระยะปลูกที่เหมาะสม วิธีการปลูก และอัตราของสารกำจัดวัชพืชที่เหมาะสมกับชนิดวัชพืชและชนิดดิน

การจัดการโรคโคนเน่าหัวเน่าแบบบูรณาการในมันสำปะหลังจึงเป็นวิธีการหนึ่งในการจัดการโรคอย่างมีประสิทธิภาพ ทั้งวิธีเขตกรรม การใช้พันธุ์ทนทาน การใช้สารเคมี รวมถึงการปลูกพืชหมุนเวียนเพื่อตัดวงจรการเกิดโรค เพื่อให้ได้ข้อมูลในการแก้ไขปัญหาโรคโคนเน่าหัวเน่าของมันสำปะหลังอย่างยั่งยืนต่อไป

วัตถุประสงค์

1. คัดเลือกมันสำปะหลังพันธุ์ที่ทนทานร่วมกับการจัดการโรคโคนเน่าหัวเน่าในมันสำปะหลังแบบบูรณาการในสภาพแปลงทดลอง
2. ศึกษาพืชหมุนเวียนที่เหมาะสมสำหรับการตัดวงจรการเกิดโรคโคนเน่าหัวเน่าของมันสำปะหลัง
3. ศึกษาวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดวัชพืชเพื่อการลดต้นทุนการผลิตมันสำปะหลัง
4. เพื่อทราบข้อมูลการยอมรับเทคโนโลยีการกำจัดศัตรูพืชในมันสำปะหลัง และเป็นข้อมูลในการวิจัยในอนาคต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

พันธุ์มันสำปะหลัง 6 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ ระยอง 5 ระยอง 11 ระยอง 72 ห้วยบง 60 เกษตรศาสตร์ 50 และ พันธุ์ CMR 43-08-89 สารปรับปรุงบำรุงดินโดโลไมท์ สารป้องกันกำจัดวัชพืช ได้แก่ alachlor flumioxazin สารป้องกันกำจัดโรคพืช ได้แก่ fosetyl-aluminium mancozeb/metalaxyl สารป้องกันกำจัดแมลง imidacloprid เชื้อรา ไตรโคเดอร์มา ปุ๋ยสูตร 15-15-15 และ 0-0-60

วิธีการ

กิจกรรมที่ 1 การทดสอบเทคโนโลยีแบบผสมผสานเพื่อแก้ปัญหาโรคโคนเน่าหัวเน่ามันสำปะหลัง :

กรณีที่ 1 ปลูกมันสำปะหลังต่อเนื่องกรณีพบการระบาดของโรคและผลผลิตฤดูก่อนเสียหายน้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์

1. เลือกแปลงเกษตรกรในพื้นที่มีการระบาดของโรคหัวมันเน่าจากเชื้อรา *phytophthora* และผลผลิตเสียหายน้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ในอำเภอเสิงสาง ครบุรี หนองบุญมาก โชคชัย และปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา อำเภอน้ำยืน จังหวัดอุบลราชธานี รวมทั้งหมด 6 แปลง ในแต่ละแปลงๆละ 3 ไร่
2. วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ โดยแต่ละกรรมวิธี มีการปฏิบัติที่แตกต่างกัน 3 แบบคือ IPM1 IPM2 และเกษตรกร (ตารางที่ 1) ปลูกมันสำปะหลัง 6 พันธุ์ ได้แก่พันธุ์ ระยอง 5 ระยอง 11 ระยอง 72 ห้วยบง 60 เกษตรศาสตร์ 50 และ CMR 43-08-89 ขนาดแปลงทดลองย่อย 6×8 เมตร
3. ไถระเบิดดินดานในพื้นที่มีปัญหาน้ำท่วมขังในฤดูฝน และ ไถตากดินทิ้งไว้ 2 สัปดาห์ เพื่อลดจำนวนเชื้อรา *phytophthora* และเมล็ดวัชพืชในดิน
4. คัดเลือกท่อนพันธุ์ที่สมบูรณ์ ตัดขนาดความยาว 30 เซนติเมตร
5. บันทึกข้อมูลจำนวนต้นที่แสดงอาการโรคโคนเน่าหัวเน่าที่ระยะ 3 6 และ 9 เดือนหลังปลูก
6. บันทึกข้อมูลโรคและแมลงทุกเดือน
7. เก็บเกี่ยวผลผลิตที่อายุ 12 เดือนหลังปลูก และวัดเปอร์เซ็นต์แป้งทุกกรรมวิธี
8. นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์สถิติ

ตารางที่ 1 วิธีการปฏิบัติที่ใช้ในแปลงทดสอบการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสานเพื่อแก้ปัญหาโรคโคนเน่าหัวเน่ามันสำปะหลัง กรณีพบการระบาดของโรคและผลผลิตฤดูก่อนเสียหายน้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์

วิธีการปฏิบัติ	วิธีเกษตรกร	IPM 1	IPM 2
1. การแช่ท่อนพันธุ์ก่อนปลูกด้วย imidacloprid และmancozeb/metalaxyl อัตรา 5 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร เพื่อกำจัดเพลี้ยแป้งและเชื้อ *Phytophthora* ที่อาจติดมากับท่อนพันธุ์	ไม่ปฏิบัติ	ปฏิบัติ	ปฏิบัติ
2. ระยะปลูกตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร 1×1 เมตร	ปฏิบัติ	ปฏิบัติ	ปฏิบัติ
3. การกำจัดวัชพืชด้วยสารป้องกันกำจัดวัชพืช	ไม่ปฏิบัติ	ปฏิบัติ	ปฏิบัติ
4. การใช้สารปรับปรุงดินระยะไถเตรียมแปลง	ไม่ปฏิบัติ	ปฏิบัติ	ปฏิบัติ
5. การใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ และเพิ่มปุ๋ย KCL ลดการใช้ปุ๋ยคอก และปุ๋ย N	ไม่ปฏิบัติ	ปฏิบัติ	ปฏิบัติ
6. ใส่เชื้อรา trichodermaที่ 60 วันหลังปลูก	ไม่ปฏิบัติ	ปฏิบัติ	ไม่ปฏิบัติ
7. เมื่อพบจำนวนต้นที่เป็นโรคมากกว่า 5% ใหถอนต้นทิ้งออกนอกแปลง และพ่นสารกำจัดเชื้อรา fosetyl-aluminium อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นทุก 15 วัน ต่อเนื่อง 2 ครั้ง	ไม่ปฏิบัติ	ปฏิบัติ	ปฏิบัติ

กรณีที่ 2 ปลูกพืชหมุนเวียนกรณีพบการระบาดและผลผลผลิตฤดูก่อนเสียหาย มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์

การตรวจสอบการอยู่รอดของเชื้อรา phytophthora ในแปลงปลูกข้าวโพดที่ใช้เป็นพืชหมุนเวียน

1. เลือกแปลงเกษตรกรที่มีการระบาดรุนแรง ผลผลิตเสียหาย มากกว่า 50 แปลงละ 3-5 ไร่ เพื่อปลูกข้าวโพด
2. ให้ความรู้เกษตรกรเรื่องวิธีการปลูกข้าวโพดเป็นพืชหมุนเวียนที่ไม่ใช่พืชอาศัยของเชื้อ เพื่อตัดวงจรการระบาดของโรคโคนเน่าหัวเน่า
3. บันทึก ประวัติการระบาดของโรคและผลผลิตมันสำปะหลังในฤดูก่อนการเปลี่ยนพืชปลูก
4. สุ่มเก็บตัวอย่างดิน ที่ระยะ 6 9 และ 12 เดือนหลังปลูกพืชหมุนเวียน ที่ระดับความลึก 15 เซนติเมตร จำนวน ในแนวเส้นทแยงมุมแปลงละ 24 ตัวอย่างๆละ 2 กิโลกรัม
5. นำตัวอย่างดินที่เหลือมาบรรจุในกล่องพลาสติกขนาด 30×20×10 เซนติเมตร ให้ระดับดินต่ำกว่าขอบภาชนะประมาณ 2 เซนติเมตร

6. ใช้ท่อนพันธุ์มันสำปะหลังพันธุ์ CMR 43-08-89 ขนาดความยาว 5 เซนติเมตร จำนวน 10 ท่อนต่อกระบะ ปักลงดินลึก 3 เซนติเมตร วางไว้ในโรงเรือนทดลอง รักษาความชื้นในดิน ให้อยู่ในระดับความชื้น 90 เปอร์เซ็นต์

การตรวจสอบการอยู่รอดของเชื้อรา phytophthora ในแปลงปลูกอ้อยที่ใช้เป็นพืชหมุนเวียน

1. เลือกแปลงเกษตรกรที่มีการระบาดรุนแรง ผลผลิตเสียหาย มากกว่า 50 แปลงละ 3-5 ไร่ เพื่อปลูกอ้อย

2. ให้ความรู้เกษตรกรเรื่องวิธีการปลูกอ้อยเป็นพืชหมุนเวียนที่ไม่ใช่พืชอาศัยของเชื้อ เพื่อตัดวงจรการระบาดของโรคโคนเน่าหัวเน่า

3. บันทึก ประวัติการระบาดของโรคและผลผลิตมันสำปะหลังในฤดูก่อนการเปลี่ยนพืชปลูก

4. สุ่มเก็บตัวอย่างดิน ที่ระยะ 6 9 และ 12 เดือนหลังปลูกพืชหมุนเวียน ที่ระดับความลึก 15 เซนติเมตร จำนวน ในแนวเส้นทแยงมุมแปลงละ 24 ตัวอย่างๆละ 2 กิโลกรัม

5. นำตัวอย่างดินที่เหลือมาบรรจุในกล่องพลาสติกขนาด 30×20×10 เซนติเมตร ให้ระดับดินต่ำกว่าขอบภาชนะประมาณ 2 เซนติเมตร

6. ใช้ท่อนพันธุ์มันสำปะหลังพันธุ์ CMR 43-08-89 ขนาดความยาว 5 เซนติเมตร จำนวน 10 ท่อนต่อกระบะ ปักลงดินลึก 3 เซนติเมตร วางไว้ในโรงเรือนทดลอง รักษาความชื้นในดิน ให้อยู่ในระดับความชื้น 90 เปอร์เซ็นต์

การบันทึกข้อมูล

1. กราประเมินเปอร์เซ็นต์ต้นกล้ามันสำปะหลังพันธุ์ CMR 43-08-89 ที่เป็นโรคโคนเน่าหัวเน่าจากเชื้อรา *phytophthora* ด้วยวิธี baiting method จาการสุ่มเก็บตัวอย่างดิน 24 ตัวอย่าง บริเวณ หัวแปลง กลางแปลง และท้ายแปลง

2. การประเมินค่าความชื้นในดิน แบ่งดินมาใส่ในกระป๋องเก็บตัวอย่างดิน ชั่งน้ำหนักแต่ละตัวอย่างก่อนอบ แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 95 – 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาชั่งน้ำหนักของแต่ละตัวอย่างดินหลังอบ แล้วคำนวนค่าความชื้นตามสูตรดังนี้

ความชื้นในดิน(กรัม/กรัม) มวลของดินแห้ง = มวลของดินเปียก – มวลของดินแห้ง

3. การประเมินความคุ้มทุนทางเศรษฐศาสตร์ ของการปลูกข้าวโพดหวานและอ้อยเป็นพืชหมุนเวียนเปรียบเทียบกับการปลูกมันสำปะหลังในพื้นที่ที่ประสพปัญหาโรคโคนเน่าหัวเน่ามันสำปะหลัง

กิจกรรมที่ 2 การทดสอบเทคโนโลยีการลดต้นทุนการกำจัดวัชพืช ประกอบด้วย 2 การทดลอง คือ

การทดสอบเทคโนโลยีการลดต้นทุนการกำจัดวัชพืช :วัชพืชฤดูเดียว

1. เลือกพื้นที่ทดสอบในจังหวัดนครราชสีมา ขนาดแปลง 3 ไร่

2. ไถตากดิน 1-2 ครั้งเพื่อกำจัดเมล็ดวัชพืชที่สะสมในดิน

3. เลือกท่อนพันธุ์ระยอง 72 ที่สมบูรณ์ ความยาวท่อน 35 เซนติเมตร

4. ชุบท่อนพันธุ์ด้วยสารกำจัดเพลี้ยแป้ง imidacloprid อัตรา 5 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร นาน 15 นาทีก่อนปักในแปลง

5. ยกร่องปลูก และใช้ระยะปลูก 80×100 เซนติเมตร

6. หลังปักท่อนพันธุ์ 1-2 วัน พ่นสารกำจัดวัชพืช alachlor (หรือ s-metolachlor) ผสมกับ flumioxazin อัตรา 240+15 กรัม สารออกฤทธิ์ต่อไร่

7. ใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน โดยใส่รองก้นหลุมก่อนปลูก หรือใส่แบบเจาะหลุมหยอดระหว่างต้น เมื่อมันสำปะหลังอายุ 2 เดือน

8. หลังปลูก 3 เดือน หากพบว่ามีวัชพืชขึ้นแข่งขันมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ พ่นด้วยสารกำจัดวัชพืช paraquat หรือ glyphosate ระหว่างร่อง โดยใช้หัวครอบเพื่อป้องกันละอองสารสัมผัสใบมันสำปะหลัง

การทดสอบเทคโนโลยีการลดต้นทุนการกำจัดวัชพืช : วัชพืชเถาเลื้อยข้ามปี

1. เลือกพื้นที่ทดสอบในจังหวัดชัยภูมิ ขนาดแปลง 5 ไร่

2. ก่อนไถเตรียมดิน ให้พ่นสารกำจัดวัชพืชไกลโฟเสท อัตรา 240-480 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ เพื่อกำจัดวัชพืชเถาเลื้อยที่มีเหง้าอยู่ใต้ดิน ทิ้งไว้ 10-15 วันก่อนไถตากดิน 1-2 ครั้งก่อนยกร่องปลูก

3. เลือกท่อนพันธุ์ระยอง 11 ที่สมบูรณ์อายุ 10-12 เดือน ความยาว 40 เซนติเมตร

4. ชุบท่อนพันธุ์ด้วยสารกำจัดเพลี้ยแป้ง imidacloprid อัตรา 5 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร นาน 15 นาทีก่อนปักในแปลง

5. ยกร่องปลูก และใช้ระยะปลูก 80×100 เซนติเมตร

6. หลังปักท่อนพันธุ์ 1-2 วัน พ่นสารกำจัดวัชพืช alachlor (หรือ s-metolachlor) ผสมกับ flumioxazin อัตรา 240+15 กรัม สารออกฤทธิ์ต่อไร่

7. ใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน โดยใส่รองก้นหลุมก่อนปลูก หรือใส่แบบเจาะหลุมหยอดระหว่างต้น เมื่อมันสำปะหลังอายุ 2 เดือน

8. หลังปลูก 1 เดือน หากพบว่ามีวัชพืชขึ้นแข่งขันมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ พ่นด้วยสารกำจัดวัชพืช paraquat หรือ glyphosate ระหว่างร่อง โดยใช้หัวครอบเพื่อป้องกันละอองสารสัมผัสใบมันสำปะหลัง

การบันทึกข้อมูล

1. ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชด้วยการประเมินด้วยสายตาและให้คะแนน 1-10 โดยที่ 0= ควบคุมวัชพืชไม่ได้ 1-3 = ควบคุมวัชพืชได้เล็กน้อย 4-6 = ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง 7-9 =

ควบคุมวัชพืชได้ดี 10= ควบคุมวัชพืชได้ดีมาก

2. ประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชที่อาจพบในมันสำปะหลังหลังการใช้สารกำจัดวัชพืช ที่ 15 30 และ 60 วัน

3. ที่ระยะ 30 และ 60 วัน หลังปลูก สุ่มนับชนิดและความหนาแน่นของวัชพืชในพื้นที่ขนาด 1 ตารางเมตร 10 จุด

4. วัดการเจริญเติบโตที่ 90 วันของต้นมันสำปะหลัง เช่น ความสูง

5. เก็บเกี่ยวผลผลิตที่ระยะ 11 เดือนหลังปลูก บันทึกผลผลิตและเปอร์เซ็นต์แป้ง

6. คำนวณต้นทุนการผลิตและกำไรสุทธิ เปรียบเทียบกับแปลงที่ใช้กรรมวิธีเดิม

การประเมินการยอมรับเทคโนโลยีการป้องกันกำจัดโรคโคนเน่าหัวเน่าในมันสำปะหลัง

1. จัดฝึกอบรมให้ความรู้แก่เกษตรกรและนักวิชาการที่รับผิดชอบแปลง เพื่อประเมินผลความพึงพอใจในเทคโนโลยีการจัดการโรคโคนเน่าหัวเน่ามันสำปะหลัง ในพื้นที่ทดสอบ จำนวน 3 ครั้งๆละ 50 คน รวม 150 คน เรื่องโรคโคนเน่าหัวเน่ามันสำปะหลัง และการจัดการโรค แมลง และวัชพืช

2. ติดตามการดำเนินงาน ประเมินผลความพึงพอใจของเกษตรกร โดยใช้แบบสอบถามและวิเคราะห์ สังเคราะห์ เหตุและผลต่างๆ รวมทั้งสรุปผลต่างๆ เพื่อให้เกษตรกรที่รับการฝึกอบรมสามารถเป็นผู้ถ่ายทอดความรู้และวิชาการต่างๆ ในการแก้ปัญหาโรคโคนเน่า และหัวเน่ามันสำปะหลังในพื้นที่นั้นๆ ได้อย่างเหมาะสม และยั่งยืน

เวลาและสถานที่

ดำเนินงาน เดือน มกราคม 2558 – กันยายน 2559 อำเภอเสิงสาง หนองบุญมาก โชคชัย ครบุรี ปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา อำภอน้ำยืน จังหวัดอุบลราชธานี และอำเภอซับใหญ่ จังหวัดชัยภูมิ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

กิจกรรมที่ 1 การทดสอบเทคโนโลยีแบบผสมผสานเพื่อแก้ปัญหาโรคโคนเน่าหัวเน่ามันสำปะหลัง :

กรณีที่ 1 *ปลูกมันสำปะหลังต่อเนื่องกรณีพบการระบาดของโรคและผลผลิตฤดูก่อนเสียหายน้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์*

แปลงที่ 1 การทดสอบเทคโนโลยีแบบผสมผสานเพื่อแก้ปัญหาโรคโคนเน่าหัวเน่าในมันสำปะหลัง อำเภอน้ำยืน จังหวัดอุบลราชธานี

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช

ที่ 30 และ 60 วันหลังพ่นสาร alachlor+flumioxazin อัตรา 500 ซีซี+30 กรัมต่อไร่ พบว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชได้ดี จากการสุ่มนับจำนวนต้นและชนิดวัชพืชที่ 30 วันหลังพ่นสาร ไม่พบจำนวนต้นวัชพืช และที่ 60 วันหลังพ่นสาร พบจำนวนต้น สาบม่วง และปอวัชพืชจำนวน 4 และ 2 ต้นต่อตารางเมตรตามลำดับ (ตารางที่ 2)

จำนวนต้นที่เป็นโรคและเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค

จากการนับจำนวนต้นที่เป็นโรคที่ 3 6 และ 9 เดือนหลังปลูกมันสำปะหลัง ในแปลงทดสอบเทคโนโลยีแบบผสมผสานเพื่อแก้ปัญหาโรคโคนเน่าหัวเน่า พบว่า การจัดการโรคโคนเน่าหัวเน่าในมันสำปะหลังในวิธี IPM1 โดยใช้พันธุ์ระยอง 5 ทนทานต่อโรคโคนเน่าหัวเน่ามากที่สุด ไม่พบจำนวนต้นเป็นโรคที่ 3 เดือนหลังปลูก และ พบจำนวนต้นเป็นโรคน้อยกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ที่ 6 และ 9 เดือนหลังปลูก ส่วนการจัดการโรคโคนเน่าหัวเน่าในมันสำปะหลังด้วยวิธีเกษตรกรพบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคมากกว่าการจัดการด้วยวิธี IPM1 และ IPM2 และพันธุ์ที่พบจำนวนต้นเป็นโรคมากสุด ได้แก่พันธุ์ CMR 43-08-89 โดยพบจำนวนต้นเป็นโรคมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ในวิธีเกษตรกร และ พบจำนวนต้นเป็นโรค 20-30 เปอร์เซ็นต์ในวิธี IPM1 และ IPM2 (ภาพที่ 1)

ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิต

ผลผลิตและองค์ประกอบผลลิตของมันสำปะหลัง จากการเก็บผลผลิต และนับจำนวนหัวดี จำนวนหัวเน่าที่ 12 เดือนหลังปลูกพบว่า การจัดการโรคโคนเน่าหัวเน่าในมันสำปะหลังในวิธี IPM1 และใช้พันธุ์ระยอง 5 พบจำนวนหัวเน่าน้อยและให้ผลผลิตสูงสุด โดยให้ผลผลิตที่ 5.9 ตันต่อไร่ พันธุ์ที่ให้ผลผลิตดีเป็นลำดับที่สองได้แก่ พันธุ์ระยอง 72 โดยให้ผลผลิตที่ 5.8 ตันต่อไร่ (ตารางที่ 3)

การเปรียบเทียบต้นทุนการผลิตและอัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน

ต้นทุนในการจัดการด้วยวิธี IPM2 มีต้นทุนต่ำสุด เนื่องจากไม่มีการใส่เชื้อราไตรโคเดอร์ม่าร์ ส่วนวิธีเกษตรกรมีต้นทุนสูงกว่าทุกวิธีที่ทำการทดลอง เนื่องการเกษตรกรใช้การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานคน ส่วนใหญ่ใช้ 3-4 คนต่อพื้นที่ 1 ไร่ และต้องกำจัดวัชพืชมากกว่า 1 ครั้งต่อการปลูก 1 ฤดู เมื่อคำนวณอัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน (Benefit-Cost-Ratio) พบว่า การใช้พันธุ์ ระยอง 5 และระยอง 11 และใช้วิธีการจัดการแบบ IPM2 มีค่า อัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุนสูงที่สุด (ตารางที่ 4 และ 5)

แปลงที่ 2 การทดสอบเทคโนโลยีแบบผสมผสานเพื่อแก้ปัญหาโรคโคนเน่าหัวเน่าในมันสำปะหลัง
อำเภอ หนองบุญมาก จังหวัดนครราชสีมา

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช

ที่ 30 และ 60 วันหลังพ่นสาร alachlor+flumioxazin อัตรา 500 ซีซี+30 กรัมต่อไร่ พบว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชได้ดี จาการสุ่มนับจำนวนต้นและชนิดวัชพืชที่ 30 วันหลังพ่นสารไม่พบจำนวนต้นวัชพืช และที่ 60 วันหลังพ่นสาร พบจำนวนต้น สาบม่วง และปอวัชพืชจำนวน 4 และ 2 ต้นต่อตารางเมตรตามลำดับ (ตารางที่ 6)

จำนวนต้นที่เป็นโรคและเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค

จากการนับจำนวนต้นที่เป็นโรคที่ 3 6 และ 9 เดือนหลังปลูกมันสำปะหลัง ในแปลงทดสอบเทคโนโลยีแบบผสมผสานเพื่อแก้ปัญหาโรคโคนเน่าหัวเน่า พบว่า การจัดการโรคโคนเน่าหัวเน่าในมันสำปะหลังในวิธี IPM1 โดยใช้พันธุ์ระยอง 5 ทนทานต่อโรคโคนเน่าหัวเน่ามากที่สุด ไม่พบจำนวนต้นเป็นโรคที่ 3 เดือนหลังปลูก และ พบจำนวนต้นเป็นโรคน้อยกว่า 1เปอร์เซ็นต์ที่ 6 และ 9 เดือนหลังปลูก ส่วนการจัดการโรคโคนเน่าหัวเน่าในมันสำปะหลังด้วยวิธีเกษตรกรพบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคมากกว่าการจัดการด้วยวิธี IPM1 และ IPM2 และพันธุ์ที่พบจำนวนต้นเป็นโรคมากสุด ได้แก่พันธุ์ CMR-43-08-89 โดยพบจำนวนต้นเป็นโรคมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ในวิธีเกษตรกร และ พบจำนวนต้นเป็นโรค 20-30 เปอร์เซ็นต์ในวิธี IPM1 และ IPM2 (ภาพที่ 2)

ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิต

ผลผลิตและองค์ประกอบผลลิตของมันสำปะหลัง จากการเก็บผลผลิต และนับจำนวนหัวดีจำนวนหัวเน่าที่ 12 เดือนหลังปลูกพบว่า การจัดการโรคโคนเน่าหัวเน่าในมันสำปะหลังในวิธี IPM1 และใช้พันธุ์ ระยอง 5 พบจำนวนหัวเน่าน้อยและให้ผลผลิตสูงสุด โดยให้ผลผลิตที่ 5.9 ตันต่อไร่ พันธุ์ที่ให้ผลผลิตดีเป็นลำดับที่สองได้แก่ พันธุ์ระยอง 72 โดยให้ผลผลิตที่ 5.8 ตันต่อไร่ (ตารางที่ 7)

การเปรียบเทียบต้นทุนการผลิตและอัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน

ในทุกพันธุ์ที่มีการจัดการด้วยวิธี IPM2 ให้อัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุนมากกว่า การจัดการด้วยวิธีอื่น โดยเฉพาะการปลูกด้วยพันธุ์ระยอง 72 ให้อัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุนสูงถึง 2.8 (ตารางที่ 8)

แปลงที่ 3 การทดสอบเทคโนโลยีแบบผสมผสานเพื่อแก้ปัญหาโรคโคนเน่าหัวเน่าในมันสำปะหลัง
อำเภอเสิงสาง จังหวัดนครราชสีมา

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช

ที่ 30 หลังพ่นสาร และ 60 วันหลังพ่น alachlor+flumioxazin อัตรา 500 ซีซี+30 กรัมต่อไร่ พบว่า สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี โดยสามารถควบคุมวัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ หญ้าตีนกา

วัชพืชประเภทเถาเลื้อย ได้แก่ ตดหมูตดหมา ขยุ้มตีนหมา และวัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ ผักโขม หินต้นตั้ง และตีนตุ๊กแก

เมื่อสุ่มนับจำนวนต้นวัชพืชต่อตารางเมตร ไม่พบชนิดวัชพืชที่ 30 วันหลพ่นสาร และพบ สาบม่วง ตีนตุ๊กแก และหญ้าตีนกา จำนวน 3 1 และ 2 ต้นต่อตารางเมตรที่ 60 วันหลังพ่นสาร (ตารางที่ 9)

จำนวนต้นที่เป็นโรคและเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค

จากการนับจำนวนต้นที่เป็นโรคที่ พบว่า ที่ 3 เดือนหลังปลูกใน พันธุ์ ระยอง 5 และพันธุ์ระยอง 72 ด้วยวิธีการจัดการโรคโคนเน่าหัวเน่าในมันสำปะหลัง ในวิธีเกษตรกร IPM1 และ IPM2 พบจำนวนต้นเป็นโรคเพียงเล็กน้อย < 1 เปอร์เซ็นต์ ส่วนพันธุ์ที่พบจำนวนต้นเป็นโรค มากที่สุด คือพันธุ์ห้วยบง 60 และ CMR43-08-89 โดยพบจำนวนต้นเป็นโรค 4-6 เปอร์เซ็นต์

ที่ 6 และ 9 เดือนหลังปลูกใน พันธุ์ ระยอง 5 และพันธุ์ระยอง 72 ด้วยวิธีการจัดการโรคโคนเน่าหัวเน่าในมันสำปะหลัง ด้วยวิธี IPM2 พบจำนวนต้นเป็นโรคน้อยกว่า พันธุ์อื่นๆ โดยพบจำนวนต้นเป็นโรค เพียง 1.1 เปอร์เซ็นต์ ส่วนพันธุ์ CMR43-08-89 ในวิธีเกษตรกร พบจำนวนต้นเป็นโรคมากที่สุดโดยพบถึง 22 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 3)

ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิต

ผลผลิตและองค์ประกอบผลลิตของมันสำปะหลัง จากการเก็บผลผลิต และนับจำนวนหัวดี จำนวนหัวเน่าที่ 12 เดือนหลังปลูกพบว่า การจัดการโรคโคนเน่าหัวเน่าในมันสำปะหลังในวิธีเกษตรกร IPM1 และ IPM2 ใช้พันธุ์ ระยอง 72 พบจำนวนหัวเน่าน้อยและให้ผลผลิตสูงสุด โดยให้ผลผลิตที่ 5-5.3 ตันต่อไร่ พันธุ์ที่ให้ผลผลิตดีเป็นลำดับที่สองได้แก่ พันธุ์ระยอง 5 โดยให้ผลผลิตที่ 5-5.6 ตันต่อไร่ (ตารางที่ 10)

การเปรียบเทียบต้นทุนการผลิตและอัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน

การใช้พันธุ์ระยอง 72 และจัดการด้วยวิธี IPM2 มีอัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุนมากกว่าพันธุ์อื่นๆ รองลงมาได้แก่การใช้พันธุ์ระยอง 5 ส่วนการใช้พันธุ์ CMR 43-08-89 และมีการจัดการด้วยวิธีเกษตรกร IPM1 และ IPM2 โดยเก็บผลผลิตที่ 12 เดือนหลังปลูกให้อัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุนน้อยกว่า 1 ซึ่งไม่คุ้มค่าต่อการลงทุน (ตารางที่ 11)

แปลงที่ 4 การทดสอบเทคโนโลยีแบบผสมผสานเพื่อแก้ปัญหาโรคโคนเน่าหัวเน่าในมันสำปะหลัง อำเภอครบุรี จังหวัดนครราชสีมา

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช

ที่ 30 และ 60 วันหลังพ่นสาร alachlor+flumioxazin อัตรา 500 ซีซี+30 กรัมต่อไร่ พบว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชได้ดี จาการสุ่มนับจำนวนต้นและชนิดวัชพืชที่ 30 วันหลังพ่นสาร ไม่พบจำนวนต้นวัชพืช และที่ 60 วันหลังพ่นสาร พบจำนวนต้น ผักเบี้ยใหญ่ หญ้านกสีชมพู และสะอึก จำนวน 1, 2 และ 1 ต้นต่อตารางเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 12)

จำนวนต้นที่เป็นโรคและเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค

จากการนับจำนวนต้นที่เป็นโรค ในแปลงทดสอบเทคโนโลยีแบบผสมผสานเพื่อแก้ปัญหาโรคโคนเน่าหัวเน่า ไม่พบจำนวนต้นที่เป็นโรคที่ 3 เดือนหลังปลูกมันสำปะหลัง

ที่ 6 เดือน หลังปลูก พบว่าทุกพันธุ์ในวิธีเกษตรกร พบจำนวนต้นเป็นโรคมากกว่า วิธี IPM1 และ IPM2 โดยพันธุ์ CMR43-08-89 พบจำนวนต้นเป็นโรคสูงที่สุด

ที่ 9 เดือนหลังปลูก ทุกพันธุ์มีจำนวนต้นเป็นโรคเพิ่มขึ้น แต่พันธุ์ที่เป็นโรคน้อบที่สุด คือพันธุ์ระยอง 72 ในวิธี IPM1 และพันธุ์ที่พบจำนวนต้นเป็นโรคมากสุดที่ได้แก่ พันธุ์ CMR43-08-89

เมื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคพบว่า ทุกพันธุ์ในวิธีจัดการของเกษตรกร พบจำนวนต้นเป็นโรคมากกว่าวิธีจัด IPM1 แลพ IPM2 โดยพบจำนวนต้นเป็นโรคตั้งแต่ 25-83 เปอร์เซ็นต์ ส่วนพันธุ์ระยอง 72 ในวิธี IPM1 พบจำนวนต้นเป็นโรคเพียง 4.2 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 4)

ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิต

ผลผลิตและองค์ประกอบผลลิตของมันสำปะหลัง จากการเก็บผลผลิต และนับจำนวนหัวดี จำนวนหัวเน่าที่ 12 เดือนหลังปลูกพบว่า การจัดการโรคโคนเน่าหัวเน่าในมันสำปะหลังในวิธี IPM1 และใช้พันธุ์ ระยอง 72 พบจำนวนหัวเน่าน้อยและให้ผลผลิตสูงสุด โดยให้ผลผลิตที่ 5.1 ตันต่อไร่ (ตารางที่ 13)

การเปรียบเทียบต้นทุนการผลิตและอัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน

การใช้พันธุ์ระยอง 72 และมีวิธีจัดการแบบ IPM2 ให้*อัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน*สูงกว่าพันธุ์อื่นในกรรมวิธีเดียวกัน และสูงกว่าวิธีเกษตรกร และ IPM1 ส่วนการใช้พันธุ์ ห้วยบง 60 และ CMR 43-08-89 ในวิธีเกษตรกร ให้อัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุนน้องกว่า 1 ซึ่งถือว่าไม่คุ้มค่าต่อการลงทุน (ตารางที่ 14)

แปลงที่ 5 การทดสอบเทคโนโลยีแบบผสมผสานเพื่อแก้ปัญหาโรคโคนเน่าหัวเน่าในมันสำปะหลัง อำเภอโชคชัย จังหวัดนครราชสีมา

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช

ที่ 30 และ 60 วันหลังพ่นสาร alachlor+flumioxazin อัตรา 500 ซีซี+30 กรัมต่อไร่ พบว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชได้ดี จาการสุ่มนับจำนวนต้นและชนิดวัชพืชที่ 30 วันหลังพ่นสาร ไม่พบจำนวนต้นวัชพืช และที่ 60 วันหลังพ่นสาร พบจำนวนต้นของผักโขมหิน กระดุมใบเล็ก คราม ขนหญ้าตีนนก หญ้าปากควาย จำนวน 4, 1, 1, 2 และ 1 ต้นต่อตารางเมตรตามลำดับ (ตารางที่ 15)

จำนวนต้นที่เป็นโรคและเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค

จากการนับจำนวนต้นที่เป็นโรคที่ 3 เดือนหลังปลูกมันสำปะหลัง พบว่า พันธุ์ระยอง 11 ห้วยบง 60 และ CMR 89 พบจำนวนต้นเป็นโรคเล็กน้อยในวิธีเกษตรกร ส่วนพันธุ์อื่นๆ ยังไม่พบต้นที่เป็นโรค

ที่ 6 เดือน ทุกพันธุ์พบจำนวนต้นเป็นโรคเพิ่มขึ้น พันธุ์ระยอง 5 ในวิธี IPM2 ไม่พบจำนวนต้นที่เป็นโรค

ที่ 9 เดือน ทุกพันธุ์พบจำนวนต้นเป็นโรคเพิ่มมากขึ้น โดยพันธุ์ที่พบจำนวนต้นเป็นโรคมากที่สุดได้แก่ พันธุ์ CMR 89 ห้วยบง 60 และ เกษตรศาสตร์ 50 ในวิธีเกษตรกร ส่วนพันธุ์ ระยอง 5 และระยอง 72 ในวิธี IPM1 และ IPM2 พบจำนวนต้นเป็นโรคน้อยกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 5)

ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิต

ผลผลิตและองค์ประกอบผลลิตของมันสำปะหลัง จากการเก็บผลผลิต และนับจำนวนหัวดี จำนวนหัวเน่าที่ 12 เดือนหลังปลูกพบว่า การจัดการโรคโคนเน่าหัวเน่าในมันสำปะหลังในวิธี IPM1 และใช้พันธุ์ ระยอง 72 พบจำนวนหัวเน่าน้อยและให้ผลผลิตสูงสุด โดยให้ผลผลิตที่ 5.6 ตันต่อไร่ พันธุ์ที่ให้ผลผลิตดีเป็นลำดับที่สองได้แก่ พันธุ์ระยอง 5 โดยให้ผลผลิตที่ 5.1 ตันต่อไร่ ส่วนพันธุ์ที่ให้ผลผลิตน้อย ได้แก่ พันธุ์ ห้วยบง 60 และ พันธุ์ CMR43-08-89 โดยให้ผลผลิตเพียง 0.5-2 ตัน ต่อไร่ ทั้งในวิธีเกษตรกร IPM1 และIPM2 (ตารางที่ 16)

การเปรียบเทียบต้นทุนการผลิตและอัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน

การใชพันธุ์ระยอง 72 และมีวิธีจัดการแบบ IPM2 ให้อัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน สูงกว่าพันธุ์อื่นๆ รองลงมาได้แก่พันธุ์ระยอง 5 ส่วยการใช้พันธุ์ CMR 43-08-89 ห้วยบง 60 และเกษตรศาตร์ 50 ให้อัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุนน้อยกว่า 1 (ตารางที่ 17)

แปลงที่ 6 การทดสอบเทคโนโลยีแบบผสมผสานเพื่อแก้ปัญหาโรคโคนเน่าหัวเน่าในมันสำปะหลัง อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช

ที่ 30 และ 60 วันหลังพ่นสาร alachlor+flumioxazin อัตรา 500 ซีซี+30 กรัมต่อไร่ พบว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชได้ดี และจาการสุ่มนับจำนวนต้นและชนิดวัชพืชที่ 30 วันหลังพ่นสาร ไม่พบจำนวนต้นวัชพืช และพบจำนวน สาบม่วง ปอวัชพืช และหญ้าโขย่ง ที่ 60 วันหลังพ่นสาร จำนวน 3, 1 และ 2 ต้นต่อตารางเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 18)

จำนวนต้นที่เป็นโรคและเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค

จากการนับจำนวนต้นที่เป็นโรค ในแปลงทดสอบเทคโนโลยีแบบผสมผสานเพื่อแก้ปัญหาโรคโคนเน่าหัวเน่า พบว่า ที่ 3 เดือนหลังปลูก พันธุ์ ระยอง ในวิธี IPM1 และ IPM2 ไม่พบจำนวนต้นเป็นโรค แต่พบจำนวนต้นเป็นโรคเล็กน้อยเพียง 1 เปอร์เซ็นต์ ในวิธีเกษตรกร ส่วนพันธุ์ ระยอง 11 และ CMR43-08-89 พบจำนวนต้นเป็นโรคมากกว่า 2 เปอร์เซ็นต์ในวิธีเกษตรกร

ที่ 6 เดือนหลังปลูก พันธุ์ ระยอง 5 และ ระยอง 72 ในวิธี IPM1 และ IPM2 พบจำนวนต้นเป็นโรคน้อยกว่า 2 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่พันธุ์อื่นๆ ได้แก่ ระยอง 11 ห้วยบง 60 และ CMR43-08-89 พบต้นเป็นโรคมากกว่า 5 เปอร์เซ็นต์

ที่ 9 เดือนหลังปลูก พันธุ์ที่พบจำนวนต้นเป็นโรคน้อยที่สุดยังเป็น พันธุ์ ระยอง 5 และ ระยอง 72 โดยพบเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคน้อยกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ ส่วนพันธุ์อื่นๆ ได้แก่ ระยอง 11 ห้วยบง 60 และ CMR 89 พบจำนวนต้นเป็นโรค 10-60 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 6)

ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิต

ผลผลิตและองค์ประกอบผลลิตของมันสำปะหลัง จากการเก็บผลผลิต และนับจำนวนหัวดี จำนวนหัวเน่าที่ 12 เดือนหลังปลูกพบว่า พันธุ์ระยอง 5 และ ระยอง 72 ในวิธี IPM1 และ IPM2 พบจำนวนหัวเน่าน้อยและให้ผลผลิตอยู่ระหว่าง 4.7-5.9 ตันต่อไร่ ส่วนพันธุ์ที่พบจำนวนหัวเน่ามากและให้ผลผลิตต่ำได้แก่ พันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ CMR43-08-89 โดยให้ผลผลิตอยู่ระหว่าง 1-3.5 ตันต่อไร่ (ตารางที่ 19)

การเปรียบเทียบต้นทุนการผลิตและอัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน

การใช้พันธุ์ระยอง 5 และมีวิธีการจัดการแบบ IPM2 ให้อัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุนสูงที่สุด รองลงมาได้แก่ การใช้พันธุ์ระยอง 72 สำหรับวิธีจัดการแบบเกษตรกร พันธุ์ ระยอง 11 ห้วยบง 60 และ CMR 43-08-89 ให้อัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุนต่ำกว่า 1 ซึ่งไม่คุ้มค่าแก่การลงทุน (ตารางที่ 20)

กรณีที่ 2 *การทดสอบเทคโนโลยีแบบผสมผสานเพื่อแก้ปัญหาโรคโคนเน่าหัวเน่าในมันสำปะหลัง : การปลูกพืชหมุนเวียน*

การใช้ข้าวโพดหวานเป็นพืชหมุนเวียนแก้ปัญหาโรคโคนเน่าหัวเน่ามันสำปะหลัง เปอร์เซ็นต์ต้นกล้ามันสำปะหลังพันธุ์ CMR43-08-89 ที่เป็นโรคโคนเน่าหัวเน่าจาก เชื้อรา Phytophthora

ก่อนปลูกข้าวโพดพื้นที่เดิมปลูกมันสำปะหลังพันธุ์ CMR43-08-89 โดยใช้ระบบน้ำหยด มีต้นเป็นโรคโคนเน่ารากเน่า ซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อรา *P. melonis* จำนวน 70 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลผลิตเฉลี่ย 4.5 ตันต่อไร่ เปรียบเทียบกับช่วงก่อนการระบาดของโรคโคนเน่าหัวเน่าที่มีผลผลิตเฉลี่ยสูงถึง 9.38 ตันต่อไร่ โดยที่ผลผลิตเสียหายคิดเป็น 52.03 เปอร์เซ็นต์ เกษตรกรจึงเปลี่ยนไปปลูกข้าวโพดหวาน จำนวน 16 ไร่ โดยปลูกตั้งแต่เดือน ก.ค. 58 ถึง พ.ค. 59 รวม 4 ฤดูกาลปลูก เป็นเวลา 11 เดือน และได้เปลี่ยนปลูกมันสำปะหลังพันธุ์ CMR43-08-89 เมื่อเดือน มิ.ย. ถึง ก.ย.59 รวมอายุมันสำปะหลัง 4 เดือน เก็บข้อมูลเปอร์เซ็นต์การตายของต้นกล้ามันสำปะหลังพันธุ์ CMR43-08-89 ด้วยวิธี baiting method และองค์ประกอบต่างๆในดิน ในช่วงปลูกข้าวโพด 11 เดือน และปลูกมันสำปะหลัง 4 เดือน รวม 15 เดือน พบว่าช่วงก่อนปลูกข้าวโพดเมื่อเก็บตัวอย่างดิน มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 76.3

เปอร์เซ็นต์และ มีค่าเฉลี่ยประชากรบักเตรี 2.1 x 10^9 และประชากรเชื้อรา 2.4 x 10^6 CFU ต่อดิน 1 กรัม มีค่าเฉลี่ยความชื้นดิน 0.65 กรัมต่อกรัมมวลของดินแห้ง (ตารางที่ 21)

หลังปลูกข้าวโพด 6 เดือน พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคโคนเน่าหัวเน่าลดลงเหลือ 36.26 เปอร์เซนต์ และมีค่าเฉลี่ยประชากรบักเตรี 6.4 x 10^7 และประชากรเชื้อรา 6.0 x 10^4 CFU ต่อดิน 1 กรัม มีค่าเฉลี่ยความชื้นดิน 0.50 กรัมต่อกรัมมวลของดินแห้ง และต้นข้าวโพดหวานเป็นโรคโคนเน่ารากเน่า 0 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 22)

หลังปลูกข้าวโพด 11 เดือน พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคโคนเน่าหัวเน่าเหลือเพียง 3.63 เปอร์เซนต์ มีค่าเฉลี่ยประชากรบักเตรี 1.3 x 10^4 และประชากรเชื้อรา 4.6 x 10^2 CFU ต่อดิน 1 กรัม มีค่าเฉลี่ยความชื้นดิน 0.55 กรัมต่อกรัมมวลของดินแห้ง และต้นข้าวโพดหวานเป็นโรคโคนเน่าหัวเน่า 0 เปอร์เซนต์ (ตารางที่ 23)

การใช้อ้อยเป็นพืชหมุนเวียนแก้ปัญหาโรคโคนเน่าหัวเน่ามันสำปะหลัง

การปลูกอ้อยเป็นพืชหมุนวียน

ก่อนการเปลี่ยพืชปลูกเป็นอ้อย พื้นที่นี้เคยปลูกมันสำปะหลังพันธุ์ CMR48-08-89 ให้ระบบน้ำหยด โดยมีพื้นที่รวม 8 ไร่ และพบโรคโคนเน่าโคนเน่าซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อรา *P. melonis* ระบาด ทำให้ผลผลิตลดลงเหลือ 5 ตันต่อไร่ จากเดิมที่มีผลผลิตเฉลี่ย 8.7 ตันต่อไร่ คิดเป็นความเสียหาย 42.5 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นเกษตรกรจึงเปลี่ยนมาปลูกอ้อยพันธุ์ ขอนแก่น3 เมื่อ กุมภาพันธุ์ 2557 หลังจากปลูกอ้อยแล้วได้ติดตามการอยู่รอดเชื้อรา *P. melonis* โดยประเมินองค์ประกอบต่างๆในดินแปลงอ้อยหลังปลูก 7 เดือน (ก.พ. – ส.ค. 58) อ้อยตอ 1 อายุ 2 เดือน หรือหลังปลูก 13 เดือน (ก.ย. 58 – มี.ค. 59) และอ้อยตอ 1 อายุ 8 เดือน หรือหลังปลูก 19 เดือน (เม.ย. – ก.ย. 59) พบว่า

หลังจากเปลี่ยนไปปลูกอ้อย 7 เดือน ในดินมีค่าเฉลี่ยการเกิดโรคโคนเน่าหัวเน่าคิดเป็น 38.79 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยประชากรบักเตรี 1.47 x 10^8 และประชากรเชื้อรา 1.94 x 10^5 CFU ต่อดิน 1 กรัม มีค่าเฉลี่ยความชื้นดิน 0.57 กรัมต่อกรัมมวลของดินแห้ง และไม่พบต้นอ้อยที่เป็นโรคโคนเน่าหัวเน่า เมื่อประเมินที่อายุอ้อย 13 เดือน (อ้อยตอ1 อายุ 2 เดือน) พบว่ามีค่าเฉลี่ยการเกิดโรคโคนเน่าหัวเน่าลดลงเหลือ 25.47 เปอร์เซนต์ และมีค่าเฉลี่ยประชากรบักเตรี 4.37 x 10^6 ประชากรเชื้อรา 6.33 x 10^3 CFU ต่อดิน 1 กรัม ค่าเฉลี่ยความชื้นดิน 0.38 กรัมต่อกรัมมวลของดินแห้ง และไม่พบต้นอ้อยที่เป็นโรคโคนเน่ารากเน่า (ตารางที่ 25)

และทำการเก็บข้อมูลช่วงอ้อยอายุ 19 เดือน (อ้อยตอ1 อายุ 8 เดือน) พบว่าการเกิดโรคโคนเน่าหัวเน่าลดลง เหลือ 18.53 เปอร์เซนต์ มีค่าเฉลี่ยประชากรบักเตรี 1.87 x 10^8 ประชากรเชื้อรา 1.59 x 10^5 CFU ต่อดิน 1 กรัม มีค่าเฉลี่ยความชื้นดิน 0.58 กรัมต่อกรัมมวลของดินแห้ง และไม่พบการเกิดโรคโคนเน่าหัวเน่าในอ้อย (ตารางที่ 26)

หลังจากปลูกอ้อย 7 เดือน พบว่า มีเชื้อรา *P. melonis* อยู่รอดในดิน สามารถทำให้ต้นกล้ามันสำปะหลังเป็นโรคได้ 38.97 เปอร์เซนต์ ซึ่งมีค่าเฉลี่ยสูงกว่าหลังปลูกอ้อย 13 เดือน และ 19 เดือน

ที่มีค่า 25.47 และ 18.53 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เนื่องจากก่อนปลูกอ้อยโรงงานดังกล่าว เป็นพื้นที่ที่ปลูกมันสำปะหลังพันธุ์ CMR43-08-89อย่างต่อเนื่องเป็นเวลาหลายปี จึงมีโรคโคนเน่าหัวเน่ารุนแรงทำให้ผลผลิตเสียหาย 42.53 เปอร์เซนต์ ดังนั้นส่วนพักตัวของเชื้อรา (Oospore และ Chlamydospore) ดังกล่าว ยังมีชีวิตรอดอยู่ในดินปริมาณที่สูง และเป็นช่วงที่ดินมีความชื้นสูงถึง 0.57 กรัมต่อกรัมมวลของดินแห้ง รวมทั้งปริมาณน้ำฝนสูง 163.1 มม.

ความชื้นในดินของแปลงปลูกอ้อย จะมีค่าเฉลี่ยที่อยู่ในระดับค่อนข้างสูง ตลอดเวลา 19 เดือน เนื่องจากอ้อยเป็นพืชปลูกจะแตกกอหนาแน่น คลุมพื้นที่ดิน และการตัดอ้อยส่งโรงงาน เป็นแบบตัดสด ทำให้เหลือเศษอ้อย ใบอ้อย และกาบอ้อย ปกคลุมพื้นที่ดิน เป็นการรักษาความชื้นในดินได้ดี ซึ่งจะส่งผลทำให้การรอดชีวิตของ *P. melonis* ในดิน อยู่ได้นานและปริมาณสูง ดังค่าเฉลี่ยต้นกล้ามันสำปะหลังที่เป็นโรค ในช่วงหลังปลูกอ้อย 7 19 และ 19 เดือน มีค่าสูงกว่าในพื้นที่แปลงปลูกข้าวโพดหวานเมล็ดพันธุ์ 11 เดือน

การประเมินอัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน จากการปลูกพืชหมุนเวียน

จากการคำนวนต้นทุนการปลูกข้าวโพดเป็นพืชหมุนเวียน เปรียบเทียบกับมันสำปะหลังในพื้นที่ที่ประสพการระบาดของโรคโคนเน่าหัวเน่า พบว่า ต้นทุนในการผลิตข้าวโพด 1 ฤดู ใช้ระยะเวลา 3 เดือน อยู่ที่ 10,250 บาท และราคาที่ขายได้ 20,400 เมื่อเปรียบเทียบกับการปลูกมันสำปะหลัง ใช้ระยะเวลา 12 เดือน ได้ผลผลิตเพียง 2 ตัน ซึ่งขายได้เพียง 4,000 บาท เมื่อคำนวณ อัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน พบว่า การปลูกข้าวโพด มีอัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน อยู่ที่ 2.0 ส่วนมันสำปะหลัง อยู่ที่ 0.6 ซึ่งไม่คุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์

การคำนวนต้นทุนการปลูกอ้อยพืชหมุนเวียน เปรียบเทียบกับมันสำปะหลังในพื้นที่ที่ประสพการระบาดของโรคโคนเน่าหัวเน่า พบว่า ต้นทุนในการผลิตอ้อย 1 ฤดู ใช้ระยะเวลา 12 เดือน ต้นทุนการผลิตอยู่ที่ 15,653 บาท และราคาที่ขายได้ อยู่ที่ 19,400 บาท ซึ่งเมื่อคำนวณ อัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุนของการปลูกอ้อยอยู่ที่ 1.2 มากว่าการปลูกมันสำปะหลัง

การปลูกอ้อยต้องปลูกอย่างต่อเนื่อง และจะให้ผลตอบแทนสูงในอ้อยตอ แต่ต้องใช้ระยะเวลา 10 – 12 เดือน ถึงจะมีรายรับกลับคืนมา

กิจกรรมที่ 2 การทดสอบเทคโนโลยีการลดต้นทุนการกำจัดวัชพืช

ประกอบด้วย 2 การทดลอง คือ

การทดลองที่ 1 ปัญหาวัชพืชฤดูเดียวชนิดใบแคบและใบกว้าง

1. ที่ 60 หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช alachlor + flumioxazin อัตรา 240+15

กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ สามารถควบคุมวัชพืชในแปลงได้ดี จากการประเมินทางสายตา วัชพืชที่ขึ้นอยู่ในแปลงมีความหนาแน่นประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ จากการสุ่มเก็บวัชพืช 10 จุด วัชพืชที่พบในแปลงได้แก่ หญ้าตีนนก หญ้าปากควาย สาบม่วง กระดุมใบใหญ่ และปอวัชพืช โดยมีจำนวนต้น 3, 2,

1, 1, และ 1 ต้น/ตารางเมตร โดยมีจำนวนวัชพืชขึ้นโดยรวม 8 ต้น/ตารางเมตร เมื่อเปรียบเทียบกรรมวิธีการกำจัดวัชพืชของแปลงเกษตรกร พบว่าที่ระยะ 60 วันหลังปลูก เกษตรกรต้องมีการกำจัดวัชพืชเนื่องจาก เกษตรกรใช้สารกำจัดวัชพืช diuron อัตรา 240 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ เพียงชนิดเดียวหลังปลูกมันสำปะหลัง ซึ่งโดยคุณสมบัติของสารกำจัดวัชพืช diuron ไม่สามารถกำจัดวัชพืชได้หลากหลายชนิด สามารถกำจัดวัชพืชใบกว้างได้ดีกว่าวัชพืชใบแคบ ทำให้มีวัชพืชขึ้นหลงเหลืออยู่ในแปลงประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ จากการประเมินทางสายตา และพบวัชพืชขึ้นอยู่ในแปลง 91 ต้น/ตารางเมตร วัชพืชที่พบ ได้แก่ หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนนก หญ้าตีนติด หญ้าปากควาย สาบม่วง กระดุมใบใหญ่ และปอวัชพืช โดยมีจำนวนต้น 23, 18, 5, 6, 22, 12, และ 5 ต้น/ตารางเมตร ตามลำดับ ทำให้เกษตรกรจำเป็นต้องกำจัดวัชพืชเป็นครั้งที่ 2 ที่ระยะ 60 วันหลังปลูก โดยการใช้แรงงานคน ถากหญ้า และที่ระยะเวลา 90 วันหลังปลูกมันสำปะหลัง ทั้งแปลงเกษตรกรและแปลงทดสอบ ไม่จำเป็นต้องกำจัดวัชพืชเนื่องจากมันสำปะหลังมีการเจริญเติบด้านความสูงเพิ่มขึ้น และมีการแตกกิ่งขยายทรงพุ่มปกคลุมพื้นที่ ไม่พบวัชพืชขึ้นรบกวนในแปลงทั้ง 2 แปลง (Table 28 และ 29)

2. เมื่อเก็บข้อมูลการเจริญเติบของมันสำปะหลังที่ระยะ 90 วันหลังปลูก ทำการสุ่มวัดความสูง ความกว้างทรงพุ่ม และจำนวนกิ่งของต้นมันสำปะหลัง จำนวน 50 ต้น โดยพบว่าความสูงเฉลี่ยของมันสำปะหลังในแปลงทดสอบและแปลงเกษตรกรมีความสูงไม่แตกต่างกันเท่ากับ 110.12 และ 110.53 เซนติเมตร ตามลำดับ แต่มีความกว้างทรงพุ่ม และจำนวนกิ่งแตกต่างกัน โดยแปลงทดสอบมีความกว้างของทรงพุ่ม และจำนวนกิ่งของมันสำปะหลังมากกว่า แปลงมันสำปะหลังของเกษตรกร โดยแปลงทดสอบมีความกว้างของทรงพุ่มเฉลี่ยเท่ากับ 100 เซนติเมตร และจำนวนกิ่งเฉลี่ย 3.12 กิ่ง/ต้น ส่วนแปลงเกษตรกร มีความกว้างทรงพุ่มของมันสำปะหลังเฉลี่ย 70.45 เซนติเมตร จากการสุ่ม 50 ต้น มันสำปะหลังมีอายุ ประมาณ 4 เดือน ทำการใส่ปุ๋ยครั้งที่ สูตร 16-8-16 อัตรา 50 กิโลกรัม/ไร่

จากการเก็บผลผลิตมันสำปะหลัง ในแปลง IPM พบว่าได้ผลผลิต 5.2 ตันต่อไร่ในขณะที่แปลงเกษตรกรได้ผลผลิต 4 ตันต่อไร่

การเปรียบเทียบต้นทุนการผลิตและอัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน

การจัดการวัชพืชด้วยวิธี IPM มีต้นทุนในการจัดการไร่ละ 3,200 บาท ซึ่งต่ำกว่าการจัดการด้วยวิธีของเกษตรกร เมื่อคำนวณต้นทุนและอัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน พบว่าวิธี IPM มีค่าอัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน 3.1 ถือว่าคุมค่าต่อการลงทุน

การทดลองที่ 2 ปัญหาวัชพืชข้ามปี/เถาเลื้อย จ. ชัยภูมิ

1. ก่อนทำการทดลองได้สำรวจวัชพืชที่ขึ้นในแปลงโดยส่วนใหญ่เป็นวัชพืชเถาเลื้อย ตดหมูตดหมา ดังนั้นจึงทำการ

พ่นสารกำจัดวัชพืช glyphosate + 2,4-D อัตรา 480+120 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ ทิ้งแปลงประมาณ 1 เดือนทำการไถเตรียมดิน เพื่อกำจัดวัชพืชที่หลงเหลือในแปลง หลังจากนั้นประมาณ 1 อาทิตย์

2. ทำการไถพรวนดินและยกร่อง ปลูกมันสำปะหลัง กลางเดือนพฤษภาคม 2558 ก่อนปลูกมันสำปะหลังได้หว่านสารปรับสภาพดิน(โดโลไมด์) อัตรา 300 กิโลกรัม/ไร่ และใส่ปุ๋ยรองพื้นสูตร 15-15-15 อัตรา 50 กิโลกรัม/ไร่ พร้อมกับยกร่องปลูกมันสำปะหลัง ปลูกมันสำปะหลังโดยใช้ระยะปลูก 60x120 เซนติเมตร ใช้พันธุ์ระยอง 72 เป็นพันธุ์ปลูก ท่อนพันธุ์มีอายุ 10-12 เดือน

3. ก่อนปลูกทำการชุปท่อนพันธุ์ด้วยสารกำจัดเพลี้ยแป้ง นาน 15 นาที ก่อนปักแปลง หลังปลูกมันสำปะหลัง 1 วัน ทำการพ่นสารกำจัดวัชพืช alachlor + flumioxazin อัตรา 240+15 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ หลังจากปลูกมันสำปะหลังประมาณ 30 และ 60 วันหลังปลูก ประเมินประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช พบว่า การพ่นสารกำจัดวัชพืช alachlor + flumioxazin อัตรา 240+15 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ สามารถควบคุมวัชพืชได้ดีจนถึงระยะ 60 วันหลังปลูก โดยพบว่าที่ระยะ 30 วันหลังปลูก ไม่พบวัชพืชขึ้นในแปลงจากการสุ่มวัชพืช 10 จุด และที่ระยะ 60 วันหลังปลูก พบวัชพืชขึ้นในแปลงจากการประเมินด้วยสายตาประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ วัชพืชที่ขึ้นในแปลงโดยส่วนใหญ่เป็น ผักปราบ โดยมีจำนวนต้น 4 ต้น/ตารางเมตร ตามลำดับ โดยไม่ต้องกำจัดวัชพืช เมื่อเปรียบเทียบกับการกำจัดวัชพืชของแปลงเกษตรกร เกษตรกรไม่ใช้สารกำจัดวัชพืชหลังปลูกมันสำปะหลัง 1 วันเพื่อกำจัดวัชพืช เช่นเดียวกับแปลงทดสอบ ทำให้ที่ระยะ 30 วันหลังปลูก พบวัชพืชขึ้นกระจายทั่วแปลงปลูกมันสำปะหลัง วัชพืชขึ้นโดยรวม 130 ต้น/ตารางเมตร มีทั้งวัชพืชใบแคบ ใบกว้าง และวัชพืชเถาเลื้อย วัชพืชที่พบได้แก่ หญ้าปากควาย หญ้าตีนติด หญ้านกสีชมพู สาบม่วง ผักปราบ ผักเบี้ยใหญ่ และ ตดหมูตดหมา จำนวนต้น 22, 32, 24, 44, 3, 2 และ 5 ต้น/ตารางเมตร เกษตรกรจึงต้องใช้สารกำจัดวัชพืช paraquat อัตรา 120 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ และที่ระยะ 30 วันหลังปลูก และหลังจากนั้นที่ระยะ 60 วันหลังปลูก ยังพบวัชพืชขึ้นทั่วทั้งแปลง ทำให้เกษตรกรต้องกำจัดวัชพืชในระยะเวลาดังกล่าว เนื่องจากสารกำจัดวัชพืช paraquat เป็นสารกำจัดวัชพืชที่ไม่สามารถกำจัดวัชพืชอายุข้ามปีได้ เช่น หญ้าปากควาย ผักปราบ และตดหมูตดหมา ทำให้มีวัชพืชดังกล่าวหลงเหลืออยู่ในแปลงที่ระยะ 60 วันหลังปลูก และที่ระยะ 90 วันหลังปลูก เช่นเดียวกัน เกษตรกรจึงต้องกำจัดวัชพืชที่ระยะ 60 วันหลังปลูก โดยเกษตรกรใช้สารกำจัดวัชพืช paraquat อัตรา 120 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ ร่วมกับการใช้แรงงานคน และ 90 วันหลังปลูก เกษตรกรใช้สารกำจัดวัชพืช glufosinate อัตรา 150 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ ร่วมกับการใช้แรงงานคน เนื่องจากในแปลงบางพื้นที่มีวัชพืชเถาเลื้อยตดหมูตดหมาขึ้นพันเลื้อยต้นมันสำปะหลัง จึงต้องใช้แรงงานคนในการกำจัด ไม่สามารถใช้สารกำจัดวัชพืชได้เนื่องจากเป็นอันตรายกับต้นมันสำปะหลัง ส่วนแปลงทดสอบ พบว่าที่ระยะ 90 วันหลังปลูก พบวัชพืชขึ้นในแปลงโดยส่วนใหญ่เป็น สาบม่วง และ ผักปราบ จำนวน 10 และ 4 ต้น/ตารางเมตร วัชพืชมีความหนาแน่นประมาณ 8 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ จึงไม่จำเป็นต้องกำจัดวัชพืช (Table 30 และ 31)

การเปรียบเทียบต้นทุนการผลิตและอัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน

การจัดการวัชพืชด้วยวิธี IPM มีต้นทุนในการจัดการไร่ละ 3,680 บาท ซึ่งต่ำกว่าการจัดการด้วยวิธีของเกษตรกร เมื่อคำนวณต้นทุนและอัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน พบว่าวิธี IPM มีค่า

อัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน 2.3 ถือว่าคุมค่าต่อการลงทุน ในขณะที่วิธีเกษตรกร มีค่าอัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุนเพียง 1.3 (Table 32)

การยอมรับเทคโนโลยีการป้องกันกำจัดโรคโคนเน่าหัวเน่าในมันสำปะหลัง อำเภอน้ำยืนจังหวัดอุบลราชธานี อำเภอเสิงสาง หนองบุญมาก ครบุรี โชคชัย ปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา

จากการดำเนินการแปลงต้นแบบเพื่อแก้ปัญหาโรคโคนเน่าหัวเน่าแบบบูรณาการในมันสำปะหลัง ในแปลงเกษตรกร 6 อำเภอ ได้แก่ อำเภอน้ำยืน จังหวัดอุบลราชธานี อำเภอเสิงสาง หนองบุญมาก ครบุรี โชคชัย ปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา และมีการติดตามผลการดำเนินงานเกษตรกรในพื้นที่ หลังการจัดฝึกอบรมเกษตรกรในพื้นที่จำนวนทั้งสิ้น 150 ราย ในหัวข้อเทคโนโลยีการป้องกันกำจัดโรคโคนเน่าหัวเน่าในมันสำปะหลัง ได้แก่ การเปลี่ยนพืชปลูก การไถพรวนดินและการไถระเบิดดินดาน การยกร่องปลูก การใช้พันธุ์ทนทาน การใช้ระยะปลูกตามคำแนะนำ การแช่ท่อนพันธุ์ด้วยสารเคมีป้องกันกำจัดโรคโคนเน่าหัวเน่า การใช้สารกำจัดวัชพืช แทนการใช้แรงงาน การใช้หัวพ่นสารกำจัดวัชพืชที่ถูกต้อง การพบต้นแสดงอาการเหี่ยว เหลือง เน่า กำจัดออกนอกแปลง และการใช้สารอาลีเอทพ่นเมื่อพบต้นแสดงอาการเน่า ข้อมูลจากการสอบถาม พบว่า

การเปลี่ยนพืชปลูกและการใช้พันธุ์ทนทาน

กรณีที่โรคระบาดรุนแรง ผลผลิตเสียหายเกิน 50 เปอร์เซ็นต์ กรมวิชาการเกษตรแนะนำให้เปลี่ยนพืชปลูกที่ไม่ใช่พืชอาศัยของเชื้อราไฟท็อปธอร่า ได้แก่ข้าวโพดและอ้อย เมื่อสอบถามความคิดเห็นจากเกษตกรที่มีผลผลิตเสียหายจากโรคโคนเน่าหัวเน่า ทั้งหมด 150 ราย พบว่า มีเกษตรกร 40 ราย (คิดเป็น 27%) โดยเกษตรกรส่วนนิยมปลูกข้าวโพดหวานแทนมันสำปะหลังในพื้นที่ รองลงมาได้แก่ การเปลี่ยนไปปลูกอ้อย สำหรับเกษตรกรที่ยังคงปลูกมันสำปะหลังได้หันมาใช้พันธุ์ที่ทนทานต่อโรคได้แก่ พันธุ์ ระยอง 72 เพิ่มมากขึ้น จำนวน 103 คิดเป็น 68.7 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 21 ภาพที่ 8 และ 9)

การเตรียมดิน การยกร่องปลูกและการใช้ระยะปลูกตามคำแนะนำ

ไม่พบการไถระเบิดดินดานของเกษตรกรผู้ปลูกมันสำปะหลังในการสอบถาม พบว่าวิธีการเตรียมดินของเกษตรกรส่วนใหญ่ จะไถดินก่อนปลูก 1-2 ครั้ง และยกร่องปลูก แต่มีการใช้ระยะปลูกที่กว้างขึ้นตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตรทำให้ทรงพุ่มโปร่งจำนวน 104 ราย คิดเป็น 69.6 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 11 และ 12)

การแช่ท่อนพันธุ์ด้วยสารป้องกันกำจัดแมลงและโรคพืช

เกษตรกรแช่ท่อนพันธุ์ด้วยสารป้องกันกำจัดแมลง thiamethoxam และ imidacloprid จำนวน 10 ราย คิดเป็น 43.5 เปอร์เซ็นต์ และพบการแช่ท่อนพันธุ์ด้วยสารป้องกันกำจัดเชื้อราได้แก่ สาร metalaxyl และ mancozeb เพิ่มมากขึ้นซึ่งแต่เดิมเกษตรกรไม่เคยใช้ จำนวน 13 ราย คิดเป็น 8.7 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่13)

การกำจัดวัชพืชโดยการใช้สารแทนการใช้แรงงาน

พบเกษตรกรจำนวน 33 รายใช้สารกำจัดวัชพืชแบบก่อนงอก เกษตรกรส่วนใหญ่นิยมใช้สารกำจัดวัชพืชแบบหลังงอก โดยใช้สาร paraquat จำนวน 72 ราย คิดเป็น 47.8 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 14 และ 15)

การถอนต้นเป็นโรคออกนอกแปลง และการพ่นสาร fosetyl-aluminium ป้องกันกำจัดโรคโคนเน่าหัวเน่า

เกษตรกรถอนต้นเหี่ยว เหลือง เน่าออกนอกแปลง จำนวน 137 ราย คิดเป็น 91.3 เปอร์เซ็นต์ และมีเกษตรกรที่พ่นสารสารป้องกันกำจัดเชื้อรา เมื่อพบต้นแสดงอาการเน่าเกิน 5 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 53 ราย คิดเป็น 35.3 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 16 และ 17) จากเกษตรกรทั้งหมด 150 รายที่มีปัญหาการระบาดของโรคโคนเน่าหัวเน่า มีการใช้สาร foestyl aluminium พ่นเพียง 53 ราย ทั้งที่พบว่าต้นเป็นโรคมากกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากเกษตรกรส่วนใหญ่ที่เข้ารับการอบรมยังไม่แน่ใจว่าจะคุ่มค่าต่อการลงทุนหรือไม่ เนื่องจากสารที่แนะนำให้พ่นมีต้นทุนสูงถึงไร่ละ 980 บาทซึ่ง เป็นการลงทุนที่ค่อนข้างสูงสำหรับเกษตรกร จึงยอมรับวิธีถอนต้นทิ้งนอกแปลงเท่านั้น

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

กรณีพบการระบาดของโรคและผลผลิตฤดูก่อนเสียหายน้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์และปลูกมันสำปะหลังต่อเนื่องพบว่า พันธุ์ ระยอง 5 พบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคน้อยที่สุด รองลงมาได้แก่ พันธุ์ระยอง 72 สำหรับพันธุ์ ระยอง 11 เกษตรศาสตร์ 50 และ ห้วยบง 60 พบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคปานกลาง ส่วนพันธุ์ที่พบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงที่สุด คือ พันธุ์ CMR-43-08-89 การใช้วิธี IPM ร่วมกัน คือ การแช่ท่อนพันธุ์ก่อนปลูกด้วย imidacloprid และ mancozeb/metalaxyl การปรับระยะปลูกเป็น 1×1 เมตร การกำจัดวัชพืชด้วยสารป้องกันกำจัดวัชพืช การใช้สารปรับปรุงดิน การ ใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ การเพิ่มปุ๋ย KCL ลดการใช้ปุ๋ยคอก และปุ๋ยไนโตรเจน การใส่เชื้อราไตรโคเดอร์ม่าร์ การถอนต้นที่เป็นโรคออกจากแปลง การพ่นสารกำจัดเชื้อรา fosetyl-aluminium สามารถลดจำนวนต้นที่เป็นโรคในแปลงได้ ประเมินจากวิธี IPM1 และ IPM2 พบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคน้อยกว่าวิธีเกษตรกรและมีความคุ้มค่าในการลงทุน แต่เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบพบว่าวิธี IPM1 จะมีต้นทุนสูงกว่าวิธี IPM2 เนื่องจากมีการใส่เชื้อราไตรโคเดอร์ม่าร์

การพันธุ์ทนทานเพียงอย่างเดียวได้แก่ ระยอง 5 และ ระยอง 72 สามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคได้ประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าเฉลี่ยผลผลิต 3.8 ตันต่อไร่เปรียบเทียบกับกรรมวิธีเกษตรกรที่มีผลผลิตเฉลี่ย 2.4 ตันต่อไร่ แต่หากใช้ร่วมกับวิธี IPM สามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคโคนเน่าหัวเน่าได้ถึง 90 เปอร์เซ็นต์ โดยให้ผลผลิตอยู่ที่ 4.5-5.5 ตันต่อไร่ ส่วนการปลูกมันสำปะหลังพันธุ์อ่อนแอ ได้แก่ ห้วยบง 60 และ CMR-43-08-89 เมื่อใช้ร่วมกับวิธี IPM สามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคโคนเน่าหัวเน่าได้ประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ โดยมีผลผลิตเฉลี่ย 2.0 ตันต่อไร่ เปรียบเทียบกับวิธีเกษตรกรที่มีผลผลิตเฉลี่ย 1.4 ตันต่อไร่ ดังนั้นการปลูกมันสำปะหลังในพื้นที่ที่พบการระบาดของ

โรคโคนเน่าหัวเน่าผลผลิตฤดูก่อนเสียหายน้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ จึงควรใช้พันธุ์ทนทานร่วมกับการจัดการด้วยวิธี IPM

การเปลี่ยนไปปลูกพืชหมุนเวียนเพื่อตัดวงจรการเกิดโรคโคนเน่าหัวเน่า กรณีพบการระบาดของโรคและผลผลิตฤดูก่อนเสียหายมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ พบว่าข้าวโพดและอ้อยไม่ได้เป็นพืชอาศัยของเชื้อรา *P. melonis* สาเหตุโรคโคนเน่าหัวเน่ามันสำปะหลัง สามารถแนะนำพืช 2 ชนิดนี้มาใช้เพื่อลดการระบาดของโรค การปลูกข้าวโพดหวานต้องปลูกต่อเนื่อง 11 เดือน ส่วนอ้อยใช้เวลา 19 เดือน ปริมาณเชื้อ *phytopthora* จึงลดลง ผลตอบแทนจากการปลูกข้าวโพดหวาน และอ้อยคุ้มค่าต่อการปลูกในพื้นที่ที่ประสพปัญหาโรคโคนเน่าหัวเน่ามันสำปะหลัง

การทดสอบเทคโนโลยีการลดต้นทุนการกำจัดวัชพืชฤดูเดียว โดยพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบก่อนงอก สามารถควบคุมวัชพืชในแปลงได้ดีกว่าวิธีเกษตรกรที่พ่นแบบหลังงอก และใช้แรงงานในการกำจัดวัชพืช มีต้นทุนในการจัดการต่ำกว่าวิธีของเกษตรกร โดยสามารถลดต้นทุนการจัดการวัชพืชได้ 60 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่า BCR เท่ากับ 3.1 เมื่อเทียบกับวิธีเกษตรมีค่า 1.7 ส่วนการจัดการวัชพืชข้ามปี/เถาเลื้อย โดยการพ่นสารกำจัดวัชพืช ก่อนไถเตรียมแปลง เพื่อกำจัดวัชพืชที่หลงเหลือก่อนปลูกมันสำปะหลัง และพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบก่อนงอกหลังปลูกมันสำปะหลัง สามารถควบคุมวัชพืชในแปลงได้ดีกว่าวิธีเกษตรกร เมื่อคำนวณต้นทุนและอัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน โดยสามารถลดต้นทุนการจัดการวัชพืชได้ 70 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่า BCR เท่ากับ 2.3 เมื่อเทียบกับวิธีเกษตรมีค่า 1.3

จากการประเมินการยอมรับเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืชแบบบูรณาการเพื่อแก้ปัญหาโรคโคนเน่าหัวเน่ามันสำปะหลัง พบว่าเกษตรกรมีการยอมรับเทคโนโลยี IPM ถึง 62 เปอร์เซ็นต์ โดยยอมรับในประเด็นการใช้พันธุ์ทนทาน การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงและป้องกันกำจัดโรค การยกร่องปลูกและการปรับระยะปลูกที่กว้างขึ้น การกำจัดต้นเป็นโรค และการปลูกพืชหมุนเวียน แต่ไม่นิยมใช้สารกำจัดวัชพืชก่อนงอกเนื่องจากช่วงเวลาที่ใช้มีระยะสั้น จึงนิยมเฉพาะแบบเผาไหม้

เอกสารอ้างอิง

จรรยา มณีโชติ สุพัตรา ชาวกงจักร์ ปรัชญา เอกฐิน ยุรวรรณ อนันตนมณี และไตรเดช ข่ายทอง. 2557. เทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืชแบบบูรณาการในมันสำปะหลัง *ใน* รายงานโครงการวิจัยฉบับสมบูรณ์ โครงการบริหารจัดการศัตรูพืชแบบบูรณาการในมันสำปะหลัง ปีที่ 2. สำนักวิจัยพัฒนาวิทยศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ. หน้า 112-116.

ทวี เก่าศิริ. 2552. ราใน Class Oomycetes. หน้า 1-23. *ใน* เอกสารประกอบการฝึกอบรม หลักสูตรการวินิจฉัยโรคพืชที่เกิดจากราสกุล *Phythopthora* และ *Pythium* ในระหว่างวันที่ 19-21 พฤษภาคม 2552. จัดโดย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

รังษี เจริญสถาพร ธีรนันท์ แซ่ลี้ อัมพร จุคต ศักดา เชิดชู และ ฤทัยรัตน์ น้อยจาด. 2556. *Phythopthora* สาเหตุโรคโคนรากและหัวเน่ามันสำปะหลัง. เอกสารประกอบการประชุมอารักขาพืชแห่งชาติครั้งที่ 11 ณ โรงแรมเซ็นทารา ขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น หน้า 66-71.

รังษี เจริญสถาพร ปรัชญา เอกฐิน ยุรวรรณ อนันตนมณี ธีรนันท์ แซ่ลี้ และ จรรยา มณีโชติ. 2557. การจัดการการระบาดของโรคหัวมันเน่าจากเชื้อรา *Phythopthora meadii* ในแหล่งปลูกมันสำปะหลัง. *ใน* รายงานโครงการวิจัยฉบับสมบูรณ์ โครงการบริหารจัดการศัตรูพืชแบบบูรณาการในมันสำปะหลัง ปีที่ 2. สำนักวิจัยพัฒนาวิทยศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ. หน้า 82-94.

รังษี เจริญสถาพร ปรัชญา เอกฐิน ยุรวรรณ อนันตนมณี ธีรนันท์ แซ่ลี้ และ จรรยา มณีโชติ. 2558. ประสิทธิภาพการป้องกันกำจัดโรคหัวมันเน่าสาเหตุจากเชื้อรา *Phythopthora meadii* ในสภาพเรือนทดลองและสภาพไร่เกษตรกร. เอกสารประกอบการประชุมอารักขาพืชแห่งชาติครั้งที่ 12 ณ โรงแรมดุสิต ไอซ์แลนด์ รีสอร์ท จังหวัดเชียงราย (กำลังพิมพ์).

นิรนาม. 2547. การควบคุมวัชพืชในมันสำปะหลัง. *ใน* คำแนะนำการป้องกันกำจัดวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืช. กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. หน้า 68-70.

นิรนาม. 2550. สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปี 2550. ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร 115 หน้า.

อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์. 2554 รา ไฟทอปธอรา สาเหตุโรคพืชในประเทศไทย.เอกสารวิชาการ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ. 96 หน้า

Barrios, J.R. 1973. Weed control in cassava. *In* Proceedings of the 3rd International Symposium International Society for Tropical Root Crops. Ibadan, Nigeria 2-9 December 1973. pp. 406-411.

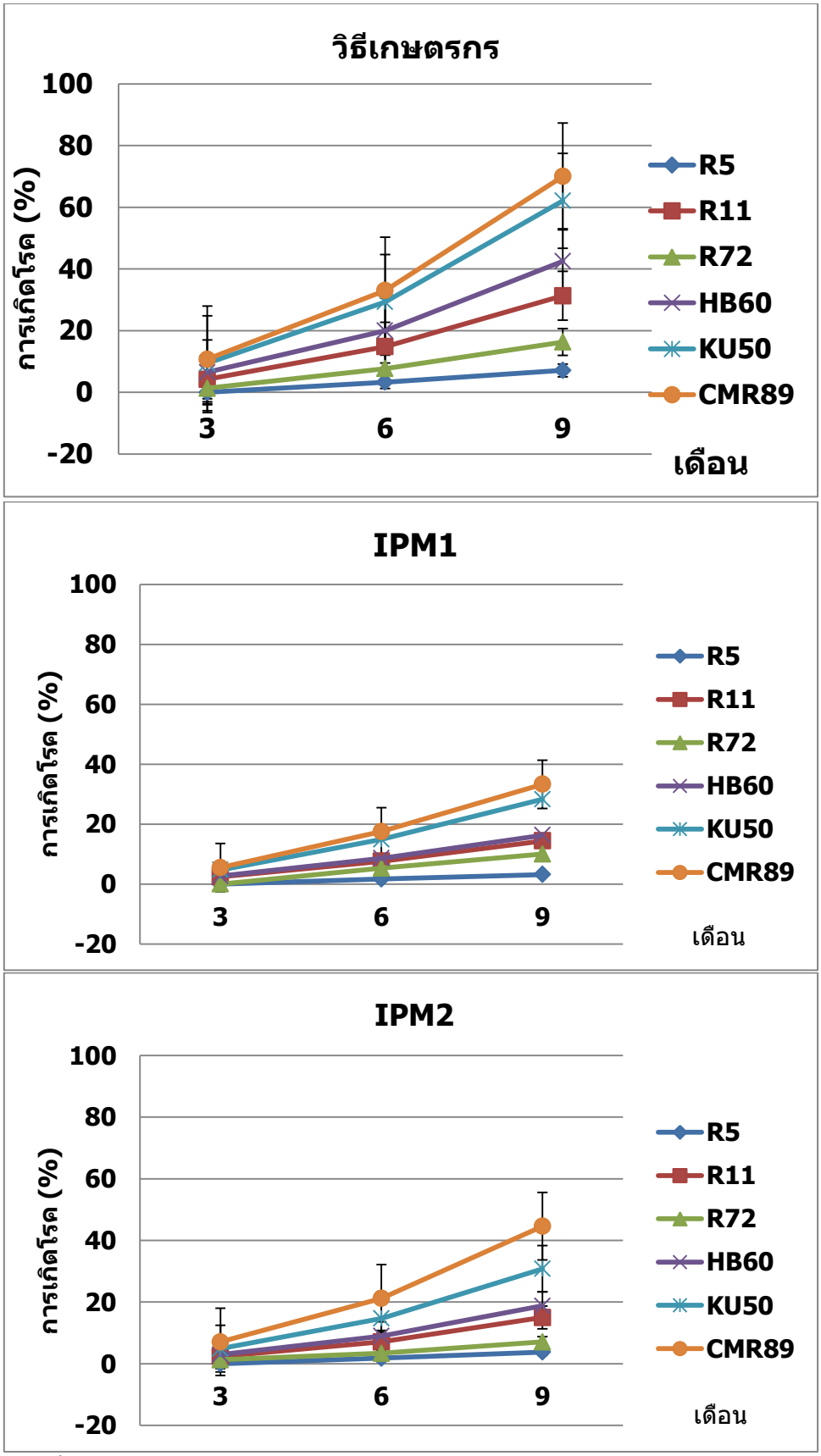
Charaensatapon R., A. Kitjiadeaw, T. Saelee and R. Noijad. *Phytophthora* Seeding Blight of Cassava in Thailand. p. 66. *in* Abstract of TPS 2012. The International Conference on Tropical Plant Diseases “Plant Diseases in Agriculture and Food Security” February 7-10, 2012. The Empress Hotel, Chiang Mai, Thailand

Doll, J.D. and Piedrahita, W.C. 1973. Effect of time of weeding and plant population on growth and yield of cassava. *In* Proceedings of the 3rd International Symposium International Society for Tropical Root Crops. Ibadan, Nigeria 2-9 December 1973. pp. 399-405.

Harper, R.S. 1973. Cassava growing in Thailand. World Crops 25: 94-97.

ตารางที่ 2 จำนวนและชนิดวัชพืช แปลงทดสอบเทคโนโลยีแบบผสมผสานเพื่อแก้ปัญหาโรคโคนเน่าหัวเน่าในมันสำปะหลัง อ.น้ำยืน จ.อุบลราชธานี

ชนิดวัชพืช	ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช		ความหนาแน่น (จำนวนต้น/ตารางเมตร)	
	30 วัน	60 วัน	30 วัน	60 วัน
วัชพืชประเภทใบกว้าง				
สาบม่วง *(Praxelis clematidea)*	10	8.5	0	4
กระดุมใบ *(Borreria laevis)*	10	10	0	0
ปอวัชพืช *(Corchorus aestuans)*	10	9.5	0	2
วัชพืชประเภทใบแคบ				
หญ้าตีนนก *(Digitaria sanguinalis)*	10	10	0	0



ภาพที่ 1 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคโคนเน่าหัวเน่าในมันสำปะหลัง 6 พันธุ์ ที่มีวิธีการจัดการโรคที่แตกต่างกัน 3 แบบในแปลงเกษตรกร อำเภอน้ำยืน จังหวัดอุบลราชธานี

ตารางที่ 3 ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตมันสำปะหลัง 6 พันธุ์ ที่มีวิธีการจัดการโรคที่แตกต่างกัน 3 แบบในแปลงเกษตรกรที่ 12 เดือนหลังปลูก อ.น้ำยืน จ.อุบลราชธานี

พันธุ์	ผลผลิตมันสำปะหลัง			เปอร์เซ็นต์แป้ง		
	เกษตรกร	IPM1	IPM2	เกษตรกร	IPM1	IPM2
R5	3,668 a	5,921 a	5,540 a	25.5	24.4	24.1
R11	2,043 ab	4,441 b	4,321 b	24.8	23.6	25.8
R72	3,571 a	5,213 a	5,732 a	26	24.9	25.4
HB60	1,587 b	4,183 bc	3,714 b	26.2	25.1	25.6
KU50	1,960 b	4,302 b	4,143 b	24.7	23.5	24.1
CMR89	1,585 c	3,332 c	3,521 b	25	23.8	24.4
C.V.%	47.1	29.9	30.1	8.8	9.2	8.8

[1/]Means in the same column followed by the similar letter are not significantly different when compared by DMRT at p<.05

ตารางที่ 4 ต้นทุนในการผลิตมันสำปะหลังแปลงทดสอบเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน เพื่อแก้ปัญหาโรคโคนเน่า หัวเน่ามันสำปะหลัง มีวิธีการจัดการโรคที่แตกต่างกัน 3 แบบ

ระยะการเจริญเติบโต	การดำเนินการ	ต้นทุนบาทต่อไร่		
		วิธีเกษตรกร	IPM1	IPM2
0 วัน	ค่าไถเตรียมแปลงและใส่สารปรับปรุงดิน (โดโลไมท์)	500	800	800
0 วัน	ค่าสารแช่ท่อนพันธุ์ imidacloprid ผสมกับสาร mancozeb/metalaxyl	-	160	160
1 วัน	ค่าสาร s-metolachlor+ flumioxazin+ค่าพ่น	-	490	490
30 วัน	กำดวัชพืชด้วยแรงงานคน	1,200	-	-
30 วัน	ค่าปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 50 กก. ต่อไร่	870	-	-
30 วัน	ค่าสาร fosetyl-aluminium ครั้งที่ 1		250	250
45 วัน	ค่าสาร fosetyl-aluminium ครั้งที่ 2		250	250
60 วัน	กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานคน	1,200		
60 วัน	ค่าไตรโคเดอร์ม่าร์	-	500	-
90 วัน	กำดวัชพืชด้วยแรงงานคน	1,200		
90 วัน	ค่าปุ๋ย KCL อัตรา 30 กก. ต่อไร่		500	500
12 เดือน	ค่าเก็บเกี่ยวผลผลิต	1,200	1,200	1,200
รวมต้นทุนการผลิต		6,170	3,900	3,400

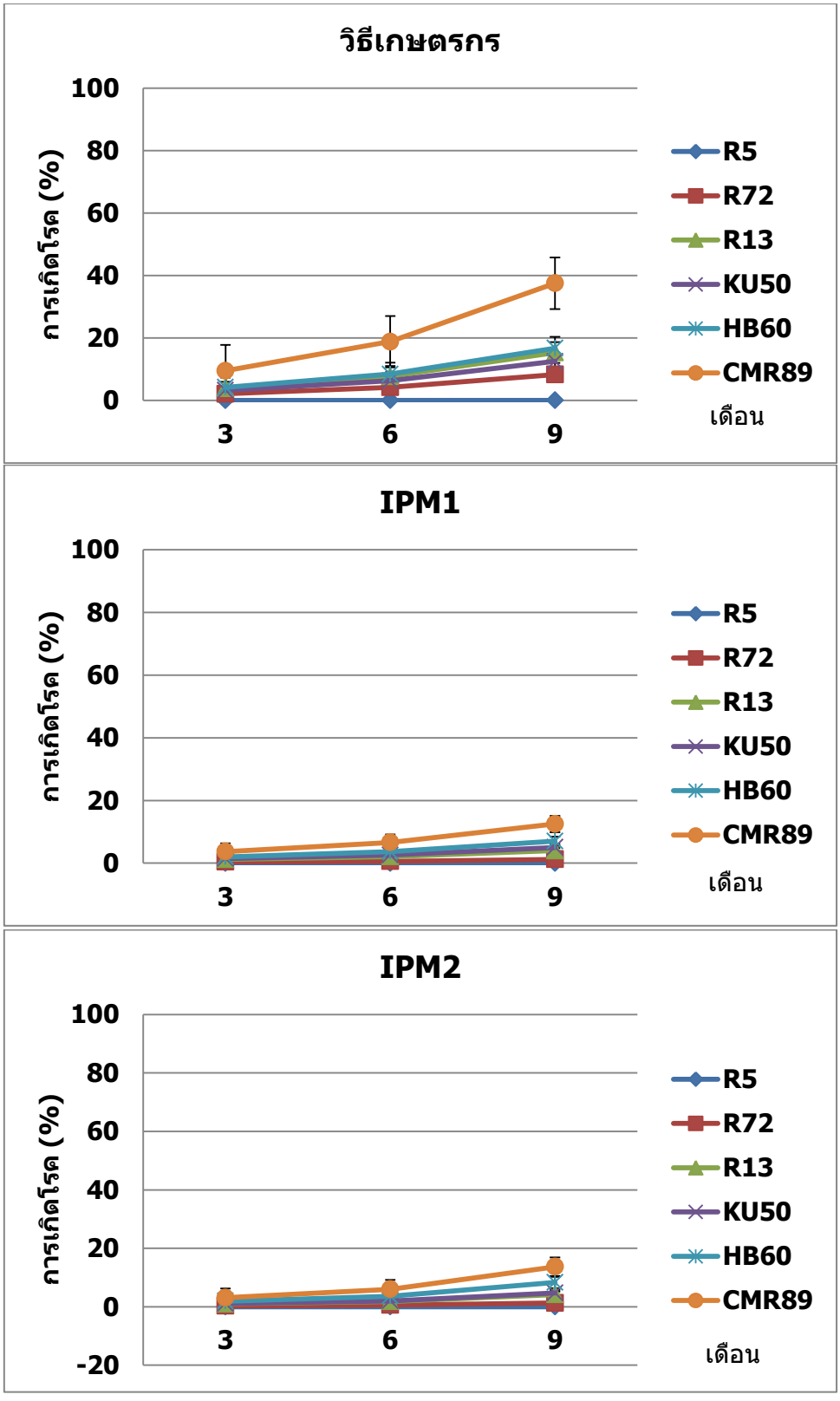
ตารางที่ 5 อัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน (Benefit-Cost-Ratio) มีวิธีการจัดการโรคที่แตกต่างกัน 3 แบบในแปลงเกษตรกร อ.น้ำยืน จ.อุบลราชธานี

ต้นทุนการผลิตต่อไร่ (บาทต่อไร่)	วิธีเกษตรกร	IPM1	IPM2
ต้นทุนรวม	**6,170**	**3,900**	**3,400**
รายได้จากการขายผลผลิตของแต่ละพันธุ์ (บาทต่อไร่)			
ระยอง 5	7,336	11,842	11,080
ระยอง 11	4,086	8,882	8,642
ระยอง 72	7,142	10,426	11,464
ห้วยบง 60	3,174	8,366	7,428
เกษตรศาสตร์ 50	3,920	8,604	8,286
CMR 43-08-89	3,170	6,664	7,042
อัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุนของแต่ละพันธุ์ (Benefit-Cost-Ratio)			
ระยอง 5	1.2	3.0	3.3
ระยอง 11	0.7	2.3	2.5
ระยอง 72	1.2	2.7	3.4
ห้วยบง 60	0.5	2.1	2.2
เกษตรศาสตร์ 50	0.6	2.2	2.4
CMR 43-08-89	0.5	1.7	2.1

*รายได้จากการขายผลผลิตคิดที่ ราคามันสำปะหลังกิโลกรัมละ 2 บาท

ตารางที่ 6 จำนวนและชนิดวัชพืช แปลงทดสอบเทคโนโลยีแบบผสมผสานเพื่อแก้ปัญหาโรคโคนเน่าหัวเน่าในมันสำปะหลัง อ.หนองบุญมาก จ.นครราชสีมา

ชนิดวัชพืช	ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช		ความหนาแน่น (จำนวนต้น/ตารางเมตร)	
	30 วัน	60 วัน	30 วัน	60 วัน
วัชพืชใบกว้าง				
สาบม่วง *(Praxelis clematidea)*	10	8.5	0	3
ตีนตุ๊กแก *(Tridax procumbens)*	10	10	0	0
ผักโขม *(Amaranthus viridis)*	10	9	0	1
วัชพืชใบแคบ				
หญ้าตีนนก *(Digitaria sanguinalis)*	10	9	0	1
หญ้าขจรจบดอกเล็ก *(Penisetum polystachyon)*	10	8.5	0	3



ภาพที่ 2 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคโคนเน่าหัวเน่าในมันสำปะหลัง 6 พันธุ์ ที่มีวิธีการจัดการโรคที่แตกต่างกัน 3 แบบในแปลงเกษตรกร อ.หนองบุญมาก จ.นครราชสีมา

ตารางที่ 7 ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตมันสำปะหลังที่ 12 เดือนหลังปลูก อ.หนองบุญมาก จ.นครราชสีมา

พันธุ์	ผลผลิตมันสำปะหลัง			เปอร์เซ็นต์แป้ง		
	เกษตรกร	IPM1	IPM2	เกษตรกร	IPM1	IPM2
R72	1,028 a[1/]	5,135 a	5,089 a	24.5 ab	23.3	21.5
R13	1,123 b	3,934 b	3,835 b	26.2 a	26.9	22.8
KU50	2,952 b	4,134 b	4,289 a	25 a	24.6	23.8
HB60	1,566 b	3,745 b	3,480 b	25 a	24.2	24
CMR89	1,126 b	3,129 c	3,048 b	22.7 b	23.3	21
C.V.%	8.8	5.6	7.3	11.7	13.8	13

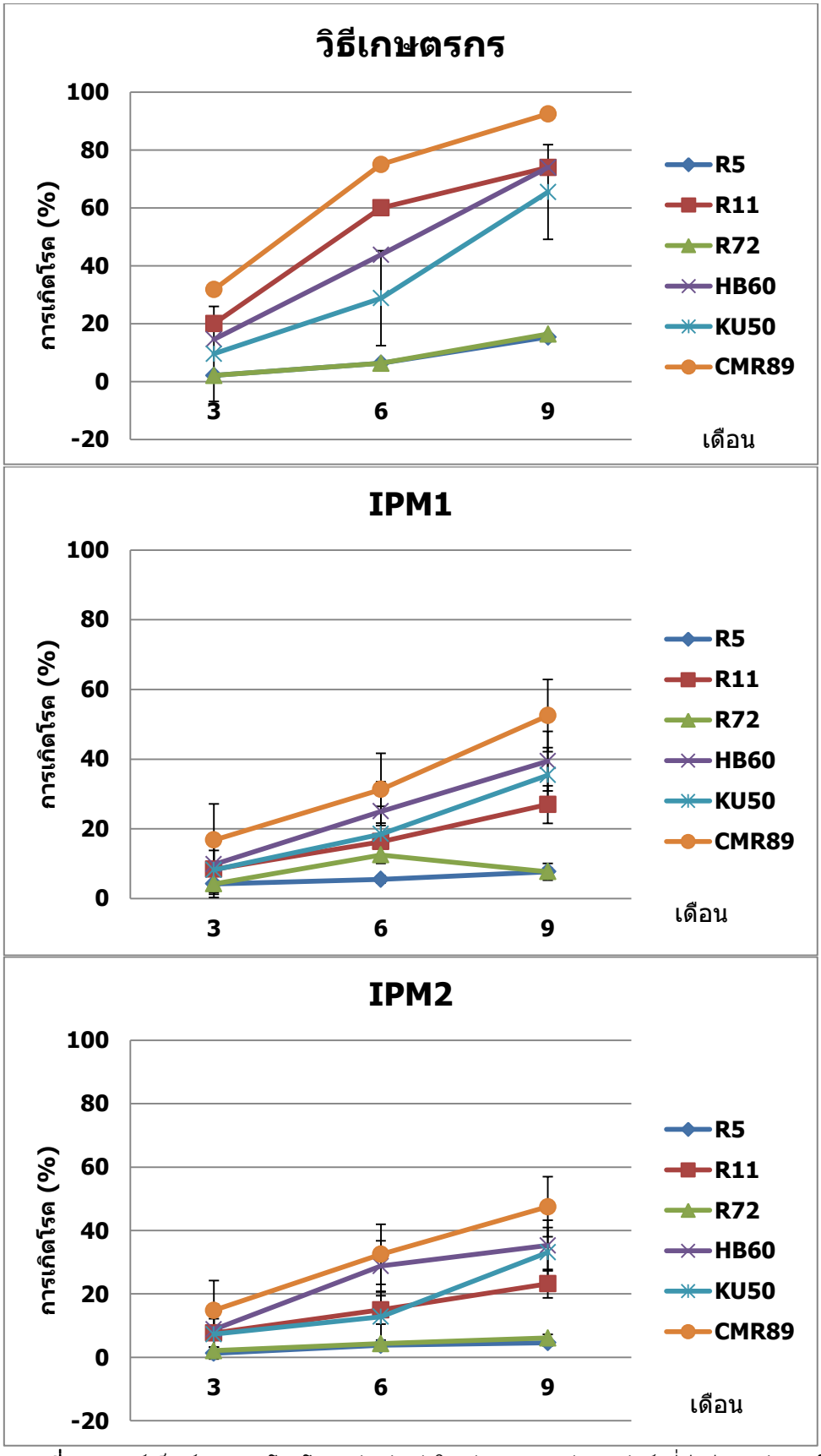
[1/]Means in the same column followed by the similar letter are not significantly different when compared by DMRT at p<.05

ตารางที่ 8 อัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน (Benefit-Cost-Ratio) มีวิธีการจัดการโรคที่แตกต่างกัน 3 แบบในแปลงเกษตรกร อ.หนองบุญมาก จ.นครราชสีมา

ต้นทุนการผลิตต่อไร่ (บาทต่อไร่)	วิธีเกษตรกร	IPM1	IPM2
ต้นทุนรวม	**6,170**	**3,900**	**3,400**
รายได้จากการขายผลผลิตของแต่ละพันธุ์ (บาทต่อไร่)			
ระยอง 72	2,056	10,270	10,178
ระยอง 13	2,246	7,868	7,670
เกษตรศาสตร์ 50	5,904	8,268	8,578
ห้วยบง 60	3,132	7,490	6,960
CMR 43-08-89	2,252	6,258	6,096
อัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุนของแต่ละพันธุ์ (Benefit-Cost-Ratio)			
ระยอง 72	0.3	2.6	3.0
ระยอง 13	0.4	2.0	2.3
เกษตรศาสตร์ 50	1.0	2.1	2.5
ห้วยบง 60	0.5	1.9	2.0
CMR 43-08-89	0.4	1.6	1.8

ตารางที่ 9 จำนวนและชนิดวัชพืช แปลงทดสอบเทคโนโลยีแบบผสมผสานเพื่อแก้ปัญหาโรคโคนเน่าหัวเน่าในมันสำปะหลัง อ.เสิงสาง จ.นครราชสีมา

ชนิดวัชพืช	ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช		ความหนาแน่น (จำนวนต้น/ตารางเมตร)	
	30 วัน	60 วัน	30 วัน	60 วัน
วัชพืชประเภทใบกว้าง				
สาบม่วง (*Praxelis clematidea)*	10	9	0	3
ผักโขมหินต้นตั้ง (*Boerhavia erecta)*	10		0	0
ตีนตุ๊กแก *(Tridax procumbens)*	10	9.5	0	1
วัชพืชประเภทใบแคบ				
หญ้าตีนกา *(Eleusine indica)*	10	9	0	2
วัชพืชเถาเลื้อย				
ตดหมูตดหมา *(Paederia linearis)*	10	10	0	0
ขยุ้มตีนหมา *(Ipomoea pestigridis)*	10	10	0	0



ภาพที่ 3 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคโคนเน่าหัวเน่าในมันสำปะหลัง 6 พันธุ์ ที่มีวิธีการจัดการโรคที่แตกต่างกัน 3 แบบในแปลงเกษตรกร อ.เสิงสาง จ.นครราชสีมา

ตารางที่ 10 ผลผลิต (กก./ไร่) และเปอร์เซ็นต์แป้ง มันสำปะหลังที่ 12 เดือนหลังปลูก อ.เสิงสาง จ.นครราชสีมา

พันธุ์	ผลผลิตมันสำปะหลัง			เปอร์เซ็นต์แป้ง		
	เกษตรกร	IPM1	IPM2	เกษตรกร	IPM1	IPM2
R5	4798 a[1/]	5123 a	5310 ab	25.2	20.9 c	26.9
R11	523 bc	2120 b	2412 b	28.4	27.5 a	27.1
R72	4912 a	5500 a	5631 a	28.7	24.1 b	25.2
HB60	518 c	1909 c	2507 b	26.7	23.7 b	23.3
KU50	1587 b	4532 b	4998 ab	27.3	27.3 a	26.4
CMR89	321 c	1630 c	1907 c	23.0	24.0 b	24.0
C.V.%	31.1	20.6	17.8	12.5	14.6	17

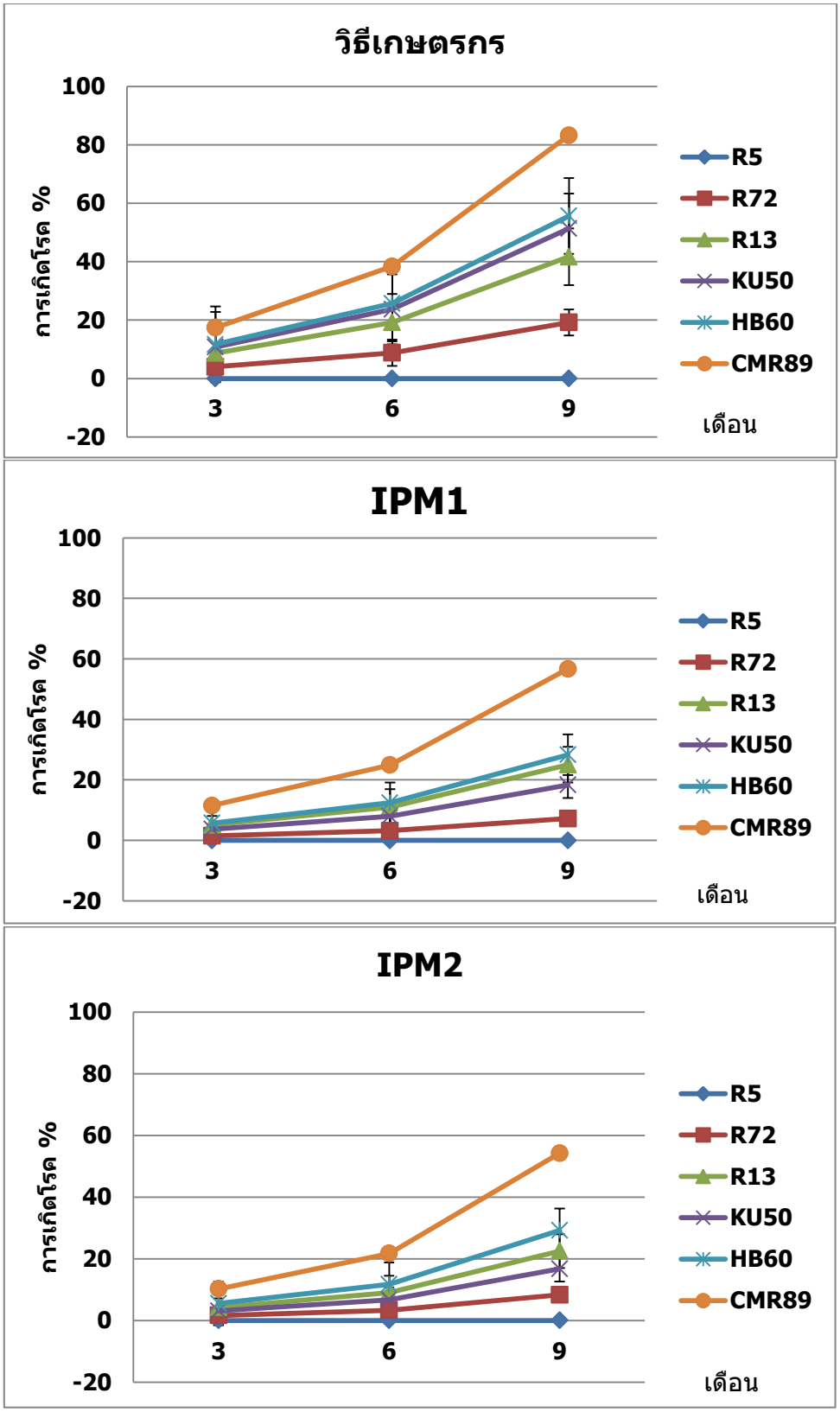
[1/]Means in the same column followed by the similar letter are not significantly different when compared by DMRT at $p<.05$

ตารางที่ 11 อัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน (Benefit-Cost-Ratio) มีวิธีการจัดการโรคที่แตกต่างกัน 3 แบบในแปลงเกษตรกร อ.เสิงสาง จ.นครราชสีมา

ต้นทุนการผลิตต่อไร่ (บาทต่อไร่)	วิธีเกษตรกร	IPM1	IPM2
ต้นทุนรวม	**6,170**	**3,900**	**3,400**
รายได้จากการขายผลผลิตของแต่ละพันธุ์ (บาทต่อไร่)			
ระยอง 5	9,596	10,246	10,620
ระยอง 11	1,046	4,240	4,824
ระยอง 72	9,824	11,000	11,262
ห้วยบง 60	1,036	3,818	5,014
เกษตรศาสตร์ 50	3,174	9,064	9,996
CMR 43-08-89	642	3,260	3,814
อัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุนของแต่ละพันธุ์ (Benefit-Cost-Ratio)			
ระยอง 5	1.6	2.6	3.1
ระยอง 11	0.2	1.1	1.4
ระยอง 72	1.6	2.8	3.3
ห้วยบง 60	0.2	1.0	1.5
เกษตรศาสตร์ 50	0.5	2.3	2.9
CMR 43-08-89	1.6	2.6	3.1

ตารางที่ 12 ชนิดและความหนาแน่นของวัชพืช แปลง อำเภอครบุรี จังหวัดนครราชสีมา

ชนิดวัชพืช	ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช		ความหนาแน่น (จำนวนต้น/ตารางเมตร)	
	30 วัน	60 วัน	30 วัน	60 วัน
วัชพืชประเภทใบกว้าง				
ผักเบี้ยใหญ่ *(Portulaca oleracea)*	10	9	0	1
ปอวัชพืช *(Corchorus aestuans)*	10	10	0	0
วัชพืชประเภทใบแคบ				
หญ้านกสีชมพู *(Echinochloa colona)*	10	8.5	0	2
วัชพืชเถาเลื้อย				
สะอึกดอกขาว *(ipomoea marginata)*	10	9	0	1



ภาพที่ 4 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคโคนเน่าหัวเน่าในมันสำปะหลัง 6 พันธุ์ ที่มีวิธีการจัดการโรคที่แตกต่างกัน 3 แบบในแปลงเกษตรกร อำเภอครบุรี จังหวัดนครราชสีมา

ตารางที่ 13 ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตมันสำปะหลังที่ 12 เดือนหลังปลูก อำเภอครบุรี จังหวัดนครราชสีมา

พันธุ์	ผลผลิตมันสำปะหลัง			เปอร์เซ็นต์แป้ง		
	เกษตรกร	IPM1	IPM2	เกษตรกร	IPM1	IPM2
R72	2,825 a[1/]	5,135 a	5,213 a	25.2	24 b	22.2
R13	1,706 bc	3,740 b	3,847 ab	26.9	27.6 a	23.5
KU50	1,023 b	3,177 ab	3,280 a	25.7	25.3 ab	24.5
HB60	1,087 bc	2,625 b	2,738 b	25.7	24.9 b	24.7
CMR89	693 c	2,488 c	2,560 b	23.4	24 b	21.7
C.V.%	27.6	18.5	23.3	12.1	13.6	14.7

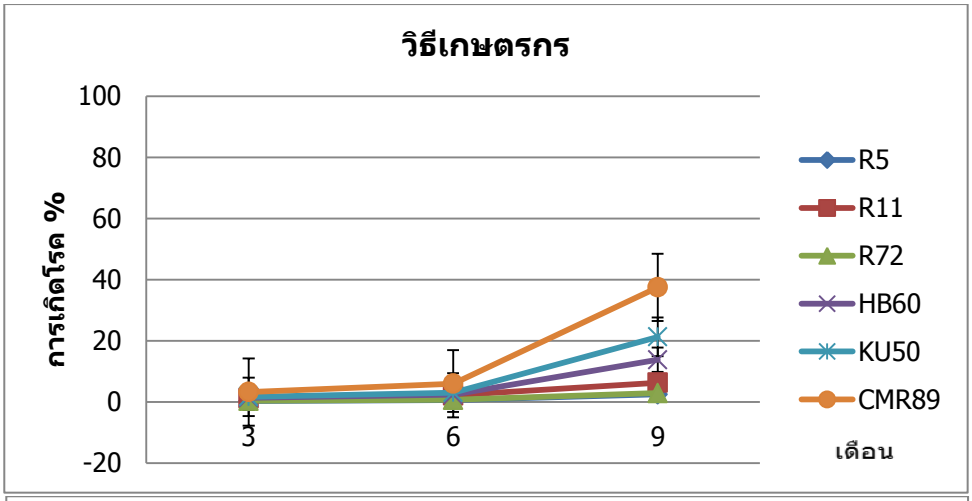
1/Means in the same column followed by the similar letter are not significantly different when compared by DMRT at p<.05

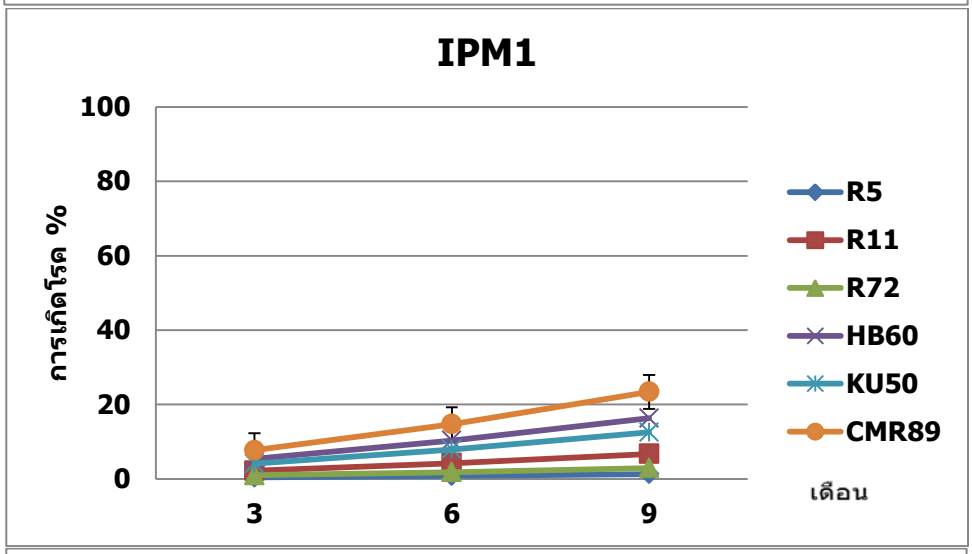
ตารางที่ 14 อัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน (Benefit-Cost-Ratio) มีวิธีการจัดการโรคที่แตกต่างกัน 3 แบบในแปลงเกษตรกร อำเภอครบุรี จังหวัดนครราชสีมา

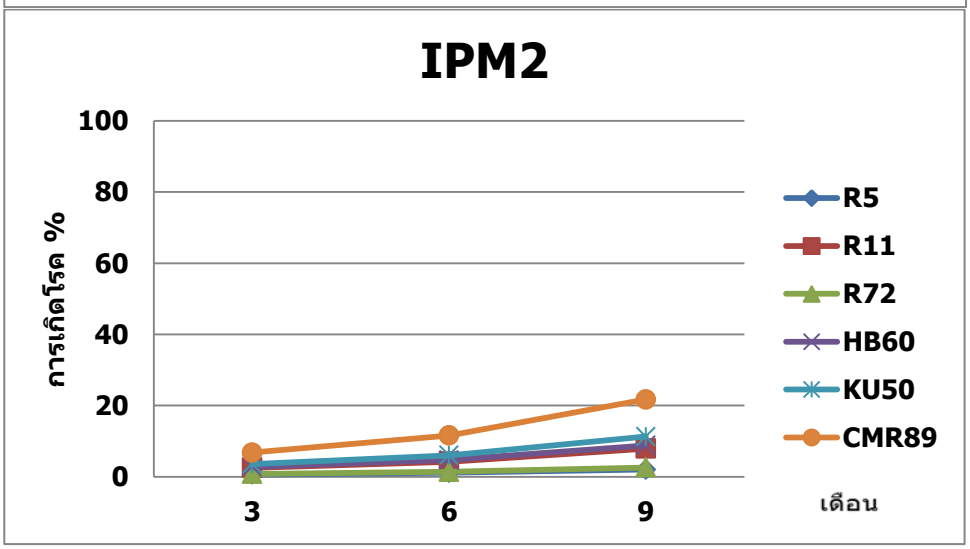
ต้นทุนการผลิตต่อไร่ (บาทต่อไร่)	วิธีเกษตรกร	IPM1	IPM2
ต้นทุนรวม	**6,170**	**3,900**	**3,400**
รายได้จากการขายผลผลิตของแต่ละพันธุ์ (บาทต่อไร่)			
ระยอง 72	3,850	10,270	10,426
ระยอง 13	4,612	7,480	7,694
เกษตรศาสตร์ 50	3,046	8,354	8,560
ห้วยบง 60	3,174	6,250	6,076
CMR 43-08-89	3,386	4,976	5,120
อัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุนของแต่ละพันธุ์ (Benefit-Cost-Ratio)			
ระยอง 72	0.6	2.6	3.1
ระยอง 13	0.7	1.9	2.3
เกษตรศาสตร์ 50	0.5	2.1	2.5
ห้วยบง 60	0.5	1.6	1.8
CMR 43-08-89	0.5	1.3	1.5

ตารางที่ 15 ชนิดและความหนาแน่นของวัชพืช แปลงอำเภอโชคชัย จังหวัดนครราชสีมา

ชนิดวัชพืช	ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช		ความหนาแน่น (จำนวนต้น/ตารางเมตร)	
	30 วัน	60 วัน	30 วัน	60 วัน
วัชพืชประเภทใบกว้าง				
ผักโขม *(Amaranthus viridis)*	10	8	0	4
กระดุมใบเล็ก *(Borreria laevis)*	10	9	0	1
ผักเบี้ยหิน *(Trianthema portulacastrum)*	10	10	0	0
ครามขน *(Indigofera hirsuta)*	10	9	0	1
วัชพืชประเภทใบแคบ				0
หญ้าตีนนก *(Digitaria sanguinalis)*	10	9	0	2
หญ้าตีนกา *(Eleusine indica)*	10	10	0	0
หญ้าปากควา *(Dactyloctenium aegyptium)*	10	9	0	1







ภาพที่ 5 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคโคนเน่าหัวเน่าในมันสำปะหลัง 6 พันธุ์ ที่มีวิธีการจัดการโรคที่แตกต่างกัน 3 แบบในแปลงเกษตรกร อำเภอโชคชัย จังหวัดนครราชสีมา

ตารางที่ 16 ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตมันสำปะหลังที่ 12 เดือนหลังปลูก อำเภอโชคชัย จังหวัดนครราชสีมา

พันธุ์	ผลผลิตมันสำปะหลัง			เปอร์เซ็นต์แป้ง		
	เกษตรกร	IPM1	IPM2	เกษตรกร	IPM1	IPM2
R5	1,647 a[1/]	5,322 a	5,247 a	24.1	23.8	25.8 a
R11	1,238 b	3,010 b	2,987 b	27.3	26.4	26 a
R72	1,701 a	5,603 a	5,570 a	27.6	23	24.1 ab
HB60	780 b	2,576 c	2,555 c	25.6	22.6	22.2 b
KU50	908 b	3,444 b	3,680 b	26.2	26.2	25.3 ab
CMR89	310 b	1,097 c	997 c	21.9	22.9	22.9 b
C.V.%	23.5.6	30.0	23.7	17	15.5	17.8

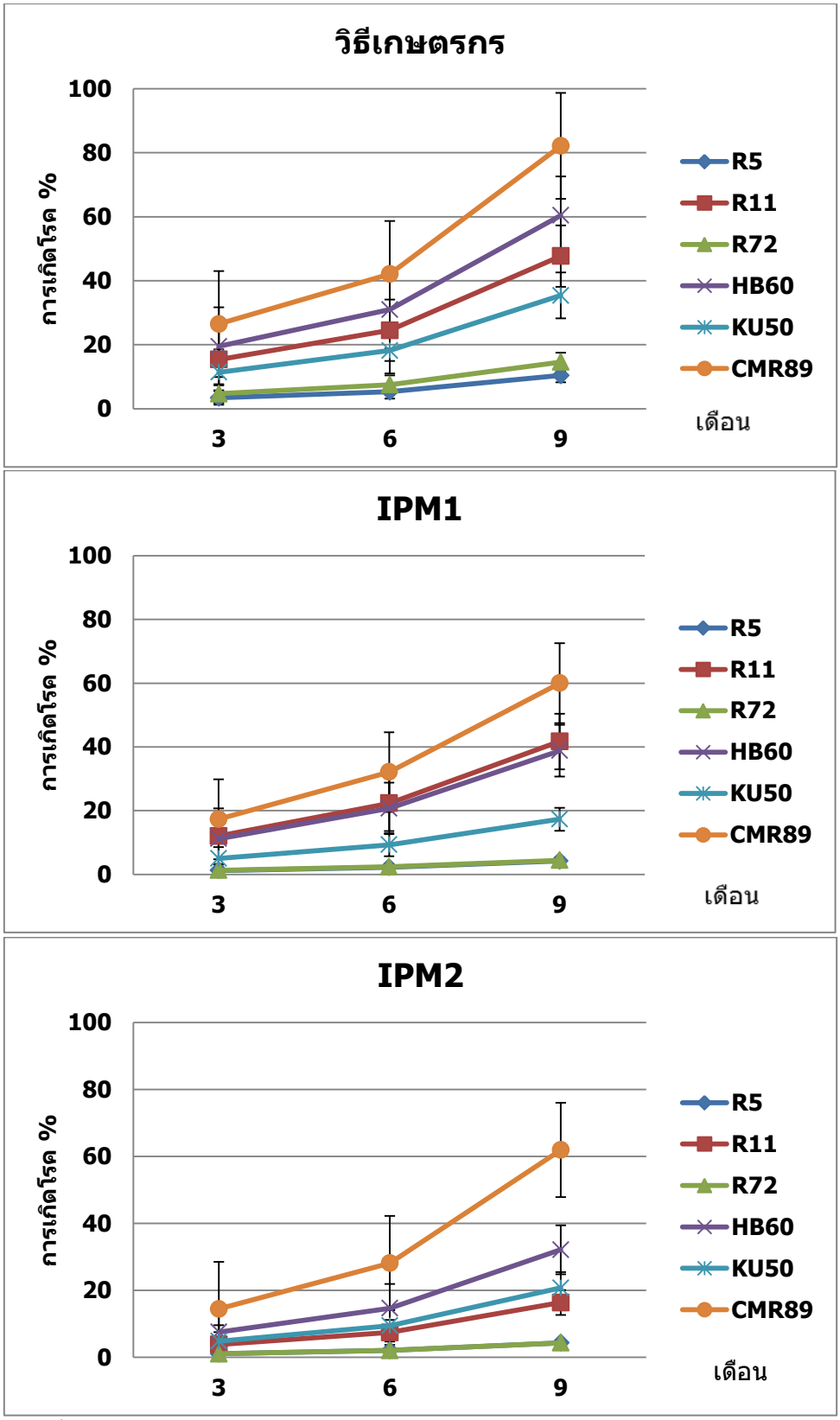
[1/]Means in the same column followed by the similar letter are not significantly different when compared by DMRT at p<.05

ตารางที่ 17 อัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน (Benefit-Cost-Ratio) มีวิธีการจัดการโรคที่แตกต่างกัน 3 แบบในแปลงเกษตรกร อำเภอโชคชัย จังหวัดนครราชสีมา

ต้นทุนการผลิตต่อไร่ (บาทต่อไร่)	วิธีเกษตรกร	IPM1	IPM2
ต้นทุนรวม	**6,170**	**3,900**	**3,400**
รายได้จากการขายผลผลิตของแต่ละพันธุ์ (บาทต่อไร่)			
ระยอง 5	3,294	10,644	10,494
ระยอง 11	2,476	6,020	5,974
ระยอง 72	3,402	11,206	11,140
ห้วยบง 60	1,560	5,152	5,110
เกษตรศาสตร์ 50	1,816	6,888	7,360
CMR 43-08-89	620	2,194	1,994
อัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุนของแต่ละพันธุ์ (Benefit-Cost-Ratio)			
ระยอง 5	0.5	2.7	3.1
ระยอง 11	0.4	1.5	1.8
ระยอง 72	0.6	2.9	3.3
ห้วยบง 60	0.3	1.3	1.5
เกษตรศาสตร์ 50	0.3	1.8	2.2
CMR 43-08-89	0.1	0.6	0.6

ตารางที่ 18 ชนิดและความหนาแน่นของวัชพืช แปลงอำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา

ชนิดวัชพืช	ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช		ความหนาแน่น (จำนวนต้น/ตารางเมตร)	
	30 วัน	60 วัน	30 วัน	60 วัน
วัชพืชใบกว้าง				
สาบม่วง *(Praxelis clematidea)*	10	8.5	0	3
ปอวัชพืช *(Corchorus aestuans)*	10	9	0	1
ผักปราบไร่ *(Commelina benghalensis)*	10	10	0	0
วัชพืชใบแคบ				
หญ้าโขย่ง *(Rottboellia cochinchinensis)*	10	8.5	0	2



ภาพที่ 6 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคโคนเน่าหัวเน่าในมันสำปะหลัง 6 พันธุ์ ที่มีวิธีการจัดการโรคที่แตกต่างกัน 3 แบบในแปลงเกษตรกร อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา

ตารางที่ 19 ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตมันสำปะหลังที่ 12 เดือนหลังปลูก อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา

พันธุ์	ผลผลิตมันสำปะหลัง			เปอร์เซ็นต์แป้ง		
	เกษตรกร	IPM1	IPM2	เกษตรกร	IPM1	IPM2
R5	2,152 a[1/]	5,331 a	5,240 a	24.6	24.5	26.6 a
R11	1,626 b	3,233 b	3,560 c	27.8	27.1	26.8 a
R72	2,579 ab	5,240 a	5,190 a	28.1	23.7	24.9 ab
HB60	1,230 ab	2,387 c	2,507 b	26.1	23.3	23.0 b
KU50	1,705 b	3,489 b	3,250 b	26.7	26.9	26.1 a
CMR89	320 c	807 d	677 b	22.4	23.6	23.7 b
C.V.%	17.7	21.4	18.3	15.8	19.0	21.0

[1/]Means in the same column followed by the similar letter are not significantly different when compared by DMRT at p<.05

ตารางที่ 20 อัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน (Benefit-Cost-Ratio) มีวิธีการจัดการโรคที่แตกต่างกัน 3 แบบในแปลงเกษตรกร อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา

ต้นทุนการผลิตต่อไร่ (บาทต่อไร่)	วิธีเกษตรกร	IPM1	IPM2
ต้นทุนรวม	**6,170**	**3,900**	**3,400**
รายได้จากการขายผลผลิตของแต่ละพันธุ์ (บาทต่อไร่)			
ระยอง 5	9,800	11,600	10,400
ระยอง 11	4,000	8,200	4,600
ระยอง 72	7,000	11,800	9,400
ห้วยบง 60	6,400	6,600	8,000
เกษตรศาสตร์ 50	5,400	9,000	8,200
CMR 43-08-89	2,000	3,600	4,000
อัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุนของแต่ละพันธุ์ (Benefit-Cost-Ratio)			
ระยอง 5	1.6	3.0	3.1
ระยอง 11	0.6	2.1	1.4
ระยอง 72	1.1	3.0	2.8
ห้วยบง 60	1.0	1.7	2.4
เกษตรศาสตร์ 50	0.9	2.3	2.4
CMR 43-08-89	0.3	0.9	1.2

ตารางที่ 21 เปอร์เซ็นต์ต้นกล้ามันสำปะหลังพันธุ์ CMR43-08-89 ที่เป็นโรคโคนเน่าหัวเน่าจาก เชื้อรา *Phytophthora* ก่อนปลูกข้าวโพดหวาน อ.เสิงสาง จ.นครราชสีมา

ลำดับที่	Disease incident (%)	Number of soil-born bacteria (cfu/1 g soil)	Number of soil-born fungi (cfu/1 g soil)	soil moisture (g)
1	66.67 1/	5.8×10^{8} 1/	3.2×10^{5} 1/	0.60 1/
2	68.75	6.4×10^{8}	3.6×10^{5}	0.64
3	89.59	5.3×10^{9}	5.5×10^{6}	0.72
4	66.67	5.5×10^{8}	2.9×10^{5}	0.62
5	64.59	4.8×10^{8}	3.1×10^{5}	0.63
6	81.25	4.6×10^{9}	2.3×10^{6}	0.70
7	77.08	6.7×10^{8}	8.3×10^{5}	0.68
8	56.25	8.4×10^{7}	9.7×10^{4}	0.54
9	83.33	8.0×10^{9} 1/	6.6×10^{5} 1/	0.67 1/
10	91.67	4.7×10^{8}	3.8×10^{6}	0.71
11	66.67	7.1×10^{8}	3.5×10^{5}	0.60
12	83.33	8.3×10^{9}	5.8×10^{5}	0.65
13	91.67	4.1×10^{8}	5.5×10^{6}	0.72
14	75.00	5.3×10^{8}	4.1×10^{5}	0.64
15	66.67	1.9×10^{8}	3.7×10^{5}	0.59
16	91.67	4.5×10^{9}	3.4×10^{6}	0.73
ค่าเฉลี่ย	76.30	2.1×10^{9}	2.5×10^{6}	0.65

1/ ค่าเฉลี่ยของข้อมูล 3 ซ้ำ ต่อพื้นที่ขนาด 1 ไร่

ตารางที่ 22 เปอร์เซ็นต์ต้นกล้ามันสำปะหลังพันธุ์ CMR43-08-89 ที่เป็นโรคโคนเน่าหัวเน่าจาก เชื้อรา *Phytophthora* ที่ 5 เดือนหลังปลูกข้าวโพดหวาน อ.เสิงสาง จ.นครราชสีมา

ลำดับที่	Disease incident (%)	Number of soil-born bacteria (cfu/1 g soil)	Number of soil-born fungi (cfu/1 g soil)	soil moisture (g)	Disease incident (%) of maize phytophthora rot disease
1	16.67 1/	5.4×10^{7} 1/	1.9×10^{4} 1/	0.51 1/	0
2	19.44	6.2×10^{7}	2.3×10^{4}	0.53	0
3	59.85	3.6×10^{8}	4.4×10^{5}	0.66	0
4	16.67	5.8×10^{7}	2.0×10^{4}	0.52	0
5	8.33	1.1×10^{6}	2.3×10^{3}	0.45	0
6	27.75	8.4×10^{7}	3.1×10^{4}	0.58	0
7	26.67	7.7×10^{7}	2.9×10^{4}	0.57	0
8	2.78	1.2×10^{5}	2.1×10^{3}	0.14	0
9	52.48	4.6×10^{7}	5.7×10^{4}	0.52	0
10	57.53	7.6×10^{7}	8.3×10^{4}	0.54	0
11	35.03	1.8×10^{7}	1.3×10^{5}	0.46	0
12	54.97	5.8×10^{7}	6.2×10^{4}	0.57	0
13	60.00	2.7×10^{8}	3.7×10^{3}	0.58	0
14	50.02	3.5×10^{7}	4.6×10^{4}	0.51	0
15	37.12	2.9×10^{7}	1.7×10^{4}	0.47	0
16	54.92	5.3×10^{7}	6.5×10^{3}	0.53	0
ค่าเฉลี่ย	36.26	6.4×10^{7}	6.0×10^{4}	0.50	0

1/ ค่าเฉลี่ยของข้อมูล 3 ซ้ำ ต่อพื้นที่ขนาด 1 ไร่

ตารางที่ 23 เปอร์เซ็นต์ต้นกล้ามันสำปะหลังพันธุ์ CMR43-08-89 ที่เป็นโรคโคนเน่าหัวเน่าจาก เชื้อรา *Phytophthora* ที่ 11 เดือนหลังปลูกข้าวโพดหวาน อ.เสิงสาง จ.นครราชสีมา

ลำดับที่	Disease incident (%)	Number of soil-born bacteria (cfu/1 g soil)	Number of soil-born fungi (cfu/1 g soil)	soil moisture (g)	Disease incident (%) of maize phytophthora rot disease
1	2.78 [1/]	5.5×10^{3} [1/]	4.1×10^{2} [1/]	0.052 [1/]	0
2	3.52	1.3×10^{4}	4.4×10^{2}	0.064	0
3	7.71	1.2×10^{5}	9.8×10^{2}	0.072	0
4	2.43	4.6×10^{3}	3.8×10^{2}	0.056	0
5	1.67	3.7×10^{3}	1.5×10^{2}	0.043	0
6	6.20	2.6×10^{4}	9.3×10^{2}	0.067	0
7	5.33	8.9×10^{3}	8.1×10^{2}	0.059	0
8	1.43	1.4×10^{3}	1.2×10^{2}	0.053	0
9	2.50	3.2×10^{3}	3.6×10^{2}	0.051	0
10	5.23	6.2×10^{3}	5.8×10^{2}	0.058	0
11	0.83	1.2×10^{3}	1.1×10^{2}	0.041	0
12	4.17	4.3×10^{3}	4.6×10^{2}	0.055	0
13	5.00	4.9×10^{3}	5.5×10^{2}	0.056	0
14	2.50	3.1×10^{3}	3.3×10^{2}	0.050	0
15	1.67	2.5×10^{3}	2.1×10^{2}	0.048	0
16	5.23	5.8×10^{3}	6.1×10^{2}	0.057	0
ค่าเฉลี่ย	3.63	1.3×10^{4}	4.6×10^{2}	0.05	0

[1/] ค่าเฉลี่ยของข้อมูล 3 ซ้ำ ต่อพื้นที่ขนาด 1 ไร่

ตารางที่ 24 เปอร์เซ็นต์ต้นกล้ามันสำปะหลังพันธุ์ CMR43-08-89 ที่เป็นโรคโคนเน่าหัวเน่าจาก เชื้อรา *Phytophthora* ที่ 7 เดือนหลังปลูกอ้อย อ.เสิงสาง จ.นครราชสีมา

ลำดับที่	Disease incident (%)	Number of soil-born bacteria (cfu/1 g soil)	Number of soil-born fungi (cfu/1 g soil)	soil moisture (g)	Disease incident (%) of sugarcane phytophthora rot disease
1	22.22 [1/]	6.5×10^{6} [1/]	8.3×10^{3} [1/]	0.42 [1/]	0
2	44.44	2.4×10^{7}	6.4×10^{4}	0.55	0
3	52.53	3.2×10^{8}	4.3×10^{5}	0.65	0
4	62.88	7.5×10^{8}	6.4×10^{5}	068	0
5	36.11	1.1×10^{7}	1.8×10^{4}	0.52	0
6	50.00	1.6×10^{7}	2.8×10^{5}	0.62	0
7	46.21	3.1×10^{7}	6.7×10^{4}	0.57	0
8	41.67	1.4×10^{7}	4.2×10^{4}	0.53	0
ค่าเฉลี่ย	38.79	1.47×10^{8}	1.94×10^{5}	0.57	0

[1/] ค่าเฉลี่ยของข้อมูล 3 ซ้ำ ต่อพื้นที่ขนาด 1 ไร่

ตารางที่ 25 เปอร์เซ็นต์ต้นกล้ามันสำปะหลังพันธุ์ CMR43-08-89 ที่เป็นโรคโคนเน่าหัวเน่าจาก เชื้อรา *Phytophthora* ที่ 13 เดือนหลังปลูกอ้อย (อ้อยตอ) อ.เสิงสาง จ.นครราชสีมา

ลำดับที่	Disease incident (%)	Number of soil-born bacteria (cfu/1 g soil)	Number of soil-born fungi (cfu/1 g soil)	soil moisture (g)	Disease incident (%) of sugarcane phytophthora rot disease
1	24.33 [1/]	2.3×10^{7} [1/]	3.8×10^{4} [1/]	0.53 [1/]	0
2	31.48	3.7×10^{8}	1.9×10^{5}	0.59	0
3	32.40	2.3×10^{8}	2.7×10^{5}	0.62	0
4	32.40	2.3×10^{8}	2.6×10^{5}	0.60	0
5	26.43	4.2×10^{7}	5.7×10^{4}	0.55	0
6	32.40	3.1×10^{8}	2.9×10^{5}	0.61	0
7	31.48	2.5×10^{8}	1.2×10^{5}	0.60	0
8	25.25	3.8×10^{7}	4.4×10^{4}	0.54	0
ค่าเฉลี่ย	25.47	1.87×10^{8}	1.59×10^{5}	0.58	0

[1/] ค่าเฉลี่ยของข้อมูล 3 ซ้ำ ต่อพื้นที่ขนาด 1 ไร่

ตารางที่ 26 เปอร์เซ็นต์ต้นกล้ามันสำปะหลังพันธุ์ CMR43-08-89 ที่เป็นโรคโคนเน่าหัวเน่าจาก เชื้อรา *Phytophthora* ที่ 19 เดือนหลังปลูกอ้อย (อ้อยตอ) อ.เสิงสาง จ.นครราชสีมา

ลำดับที่	Disease incident (%)	Number of soil-born bacteria (cfu/1 g soil)	Number of soil-born fungi (cfu/1 g soil)	soil moisture (g)	Disease incident (%) of sugarcane phytophthora rot disease
1	11.04 [1/]	8.5×10^{5} [1/]	8.7×10^{3} [1/]	0.28 [1/]	0
2	16.67	3.6×10^{6}	4.8×10^{3}	0.36	0
3	23.14	6.2×10^{6}	7.6×10^{3}	0.43	0
4	24.74	6.9×10^{6}	8.3×10^{3}	0.45	0
5	16.67	4.1×10^{6}	4.6×10^{3}	0.37	0
6	21.29	5.4×10^{6}	6.5×10^{3}	0.41	0
7	19.44	5.1×10^{6}	5.8×10^{3}	0.41	0
8	15.21	2.8×10^{6}	4.3×10^{3}	0.34	0
ค่าเฉลี่ย	18.53	4.37×10^{6}	6.33×10^{3}	0.38	0

[1/] ค่าเฉลี่ยของข้อมูล 3 ซ้ำ ต่อพื้นที่ขนาด 1 ไร่

ตารางที่ 27 การเปรียบเทียบอัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน (Benefit-Cost-Ratio) ระว่างการปลูกอ้อย ข้าวโพด และมันสำปะหลังในพื้นที่ที่ประสพปัญหาโรคโคนเน่าหัวเน่าทันสำปะหลัง

ต้นทุนการผลิต (บาทต่อไร่)	ชนิดพืช		
	ข้าวโพด	อ้อย	มันสำปะหลัง
ค่าไถเตรียมแปลงและชักร่อง	800	1,140	700
ค่าเมล็ดพันธุ์/พันธุ์	2,000	2,248	500
ค่าปลูก	500	730	500
ค่าปุ๋ย	1,500	2,291	800
ค่าสารกำจัดวัชพืช+ค่าพ่น	250	1,148	350
ค่าสารกำจัดโรคพืช+ค่าพ่น	500	406	350
ค่าให้น้ำ	800	800	800
ค่าแรงงานกำจัดวัชพืช	1,200	1,200	1,200
ค่าเก็บเกี่ยว (กก.ละ1.50 บาท x1500 กก.)	2,700	5690	1000
ต้นทุนรวม	10,250	15,653	6,200
ผลผลิต (กก./ไร่)	1,200	20,000	2,000
รายได้จากการขายผลผลิต	20,400	19,400	4,000
อัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน (Benefit-Cost-Ratio)	2.0	1.2	0.6

ข้าวโพดคิดที่กิโลกรัมละ 17 บาท

อ้อยคิดที่ตันละ 970 บาท

มันสำปะหลังคิดที่กิโลกรัมละ 2 บาท

ตารางที่ 28 วิธีการกำจัดวัชพืชของเกษตรกร และวิธี IPM จังหวัดนครราชสีมา

ช่วงเวลาในการกำจัดวัชพืช (วันหลังปลูก)	วิธีการกำจัดวัชพืช	
	วิธีเกษตรกร	วิธี IPM
1 วัน	พ่นสาร diuron อัตรา 240 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่	พ่นสาร alachlor+flumioxazin อัตรา 240+15 กรัม สารออกฤทธิ์/ไร่
30 วัน	-	-
60 วัน	กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานคน	-
90 วัน	-	-

ตารางที่ 29 ชนิดและความหนาแน่นของวัชพืชที่ระยะ 60 วันหลังปลูกมันสำปะหลังที่จังหวัดนครราชสีมา

ชนิดวัชพืช	จำนวนต้นต่อตารางเมตร	
	วิธีเกษตรกร	วิธี IPM
วัชพืชใบแคบ		
หญ้านกสีชมพู *(Echinochloa colona)*	23±7.93	0
หญ้าตีนนก *(Digitaria sanguinalis*	18±5.09	3±5.92
หญ้าตีนติด *(Brachiaria reptans)*	5±6.33	0
หญ้าปากควาย *(Dactyloctenium aegyptium)*	6±8.87	2±3.91
วัชพืชใบกว้าง		
สาบม่วง *(Praxelis clematidea)*	22±7.48	1±2.5
กระดุมใบ *(Borreria laevis)*	12 ± 11.49	1 ±1.91
ปอวัชพืช *(Corchorus aestuans)*	5±2.44	1±2.33
รวม	91±5.12	8±9.87

ค่าเฉลี่ย ± S.D. คำนวณจากการสุ่มวัชพืช 10 จุด

ตารางที่ 30 การเจริญเติบโตของต้นมันสำปะหลังที่ระยะ 90 วันหลังปลูก และผลผลิตมันสำปะหลังที่ 11 เดือนหลังปลูกจังหวัดนครราชสีมา

การเจริญเติบโต	วิธีเกษตรกร	วิธี IPM
ความสูง (เซนติเมตร)	110.53±1.75	110.12±1.56
ความกว้างทรงพุ่ม (เซนติเมตร)	70.45±3.67	100±2.45
ผลผลิต (ตันต่อไร่)	3.7±0.5	5±0.2

ค่าเฉลี่ย ± S.D. คำนวณจากต้นมันสำปะหลัง 50 ต้น

ตารางที่ 31 ต้นทุนในการผลิตมันสำปะหลังแปลงทดสอบเทคโนโลยีการจัดการปัญหาวัชพืชฤดูเดียวชนิดใบแคบและใบกว้าง ในแปลงเกษตรกร จ.นครราชสีมา

ระยะการเจริญเติบโต	การดำเนินการ	ต้นทุนบาทต่อไร่	
		วิธีเกษตรกร	IPM
0 วัน	ค่าไถเตรียมแปลงและใส่สารปรับปรุงดิน (โดโลไมท์)	800	800
0 วัน	ค่าปุ๋ยรองพื้น 15-15-15	690	690
0 วัน	ค่าสารแช่ท่อนพันธุ์ imidacloprid	160	160
1 วัน	ค่าสาร alachlor+ flumioxazin+ค่าพ่น	-	350
1 วัน	ค่าสาร diuron+ค่าพ่น	250	
60 วัน	กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานคน	1,200	
12 เดือน	ค่าเก็บเกี่ยวผลผลิต	1,200	1,200
รวมต้นทุนการผลิต (บาทต่อไร่)		4,300	3,200
รายได้จากการขายผลผลิต (บาทต่อไร่)		7,400	10,000
อัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุนของแต่ละพันธุ์ (Benefit-Cost-Ratio)		1.7	3.1

*รายได้จากการขายผลผลิตคิดที่ ราคามันสำปะหลังกิโลกรัมละ 2 บาท

ตารางที่ 32 เปรียบเทียบเทียบกรรมวิธีการกำจัดวัชพืชของเกษตรกร และแปลงทดสอบ ที่จังหวัดชัยภูมิ

ช่วงเวลาในการกำจัดวัชพืช (วันหลังปลูก)	วิธีการกำจัดวัชพืช	
	วิธีเกษตรกร	วิธี IPM
0 วัน	-	glyphosate + 2,4-D อัตรา 480+120 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่
1 วัน	-	พ่นสาร alachlor+flumioxazin อัตรา 240+15 กรัม สารออกฤทธิ์/ไร่
30 วัน	พ่นสาร paraquat อัตรา 120 กรัม สารออกฤทธิ์/ไร่	-
60 วัน	พ่นสาร paraquat อัตรา 120 กรัม สารออกฤทธิ์/ไร่ ร่วมกับใช้แรงงานคน	-
90 วัน	พ่นสาร glufosinate อัตรา 150 กรัม สารอออกฤทธิ์/ไร่ ร่วมกับใช้แรงคน	-

ตารางที่ 33 ชนิดและความหนาแน่นของวัชพืชที่ระยะ 30, 60 และ 90 วันหลังปลูกมันสำปะหลังที่จังหวัดชัยภูมิ

ชนิดวัชพืช	จำนวนต้นต่อตารางเมตร					
	30 วันหลังปลูก		60 วันหลังปลูก		90 วันหลังปลูก	
	วิธีเกษตรกร	วิธี IPM	วิธีเกษตรกร	วิธี IPM	วิธีเกษตรกร	วิธี IPM
วัชพืชใบแคบ						
หญ้าปากควาย *(Dactyloctenium aegyptium)*	22±4.76	0	6±3.16	0	12±2.16	0
หญ้าตีนติด *(Brachiaria reptans)*	32±8.25	0	0	0	0	0
หญ้านกสีชมพู *(Echinochloa colona)*	24± 4.21	0	0	0	0	0
วัชพืชใบกว้าง						
สาบม่วง *(Praxelis clematidea)*	44±12.30	0	32±11.6	0	44±8.06	10±12.34
ผักปราบไร่ *(Commelina benghalensis)*	3±10.21	0	10±10.17	4 ±8.19	6±9.32	4±7.23
วัชพืชเถาเลื้อย						
ตดหมูตดหมา *(Paederia linearis)*	5±4.61	0	5±4.61	0	4±10.76	
รวม	130±3.12	0	53±4.78	4±8.19	62±3.12	14±6.16

ตารางที่ 34 การเจริญเติบโตที่ 90 วันหลังปลูกและผลผลิตของต้นมันสำปะหลังที่ 11 เดือนหลังปลูก จังหวัดชัยภูมิ

การเจริญเติบโต	วิธีเกษตรกร	วิธี IPM
ความสูง (เซนติเมตร)	109.53 ±0.23	110.42±1.13
ความกว้างทรงพุ่ม (เซนติเมตร)	103.12 ±2.09	104 ±2.87
ผลผลิต (ตันต่อไร่)	3±0.4	4.2±0.3

ค่าเฉลี่ย ± S.D. คำนวณจากต้นมันสำปะหลัง 50 ต้น

ตารางที่ 35 การเจริญเติบโตที่ 90 วันหลังปลูกและผลผลิตของต้นมันสำปะหลังที่ 11 เดือนหลังปลูก จังหวัดชัยภูมิ

ระยะการเจริญเติบโต	การดำเนินการ	ต้นทุนบาทต่อไร่	
		วิธีเกษตรกร	IPM
0 วัน	ค่าสาร glyphosate + 2,4-D+ค่าพ่น	-	480
0 วัน	ค่าไถเตรียมแปลงและใส่สารปรับปรุงดิน (โดโลไมท์)	800	800
0 วัน	ค่าปุ๋ยรองพื้น 15-15-15	690	690
0 วัน	ค่าสารแช่ท่อนพันธุ์ imidacloprid	160	160
1 วัน	ค่าสาร alachlor+ flumioxazin+ค่าพ่น	-	350
30 วัน	ค่าสาร diuron+ค่าพ่น	250	-
60 วัน	ค่าสาร paraquat+กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานคน	800	-
90 วัน	ค่าสาร glufosinate-ammonium+	900	-
12 เดือน	ค่าเก็บเกี่ยวผลผลิต	1,200	1,200
รวมต้นทุนการผลิต (บาทต่อไร่)		4,800	3,680
รายได้จากการขายผลผลิต (บาทต่อไร่)		6,000	8,400
อัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุนของแต่ละพันธุ์ (Benefit-Cost-Ratio)		1.3	2.3

ตารางที่ 36 จำนวนเกษตรกรที่เข้าร่วมการฝึกอบรม เทคโนโลยีการป้องกันกำจัดโรคโคนเน่าหัวเน่าในมันสำปะหลัง ปีเพาะปลูก 2558/59

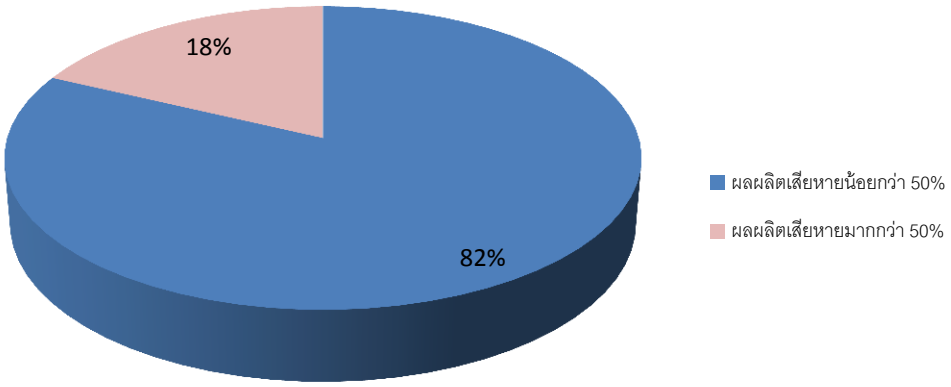
สถานที่	จำนวนเกษตรกร (ราย)	เปอร์เซ็นต์
อ.น้ำยืน จ.อุบลราชธานี	29	19.3
อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา	51	34.0
อ.หนองบุญมาก จ.นครราชสีมา	25	16.7
อ.ครบุรี จ.นครราชสีมา	15	10.0
อ.โชคชัย จ.นครราชสีมา	15	10.0
อ.เสิงสาง จ.นครราชสีมา	15	10.0
รวม	150	100.0

ตารางที่ 37 พื้นที่ถือครองที่ดินของเกษตรกรปลูกมันสำปะหลัง จากการสอบถามเกษตรกร จำนวน 150 ราย ปีเพาะปลูก 2558/59

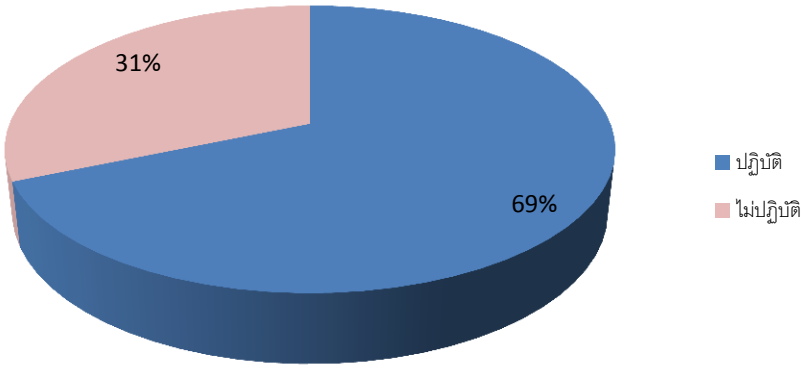
พื้นที่ปลูก (ไร่)	จำนวนเกษตรกร (ราย)	เปอร์เซ็นต์
<10	36	24.0
11-30	83	55.3
31-50	21	14.0
>50	10	6.7
รวม	150	100.0

ตารางที่ 38 การเปลี่ยนพืชปลูกในแปลงที่ประสบปัญหาโรคโคนเน่าหัวเน่ามันสำปะหลัง จากการสอบถามเกษตรกรจำนวน 150 ราย ปีเพาะปลูก 2558/59

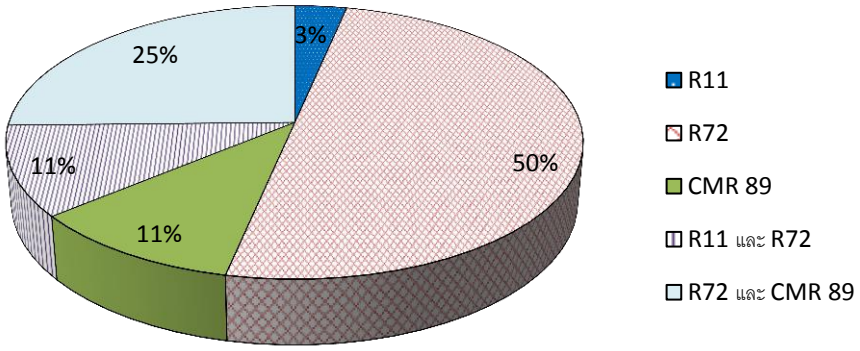
พืชที่ปลูก	จำนวนเกษตรกร (ราย)	เปอร์เซ็นต์
มันสำปะหลัง	110	73
ข้าวโพด	25	17
อ้อย	5	3
แก้วมังกร	1	1
มะเขือ	3	2
มันเทศ	3	2
หอมแดง	3	2
รวม	150	100



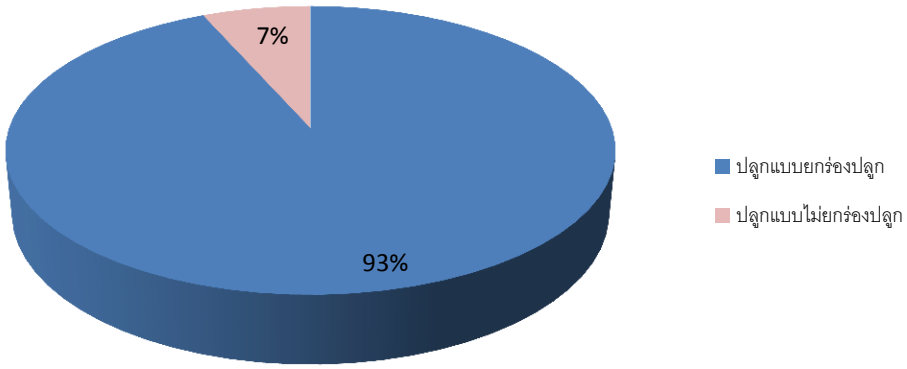
ภาพที่ 7 ความรุนแรงในการระบาดของโรคโคนเน่าหัวเน่ามันสำปะหลัง จากการสอบถามเกษตรกร จำนวน 150 ราย ปีเพาะปลูก 2558/59



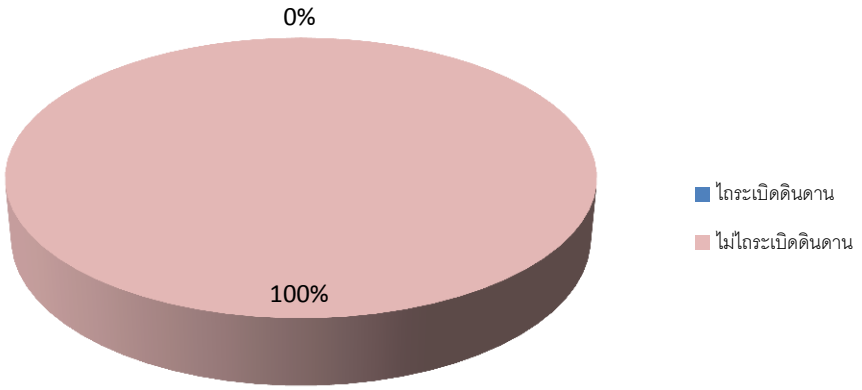
ภาพที่ 8 การใช้พันธุ์ทนทานเพื่อแก้ปัญหาโรคโคนเน่าหัวเน่ามันสำปะหลัง จากการสอบถามเกษตรกรจำนวน 150 ราย ปีเพาะปลูก 2558/59



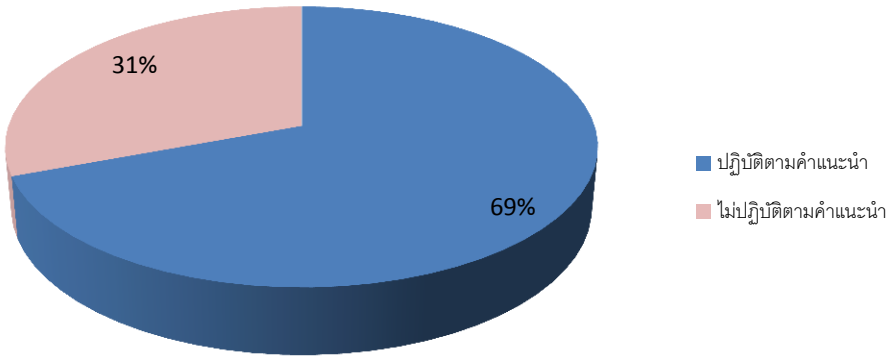
ภาพที่ 9 พันธุ์มันสำปะหลังที่นิยมปลูก จากการสอบถามเกษตรกรจำนวน 150 ราย ปีเพาะปลูก 2558/59



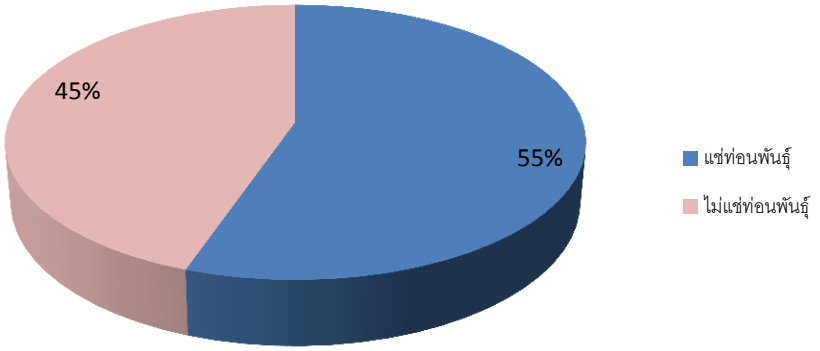
ภาพที่ 10 วิธีการเตรียมแปลงปลูกมันสำปะหลังของ จากการสอบถามเกษตรกร จำนวน 150 ราย ปีเพาะปลูก 2558/59



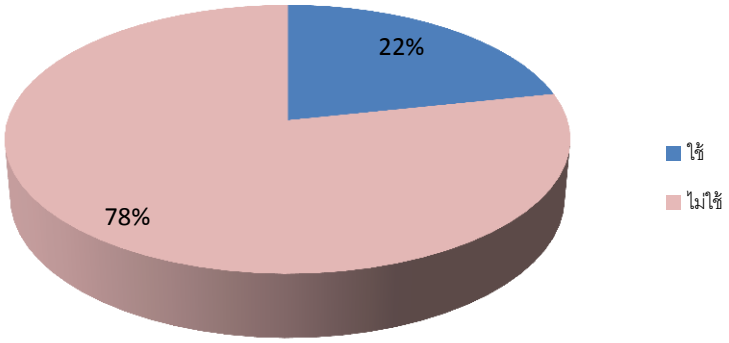
ภาพที่ 11 การไถระเบิดดินดานเพื่อแก้ปัญหาโรคโคนเน่าหัวเน่าจากการสอบถามเกษตรกร จำนวน 150 ราย ปีเพาะปลูก 2558/59



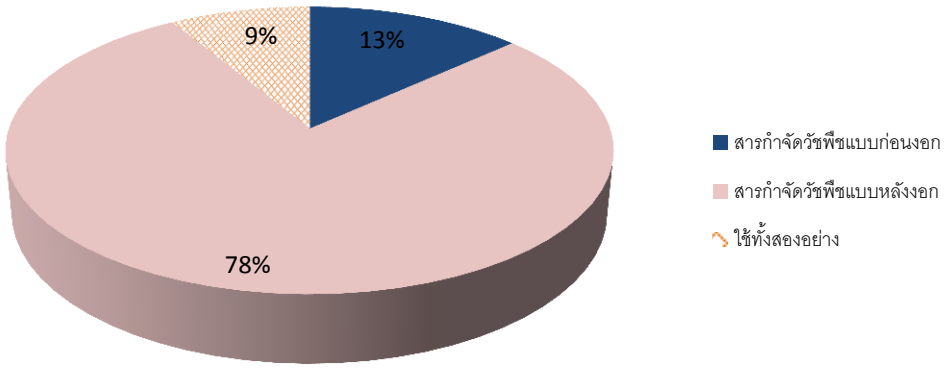
ภาพที่ 12 การใช้ระยะปลูกมันสำปะหลังตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร จากการสอบถามเกษตรกร จำนวน 150 ราย ปีเพาะปลูก 2558/59



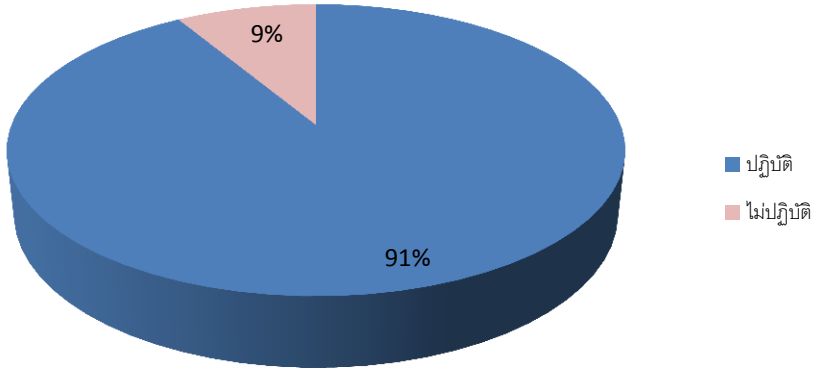
ภาพที่ 13 การแช่ท่อนพันธุ์มันสำปะหลังด้วยสารป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้ง จากการสอบถามเกษตรกร จำนวน 150 ราย ปีเพาะปลูก 2558/59



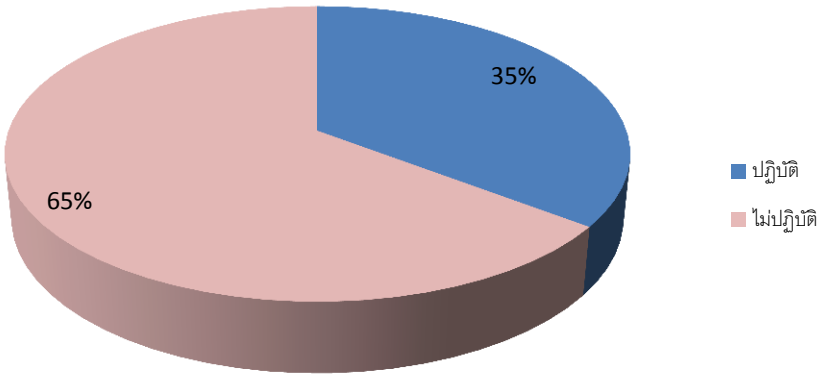
ภาพที่ 14 การใช้สารกำจัดวัชพืชแบบก่อนงอก แทนการใช้แรงงานของ จากการสอบถามเกษตรกร จำนวน 150 ราย ปีเพาะปลูก 2558/59



ภาพที่ 15 ชนิดของสารกำจัดวัชพืชที่ใช้ในแปลงปลูกมันสำปะหลัง จากการสอบถามเกษตรกรจำนวน 150 ราย ปีเพาะปลูก 2558/59



ภาพที่ 16 การปฏิบัติของเกษตรกรเมื่อพบต้นแสดงอาการเหี่ยว เหลือง เน่า แล้วกำจัดออกนอกแปลง จากการสอบถามจำนวน 150 ราย ปีเพาะปลูก 2558/59



ภาพที่ 17 การใช้สาร fosetyl aluminium ฉีดพ่นเมื่อพบต้นมันสำปะหลังแสดงอาการเน่า จากการสอบถามเกษตรกร จำนวน 150 ราย ปีเพาะปลูก 2558/59

การจัดการแมลงหวี่ขาวและโรครากเน่า-โคนเน่าแบบผสมผสานสำหรับต้นคริสต์มาส

Control Whitefly and Stem and Root Rot by Integrated Pests Management for Poinsettia

สัญญาณี ศรีคชา[1/] กรกต ดำรักษ์[1/] อมรรัชฏ์ คิดใจเดียว[2/] ยุพาพร ภาพันธ์[3/]

[1/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[3/]ศูนย์วิจัยพืชสวนเลย สถาบันวิจัยพืชสวน

บทคัดย่อ

การจัดการแมลงหวี่ขาวและโรครากเน่า-โคนเน่าแบบผสมผสานสำหรับต้นคริสต์มาส มีสองการทดลอง คือ การคัดเลือกสารเคมีในการป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวสำหรับต้นคริสต์มาส ดำเนินการทดลอง 2 แปลง ระหว่างเดือนมกราคม - กุมภาพันธ์ 2558 ที่ตำบลสานตมและตำบลหนองบัว อำเภอภูเรือ จังหวัดเลย วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ 8 กรรมวิธี ดังนี้ กรรมวิธีที่ 1 พ่นสาร dinotefuran 10% SL อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่นสาร thiamethoxam 25% WG อัตรา 5 กรัม/น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 3 พ่นสาร imidacloprid 70% WP อัตรา 5 กรัม/น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 4 พ่นสาร buprofezin 40% SC อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 5 พ่นสาร thiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7% ZC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 6 พ่นสาร spiromesifen 24% SC อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 7 พ่นสาร fipronil 5%SC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร (สารเปรียบเทียบ) และกรรมวิธีที่ 8 ไม่พ่นสาร พบว่าสาร fipronil 5%SC (กลุ่ม 2B) อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวยาสูบ รองลงมา คือ สาร spiromesifen 24% SC (กลุ่ม 23) อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร สาร buprofezin 40% SC (กลุ่ม 16) อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร สารthiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7% ZC (กลุ่ม 4A และ 3A) อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร และสาร imidacloprid 70% WP (กลุ่ม 4B) อัตรา 5 กรัม/น้ำ 20 ลิตร โดยควรพ่นสารติดต่อกันอย่างน้อย 2 ครั้ง และพ่นห่างกัน 7 วัน

การจัดการแมลงหวี่ขาวและโรครากเน่า-โคนเน่าแบบผสมผสานสำหรับต้นคริสต์มาส ดำเนินการทดลองในแปลงเกษตรกร 6 ราย ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ - กันยายน 2559 เกษตรกรแต่ละรายทำการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างวิธีเกษตรกร (Farmer) คือปฏิบัติดูแลตามวิธีเกษตรกรแบบเดิมกับวิธีการจัดการแมลงหวี่ขาวและโรครากเน่า-โคนเน่าแบบผสมผสาน (IPM) ประกอบด้วย*การอบวัสดุปลูก*ด้วย ยูเรีย 700 กรัม : ปูนขาว 7,000 กรัม ต่อวัสดุปลูก/ดิน 1 ลบ.ม. *การเลือกกิ่งพันธุ์*ที่ปราศจากโรค Phytophthora แอบแฝง และเลือกปักชำโดยใช้กิ่งพันธุ์ที่ไม่แก่หรืออ่อนเกินไป *การวางถุงปลูก*

รหัสการทดลอง 00-00-58-38-00-00-01-58

ต้นคริสต์มาสมีการวางถุงปลูกสูงกว่าระดับพื้นดิน *การดูแลจัดการแมลงหวี่ขาว*ระหว่างการปลูกติดกับดักกาวเหนียวสีเหลืองในแปลงปลูก อัตรา 5 กับดัก และทำการเปลี่ยนกับดักทุก 30 วัน

สำรวจประชากรของแมลงหวี่ขาวทั้งบนต้นและในกับดักตลอดการปลูกต้นคริสต์มาส สัปดาห์ละครั้ง ถ้าพบแมลงหวี่ขาวเฉลี่ย 3 ตัวต่อกับดัก หรือบนต้นสำรวจ 50 ต้น ถ้าพบแมลงหวี่ขาว 10 ต้น ให้พ่นสาร fipronil 5%SC (กลุ่ม 2B) อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร หรือสาร spiromesifen 24% SC (กลุ่ม 23) อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร หรือสาร buprofezin 40% SC (กลุ่ม 16) อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร หรือสาร thiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7% ZC (กลุ่ม 4A และ 3A) อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร หรือสาร imidacloprid 70% WP (กลุ่ม 4B) อัตรา 5 กรัม/น้ำ 20 ลิตร โดยเลือกสารชนิดใดชนิดหนึ่ง และควรใช้สารติดต่อกันอย่างน้อย 2 ครั้ง พ่นห่างกัน 7 วัน *การดูแลจัดการโรครากเน่า-โคนเน่า*ระหว่างการปลูก พ่นเชื้อ *Trichoderma harzianum* 10^8 สปอร์/มิลลิลิตร ในแปลงปลูกเดือนละครั้ง สำรวจโรครากเน่า-โรคเน่าสัปดาห์ละครั้ง สำรวจ 100 ต้น ถ้าพบต้นเป็นโรค 5 ต้น ให้พ่น สารfosetyl-aluminium 80% WP อัตรา 50 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร พบว่าวิธีการจัดการแมลงหวี่ขาวและโรครากเน่า-โคนเน่าแบบผสมผสาน (IPM) มีเปอร์เซ็นต์การตายของต้นคริสต์มาสน้อยกว่าวิธีเกษตรกร (Farmer) ในทุกรายที่ทำการทดลอง ผลตอบแทนต่อการลงทุน พบว่าส่วนใหญ่วิธีการจัดการแมลงหวี่ขาวและโรครากเน่า-โคนเน่าแบบผสมผสาน (IPM) ให้ผลตอบแทนต่อการลงทุนสูงกว่าวิธีเกษตรกร (Farmer)

คำหลัก : การจัดการ แมลงหวี่ขาว โรครากเน่า-โคนเน่า

คำนำ

เนื่องได้รับหนังสือแจ้งจากสำนักงานเกษตรจังหวัดเลย ที่ ลย 0009/13577 ลงวันที่ 12 กันยายน 2557 ว่าเกษตรกรกลุ่มผู้ปลูกคริสต์มาสที่อำเภอภูเรือ ประสบปัญหาการระบาดของศัตรูคริสต์มาสอย่างหนัก โดยเฉพาะอย่างยิ่งแมลงหวี่ขาว และโรครากเน่า-โคนเน่าเข้าทำความเสียหายให้กับผลผลิตค่อนข้างมากและเป็นวงกว้าง จึงขอสนับสนุนนักวิชาการและผู้เชี่ยวชาญที่มีความชำนาญในเรื่องการป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาว และโรครากเน่า-โคนเน่า จากกรมวิชาการเกษตร เพื่อเข้าช่วยแก้ไขปัญหาดังกล่าวให้แก่กลุ่มเกษตรกรผู้ปลูกคริสต์มาส และจากการเข้าสำรวจพื้นที่และรวบรวมปัญหาพบว่า เกษตรกรกลุ่มผู้ปลูกคริสต์มาสในอำเภอภูเรือมีทั้งสิ้น 130 ราย แหล่งผลิตอยู่ใน 3 ตำบล คือ ตำบลสานตม มีเกษตรกร 87 ราย ตำบลหนองบัว มีเกษตรกร 35 ราย และตำบลร่องจิก มีเกษตรกร 8 ราย โดยในแต่ละปีเกษตรกรสามารถทำรายได้จากการจำหน่ายต้นคริสต์มาสไม่ต่ำกว่า 200 ล้านบาท แต่จากปัญหาโรครากเน่า-โคนเน่าจากเชื้อ *Phytophthora* และแมลงหวี่ขาวระบาดสะสมอย่างต่อเนื่องมา 2-3 ปี พบว่าในปีการผลิต 2557/2558 เกษตรกรมีการผลิตต้นคริสต์มาสรวม 1,953,700 ต้น พบต้นที่เสียหายจากการเข้าทำลายของแมลงหวี่ขาว 32,333 ต้น ต้นที่เสียหายจากโรครากเน่า-โคนเน่า 394,145 ต้น คิดเป็นมูลค่าความเสียหายจากศัตรูพืชกว่า 10,661,950 บาท ผลผลิตในปีการ

ผลิต 2557/2558 คาดว่าจะจำหน่ายได้ประมาณ 1,500,000 ต้น คิดเป็นมูลค่า 37.5 ล้านบาท (สำนักงานเกษตรจังหวัดเลย, 2557) ซึ่งจะเห็นได้ว่าเกษตรกรสูญเสียรายได้เป็นจำนวนมาก

ต้นคริสต์มาส (Poinsettia: *Euphorbia pulcheeeima* Wild.) เป็นพืชที่อยู่ในตระกูลเดียวกับโกสนและโป๊ยเซียน จัดอยู่ในตระกูล Euphobiaceae มีถิ่นกำเนิดในแถบอเมริกาใต้ แถวเม็กซิโก และกัวเตมาลา ต้นคริสต์มาสจัดเป็นไม้พุ่มสูง ขนาด 1-3 เมตร แตกกิ่งค่อนข้างชี้ตั้งขึ้นเป็นพุ่มแน่น ลำต้นอ่อนมีสีเขียวเมื่อแก่จะเป็นสีน้ำตาล ใบคล้ายรูปไข่ปลายแหลม ขอบใบหยัก 2-3 หยัก ดอกสีเหลืองออกเป็นข่อที่ยอดโดยมีดอกตัวผู้และดอกตัวเมียอยู่บนช่อเดียวกัน และมีใบประดับสีแดงอยู่โดยรอบ เป็นพรรณไม้ที่ปลูกในที่มีแสงแดดกึ่งรม ปลูกเป็นไม้ประดับได้ทั้งกลางแจ้งและปลูกเป็นไม้กระถางภายในอาคาร ปลูกได้ดีในดินร่วนซุย ประเทศไทยเริ่มนิยมใช้ต้นคริสต์มาสในการเป็นไม้ประดับเมื่อ 5-6 ปีที่แล้ว โดยมีแหล่งเพาะปลูกอยู่ในแถบภาคอีสานและภาคเหนือ โดยเฉพาะที่อำเภอภูเรือ จังหวัดเลย จากการที่ลมหนาวจะพัดเข้าทางภาคอีสานก่อนภาคเหนือ ทำให้ต้นคริสต์มาสจากภาคอีสานจะสวยและสมบูรณ์ก่อนต้นคริสต์มาสที่ปลูกจากภาคเหนือ จึงสามารถส่งขายช่วงก่อนคริสต์มาสและปีใหม่ได้ทัน ต้นคริสต์มาสมีการนำเข้ามาปลูกและขยายพันธุ์ในประเทศไทยไม่นาน ปัญหาเกี่ยวกับโรคและแมลงมักไม่ค่อยพบมากนัก จากการตรวจเอกสารไม่ปรากฏผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันกำจัดโรคและแมลงศัตรูคริสต์มาสในประเทศไทยเลย และเพื่อไม่ให้อาชีพการปลูกคริสต์มาสสูญหายไปจากอำเภอภูเรือจังหวัดเลย จึงมีความจำเป็นเร่งด่วนที่ต้องแก้ไขปัญหาดังกล่าว ดังนั้นจึงทำการศึกษาหาวิธีการป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาว และโรครากเน่า-โคนเน่าในเบื้องต้น และนำมาประยุกต์เข้าด้วยกันเป็น การจัดการแมลงหวี่ขาวและโรครากเน่า-โคนเน่าแบบผสมผสานสำหรับต้นคริสต์มาส

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สารเคมีฆ่าแมลง dinotefuran 10% SL, thiamethoxam 25% WG, imidacloprid 70% WP, buprofezin 40% SC, thiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7% ZC, fipronil 5%SC และ spiromesifen 24 % SC
2. เชื้อ *Trichoderma harzianum* ในรูปเชื้อสด (กรมส่งเสริมการเกษตร) และเชื้อการค้า (มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์)
3. เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพานหลัง
4. ต้นกล้าคริสต์มาส
5. วัสดุปลูก เช่น ถุงพลาสติก ดิน ขี้เถ้าแกลบ แกลบ
6. ผ้าพสาติกสำหรับคลุมวัสดุปลูกสีขาว และสีดำ กระดาษกาวแบบแถบผ้า คลิปหนีบกระดาษ
7. เสาไม้ยูคา ตาแกรงลวดปูพื้น ตะปู ค้อน เลื่อย ถุงมือ

8. อุปกรณ์ตวงสารเคมี ถังน้ำ ป้ายแสดง

วิธีการ

การทดลองที่ 1 การคัดเลือกสารเคมีในการป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวสำหรับต้นคริสต์มาส โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ 8 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 พ่นสาร dinotefuran 10% SL อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 2 พ่นสาร thiamethoxam 25% WG อัตรา 5 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 3 พ่นสาร imidacloprid 70% WP อัตรา 5 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 4 พ่นสาร buprofezin 40% SC อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 5 พ่นสาร thiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7% ZC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 6 พ่นสาร spiromesifen 24% SC อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 7 พ่นสาร fipronil 5%SC 10 มล./น้ำ 20 ลิตร (สารเปรียบเทียบ)
กรรมวิธีที่ 8 ไม่พ่นสาร

วางถุง/กระถางปลูกต้นคริสต์มาสเป็นแปลงย่อย แปลงย่อยละ 35 ถุง/กระถาง แบบ 5 แถว แถวละ 7 ต้น ระยะห่างระหว่างต้น 30 เซนติเมตร ระยะห่างระหว่างแถว 30 เซนติเมตร ระยะห่างระหว่างแปลงย่อย 1 เมตร สุ่มตรวจนับจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบ 15 ต้น ต้นละ 10 ใบ จากแถวกลาง ไม่นับแถวริม พ่นสารตามกรรมวิธีต่างๆ เมื่อพบการระบาดของตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบมากกว่า 2 ตัว/ใบ นับจำนวนตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบก่อนพ่นสาร และหลังพ่นสารทุก 3, 5 และ 7 วัน ทุกครั้งที่พ่นสารทดลอง บันทึกจำนวนตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบที่พบในแต่ละกรรมวิธีแล้วนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ กรณีข้อมูลแมลงหวี่ขาวยาสูบก่อนพ่นสารในกรรมวิธีต่างๆ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ วิเคราะห์ข้อมูลหลังพ่นสารด้วยวิธี Analysis of Variance กรณีข้อมูลแมลงหวี่ขาวยาสูบก่อนพ่นสารในกรรมวิธีต่างๆ แตกต่างกันทางสถิติ วิเคราะห์ข้อมูลหลังพ่นสารด้วยวิธี Analaysis of Covariance จากนั้นเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของแต่ละกรรมวิธีโดยวิธี DMRT คำนวณหาต้นทุนการใช้สาร และบันทึกการเป็นพิษของสารป้องกันกำจัดแมลงต่อพืช (Phytotoxic)

การทดลอง 2 การจัดการแมลงหวี่ขาวและโรคราก่เน่า-โคนเน่าแบบผสมผสานสำหรับต้นคริสต์มาส ดำเนินการ 6 แปลงทดลอง คัดเลือกเกษตรกรในตำบลสานตม 3 ราย และ ตำบลหนองบัว 3 ราย ดังนี้

แปลงที่ 1 คุณเสถียร ธัญญารักษ์ บ้านแสนสุข ต.สานตม อ.ภูเรือ จ.เลย
แปลงที่ 2 คุณถวิล ศรีชมษร บ้านแสนสุข ต.สานตม อ.ภูเรือ จ.เลย
แปลงที่ 3 คุณชลธิชา เงินประมวล บ้านหนองแซง ต.สานตม อ.ภูเรือ จ.เลย
แปลงที่ 4 คุณทวี วันทองสุข บ้านแก่งไฮ ต.หนองบัว อ.ภูเรือ จ.เลย
แปลงที่ 5 คุณทองไผ่ โสประดิษฐ์ บ้านแก่งไฮ ต.หนองบัว อ.ภูเรือ จ.เลย
แปลงที่ 6 คุณตองเตย ศิริวงษ์ไชย บ้านแก่งไฮ ต.หนองบัว อ.ภูเรือ จ.เลย

ในเกษตรกรแต่ละรายดำเนินการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างวิธีที่เกษตรกรปฏิบัติแบบเดิม (Farmer) กับวิธีการจัดการแมลงหวี่ขาวและโรครากเน่า-โคนเน่าแบบผสมผสาน (IPM) ดังนี้

1 เกษตรกรทุกรายทำการอบวัสดุปลูกเพื่อกำจัดเชื้อโรคด้วย ยูเรีย 700 กรัม : ปูนขาว 7,000 กรัม ต่อวัสดุปลูก/ดิน 1 ลบ.ม. คลุกเคล้ายูเรียกับปูนขาวตามสูตรให้เข้ากันเสร็จแล้วกองวัสดุปลูกครึ่งหนึ่งแล้วโรยยูเรียกับปูนขาวที่คลุกเคล้ากันดีบนกองวัสดุปลูกให้ทั่ว จากนั้นนำกองวัสดุปลูกอีกครึ่งหนึ่งมาปิดทับแล้วราดน้ำให้ชุ่มเสร็จแล้วคลุมปิดกองวัสดุปลูกด้วยแผ่นพลาสติก โดยปิดแผ่นพลาสติกรอบกองให้สนิท ทิ้งไว้ 1 สัปดาห์ จึงเปิดแผ่นพลาสติกออก รออีก 2-3 วัน จึงนำวัสดุปลูกไปใช้ปลูกต้นคริสต์มาส (Figure 1) ข้อควรระวังถ้าพบว่ายูเรียกับปูนขาวจับกันเป็นก้อนในกองวัสดุปลูกให้นำออกมาทิ้ง อย่านำไปทุบและคลุกกลับเข้าไปในกองวัสดุปลูก เพราะจะทำให้รากพืชได้รับความเสียหายและทำให้ต้นตายได้

2 การเลือกกิ่งพันธุ์ในการปลูกต้องเลือกกิ่งพันธุ์ที่ปราศจากโรค Phytophthora แอบแฝง และต้องไม่เลือกกิ่งที่แก่หรืออ่อนเกินไป

3 การวางถุงปลูกต้นคริสต์มาส วิธีแบบผสมผสาน (IPM) วางถุงปลูกสูงกว่าระดับพื้นดิน 2 วิธี คือวางถุงปลูกสูงกว่าพื้นดิน 15 เซนติเมตร (วางบนกระถาง) และวางถุงปลูกสูงกว่าพื้นดิน 75 เซนติเมตร (วางบนแคร่) ส่วนวิธีเกษตรกรวางถุงปลูกที่ระดับพื้นดิน (เกษตรกรปฏิบัติเดิม)

4 การดูแลจัดการแมลงหวี่ขาวระหว่างการปลูก วิธีแบบผสมผสาน (IPM) ติดตั้งกับดักกาวเหนียวสีเหลืองในแปลงปลูก อัตรา 5 กับดักต่อแปลงปลูก โดยเปลี่ยนกับดักทุก 30 วัน ทำการสำรวจประชากรของแมลงหวี่ขาวทั้งบนต้นและในกับดักตลอดการปลูกต้นคริสต์มาสสัปดาห์ละครั้ง บันทึกข้อมูลปริมาณแมลงหวี่ขาวที่พบบนกับดัก ถ้าพบแมลงหวี่ขาวเฉลี่ย 3 ตัวต่อกับดัก หรือบนต้นทำการสำรวจ 50 ต้น ถ้าพบแมลงหวี่ขาว 10 ต้น ให้พ่นสาร fipronil 5%SC (กลุ่ม 2B) อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร หรือสาร spiromesifen 24% SC (กลุ่ม 23) อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร หรือสาร buprofezin 40% SC (กลุ่ม 16) อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร หรือสาร thiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7% ZC (กลุ่ม 4A และ 3A) อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร หรือสาร imidacloprid 70% WP (กลุ่ม 4B) อัตรา 5 กรัม/น้ำ 20 ลิตร โดยเลือกสารชนิดใดชนิดหนึ่งและควรใช้สารติดต่อกันอย่างน้อย 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน ส่วนวิธีเกษตรกรปฏิบัติดูแลตามวิธีเกษตรกร

5 การดูแลจัดการโรครากเน่า-โคนเน่าระหว่างการปลูก วิธีแบบผสมผสาน (IPM) พ่นเชื้อ *Trichoderma harzianum* 10^8 สปอร์/มิลลิลิตร ในแปลงปลูกเดือนละครั้ง ทำการสำรวจโรครากเน่า-โรคเน่าอาทิตย์ละครั้งแล้วบันทึกข้อมูลจำนวนต้นที่เป็นโรค สำรวจ 100 ต้น ถ้าพบต้นเป็นโรค 5 ต้น ให้พ่น อาลีเอท (fosetyl-aluminium 80% WP) อัตรา 50 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร ส่วนวิธีเกษตรกรปฏิบัติดูแลตามวิธีเกษตรกร

พบต้นเป็นโรค 5 % ให้พ่น อาลีเอท (fosetyl-aluminium 80% WP) อัตรา 50 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกข้อมูลปริมาณแมลงหวี่ขาวที่พบทั้งบนต้นและกับดัก

- บันทึกข้อมูลโรคที่พบ
- บันทึกชนิด ปริมาณและจำนวนครั้งในการใช้สารเคมี ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชทุกชนิด
- บันทึกค่าใช้จ่ายทุกชนิดระหว่างการเพาะปลูก
- บันทึกปริมาณผลผลิตที่ได้ สถานที่จำหน่าย รายได้จากการขายผลผลิต

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2557 – กันยายน 2559

ห้องปฏิบัติการกลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

แปลงคริสต์มาสเกษตรกรตำบลสานตม อำเภอภูเรือ จังหวัดเลย จำนวน 4 แปลง

แปลงคริสต์มาสเกษตรกรตำบลหนองบัว อำเภอภูเรือ จังหวัดเลย จำนวน 4 แปลง

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 การคัดเลือกสารเคมีในการป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวสำหรับต้นคริสต์มาส

แปลงทดลองที่ 1 (Table 1) ดำเนินการที่ตำบลสานตม อำเภอภูเรือ จังหวัดเลย วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ 8 กรรมวิธี ดังนี้ กรรมวิธีที่ 1 พ่นสาร dinotefuran 10% SL อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่นสาร thiamethoxam 25% WG อัตรา 5 กรัม/น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 3 พ่นสาร imidacloprid 70% WP อัตรา 5 กรัม/น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 4 พ่นสาร buprofezin 40% SC อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 5 พ่นสาร thiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7% ZC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 6 พ่นสาร spiromesifen 24% SC อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 7 พ่นสาร fipronil 5%SC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร (สารเปรียบเทียบ) และกรรมวิธีที่ 8 ไม่พ่นสาร ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนมกราคม - กุมภาพันธ์ 2558 ก่อนพ่นสารมีปริมาณแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 13.84-19.06 ตัว/ใบ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในทุกกรรมวิธี ดังนั้นจึงวิเคราะห์ข้อมูลหลังพ่นสารครั้งที่ 1 ที่ 3, 5 และ 7 วัน ด้วยวิธี Analysis of variance พบว่าที่ ***3 วันหลังพ่นสารครั้งที่ 1*** กรรมวิธีที่ 5 พ่นสาร thiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7% ZC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร มีปริมาณแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยน้อยที่สุด คือ 10.65 ตัว/ใบ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 พ่นสาร spiromesifen 24% SC อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 7 พ่นสาร fipronil 5%SC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร (สารเปรียบเทียบ) ซึ่งพบปริมาณแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 11.67 และ 13.04 ตัว/ใบ ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีที่ 8 ไม่พ่นสารมีปริมาณแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยมากที่สุด คือ 21.57 ตัว/ใบ ส่วน***ที่ 5 วันหลังพ่นสารครั้งที่ 1*** กรรมวิธีที่ 7 พ่นสาร fipronil 5%SC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร (สารเปรียบเทียบ) มีปริมาณแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยน้อยที่สุด คือ 12.97 ตัว/ใบ ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 พ่นสาร spiromesifen 24% SC อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 4 พ่นสาร buprofezin 40% SC อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 5 พ่นสาร thiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7% ZC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 1 พ่นสาร dinotefuran 10% SL อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร ที่พบปริมาณแมลงหวี่

ขาวยาสูบเฉลี่ย 13.96, 14.23, 14.45 และ 16.56 ตัว/ใบ ตามลำดับ แต่มีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 8 ไม่พ่นสาร ที่มีปริมาณแมลงหวี่ขาวยาสูบมากที่สุด คือ 20.19 ตัว/ใบ และ***ที่ 7 วันหลังพ่นสารครั้งที่ 1*** พบว่า กรรมวิธีที่ 7 พ่นสาร fipronil 5%SC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร (สารเปรียบเทียบ) มีปริมาณแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยน้อยที่สุด คือ 16.13 ตัว/ใบ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 4 พ่นสาร buprofezin 40% SC อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 6 พ่นสาร spiromesifen 24% SC อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่นสาร thiamethoxam /lambdacyhalothrin 24.7% ZC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร ที่พบปริมาณแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 17.13, 17.54 และ 20.62 ตัว/ใบ ตามลำดับ แต่มีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 8 ไม่พ่นสาร ที่มีปริมาณแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยมากที่สุด คือ 26.43 ตัว/ใบ

ส่วนการวิเคราะห์ข้อมูลที่หลังพ่นสารครั้งที่ 2 ที่ 3, 5 และ 7 วัน ใช้ข้อมูลหลังพ่นสารครั้งที่ 1 ที่ 7 วัน เป็นข้อมูลก่อนพ่นสารครั้งที่ 2 พบว่ามีปริมาณแมลงหวี่ขาวยาสูบแตกต่างกัน จึงทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี Analysis of covariance พบว่า***ที่ 3 วันหลังพ่นสารครั้งที่ 2*** พบว่า กรรมวิธีที่ 7 พ่นสาร fipronil 5%SC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร (สารเปรียบเทียบ) มีปริมาณแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยน้อยที่สุด คือ 16.39 ตัว/ใบ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 พ่นสาร spiromesifen 24% SC อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร พบปริมาณแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 18.81 ตัว/ใบ แต่มีความแตกต่าง ทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 8 ไม่พ่นสาร ที่มีปริมาณแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยมากที่สุด คือ 27.34 ตัว/ใบ ส่วน***ที่ 5 วันหลังพ่นสารครั้งที่ 2*** พบว่าทุกกรรมวิธีที่ใช้สารมีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติ กรรมวิธีที่ 7 พ่นสาร fipronil อัตรา 5%SC 10 มล./น้ำ 20 ลิตร (สารเปรียบเทียบ) พบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยน้อยที่สุด คือ 15.13 ตัว/ใบ รองลงมากรรมวิธีที่ 1 พ่นสาร dinotefuran 10% SL อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 6 พ่นสาร spiromesifen 24% SC อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 5 พ่นสาร thiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7% ZC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 4 พ่นสาร buprofezin 40% SC อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่นสาร thiamethoxam 25% WG อัตรา 5 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 3 พ่นสาร imidacloprid 70% WP อัตรา 5 กรัม/น้ำ 20 ลิตร โดยพบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 16.28, 17.60, 19.53, 20.22, 21.45 และ 21.58 ตัว/ใบ ตามลำดับ แต่มีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 8 ไม่พ่นสาร ที่มีปริมาณแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยมากที่สุด คือ 36.03 ตัว/ใบ และ***ที่ 7 วันหลังพ่นสารครั้งที่ 2*** พบว่า กรรมวิธีที่ 7 พ่นสาร fipronil 5%SC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร (สารเปรียบเทียบ) มีปริมาณแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยน้อยที่สุด คือ 12.29 ตัว/ใบ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 พ่นสาร spiromesifen 24% SC อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร พบปริมาณแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 16.24 ตัว/ใบ แต่มีความแตกต่าง ทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 8 ไม่พ่นสาร ที่มีปริมาณแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยมากที่สุด คือ 25.80 ตัว/ใบ

แปลงทดลองที่ 2 (Table 2) ดำเนินการที่ตำบลหนองบัว อำเภอภูเรือ จังหวัดเลย วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ 8 กรรมวิธี ดังนี้ กรรมวิธีที่ 1 พ่นสาร dinotefuran 10% SL

อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่นสาร thiamethoxam 25% WG อัตรา 5 กรัม/น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 3 พ่นสาร imidacloprid 70% WP อัตรา 5 กรัม/น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 4 พ่นสาร buprofezin 40% SC อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 5 พ่นสาร thiamethoxam/ lambdacyhalothrin 24.7% ZC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 6 พ่นสาร spiromesifen 24% SC อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 7 พ่นสาร fipronil 5%SC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร (สารเปรียบเทียบ) และกรรมวิธีที่ 8 ไม่พ่นสาร ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนมกราคม - กุมภาพันธ์ 2558 ก่อนพ่นสารมีปริมาณแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 6.58-14.27 ตัว/ใบ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติ ดังนั้นจึงวิเคราะห์ข้อมูลหลังพ่นสารครั้งที่ 1 ที่ 3, 5 และ 7 วัน ด้วยวิธี Analysis of covariance พบว่าที่ ***3 วันหลังพ่นสารครั้งที่ 1*** ทุกกรรมวิธีที่ใช้สารมีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 5.87-8.01 ตัว/ใบ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 8 ไม่พ่นสาร ที่มีปริมาณแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยมากที่สุด คือ 12.49 ตัว/ใบ ส่วน***ที่ 5 วันหลังพ่นสารครั้งที่ 1*** พบว่าทุกกรรมวิธีมีปริมาณแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 7.23-13.34 ตัว/ใบ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และ***ที่ 7 วันหลังพ่นสารครั้งที่ 1*** พบว่า กรรมวิธีที่ 6 พ่นสาร spiromesifen 24% SC อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร มีปริมาณแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยน้อยที่สุด คือ 5.08 ตัว/ใบ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 3 พ่นสาร imidacloprid 70% WP อัตรา 5 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 7 พ่นสาร fipronil 5%SC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร (สารเปรียบเทียบ) ที่พบปริมาณแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 7.22 และ 8.32 ตัว/ใบ ตามลำดับ แต่มีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 8 ไม่พ่นสาร ที่มีปริมาณแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยมากที่สุด คือ 17.68 ตัว/ใบ

ส่วนการวิเคราะห์ข้อมูลที่หลังพ่นสารครั้งที่ 2 ที่ 3, 5 และ 7 วัน ใช้ข้อมูลหลังพ่นสารครั้งที่ 1 ที่ 7 วัน เป็นข้อมูลก่อนพ่นสารครั้งที่ 2 พบว่ามีปริมาณแมลงหวี่ขาวยาสูบแตกต่างกัน จึงทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี Analysis of covariance พบว่า***ที่ 3 วันหลังพ่นสารครั้งที่ 2*** ทุกกรรมวิธีมีปริมาณแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 4.09-15.09 ตัว/ใบ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วน***ที่ 5 วันหลังพ่นสารครั้งที่ 2*** พบว่าทุกกรรมวิธีที่ใช้สารมีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 6.64-8.32 ตัว/ใบ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 8 ไม่พ่นสาร ที่มีปริมาณแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยมากที่สุด คือ 12.14 ตัว/ใบ และ***ที่ 7 วันหลังพ่นสารครั้งที่ 2*** พบว่า กรรมวิธีที่ 6 พ่นสาร spiromesifen 24% SC อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร มีปริมาณแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยน้อยที่สุด คือ 4.29 ตัว/ใบ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับทางสถิติกับ กรรมวิธีที่ 4 พ่นสาร buprofezin 40% SC อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 7 พ่นสาร fipronil 5%SC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร (สารเปรียบเทียบ) กรรมวิธีที่ 1 พ่นสาร dinotefuran 10% SL อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่นสาร thiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7% ZC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร พบปริมาณแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 4.67, 5.72, 6.01 และ 6.71 ตัว/ใบ ตามลำดับ แต่มีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 8 ไม่พ่นสาร ที่มีปริมาณแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยมากที่สุด คือ 9.45 ตัว/ใบ

การทดลองที่ 2 การจัดการแมลงหวี่ขาวและโรครากเน่า-โคนเน่าแบบผสมผสานสำหรับต้นคริสต์มาส ดำเนินการทดลองในเกษตรกร 6 ราย ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ - กันยายน 2559 ซึ่งเกษตรกรแต่ละรายทำการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างวิธีเกษตรกร (Farmer) กับวิธีการจัดการแมลงหวี่ขาวและโรครากเน่า-โคนเน่าแบบผสมผสาน (IPM) พบว่าเปอร์เซ็นต์การตายของต้นคริสต์มาสจากโรครากเน่า-โคนเน่า หลังจากอบดิน (เดือนกุมภาพันธ์) จนถึงก่อนการเปลี่ยนถุงปลูกจากถุงขนาด 3 นิ้ว เป็น 6 นิ้ว (เดือนเมษายน) วิธีการจัดการแมลงหวี่ขาวและโรครากเน่า-โคนเน่าแบบผสมผสาน (IPM) มีเปอร์เซ็นต์การตายของต้นคริสต์มาสจากโรครากเน่า-โคนเน่าระหว่าง 0.20-36.92 เฉลี่ย 10.28±13.84 ส่วนวิธีเกษตรกร (Farmer) มีเปอร์เซ็นต์การตายของต้นคริสต์มาสจากโรครากเน่า-โคนเน่าระหว่าง 1.99-46.40 เฉลี่ย 22.17±17.95 โดยในเกษตรกรทุกราย พบว่าวิธีการจัดการแมลงหวี่ขาวและโรครากเน่า-โคนเน่าแบบผสมผสาน (IPM) มีเปอร์เซ็นต์การตายของต้นคริสต์มาสจากโรครากเน่า-โคนเน่าน้อยกว่าวิธีเกษตรกร (Farmer) ในวิธีการจัดการแมลงหวี่ขาวและโรครากเน่า-โคนเน่าแบบผสมผสาน (IPM) ในเกษตรกรรายที่ 5 คุณทองไผ่ โสประดิษฐ์ บ้านแก่งไฮ ต.หนองบัว อ.ภูเรือ จ.เลย ที่พบเปอร์เซ็นต์การตายของต้นคริสต์มาสจากโรครากเน่า-โคนเน่ามากที่สุด คือ 36.92 สาเหตุเนื่องมาจากเกษตรกรเลือกใช้กิ่งปักชำที่อ่อนเกินไป ซึ่งในวิธีเกษตรกร (Farmer) ก็พบเปอร์เซ็นต์การตายของต้นคริสต์มาสจากโรครากเน่า-โคนเน่ามากเช่นกัน คือ 38.32 ดังนั้นจึงเห็นได้ว่าไม่ควรเลือกกิ่งพันธุ์ที่อ่อนเกินไปมาปักชำ ส่วนเปอร์เซ็นต์การตายของต้นคริสต์มาสจากโรครากเน่า-โคนเน่า หลังจากเปลี่ยนถุงปลูกเป็น 6 นิ้ว (เดือนพฤษภาคม) จนถึงก่อนการขยายถุง (เดือนกรกฎาคม) วิธีการจัดการแมลงหวี่ขาวและโรครากเน่า-โคนเน่าแบบผสมผสาน (IPM) มีเปอร์เซ็นต์การตายของต้นคริสต์มาสจากโรครากเน่า-โคนเน่าระหว่าง 0.20-34.00เฉลี่ย 15.15±12.30 ส่วนวิธีเกษตรกร (Farmer) มีเปอร์เซ็นต์การตายของต้นคริสต์มาสจากโรครากเน่า-โคนเน่าระหว่าง 17.97-58.01 เฉลี่ย 40.13±18.02 โดยในเกษตรกรทุกราย พบว่าวิธีการจัดการแมลงหวี่ขาวและโรครากเน่า-โคนเน่าแบบผสมผสาน (IPM) มีเปอร์เซ็นต์การตายของต้นคริสต์มาสจากโรครากเน่า-โคนเน่าน้อยกว่าวิธีเกษตรกร (Farmer) ในวิธีการจัดการแมลงหวี่ขาวและโรครากเน่า-โคนเน่าแบบผสมผสาน (IPM) ในเกษตรกรรายที่ 4 คุณทวี วันทองสุข บ้านแก่งไฮ ต.หนองบัว อ.ภูเรือ จ.เลย ที่พบเปอร์เซ็นต์การตายของต้นคริสต์มาสจากโรครากเน่า-โคนเน่ามากที่สุด คือ 34.00 สาเหตุเนื่องมาจากเกษตรกรใช้กิ่งชำที่มีโรคแอบแฝง ซึ่งในวิธีเกษตรกร (Farmer) ก็พบเปอร์เซ็นต์การตายของต้นคริสต์มาสจากโรครากเน่า-โคนเน่ามากเช่นกัน คือ 58.01 ดังนั้นในการเลือกใช้กิ่งพันธุ์ที่นำมาปักชำ ควรเลือกกิ่งพันธุ์ที่มาจากต้นพ่อแม่พันธุ์ที่ปราศจากเชื้อโรครากเน่า-โคนเน่า และเปอร์เซ็นต์การตายของต้นคริสต์มาสจากโรครากเน่า-โคนเน่า หลังจากการขยายถุง (เดือนสิงหาคม) จนถึงก่อนการจำหน่าย (เดือนกันยายน) วิธีการจัดการแมลงหวี่ขาวและโรครากเน่า-โคนเน่าแบบผสมผสาน (IPM) มีเปอร์เซ็นต์การตายของต้นคริสต์มาสจากโรครากเน่า-โคนเน่าระหว่าง 0.33-43.50 เฉลี่ย 15.18±15.66 ส่วนวิธีเกษตรกร (Farmer) มีเปอร์เซ็นต์การตายของต้นคริสต์มาสจากโรครากเน่า-โคนเน่าระหว่าง 9.38-81.38 เฉลี่ย 46.02±31.79 โดยใน

เกษตรกรทุกราย พบว่าวิธีการจัดการแมลงหวี่ขาวและโรครากเน่า-โคนเน่าแบบผสมผสาน (IPM) มีเปอร์เซ็นต์การตายของต้นคริสต์มาสจากโรครากเน่า-โคนเน่าน้อยกว่าวิธีเกษตรกร (Farmer) (Table 3)

ผลผลิตต้นคริสต์มาส ต้นทุนการผลิต และผลตอบแทนต่อการลงทุน (Table 4) พบว่า *แปลงที่ 1* คุณเสถียร ธัญญารักษ์ วิธีเกษตรกร (Farmer) ให้ผลผลิตมากกว่าวิธีการจัดการแมลงหวี่ขาวและโรครากเน่า-โคนเน่าแบบผสมผสาน (IPM) 75 ต้น มีต้นทุนในการผลิตสูงกว่า 935 บาท และได้ผลผลตอบแทนต่อการลงทุนสูงกว่า คือ 2.52 *แปลงที่ 2* คุณถวิล ศรีชมษร วิธีการจัดการแมลงหวี่ขาวและโรครากเน่า-โคนเน่าแบบผสมผสาน (IPM) ให้ผลผลิตมากกว่า วิธีเกษตรกร (Farmer) 54 ต้น มีต้นทุนในการผลิตต่ำกว่า 575 บาท และได้ผลผลตอบแทนต่อการลงทุนสูงกว่า คือ 1.85 *แปลงที่ 3* คุณชลธิชา เงินประมวล วิธีการจัดการแมลงหวี่ขาวและโรครากเน่า-โคนเน่าแบบผสมผสาน (IPM) ให้ผลผลิตมากกว่า วิธีเกษตรกร (Farmer) 158 ต้น มีต้นทุนในการผลิตสูงกว่า 236 บาท และได้ผลผลตอบแทนต่อการลงทุนสูงกว่า คือ 1.96 *แปลงที่ 4* คุณทวี วันทองสุข วิธีการจัดการแมลงหวี่ขาวและโรครากเน่า-โคนเน่าแบบผสมผสาน (IPM) ให้ผลผลิตมากกว่า วิธีเกษตรกร (Farmer) 236 ต้น มีต้นทุนในการผลิตสูงกว่า 2,299 บาท และได้ผลผลตอบแทนต่อการลงทุนสูงกว่า คือ 2.54 *แปลงที่ 5* คุณทองไผ่ โสประดิษฐ์ วิธีการจัดการแมลงหวี่ขาวและโรครากเน่า-โคนเน่าแบบผสมผสาน (IPM) ให้ผลผลิตมากกว่า วิธีเกษตรกร (Farmer) 177 ต้น มีต้นทุนในการผลิตสูงกว่า 3,101 บาท และได้ผลผลตอบแทนต่อการลงทุนสูงกว่า คือ 1.44 *แปลงที่ 6* คุณตองเตย ศิริวงษ์ไชย วิธีการจัดการแมลงหวี่ขาวและโรครากเน่า-โคนเน่าแบบผสมผสาน (IPM) ให้ผลผลิตมากกว่า วิธีเกษตรกร (Farmer) 344 ต้น มีต้นทุนในการผลิตสูงกว่า 396 บาท และได้ผลผลตอบแทนต่อการลงทุนสูงกว่า คือ 4.04 จากการทดสอบทั้ง 6 แปลง พบว่าวิธีการจัดการแมลงหวี่ขาวและโรครากเน่า-โคนเน่าแบบผสมผสาน (IPM) ส่วนใหญ่จะได้ผลผลตอบแทนต่อการลงทุนสูงกว่าวิธีเกษตรกร (Farmer) ยกเว้นในแปลงที่ 1 คุณเสถียร ธัญญารักษ์ ที่วิธีเกษตรกร (Farmer) ได้ผลผลตอบแทนต่อการลงทุนสูงกว่า คือ 2.52 ขณะที่วิธีการจัดการแมลงหวี่ขาวและโรครากเน่า-โคนเน่าแบบผสมผสาน (IPM) ได้ผลผลตอบแทนต่อการลงทุน 2.47 ซึ่งแตกต่างเล็กน้อย

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การคัดเลือกสารเคมีในการป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวสำหรับต้นคริสต์มาส พบว่าสาร fipronil 5%SC (กลุ่ม 2B) อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวยาสูบ รองลงมา คือ สาร spiromesifen 24% SC (กลุ่ม 23) อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร สาร buprofezin 40% SC (กลุ่ม 16) อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร สารthiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7% ZC (กลุ่ม 4A และ 3A) อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร และสาร imidacloprid 70% WP (กลุ่ม 4B) อัตรา 5 กรัม/น้ำ 20 ลิตร โดยควรพ่นสารติดต่อกันอย่างน้อย 2 ครั้ง และพ่นห่างกัน 7 วัน

การจัดการแมลงหวี่ขาวและโรครากเน่า-โคนเน่าแบบผสมผสานสำหรับต้นคริสต์มาส วิธีการจัดการแมลงหวี่ขาวและโรครากเน่า-โคนเน่าแบบผสมผสาน (IPM) ที่ประกอบด้วย*การอบวัสดุปลูก*ด้วย

ยูเรีย 700 กรัม : ปูนขาว 7,000 กรัม ต่อวัสดุปลูก/ดิน 1 ลบ.ม. *การเลือกกิ่งพันธุ์*ที่ปราศจากโรค Phytophthora แอบแฝง และเลือกปักชำโดยใช้กิ่งพันธุ์ที่ไม่แก่หรืออ่อนเกินไป *การวางถุงปลูก*ต้นคริสต์มาสมีการวางถุงปลูกสูงกว่าระดับพื้นดิน *การดูแลจัดการแมลงหวี่ขาว*ระหว่างการปลูกติดกับดักกาวเหนียวสีเหลืองในแปลงปลูก อัตรา 5 กับดัก และทำการเปลี่ยนกับดักทุก 30 วัน สำรวจประชากรของแมลงหวี่ขาวทั้งบนต้นและในกับดักสัปดาห์ละครั้ง ถ้าพบแมลงหวี่ขาวเฉลี่ย 3 ตัวต่อกับดัก หรือบนต้น 10 ต้น ให้พ่นสารตามคำแนะนำ *การดูแลจัดการโรครากเน่า-โคนเน่า*ระหว่างการปลูก พ่นเชื้อ *Trichoderma harzianum* 10^8 สปอร์/มิลลิลิตร ในแปลงปลูกเดือนละครั้ง สำรวจโรครากเน่า-โรคเน่าสัปดาห์ละครั้ง ถ้าพบต้นเป็นโรค 5 ต้น ให้พ่นสารตามคำแนะนำ พบว่า วิธีการจัดการแมลงหวี่ขาวและโรครากเน่า-โคนเน่าแบบผสมผสาน (IPM) ในเกษตรกรทุกรายมีเปอร์เซ็นต์การตายของต้นคริสต์มาสน้อยกว่าวิธีเกษตรกร (Farmer) และให้ผลผลิตมากกว่าในทุกรายที่ทำการทดลอง ผลตอบแทนต่อการลงทุน พบว่าส่วนใหญ่วิธีการจัดการแมลงหวี่ขาวและโรครากเน่า-โคนเน่าแบบผสมผสาน (IPM) ให้ผลตอบแทนต่อการลงทุนสูงกว่าวิธีเกษตรกร (Farmer)

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณทองไผ่ โสประดิษฐ์ คุณณัฐริกา ศรีสวัสดิ์ คุณพิมพิลา ศรีบุรินทร์ คุณเสถียร ธัญญารักษ์ คุณถวิล ศรีชมษร คุณชลธิชา เงินประมวล คุณทวี วันทองสุข และคุณตองเตย ศิริวงษ์ไชย เกษตรกรผู้ปลูกคริสต์มาส อำเภอภูเรือ จังหวัดเลย ที่เข้าร่วมโครงการทดลอง และอนุเคราะห์แปลงทดลอง

ขอขอบคุณ คุณสุพจน์ อ้ายมา เกษตรอำเภอผู้เรือ และคุณวีระเดช ฟองชัย หัวหน้าฝ่ายอารักขาพืช สำนักงานเกษตรจังหวัดเลย ที่ช่วยคัดเลือกเกษตรกร ติดต่อแปลง และช่วยเก็บข้อมูล

เอกสารอ้างอิง

สำนักงานเกษตรจังหวัดเลย. 2557. สถิติการผลิตพืชในจังหวัดเลยปีการผลิต 2557/2558. กรมส่งเสริมการเกษตรและสหกรณ์.

Table 1 Efficacy of various insecticides for control *Bemisia tabaci* (Gennadius) on poinsettia at Santom sub-district, Phu Ruea district, Loei province on January-February 2015.

Treatment	Dosage per 20 l of water	Cost of insecticide per 2 times (Baht)	Average number of whiteflies/leaf (individual)[1/]						
			Before spray	Day after 1st application			Day after 2nd application		
				3	5	7	3	5	7
dinotefuran 10% SL	15 ml	57	16.77	15.52 c	16.56 abc	22.12 bc	19.56 bc	16.28 a	19.75 b
thiamethoxam 25% WG	5 g	37.50	19.06	14.32 bc	17.10 bcd	23.38 bc	22.01 bcd	21.45 a	21.22 bc
imidacloprid 70% WP	5 g	65	17.26	16.19 c	18.47 cd	22.92 bc	23.60 d	21.58 a	21.34 bc
buprofezin 40% SC	15 ml	22.80	17.05	14.91 bc	14.23 ab	17.13 a	22.79 cd	20.22 a	19.61 b
thiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7% ZC	10 ml	22	18.79	10.65 a	14.45 ab	20.62 ab	21.25 bcd	19.53 a	19.75 b
spiromesifen 24% SC	15 ml	27	13.84	11.67 ab	13.96 ab	17.54 a	18.81 ab	17.60 a	16.24 ab
fipronil 5%SC (standard)	10 ml	13	19.01	13.04 abc	12.97 a	16.13 a	16.39 a	15.13 a	12.29 a
Untreated (control)	-		18.61	21.57 d	20.19 d	26.43 c	27.34 e	36.03 b	25.80 c
CV (%)			17.4	12.3	12.5	11.7	6.6	27.6	15.21
RE (%)[2/]			-	-	-	-	99.6	63.3	66.4

[1/] In columns, means followed by the common letters are not significantly different at the level of 95% by DMRT

Average from 3 replications

[2/] Relative efficacy

Table 2 Efficacy of various insecticides for control *Bemisia tabaci* (Gennadius) on poinsettia at Nongbua sub-district, Phu Ruea district, Loei province on January-February 2015.

Treatment	Dosage per 20 l of water	Cost of insecticide per 2 times (Baht)	Average number of whiteflies /leaf (individual)[1/]						
			Before spray	Day after 1st application			Day after 2nd application		
				3	5	7	3	5	7
dinotefuran 10% SL	15 ml	57	6.64 a	7.50 a	8.01	8.79 b	5.00	6.93 a	6.01 abc
thiamethoxam 25% WG	5 g	37.50	8.73 ab	6.44 a	8.45	8.79 b	6.21	8.06 a	8.81 cd
imidacloprid 70% WP	5 g	65	10.13 ab	6.99 a	7.63	7.22 ab	6.39	7.64 a	7.18 bcd
buprofezin 40% SC	15 ml	22.80	7.87 ab	8.01 a	7.73	8.70 b	4.09	6.93 a	4.67 ab
thiamethoxam/lambdacyhalothrin 24.7% ZC	10 ml	22	9.84 ab	7.02 a	7.42	9.14 b	6.96	8.32 a	6.71 a-d
spiromesifen 24% SC	15 ml	27	14.27 b	5.87 a	7.23	5.08 a	15.09	6.64 a	4.29 a
fipronil 5%SC (standard)	10 ml	13	6.58 a	7.18 a	13.07	8.32 ab	6.85	7.70 a	5.72 ab
Untreated (control)	-		13.88 ab	12.49 b	13.34	17.68 c	11.47	12.14 b	9.45 d
CV (%)			38.9	15.5	53.1	19.1	87.5	19.5	21.5
RE (%)[2/]			-	150.2	85.0	170.2	57.0	83.1	65.8

[1/] In columns, means followed by the common letters are not significantly different at the level of 95% by DMRT

Average from 3 replications

[2/] Relative efficacy

Table 3 Comparative percent death of Poinsettia from *Phytophthora* between Farmers method and IPM method at Phu Ruea district, Loei province on February-September 2016.

Place	% death by *Phytophthora* (April 2016)		% death by *Phytophthora* (July 2016)		% death by *Phytophthora* (September 2016)	
	IPM	Farmer	IPM	Farmer	IPM	Farmer
1	0.36	1.99	16.67	17.97	8.39	4.57
2	3.70	19.18	23.08	18.40	43.50	53.26
3	0.20	3.57	5.07	51.20	19.22	69.20
4	11.87	23.53	34.00	58.01	0.33	81.38
5	36.92	38.32	11.89	54.91	16.26	58.33
6	8.65	46.40	0.20	40.30	3.36	9.38
Average±SD	10.28±13.84	22.17±17.95	15.15±12.30	40.13±18.02	15.18±15.66	46.02±31.79

Table 4 Comparative yields, production cost, profit and return on investment between Farmers method and IPM method at Phu Ruea district, Loei province on February- September 2016.

Place	Method	Yields (pot)	Yields value (Bath) (R)	Production cost (Bath) (C)	Profit (Bath)	Return on investment (Bath) (R/C)
1	IPM	426	14,910	6,027	8,883	2.47
	Farmer	501	17,535	6,962	10,573	2.52
2	IPM	226	7,910	4,274	3,636	1.85
	Farmer	172	6,020	4,849	1,770	1.24
3	IPM	227	7,945	4,045	3,891	1.96
	Farmer	69	2,415	3,809	-1,394	0.63
4	IPM	298	10,430	4,099	6,331	2.54
	Farmer	62	2,170	1,800	370	1.21
5	IPM	242	8,470	5,884	2,586	1.44
	Farmer	65	2,275	2,783	-508	0.82
6	IPM	489	17,115	4,241	12,874	4.04
	Farmer	145	5,075	3,845	1,230	1.32

Figure 1 The process of soil fumigation by Calcium oxide and urea for planting materials.

การนำเข้าแตนเบียนดักแด้ *Brachymeria nephantidis* Gahan (Hymenoptera: Chalcididae) เพื่อควบคุมหนอนหัวดำมะพร้าว *Opisina arenosella* Walker (Lepidoptera: Oecophoridae) โดยชีววิธี

Importation of the Pupal Parasitoid, *Brachymeria nephantidis* Gahan (Hymenoptera: Chalcididae) for Biological Control of Coconut Black Headed Caterpillar, *Opisina arenosella* Walker (Lepidoptera: Oecophoridae)

ณัฏฐิณี ศิริมาจันทร์ พัชรีวรรณ จงจิตเมตต์
รจนา ไวยเจริญ นงนุช ช่างสี
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

Importation of the pupal parasitoid, *Brachymeria nephantidis* Gahan (Hymenoptera: Chalcididae) from Sri Lanka for biological control of coconut black headed caterpillar, *Opisina arenosella* Walker (Lepidoptera: Oecophoridae). This objectives for study to the efficiency and safety to human, animal and environment for importation of the pupal parasitoid, *B. nephantidis* for biological control of coconut black headed caterpillar, *O. arenosella* in Thailand. The experiment was carried out from January – June 2016 at approved laboratory, Biological Control Research Group, Entomology and Zoology Division, Department of Agriculture which the experimental laboratory to determine that has been appropriate by the plant quarantine official. The host specificity testing of *B. nephantidis* to be insect pests such as, common cut worm, *Spodoptera litura* (Fabricius), beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner), coconut leaf beetle, *Brontispa longissima* (Gestro), diamondblack moth, *Plutella xylostella* (Linnaeus) and yellow mealworm, *Tenebrio molitor* Linnaeus and beneficial insects such as, eri silkworm, *Samia ricini* Boisduval, silkworm, *Bombyx mori* Linnaeus and green lacewing, *Plesiochrysa ramburi* (Schneider). The results revealed that the beneficial insects are safety. However, *S. exigua* were parasitized by *B. nephantidis* (33%). The host preference test showed that *B. nephantidis* more preferred *O. arenosella* pupa (60%) than *S. exigua* pupa (30%). Biological study of *B. nephantidis* declared that was the endoparasite of *O. arenosella* pupa. Oviposition behavior of *B. nephantidis* presented that the 3rd day age of *O. arenosella* pupa were appropriated for reproduction.

โครงการวิจัยเร่งด่วน

Furthermore, the potential of *B. nephantidis* could be parasitized 1 to 6 pupae on *O. arenosella* per day and a pupa of *O. arenosella* can produced one progeny of *B. nephantidis*.

Keywords : pupal parasitoid, *Brachymeria nephantidis*, coconut black headed caterpillar, *Opisina arenosella*

บทคัดย่อ

การนำเข้าแตนเบียนดักแด้ *Brachymeria nephantidis* Gahan (Hymenoptera: Chalcididae) จากประเทศศรีลังกา เพื่อควบคุมหนอนหัวดำมะพร้าว *Opisina arenosella* Walker (Lepidoptera: Oecophoridae) โดยชีววิธี มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพและความปลอดภัยต่อสิ่งมีชีวิต ได้แก่ มนุษย์ สัตว์ และสิ่งแวดล้อมในการนำแตนเบียน *B. nephantidis* ควบคุมดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว *O. arenosella* ในประเทศไทย โดยดำเนินการในห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา ที่ได้รับการตรวจสอบจากพนักงานเจ้าหน้าที่ของกลุ่มวิจัยการกักกันพืชว่ามีความเหมาะสมให้ดำเนินการทดลองได้ ตั้งแต่เดือนมกราคมถึงเดือนมิถุนายน 2559 จากการทดสอบความจำเพาะเจาะจงต่อแมลงอาศัยกลุ่มแมลงศัตรูพืช ได้แก่ ดักแด้หนอนกระทู้ผัก *Spodoptera litura* (Fabricius) ดักแด้หนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigua* (Hübner) ดักแด้แมลงดำหนามมะพร้าว *Brontispa longissima* (Gestro) ดักแด้หนอนใยผัก *Plutella xylostella* (Linnaeus) และดักแด้หนอนนก *Tenebrio molitor* Linnaeus และกลุ่มแมลงที่มีประโยชน์ ได้แก่ ดักแด้ไหมอีรี่ *Samia ricini* Boisduval ดักแด้ไหมบ้าน *Bombyx mori* Linnaeus และดักแด้แมลงช้างปีกใส *Plesiochrysa ramburi* (Schneider) พบว่า แตนเบียน *B. nephantidis* ปลอดภัยต่อกลุ่มแมลงที่มีประโยชน์ คือ ไม่พบการลงเบียนแมลงในกลุ่มนี้เลย ส่วนกลุ่มแมลงศัตรูพืชพบแตนเบียน *B. nephantidis* ลงเบียนดักแด้หนอนกระทู้หอม *S. exigua* เพียงชนิดเดียว (33%) จึงทดสอบความชอบในการเข้าทำลายระหว่างดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว *O. arenosella* และดักแด้หนอนกระทู้หอม *S. exigua* พบว่า แตนเบียน *B. nephantidis* ชอบเบียนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว *O. arenosella* (60%) มากกว่าดักแด้หนอนกระทู้หอม *S. exigua* (30%) จากการศึกษาชีววิทยาของแตนเบียน *B. nephantidis* พบว่า แตนเบียน *B. nephantidis* เป็นแตนเบียนภายใน (endoparasite) ของดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว จากการศึกษาพฤติกรรมการเข้าทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวของแตนเบียน *B. nephantidis* พบว่า แตนเบียน *B. nephantidis* สามารถเบียนและขยายพันธุ์ในดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว อายุ 3 วัน ได้ดีที่สุด จากการทดสอบศักยภาพแตนเบียน *B. nephantidis* ในการเข้าทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว *O. arenosella* พบว่า แตนเบียน *B. nephantidis* สามารถเบียนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวได้ 1-6 ดักแด้ต่อวัน ดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว 1 ดักแด้ ให้ผลผลิตแตนเบียน *B. nephantidis* 1 ตัว

คำหลัก : แตนเบียนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว แตนเบียนบราไคมีเรีย นีแฟนติดิส หนอนหัวดำมะพร้าว การควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี

คำนำ

หนอนหัวดำมะพร้าว *Opisina arenosella* Walker (Lepidoptera: Oecophoridae) เป็นแมลงศัตรูพืชต่างถิ่น (Exotic pest) พบระบาดทำลายมะพร้าวสร้างความเสียหายต่อการปลูกมะพร้าวอย่างรุนแรง มีถิ่นกำเนิดอยู่ในเอเชียใต้แถบประเทศอินเดียและศรีลังกา หนอนหัวดำมะพร้าว *O. arenosella* ลงทำลายโดยการแทะกินผิวใบบริเวณใต้ใบมะพร้าว จากนั้นจะถักใยนำมูลที่ถ่ายออกมาสร้างเป็นอุโมงค์ยาวเป็นทางคลุมลำตัวตลอดทางใบ โดยทั่วไปหนอนหัวดำมะพร้าว *O. arenosella* ชอบลงทำลายใบแก่ หากการทำลายรุนแรงจะพบหนอนหัวดำมะพร้าว *O. arenosella* ลงทำลายก้านใบ จั่น และผลมะพร้าว โดยแทะกินผิวส่วนที่เป็นสีเขียวของต้นมะพร้าว จากนั้นหนอนหัวดำมะพร้าว *O. arenosella* จะเจริญเติบโตและพัฒนาเข้าสู่ระยะดักแด้ โดยชักใยคลุมตัวอยู่ภายในอุโมงค์ใต้ใบมะพร้าว และพักตัวรอฟักเป็นผีเสื้อตัวเต็มวัย สำหรับประเทศไทยพบรายงานการระบาดครั้งแรกที่อำเภอเมือง จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ พื้นที่ระบาดประมาณ 15 ไร่ ปัจจุบันการระบาดได้ขยายตัวลุกลามกว้างขวางมาก พบพื้นที่ระบาด 24 จังหวัด 72,080 ไร่ คิดเป็นร้อยละ 5.56 ของพื้นที่ปลูก พื้นที่ระบาดมาก 5 อันดับ ได้แก่ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (58,298 ไร่) สุราษฎร์ธานี (6,468 ไร่) ชลบุรี (2,263 ไร่) เพชรบุรี (1,662 ไร่) และจังหวัดฉะเชิงเทรา (1,046 ไร่) (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2558)

การป้องกันกำจัดหนอนหัวดำมะพร้าว *O. arenosella* โดยการฉีดพ่นสารเคมีกำจัดแมลงเป็นวิธีที่เป็นอันตรายเนื่องจากมะพร้าวมีลำต้นสูงมาก การควบคุมละอองสารเคมีทำได้ยาก และที่สำคัญหนอนหัวดำมะพร้าว *O. arenosella* สร้างอุโมงค์คลุมซ่อนตัวเองอยู่ใต้ใบ จึงไม่เหมาะต่อการใช้วิธีการดังกล่าวในการป้องกันกำจัดหนอนหัวดำมะพร้าว *O. arenosella* ในประเทศอินเดียมีการสำรวจพบแมลงศัตรูธรรมชาติจำพวกแตนเบียน 43 ชนิด และตัวห้ำ 51 ชนิด ที่ทำลายหนอนหัวดำมะพร้าว *O. arenosella* ได้ แต่ชนิดของแมลงศัตรูธรรมชาติที่มีการนำมาเพาะเลี้ยงและใช้ในการควบคุมดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว *O. arenosella* คือ แตนเบียนดักแด้ *Brachymeria nephantidis* Gahan (Hymenoptera: Chalcididae) ซึ่งแตนเบียนชนิดนี้สามารถพบได้ทั่วไปในประเทศอินเดีย และ ศรีลังกา (Narendran, 1985) แตนเบียน *Brachymeria* spp. สามารถลงทำลายหนอนหัวดำมะพร้าว 41.6% ส่วนใหญ่เป็นแตนเบียน *B. nephantidis* 16.45% ซึ่งพบว่าลงเบียนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว *O. arenosella* ได้มากกว่าแตนเบียนชนิดอื่น (Nasser and Abdurahiman, 2001) ซึ่งการทำลายของแตนเบียน *B. nephantidis* 16.45% จะสามารถช่วยลดจำนวนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว *O. arenosella* เพื่อตัดวงจรชีวิตไม่ให้เจริญเติบโตไปเป็นผีเสื้อและวางไข่ได้ต่อไป จึงเป็นการช่วยลดจำนวนหนอนหัวดำมะพร้าว *O. arenosella* ในแปลงได้อีกทางหนึ่ง ทั้งนี้การเพาะเลี้ยงแตนเบียน *B. nephantidis* ให้ได้จำนวนมากเพื่อนำไปใช้ในการควบคุมหนอนหัวดำมะพร้าว *O. arenosella* ใน

แปลงมะพร้าว สามารถเพาะเลี้ยงแตนเบียน *B. nephantidis* ด้วยดักแด้หนอนผีเสื้อข้าวสาร *Corcyra cephalonica* (Stainton) (Lepidoptera: Gelleriidae) ได้ง่ายในห้องปฏิบัติการ (Kapadia, 1999)

จากปัญหาการระบาดของหนอนหัวดำมะพร้าว *O. arenosella* สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ได้ประสานงานกับ Coconut Research Institute (CRI) จากประเทศศรีลังกา ในการจัดเตรียมดักแด้แตนเบียน *B. nephantidis* เพื่อนำมาศึกษาถึงประสิทธิภาพและความปลอดภัยของแตนเบียน *B. nephantidis* และนำไปใช้ประโยชน์ในการควบคุมหนอนหัวดำมะพร้าว *O. arenosella* ในประเทศไทย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. กรงเลี้ยงแมลง ขนาด 30x30x30 ซม.
2. ขวดพลาสติก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางยาว 2.5 ซม. สูง 6 ซม. ที่ฝาเจาะรูระบายอากาศและติดตะแกรงละเอียด
3. กล่องพลาสติกเลี้ยงแมลง ขนาด 60x45x30 ซม. ฝากล่องด้านบนกรุด้วยลวดตาข่ายถี่
4. กล่องพลาสติกเลี้ยงแมลง ขนาด 22x33x6 ซม. ฝากล่องด้านบนกรุด้วยลวดตาข่ายถี่
5. กล่องพลาสติกกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 23 ซม. สูง 10 ซม. ฝากล่องด้านบนกรุด้วยตาข่ายถี่
6. น้ำผึ้งเข้มข้น 50%
7. ฟองน้ำอเนกประสงค์
8. กระดาษทิชชู สำลี
9. ปากคีบ พู่กัน
10. รำละเอียด ปลายข้าว น้ำตาลทราย
11. เครื่องตรวจวัดอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในห้องปฏิบัติการ
12. กล้องจุลทรรศน์

วิธีการ

I การนำเข้าแตนเบียน *B. nephantidis* จากประเทศศรีลังกา

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ได้ดำเนินการขออนุญาตจากอธิบดีกรมวิชาการเกษตร เพื่อขอนำเข้าแตนเบียน *B. nephantidis* จากประเทศศรีลังกา จำนวน 1,000 ดักแด้ และได้รับอนุญาตให้ดำเนินการทดลองได้ตามใบอนุญาตเลขที่ 36/2558 จึงได้ประสานงานกับ Coconut Research Institute (CRI) ของประเทศศรีลังกา ให้จัดส่งแตนเบียน *B. nephantidis* จำนวน 1,000 ดักแด้ ซึ่งเป็นแตนเบียนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการของ CRI โดยนำเข้ามาดำเนินการทดลองภายในห้องปฏิบัติการของ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่ได้รับการตรวจสอบและอนุญาตให้ใช้ดำเนินการจากพนักงานเจ้าหน้าที่กลุ่มวิจัยการกักกันพืช เมื่อนำเข้ามาแล้วทำการตรวจสอบการปนเปื้อนของแมลงชนิดอื่นที่อาจติดมากับ

ดักแด้แตนเบียน *B. nephantidis* ที่นำเข้า โดยคัดแยกดักแด้แตนเบียน จำนวน 1,000 ดักแด้ ใส่ในหลอดแก้วใส ปิดปากหลอดแก้วด้วยสำลี กรณีที่พบแมลงชนิดอื่นติดมาให้ทำลายแมลงในหลอดนั้นๆ ทันที หลังจากนั้นนำแตนเบียน *B. nephantidis* มาเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณโดยใช้ดักแด้หนอนผีเสื้อข้าวสาร *C. cephalonica* เป็นแมลงอาศัย

II **การทดสอบความจำเพาะเจาะจงต่อแมลงอาศัย**

1.1 การทดสอบความจำเพาะเจาะจงต่อแมลงอาศัย โดยแบ่งดักแด้แมลงทดสอบเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่

1) กลุ่มแมลงศัตรูพืช 5 ชนิด ได้แก่ ดักแด้หนอนกระทู้ผัก *Spodoptera litura* (Fabricius) ดักแด้หนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigua* (Hübner) ดักแด้แมลงดำหนามมะพร้าว *Brontispa longissima* (Gestro) ดักแด้หนอนใยผัก *Plutella xylostella* (Linnaeus) และดักแด้หนอนนก *Tenebrio molitor* Linnaeus

2) กลุ่มแมลงที่มีประโยชน์ 3 ชนิด ได้แก่ ดักแด้ไหมอีรี่ *Samia ricini* Boisduval ดักแด้ไหมบ้าน *Bombyx mori* Linnaeus และดักแด้แมลงช้างปีกใส *Plesiochrysa ramburi* (Schneider)

นำดักแด้แมลงทดสอบแต่ละชนิด อายุ 5 วัน ใส่ขวดพลาสติก ขวดละ 1 ดักแด้ จำนวน 3 ขวด ต่อการทดลอง 1 ซ้ำ ทำการทดลอง 4 ซ้ำ จากนั้นนำแตนเบียนเพศเมียที่ปล่อยผสมพันธุ์แล้ว 6 วัน จำนวน 1 ตัว ใส่ในขวดพลาสติกที่มีแมลงทดสอบ ให้น้ำผึ้งเป็นอาหารกับแตนเบียน ปล่อยให้แตนเบียนลงเบียนดักแด้แมลงทดสอบเป็นเวลา 6 ชม. บันทึกจำนวนแตนเบียนที่ฟัก อัตราส่วนเพศผู้และเพศเมีย

1.2 หากพบแตนเบียน *B. nephantidis* ลงเบียนแมลงทดสอบชนิดอื่น จะต้องทดสอบแบบมีทางเลือกเพิ่มเติม เพื่อศึกษาความชอบแมลงอาศัย (Insect Host Preference) เพิ่มเติม

นำดักแด้แมลงทดสอบและดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว *O. arenosella* ใส่กล่องพลาสติกเดียวกัน ชนิดละ 1 ดักแด้ ทำ 10 ซ้ำ ปล่อยแตนเบียน *B. nephantidis* เพศเมียที่ผสมพันธุ์เรียบร้อยแล้ว จำนวน 1 ตัว ใส่ในกล่องที่มีแมลงทดสอบทั้ง 2 ชนิด ภายในกล่องใส่สำลีชุบน้ำผึ้งสำหรับเป็นอาหารของแตนเบียน *B. nephantidis* บันทึกจำนวนแตนเบียนที่ฟักจากแมลงทดสอบแต่ละชนิด อัตราส่วนเพศผู้และเพศเมีย

III **การศึกษาชีววิทยา และพฤติกรรมการเข้าทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวของแตนเบียน *B. nephantidis***

1) นำดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวอายุที่เหมาะสม จำนวน 100 ดักแด้ (แตนเบียนระยะไข่ถึงตัวเต็มวัยใช้เวลา 20 วัน x สุ่มตรวจ จำนวน 5 ดักแด้/วัน) ใส่กล่องพลาสติกใสที่มีฝาปิดระบายอากาศ จากนั้นนำแตนเบียนเพศเมียอายุแตนเบียนที่เหมาะสมที่ปล่อยให้ผสมพันธุ์แล้ว 6 วัน จำนวน 50 ตัว ใส่ในกล่องพลาสติกที่มีดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวที่เตรียมไว้ ปล่อยให้แตนเบียนลงเบียนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว จากนั้นใช้ปากคีบคีบดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวที่ถูกเบียนแล้วออกใส่กล่องพลาสติกใหม่ จนครบ 100 ดักแด้ สังเกตลักษณะภายนอกของดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวที่ถูกเบียน

แล้วทุกวัน เช่น สีของดักแด้ ทำการผ่าดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวที่ถูกเบียนแล้วทุกวันจนครบวงจรชีวิต บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตของแตนเบียนทุกวัน และพฤติกรรมการเบียนของแตนเบียน

2) นำดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว อายุ 0-10 วัน ใส่ขวดพลาสติก 1 ดักแด้/ขวด จำนวน 3 ขวด ต่อการทดลอง 1 ซ้ำ ทำการทดลองจำนวน 5 ซ้ำ จากนั้นนำแตนเบียนเพศเมียที่ผสมพันธุ์แล้ว 6 วัน จำนวน 1 ตัว ใส่ในขวดพลาสติกที่มีดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวอายุต่างๆ ให้น้ำผึ้งเพื่อเป็นอาหารกับแตนเบียน ปล่อยให้แตนเบียนลงเบียนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว เป็นเวลา 6 ชม. บันทึกจำนวนแตนเบียนที่ฟัก อัตราส่วนเพศผู้และเพศเมีย

IV **การทดสอบศักยภาพของแตนเบียน *B. nephantidis* ในการเข้าทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว**

นำแตนเบียนเพศเมียและเพศผู้ที่เพิ่งฟักออกจากดักแด้ จำนวน 5 คู่ ใส่ขวดพลาสติก ขวดละ 1 คู่ ให้น้ำผึ้งเพื่อเป็นอาหารกับแตนเบียน จากนั้นนำดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวอายุที่เหมาะสม (ใช้ข้อมูลจากการทดลองที่ III) จำนวน 10 ดักแด้ ใส่ในขวดพลาสติกที่มีแตนเบียน ปล่อยให้แตนเบียนลงเบียนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวเป็นเวลา 6 ชม. ใส่ดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวให้แตนเบียนลงเบียนทุกวัน บันทึกจำนวนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวที่แตนเบียนแต่ละตัวสามารถเบียนได้ อัตราส่วนเพศผู้และเพศเมีย อายุแตนเบียนเพศเมียและเพศผู้

เวลาและสถานที่

ดำเนินการทดลองตั้งแต่เดือนมกราคมถึงเดือนมิถุนายน 2559 ณ ห้องปฏิบัติการที่ได้รับการตรวจสอบและอนุญาตให้ใช้ดำเนินการจากพนักงานเจ้าหน้าที่กลุ่มวิจัยการกักกันพืช ณ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

I **การนำเข้าแตนเบียน *B. nephantidis* จากประเทศศรีลังกา**

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ได้ประสานงานกับ Coconut Research Institute (CRI) ของประเทศศรีลังกา ดำเนินการจัดส่งแตนเบียน *B. nephantidis* จำนวน 1,000 ดักแด้ ตามใบอนุญาตเลขที่ 36/2558 (แบบ พ.ก. 1-1) (Attachment 1) และบัตรกำกับบนภาชนะบรรจุ (แบบ พ.ก. 1-2) (Attachment 2) พร้อมปฏิบัติตามเงื่อนไข (Attachment 3) กำหนด ตั้งแต่เดือนมกราคม 2559 และนำเข้าเมื่อวันที่ 1 กุมภาพันธ์ 2559 และทันทีที่ได้รับแตนเบียนทั้งหมดได้นำไปดำเนินการทดลองภายในห้องปฏิบัติการ เมื่อถึงกำหนดเวลาออกเป็นตัวเต็มวัย พบว่าดักแด้แตนเบียน *B. nephantidis* จำนวน 1,000 ดักแด้ ออกเป็นตัวเต็มวัยได้ จำนวน 383 ตัว เป็นแตนเบียนเพศเมีย จำนวน 274 ตัว และ แตนเบียนเพศผู้ จำนวน 109 ตัว และมีดักแด้ที่ไม่สามารถออกเป็นตัวเต็มวัย จำนวน 617 ดักแด้ โดยไม่พบแมลงชนิดอื่นปะปนมากับแตนเบียน *B. nephantidis* ที่นำเข้า จากนั้นนำแตนเบียน *B. nephantidis* มาเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณโดยใช้ดักแด้หนอนผีเสื้อข้าวสาร *C. cephalonica* เป็นแมลงอาศัย จำนวน 1 รุ่น ก่อนนำไปใช้ในการทดลองต่อไป สำหรับดักแด้ที่ไม่ฟักเป็นตัวเต็มวัย จำนวน

617 ดักแด้ ได้นำไปทำลายโดยเก็บรวบรวมใส่ถุงพลาสติกมัดปากถุงให้แน่น นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส แรงดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

II การทดสอบความจำเพาะเจาะจงต่อแมลงอาศัย

จากการทดสอบความจำเพาะเจาะจงต่อแมลงอาศัยกลุ่มแมลงศัตรูพืช 5 ชนิด ชนิดละ 12 ดักแด้ (ทดลอง 4 ซ้ำ (3 ดักแด้/ซ้ำ)) ได้แก่ ดักแด้หนอนกระทู้ผัก *S. litura*, ดักแด้หนอนกระทู้หอม *S. exigua* ดักแด้แมลงดำหนามมะพร้าว *B. longissima*, ดักแด้หนอนใยผัก *P. xylostella* และดักแด้หนอนนก *T. molitor* พบว่า แตนเบียน *B. nephantidis* ไม่ลงเบียนดักแด้ชนิดใดเลย ยกเว้นลงเบียนดักแด้หนอนกระทู้หอม *S. exigua* จำนวน 4 ดักแด้ (33%) และพัฒนาการเจริญเติบโตได้แตนเบียน *B. nephantidis* เพศเมีย 2 ตัว และเพศผู้ 2 ตัว ดังนั้น จึงทดสอบความชอบในการเลือกเข้าทำลายระหว่างดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว และดักแด้หนอนกระทู้หอมเพิ่มเติม พบว่า เมื่อใส่ดักแด้แมลงอาศัย 2 ชนิดในกล่องทดสอบเดียวกัน ทดสอบแตนเบียน *B. nephantidis* จำนวน 10 ตัว แตนเบียน *B. nephantidis* จำนวน 6 ตัว (60%) เลือกลงเบียนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว และพัฒนาเจริญเติบโตได้แตนเบียน *B. nephantidis* เพศเมีย 4 ตัว และเพศผู้ 2 ตัว ส่วนดักแด้หนอนกระทู้หอม *S. exigua* พบว่า แตนเบียน *B. nephantidis* จำนวน 3 ตัว (30%) เลือกลงเบียนดักแด้หนอนกระทู้หอมและพัฒนาเจริญเติบโตได้แตนเบียน *B. nephantidis* เพศเมีย 2 ตัว และเพศผู้ 1 ตัว ซึ่งแตนเบียน *B. nephantidis* อีก 1 ตัวไม่พบลงเบียนดักแด้แมลงอาศัยทั้ง 2 ชนิด สรุปได้ว่า แตนเบียน *B. nephantidis* ชอบเบียนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวมากกว่าดักแด้หนอนกระทู้หอม

จากการทดสอบความจำเพาะเจาะจงต่อแมลงอาศัยกลุ่มแมลงที่มีประโยชน์ 3 ชนิด ได้แก่ ดักแด้ไหมอีรี่ *S. ricini* ดักแด้ไหมบ้าน *B. mori* และดักแด้แมลงช้างปีกใส *P. Ramburi* ไม่พบแตนเบียน *B. nephantidis* ลงเบียนแมลงทั้ง 3 ชนิด

มีรายงานว่า แตนเบียน *B. nephantidis* มีแมลงอาศัยชนิดอื่นด้วย ได้แก่ หนอนกินใบมะพร้าว *Herculia nigrivitta* (Walker) (Lepidoptera: Pyralidae) และ*Phalacra vidhisaria* Walker (Lepidoptera: Drepanidae) ซึ่งเป็นแมลงศัตรูของมะพร้าว (Pillai and Nair, 1993) เช่นเดียวกับ National Bureau of Agricultural Insect Resources (2013) รายงานว่า แตนเบียน *B. nephantidis* มีแมลงอาศัยชนิดอื่นด้วยเช่นกัน ได้แก่ *Syllepte derogate* Fabricius (Lepidoptera: Pyralidae) และ *Pyrausta machaeralis* (Lepidoptera: Pyralidae) ซึ่งเป็นแมลงศัตรูของมะพร้าว และตาล

III การศึกษาชีววิทยา และพฤติกรรมการเข้าทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวของแตนเบียน *B. nephantidis*

ลักษณะภายนอกของดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวหลังจากถูกเบียน

ดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวหลังจากถูกแตนเบียน *B. nephantidis* ลงเบียน จะเริ่มเปลี่ยนจากสีน้ำตาลอ่อนเป็นสีน้ำตาลเข้มขึ้น จากนั้นเปลือกดักแด้จะแห้งกรอบและมีลักษณะโปร่งแสง หากนำไปส่องกับแสงไฟจะมองเห็นตัวแตนเบียนอยู่ภายใน เนื่องจากเซลล์เนื้อเยื่อภายในตัวดักแด้หนอน

หัวดำมะพร้าวถูกใช้เป็นอาหารของแตนเบียนเพื่อพัฒนาการเจริญเติบโตจนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัย (Figure 1)

ชีววิทยาของแตนเบียน *B. nephantidis*

การศึกษาพัฒนาการเจริญเติบโต และรูปร่างลักษณะของแตนเบียน *B. nephantidis* แต่ละระยะการเจริญเติบโต โดยการผ่าดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวที่ถูกเบียนทุก 24 ชม. (Figure 2)

ระยะไข่ : ไข่มีลักษณะยาวรี สีขาวขุ่น ส่วนปลายมน ปลายด้านหนึ่งเล็กกว่าอีกด้านหนึ่ง รูปร่างคล้ายผลกล้วย ไข่วางภายในดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว ไข่มีขนาดความกว้างเฉลี่ย 0.18±0.01 มม. ความยาวเฉลี่ย 0.81±0.02 มม.

ระยะหนอน : หนอนของแตนเบียน *B. nephantidis* ลำตัวยาวรีหัวท้ายแหลม ลำตัวเป็นปล้อง สีขาวใสมองเห็นภายในสีเหลืองขุ่น หนอนจะเจริญเติบโตอยู่ภายในดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวจนกระทั่งเข้าดักแด้ หนอนมีขนาดความกว้างเฉลี่ย 0.92±0.73 มม. ความยาวเฉลี่ย 2.64±1.86 มม.

ระยะดักแด้ : หนอนเมื่อเข้าดักแด้ใหม่ๆ มีสีขาว แล้วเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและดำเมื่อใกล้เป็นตัวเต็มวัย ดักแด้ขนาดความกว้างเฉลี่ย 1.85±0.59 มม. ความยาวเฉลี่ย 4.29±1.37 มม.

ระยะตัวเต็มวัย : ตัวเต็มวัยมีลำตัวสีดำ บนหัวและอกเป็นลายปุ่มอยู่ทั่วไป ตาและหนวดมีสีดำ ขาคู่หน้าและขาคู่กลางมีสีดำลายสีเหลือง ขาคู่หลังมีสีดำ ส่วนของ femur โป่งออกมามีขนาดใหญ่ และมีรอยหยักคล้ายฟันเลื่อยไม่สม่ำเสมอ บริเวณปลาย femur มีสีเหลือง ส่วนของ tibia ขาคู่หลังมีสีดำ ส่วนโคนและปลายของ tibia มีสีเหลือง (Figure 3) ตัวเต็มวัยเพศเมียส่วนปลายท้องมีลักษณะแหลมและมีอวัยวะวางไข่ลักษณะคล้ายเข็มพับเก็บไว้บริเวณใต้ส่วนท้อง ตัวเต็มวัยเพศผู้ปลายส่วนท้องมน ตัวเต็มวัยเพศเมียมีขนาดใหญ่กว่า เพศผู้ เพศเมียมีขนาดความกว้างลำตัวเฉลี่ย 1.4±0.24 มม. ความยาวลำตัวเฉลี่ย 4.53±0.17 มม. เพศผู้มีขนาดความกว้างลำตัวเฉลี่ย 1.79±0.05 มม. ความยาวลำตัวเฉลี่ย 3.65±0.13 มม. (Figure 4)

ระยะการเจริญเติบโต

แตนเบียน *B. nephantidis* มีระยะไข่ 1 วัน ระยะหนอน 5-8 วัน ระยะดักแด้ 6-8 วัน รวมระยะการเจริญเติบโตตั้งแต่ระยะไข่จนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัยใช้เวลา 13-18 วัน ตัวเต็มวัยเพศเมียอายุ 40-64 วัน เฉลี่ย 52.4±10.88 วัน ตัวเต็มวัยเพศผู้อายุ 20-32 วัน เฉลี่ย 27.6±5.13 วัน ตัวเต็มวัย เพศเมีย 1 ตัว สามารถผลิตแตนเบียนรุ่นลูกได้ 50-111 ตัว เฉลี่ย 81.8±24.80 ตัว เป็นแตนเบียนเพศเมีย 38-54 ตัว เฉลี่ย 49.2±6.46 ตัว และแตนเบียนเพศผู้ 12-60 ตัว เฉลี่ย 32.6±20.47 ตัว อัตราส่วนเพศผู้ต่อเพศเมีย เท่ากับ 1 : 1.51 ซึ่งระยะการเจริญเติบโตของแตนเบียน *B. nephantidis* ใกล้เคียงกับรายงานของ Pillai and Nair (1993) พบว่า ระยะไข่มีอายุ 1 วัน ระยะหนอนมีอายุ 5-10 วัน ระยะดักแด้มีอายุ 6-10 วัน ตัวเต็มวัยมีอายุ 30-93 วัน รวมการเจริญเติบโตตั้งแต่ระยะไข่จนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัยใช้เวลา 12-20 วัน ตัวเต็มวัยเพศเมียหลังจากฟักเป็นตัวเต็มวัยมีระยะก่อนวางไข่ 3-5 วัน

อัตราส่วน เพศผู้ : เพศเมีย เท่ากับ 1 : 1.35 แต่แตกต่างจากรายงานของ Satpathy and Rao (1972) พบว่าแตนเบียนเพศเมีย 1 ตัว วางไข่ได้เพียง 15-23 ฟอง

พฤติกรรมการเข้าทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวของแตนเบียน *B. nephantidis*

จากการทดสอบการเข้าทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวที่อายุต่างๆ ของแตนเบียน *B. nephantidis* โดยทดสอบเบียนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว อายุ 0-10 วัน พบว่าแตนเบียน *B. nephantidis* ลงเบียนดักแด้ หนอนหัวดำมะพร้าว อายุ 0, 1, 2, 3, 4, 6 และ 7 วัน เท่านั้น โดยพบว่าแตนเบียน *B. nephantidis* ลงเบียนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว อายุ 3 วัน จำนวน 4 ดักแด้ และได้รุ่นลูกเป็นเพศเมีย และเพศผู้ ชนิดละ 2 ตัว ส่วนดักแด้อายุ 6 วัน พบว่าแตนเบียน *B. nephantidis* ลงเบียนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว จำนวน 4 ดักแด้ ได้ลูกเป็นเพศเมีย 1 ตัว และ เพศผู้ 3 ตัว และดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว อายุ 8-10 วัน ไม่พบแตนเบียน *B. nephantidis* ลงเบียน เนื่องจากดักแด้ หนอนหัวดำมะพร้าวเริ่มพัฒนาเป็นผีเสื้อไม่เหมาะกับการวางไข่และการเจริญเติบโตของแตนเบียนภายในดักแด้ ดังนั้น แตนเบียน *B. nephantidis* เลือกเข้าทำลายดักแด้ หนอนหัวดำมะพร้าวอายุ 3 วัน ได้ดีที่สุด

พฤติกรรมการเบียนของแตนเบียน *B. nephantidis*

1. แตนเบียนเพศเมียค้นหาดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว โดยใช้หนวดทั้งสองข้างสัมผัสบริเวณภายนอกรังดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว และใช้อวัยวะวางไข่ที่พับเก็บบริเวณใต้ท้องยื่นออกมาแทงผ่านรังดักแด้เพื่อค้นหาดักแด้ภายในรังดักแด้ ใช้เวลาประมาณ 5-10 นาที

2. จากนั้นใช้ปากกัดรังดักแด้ให้ขาดเป็นรูและใช้ขาคู่หลังทั้งสองข้างเขี่ยวนบริเวณปากรูให้กว้าง จึงใส่ขาคู่หลังทั้งสองข้างลงไปในรู แล้วใช้อวัยวะวางไข่ใส่ลงไปในรูแทงลงบริเวณกลางลำตัวของดักแด้แล้วจึงวางไข่ ใช้เวลาวางไข่ประมาณ 1-3 นาที (Figure 5)

3. เมื่อวางไข่เสร็จแล้วแตนเบียนจะเดินวนรอบดักแด้ และใช้หนวดสัมผัสบริเวณดักแด้ที่เบียนสักพัก จึงเดินไปหาดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวอื่นต่อไป โดยก่อนเบียนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวตัวถัดไปแตนเบียนจะเกาะพักหยุดนิ่งเป็นเวลา 25-30 นาที จึงเริ่มเบียนอีกครั้ง ตามข้อ 1-3 ตามลำดับ

หากรังดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวไม่หนามาก แตนเบียนจะใช้หนวดสัมผัสบริเวณภายนอกรังดักแด้ และใช้อวัยวะวางไข่แทงลงบริเวณกลางลำตัวดักแด้ผ่านรังดักแด้เลย โดยไม่ใช้ปากกัดรังดักแด้ให้เป็นรูและใส่ขาคู่หลังทั้งสองข้างลงไป

IV **การทดสอบศักยภาพของแตนเบียน *B. nephantidis* ในการเข้าทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว**

จากการทดสอบศักยภาพของแตนเบียน *B. nephantidis* ในการเข้าทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว พบว่า แตนเบียน *B. nephantidis* สามารถเบียนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวได้ 1- 6 ดักแด้ต่อวัน โดยดักแด้ หนอนหัวดำมะพร้าว 1 ดักแด้ ให้ผลผลิตแตนเบียน *B. nephantidis* 1 ตัว แตนเบียนเพศเมียหลังจากฟักเป็นตัวเต็มวัยมีระยะก่อนวางไข่ 5-8 วันจึงเริ่มเบียนดักแด้หนอนหัวดำ

มะพร้าว สามารถเบียนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวได้ตั้งแต่วันที่ 6-44 หลังฟักเป็นตัวเต็มวัย โดยเบียนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวสูงสุดในวันที่ 18 ของการเบียน ช่วงเวลาของการเบียนประมาณ 39 วัน (Figure 6) ซึ่งใกล้เคียงกับรายงานของ Satpathy and Rao (1972) พบว่า แตนเบียนเพศเมีย 1 ตัว สามารถเบียนดักแด้ได้ 5 ดักแด้ต่อวัน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ได้นำเข้าแตนเบียน *B. nephantidis* จำนวน 1,000 ดักแด้ จากประเทศศรีลังกา เมื่อวันที่ 1 กุมภาพันธ์ 2559 โดยออกเป็นตัวเต็มวัยแตนเบียน *B. nephantidis* จำนวน 383 ตัว เป็นแตนเบียนเพศเมีย จำนวน 274 ตัว และแตนเบียนเพศผู้ จำนวน 109 ตัว ดักแด้ที่ไม่สามารถออกเป็นตัวเต็มวัยได้ จำนวน 617 ดักแด้ และไม่พบแมลงชนิดอื่นปะปนมากับแตนเบียน *B. nephantidis* ที่นำเข้า

การทดสอบความจำเพาะเจาะจงต่อแมลงอาศัยกลุ่มแมลงศัตรูพืช 5 ชนิด ได้แก่ ดักแด้หนอนกระทู้ผัก *S. litura* ดักแด้หนอนกระทู้หอม *S. exigua* ดักแด้แมลงดำหนามมะพร้าว*B. longissima* ดักแด้หนอนใยผัก *P. xylostella* และดักแด้หนอนนก *T. molitor* และแมลงอาศัยกลุ่มแมลงที่มีประโยชน์ 3 ชนิด ได้แก่ ดักแด้ไหมอีรี่ *S. ricini* ดักแด้ไหมบ้าน *B. mori* และดักแด้แมลงช้างปีกใส *P. ramburi* พบว่า แตนเบียน *B. nephantidis* ไม่ลงเบียนดักแด้ชนิดใดเลย ยกเว้นลงเบียนดักแด้หนอนกระทู้หอม *S. exigua* (33%) ดังนั้น จึงทดสอบความชอบในการเลือกเข้าทำลายระหว่างดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว และดักแด้หนอนกระทู้หอมเพิ่มเติม พบว่า แตนเบียน *B. nephantidis* ชอบเบียนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว (60%) มากกว่าดักแด้หนอนกระทู้หอม (30%)

จากการศึกษาชีววิทยาของแตนเบียน *B. nephantidis* พบว่า แตนเบียน *B. nephantidis* เป็นแตนเบียนภายใน (endoparasite) ของดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว การเจริญเติบโตของแตนเบียน *B. nephantidis* พบว่า ระยะไข่ใช้เวลา 1 วัน ระยะหนอนใช้เวลา 5-8 วัน ระยะดักแด้ใช้เวลา 6-8 วัน ตัวเต็มวัยเพศเมียอายุเฉลี่ย 52.4±10.88 วัน ตัวเต็มวัยเพศผู้อายุเฉลี่ย 27.6±5.13 วัน ตัวเต็มวัยเพศเมีย 1 ตัว สามารถผลิตแตนเบียนรุ่นลูกได้เฉลี่ย 81.8±24.80 ตัว เป็นแตนเบียนเพศเมียเฉลี่ย 49.2±6.46 ตัว และแตนเบียนเพศผู้เฉลี่ย 32.6±20.47 ตัว อัตราส่วนเพศผู้ : เพศเมีย เท่ากับ 1 : 1.51 จากการ ศึกษาพฤติกรรมการเข้าทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวของแตนเบียน *B. nephantidis* โดยทดสอบอายุดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวที่แตนเบียน *B. nephantidis* ลงทำลายมากที่สุด พบว่าแตนเบียน *B. nephantidis* ลงทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว อายุ 3 วัน มากที่สุด มีความเหมาะสมสำหรับใช้ในการขยายปริมาณแตนเบียน *B. nephantidis*

จากการทดสอบศักยภาพแตนเบียน *B. nephantidis* ในการเข้าทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว *O. arenosella* พบว่า แตนเบียน *B. nephantidis* สามารถเบียนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวได้ 1- 6 ดักแด้ต่อวัน ดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว 1 ดักแด้ ให้ผลผลิตแตนเบียน *B. nephantidis* 1 ตัว แตนเบียนเพศเมียหลังจากฟักเป็นตัวเต็มวัยมีระยะก่อนวางไข่ 5-8 วัน จึงเริ่มเบียนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว

สามารถเบียนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวได้ตั้งแต่วันที่ 6-44 หลังฟักเป็นตัวเต็มวัย โดยเบียนดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าวสูงสุดในวันที่ 18 ของการเบียน ช่วงเวลาของการเบียนประมาณ 39 วัน

หลังจากเสร็จสิ้นการทดลอง ดักแด้และตัวเต็มวัยแตนเบียน *B. nephantidis* ที่เหลือจากการทดลองได้เก็บรวบรวมใส่ถุงพลาสติกมัดปากถุงให้แน่น นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส แรงดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที และได้ดำเนินการขออนุญาตอธิบดีกรมวิชาการเกษตรเพื่อนำแตนเบียน *B. nephantidis* ที่คัดเลือกไว้ไปใช้ประโยชน์ต่อ ซึ่งได้รับอนุญาตให้ดำเนินการทดลองเรียบร้อยแล้ว และจะนำแตนเบียน *B. nephantidis* ไปใช้ในการทดลองภายในโรงเรือนต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ Dr. H. A. J. Gunathilaka, Director, Dr. Priyanthie Fernando, Additional Director และ Mrs. Inoka Suwandhratuae, Entomologist, Mr. Sarath Chandrasiri, Experimental office, Coconut Research Institute, Sri Lanka ที่ช่วยประสานงานในการนำเข้าแตนเบียน *Brachymeria nephantidis* และให้ข้อมูลเรื่องการเพาะเลี้ยงขยายแตนเบียน *B. nephantidis* ที่เป็นประโยชน์ในการดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2558. รายงานสถานการณ์ศัตรูมะพร้าว (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : http://www.ppsf.doae.go.th/the_pest_outbreark/report_pest_2559/Report_pest_infestations_coconut_pes.html (17 ตุลาคม 2558)

Kapadia, M.N. 1999. The rice moth, *Corcyra cephalonica* (Stainton) as a potential laboratory host for rearing of *Brachymeria nephantidis* Gahan and *Brachymeria lasus* Walk. Journal of applied zoological researches. 10(1): 56-57.

Narendran, T.C. 1985. A Taxonomic revision of the chalcid parasites (Hymenoptera: Chalcidoidea)associated with *Opisina arenosella* Walker (Lepidoptera: Xylorictidae). Entomon. 10(2): 83-96.

Nasser, M. and U.C. Abdurahiman. 2001. Biological control and its exploitation in sustainable agriculture. *In* Biological control of the coconut caterpillar *Opisina arenosella* (Lepidoptera: Xylorictidae) achievements and prospects. pp. 285-302. Kliwer Academic/Plenum Publishers, New York.

National Bureau of Agricultural Insect Resources. 2013. *Brachymeria nephantidis* Gahan. (Online). Available. http://www.nbair.res.in/Featured_insects/Brachymeria-nephantidis.php

Pillai, G. B. and K. R. Nair. 1993. Studies on the chalcidid pupal parasitoids of the coconut caterpillar *Opisina arenosella* Walker in Kerala, India. Entomon. 17(3): 183-192.

Saptpathy, J. M. and N. S. Rao. 1972. Biology and bionomics of *Brachymeria nephantidis* Gahan (Hymenoptera: Chalcididae), a pupal parasite of coconut caterpillar (*Nephantis serinopa* Meyrick). Indian Journal of Agricultural Sciences. 42(6): 524-528.

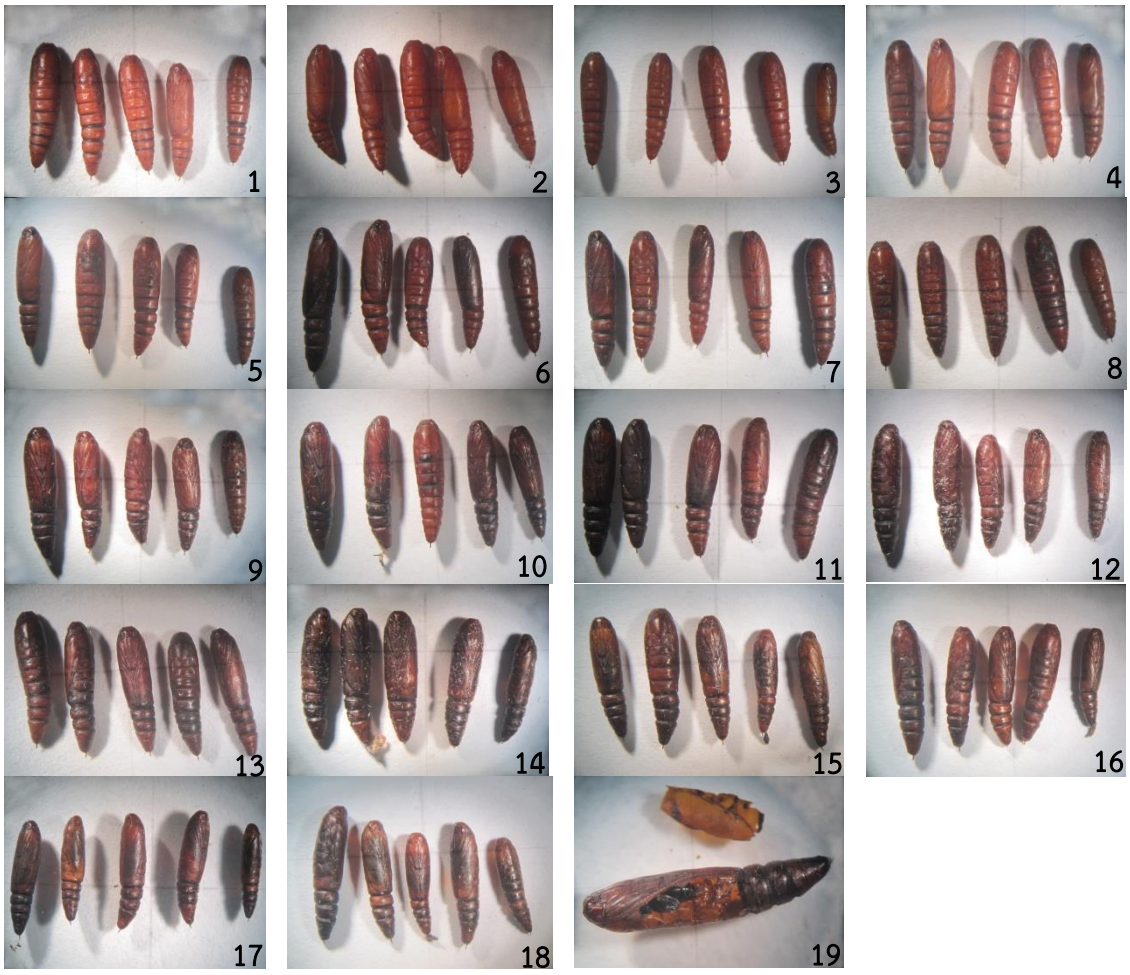


Figure 1 External development of pupal of coconut black headed caterpillar; *Opisina arenosella* after parasitized by pupal parasitoid; *Brachymeria nephantidis*

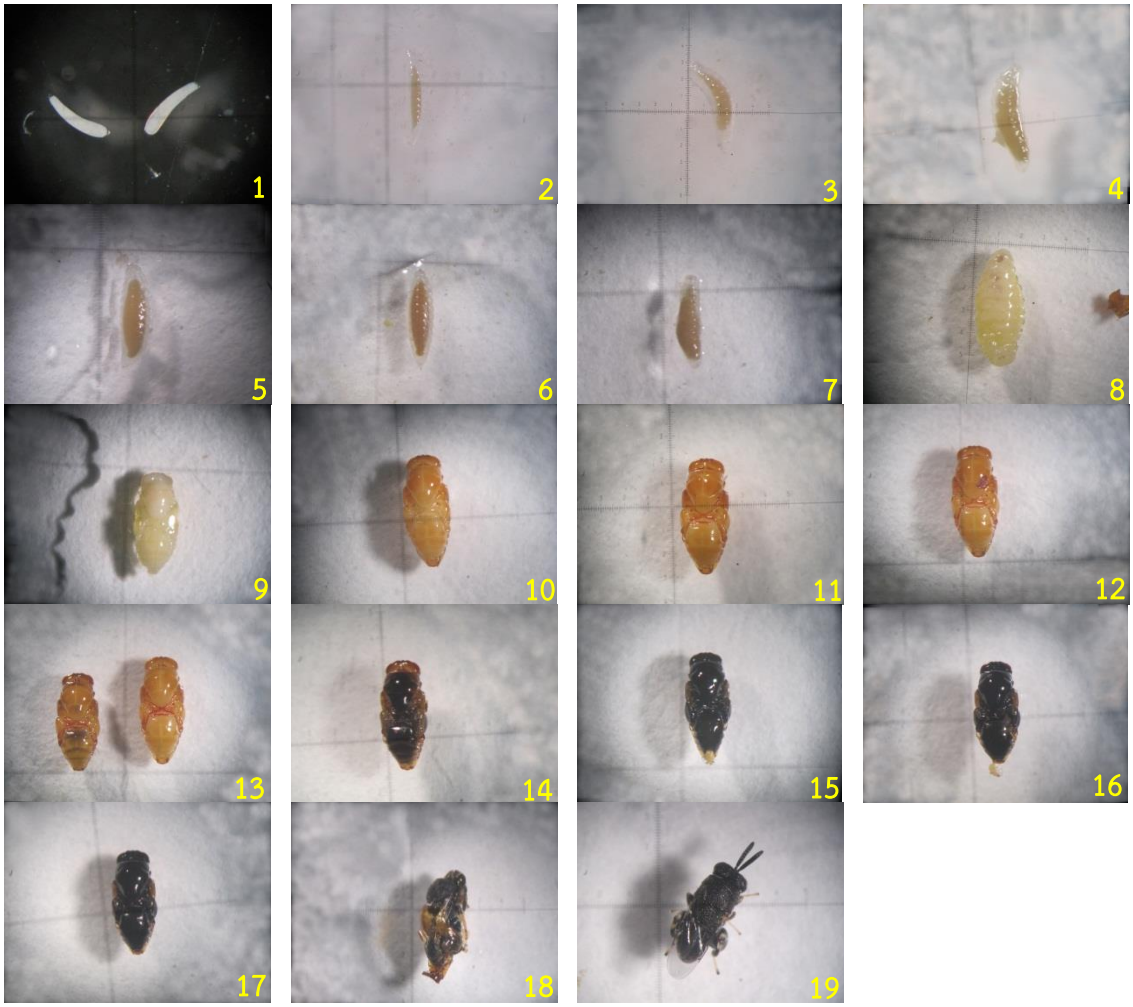


Figure 2 Developmental stage of pupal parasitoid, *Brachymeria nephantidis*
(1) Egg stage, (2) – (8) Larval stage, (9) – (17) Pupal stage, (18) – (19) Adult

Figure 3 General structure of pupal parasitoid, *Brachymeria nephantidis*

(1) Eyes and antennae of *B. nephantidis*

(2) Fore wing and hind wing of *B. nephantidis*

(3) Hind leg of *B. nephantidis*

(4) Ventral view of *B. nephantidis*

(5) – (6) Adult of *B. nephantidis*

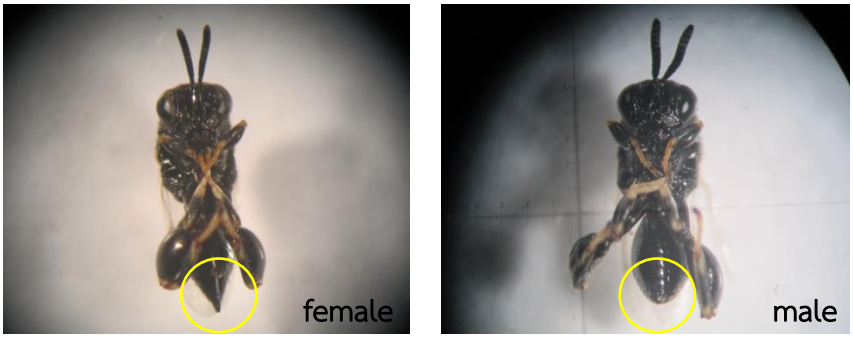


Figure 4 Abdomen of female and male of pupal parasitoid; *Brachymeria nephantidis*

Figure 5 Oviposition behavior of pupal parasitoid; *Brachymeria nephantidis* onto coconut black headed caterpillar; *Opisina arenosella*

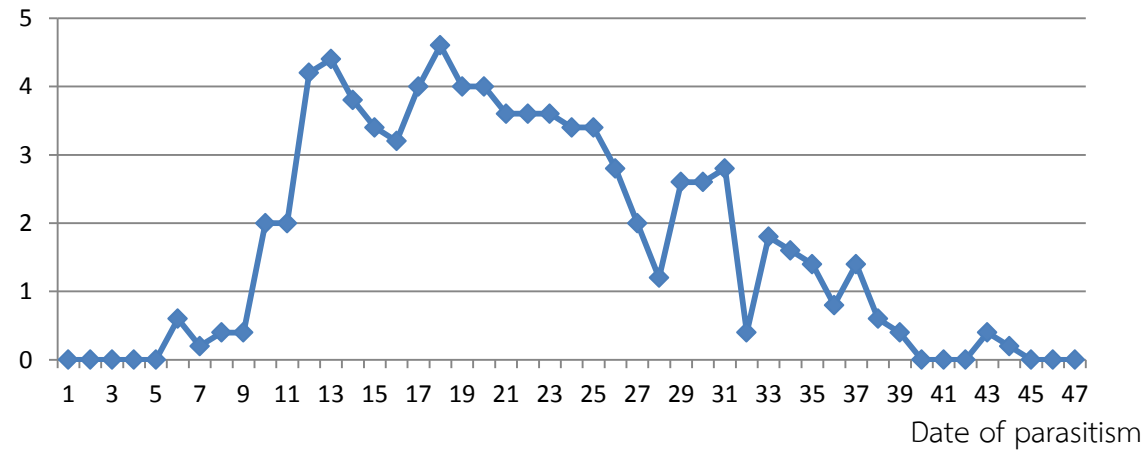
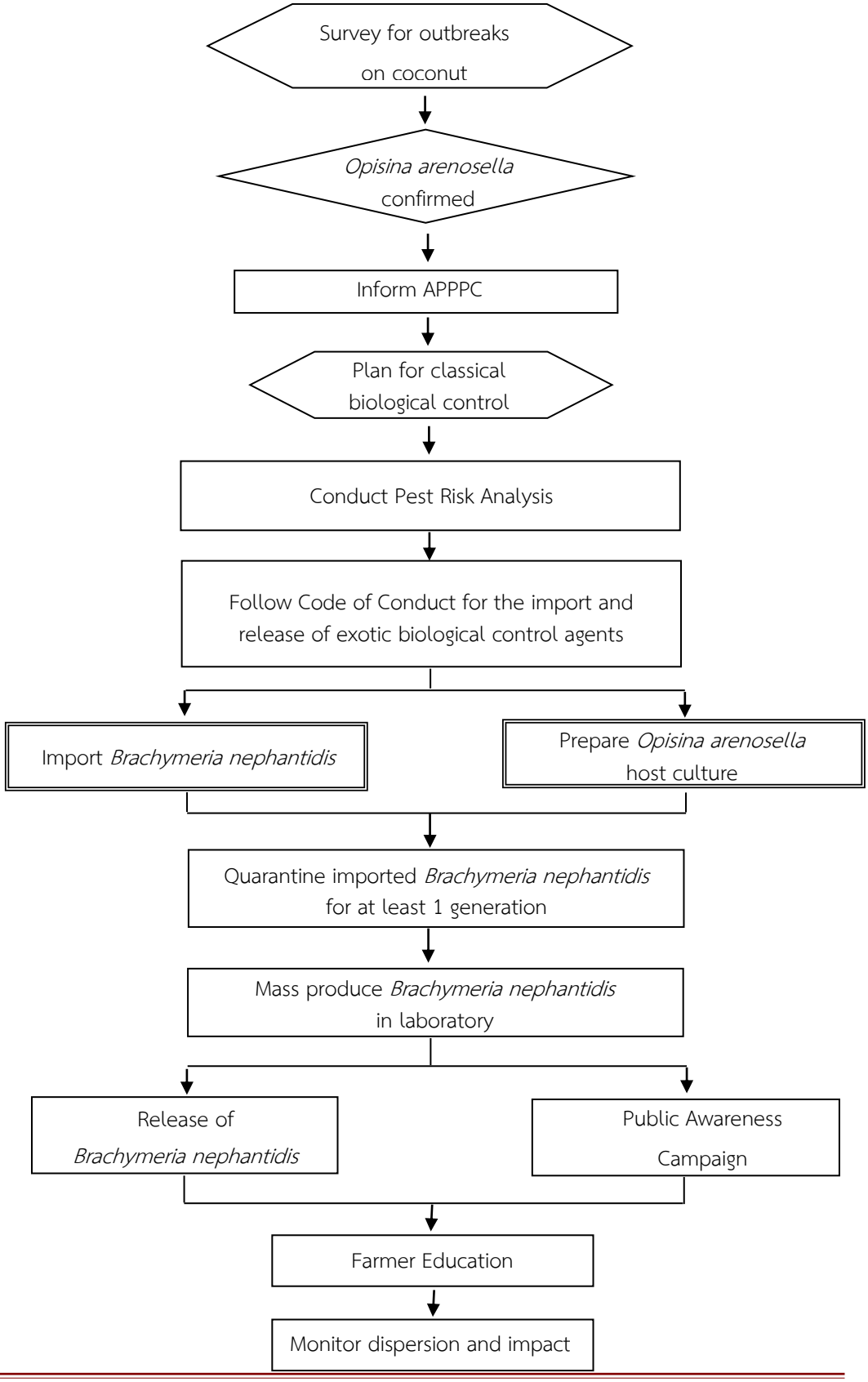


Figure 6 Number of yield of *Brachymeria nephantidis* after parasitized on pupal of coconut black headed caterpillar, *Opisina arenosella* under laboratory condition (25±2°C and 75±2% RH)

Flowchart for *Brachymeria nephantidis* Gahan; pupal parasitoid of coconut black headed caterpillar; *Opisina arenosella* Walker

Biological Control



ภาคผนวก

Attachment 1

แบบ พ.ก.๑-๑
Form P.Q.1-1

ใบอนุญาตนำสิ่งต้องห้ามเข้ามาในราชอาณาจักรเพื่อการทดลองหรือวิจัย
ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. ๒๕๐๗ และที่แก้ไขเพิ่มเติม

Permit to Import Prohibited Articles for Research Purposes
under the Plant Quarantine Act B.E. 2507 and Amended

ใบอนุญาตเลขที่ 36 / 2558
Permit No.

กรมวิชาการเกษตร
Department of Agriculture

ใบอนุญาตฉบับนี้ออกให้แก่ กรมวิชาการเกษตร โดย นางสาวพัชรีวรรณ จงจิตเมตต์
This permit is granted to
ที่อยู่ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร เลขที่ 50 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร
Address
จังหวัด กรุงเทพฯ รหัสไปรษณีย์ 10900
Province Postal code

เพื่อแสดงว่าเป็นผู้ได้รับอนุญาตให้นำเข้าสิ่งต้องห้ามตามรายการดังต่อไปนี้ ☐ ตามรายละเอียดที่แนบ
Certify that has permit to import the prohibited articles as follows: See attachment

ที่ No.	ชื่อสิ่งต้องห้าม Name of prohibited articles	ส่วนของพืชที่นำเข้า Plant parts	ปริมาณ Quantity	แหล่งกำเนิด Place of origin
1	ดักแด้ของแตนเบียน	-	1,000 ดักแด้	สาธารณรัฐสังคมนิยม
	Brachymeria nephantidis Gahan			ประชาธิปไตยศรีลังกา
	(Hymenoptera: Chalcididae)			

ด่านตรวจพืชที่นำเข้า ด่านตรวจพืชไปรษณีย์ วันที่คาดว่าจะนำเข้า ธ.ค. 58 – มิ.ย. 59
Point of entry at plant quarantine station Expected date of arrival

โดยปฏิบัติตามเงื่อนไข ดังนี้
By performance under condition as follows:

เงื่อนไขการนำเข้าแตนเบียนจากสาธารณรัฐสังคมนิยมประชาธิปไตยศรีลังกาเพื่อการทดลองหรือวิจัย
(Conditions for Import of Parasitoid from Democratic Socialist Republic of Sri Lanka for Experiment or Research Purpose)

ใบอนุญาตฉบับนี้ให้ใช้ได้หกเดือนนับตั้งแต่วันที่ออกใบอนุญาตและให้ใช้ได้หนึ่งครั้ง
This permit is valid within six months from date of issuance and good for one shipment only.

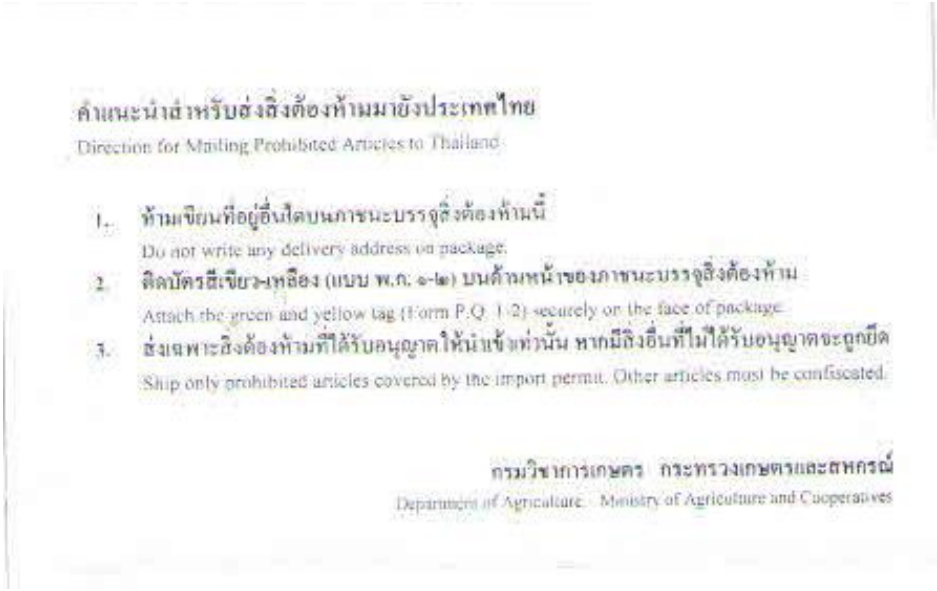
ออกให้ ณ วันที่ ๒๓ เดือน พฤศจิกายน พ.ศ. 2558
Issued on Date Month Year

(ลายมือชื่อ) .....
Signature
(นายธีระ รัตนพันธุ์)
ผู้อำนวยการสำนักคุ้มครองพืชและวัสดุการเกษตร
ปฏิบัติราชการแทน อธิบดีกรมวิชาการเกษตร

หน้า ๑ ของ ๑
Page 1 of 1

import permit (Form P.Q. 1-1) issued by the Department of Agriculture

Attachment 2


คำแนะนำสำหรับส่งสิ่งต้องห้ามมายังประเทศไทย

Direction for Mailing Prohibited Articles to Thailand

1. ห้ามเขียนที่อยู่อื่นใดบนภาชนะบรรจุสิ่งต้องห้ามนี้
Do not write any delivery address on package.
2. ติดบัตรสีเขียว-เหลือง (แบบ พ.ก. ๑-๒) บนด้านหน้าของภาชนะบรรจุสิ่งต้องห้าม
Attach the green and yellow tag (Form P.Q. 1-2) securely on the face of package.
3. ส่งเฉพาะสิ่งต้องห้ามที่ได้รับอนุญาตให้นำเข้าเท่านั้น หากมีสิ่งอื่นที่ไม่ได้รับอนุญาตจะถูกยึด
Ship only prohibited articles covered by the import permit. Other articles must be confiscated.

กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

Department of Agriculture Ministry of Agriculture and Cooperatives

The package must be affixed with tag (Form P.Q. 1-2) securely on the face of package, and do not write any delivery address on package.

Attachment 3

เอกสารแนบท้ายใบอนุญาตนำเข้าเลขที่ ศล /๒๕๕๙

เงื่อนไขการนำเข้าแตนเบียนจากสาธารณรัฐสังคมนิยมประชาธิปไตยศรีลังกา
เพื่อการทดลองหรือวิจัย

เงื่อนไขการนำเข้าต่อไปนี้กำหนดโดยอาศัยอำนาจตามความในมาตรา ๘ (๑) แห่งพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. ๒๕๐๗ ซึ่งแก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ ๓) พ.ศ. ๒๕๕๑ พนักงานเจ้าหน้าที่จะปฏิเสธการนำเข้าสิ่งต้องห้ามเพื่อการทดลองหรือวิจัย ซึ่งไม่ปฏิบัติตามเงื่อนไขให้ครบถ้วน

ข้อ ๑ ชนิดสิ่งต้องห้าม

ดักแด้ของแตนเบียน *Brachymeria nephantidis* Gahan (Hymenoptera: Chalcididae)

(Pupae of *Brachymeria nephantidis* Gahan (Hymenoptera: Chalcididae))

ข้อ ๒ ข้อกำหนดทั่วไปสำหรับการนำเข้า

๒.๑ ต้องมีใบอนุญาตนำเข้า (แบบ พ.ก. ๑-๑) ซึ่งออกให้โดยกรมวิชาการเกษตร

๒.๒ ต้องบรรจุดักแด้ของแตนเบียนในภาชนะบรรจุที่ใหม่ สะอาด แข็งแรง และปิดมิดชิด สามารถป้องกันการปนเปื้อนจากภายนอกหรือป้องกันการเล็ดลอดได้ในระหว่างการขนส่ง

๒.๓ ต้องติดบัตรกำกับบนภาชนะบรรจุสำหรับการนำเข้าสิ่งต้องห้าม (แบบ พ.ก. ๑-๒) บนด้านหน้าของภาชนะบรรจุสิ่งต้องห้าม และห้ามเขียนที่อยู่อื่นใดบนภาชนะบรรจุสิ่งต้องห้าม

ข้อ ๓ ข้อกำหนดเฉพาะสำหรับการนำเข้า

๓.๑ ต้องมีหนังสือรับรองจากหน่วยงานของประเทศผู้ส่งออกว่าแตนเบียนที่นำเข้าคือ *Brachymeria nephantidis* Gahan และต้องปลอดจากตัวเบียนของแตนเบียนชนิดที่ขออนุญาตนำเข้า และจุลินทรีย์สาเหตุโรคของแมลง หรือศัตรูที่เกี่ยวข้อง โดยต้องระบุข้อความในหนังสือรับรองดังต่อไปนี้

"It is certified that the pupae of parasitoid are *Brachymeria nephantidis* Gahan and free from hyperparasites and entomopathogens or associated pests."

๓.๒ สถานที่ดำเนินการทดลองหรือวิจัยต้องผ่านการตรวจสอบจากพนักงานเจ้าหน้าที่ของกรมวิชาการเกษตรว่ามีความเหมาะสม

ข้อ ๔ ข้อกำหนดภายหลังการนำเข้า

๔.๑ ผู้ได้รับใบอนุญาตนำเข้าต้องดำเนินการทดลองหรือวิจัยตามแผนและสถานที่ที่ได้รับความเห็นชอบจากกรมวิชาการเกษตรแล้วเท่านั้น หากผู้ได้รับใบอนุญาตนำเข้าไม่ปฏิบัติตามเงื่อนไขที่กำหนด ให้อธิบดีพิจารณายกเลิกการดำเนินการทดลองหรือวิจัยได้

๔.๒ เมื่อดักแด้ของแตนเบียนมาถึงด่านตรวจพืชที่กำหนดในราชอาณาจักรไทยแล้ว ให้ผู้ได้รับใบอนุญาตนำเข้าหรือตัวแทนแจ้งการนำเข้า และส่งมอบดักแด้ของแตนเบียนนั้นต่อพนักงานเจ้าหน้าที่ ทั้งนี้ ไม่ว่าผู้ได้รับใบอนุญาตนำเข้าจะนำเข้ามาด้วยตนเองหรือโดยวิธีอื่น

๔.๓ พนักงานเจ้าหน้าที่ ณ ด่านตรวจพืชต้องนำดักแด้ของแตนเบียนไปกักไว้ ณ สถานกักพืชหรือสถานที่ที่พนักงานเจ้าหน้าที่กำหนดเพื่อตรวจสอบ

๔.๔ ต้องกักดักแด้ของแตนเบียนที่ได้รับอนุญาตและเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลาอย่างน้อย ๑ รุ่น เพื่อให้มั่นใจว่าแตนเบียนนั้นปราศจากตัวเบียนของแตนเบียนและจุลินทรีย์สาเหตุโรคของแมลง หรือศัตรูที่เกี่ยวข้อง

๔.๕ กรณีตรวจพบลักษณะอาการผิดปกติของแตนเบียนที่อนุญาตนำเข้าและสงสัยว่ามีสาเหตุจากตัวเบียนของแตนเบียนและจุลินทรีย์สาเหตุโรคของแมลง หรือศัตรูที่เกี่ยวข้องที่อาจติดมาจากต่างประเทศ ผู้ได้รับใบอนุญาตนำเข้าต้องแจ้งให้กรมวิชาการเกษตรทราบ หากมีเหตุอันควรเชื่อได้ว่าเกิดจากศัตรูของแตนเบียนที่ไม่มีในประเทศไทยต้องยินยอมให้ทำลาย

๔.๖ ผู้ได้รับใบอนุญาตนำเข้าต้องรายงานผลงานความก้าวหน้าของการทดลองหรือวิจัย และรายงานผลการดำเนินการทดลองหรือวิจัยเมื่อเสร็จสิ้นเป็นลายลักษณ์อักษรต่อคณะอนุกรรมการด้านการนำเข้าสิ่งต้องห้ามเพื่อการทดลองหรือวิจัย ทั้งนี้ คณะอนุกรรมการด้านการนำเข้าสิ่งต้องห้ามเพื่อการทดลองหรือวิจัยอาจให้ผู้ได้รับใบอนุญาตนำเข้านำเสนอผลการดำเนินการทดลองหรือวิจัย

ข้อ ๕ ข้อกำหนดภายหลังเสร็จสิ้นการทดลองหรือวิจัย

๕.๑ ผู้ได้รับใบอนุญาตนำเข้าต้องแจ้งให้อธิบดีกรมวิชาการเกษตรทราบ เมื่อดำเนินการทดลองหรือวิจัยเสร็จสิ้นแล้ว

๕.๒ สิ่งต้องห้ามหรือผลผลิตที่ได้จากสิ่งต้องห้ามนั้น ต้องทำลายภายใต้การควบคุมของพนักงานเจ้าหน้าที่ หรือจัดการตามที่เห็นสมควรตามที่อธิบดีเห็นชอบ

ข้อ ๖ ข้อกำหนดความรับผิดชอบ

๖.๑ กรณีที่เกิดการเล็ดลอดของสิ่งต้องห้ามระหว่างดำเนินการทดลองหรือวิจัย ผู้ได้รับใบอนุญาตนำเข้าต้องรับผิดชอบความเสียหายที่เกิดขึ้นจากการเล็ดลอดทุกกรณี เว้นแต่เหตุสุดวิสัยเท่านั้น

๖.๒ ค่าใช้จ่ายพนักงานเจ้าหน้าที่ในการดำเนินการตามข้อ ๓.๒, ๔.๕, ๕.๒ และอื่นๆ หากจำเป็น ให้ผู้ได้รับใบอนุญาตนำเข้าเป็นผู้ออกค่าใช้จ่าย

ลงชื่อ .....

(นายธีระ รัตนพันธุ์)

ผู้อำนวยการสำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร

วันที่ ๒๘ ธ.ค. ๒๕๕๘

Conditions for Import of Parasitoid from Democratic Socialist Republic of Sri Lanka for Experiment or Research Purpose

การใช้ DNA barcoding สำหรับการตรวจสอบและจัดจำแนกเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* เพื่อสนับสนุนการขึ้นทะเบียนสารชีวภัณฑ์ในเชิงพาณิชย์

DNA Barcoding for Detection and Classification of *Metarhizium anisopliae* for Supporting the Registration of Bio-pesticide

เมธาสิทธิ์ คนการ[1/] เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์[1/] ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล[2/] รุ่งนภา พิทักษ์ตันสกุล[4/]
ชนินทร ดวงสอาด[2/] พรพิมล อธิปัญญาคม[3/]

[1/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กุล่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[3/]ผู้เชี่ยวชาญ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[4/]กลุ่มวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

Abstract

The use of entomopathogenic fungi as *Metarhizium* spp. has been developed for biological control products in Thailand. However, the morphological overlapping of this species has been difficult for identified by using morphological characteristics. Therefore, The study of DNA barcodes for detection and classification were implemented. A total of 22 Metarhizium isolates were obtained from department of agricultures and identified by using ITS, BT and EF gene regions conducted during February – September 2559. The preliminary result, ITS gene region were easy to amplify and the probability of successful identification for the broad range of *Metarhzium anisopliae* sensu lato complex including ability to identified into species level. However, its was not suitable for classified in the member of *M.anisopliae* species complex. Additionally, the result of BT and EF genes were able to distinguished *M.anisopliae* in the complex. However, the disadvantage of BT and EF gene were difficult to amplified.The Maximum likelihood phylogeny revealed of a single gene was not able to distinguish this group of fungi. Therefore, when the phylogenetic analysis of concatenated dataset for ITS , BT and EF gene regions revealed unique a monophyletic clade of the difference of 2 group which based on conidia characteristics and comparison which belong to *M. anisopliae* species complex . Therefore, the results supported an idea of using multi-locus barcodes for these species

Keywords : DNA barcoding *Metarhizium anisopliae* bio-pesticide

โครงการวิจัยเร่งด่วน

บทคัดย่อ

การใช้เชื้อราโรคแมลง เชื้อราเขียว *Metarhizium* spp. ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชได้ถูกพัฒนามาเป็นสารชีวภัณฑ์ที่ใช้ในประเทศไทยอย่างแพร่หลาย แต่ความเหมือนกันทางด้านสัณฐานวิทยาของเชื้อราในกลุ่มนี้ ให้ไม่สามารถบ่งชี้ชนิดของเชื้อราในระดับชนิดได้โดยใช้ข้อมูลทางสัณฐานวิทยา ดังนั้นการศึกษาเทคนิคดีเอ็นเอบาร์โคดสำหรับตรวจสอบและจัดจำแนก เชื้อราดังกล่าวจึงถูกพัฒนาขึ้น โดยการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ในตำแหน่งยีน ITS, BT และ EF จากเชื้อราเขียว *M. anisopliae* จำนวน 22 ไอโซเลท จากกรมวิชาการเกษตร ทำวิจัยในช่วงเดือน กุมภาพันธ์-กันยายน 2559 จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณตำแหน่งยีน ITS ของ พบว่าสามารถระบุเชื้อราดังกล่าวในระดับชนิดซึ่งอยู่ในกลุ่ม *Metarhizium anisopliae* sensu lato complex แต่ไม่สามารถจำแนกเชื้อราในระดับ *M. anisopliae* species complex ได้ สำหรับตำแหน่งยีน BT และ EF นั้นสามารถจัดจำแนก และระบุชนิด เชื้อราในลำดับย่อยลงไป แต่ข้อเสียคือเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ยาก และเมื่อเปรียบเทียบข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์โดยการสร้างความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการพบว่าไม่สามารถใช้ยีนตำแหน่งเดียวในการจัดจำแนกเชื้อราในกลุ่มนี้ได้ อย่างไรก็ตามเมื่อใช้ข้อมูลยีนหลายตำแหน่งมาวิเคราะห์ร่วมกันเพื่อจัดจำแนกและระบุชนิดของเชื้อราในกลุ่มนี้พบว่าสามารถจำแนกชนิดของเชื้อรา *M. anisopliae* ได้โดยการสร้าง monophyletic lineage อยู่ใน *M. anisopliae* species complex ผลจากงานวิจัยสนับสนุนแนวคิดของการใช้ข้อมูลจากยีนหลายตำแหน่งในการประยุกต์เป็น ดีเอ็นเอบาร์โคด

คำหลัก : DNA barcoding เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* สารชีวภัณฑ์

คำนำ

เชื้อรา *M. anisopliae* หรือ เชื้อราเขียว (green muscardine) อยู่ในกลุ่มของ เชื้อราโรคแมลง (entomopathogenic fungi) Family Clavicipitaceae (Sordariomycetes:Hypocreales) ในเมืองไทยได้มีการศึกษาการนำเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมมาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชหลายชนิด จากรายงานผลงานค้นคว้าวิจัยตั้งแต่ปี 2525-2539 โดยมลิวัลย์ (2538) พบว่าสามารถนำเชื้อราโรคแมลงมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืช ได้แก่ ด้วงแรดมะพร้าว (*Oryctes rhinoceros* L.) มอดเจาะผลกาแฟ (*Hypothenemus hampei*) และมวนโกโก้ (*Helopeltis* sp.) จากนั้นเสาวนิตย์และคณะ (2554) ได้ทำการคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียว *Metarhizium* spp. ในห้องปฏิบัติการ โดยเน้นการควบคุมแมลงศัตรูมะพร้าว ได้แก่ หนอนด้วงแรดมะพร้าว หนอนแมลงดำหนาม และหนอนหัวดำมะพร้าว จากการดำเนินงานที่ผ่านมาได้เก็บรวบรวมเชื้อราเขียว *Metarhizium* spp. จากแมลงอาศัยหลากหลายชนิดจากแหล่งต่างๆ แต่ยังไม่สามารถตรวจสอบและจัดจำแนกเชื้อราเขียวโรคแมลงดังกล่าวได้เพราะเชื้อราเขียวมีความคล้ายคลึงกันทางด้านสัณฐานวิทยา (cryptic species) ทำให้ห้องปฏิบัติการเชื้อราโรคแมลงของกรมวิชาการเกษตรไม่สามารถตรวจสอบชนิด (species) และระดับพันธุกรรมของเชื้อราได้

การใช้ชีวภัณฑ์ประเภทเชื้อราควบคุมแมลงในปัจจุบันยังมีข้อจำกัดอยู่มาก เช่น ไม่สามารถซื้อหาได้ในบางพื้นที่และมีกระบวนการผลิตที่ยุ่งยากซับซ้อน ที่สำคัญวิธีการขนส่งและอุณหภูมิในการจัดเก็บยังมีผลกระทบต่อความมีชีวิตรอดของผลิตภัณฑ์โดยตรง ปัจจุบันพบว่าสารชีวภัณฑ์ส่วนใหญ่ที่วางขายตามท้องตลาดยังไม่มีคุณภาพตามมาตรฐานของกรมวิชาการเกษตร ส่งผลทำให้เกษตรกรขาดความเชื่อถือในการใช้ชีวภัณฑ์ดังกล่าว ในปัจจุบันกรมวิชาการเกษตรเริ่มมีการผลักดันให้มีการขึ้นทะเบียนสารชีวภัณฑ์เพื่อควบคุมคุณภาพ และเพื่อให้สารชีวภัณฑ์ให้ถูกต้องตามพระราชบัญญัติการขึ้นทะเบียนวัตถุอันตรายทางการเกษตร กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชเป็นผู้รับผิดชอบตรวจสอบผลิตภัณฑ์เชื้อราโรคแมลงที่นำมาขึ้นทะเบียน

วิธีการที่ใช้ในการตรวจสอบสารชีวภัณฑ์เชื้อราโรคแมลง คือวิธีทางสัณฐานวิทยา (morphological studies) ข้อดีของวิธีการดังกล่าวคือ สามารถแยกเชื้อราจากตัวอย่างผลิตภันฑ์ได้ง่ายและบ่งบอกชนิดของเชื้อราในระดับสกุลได้ แต่ข้อเสียของวิธีดังกล่าวคือ ไม่สามารถระบุชนิดสายพันธุ์ (species) ของเชื้อราได้ โดยเฉพาะเชื้อราในกลุ่มราเขียว *Metarhizium* sp. ซึ่งมีลักษณะสัณฐานวิทยาที่คล้ายกันซึ่งเป็นปัญหาในการตรวจสอบเชื้อราโรคแมลงในสารชีวภัณฑ์ที่นำมาขึ้นทะเบียนไม่มีความถูกต้องและแม่นยำ

การประยุกต์ใช้ DNA barcoding เป็นเทคนิคที่ใช้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ ซึ่งเป็นระบบมาตรฐานมาช่วยสนับสนุนการจัดจำแนกและระบุสิ่งมีชีวิต จึงมีความสำคัญให้ความรวดเร็ว ถูกต้องและแม่นยำ (Hebert *et al.,* 2003) โดยเทคนิคดังกล่าวสามารถนำมาประยุกต์ตรวจสอบและจัดจำแนกเชื้อราได้ตรงตามลักษณะทางพันธุกรรมได้อย่างถูกต้องเป็นที่ยอมรับในระบบสากลได้ ดังนั้นงานวิจัยครั้งนี้ได้นำเอาเทคนิคดังกล่าวมาประยุกต์ใช้สนับสนุนงานวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยาย การใช้ประโยนช์ของชีวินทรีย์สู่เชิงพาณิชย์ของเชื้อราในกลุ่ม *M. anisopliae sensu lato* complex โดยเฉพาะสามารถจัดจำแนกเชื้อราเขียว *Metarhizium* sp. DOA M5 ควบคุมด้วงแรดในมะพร้าวอีกด้วย นอกจากนี้เทคนิคดังกล่าวยังสามารถช่วยปกป้องทรัพย์สินทางปัญญาของกรมวิชาการเกษตร เช่น ในกรณีที่มีการเอาเชื้อรา *M. anisopliae* สายพันธุ์ DOA ไปใช้ในเชิงพาณิชย์โดยไม่ได้รับอนุญาตจากกรมวิชาการเกษตร เทคนิค DNA barcoding ยังสามารถประยุกต์ใช้ในการตรวจสอบเชื้อราโรคแมลงสายพันธุ์ใหม่ๆที่แยกได้จากตัวอย่างธรรมชาติได้อย่างถูกต้องรวดเร็ว แม่นยำ และที่สำคัญคือเพื่อสนับสนุนการขึ้นทะเบียนสารชีวภัณฑ์ในเชิงพาณิชย์

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ชุดสำหรับสกัดดีเอ็น (Pepman Ultra DNA extraction)
2. ไพร์เมอร์ จำนวน 6 คู่
3. หลอดไมโครทูป 0.2 ml และ 1.5 ml พร้อมกล่องใส่ทูป

4. ทิบ (Tip) ดูดสารเคมี (10 µl, 200 µl, 1000μl) พร้อมกล่องในทิป
5. อะการ์โรสเจล (agarose gel) 100 กรัม
6. เอ็นเอ มาค์เกอร์ (DNA marker 100 base pair) 75 UG
7. ชุดสกัดดีเอ็นเอจากพีซีอาร์โปรดัก (High pure PCR product Purification kit) 50 rxns
8. ชุดดีเอ็นเอ ตรวจสอบ Red gel
9. สีย้อมสารพันธุกรรม
10. สารเคมี (Tris-HCL, EDTA, NaCl, Na2SO3, Isomyl alcohol, Isopropanol)
11. เอมไซม์และเทคโพลีเมอร์เรส PCR & enzyme &Tag polymerase
12. เชื้อรา *Metarhizium* spp. กรมวิชาการเกษตร
13. เครื่องเพิ่มปริมาณ DNA (DNA Thermal Cycler PERKIN ELMER 9700)
14. เครื่อง gel electrophoresis
15. เครื่อง centrifuges
16. UV transilluminator
17. น้ำกลั่นสำหรับทำปฏิกิริยา พีซีอาร์
18. อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA, MEA

วิธีการ

1. การสกัดดีเอ็นเอ การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ และหาลำดับนิวคลีโอไทด์

1.1 ขั้นตอนการเตรียมสกัดเชื้อราเขียว Metarhizium

เลี้ยงเชื้อรา *M. anisopliae* (DOA) บนอาหาร MEA (Malt extract Agar) ที่อุณหภูมิห้อง ประมาณ 7-10 วัน จากนั้นสกัดดีเอ็นเอโดยใช้ชุดน้ำยาสำเร็จรูป Prep man ultra (Applied Biosystems) โดยวิธีการขูดเส้นใยปริมาณเล็กน้อยลงใน appendorf tube ขนาด 100 µl ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ จากนั้นทำการบดเส้นใยแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส ปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูงที่ความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที (rpm) ประมาณ 10 นาที เก็บสารแขวนลอยดีเอ็นเอที่ 4 องศาเซลเซียส เพื่อตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอต่อไป จากนั้นวัดคุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอโดยเครื่องวัดคุณภาพดีเอ็นเอ Nano Drop Spectrophotometer

1.2 เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยวิธีการ PCR (Polymerase Chain Reaction)

คัดเลือก primer และหาอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาที่เหมาะสม โดยใช้ primer ในส่วนของ rDNA (ITS1, ITS2, และ 5.8 S rRNA Gene) คือ primer ITS F1(5-CTTGGTCATT-TAGAGGAAGTAA-3)-ITS4 (5-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3) (Gardes and Brun, 1993, White *et al.*, 1990) และ protein-code gene ได้แก่ partial of ß-tubulin ; Bt2a (5-GGTAACCAAATCGGTGCTGCT-3)-Bt2b(5'-ACCCTCAGTGTAGTG ACCCTTGGC-3') (Glass and Donaldson, 1995) และ translation

elongation factor 1α ได้แก่ primer EF1F (5-TGCGGTGGTATCGA CAAGCGT-3 และEF1R (5-AGCATGTTGTCGCCGTTG AAG-3) (Linnakoski *et al.,* 2010) ส่วนผสมปฏิกิริยา PCR 25 µl เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (Linnakoski *et al.,* 2010) ประกอบไปด้วยสารเคมีต่อไปนี้ (Mytag buffer, Bioline, USA), PCR grade water 16.5 µl, PCR buffer 5 µl, Forward primer 0.5µl, Reverse primer 0.5 µl, Tag polymerase 0.5 µl, DNA template 2 µl ขั้น Initiation Denaturing อุณหภูมิ 95˚C 4 นาที 1 รอบ อุณหภูมิ 94˚C 1 นาที อุณหภูมิ (ITS=50-52, BT=54-57,EF=55-60) 30 วินาที อุณหภูมิ 72˚C1 นาที รวมทั้งหมด 35 รอบ ตามดวยขั้น Final Elongation อุณหภูมิ 72˚C 5 นาที 1 รอบ

1.3 การบันทึกข้อมูล

ตรวจสอบผลปฏิกิริยา PCR ภายใต้ UV light บน 1% agarose gel ในสารละลาย 0.5x TAE buffer (40 mM Tris, 4mM sodium acetate, 1mM EDTA, pH 8) และย้อมสีดีเอ็นเอด้วย Gelred™ nucleic acid (Biotium) จากนั้นทำดีเอ็นเอให้มีความบริสุทธิ์โดยใช้ชุดสำเร็จรูป DNA Clean and Concentrator™—25 Kit, (Zumo Research) จากนั้นส่งตัวอย่าง PCR product ที่ได้ไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์ (DNA sequencing)

1.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลที่ได้จากการถอดรหัสลำดับนิวคลีโอไทด์ โดยใช้โปรแกรม Bioinformatics โดยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ โดยใช้ Basic local alignment search tool (BLAST) เพื่อให้ทราบสายพันธุ์ของเชื้อราในระบบ Gene bank ของ NCBI (National Central for Biotechnology Information) และจัดเตรียมข้อมูล DNA consensus ก่อนจัดกลุ่มข้อมูลเพื่อนำไปวิเคราะห์ขั้นตอนต่อไป โดยการใช้โปรแกรม CLC genomic work bench และนำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ จาก NCBI ในการเปรียบเทียบ เพื่อที่จะจัดทำ phylogenetic tree ในขั้นตอนต่อไป โดย ใช้โปรแกรม MEGA 7.5 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) (Tamura *et al.,* 2013) และ MAFFT V7. (a Multiple Sequences Alignment Program) (Katoh, 2013) ในการจัดการข้อมูลก่อนนำไปวิเคราะห์ phylogenetic โดยการวิธีการวิเคราะห์ Maximum likelihood phylogentic tree (ML tree) โดยใช้โปรแกรม RAxML(Randomized Axelerated Maximum Likelihood), Phyml (Phylogenetic estimation using Maximum likelihood) และ MrBayes (Bayesian inferences of phylogenetic trees) และลงทะเบียนเชื้อราใน NCBI (national centralfor biotechnology information) เพื่อเป็นข้อมูลอ้างอิงในระบบสากล รวบรวมเชื้อรา *M. anisopliae* และเก็บเชื้อราไว้ในระบบ cultures collection

เวลาและสถานที่

มกราคม 2559 สิ้นสุด เดือนกันยายน 2559

ห้องปฏิบัติการเชื้อราโรคแมลง, กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ,

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

และ ห้องปฏิบัติการชีวโมเลกุล สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

เลี้ยงเชื้อราเมตาไรเซียมในห้องปฏิบัติการกลุ่มงานการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชกรมวิชาการเกษตร (*M. anisopliae* DOA) จำนวน 22 ไอโซเลท เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อรา MEA เป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ พบว่าเชื้อราเจริญเต็มบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (Figure1.) สามารถแบ่งลักษณะสีของโคโลนี และสัณฐานภายนอกเป็น 2 กลุ่ม ใหญ่ด้วยกัน รวมทั้งลักษณะโคนิเดียที่มีลักษณะ ellipsoidal conidia ไปจนถึง cylindrical conidia หลากหลายขนาดในกำลังขยาย 100 X กลุ่มที่ 1 2.70-3.49 x 11.74-14.19 µm กลุ่มที่ 2 2.56-2.90 x 6.36-7.30 µm

สกัดดีเอ็นเอเชื้อรา *Metarhizium* spp. จำนวน 22 ไอโซเลท แล้วใช้เป็นดีเอ็นเอต้นแบบในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีปฏิกิริยา PCR ในบริเวณตำแหน่ง ITS1-5.8s-ITS2 rDNA โดยใช้ primer ITSF1 และ ITSF1 พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ทุกไอโซเลทมีขนาดของชิ้นดีเอ็นเอขนาด 650 คู่เบส (base pair) ตรวจสอบชิ้นส่วนดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอะกาโรสเจลซึ่งสอดคล้องกับ (อลงกต, 2549) จากนั้นเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ primer Bt2a-Bt2b และ EF1F-EF1R พบว่าเพิ่มปริมาณดีเอ็นได้ไม่ครบทุกไอโซเลตและปรับเปลี่ยนอุณหภูมิในขั้นตอน annealing จนได้ PCR product ที่ได้มีขนาดประมาณ 350-400 bp และ 650 bp ตามลำดับ จากการตรวจสอบวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์พบว่าเชื้อราในกลุ่มดังกล่าวมีความฝันแปรสูงของปริมาณ GC-rich content เป็นสาเหตุทำให้ยากต่อการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ และสังเคราะห์นิวคลีโอไทด์ (kepler et al., 2014)

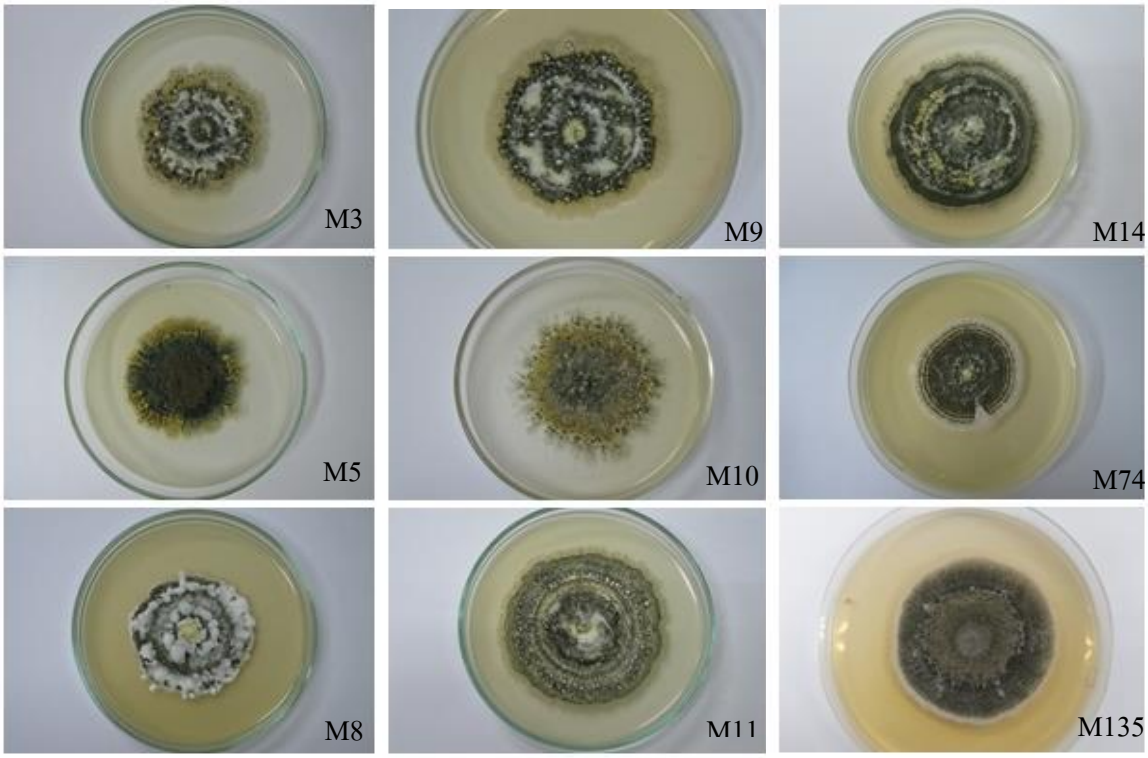


Figure 1. Morphological characterized of colony of *Metarhizium* spp.

Table1. The representative of *M. anisopliae* from DOA culture collection used for combined dataset in this study

DOA Culture collection	No.	Host	Location	Blast results		
				ITS	BT	EF
M.anisopliae	M 3	*Dorysthenes buqueti* Guerin	National Biological Control Research Center	*M.anisopliae* 98%	*Metacordyceps brittlebankisoides* 98%	*M. guizhouense* 98%
M.anisopliae	M 8	*Lepidiota stigma* Fabricius	Prachuap Khiri Khan	*M.anisopliae* 98%	*Metacordyceps brittlebankisoides* 98%	*M. guizhouense* 98%
M.anisopliae	M 9	*Lepidiota stigma* Fabricius	Prachuap Khiri Khan	*M.anisopliae* 98%	*Metacordyceps brittlebankisoides* 98%	*M. guizhouense* 98%
M.anisopliae	M 10	*Dorysthenes buqueti* Guerin	Ratchaburi	*M.anisopliae* 98%	*Metacordyceps brittlebankisoides* 98%	*M. guizhouense* 98%
M.anisopliae	M 14	*Dorysthenes buqueti* Guerin	Ratchaburi	*M.anisopliae* 98%	*Metacordyceps brittlebankisoides* 98%	*M. guizhouense* 98%
M.anisopliae	M 15	*Dorysthenes buqueti* Guerin	Kanchanaburi	*M.anisopliae* 98%	*Metacordyceps brittlebankisoides* 98%	*M. guizhouense* 98%
M.anisopliae	M 2	*Orytes rhinoceros* Linnaeus	DOAE	*M.guizhouense* 89%	*M.majus* 98 %	*M.majus* 98%
M.anisopliae	M 5	*Orytes rhinoceros* Linnaeus	Ratchaburi	*M.guizhouense* 84%	*M.majus* 98 %	*M.majus* 98%

จากการวิเคราะห์ และประเมินความสามารถของลำดับนิวคลีโอไทด์ เพื่อหาบริเวณส่วนของยีนที่เหมาะสมในการทำ DNA barcode ของเชื้อราเขียวเมตาไรเซียม พบว่าเบื้องต้น ITS region สามารถระบุชนิด (species) เบื่องต้นได้ (table 1) ซึ่งตรงกับรายงานของ The consortium for the barcode life คือ ITS region เหมาะที่จะนำมาเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการจัดจำแนกเชื้อรา และเหมาะที่จะนำมาเป็นบาร์โค๊ดสำหรับเชื้อรากลุ่มกว้างๆได้ (universal fungal barcode) จากผลการทดลองพบว่าสามารถจำแนก *M. flavoviride* species complex ออกจากเชื้อราเมตาไรเซียม *M.anisopliae* specie complex ได้อย่างชัดเจน (Seifert 2009; Schoch *et al*., 2012; Purty and Chatterjee 2016) แต่มีข้อจำกัด คือไม่สามารถจำแนกเชื้อราดังกล่าวได้ในระดับ species complex

จากการหาความสัมพันธ์ทางด้านวิวัฒนาการ (phylogenetic tree) โดยใช้ข้อมูลจากตำแหน่งยีนตำแหน่งเดียวบริเวณ ITS gene และวิเคราะห์แบบ MrBayes (Figure.2) พบว่าเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมของกรมวิชาการเกษตร (*M. anisoliae* DOA) จึงไม่สามารถจำแนกออกมาจากกลุ่ม *M. anisopliae* specie complex ประกอบไปด้วย*M. anisopliae* ซึ่งเป็น type species ในกลุ่มนี้ รวมทั้ง *M. quizhouense, M. majus, M. album, M. pinghaense, M. brunneum, M. robosii*, *M. lepidiotae* และ *Metacordyceps taii* ดังนั้นจึงมีการคัดเลือกตัวแทนไอโซเลท M2, M3, M5, M8, M9, M10 และ M14 (table 1) เพิ่มปริมาณในยีนตำแหน่งอื่นๆเพื่อหาตำแหน่งยีนที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ร่วมกันโดยใช้ตำแหน่งยีน BT และ EF เป็นต้น

จากการวิเคราะห์ phylogenetic tree โดยใช้วิธี Maximum likelihood method (ML) แบบรวมข้อมูล (combined data set) ทั้ง 3 ตำแหน่งยีน คือ ITS, BT และ EF โดยการเปรียบเทียบการวิเคราะห์ทั้ง 3 แบบ คือRAxML Phyml และ MrBayes analyses ซึ่งตรงกับการรายงานของ Schoch *et al.,* (2012) ได้ใช้ 4 ยีน คือ ITS, LSU, SSU และ RPB1 พบว่าสามารถระบุเชื้อราได้อย่างถูกต้องหรือที่เรียกว่า PCI (probability of correct identification) (Chen WH *et al*., 2017) และใช้ค่าสถิติสนับสนุนบน node tree คือ Bootstrap support และ posterior probability พบว่าข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ ML topology ทั้งสามวิธีที่ได้ไปในทิศทางเดียวกัน (congruent) (Figure.3) ดังนั้นทำให้สรุปได้ว่า เชื้อราเมตาไรเซียมกรมวิชาการเกษตรที่ใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชที่มีการระบุว่าเป็น *M.anisopliae* โดยวิธีการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาในอดีต ซึ่งมีข้อจำกัดทางด้านเครื่องมือและเทคโนโลยีนั้น ในปัจจุบันแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม โดยอาศัยข้อมูลพื้นฐานทางด้านพันธุศาตร์ซึ่งสร้าง monophyletic clade อยู่ใน *M.anisopliae* complex ซึ่งประกอบไปด้วย *M. anisopliae M. quizhoense M. pingshaense M. acridum M. majus M. lepidiotae M. quizhouense M. globosum* และ *M. robertsii* (Bischoff *et al*., 2009) ได้อย่างชัดเจนมีค่าสถิติ Bootstrap สนับสนุนมากกว่า 75 % และ posterior probability (Figure.3) รวมทั้งข้อมูลทางด้านรูปร่างของโคนิเดียที่ต่างกัน คือ โคนิเดียลักษณะรูปร่างแบบ ellipsoidal conidia และโคนิเดียลักษณะรูปร่างเป็น cylindrical conidia ซึ่งจะทำการศึกษา taxonomy และตั้งชื่อต่อไป

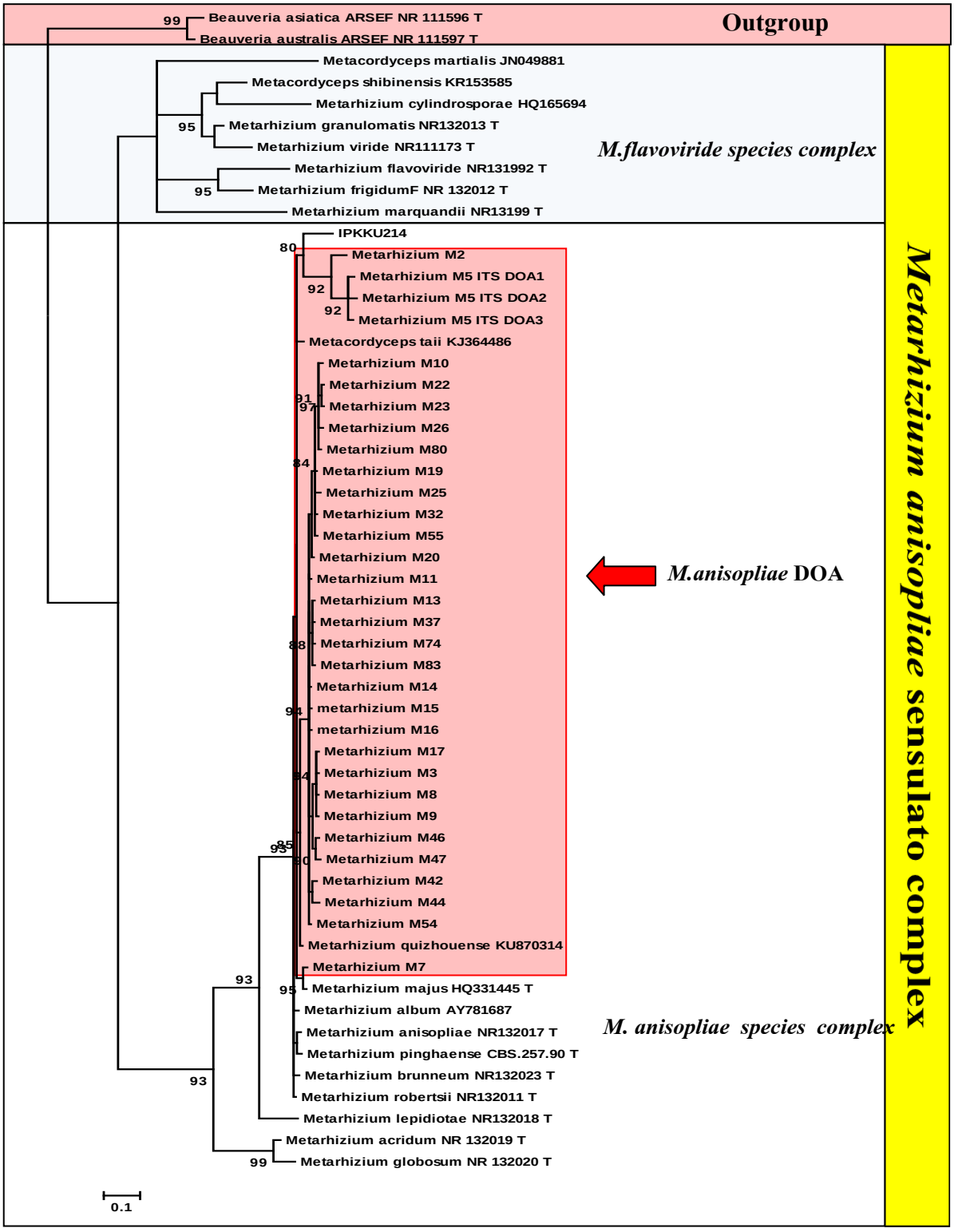


Figure.2 Maximium likelihood phylogeny inferred from the preliminary results of ITS gene regions with statistical supported value of Bayesian posterior probabilities ≥ 95%. T=ex-type material

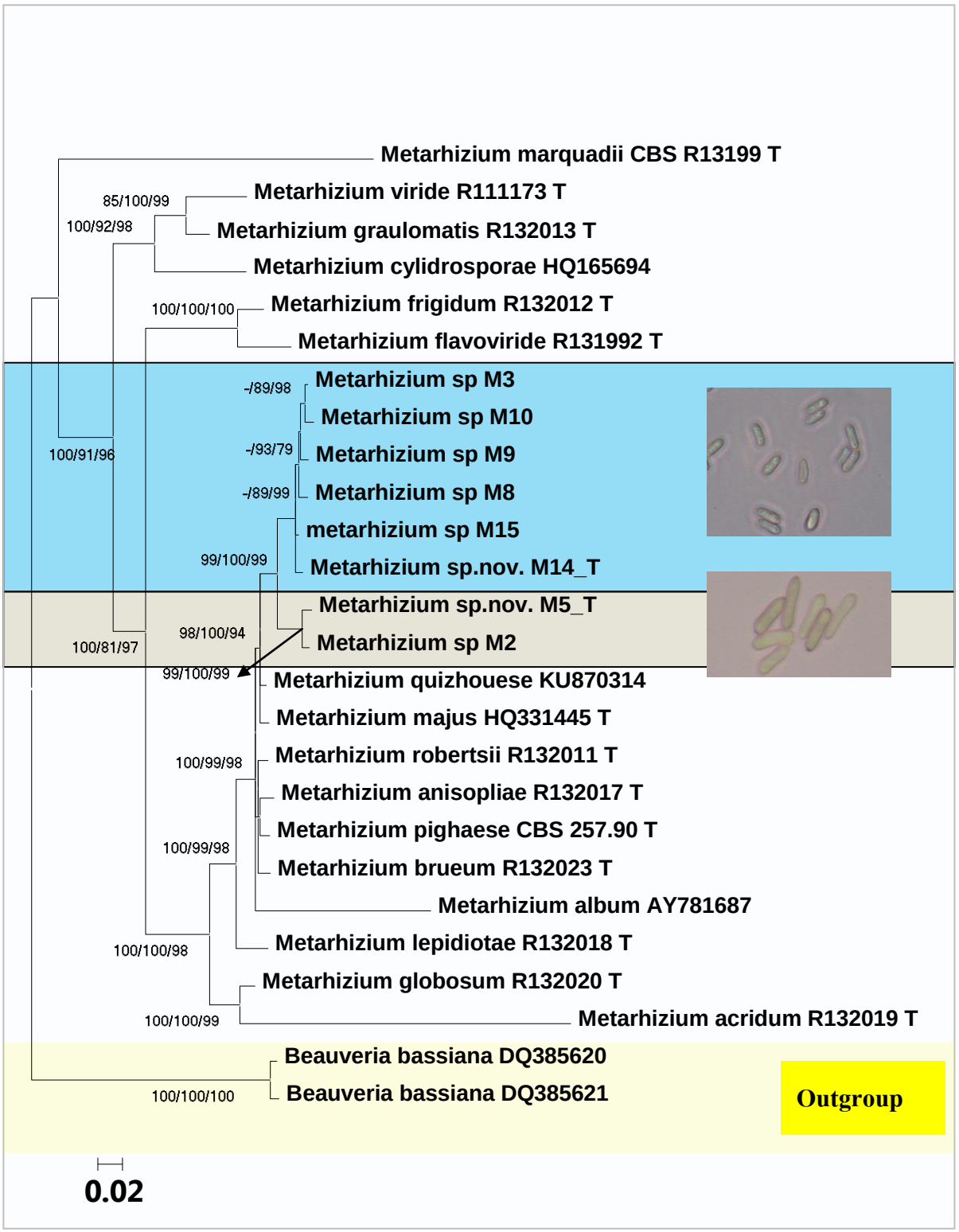


Figure.3 Phylogenetic tree generated from Maximium likelihood phylogeny inferred from the analysis of combination dataset of the gene ITS, BT and EF. Support value were obtained 1,000 bootraps replicates (≥75%) for Phyml and RaxML, Bayesian probabilities (≥95%) indicated at node. T=ex-type material

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. จากผลการศึกษาและพัฒนาดีเอ็นเอบาร์โค๊ดสำหรับตรวจสอบและจัดจำแนกเชื้อราเขียว *M. anisopliae* DOA พบว่าในเบื้องต้นสามารถใช้ข้อมูลนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS gene ในการระบุระดับ species อย่างรวดเร็ว (rapid identification) ในจัดจำแนกเชื้อรา *Metarhizium* spp. ได้ซึ่งตรงกับรายงานของ The international fungal barcoding consortium ได้ระบุเอาไว้ (Schorh *et al.,* 2012) แต่ในกรณีที่ต้องการระบุเป็น species หรือ sub species ในระดับ species complex หรือ cryptic species จะไม่สามารถใช้ข้อมูลดังกล่าวได้ เนื่องจากข้อมูลมีความแปรปรวนสูงในการ BLAST เพื่อหา homologous species ใน Genebank และที่สำคัญไม่สามารถใช้ยีนในตำแหน่งใดตำแหน่งหนึ่งเดี่ยวๆ ในการระบุระดับ species ได้ ดังนั้นวิธีที่ดีที่สุดคือการวิเคราะห์ตำแหน่งยีนหลายตำแหน่ง เพื่อให้ได้ความแม่นยำในการบ่งชี้ระดับ species complex

2. ข้อเสนอแนะ จากผลงานวิจัยในครั้งนี้สามารถจัดจำแนกเชื้อราเมตาไรเซียมที่มีอยู่ได้อย่างถูกต้องและได้ค้นพบว่าเชื้อรา Metarhizium ของกรมวิชาการเกษตรเป็นชนิดใหม่จำนวน 2 ชนิด ซึ่งจะทำการจัดทำอนุกรมวิธานต่อไป และสามารถนำความรู้พื้นฐานไปถ่ายทอดให้นักวิชาการเกษตรในการระบุชนิดของราเขียว เมตาไรเซียมอย่างง่ายได้ และสามารถประยุกต์วิธีการไปตรวจสอบเชื้อราโรคแมลง โดยเฉพาะเชื้อราเขียว Metarhizium ในการขึ้นทะเบียนการค้าสารชีวภัณฑ์ของกรมวิชาการเกษตรต่อไป ที่สำคัญสามารถนำข้อมูลดังกล่าวไปสนับสนุนการจัดจำแนกเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมในการประกอบการจดอนุสิทธิบัตรต่อไป

เอกสารอ้างอิง

มลิวัลย์ ปันยารชุน. 2538. การศึกษาอัตราการใช้เชื้อราเขียวกำจัดมอดเจาะกาแฟในห้องปฏิบัติการ, รายงานผลการวิจัยก้าวหน้าศึกษาเปรียบเทียบอัตรการใช้เชื้อราเขียวต่อมวนโกโก้ในห้องปฏิบัติการ, หน้า 1-6 *ใน:*รายงานค้นคว้าและวิจัยประจำปี 2537 กลุ่มงานวิจัยการปราบปรามศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยากรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ อิศเรส เทียนทัด วิไลวรรณ เวชยันต์ และยุธธนา แสงโชติ. 2554. การศึกษาอัตราการใช้เชื้อราเขียว *M. anisoliae* (Metsch) Sorokin ในการควบคุมหนอนด้วงแรด. หน้า 2104-2113. ในรายงานผลงานวิจัยประจำปี 2554 เล่ม 4. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เอกสารวิชาการ ลำดับที่ 1/2555 กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ.

อลงกต โพธิ์ดี. 2549. ประสิทธิภาพและการบ่งชี้เชื้อ *Metarhizium* spp. ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลำดับเบส ITS1-5.8D-ITS2 rDNA. พืชศาสตร์และทรัพยากรการเกษตร สาขาวิชากีฏวิทยา. 175 หน้า.

Bischoff, J.F., S.A. Rehner, and R.A. Humber. 2009. A multilocus phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* lineage. Mycologia, 101(4): p. 512-530.

Chen, W.H., Y.F. Han, J.D. Liang and D.C. Jin. 2017. *Metarhizium dendroliatilis*, a novel Metarhzium species parasitic on *Dendrolimus* sp. larvae. Mycosphere 8(1):31-37.

Glass NL, Donaldson GC. 1995. Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. Applied Environmental Microbiology 61: 1323–1330.

Katoh K, Toh H. 2013. Recent developments in the MAFFT V7. multiple sequence alignment program. Briefings in Bioinformatics 9: 286–298

Kepler, R.M., R.A. Humber, J.F. Bischoff and S.A. Rehner. 2014. Clarification of generic and species boundaries for Metarhizium and related fungi through multigene phylogenetics. Mycologia, 104(4), 881-829pp.

Linnakoski R, Z.W de Beer, J. Ahtiainen, E. Sidorov, P. Niemelä, A.Pappinen, M.J Wingfield. 2010. *Ophiostoma* spp. associated with pine– and spruce–infesting bark beetles in Finland and Russia. *Persoonia* 25:72–93.

Hebert P.D, A, Cywinska, S.L, Ball and J.R. de Waard. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences 270: 313-321.

Newmaster, S. G. and Ragupathy, S. 2009. Testing plant barcoding in a sister species complex of pantropical Acacia (*Mimosoideae, Fabaceae*). Mol. Ecol. Resour. 9: 172-180.

Purty, R.S. and S.Chatterjee. 2016. DNA barcoding: An effective technique in molecular taxonomy. Austin J Biotechnol Bioeng. Volume3, Issue1. 1059

Schoch, C.L. 2012. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. Proceedings of the National Academy of Sciences, 109(16): p. 6241-6246.

Seifert, K. A. 2009. Progress towards DNA barcoding of fungi. Mol. Ecol. Resour. 9: 83-89.

Tamura K, D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher, M, Nei and S. Kumar. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood. Version 6.0. Molecular Biology and Evolution 30: 2725-2729.

White T.J,, T. Bruns, S. Lee and J.W. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics, p. 315–322. In M. A. Innis, Gelfand D H. , Sninsky JJ, and White TJ. (ed.), PCR protocols: a guide to methods and applications. Academic Press, Inc., New York, N.Y.

ผู้รวบรวม

นางสาวภัทรพร	สรรพนุเคราะห์
นางสาวดาราพร	รินทะรักษ์
นางสาวอมรรัชฎ์	คิดใจเดียว
นางสาวกาญจนา	วาระวิชะนี
นางสาวธัญชนก	จงรักไทย
นางสาวภัทร์พิชชา	รุจิระพงศ์ชัย
นางสาวชลธิชา	รักใคร่
นางวรัญญา	มาลี
นางศรีจำนรรจ์	ศรีจันทรา
นางสาววิภาดา	ปลอดครบุรี

ผู้สอบทาน

นางสาวณฐวรรณ	ชนะโชติ

กรมวิชาการเกษตร
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

Annual Report 2016 Annual Report 2016
Annual Report 2016 Annual Report 2016 Annual Report 2016 Annual Report 2016

Annual Report 2016

Annual Report 2016 Annual Report 2016 Annual Report 2016 Annual Report 2016
Annual Report 2016 Annual Report 2016