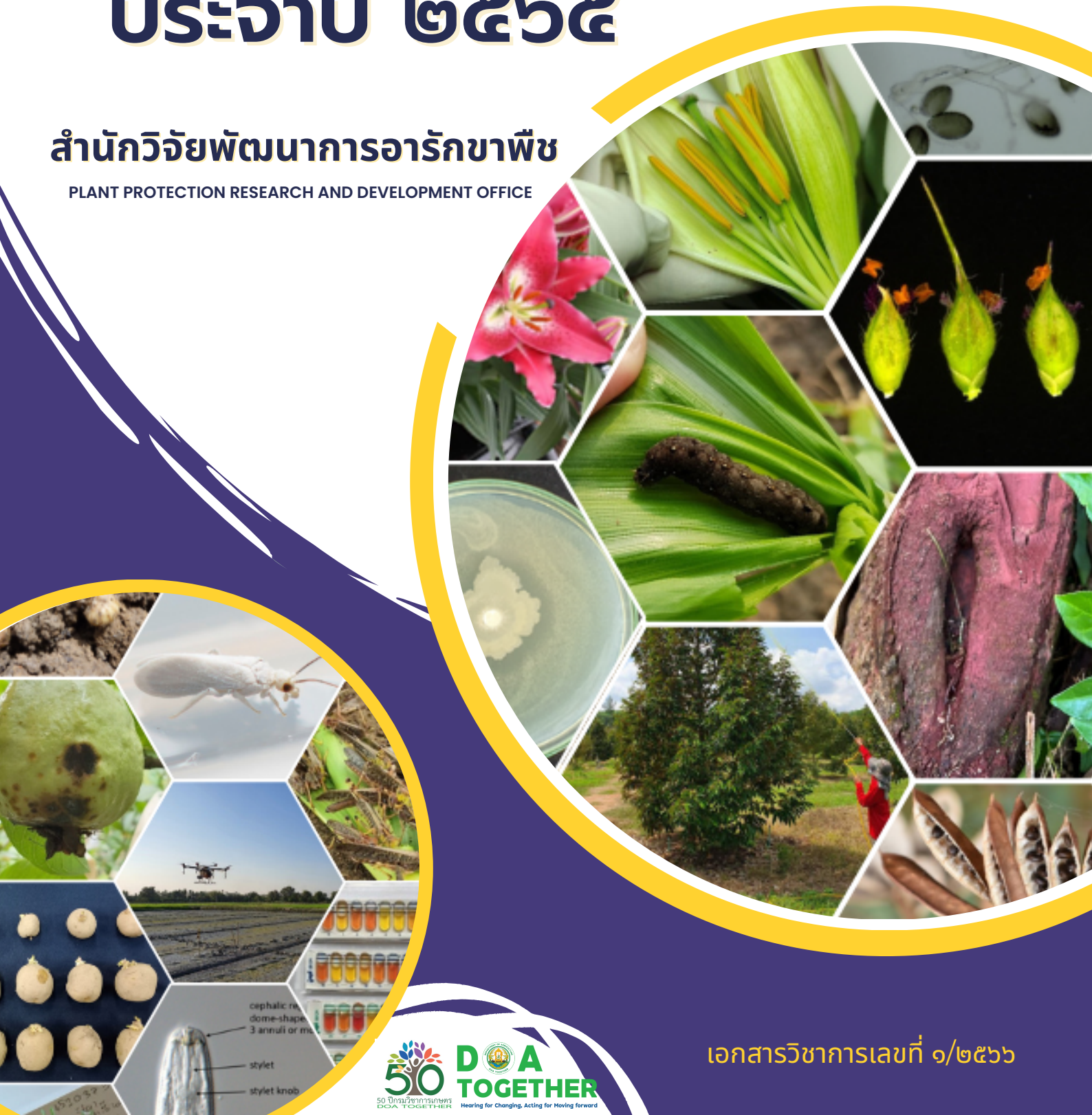
เล่มที่ ๔

ผลงานวิจัย ประจำปี ๒๕๖๕

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

PLANT PROTECTION RESEARCH AND DEVELOPMENT OFFICE



เอกสารวิชาการเลขที่ ๑/๒๕๖๖

รายงาน
ผลงานวิจัยประจำปี ๒๕๖๕
เล่ม ๔

เอกสารวิชาการลำดับที่ ๑/๒๕๖๖

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

วิสัยทัศน์

กรมวิชาการเกษตรเป็นองค์กรที่เป็นเลิศด้านการวิจัยและพัฒนาด้านพืช เครื่องจักรกลการเกษตร และเป็นศูนย์กลางรับรองมาตรฐานสินค้าเกษตรด้านพืชในระดับสากล บนพื้นฐานการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม ภายใต้สมดุลวัฒนธรรมองค์กร ภายในปี พ.ศ. 2570

ค่านิยม

ซื่อสัตย์ โปร่งใส งานวิจัยมีคุณภาพ

วัฒนธรรมองค์กร

รักองค์กร ทำงานอย่างมีเป้าหมาย และมุ่งผลสัมฤทธิ์

พันธกิจ

1. สร้างและถ่ายทอดองค์ความรู้จากงานวิจัยด้านพืชและเครื่องจักรกลการเกษตร สู่กลุ่มเป้าหมาย
2. กำหนดและกำกับดูแลมาตรฐานระบบการผลิตและผลิตพันธุ์พืชและปัจจัยการผลิตพัฒนาระบบตรวจรับรองสินค้าการเกษตรด้านพืชให้เป็นที่ยอมรับในระดับสากล
3. อนุรักษ์และพัฒนาการใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพด้านพืช แมลง และจุลินทรีย์
4. สนับสนุนการขับเคลื่อนการลดก๊าซเรือนกระจกของประเทศไทย มุ่งสู่เศรษฐกิจสังคมคาร์บอนต่ำอย่างยั่งยืน
5. กำกับ ดูแล และพัฒนากฎหมายที่กรมวิชาการเกษตรรับผิดชอบ

คำนำ

ปีงบประมาณ 2565 งานวิจัยของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ประกอบด้วย แผนงานวิจัย โครงการวิจัย และการทดลอง รวม 16 แผนงานวิจัย 37 โครงการ และ 188 การทดลอง ซึ่งรวมถึงแผนงานวิจัยภายใต้สังกัดสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จำนวน 5 แผนงานวิจัย 23 โครงการวิจัย แผนงานวิจัยงานบูรณาการส่งเสริมวิจัยและนวัตกรรมปีพ.ศ. 2565-2567 อยู่ภายใต้แผนปฏิบัติการวิจัยและนวัตกรรม กรมวิชาการเกษตร ปี 2564-2569 และภายใต้ทิศทางการดำเนินงานวิจัย กรมวิชาการเกษตรปี 2565-2567 ซึ่งแผนงานวิจัยของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เป็นแผนงานวิจัยที่รองรับ และสนับสนุนการขับเคลื่อนประเทศด้วยโมเดลเศรษฐกิจ BCG (Bio-Circular Economy)

แผนงานวิจัยที่สนับสนุนเศรษฐกิจสีเขียว (Green Economy) ประกอบด้วย 3 แผนงานวิจัย ได้แก่ (1) แผนงานวิจัยนวัตกรรมการผลิตและเทคโนโลยีการใช้ชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืชเพื่อการอารักขาพืชอย่างยั่งยืน จำนวน 5 โครงการวิจัย (2) แผนงานวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีด้านอารักขาพืชเพื่อการเพิ่มขีดความสามารถในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช จำนวน 3 โครงการวิจัย และ (3) แผนงานวิจัยอนุกรมวิธานเชิงลึกมุ่งแก้ปัญหาท้าทายด้านศัตรูพืชเพื่อสนับสนุนและเพิ่มศักยภาพการผลิตสินค้าเกษตร จำนวน 6 โครงการวิจัย รวมถึง 3 โครงการวิจัย ได้แก่ โครงการวิจัยและพัฒนาประสิทธิภาพสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในพืชผัก โครงการวิจัยและพัฒนาประสิทธิภาพสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในไม้ผล และโครงการวิจัยและพัฒนาประสิทธิภาพสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในพืชอุตสาหกรรม อยู่ภายใต้แผนงานวิจัยสังกัดสถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน

แผนงานวิจัยที่สนับสนุนเศรษฐกิจชีวภาพ (Bio Economy) ประกอบด้วยการทดลองในโครงการวิจัยเทคโนโลยีการผลิตพืชสกุลกัญชาเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ โครงการวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการอารักขากัญชาในสภาพการปลูกภายในอาคาร อยู่ภายใต้แผนงานวิจัยสังกัดสำนักผู้เชี่ยวชาญ โครงการวิจัยนวัตกรรมแหล่งโปรตีนใหม่จากความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตนเพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มขับเคลื่อนธุรกิจชีวภาพ อยู่ภายใต้แผนงานวิจัยสังกัดสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

แผนงานวิจัยที่สนับสนุนการปฏิบัติงานตามพระราชบัญญัติที่กรมวิชาการเกษตรรับผิดชอบ ประกอบด้วย 2 แผนงานวิจัยได้แก่ (1) แผนงานวิจัยและพัฒนาการกักกันพืชเพื่อการค้าสินค้าเกษตรด้านพืชระหว่างประเทศ จำนวน 7 โครงการวิจัย และ (2) แผนงานวิจัยการบริหารศัตรูพืชแบบผสมผสานในพืชผักสำหรับส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป (EU) เพื่อการผลิตที่ยั่งยืน จำนวน 2 โครงการวิจัย นอกจากนี้ยังประกอบด้วยการทดลองในแผนงานวิจัยอื่นๆ ที่นักวิจัยเป็นหัวหน้าการทดลองและเป็นนักวิจัยผู้ร่วมการทดลอง

รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2565 เป็นผลงานวิจัยที่นักวิจัยสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชมีความมุ่งมั่นดำเนินการ สนับสนุนการนำไปใช้ประโยชน์ในกลุ่มเป้าหมาย เพื่อก่อให้เกิดผลกระทบในวงกว้าง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ขอขอบคุณในความตั้งใจ ความมุ่งมั่นของนักวิจัย และขอบคุณที่ได้รับความร่วมมืออย่างดีเสมอมา

(นายปัญญา พุกสุ่น)
ผู้อำนวยการสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
กรกฎาคม 2566

สารบัญ

รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2565 เล่มที่ 1..... 1-502

รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2565 เล่มที่ 2..... 503-1001

รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2565 เล่มที่ 3..... 1002-1507

รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2565 เล่มที่ 4..... 1508-2008

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพืชสกุลกัญชาและพืชกระท่อมเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์

โครงการวิจัยย่อย การวิจัยและพัฒนาพืชสกุลกัญชาและพืชกระท่อมเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์

กิจกรรมที่ 6 การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการอารักขากัญชาในสภาพการปลูกแบบภายในอาคาร

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง

- 6.1 การศึกษาชนิดของไรศัตรูพืช และศัตรู ธรรมชาติ..... 1
  ในกัญชา
  FF65-01-01-65-06-01-65
  - พลอยชมพู กรวิภาสเรือง และคณะ
- 6.2 การศึกษาชนิดของแมลงศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ.... 14
  ในกัญชา
  FF65-01-01-65-06-02-65
  - สุนัดดา เชาวลิต และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการสร้างมูลค่าเพิ่มจากความหลากหลายทางชีวภาพของพืช เห็ด จุลินทรีย์ และศัตรูธรรมชาติ เพื่อการอนุรักษ์ใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน

โครงการวิจัยย่อย นวัตกรรมแหล่งโปรตีนใหม่จากความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตน (Orthoptera) เพื่อสร้างมูลค่าเพิ่ม ขับเคลื่อนธุรกิจชีวภาพ

กิจกรรมที่ -

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง

- 1. การศึกษาคัดเลือกชนิดของตั๊กแตนกินได้..... 25
  (Orthoptera) จากความหลากหลายทางชีวภาพเพื่อพัฒนาเป็นแหล่งโปรตีนใหม่สร้างมูลค่าเพิ่มทางเศรษฐกิจ
  FF65-02-05-65-00-01-65
  - จารุวัตถ์ แต้กุล และคณะ

➢ 2. การศึกษาเทคนิคการเลี้ยงขยายตั๊กแตนจากวัตถุดิบ..... 34
เหลือทิ้งทางการเกษตรเพื่อผลิตขยายให้ได้ปริมาณมาก
FF65-02-05-65-00-02-65
❖ จารุวัตถ์ แต้กุล และคณะ
➢ 5. การสร้างแอพพลิเคชั่นฐานข้อมูลความหลากหลาย..... 43
ทางชีวภาพของตั๊กแตนเพื่อเพิ่มมูลค่า ใช้ประโยชน์และ
อนุรักษ์อย่างยั่งยืน
FF65-02-05-65-00-04-65
❖ จารุวัตถ์ แต้กุล และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยนวัตกรรมการผลิตและเทคโนโลยีการใช้ชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืชเพื่อการอารักขาพืชอย่างยั่งยืน

โครงการวิจัยย่อย วิจัยพัฒนาการผลิตและการใช้ตัวห้ำตัวเบียนเพื่อควบคุมศัตรูพืชในการผลิตพืชปลอดภัย

กิจกรรมที่ 1.วิจัยการผลิตขยายแมลงห้ำแมลงเบียนเพื่อพัฒนาศักยภาพเป็นชีวภัณฑ์ใหม่ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช

กิจกรรมย่อยที่ 1.1 พัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายด้วงเต่าและมวนตัวห้ำชนิดใหม่ที่มีศักยภาพควบคุมแมลงศัตรูพืชที่สำคัญ

การทดลอง ➢ 1.1.1 พัฒนาสูตรอาหารเทียมเพื่อเพาะเลี้ยงเพิ่ม..... 52
ปริมาณด้วงเต่าสีส้ม *Micraspis discolor* (Fabricius)
FF65-10-01-65-01-01-65
❖ ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ และคณะ
➢ 1.1.2 พัฒนาสูตรอาหารเทียมเพื่อเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณ.. 58
ด้วงเต่าลายหยัก *Coccinella transversalis* (Fabricius)
FF65-10-01-65-01-02-65
❖ ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ และคณะ

➢ 1.1.3 พัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยง..... 64
ด้วงเต่าตัวห้ำ *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) ด้วยเหยื่ออาหารเพื่อใช้ควบคุมเพลี้ยแป้ง
FF65-10-01-65-01-03-65
❖ ณัฏฐิณี ศิริมาจันทร์ และคณะ

➢ 1.1.4 ศึกษาผลกระทบของสารป้องกัน..... 73
กำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดต่อมวนพิฆาต *Eocanthecona furcellata* Woff และมวนเพชฌฆาต *Sycanus versicolor* Dohrn
FF65-10-01-65-01-04-65
❖ สาทิพย์ มาลี และคณะ

➢ 1.1.5 การศึกษาประสิทธิภาพของ..... 82
มวนตัวห้ำ *Cardiastethus exiguus* Poppius (Hemiptera: Anthocoridae) ในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบ *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae)
FF65-10-01-65-01-05-65
❖ อทิติยา แก้วประดิษฐ์ และคณะ

กิจกรรมย่อยที่ 1.2 พัฒนาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงแตนเบียนที่มีศักยภาพควบคุมแมลงศัตรูพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ (มะพร้าว มะเขือ)

การทดลอง ➢ 1.2.1 การพัฒนาวิธีการผลิตขยาย..... 89
แตนเบียนดักแด้ *Brachymeria nephantidis* Gahan และศักยภาพการทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว *Opisina arenosella* Walker
FF65-10-01-65-01-06-65
❖ ณัฏฐิณี ศิริมาจันทร์ และคณะ

➢ 1.2.2. การศึกษาศักยภาพการผลิตขยายและผล..... 96
กระทบของสารเคมีต่อแตนเบียน *Encarsia dispersa*
Polaszek ในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบ *Bemisia*
tabaci (Gennadius) ✪
FF65-10-01-65-01-07-65
❖ สุพรรณี ภูคะฮาด และคณะ

กิจกรรมที่ 2. การใช้แมลงช้างปีกใส *Chrysoperla carnea* (Steph) ควบคุมเพลี้ยอ่อนในคะน้าในโรงเรือน

กิจกรรมย่อยที่ –

การทดลอง ➢ 2.1. ศึกษาอัตราการใช้แมลงช้างปีกใส..... 106
Chrysoperla carnea ควบคุมเพลี้ยอ่อนคะน้าในโรงเรือน
FF65-10-01-65-02-01-65
❖ ประภัสสร เชยคำแหง และคณะ

กิจกรรมที่ 3. การใช้มวนเพชฌฆาต *Sycanus versicolor* Dohrn ควบคุมหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดในถั่วฝักยาว

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง ➢ 3.1 ศึกษาอัตราการกินหนอนเจาะฝักถั่วลายจุด..... 112
ของมวนเพชฌฆาตระยะต่างๆ
FF65-10-01-65-03-01-65
❖ สาทิพย์ มาลี และคณะ

กิจกรรมที่ 4. การใช้แมลงหางหนีบขาวงแหวน *Euborellia annulipes* (Lucus) ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนในผักกาดขาวปลี

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง ➢ 4.1 การศึกษาประสิทธิภาพการกินเพลี้ยอ่อนของ..... 117
แมลงหางหนีบขาวงแหวน *Euborellia annulipes* (Lucus)
FF65-10-01-65-04-01-65
❖ นันทนัช พินศรี และคณะ

กิจกรรมที่ 5. การใช้ไรตัวห้ำ *Amblyseius longispinosus* (Evans) ควบคุมไรแดงในราสเบอร์รี่ที่ปลูกในโรงเรือน

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง ➢ 5.1. ศึกษาอัตราการใช้ไรตัวห้ำ..... 131

Amblyseius longispinosus (Evans) ควบคุมไรแดงในราสป์เบอร์รีที่ปลูกในโรงเรือนทดลอง

FF65-10-01-65-05-01-65

❖อทิติยา แก้วประดิษฐ์ และคณะ

➢ 5.2. ศึกษาการใช้ไรตัวห้ำ..... 138

Amblyseius longispinosus (Evans) ในการควบคุมไรแดงในราสป์เบอร์รีที่ปลูกในโรงเรือนเกษตรกร

FF65-10-01-65-05-02-65

❖อทิติยา แก้วประดิษฐ์ และคณะ

โครงการวิจัยย่อย วิจัยพัฒนาการผลิตและการใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช

กิจกรรมที่ 1. เทคโนโลยีการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงและไวรัส NPV ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช

กิจกรรมย่อยที่ –

การทดลอง ➢ 1.1 การศึกษาวิธีการผลิตขยายไส้เดือนฝอย..... 145

ศัตรูแมลง *Steinernema glaseri* ด้วยอาหารเทียม

FF65-10-02-65-01-01-65

❖ อัจฉรียา นิจจรัลกุล และคณะ

➢ 1.2 การพัฒนาสูตรสำเร็จไวรัส NPV 157

หนอนกระทู้หอมในรูปผงละลายน้ำ

FF65-10-02-65-01-02-65

❖ อนุสรณ์ พงษ์มี และคณะ

กิจกรรมที่ 2. เทคโนโลยีการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงและไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในการควบคุมแมลงศัตรูผัก

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง

➢ 2.1 การใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม; *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin เพื่อควบคุมด้วงหมัดผักแถบลาย; *Phyllotreta sinuata* Stephens ในผักกาดหัว ✪ 169
FF65-10-02-65-02-01-65
❖ เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ และคณะ

➢ 2.2 การใช้เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* *Beauveria bassiana* และ *Isaria javanica* ควบคุมแมลงหวี่ขาว *(Bemisia tabasi* (Gennadius)) ในมะเขือเปราะ 186
FF65-10-02-65-02-02-65
❖ทิภาพร นวลเนตร และคณะ

➢ 2.3 การใช้เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* และ *Beauveria bassiana* ควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่ว (*Aphis craccivora* (Koch)) ในถั่วฝักยาว 199
FF65-10-02-65-02-03-65
❖ ภัททิรา ศาตร์วงษ์ และคณะ

➢ 2.4 การใช้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema carpocapsae* สูตรผงละลายน้ำ ในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลาย (*Phyllotreta sinuata* Stephens) ✪ 211
FF65-10-02-65-02-04-65
❖ ปาริชาติ จำรัสศรี และคณะ

โครงการวิจัยย่อย วิจัยพัฒนาการผลิตและใช้ประโยชน์ชีวภัณฑ์ควบคุมโรคพืชเพื่อการผลิตพืชอย่างยั่งยืน

กิจกรรมที่ 1. การพัฒนานวัตกรรมการผลิตและการใช้แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ควบคุมโรคพืชเพื่อเพิ่มผลผลิต

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง

➢ 1.1 ศึกษาและทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรีย..... 222
Bacillus subtilis ในการควบคุมโรคผลเน่า (bacterial fruit blotch) ของพืชตระกูลแตง
FF65-10-03-65-01-01-65
❖ รุ่งนภา ทองเครั่ง และคณะ

➢ 1.2 ศึกษาและทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรีย 233
Bacillus subtilis ในการควบคุมโรคใบติดทุเรียน
FF65-10-03-65-01-02-65
❖ นพพล สัทยาสัย และคณะ

➢ 1.3 การพัฒนารูปแบบชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis*..... 246
เพื่อใช้ควบคุมโรคเน่าคอดิน (damping-off) สาเหตุจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ในมะเขือเทศ
FF65-10-03-65-01-03-65
❖ บุษราคัม อุดมศักดิ์ และคณะ

➢ 1.4 พัฒนารูปแบบการผลิตและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์..... 254
Bacillus subtilis เพื่อควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม
FF65-10-03-65-01-04-65
❖ ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ

➢ 1.5 พัฒนารูปแบบการผลิตและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์ 264
Bacillus subtilis เพื่อควบคุมโรคเน่าดำของคะน้า
FF65-10-03-65-01-05-65
❖ ณัฐธิดา เติมสังข์ และคณะ

➢ 1.6 พัฒนารูปแบบการผลิตและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์..... 274
Bacillus spp. เพื่อควบคุมโรคราแป้งพืชตระกูลแตง
FF65-10-03-65-01-06-65
❖ ทัศนาพร ทัศคร และคณะ

➢ 1.7 พัฒนารูปแบบการผลิตและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์..... 284
Bacillus subtilis เพื่อควบคุมโรคแคงเคอร์ในมะนาว
FF65-10-03-65-01-07-65
❖ บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ และคณะ

➢ 1.8 พัฒนารูปแบบการผลิตและการใช้ชีวภัณฑ์..... 295
Bacillus subtilis เพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนสมะม่วง
FF65-10-03-65-01-08-65
❖ ธารทิพย ภาสบุตร และคณะ

กิจกรรม 2. วิจัยพัฒนาชีวภัณฑ์ไตรโคเดอร์มาในการควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราใน พริก หอม และมะเขือเทศ เพื่อการผลิตพืชอย่างยั่งยืน

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง

➢ 2.1 การคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp.....
ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากและโคนเน่าของพริก
ที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii*
FF65-10-03-65-02-01-65
❖ สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และคณะ

➢ 2.2 การคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp. 303
ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าคอดินของพริกที่เกิด
จากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum*
FF65-10-03-65-02-02-65
❖ อมรรัชฎ์ คิดใจเดียว และคณะ

➢ 2.3 การคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp. 309
ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบจุดสีม่วงของหอม
สาเหตุจากเชื้อรา *Alternaria porri*
FF65-10-03-65-02-03-65
❖ หทัยภัทร เจษฎารมย์ และคณะ

กิจกรรมที่ 3. เทคโนโลยีการใช้เห็ดเรืองแสงสิรินรัศมีในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียน เพื่อการผลิตพืชอย่างยั่งยืน

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง ➢ 3.1 เทคโนโลยีการใช้เห็ดเรืองแสงสิรินรัศมีในการ..... 319
ควบคุมโรครากเน่า และโคนเน่าของทุเรียน เพื่อการผลิตพืช
อย่างยั่งยืน
FF65-10-03-65-03-01-65
❖ สุรีย์พร บัวอาจ และคณะ

โครงการวิจัยย่อย เทคโนโลยีการผลิตและใช้ประโยชน์ชีวินทรีย์ควบคุมหอยทากและหนูศัตรูพืช

กิจกรรมที่ 1. เทคโนโลยีการผลิตชีวินทรีย์ควบคุมหอยทากศัตรูพืช

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง ➢ 1.1 เทคนิคการผลิตขยายและประสิทธิภาพของ..... 327
หอยนักล่าสยาม *Perrottetia siamensis* ในการกำจัดหอย
ทากศัตรูพืช
FF65-10-05-65-01-01-65
❖ ดาราพร รินทะรักษ์ และคณะ

➢ 1.2 เทคนิคการผลิตขยายและประสิทธิภาพของ..... 342
หอยนักล่าทูโทน *Gulella bicolor* ในการกำจัดหอยทาก
ศัตรูพืช
FF65-10-05-65-01-02-65
❖ ดาราพร รินทะรักษ์ และคณะ

➢ 1.3 เทคนิคการผลิตขยายและประสิทธิภาพของ..... 355
ไส้เดือนฝอยวงศ์ Rhabditidae ในการกำจัดหอยทากศัตรูพืช
FF65-10-05-65-01-03-65
❖ อภินันท์ เอี่ยมสุวรรณสุข และคณะ

กิจกรรมที่ 2. เทคโนโลยีการผลิตชีวินทรีย์ควบคุมหนูศัตรูพืช

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง ➢ 2.1 การเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์โปรโตซัวสกุล *Eimeria*..... 366
ที่มีประสิทธิภาพความรุนแรงก่อโรคกับหนูทดลอง
FF65-10-05-65-02-01-65
❖ วิชาญ วรรธนะไกวัล และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตและแก้ปัญหาท้าทายด้านการผลิตพืชปลอดภัย

โครงการวิจัยย่อย วิจัยและพัฒนาประสิทธิภาพสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในพืชไร่ (อ้อย มันสำปะหลัง และข้าวโพด)

กิจกรรมที่ 1.ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในพืชไร่ (อ้อย มันสำปะหลัง และข้าวโพด)

การทดลอง ➢ 1.1 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในอ้อย..... 374
เพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-01-65-01-01-65
❖ ปรัชญา เอกฐิน และคณะ
➢ 1.2 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชใน..... 417
มันสำปะหลังเพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-01-65-01-02-65
❖ ยุรวรรณ อนันตนมณี และคณะ

โครงการวิจัยย่อย วิจัยและพัฒนาประสิทธิภาพสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในพืชผัก (ผักกาดขาวปลี ผักกาดหอม กะหล่ำปลี คะน้า และพริก)

กิจกรรมที่ 1.ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อใช้ก่อนปลูกในพืชผัก (pre-planting herbicides)

การทดลอง ➢ 1.1 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภท..... 442
ใช้ก่อนปลูก (pre-planting herbicides) ในผักกาดขาวปลี
เพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-02-65-01-01-65
❖ เทอดพงษ์ มหาวงศ์ และคณะ

➢ 1.2 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภท..... 458
ใช้ก่อนปลูก (pre-planting herbicides) ในผักกาดหอม
เพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-02-65-01-02-65
❖ เทิดพงษ์ มหาวงศ์ และคณะ

➢ 1.3 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภท..... 473
ใช้ก่อนปลูก (pre-planting herbicides) ในคะน้าเพื่อเป็น
สารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-02-65-01-03-65
❖ ยุรวรรณ อนันตนมณี และคณะ

➢ 1.4 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภท..... 489
ใช้ก่อนปลูก (pre-planting herbicides) ในกะหล่ำปลีเพื่อ
เป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-02-65-01-04-65
❖ อมฤต ศิริอุดม และคณะ

➢ 1.5 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อใช้..... 503
กำจัดวัชพืชระหว่างแถวปลูกในพริกเพื่อเป็นสารทางเลือก
และผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-02-65-01-05-65
❖ สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ

โครงการวิจัยย่อย วิจัยและพัฒนาประสิทธิภาพสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในไม้ผล (มะม่วง ส้มโอ ทุเรียน)

กิจกรรมที่ 1. ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในไม้ผล (มะม่วง ส้มโอ ทุเรียน)

การทดลอง ➢ 1.1 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในมะม่วง..... 513
เพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-03-65-01-01-65
❖ ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย และคณะ

➢ 1.2 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในส้มโอ..... 532
เพื่อทดแทนสารกำจัดวัชพืช paraquat✪
FF65-11-03-65-01-02-65
❖ อมฤต ศิริอุดม และคณะ
➢ 1.3 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในทุเรียน..... 541
เพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-03-65-01-03-65
❖ สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ

โครงการวิจัยย่อย วิจัยและพัฒนาประสิทธิภาพสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในพืชอุตสาหกรรม (ปาล์มน้ำมัน ยางพารา มะพร้าว และกาแฟ)

กิจกรรมที่ 1. วิจัยและพัฒนาประสิทธิภาพสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในพืชอุตสาหกรรม (ปาล์มน้ำมัน ยางพารา มะพร้าว และกาแฟ)

การทดลอง ➢ 1.1 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชใน..... 549
ปาล์มน้ำมันเพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-04-65-01-01-65
❖ อุษณีย์ จินดากุล และคณะ
➢ 1.2 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชใน..... 566
ยางพารา เพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-04-65-01-02-65
❖ สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ
➢ 1.3 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชใน..... 574
มะพร้าวเพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-04-65-01-03-65
❖ เอกรัตน์ ธนูทอง และคณะ

➢ 1.4 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชใน..... 588
กาแฟเพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-04-65-01-04-65
❖ เทอดพงษ์ มหาวงศ์ และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีด้านอารักขาพืชเพื่อการเพิ่มขีดความสามารถในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช

โครงการวิจัยย่อย วิจัยและพัฒนาการชักนำภูมิต้านทานของพืชต่อศัตรูพืช เพื่อประยุกต์ใช้ร่วมกับระบบการผลิตพืชปลอดภัย

กิจกรรมที่ 1. การใช้สารประกอบอินทรีย์ในการชักนำภูมิต้านทานของพืช

การทดลอง ➢ 1.1 ประสิทธิภาพของสารประกอบอินทรีย์บางชนิด..... 598
ในการชักนำภูมิต้านทานของพริกต่อไส้เดือนฝอยรากปม
FF65-12-01-65-01-01-65
❖ ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ
➢ 1.2 ประสิทธิภาพของสารประกอบอินทรีย์..... 611
บางชนิดในการชักนำภูมิต้านทานของคะน้าต่อแบคทีเรีย
Xanthomonas campestris pv. *campestris*
FF65-12-01-65-01-02-65
❖ รุ่งนภา ทองเครั่ง และคณะ
➢ 1.3 ประสิทธิภาพของสารประกอบอินทรีย์..... 623
บางชนิดในการชักนำภูมิต้านทานของมะนาวต่อแบคทีเรีย
Xanthomonas citri subsp. *citri*
FF65-12-01-65-01-03-65
❖ รุ่งนภา ทองเครั่ง และคณะ

กิจกรรมที่ 2. การใช้จุลินทรีย์ในการชักนำภูมิต้านทานของพืช

การทดลอง ➢ 2.3 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. 636
ในการชักนำภูมิต้านทานของพริกต่อไส้เดือนฝอยรากปม
FF65-12-01-65-02-03-65
❖ ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ

โครงการวิจัยย่อย การเพิ่มขีดความสามารถการป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยลดการใช้สารเคมีเพื่อเกษตรดีที่เหมาะสมอย่างยั่งยืน

กิจกรรมที่ 1. พัฒนาเทคโนโลยีการใช้สารป้องกันกำจัดแมลง และสัตว์ฟันแทะเพื่อใช้เป็นคำแนะนำการป้องกันกำจัดศัตรูพืชเพื่อเกษตรปลอดภัย

กิจกรรมย่อยที่ 1.1 พัฒนารูปแบบการใช้สารป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ร่วมกับสารชีวภัณฑ์และสารธรรมชาติ เพื่อการผลิตสินค้าพืชปลอดภัย

การทดลอง ➢ 1.1.1 วิจัยการใช้สารฆ่าแมลงร่วมกับการใช้..... 645
ไส้เดือนฝอย (*Steinernema capocapsae*) ในการป้องกันกำจัดด้วงหมัดผัก *Phyllotetra* spp.) ในผักกวางตุ้ง
FF65-12-02-65-01-01-65
❖ พวงผกา อ่างมณี และคณะ

➢ 1.1.2 ประสิทธิภาพการใช้สารฆ่าแมลงร่วมกับ..... 656
การใช้เชื้อราโรคแมลงในการป้องกันกำจัดบั่วกล้วยไม้ (*Contarinia maculipennis*) Felt
FF65-12-02-65-01-02-65
❖ ศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา และคณะ

➢ 1.1.3 ประสิทธิภาพการใช้สารฆ่าหนูร่วมกับ..... 665
การใช้เหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู *Sarcocystis singaporensis* ในการป้องกันกำจัดหนูในไร่ข้าวโพด
FF65-12-02-65-01-03-65
❖ วิชาญ วรรธนะไกวัล และคณะ

➢ 1.1.4 ประสิทธิภาพการใช้สารกำจัดหนูและ..... 678
สารชีวภัณฑ์เพื่อการป้องกันกำจัดหนูในไร่ถั่วเหลือง
FF65-12-02-65-01-04-65
❖ สมเกียรติ กล้าแข็ง และคณะ

กิจกรรมย่อยที่ 1.2 วิจัยประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดแมลงเพื่อเป็นคำแนะนำรองรับปัญหาศัตรูพืชสร้างความต้านทาน

➢ 1.2.1 ประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟในมะระ..... 688
การทดลอง FF65-12-02-65-01-05-65
❖ อุราพร หนูนารถ และคณะ

➢ 1.2.2 ประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงกลุ่ม..... 693
กลไกการออกฤทธิ์ต่างๆ ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟหอม (*Thrips tabaci* Lindeman) ในพืชตระกูลหอม
FF65-12-02-65-01-06-65
❖ สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น และคณะ
➢ 1.2.3 ประสิทธิภาพสารฆ่าแมลง เชื้อรา..... 702
โรคแมลง และสารสกัดสะเดาในการป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนในถั่วฝักยาว
FF65-12-02-65-01-07-65
❖ สุชาดา สุพรศิลป์ และคณะ
➢ 1.2.4 ประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการ..... 713
ป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวยาสูบ (tobacco whitefly); *Bemisia tabaci* (Gennadius) ในมะเขือเทศ
FF65-12-02-65-01-08-65
❖ นลินา ไชยสิงห์ และคณะ
➢ 1.2.5 ศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการ..... 720
ป้องกันกำจัดเพลี้ยจักจั่นฝอยทุเรียน *Amrasca durianae* Hongsaprug ในทุเรียน
FF65-12-02-65-01-09-65
❖ บุษบง มนัสมั่นคง และคณะ
➢ 1.2.6 ประสิทธิภาพ สารฆ่าแมลงในการป้องกัน..... 727
กำจัดเพลี้ยไฟในข้าวโพด
FF65-12-02-65-01-10-65
❖ สิริกัญญา ขุนวิเศษ และคณะ

กิจกรรมที่ 2. พัฒนาเทคโนโลยีการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช เพื่อเป็นคำแนะนำการป้องกันกำจัดโรคพืชสำหรับเกษตรปลอดภัย

กิจกรรมย่อยที่ 2.1 พัฒนารูปแบบการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืชร่วมกับสารชีวภัณฑ์ และสารธรรมชาติ เพื่อการผลิตสินค้าพืชปลอดภัย

การทดลอง ➢ 2.1.1 เทคนิคการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อรา..... 736
ร่วมกับเชื้อ *Bacillus subtilis* (20W1) ในการควบคุมโรค
ใบจุดคะน้า สาเหตุจากเชื้อรา *Alternaria brassicicola*
FF65-12-02-65-02-01-65
❖ นพพล สัทยาสัย และคณะ
➢ 2.1.2 ประสิทธิภาพการใช้สารป้องกันกำจัด..... 743
โรคราน้ำค้างร่วมกับการใช้น้ำนมเจือจางในผักกาดขาว
FF65-12-02-65-02-02-65
❖ มะลิดา ชูรินทร์ และคณะ

กิจกรรมย่อยที่ 2.2 วิจัยสารป้องกันกำจัดโรคพืชที่เพื่อเป็นคำแนะนำสำหรับเกษตรดีที่เหมาะสม

การทดลอง ➢ 2.2.1 ประสิทธิภาพการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช..... 749
ในการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงที่มีสาเหตุ
จากเชื้อรา *Colletotrichum* spp.
FF65-12-02-65-02-03-65
❖ ธารทิพย ภาสบุตร และคณะ
➢ 2.2.2 การศึกษาประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัด..... 760
โรคพืชในการป้องกันกำจัดโรคผลเน่าของฝรั่งที่มีสาเหตุ
จาก *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Phyllosticta psidiicola*
FF65-12-02-65-02-04-65
❖ พจนา ตระกูลสุขรัตน์ และคณะ
➢ 2.2.3 ประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัด..... 769
เชื้อราโรคพืชตามกลุ่มกลไกการออกฤทธิ์ต่างๆ ในการป้องกัน
กำจัดโรคราแป้งในเงาะ
FF65-12-02-65-02-05-65
❖ นพพล สัทยาสัย และคณะ

➢ 2.2.4 การทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัด..... 777
โรคพืชในการป้องกันกำจัดโรคเน่าคอดินมะเขือเทศ สาเหตุ
จากเชื้อ *Pythium aphanidermatum*
FF65-12-02-65-02-06-65
❖ วรางคนา โชติเศรษฐี และคณะ

กิจกรรมที่ 3. วิจัยและพัฒนาการใช้สารกำจัดวัชพืช เพื่อการผลิตพืชปลอดภัยสู่เกษตรกร

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง

➢ 3.1 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อ..... 786
ใช้เป็นคำแนะนำในการกำจัดวัชพืชในกล้วยหอม
FF65-12-02-65-03-01-65
❖ เอกรัตน์ ธนูทอง และคณะ
➢ 3.2 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อ..... 839
ใช้เป็นคำแนะนำในการกำจัดวัชพืชในโกโก้
FF65-12-02-65-03-02-65
❖ อมฤต ศิริอุดม และคณะ
➢ 3.3 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อ..... 854
ใช้เป็นคำแนะนำในการกำจัดวัชพืชในมะละกอ
FF65-12-02-65-03-03-65
❖ อุษณีย์ จินดากุล และคณะ
➢ 3.4 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อ..... 866
ใช้เป็นคำแนะนำในการกำจัดวัชพืชในมะนาว
FF65-12-02-65-03-04-65
❖ ยุรวรรณ อนันตนมณี และคณะ
➢ 3.5 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อ..... 878
ใช้เป็นคำแนะนำในการกำจัดวัชพืชในฟักทอง
FF65-12-02-65-03-05-65
❖สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ

➢ 3.6 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อใช้เป็น..... 887
คำแนะนำในการกำจัดวัชพืชในแตงโม
FF65-12-02-65-03-06-65
❖ ปรัชญา เอกฐิน และคณะ
➢ 3.7 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อ..... 901
ใช้เป็นคำแนะนำในการกำจัดวัชพืชในแกลดิโอลัส
FF65-12-02-65-03-07-65
❖ ภัทร์พิชา รุจิระพงศ์ชัย และคณะ

กิจกรรมที่ 4. วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชสู่เกษตรปลอดภัย

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง

➢ 4.1 เทคนิคการพ่นสารแบบต่าง ๆ 915
ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยจักจั่นฝ้าย (*Amrasca biguttula bigguttula* Ishida) ในมะเขือเปราะ
FF65-12-02-65-04-01-65
❖ สิริกัญญา ขุนวิเศษ และคณะ
➢ 4.3 ประสิทธิภาพของการใช้อากาศยานไร้คนขับ.....
ในการพ่นสารป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ (Thysanoptera : Thripidae) ในมะม่วง
FF65-12-02-65-04-02-65
❖ วรวิช สุดจริตธรรมจริยางกูร และคณะ
➢ 4.4 การตกค้างของละอองสารและ..... 922
ประสิทธิภาพของสารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นก่อนวัชพืชงอก (pre-emergence) (โดยใช้อากาศยานไร้คนขับ) ในข้าวนาหว่านน้ำตม
FF65-12-02-65-04-03-65
❖ ยุรวรรณ อนันตนมณี และคณะ

➢ 4.5 อัตราการใช้น้ำและประสิทธิภาพของ..... 931
เครื่องพ่นสารแบบแรงลมในพื้นที่สวนทุเรียน
FF65-12-02-65-04-04-65
❖ ศุภกร แต่งสวน และคณะ
➢ 4.6 อุปกรณ์ลดการปนเปื้อนของสารป้องกันกำจัด..... 953
ศัตรูพืชในนาข้าวจากการผสมและล้างอุปกรณ์พ่นสาร
FF65-12-02-65-04-05-65
❖ศุภกร แต่งสวน และคณะ

โครงการวิจัย เทคโนโลยีการอารักขาพืชเพื่อแก้ปัญหาศัตรูพืชต้านทานและการใช้สารกำจัดศัตรูพืชเกินความจำเป็นในระบบการทำเกษตรแปลงใหญ่

กิจกรรมที่ 1. ประเมินความต้านทานของแมลงศัตรูพืชต่อสารกำจัดศัตรูพืชเพื่อวางแผนการใช้สารแบบหมุนเวียนในระบบการทำเกษตรแปลงใหญ่

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง ➢ 1.1 ประเมินความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง..... 959
ในเพลี้ยไฟพริกที่ทำลายส้มในเขตภาคเหนือของประเทศไทย
FF65-12-03-65-01-01-65
❖ กรกฎ รัตนมหามณีกร และคณะ
➢ 1.2 ประเมินความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง..... 969
ในเพลี้ยไฟพริกที่ทำลายส้มโอในพื้นที่ปลูกสำคัญ
FF65-12-03-65-01-02-65
❖ กรกฎ รัตนมหามณีกร และคณะ
➢ 1.3 ประเมินความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง..... 979
ในเพลี้ยไฟ (*Thrips palmi* Karny) ที่ทำลายมะเขือในพื้นที่ปลูกสำคัญ
FF65-12-03-65-01-03-65
❖ ศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา และคณะ

➢ 1.4 ระดับความต้านทานต่อสารกำจัดแมลงในเพลี้ยไฟ..... 992
(*Thrips palmi* Karny) ที่ทำลายแตงโมในพื้นที่ปลูกสำคัญ
FF65-12-03-65-01-04-65
❖ ธีราทัย บุญญะประภา และคณะ

➢ 1.5 ระดับความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงใน..... 1002
หนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigua* (Hübner) ที่ทำลายหอมแดงในพื้นที่ปลูกสำคัญ
FF65-12-03-65-01-05-65
❖สุภางคนา ถิรวุธ และคณะ

➢ 1.6 ระดับความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง..... 1011
ในหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) ที่ทำลายข้าวโพดในพื้นที่ปลูกสำคัญ
FF65-12-03-65-01-06-65
❖ สุภางคนา ถิรวุธ และคณะ

กิจกรรมที่ 2. เทคโนโลยีการอารักขาพืชเพื่อแก้ปัญหาแมลงศัตรูพืชต้านทานและการใช้สารกำจัดศัตรูพืชเกินความจำเป็นในพืชไร่ พืชผัก และไม้ผลในระบบการทำเกษตรแปลงใหญ่

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง ➢ 2.3 การใช้สารฆ่าแมลงแบบหมุนเวียน..... 1021
กลุ่มกลไกการออกฤทธิ์เพื่อป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอม (*Spodoptera exigua* Hubner) ในหอมแดง
FF65-12-03-65-02-03-65
❖ สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น และคณะ

➢ 2.4 การใช้สารแบบหมุนเวียนในการป้องกันกำจัด..... 1029
เพลี้ยจักจั่นฝ้าย *Amrasca biguttula biguttula* (Ishida) ในกระเจี๊ยบเขียวเพื่อลดปัญหาความต้านทานสารฆ่าแมลง
FF65-12-03-65-02-04-65
❖ สมรวย รวมชัยอภิกุล และคณะ

➢ 2.5 การจัดการความต้านทานต่อสารกำจัด..... 1039
ศัตรูพืชในเพลี้ยไฟ (*Thrips palmi* Karny) ที่ทำลายแตงโม
โดยการใช้สารกำจัดแมลงแบบหมุนเวียน
FF65-12-03-65-02-05-65
❖ธีราทัย บุญญะประภา และคณะ

กิจกรรมที่ 3. ประเมินความต้านทานของวัชพืชต่อสารกำจัดวัชพืชที่ใช้ในนาข้าวในระบบการทำเกษตรแปลงใหญ่และเทคโนโลยีในการจัดการปัญหาความต้านทาน

กิจกรรมย่อยที่ –

การทดลอง ➢ 3.2 ศึกษาความต้านทานสารกำจัดวัชพืชกลุ่ม..... 1053
ยับยั้งการสร้างไขมัน (cyhalofop-butyl และ fenoxaprop-p-ethyl) ในหญ้าดอกขาว (*Leptochloa chinensis*) เพื่อการจัดการวัชพืช
FF65-12-03-65-03-02-65
❖ ปรัชญา เอกฐิน และคณะ
➢ 3.3 ศึกษาความต้านทานสารกำจัดวัชพืช..... 1066
กลุ่มยับยั้งการสร้างกรดอะมิโน (metsulfuron-methyl และ pyrazosulfuron-ethy) (HRAC: Group 2) ในหนวดปลาดุก (*Fimbristylis quinquangularis* (Vahl) Kunth) เพื่อการจัดการวัชพืช✪
FF65-12-03-65-03-03-65
❖ เทอดพงษ์ มหาวงศ์ และคณะ
➢ 3.4 ศึกษาความต้านทานสารกำจัดวัชพืชกลุ่ม..... 1080
ยับยั้งการสร้างกรดอะมิโน (pyrazosulfuron-ethyl และ bensulfuron-methyl) ในกกขนาก (*Cyperus difformis*) เพื่อการจัดการวัชพืช
FF65-12-03-65-03-04-65
❖ เอกรัตน์ ธนูทอง และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยอนุกรมวิธานเชิงลึกมุ่งแก้ปัญหาท้าทายด้านศัตรูพืชเพื่อสนับสนุนและเพิ่มศักยภาพการผลิตสินค้าเกษตร

โครงการวิจัยย่อย อนุกรมวิธาน ชีววิทยาแมลง ไร สัตว์ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ

กิจกรรมที่ 1. อนุกรมวิธานแมลง ไร สัตว์ศัตรูพืชเศรษฐกิจโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

การทดลอง

- 1.1 อนุกรมวิธานด้วงที่พบในธัญพืชนำเข้าส่งออก..... 1096

FF65-20-01-65-01-01-65

❖ อิทธิพล บรรณาการ และคณะ

- 1.2 อนุกรมวิธานและการแพร่กระจายเชิง..... 1111

ภูมิศาสตร์ของทากศัตรูพืช

FF65-20-01-65-01-02-65

❖ ดาราพร รินทะรักษ์ และคณะ

- 1.3 อนุกรมวิธานเพลี้ยไฟที่พบในไม้ดอก..... 1121

FF65-20-01-65-01-03-65

❖ อิทธิพล บรรณาการ และคณะ

- 1.4 อนุกรมวิธาน ของผีเสื้อหนอนกระทู้ สกุล..... 1140

Spodoptera Guenée, 1852 (Lepidoptera: Noctuidae)

FF65-20-01-65-01-04-65

❖ อาทิตย์ รักกสิกร และคณะ

กิจกรรมที่ 2. ชีววิทยาของแมลง ไรศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจและศัตรูธรรมชาติที่มีศักยภาพในการควบคุมศัตรูพืช

การทดลอง

- 2.1 การศึกษาชีววิทยาของไรแดงอัญชัน..... 1151

Tetranychus piercei McGrego

FF65-20-01-65-02-01-65

❖ วีระชัย สมศรี และคณะ

- 2.2 ชีววิทยา และศักยภาพภาพการกิน..... 1162

เหยื่อของแมลงช้างสีน้ำตาล ชนิด *Micromus timidus* Hagen, 1853 (Neuroptera: Hemerobiidae) และแมลงช้างปีกแป้ง ชนิด *Semidalis aleyrodiformis* (Stephens, 1836) (Neuroptera: Coniopterygidae)

FF65-20-01-65-02-02-65

❖ อาทิตย์ รักกสิกร และคณะ

➢ 2.3 การจำแนกชนิดและชีววิทยามวนตัวห้ำ..... 1171
สกุล *Nesidiocoris* (Hemiptera: Miridae)
FF65-20-01-65-02-03-65
❖ จอมสุรางค์ ดวงธิสาร และคณะ

โครงการวิจัยย่อย การจำแนกชนิดแมลง สัตว์ศัตรูพืชที่สำคัญด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล

กิจกรรมที่ -

การทดลอง ➢ 1. การจำแนกชนิดและเขตการแพร่..... 1179
กระจายจักจั่นศัตรูอ้อย (Hemiptera : Cicadidae) โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเทคนิคทางชีวโมเลกุล
FF65-20-02-65-00-01-65
❖ เกศสุดา สนศิริ และคณะ
➢ 2. การจำแนกชนิดเพลี้ยหอยเกล็ด..... 1189
สกุล *Pinnaspis* Cockerell, 1892 ด้วยสัณฐานวิทยาและเทคนิคทางชีวโมเลกุล
FF65-20-02-65-00-02-65
❖ ชมัยพร บัวมาศ และคณะ
➢ 3.การจำแนกชนิดของทากเล็บมือนางสกุล .....
Parmarion ในประเทศไทยด้วยสัณฐานวิทยาและเทคนิค 1200
ทางชีวโมเลกุล
FF65-20-02-65-00-03-65
❖ ศุภกร วงษ์เรืองพิบูล และคณะ
➢ 4. การจำแนกชนิดและความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของ.... 1217
เพลี้ยแป้ง cryptic species สกุล *Planococcus* Ferris 1950 ด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล
FF65-20-02-65-00-04-65
❖ ชมัยพร บัวมาศ และคณะ

➢ 5. การจำแนกไบโอไทป์ของแมลงหวี่ขาวยาสูบ..... 1225
Bemisia tabaci ในแหล่งปลูกพริกอินทรีย์และแหล่งปลูกพริกใช้สารเคมีในภาคตะวันออกเฉียงเหนือโดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล
FF65-20-02-65-00-05-65
❖ สุนัดดา เชาวลิต และคณะ
➢ 6. การศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ด ความสัมพันธ์ทาง..... 1239
วิวัฒนาการ และมอร์โฟเมตริกส์ ของแมลงวันหนอนชอนใบในพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย✪
FF65-20-02-65-00-06-65
❖ ยุวรินทร์ บุญทบ และคณะ

โครงการวิจัยย่อย การจำแนกชนิดและคุณลักษณะชีวโมเลกุลของจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชที่สำคัญ

กิจกรรมที่ -

การทดลอง ➢ 1.การจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยสกุล..... 1916
Hirschmanniella (Nematoda : Pratylenchidae) ในพรรณไม้น้ำ
FF65-20-03-65-00-01-65
❖ ธิติยา ชยาภัคพัฒนา และคณะ
➢ 2 การจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยสกุล..... 1252
Xiphinema (Nematoda: Longidoridae)
FF65-20-03-65-00-02-65
❖ ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ
➢ 3 การจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยสกุล..... 1261
Scutellonema (Nematoda: Hoplolaimidae)
FF65-20-03-65-00-03-65
❖ ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ

➢ 4. อนุกรมวิธานของราน้ำค้างในพืชตระกูลแตง..... 1269
และพืชตระกูลกะหล่ำ
FF65-20-02-65-00-04-65
❖ ชนินทร ดวงสอาด และคณะ
➢ 5. การจำแนกชนิดและคุณลักษณะชีวโมเลกุล..... 1278
ของเชื้อไวรัสที่ก่อให้เกิดโรคในมันเทศ
FF65-20-03-65-00-05-65
❖ ภูวนารถ มณีโชติ และคณะ

โครงการวิจัยย่อย การจำแนกชนิดของจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชที่มีความซับซ้อน (complex species)

กิจกรรมที่ -

การทดลอง ➢ 2. การจำแนกชนิดของเชื้อรา..... 1296
Fusarium oxysporum f.sp. *cubense* race 1 complex
สาเหตุโรคตายพรายกล้วย
FF65-20-04-65-00-02-65
❖ ชนินทร ดวงสอาด และคณะ
➢ 3. การจำแนกชนิดของแบคทีเรีย *Xanthomonas* spp..... 1306
สาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ
FF65-20-04-65-00-03-65
❖ ทิพวรรณ กันหาญาติ และคณะ

โครงการวิจัยย่อย การศึกษาชนิดวัชพืชที่สำคัญเพื่อแก้ปัญหาท้าทายด้านวัชพืชและเพิ่มศักยภาพการผลิตสินค้าเกษตร

กิจกรรมที่ -

การทดลอง ➢ 1. ชนิดและสัณฐานวิทยาของวัชพืชสกุล..... 1314
Echinochloa P.Beauv
FF65-20-05-65-00-01-65
❖ อุษณีย์ จินดากุล และคณะ

➢ 2. ชนิดและสัณฐานวิทยาของวัชพืชสกุล..... 1324
Fimbristylis Vahl
FF65-20-05-65-00-02-65
❖ ธัญชนก จงรักไทย และคณะ

โครงการวิจัย การศึกษาชีววิทยา และนิเวศวิทยาของวัชพืชที่สำคัญเพื่อแก้ปัญหาท้าทายด้านวัชพืชและเพิ่มศักยภาพการผลิตสินค้าเกษตร

กิจกรรมที่ -

การทดลอง ➢ 1. ศึกษาชีววิทยา และนิเวศวิทยาของผักกระฉูด..... 1330
(*Neptunia plena* (L.) Benth) วัชพืชแพร่ระบาดในพื้นที่ชุ่มน้ำทางการเกษตร
FF65-20-06-65-00-01-65
❖ อัณศยา พรมมา และคณะ
➢ 2. ศึกษาชีววิทยา และนิเวศวิทยาของโทงเทงประดับ..... 1345
(*Nicandra physalodes* (L.) Gaertn) วัชพืชแพร่ระบาดในพื้นที่เกษตรภาคเหนือ
FF65-20-06-65-00-02-65
❖ ธัญชนก จงรักไทย และคณะ
➢ 3. ศึกษาชีววิทยา และนิเวศวิทยาของ *Oxalis*..... 1355
debilis .Kunth วัชพืชแพร่ระบาดในพื้นที่เกษตรภาคเหนือ
FF65-20-06-65-00-03-65
❖ อัณศยา พรมมา และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพันธุ์มันสำปะหลังเพื่อผลผลิตและคุณภาพสูงสำหรับอุตสาหกรรม

โครงการวิจัยย่อย การวิจัยและพัฒนาพันธุ์มันสำปะหลังเพื่อต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลัง(ระยะที่ 1)

กิจกรรมที่ –

การทดลอง ➢ 1.6 ทดสอบความต้านทานต่อโรคใบด่างมันสำปะหลัง..... 1365
ในมันสำปะหลังโดยการเสียบยอด
FF65-23-02-65-01-04-65
❖ วานิช คำพานิช และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตพืชไร่ตระกูลถั่วและข้าวโพดฝักสดเพื่อความมั่นคงทางอาหาร

โครงการวิจัยย่อย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตข้าวโพดฝักสดเพื่อความมั่นคงทางอาหาร

กิจกรรมที่ 1.วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตข้าวโพดฝักสด

กิจกรรมย่อยที่ 1.2 วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการอารักขาข้าวโพดฝักสด

การทดลอง ➢ 1.2.6 ผลกระทบของสารกำจัดวัชพืชประเภท..... 1376
ใช้ทางใบต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวโพดหวาน
FF65-45-04-65-01-10-65
❖ ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย และคณะ

➢ 1.2.7 ผลของน้ำบาดาลและน้ำผิวดินต่อประสิทธิภาพ..... 1389
การกำจัดวัชพืชในพื้นที่ปลูกข้าวโพดหวาน
FF65-45-04-65-01-11-65
❖ อมฤต ศิริอุดม และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการกักกันพืชเพื่อการค้าสินค้าเกษตรด้านพืชระหว่างประเทศ

โครงการวิจัยย่อย การศึกษาชนิดของศัตรูพืชในประเทศเพื่อการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช

กิจกรรมที่ -

การทดลอง ➢ 1.1 การศึกษาชนิดของแมลงศัตรู อินทผลัม มันเทศ 1401
ลิลลี่ กล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิส เพื่อจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช
FF65-55-01-65-00-01-65
❖ เกศสุดา สนศิริ และคณะ

➢ 1.2. การศึกษาชนิดของไรศัตรู อินทผลัม มันเทศ..... 1415
ลิลลี่ กล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิส เพื่อจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช
FF65-55-01-65-00-02-65
❖ พลอยชมพู กรวิภาสเรือง และคณะ

➢ 1.3 การศึกษาชนิดของโรค อินทผลัม มันเทศ ลิลลี่..... 1424
กล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิส เพื่อจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช
FF65-55-01-65-00-03-65
❖ วันวิสาข์ เพ็ชรอำไพ และคณะ

➢ 1.4 การศึกษาชนิดของวัชพืชใน อินทผลัม มันเทศ..... 1435
ลิลลี่ กล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิส เพื่อจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช
FF65-55-01-65-00-04-65
❖ ธัญชนก จงรักไทย และคณะ

โครงการวิจัยย่อย ศึกษาความเสี่ยงศัตรูพืชที่สัมพันธ์กับการนำเข้าสินค้าเกษตรจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก

กิจกรรมที่ -

การทดลอง

➢ 1. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้า.....
บลูเบอรี่จากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-01-65
❖วรัญญา มาลี และคณะ

➢ 2. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้า..... 1931
แก้วมังกรจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-02-65
❖ คมศร แสงจินดา และคณะ

➢ 3. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้า..... 1943
เชอรี่จากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-03-65
❖ ชวลิต จิตนันท์ และคณะ

➢ 4. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้า.....
สับปะรดจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-04-65
❖ ณัฐสุดา บรรเลงสวรรค์ และคณะ
➢ 5. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้า.....
อินทผลัมจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-05-65
❖ อมรพร คุณะพันธ์ และคณะ
➢ 6. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้า..... 1969
ส่วนขยายพันธุ์องุ่นจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-06-65
❖ สุคนธ์ทิพย์ สมบัติ และคณะ
➢ 7. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้า..... 1447
ลิลลี่จากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-07-65
❖ วาสนา ฤทธิ์ไธสง และคณะ
➢ 8. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้า..... 1460
กล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิสจากประเทศ
ในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-08-65
❖ วาสนา ฤทธิ์ไธสง และคณะ
➢ 9. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการ..... 1474
นำเข้าวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูกจากประเทศในภูมิ
ภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-09-65
❖ อลงกต โพธิ์ดี และคณะ

โครงการวิจัยย่อย การตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักและหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้า

กิจกรรมที่ -

การทดลอง

➢ 1. การตรวจวินิจฉัยชนิดของไวรัสจีนัส *Tobamovirus*..... 1485
ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพริกนำเข้า
FF65-55-03-65-00-01-65
❖ โสภา มีอำนาจ และคณะ

➢ 2. การตรวจวินิจฉัยไส้เดือนฝอยศัตรูพืช 1495
Potato cyst nematode ที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้า✪
FF65-55-03-65-00-02-65
❖ สุรศักดิ์ แสนโคตร และคณะ

➢ 3. การตรวจวินิจฉัย *Candidatus* Liberibacter 1508
solanacearum ที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้า
FF65-55-03-65-00-03-65
❖ สุรศักดิ์ แสนโคตร และคณะ

➢ 4. การตรวจและศึกษาชนิดเมล็ดวัชพืชที่ติดมากับ..... 1519
เมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่ายนำเข้า
FF65-55-03-65-00-04-65
❖ จันทร์พิศ เดชหามาตย์ และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชและชีวภัณฑ์เพื่อการค้าสินค้าเกษตรด้านพืช

กิจกรรมที่ 1. พัฒนาเทคโนโลยีการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืช

การทดลอง

➢ 1.1 การพัฒนา การตรวจสอบแมลงวันทองฝรั่ง..... 1528
Bactrocera correcta และ แมลงวันแตง *Zeugodacus cucurbitae* (Diptera: Tephritidae) เพื่อการนำเข้าและส่งออกด้วย multiplex PCR จากไพร์เมอร์ที่มีความเฉพาะเจาะจง
FF65-55-04-65-01-01-65
❖ ยุวรินทร์ บุญทบ และคณะ

➢ 1.2 การตรวจ Cucumber mosaic virus .....
ในพริกด้วยเทคนิค Reverse transcription loop-mediated isothermal amplification
FF65-55-04-65-01-02-65
❖ เยาวภา ตันติวานิช และคณะ
➢ 1.3 พัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย..... 1539
Xanthomonas perforans สาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ
FF65-55-04-65-01-03-65
❖ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ
➢ 1.4 พัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย 1545
Xanthomonas vesicatoria สาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ
FF65-55-04-65-01-04-65
❖ ทิพวรรณ กันหาญาติ และคณะ
➢ 1.5 การเปรียบเทียบและประเมินประสิทธิภาพ..... 1551
การตรวจไส้เดือนฝอย *Radopholus similis* ด้วยเทคนิค LAMP PCR และ Real-time PCR
FF65-55-04-65-01-05-65
❖ ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ

กิจกรรมที่ 2. พัฒนาเทคโนโลยีการตรวจวินิจฉัยชีวภัณฑ์นำเข้าภายใต้พระราชบัญญัติวัตถุอันตราย

การทดลอง
➢ 2.1 พัฒนาเทคนิค Polymerase Chain Reaction..... 1563
เพื่อการตรวจวินิจฉัยเชื้อรา *Trichoderma asperellum*
FF65-55-04-65-02-01-65
❖ ชนินทร ดวงสอาด และคณะ
➢ 2.2 การพัฒนาเทคนิคสำหรับตรวจสอบเชื้อรา..... 1573
Metarhizium anisopliae ด้วยไพรเมอร์จำเพาะ
FF65-55-04-65-02-02-65
❖ ทิภาพร นวลเนตร และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในผลมะละกอและมะม่วง เพื่อเพิ่มศักยภาพในการส่งออก

กิจกรรมที่ -

การทดลอง

➢ 1. วิจัยและพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพ..... 1582
ความชื้นสัมพัทธ์สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะละกอแขกดำเพื่อการส่งออก
FF65-55-05-65-00-01-65
❖ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ และคณะ

➢ 2. วิจัยและพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพ..... 1595
ความชื้นสัมพัทธ์สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะละกอแขกนวลเพื่อการส่งออก
FF65-55-05-65-00-02-65
❖ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ และคณะ

➢ 3. วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อน..... 1608
เพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในมะม่วงมันเดือนเก้าเพื่อการส่งออก✪
FF65-55-05-65-00-03-65
❖ ชัยณรัตน์ สนศิริ และคณะ

➢ 4. วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีกำจัดแมลงวัน..... 1650
ผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในผลมะม่วงน้ำดอกไม้มันเพื่อเพิ่มศักยภาพในการส่งออก✪
FF65-55-05-65-00-04-65
❖ พงษ์ศักดิ์ จิณฤทธิ์ และคณะ

➢ 5. วิจัยและพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพ..... 1662
ความชื้นสัมพัทธ์สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงแดงจักรพรรดิเพื่อการส่งออก
FF65-55-05-65-00-05-65
❖ ปวีณา บูชาเทียน และคณะ

➢ 6. วิจัยและพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพ..... 1674
ความชื้นสัมพัทธ์สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผล
มะม่วงอกร่องเพื่อการส่งออก
FF65-55-05-65-00-06-65
❖ ศิริพร คงทวี และคณะ

โครงการวิจัย การสำรวจ และเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกันของพืชและผลผลิตพืชในประเทศไทย

กิจกรรมที่ -

การทดลอง ➢ 1. การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย 1686
Pseudomonas corrugata ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-01-65
❖ ชลธิชา รักใคร่ และคณะ
➢ 2. การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย..... 1696
Xanthomonas vesicatoria ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-02-65
❖ ทิพวรรณ กันหาญาติ และคณะ
➢ 4. การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย..... 1702
Xanthomonas perforans ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-04-65
❖ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ
➢ 5. การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อรา..... 1708
Pseudocercospora angolensis ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-05-65
❖ วานิช คำพานิช และคณะ
➢ 6. การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อรา..... 1718
Verticillium albo-atrum ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-06-65
❖ ธิดาวรรณ ชมเดช และคณะ

➢ 7. การสำรวจและเฝ้าระวังไส้เดือนฝอย..... 1726
Ditylenchus destructor ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-07-65
❖ ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ
➢ 8. การสำรวจและเฝ้าระวังไส้เดือนฝอย..... 1996
Ditylenchus dipsaci ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-08-65
❖ ธิติยา ชยาภัคพัฒนา และคณะ
➢ 9. การสำรวจและเฝ้าระวังแมลงวันผลไม้..... 1735
Bactrocera minax (Enderlein) ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-09-65
❖ ดนัย ชัยเรือนแก้ว และคณะ
➢ 10. การสำรวจและเฝ้าระวังตั๊กแตนไผ่..... 1745
Ceracris kiangsu Tsai ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-10-65
❖ จารุวัตถ์ แต้กุล และคณะ
➢ 11. การสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช..... 1756
Raphanus raphanistrum ของกะหล่ำปลีในประเทศไทย
Survey and Surveillance of *Raphanus raphanistrum* ✪
FF65-55-06-65-00-11-65
❖ ชุติมา อ้อมกิ่ง และคณะ
➢ 12. การสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช..... 1764
Galium aparine L. ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-12-65
❖ พรรณิภา เปชัยศรี และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืชอุบัติใหม่ในข้าวโพดและกล้วยเพื่อการส่งออก

กิจกรรมที่ 1. วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการจัดการหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพด

การทดลอง

➢ 1.1 การทดสอบประสิทธิภาพสารคลุกเมล็ดและ..... 1773
ราดสารป้องกันกำจัดแมลงในการป้องกันกำจัดหนอน
กระทู้ข้าวโพดลายจุด
FF65-55-07-65-01-01-65

❖ วิภาดา ปลอดครบุรี และคณะ

➢ 1.2 การใช้ไวรัส NPV ร่วมกับสารป้องกันกำจัดแมลง..... 1786
ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวาน
FF65-55-07-65-01-02-65

❖ อนุสรณ์ พงษ์มี และคณะ

กิจกรรมที่ 2. ศึกษาโรคตายพราย (Panama disease) tropical race 4 ของกล้วย และการป้องกันกำจัด

การทดลอง

➢ 2.1 การศึกษาชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคตายพราย..... 1802
TR4 ในกล้วยคาเวนดิช ของประเทศไทย
FF65-55-07-65-02-01-65

❖ ชนินทร ดวงสอาด และคณะ

➢ 2.2 การตรวจสอบเชื้อราสาเหตุโรคตายพราย..... 1813
TR4 กล้วยในประเทศไทยด้วยเทคนิค SIX genes
FF65-55-07-65-02-02-65

❖ วันวิสาข์ เพ็ชรอำไพ และคณะ

➢ 2.3 การศึกษาปฏิกิริยาของสายพันธุ์/พันธุ์กล้วย..... 1820
ต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp.
cubense tropical race 4
FF65-55-07-65-02-03-65

❖ วันวิสาข์ เพ็ชรอำไพ และคณะ

➢ 2.4 การทดสอบการใช้ยูเรียและปูนขาวอบดินร่วม.....
กับการใช้เชื้อจุลินทรีย์ฏิปักษ์ ในการควบคุมโรคตายพราย
TR4 ของกล้วย
FF65-55-07-65-02-04-65

❖ สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยการบริหารศัตรูพืชแบบผสมผสานในพืชผักสำหรับส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป (EU) เพื่อการผลิตที่ยั่งยืน

โครงการวิจัยย่อย ทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชเพื่อทดแทนสารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชที่กลุ่มสหภาพยุโรป (EU) ห้ามใช้

กิจกรรมที่ -

การทดลอง

➢ 1. ศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกัน..... 1828
กำจัดแมลงหวี่ขาวยาสูบ (*Bemisia tabaci* (Gennadius)) ในโหระพา/กะเพรา เพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้
FF65-57-01-65-00-01-65
❖ วนาพร วงษ์นิคง และคณะ

➢ 2. ศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกัน..... 1843
กำจัดเพลี้ยอ่อนฝ้าย (*Aphis gossypii* Glover) ในโหระพา/กะเพรา เพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้
FF65-57-01-65-00-02-65
❖ กรกต ดำรักษ์ และคณะ

➢ 3. ศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกัน..... 1855
กำจัดหนอนแมลงวันชอนใบ (*Liriomyza brassicae* (Riley)) ในโหระพา/กะเพรา เพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้
FF65-57-01-65-00-03-65
❖ กรกต ดำรักษ์ และคณะ

➢ 4. ศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกัน..... 1863
กำจัดเพลี้ยอ่อนฝ้าย (*Aphis gossypii* Glover) ในมะระจีน เพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้
FF65-57-01-65-00-04-65
❖ วนาพร วงษ์นิคง และคณะ

➢ 5. ศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกัน..... 1875
กำจัดเพลี้ยไฟฝ้าย (*Thrips palmi*) ในมะระจีนเพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้
FF65-57-01-65-00-05-65
❖ สัญญาณี ศรีคชา และคณะ

โครงการวิจัยย่อย วิจัยการบริหารศัตรูพืชแบบผสมผสานในพืชผักสำหรับส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป (EU) เพื่อการผลิตที่ยั่งยืน

กิจกรรมที่ –

การทดลอง

- 1. เทคโนโลยีการจัดการศัตรูพริกในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป 1879
  FF65-57-02-65-00-01-65
  - สัญญาณี ศรีคชา และคณะ
- 2. เทคโนโลยีการจัดการศัตรูคะน้าแบบผสมผสานเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป 1893
  FF65-57-02-65-00-02-65
  - ธีราทัย บุญญะประภา และคณะ
- 3. เทคโนโลยีการจัดการศัตรูข้าวโพดฝักอ่อนแบบผสมผสานเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป 1906
  FF65-57-02-65-00-03-65
  - อุราพร หนูนารถ และคณะ

หมายเหตุ

- ชื่อการทดลองที่นักวิจัยแจ้งไม่ตรงกับชื่อการทดลองจากกองแผนงาน

การตรวจวินิจฉัย *Candidatus* Liberibacter solanacearum ที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้า

Interception on the *Candidatus* Liberibacter solanacearum quarantine pest associated with imported Seed Potatoes

สุรศักดิ์ แสนโคตร[1/] ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล[2/] ทิพวรรณ กันหาญาติ[2/]
วันเพ็ญ ศรีชาติ[3/] วาสนา รุ่งสว่าง[1/] โสภา มีอำนาจ[1/]
จันทร์พิศ เดชหามาตย์[1/]
[1/]กลุ่มวิจัยกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[3/]กลุ่มวิชาการ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2

Progress Report

Diagnosis of *Candidatus* Liberibacter solanacearum quarantine pest by the sampling of imported seed potatoes during October 2021 to September 2022. Imports from 4 countries are 1) Scotland imported 21 shipments, total weight 4,256,750 kg. 2) USA, imported 1 shipment, total weight 322 kg. 3) Australia, imported 5 shipments, total weight 505,000 kg. and 4) the Netherlands, imported 3 shipments, total weight 137,500 kg. In 2022, not detected zebra chip disease symptoms on potato seed sample and potato field of Phop Phra District, Tak Province Wiang Pa Pao District, Thoeng District, Chiang Rai Province, Mae Chaem District, Chiang Mai Province and Chiang Kham District, Phayao Province and In 2023, Diagnosis by Nested PCR form imported potato seed.

Keywords : *Candidatus* Liberibacter solanacearum, Potato, zebra chip

---

รหัสการทดลอง FF65-55-03-65-00-03-65

รายงานความก้าวหน้า

การตรวจวินิจฉัยเชื้อ *Candidatus* Liberibacter solanacearum สาเหตุโรค Zebra chip จากการสุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจากต่างประเทศระหว่างเดือนตุลาคม 2564 ถึง กันยายน 2565 มีการนำเข้าจาก 4 ประเทศ ได้แก่ 1) สกอตแลนด์ นำเข้าจำนวน 21 ครั้ง น้ำหนักรวม 4,256,750 กิโลกรัม 2) สหรัฐอเมริกา นำเข้าจำนวน 1 ครั้ง น้ำหนักรวม 322 กิโลกรัม 3) เครือรัฐออสเตรเลีย นำเข้าจำนวน 5 ครั้ง น้ำหนักรวม 505,000 กิโลกรัม 4) เนเธอร์แลนด์ นำเข้าจำนวน 3 ครั้ง น้ำหนักรวม 137,500 กิโลกรัม จากการตรวจสอบหัวพันธุ์มันฝรั่งจากลักษณะอาการบนหัวพันธุ์และแปลงปลูกอำเภอพบพระ จังหวัดตาก อำเภอแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่ อำเภอเวียงป่าเป้า อำเภอเทิง จังหวัดเชียงราย และอำเภอเชียงคำ จังหวัดพะเยา ไม่พบอาการโรค zebra chip ในปี 2565 และได้ดำเนินการตรวจวินิจฉัยด้วยเทคนิค Nested PCR จากตุ่มตาหัวพันธุ์นำเข้าในปี 2566

คำหลัก : มันฝรั่ง zebra chip

คำนำ

เชื้อ *Candidaus* literibacter solanacearum สาเหตุโรค zebra chip ในหัวพันธุ์มันฝรั่ง และมีพืชอาศัยเป็นพืชตระกูล solanaceae และ พืชตระกูล Apiaceae แต่พบว่าประเทศไทยมีการประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าผลพริกสดจากนิวซีแลนด์ พ.ศ. 2558 (กรมวิชาการเกษตร, 2558) ซึ่งจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องมีการตรวจสอบเชื้อนี้กับหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าเพื่อป้องกันการติดเข้ามาแพร่ระบาดสร้างความเสียหายให้กับพืชเศรษฐกิจที่สำคัญที่เป็นพืชอาศัยของเชื้อนี้ ได้แก่ พืชตระกูลมะเขือ, พริก, พืชตระกูลแครอท และขึ้นฉ่าย โดยเชื้อ *Candidaus* literibacter solanacearum เป็นแบคทีเรียแกรมลบ แบคทีเรียมีรูปร่างสัณฐานวิทยาแบบแท่งและมีขนาดประมาณ 0.2 ไมโครเมตร กว้างและยาว 4 ไมโครเมตร (Liefting *et al*., 2009a; Secor *et al*., 2009) มีการเจริญจำกัดอยู่ในท่ออาหาร ตรวจพบครั้งแรกในรัฐแคลิฟอร์เนียในปี พ.ศ. 2551 พบเชื้อนี้ในมะเขือเทศและมันฝรั่ง โดยเพลี้ยไก่แจ้ (psyllid, Bactericera cockerelli เป็นพาหะนำโรค (Hansen และคณะ, 2008) มีการรายงานการตรวจพบเชื้อนี้ในมันฝรั่ง มะเขือเทศและ พริก (Liefting และคณะ 2008, 2009a, 2009b) รวมถึงมีการรายงานพบในแครอท โดยมีเพลี้ยไก่แจ้แครอท (psyllid, Trioza apicalis) เป็นพาหะนำโรค (Munyaneza และคณะ, 2010)

พืชอาศัยและแมลงพาหะ ได้แก่ พืชตระกูล Solanaceae แมลงพาหะของโรค คือ *Bactericera cockerelli* (เพลี้ยไก่แจ้มะเขือเทศหรือมันฝรั่ง) และ พืชตระกูล Apiaceae แมลงพาหะของโรคคือ เลี้ยไก่แจ้ *Trioza* (*Dyspersa*) *apicalis* Förster และ เพลี้ยไก่แจ้ Bactericera trigonica Hodkinson ลักษณะอาการในมันฝรั่ง แสดงอาการเริ่มแรกกับมันฝรั่งสายพันธุ์ Atlantic มีลักษณะใบม้วนงอและบริเวณใบยอดเป็นสีม่วง การเข้าทำลายในหัวมันฝรั่งสดสายพันธุ์ Shepody แสดงอาการเนื้อเยื่อหัวสีน้ำตาลเข้มสลับสีอ่อนจนดูคล้ายลายของม้าลายเมื่อนำมันฝรั่งไปทอดจะเห็นลักษณะเป็น

ลายชัดเจน แหล่งแพร่ระบาด ทวีปแอฟริกา ได้แก่ โมร็อกโก ทวีปเอเชีย ได้แก่ อิสราเอล ทวีปยุโรป ได้แก่ ออสเตรีย, เบลเยี่ยม, เอสโตเนีย, ฟินแลนด์, ฝรั่งเศส, เยอรมันนี, กรีซ, อิตาลี, นอร์เวย์, โปรตุเกส, สเปน, สวีเดน, สหราชอาณาจักร, สกอตแลนด์ ทวีปอเมริกาเหนือ ได้แก่ เอลซัลวาดอร์, กัวเตมาลา, ฮอนดูรัส สหรัฐอเมริกา (บางรัฐ ทวีปโอชีเนีย ได้แก่ นิวซีแลนด์ และ เกาะนอร์ฟอล์ก (CABI, 2019)

การนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจากประเทศจากแหล่งที่มีการแพร่ระบาดจึงมีความเสี่ยงต่อการนำไส้เดือนฝอยศัตรูพืชร้ายแรงจะติดเข้ามา ดังนั้นจึงจำเป็นที่ต้องหาวิธีการตรวจวินิจฉัย ที่รวดเร็ว แม่นยำ มีประสิทธิภาพเพื่อเป็นการสกัดกั้นมิให้ เชื้อ *Candidaus* literibacter solanacearum สาเหตุโรค zebra chip ที่เป็นศัตรูพืชกักกันติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งภายหลังการนำเข้าจากต่างประเทศ และป้องกันมิให้เข้ามาระบาดในพื้นที่เพาะปลูกมันฝรั่งและพืชอาศัยในประเทศไทย และลดความเสี่ยงศัตรูพืชที่เกิดจากโรค Zebra chip

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. คู่มือ เอกสาร หนังสือ วารสาร
2. อุปกรณ์ในการสุ่มเก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติก มาร์กเกอร์ คัตเตอร์
3. วัสดุและอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น สารเคมีต่างๆ ชุดสกัดดีเอ็นเอ ไปเปรต ทิป บีกเกอร์ ไมโครทิว เครื่อง PCR เครื่องส่องและบันทึกภาพเจล ฯลฯ
4. โรงเรือนปลูกพืช ถุงพลาสติกปลูกพืช ดินปลูก
5. พืชทดสอบ เช่น ต้นยาสูบ ต้นพืชอาศัยที่แยกเชื้อได้

วิธีการ

1. สืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับเชื้อ *Candidatus* Liberibacter solanacearum ที่มีรายงานการเข้าทำลายในหัวพันธุ์มันฝรั่งของประเทศคู่ค้าที่ประเทศไทยมีการนำเข้า รวมทั้งข้อมูลเทคนิควิธีการตรวจสอบเชื้อ *Candidatus* Liberibacter solanacearum และมาตรการการป้องกันการเข้ามาของเชื้อนี้

2. สุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจากทุกประเทศตามมาตรฐาน ISPM 31 (Methodologies for sampling of consignments) โดยทำการสุ่มตัวอย่างจากด่านตรวจพืชต่างๆ ที่มีการนำเข้า

3. การตรวจสอบเบื้องต้นโดยการตรวจสอบด้วยตาเปล่า และผ่าหัวมันฝรั่งเป็นสังเกตอาการ zebra chip ภายในหัวมันฝรั่ง บันทึกข้อมูลต่าง ๆ และบันทึกภาพ หากตรวจพบลักษณะอาการเป็นลายน่าสงสัย นำหัวมันฝรั่งไปปลูกเพื่อสังเกตอาการและเก็บตัวอย่างใบหรือกิ่งมาตรวจวินิจฉัยและจัดจำแนกต่อไป

4. การตรวจวินิจฉัยและจัดจำแนกเชื้อ *Candidatus* Liberibacter solanacearum โดยใช้เทคนิค Nested PCR ตามวิธีการดังนี้

4.1 สกัดสารพันธุกรรมชนิดดีเอ็นเอ (Total DNA) จากตุ่มตาหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าด้วยวิธี CTAB (Munyaneza และคณะ, 2010)

4.2 เพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของเชื้อ *Candidatus* Liberibacter solanacearum ด้วยเทคนิค Nested PCR โดยใช้คู่ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงกับเชื้อดังกล่าว และ Internal control (16S Bacteria and plant chromosomal)

4.3 ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอ (PCR product) ด้วยเทคนิคเจลอิเล็กโตโฟรีซีส (gel electrophoresis) โดยใช้ 2 เปอร์เซนต์ อะกาโรสเจล ให้กระแสไฟฟ้าที่ 100 โวลต์ เป็นเวลา 45 นาที

4.4 ตัวอย่างที่ปรากฏแถบแบนของดีเอ็นเอเป้าหมายถือว่าให้ผลบวกกับการตรวจสอบ ทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมอีกครั้งเพื่อส่งตัวอย่างไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

4.5 วิเคราะห์และเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของแต่ละตัวอย่าง โดยจัดการข้อมูลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป DNASTAR และเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลใน GenBank

5. ติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้า โดยทำการติดตามตรวจสอบในแปลงของบริษัทที่นำเข้าในจังหวัดตาก เชียงใหม่ เชียงราย และ พะเยา

การบันทึกข้อมูล

ข้อมูลการตรวจพบและไม่พบเชื้อ *Candidatus* Liberibacter solanacearum จำนวนครั้ง ปริมาณ และประเทศผู้ส่งออกหัวพันธุ์มันฝรั่ง

เวลาและสถานที่

เริ่มตุลาคม 2565 ถึง กันยายน 2566 สถานที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และแปลงปลูก หัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าของบริษัทเอกชนหรือเกษตรกรในจังหวัดตาก เชียงใหม่ เชียงราย และ พะเยา

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับเชื้อ *Candidatus* Liberibacter solanacearum ที่มีรายงานการเข้าทำลายในหัวพันธุ์มันฝรั่งของประเทศคู่ค้าที่ประเทศไทยมีการนำเข้า ประเทศไทยมีเงื่อนไขการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจาก 7 ประเทศ ได้แก่ หัวพันธุ์นำเข้าจากประเทศแคนาดา (กรมวิชาการเกษตร, 2559) เนเธอร์แลนด์ (กรมวิชาการเกษตร, 2552ข) อิสราเอล (กรมวิชาการเกษตร, 2552ฉ) นิวซีแลนด์ (กรมวิชาการเกษตร, 2552ก) สกอตแลนด์ (กรมวิชาการเกษตร, 2552ค) ออสเตรเลีย (กรมวิชาการเกษตร, 2552จ) และสหรัฐอเมริกา (กรมวิชาการเกษตร, 2552ง)

ข้อมูลเทคนิควิธีการตรวจสอบเชื้อ *Candidatus* Liberibacter solanacearum มีมาตรฐานการตรวจสอบเชื้อนี้ของ PM 7/143 (1) '*Candidatus* Liberibacter solanacearum' (EPPO, 2020) และ ISPM 27 ANNEX 21 (DP 21: *Candidatus* Liberibacter solanacearum (IPPC, 2017)

มาตรการการป้องกันการเข้ามาของเชื้อนี้ หัวพันธุ์มันฝรั่งควรมาจากพื้นที่ที่ไม่มีการระบาดของเชื้อนี้ และหัวพันธุ์มันฝรั่งควรคัดเลือกเกรดสูง หากมีการนำเข้ามาแล้วควรอยู่ภายใต้การกักกันภายหลังการกักกัน (post-entry quarantine) ส่วนมันฝรั่งที่นำเข้าเพื่อการแปรรูปทางอุตสาหกรรมเท่านั้น นอกจากนี้ยังแนะนำให้ประเทศต่างๆ จัดตั้งระบบควบคุมการกำกับดูแลระดับชาติสำหรับแมลง *Bactovera cockerelli* และ *Candidatus* Liberibacter solanacearum (โดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับ haplotypes A และ B) เพื่อปกป้องการระบาดของโรคนี้ในมันฝรั่งและต้องมีการดำเนินการอย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพหากเกิดการระบาดของโรคนี้ (EPPO, 2020a)

2. การสุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจากทุกประเทศตามมาตรฐาน ISPM 31 (Methodologies for sampling of consignments) โดยทำการสุ่มตัวอย่างจากด่านตรวจพืชต่างๆ ที่มีการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งที่มีการนำเข้าตั้งแต่ ตุลาคม 2564 ถึง กันยายน 2565 มีการนำเข้าจาก 6 ประเทศ ได้แก่ 1) ราชอาณาจักรสกอตแลนด์ นำเข้าจำนวน 21 ครั้ง น้ำหนักรวม 4,256,750 กิโลกรัม 2) แคนาดา นำเข้าจำนวน 1 ครั้ง น้ำหนักรวม 729,000 กิโลกรัม 3) เครือรัฐออสเตรเลีย นำเข้าจำนวน 3 ครั้ง น้ำหนักรวม 276,000 กิโลกรัม 4) เนเธอร์แลนด์ นำเข้าจำนวน 4 ครั้ง น้ำหนักรวม 241,500 กิโลกรัม 5) ราชอาณาจักรนิวซีแลนด์ 1 ครั้ง น้ำหนักรวม 25,000 กิโลกรัม 6) สหรัฐอเมริกา นำเข้าจำนวน 1 ครั้ง น้ำหนักรวม 322 กิโลกรัม โดยทำการสุ่มหัวพันธุ์มันฝรั่งจำนวน 600 หัวต่อตัวอย่าง เพื่อใช้สำหรับการตรวจสอบโรคกับหัวพันธุ์ การตรวจสอบเบื้องต้นโดยการตรวจสอบด้วยตาเปล่า และผ่าหัวมันฝรั่งเป็นสังเกตอาการ zebra chip ภายในหัวมันฝรั่ง บันทึกข้อมูลต่าง ๆ และบันทึกภาพ หากตรวจพบลักษณะอาการเป็นลายน่าสงสัย นำหัวมันฝรั่งไปปลูกเพื่อสังเกตอาการและเก็บตัวอย่างใบหรือกิ่งมาตรวจวินิจฉัยและจัดจำแนกต่อไป

3. จากการตรวจสอบเบื้องต้นจากอาการเนื้อเยื่อหัวพันธุ์ มีการนำเข้าจากทั้ง 6 ประเทศ ได้แก่ 1) สกอตแลนด์ 2) แคนาดา 3) เครือรัฐออสเตรเลีย 4) เนเธอร์แลนด์ 5) ราชอาณาจักรนิวซีแลนด์ 6) สหรัฐอเมริกา บริเวณรอบหัวพันธุ์มันฝรั่งมีลักษณะรอยกระแทกหรือรอยที่เกิดจากของมีคม และมีอาการเน่าเละบางหัว มีเศษดินติดมาเล็กน้อย และหัวพันธุ์ที่นำเข้าจากสกอตแลนด์ พบลักษณะอาการ powdery scab แต่ไม่เกินเงื่อนไขที่ประเทศไทยกำหนด และเมื่อผ่าหัวพันธุ์เพื่อสังเกตลักษณะอาการ zebra chip (ภาพที่ 1) ไม่พบลักษณะอาการที่สงสัย เนื้อหัวมีลักษณะปกติไม่มีลาย (ภาพที่ 2) นำหัวพันธุ์ไปปลูกทดสอบในโรงเรือนปลูกพืชเพื่อสังเกตอาการต่อไป

4. การตรวจวินิจฉัยและจัดจำแนกเชื้อ *Candidatus* Liberibacter solanacearum โดยใช้เทคนิค Nested PCR ตามวิธีการมาตรฐานของ Subcommittee on Plant Health Diagnostic Standards (SPHDS) of Australia ดังนี้ (ดำเนินการในปี 2566)

4.1 การสกัดดีเอ็นเอจากตุ่มตาหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธี CTAB (Munyaneza และคณะ, 2010)

4.1.1 การสกัดดีเอ็นเอด้วยชุดสกัดสำเร็จรูป วิธีการตามคำแนะนำของชุดสกัด

4.1.2 ดัดแปลงจากวิธีสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธี CTAB ตามวิธีการมาตรฐานของ PM 7/143 (1) 'Candidatus Liberibacter *solanacearum*' (EPPO, 2020) ที่อ้างอิงโดย Munyaneza และคณะ, 2010

การสกัดดีเอ็นเอจากเนื้อเยื่อพืชด้วยวิธี cetyltrimethylammonium ammonium bromide (CTAB) ดัดแปลงจากวิธีการของ European and Mediterranean Plant Protection Organization (Munyaneza และคณะ, 2010) โดยตุ่มตาหัวมันฝรั่งน้ำหนัก 500 มิลลิกรัม บดให้ละเอียดในโกร่งบด (mortar) พร้อมด้วยสารสกัด CTAB (100 mM Tris, pH 8.0, 1.4 M NaCl, 50 mM EDTA, pH 8.0, 2% (w/v) CTAB, 1% (w/v) polyvinylpyrrolidone (PVP)-40 and 0.2% (v/ v) 2-mercaptoethanol) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เมื่อเนื้อเยื่อตาละเอียดแล้วดูดสารละลาย ลงในหลอดไมโครทิวป์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที แล้วจึงทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 14,000 รอบต่อวินาที เป็นเวลา 10 นาที ดูดส่วนใส่ประมาณ 500-600 ไมโครลิตรลงในหลอดไมโครทิวป์ใหม่ และเติมสารละลายคลอโรฟอร์มต่อไอโซเอมิล (chloroform: Isoamyl อัตราส่วน 24:1 V/V) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร กลับหลอดเบาๆไปมา 3-4 ครั้งจนสารละลายเข้ากัน นำไปปั่นตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ทำการดูดส่วนใสด้านบนใส่ในหลอดไมโครทิวป์ใหม่ปริมาตร 400-500 ไมโครลิตร เติม isopropanol ปริมาตร 400-500 ไมโครลิตร หรืออัตราส่วน 1 ต่อ 1 กลับหลอดไปมาเบาๆ จนพบการตกตะกอนของดีเอ็นเอ ประมาณ 4-5 ครั้ง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงตกตะตอนดีเอ็นเอที่ความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที แล้วทำการล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วยเอทานอลเย็นจัดเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ 2 ครั้ง จากนั้นตากตะกอนดีเอ็นเอให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง และละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 50-100 ไมโครลิตร เมื่อละลายนำสารละลายตะกอนดีเอ็นเอไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิลบ 20 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปตรวจหาเชื้อ *Candidatus* Liberibacter solanacearum ด้วยเทคนิค PCR ต่อไป

4.2 การเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของเชื้อ *Candidatus* Liberibacter solanacearum ด้วยเทคนิค Conventional PCR โดยใช้คู่ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงกับเชื้อดังกล่าว และ Internal control เทคนิค Nested PCR ใช้วิธีการตามมาตรฐาน Subcommittee on Plant Health Diagnostic Standards (SPHDS) of Australia โดยเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในส่วนของยีน 16S rRNA กระบวนการ PCR ขั้นตอนแรกใช้คู่ไพรเมอร์ OA2 GCGCTTATTTTTAATAGGAGCGGCA และ OI2c GCCTCGCGACTTCGCAACCCAT ให้ผลิตภัณฑ์ PCR ขนาด 1,160 bp พัฒนาโดย Jagoueix และคณะ (1996) และขั้นตอนที่ 2 ใช้คู่ไพรเมอร์ Lib16S01F TTCTACGGGATAACGCACGG และ Lib16S01R CGTCAGTATCAGGCCAGTGAG ให้ผลิตภัณฑ์ PCR ขนาด 580 bp พัฒนาโดย Liefting และคณะ (2009a) (2009b) และใช้คู่ไพรเมอร์ FD2 AGAGTTTGATCATGGCTCAG และ RP1 ACGGTTACC TTGTTACGACTT พัฒนาโดย Weisberg และคณะ (1991) เป็นชุดตรวจสอบควบคุมภายในการทดสอบ (internal control) สำหรับตรวจสอบดีเอ็นเอส่วนของยีน 16S แบคทรีเรีย Internal control (16S Bacteria and plant chromosomal) เพื่อตรวจสอบว่าวิธีการสกัดดีเอ็นเอมีประสิทธิภาพ นำไปเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายด้วยวิธีการ PCR ประกอบไปด้วย

4.2.1 การเตรียมสารประกอบสำหรับดำเนินการ มีดังนี้

น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อชนิดไม่มีประจุ (diH_2O)	ปริมาตร 7.5 ไมโครลิตร
DreamTaq Green PCR Master Mix (2X)	ปริมาตร 12.5 ไมโครลิตร
ไพรเมอร์ 1 10 µM	ปริมาตร 1 ไมโครลิตร
ไพรเมอร์ 2 10 µM	ปริมาตร 1 ไมโครลิตร
กรดนิวคลีอิกที่ได้จากการสกัดพืชทดสอบ (DNA template)	ปริมาตร 3 ไมโครลิตร
ปริมาตรรวมของปฏิกิริยาเท่ากับ	ปริมาตร 25 ไมโครลิตร

4.2.2 นำสารประกอบเข้าเครื่อง Thermal cycler โดยตั้งค่าโปรแกรมดังนี้

PCR ครั้งที่ 1 สำหรับคู่ไพรเมอร์[1] OA2 และ OI2c ครั้งที่ 2 สำหรับคู่ไพรเมอร์[2] Lib16S01F และ Lib16S01R และ คู่ไพรเมอร์ สำหรับตรวจสอบการสกัดดีเอ็นเอ (Internal control)[3] FD2 และ RP1

ขั้นตอนที่ 1 initial denaturation	ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที
ขั้นตอนที่ 2 Denaturation	ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที
ขั้นตอนที่ 3 Annealing	ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส[1] นาน 30 วินาที
	ที่อุณหภูมิ 58 องศาเซลเซียส[2] นาน 30 วินาที
	ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส[3] นาน 30 วินาที
ขั้นตอนที่ 4 Extension	ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 60 วินาที
ขั้นตอนที่ 2-4	ทำปฏิกิริยาทั้งหมด 30 รอบ
ขั้นตอนที่ 5 Final extension	ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที

การตรวจสอบผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอ (PCR product) ด้วยเทคนิคเจลอิเล็กโตโฟรีซีส (gel electrophoresis) ตามขั้นตอนดังนี้

4.2.3 เตรียม 2% อะกาโรลเจล โดยชั่งผงอะกาโรส 2 กรัม ละลายในบัฟเฟอร์ 0.5X TBE ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยการให้ความร้อน จากนั้นผสมสารย้อมสีดีเอ็นเอ (RedSafe™ Nucleic Acid Staining Solution) ลงในสารละลายเจลก่อนการเทเจล

4.2.4 นำผลิตภัณฑ์ PCR ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ปล่อยลงช่องเจลที่เตรียมไว้และใช้ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp DNA ladder เป็นตัวเทียบในเจลด้วย จากนั้นให้กระแสไฟฟ้าที่ 100 โวลต์ เป็นเวลา 45 นาที

4.2.5 ตรวจสอบแถบดีเอ็นเอภายใต้แสง UV ด้วยเครื่อง gel documentation บันทึกภาพแล้วนำไปวิเคราะห์ผล

4.2.6 ตัวอย่างที่ปรากฏแถบแบนของดีเอ็นเอเป้าหมายถือว่าให้ผลบวกกับการตรวจสอบ ทการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมอีกครั้งเพื่อส่งตัวอย่างไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

4.2.7 นำผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ไปเปรียบเทียบกับในฐานข้อมูลของ GenBank

5. ติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้า โดยทำการติดตามตรวจสอบในแปลงของบริษัทที่นำเข้าในอำเภอพบพระ จังหวัดตาก อำเภอแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่ อำเภอเวียงป่าเป้า จังหวัด

เชียงราย และอำเภอเชียงคำ จังหวัดพะเยา ผลการติดตามในแปลงปลูกยังไม่พบอาการสงสัยของโรค zebra chip ในพื้นที่

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. การสุ่มตรวจตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าตรวจพบเศษดินที่ติดมากับหัวพันธุ์และลักษณะอาการ powdery scab ไม่เกินเงื่อนไขที่กำหนด

2. การตรวจวินิจฉัยตัวอย่างหัวพันธุ์ด้วยการตรวจสอบอาการจากเนื้อเยื่อหัวพันธุ์ด้วยการผ่าหัวพันธุ์ยังไม่พบลักษณะอาการ Zebra chip

3. จากการติดตามและตรวจสอบในแปลงปลูกมันฝรั่งภายหลังการนำเข้าในพื้นที่แปลงปลูกยังไม่ตรวจพบลักษณะอาการของต้นมันฝรั่งที่เป็นโรค อย่างไรก็ตามการตรวสอบจากลักษณะอาการของโรคเป็นเพียงการตรวจสอบด้วยสายตาจากอาการภายนอก มีความรวดเร็ว แต่ขาดความแม่นยำในการตรวจหาเชื้อในปริมาณเพียงเล็กน้อย และไม่ทำให้พืชแสดงอาการ อาจทำให้การวินิจฉัยไม่ถูกต้อง จึงได้นำวิธีการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชมาตราฐานสำหรับการตรวจหาเชื้อ *Candidatus* Liberibacter solanacearum ด้วยเทคนิค Nested PCR ซึ่งมีความไว แม่นยำ และถูกต้องสูง มาใช้ในการตรวจวินิจฉัยหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าได้อย่างทันเหตุการณ์ พร้อมทั้งการสำรวจตัวอย่างในแปลงปลูกจากหัวพันธุ์นำเข้า โดยเริ่มการตรวจวินิจฉัยด้วยเทคนิค PCR ในเดือน ตุลาคม 2565 จนถึงปัจจุบัน เพื่อเป็นการสกัดกั้นศัตรูพืชร้ายแรงที่จะติดมาและเข้ามาแพร่ระบาดสร้างความเสียหายภายในประเทศต่อไป

4. การตรวจวินิจฉัยด้วยเทคนิค Nested PCR ได้นำวิธีมาตรฐานของ Subcommittee on Plant Health Diagnostic Standards (SPHDS) of Australia มาใช้ในการปฏิบัติงานในปีงบประมาณ 2566 เป็นต้นไป ควบคู่กับการตรวจสอบจากอาการบนหัวพันธุ์ และติดตามในแปลงปลูก

ข้อเสนอแนะ เนื่องจากตัวอย่างหัวพันธุ์มีการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชมาก 1 ชนิดโดยฌพาะการตรวจวินิจฉัยไส้เดือนฝอยศัตรูพืช จึงควรนำตัวอย่างหัวพันธุ์มาล้างเศษดินที่หัวพันธุ์ เพื่อตรวจวินิจฉัยไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับผิวหัวพันธุ์ จากนั้นบ่มหัวพันธุ์ในที่มืด 2-3 วัน เพื่อกระตุ้นให้ตุ่มตาหัวพันธุ์งอกต้นใหม่และเก็บตัวอย่างไปสกัดดีเอ็นเอเพื่อตรวจหาเชื้อสาเหตุเป้าหมาย หลังจากนั้นให้สังเกตอาการจากการผ่าหัวพันธุ์ และนำหัวพันธุ์ที่เหลือไปตรวจวินิจฉัยไส้เดือนฝอนศัตรูพืชในระยะตัวอ่อนที่อาจจะเข้าทำลายในหัวพันธุ์มันฝรั่ง ด้วยวิธีการปั่นแยก ร่วมกับวิธีการปั่นเหวี่ยงในสารละลายน้ำเชื่อมสำหรับตรวจหาไส้เดือนฝอยศัตรูพืชต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชลาดกระบัง สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ที่อำนวยความสะดวกในการสุ่มตรวจตัวอย่างและข้อมูลการนำเข้า

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2552ก. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจากนิวซีแลนด์ พ.ศ. 2558 ประกาศ ณ วันที่ 9 กรกฎาคม 2552 ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 126 ตอนพิเศษ 110 ง. ลงวันที่ 6 สิงหาคม 2552. หน้า 19

กรมวิชาการเกษตร. 2552ข. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจากราชอาณาจักรเนเธอร์แลนด์ พ.ศ. 2552 ประกาศ ณ วันที่ 13 พฤศจิกายน 2552 ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 126 ตอนพิเศษ 182 ง. ลงวันที่ 21 ธันวาคม 2552. หน้า 68.

กรมวิชาการเกษตร. 2552ค. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจากสกอตแลนด์ พ.ศ. 2552 ประกาศ ณ วันที่ 9 กรกฎาคม 2552 ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 126 ตอนพิเศษ 110 ง. ลงวันที่ 6 สิงหาคม 2552. หน้า 33.

กรมวิชาการเกษตร. 2552ง. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจากสหรัฐอเมริกา พ.ศ. 2552 ประกาศ ณ วันที่ 13 ตุลาคม 2552 ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 126 ตอนพิเศษ 170 ง. ลงวันที่ 23 พฤศจิกายน 2552. หน้า 55-56.

กรมวิชาการเกษตร. 2552จ. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจากเครือรัฐออสเตรเลีย พ.ศ. 2552 ประกาศ ณ วันที่ 15 กรกฎาคม 2552 ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 126 ตอนพิเศษ 114 ง. ลงวันที่ 14 สิงหาคม 2552. หน้า 56.

กรมวิชาการเกษตร. 2552ฉ. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจากรัฐอิสราเอล พ.ศ. 2552 ประกาศ ณ วันที่ 9 กรกฎาคม 2552 ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 126 ตอนพิเศษ 110 ง. ลงวันที่ 6 สิงหาคม 2552. หน้า 54.

กรมวิชาการเกษตร. 2559. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจากแคนาดา พ.ศ. 2559 ประกาศ ณ วันที่ 28 กันยายน 2559 ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 133 ตอนพิเศษ 221 ง. ลงวันที่ 30 กันยายน 2559. หน้า 32-33.

Crosslin, J., Munyaneza, J., Brown, J., Liefting, L. 2010. A History in the Making: Potato Zebra Chip Disease Associated with a New Psyllid-borne Bacterium -- A Tale of Striped Potatoes. Online. APS*net* Features. doi:10.1094/APSnetFeature-2010-0110.

EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization). 2020. Diagnostic, PM 7/143 (1) 'Candidatus Liberibacter *solanacearum*'. OEPP/EPPO Bulletin. 50 (1), 49–68.

EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization). 2020a. EPPO Standards. National Regulatory Control Systems. PM 9/25 *Bactericera cockerelli* and '*Candidatus* Liberibacter *solanacearum*'. *EPPO Bulletin* **50**(3), 496-509. DOI:10.1111/epp.12685

IPPC (International Plant Protection Convention). 2017. ISPM 27 Annex 21 DP 21: 'Candidatus Liberibacter *solanacearum*'. Diagnostic protocols for regulated pests, International National Standard Phytosanitary measure. 18 pp.

Jagoueix, S., Bové, J. M., and Garnier, M. 1996. PCR detection of the two ‘Candidatus’ Liberobacter species associated with greening disease of citrus. Molecular and Cellular Probes 10, 43-50.

Liefting, L.W., Sutherland, P.W., Ward, L.I., Paice, K.L., Weir, B.S. and Clover, G.R.G. 2009a. A new ‘Candidatus Liberibacter’ species associated with diseases of solanaceous crops. Plant Disease 93, 208-214.

Liefting, L.W., Weir, B.S., Pennycook, S.R. and Clover, G.R.G. 2009b. 'Candidatus Liberibacter solanacearum', associated with plants in the family Solanaceae. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 59, 2274-2276.

Munyaneza JE, Fisher TW, Sengoda VG, Garczynski SF, Nissinen A & Lemmetty A (2010) Association of ‘Candidatus Liberibacter solanacearum’ with the psyllid Trioza apicalis (Hemiptera:Triozidae) in Europe. Journal of Economic Entomology 103, 1060–1070.

Weisberg, WG, Barns, S, Pelletier, DA and Lane DJ. 1991. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. Journal of Bacteriology 173, 697-703

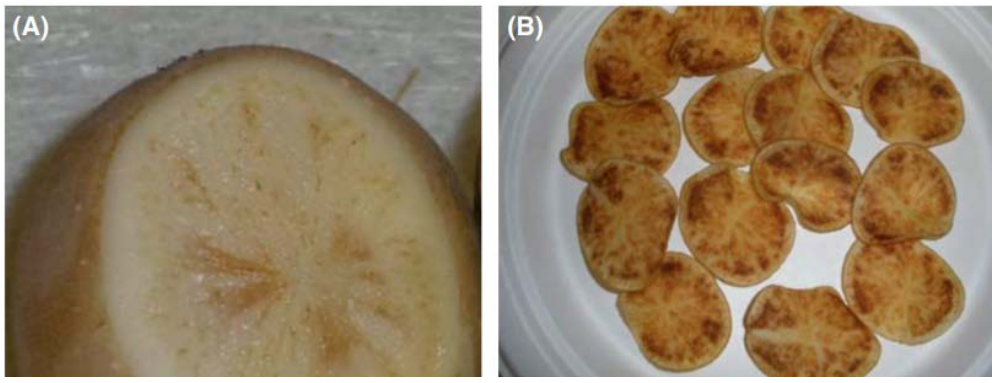


Figure 1 Symptoms of Zebra chip disease on tuber potato (EPPO, 2020)
(A) Browning of freshly cut tuber of cv. FL1867 affected by zebra chip
(B) Severe zebra chip symptoms in processed chips

Figure 2 Symptom of Zebra chip on potato plants (Crosslin et al,. 2010)

(A) Chlorosis and purpling of zebra chip

(B) Tubers growing abnormally at ground level on the main stem of a potato plant

Figure 3 Seed potato imported from Scotland UK

(A) Seed potato (B) Healthy seed potato no symptom Zebra chip

การตรวจและศึกษาชนิดเมล็ดวัชพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่ายนำเข้า

จันทร์พิศ เดชหามาตย์[1/] โสภา มีอำนาจ[1/] วันเพ็ญ ศรีชาติ[2/]
สุรศักดิ์ แสนโคตร[1/] วานิช คำพานิช[1/] พรรณิภา เปชัยศรี[1/]
[1/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิชาการ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2

รายงานความก้าวหน้า

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่าย (*Apium graveolens*) ในช่วงเดือนตุลาคม 2564 ถึงเดือนกันยายน 2565 พบว่ามีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศ ได้แก่ ประเทศเม็กซิโก อิตาลี ฝรั่งเศส และสหรัฐอเมริกา ปริมาณทั้งสิ้น 15,997.200 กิโลกรัม ทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่ายนำเข้าจากต่างประเทศจำนวนทั้งสิ้น 10 ตัวอย่าง นำมาตรวจสอบศัตรูพืชด้วยตาเปล่า ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ และแว่นขยาย จัดจำแนกชนิดจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยเทียบกับตัวอย่างเมล็ดวัชพืชที่มีอยู่ เอกสารวิชาการ และคู่มือการจัดจำแนกชนิด ทดสอบความงอกของเมล็ดวัชพืชในห้องปฏิบัติการด้วยวิธีการเพาะในกระดาษและในทราย ผลการตรวจสอบพบการปนของเมล็ดวัชพืชปนมากับเมล็ดพันธุ์จากประเทศเม็กซิโก จำนวน 2 ครั้ง ได้แก่ *Chenopodium* spp. *Echinochloa colona* และ *Rumex* sp. เมล็ดพันธุ์จากประเทศอิตาลีพบเมล็ดวัชพืชจำนวน 3 ครั้ง ได้แก่ *Helminthotheca echioides*, *Chenopodium* sp. และ *Solanum* sp. และเมล็ดพันธุ์จากสหรัฐอเมริกาพบเมล็ดวัชพืชจำนวน 1 ครั้ง ได้แก่ *Echinochloa colona* และ *Rumex* sp. สำหรับการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชภายหลังการนำเข้าในแปลงปลูกของเกษตรกรในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ ลำปาง และจังหวัดตากของประเทศไทย ไม่พบศัตรูพืชที่มีความสำคัญด้านกักกันพืช

รหัสการทดลอง FF65-55-03-65-00-04-65

คำนำ

ผักขึ้นฉ่าย (*Apium graveolens*: celery) จัดเป็นสิ่งกำกัด ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งจำกัดข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พ.ศ. 2550 ซึ่งกำหนดให้ส่วนหนึ่งส่วนใดของพืชในวงศ์กะหล่ำ ในการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ต้องแจ้งการนำเข้า และมีใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาโดยไม่มีมาตรการสุขอนามัยพืชกำหนดไว้แต่อย่างใด จึงมีความเสี่ยงสูงที่จะมีศัตรูพืชติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากต่างประเทศได้ ประเทศไทยเป็นแหล่งผลิตเมล็ดพันธุ์ผักเพื่อการส่งออกที่สำคัญ ซึ่งทำรายได้แก่เกษตรกรจำนวนมาก ในแต่ละปีมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่ายจากแหล่งต่างๆเพื่อใช้ในการเพาะปลูกเพื่อบริโภค และการผลิตเมล็ดพันธุ์ส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศ เมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่ายพบว่าเป็นพาหะของศัตรูพืชร้ายแรงหลายชนิดที่ยังไม่มีรายงานพบในประเทศไทย เช่น วัชพืช *Polygonum aviculare*, *Circium* arvense, *Orobanche ramosa*, *Senecio vulgaris*, *Chenopodium murale, Polygonum lapathifolium*, *Emex australis* (CABI, 2022) จึงมีความเสี่ยงที่ศัตรูพืชเหล่านี้จะติดเข้ามาและสามารถแพร่กระจายในสภาพแวดล้อมของประเทศไทย ซึ่งจะก่อให้เกิดผลกระทบต่อการเกษตรในประเทศและการส่งออกเมล็ดพันธุ์ไปยังต่างประเทศ การศึกษาชนิดศัตรูพืชที่ติดมากับพืชนำเข้ามีวัตถุประสงค์เพื่อให้ทราบชนิดของศัตรูพืช แหล่งที่มา การปรากฏของศัตรูพืชในประเทศคู่ค้าและเส้นทางการเข้ามาของศัตรูพืชโดยข้อมูลดังกล่าวสามารถใช้เป็นฐานข้อมูล สำหรับอ้างอิงทางวิชาการ เพื่อกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชให้เหมาะสมรัดกุม และป้องกันไม่ให้ศัตรูพืชกักกันเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. คู่มือการจัดจำแนกชนิด เอกสาร หนังสือ วารสาร
2. อุปกรณ์ในการสุ่มเก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติก ปากกามาร์กเกอร์ มีดคัตเตอร์
3. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ ปากคีบ กระดาษเพาะ ถาดเพาะเมล็ด ทรายสำหรับเพาะ

วิธีการ

1. สืบค้นข้อมูลวัชพืชเป้าหมาย เช่น ชีววิทยา ลักษณะเมล็ดวัชพืช วิธีการตรวจศัตรูพืชในเมล็ดพันธุ์ และวิธีการกำจัดศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์
2. สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์จากด่านตรวจพืช ตามมาตรฐาน International Seed Testing Association (ISTA, 2020) ปริมาณเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่ายที่ใช้สำหรับตรวจสอบศัตรูพืชในห้องปฏิบัติการน้ำหนัก 30 กรัม โดยสุ่มตามวิธีการดังนี้

2.1 การสุ่มตัวอย่างที่บรรจุอยู่ในกระสอบ หรือภาชนะอื่นๆ ที่มีขนาดบรรจุของภาชนะแต่ละใบเท่า ๆ กัน โดยมีน้ำหนักของเมล็ดพันธุ์จำนวน 15 กิโลกรัม ถึง 100 กิโลกรัม

2.1.1 เมล็ดพันธุ์จำนวน 1-4 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 3 ตัวอย่างขั้นต้น จากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.2 เมล็ดพันธุ์จำนวน 5 – 8 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 2 ตัวอย่างขั้นต้น จากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.3 เมล็ดพันธุ์จำนวน 9 – 15 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 1 ตัวอย่างขั้นต้น จากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.4 เมล็ดพันธุ์จำนวน 16 – 30 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 15 ตัวอย่างขั้นต้น จากภาชนะบรรจุทั้งหมด

2.1.5 เมล็ดพันธุ์จำนวน 31 – 59 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 20 ตัวอย่าง ขั้นต้น จากภาชนะบรรจุทั้งหมด

2.1.6 เมล็ดพันธุ์จำนวนตั้งแต่ 60 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 30 ตัวอย่าง จากภาชนะบรรจุทั้งหมด

3. การตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น โดยตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ด้วยตาเปล่า สังเกตลักษณะสี ผิว และรูปร่างว่าผิดปกติหรือไม่ มีรอยเจาะ หรือแตกกะเทาะ หรือไม่ แล้วจึงนำเมล็ดพันธุ์ที่สุ่มได้นำไปตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

4. การตรวจศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

4.1 ตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) เพื่อศึกษาและบันทึกลักษณะภายนอกของเมล็ด เช่น สี (colour) ผิว (Texture) รูปร่าง (Shape) และลายบนผิวของเมล็ด วัดขนาดความกว้าง ความยาวของเมล็ดวัชพืช ทำการถ่ายภาพเมล็ด

4.2 เปรียบเทียบกับตัวอย่างเมล็ดวัชพืชในพิพิธภัณฑ์และใช้คู่มือจำแนกวัชพืชที่เป็นเอกสาร หนังสือจัดจำแนกชนิด และเวบไซต์ที่เชื่อถือได้

5. การทดสอบความงอกของเมล็ดวัชพืช

5.1 วิธีการเพาะในกระดาษเพาะ ตัดจานเพาะขนาดจานเพาะเชื้อสองชิ้น วางลงในจานให้สนิท ค่อยๆหยอดน้ำลงบนกระดาษให้เปียกทั่วถึง แต่ไม่แฉะ (ให้เอียงจานเล็กน้อยหยอดน้ำจากด้านบนลงมา เมื่อน้ำเริ่มสะสมที่มุมจานด้านล่าง แสดงว่าความชื้นพอดี) และวางเมล็ดบนและสัมผัสกระดาษเพาะให้มากที่สุด โดยกระจายให้ทั่วกระดาษอาจปิดหรือเปิดฝาจานเพื่อช่วยรักษาหรือลดความชื้น แล้ววางจานในที่อุณหภูมิห้อง

5.2 วิธีเพาะในทราย ใส่ทรายที่เตรียมไว้ (ทรายละเอียด สม่ำเสมอ และสะอาด) ในกล่องพลาสติกให้แน่นพอสมควร โดยใช้แผ่นไม้ปาดผิวทรายให้ได้ระดับสม่ำเสมอ ค่อยๆ รดน้ำในกล่องทรายให้ทั่วถึง คอยเอียงกล่องและดูที่มุมกล่อง หากมีน้ำเริ่มขังที่มุมล่าง แสดงว่ามีความชื้นพอดี วางเมล็ดลงบนทรายไว้ที่อุณหภูมิห้อง (กิตติ, 2559)

6. การติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้า โดยทำการติดตามตรวจสอบในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่าย

7. รวบรวมและจัดทำข้อมูลวัชพืชที่ตรวจพบและสรุปผล

การบันทึกข้อมูล

1. ข้อมูลการตรวจพบและไม่พบชนิดวัชพืช จำนวนครั้ง ปริมาณ และประเทศผู้ส่งออกเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่าย

2. บันทึกภาพลักษณะของเมล็ดวัชพืช และเก็บตัวอย่างศัตรูพืชเพื่อใช้เป็นหลักฐานทางวิชาการ

เวลาและสถานที่

สถานที่ทำการวิจัย : ห้องปฏิบัติการอาคารศูนย์ตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชกักกัน กลุ่มงานวินิจฉัยศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และ แปลงปลูกของบริษัทเอกชนหรือเกษตรกรนำเข้าขึ้นฉ่ายในจังหวัดนครราชสีมา ราชบุรี อุบลราชบุรี พะเยา เชียงใหม่ และนครปฐม

ระยะเวลาการวิจัย : ระยะเวลาโครงการ 2 ปี 0 เดือน

: วันที่เริ่มต้น 1 ตุลาคม 2564 วันที่สิ้นสุด 30 กันยายน 2566

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสืบค้นข้อมูล

จากการสืบค้นข้อมูลวัชพืชที่สามารถติดมากับเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่ายได้ เช่น วัชพืช *Amaranthus blitum, Chamomilla recutita, Galinsoga parviflora, Polygonum aviculare, Circium arvense, Orobanche aegyptiaca, Orobanche minor, Orobanche crenata, Orobanche ramosa, Poa annua, Senecio vulgaris, Chenopodium murale, Polygonum lapathifolium, Emex australis* (CABI, 2022) โดยรายชื่อวัชพืชดังกล่าว (*Polygonum aviculare, Circium arvense, Orobanche aegyptiaca, Orobanche minor, Orobanche crenata*) จัดอยู่ในรายชื่อศัตรูพืชกักกันตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 นอกจากนี้บางชนิดยังเป็นวัชพืชที่มีสถานะยังไม่มีรายงานพบในประเทศไทย

2. สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่ายนำเข้าจากต่างประเทศ

ทำการสุ่มตัวอย่างจากด่านตรวจพืช พบมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์จำนวน 10 ครั้ง จากประเทศเม็กซิโก อิตาลี ฝรั่งเศส และสหรัฐอเมริกา ทางด่านตรวจพืชลาดกระบัง ท่าเรือกรุงเทพ ท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ และไปรษณีย์ น้ำหนักรวม 15,997.200 กิโลกรัม

3. การตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น

เมล็ดพันธุ์ที่สุ่มมาบรรจุมาในบรรจุภัณฑ์ที่สะอาด เมล็ดมีความสมบูรณ์ และตรวจพบเมล็ดวัชพืชติดปนมากับเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่ายนำเข้าจำนวน 6 ครั้ง ทำการตรวจสอบขั้นละเอียดเพื่อจัดจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ (Figure 1)

การตรวจสอบขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ เมื่อทำการจัดจำแนกชนิดพบเมล็ดวัชพืช 5 ชนิด จำแนกได้ 2 ชนิด คือ *Helminthotheca echioides* และ *Echinochloa colona* ส่วนอีก 3 ชนิดอยู่ระหว่างการจำแนกชนิดและทดสอบความงอกของเมล็ดวัชพืช (Table 1) (Figure 2) ศ

การทดสอบความงอกของเมล็ดวัชพืช ทำการทดสอบความงอกของเมล็ดวัชพืช *H. echioides* และ *E. colona* ด้วยวิธีการเพาะในทรายและกระดาษเพาะในห้องปฏิบัติการ และทดสอบปลูกในโรงเรือนกักพืช พบว่าเมล็ดวัชพืชทั้งสองชนิดสามารถงอกได้และสามารถเจริญเติบโตได้จนถึงระยะติดเมล็ด (Figure 3)

4. การติดตามตรวจสอบศัตรูพืชแปลงปลูกขึ้นฉ่ายนำเข้า

ทำการสำรวจตรวจติดตามในแปลงปลูกขึ้นฉ่ายพื้นที่ปลูกจังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน ลำปาง และจังหวัดตาก ไม่พบศัตรูพืชที่เป็นศัตรูพืชกักกันในแปลงปลูก (Figure 4)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. การสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชที่สามารถติดปนมากับเมล็ดพันธุ์ผักขึ้นฉ่ายนำเข้าจากต่างประเทศมีศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช 5 ชนิด ได้แก่ วัชพืช *Polygonum aviculare, Circium arvense, Orobanche aegyptiaca, Orobanche minor, Orobanche crenata* ซึ่งจัดอยู่ในศัตรูพืชกักกันตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550

2. การสุ่มตัวอย่างและตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักขึ้นฉ่ายนำเข้าจากต่างประเทศทั้งหมด 10 ตัวอย่าง ตรวจพบเมล็ดวัชพืชปนมากับเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากประเทศเม็กซิโก 3 ชนิด เมล็ดพันธุ์นำเข้าจากสาธารณรัฐอิตาลีตรวจพบเมล็ดวัชพืช 3 ชนิด และเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากสหรัฐอเมริกาตรวจพบเมล็ดวัชพืช 2 ชนิด

3. การติดตามตรวจสอบในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ผักขึ้นฉ่ายภายหลังการนำเข้าในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ ลำปาง และตาก ไม่พบศัตรูพืชกักกันเป้าหมาย

จากการศึกษาครั้งนี้ พบศัตรูพืชที่มีความสำคัญด้านกักกันพืช คือ เมล็ดวัชพืช *Helminthotheca echioides* ซึ่งจากการสืบค้นข้อมูล (CABI, 2022) วัชพืชดังกล่าวเป็นวัชพืชที่ยังไม่มีรายงานพบในประเทศไทย ก่อนนำเมล็ดพันธุ์มาใช้ในการเพาะปลูกหรือเพื่อการค้า ควรทำการคัดแยกเมล็ดวัชพืชกักกันออกจากเมล็ดพันธุ์ก่อน แล้วทำลายเมล็ดวัชพืชดังกล่าว และทำการสำรวจเพื่อเฝ้าระวังป้องกันการแพร่ระบาดในสภาพแปลงปลูกของเกษตรกร ดังนั้น การนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศในแต่ละปีมีความเสี่ยงที่ศัตรูพืชกักกันและศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชร้ายแรงติดปนมากับเมล็ดพันธุ์ จะทำความเสียหายกับพืชปลูกและระบบการเกษตรในประเทศไทย ต้องทำการศึกษาข้อมูลเพื่อใช้เป็นข้อมูลประกอบในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช เพื่อกำหนดมาตรการในการป้องกันศัตรูพืชกักกันและศัตรูพืชชนิดใหม่ที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชร้ายแรงมิให้เข้ามาแพร่ระบาดในประเทศ

ข้อมูลรายชื่อศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่ายนำเข้าจากต่างประเทศสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงทางวิชาการ และใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชและการกำหนดมาตรการด้านสุขอนามัยพืชต่อไป เพื่อป้องกันมิให้ศัตรูพืชต่างถิ่นที่เป็นศัตรูพืชกักกันหรือศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชร้ายแรงเข้ามาแพร่ระบาดทำความเสียหายให้กับการเกษตรในประเทศ

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นักวิชาการและเจ้าหน้าที่กลุ่มงานวินิจฉัยศัตรูพืชกักกันทุกท่าน ที่ช่วยให้คำแนะนำและความช่วยเหลือในการทำงานวิจัย รวมทั้งขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเก็บตัวอย่าง

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2550. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 ประกาศ ณ วันที่ 26 เมษายน 2550 ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 124 ตอนพิเศษ 124 ง. ลงวันที่ 1 มิถุนายน 2550.

ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งกำกัด ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ.2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ.2550 (2550, 1 มิถุนายน). ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 124 ตอนพิเศษ 66 ง.

CABI (CAB International). 2022. *Apium graveolens* (celery). CAB International. (Online). Available. https://www.cabi.org/isc/datasheet/8726. (12 December 2022)

Martin, A.C. & Berkley, W.D. (1968). Seed Identification Manual. Oxford & IBH Publishing Company. 221 pages.

Center for Invasive Species Ecosystem Health. 2023. *Helminthotheca echioides* (L.) Holub. (Online). Available. https://www.invasive.org/browse/subinfo.cfm?sub=18761. (8 March 2023)

Table 1 The pests associated in imported celery seeds (*Apium graveolens*) (October 2021-September 2022)

Country	Consignment	Quantity (kgs.)	Weed seeds detection (time)	Species	Detection (time)	Status of pest
Mexico	2	3,483	2	*Chenopodium* spp.	2	-
				Echinochloa colona	2	present
				Rumex sp.	2	-
ฝรั่งเศส	1	1,200	0	-	-	-
อิตาลี	6	2,513	3	*Helminthotheca echioides*	3	not present
				Chenopodium spp.	2	-
				Solanum sp.	2	-
สหรัฐอเมริกา	1	10,000	1	*Echinochloa colona*	1	present
				Rumex sp.	1	-
รวม	**10**	**15,997.200**	**6**			

Figure 1 Contamination of weed seeds in imported celery seeds

Figure 2 Morphological characteristic of weed seeds contaminated in imported celery seeds

(A) *Chenopodium* spp.

(B) *Echinochloa colona*

(C) *Helminthotheca echiiodes*

(D) *Rumex* sp.

(E) *Solanum sp.*

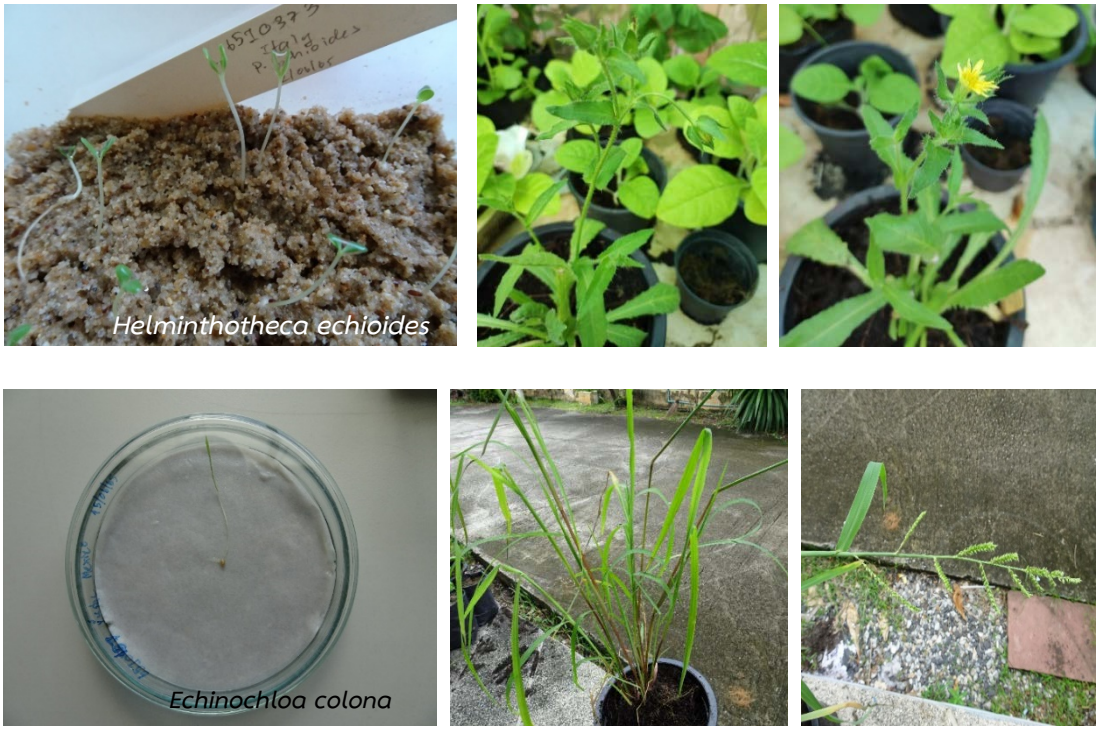


Figure 3 Germination test of seed of weed contaminated in celery seeds

Figure 4 Field inspection in celery crops

การพัฒนาการตรวจสอบแมลงวันทองฝรั่ง *Bactrocera correcta* และแมลงวันแตง *Zeugodacus cucurbitae* (Diptera: Tephritidae) เพื่อการนำเข้าและส่งออกด้วย multiplex PCR จากไพร์เมอร์ที่มีความเฉพาะเจาะจง

Primer Design for Identifying Economically Important *Bactrocera correcta* และ *Zeugodacus cucurbitae* (Diptera: Tephritidae) by Multiplex PCR

ยุวรินทร์ บุญทบ[1/] ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล[2/] ชุติกาญจน์ ใจแล[3/]

[1/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

[3/]ด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร

รายงานความก้าวหน้า

แมลงวันทองฝรั่ง *Bactrocera correcta* และแมลงวันแตง *Zeugodacus cucurbitae* เป็นศัตรูพืชที่สร้างความเสียหายทางเศรษฐกิจกับพืชผักหลากหลายชนิด และเป็นศัตรูพืชกักกันที่สำคัญในหลายประเทศทั่วโลก มักพบตัวหนอนแมลงวันผลไม้จากการสุ่มตรวจศัตรูพืชในการส่งออกของประเทศไทย และก่อให้เกิดการกีดกันทางการค้า จากลักษณะทางสันฐานของตัวหนอนแมลงวันผลไม้ที่มีคล้ายคลึงกันมากนั้นทำให้การระบุชนิดนั้นทำได้ยาก ดังนั้นการจำแนกชนิดของตัวหนอนแมลงวันทองฝรั่ง *B. correcta* และแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ด้วยเทคนิคที่มีความรวดเร็ว ถูกต้อง แม่นยำ นั้นมีความสำคัญอย่างยิ่ง งานวิจัยนี้จึงได้พัฒนาการตรวจสอบแมลงวันทองฝรั่ง *B. correcta* และแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ด้วยเทคนิค multiplex PCR จากไพร์เมอร์ที่มีความเฉพาะเจาะจง และได้ทำการตรวจสอบประสิทธิภาพของไพรเมอร์ด้วยการทดสอบกับตัวอย่างแมลงวันผลไม้ 20 ชนิด ได้แก่ *Bactrocera albistrigata, Dacus spaeroidalis, Bactrocera carambolae, Zeugodacus apicalis, Bactrocera correcta, Zeugodacus caudatus, Bactrocera dorsalis, Zeugodacus cilifer, Bactrocera latifrons, Zeugodacus cucurbitae, Bactrocera limbifera, Zeugodacus hochii, Bactrocera tuberculate, Zeugodacus incisus, Bactrocera umbrosa, Zeugodacus isolatus, Bactrocera zonata, Zeugodacus platamus, Dacus longicornis* และ *Zeugodacus tau* พบว่าสามารถใช้ตรวจสอบดีเอ็นเอเป้าหมายจากตัวอย่างแมลงวันทองฝรั่ง *B. correcta* และแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำหลัก : แมลงวันผลไม้ แมลงวันทองฝรั่ง แมลงวันแตง ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะ

รหัสการทดลอง FF65-55-04-65-01-01-65

คำนำ

ปัจจุบันการนำเข้าและส่งออกผัก ผลไม้มีมาตรฐานที่สูงขึ้น ดังนั้นหากมีการตรวจพบสิ่งปนเปื้อนโดยเฉพาะแมลงศัตรูพืชที่ติดมากับผลผลิตทางการเกษตรนั้น จะต้องมีมาตรการและวิธีการที่เป็นมาตรฐานระดับสากล และวิธีการที่นำมาใช้ในการตรวจวินิจฉัยชนิดศัตรูนั้นจะต้องมีความสะดวก รวดเร็ว และประหยัด สำหรับประเทศไทยนั้นการนำเข้าและส่งออกพืช ผัก ผลไม้ในปัจจุบันนี้ พบว่าแมลงวันผลไม้ (Tephritid fruit fly) เป็นศัตรูพืชที่ก่อให้เกิดการปนเปื้อนสูงมาก เนื่องจากแมลงวันผลไม้เพศเมียจะวางไข่ ตัวหนอนเจริญเติบโต และกัดกินอยู่ภายในผล ยากต่อการสังเกตเห็น ทำให้มีโอกาสติดไปภายใน ผัก และผลไม้ได้สูง ส่งผลเสียหายเป็นอย่างยิ่งในการส่งออก ก่อให้เกิดการกีดกันทางการค้าตามมาอีกด้วย ทั่วโลกพบแมลงวันผลไม้มากกว่า 5,000 ชนิด แต่ในประเทศไทยนั้นพบว่าแมลงวันผลไม้สกุล *Bactrocera* และสกุล *Zeugodacus* นั้นสามารถทำลายผลผลิตทางการเกษตรได้หลากหลาย ไม่ว่าจะเป็น ผักหรือผลไม้ และพบว่าแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* แมลงวันทองฝรั่ง *B. correcta* และแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* เป็นศัตรูที่ก่อให้เกิดความเสียหายและมีความสำคัญทางเศรษฐกิจ จัดเป็นศัตรูพืชที่มีความสำคัญต่อการนำเข้าและส่งออกเป็นอย่างยิ่ง

แต่ปัจจุบันนี้ประเทศไทยใช้การตรวจวินิจฉัยชนิดของแมลงวันผลไม้โดยการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอกของตัวเต็มวัย (Traditional taxonomy) เป็นเครื่องมือในการตรวจวินิจฉัยเพียงเท่านั้น แต่ในระยะไข่ ตัวอ่อน และดักแด้ของแมลงวันผลไม้นั้นมีความคล้ายคลึงกันมาก หากต้องการศึกษาชนิดแมลงวันผลไม้จากตัวอ่อนจะต้องนำลักษณะสำคัญมาทำสไลด์ถาวรเพื่อศึกษารายละเอียด ดังนั้นหากมีการตรวจพบตัวอ่อนในการส่งออกหรือนำเข้าผลผลิตทางการเกษตรนั้น ผู้ทำการตรวจวินิจฉัยจะต้องใช้ระยะเวลาในการเลี้ยงให้ตัวอ่อน หรือดักแด้นั้นเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัยเพื่อนำมาตรวจวิเคราะห์ชนิดซึ่งค่อนข้างใช้เวลานานและเป็นผลเสียต่อการค้าผักผลไม้ตามมา นอกจากนี้หากมีการแตกหักหรือชำรุดของตัวอย่าง รวมทั้งการขาดแคลนผู้เชี่ยวชาญ หรือผู้ทำการตรวจวินิจฉัยยังขาดประสบการณ์และทักษะในการตรวจวินิจฉัย ทำให้ไม่สามารถแยกความแตกต่างจากลักษณะสัณฐานภายนอกได้ ดังนั้นจึงมีการพัฒนาเทคนิคต่าง ๆ ขึ้นมาเพื่อตรวจวินิจฉัยชนิดของแมลงวันผลไม้ให้มีความรวดเร็ว อีกทั้งสะดวกต่อการนำมาปฏิบัติงาน

และในทศวรรษที่ผ่านมานั้นในการตรวจวินิจฉัยแมลงที่มีลักษณะทางสัณฐานใกล้เคียงกัน โดยการประยุกต์ใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลมาใช้อย่างกว้างขวางโดยเฉพาะอย่างยิ่ง เช่นดีเอ็นเอบาร์โค้ด (DNA Barcode) ซึ่งเป็นเทคนิคที่ได้รับการพิสูจน์แล้วว่า เป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพเป็นอย่างยิ่งในการวินิจฉัยชนิดของแมลงวันผลไม้และก่อให้เกิดประโยชน์เป็นอย่างยิ่ง และจากการศึกษาที่ผ่านมามีการประยุกต์ใช้ไพร์เมอร์ที่มีความเฉพาะเจาะจง (species - specific primer) ซึ่งจะสามารถตรวจวินิจฉัยชนิดได้ภายในวันเดียว นอกจากนี้พบว่าในปัจจุบันมีการพัฒนาการนำเทคนิค multiplex PCR มาใช้ร่วมกับไพร์เมอร์ที่มีความเฉพาะเจาะจง ซึ่งเป็นกรรมวิธีที่ประหยัดและรวดเร็วที่สุดเหมาะสำหรับใช้ในงานตรวจวิเคราะห์ชนิดที่ต้องการแม่นยำและรวดเร็ว ซึ่งอาศัยหลักการพัฒนาไพร์เมอร์ที่มีความเฉพาะเจาะจงมารวมกันเพื่อหาวิธีการที่เหมาะสมในการทำ PCR เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพสูงสุด และใน

ประเทศไทยนั้นมีการออกแบบไพร์เมอร์ที่มีความเฉพาะเจาะจงสำหรับการตรวจวินิจฉัยแมลงวันผลไม้แล้วจำนวน 2 ชนิด ได้แก่แมลงวันทองฝรั่ง *B. correcta* และแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ซึ่งสามารถตรวจวินิจฉัยได้ทุกระยะของแมลงวันผลไม้ ไม่ว่าจะเป็นระยะ ไข่ หนอน ดักแด้ หรือตัวเต็มวัย ด้วยเหตุนี้หากมีการนำหลักการ multiplex PCR มาประยุกต์ใช้กับไพร์เมอร์ที่ได้ออกแบบไว้แล้วนั้น จะก่อให้เกิดประโยชน์จากการศึกษาครั้งนี้เป็นอย่างมาก เนื่องจากเป็นการพัฒนาวิธีการวินิจฉัยแมลงศัตรูพืชที่สำคัญเพื่อการส่งออกและนำเข้าของไทยให้มีความเป็นสากล แม่นยำ และรวดเร็วทันเหตุการณ์ เป็นประโยชน์ต่อการวินิจฉัยเพื่อเฝ้าระวังแมลงศัตรูพืชและการนำเข้า ส่งออกผัก ผลไม้ของประเทศไทย และสามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการประยุกต์กับการตรวจวินิจฉัยแมลงศัตรูพืชชนิดอื่น ๆ อีกด้วย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- เครื่องถ่ายภาพเจลพร้อมโปรแกรมวิเคราะห์ภาพ (Gel documentation XR) รุ่น Universal Hood II (Biorad, USA)

- สารเคมีและอุปกรณ์ในการศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ด ได้แก่ ชุดสกัดดีเอ็นเอ (DNA extraction kit: Isolate Genomic DNA Kit) (Bioline, Australia), GeneRuler 100 bp DNA Ladder (Bioline, Australia), Agarose gel (Bioline, Australia) และ TBE Buffer (10 mMTris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0), สารละลาย GoTaq® Green Master Mix (Promega, USA)

- สารเคมี RedSafe dye (iNtRON Biotechnology, USA) และไพรเมอร์ (primer) ที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ

วิธีการ

1. วิธีการดำเนินการวิจัยสำหรับการศึกษาลำดับรหัสพันธุกรรม

1.1 นำตัวอย่างแมลงวันทองฝรั่ง *B. correcta* และแมลงวันแตง *Z. curcubitae* และแมลงวันผลไม้ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจทางการเกษตร ที่ทำการจำแนกด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา มาทำการสกัดดีเอ็นเอ (DNA Extraction) โดยใช้วิธีการตาม Boontop *et al*., 2017 ร่วมกับคำแนะนำของชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป (ISOLATE II GenomicDNA kit; Bioline, Australia) ที่แนบมากับผลิตภัณฑ์บริษัท จากนั้นนำ DNA ที่ได้เก็บในอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเพื่อให้ในวิธีการต่อไป

1.2 ทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยใช้คู่ไพร์เมอร์ *cox*1 ซึ่งเป็น universal primer

1.3 ตรวจสอบ PCR product โดยการตรวจสอบขนาดของชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่ต้องการ โดยการให้ประจุของสารที่มีประจุแยกออกจากกัน ด้วยวิธีการทำอิเล็กโทรโฟรีซีส (Electrophoresis) โดยหยด ผลิตภัณฑ์ PCR ลงในอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 2 % และให้ PCR product เคลื่อนที่ผ่าน

สารละลาย TBE (Tris-borate, EDTA) โดยใช้กระแสไฟฟ้าที่ความต่างศักย์ 100 โวลล์, 400 mp (Voltage) เป็นเวลา 45 นาที

1.4 ตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์ โดยส่งตัวอย่าง PCR product ของแมลงวันผลไม้ที่ได้ไปทำให้ผลิตภัณฑ์ PCR บริสุทธิ์ และหาลำดับนิวคลีโอไทด์

1.5 นำข้อมูลของลำดับนิวคลีโอไทด์ ของยีน *Cox*1 ที่ผ่านการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ มาทำการวิเคราะห์ โดยทำการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของแมลงวันผลไม้ที่นำมาศึกษาทั้งหมด (Sequence assembly) โดยโปรแกรมที่สามารถวิเคราะห์ข้อมูลและจัดลำดับนิวคลีโอไทด์ (assemble) เช่น Bioedit Sequence Alignment Editor Version 7.2.5

1.6 บันทึกในรูปแบบของ FASTA ไฟล์ มาตรวจสอบชนิด กับ Gene Bank พื่อยืนยันความถูกต้องข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์

2. ทดสอบคู่ไพร์เมอร์ที่เฉพาะเจาะจงต่อแมลงทองฝรั่ง *B. correcta* และแมลงวันแตง *Z. cucurbitae*

2.1 ทดสอบ species - specific primer โดยใช้คู่ไพร์เมอร์จากแมลงวันทองฝรั่ง *B. correcta* และ แมลงวันแตง *Z. cucurbitae* และหาวิธีการที่เหมาะสมในด้วยวิธีการ multiplex PCR (ยุวรินทร์ และคณะ; 2561, 2562)

2.2 ตรวจสอบ PCR product เพื่อดูความเฉพาะเจาะจงของไพรเมอร์ทั้ง 2 คู่ ด้วยวิธีการเจลอิเล็คโตรโฟริซิส ด้วย 1.5 % agarose gel ในสารละลาย 1X TBE buffer โดยใช้กระแสไฟฟ้าที่ความต่างศักย์ 100 โวลล์, 400 mp (Voltage) เป็นเวลา 45 นาที

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1) บันทึกข้อมูล ดีเอ็นเอบาร์โค้ด ในรูปแบบของ FASTA ไฟล์

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาการทดลอง : ตุลาคม พ.ศ. 2564 - กันยายน พ.ศ. 2565

สถานที่ : 1) แหล่งปลูกพืชจังหวัดต่าง ๆ ในภาคกลาง ภาคตะวันตก ภาคเหนือ ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคใต้

2) ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. วิธีการดำเนินการวิจัยสำหรับการศึกษาลำดับรหัสพันธุกรรม

ได้กระบวนการสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างแมลงวันผลไม้ (ภาพที่ 1)

2. ทดสอบคู่ไพร์เมอร์ที่เฉพาะเจาะจงต่อแมลงทองฝรั่ง *B. correcta* และแมลงวันแตง *Z. cucurbitae*

การตรวจสอบใช้ไพรเมอร์จำนวน 2 คู่ ตามรายงานของ ยุวรินทร์ และคณะ (2562ก, 2562ข) ดังนี้

ไพรเมอร์ที่จำเพาะกับ *Bactrocera correcta*

Bco-F1 : 5’-CTAGGACACCCCGGAGCAC-3’

Bco-R1 : 5’-CAGTATTAGGGGGACAAGTCAA-3’

ไพรเมอร์ที่จำเพาะกับ *Zeugodacus cucurbitae*

Zcu-F1 : 5’-TGAGCTGTAGTATTGACAGCTCTTC-3’

Zcu-R1 : 5’-AGCCGGGTCGAAGAAAGAGGTG-3’

Master mix

เตรียมส่วนผสมในปฏิกิริยา PCR ปริมาตรรวม 25 ไมโครลิตร ประกอบด้วย

Reagents	Final concentration	Volume (µl)
dH2O	-	6.5
2x Green PCR Master Mix Direct-load (Biotechrabbit)	1x	12.5
10 µM Bco-F1	0.4 µM	1
10 µM Bco-F1	0.4 µM	1
10 µM Zcu-F1	0.4 µM	1
10 µM Zcu-R1	0.4 µM	1
DNA template	-	2
Total	-	25

PCR program

กำหนดอุณหภูมิและเวลาในขั้นตอนการทำปฏิกิริยา PCR ดังนี้

PCR steps	Temperature	Time	Number of cycles
initial denaturation	94°C	4 min	1 cycle
denaturation	94°C	30 sec	
annealing	58°C	30 sec	35 cycles
extension	72°C	30 sec	
final extension	72°C	5 min	1 cycle

Gel electrophoresis

ตรวจสอบผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ ด้วยวิธีเจลอิเล็คโตรโฟรีซีสบนอะกาโรสเจลความเข้มข้น 2 % ผสม RedSafe dye (iNtRON Biotechnology, USA) 5 ไมโครลิตร ต่ออะกาโรสเจล 100 มิลลิลิตร โหลดผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ตัวอย่างละ 7 ไมโครลิตร โหลดดีเอ็นเอขนาดมาตรฐาน HyperLadder 25 bp (Bioline, Australia) 3 ไมโครลิตร รันผ่านสนามไฟฟ้าความต่างศักย์ 100 โวลต์ เป็นเวลา 45 นาที ตรวจสอบแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต แล้วถ่ายภาพบันทึกผล

PCR product (ภาพที่ 2)

แมลงวันทองฝรั่ง *Bactrocera correcta* ได้ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาด 141 bp

แมลงวันแตง *Zeugodacus cucurbitae* ได้ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาด 83 bp

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาครั้งนี้เป็นการนำเทคนิคทางด้านชีวโมเลกุล โดยการออกแบบไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อแมลงวันทองฝรั่ง *B. correcta* และแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ซึ่งเป็นศัตรูพืชที่มีความสำคัญกับพืชเศรษฐกิจ และมักพบปนเปื้อนไปกับสินค้าเกษตร ดังนั้นการตรวจจำแนกชนิดด้วยความแม่นยำ ถูกต้องและเป็นที่ยอมรับของสากลนั้นมีความจำเป็นอย่างยิ่ง ผลลัพธ์ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ได้การพัฒนาการตรวจสอบแมลงวันทองฝรั่ง *B. correcta* และแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* จากไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อซึ่งใช้เพียงขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอ ทำ PCR และอิเล็กโตรโฟรีซีส เท่านั้น

ดังนั้นการพัฒนาการตรวจสอบแมลงวันทองฝรั่ง *Bactrocera correcta* และแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ที่ได้จากงานวิจัยครั้งนี้จึงก่อให้เกิดประโยชน์อย่างยิ่งต่อการวินิจฉัยชนิดศัตรูพืช งานด้านการกักกันพืช และการส่งออกผักผลไม้ของประเทศไทย เนื่องจากเป็นการพัฒนาวิธีการวินิจฉัยแมลงศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจของไทยให้มีความสะดวก รวดเร็ว แม่นยำ และถูกต้องตามมาตรฐานสากล

คำขอบคุณ

ข้าราชการ พนักงานราชการ ลูกจ้างประจำ และพนักงานจ้างเหมาบริการ ของกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลงในการช่วยเหลือเก็บตัวอย่างแมลงวันผลไม้ จึงทำให้งานวิจัยในครั้งนี้สำเร็จ และลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

ยุวรินทร์ บุญทบ, ศิริณี พูนไชยศรี, ชลิดา อุณหวุฒิ, ลักขณา บำรุงศรี และสิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์. 2554ก. อนุกรมวิธานแมลงวันผลไม้สกุล *Bactrocera* จากสารล่อในเขตภาคใต้ของประเทศไทย. หน้า 1742-1758. *ใน* รายงานผลงานประจำปี 2554. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักพืช. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

Allwood, A.J. & Drew, R.A.I. (1996) Management of fruit flies in the Pacific. A regional symposium, Nadi, Fiji 28–31 October. 1996, 23.

Aluja, M., and Norrbom, A. 1999. Fruit Flies (Tephritidae): Phylogeny and Evolution of Behavior. Crc Press. 846 pp.

Anderson, P.J. & Dixon, W.N. (2008) Triology 47, No. 1, 7. Available online at http://www.freshfromflorida.com/pi/enpp/triology/archive/4701.pdf (accessed 2 September2011).

Armstrong, K. F., and Ball, S. L. 2005. DNA barcodes for biosecurity: invasive species identification. Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences. 360(1462): 1813-1823.

Armstrong, K.F., Cameron, C.M. & Frampton, E.R. (1997) Fruit fly (Diptera: Tephritidae) species identification: a rapid diagnostic technique for quarantine application. Bulletin of Entomological Research 87, 111–118.

Asokan, R., Krishna Kumar, N.K. & Abraham, V. (2007) Molecular identification of fruit flies, *Bactrocera* spp. (Diptera: Tephritidae) using mitochondrial cytochrome oxidase I. Current Science 93, 1668–1669.

Barcenas, N.M., Unruh, T.R. & Neven, L.G. (2005) DNA diagnostics to identify internal feeders (Lepidoptera: Tortricidae) of pome fruits of quarantine importance. Journal of Economic Entomology 98, 299–306.

Chua, T.H., Song, B.K. & Chong, Y.V. (2010) Development of allele-specific single-nucleotide polymorphism-based polymerase chain reaction markers in cytochrome oxidase I for the differentiation of *Bactrocera papaya* and *Bactrocera carambolae* (Diptera: Tephritidae). Journal of Economic Entomology. 103, 1994–1999.

CPC, CABI. (2012) Crop Protection Compendium. Available online at http://www.cabi.org/cpc/.

Drew, R. A. I., & Romig, M. C. (2013). *Tropical Fruit Flies (Tephritidae Dacinae) of South-East Asia: Indomalaya to North-West Australasia*. CABI.

Drew, R.A.I. & Raghu, S. (2002) The fruit fly fauna (Diptera: Tephritidae: Dacinae) of the rainforest habitat of the Western Ghats, India. Raffles Bulletin of Zoology 50, 327–352.

Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L. & DeWaard, J.R. (2003) Biological identifications through DNA barcodes. Proceedings the Royal Society B 270, 313–321.

Hosseini, R., Keller, M.A., Schmidt, O. & Framenau, V.W. (2007) Molecular identification of wolf spiders (Araneae: Lycosidae) by multiplex polymerase chain reaction. Biological Control 40, 128–135.

Hendrichs, J. 2000. Use of the sterile insect technique against key insect pests. Sustainable Development International. 2: 75-79.

Ibrahim, R. & Ibrahim, G.A. 1990. Handbook on Identification of Fruit Flies in the Tropics. Kaula lumpur, Malaysia, Universiti Pertanian Malaysia Press.

Jiang, F., Li, Z. H., Deng, Y. L., Wu, J. J., Liu, R. S., & Buahom, N. (2013). Rapid diagnosis of the economically important fruit fly, *Bactrocera correcta* (Diptera: Tephritidae) based on a species-specific barcoding cytochrome oxidase I marker. *Bulletin of entomological research*, *103*(03), 363-371. Journal of Applied Entomology 128, 670–676.

Liang, G.X., Yang, G.H., Liang, F., Si Tu, B.L. & Liang, X.D. (1996) The Species of Dacini (Diptera: Tephritidae) of Asian-Pacific region. Guangzhou, China, Guangdong Science and Technology Press.

Siebert, J. 1999. Update on the economic impact of Mediterranean fruit fly on California agriculture. Subtropical Fruit News. 7(1): 16-8.

Snustad, D. P., Simmons, M. J., Jenkins, J. B., and Crow, J. F. 2000. Principles of Genetics. John Wiley.

Stonehouse, J. M., Mumford, J., and Mustafa, G. 1998. Economic losses to tephritid fruit flies (Diptera: Tephritidae) in Pakistan. Crop Protection. 17: 159-164.

Vijaysegaran, S. (1996) Fruit fly research and development in tropical Asia. pp. 21–29 in Management of Fruit Flies in the Pacific–A Regional Symposium.

Wang, W.X., Yu, F., Zhang, Z. & Lin, X.H. (2010) Advances in rapid identification methods for the quarantined fruit flies. Plant Protection 36, 39–43.

Wang, X.J. & Zhao, M.Z. (1989) Species of genus *Dacus* Fabricius (Diptera: Tephritidae) from China. Acta Zootaxonomica Sinica 14, 209–219.

Weems, H. V. Jr., and Heppner, J. B. 1999. Oriental fruit fly, *Bactrocera* (= *Dacus*) *dorsalis* (Hendel) (Insecta: Diptera: Tephritidae). Florida Department of

Agriculture and Consumer Services, Division of Plant Industry, and T.R. Fasulo, University of Florida. University of Florida Publication EENY-083. Fruit Flies (Tephritidae): Phylogeny and Evolution of Behavior. CRC Press, New York. USA.

Weems, H.W. & Fasulo, T.R. (2011) Guava Fruit Fly, *Bactrocera correcta* (Bezzi) (Insecta: Diptera: Tephritidae). University of Florida IFAS Extension, EENY200/IN357.

White, I.M. & Elson-Harris, M.M. (1992) Fruit Flies of Economic Significance: Their Identification and Bionomics. Wallingford, Oxon, UK, CAB International.

Wu, .J., Hu, X.N., Zhao, J.P., Liang, F. & Liang, G.Q. (2005) Rapid identification among 9 species of quarantine fruit flies (Diptera: Tephritidae) by PCR-RFLP. Plant Quarantine 19, 2–6.

Yu, D.J., Zhang, G.M., Chen, Z.L., Zhang, R.J. & Yin, W.Y. (2004b) Rapid identification of *Bactrocera latifrons* (Dipt., Tephritidae) by real-time PCR using SYBR Green chemistry.

Yu, D.J., Chen, Z.L., Zhang, R.J. & Yin, W.Y. (2005) Real-time qualitative PCR for the inspection and identification of *Bactrocera philippinensis* and *Bactrocera occipitalis* (Diptera: Tephritidae) using SYBR Green assay. The Raffles Bulletin of Zoology 53, 73–78.

Yu, D.J., Deng, Z.P., Chen, Z.L., Jiao, Y., Zhang, G.M., Kang, L., Yang, W.D. & Jin, X.Z. (2004a) Method of the polymerase chain reaction for quarantine and identification of *Bactrocera correcta.* Plant Quarantine 18, 73–76.

Zhang, G.F., Meng, X.Q., Min, L., Qiao, W.N. & Wan, F.H. (2012) Rapid diagnosis of the invasive species, *Frankliniella occidentalis* (Pergande): a species-specific COI marker. Journal of Applied Entomology 136, 410–420.

Zhang, L. & Zhang, Z.Y. (2007) Random amplified polymorphic DNA identification of six *Bactrocera* (Diptera: Tephritidae) species in Yunnan Province of Southwest China. Chinese Journal of Applied Ecology 18, 1163–1166.

Zhao, J.P., Liang, F., Liang, G.Q., Hu, X.N., Ma, J. & Lin, L. (2007) Morphological identification of *Bactrocera correcta* and *Bactrocera zonata.* Chinese Bulletin of Entomology 44, 904–905.

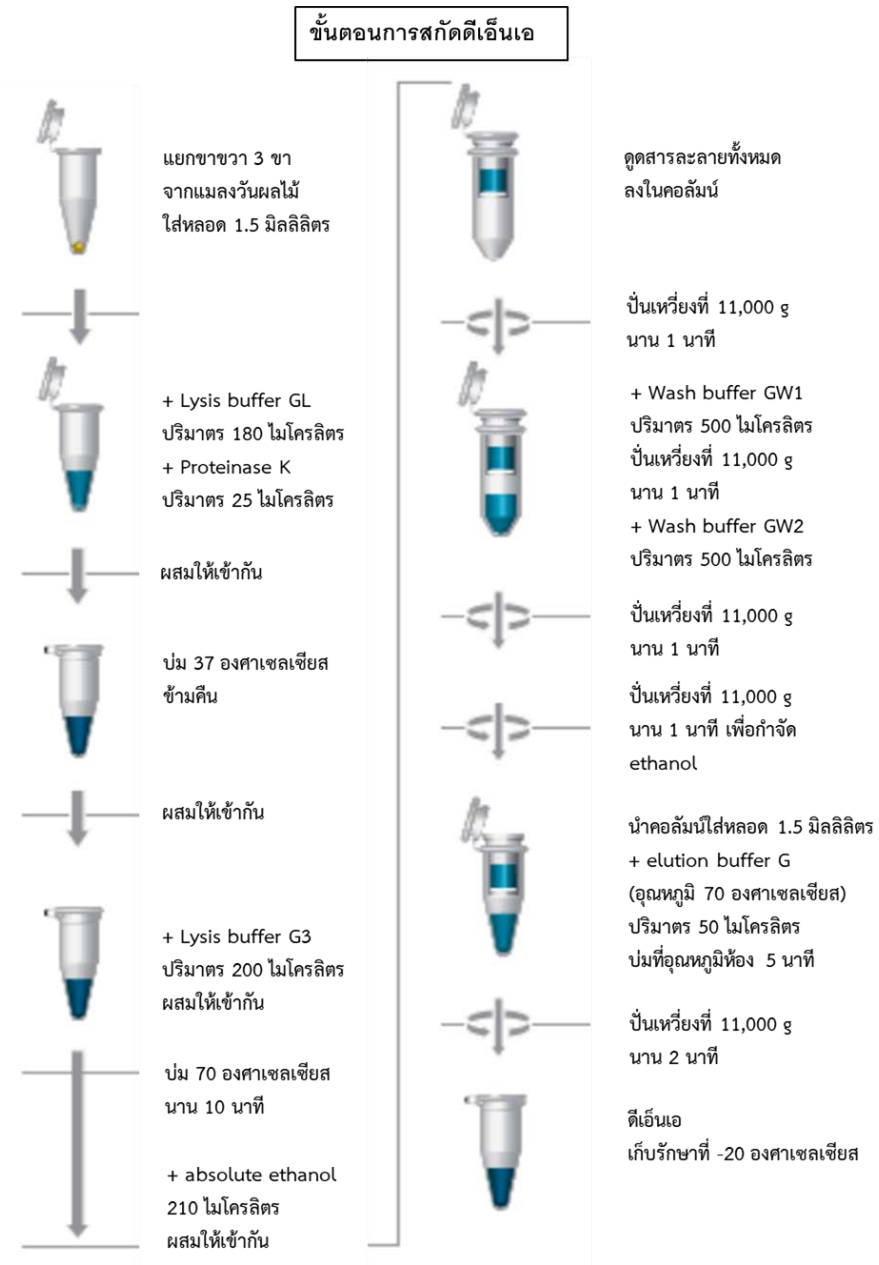


Figure 1 กระบวนการสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างแมลงวันผลไม้เพื่อใช้ในการตรวจสอบแมลงวันทองฝรั่ง *Bactrocera correcta* และแมลงวันแตง *Zeugodacus cucurbitae* ด้วยวิธีการ multiplex PCR จากไพร์เมอร์ที่มีความเฉพาะเจาะจง

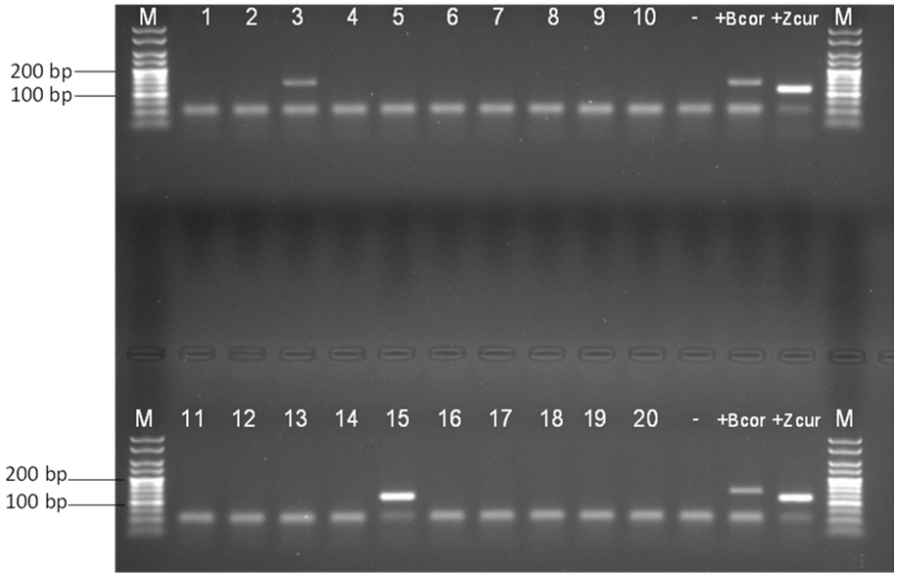


Figure 2 ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์จากการตรวจสอบแมลงวันทองฝรั่ง *Bactrocera correcta* และแมลงวันแตง *Zeugodacus cucurbitae* ด้วยวิธีการ multiplex PCR จากไพร์เมอร์ที่มีความเฉพาะเจาะจง โดยทำการทดสอบกับดีเอ็นเอจากตัวอย่างแมลงวันผลไม้ 20 ชนิด

1. *Bactrocera albistrigata*
2. *Bactrocera carambolae*
3. *Bactrocera correcta*
4. *Bactrocera dorsalis*
5. *Bactrocera latifrons*
6. *Bactrocera limbifera*
7. *Bactrocera tuberculata*
8. *Bactrocera umbrosa*
9. *Bactrocera zonata*
10. *Dacus longicornis*
11. *Dacus spaeroidalis*
12. *Zeugodacus apicalis*
13. *Zeugodacus caudatus*
14. *Zeugodacus cilifer*
15. *Zeugodacus cucurbitae*
16. *Zeugodacus hochii*
17. *Zeugodacus incisus*
18. *Zeugodacus isolatus*
19. *Zeugodacus platamus*
20. *Zeugodacus tau*

พัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas perforans* สาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ

Developing Method to Detection of *Xanthomonas perforans* Causing Bacterial Spot of Pepper and Tomato

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล[1/] ทิพวรรณ กันหาญาติ[1/] ชลธิชา รักใคร่[2/] วันเพ็ญ ศรีชาติ[3/]

[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[3/]กลุ่มวิชาการ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2

รายงานความก้าวหน้า

เชื้อแบคทีเรีย *X. perforans* สามารถถ่ายทอดทางเมล็ดได้ และเป็นศัตรูพืชกักกันที่มีรายชื่ออยู่ใน EPPO A2 list ซึ่งทำให้ประเทศไทยต้องตรวจรับรองการปลอดเชื้อดังกล่าวก่อนการส่งออก เทคนิควิธีการตรวจสอบเชื้อที่รวดเร็วและแม่นยำ จึงมีความจำเป็นในการช่วยสนับสนุนการส่งออกเมล็ดพันธุ์เป็นอย่างยิ่ง การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีการตรวจสอบแบคทีเรีย *X. perforans* ด้วยเทคนิค PCR สำหรับใช้เป็นเครื่องมือในการตรวจรับรองสินค้าเกษตรในการส่งออกตามเงื่อนไขของประเทศคู่ค้าและเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกัน โดยการทดลองในเดือนตุลาคม 2564 - กันยายน 2565 ได้ดำเนินการคัดเลือกไพรเมอร์จำนวน 2 คู่ ที่สามารถใช้ในการตรวจสอบแบคทีเรีย *X. perforans* ด้วยเทคนิค PCR ได้ ได้แก่ คู่ไพรเมอร์ Bs-XpF/Bs-XpR มีผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาด 197 bp และคู่ไพรเมอร์ HpaF-f/HpaF-r มีผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาด 300 bp เพื่อใช้ในการทดสอบความจำเพาะและความไวของวิธีการตรวจสอบต่อไป

คำหลัก : ใบจุด พริก มะเขือเทศ ตรวจสอบ

รหัสการทดลอง FF65-55-04-65-01-03-65

คำนำ

โรคใบจุดที่เกิดจากแบคทีเรียของพริกและมะเขือเทศเป็นโรคที่สำคัญของประเทศผู้ผลิตพริกและมะเขือเทศทั่วโลกโดยเฉพาะในเขตร้อนและร้อนชื้นเนื่องจากทำให้ผลผลิตลดลงถึง 50% (Pohronezny and Volin, 1983) มีรายงานเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas* หลายชนิดเป็นสาเหตุโรคและมีการจัดจำแนกเชื้อสาเหตุและเปลี่ยนชื่อใหม่หลายครั้ง การจัดจำแนกเชื้อโดย Jones *et al*. (2004) พบความแตกต่างกันภายในกลุ่มเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas* สาเหตุโรคใบจุดในพริกและมะเขือเทศ จากการใช้แหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกันและผลการศึกษา DNA-DNA hybridization ทำให้แบ่งกลุ่มเชื้อใหม่เป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ *X. euvesicatoria X. perforans X. vesicatoria* และ*X. gardneri* (Jones *et al*., 2004)

เชื้อแบคทีเรีย *X. perforans* สามารถถ่ายทอดทางเมล็ดได้ อีกทั้งการพบข้อมูลอ้างอิงเชื้อ *X. perforans* จากประเทศไทยในผลงานตีพิมพ์ของต่างประเทศ (Strayer *et al*., 2016; Timilsina *et al*., 2020) จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องมีวิธีการตรวจสอบเชื้อที่มีความแม่นยำ เนื่องจากประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศเพื่อการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมในประเทศและส่งกลับไปจำหน่ายยังต่างประเทศ นอกจากนี้เชื้อแบคทีเรีย *X. perforans* เป็นศัตรูพืชกักกันที่มีรายชื่ออยู่ใน EPPO A2 list (EPPO, 2013) ซึ่งทำให้ประเทศไทยต้องตรวจรับรองการปลอดเชื้อดังกล่าวก่อนการส่งออก Koenraadit *et al*. (2009) ได้พัฒนา specific primer สำหรับใช้ตรวจวินิจฉัยแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ โดยใช้เทคนิค PCR แต่จากรายงานของ Roach *et al*. (2018) ซึ่งจำแนกเชื้อ *Xanthomonas* สาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศที่พบในออสเตรเลียและใช้วิธีการของ Koenraadit *et al*. (2009) พบว่าไม่สามารถตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย *X. perforans* ที่พบในออสเตรเลียได้ ดังนั้น เทคนิควิธีการตรวจวินิจฉัยเชื้อที่รวดเร็วและแม่นยำ จึงมีความจำเป็นในการช่วยสนับสนุนการส่งออกเมล็ดพันธุ์เป็นอย่างยิ่ง การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีการตรวจสอบแบคทีเรีย *X. perforans* ด้วยเทคนิค PCR สำหรับใช้เป็นเครื่องมือในการตรวจรับรองสินค้าเกษตรในการส่งออกตามเงื่อนไขของประเทศคู่ค้าและเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกัน

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่องแก้ว และอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น กระบอกตวง จานเลี้ยงเชื้อ ลูป
2. ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven)
3. หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave)
4. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Incubator)
5. เครื่องชั่ง
6. ปิเปต (Pipette)
7. เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)
8. อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)

9. เครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ (Refrigerated Centrifuge)
10. เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (Thermal cycler)
11. เครื่องแยกวิเคราะห์สารพันธุกรรม (Gel Electrophoresis System)
12. เครื่องถ่ายภาพสารพันธุกรรม (Gel Documentation)
13. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ สกัดดีเอ็นเอ และทำปฏิกิริยา PCR เช่น ชุดสกัดดีเอ็นเอ QIAamp DNA Mini kit (Qiagen, USA) สารเคมี One PCR Master Mix (GeneDirex® Inc., Taiwan) ดีเอ็นเอขนาดมาตรฐาน Onemark 100 (GeneDirex® Inc., Taiwan)

วิธีการ

1. คัดเลือกไพรเมอร์และทดสอบสภาวะที่เหมาะสมของเทคนิค PCR ในการตรวจเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ

1.1 สืบค้นข้อมูลและคัดเลือกไพรเมอร์

สืบค้นข้อมูลไพรเมอร์ที่มีรายงานว่าสามารถใช้ตรวจเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศได้อย่างเฉพาะเจาะจง และคัดเลือกเพื่อสั่งสังเคราะห์สำหรับใช้ในการตรวจวินิจฉัย ในเบื้องต้นพบรายงานของ Koenraadt *et al*. (2009) และ Burlakoti *et al*. (2018)

1.2 ทดสอบสภาวะที่เหมาะสมของเทคนิค PCR ในการตรวจเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ

ดำเนินการทดสอบไพรเมอร์ที่ใช้สำหรับการตรวจวินิจฉัยเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศด้วยเทคนิค PCR ตามรายงานของ Koenraadt *et al*. (2009) และ Burlakoti *et al*. (2018) โดยใช้ปริมาตรรวมในการทำปฏิกิริยา PCR 20 ไมโครลิตร ประกอบด้วยดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรียความเข้มข้น 50 ng/µl, 1X One PCR Master Mix (GeneDirex® Inc., Taiwan) และไพรเมอร์ชนิดละ 0.2 µM เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องควบคุมอุณหภูมิ Biometra® (Biometra biomedizinische Analytik GmbH, Germany) ตรวจสอบผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส และตรวจดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอุลตราไวโอเลตด้วยเครื่อง UVITEC Cambridge Platinum (Uvitec Ltd., UK)

2. ทดสอบความจำเพาะ (specificity) และความไว (sensitivity) ของเทคนิคทางโมเลกุลในการตรวจเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ

นำดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบมาวัดความเข้มข้นและคุณภาพของดีเอนเอที่ช่วงคลื่น A260/A280 ด้วยเครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (U 2001 UV/Vis, Hitachi Instruments, Inc., USA) และปรับความเข้มข้นดีเอ็นเอเท่ากับ 50 ng/ul เพื่อนำไปทดสอบความจำเพาะของไพรเมอร์ด้วยเทคนิค PCR และทดสอบความไวในการตรวจสอบโดยใช้ DNA ของแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ ที่มีความเข้มข้น 8 ระดับ ตั้งแต่ 50 นาโนกรัม ถึง 100 เฟมโตกรัม ตรวจด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ปริมาตรรวมในการทำปฏิกิริยา PCR 20 ไมโครลิตร ประกอบด้วยดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรีย,

1X One PCR Master Mix (GeneDirex® Inc., Taiwan) และไพรเมอร์ชนิดละ 0.2 µM เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องควบคุมอุณหภูมิ Biometra® (Biometra biomedizinische Analytik GmbH, Germany) ตรวจสอบผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส และตรวจดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอุลตราไวโอเลตด้วยเครื่อง UVITEC Cambridge Platinum (Uvitec Ltd., UK)

3. ทดสอบวิธีการที่เหมาะสมในการตรวจเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศจากตัวอย่างพืช

ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างที่มีลักษณะอาการคล้ายโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศจากแหล่งปลูกสำคัญ เช่น กาญจนบุรี เชียงใหม่ ตาก นครพนม สกลนคร หนองคาย อุบลราชธานี สระบุรี และน่าน เป็นต้น เพื่อนำมาใช้ในสำหรับทำปฏิกิริยา PCR ด้วยสภาวะที่เหมาะสม โดยใช้ปริมาตรรวมในการทำปฏิกิริยา PCR 20 ไมโครลิตร ประกอบด้วยดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรีย, 1X One PCR Master Mix (GeneDirex® Inc., Taiwan) และไพรเมอร์ชนิดละ 0.2 µM เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องควบคุมอุณหภูมิ Biometra® (Biometra biomedizinische Analytik GmbH, Germany) ตรวจสอบผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส และตรวจดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอุลตราไวโอเลตด้วยเครื่อง UVITEC Cambridge Platinum (Uvitec Ltd., UK)

เวลาและสถานที่

เวลา	ตุลาคม 2564 – กันยายน 2565
สถานที่	ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

คัดเลือกไพรเมอร์ สกัดดีเอ็นเอ และได้สภาวะการทำ PCR ที่ใช้ในการตรวจวินิจฉัย *X. perforans* ดังนี้ คู่ไพรเมอร์ Bs-XpF (5′-GTCGTGTTGATGGAGCGTTC-3′) และ Bs-XpR (5′-GTGCGAGTCAATTATCAGAATGTGG-3′) ตามรายงานของ Koenraadt *et al*. (2009) ซึ่งใช้ใน diagnostic protocol ของ EPPO (EPPO, 2013) กำหนดอุณหภูมิและเวลาในขั้นตอนการทำปฏิกิริยา PCR ดังนี้ 94°C นาน 5 นาที, 94°C นาน 30 วินาที, 66°C นาน 1 นาที, 72°C นาน 1 นาที จำนวน 30 รอบ และที่ 72°C นาน 7 นาที มีผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาด 197 bp และคู่ไพรเมอร์ตามรายงานของ Burlakoti *et al.* (2018) ได้แก่ HpaF-f (5′-GTGGCAGGCAGGCAATCGACG-3′) และ HpaF-r (5′-CCGGCACGTCGACGCCTGGAAACC-3′) กำหนดอุณหภูมิและเวลาในขั้นตอนการทำปฏิกิริยา PCR ดังนี้ 94°C นาน 5 นาที, 94°C นาน 30 วินาที, 65°C นาน 30 วินาที, 72°C นาน 30 วินาที จำนวน 10 รอบ และที่ 94°C นาน 30 วินาที, 58°C นาน 30 วินาที, 72°C นาน 30 วินาที จำนวน 20 รอบ และที่ 72°C นาน 10 นาที มีผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาด 300 bp (Figure 1)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

คัดเลือกไพรเมอร์จำนวน 2 คู่ ที่สามารถใช้ในการตรวจสอบแบคทีเรีย *X. perforans* ด้วยเทคนิค PCR ได้แก่ คู่ไพรเมอร์ Bs-XpF/Bs-XpR ตามรายงานของ Koenraadt *et al*. (2009) มีผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาด 197 bp และคู่ไพรเมอร์ HpaF-f/HpaF-r ตามรายงานของ Burlakoti *et al.* (2018) มีผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาด 300 bp เพื่อใช้สำหรับทดสอบความจำเพาะและความไวของวิธีการตรวจสอบต่อไป

เอกสารอ้างอิง

Burlakoti, R.R., C.F. Hsu, J.R. Chen and J.F. Wang. 2018. Population Dynamics of Xanthomonads Associated with Bacterial Spot of Tomato and Pepper during 27 Years across Taiwan. *Plant dis* 102: 1348-1356.

EPPO. 2013. PM 7/110 (1) *Xanthomonas* spp. (*Xanthomonas euvesicatoria*, *Xanthomonas gardneri*, *Xanthomonas perforans*, *Xanthomonas vesicatoria*) causing bacterial spot of tomato and sweet pepper. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 43: 7-20.

Jones, J.B., G.H. Lacy, H. Bouzar, R.E. Stall and N.W. Schaad. 2004. Reclassification of the xanthomonads associated with bacterial spot disease of tomato and pepper. *Systematic and Applied Microbiology.* 27: 755–762.

Koenraadt, H., B. Van Betteray, R. Germain, G. Hiddink, J.B. Jones, J. Oosterhof, A. Rijlaarsdam, P. Roorda and B. Woudt. 2009. Development of specific primers for the molecular detection of bacterial spot of pepper and tomato, pp. 99-102. *In* II International Symposium on Tomato Diseases 808. *International Soc. Hort. Sci.* Belgium.

Pohronezny, K. and R.B. Volin. 1983. The effect of bacterial spot on yield and quality of fresh market tomatoes. *Hort. Sci.* 18: 69-70.

Roach, R., R. Mann, C.G. Gambley, R.G. Shivas and B. Rodoni. 2018. Identification of Xanthomonas species associated with bacterial leaf spot of tomato, capsicum and chilli crops in eastern Australia. *Eur. J. Plant Pathol*. 150: 595–608.

Strayer, A., A. Jeyaprakash, G.V. Minsavage, S. Timilsina, G.E. Vallad and J.B. Jones. 2016. A multiplex real-time PCR assay differentiates four *Xanthomonas* species associated with bacterial spot of tomato. *Plant Dis.* 100: 1660–1668.

Timilsina, S., S. Kara, M.A. Jacques, N. Potnis, G.V. Minsavage, G.E. Vallad, J.B. Jones and M. Fischer-Le Saux. 2020. Corrigendum: Reclassification of *Xanthomonas gardneri* (ex Šutič 1957) Jones *et al*. 2006 as a later heterotypic synonym of *Xanthomonas cynarae* Trébaol *et al*. 2000 and description of *X. cynarae* pv.

cynarae and *X. cynarae* pv. *gardneri* based on whole genome analyses. *Int J Syst Evol Microbiol* 69: 343-349, doi: 10.1099/ijsem.0.003104.

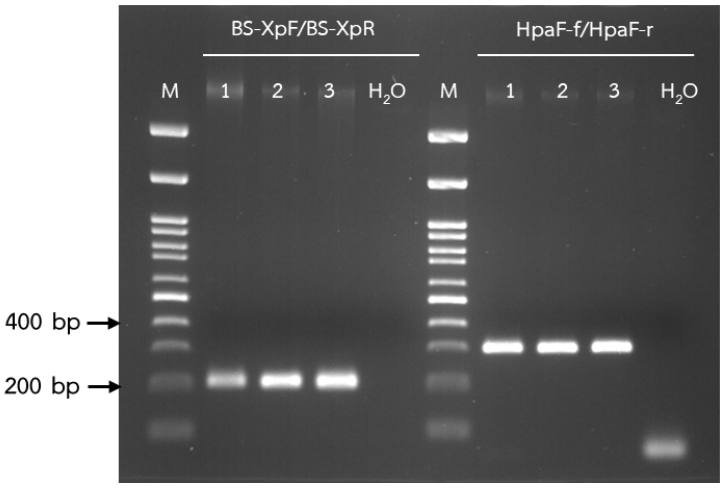


Figure 1 Agarose gel electrophoresis of PCR products amplified for detection *Xanthomonas perforans* using Bs-XpF/Bs-XpR and HpsF-f/ HpaF-r primers, M: onemark 100, lane 1: *X. perforans* 1692, lane 2: *X. perforans* 1696,lane 3: *X. perforans* 1697

พัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas vesicatoria* สาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ

Developing Method to Detection of *Xanthomonas vesicatoria* Causing Bacterial Spot of Pepper and Tomato

ทิพวรรณ กันหาญาติ[1/] ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล[1/] ชลธิชา รักใคร่[2/] วันเพ็ญ ศรีชาติ[3/]

[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[3/]กลุ่มวิชาการ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2

รายงานความก้าวหน้า

เชื้อแบคทีเรีย *X. vesicatoria* สามารถถ่ายทอดทางเมล็ดได้ และเป็นศัตรูพืชกักกันที่มีรายชื่ออยู่ใน EPPO A2 list ซึ่งทำให้ประเทศไทยต้องตรวจรับรองการปลอดเชื้อดังกล่าวก่อนการส่งออก เทคนิควิธีการตรวจสอบเชื้อที่รวดเร็วและแม่นยำ จึงมีความจำเป็นในการช่วยสนับสนุนการส่งออกเมล็ดพันธุ์เป็นอย่างยิ่ง การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีการตรวจสอบแบคทีเรีย *X. vesicatoria* ด้วยเทคนิค PCR สำหรับใช้เป็นเครื่องมือในการตรวจรับรองสินค้าเกษตรในการส่งออกตามเงื่อนไขของประเทศคู่ค้าและเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกัน โดยการทดลองในเดือนตุลาคม 2564 - กันยายน 2565 ได้ดำเนินการคัดเลือกไพรเมอร์จำนวน 2 คู่ ที่สามารถใช้ในการตรวจสอบแบคทีเรีย *X. vesicatoria* ด้วยเทคนิค PCR ได้ ได้แก่ คู่ไพรเมอร์ Xv-gyrB-F/Xv-gyrB-R มีผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาด 104 bp และคู่ไพรเมอร์ Xv1/Xv2 มีผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาด 404 bp สำหรับทดสอบความจำเพาะและความไวของวิธีการตรวจสอบต่อไป

คำหลัก : ใบจุด พริก มะเขือเทศ ตรวจสอบ

รหัสการทดลอง FF65-55-04-65-01-04-65

คำนำ

โรคใบจุดที่เกิดจากแบคทีเรียในกลุ่ม *Xanthomonas* ของพริกและมะเขือเทศเป็นโรคที่สำคัญของประเทศผู้ผลิตพริกและมะเขือเทศทั่วโลกโดยเฉพาะในเขตร้อนและร้อนชื้นเนื่องจากทำให้ผลผลิตลดลงถึง 50% (Pohronezny and Volin, 1983) เชื้อแบคทีเรียในกลุ่มนี้มีลักษณะอาการของโรคคล้ายคลึงกัน พบรายงานเชื้อหลายชนิดที่เป็นสาเหตุโรคซึ่งมีการจัดจำแนกและเปลี่ยนชื่อใหม่หลายครั้ง การจัดจำแนกเชื้อโดย Jones *et al*. (2004) พบความแตกต่างภายในกลุ่มเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas* สาเหตุโรคใบจุดในพริกและมะเขือเทศ จากการใช้แหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกันและผลการศึกษา DNA-DNA hybridization ทำให้แบ่งกลุ่มเชื้อออกเป็น 4 ชนิด ได้แก่ *X. euvesicatoria X. perforans X. gardneri* และ *X. vesicatoria* (Jones *et al*., 2004) ในปัจจุบันมีการเสนอเปลี่ยนชื่อเชื้อทั้ง 4 ชนิด เป็น *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria X. euvesicatoria* pv. *perforans X. hortorum* pv. *gardneri* และ *X. vesicatoria* ตามลำดับ (Constantin *et al*., 2016; Timilsina *et al*., 2019; Morinière *et al*., 2020) สำหรับประเทศไทยมีรายงานเชื้อสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศที่เกิดจากแบคทีเรีย *X. campestris* pv. *vesicatoria* (Uematsu *et al*., 1983) และรายงานการจำแนกชนิดแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศโดยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์หลายตำแหน่งพบเชื้อ 2 ชนิด ได้แก่ *X. euvesicatoria* และ *X. perforans* (สันติพงษ์และคณะ, 2563)

เชื้อแบคทีเรีย *X. vesicatoria* สาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศสามารถถ่ายทอดทางเมล็ดได้และไม่มีปรากฏในประเทศไทยมาก่อน จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องเฝ้าระวัง เนื่องจากประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศเพื่อการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมในภายประเทศและส่งกลับไปจำหน่ายยังต่างประเทศ นอกจากนี้เชื้อแบคทีเรียยังเป็นศัตรูพืชกักกันที่มีรายชื่ออยู่ใน EPPO A2 list (EPPO, 2013) ซึ่งทำให้ประเทศไทยต้องตรวจรับรองการปลอดเชื้อดังกล่าวก่อนการส่งออก ดังนั้น เทคนิควิธีการตรวจสอบเชื้อที่รวดเร็วและแม่นยำ จึงมีความจำเป็นในการช่วยสนับสนุนการส่งออกเมล็ดพันธุ์เป็นอย่างยิ่ง การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีการตรวจสอบแบคทีเรีย *X. vesicatoria* ด้วยเทคนิค PCR สำหรับใช้เป็นเครื่องมือในการตรวจรับรองสินค้าเกษตรในการส่งออกตามเงื่อนไขของประเทศคู่ค้าและเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกัน

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่องแก้ว และอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น กระบอกตวง จานเลี้ยงเชื้อ ลูป
2. ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven)
3. หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave)
4. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Incubator)
5. เครื่องชั่ง

6. ปิเปต (Pipette)
7. เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)
8. อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)
9. เครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ (Refrigerated Centrifuge)
10. เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (Thermal cycler)
11. เครื่องแยกวิเคราะห์สารพันธุกรรม (Gel Electrophoresis System)
12. เครื่องถ่ายภาพสารพันธุกรรม (Gel Documentation)
13. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ สกัดดีเอ็นเอ และทำปฏิกิริยา PCR เช่น ชุดสกัดดีเอ็นเอ QIAamp DNA Mini kit (Qiagen, USA) สารเคมี One PCR Master Mix (GeneDirex® Inc., Taiwan) ดีเอ็นเอขนาดมาตรฐาน Onemark 100 (GeneDirex® Inc., Taiwan)

วิธีการ

1. คัดเลือกไพรเมอร์และทดสอบสภาวะที่เหมาะสมของเทคนิค PCR ในการตรวจเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ

1.1 สืบค้นข้อมูลและคัดเลือกไพรเมอร์

สืบค้นข้อมูลไพรเมอร์ที่มีรายงานว่าสามารถใช้ตรวจเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศได้อย่างเฉพาะเจาะจง และคัดเลือกเพื่อสั่งสังเคราะห์สำหรับใช้ในการตรวจวินิจฉัยในเบื้องต้นพบรายงานของ Araújo *et al*. (2013) และ Beran *et al*. (2015)

1.2 ทดสอบสภาวะที่เหมาะสมของเทคนิค PCR ในการตรวจเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ

ดำเนินการทดสอบไพรเมอร์ที่ใช้สำหรับการตรวจวินิจฉัยเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศด้วยเทคนิค PCR ตามรายงานของ Araújo *et al*. (2013) และ Beran *et al*. (2015) โดยใช้ปริมาตรรวมในการทำปฏิกิริยา PCR 20 ไมโครลิตร ประกอบด้วยดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรียความเข้มข้น 50 ng/µl, 1X One PCR Master Mix (GeneDirex Inc., Taiwan) และไพรเมอร์ชนิดละ 0.2 µM เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องควบคุมอุณหภูมิ Biometra (Biometra biomedizinische Analytik GmbH, Germany) ตรวจสอบผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส และตรวจดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอุลตราไวโอเลตด้วยเครื่อง UVITEC Cambridge Platinum (Uvitec Ltd., UK)

2. ทดสอบความจำเพาะ (specificity) และความไว (sensitivity) ของเทคนิคทางโมเลกุลในการตรวจเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ

นำดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบมาวัดความเข้มข้นและคุณภาพของดีเอนเอที่ช่วงคลื่น A260/A280 ด้วยเครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (U 2001 UV/Vis, Hitachi Instruments, Inc., USA) และปรับความเข้มข้นดีเอ็นเอเท่ากับ 50 ng/ul เพื่อนำไปทดสอบความจำเพาะของไพรเมอร์ด้วยเทคนิค PCR และทดสอบความไวในการตรวจสอบโดยใช้ DNA ของแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของ

พริกและมะเขือเทศ ที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 50 นาโนกรัม ถึง 100 เฟมโตกรัม ตรวจด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ปริมาตรรวมในการทำปฏิกิริยา PCR 20 ไมโครลิตร ประกอบด้วยดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรีย, 1X One PCR Master Mix (GeneDirex Inc., Taiwan) และไพรเมอร์ ชนิดละ 0.2 µM เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องควบคุมอุณหภูมิ Biometra (Biometra biomedizinische Analytik GmbH, Germany) ตรวจสอบผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส และตรวจดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอุลตราไวโอเลตด้วยเครื่อง UVITEC Cambridge Platinum (Uvitec Ltd., UK)

3. ทดสอบวิธีการที่เหมาะสมในการตรวจเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศจากตัวอย่างพืช

ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างที่มีลักษณะอาการคล้ายโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศจากแหล่งปลูกสำคัญ เช่น กาญจนบุรี เชียงใหม่ ตาก นครพนม สกลนคร หนองคาย อุบลราชธานี สระบุรี และน่าน เป็นต้น เพื่อนำมาใช้ในสำหรับทำปฏิกิริยา PCR ด้วยสภาวะที่เหมาะสม โดยใช้ปริมาตรรวมในการทำปฏิกิริยา PCR 20 ไมโครลิตร ประกอบด้วยดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรีย, 1X One PCR Master Mix (GeneDirex Inc., Taiwan) และไพรเมอร์ชนิดละ 0.2 µM เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องควบคุมอุณหภูมิ Biometra (Biometra biomedizinische Analytik GmbH, Germany) ตรวจสอบผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีอะกาโรสเจล อิเล็กโตรโฟรีซิส และตรวจดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอุลตราไวโอเลตด้วยเครื่อง UVITEC Cambridge Platinum (Uvitec Ltd., UK)

เวลาและสถานที่

เวลา	ตุลาคม 2564 – กันยายน 2565
สถานที่	ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

คัดเลือกไพรเมอร์ สกัดดีเอ็นเอ และได้สภาวะการทำ PCR ที่ใช้ในการตรวจวินิจฉัย *X. vesicatoria* ดังนี้ คู่ไพรเมอร์ตามรายงานของ Araújo *et al.* (2013) ได้แก่ Xv-gyrB-F (5′-ATACGCG TTGGGCGAGCCT-3′) และ Xv-gyrB-R (5′-CATCGCTGAAGATGGCCACGGCT-3′) กำหนดอุณหภูมิและเวลาในขั้นตอนการทำปฏิกิริยา PCR ที่อุณหภูมิ 95°C นาน 5 นาที, 95°C นาน 30 วินาที, 68°C นาน 30 วินาที, 72°C นาน 30 วินาที จำนวน 30 รอบ และที่ 72°C นาน 3 นาที มีผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาด 104 bp และคู่ไพรเมอร์ตามรายงานของ Beran *et al.* (2015) ได้แก่ Xv1 (5′-TGGGAAATCCA TCGCACT-3′) และ Xv2 (5′-TTGCCCTTGCCGTTCTCG-3′) กำหนดอุณหภูมิและเวลาในขั้นตอนการทำปฏิกิริยา PCR ที่อุณหภูมิ 94°C นาน 5 นาที, 94°C นาน 30 วินาที, 69°C นาน 40 วินาที, 72°C นาน 45 วินาที จำนวน 30 รอบ และที่ 72°C นาน 10 นาที มีผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาด 404 bp (Figure 1)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

คัดเลือกไพรเมอร์ที่สามารถใช้ในการตรวจสอบแบคทีเรีย *X. vesicatoria* ด้วยเทคนิค PCR ได้จำนวน 2 คู่ ได้แก่ คู่ไพรเมอร์ Xv-gyrB-F/Xv-gyrB-R ตามรายงานของ Araújo *et al.* (2013) มีผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาด 104 bp และคู่ไพรเมอร์ Xv1/Xv2 ตามรายงานของ Beran *et al.* (2015) มีผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาด 404 bp เพื่อใช้สำหรับทดสอบความจำเพาะและความไวของวิธีการตรวจสอบต่อไป

เอกสารอ้างอิง

สันติพงศ์ สิทธิธนสิน จุฑาเทพ วัชระไชยคุปต์ ชัญญานุช กอรักงาม ทิพวรรณ กันหาญาติ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล วิชัย โฆสิตรัตน และ สุจินต์ ภัทรภูวดล. 2563. การจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของมะเขือเทศในประเทศไทย. *วารสารวิชาการเกษตร.* 36: 80-88.

Araújo, E.R., M.A.S.V. Ferreira and A.M. Quezado-Duval. 2013. Specific primers for *Xanthomonas vesicatoria*, a tomato bacterial spot causal agent. *Eur J Plant Pathol* 137: 5-9.

Beran, P., I. Mráz, B. Kokoskova and A. Bohata. 2015. Monitoring the occurrence of bacterial spot of tomato and pepper in the Czech Republic and development of new PCR primers for detection of *Xanthomonas vesicatoria*. *Eur J Plant Pathol* 141: 617-621.

Constantin, E.C., I. Cleenwerck, M. Maes, S. Baeyen, C. Van Malderghem, P. De Vos and B. Cottyn. 2016. Genetic characterization of strains named as *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* leads to a taxonomic revision of the *X. axonopodis* species complex. *Plant Pathology* 65 (5): 792-806.

EPPO. 2013. PM 7/110 (1) *Xanthomonas* spp. (*Xanthomonas euvesicatoria*, *Xanthomonas gardneri*, *Xanthomonas perforans*, *Xanthomonas vesicatoria*) causing bacterial spot of tomato and sweet pepper. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 43: 7-20.

Jones, J.B., G.H. Lacy, H. Bouzar, R.E. Stall and N.W. Schaad. 2004. Reclassification of the xanthomonads associated with bacterial spot disease of tomato and pepper. *Systematic and Applied Microbiology.* 27: 755–762.

Morinière, L., A. Burlet, E.R. Rosenthal, X. Nesme, P. Portier and C.T. Bull. 2020. Clarifying the taxonomy of the causal agent of bacterial leaf spot of lettuce through a polyphasic approach reveals that *Xanthomonas cynarae* Trébaol *et al*. 2000 emend. Timilsina *et al*. 2019 is a later heterotypic synonym of *Xanthomonas hortorum* Vauterin *et al*. 1995. *Systematic App. Microbiol.* 43: 126087.

Pohronezny, K. and R.B. Volin. 1983. The effect of bacterial spot on yield and quality of fresh market tomatoes. *Hort. Sci.* 18: 69-70.

Timilsina, S., S. Kara, M.A. Jacques, N. Potnis, G.V. Minsavage, G.E. Vallad, J.B. Jones and M. Fischer-Le Saux. 2020. Corrigendum: Reclassification of *Xanthomonas gardneri* (ex Šutič 1957) Jones *et al*. 2006 as a later heterotypic synonym of *Xanthomonas cynarae* Trébaol *et al*. 2000 and description of *X. cynarae* pv. *cynarae* and *X. cynarae* pv. *gardneri* based on whole genome analyses. *Int J Syst Evol Microbiol* 69: 343-349, doi: 10.1099/ijsem.0.003104.

Uematsu, T., S. Chuenchitt, S. Kanjanarat, S. Vitithajinda, N. Napheerong, S. Benjathikul, S. Nilmanee, W. Dhirabhava and D. Buangsuwon. 1983. *Bacterial diseases on economic crops in Thailand*. Tropical Agricultural Research Center, Ministry of Agricultural, Forestry and Fisheries, Japan and Department of Agriculture, Ministry of Agriculture and Cooperative Thailand. 266 p.

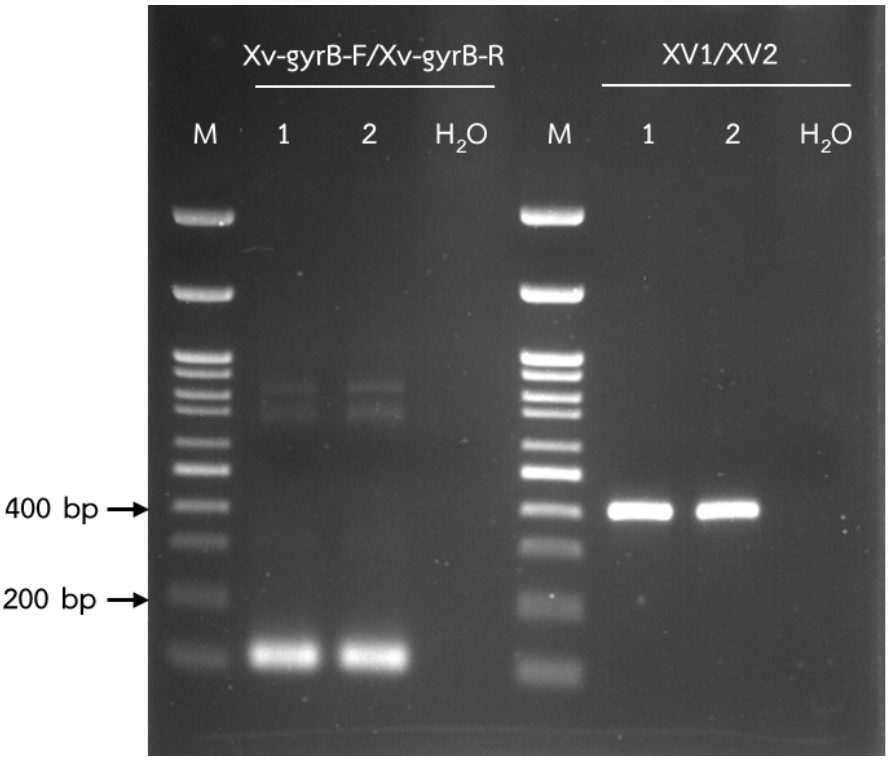


Figure 1 Agarose gel electrophoresis of PCR products amplified for detection *Xanthomonas vesicatoria* using Xv-gyrB-F/Xv-gyrB-R and Xv1/Xv2 primers, M: onemark 100, lane 1: *gyrB* gene synthesis Xv911, lane 2: *gyrB* gene synthesis Xv923

การเปรียบเทียบและประเมินประสิทธิภาพการตรวจไส้เดือนฝอย *Radopholus similis* ด้วยเทคนิค LAMP PCR และ Real-time PCR

Comparative Evaluation of LAMP PCR and Real-time PCR for the Detection of *Radopholus similis*

ไตรเดช ข่ายทอง รุ่งนภา ทองเครื่ง ธิติยา ชยาภัคพัฒนา

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การดำเนินงานในปี 2565 ได้เก็บตัวอย่างพลูฉลุ และหน้าวัวมาแยกไส้เดือนฝอยจากรากและวัสดุปลูก ตรวจหาไส้เดือนฝอย *Radopholus* จากตัวอย่างที่แยกได้ เลี้ยงไส้เดือนฝอยในต้นพลูฉลุที่เตรียมไว้ให้ได้ปริมาณที่มากขึ้น ก่อนนำไปเลี้ยงต่อในแคลลัสของอัลฟัลฟาในสภาพปลอดเชื้อ ได้ประชากรไส้เดือนฝอย *Radopholus* spp. จากพลูฉลุ 20 ประชากร และหน้าวัว 30 ประชากร นำไส้เดือนฝอย 50 ประชากรที่ได้มาทำสไลด์ถาวร ศึกษาลักษณะทางสัณฐานและจำแนกชนิดได้เป็น *Radopholus similis* จากการตรวจยืนยันด้วยคู่ไพรเมอร์จำเพาะ RsimF /RsimR ด้วยวิธี PCR ได้ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาด 398 bp ให้ผลสอดคล้องกับการจำแนกชนิดทางสัณฐานวิทยา

คำหลัก : อนุกรมวิธาน การตรวจวินิจฉัย ไส้เดือนฝอยรากโพรง อณูชีววิทยา

รหัสการทดลอง FF65-55-04-65-01-05-65

คำนำ

R. similis เป็นไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่สำคัญ เป็นหนึ่งในสิบของชนิดไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ทำความเสียหายต่อพืชเศรษฐกิจทั่วโลก (Sasser and Freckman, 1987) มีพืชอาศัยมากกว่า 350 ชนิด เข้าทำลายพืชโดยทำลายเนื้อเยื่อของรากโดยดูดกินอาหารในส่วน cortical tissue ทำให้รากเกิดโพรงภายในและเป็นแผลลุกลามไปทั้งระบบราก (Blake, 1966) เป็นไส้เดือนฝอยที่มีการแพร่กระจายทั่วโลกในเขตร้อนและเขตร้อนชื้น (Loof, 1991) ทำความเสียหายแก่พืชเศรษฐกิจ เช่น พริกไทยในอินโดนีเซีย ส้มและพืชที่ปลูกในโรงเรือนในมลรัฐฟลอริดา สหรัฐอเมริกา ในประเทศไทยมีรายงานการพบ *R. similis* ในกล้วย และพบการทำความเสียหายในไม้ประดับบางชนิด เช่น หน้าวัวทำให้เกิดอาการต้นโทรม (slow decline) นอกจากนั้นยังพบ *R. similis* ติดไปกับพรรณไม้น้ำและไม้ประดับหลายชนิดที่ส่งออกไปสหภาพยุโรป

เทคนิค real-time PCR มีข้อดีคือมีความรวดเร็ว มีความไวในการตรวจสูง และให้ข้อมูลเชิงปริมาณได้ Zijlstra and Van Hoof (2006) รายงานการใช้ multiplex real-time PCR ในการตรวจไส้เดือนฝอยรากปม *M. chitwoodi* และ *M. fallax* พร้อมกัน Toyota *et al*. (2008) รายงานการใช้เทคนิค real-time PCR ในการตรวจไส้เดือนฝอย *Globodera rostochiensis* และ *M. incognita* สามารถตรวจตัวอย่างดีเอ็นเอที่สกัดจากตัวอ่อนระยะที่สอง 1 ตัว ที่ปนกับไส้เดือนฝอยอื่น 1,000 ตัว ได้ Kiewnick *et al.* (2015) รายงานการใช้ LNA-based quantitative real-time PCR ในการตรวจไส้เดือนฝอยรากปม *M. enterolobii* ในตัวอย่างดีเอ็นเอที่มีดีเอ็นเอของไส้เดือนฝอยชนิดอื่นปะปนอยู่ เทคนิค real-time PCR นอกจากจะสามารถตรวจสอบชนิดไส้เดือนฝอยรากปมได้แล้วยังสามารถใช้วัดปริมาณประชากรไส้เดือนฝอยได้อีกด้วย (Zhao *et al*., 2010) และรายงานการนำเทคนิค LAMP มาใช้ในการตรวจสอบไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่สำคัญบางชนิด เช่น ไส้เดือนฝอยศัตรูต้นสน (pinewood nematode) *Bursaphelenchus xylophilus* (Kikuchi *et al.*, 2009) ไส้เดือนฝอยศัตรูส้ม *Tylenchulus semipenetrans* (Lin *et al*., 2016) ไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* spp. (Niu *et al*., 2011) ไส้เดือนฝอยรากปม *M. hapla* (Peng *et al*., 2017) ไส้เดือนฝอยรากปม *M. enterolobii* (Niu *et al*., 2012) สำหรับไส้เดือนฝอยรากโพรง *Radopholus similis* Peng *et al*. (2012) ได้ออกแบบไพรเมอร์ LAMP ที่จำเพาะเจาะจงกับส่วนของ D2-D3 expansion region ของ 28S rDNA ซึ่งมีความไวในการตรวจสูงกว่า conventional PCR 10-100 เท่า

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างดิน
2. อุปกรณ์สำหรับแยกไส้เดือนฝอยออกจากดินและส่วนของพืช
3. อุปกรณ์สำหรับปลูกพืช
4. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงชนิดหัวกลับ

5. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงและกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ
6. คอมพิวเตอร์และอุปกรณ์ถ่ายภาพ
7. เครื่องปั่นเหวี่ยง
8. สไลด์ กระจกปิดสไลด์
9. ถ้วยนับตัวอย่าง
10. เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม
11. เครื่องอิเล็กโตโฟรีสีส
12. microcentrifuge tube, pcr tube, pipette tip
13. ชุด kit สำหรับสกัดดีเอ็นเอ
14. agarose gel, gel star, pcr buffer, pcr mix

วิธีการ

1. การแยกไส้เดือนฝอยจากตัวอย่างและการเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอย *Radopholus*

1.1 นำตัวอย่างพืชที่มีการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอย *Radopholus* รวมทั้งวัสดุปลูกมาแยกไส้เดือนฝอยออกจากตัวอย่าง ดังนี้

ตัวอย่างพืช ตัดรากเป็นท่อนสั้นๆ ยาวประมาณ 0.5-1 เซนติเมตร ห่อด้วยผ้ากรอง วางลงบนชุดกรวยแยกไส้เดือนฝอยนำไปใส่ในตู้พ่นหมอก (Mistifier) เก็บตัวอย่างน้ำที่มีไส้เดือนฝอยมาผ่านตะแกรงโลหะขนาดช่อง 38 ไมโครเมตร เก็บตัวอย่างไส้เดือนไปตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์

วัสดุปลูก แยกไส้เดือนฝอยจากวัสดุปลูกโดยแช่วัสดุปลูกในน้ำนาน 24 ชั่วโมง แยกไส้เดือนฝอยโดยใช้ Decanting and Sieving with Baermann's Tray Technique กรองน้ำส่วนบนผ่านตะแกรงโลหะที่มีขนาดช่อง 850 ไมโครเมตร วางบนตะแกรงที่มีขนาดช่อง 38 ไมโครเมตร ล้างตัวอย่างดินที่ค้างอยู่บนตะแกรงอันล่างและนำตัวอย่างใส่ลงบนกระดาษกรองที่วางอยู่บนตะแกรงไนลอน วางลงในจานรองที่มีน้ำสะอาด ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง แล้วเก็บน้ำไปตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์

1.2 นำไส้เดือนฝอย *Radopholus* ที่ตรวจพบมาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในแคลลัสของรากอัลฟัลฟ่าในสภาพปลอดเชื้อ ตามวิธีการของ (Elsen et al., 2001) โดยแช่เมล็ดอัลฟัลฟ่าใน H_2SO_4 นาน 15 นาที ล้างด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 4 ครั้ง จากนั้นแช่ใน HgCl2 (1,000 ppm ใน 30% ethanol) นาน 15 นาที แล้วล้างด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 4 ครั้ง นำเมล็ดไปเพาะใน check agar (10 g sucrose, 2 g yeast agar, 10 g agar, 1,000 ml water) เมื่อเมล็ดงอกมีรากยาวประมาณ 2 เซนติเมตร นำไปวางบน White's medium (White, 1963) ที่เติม 0.2 ppm α-NAA และ 2 ppm 2,4-D ในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร จากนั้นทิ้งไว้ประมาณ 7-10 วัน เพื่อให้เกิดการสร้างแคลลัส จากนั้นนำตัวไส้เดือนฝอย *Radopholus* ที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย 0.1% w/v streptomycin sulfate ใส่ลงในจานเลี้ยงเชื้อ 1 ตัวต่อจานเลี้ยงเชื้อ เพื่อให้ได้ประชากรบริสุทธิ

2. การคงสภาพและทำสไลด์ถาวรของไส้เดือนฝอย

นำไส้เดือนฝอย *Radopholus* ที่เพาะเลี้ยงได้มาทำการคงสภาพ (fixing) ด้วย 4% formaldehyde ที่ 85 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้อย่างน้อย 48 ชั่วโมง เตรียม solution 1 (20 ml ethanol 96%, 1 ml glycerine, 79 ml distilled water) และ solution 2 (93 ml ethanol 96%, 7 ml glycerine) นำตัวไส้เดือนฝอยที่คงสภาพแล้วใส่ลงใน embryo dish แล้วเติม solution 1 นำ embryo dish ใส่ลงในกล่องพลาสติก superlock เติม ethanol 96% ลงในกล่องสูงประมาณ 0.5 เซนติเมตร ปิดฝากล่องแล้วใส่ใน incubator ที่ 40 องศาเซลเซียส หลังจากนั้น 24 ชั่วโมง ดูด solution 1 ออก ภายใต้กล้องกำลังขยายต่ำ แล้วใส่ solution 2 ลงใน embryo dish จากนั้นนำไปใส่ในจานเลี้ยงเชื้อแล้วปิดฝา นำไปใส่ใน incubator ที่ 40 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง จากนั้นใส่ dehydrated glycerine ลงใน embryo dish 2 หยด นำ embryo dish ไปเก็บในโถดูดความชื้น เก็บรักษาไส้เดือนฝอยไว้สำหรับนำไปทำสไลด์ถาวรต่อไป

3. การสกัดดีเอ็นเอ

3.1 สกัดดีเอ็นเอจากไส้เดือนฝอย 1 ตัว ใช้วิธีการตาม 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 นาน 10 นาที เติม proteinase K ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 2 ไมโครลิตร ลงในหลอดและบ่มที่ 55°C ใน water bath นาน 3 ชั่วโมง จากนั้นนำหลอดใส่ใน heating block ที่อุณหภูมิ 100°C 5 นาที เพื่อหยุดการทำงานของ proteinase K ใส่ GeneReleaser® 20 ไมโครลิตรลงในหลอด นำหลอดใส่ในเตาไมโครเวฟนาน 6 นาที ปั่นเหวี่ยงแล้วเก็บส่วนใส

3.2 การสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างพืชที่ถูกไส้เดือนฝอยเข้าทำลาย ใช้ชุดสกัด GF-1 Plant DNA Extraction (Vivantis) วิธีการตามคำแนะนำ

3.3 การสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างดินและน้ำที่มีไส้เดือนฝอยหลายชนิด ปั่นเหวี่ยงตัวอย่างน้ำที่ได้จากการแยกไส้เดือนฝอยที่ 10,000 รอบต่อนาที ดูดน้ำส่วนบนทิ้งแล้วสกัดดีเอ็นเอด้วย PowerSoil® DNA Isolation Kit (Qiagen) วิธีการตามคำแนะนำ

3.4 การตรวจยืนยันชนิดของไส้เดือนฝอย *R. similis* โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานและวิธี PCR (ปี 2566)

ตรวจยืนยันชนิดของไส้เดือนฝอย *R. similis* โดยใช้ลักษณะทางสัณฐาน (Ryss, 2003) และวิธี PCR โดยใช้คู่ไพรเมอร์จำเพาะ RsimF/RsimR ตามรายงานของ Ravindran *et al*. (2011) RsimF 5'-GATTCCGTCCTTTGGTGGGCA-3' และ RsimR 5'- GAACCAGGCGTGCCAGAGG-3' โดยใช้สภาวะปฏิกิริยาคือ Initial denaturation ที่ 94°C 2 นาที amplification cycle 35 รอบ 94°C 30 วินาที 55°C 1 นาที 72°C 1 นาที และ final polymerization step ที่ 72°C 10 นาที

4. เปรียบเทียบประสิทธิภาพของเทคนิค LAMP PCR และ Real time PCR (ปี 2566-2567)

ใช้เทคนิค LAMP PCR ตามรายงานของ Peng *et al*. (2012) ประกอบด้วยไพรเมอร์ที่ออกแบบให้มีความจำเพาะเจาะจงกับส่วน D2-D3 region ของ rDNA gene ได้แก่

Rs-F3 AGCTGGCGTATCTAGCCTG, Rs-B3 AACGCCAGAACGCA-CAAC,

Rs-FIP GCACCCAACGGACAAAACAACACATTCAGCCTCTGGGCATC,

Rs-BIP GCAGCGCTGTGAGCCTGTTTGT-TCGCCCATTCTGGGTAC และ

Rs-LF AGGCGTCGTCCCAAGGTCA

ส่วนผสมของปฏิกิริยา LAMP ประกอบด้วยไพรเมอร์ FIP และ BIP อย่างละ 40 pmol, ไพรเมอร์ F3 และ B3 อย่างละ 5 pmol ,ไพรเมอร์ LF 20 pmol, dNTP mix 1.4 mM, betaine 1.6 M, $MgSO_4$ 4.5 mM, *Bst* DNA polymerase 8U, 1× Thermopol Reaction buffer (20 mM Tris-HCl, pH 8.8, 25°C), KCl 10 mM, $(NH_4)_2SO_4$, 2 mM $MgSO_4$ 10 mM, Triton X-100 0.1%, DNA 1 µl และ PCR grade water 25 µl บ่มที่อุณหภูมิ 60-65°C นาน 45 นาที และหยุดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 85°C 5 นาที

ใช้เทคนิค real-time PCR ตามรายงานของ Krisna and Eapen (2019) ซึ่งใช้ไพรเมอร์ RAD-F: AGACTTGA TGAGCGCAGA และ RAD-R: CGTGCCAGAGGAAGTGA ที่ออกแบบให้จำเพาะเจาะจงกับส่วน ITS ของ *R. similis* โดยใช้ Quantifast SYBR green 2x master mix (Qiagen) และไพรเมอร์ 0.25 µM และสภาวะปฏิกิริยา PCR เริ่มจาก 95°C 10 นาที และ amplification cycle 40 รอบ 95°C 10 วินาที 60°C 45 วินาที และ melting ที่ 50-99°C

4.1 เปรียบเทียบความจำเพาะเจาะจง (specificity)

ทดสอบความจำเพาะเจาะจงโดยทดสอบกับดีเอ็นเอของไส้เดือนฝอย *R. similis* ไส้เดือนฝอยศัตรูพืชชนิดอื่น ๆ และไส้เดือนฝอยที่ไม่ใช่ศัตรูพืชที่มักพบในตัวอย่างดิน ทำการทดสอบ 10 ซ้ำ

4.2 เปรียบเทียบความไว (sensitivity)

ทดสอบความไวของปฏิกิริยา โดยการทำ 10-fold dilution ของดีเอ็นเอไส้เดือนฝอย *R. similis* โดยใช้ดีเอ็นเอความเข้มข้นเริ่มต้นที่ 100 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร ทำการทดสอบ 10 ซ้ำ

4.3 เปรียบประสิทธิภาพในการตรวจตัวอย่างดีเอ็นเอผสม

ทดสอบประสิทธิภาพการตรวจดีเอ็นเอผสมที่สกัดจากไส้เดือนฝอย *R. similis*:*Pratylenchus coffeae* 1:10 1:100 1:500 1:1,000 1:5,000 และ 1:10,000 ตัว ทำการทดสอบ 10 ซ้ำ

4.4. เปรียบเทียบผลการตรวจตัวอย่างประเภทต่าง ๆ

ทดสอบประสิทธิภาพการตรวจตัวอย่างดีเอ็นเอที่สกัดจากดิน น้ำ หรือรากพืชที่มีไส้เดือนฝอย *R. Similis*

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. เปรียบเทียบความจำเพาะเจาะจง (specificity) ของเทคนิค LAMP PCR และ Real-time PCR ในการตรวจไส้เดือนฝอย *R. similis*

2. เปรียบเทียบความไว (sensitivity) ของเทคนิค LAMP PCR และ Real-time PCR ในการตรวจไส้เดือนฝอย *R. similis*

3. เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการตรวจตัวอย่างดีเอ็นเอผสมของเทคนิค LAMP PCR และ Real-time PCR ในการตรวจไส้เดือนฝอย *R. similis*

4. เปรียบเทียบผลการตรวจตัวอย่างประเภทต่างๆ ของเทคนิค LAMP PCR และ Real-time PCR ในการตรวจไส้เดือนฝอย *R. similis*

เวลาและสถานที่

- ระยะเวลาดำเนินการ : ตุลาคม 2564 – กันยายน 2567

- สถานที่ดำเนินการ : ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การเก็บตัวอย่างและการเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอย *R. similis*

เก็บตัวอย่างพลูฉลุ และหน้าวัว แยกไส้เดือนฝอยจากรากและวัสดุปลูก ตรวจพบไส้เดือนฝอย *Radopholus* spp. เลี้ยงไส้เดือนฝอยในรากพลูฉลุ และนำไปเลี้ยงเพิ่มปริมาณในแคลลัสของอัลฟัลฟาในสภาพปลอดเชื้อ (Figure 1) ได้ประชากรไส้เดือนฝอย *Radopholus* spp. จากพลูฉลุ 20 ประชากร และหน้าวัว 30 ประชากร (Table 1)

การจำแนกชนิดทางสัณฐานวิทยา

นำไส้เดือนฝอย 50 ประชากรที่ได้มาทำสไลด์ถาวร ศึกษาลักษณะทางสัณฐานเพื่อจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอย *Radopholus* โดยใช้วิธีการจำแนกจาก EPPO PM 7/88 (1) และแนวทางการจำแนกชนิดโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานของ Ryss, 2003 โดยไส้เดือนฝอย *Radopholus similis* มีลักษณะที่สำคัญคือ spermatheca มี rod-like sperm cells อยู่ภายใน spermathecae ทั้ง 2 ข้าง มีขนาดเท่ากัน lobe ของ stylet knobs มีขนาดเท่ากัน ปลายหาง annulated lateral field มี lateral lines 4 เส้น แถบ lateral fields มีขนาดเท่ากัน cephalic region มีลักษณะ dome-shaped มี 3 annuli หรือมากกว่า หางลักษณะ conical lateral field ระหว่าง phasmid และปลายหาง มี lateral lines 3 เส้น (Figure 2) จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานพบว่าไส้เดือนฝอย *Radopholus* ทั้ง 50 ประชากร คือ *Radopholus similis*

การตรวจยืนยันชนิดของไส้เดือนฝอย *R. similis* โดยใช้วิธี PCR

สกัดดีเอ็นเอและตรวจสอบชนิดของไส้เดือนฝอย *Radopholus* ทั้ง 50 ประชากร ด้วยคู่ไพรเมอร์จำเพาะ RsimF /RsimR ได้ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาด 398 bp ยืนยันว่าเป็นไส้เดือนฝอย *Radopholus similis* สอดคล้องกับผลการตรวจสอบทางสัณฐานวิทยา (Figure 3)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เก็บตัวอย่างพลูฉลุ และหน้าวัวมาแยกไส้เดือนฝอยจากรากและวัสดุปลูก ตรวจหาไส้เดือนฝอย *Radopholus* จากตัวอย่างที่แยกได้ เลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยในต้นพลูฉลุที่เตรียมไว้ก่อนนำไปเลี้ยงต่อในแคลลัสของอัลฟัลฟาในสภาพปลอดเชื้อ ได้ประชากรไส้เดือนฝอย *Radopholus* spp. จากพลูฉลุ 20 ประชากร และหน้าวัว 30 ประชากร นำไส้เดือนฝอย 50 ประชากรที่ได้มาทำสไลด์ถาวร ศึกษาลักษณะทางสัณฐานและจำแนกชนิดได้เป็น *Radopholus similis* จากการตรวจยืนยันด้วยคู่ไพรเมอร์จำเพาะ RsimF /RsimR ด้วยวิธี PCR ได้ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาด 398 bp ให้ผลสอดคล้องกับการจำแนกชนิดทางสัณฐานวิทยา นำไส้เดือนฝอย *Radopholus similis* ไปศึกษาในขั้นตอนต่อไป

เอกสารอ้างอิง

Kiewnick, S., J.E. Frey and A. Braun-Kiewnick. 2015. Development and validation of LNA-based quantitative real-time PCR assays for detection and identification of the root-knot nematode *Meloidogyne enterolobii* in complex DNA backgrounds. *Phytopathology* 105: 1245-1249.

Kikuchi, T., T. Aikawa, Y. Oeda, N. Karim and N. Kanzaki. 2009. A rapid and precise diagnostic method for detecting the Pinewood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* by loop-mediated isothermal amplification. *Phytopathology* 99: 1365-1369.

Lin, B. R., H. H. Wang, K. Zhuo and J. L. Liao. 2016. Loop-mediated isothermal amplification for the detection of *Tylenchulus semipenetrans* in soil. *Plant Disease* 100: 877-883.

Loof, P.A.A. 1991. The family Pratylenchidae Thorne, 1949. *In*: Manual of Agricultural Nematology (Ed. Nickle WR), pp. 363–421. Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, Hong Kong.

Niu, J.H., H. Jian, Q.X. Guo, C.L. Chen, X.Y. Wang, Q. Liu and Y.D. Guo. 2012. Evaluation of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assays based on 5S rDNA-IGS2 regions for detecting *Meloidogyne enterolobii*. *Plant Pathology* 61: 809-819.

Peng, H., D.L. Peng, X.Q. Hu, X.F. He, Q. Wang, W.K. Huang and W.T. He. 2012. Loop-mediated isothermal amplification for rapid and precise detection of the burrowing nematode, *Radopholus similis*, directly from diseased plant tissues. *Nematology* 14: 977-986.

Peng, H., H. Long., W. Huang, J. Liu, J. Cui, L. Kong, X. Hu, J. Gu and D. Peng. 2017. Rapid, simple and direct detection of *Meloidogyne hapla* from infected root galls using

loop- mediated isothermal amplification combined with FTA technology. *Scientific Reports* 7: 44853.

Sasser, J.N. and D.W. Freckman. 1987. A world perspective on Nematology: The role of the society. *In*: Vistas on Nematology (Ed. Veech JA & Dickson DW), pp. 7–14. Society of nematologists, Hyattsville (US).

Toyota, K., T. Shirakashi, E. Sato, S. Wada and Y.Y. Min. 2008. Development of a real-time PCR method for the potato-cyst nematode *Globodera rostochiensis* and the root- knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Soil Science and Plant Nutrition* 54: 72-76.

Zhao, Y.L., W.B. Ruan, L. Yu, J.Y. Zhang, J.M. Fu, E.B. Shain, X.T. Huang and J.G. Wang. 2010. Combining max Ratio analysis with real- time PCR and its potential application for the prediction of *Meloidogyne incognita* in field samples. *Journal of Nematology* 42: 166–172.

Zijlstra, C. and R. Van Hoof. 2006. A multiplex real-time polymerase chain reaction (TaqMan) assay for the simultaneous detection of *Meloidogyne chitwoodi* and *M. fallax*. *Phytopathology* 96: 1255-1262.

Table 1 *Radopholus similis* isolates from *Monstera obliqua* and *Anthurium andraeanum*

Isolate	Plant type	Province	Alfalfa callus culture	Permanent slide preparation	Morphology Identification	PCR Identification	Species
RMoPn 01	*Monstera obliqua*	Pathum Thani	✓	✓	✓	✓	***R. similis***
RMoPn 02	*Monstera obliqua*	Pathum Thani	✓	✓	✓	✓	***R. similis***
RMoPn 03	*Monstera obliqua*	Pathum Thani	✓	✓	✓	✓	***R. similis***
RMoPn 04	*Monstera obliqua*	Pathum Thani	✓	✓	✓	✓	***R. similis***
RMoPn 05	*Monstera obliqua*	Pathum Thani	✓	✓	✓	✓	***R. similis***
RMoPn 06	*Monstera obliqua*	Pathum Thani	✓	✓	✓	✓	***R. similis***
RMoPn 07	*Monstera obliqua*	Pathum Thani	✓	✓	✓	✓	***R. similis***
RMoPn 08	*Monstera obliqua*	Pathum Thani	✓	✓	✓	✓	***R. similis***

Table 1 *Radopholus similis* isolates from *Monstera obliqua* and *Anthurium andraeanum* (continued)

Isolate	Plant type	Province	Alfalfa callus culture	Permanent slide preparation	Morphology Identification	PCR Identification	Species
RMoPn 09	*Monstera obliqua*	Pathum Thani	✓	✓	✓	✓	***R. similis***
RMoPn 10	*Monstera obliqua*	Pathum Thani	✓	✓	✓	✓	***R. similis***
RMoPn 11	*Monstera obliqua*	Pathum Thani	✓	✓	✓	✓	***R. similis***
RMoPn 12	*Monstera obliqua*	Pathum Thani	✓	✓	✓	✓	***R. similis***
RMoPn 13	*Monstera obliqua*	Pathum Thani	✓	✓	✓	✓	***R. similis***
RMoPn 14	*Monstera obliqua*	Pathum Thani	✓	✓	✓	✓	***R. similis***
RMoPn 15	*Monstera obliqua*	Pathum Thani	✓	✓	✓	✓	***R. similis***
RMoPn 16	*Monstera obliqua*	Pathum Thani	✓	✓	✓	✓	***R. similis***
RMoPn 17	*Monstera obliqua*	Pathum Thani	✓	✓	✓	✓	***R. similis***
RMoPn 18	*Monstera obliqua*	Pathum Thani	✓	✓	✓	✓	***R. similis***
RMoPn 19	*Monstera obliqua*	Pathum Thani	✓	✓	✓	✓	***R. similis***
RMoPn 20	*Monstera obliqua*	Pathum Thani	✓	✓	✓	✓	***R. similis***
RAaNr 01	*Anthurium andraeanum*	Nonthaburi	✓	✓	✓	✓	***R. similis***
RAaNr 02	*Anthurium andraeanum*	Nonthaburi	✓	✓	✓	✓	***R. similis***
RAaNr03	*Anthurium andraeanum*	Nonthaburi	✓	✓	✓	✓	***R. similis***
RAaNr 04	*Anthurium andraeanum*	Nonthaburi	✓	✓	✓	✓	***R. similis***
RAaNr 05	*Anthurium andraeanum*	Nonthaburi	✓	✓	✓	✓	***R. similis***
RAaNr 06	*Anthurium andraeanum*	Nonthaburi	✓	✓	✓	✓	***R. similis***

Table 1 *Radopholus similis* isolates from *Monstera obliqua* and *Anthurium andraeanum* (continued)

Isolate	Plant type	Province	Alfalfa callus culture	Permanent slide preparation	Morphology Identification	PCR Identification	Species
RAaNr 07	*Anthurium andraeanum*	Nonthaburi	✓	✓	✓	✓	*R. similis*
RAaNr 08	*Anthurium andraeanum*	Nonthaburi	✓	✓	✓	✓	*R. similis*
RAaNr 09	*Anthurium andraeanum*	Nonthaburi	✓	✓	✓	✓	*R. similis*
RAaNr 10	*Anthurium andraeanum*	Nonthaburi	✓	✓	✓	✓	*R. similis*
RAaNr 11	*Anthurium andraeanum*	Nonthaburi	✓	✓	✓	✓	*R. similis*
RAaNr 12	*Anthurium andraeanum*	Nonthaburi	✓	✓	✓	✓	*R. similis*
RAaNr 13	*Anthurium andraeanum*	Nonthaburi	✓	✓	✓	✓	*R. similis*
RAaNr 14	*Anthurium andraeanum*	Nonthaburi	✓	✓	✓	✓	*R. similis*
RAaNr 15	*Anthurium andraeanum*	Nonthaburi	✓	✓	✓	✓	*R. similis*
RAaPb 01	*Anthurium andraeanum*	Nonthaburi	✓	✓	✓	✓	*R. similis*
RAaPb 02	*Anthurium andraeanum*	Nonthaburi	✓	✓	✓	✓	*R. similis*
RAaPb 03	*Anthurium andraeanum*	Nonthaburi	✓	✓	✓	✓	*R. similis*
RAaPb 04	*Anthurium andraeanum*	Nonthaburi	✓	✓	✓	✓	*R. similis*
RAaPb 05	*Anthurium andraeanum*	Nonthaburi	✓	✓	✓	✓	*R. similis*
RAaPb 06	*Anthurium andraeanum*	Nonthaburi	✓	✓	✓	✓	*R. similis*
RAaPb 07	*Anthurium andraeanum*	Nonthaburi	✓	✓	✓	✓	*R. similis*
RAaPb 08	*Anthurium andraeanum*	Nonthaburi	✓	✓	✓	✓	*R. similis*
RAaPb 09	*Anthurium andraeanum*	Nonthaburi	✓	✓	✓	✓	*R. similis*

Table 1 *Radopholus similis* isolates from *Monstera obliqua* and *Anthurium andraeanum* (continued)

Isolate	Plant type	Province	Alfalfa callus culture	Permanent slide preparation	Morphology Identification	PCR Identification	Species
RAaPb 10	*Anthurium andraeanum*	Nonthaburi	✓	✓	✓	✓	***R. similis***
RAaPb 11	*Anthurium andraeanum*	Nonthaburi	✓	✓	✓	✓	***R. similis***
RAaPb 12	*Anthurium andraeanum*	Nonthaburi	✓	✓	✓	✓	***R. similis***
RAaPb 13	*Anthurium andraeanum*	Nonthaburi	✓	✓	✓	✓	***R. similis***
RAaPb 14	*Anthurium andraeanum*	Nonthaburi	✓	✓	✓	✓	***R. similis***
RAaPb 15	*Anthurium andraeanum*	Nonthaburi	✓	✓	✓	✓	***R. similis***

Figure 1 *R. similis* were inoculated on *Monstera obliqua* plants and subsequently cultured on alfalfa root callus

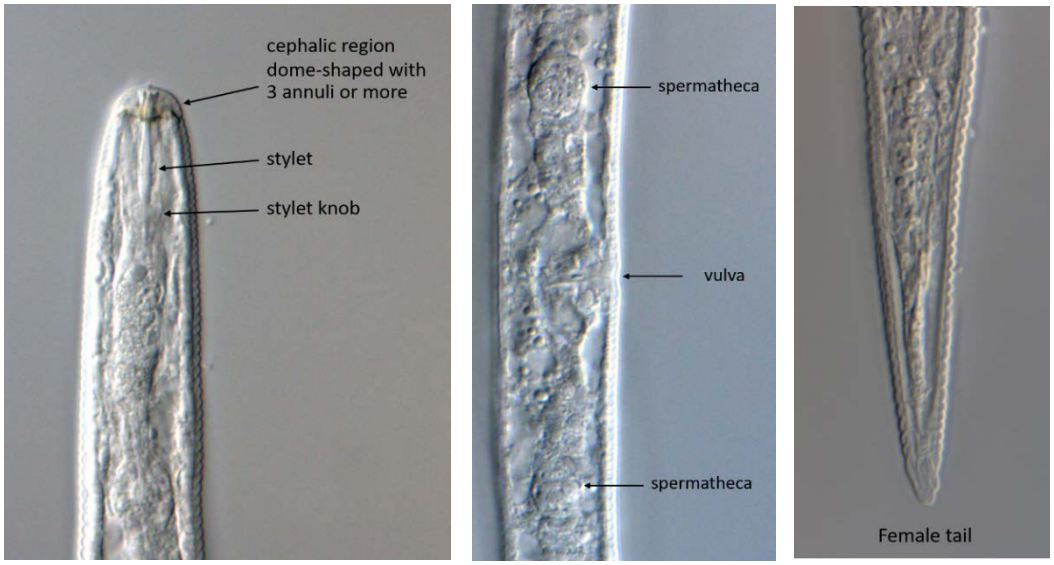


Figure 2 Morphology of *R. similis,* head region, mid body region and tail region

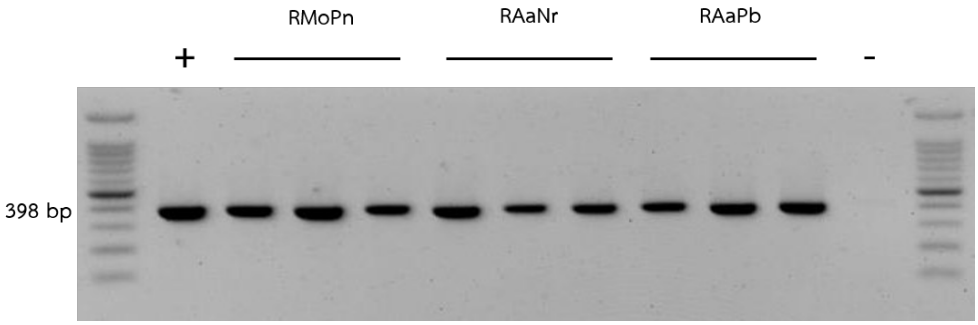


Figure 3 PCR analysis of *R. similis* with specific primers RsimF /RsimR yielded 398 bp product

พัฒนาเทคนิค Polymerase Chain Reaction เพื่อการตรวจวินิจฉัยเชื้อรา *Trichoderma asperellum*

Development Polymerase Chain Reaction Technique for Detection of *Trichoderma asperellum*

ชนินทร ดวงสอาด[1/] มะโนรัตน์ สุดสงวน[1/] วันวิสาข์ เพ็ชรอำไพ[1/]
สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ[1/] อมรรัชฎ์ คิดใจเดียว[1/]
สุทธินี ลิขิตตระกูลรุ่ง[2/]
[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 1

รายงานความก้าวหน้า

รวบรวมและสกัดดีเอ็นเอของเชื้อรา *Trichoderma* ได้จำนวน 40 ไอโซเลท ทำ PCR ตำแหน่ง ITS, *tef1* และ *rpb2* ส่ง sequencing ได้ข้อมูล sequence จำนวน 240 เส้น ทำการตรวจสอบเพื่อยืนยันชนิดเปรียบเทียบกับ type sequence ของเชื้อรา *Trichoderma* นำข้อมูลรหัสพันธุกรรมของเชื้อรากลุ่ม *T. asperellum* complex ที่ได้จะนำมาใช้ในการออกแบบไพร์เมอร์จำเพาะ และดีเอ็นเอของเชื้อรากลุ่ม *T. asperellum* complex รวมทั้งเชื้อรา *Trichoderma* ในกลุ่มอื่นๆ ที่รวบรวมได้ จะนำไปใช้ในการทดสอบไพร์เมอร์จำเพาะที่ทำการออกแบบต่อไป

คำหลัก : *Trichoderma asperellum* การตรวจสอบ

รหัสการทดลอง FF65-55-04-65-02-01-65

คำนำ

เชื้อราหลายสปีชีส์ใน genus *Trichoderma* (Ascomycetes, Hypocreales) มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ โดยเฉพาะทางด้านการเกษตรที่มีการใช้เชื้อรา ใน genus *Trichoderma* เป็นสารชีวภัณฑ์ (biocontrol agent) (de los Santos-Villalobos *et al.*, 2013; Kindermann *et al.*, 1998; Mbarga *et al.*, 2012) อันเนื่องมาจากคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยเชื้อรา *Trichoderma* เป็นเชื้อราที่มีอัตราการเจริญอย่างรวดเร็วเมื่อเทียบกับเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิด จึงทำให้มีประสิทธิภาพในการแย่งใช้สารอาหารและพื้นที่ในการเจริญ รวมถึงยังสามารถใช้สารอาหารและเจริญในเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (mycoparasite) นอกจากนี้ เชื้อรา *Trichoderma* ยังสร้างสารปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิด และสารที่เชื้อรา *Trichoderma* สร้างขึ้นยังส่งผลดีต่อพืช โดยช่วยในการเจริญเติบโต (plant growth) รวมถึงกระตุ้นให้พืชมีความแข็งแรงต่อการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (plant defence responses) ดังนั้นเชื้อรา *Trichoderma* จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ถูกนำมาใช้ในการควบคุมโรคพืช โดยไม่ก่อให้เกิดผลเสียแก่พืช เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม และช่วยลดการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดโรคพืช

Trichoderma asperellum เป็นเชื้อราที่เป็นที่รู้จักใน genus *Trichoderma* และมีการนำมาใช้ในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีอย่างแพร่หลาย ซึ่งมีการส่งเสริมให้ใช้ในการป้องกันกำจัดโรคพืชโดยทั้งทางภาครัฐและเอกชน รวมถึงมีการผลิตในเชิงการค้า การตรวจสอบความถูกต้องของชนิดของเชื้อรา *T. asperellum* จึงมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง หากมีการใช้ชนิดของเชื้อรา *Trichoderma* ไม่ถูกต้องหรือไม่เป็นไปตามวัตถุประสงค์ เช่น เกิดการปนเปื้อน หรือการผสมกันของเชื้อราปฏิปักษ์มากกว่า 1 ชนิด จะส่งผลกระทบต่อผลประสิทธิภาพและความยั่งยืนของการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืช (Druzhinina *et al*., 2010) ในปัจจุบันมีหลายบริษัทมาขอขึ้นทะเบียนชีวภัณฑ์ในเชิงพาณิชย์แต่เนื่องจากลักษณะความแตกต่างทางสัณฐานวิทยาเชื้อราใน genus *Trichoderma* นั้นมีความแตกต่างเพียงเล็กน้อย จึงทำให้ยากต่อการจำแนกในระดับสปีชีส์

ในการจัดจำแนกเชื้อรา *Trichoderma* สามารถทำได้โดยลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Rifai, 1969; Bissett, 1984; Bissett, 1991a-c; Bissett, 1992) เช่น รูปร่างลักษณะและขนาดของ conidia สี ลักษณะผิว conidia (ornamentation) ลักษณะการแตกกิ่งก้าน การฟอร์มเส้นใยแบบ sterile หรือ fertile ความยาวที่ยื่นออกมาจากก้านชูสปอร์ แต่ทั้งนี้ ลักษณะความแตกต่างที่มีการรายงานหรือบันทึกไว้ดังกล่าวสามารถใช้แยกความแตกต่างได้อย่างชัดเจนสำหรับบางสปีชีส์ แต่ไม่สามารถแยกความแตกต่างได้ หรือมีความคลุมเครือระหว่าง strain ของบางสปีชีส์ (Singh *et al*., 2014)

การจัดจำแนกและวิวัฒนาการของเชื้อรา *Trichoderma* โดยใช้ลักษณะทางด้านพันธุกรรม (DNA) มีการศึกษากันมากขึ้น โดยส่วนใหญ่ใช้ตำแหน่ง internal transcribed spacer (ITS) (Dodd *et al*., 2000; Kindermann *et al*., 1998) แต่พบว่าการจำแนกด้วย ITS เพียงหนึ่งตำแหน่งไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างรา *Trichoderma* บางสปีชีส์ได้ เนื่องจากเชื้อรา *Trichoderma* เหล่านั้นมีวิวัฒนาการที่ใกล้เคียงกัน มักจะมีความคล้ายคลึงหรือมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ใกล้เคียง

กันมาก เช่น มีรายงานว่า *T. asperellum* เป็น complex species (มีมากกว่า 1 สปีชีส์ภายใต้ชื่อ *T. asperellum*) และลักษณะทางสัณฐานวิทยา เช่น ลักษณะของ conidia ไม่สามารถใช้อ้างอิง หรือเปรียบเทียบเพื่อจำแนกชนิดได้ แต่เมื่อใช้ลักษณะทางด้านพันธุกรรม (DNA) จำนวน 4 ตำแหน่ง ได้แก่ the Internal Transcribed Spacer (ITS) translation elongation factor 1 (*tef1*) RNA polymerase subunit 2 (*rpb2*) and actin (ACT) ในการจัดจำแนก (Samuels and Ismaiel, 2009) พบว่าเชื้อราชนิดนี้ประกอบไปด้วย *T. asperellum* และ *T. asperelloides* ซึ่งได้รับการบันทึกเป็นอีกสปีชีส์ของเชื้อรา *Trichoderma* (Samuels *et al.*, 2010) นอกจากนี้ยังพบว่า ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของทั้งสองสปีชีส์นี้ มีความใกล้เคียงอย่างมากกับเชื้อรา *T. yunnanense* โดยสามารถแยกความแตกต่างได้โดยเปรียบเทียบข้อมูลของดีเอ็นเอเท่านั้น (Samuels *et al.*, 2010) สำหรับเชื้อรา *T. harzianum* นั้น Chaverri *et al*. (2003) ทำการเปรียบเทียบลักษณะทางด้านพันธุกรรมจาก 4 ตำแหน่ง ได้แก่ ITS tef1 calmodulin และ actin เชื้อรา *Trichoderma* ที่พบในประเทศอินเดียจำนวนหลายไอโซเลทที่จัดจำแนกด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาว่าเป็น *T. viride* แต่เมื่อใช้ข้อมูลของดีเอ็นเอจากตำแหน่ง ITS และ elongation factor พบว่าเชื้อราเหล่านี้คือเชื้อรา *T. asperellum* หรือ *T. asperelloides* (Siram *et al.*, 2013) จากการศึกษาลักษณะของ conidia ของเชื้อรา *T. harzianum* พบว่ามีความใกล้เคียงกับ conidia ของเชื้อรา *T. viride* โดยมีความแตกต่างเพียงเล็กน้อยของลักษณะ ความหนาแน่น และเฉดสีของ conidia อีกทั้ง เชื้อรา *T. viride* ยังมีความใกล้เคียงกับ *T. asperellum* ดังนั้น ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ไม่สามารถใช้อ้างอิงเพื่อจัดจำแนกอย่างชัดเจนได้ (Singh *et al.*, 2014)

ปัจจุบันได้มีความพยายามพัฒนาเทคนิคที่มีความแม่นยำและรวดเร็วเพื่อตรวจสอบชนิดของ *Trichoderma* เช่น การใช้ isozymes การเปรียบเทียบ sequencing ของยีน และ random amplified polymorphic DNA (RAPD) (Zamir and Chet, 1985; Grondona *et al.*, 1997; Miyazaki and Tsunoda, 2003) ทั้งนี้การตรวจสอบโดยใช้เทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR)-based และไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะมีการนำมาใช้ในการตรวจสอบชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคพืชมากขึ้น (Mazzaglia *et al*., 2001; Konstantinova *et al*., 2002) ดังนั้นในกิจกรรมนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อเพื่อพัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อรา *T. asperellum* ที่มีประสิทธิภาพ รวดเร็วและมีความแม่นยำสูง เพื่อนำไปประยุกต์ในการตรวจสอบเชื้อราดังกล่าวในสารชีวภัณฑ์ที่นำมาขึ้นทะเบียนกับกรมวิชาการเกษตร

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. 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

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

3. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ บิกเกอร์ ขวดดูแรน กระบอกตวง ตะเกียงแอลกอฮอล์ plate

4. 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

วิธีการ

1. รวบรวมข้อมูลรหัสพันธุกรรมของเชื้อราในสกุล *Trichoderma* (ปี 2565)

1.1 รวบรวมข้อมูลรหัสพันธุกรรมของเชื้อราในสกุล *Trichoderma* จากพิพิธภัณฑ์โรคพืช และ culture collection ของกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

<u>รวบรวมตัวอย่างและแยกเชื้อให้บริสุทธิ์</u>

แยกเชื้อรา *T. asperellum* ที่ได้จากพิพิธภัณฑ์โรคพืช และ culture collection ของกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชให้บริสุทธิ์ โดยวิธี single spore isolation ย้ายสปอร์เดี่ยวของเชื้อรา *T. asperellum* เลี้ยงลงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ ห้องปฏิบัติการ นาน 7-21 วัน หากไม่มีการปนเปื้อน สามารถดำเนินการสกัดดีเอ็นเอ เชื้อที่เจริญจากสปอร์เดี่ยว จะทำการแยกเลี้ยงบนอาหาร PDA จากนั้นนำเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้ เลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ศึกษาต่อไป

<u>สกัดดีเอ็นเอ</u>

เขี่ยเส้นใยของเชื้อรา *T. asperellum* ที่เลี้ยงบน PDA แล้วย้ายลงในหลอดสำหรับสกัดดีเอ็นเอ เติม glass beads ลงในหลอดแล้วเขย่าด้วย TissueLyser ที่ความถี่ 30 รอบต่อวินาที นาน 3 นาที และทำการสกัดดีเอ็นเอ ตามวิธีของ Meyer *et al.* (2012) และ Doungsa-ard *et al.* (2015) เก็บรักษาดีเอ็นเอไว้ที่อุณหภูมิ -20 หรือ -40 องศาเซลเซียส

<u>Polymerase Chain Reaction (PCR)</u>

นำดีเอ็นเอที่สกัดได้จากแต่ละตัวอย่าง มาทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายตำแหน่ง the Internal Transcribed Spacer (ITS) และ the translation elongation factor 1-alpha (EF-1α) ด้วยวิธี Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยใช้ Taq DNA Polymerase ใช้ cycling และ condition ของปฏิกิริยาตามที่ผู้ผลิตแนะนำ กำหนดใช้ค่า annealing temperature 56 องศาเซลเซียส ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำ PCR โดยตรวจสอบขนาดของชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่

ต้องการด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส ส่งผลิตภัณฑ์ PCR ไปยังบริษัท Macrogen Korea เพื่อทำให้ผลิตภัณฑ์ PCR บริสุทธิ์ และหาลำดับนิวคลีโอไทด์

การวิเคราะห์ และตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์

นำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากการทดลองมาทำการวิเคราะห์ โดยนำ forward sequence และ reverse sequence ที่ได้มาเปรียบเทียบเทียบกัน โดยใช้โปรแกรม Geneious Prime 2020 (Kearse *et al.*, 2012) บันทึกข้อมูลของลำดับนิวคลีโอไทด์ในรูปแบบไฟล์ fasta ทำการตรวจสอบความถูกต้องของชนิดของจุลินทรีย์ที่ทำการศึกษากับฐานข้อมูลทางพันธุกรรม เช่น Mycobank GenBank โดยเลือกวิธีเปรียบเทียบกับ type sequence

1.2 รวบรวมข้อมูลลำดับเบสของเชื้อราในสกุล *Trichoderma* จาก GenBank

รวบรวมข้อมูลลำดับเบสตำแหน่ง ITS และ EF-1α ของเชื้อราใน genus *Trichoderma* โดยเฉพาะกลุ่มของ *T. asperellum* complex ที่มีใน GenBank รวมถึง type sequence เพื่อนำมาเปรียบเทียบกับข้อมูลรหัสพันธุกรรมที่ได้จากข้อ 1.1

1.3 การจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์

นำ contig ของลำดับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง ITS และ EF-1α ที่ได้จากการทดลองและจากการรวบรวมข้อมูลมาจัดเรียงด้วยโปรแกรม MAFFT 6.611 (Katoh and Toh, 2008) จากนั้นตรวจสอบการจัดเรียง (alignment) โดยวิธี MUSCLE ในโปรแกรม MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 (Kumar *et al*., 2016)

2. ออกแบบไพรเมอร์จำเพาะต่อเชื้อรา *T. asperellum* (ปี 2566)

ออกแบบไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อรา *T. asperellum* โดยการพิจารณาชุดข้อมูลของเชื้อราในสกุล *Trichoderma* และ ใช้โปรแกรม GPRIME ในการออกแบบ โดยออกแบบตำแหน่งจับอยู่ภายในยีนตำแหน่ง ITS และ EF-1α

3. ทดสอบไพรเมอร์ (Primers validation) จากพิพิธภัณฑ์โรคพืช และ culture collection ของกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช (ปี 2566)

ทดสอบประสิทธิภาพและความจำเพาะของไพรเมอร์ที่ออกแบบได้กับดีเอ็นเอในฐานข้อมูล เช่น GenBank และทดสอบกับดีเอ็นเอของเชื้อรา *T. asperellum* และเชื้อราในสกุล *Trichoderma* จากพิพิธภัณฑ์โรคพืช และ culture collection ของกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช โดยดำเนินการดังนี้

Polymerase Chain Reaction (PCR)

นำดีเอ็นเอที่สกัดได้จากแต่ละตัวอย่าง มาทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายตำแหน่ง the Internal Transcribed Spacer (ITS) ด้วยไพรเมอร์ ITS1/ITS4 (White *et al.*, 1990) และไพรเมอร์ที่ทำการออกแบบบนตำแหน่ง ITS ตำแหน่ง the translation elongation factor 1-alpha (EF-1α) ด้วยไพรเมอร์ the translation elongation factor 1-alpha (EF1-α) EF1-728F/EF1-

986R (Carbone and Kohn, 1999) EF1-728F (Carbone and Kohn, 1999)/EF-2 (O'Donnell *et al*., 1998) และไพร์เมอรที่ทำการออกแบบบนตำแหน่ง EF-1α ด้วยวิธี Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยใช้ Taq DNA Polymerase ใช้ cycling และ condition ของปฏิกิริยาตามที่ผู้ผลิตแนะนำ กำหนดใช้ค่า annealing temperature 56 องศาเซลเซียส

Nested Polymerase Chain Reaction

นำ PCR product ที่ได้จากการทำ PCR ตำแหน่ง ITS ซึ่งใช้ไพรเมอร์ ITS1/ITS4 และ ตำแหน่ง EF-1α ซึ่งใช้ไพรเมอร์ EF1-728F/EF1-986R และ EF1-728F/EF-2 มาทำ Nested PCR โดยใช้ไพรเมอร์ที่ทำการออกแบบโดยใช้ Taq DNA Polymerase ใช้ cycling และ condition ของปฏิกิริยาตามที่ผู้ผลิตแนะนำ กำหนดใช้ค่า annealing temperature 56 องศาเซลเซียส ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำ PCR โดยตรวจสอบขนาดของชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่ต้องการด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส ส่งผลิตภัณฑ์ PCR ไปยังบริษัท Macrogen Korea เพื่อทำให้ผลิตภัณฑ์ PCR บริสุทธิ์ และหาลำดับนิวคลีโอไทด์

4. ตรวจสอบความถูกต้องของชนิดของเชื้อรา *Trichoderma* ที่ไพรเมอร์จำเพาะตรวจจับได้ (ปี 2567)

นำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวอย่างจาก clean culture ที่ทำปฏิกริยากับไพรเมอร์ที่มีความเฉพาะเจาะจงกับเชื้อรา *T. asperellum* มาทำการวิเคราะห์ โดยนำ forward sequence และ reverse sequence ที่ได้มาเปรียบเทียบเทียบกัน โดยใช้โปรแกรม Geneious Prime 2020 (Kearse *et al.*, 2012) จะบันทึกข้อมูลของลำดับนิวคลีโอไทด์ในรูปแบบไฟล์ fasta ทำการตรวจสอบชนิด โดยวิธี phylogenetic reconstruction ของ combined dataset ที่ได้จากตำแหน่ง ITS และ tef1 ด้วยเกณฑ์ Maximum Likelihood (ML) โดยเตรียมไฟล์ .phy ใช้โปรแกรม RAxML v8.1.15 (Stamatakis, 2014) ในการวิเคราะห์ กำหนดค่า model of evolution แบบ GTRGAMMA วิเคราะห์ด้วย rapid bootstrap (command –f a) เริ่มวิเคราะห์จาก random starting tree และกำหนดค่า 1000 ซ้ำ สำหรับ maximum likelihood bootstrap วิเคราะห์ผลเพื่อตรวจสอบชนิดที่ถูกต้องที่ไพรเมอร์จำเพาะตรวจจับได้

การบันทึกข้อมูล

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

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2564 – กันยายน 2565

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

รวบรวมข้อมูลรหัสพันธุกรรมของเชื้อราในสกุล *Trichoderma*

ดำเนินการรวบรวมและสกัดดีเอ็นเอของเชื้อรา *Trichoderma* ได้จำนวน 40 ไอโซเลท ทำ PCR ตำแหน่ง ITS, *tef1* และ *rpb2* ส่ง sequencing ได้ข้อมูล sequence จำนวน 240 เส้น ได้ตรวจสอบเพื่อยืนยันชนิดเปรียบเทียบกับ type sequence ของเชื้อรา *Trichoderma* และคัดเลือกลำดับเบสของเชื้อรากลุ่ม *T. asperellum* complex เพื่อนำข้อมูลรหัสพันธุกรรมที่ได้มาใช้ในการออกแบบไพร์เมอร์จำเพาะ และดีเอ็นเอของเชื้อรากลุ่ม *T. asperellum* complex และเชื้อรา *Trichoderma* ในกลุ่มอื่นๆ ที่รวบรวมได้ จะนำไปใช้ในการทดสอบไพร์เมอร์จำเพาะที่ทำการออกแบบต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการศึกษาเพื่อพัฒนาเทคนิค Polymerase Chain Reaction เพื่อการตรวจวินิจฉัยเชื้อรา *Trichoderma asperellum* พบว่าเชื้อรานี้จัดอยู่ในกลุ่มที่มีความซับซ้อน หรืออยู่ในกลุ่มของ *T. asperellum* complex ซึ่งมีรายงานเชื้อราชนิดใหม่เพิ่มเติมในกลุ่มนี้ และมีความสัมพันธ์ที่ใกล้เคียงกับ *T. asperellum* มาก ซึ่งอาจส่งผลต่อขั้นตอนการออกแบบไพร์เมอร์ โดยไพร์เมอร์ที่ได้อาจมีความจำเพาะต่อเชื้อรา *T. asperellum* ในระดับ complex อย่างไรก็ตามต้องพิจารณาจากการออกแบบโดยใช้ตำแหน่งอื่นเพิ่มเติมโดยจะทดสอบจากข้อมูลรหัสพันธุกรรมที่ใช้ในการจำแนกชนิดของเชื้อรา *Trichoderma* ต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ดร. ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล ผู้เชี่ยวชาญด้านโรคพืช ที่ให้คำแนะนำในการทดลอง ขอขอบคุณ ดร.พรพิมล อธิปัญญาคม คุณศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช อดีตผู้เชี่ยวชาญด้านโรคพืช สมาชิก เพื่อน พี่น้อง ในกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช ที่ให้ความร่วมมือ และช่วยเหลือในการดำเนินการทดลอง และการเก็บข้อมูล รวมถึงกำลังใจที่มีให้กันเสมอมา

เอกสารอ้างอิง

Bissett, J. 1984. A revision of the genus *Trichoderma*. I. Section *Longibrachiatum* sect. nov. *Canadian Journal of Botany* 62: 924-931.

Bissett, J. 1991a. A revision of the genus *Trichoderma*. II. Infrageneric classification. *Canadian Journal of Botany* 69: 2357-2372.

Bissett, J. 1991b. A revision of the genus *Trichoderma*. III. Section *Pachybasium*. *Canadian Journal of Botany* 69: 2373-2417.

Bissett, J. 1991c. A revision of the genus *Trichoderma*. IV. Additional notes on section *Longibrachiatum*. *Canadian Journal of Botany* 69: 2418-2420.

Bissett, J. 1992. *Trichoderma atroviride*. *Canadian Journal of Botany* 70: 639-641.

Carbone, I. and L.M. Kohn. 1999. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. *Mycologia* 91: 553-556.

Chaverri, P., L.A. Castlebury, G.J. Samuels and D.M. Geiser. 2003. Multilocus phylogenetic structure within the *Trichoderma harzianum/Hypocrea lixii* complex. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 27: 302-313.

De los Santos-Villalobos, S., D.A. Guzmán-Ortiz, M.A. Gómez-Lim, J.P. Délano-Frier, S. de-Folter, P. Sánchez-García and J.J. Peña-Cabriales. 2013. Potential use of *Trichoderma asperellum* (Samuels, Liechfeldt et Nirenberg) T8a as a biological control agent against anthracnose in mango (*Mangifera indica* L.). *Biological Control* 64: 37-44.

Dodd, S.L., R.N. Crowhurst, A.G. Rodrigo, G.J. Samuels, R.A. Hill and A. Stewart. 2000. Examination of *Trichoderma* phylogenies derived from ribosomal DNA sequence data. *Mycological Research* 104**:** 23-34.

Doungsa-ard, C., A.R. McTaggart, A.D.W. Geering, T.U. Dalisay, J. Ray and R.G. Shivas. 2015. *Uromycladium falcatarium* sp. nov., the cause of gall rust on *Paraserianthes falcataria* in south-east Asia. *Australasian Plant Pathology* 44:25-30.

Druzhinina, I.S., C.P. Kubicek, M. Komon-Zelazowska, T.B. Mulaw and J. Bissett. 2010. The *Trichoderma harzianum* demon: complex speciation history resulting in coexistence of hypothetical biological species, recent agamospecies and numerous relict lineages. *BMC evolutionary biology* 10: 1-14.

Grondona, R., R. Hermosa, M. Tejada, M.D. Gomis, P.D. Bridge, E. Monte and I. Garcia-Acha. 1997. Physiological and biochemical characterization of *Trichoderma harzianum*, a biological control agent against soilborne fungal plant pathogens. *Applied Environmental Microbiology* 63:3189–3198.

Fujiimori, F. and T. Okuda. 1994. Application of the random amplified polymorphic DNA using the polymerase chain reaction for efficient elimination of duplicate strains in microbial screening. I. Fungi. *Journal of antibiotics* 47: 173-182.

Katoh, K. and H. Toh. 2008. Recent developments in the MAFFT multiple sequence alignment program. *Briefings in Bioinformatics* 9: 286-298.

Kearse, M., R. Moir, A. Wilson, S. Stones-Havas, M. Cheung, S. Sturrock, S. Buxton, A. Cooper, S. Markowitz, C. Duran, T. Thierer, B. Ashton, P. Mentjies 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.

Kindermann, J., Y. El-Ayouti, G.J. Samuels and C.P. Kubicek. 1998. Phylogeny of the genus *Trichoderma* based on sequence analysis of the Internal Transcribed Spacer region 1 of the rDNA cluster. *Fungal Genetics and Biology* 24**:** 298-309.

Konstantinova, P., P. Bonants, M. Gent-Pelzer, P. Zouwen and R. Bulk. 2002. Development of specific primers for detection and identification of *Alternaria* spp. in carrot material by PCR and comparison with blotter and plating assay. *Mycological Research* 106:23–33.

Kumar, S., G. Stecher and K. Tamura. 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution* 33: 1870-1874. doi: 10.1093/molbev/msw054.

Liu, K.L., A. Porras-Alfaro, C.R. Kuske, S.A. Eichorst and G. Xie. 2012. Accurate, rapid taxonomic classification of fungal large-subunit rRNA genes. *Applied and Environmental Microbiology* 78: 1523-1533.

Mazzaglia, A., N. Anselmi, A. Gasbarri and A. Vannini. 2001. Development of a polymerase chain reaction (PCR) assay for the specific detection of *Biscogniauxia mediterranea* living as an endophyte in oak tissues. *Mycological Research* 105:952–956.

Mbarga, J.B., G.M. Ten Hoopen, J. Kuaté, A. Adiobo, M.E.L. Ngonkeu, Z. Ambang, A. Akoa, P.R. Tondje and B.A.D. Begoude. 2012. *Trichoderma asperellum*: A potential biocontrol agent for *Pythium myriotylum*, causal agent of cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium*) root rot disease in Cameroon. *Crop Protection* 36: 18-22.

Miyazaki, K and M. Tsunoda. 2003. Application of DNA markers to research on *Trichoderma* in mushroom facilities of Japan (1): RAPD, SSCP marker. *Mushroom Science Biotechnology* 11:65–70.

Muthumeenakshi, S., P.R. Mills, A.E. Brownd and D.A. Seaby. 1994. Intraspecific molecular variation among *Trichoderma harzianum* isolates colonizing mushroom compost in the British Isles. *Microbiology* 140: 769-777.

Nylander, J.A., J.C. Wilgenbusch, D.L. Warren and D.L. Swofford. 2008. AWTY (are we there yet?): a system for graphical exploration of MCMC convergence in Bayesian phylogenetics. *Bioinformatics* 24: 581-583.

Rifai, M.A. 1969. A revision of the genus *Trichoderma*. *Mycological Papers* 116: 1-116.

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

Samuels, G.J., A. Ismaiel, M. Bon, S.D. Respinis, and O. Petrini. 2010. *Trichoderma asperellum* sensu lato consists of two cryptic species. *Mycologia* 102: 944-966.

Singh, A., M. Shahid and M. Srivastava. 2014. Phylogenetic relationship of *Trichoderma asperellum Tasp*/8940 using Internal Transcribed Spacer (ITS) sequences. *International Journal of Advanced Research* 2: 979-986.

Sriram, S., M.J. Savitha, H.S. Rohini and S.K. Jalali. 2013. The most widely used fungal antagonist for plant disease management in India, *Trichoderma viride* is *Trichoderma asperellum* as confirmed by oligonucleotide barcode and morphological characters. *Current Science* 104: 1332-1340.

Stamatakis, A. 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30: 1312-1313.

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.

White, T.J., T. Bruns, S. Lee and J. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics, pp. 315-322. *In* : M. Innis, D. Gelfand, J. Shinsky and T. White, eds. *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, Academic Press.

Zamir, D. and I. Chet. 1985. Application of enzyme electrophoresis for the identification of isolates in *Trichoderma harzianum*. *Canadian Journal Microbiology* 31:578–580.

Zimand, G., L. Valinsky, Y. Elad, I. Chet and S. Manulis. 1994. Use of the RAPD procedure for the identification of *Trichoderma* strains. *Mycological Research* 98: 531-534.

การพัฒนาเทคนิคสำหรับตรวจสอบเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ด้วยไพรเมอร์จำเพาะ

Detection Techniques for *Metarhizium anisopliae* with Specific Primer

ทิภาพร นวลเนตร เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ ภัททิรา ศาตร์วงษ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การพัฒนาเทคนิคสำหรับตรวจสอบเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ด้วยไพรเมอร์จำเพาะ ดำเนินการระหว่างปี 2565-2567 ระหว่างเดือนตุลาคม 2564-กันยายน 2567 โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบชนิดของเชื้อรา *M. anisopliae* ด้วยไพรเมอร์จำเพาะ ให้มีความถูกต้อง แม่นยำ และรวดเร็ว เริ่มศึกษาในปี 2565 ณ ห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคพืชระดับโมเลกุล ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน โดยจากการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอในตำแหน่ง ITS, 28S rDNA (LSU) และ RPB2 ของเชื้อรา *Metarhizium* จำนวน 30 ไอโซเลท พบว่าชิ้นส่วนดีเอ็นเอในตำแหน่ง ITS, 28S rDNA (LSU) และ RPB2 มีขนาดประมาณ 600, 600 และ 1,200 คู่เบส (base pair) เมื่อนำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อรา *Metarhizium* มาเปรียบเทียบกับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูล GenBank จัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ (multiple alignment) และวิเคราะห์ข้อมูลของการจัดกลุ่มด้วยโปรแกรม MrBayes v. 3.2.7a พบว่าเชื้อรา *Metarhizium* จัดกลุ่มอยู่ร่วมกับเชื้อรา *M. majus* จากฐานข้อมูล GenBank ได้แก่ ไอโซเลท M7 และ M165 และเชื้อรา *Metarhizium* ไอโซเลท M1, M3, M5, M6, M8, M9, M10, M12, M14, M15, M16, M26, M32, M33, M35, M37, M39, M42, M51, M52, M53, M54, M56, M59, M61, M62, M63, M73, M75, M80 และ M115 จัดกลุ่มอยู่ร่วมกับเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* species complex ซึ่งจากข้อมูลที่ได้นี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อใช้ในการออกแบบไพรเมอร์ในขั้นตอนถัดไป

คำหลัก : เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไพรเมอร์จำเพาะ

รหัสการทดลอง FF65-55-04-65-02-02-65

คำนำ

ในปัจจุบันมีการนำข้อมูลทางพันธุกรรม (Genetic data) หรือข้อมูลชีวสารสนเทศน์ (Bioinformatics) มาใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะทางด้านกีฏวิทยา โรคพืช เชื้อสาเหตุโรคพืช เชื้อสาเหตุโรคแมลง ในส่วนที่เกี่ยวข้องกับวิวัฒนาการของเชื้อ ความหลากหลายทางพันธุกรรม ความแปรปรวนของเชื้อสาเหตุโรค หรือใช้สำหรับการจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุโรค เนื่องจากมีข้อจำกัดจากการใช้ลักษณะอื่นๆ เช่น ลักษณะทางสัณฐานทางวิทยา เป็นต้น การวิเคราะห์ลำดับเบส หรือลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง เป็นวิธีการศึกษาเมื่อมีการพัฒนาการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอของสิ่งมีชีวิตในห้องปฏิบัติการ คือเทคนิค PCR (Polymerase Chain Reaction) การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง เป็นวิธีการหนึ่งที่ให้ข้อมูลสนับสนุนการศึกษาจากข้อมูลพื้นฐาน ช่วยให้การจำแนกมีความถูกต้องและความแม่นยำยิ่งขึ้น เนื่องจากเป็นการตรวจสอบจากสารพันธุกรรมหรือจีโนไทป์ของเชื้อโดยตรง โดยชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่นิยมนำมาศึกษาและวิเคราะห์ในเชื้อรา ได้แก่ ribosomal DNA (rDNA) gene cluster ซึ่งมีการแบ่งออกเป็นหลายๆ ส่วน ซึ่งขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ว่าจะเลือกส่วนใดมาวิเคราะห์ เช่น ส่วนที่อยู่ระหว่างยีนที่เรียกว่า Internal transcribed spacer (ITS) แบ่งเป็นส่วน ITS1 และ ITS2 ซึ่งคั่นด้วยส่วน 5.8S ส่วน ITS นั้น เป็นส่วนที่เรียกว่าส่วนผันแปร (variable region) เนื่องจากเกิดความผันแปรหรือเปลี่ยนแปลงได้เร็วกว่าส่วนอื่นๆ โดยเฉพาะเมื่อมีการเกิดความผันแปรระดับสปีชีส์ขึ้นมา ส่วนนี้จะมีการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสหรือมีเบสที่แตกต่างออกไป ดังนั้น ส่วนนี้จึงเหมาะสำหรับการศึกษาความสัมพันธ์หรือจำแนกในระดับที่ต่ำกว่าจีนัสหรือสปีชีส์ (Lee Young-Mi *et al*., 2000) สำหรับส่วนอื่นๆ เช่น Large subunit (28S), Small subunit (18S) และ 5.8S นั้นจัดเป็นส่วนอนุรักษ์ (conserve region) ซึ่งเหมาะสำหรับการจัดจำแนกเชื้อราในระดับจีนัสขึ้นไป เนื่องจากถ้าใช้วิเคราะห์ในระดับจีนัสเดียวกันหรือสปีชีส์เดียวกันอาจจะไม่มีความแตกต่างกันในส่วนนี้

ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อจัดจำแนกชนิดของเชื้อรา *Metarhizium* โดยใช้ข้อมูลลักษณะทางสัณฐานทางวิทยา และการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ และนำข้อมูลไปใช้ในการออกแบบไพรเมอร์จำเพาะ เพื่อตรวจสอบชนิดของเชื้อรา *M. anisopliae* ให้มีความถูกต้องแม่นยำ และรวดเร็วยิ่งขึ้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. Potato Dextrose Broth (PDB) และ Potato Dextrose Agar (PDA)
2. NaCl
3. EDTA
4. RnaseA
5. Agarose

6. 100 base pair plush และ HindIII

7. NL1 primer/NL4 primer, ITS1 primer/ITS5 primer และ RPB2-5F3 primer/RPB2-7Cr2 primer

8. Taq DNA polymerase

9. Tris base

10. Gel star

11. Chloroform

12. Isoamyl alcohol

13. Microspin S-400 HR column

วิธีปฏิบัติการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1 รวบรวมข้อมูลรหัสพันธุกรรมของเชื้อราในสกุล *Metarhizium* (ปี 2565)

1.1 การจำแนกชนิดของเชื้อรา *Metarhizium* ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

นำเชื้อรา *Metarhizium* ที่เก็บรวมรวมจากห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่ได้ทำการแยกสปอร์เดี่ยวแล้วมาจำแนกชนิด โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้แก่ ลักษณะก้านชูโคนิเดีย (Conidiophores) ลักษณะโคนิเดีย (Conidia) ได้แก่ สี รูปร่าง ขนาด จำนวนโคนิเดีย

1.2 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS (internal transcribed spacer) ribosomal DNA, LSU (28S rDNA) และ RPB2 (Second largest subunit of RNA polymerase II)

การเตรียมเส้นใยเชื้อรา (Fungal mycelia preparation)

เตรียมสปอร์แขวนลอย (spore suspension) โดยเติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อลงบนผิวหน้าอาหารที่มีเชื้อราเจริญอยู่ แล้วขูดผิวหน้าด้วยแท่งแก้วรูปตัวแอล ดูดสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา ใส่ในอาหารเหลว potato dextrose broth (PDB) ที่บรรจุอยู่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มไว้พร้อมเขย่าเป็นเวลา 6-8 ชั่วโมง ทำการกรองเส้นใยด้วยเครื่อง vacuum pump และล้างเส้นใยด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 300 มิลลิลิตร เก็บเส้นใยที่กรองได้ในแผ่นกระดาษกรอง Whatman No.1 นำไปทำให้แห้งด้วยวิธี freeze dry (lyophilization) เป็นเวลา 14-18 ชั่วโมง และเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส (จินตนา, 2562)

การสกัดดีเอ็นเอ (DNA extraction) ดัดแปลงจาก Zimand *et al*. (1994)

สกัดดีเอ็นเอเชื้อราด้วยวิธี Phenol chloroform method

การเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ ITS, 28S rDNA (LSU) และ RPB2 ด้วยเทคนิค PCR

เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ ITS rDNA ของเชื้อรา *Metarhizium* ด้วยไพรเมอร์ 2 ชนิด คือ ITS1 (5’-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3’) และ ITS5 (5′- GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG -3′) ตามรายงานของ White *et al*. (1990)

เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ 28S rDNA (LSU) ด้วยไพรเมอร์ NL1 (5′-GCATATCAATA AGCGGAGGAAAAG-3′) และ NL4 (5′-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3′) ตามรายงานของ Kurtzman *et al.* (1997)

เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ Second largest subunit of RNA polymerase II (RPB2) ด้วยไพรเมอร์ RPB2-5F3 (5′-GACGACCGTGATCACTTTGG-3′) และ RPB2-7Cr2 (5′-CCCAT GGCCTGTTTGCCCAT-3′) ตามรายงานของ Liu *et al*. (1999) และ O'Donnell *et* al. (2007)

จากนั้นนำ PCR product ทั้งสองส่วนที่ทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ มาตรวจสอบด้วย 1% agarose gel electrophoresis จากนั้นทำ PCR product ให้บริสุทธิ์ด้วย Microspin S-400 HR columm และส่งวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

1.3 รวบรวมข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราในสกุล *Metarhizium* จาก GenBank

รวบรวมข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง ITS, 28S rDNA (LSU) และ RPB2 ของเชื้อราใน genus *Metarhizium* ที่มีใน GenBank เพื่อนำมาเปรียบเทียบกับข้อมูลรหัสพันธุกรรมที่ได้จากข้อ 1.2 นำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง ITS, 28S rDNA (LSU) และ RPB2 ที่ได้จากการทดลอง และการรวบรวมข้อมูลจากฐานข้อมูลมาทำ Multiple alignment ด้วยวิธี Clustal W (Larkin *et al*., 2007) ด้วยโปรแกรมชุดคอมพิวเตอร์ MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 (Kumar *et al*., 2016)

ระยะเวลาดำเนินการ : ตุลาคม 2564 - กันยายน 2565

สถานที่ดำเนินการ

1. ห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร
2. ห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคพืชระดับโมเลกุล ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

ขั้นตอนที่ 2 ออกแบบไพรเมอร์จำเพาะต่อเชื้อรา *Metarhizium* (ปี 2566)

ออกแบบไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อรา *M. anisopliae* โดยการพิจารณาชุดข้อมูลของเชื้อราในสกุล *Metarhizium* และ ใช้โปรแกรม GPRIME หรือ Primer3 ในการออกแบบ โดยออกแบบตำแหน่งจับอยู่ภายในยีนตำแหน่ง ITS, 28S rDNA (LSU) และ RPB2

ขั้นตอนที่ 3 การตรวจสอบความถูกต้องของชนิดของเชื้อรา *M. anisopliae* ด้วยไพรเมอร์จำเพาะ (ปี 2567)

นำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวอย่างที่ทำปฏิกริยากับไพรเมอร์ที่มีความเฉพาะเจาะจงกับเชื้อรา *M. anisopliae* มาทำการวิเคราะห์

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1 รวบรวมข้อมูลรหัสพันธุกรรมของเชื้อราในสกุล *Metarhizium*

โดยทำการจำแนกชนิดของเชื้อรา *Metarhizium* ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Figure 1) ร่วมกับการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ ซึ่งจากการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอในตำแหน่ง ITS, 28S rDNA (LSU) และ RPB2 ของเชื้อรา *Metarhizium* จำนวน 30 ไอโซเลต พบว่าชิ้นส่วนดีเอ็นเอ

ในตำแหน่ง ITS, 28S rDNA (LSU) และ RPB2 มีขนาดประมาณ 600, 600 และ 1,200 คู่เบส (base pair) เมื่อนำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อรา *Metarhizium* มาเปรียบเทียบกับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูล GenBank จัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ (multiple alignment) และวิเคราะห์ข้อมูลของการจัดกลุ่ม ด้วยโปรแกรม MrBayes v. 3.2.7a (Ronquist *et al*., 2012) พบว่าเชื้อรา *Metarhizium* จัดกลุ่มอยู่ร่วมกับเชื้อรา *M. majus* จากฐานข้อมูล GenBank ได้แก่ ไอโซเลท M7 และ M165 และเชื้อรา *Metarhizium* ไอโซเลท M1, M3, M5, M6, M8, M9, M10, M12, M14, M15, M16, M26, M32, M33, M35, M37, M39, M42, M51, M52, M53, M54, M56, M59, M61, M62, M63, M73, M75, M80 และ M115 จัดกลุ่มอยู่ร่วมกับเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* species complex ซึ่งประกอบด้วย *M. acridum, M. alvesii, M. anisopliae, M. baoshanense, M. brachyspermum, M. brittlebankisoides, M. brunneum, M. campsosterni, M. clavatum, M. globosum, M. guizhouense, M. humberi, M. indigoticum, M. majus, M. lepidiotae, M. kalasinense, M. pingshaense, M. robertsii, M. phasmatodeae, M. gryllidicola* และ *M. sulphureum* (Figure 2) ซึ่งการศึกษาของ (Mongkolsamrit *et al*., 2020) ทำการจัดจำแนกชนิดของเชื้อรา *Metarhizium* โดยใช้ชิ้นส่วนดีเอ็นเอในตำแหน่ง ITS, SSU, LSU, RPB1, RPB2, tef1-α พบว่าเป็นเชื้อรา *M. clavatum* และ *M. sulphureum* ซึ่งอยู่ในกลุ่ม *Metarhizium anisopliae* species complex

Bischoff *et al*., 2009 พบว่าเชื้อรา *M. anisopliae* complex มีความคล้ายคลึงกันมาก จึงทำการจัดจำแนกเชื้อรา *M. anisopliae* complex โดยใช้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ TEF-1α, RPB1, RPB2 และ β-tubulin (multigen) ร่วมกับข้อมูลทางสัณฐานวิทยา ซึ่งจัดจำแนกเป็น *M. anisopliae*, *M. guizhouense*, *M. pingshaense*, *M. acridum*., *M. lepidiotae* และ *M. majus*

Kepler *et al*., 2014 ศึกษาลักษณะของเชื้อรา *Metarhizium* โดยศึกษาข้อมูลทางสัณฐานวิทยา ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ ITS, APN2, β-tubulin, RPB1, RPB2 และ TEF พบว่าเชื้อรา *Metarhizium* จัดอยู่ในกลุ่ม *Metacordyceps* เช่นเดียวกับ *Nomuraea* ซึ่งมีการสร้างสปอร์สีเขียว และพบว่าเชื้อรา *M. anisopliae* และ *M. flavoviride* species complexes มีความคล้ายคลึงกัน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอในตำแหน่ง ITS, 28S rDNA (LSU) และ RPB2 ของเชื้อรา *Metarhizium* จำนวน 30 ไอโซเลต พบว่าชิ้นส่วนดีเอ็นเอในตำแหน่ง ITS, 28S rDNA (LSU) และ RPB2 มีขนาดประมาณ 600, 600 และ 1,200 คู่เบส (base pair) เมื่อนำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อรา *Metarhizium* มาเปรียบเทียบกับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูล GenBank จัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ (multiple alignment) และวิเคราะห์ข้อมูลของการจัดกลุ่ม ด้วยโปรแกรม MrBayes v. 3.2.7a (Ronquist *et al*., 2012) พบว่าเชื้อรา *Metarhizium* จัดกลุ่มอยู่ร่วมกับเชื้อรา

M. majus จากฐานข้อมูล GenBank และจัดกลุ่มอยู่ร่วมกับเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* species complex ซึ่งควรศึกษาเพิ่มเติมในตำแหน่งชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะกับเชื้อรา *M. anisopliae* เพื่อให้สามารถระบุชนิดของเชื้อราในกลุ่ม *Metarhizium anisopliae* species complex ได้

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ และอุปกรณ์ในการปฏิบัติงาน ขอขอบคุณคณะทำงานกลุ่มวิจัยโรคพืชและกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักพืช ทุกท่านที่ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

จินตนา อันอาตม์งาม. 2562. เทคนิควิจัยเชื้อราสาเหตุโรคพืช. นครปฐม: ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.

Bischoff, J.F., S.A. Rehner and R.A. Humber. 2009. A multilocus phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* lineage. Mycologia. 101(4): 512-530.

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*. 106(4): 811-829.

Kumar, S., G. Stecher and K. Tamura. 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution.* 33: 1870-1874.

Kurtzman, C.P. and C.J. Robnett. 1997. Identification of clinically important ascomycetous yeasts based on nucleotide divergence in the 5′ end of the large-subunit (26S) ribosomal DNA gene. *J. Clin. Microbiol*. 35: 1216-1223.

Larkin, M.A., G. Blackshields, N.P. Brown, R. Chenna, P.A. McGettigan, H. McWilliam, F. Valentin, I.M. Wallace, A. Wilm, R. Lopez, J.D. Thompson, T.J. Gibson and D.G. Higgins. 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*. 23(21): 2947-2948.

Lee Y.M., Y.K. Choi, By.R. Min. 2000. PCR-RFLP and sequence analysis of the rDNA ITS region in the *Fusarium* spp. *J Microbiol*. 38: 66-73.

Liu Y.J., S. Whelen and B.D. Hall. 1999. Phylogenetic relationships among ascomycetes: evidence from an RNA polymerase II subunit. *Molecular Biology and Evolution*. 16: 1799-1808.

Mongkolsamrit, S., A. Khonsanit, D. Thanakitpipattana, K. Tasanathai, W. Noisripoom, S. Lamlertthon, W. Himaman, J. Houbraken, R.A. Samson and J. Luangsa-Ard. 2020. Revisiting *Metarhizium* and the description of new species from Thailand. *Studies in Mycology*. 95(1): 171-251.

O'Donnell K., B.A. Sarver, M. Brandt, D.C. Chang, J. Noble-Wang, B.J. Park, D.A. Sutton, L. Benjamin, M. Lindsley, A. Padhye, D.M. Geiser and T.J. Ward. 2007. Phylogenetic diversity and microsphere array-based genotyping of human pathogenic Fusaria, including isolates from the multistate contact lens-associated U.S. keratitis outbreaks of 2005 and 2006. *Journal of Clinical Microbiology.* 45: 2235-2248.

Ronquist F, M. Teslenko, P. Van Der Mark, D.L. Ayres, A. Darling, S. Hohna, B. Larget, L. Liu, Marc A. Suchard and J.P. Huelsenbeck. 2012. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systems Biology*. 61: 539-542.

White, T.J., T. Bruns, S. Lee and J. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *In* "PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications" (M. Innis, D. Gelfand, J. Shinsky and T. White, eds.), *Academic Press*. 315-322 pp.

Zimand, G., L. Valinsky, Y. Elad, I. Chet and S. Manulis. 1994. Use of the RAPD procedure for the identification of *Trichoderma* strains. *Mycological Research* 98(5): 531-534.

Figure 1 Cultural and morphological characteristics of *Metarhizium* species after 14 days in PDA (A-Y). The Conidial shape and size under a compound microscope at 40X magnification (A-Y)

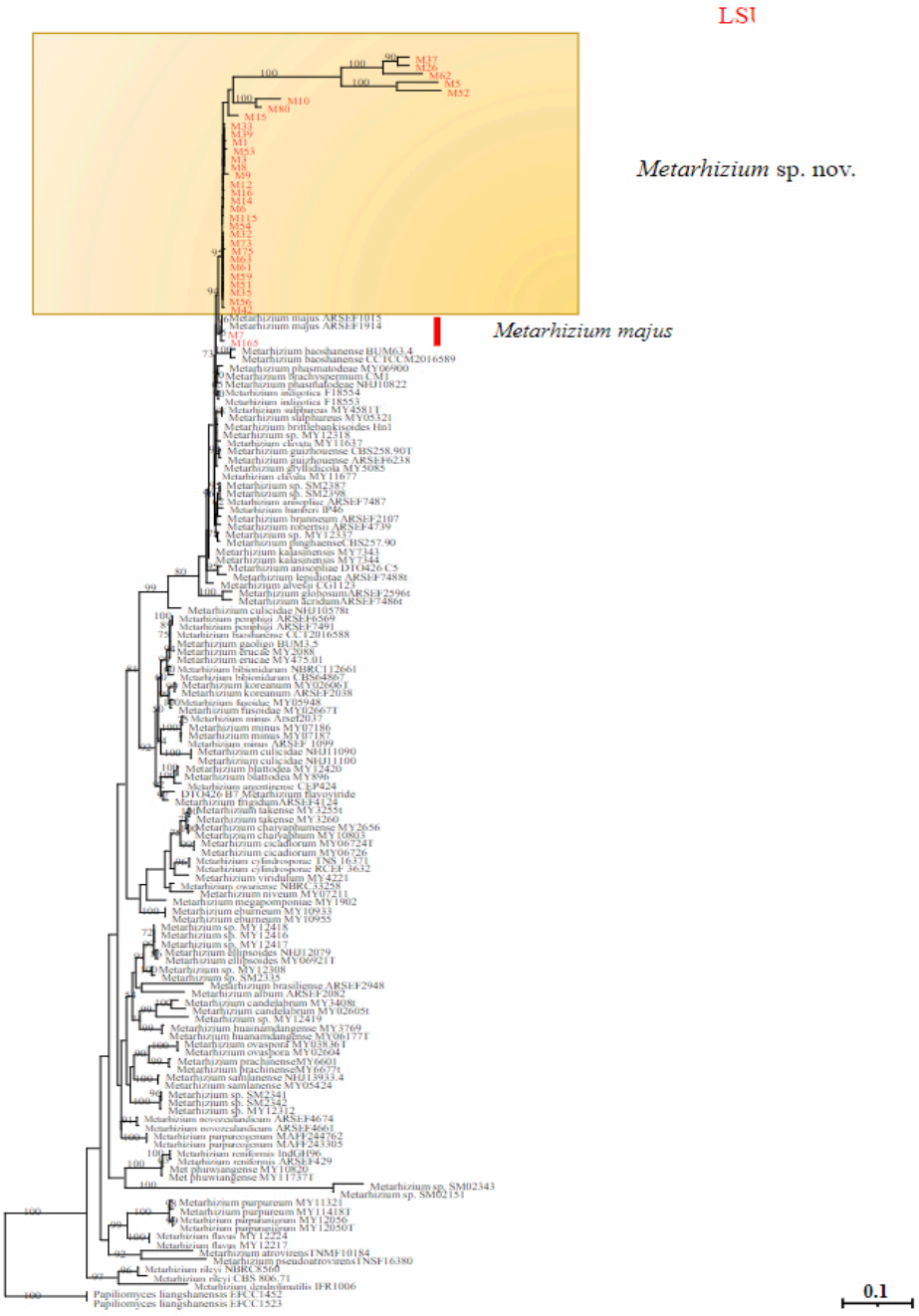


Figure 2 Phylogenetic reconstruction of *Metarhizium* and related genera in the Clavicipitaceae obtained from the combined ITS, 28S rDNA (LSU) and RPB2 sequences based on Bayesian analysis.

วิจัยและพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะละกอแขกดำเพื่อการส่งออก

Research and Development of Modified Vapor Heat Treatment for Papaya (Khak Dam) infested with *Bactrocera dorsalis* (Hendel) for Export

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ ปวีณา บูชาเทียน ศิริพร คงทวี พุฒิพงษ์ เพ็งฤกษ์ พงษ์ศักดิ์ จิณฤทธิ์ ชัยณรัตน์ สนศิริ สลักจิต พานคำ

กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Progress report

The goal of this study is to develop modified vapor heat treatment (MVHT) to disinfest of *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in papaya [*Carica papaya* L.] fruits “Khak Dam” to meet the plant quarantine regulation without damaging fruit quality. Study basic information on the biological, characteristics and cultivation area of “Khak Dam” papaya. Results showed that papaya has short harvest and can be grown throughout the year. Major production areas were Pathum Thani, Nakhon Pathom, Ratchaburi, Suphan Buri, Prachin Buri, Chonburi, Chanthaburi, Nakhon Ratchasima, Maha Sarakham, ,Si Sa Ket and etc. The distinctive feature of this variety can be consumed both raw and ripe. Ripe fruit has a sweet taste with few seeds, narrow internal spaces and durable for transportation. Study of fruit injury test, papayas “Khak Dam” were assessed for their fruit qualities after subjecting to MVHT by heating test fruits with hot air (65% RH) from ambient temperature to 43°C, test fruits were heated by high temperature air saturated with water vapor. Test fruit injury was compared when fruit center temperature attained to target temperature at 46, 47 and 48°C for various holding times and 7 days storage at 10-13 °C. It was showed that no differences in fruit quality of treated fruits compared with non-treated controls. Keeping MVHT-treated fruits at 10-13 °C significantly prevented fruits from thermal injury.

Keywords : modified vapor heat treatment *Carica papaya* fruit injury test fruits export

---

รหัสการทดลอง FF65-55-05-65-00-01-65

บทคัดย่อ

ประเทศไทยได้ประสบความสำเร็จในการวิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified Vapor Heat Treatment, MVHT) เป็นวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (quarantine treatment) ในผลมะม่วง มังคุด และส้มโอ ก่อนส่งออกโดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของผลไม้ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (MVHT) สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* (Hendel) ในผลมะละกอพันธุ์แขกดำได้ตามมาตรฐานวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชระหว่างประเทศ โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของมะละกอหลังอบไอน้ำ ในปี 2565 ได้มีการศึกษา 2 หัวข้อ ดังนี้ 1) ศึกษาข้อมูลเบื้องต้นของมะละกอแขกดำเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับงานทดลอง พบว่ามะละกอปลูกได้ในสภาพทุกพื้นที่ มีอายุการเก็บเกี่ยวสั้น และมีฤดูการปลูกตลอดทั้งปี มะละกอแขกดำมีจุดเด่นที่บริโภคได้ทั้งผลดิบและสุก เนื้อผลหนากว่ามะละกอพันธุ์อื่น ๆ ผลยาวรี ผลสุกมีรสหวาน มีเมล็ดน้อย ช่องว่างภายในผลแคบ และทนทานต่อการขนส่ง การสำรวจสวนมะละกอจากแหล่งปลูกมะละกอที่สำคัญ พบว่ามะละกอแขกดำมีพื้นที่ปลูกในจังหวัดปทุมธานี นครปฐม ราชบุรี สุพรรณบุรี ปราจีนบุรี ชลบุรี จันทบุรี นครราชสีมา มหาสารคาม และศรีสะเกษ ฯลฯ 2) ศึกษาด้านความเสียหายจากความร้อนที่มีผลต่อคุณภาพของมะละกอพันธุ์แขกดำ หลังผ่านความร้อนด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ พบว่าการอบมะละกอแขกดำที่อุณหภูมิ 46 47 และ 48 °C นาน 0, 1 และ 2 ชั่วโมง และเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิ 10-13 °C นาน 7 วัน พบว่ามะละกอที่ผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 46 47 และ 48 °C ทั้ง 3 ช่วงเวลา มีการเปลี่ยนแปลงของสีผิวที่ผลจากสีเขียวเป็นสีเหลือง การสูญเสียน้ำหนัก และปริมาณน้ำตาล ไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเทียบกับมะละกอที่ไม่ผ่านความร้อน จากผลงานวิจัยนี้ได้ทราบข้อมูลการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของมะละกอแขกดำหลังการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในสภาพการเก็บรักษาในห้องควบคุมอุณหภูมิเย็น 10-13 °C เพื่อใช้ประโยชน์ในการศึกษาด้านความเสียหายจากความร้อนด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในผลมะละกอแขกดำในสภาพการจำลองการส่งออกทางเครื่องบินและทางเรือต่อไป

คำหลัก : วิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ มะละกอ ศึกษาด้านความเสียหาย ผลไม้ส่งออก

คำนำ

มะละกอ *Carica papaya* L. เป็นหนึ่งในผลไม้ที่มีศักยภาพในการส่งออก เนื่องจากประเทศไทยจัดอยู่ในลำดับที่ 9 ของผู้ผลิตมะละกอทั่วโลก (Songpol, 2011) พันธุ์ที่นิยมปลูกเป็นการค้า คือ พันธุ์แขกนวล แขกดำ แขกดำท่าพระ ฮอลแลนด์ เรดเลดี้ และปากช่อง โดยเฉพาะมะละกอฮอลแลนด์ผลสุก เป็นพันธุ์ที่ขายได้ราคาสูง เนื่องจากให้ผลดก ผลคล้ายลูกฟักอ่อน มีเนื้อสีแดงอมส้ม รสชาติหวาน เปลือกหนา จึงทำให้ทนทานต่อโรค และการขนส่งได้ดี (จริงแท้, 2552; Thaipong *et al*., 2011) อย่างไรก็ดีมะละกอเป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ ภายใต้เงื่อนไขการส่งออกมะละกอไปจำหน่ายยังประเทศที่มีความเข้มงวดด้านกักกันพืช ประเทศไทยจำเป็นต้องหาวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ที่

มีประสิทธิภาพ โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของผลไม้ และได้มาตรฐานตามวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช

วิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชก่อนส่งออกมีหลายวิธี อาทิเช่น การใช้ความร้อน ความเย็น รมควัน และฉายรังสี ฯลฯ ประเทศไทยได้ประสบความสำเร็จในการวิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อน โดยใช้วิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified, Vapor Heat Treatment, MVHT) เพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* species complex และ *B. cucurbitae* ในมะม่วง 7 พันธุ์ (หนังกลางวัน น้ำดอกไม้ แรด พิมเสนแดง มหาชนก เขียวเสวย และโชคอนันต์) มังคุด ส้มโอพันธุ์ทองดี และส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง ได้อย่างมีประสิทธิภาพตามมาตรฐานของวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของผลไม้ (รัชฎาและคณะ, 2553; Intarakumheng *et al*., 2016; Lapasathukool *et al*., 2002; Unahawutti *et al*., 1991, 1999, 2006; Sonsiri *et al*., 2019).

วิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์นอกจากมีประสิทธิภาพกำจัดแมลงวันผลไม้แล้ว ยังไม่ก่อให้เกิดพิษตกค้างภายในผลไม้ ซึ่งมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค จึงผ่านการยอมรับอย่างกว้างขวางจากประเทศผู้นำเข้า ในปัจจุบันประเทศไทยมีการสร้างโรงงานกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยความร้อนระดับการค้าอย่างแพร่หลาย โดยใช้วิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์อบผลมะม่วง มังคุด และส้มโอ เพื่อการส่งออกไปประเทศญี่ปุ่น เกาหลี และนิวซีแลนด์ (มลนิภา, 2562). จากผลงานวิจัยล่าสุดของมลนิภา และคณะ (2564) ได้ศึกษายืนยันประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* พบว่าที่อุณหภูมิ 47 °C นาน 20 นาที สามารถกำจัดหนอนแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* วัยที่ 1 จำนวนไม่น้อยกว่า 30,000 ในผลมะละกอพันธุ์ฮอลแลนด์ให้ตายทั้งหมด ซึ่งได้ตามมาตรฐานตามวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (Srimartpirom *et al*., 2023)

จากผลงานวิจัยดังกล่าวสามารถนำไปต่อยอดและประยุกต์ใช้ในการอบไอน้ำมะละกอพันธุ์อื่น ๆ ที่มีศักยภาพสูงในการส่งออก ได้แก่ มะละกอพันธุ์แขกดำ ที่ยังคงเป็นที่ยอมรับของชาวต่างชาติ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาเทคโนโลยีกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในมะละกอพันธุ์แขกดำ ที่มีประสิทธิภาพตรงตามมาตรฐานด้านกักกันพืช โดยไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพของผลไม้ เพื่อใช้ในการเจรจาเปิดตลาดส่งออกผลไม้สดไปยังประเทศที่เข้มงวดด้านกักกันพืชได้มากขึ้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. มะละกอพันธุ์แขกดำ
2. ตู้อบไอน้ำกำจัดแมลงขนาดเล็กสำหรับงานทดลอง 2 เครื่อง
3. ตู้ลดอุณหภูมิผลไม้
4. ห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้ 2 ห้อง
5. เครื่องอ่างน้ำร้อน

6. เครื่องวัดค่าความหวานของผลไม้

7. ห้องควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสำหรับงานทดลองขนาดเล็ก

8. ตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสำหรับงานทดลองขนาดเล็ก 4 ตู้

9. ห้องเย็นสำหรับเก็บผลไม้ที่ใช้ในการทดลอง

10. เครื่องบันทึกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์แบบต่อเนื่อง

11. แท่งวัดอุณหภูมิขนาดเล็กสำหรับงานทดลอง

12. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่งสำหรับงานทดลอง

13. อุปกรณ์สำหรับตรวจสอบผลการทดลอง ได้แก่ พู่กัน ปากคีบ เคาท์เตอร์ จานทดลองขนาดเล็ก ถาดใส่ผลไม้ ถุงผ้าตาข่าย ถุงมือ มีดปอกผลไม้ ถุงขยะดำ และอื่นๆ

วิธีการ

1. ศึกษาข้อมูลเบื้องต้นของมะละกอพันธุ์แขกดำเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับงานทดลอง

โดยการสืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับชีววิทยา พื้นที่ปลูก และลักษณะประจำพันธุ์ของมะละกอพันธุ์แขกดำ จากแหล่งข้อมูลอ้างอิงภายในประเทศ อาทิเช่น กรมวิชาการเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร และสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร เป็นต้น และภายนอกประเทศ อาทิเช่น เว็บไซต์ และวารสารนานาชาติที่เกี่ยวข้อง เป็นต้น และสำรวจสวนเพื่อคัดเลือกมะละกอแขกดำที่ได้คุณภาพตามมาตรฐานส่งออก จากแหล่งปลูกมะละกอที่สำคัญ จากนั้นนำมะละกอกลับมายังห้องปฏิบัติการกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เก็บมะละกอไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิและความชื้น เพื่อนำมาใช้ในงานทดลองขั้นตอนศึกษาด้านความเสียหายจากความร้อน และขั้นตอนศึกษาด้านการกำจัดแมลงด้วยความร้อนต่อไป

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

บันทึกข้อมูลชีววิทยา ลักษณะประจำพันธุ์ และข้อมูลแหล่งเพาะปลูกของมะละกอพันธุ์แขกดำเพื่อใช้ในการทดลอง จำนวนแหล่งข้อมูลที่ใช้อ้างอิงทั้งหมด และจำนวนวารสารภายในและภายนอกที่มีการตีพิมพ์

เวลาดำเนินการ ตุลาคม 2564 - กันยายน 2565

สถานที่ดำเนินการ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

2. ศึกษาด้านความเสียหายจากความร้อนและคุณภาพของผลมะละกอพันธุ์แขกดำจากวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์

ดำเนินการโดยอบมะละกอพันธุ์แขกดำด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ซึ่งเป็นกรรมวิธีที่ให้ความร้อนกับผลมะละกอ อาศัยวิธีการอบไอน้ำ ร่วมกับวิธีการอบอากาศร้อน โดยช่วงแรกจะให้ความร้อนกับผลมะละกอด้วยวิธีอบอากาศร้อน อากาศร้อนที่หมุนเวียนผ่านผลมะละกอจะมีความชื้นสัมพัทธ์ 50-80 เปอร์เซ็นต์ จนกระทั่งเมื่ออุณหภูมิในผลมะละกอเพิ่มขึ้นถึง 43 °C แล้วจึงปรับเปลี่ยนเป็นวิธีการอบไอน้ำ อากาศร้อนจะอยู่ในสภาพที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำ โดยมีความชื้นสัมพัทธ์

มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ (ดัดแปลงจาก อุดร และคณะ, 2549; Unahawutti *et al*., 2006) สำหรับการวัดอุณหภูมิผลมะละกอทดลองอาศัยการวัดจาก sensor fruit จำนวน 3 ผล อบมะละกอโดยให้อุณหภูมิภายในสุดผลอยู่ที่ 46 47 และ 48 °C และคงอุณหภูมิ นาน 0, 1 และ 2 ชั่วโมง ตามลำดับ หลังจากอบมะละกอครบตามอุณหภูมิ และระยะเวลาที่กำหนดไว้นำมะละกอ ที่ผ่านความร้อนออกจากตู้อบไอน้ำ มาลดอุณหภูมิผลมะละกอทันทีโดยการเป่าด้วยพัดลมนาน 1 ชั่วโมง จากเครื่องลดอุณหภูมิผลไม้ หลังจากเสร็จสิ้นการให้ความร้อน นำมะละกอที่ผ่านความร้อนห่อผลด้วยตาข่ายโฟมและบรรจุลงในกล่องกระดาษลูกฟูกขนาด 28x58x14 เซนติเมตร จากนั้นเก็บมะละกอทดลองตามรายละเอียดใน (มลนิภา และคณะ 2555) แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 10-13 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 85-95 เปอร์เซ็นต์ บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของมะละกอหลังผ่านความร้อนแล้วเปรียบเทียบกับมะละกอที่ไม่ผ่านความร้อน โดยใช้หลักเกณฑ์พิจารณาและดำเนินการในหัวข้อต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. บันทึกภาพมะละกอก่อนและหลังทดลองในแต่ละกรรมวิธีเปรียบเทียบกับมะละกอที่ไม่ผ่านความร้อน

2. การสูญเสียน้ำหนัก (weight loss) ของผลมะละกอ โดยคำนวณเป็นร้อยละของน้ำหนักที่สูญเสียไปด้วยวิธีการบันทึกน้ำหนักมะละกอก่อนและหลังการทดลอง

3. ปริมาณน้ำตาล (brix value) ในการทดลองแต่ละครั้งคั้นน้ำจากเนื้อมะละกอที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อน เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล ปริมาณน้ำตาลในรูปปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (total soluble solid, TSS) มีหน่วยเป็นค่าองศาบริกซ์ การวัดปริมาณน้ำตาลจากเนื้อมะละกอใช้เครื่อง digital refractometer

4. ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของสีเปลือก น้ำหนักที่สูญหาย และความหวาน หลังการอบไอน้ำ 7 วัน วิเคราะห์ผลทางสถิติ และตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยใช้วิธีการตรวจสอบแบบ t-test

เวลาดำเนินการ ตุลาคม 2564 - กันยายน 2565

สถานที่ดำเนินการ สวนมะละกอพันธุ์แขกดำที่ได้คุณภาพมาตรฐาน ได้แก่ กรุงเทพฯ จันทบุรี เพชรบุรี กำแพงเพชร ศรีษะเกษ ชุมพร สุราษฎร์ธานี ฯลฯ และห้องปฏิบัติการกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ศึกษาข้อมูลเบื้องต้นของมะละกอแขกดำเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับงานทดลอง จากการสืบค้นข้อมูลชีววิทยาลักษณะประจำพันธุ์ และแหล่งเพาะปลูก พบว่ามะละกอมีชื่อวิทยาศาสตร์ *Carica papaya L*. วงศ์ Caricaceae ลักษณะเด่นของมะละกอพันธุ์แขกดำ บริโภคได้ทั้งผลดิบ และสุก เนื้อผลหนากว่ามะละกอพันธุ์อื่น ๆ ผลยาวรี ผลสุกมีรสหวาน มีเมล็ดน้อย ช่องว่างภายในผลแคบ และทนทานต่อการขนส่ง การสำรวจสวนมะละกอจากแหล่งปลูกมะละกอที่สำคัญ พบว่ามะละกอแขกดำมีพื้นที่ปลูกในจังหวัดปทุมธานี นครปฐม ราชบุรี สุพรรณบุรี ปราจีนบุรี ชลบุรี จันทบุรี นครราชสีมา

มหาสารคาม และศรีสะเกษ ฯลฯ จากสถิติข้อมูลสวนมะละกอพันธุ์แขกดำที่ขึ้นทะเบียนแปลงเพื่อขอใบรับรอง GAP ของกรมวิชาการเกษตร ในปี 2565-2566 ได้รับการรับรองแปลง GAP ประมาณ 56 ไร่ (GAP DOA online, 2012).

ศึกษาด้านความเสียหายจากความร้อนและคุณภาพของผลมะละกอพันธุ์แขกดำจากวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ พบว่าการอบมะละกอที่อุณหภูมิภายในสุดผลอยู่ที่ 46 47 และ 48 °C มีระยะเวลาในการอบมะละกอดังแสดงใน Table 1 ผลการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของมะละกอเมื่อพิจารณาจากการสูญเสียน้ำหนัก และปริมาณน้ำตาล พบว่ามะละกอหลังผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 46 47 และ 48 °C และเก็บรักษาไว้ที่ 7 วัน ที่ห้องควบคุมอุณหภูมิ 10-13 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 85-95 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเทียบกับมะละกอที่ไม่ผ่านความร้อน (Table 2-3) และไม่พบความเสียหายที่เด่นชัดบริเวณผิวภายนอกของผลมะละกอที่ผ่านความร้อนเมื่อเทียบกับมะละกอที่ไม่ผ่านความร้อน (Figure 6) จากผลงานวิจัยในครั้งนี้ทำให้ทราบข้อมูลการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของมะละกอแขกดำหลังการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในสภาพการเก็บรักษาในห้องควบคุมอุณหภูมิเย็น 10-13 °C เพื่อใช้ประโยชน์ในการศึกษาด้านความเสียหายจากความร้อนด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในผลมะละกอแขกดำในสภาพการจำลองการส่งออกทางเครื่องบินและทางเรือต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสืบค้นข้อมูลชีววิทยาลักษณะประจำพันธุ์ และแหล่งเพาะปลูก พบว่ามะละกอมีชื่อวิทยาศาสตร์ *Carica papaya L.* วงศ์ Caricaceae ลักษณะเด่นของมะละกอพันธุ์แขกดำ บริโภคได้ทั้งผลดิบ และสุก เนื้อผลหนากว่ามะละกอพันธุ์อื่น ๆ ผลยาวรี ผลสุกมีรสหวาน มีเมล็ดน้อย ช่องว่างภายในผลแคบ และทนทานต่อการขนส่ง การสำรวจสวนมะละกอจากแหล่งปลูกมะละกอที่สำคัญ พบว่ามะละกอแขกดำมีพื้นที่ปลูกในจังหวัดปทุมธานี นครปฐม ราชบุรี สุพรรณบุรี ปราจีนบุรี ชลบุรี จันทบุรี นครราชสีมา มหาสารคาม และศรีสะเกษ ฯลฯ

มะละกอพันธุ์แขกดำที่ผ่านความร้อนด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ที่อุณหภูมิ 46 47 และ 48 °C และเก็บรักษาไว้ที่ 7 วัน ที่ห้องควบคุมอุณหภูมิ 10-13 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 85-95 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเทียบกับมะละกอที่ไม่ผ่านความร้อน เมื่อพิจารณาจากการสูญเสียน้ำหนัก และปริมาณน้ำตาล และไม่พบความเสียหายที่เด่นชัดบริเวณผิวภายนอกของผลมะละกอที่ผ่านความร้อนเมื่อเทียบกับมะละกอที่ไม่ผ่านความร้อน จากผลงานวิจัยในครั้งนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการศึกษาด้านความเสียหายจากความร้อนด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในผลมะละกอพันธุ์แขกดำในสภาพการจำลองการส่งออกทางเครื่องบินและทางเรือต่อไป

การนำผลงานไปใช้ประโยชน์

1. เพื่อนำผลการศึกษาด้านความเสียหายจากความร้อนและคุณภาพของผลมะละกอพันธุ์แขกดำจากวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ไปพัฒนาวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ให้ได้มาตรฐาน ตามวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชในระดับสากล และสอดคล้องกับข้อตกลงระหว่างประเทศได้ โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของผลไม้

2. เพื่อสามารถพัฒนาวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในผลมะละกอพันธุ์อื่นๆ ที่มีศักยภาพในการส่งออกในเชิงพาณิชย์ได้ เช่นเดียวกับการพัฒนาวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ในผลมะม่วง มังคุด และส้มโอที่ประสบความสำเร็จสามารถส่งออกไปประเทศญี่ปุ่น และสาธารณรัฐเกาหลีได้แล้วในปัจจุบัน

3. ได้ฐานข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับวิธีการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูทางด้านกักกันพืชโดยเฉพาะแมลงวันผลไม้ด้วยวิธีการอบไอน้ำให้ผู้ที่เกี่ยวข้องและผู้ที่สนใจได้รับทราบข้อมูลอย่างถูกต้อง รวมถึงการสร้างเครือข่ายที่เกี่ยวข้องให้เพิ่มมากขึ้นทั้งในและต่างประเทศ

4. เกษตรกรชาวสวนมะละกอ ผู้ประกอบการโรงงานอบไอน้ำ และผู้ส่งออกในประเทศไทยสามารถส่งออกผลไม้ไปต่างประเทศได้มากขึ้น

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้จะสำเร็จลุล่วงด้วยดีไม่ได้ หากขาดความช่วยเหลือจากบุคลากรของกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช ในการเตรียมอุปกรณ์ รวมถึงการเช็คผลการทดลอง คณะผู้วิจัยขอขอบคุณบุคลากรของกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช มา ณ ที่นี้

เอกสารอ้างอิง

จริงแท้ ศิริพานิช. 2552. มะละกอไทย สถานภาพด้านสายพันธุ์ ระบบการผลิต และการตลาด. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย. กรุงเทพฯ. 136 หน้า.

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ ชัยณรัตน์ สนศิริ สลักจิต พานคำ รัชฎา อินทรกำแหง และอุดร อุณหวุฒิ. 2555. วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยความร้อนในผลมะละกอเพื่อการส่งออก. เอกสารประกอบการประชุมสัมมนาศัตรูพืชหมดปัญหาเมื่ออารักขาถูกวิธี. 7-9 สิงหาคม 2555.ณ โรงแรมเฟลิกซ์ ริเวอร์แควรีสอร์ท จ. กาญจนบุรี. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร: กรุงเทพฯ.

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์. 2562. การป้องกันกำจัดแมลงในผลมะม่วงเพื่อการส่งออกด้วยวิธีการอบไอน้ำและฉายรังสี. โครงการจัดการถ่ายทอดความรู้การผลิตมะม่วงเพื่อการส่งออก 15 ก.พ. 2562 ณ สหกรณ์ชมรมชาวสวนมะม่วง อำเภอพนมสารคาม จังหวัดฉะเชิงเทรา.

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ สลักจิต พานคำ ชัยณรัตน์ สนศิริ ปวีณา บูชาเทียน พุฒิพงษ์ เพ็งฤกษ์ พงษ์ศักดิ์ จิณฤทธิ์ ศิริพร คงทวี. 2564. วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะละกอเพื่อการส่งออก. รายงานประจำปี 2564 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

รัชฎา อินทรกำแหง สลักจิต พานคำ ชัยณรัตน์ สนศิริ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ ชุติมา อ้อมกิ่ง จารุวรรณ จันทราและอุดร อุณหวุฒิ. 2553. วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในมะม่วงพันธุ์มหาชนก โชคอนันต์ และเขียวเสวยเพื่อการส่งออก (ฐานข้อมูลกรมวิชาการเกษตร). [ออนไลน์]. http://www.doa.go.th/research/attachment.php?aid=781. (25 กรกฎาคม 2566).

อุดร อุณหวุฒิ, สลักจิต พานคำ, ชัยณรัตน์ สนศิริ, มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์, ชุติมา อ้อมกิ่ง, จารุวรรณ จันทรา และรัชฎา อินทรกำแหง. 2549. การวิจัยพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในส้มโอเพื่อส่งออก. ผลงานวิจัยเพื่อพัฒนาเป็นผลงานวิจัยดีเด่น ประจำปี 2549 กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.หน้า 125-143.

Intarakumheng Rachada, Saluckjit Phankum, Chainarat Sonsiri, Monipa Srimartpirom, Chutima Ormking and Udorn Unahawutti. 2013. Evalution of modified vapor heat treatment as quarantine treatment for Khiaosawoey and Chokanan mangoes infested with oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae). A report Submitted to The Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries (MAFF) for market access of Khiaosawoey and Chokanan mangoes from Japan to Thailand October 2013. 139p.

Lapasathukool, C., S. Phankum, U. Unahawutti and S. Charnnarongkul. 2002. Heat tolerance of immature stages of 4 tephritid fruit fly species in Thailand. An additional report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries (MAFF) for approval of a quarantine treatment on Thai mangosteen to be exported to Japan. Plant Quarant. Sub-Div., Agr. Regulat. Div., Dept. of Agri., Bangkok. 39 p.

Songpol, S. 2011. Current study of papaya production in Thailand. 70 Pages. *In* : The International Symposium on Papaya. Dec. 19-22, 2011. Chiangmai.

Sonsiri, C., M. Srimartpirom, C. Ormking, S. Phankum, W. Rattandechakul, P. Phangrerk, P. Jinalite and P. Buchatian. 2019. Evaluation of modified vapor heat treatment as quarantine treatment for “ Khao Nam Phueng” pummelo Infested with oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae). A report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries (MAFF) for approval of a quarantine

treatment on Thai mangoes to be exported to Japan, Plant Quarantine Research Group, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture, Bangkok. 70 p.

Srimartpirom, M., C. Rakkrai, S. Phankum, R. Intarakamhang, C. Sonsiri, P. Buchatian, P. Phanglerk, P. Jinnalite, S. Khongthawie, U. Unahawutti, P. A. Follett. 2023. Vapor heat treatment for quarantine control of the oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae) in papaya fruit from Thailand. Journal of Asia-Pacific Entomology, 26(2).

Thaipong, K., S. Srimart, K. Iamjud, P. Sangwanankul and S. Wasee. 2011. Collection evaluation and selections of papaya varieties in Thailand. 70 Pages. *In* : The International Symposium on Papaya. Dec. 19-22, 2011. Chiangmai.

Unahawutti, U. , M. Poomthong, R. Intarakumheng, W. Worawisitthumrong, C. Lapasathukool, E. Smitasiri, P. Srisook and C. Ratanawaraha. 1991. Vapor heat as plant quarantine treatment of ’Nang Klarngwan’, ’Nam Dorkmai’, ’Rad’ and ’Pimsen Daeng’ mangoes infested with fruit flies (Diptera: Tephritidae). A report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries for approval of quarantine treatment on Thai mangoes to be exported to Japan. Tech. Plant Quarant. Sub-Div., Agr. Regulat. Div., Dept. of Agr., Bangkok. 342 p.

Unahawutti, U., S. Phankum, P. Ongthonglang and C. Chettanachitara. 1999. Heated-air quarantine treatment for mangosteen infested with oriental fruit fly (Diptera: Tephitidae). A report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries for approval of quarantine treatment on Thai mangosteen to be exported to Japan. Tech. Plant Quarant. Sub-Div., Agr. Regulat. Div., Dept. of Agri., Bangkok. 630 p.

Unahawutti, U., S. Phankum, M. Srimartpirom, C. Ormking, C. Sonsiri, J. Chantra and R. Intarakumheng. 2006. Heated-air quarantine treatment for pummelo infested with fruit flies (Diptera: Tephitidae). A report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries for approval of quarantine treatment on Thai pummelo to be exported to Japan. Tech. Plant Quarant. Sub-Div., Agr. Regulat. Div., Dept. of Agri., Bangkok. 143 p.

Table 1 Time for center of papaya fruits to attain 46, 47 and 48°C during modified vapor heat treatment (MVHT) of 65%RH

Fruit temp (°C).	Sensor fruit weight (g)	Loading (kgs/cum.)	Time for fruit center to reach target temperature (h)[1]		
			46°C	47°C	48°C
46°C	1,210.50	8	2:81		
47°C	1,221.23	8		3:05	
48°C	1,227.12	8			3:20

[1] Time for selected sensor fruits to attain target temperatures.

[2] Combined data of 2 replications.

Table 2 Weight loss (%) of papaya fruits after subjecting to MVHT at 46, 47 and 48°C fruit center temperatures for various holding times and 7 days storage at 10-13 °C

Fruit temp (°C).	Control[2]	Weight loss (%)[1]		
		Treatment[2]		
		0 h.	1 h.	2 h.
46°C	4.40 ± 0.31 a	4.73 ± 0.64 a	4.84 ± 0.78 a	4.91 ± 1.12 a
47°C	4.53 ± 0.40 a	4.79 ± 0.70 a	4.90 ± 0.84 a	4.97 ± 1.23 a
48°C	4.73 ± 0.45 a	4.86 ± 0.73 a	4.94 ± 1.00 a	5.00 ± 1.30 a

[1] Means in column followed by the same letters were not statistically (P-value ≤0.05).

[2] Combined data of 2 replications; values were averaged from 5 fruits for control, 5 fruits for each treatment.

Table 3 Total soluble solid (°Brix) of papaya fruits after subjecting to MVHT at 46, 47 and 48°C for various holding times and 7 days storage at 10-13 °C

Fruit temp (°C).	Control[2]	Total soluble solid (°Brix)[1]		
		Treatment[2]		
		0 h.	1 h.	2 h.
46°C	6.88 ± 0.14 a	6.20 ± 0.27 a	6.42 ± 0.28 a	6.50 ± 0.35 a
47°C	6.96 ± 0.20 a	6.89 ± 0.30 a	7.00 ± 0.32 a	7.23 ± 0.38 a
48°C	7.53 ± 0.22 a	7.28 ± 0.31 a	7.54 ± 0.35 a	7.80 ± 0.40 a

[1] Means in column followed by the same letters were not statistically (P-value ≤0.05).

[2] Combined data of 2 replications; values were averaged from 5 fruits for control, 5 fruits for each treatment

Figure 1“Khak Dam” papaya (*Carica papaya* L.) used in the experiment was obtained from registered orchards on Good Agricultural Practice (GAP) in Nakhon Pathom province

Figure 2 Sanshu’ Vapor Heat Treatment System (Differential Pressure Type), model: EHK-1000 B and EHK- 1000 D at laboratory of Plant Quarantine Treatment Section

Figure 3 Preparation of "Khak Dam" papaya from registered orchards GAP before subject to Modified Vapor Heat Treatment (MVHT) at desired target fruit center temperatures

Figure 4 Monitoring of fruit center temperature inside the VHT chamber was done by inserted sensor probe to the center of papaya fruit

Figure 5 Test fruits were subjected to MVHT to determine thermal fruit injury of "Khak Dam"papaya at desired target fruit center temperatures (46, 47 and 48 C)

Figure 6 The external appearance of "Khak Dam" papaya was similar between (A) control, and (B) treated fruits after subjecting to MVHT at 48°C (B) for 2 h. followed by storage at 10-13 ^{O}C for 7 days

วิจัยและพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะละกอแขกนวลเพื่อการส่งออก

Research and Development of Modified Vapor Heat Treatment for Papaya (Khak Nuan) infested with *Bactrocera dorsalis* (Hendel) for Export

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ พุฒิพงษ์ เพ็งฤกษ์ ปวีณา บูชาเทียน ศิริพร คงทวี
พงษ์ศักดิ์ จิณฤทธิ์ ชัยณรัตน์ สนศิริ สลักจิต พานคำ
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Progress report

The goal of this study is to develop modified vapor heat treatment (MVHT) to disinfest of *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in papaya [*Carica papaya* L.] fruits “Khak Nuan” to meet the plant quarantine regulation without damaging fruit quality. Study of fruit injury test, papayas “Khak Nuan” were assessed for their fruit qualities after subjecting to MVHT by heating test fruits with hot air (65% RH) from ambient temperature to 43°C, test fruits were heated by high temperature air saturated with water vapor. Test fruit injury was compared when fruit center temperature attained to target temperature at 46, 47 and 48°C for various holding times and 7 days storage at 10-13 °C. The results showed that the percentage of weight loss and skin color rate of treated fruits at target temperatures as mentioned above was no statistical difference compared with non-treated controls. While treated fruits at 48 °C for 2 h showed statistically different from treated fruits with other treatment and non-treated controls. Based on these results can be used to further study fruit injury test of papaya “Khak Nuan” subjecting to MVHT under the simulation of air and sea exports.

Keywords : modified vapor heat treatment *Carica papaya* fruit injury test fruits export

---

รหัสการทดลอง FF65-55-05-65-00-02-65

รายงานความก้าวหน้า

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* (Hendel) ในผลมะละกอพันธุ์แขกนวล ได้ตามมาตรฐานวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชระหว่างประเทศ โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของมะละกอหลังอบไอน้ำ ศึกษาด้านความเสียหายจากความร้อนที่มีผลต่อคุณภาพของมะละกอพันธุ์แขกนวลหลังผ่านความร้อนด้วยวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ อบมะละกอแขกนวลที่อุณหภูมิ 46 47 และ 48 °C นาน 0, 1 และ 2 ชั่วโมง และเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิ 10-13 °C นาน 7 วัน พบว่ามะละกอที่ผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 46, 47 และ 48 °C และเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิ 10-13 °C นาน 7 วัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับมะละกอที่ไม่ผ่านความร้อน เมื่อพิจารณาจากการสูญเสียน้ำหนัก และการเปลี่ยนแปลงของสีผิว ในขณะที่มะละกอที่ผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 48 °C นาน 2 ชั่วโมง มีความแตกต่างทางสถิติกับมะละกอที่ผ่านความร้อนทุกกรรมวิธี และมะละกอที่ไม่ผ่านความร้อน เมื่อพิจารณาจากการสูญเสียน้ำหนัก และการเปลี่ยนแปลงของสีผิว ไม่พบความเสียหายที่เด่นชัดบริเวณผิวภายนอกและภายในของผลมะละกอที่ผ่านความร้อนเมื่อเทียบกับมะละกอที่ไม่ผ่านความร้อน จากผลงานวิจัยนี้ได้ทราบข้อมูลการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของมะละกอแขกนวลหลังการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในสภาพการเก็บรักษาในห้องควบคุมอุณหภูมิเย็น 10-13 ℃ เพื่อใช้ประโยชน์ในการศึกษาด้านความเสียหายจากความร้อนด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในผลมะละกอแขกนวลในสภาพการจำลองการส่งออกทางเครื่องบินและทางเรือต่อไป

คำหลัก : วิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ มะละกอ ศึกษาด้านความเสียหาย ผลไม้ส่งออก

คำนำ

มะละกอ *Carica papaya* L. เป็นหนึ่งในผลไม้ที่มีศักยภาพในการส่งออก เนื่องจากประเทศไทยจัดอยู่ในลำดับที่ 9 ของผู้ผลิตมะละกอทั่วโลก (Songpol, 2011) พันธุ์ที่นิยมปลูกเป็นการค้า คือ พันธุ์แขกนวล แขกดำ แขกดำท่าพระ ฮอลแลนด์ เรดเลดี้ และปากช่อง โดยเฉพาะมะละกอฮอลแลนด์ผลสุก เป็นพันธุ์ที่ขายได้ราคาสูง เนื่องจากให้ผลดก ผลคล้ายลูกฟักอ่อน มีเนื้อสีแดงอมส้ม รสชาติหวาน เปลือกหนา จึงทำให้ทนทานต่อโรค และการขนส่งได้ดี (จริงแท้, 2552; Thaipong *et al*., 2011) อย่างไรก็ดีมะละกอเป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ ภายใต้เงื่อนไขการส่งออกมะละกอไปจำหน่ายยังประเทศที่มีความเข้มงวดด้านกักกันพืช ประเทศไทยจำเป็นต้องหาวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ที่มีประสิทธิภาพ โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของผลไม้ และได้มาตรฐานตามวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช

วิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชก่อนส่งออกมีหลายวิธี อาทิเช่น การใช้ความร้อน ความเย็น รมควัน และฉายรังสี ฯลฯ ประเทศไทยได้ประสบความสำเร็จในการวิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อน โดยใช้วิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified, Vapor Heat Treatment,

MVHT) เพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* species complex และ *B. cucurbitae* ในมะม่วง 7 พันธุ์ (หนังกลางวัน น้ำดอกไม้ แรด พิมเสนแดง มหาชนก เขียวเสวย และโชคอนันต์) มังคุด ส้มโอพันธุ์ทองดี และส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง ได้อย่างมีประสิทธิภาพตามมาตรฐานของวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของผลไม้ (รัชฎาและคณะ, 2553; Intarakumheng *et al*., 2016; Lapasathukool *et al*., 2002; Unahawutti *et al*., 1991, 1999, 2006; Sonsiri *et al*., 2019).

วิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์นอกจากมีประสิทธิภาพกำจัดแมลงวันผลไม้แล้ว ยังไม่ก่อให้เกิดพิษตกค้างภายในผลไม้ ซึ่งมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค จึงผ่านการยอมรับอย่างกว้างขวางจากประเทศผู้นำเข้า ในปัจจุบันประเทศไทยมีการสร้างโรงงานกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยความร้อนระดับการค้าอย่างแพร่หลาย โดยใช้วิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์อบผลมะม่วง มังคุด และส้มโอ เพื่อการส่งออกไปประเทศญี่ปุ่น เกาหลี และนิวซีแลนด์ (มลนิภา, 2562). จากผลงานวิจัยล่าสุดของมลนิภา และคณะ (2564) ได้ศึกษายืนยันประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* พบว่าที่อุณหภูมิ 47 °C นาน 20 นาที สามารถกำจัดหนอนแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* วัยที่ 1 จำนวนไม่น้อยกว่า 30,000 ในผลมะละกอพันธุ์ฮอลแลนด์ให้ตายทั้งหมด ซึ่งได้ตามมาตรฐานตามวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (Srimartpirom *et al*., 2023)

จากผลงานวิจัยดังกล่าวสามารถนำไปต่อยอดและประยุกต์ใช้ในการอบไอน้ำมะละกอพันธุ์อื่น ๆ ที่มีศักยภาพสูงในการส่งออก ได้แก่ มะละกอพันธุ์แขกนวล ที่ยังคงเป็นที่ยอมรับของชาวต่างชาติ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาเทคโนโลยีกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในมะละกอพันธุ์แขกนวล ที่มีประสิทธิภาพตรงตามมาตรฐานด้านกักกันพืช โดยไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพของผลไม้ เพื่อใช้ในการเจรจาเปิดตลาดส่งออกผลไม้สดไปยังประเทศที่เข้มงวดด้านกักกันพืชได้มากขึ้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. มะละกอพันธุ์แขกนวล
2. ตู้อบไอน้ำกำจัดแมลงขนาดเล็กสำหรับงานทดลอง 2 เครื่อง
3. ตู้ลดอุณหภูมิผลไม้
4. ห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้ 2 ห้อง
5. เครื่องอ่างน้ำร้อน
6. เครื่องวัดค่าความหวานของผลไม้
7. ห้องควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสำหรับงานทดลองขนาดเล็ก
8. ตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสำหรับงานทดลองขนาดเล็ก 4 ตู้
9. ห้องเย็นสำหรับเก็บผลไม้ที่ใช้ในการทดลอง
10. เครื่องบันทึกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์แบบต่อเนื่อง

11. แท่งวัดอุณหภูมิขนาดเล็กสำหรับงานทดลอง

12. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่งสำหรับงานทดลอง

13. อุปกรณ์สำหรับตรวจสอบผลการทดลอง ได้แก่ พู่กัน ปากคีบ เคาท์เตอร์ จานทดลองขนาดเล็ก ถาดใส่ผลไม้ ถุงผ้าตาข่าย ถุงมือ มีดปอกผลไม้ ถุงขยะดำ และอื่นๆ

วิธีการ

1. ศึกษาข้อมูลเบื้องต้นของมะละกอพันธุ์แขกนวลเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับงานทดลอง

โดยการสืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับชีววิทยา พื้นที่ปลูก และลักษณะประจำพันธุ์ของมะละกอพันธุ์แขกนวล จากแหล่งข้อมูลอ้างอิงภายในประเทศ อาทิเช่น กรมวิชาการเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร และสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร เป็นต้น และภายนอกประเทศ อาทิเช่น เว็บไซต์ และวารสารนานาชาติที่เกี่ยวข้อง เป็นต้น และสำรวจสวนเพื่อคัดเลือกมะละกอแขกนวลที่ได้คุณภาพตามมาตรฐานส่งออก จากแหล่งปลูกมะละกอที่สำคัญ จากนั้นนำมะละกอกลับมายังห้องปฏิบัติการกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เก็บมะละกอไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิและความชื้น เพื่อนำมาใช้ในงานทดลองขั้นตอนศึกษาด้านความเสียหายจากความร้อน และขั้นตอนศึกษาด้านการกำจัดแมลงด้วยความร้อนต่อไป

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

บันทึกข้อมูลชีววิทยา ลักษณะประจำพันธุ์ และข้อมูลแหล่งเพาะปลูกของมะละกอพันธุ์แขกนวลเพื่อใช้ในการทดลอง จำนวนแหล่งข้อมูลที่ใช้อ้างอิงทั้งหมด และจำนวนวารสารภายในและภายนอกที่มีการตีพิมพ์

เวลาและสถานที่

เวลาดำเนินการ ตุลาคม 2564 - กันยายน 2565

สถานที่ดำเนินการ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

2. ศึกษาด้านความเสียหายจากความร้อนและคุณภาพของผลมะละกอพันธุ์แขกนวลจากวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์

ดำเนินการโดยอบมะละกอพันธุ์แขกนวลด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ซึ่งเป็นกรรมวิธีที่ให้ความร้อนกับผลมะละกอ อาศัยวิธีการอบไอน้ำ ร่วมกับวิธีการอบอากาศร้อน โดยช่วงแรกจะให้ความร้อนกับผลมะละกอด้วยวิธีอบอากาศร้อน อากาศร้อนที่หมุนเวียนผ่านผลมะละกอจะมีความชื้นสัมพัทธ์ 65-80 เปอร์เซ็นต์ จนกระทั่งเมื่ออุณหภูมิในผลมะละกอเพิ่มขึ้นถึง 43 °C แล้วจึงปรับเปลี่ยนเป็นวิธีการอบไอน้ำ อากาศร้อนจะอยู่ในสภาพที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำ โดยมีความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ (ดัดแปลงจาก อุดร และคณะ, 2549; Unahawutti *et al*., 2006) สำหรับการวัดอุณหภูมิผลมะละกอทดลองอาศัยการวัดจาก sensor fruit จำนวน 3 ผล อบมะละกอโดยให้อุณหภูมิภายในสุดผลอยู่ที่ 46 47 และ 48 °C และคงอุณหภูมิ นาน 0, 1 และ 2 ชั่วโมง ตามลำดับ หลังจากอบมะละกอครบตามอุณหภูมิ และระยะเวลาที่กำหนดไว้นำมะละกอ ที่ผ่านความร้อนออก

จากตู้อบไอน้ำ มาลดอุณหภูมิผลมะละกอทันทีโดยการเป่าด้วยพัดลมนาน 1 ชั่วโมง จากเครื่องลดอุณหภูมิผลไม้ หลังจากเสร็จสิ้นการให้ความร้อน นำมะละกอที่ผ่านความร้อนห่อผลด้วยตาข่ายโฟมและบรรจุลงในกล่องกระดาษลูกฟูกขนาด 28x58x14 เซนติเมตร จากนั้นเก็บมะละกอทดลองตามรายละเอียดใน (มลนิภา และคณะ 2555) แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 10-13 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 85-95 เปอร์เซ็นต์ บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของมะละกอหลังผ่านความร้อนแล้วเปรียบเทียบกับมะละกอที่ไม่ผ่านความร้อน โดยใช้หลักเกณฑ์พิจารณาและดำเนินการในหัวข้อต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. บันทึกภาพมะละกอก่อนและหลังทดลองในแต่ละกรรมวิธีเปรียบเทียบกับมะละกอที่ไม่ผ่านความร้อน

2. การสูญเสียน้ำหนัก (weight loss) ของผลมะละกอ โดยคำนวณเป็นร้อยละของน้ำหนักที่สูญเสียไปด้วยวิธีการบันทึกน้ำหนักมะละกอก่อนและหลังการทดลอง

3. ปริมาณน้ำตาล (brix value) ในการทดลองแต่ละครั้งคั้นน้ำจากเนื้อมะละกอที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อน เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล ปริมาณน้ำตาลในรูปปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (total soluble solid, TSS) มีหน่วยเป็นค่าองศาบริกซ์ การวัดปริมาณน้ำตาลจากเนื้อมะละกอใช้เครื่อง digital refractometer

4. ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของสีเปลือก น้ำหนักที่สูญหาย และความหวาน หลังการอบไอน้ำ 7 วัน วิเคราะห์ผลทางสถิติ และตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยใช้วิธีการตรวจสอบแบบ t-test

เวลาและสถานที่

เวลาดำเนินการ ตุลาคม 2564 - กันยายน 2565

สถานที่ดำเนินการ สวนมะละกอพันธุ์แขกนวลที่ได้คุณภาพมาตรฐาน ได้แก่ กรุงเทพฯ จันทบุรี เพชรบุรี กาญจนบุรี ศรีษะเกษ กาฬสินธุ์ ฯลฯ และห้องปฏิบัติการกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ศึกษาด้านความเสียหายจากความร้อนที่มีผลต่อคุณภาพของมะละกอพันธุ์แขกนวลหลังผ่านความร้อนด้วยวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ อบมะละกอแขกนวลที่อุณหภูมิ 46 47 และ 48 °C นาน 0, 1 และ 2 ชั่วโมง และเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิ 10-13 °C นาน 7 วัน พบว่ามะละกอที่ผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 46, 47 และ 48 °C และเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิ 10-13 °C นาน 7 วัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับมะละกอที่ไม่ผ่านความร้อน เมื่อพิจารณาจากการสูญเสียน้ำหนัก และการเปลี่ยนแปลงของสีผิว ในขณะที่มะละกอที่ผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 48 °C นาน 2 ชั่วโมง มีความแตกต่างทางสถิติกับมะละกอที่ผ่านความร้อนทุกกรรมวิธี และมะละกอที่ไม่ผ่านความร้อน เมื่อพิจารณาจากการสูญเสียน้ำหนัก (Table 1) และการเปลี่ยนแปลงของสีผิว (Table 2-4) ไม่พบความเสียหายที่เด่นชัดบริเวณผิวภายนอกและภายในของผลมะละกอที่ผ่านความร้อนเมื่อเทียบกับ

มะละกอที่ไม่ผ่านความร้อน (Figure 3-4) จากผลงานวิจัยนี้ได้ทราบข้อมูลการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของมะละกอแขกนวลหลังการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในสภาพการเก็บรักษาในห้องควบคุมอุณหภูมิเย็น 10-13 °C เพื่อใช้ประโยชน์ในการศึกษาด้านความเสียหายจากความร้อนด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในผลมะละกอแขกนวลในสภาพการจำลองการส่งออกทางเครื่องบินและทางเรือต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

มะละกอพันธุ์แขกนวลที่ผ่านความร้อนด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ที่อุณหภูมิ 46 47 และ 48 °C และเก็บรักษาไว้ที่ 7 วัน ที่ห้องควบคุมอุณหภูมิ 10-13 °C ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเทียบกับมะละกอที่ไม่ผ่านความร้อน เมื่อพิจารณาจากการสูญเสียน้ำหนักและปริมาณน้ำตาล ในขณะที่มะละกอที่ผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 48 °C นาน 2 ชั่วโมง มีความแตกต่างทางสถิติกับมะละกอที่ผ่านความร้อนทุกกรรมวิธี และมะละกอที่ไม่ผ่านความร้อน เมื่อพิจารณาจากการสูญเสียน้ำหนัก และการเปลี่ยนแปลงของสีผิว ไม่พบความเสียหายที่เด่นชัดบริเวณผิวภายนอกของผลมะละกอที่ผ่านความร้อนเมื่อเทียบกับมะละกอที่ไม่ผ่านความร้อน

การนำผลงานไปใช้ประโยชน์

1. เพื่อนำผลการศึกษาด้านความเสียหายจากความร้อนและคุณภาพของผลมะละกอพันธุ์แขกนวลจากวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ไปพัฒนาวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ให้ได้มาตรฐาน ตามวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชในระดับสากล และสอดคล้องกับข้อตกลงระหว่างประเทศได้ โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของผลไม้

2. เพื่อสามารถพัฒนาวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในผลมะละกอพันธุ์อื่นๆ ที่มีศักยภาพในการส่งออกในเชิงพาณิชย์ได้ เช่นเดียวกับการพัฒนาวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ในผลมะม่วง มังคุด และส้มโอที่ประสบความสำเร็จสามารถส่งออกไปประเทศญี่ปุ่น และสาธารณรัฐเกาหลีได้แล้วในปัจจุบัน

3. ได้ฐานข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับวิธีการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูทางด้านกักกันพืชโดยเฉพาะแมลงวันผลไม้ด้วยวิธีการอบไอน้ำให้ผู้ที่เกี่ยวข้องและผู้ที่สนใจได้รับทราบข้อมูลอย่างถูกต้อง รวมถึงการสร้างเครือข่ายที่เกี่ยวข้องให้เพิ่มมากขึ้นทั้งในและต่างประเทศ

4. เกษตรกรชาวสวนมะละกอ ผู้ประกอบการโรงงานอบไอน้ำ และผู้ส่งออกในประเทศไทยสามารถส่งออกผลไม้ไปต่างประเทศได้มากขึ้น

คำขอบคุณ

-

งานวิจัยนี้จะสำเร็จลุล่วงด้วยดีไม่ได้ หากขาดความช่วยเหลือจากบุคลากรของกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช ในการเตรียมอุปกรณ์ รวมถึงการเช็คผลการทดลอง คณะผู้วิจัยขอขอบคุณบุคลากรของกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช มา ณ ที่นี้

เอกสารอ้างอิง

จริงแท้ ศิริพานิช. 2552. มะละกอไทย สถานภาพด้านสายพันธุ์ ระบบการผลิต และการตลาด. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย. กรุงเทพฯ. 136 หน้า.

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ ชัยณรัตน์ สนศิริ สลักจิต พานคำ รัชฎา อินทรกำแหง และอุดร อุณหวุฒิ. 2555. วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยความร้อนในผลมะละกอเพื่อการส่งออก. เอกสารประกอบการประชุมสัมมนาศัตรูพืชหมดปัญหาเมื่ออารักขาถูกวิธี. 7-9 สิงหาคม 2555.ณ โรงแรมเฟลิกซ์ ริเวอร์แควรีสอร์ท จ. กาญจนบุรี. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร: กรุงเทพฯ.

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์. 2562. การป้องกันกำจัดแมลงในผลมะม่วงเพื่อการส่งออกด้วยวิธีการอบไอน้ำและฉายรังสี. โครงการจัดการถ่ายทอดความรู้การผลิตมะม่วงเพื่อการส่งออก 15 ก.พ. 2562 ณ สหกรณ์ชมรมชาวสวนมะม่วง อำเภอพนมสารคาม จังหวัดฉะเชิงเทรา.

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ สลักจิต พานคำ ชัยณรัตน์ สนศิริ ปวีณา บูชาเทียน พุฒิพงษ์ เพ็งฤกษ์ พงษ์ศักดิ์ จิณฤทธิ์ ศิริพร คงทวี. 2564. วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะละกอเพื่อการส่งออก. รายงานประจำปี 2564 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

รัชฎา อินทรกำแหง สลักจิต พานคำ ชัยณรัตน์ สนศิริ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ ชุติมา อ้อมกิ่ง จารุวรรณ จันทราและอุดร อุณหวุฒิ. 2553. วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในมะม่วงพันธุ์มหาชนก โชคอนันต์ และเขียวเสวยเพื่อการส่งออก(ฐานข้อมูลกรมวิชาการเกษตร). (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล :http://www.doa.go.th/research/attachment.php?aid=781 (25 กรกฎาคม 256).

อุดร อุณหวุฒิ, สลักจิต พานคำ, ชัยณรัตน์ สนศิริ, มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์, ชุติมา อ้อมกิ่ง, จารุวรรณ จันทรา และรัชฎา อินทรกำแหง. 2549. การวิจัยพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในส้มโอเพื่อส่งออก. ผลงานวิจัยเพื่อพัฒนาเป็นผลงานวิจัยดีเด่น ประจำปี 2549 กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.หน้า 125-143.

Intarakumheng Rachada, Saluckjit Phankum, Chainarat Sonsiri, Monipa Srimartpirom, Chutima Ormking and Udorn Unahawutti. 2013. Evalution of modified vapor heat treatment as quarantine treatment for Khiaosawoey and Chokanan mangoes infested with oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae). A report Submitted to The Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries (MAFF) for market access of Khiaosawoey and Chokanan mangoes from Japan to Thailand October 2013. 139p.

Lapasathukool, C., S. Phankum, U. Unahawutti and S. Charnnarongkul. 2002. Heat tolerance of immature stages of 4 tephritid fruit fly species in Thailand. An additional report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries (MAFF) for approval of a quarantine treatment on Thai mangosteen to be exported to Japan. Plant Quarant. Sub-Div., Agr. Regulat. Div., Dept. of Agri., Bangkok. 39 p.

Songpol, S. 2011. Current study of papaya production in Thailand. 70 Pages. *In* : The International Symposium on Papaya. Dec. 19-22, 2011. Chiangmai.

Sonsiri, C., M. Srimartpirom, C. Ormking, S. Phankum, W. Rattandechakul, P. Phangrerk, P. Jinalite and P. Buchatian. 2019. Evaluation of modified vapor heat treatment as quarantine treatment for " Khao Nam Phueng" pummelo Infested with oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae). A report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries (MAFF) for approval of a quarantine treatment on Thai mangoes to be exported to Japan, Plant Quarantine Research Group, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture, Bangkok. 70 p.

Srimartpirom, M., C. Rakkrai, S. Phankum, R. Intarakamhang, C. Sonsiri, P. Buchatian, P. Phanglerk, P. Jinnalite, S. Khongthawie, U. Unahawutti, P. A. Follett. 2023. Vapor heat treatment for quarantine control of the oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae) in papaya fruit from Thailand. Journal of Asia-Pacific Entomology, 26(2).

Thaipong, K., S. Srimart, K. Iamjud, P. Sangwanankul and S. Wasee. 2011. Collection evaluation and selections of papaya varieties in Thailand. 70 Pages. *In* : The International Symposium on Papaya. Dec. 19-22, 2011. Chiangmai.

Unahawutti, U. , M. Poomthong, R. Intarakumheng, W. Worawisitthumrong, C. Lapasathukool, E. Smitasiri, P. Srisook and C. Ratanawaraha. 1991. Vapor heat as plant quarantine treatment of 'Nang Klarngwan', 'Nam Dorkmai', 'Rad' and 'Pimsen Daeng' mangoes infested with fruit flies (Diptera: Tephritidae). A report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries for approval of quarantine treatment on Thai mangoes to be exported to Japan. Tech. Plant Quarant. Sub-Div., Agr. Regulat. Div., Dept. of Agr., Bangkok. 342 p.

Unahawutti, U., S. Phankum, P. Ongthonglang and C. Chettanachitara. 1999. Heated-air quarantine treatment for mangosteen infested with oriental fruit fly (Diptera: Tephitidae). A report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries for approval of quarantine treatment on Thai mangosteen to be

exported to Japan. Tech. Plant Quarant. Sub-Div., Agr. Regulat. Div., Dept. of Agri., Bangkok. 630 p.

Unahawutti, U., S. Phankum, M. Srimartpirom, C. Ormking, C. Sonsiri, J. Chantra and R. Intarakumheng. 2006. Heated-air quarantine treatment for pummelo infested with fruit flies (Diptera: Tephitidae). A report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries for approval of quarantine treatment on Thai pummelo to be exported to Japan. Tech. Plant Quarant. Sub-Div., Agr. Regulat. Div., Dept. of Agri., Bangkok. 143 p.

Table 1 Weight loss (%) of papaya fruits after subjecting to MVHT at 46, 47 and 48°C fruit center temperatures for various holding times and 7 days storage at 10-13 °C

Fruit temp (°C).	Control[2]	Weight loss (%)[1]		
		Treatment[2]		
		0 h.	1 h.	2 h.
46°C	2.32 ± 0.20 a	2.44 ± 0.24 a	2.50 ± 0.27 a	3.24 ± 0.53 a
47°C	2.40 ± 0.28 a	2.47 ± 0.26 a	2..60 ± 0.70 a	3.93 ± 1.05 a
48°C	2.42 ± 0.45 a	3.03 ± 0.95 a	3.10 ± 0.98 a	4.45 ± 2.30 b

[1] Means in column followed by the same letters were not statistically (P-value ≤0.05).

[2] Combined data of 2 replications; values were averaged from 5 fruits for control, 5 fruits for each treatment.

Table 2 Color rating (L*) of papaya fruits after subjecting to MVHT at 46, 47 and 48°C fruit center temperatures for various holding times and 7 days storage at 10-13 °C

Fruit temp (°C).	Control[2]	Weight loss (%)[1]		
		Treatment[2]		
		0 h.	1 h.	2 h.
46°C	45.96 ± 0.43 a	44.49 ± 0.96 a	43.92 ± 1.25 a	45.27 ± 0.42 a
47°C	40.83 ± 0.57 a	40.31 ± 0.35 a	39.34 ± 1.10 a	38.81 ± 1.65 a
48°C	38.55 ± 0.65 a	37.60 ± 0.56 a	36.51 ± 1.38 a	35.59 ± 2.42 b

[1] Means in column followed by the same letters were not statistically (P-value ≤0.05).

[2] Combined data of 2 replications; values were averaged from 5 fruits for control, 5 fruits for each treatment.

Table 3 Color rating (a*) of papaya fruits after subjecting to MVHT at 46, 47 and 48°C fruit center temperatures for various holding times and 7 days storage at 10-13 ^{O}C

Fruit temp (^{O}C).	Control[2]	Weight loss (%)[1]		
		Treatment[2]		
		0 h.	1 h.	2 h.
46°C	15.78 ± 0.45 a	14.78 ± 1.17 a	15.09 ± 0.83 a	15.26 ± 0.54 a
47°C	14.23 ± 0.60 a	12.77 ± 1.27 a	12.15 ± 1.85 a	12.57 ± 2.02 a
48°C	12.92 ± 0.62 a	12.49 ± 1.35 a	12.08 ± 1.23 a	10.48 ± 3.20 b

[1] Means in column followed by the same letters were not statistically (P-value ≤0.05).

[2] Combined data of 2 replications; values were averaged from 5 fruits for control, 5 fruits for each treatment.

Table 4 Color rating (b*) of papaya fruits after subjecting to MVHT at 46, 47 and 48°C fruit center temperatures for various holding times and 7 days storage at 10-13 ^{O}C

Fruit temp (^{O}C).	Control[2]	Weight loss (%)[1]		
		Treatment[2]		
		0 h.	1 h.	2 h.
46°C	23.77 ± 0.30 a	22.25 ± 0.80 a	22.35 ± 0.71 a	23.62 ± 0.07 a
47°C	21.75 ± 0.50 a	21.16 ± 0.79 a	20.63 ± 0.97 a	18.11 ± 2.04 a
48°C	20.93 ± 0.64 a	21.84 ± 0.49 a	20.18 ± 0.54 a	17.52 ± 2.91 b

[1] Means in column followed by the same letters were not statistically (P-value ≤0.05).

[2] Combined data of 2 replications; values were averaged from 5 fruits for control, 5 fruits for each treatment.

Figure 1 Field survey of “Khak Nuan” papaya (*Carica papaya* L.) orchards in Kalasin province

Figure 2 Monitoring of fruit center temperature inside the VHT chamber was done by inserted sensor probe to the center of papaya fruit (left) and test fruits were subjected to MVHT to determine thermal fruit injury of “Khak Nuan” papaya at desired target fruit center temperatures (right)

Figure 3 The external appearance of "Khak Nuan" papaya was similar between (A) control, and (B) treated fruits after subjecting to MVHT at 48°C, (C) 48°C for 1 h and (D) 48°C for 2 h followed by storage at 10-13 ^{O}C for 7 days

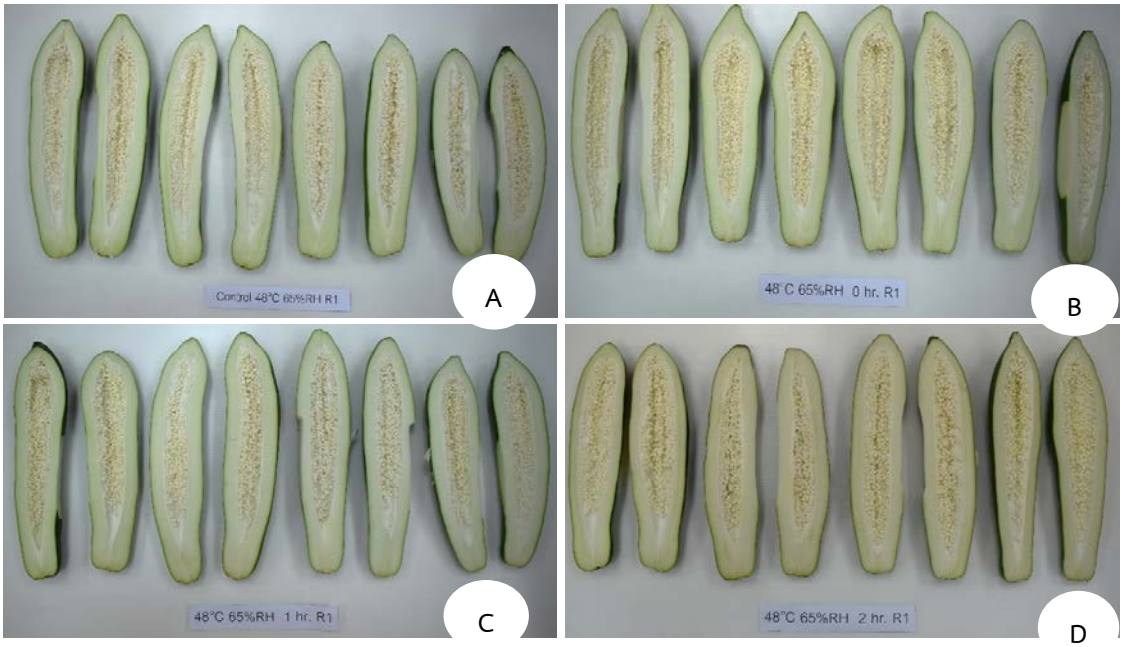


Figure 4 The internal appearance of "Khak Nuan" papaya was similar between (A) control, and (B) treated fruits after subjecting to MVHT at 48°C, (C) 48°C for 1 h and (D) 48°C for 2 h followed by storage at 10-13 ^{O}C for 7 days

วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนเพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในมะม่วงมันเดือนเก้า เพื่อการส่งออก

Research and Development of Heated Air Quarantine Treatment for Mango (Man Duen Kaw) Variety Control Fruit Flies for Export

ชัยณรัตน์ สนศิริ พงษ์ศักดิ์ จิณฤทธิ์ พุฒิพงษ์ เพ็งฤกษ์
มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ สลักจิต พานคำ
ปวีณา บูชาเทียน ศิริพร คงทวี
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Progress report

Currently, the vapor heat treatment schedule at 47 °C for 0:20 minutes was accepted as a quarantine treatment to disinfest all stages of oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* species complex in 7 mango cultivars; Nang Klangwan, Namdokmai, Rad, Pimsean Daeng, Mahachanok, Khiaosawoey and Chokanan form Thailand to Japan. To extend more variety of mango for Japan, the experiment was carried out to determine the heat tolerance of the first instar larvae of *B. dorsalis* (Hendel), the most tolerance stage to Modified Vapor Heat Treatment (MVHT) between Man Duen Kaw and Namdokmai mango. The comparative heat tolerance of first instar larvae was to treat infested both mango cultivars with MVHT at 45, 46, 46.5 °C for 0:00, minutes and 47 °C for 0:00, 0:05 and 0:10 minutes respectively. The preliminary disinfestation test was to treat infested Man Duen Kaw with MVHT at 45, 46, 46.5 °C for 0:00, minutes and 47 °C for 0:00, 0:05, 0:10, 0:15 and 0:20 minutes respectively. The intermediate disinfestation test, infested with Man Duen Kaw was subjected to MVHT at 47 °C for 0:00, 0:05, 0:10, 0:15 and 0:20 minutes respectively. MVHT was done by heating infested fruits with hot air from ambient temperature to 43 °C with 50-80 % RH (dry pre-heating period) then the fruits were gradually warmed up to 47 °C with saturated water vapor, and subsequently maintained the fruit target temperature for the desired duration holding time.

รหัสการทดลอง FF65-55-05-65-00-03-65

The results showed that oriental fruit fly first instar larvae infested in Man Duen Kaw mango was more tolerance to MVHT than infested in Namdokmai mango. MVHT of fruit temperature 47 ° C for 0:10 minutes was sufficient to completely kill all the oriental fruit fly first instar larvae in mango fruits. Intermediate disinfestation test, completely kill the oriental fruit fly first instar larvae in mango fruits at temperature 47 ° C for 0:10 minutes.

The thermal injury was determined in Man Duen Kaw mango. Fruits were treated with MVHT until fruit center temperature 47 and 48.5 ° C then fruits were maintained at these temperatures or greater for 0, 1 and 2 h. The thermal injury found disease infection and spongy tissue after treat at 48.5 ° C for 2 h.

Keywords : *Bactrocera dorsalis* Man Duen Kaw Mango Modified vapor heat treatment (MVHT)

รายงานความก้าวหน้า

มะม่วงมีปัญหาในการส่งออกเนื่องจากเป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ซึ่งเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญทางด้านกักกันพืชหลายประเทศออกมาตรการด้านสุขอนามัยพืชห้ามนำเข้าผลไม้จากประเทศไทย ดังนั้นหากมีการศึกษาวิจัยเพื่อพัฒนาวิธีการกำจัดแมลงศัตรูพืชที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันผลไม้แล้วจะทำให้ประเทศไทยสามารถขยายตลาดของมะม่วงให้กว้างขวางมากยิ่งขึ้น การศึกษาวิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนเพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้าเพื่อการส่งออก จากการสืบค้นข้อมูล พบว่า มะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้ามีผลขนาดใหญ่ ผลยาว 5-20 เซนติเมตร และกว้าง 4-8 เซนติเมตร ผลดิบมีรสชาดเปรี้ยว ผลแก่จัดมีรสชาดเปรี้ยวมันอมหวาน ผลสุกมีรสชาดหวาน แต่ไม่หวานจัดจะมีรสเปรี้ยวและมันผสมรวมอยู่ด้วยกัน เป็นมะม่วงกลิ่นแรง เนื้อละเอียด น้ำหนักต่อผลประมาณ 250-500 กรัม สามารถรับประทานได้ทั้งมะม่วงดิบและมะม่วงสุก การเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์เพิ่มปริมาณแมลงวันผลไม้สามารถเพาะเลี้ยงแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ได้มากกว่า 50,000 ตัว การปรับค่าความเที่ยงตรงของแท่งวัดอุณหภูมิ พบว่า แท่งวัดอุณหภูมิทั้งหมดสามารถคงอุณหภูมิที่ 47 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 99.9-100 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าไม่เปลี่ยนแปลงในช่วงเวลานาน 20 นาที การศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้าและมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ อบมะม่วงทั้ง 2 สายพันธุ์ที่อุณหภูมิผล 45, 46, 46.5 องศาเซลเซียส นาน 0 นาที และ47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5 และ10 นาที พบว่า แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 ในผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้ามีความทนทานต่อความร้อนมากกว่าหนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ มีอัตราการตายเฉลี่ย 99.61 และ99.72 เปอร์เซ็นต์ โดยหนอนวัย 1 ตายทั้งหมดที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ในผลมะม่วงทั้ง 2 สายพันธุ์ การศึกษาเบื้องต้นประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับ

สภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า อบมะม่วงที่อุณหภูมิผล 45, 46, 46.5 องศาเซลเซียส นาน 0 นาที และ47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5, 10, 15 และ20 นาที พบว่าแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 มีอัตราการตายเฉลี่ย 64.19, 78.09, 91.90, 98.57, 100, 100, 100 และ100 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 5 นาทีขึ้นไป สามารถกำจัดหนอนวัย 1 ในผลมะม่วงตายทั้งหมด การศึกษาประเมินประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า อบมะม่วงที่อุณหภูมิผล 47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5, 10, 15 และ20 นาที พบว่าแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 มีอัตราการตาย เฉลี่ย 99.86, 99.86, 100, 100 และ100 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 10 นาทีขึ้นไป สามารถกำจัดหนอนวัย 1 ในผลมะม่วงได้จำนวนประมาณ 7,225 ตัว ตายทั้งหมด การศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า เพื่อประเมินความเสียหายต่อคุณภาพผลมะม่วง อบมะม่วงที่อุณหภูมิ 47 และ48.5 องศาเซลเซียส นาน 0, 1 และ2 ชั่วโมง เก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 15 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน พบว่า การสูญเสียน้ำหนัก ปริมาณน้ำตาล ค่าความเป็นกรด อาการเกิดโรคของผลมะม่วง และอาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากมะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน โดยมะม่วงที่ผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 48.5 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง จะพบอาการเกิดโรคของผลมะม่วง และอาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำ เมื่อผ่านความร้อนที่อุณหภูมิสูงและคงความร้อนไว้เป็นเวลานาน

คำหลัก : แมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* มะม่วงมันเดือนเก้า วิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (MVHT)

คำนำ

ปัญหาการกักกันพืชระหว่างประเทศนับวันจะยุ่งยากและสลับซับซ้อนเพิ่มขึ้น เนื่องจากการขยายตัวทางการค้าระหว่างประเทศอย่างรวดเร็ว การนำเข้าและส่งออกผักและผลไม้มีความเสี่ยงสูงที่แมลงศัตรูพืชร้ายแรงด้านกักกันพืชจะแพร่ระบาดจากประเทศหนึ่งไปยังอีกประเทศหนึ่งโดยเฉพาะอย่างยิ่งแมลงวันผลไม้ การวิจัยและพัฒนาวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (plant quarantine treatment) เพื่อใช้สำหรับกำจัดแมลงในผักและผลไม้หลังการเก็บเกี่ยวจึงมีความสำคัญอย่างยิ่งต่องานกักกันพืชระหว่างประเทศ เพราะช่วยให้สามารถส่งผักและผลไม้ออกจากแหล่งแพร่ระบาดของแมลงวันผลไม้ได้ โดยปราศจากความเสี่ยงที่ศัตรูพืชร้ายแรงจะเล็ดลอดติดไปกับสินค้า (อุดร, 2541) การขยายตลาดของมะม่วงจะทำให้เกษตรกรสามารถมีช่องทางในการจำหน่ายได้กว้างขวางมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับนโยบายของกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ในการช่วยเหลือเกษตรกรที่ได้รับผลกระทบโดยส่งเสริมและผลักดันให้มีการส่งออกมะม่วงเพิ่มมากขึ้น

สินค้าเกษตรที่สำคัญของประเทศไทยหลายชนิดไม่สามารถส่งออกไปจำหน่ายยังประเทศที่เข้มงวดทางด้านกักกันพืช เนื่องจากประเทศไทยเป็นแหล่งแพร่ระบาดของโรคและศัตรูพืชที่สำคัญ

ทางด้านกักกันพืช ประเทศไทยมีแมลงวันผลไม้หลายชนิดแพร่ระบาด แต่ที่มีความสำคัญทางด้านกักกันพืชมี 2 ชนิด ได้แก่ แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* และแมลงวันแตง *B. cucurbitae* ซึ่งมีความสำคัญทางด้านกักกันพืชระหว่างประเทศ (White and Elson-Harris, 1992; Iwaizumi, 2004) ประเทศไทยปลูกมะม่วงได้หลากหลายสายพันธุ์ โดยแต่ละพันธุ์มีคุณสมบัติที่แตกต่างกันไปถึงแม้การส่งออกจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นทุกปี การส่งเสริมมะม่วงพันธุ์ใหม่ๆ เพื่อการส่งออกจัดเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะสามารถเพิ่มปริมาณและมูลค่าของการส่งออก และสามารถเปิดตลาดส่งออกมะม่วงไปต่างประเทศให้ได้มากยิ่งขึ้น มะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้ามีผลขนาดใหญ่ ผลยาว 5-20 เซนติเมตร และกว้าง 4-8 เซนติเมตร ผลดิบมีรสชาดเปรี้ยว ผลแก่จัดมีรสชาดเปรี้ยวมันอมหวาน ผลสุกมีรสชาดหวาน แต่ไม่หวานจัดจะมีรสเปรี้ยวและมันผสมรวมอยู่ด้วยกัน เป็นมะม่วงกลิ่นแรง เนื้อละเอียด น้ำหนักต่อผลประมาณ 250-500 กรัม เป็นมะม่วงอีกพันธุ์หนึ่งที่กำลังได้รับความนิยมเป็นอย่างมากในประเทศไทยและต่างประเทศ สามารถรับประทานได้ทั้งมะม่วงดิบและมะม่วงสุก จึงเหมาะสมที่จะส่งเสริมและผลักดันให้มีการส่งออกมากขึ้น (เทคโนโลยีชาวบ้าน, 2562) มะม่วงเป็นสินค้าเกษตรที่สำคัญชนิดหนึ่ง มะม่วงเป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ที่มีความสำคัญทางด้านกักกันพืชระหว่างประเทศ ได้แก่ แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ด้วยเหตุนี้มะม่วงจากประเทศไทยจึงถูกห้ามนำเข้าประเทศญี่ปุ่นภายใต้เงื่อนไขข้อกำหนดของกฎหมายทางด้านกักกันพืช ซึ่งจะถูกยกเลิกไปหากประเทศไทยสามารถพัฒนาวิธีการกำจัดศัตรูพืชที่ได้มาตรฐานของวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช เพื่อใช้สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงก่อนการส่งออก แต่อย่างไรก็ดีการส่งออกมะม่วงไปจำหน่ายยังตลาดต่างประเทศ ประเทศไทยจำเป็นต้องยึดหลักการตามข้อตกลงว่าด้วยการบังคับใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช(agreement on the application of sanitary and phytosanitary measures: SPS agreement) เนื่องมาจากประเทศไทยได้จัดทำข้อตกลงเขตการค้าเสรี (free trade area, FTA) กับหลายประเทศ โดยเฉพาะประเทศที่มีความเข้มงวดทางด้านกักกันพืช อาทิเช่น ประเทศญี่ปุ่น สาธารณรัฐเกาหลี สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ และไต้หวัน เป็นต้น มะม่วงเป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* species complex ซึ่งแมลงวันผลไม้ชนิดนี้จัดเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญทางด้านกักกันพืช (White and Elson-Harris, 1992; CABI, 2014) แมลงวันผลไม้เป็นแมลงศัตรูที่สำคัญของผลไม้หลายชนิด พบระบาดอยู่ทั่วโลก ทั้งในเขตหนาว เขตอบอุ่น และเขตร้อน (Shimizu *et al*., 2007; Jennifer and Gillett-Kaufman, 2012) รวมทั้งประเทศไทย (มนตรี, 2544; CABI, 2014) ในพื้นที่ภาคกลางและภาคเหนือ แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* มีพืชอาหารจำนวนมากถึง 123 ชนิด โดยเฉพาะผลไม้เปลือกบางหรืออ่อนนุ่มจะถูกทำลายได้ง่าย การเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้เกิดจากตัวเต็มวัยเพศเมียจะใช้อวัยวะวางไข่ (ovipositor) แทงลงใต้ผิวของผลไม้เพื่อวางไข่ เมื่อไข่ฟักเป็นตัวหนอนจะชอนไช กัดกินเนื้อภายในผลไม้ทำให้เน่าเสีย ซึ่งการเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้สามารถเข้าทำลายได้ตั้งแต่อยู่ในแปลงปลูก (กรมวิชาการเกษตร, 2562; Thomas, 2004; Jennifer and Gillett-Kaufman, 2012) การทำลายอาจรุนแรงมากถึง 100 เปอร์เซ็นต์ หากไม่มีการป้องกันกำจัดตามข้อตกลงของการอนุญาตการนำเข้าพืชผักและผลไม้ของประเทศญี่ปุ่น ประเทศไทยจำเป็นต้อง

ดำเนินการตามมาตรฐานขั้นตอนการยกเลิกห้ามการนำเข้าสิ่งต้องห้ามที่เป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ (standard procedure for lifting import ban of prohibited host plants of fruit flies) ของกระทรวงเกษตรป่าไม้และประมงญี่ปุ่น (ministry of agriculture, forestry and fisheries, MAFF) โดยมีขั้นตอนที่สำคัญคือกำหนดให้การขออนุญาตการนำเข้าสิ่งต้องห้ามที่เป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ต้องยื่นเสนอแผนการศึกษาวิจัยการกำจัดแมลงวันผลไม้ก่อนการส่งออกให้กับ MAFF พิจารณาตรวจสอบและให้ความเห็นชอบก่อน การวิจัยและพัฒนาวิธีการกำจัดแมลงวันผลไม้ต้องเป็นไปตามขั้นตอนที่กำหนดและมีประสิทธิภาพสูง ซึ่งได้มาตรฐานตามวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (MAFF, 2010; Miyazaki, 2010)

ในปี พ.ศ. 2529 กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ประสบความสำเร็จในการวิจัยพัฒนาวิธีการอบไอน้ำ (vapor heat treatment, VHT) ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ จำนวน 2 ชนิด คือ oriental fruit fly, *B. dorsalis* และmelon fly, *B. cucurbitae* ในผลมะม่วงพันธุ์หนังกลางวัน (Unahawutti *et al*., 1986) ต่อมาได้มีการวิจัยพัฒนาวิธีการกำจัดแมลงด้วยความร้อนกระบวนการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (modified vapor heat treatment, MVHT) ที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที มีประสิทธิภาพสูงสามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง (*Mangifera indica* Linn.) ครอบคลุมถึง 4 พันธุ์ คือ พันธุ์หนังกลางวัน น้ำดอกไม้ แรด และพิมเสนแดง โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของผลมะม่วง (Unahawutt *et al*., 1991) หลังจากนั้นได้ทำการวิจัยพัฒนาวิธีการกำจัดแมลงด้วยความร้อนโดยใช้วิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์เพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงพันธุ์มหาชนก เขียวเสวย และโชคอนันต์ ซึ่งในปี พ.ศ. 2549 และ2559 กระทรวงเกษตรป่าไม้และประมงญี่ปุ่นได้อนุญาตให้มีการนำเข้ามะม่วงเพิ่มเติมอีก 3 พันธุ์ ดังกล่าว (Intarakumheng *et al*., 2006; Intarakumheng *et al*., 2013) ในปี พ.ศ. 2545 ประสบความสำเร็จในการวิจัยพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์มีประสิทธิภาพสูงสามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมังคุด (*Garcinia mangostana* Linn.) ที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 58 นาที สามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ในกลุ่ม *B. dorsalis* species complex จำนวน 4 ชนิด คือ *B. carambolae*, *B. dorsalis*, *B. papayae*, และ*B. pyrifoliae* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Unahawutt *et al*., 1999) ต่อมาได้ศึกษาวิจัยและพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์มีประสิทธิภาพสูงสามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ในในกลุ่ม *B. dorsalis* species complex จำนวน 4 ชนิด ในผลส้มโอ (*Citrus maxima* (Burman) Merr.) พันธุ์ทองดีได้เป็นผลสำเร็จ ที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที (อุดร และคณะ 2549) และได้ส่งรายงานผลการศึกษาวิจัยวิธีการกำจัดแมลงวันผลไม้ดังกล่าวให้กับกระทรวงเกษตรป่าไม้และประมงญี่ปุ่นพิจารณา ซึ่งในช่วงต้นปี พ.ศ. 2555 กระทรวงเกษตรป่าไม้และประมงญี่ปุ่นได้อนุญาตให้มีการนำเข้าส้มโอพันธุ์ทองดีจากประเทศไทยเข้าไปจำหน่ายในประเทศญี่ปุ่นได้อีกหนึ่งชนิด (Unahawutti *et al*.,2006) นอกจากนี้ยังประสบความสำเร็จในการศึกษาวิจัยและพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์มีประสิทธิภาพสูงสามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมังคุด จำนวน 3 ชนิด คือ

B. dorsalis, *B. carambolae* และ *B. papayae* (ชัยณรัตน์ และคณะ 2562; 2563) และได้ส่งรายงานผลการศึกษาวิจัยให้กับทางสำนักงานกักกันและตรวจสอบสุขอนามัยพืชและสัตว์ไต้หวัน (bureau of animal and plant inspection and quarantine, BAPHIQ) พิจารณา โดยเมื่อวันที่ 12 กรกฎาคม 2562 สำนักงานกักกันและตรวจสอบสุขอนามัยพืชและสัตว์ไต้หวัน อนุญาตให้นำเข้าผลมังคุดสดจากประเทศไทยเข้าไปจำหน่ายในประเทศไต้หวันได้ ซึ่งทำให้ประเทศไทยประสบผลสำเร็จสามารถส่งออกมังคุดไปไต้หวันได้เป็นครั้งแรกในรอบ 16 ปี (Sonsiri *et al.*, 2015) ในปัจจุบันประเทศไทยได้มีการสร้างโรงงานอบไอน้ำเพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยความร้อนขนาดใหญ่ระดับการค้ากันอย่างแพร่หลาย โดยใช้กรรมวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (MVHT) ในการอบมะม่วง มังคุด และส้มโอ เพื่อการส่งออกไปประเทศญี่ปุ่น สาธารณรัฐเกาหลี นิวซีแลนด์ และไต้หวัน โดยยึดหลักการตามเงื่อนไขและข้อกำหนดของแต่ละประเทศ (มลนิภา, 2550; 2552; 2554; 2555; Srimartpirom, 2010)

การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการใช้วิธีการอบไอน้ำเพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ได้มีการศึกษาวิจัยกันอย่างแพร่หลายในต่างประเทศ เพราะสามารถกำจัดแมลงวันผลไม้หลายชนิดได้อย่างมีประสิทธิภาพ อีกทั้งยังปลอดภัยจากสารพิษตกค้างภายในผลจึงผ่านการยอมรับได้โดยง่ายจากประเทศผู้นำเข้า มะม่วงเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีศักยภาพสูงในการส่งออกแต่มะม่วงเป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องดำเนินการวิจัยและพัฒนาวิธีการกำจัดแมลงด้วยความร้อนกรรมวิธีอบไอน้ำ ตามขั้นตอนที่มีประสิทธิภาพและได้มาตรฐานตามวิธีการกำจัดศัตรูพืชทางด้านกักกันพืช

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แมลงที่ใช้ในการทดลอง

- แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis*

2.พืชที่ใช้ในการทดลอง

- ผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า *M. indica*

3. เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

- ตู้อบความร้อนกำจัดแมลงวันผลไม้ขนาดเล็ก“Sanshu” vapor heat treatment system (differential pressure type) รุ่น EHK-1000B และEHK-1000D, Sanshu Sangyo Co., Ltd.,Kagoshima, Japan

- เครื่องลดอุณหภูมิผลไม้ “Sanshu” shower cooling system (differential pressure type) รุ่น SHS-12, Sanshu Sangyo Co., Ltd., Kagoshima, Japan

- เครื่องอ่างน้ำร้อน (water bath; Yamato, model: DK-43)

- ปรอทวัดความร้อนมาตรฐาน (standard thermometer)

- กล้องจุลทรรศน์ (microscope) และมีดผ่าตัด (scapel)

- เครื่องใช้ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการต่างๆ เช่น จานทดลอง (petri dish) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร กระบะพลาสติก และอุปกรณ์อื่นๆ เช่น ปิเปต (pipettes) หลอดทดลอง (test tube) บีกเกอร์ (beaker) หลอดหยด (dropper) ปากคีบ (forceps) ผ้ามัสลิน กระดาษกรองสีดำ พู่กัน หนังยาง มีด และผ้าขาวบาง

วิธีการ

1. สืบค้นฐานข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะประจำพันธุ์ชีววิทยาของมะม่วงมันเดือนเก้า เพื่อใช้ในการทดลอง

โดยการสืบค้นข้อมูลทางเว็บไซต์ของกรมวิชาการเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร และจากแหล่งข้อมูลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องต่าง ๆ ทั้งในประเทศและต่างประเทศ ซึ่งได้จัดหาและคัดเลือกมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า **(Figure 1)** เพื่อนำมาใช้ในการทดลองในขั้นตอนของการกำจัดแมลงด้วยความร้อน และขั้นตอนของการประเมินความเสียหายต่อความร้อน จากอำเภอหนองเสือ และอำเภอลาดหลุมแก้ว จังหวัดปทุมธานี ใช้ผลมะม่วงน้ำหนัก 300-400 กรัม/ผล (มะม่วงขนาดกลาง) นำมาเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิและความชื้น ของกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช เพื่อรักษาคุณภาพของมะม่วงมันเดือนเก้า และนำมาใช้ในขั้นตอนของการทดลองต่อไป

โดยน้ำหนักผลของมะม่วงมันเดือนเก้าที่ใช้ในการทดลอง แบ่งน้ำหนักได้ดังนี้

Size		Weight (g)
Super small	(SS)	< 200
Small	(S)	200-300
Medium	(M)	300-400
Large	(L)	400-500
Extra large	(XL)	> 500

2. แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ที่ใช้ในการทดลอง

2.1 แหล่งที่มาของแมลงวันผลไม้

แมลงวันผลไม้ที่ใช้ในการทดลองได้มาจากแมลงวันผลไม้ที่เข้าทำลายผลมะเฟือง ในพื้นที่อำเภอกาญจนดิษฐ์ จังหวัดสุราษฎร์ธานี อำเภอหัวไทร จังหวัดนครศรีธรรมราช และอำเภอควนขนุน จังหวัดพัทลุง โดยทำการรวบรวมและเลี้ยงจนเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัย จากนั้นจะคัดแยกชนิดอย่างละเอียดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ คัดแยกเอาเฉพาะแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* แล้วจึงนำแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยไปเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการและเพิ่มจำนวนให้มากขึ้นโดยใช้การเลี้ยงด้วยอาหารเทียม (artificial diet) ที่ห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้ ของกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2.2 เทคนิคและวิธีการเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์แมลงวันผลไม้

แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ที่ใช้ในการทดลองทั้งหมดใช้เทคนิคและวิธีการเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์ตามวิธีการของ Watanabe *et al*., (1973) และอุดร (2541)

สภาพห้องเลี้ยงแมลง: ห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้เป็นห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ ความชื้นและแสงสว่าง **(Figure 2)** ห้องเลี้ยงแมลงมีขนาด 3.5x4.6x2.3 เมตร อุณหภูมิ 26±1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65±5 เปอร์เซ็นต์ แสงสว่างภายในห้องได้จากหลอดไฟฟลูโอเรสเซนส์ (fluorescent lights) จำนวน 20 หลอด ติดตั้งบนเพดานห้องเลี้ยงแมลง มีระยะรอบของความมืดและสว่าง (light-dark cycle) เป็น 12:12 ชั่วโมง ไฟจะสว่างในช่วงเวลา 6:00-18:00 นาฬิกา ภายในห้องเลี้ยงแมลงติดหลอดไฟขนาด 15 วัตต์ จำนวน 1 หลอด ให้แสงสลัว (dim light) เป็นเวลานาน 15 นาที ก่อนและหลังที่ไฟในห้องเลี้ยงแมลงจะสว่างเพื่อช่วยกระตุ้นให้แมลงวันผลไม้ผสมพันธุ์

ตัวเต็มวัย: เลี้ยงแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยกรงใหญ่ จำนวนประมาณ 20,000 ตัว/กรง และกรงเล็กจำนวนประมาณ 2,000 ตัว/กรง กรงเลี้ยงแมลงมีขนาด 65.5x69.0x77.0 เซนติเมตร และ35x50x35 เซนติเมตร ทำด้วยมุ้งลวดตาข่ายอลูมิเนียมขนาด 16 เมช ภายในกรงมีจานพลาสติกบรรจุอาหารสำหรับตัวเต็มวัย ซึ่งประกอบด้วยส่วนผสมโดยน้ำหนักดังนี้ น้ำตาล 10 ส่วน เอ็นไซม์โปรตีนไฮโดรไลเซส (enzymatic protein hydrolysate; Amber series 100) 1 ส่วน และยีสต์เอ็กเทรค (yeast extract) 1 ส่วน การให้น้ำจะใช้ขวดพลาสติกทรงกระบอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.0 เซนติเมตร สูง 7.5 เซนติเมตร ฝาขวดเจาะรูขนาด 1 มิลลิเมตร จำนวน 3 รู วิธีให้น้ำจะคว่ำขวดน้ำลงบนกระดาษกรองซึ่งวางอยู่บนหลังกรงเลี้ยงแมลง หลังจากเลี้ยงแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยครบ 6 สัปดาห์ แมลงที่เหลือในกรงทั้งหมดจะถูกนำไปทำลายและทำความสะอาดกรงเลี้ยงแมลง เพื่อเตรียมไว้สำหรับใส่แมลงในรุ่นต่อไป ในระหว่างการทดลองจะต้องมีแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยอายุต่างๆ กันเพื่อเตรียมไว้ใช้ในการทดลอง กรงใหญ่ไม่น้อยกว่า 5 กรง และกรงเล็กไม่น้อยกว่า 10 กรง

วิธีการเก็บไข่: เก็บไข่แมลงวันผลไม้เมื่อตัวเต็มวัยมีอายุประมาณ 15 วัน โดยใช้กระบอกพลาสติก ขนาด 7x17 เซนติเมตร ด้านข้างเจาะรูขนาด 0.4 มิลลิเมตร ประมาณ 80-100 รู **(Figure 3)** เพื่อให้แมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยเพศเมียแทงอวัยวะวางไข่ผ่านรูจากด้านข้างเข้าไปวางไข่ภายในกระบอกพลาสติกในการเก็บไข่แต่ละครั้งจะใส่น้ำส้มประมาณ 30 มิลลิลิตร ไว้ในกระบอกเก็บไข่เพื่อกระตุ้นให้แมลงมาวางไข่ในขณะเดียวกันยังจะให้ความชื้นภายในกระบอกพลาสติกป้องกันไม่ให้ไข่ของแมลงแห้งและแตก รวบรวมไข่แมลงด้วยวิธีเติมน้ำสะอาดในกระบอกพลาสติกเก็บไข่แล้วเขย่าเบาๆ เพื่อให้ไข่ที่ติดอยู่ด้านข้างภายในกระบอกหลุด ใช้ผ้ามัสลินขนาด 150 เมช แยกไข่ออกจากน้ำส้ม รวบรวมไข่ทั้งหมดที่ได้ใส่ในน้ำกลั่นเก็บไว้ในถ้วยแก้ว (beaker) ขนาด 200 มิลลิเมตร หลังจากนั้นนำไข่ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารเทียมพร้อมทั้งตรวจหาอัตราการฟักไข่ด้วยวิธีสุ่มไข่จำนวน 100 ฟอง วางไข่ให้กระจายเป็นแถวยาวบนกระดาษกรองสีดำที่ชุ่มน้ำเก็บไว้ในจานแก้ว (petri-dish) ตรวจนับจำนวนไข่ที่ฟักเป็นตัวหนอน 2 วัน

ระยะหนอน: เลี้ยงหนอนแมลงวันผลไม้ด้วยอาหารเทียมบนสูตรข้าวโพดป่น อาหารเทียมสำหรับระยะหนอนประกอบด้วยส่วนผสมดังนี้ข้าวโพดบด 50 กรัม กระดาษชำระ 3 กรัม น้ำกลั่น 85 มิลลิเมตร น้ำตาล 5 กรัม brewer's yeast 5 กรัม butyl p-hydroxybenzoate 0.15 กรัม HCl (conc.) 0.2 มิลลิเมตร นำอาหารเทียมประมาณ 900 กรัม ใส่ในถาดพลาสติกขนาด 23x32x5

เซนติเมตร ตัดกระดาษชำระขนาด 5.5x11.0 เซนติเมตร จำนวน 2 ชิ้น วางไว้บนอาหารเทียม ใช้หลอดดูดขนาด 1 มิลลิเมตร ตวงไข่จำนวน 0.4 มิลลิเมตร แล้วนำไปวางบนกระดาษชำระ เกลี่ยไข่ด้วยพู่กันให้กระจายทั่วๆ กันบนกระดาษชำระ ด้วยวิธีการนี้จะช่วยให้หนอนไม่แก่งแย่งอาหารกันเมื่อฟักออกจากไข่ ปิดถาดอาหารเทียมด้วยถาดเปล่าอีกหนึ่งใบ เพื่อให้ภายในมีความชื้น ซึ่งเป็นสิ่งจำเป็นมากสำหรับไข่จะฟักออกเป็นหนอน นำถาดอาหารเก็บไว้ในห้องเลี้ยงแมลงจนกระทั่งหนอนเจริญเติบโตเต็มที่

ระยะดักแด้: หนอนแมลงวันผลไม้เจริญเติบโตเต็มที่พร้อมที่จะเข้าดักแด้ภายใน 6 วัน เปิดฝาครอบถาดอาหารเทียม และย้ายไปวางไว้ในภาชนะสำหรับให้แมลงเข้าดักแด้ ซึ่งเป็นกระบะพลาสติกขนาด 43x74x23 เซนติเมตร ภายในบรรจุขี้เลื่อย ขนาด 20 เมซ พรมน้ำให้ชื้นพอประมาณสำหรับให้หนอนเข้าดักแด้ หนอนวัย 3 ที่เจริญเติบโตเต็มที่พร้อมจะเข้าดักแด้จะดีดตัวออกจากอาหารเทียมและเข้าดักแด้ในขี้เลื่อย ก่อนที่ดักแด้จะออกเป็นตัวเต็มวัยประมาณ 2 วัน ใช้ตระแกรงขนาด 20 เมซ ร่อนแยกเอาดักแด้ออกจากขี้เลื่อย คัดดักแด้ที่ไม่สมบูรณ์หรือตายทิ้งให้หมด นำดักแด้ที่สมบูรณ์จำนวนประมาณ 20,000 และ2,000 ดักแด้ ใส่ในถาดพลาสติก ขนาด 23x32x5 เซนติเมตร แล้วนำไปวางไว้ในกรงเลี้ยงแมลงที่เตรียมไว้รอให้ออกเป็นตัวเต็มวัย

การควบคุมคุณภาพแมลง: แมลงวันผลไม้ซึ่งเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการจะต้องมีความแข็งแรง เพื่อที่ข้อมูลจากผลการศึกษาวิจัยจะได้ถูกต้องและเป็นที่ยอมรับ ดังนั้นจึงต้องมีการตรวจสอบคุณภาพของแมลงเป็นประจำ โดยในการเลี้ยงแมลงแต่ละรุ่นจะตรวจสอบอัตราการฟักไข่ (hatching rate) อัตราการออกเป็นตัวเต็มวัย (emerging rate) น้ำหนักของดักแด้ และอัตราส่วนของเพศผู้และเพศเมีย (sex ratio)

3. วิธีเตรียมแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 สำหรับใช้ในการทดลอง

มะม่วงที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ มะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า ผลมะม่วงมีขนาดกลางน้ำหนัก 300-400 กรัม/ผล โดยตรวจสภาพความผิดปกติของผลมะม่วง ซึ่งมะม่วงทุกผลจะต้องไม่มีร่องรอยการทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือรอยแตกบนผลมะม่วง การเตรียมผลมะม่วงในขั้นตอนของการกำจัดแมลงด้วยความร้อน จะต้องทำความสะอาดผลมะม่วงและคัดขนาดตามน้ำหนัก โดยมะม่วงที่ใช้ในการทดลองจะต้องสุก ซึ่งการเตรียมผลมะม่วงให้สุกนั้นมีวิธีการทำโดยวางมะม่วงในตะกร้าพลาสติกบ่มมะม่วงโดยใช้แคลเซียมคาร์ไบต์ (CaC2) เพื่อเป็นการกระตุ้นการสุกของผลมะม่วง ปิดตะกร้าด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ หลังจากนั้นประมาณ 2-3 วัน มะม่วงที่ใช้ในการทดลองจะสุกเต็มที่ จากนั้นนำมะม่วงที่สุกไปเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิประมาณ 10-15 องศาเซลเซียส เพื่อรอการนำไปใช้ในการทดลอง

3.1 การเตรียมแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1

เก็บไข่จากแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยซึ่งเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการตามวิธีการข้างต้น รวบรวมไข่ที่ได้วางไว้บนผ้าที่ชุ่มน้ำ เก็บไว้ในกล่องพลาสติกขนาด 12x18x4.5 เซนติเมตร แล้วนำไปไว้ในห้องเลี้ยงแมลงเป็นเวลา 2 วัน เมื่อไข่ฟักออกเป็นหนอนวัย 1 ใช้ตะแกรงขนาด 80 เมซ ร่อนแยกหนอนวัย 1 ออกจากเปลือกไข่ ย้ายหนอนวัย 1 ใส่ในน้ำกลั่น เก็บไว้ในถ้วยแก้ว (beaker) ขนาด 200 มิลลิลิตร ใช้

หลอดดูดสารละลาย (dropper) ขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดหนอนวัย 1 นำไปใส่ไว้ในจานแก้ว (petri-dish) ขนาด 10x2 เซนติเมตร พร้อมทั้งนับหนอนภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3.2 การเตรียมมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้าให้มีแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 อยู่ภายในผล

เก็บไข่จากแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ตัวเต็มวัยซึ่งเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการตามวิธีการข้างต้น รวบรวมไข่ที่ได้วางไว้บนผ้าที่ชุ่มน้ำ เก็บไว้ในกล่องพลาสติกขนาด 12x18x4.5 เซนติเมตร แล้วนำไปไว้ในห้องเลี้ยงแมลงเป็นเวลา 2 วัน เมื่อไข่ฟักออกเป็นหนอนวัย 1 ใช้ตะแกรงขนาด 80 เมช ร่อนแยกหนอนวัย 1 ออกจากเปลือกไข่ ย้ายหนอนวัย 1 ใส่ในน้ำกลั่น เก็บไว้ในถ้วยแก้ว (beaker) ขนาด 200 มิลลิลิตร ใช้หลอดดูดสารละลาย (dropper) ขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดหนอนวัย 1 นำไปใส่ไว้ในจานแก้ว (petri-dish) ขนาด 10x2 เซนติเมตร พร้อมทั้งนับหนอนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ **(Figure 4)** ใช้พู่กันเขี่ยหนอนวัย 1 ให้รวมกันเป็นกลุ่มๆ ละ 100 ตัว ในการทดลองใช้มะม่วงขนาดกลางน้ำหนัก 300-400 กรัม/ผล ใช้มีดผ่าตัด (scapel) เจาะเข้าไปภายในเนื้อมะม่วงให้ลึกประมาณ 2 มิลลิเมตร กรีดเป็นรอยแผลสี่เหลี่ยม 3 ด้าน ขนาด 2x3 เซนติเมตร เจาะรูขนาด 2 มิลลิเมตร ตรงกลางรอยแผลสี่เหลี่ยม จำนวน 1 รู **(Figure 5)** ลอกเปลือกมะม่วงให้แยกออกจากเนื้อตรงบริเวณรอยแผล แล้วใช้มีดผ่าตัดกรีดเนื้อมะม่วงให้เป็นรอยแผล เพื่อช่วยให้หนอนวัย 1 ชอนไชเข้าไปในผลมะม่วงได้ง่ายขึ้น ใส่หนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วง จำนวน 100 ตัว/ผล ตรงบริเวณที่กรีดเนื้อมะม่วงให้เป็นรอยแผล ปิดด้วยเทปกาว เพื่อป้องกันไม่ให้หนอนวัย 1 เล็ดลอดออกจากผล **(Figure 6)** เสร็จแล้วปล่อยไว้ประมาณ 1 ชั่วโมง ให้หนอนชอนไชลึกเข้าไปภายในผลมะม่วงก่อนแล้วจึงนำมะม่วงเข้าเครื่องต้อบความร้อน

4. รูปแบบของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า

ในการทดลองทั้งหมดใช้เครื่องต้อบความร้อนกำจัดแมลงวันผลไม้ขนาดเล็กสำหรับทดลอง จำนวน 2 เครื่อง **(Figure 7)** ใช้มะม่วงที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิ (sensor fruit) น้ำหนัก 350±25 กรัม/ผล จำนวน 3 ผล วางไว้ในกระบะชั้นล่างสุด ซึ่งใช้เป็นตัวแทนแสดงอุณหภูมิของมะม่วงทั้งหมดภายในเครื่องต้อบความร้อน เมื่อมะม่วงที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิ จำนวน 3 ผล มีอุณหภูมิคงอยู่ที่ 47 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาตามที่กำหนด แสดงว่าขณะนั้นมะม่วงทดลองทั้งหมดในเครื่องต้อบความร้อนมีอุณหภูมิอยู่ในระดับเดียวกันกับมะม่วงที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิ

การอบมะม่วงด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (modified vapor heat treatment, MVHT) เป็นกรรมวิธีที่ให้ความร้อนกับมะม่วงโดยอาศัยวิธีอบไอน้ำ (vapor heat treatment, VHT) ร่วมกับวิธีอบอากาศร้อน (hot air treatment, HAT) โดยช่วงแรกจะให้ความร้อนกับมะม่วงด้วยวิธีอบอากาศร้อน (HAT) อากาศร้อนที่หมุนเวียนภายในตู้อบความร้อนผ่านมะม่วงจะมีความชื้นสัมพัทธ์ระหว่าง 50-80 เปอร์เซ็นต์ จนกระทั่งเมื่ออุณหภูมิในผลมะม่วงเพิ่มขึ้นถึง 43 องศาเซลเซียส แล้วจึงปรับเปลี่ยนเป็นวิธีอบไอน้ำ (VHT) ซึ่งอากาศร้อนจะอยู่ในสภาพที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำ (saturated condition) ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วงถึง 47 องศาเซลเซียส และคงไว้ที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 0, 1 และ2 ชั่งโมง (เซ็นเซอร์

กำหนดอุณหภูมิผลมะม่วง (sensor fruit) จะต้องอ่านค่าได้ 47 องศาเซลเซียส ทั้ง 3 เส้น) ขณะอบมะม่วงทำการบันทึกอุณหภูมิ ความชื้น และระยะเวลาในการอบมะม่วง จากเครื่องบันทึกอุณหภูมิและความชื้น (hybrid recorder) ของเครื่องตู้อบความร้อนตามค่าที่กำหนดไว้ (อุดร, 2541; อุดร และคณะ, 2549; Unahawutti *et al*., 2006)

ซึ่งแบบแผนของการเพิ่มอุณหภูมิภายในเครื่องตู้อบความร้อน (pattern MVHT test for mango) ที่ใช้ในการทดลองในผลมะม่วงนี้ทั้งหมดใช้แผนวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ดังนี้

Pattern MVHT test for mango							
Temperature (°C)	30.0	30.0	35.0	40.0	45.0	48.0	48.0
Time (h)	0:00	0:05	0:10	0:10	0:10	0:10	5:00
Humidity RH (%)	51.0	51.0	95.0	95.0			
Time (h)	0:00	5:00	0:10	5:00			

5. เครื่องตู้อบความร้อนและการปรับค่าความเที่ยงตรงของแท่งวัดอุณหภูมิ

ดำเนินการด้วยเครื่องตู้อบความร้อนกำจัดแมลงวันผลไม้ขนาดเล็กสำหรับทดลอง จำนวน 2 เครื่อง ก่อนที่จะเริ่มทำการทดลอง แท่งวัดอุณหภูมิที่ติดตั้งภายในเครื่องตู้อบความร้อนทั้งหมดจะต้องนำมาตรวจสอบความเที่ยงตรง และปรับค่าความคลาดเคลื่อนอุณหภูมิที่วัดได้ของแท่งวัดอุณหภูมิแต่ละแท่ง (calibration sensor) โดยตรวจสอบเปรียบเทียบกับปรอทวัดความร้อนมาตรฐาน (standard thermometer) ซึ่งมีวิธีการดังนี้ จุ่มแท่งวัดอุณหภูมิทั้งหมดรวมทั้งปรอทวัดความร้อนมาตรฐานลงในเครื่องอ่างน้ำร้อน (water bath; Yamato, model: DK-43) **(Figure 8)** ตั้งค่าเครื่องอ่างน้ำร้อนให้มีอุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส เมื่อน้ำร้อนและมีอุณหภูมิคงที่จึงเริ่มการบันทึกอุณหภูมิเป็นระยะเวลานาน 20 นาที

ปรอทวัดความร้อนมาตรฐานจะแสดงค่าอุณหภูมิจริงของน้ำในเครื่องอ่างน้ำร้อน อ่านค่าอุณหภูมิของแท่งวัดอุณหภูมิแต่ละแท่งจากเครื่องบันทึกอุณหภูมิและความชื้น (hybrid recorder; Chino, model: LE series และFTH, model: FLE-073504E) ที่อ่านค่าได้ทุก 5 นาที **(Figure 9)** เครื่องตู้อบความร้อนจะติดตั้งอุปกรณ์พิเศษ คือชุดปรับค่าความต้านทานกระแสไฟฟ้า (correction resistance unit) ซึ่งเป็นอุปกรณ์สำหรับปรับค่าอุณหภูมิที่แท่งวัดความร้อนอ่านได้ให้เท่ากับค่าอุณหภูมิที่อ่านได้จากปรอทวัดความร้อนมาตรฐาน การทดสอบความเที่ยงตรงของแท่งวัดอุณหภูมิจะเสร็จสิ้นเมื่อแท่งวัดอุณหภูมิทั้งหมดแสดงค่าอุณหภูมิที่ 47 องศาเซลเซียส โดยมีค่าไม่เปลี่ยนแปลงเป็นระยะเวลานานติดต่อกันในช่วงเวลา 20 นาที

6. แบบแผนการเพิ่มอุณหภูมิในเครื่องตู้อบความร้อน

แบบแผนของการเพิ่มอุณหภูมิในเครื่องตู้อบความร้อนที่ใช้ในการทดลองการกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงนี้ทั้งหมดใช้แผนการอบไอน้ำดังนี้ เริ่มต้นการเพิ่มอุณหภูมิจากอุณหภูมิห้อง โดย

ช่วงแรกจะให้ความร้อนด้วยวิธีอบอากาศร้อน อากาศร้อนที่หมุนเวียนภายในตู้อบความร้อนจะมีความชื้นสัมพัทธ์ระหว่าง 50-80 เปอร์เซ็นต์ จนกระทั่งเมื่ออุณหภูมิภายในตู้เพิ่มขึ้นถึงระดับหนึ่งและอุณหภูมิภายในผลมะม่วงมีอุณหภูมิที่ 43 องศาเซลเซียส จึงปรับเปลี่ยนการให้ความร้อนเป็นวิธีอบไอน้ำ อากาศร้อนมีความชื้นสัมพัทธ์เพิ่มขึ้นอยู่ในสภาพที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำโดยความชื้นสัมพัทธ์ภายในเครื่องตู้อบความร้อนต้องมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ จนถึงอุณหภูมิภายในผลมะม่วงได้ 47 องศาเซลเซียส ตามระยะเวลาที่กำหนดตลอดเวลาที่ทำการอบไอน้ำ

6.1 ขั้นตอนการกำจัดแมลงด้วยความร้อน

1. อุณหภูมิสูงสุดของอากาศภายในห้องบรรจุผลไม้ = 48 องศาเซลเซียส
2. อุณหภูมิภายในสุดผลมะม่วง = 47 องศาเซลเซียส
3. ระดับความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศ
   ก่อนอุณหภูมิผล 43 องศาเซลเซียส = 51 เปอร์เซ็นต์ RH %
   หลังอุณหภูมิผล 43 องศาเซลเซียส = 95 เปอร์เซ็นต์ RH %
4. วิธีการควบคุมการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิอากาศภายในห้องบรรจุผลไม้ = อุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นแต่ละระดับในช่วงเวลากำหนด (stepped temp. MVHT)
5. วิธีการลดอุณหภูมิผลมะม่วง = ลดอุณหภูมิด้วยน้ำ นาน 1 ชั่วโมง
6. การตรวจสอบการตายของแมลงวันผลไม้ = 5 วัน หลังจากผ่านความร้อน

ในการทดลองใช้มะม่วงที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิ (sensor fruit) น้ำหนัก 350±25 กรัม/ผล จำนวน 3 ผล วางไว้ในกระบะชั้นล่างสุด **(Figure 10)** ซึ่งใช้เป็นตัวแทนแสดงอุณหภูมิของมะม่วงทั้งหมดภายในเครื่องตู้อบความร้อน เมื่อมะม่วงที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิ จำนวน 2 ผล มีอุณหภูมิคงอยู่ที่ 47 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาตามที่กำหนด แสดงว่าขณะนั้นมะม่วงทดลองทั้งหมดในเครื่องตู้อบความร้อนมีอุณหภูมิอยู่ในระดับเดียวกันกับมะม่วงที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิ

6.2 ขั้นตอนการประเมินความเสียหายต่อความร้อน

1. อุณหภูมิสูงสุดของอากาศภายในห้องบรรจุผลไม้ = 48 และ49.5 องศาเซลเซียส
2. อุณหภูมิภายในสุดผลมะม่วง = 47 และ48.5 องศาเซลเซียส
3. ระดับความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศ
   ก่อนอุณหภูมิผล 43 องศาเซลเซียส = 65 เปอร์เซ็นต์ RH %
   หลังอุณหภูมิผล 43 องศาเซลเซียส = 95 เปอร์เซ็นต์ RH %
4. วิธีการควบคุมการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิอากาศภายในห้องบรรจุผลไม้ = อุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นแต่ละระดับในช่วงเวลากำหนด (stepped temp. MVHT)
5. วิธีการลดอุณหภูมิผลมะม่วง = ลดอุณหภูมิด้วยลม นาน 1 ชั่วโมง

6. การประเมินความเสียหายต่อความร้อน = 7 วัน และ14 วัน หลังจากผ่านความร้อน

ในการทดลองใช้มะม่วงที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิ (sensor fruit) น้ำหนัก 350±25 กรัม/ผล จำนวน 3 ผล วางไว้ในกระบะชั้นล่างสุด ซึ่งใช้เป็นตัวแทนแสดงอุณหภูมิของมะม่วงทั้งหมดภายในเครื่องต้อบความร้อน เมื่อมะม่วงที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิ จำนวน 3 ผล มีอุณหภูมิคงอยู่ที่ 47 และ 48.5 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาตามที่กำหนด แสดงว่าขณะนั้นมะม่วงทดลองทั้งหมดในเครื่องต้อบความร้อนมีอุณหภูมิอยู่ในระดับเดียวกันกับมะม่วงที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิ

7. การจัดการกับมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้าหลังจากการอบไอน้ำ

ในขั้นตอนการกำจัดแมลงด้วยความร้อน แยกเก็บมะม่วงทดลองที่ผ่านความร้อน (treatment) และไม่ผ่านความร้อน (control) แต่ละระยะเวลาใส่ในถุงผ้าปิดปากถุง และวางไว้ในกระบะพลาสติกขนาด 36x54x15 เซนติเมตร คลุมด้วยผ้าปิดกระบะ **(Figure 11)** หลังจากนั้นนำมะม่วงเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิและความชื้นที่อุณหภูมิ 25-27 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 70-80 เปอร์เซ็นต์ ตรวจนับจำนวนหนอนแมลงวันผลไม้ที่รอดชีวิตในมะม่วงแต่ละผล หลังจากผ่านความร้อนเป็นเวลานาน 5 วัน **(Figure 12)** โดยบันทึกจำนวนหนอนที่รอดชีวิตทั้งหมดในมะม่วงทดลองที่อุณหภูมิและระยะเวลาที่กำหนดนำข้อมูลไปคำนวณหาอัตราการตายที่แท้จริง (corrected mortality) โดยอาศัยสูตรของ Abbott (Abbott, 1925)

8. การศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้าและมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์

การศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงทั้ง 2 สายพันธุ์ ดำเนินการทดลองด้วยเครื่องต้อบความร้อนกำจัดแมลงวันผลไม้ขนาดเล็ก จำนวน 2 เครื่อง ใช้มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เป็นตัวเปรียบเทียบพันธุ์กับมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า โดยใช้หนอนวัย 1 เพื่อเป็นตัวแทนของแมลงในการเตรียมมะม่วงให้มีแมลงวันผลไม้อยู่ภายในผล (artificial infestation method) จากรายงานของอุดร และคณะ (2529; 2536) และUnahawutti *et al*. (1986; 1991) ได้ศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* และ *B. cucurbitae* ในผลมะม่วงหนังกลางวัน น้ำดอกไม้ แรด และพิมเสนแดง เพื่อกำหนดระยะการเจริญเติบโตที่ทนทานต่อความร้อนมากที่สุด อบมะม่วงกำจัดแมลงวันผลไม้ในระยะไข่ และหนอนวัย 1 เพื่อเปรียบเทียบอัตราการตายของแมลงทั้งสองระยะการเจริญเติบโต โดยอบมะม่วงให้อุณหภูมิภายในผลมะม่วงเพิ่มขึ้นถึง 43, 45, 46, 46.5 องศาเซลเซียส นาน 0 นาที และ46.5 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที จากผลการทดลอง พบว่าระยะไข่ตายทั้งหมดที่อุณหภูมิ 46.5 องศาเซลเซียส นาน 0 นาที ส่วนหนอนวัย 1 ที่อุณหภูมิ 46.5 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ยังคงรอดชีวิต จากผลการทดลองแสดงว่าหนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงมีความทนทานต่อความร้อนมากที่สุด โดยที่หนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้แสดงลักษณะความต้านทานต่อความร้อนแตกต่างกันเมื่ออยู่ในมะม่วงหนังกลางวัน น้ำดอกไม้ แรด และพิมเสนแดง โดยที่หนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้อยู่ในมะม่วงพิมเสนแดงจะมี

ความสามารถต้านทานต่อความร้อนได้ดีกว่าเมื่ออยู่ในมะม่วงหนังกลางวัน น้ำดอกไม้ และแรด เนื่องจากมะม่วงต่างพันธุ์กันมีคุณสมบัติที่แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด ทั้งลักษณะรูปร่างภายนอก เปลือก สี เนื้อ กลิ่น และรสชาด อาจทำให้หนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงมีโอกาสรอดชีวิตได้ไม่เท่ากัน

มะม่วงที่ใช้ในการทดลองมีน้ำหนัก 300-400 กรัม/ผล (มะม่วงขนาดกลาง) ใช้มะม่วงทั้งหมดจำนวน 270 ผล นำมะม่วงทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อนวางเรียงมะม่วงที่ทำการใส่หนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง ผลละ 100 ตัว ในถาดบรรจุผลไม้ จำนวน 10 ผล/ถาด ซึ่งในถาดเดียวกันนั้นแยกเป็นมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า จำนวน 5 ผล และมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ จำนวน 5 ผล **(Figure13)** อบมะม่วงในเครื่องตู้อบความร้อนเดียวกัน โดยการเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วงให้เป็นไปตามข้อ 6 และ6.1 อบมะม่วงที่อุณหภูมิผล 45, 46, 46.5 องศาเซลเซียส นาน 0 นาที และ47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5 และ10 นาที แต่ละระยะเวลาที่กำหนดมีมะม่วงที่ผ่านความร้อน (treatment) จำนวน 180 ผล และมีมะม่วงที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อนจำนวน 90 ผล ทำการทดลอง 3 ครั้ง

9. การศึกษาเบื้องต้นประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า

การศึกษาเบื้องต้นประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วง มะม่วงที่ใช้ในการทดลองมีน้ำหนัก 300-400 กรัม/ผล (มะม่วงขนาดกลาง) ใช้มะม่วงทั้งหมดจำนวน 165 ผล นำมะม่วงทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อนวางเรียงมะม่วงที่ทำการใส่หนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง ผลละ 100 ตัว จำนวน 5 ผล/ถาด**(Figure14)** อบมะม่วงโดยการเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วงให้เป็นไปตามข้อ 6 และ6.1 อบมะม่วงที่อุณหภูมิผล 45, 46, 46.5 องศาเซลเซียส นาน 0 นาที และ47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5, 10, 15 และ 20 นาที แต่ละระยะเวลาที่กำหนดมีมะม่วงที่ผ่านความร้อน (treatment) จำนวน 120 ผล และมีมะม่วงที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อนจำนวน 45 ผล ทำการทดลอง 3 ครั้ง

10. การศึกษาประเมินประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า

การศึกษาประเมินประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วง มะม่วงที่ใช้ในการทดลองมีน้ำหนัก 300-400 กรัม/ผล (มะม่วงขนาดกลาง) ใช้มะม่วงทั้งหมดจำนวน 140 ผล นำมะม่วงทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อน **(Figure15)** วางเรียงมะม่วงที่ทำการใส่หนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง ผลละ 100 ตัว จำนวน 10 ผล/ถาด อบมะม่วงโดยการเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วงให้เป็นไปตามข้อ 6 และ6.1 อบมะม่วงที่อุณหภูมิผล 47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5, 10, 15 และ20 นาที แต่ละระยะเวลาที่กำหนดมีมะม่วงที่ผ่านความร้อน (treatment) จำนวน 100 ผล และมีมะม่วงที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อนจำนวน 40 ผล ทำการทดลอง 2 ครั้ง

11. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า

ในขั้นตอนการประเมินความเสียหายของกระบวนการอบไอน้ำต่อมะม่วง ตรวจสภาพความผิดปกติของผลมะม่วง ซึ่งมะม่วงทุกผลจะต้องไม่มีร่องรอยการทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือรอยแตก มะม่วงที่ใช้ในการทดลองมีน้ำหนัก 300-400 กรัม/ผล (มะม่วงขนาดกลาง) ใช้มะม่วงทั้งหมดจำนวน 160 ผล แยกเป็นมะม่วงที่ผ่านความร้อน (treatment) จำนวน 120 ผล และมะม่วงที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อน จำนวน 40 ผล นำมะม่วงทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อน อบมะม่วงโดยการเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วงให้เป็นไปตามข้อ 6 และ6.2 อบมะม่วงภายในเครื่องตู้อบความร้อนให้อุณหภูมิภายในสุดผลของมะม่วงเพิ่มขึ้นจนถึง 47 และ48.5 องศาเซลเซียส และคงความร้อนภายในผลไว้ที่อุณหภูมิ 47 และ48.5 องศาเซลเซียส นาน 0, 1 และ2 ชั่วโมง เมื่อสิ้นสุดการให้ความร้อน ลดอุณหภูมิมะม่วงทันทีโดยวิธีเป่าด้วยลม นาน 1 ชั่วโมง ด้วยเครื่องลดอุณหภูมิผลไม้ **(Figure 16)** เปรียบเทียบกับมะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน นำมะม่วงทดลองทั้งหมดที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อนบรรจุใส่ในกล่องกระดาษขนาด 35x50x12 เซนติเมตร **(Figure 17)** ด้านยาวทั้งสองข้างเจาะรู พร้อมทั้งปิดด้วยผ้าตาข่ายขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางไม่เกิน 1.6 มิลลิเมตร จำนวน 4 รู เก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ ที่ 15 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน **(Figure 18)** เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนดนำมะม่วงทั้งหมดที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อนมาประเมินความเสียหายจากความร้อน โดยใช้หลักเกณฑ์พิจารณาและดำเนินการในหัวข้อต่างๆ ดังต่อไปนี้

1. การสูญเสียน้ำหนัก (weight loss) ศึกษาการสูญเสียน้ำหนักของมะม่วงโดยคำนวณเป็นร้อยละของน้ำหนักที่สูญเสียไปด้วยวิธีการบันทึกน้ำหนักมะม่วงก่อนการทดลอง และในวันที่ตรวจผลการทดลองชั่งน้ำหนักผลมะม่วงอีกครั้งหนึ่ง

2. ปริมาณน้ำตาล (brix value) ในการทดลองแต่ละครั้งคั้นน้ำจากเนื้อมะม่วงที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อน เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล ซึ่งปริมาณน้ำตาลในรูปปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (total soluble solid, TSS) มีหน่วยเป็นค่าองศาบริกซ์ การวัดปริมาณน้ำตาลจากเนื้อมะม่วงใช้เครื่อง digital refractometer (รุ่น DBX-30, atago Co., Ltd., Tokyo, Japan) **(Figure 19)**

3. ปริมาณกรด (acidity value) ในการทดลองแต่ละครั้ง คั้นน้ำจากเนื้อมะม่วงที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อน เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณกรด ซึ่งปริมาณกรดในรูปปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (total soluble solid, TSS) มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ การวัดปริมาณกรดจากเนื้อมะม่วงใช้เครื่อง digital acilyzer (รุ่น 5 006P) **(Figure 20)**

4. อาการเกิดโรคของผลมะม่วง (disease infection) สังเกตอาการเกิดโรคของผลมะม่วงที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อน โดยสังเกตจากลักษณะรูปร่างภายนอกและภายในของผลมะม่วง ได้แก่ เปลือก สี เนื้อ และกลิ่นของผลมะม่วง

5. อาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำ (spongy tissue) ทำการผ่าผลมะม่วงที่ผ่านความร้อนทั้งหมดเพื่อดูลักษณะอาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำภายในผลมะม่วง

นำข้อมูลการสูญเสียน้ำหนัก ปริมาณน้ำตาล ปริมาณกรด อาการเกิดโรคของผลมะม่วง และ

อาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำ วิเคราะห์ผลทางสถิติ และตรวจสอบความแตกต่างขอค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธีการตรวจสอบแบบ t-test

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาดำเนินงาน 3 ปี (ตุลาคม 2564 ถึง กันยายน 2567) ที่ห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สืบค้นฐานข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะประจำพันธุ์ชีววิทยาของมะม่วงมันเดือนเก้าเพื่อใช้ในการทดลอง

มะม่วงมันเดือนเก้ามีชื่อวิทยาศาสตร์ และลักษณะทางพฤกษศาสตร์เหมือนกับมะม่วงทั่วไป เป็นไม้ยืนต้นมีลำต้นสูงประมาณ 10-20 เมตร แตกกิ่งก้านสาขาเยอะ ใบเป็นใบเดี่ยว สีเขียว ขอบใบเรียบ ดอกออกเป็นช่อที่ปลายยอด เกสรสีแดง มีผลขนาดใหญ่ ผลยาว 5-20 เซนติเมตร และกว้าง 4-8 เซนติเมตร ผลดิบมีรสชาดเปรี้ยว ผลแก่จัดมีรสชาดเปรี้ยวมันอมหวาน ผลสุกมีรสชาดหวาน แต่ไม่หวานจัดจะมีรสเปรี้ยวและมันผสมรวมอยู่ด้วยกัน เป็นมะม่วงกลิ่นแรง เนื้อละเอียด น้ำหนักต่อผลประมาณ 250-500 กรัม สามารถรับประทานได้ทั้งมะม่วงดิบและมะม่วงสุก แหล่งปลูกมะม่วงมันเดือนเก้าสำคัญอยู่ในพื้นที่อำเภอหนองเสือ และอำเภอลาดหลุมแก้ว จังหวัดปทุมธานี

2. การเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณแมลงวันผลไม้ในห้องปฏิบัติการเพื่อใช้ในการทดลอง

การเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณแมลงวันผลไม้ในห้องปฏิบัติเพื่อใช้ในการทดลอง ภายในห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้ที่ควบคุมอุณหภูมิ 25-27 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 65-70 เปอร์เซ็นต์ โดยในการเลี้ยงแมลงแต่ละรุ่นจะตรวจสอบอัตราการฟักไข่ (hatching rate) อัตราการออกเป็นตัวเต็มวัย (emerging rate) น้ำหนักของดักแด้ (pupa weight) และอัตราส่วนของเพศผู้และเพศเมีย (sex ratio) จากการเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณแมลงวันผลไม้ พบว่า แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* มีความแข็งแรงตามมาตรฐานงานทดลองและสามารถเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณได้มากกว่า 50,000 ตัว ซึ่งเพียงพอเพื่อใช้สำหรับงานทดลองการกำจัดแมลงด้วยความร้อนในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงมันเดือนเก้าด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์

3. เครื่องตู้อบความร้อนและการปรับค่าความเที่ยงตรงของแท่งวัดอุณหภูมิ

จากการปรับค่าความเที่ยงตรงของแท่งวัดอุณหภูมิตรวจสอบเปรียบเทียบกับปรอทวัดความร้อนมาตรฐาน โดยจุ่มแท่งวัดอุณหภูมิทั้งหมดรวมทั้งปรอทวัดความร้อนมาตรฐานลงในเครื่องอ่างน้ำร้อน ตั้งค่าเครื่องอ่างน้ำร้อนให้มีอุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส เมื่อน้ำร้อนและมีอุณหภูมิคงที่จึงเริ่มการบันทึกอุณหภูมิ จากการปรับค่าความเที่ยงตรงของแท่งวัดอุณหภูมิ พบว่า แท่งวัดอุณหภูมิทั้งหมดสามารถคงอุณหภูมิที่ 47 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 99.9-100 เปอร์เซ็นต์ จากเครื่องบันทึกอุณหภูมิและความชื้น (hybrid recorder) ที่อ่านค่าได้ทุก 5 นาที ซึ่งระยะเวลา อุณหภูมิ และความชื้นในการปรับค่าความเที่ยงตรงของแท่งวัดอุณหภูมิที่ 47 องศาเซลเซียส ได้แสดงไว้ใน **(Table**

1 and 2) โดยมีค่าไม่เปลี่ยนแปลงเป็นระยะเวลานานติดต่อกันในช่วงเวลานาน 20 นาที

4. การศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้าและมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์

การศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงทั้ง 2 สายพันธุ์ ดำเนินการทดลองด้วยเครื่องตู้อบความร้อนกำจัดแมลงวันผลไม้ขนาดเล็กจำนวน 2 เครื่อง ใช้มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เป็นตัวเปรียบเทียบพันธุ์กับมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า โดยใช้หนอนวัย 1 เพื่อเป็นตัวแทนของแมลงในการเตรียมมะม่วงให้มีแมลงวันผลไม้อยู่ภายในผล (artificial infestation method) มะม่วงที่ใช้ในการทดลองทั้งหมด จำนวน 270 ผล นำมะม่วงทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อนวางเรียงมะม่วงที่ทำการใส่หนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง ผลละ 100 ตัว ในถาดบรรจุผลไม้ จำนวน 10 ผล/ถาด ซึ่งในถาดเดียวกันนั้นแยกเป็นมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า จำนวน 5 ผล และมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ จำนวน 5 ผล อบมะม่วงทั้ง 2 สายพันธุ์ในเครื่องตู้อบความร้อนเดียวกัน โดยการเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วงให้เป็นไปตามข้อ 6 และ6.1 ซึ่งระยะเวลาที่ใช้ในการอบมะม่วงที่อุณหภูมิผล 45, 46, 46.5 องศาเซลเซียส นาน 0 นาที และ47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5 และ 10 นาที รวมทั้งน้ำหนักมะม่วงกำหนดอุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองแต่ละครั้งได้แสดงไว้ใน **(Table 3 and 4)** จากการทดลอง 3 ครั้ง พบว่าแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 ในผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้ามีความทนทานต่อความร้อนมากกว่าหนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ โดยมีอัตราการตายเฉลี่ย 99.61 และ99.72 เปอร์เซ็นต์ **(Table 5 and 6)** โดยหนอนวัย 1 ตายทั้งหมดที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ในผลมะม่วงทั้ง 2 สายพันธุ์

5. การศึกษาเบื้องต้นประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า

การศึกษาเบื้องต้นประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วง ใช้มะม่วงทั้งหมดจำนวน 165 ผล นำมะม่วงทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อน วางเรียงมะม่วงที่ทำการใส่หนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง ผลละ 100 ตัว จำนวน 5 ผล/ถาด อบมะม่วงโดยการเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วงให้เป็นไปตามข้อ 6 และ 6.1 โดยระยะเวลาที่ใช้ในการอบมะม่วงที่อุณหภูมิผล 45, 46, 46.5 องศาเซลเซียส นาน 0 นาที และ47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5, 10, 15 และ20 นาที รวมทั้งน้ำหนักมะม่วงกำหนดอุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองแต่ละครั้งได้แสดงไว้ใน **(Table 7 and 8)** จากการทดลอง 3 ครั้ง พบว่ามะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อนจำนวน 45 ผล มีแมลงวันผลไม้รอดชีวิต จำนวน 3,189 ตัว แสดงว่าในมะม่วงจำนวน 120 ผล ซึ่งผ่านความร้อนแต่ละระยะเวลาที่กำหนดแมลงวันผลไม้หนอนวัย 1 รอดชีวิต จำนวน 700 ตัว ที่อุณหภูมิผล 45, 46, 46.5 องศาเซลเซียส นาน 0 นาที และ47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5, 10, 15 และ20 นาที โดยมีอัตราการตายของหนอนวัย 1 เฉลี่ย 64.19, 78.09, 91.90, 98.57, 100, 100, 100 และ100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ **(Table 9)** แสดงว่าที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 5 นาทีขึ้นไป สามารถกำจัดหนอนวัย 1 ในผลมะม่วงตายทั้งหมด

6. การศึกษาประเมินประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า

การศึกษาประเมินประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วง อบมะม่วงกำจัดแมลงวันผลไม้หนอนวัย 1 เพื่อกำหนดกระบวนการอบไอน้ำที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันผลไม้จำนวนไม่น้อยกว่า 3,000 ตัว ในผลมะม่วงให้ตายทั้งหมด ใช้มะม่วงทั้งหมดจำนวน 140 ผล นำมะม่วงทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อน วางเรียงมะม่วงที่ทำการใส่หนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง ผลละ 100 ตัว จำนวน 10 ผล/ถาด อบมะม่วงโดยการเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วงให้เป็นไปตามข้อ 6 และ6.1 อบมะม่วงภายในเครื่องตู้อบความร้อนให้อุณหภูมิภายในสุดผลมะม่วงเพิ่มขึ้นจนถึง 47 องศาเซลเซียส และคงความร้อนภายในผลไว้ที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 0, 5, 10, 15 และ20 นาที ซึ่งระยะเวลาที่ใช้ในการอบมะม่วงรวมทั้งน้ำหนักมะม่วงกำหนดอุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองแต่ละครั้งได้แสดงไว้ใน **(Table 10 and 11)** จากการทดลอง 2 ครั้ง พบว่า มะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน จำนวน 40 ผล มีแมลงวันผลไม้รอดชีวิต จำนวน 2,890 ตัว แสดงว่าในมะม่วงจำนวน 100 ผล ซึ่งผ่านความร้อนแต่ละระยะเวลาที่กำหนดแมลงวันผลไม้หนอนวัย 1 รอดชีวิต จำนวน 2 ตัว ที่อุณหภูมิผล 47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5, 10, 15 และ20 นาที โดยมีอัตราการตายของหนอนวัย 1 เฉลี่ย 99.86, 99.86, 100, 100 และ100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ **(Table 12)**

จากการทดลองจึงประมาณการได้ว่ามะม่วงซึ่งผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส แต่ละระยะเวลาที่กำหนดจะมีหนอนที่รอดชีวิตได้จำนวนไม่น้อยกว่าประมาณ 7,225 ตัว ผลการตรวจนับจำนวนแมลงในผลมะม่วงจากการทดลองปรากฏว่าหนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงตายทั้งหมดเมื่อคงความร้อนที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส เป็นเวลานานตั้งแต่ 10 นาทีขึ้นไป กระบวนการกำจัดแมลงดังกล่าวนี้มีความเป็นไปได้สูงที่จะมีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงได้ตามข้อกำหนดของวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช ดังนั้นควรจะได้มีการทดสอบการศึกษายืนยันกระบวนการกำจัดแมลงดังกล่าวข้างต้น เพื่อใช้เป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชสำหรับกำจัดระยะไข่ และหนอนวัยต่างๆ ของแมลงวันผลไม้ในมะม่วงก่อนการส่งออก

7. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า

การประเมินความเสียหายของกระบวนการอบไอน้ำต่อมะม่วง ตรวจสภาพความผิดปกติของผลมะม่วง ซึ่งมะม่วงทุกผลจะต้องไม่มีร่องรอยการทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือรอยแตก แยกเป็นมะม่วงที่ผ่านความร้อน (treatment) จำนวน 120 ผล และมะม่วงใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อน จำนวน 40 ผล นำมะม่วงทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อน อบมะม่วงด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับความชื้นสัมพัทธ์ (MVHT) โดยการเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วง ภายในเครื่องตู้อบความร้อนให้อุณหภูมิภายในผลมะม่วงเพิ่มขึ้นจนถึง 47 และ48.5 องศาเซลเซียส และคงความร้อนภายในผลไว้ที่อุณหภูมิ 47 และ48.5 องศาเซลเซียส นาน 0, 1 และ2 ชั่วโมง ระยะเวลาที่ใช้ในการอบมะม่วงรวมทั้งน้ำหนักมะม่วงกำหนดอุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองแต่ละครั้งได้แสดงไว้ใน **(Table 13 and 14)** เมื่อสิ้นสุดการให้

ความร้อนลดอุณหภูมิผลมะม่วงโดยวิธีเป่าด้วยลมนาน 1 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับมะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน นำมะม่วงทดลองทั้งหมดที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อน บรรจุใส่ในกล่องกระดาษขนาด 35x50x12 เซนติเมตร ด้านยาวทั้งสองข้างเจาะรูพร้อมทั้งปิดด้วยผ้าตาข่าย จำนวน 4 รู เก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 15 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนดนำมะม่วงทั้งหมดที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อนมาประเมินความเสียหายจากความร้อน จากการทดลองพบว่าการสูญเสียน้ำหนัก ปริมาณน้ำตาล ค่าความเป็นกรด อาการเกิดโรคของผลมะม่วง และอาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากมะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน เมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 47 และ48.5 องศาเซลเซียส นาน 0, 1 และ2 ชั่วโมง หลังจากเก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 15 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน โดยคุณภาพความหวานของมะม่วงไม่เปลี่ยนแปลง **(Table 15, 16, 17, 18 and 19)** โดยมะม่วงที่ผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 48.5 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง จะพบอาการเกิดโรคของผลมะม่วง (disease infection) **(Figure 28)** และอาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำ (spongy tissue) **(Figure 29)** เมื่อผ่านความร้อนที่อุณหภูมิสูงและคงความร้อนไว้เป็นเวลานาน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. สืบค้นฐานข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะประจำพันธุ์ชีววิทยาของมะม่วงมันเดือนเก้าเพื่อใช้ในการทดลอง

มะม่วงมันเดือนเก้า เป็นไม้ยืนต้นสูง 10-20 เมตร แตกกิ่งก้านสาขาเยอะ ใบเป็นใบเดี่ยว สีเขียว ขอบใบเรียบ ดอกออกเป็นช่อที่ปลายยอด เกสรสีแดง มีผลขนาดใหญ่ ผลยาว 5-20 เซนติเมตร และกว้าง 4-8 เซนติเมตร ผลดิบมีรสชาดเปรี้ยว ผลแก่จัดมีรสชาดเปรี้ยวมันอมหวาน ผลสุกมีรสชาดหวาน แต่ไม่หวานจัดจะมีรสเปรี้ยวและมันผสมรวมอยู่ด้วยกัน เป็นมะม่วงกลิ่นแรง เนื้อละเอียด น้ำหนักต่อผลประมาณ 250-500 กรัม สามารถรับประทานได้ทั้งมะม่วงดิบและมะม่วงสุก แหล่งปลูกมะม่วงมันเดือนเก้าสำคัญอยู่ในพื้นที่อำเภอหนองเสือ และอำเภอลาดหลุมแก้ว จังหวัดปทุมธานี

2. การเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณแมลงวันผลไม้ในห้องปฏิบัติการเพื่อใช้ในการทดลอง

การเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณแมลงวันผลไม้ในห้องปฏิบัติการ ภายในห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้ที่ควบคุมอุณหภูมิและความชื้น ในการเลี้ยงแมลงแต่ละรุ่นจะตรวจสอบอัตราการฟักไข่ อัตราการออกเป็นตัวเต็มวัย น้ำหนักของดักแด้ และอัตราส่วนของเพศผู้และเพศเมีย จากการเพาะเลี้ยงและเพิ่มปริมาณแมลงวันผลไม้ พบว่า แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* มีความแข็งแรงตามมาตรฐานงานทดลองและสามารถเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณได้มากกว่า 50,000 ตัว ซึ่งเพียงพอสำหรับใช้ในการทดลอง

3. เครื่องตู้อบความร้อนและการปรับค่าความเที่ยงตรงของแท่งวัดอุณหภูมิ

จากการปรับค่าความเที่ยงตรงของแท่งวัดอุณหภูมิตรวจสอบเปรียบเทียบกับปรอทวัดความร้อนมาตรฐาน โดยจุ่มแท่งวัดอุณหภูมิทั้งหมดรวมทั้งปรอทวัดความร้อนมาตรฐานลงในเครื่องอ่างน้ำ

ร้อน ตั้งค่าเครื่องอ่างน้ำร้อนให้มีอุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส เมื่อน้ำร้อนและมีอุณหภูมิคงที่จึงเริ่มการบันทึกอุณหภูมิ จากการปรับค่าความเที่ยงตรงของแท่งวัดอุณหภูมิ พบว่าแท่งวัดอุณหภูมิทั้งหมดสามารถคงอุณหภูมิที่ 47 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 99.9-100 เปอร์เซ็นต์ จากเครื่องบันทึกอุณหภูมิและความชื้น (hybrid recorder) ที่อ่านค่าได้ทุก 5 นาที โดยมีค่าไม่เปลี่ยนแปลงเป็นระยะเวลานานติดต่อกันในช่วงเวลานาน 20 นาที ซึ่งได้มาตรฐานงานทดลองของเครื่องตู้อบความร้อนในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วง

4. การศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้าและมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์

การศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงทั้ง 2 สายพันธุ์ ใช้มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เป็นตัวเปรียบเทียบพันธุ์กับมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า อบมะม่วงกำจัดแมลงวันผลไม้หนอนวัย 1 จากการทดลองพบว่า แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 ในผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้ามีความทนทานต่อความร้อนมากกว่าหนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ โดยมีอัตราการตายเฉลี่ย 99.61 และ99.72 เปอร์เซ็นต์ โดยหนอนวัย 1 ตายทั้งหมดที่อุณหภูมิ 47.0 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ในผลมะม่วงทั้ง 2 สายพันธุ์

5. การศึกษาเบื้องต้นประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า

การศึกษาเบื้องต้นประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วง อบมะม่วงกำจัดแมลงวันผลไม้หนอนวัย 1 จากการทดลองพบว่า มะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน จำนวน 45 ผล มีแมลงวันผลไม้รอดชีวิต จำนวน 3,189 ตัว แสดงว่าในมะม่วงจำนวน 120 ผล ซึ่งผ่านความร้อนแต่ละระยะเวลาที่กำหนดแมลงวันผลไม้หนอนวัย 1 รอดชีวิต จำนวน 700 ตัว ที่อุณหภูมิผล 45, 46, 46.5 องศาเซลเซียส นาน 0 นาที และ47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5, 10, 15 และ20 นาที โดยมีอัตราการตายของหนอนวัย 1 เฉลี่ย 64.19, 78.09, 91.90, 98.57, 100, 100, 100 และ100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แสดงว่าที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 5 นาทีขึ้นไป สามารถกำจัดหนอนวัย 1 ในผลมะม่วงตายทั้งหมด

6. การศึกษาประเมินประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า

การศึกษาประเมินประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วง อบมะม่วงกำจัดแมลงวันผลไม้หนอนวัย 1 เพื่อกำหนดกระบวนการอบไอน้ำที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันผลไม้จำนวนไม่น้อยกว่า 3,000 ตัว ในผลมะม่วงให้ตายทั้งหมด จากการทดลองพบว่า มะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน จำนวน 40 ผล มีแมลงวันผลไม้รอดชีวิต จำนวน 2,890 ตัว แสดงว่าในมะม่วงจำนวน 100 ผล ซึ่งผ่านความร้อนแต่ละระยะเวลาที่กำหนดแมลงวันผลไม้หนอนวัย 1 รอดชีวิต จำนวน 2 ตัว ที่อุณหภูมิผล 47 องศาเซลเซียส นาน 0,

5, 10, 15 และ20 นาที โดยมีอัตราการตายของหนอนวัย 1 เฉลี่ย 99.86, 99.86, 100, 100 และ100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

วิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนซึ่งใช้เป็นวิธีการกำจัดแมลงศัตรูพืชด้านกักกันพืชสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลไม้ก่อนการส่งออกไปต่างประเทศ การกำจัดแมลงโดยให้ความร้อนกับผลไม้ทำให้อุณหภูมิผลไม้เพิ่มขึ้นถึงอุณหภูมิระหว่าง 40-50 องศาเซลเซียส สามารถกำจัดระยะไข่ และระยะหนอนวัยต่างๆ ของแมลงวันผลไม้ในผลไม้ให้ตายทั้งหมด การทำให้ผลไม้ร้อนอุณหภูมิสูงขึ้นอาจจะเป็นการให้ความร้อนโดยตรงกับผลไม้ โดยอาศัยอากาศหรือน้ำเป็นสื่อนำความร้อน ความร้อนจากอากาศจะถ่ายเทไปที่เปลือกของผลไม้ และจากเปลือกจึงจะถ่ายเทเข้าไปยังเนื้อถึงบริเวณที่อยู่ภายในสุดผล จากการทดลองแสดงว่าการอบมะม่วงกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 ที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที สามารถกำจัดหนอนวัย 1 ในผลมะม่วงจำนวนไม่น้อยกว่าประมาณ 7,225 ตัว ตายทั้งหมด กระบวนการกำจัดแมลงดังกล่าวนี้มีความเป็นไปได้สูงที่จะมีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงได้ตามข้อกำหนดของวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช

7. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า

การประเมินความเสียหายของกระบวนการอบไอน้ำต่อมะม่วง อบมะม่วงโดยการเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วงภายในเครื่องตู้อบความร้อนให้อุณหภูมิภายในผลของมะม่วงเพิ่มขึ้นถึง 47 และ48.5 องศาเซลเซียส และคงความร้อนไว้ที่อุณหภูมิ 47 และ48.5 องศาเซลเซียส นาน 0, 1 และ2 ชั่วโมง จากการทดลองพบว่า การสูญเสียน้ำหนัก ปริมาณน้ำตาล ค่าความเป็นกรด อาการเกิดโรคของผลมะม่วง และอาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำไม่มีความแตกต่างกันจากมะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน เมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 47 และ48.5 องศาเซลเซียส นาน 0, 1 และ2 ชั่วโมง หลังจากเก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 15 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน โดยคุณภาพความหวานของมะม่วงไม่เปลี่ยนแปลง ซึ่งมะม่วงที่ผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 48.5 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง จะพบอาการเกิดโรคของผลมะม่วง (disease infection) และอาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำ (spongy tissue) เมื่อผ่านความร้อนที่อุณหภูมิสูงและคงความร้อนไว้เป็นเวลานาน

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัยพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนเพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงก่อนการส่งออกไปประเทศญี่ปุ่น ซึ่งได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากกองทุนสนับสนุนงานวิจัยด้านการเกษตร ขอขอบพระคุณท่านผู้เชี่ยวชาญด้านกักกันพืชและที่ปรึกษากรมวิชาการเกษตร คุณอุดร อุณหวุฒิ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่กลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกันทุกท่านที่มีส่วนช่วยในการเตรียมการทดลองรวมถึงตรวจผลการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2562. แมลงวันผลไม้และการป้องกันกำจัด. [ออนไลน์] [อ้างถึง 26 กรกฎาคม 2563] แหล่งข้อมูล: http://www.doa.go.th/pibai/pibai/n12/v_10_nov/rai.html.

ชัยณรัตน์ สนศิริ สลักจิต พานคำ ชลธิชา รักใคร่ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ พุฒิพงษ์ เพ็งฤกษ์ และพงษ์ศักดิ์ จิณฤทธิ์. 2562. การศึกษายืนยันประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงด้วยความร้อนเพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera carambolae* (Diptera: Tephritidae) ในมังคุดก่อนการส่งออกไปประเทศไต้หวัน. การประชุมวิชาการของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ประจำปี 2562. 10-12 มิถุนายน 2562. ณ. รอยัลฮิลส์ กอล์ฟ รีสอร์ท แอนด์ สปา จ. นครนายก. เอกสารการประชุมสัมมนาวิชาการอารักขาพืช. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 29 หน้า.

ชัยณรัตน์ สนศิริ สลักจิต พานคำ ชลธิชา รักใคร่ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ พุฒิพงษ์ เพ็งฤกษ์ และพงษ์ศักดิ์ จิณฤทธิ์. 2563. การกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera carambolae* (Drew & Hancock) (Diptera: Tephritidae) ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ เพื่อเปิดตลาดมังคุดไปไต้หวัน. การประชุมวิชาการของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ประจำปี 2563. 17-18 กันยายน 2563. ณ. อาคารเฉลิมพระเกียรติ สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. เอกสารการประชุมสัมมนาวิชาการอารักขาพืช. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 15 หน้า.

เทคโนโลยีชาวบ้าน. 2562. มะม่วงมันเดือนเก้า ไม้ผลทำเงิน ขายดีติดตลาด. [ออนไลน์] [อ้างถึง 23 มกราคม 2563] แหล่งข้อมูล: http://www.technologychaban.com.

มนตรี จิระสุรัตน์. 2544. แมลงวันผลไม้ที่สำคัญของประเทศไทยและการแพร่กระจาย. แมลงวันผลไม้ในประเทศไทย. เอกสารวิชาการกองกีฏวิทยาและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 6 หน้า.

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์. 2550. โรงงานอบไอน้ำเพื่อการส่งออก. คู่มืออารักขาพืช 13 (1): 2.

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์. 2552. การกำจัดแมลงในผลไม้เพื่อการส่งออกด้วยวิธีการอบไอน้ำ. หน้า. 43-46. *ใน*: เทคโนโลยีการผลิตและการจัดการหลังการเก็บเกี่ยวมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองนอกฤดูเพื่อการส่งออก. โดยภารกิจโครงการและประสานงานวิจัย, สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. กรุงเทพฯ.

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์. 2552. ขั้นตอนการอบไอน้ำมะม่วงและมังคุดสดจากประเทศไทยเพื่อการส่งออกไปญี่ปุ่น. *ใน*: การประชุมเชิงปฏิบัติการเรื่องเทคโนโลยีการผลิตและการจัดการหลังการเก็บเกี่ยวมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองเพื่อการส่งออก. 30 มิถุนายน-1 กรกฎาคม 2552. ณ. โรงแรมท็อปแลนด์พลาซ่า จ. พิษณุโลก. (เอกสารแจกในที่ประชุม)

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์. 2554. วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยความร้อนในส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้งเพื่อการส่งออก. หน้า. 43-46. *ใน*: การประชุมสัมมนาวิชาการอารักขาพืช 28-30

มิถุนายน 2554. ณ. โรงแรมทวาราวดี จ. ปราจีนบุรี. เอกสารการประชุมสัมมนาวิชาการอารักขาพืช. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์. 2555. วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงวันทองด้วยความร้อนในผลมะละกอเพื่อการส่งออก. เอกสารประกอบการประชุมสัมมนาศัตรูพืชหมดปัญหาเมื่ออารักขาถูกวิธี. 7-9 สิงหาคม 2555. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 100 หน้า.

อุดร อุณหวุฒิ จำลอง เจตนะจิตร มานะ พุ่มทอง พวงผกา คมสัน อวยชัย สมิตะสิริ จำลอง ลภาสาธุกุล วลัยกร วรวิศิษฏ์ธำรง และรัชฎา อินทรกำแหง. 2529. การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำเพื่อกำจัดแมลงวันทองและแมลงวันแตงในผลมะม่วงพันธุ์หนังกลางวัน. ว. วิชาการ กษ. 4: 43-66.

อุดร อุณหวุฒิ มานะ พุ่มทอง รัชฎา อินทรกำแหง วลัยกร วรวิศิษฏ์ธำรง และประเทือง ศรีสุข. 2536. การศึกษาความต้านทานต่อความร้อนของแมลงวันทองวัยที่ 1 ในมะม่วงหนังกลางวัน น้ำดอกไม้ แรด และพิมเสนแดง. ว. วิชาการ กษ. 11: 133-147.

อุดร อุณหวุฒิ. 2541. การกำจัดแมลงวันผลไม้หลังการเก็บเกี่ยว. ฝ่ายกักกันพืช, กองควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 129 หน้า.

อุดร อุณหวุฒิ สลักจิต พานคำ ชัยณรัตน์ สนศิริ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ ชุติมา อ้อมกิ่ง จารุวรรณ จันทรา และรัชฎา อินทรกำแหง. 2549. การวิจัยพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในส้มโอเพื่อส่งออก. ผลงานวิจัยเพื่อพัฒนาเป็นผลงานวิจัยดีเด่นประจำปี 2549, กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. หน้า. 125-143.

Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18: 265-267.

CABI. 2014. Invasive Species Compendium. *Bactrocera dorsalis* http://www.cabi.org/isc/datasheet/17685. (26 July 2014).

Intarakumheng, R., U. Unahawutti, S. Phankum, C. Sonsiri, M. Srimartpirom, C. Ormking and J. Chantra. 2006. Thermal tolerance of the first instar larvae of oriental fruit fly to modified vapor heat treatment in Mahachanok and Nang Klarngwan mangoes. A report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries (MAFF) for approval of a quarantine treatment on Mahachanok mango to be exported from Thailand to Japan. Plant Quarantine Research Group, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture. Bangkok 38 p.

Intarakumheng, R., S. Phankum, C. Sonsiri, M. Srimartpirom, C. Ormking and U. Unahawutti. 2013. Evaluation of modified vapor heat treatment as quarantine treatment for Khiaosawoey and Chokanan mangoes infested with oriental fruit

fly (Diptera: Tephritidae). A report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries (MAFF) for market access of Khiaosawoey and Chokanan mangoes from Thailand to Japan. Plant Quarantine Research Group, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture. Bangkok. 139 p.

Iwaizumi, R. 2004. Species and host record of the *Bactrocera dorsalis* complex (Diptera: Tephritidae) detected by the plant quarantine of Japan. Applied Entomology and Zoology 39 (2): 327-333.

Jennifer, L. and G. Kaufman. 2012. Featured Greatures. University of Floridahttp://www.entnemdept.ufl.edu/creatures/fruit/tropical/oriental_fruit_fly.htm (26 July 2014).

MAFF (Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries). 2010. Summary of proposed Revisions to the Enforcement Ordinance of the Plant Protection Law and Concerned Public Notice Retrieved February1, 2012 from http://www. members.wto.org/crnattachments/2010/sps/JPN/10_4194_00_e.pdf

Miyazaki, I. 2010. How to prepare the technical report on vapor heat disinfestations test. *In*: Report of the thermal treatment for the disinfestations of fruit flies. Naha Plant Protection Station, Ministry of Agriculture Forestry and Fisheries, Okinawa International Centre. Japan International Cooperation Agency, Japan. 30 p.

Shimizu, Y., T. Kohama, T. Uesato, T. Matsuyama and M. Yamagishi. 2007. Invasion of solanum fruit fly *Bactrocera latifrons* (Diptera: Tephritidae) to Yonaguni Island, Okinawa Prefecture, Japan. Appl. Entomol. Zool. 42 (2): 269-275.

Sonsiri, C., W. Rattanadechakul, S. Phankum, M. Srimartpirom and C. Ormking. 2015. Modified Vapor Heat Treatment for Mangosteen Infested with *Bactrocera dorsalis*, *B. carambolae* and *B. papayae* (Diptera: Tephritidae) for Export. A research submitted to Bureau of Animal and Plant Health Inspection and Quarantine (BAPHIQ) Council of Agriculture, Executive Yuan Taipei City Taiwan, R.O.C. Plant Quarantine Research Group, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture. Bangkok. 26 p.

Srimartpirom, M. 2010. The final report of thermal treatment for the disinfestations of fruit flies from Thailand. p 95. *In*: Report of the thermal treatment for the disinfestations of fruit flies. Naha Plant Protection Station, Ministry of

Agriculture Forestry and Fisheries, Okinawa International Centre. Japan International Cooperation Agency, Japan. 100 p.

Thomas, D. B. 2004. Hot peppers as a host for the Mexican fruit fly *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae). Florida Entomologist 87 (4): 603-608.

Unahawutti, U., C. Chettanachitara, M. Poomthong, P. Konson, E. Smitasiri, C. Lapasathukool, W. Worawisitthumrong and R. Intarakumheng. 1986. Vapor heat treatment for 'Nang Klarngwun' mango, *Mangifera indica* Linn., infested with eggs and larvae of the oriental fruit fly, *Dacus dorsalis* Hendel and the melon fly, *Dacus cucurbitae* Coquillett (Diptera: Tephritidae). Technical Plant Quarantine Sub-Division, Agricultural Regulatory Division, Department of Agriculture. Bangkok. 108 p.

Unahawutti, U., M. Poomthong, R. Intarakumheng, W. Worawisitthumrong, C. Lapasathukool, E. Smitasiri, P. Srisoon and C. Ratanawaraha. 1991. Vapor heat as plant quarantine treatment of 'Nang Klarngwan', 'Nam Dorkmai', 'Rad' and 'Pimsen Daeng' mangoes infested with fruit flies (Diptera: Tephritidae). echnical Plant Quarantine Sub-Division, Agricultural Regulatory Division, Department of Agriculture. Bangkok. 342 p.

Unahawutti, U., S. Phankum, P. Ongthonglang and C. Chettanachitara. 1999. Heated-air quarantine treatment for mangosteen infested with oriental fruit fly (Diptera: Tephitidae). A report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries for approval of quarantine treatment on Thai mangosteen to be exported to Japan. Technical Plant Quarantine Sub-Division, Agricultural Regulatory Division, Department of Agriculture. Bangkok. 630 p.

Unahawutti, U., S. Phankum, M. Srimartpirom, C. Ormking, C. Sonsiri, J. Chantra, and R. Intarakumheng. 2006. Heated-air quarantine treatment for pummelo infested with oriental fruit fly (Diptera: Tephitidae). A report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries for approval of quarantine treatment on Thai pummelo to be exported to Japan. Plant Quarantine Research Group, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture. Bangkok. 135 p.

Watanabe, N., F. Ichinohe and M. Sonda. 1973. Improvement of corn flour medium for larval culture of oriental fruit fly. Res. Bull. Plant Prot. Japan. 11: 57-58.

White, I. M. and M. M. Elson-Harris. 1992. Fruit flies of economic significance: Their identification and bionomics. CAB International, Wallingford, UK. 601 p.

Table 1 Calibration factor obtained from each sensor of the vapor heat treatment system. (VHT chamber no.1)

Date/Time	Number of sensor[1/]							
7/3/2022	1	2	6	7	8	9	10	11
12:10	47.0	99.9	47.0	47.0	47.0	47.0	47.0	47.0
12:15	47.0	100.0	47.0	47.0	47.0	47.0	47.0	47.0
12:20	47.0	100.0	47.0	47.0	47.0	47.0	47.0	47.0
12:25	47.0	100.0	47.0	47.0	47.0	47.0	47.0	47.0
12:30	47.0	100.0	47.0	47.0	47.0	47.0	47.0	47.0

[1/]The test was conducted by dipping all sensors into constant temperature water bath at 47.0 °C for 0:20 minutes.

Table 2 Calibration factor obtained from each sensor of the vapor heat treatment System. (VHT chamber no.2)

Date/Time	Number of sensor[1/]							
7/3/2022	1	2	4	5	6	8	9	10
11:00	47.0	100.0	47.0	47.0	47.0	47.0	47.0	47.0
11:05	47.0	100.0	47.0	47.0	47.0	47.0	47.0	47.0
11:10	47.0	100.0	47.0	47.0	47.0	47.0	47.0	47.0
11:15	47.0	100.0	47.0	47.0	47.0	47.0	47.0	47.0
11:20	47.0	100.0	47.0	47.0	47.0	47.0	47.0	47.0

[1/]The test was conducted by dipping all sensors into constant temperature water bath at 47.0 °C for 0:20 minutes.

Table 3 Time for center of mango to attain 45.0, 46.0, 46.5 and 47.0 °C for various holding times during modified vapor heat treatment in comparative heat tolerance test

Rep.	Load factor (kg/cum)	Sensor fruit weight (g)			Time (min.)[1/]					
					0:00	0:00	0:00	0:00	0:05	0:10
1	21.58	336.78	337.07	337.71	2:10	2:19	2:25	2:34	2:39	2:44
2	21.77	342.83	344.72	347.27	2:14	2:23	2:30	2:42	2:47	2:52
3	21.32	347.60	347.98	355.25	2:12	2:21	2:28	2:37	2:42	2:47

[1/]Time for center of only 2 sensor fruits to attain target temperature.

Table 4 Time for center of mango to attain 43.0, 45.0, 46.0, 46.5 and 47.0 ° C during modified vapor heat treatment in comparative heat tolerance test

Rep.	Time for fruit center to reach 43.0 ° C (h)[1/]	Time for fruit center to reach 45.0, 46.0, 46.5, 47.0 ° C (h)[1/]	Time form 43.0 to 45.0, 46.0, 46.5, 47.0 ° C (h)[1/]
1	1:53	2:10 2:19 2:25 2:34	0:17 0:26 0:32 0:41
2	1:58	2:14 2:23 2:30 2:42	0:16 0:25 0:32 0:44
3	1:56	2:12 2:21 2:28 2:37	0:16 0:25 0:32 0:41
Average	**1:56**	**2:12 2:21 2:28 2:38**	**0:16 0:25 0:32 0:42**

[1/]Time for center of only 2 sensor fruits to attain target temperature.

Table 5 Mortality[1/] of first instar of oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in mango (Man Duen Kaw) treated with modified vapor heat treatment in comparative heat tolerance test

Treatment[2/]	Number of treated (larvae)	Number of alive (larvae)	Number of dead (larvae)	Corrected mortality (%)[3/]
Control	4,500	3,139	1,361	0
45.0 ° C	1,500	810	690	22.63
46.0 ° C	1,500	576	924	54.44
46.5 ° C	1,500	138	1,362	86.75
47.0 ° C	1,500	8	1,492	99.22
47.0 ° C + 0:05 min.	1,500	4	1,496	99.61
47.0 ° C + 0:10 min.	1,500	0	1,500	100

[1/]Combined data of 3 replicates.

[2/]Treatment: 5 fruits infested with 100 individuals/fruit.

Control: 15 fruits infested with 100 individuals/fruit.

[3/]Mortality is corrected by using Abbott's formula (Abbott, 1925)

Table 6 Mortality[1/] of first instar of oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in mango (Nam Dok Mai) treated with modified vapor heat treatment in comparative heat tolerance test

Treatment[2/]	Number of treated (larvae)	Number of alive (larvae)	Number of dead (larvae)	Corrected mortality (%)[3/]
Control	4,500	3,248	1,252	0
45.0 ° C	1,500	403	1,097	50.84
46.0 ° C	1,500	341	1,159	68.56
46.5 ° C	1,500	62	1,438	94.26
47.0 ° C	1,500	10	1,490	97.22
47.0 ° C + 0:05 min.	1,500	1	1,499	99.72
47.0 ° C + 0:10 min.	1,500	0	1,500	100

[1/]Combined data of 3 replicates.

[2/]Treatment: 5 fruits infested with 100 individuals/fruit.

Control: 15 fruits infested with 100 individuals/fruit.

[3/]Mortality is corrected by using Abbott's formula (Abbott, 1925).

Table 7 Time for center of mango to attain 45.0, 46.0, 46.5 and 47.0 ° C for various holding times during modified vapor heat treatment in preliminary disinfestation test.

Rep	Load factor (kg/cum)	Sensor fruit weight (g)			Time (min.)[1/]							
					0:00	0:00	0:00	0:00	0:05	0:10	0:15	0:20
1	13.54	354.91	355.27	355.61	2:17	2:26	2:32	2:43	2:48	2:53	2:58	3:05
2	14.12	355.62	355.75	358.18	2:13	2:22	2:30	2:41	2:46	2:51	2:56	3:05
3	13.55	363.75	364.10	367.23	2:19	2:30	2:38	2:48	2:53	2:58	3:05	3:10

[1/]Time for center of only 2 sensor fruits to attain target temperature.

Table 8 Time for center of mango to attain 43.0, 45.0, 46.0, 46.5 and 47.0 ° C during modified vapor heat treatment in preliminary disinfestation test

Rep.	Time for fruit center to reach 43.0 ° C (h)[1/]	Time for fruit center to reach 45.0, 46.0, 46.5, 47.0 ° C (h)[1/]	Time form 43.0 to 45.0, 46.0, 46.5, 47.0 ° C (h)[1/]
1	2:00	2:17 2:26 2:32 2:43	0:17 0:26 0:32 0:43
2	1:56	2:13 2:22 2:30 2:41	0:17 0:26 0:34 0:45
3	2:00	2:19 2:30 2:38 2:48	0:19 0:30 0:38 0:48
Average	**1:58**	**2:16 2:26 2:33 2:44**	**0:18 0:27 0:35 0:45**

[1/]Time for center of only 2 sensor fruits to attain target temperature.

Table 9 Mortality[1/] of first instar of oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in mango (Man Duen Kaw) treated with modified vapor heat treatment in preliminary disinfestation test

Treatment[2/]	Number of treated (larvae)	Number of alive (larvae)	Number of dead (larvae)	Corrected mortality (%)[3/]
Control	4,500	3,189	1,311	0
45.0 ° C	1,500	379	1,121	64.19
46.0 ° C	1,500	231	1,269	78.09
46.5 ° C	1,500	85	1,415	91.90
47.0 ° C	1,500	5	1,495	98.57
47.0 ° C + 0:05 min.	1,500	0	1,500	100
47.0 ° C + 0:10 min.	1,500	0	1,500	100
47.0 ° C + 0:15 min.	1,500	0	1,500	100
47.0 ° C + 0:20 min.	1,500	0	1,500	100

[1/]Combined data of 3 replicates.

[2/]Treatment: 5 fruits infested with 100 individuals/fruit.

Control: 15 fruits infested with 100 individuals/fruit.

[3/]Mortality is corrected by using Abbott's formula (Abbott, 1925)

Table 10 Time for center of mango to attain 47.0 ° C for various holding times during modified vapor heat treatment in intermediate disinfestation test

Rep.	Load factor (kg/cum)	Sensor fruit weight (g)			Time (min.)[1/]				
					0:00	0:05	0:10	0:15	0:20
1	17.25	371.22	372.17	372.28	2:06	2:11	2:16	2:21	2:26
2	17.24	372.06	372.25	374.90	2:08	2:13	2:18	2:23	2:28

[1/]Time for center of only 2 sensor fruits to attain target temperature.

Table 11 Time for center of mango to attain 43.0 and 47.0 ° C during modified vapor heat treatment in intermediate disinfestation test

Rep.	Time for fruit center to reach 43.0 ° C (h)[1/]	Time for fruit center to reach 47.0 ° C (h)[1/]	Time form 43.0 to 47.0 ° C (h)[1/]
1	1:20	2:06	0:46
2	1:22	2:08	0:46
Average	**1:21**	**2:07**	**0:46**

[1/]Time for center of only 2 sensor fruits to attain target temperature.

Table 12 Mortality[1/] of first instar of oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in mango (Man Duen Kaw) treated with modified vapor heat treatment in intermediate disinfestation test

Treatment[2/]	Number of treated (larvae)	Number of alive (larvae)	Number of dead (larvae)	Corrected mortality (%)[3/]
Control	4,000	2,890	1,110	0
47.0 ° C + 0:00 min.	2,000	1	1,999	99.86
47.0 ° C + 0:05 min.	2,000	1	1,999	99.86
47.0 ° C + 0:10 min.	2,000	0	2,000	100
47.0 ° C + 0:15 min.	2,000	0	2,000	100
47.0 ° C + 0:20 min.	2,000	0	2,000	100

[1/]Combined data of 2 replicates.

[2/]Treatment: 10 fruits infested with 100 individuals/fruit.

Control: 20 fruits infested with 100 individuals/fruit.

[3/]Mortality is corrected by using Abbott's formula (Abbott, 1925).

Table 13 Time for center of mango to attain 47.0 and 48.5 ° C for various holding times during modified vapor heat treatment in fruit injury test

Temp.	Load factor (kg/cum.)	Rep.	Sensor fruit weight (g)			Time (h)[1/]		
						0:00	1:00	2:00
47.0 ° C	10.39	1	356.24	356.78	358.12	2:21	3:21	4:21
	10.41	2	354.11	356.48	356.67	2:25	3:25	4:25
48.5 ° C	10.22	1	361.14	361.69	361.87	2:21	3:21	4:21
	10.10	2	359.59	359.67	359.71	2:22	3:22	4:22

[1/]Time for center of only 3 sensor fruits to attain target temperature.

Table 14 Time for center of mango to attain 43.0, 47.0 and 48.5 ° C during modified vapor heat treatment in fruit injury test

Temp.	Rep.	Time for fruit center to reach 43.0 ° C (h)[1/]	Time for fruit center to reach 47.0, 48.5 ° C (h)[1/]	Time form 43.0 to 47.0, 48.5 ° C (h)[1/]
47.0 ° C	1	1:25	2:21	0:56
	2	1:29	2:25	0:56
48.5 ° C	1	1:20	2:21	1:01
	2	1:22	2:22	1:00
Average		**1:24**	**2:22**	**0:58**

[1/]Time for center of only 3 sensor fruits to attain target temperature.

Table 15 Weight loss (%) of mango treated with modified vapor heat treatment center temperature 47.0 and 48.5 °C for various holding times and 7 days chamber at 15 °C

Rep.	Treatment[1/]	Weight loss (%)[ns]		
		0:00 h	1:00 h	2:00 h
1	47.0 °C	5.06	4.87	5.03
	Control	5.01		
	t-test 47.0 °C vs Control			
	48.5 °C	4.94	5.14	5.14
	Control	4.98		
	t-test 48.5 °C vs Control			
2	47.0 °C	4.97	4.77	5.20
	Control	4.90		
	t-test 47.0 °C vs Control			
	48.5 °C	5.22	5.23	4.99
	Control	5.29		
	t-test 48.5 °C vs Control			

[1/] Treatment: mean of 10 fruits, Control: mean of 10 fruits.

[ns] Non difference was statistically significant by t-test.

* The difference was statistically significant by t-test.

Table 16 Total soluble solid (^{0} Brix) of mango treated with modified vapor heat treatment center temperature 47.0 and 48.5 °C for various holding times and 7 days chamber at 15 °C

Rep.	Treatment[1/]	Brix value (Brix)[ns]		
		0:00 h	1:00 h	2:00 h
1	47.0 °C	13.98	12.40	13.42
	Control	14.15		
	t-test 47.0 °C vs Control			
	48.5 °C	16.08	14.13	10.45
	Control	14.49		
	t-test 48.5 °C vs Control			
2	47.0 °C	13.39	15.60	13.64
	Control	14.45		
	t-test 47.0 °C vs Control			
	48.5 °C	14.96	15.37	11.37
	Control	15.39		
	t-test 48.5 °C vs Control			

[1/] Treatment: mean of 10 fruits, Control: mean of 10 fruits.

[ns] Non difference was statistically significant by t-test.

* The difference was statistically significant by t-test.

Table 17 Acidity (%) of mango treated with modified vapor heat treatment center temperature 47.0 and 48.5 °C for various holding times and 7 days chamber at 15 °C

Rep.	Treatment[1/]	Acidity (%)[ns]		
		0:00 h	1:00 h	2:00 h
1	47.0 °C	0.15	0.38	0.24
	Control	0.15		
	t-test 47.0 °C vs Control			
	48.5 °C	0.62	0.26	0.21
	Control	0.33		
	t-test 48.5 °C vs Control			
2	47.0 °C	0.20	0.26	0.14
	Control	0.24		
	t-test 47.0 °C vs Control			
	48.5 °C	0.24	0.19	0.11
	Control	0.14		
	t-test 48.5 °C vs Control			

[1/] Treatment: mean of 10 fruits, Control: mean of 10 fruits.

[ns] Non difference was statistically significant by t-test.

* The difference was statistically significant by t-test.

Table 18 The occurrence of disease infection (%) of mango treated with modified vapor heat treatment center temperature 47.0 and 48.5 °C for various holding times and 7 days chamber at 15 °C

Rep.	Treatment[1/]	Disease infection (%)[ns]		
		0:00 h	1:00 h	2:00 h
1	47.0 °C	0.00	0.00	0.00
	Control	0.00		
	t-test 47.0 °C vs Control			
	48.5 °C	0.00	0.00	0.10
	Control	0.00		
	t-test 48.5 °C vs Control			
2	47.0 °C	0.00	0.00	0.00
	Control	0.00		
	t-test 47.0 °C vs Control			
	48.5 °C	0.00	0.00	0.10
	Control	0.00		
	t-test 48.5 °C vs Control			

[1/] Treatment: mean of 10 fruits, Control: mean of 10 fruits.

[ns] Non difference was statistically significant by t-test.

* The difference was statistically significant by t-test.

Table 19 The occurrence of spongy tissue (%) of mango treated with modified vapor heat treatment center temperature 47.0 and 48.5 °C for various holding times and 7 days chamber at 15 °C

Rep.	Treatment[1/]	Spongy tissue (%)[ns]		
		0:00 h	1:00 h	2:00 h
1	47.0 °C	0.00	0.00	0.00
	Control	0.00		
	t-test 47.0 °C vs Control			
	48.5 °C	0.00	0.00	0.10
	Control	0.00		
	t-test 48.5 °C vs Control			
2	47.0 °C	0.00	0.00	0.00
	Control	0.00		
	t-test 47.0 °C vs Control			
	48.5 °C	0.00	0.00	0.00
	Control	0.00		
	t-test 48.5 °C vs Control			

[1/] Treatment: mean of 10 fruits, Control: mean of 10 fruits.

[ns] Non difference was statistically significant by t-test.

* The difference was statistically significant by t-test.

Figure 1 Test mango fruit Man Duen Kaw variety

Figure 2 Fruit fly mass rearing room

Figure 3 Fruit fly eggs

Figure 4 Count fruit fly first instar larva under stereo microscope

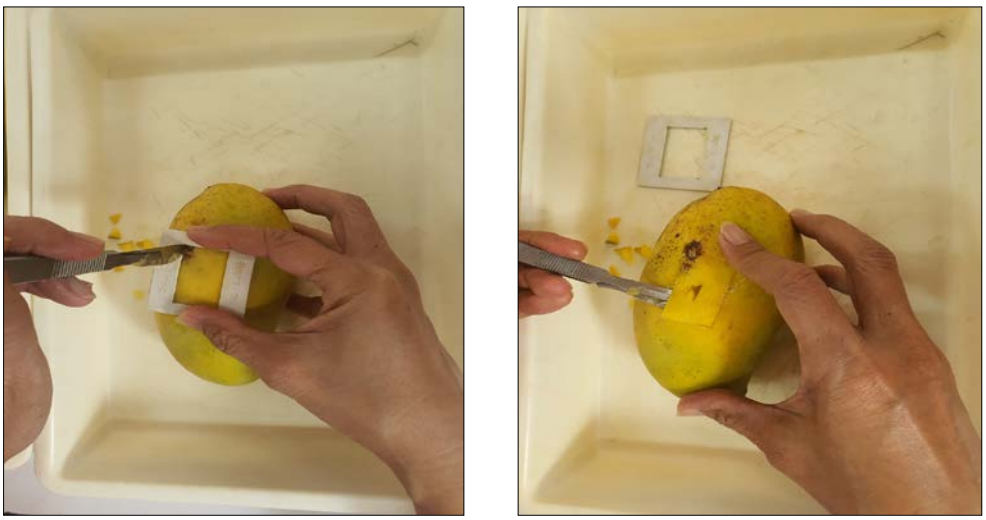


Figure 5 A rectangular flab was made on one size of each fruit and one small hole also was punched on each rectangular cut

Figure 6 First instar larvae were transferred into test fruits by using camel's hair brush

Figure 7 Sanshu vapor heat treatment system (differential pressure type) model: EHK-1000D

Figure 8 Calibration sensor of resistance thermometers

Figure 9 Recorder in the vapor heat treatment system

Figure 10 Place monitoring of fruit temperature (sensor fruit)

Figure 11 Control and test fruits infested with fruit fly first instar were held in room at 25-27 ° C after heat treatment

Figure 12 Test fruits infested with fruit fly first instar were observed at each given treatment temperature and holding time

Figure 13 Susceptibility disinfestation test

Figure 14 Preliminary disinfestation test

Figure 15 Intermediate disinfestation test

Figure 16 Showing cooling system (differential pressure type) model: SHS-12

Figure 17 Control and treated fruits keep in box

Figure 18 Control and treated fruits in chamber at 15 ° C after heat treatment

Figure 19 The measurement of total soluble solid (TSS) by using 'atago' digital refractometer (model: DBX-30)

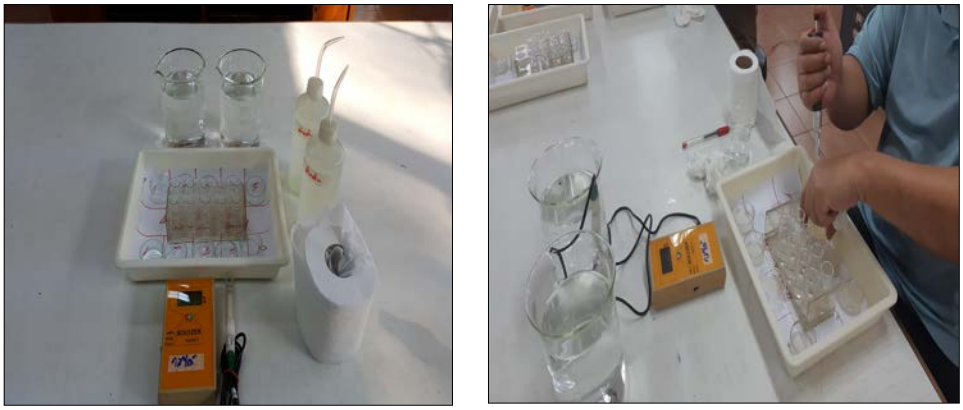


Figure 20 The measurement of acidity by using acilizer (model: 5 006P)

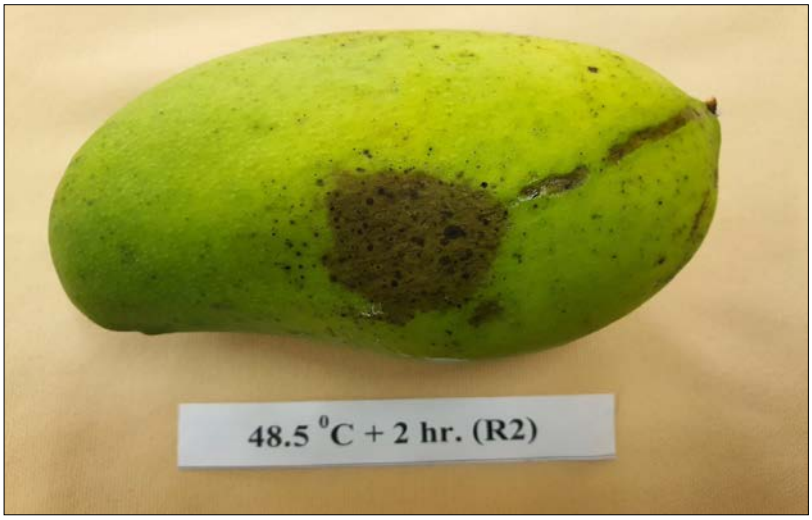


Figure 21 Disease infection found in mango fruit of MVHT treated fruits at 48.5 ° C for 2 h after 7 days in chamber at 15 ° C

Figure 22 Spongy tissue found in mango fruit of MVHT treated fruits at 48.5 °C for 2 h after 7 days in chamber at 15 °C

วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในผลมะม่วงน้ำดอกไม้มัน เพื่อเพิ่มศักยภาพในการส่งออก

Development of Quarantine Heat Treatment to Disinfest Fruit Flies *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in “Namdokmai Mun” Mango for Export

พงษ์ศักดิ์ จิณฤทธิ์ พุฒิพงษ์ เพ็งฤกษ์ ชัยณรัตน์ สนศริ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ ปวีณา บูชาเทียน ศิริพร คงทวี

กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Progress report

Vapor heat treatment was developed as a quarantine treatment for 'Namdokmai Mun' cultivar of mangoes, Mangifera indica L. It was tested against eggs and larval instars of the oriental fruit fly, ***B. dorsalis*** Among immature stages of the both fruit fly species, the most resistant developmental stage to vapor heat treatment was 1 st-instar larvae of the **, *B. dorsalis*** There were no survivors from estimated treated population 1 st-instar larvae of the**, *B. dorsalis*** when the innermost fruit temperature was raised to 47.0 C 5 minute.

Keywords : namdokmaimun namdokmai

รหัสการทดลอง FF65-55-05-65-00-04-65

รายงานความก้าวหน้า

ทำการการศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของหนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มันและมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ จากการทดลองพบว่า หนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มีความทนทานต่อความร้อนมากกว่าหนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มัน โดยหนอนวัย 1 ตายทั้งหมดที่อุณหภูมิ 47.0 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ในผลมะม่วงทั้ง 2 สายพันธุ์ ทำการศึกษาเบื้องต้นประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดหนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มันจากการทดลองพบว่าหนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงน้ำดอกไม้มัน ตายทั้งหมดที่อุณหภูมิ 47.0 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที

คำหลัก : มะม่วงน้ำดอกไม้มัน มะม่วงน้ำดอกไม้

คำนำ

ในปี พ.ศ. 2529 กรมวิชาการเกษตร โดยความช่วยเหลือด้านวิชาการจากรัฐบาลญี่ปุ่นได้ศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้ความร้อนกำจัดแมลงวันทอง และแมลงวันแตงในผลมะม่วงพันธุ์หนังกลางวัน ผลการศึกษาพบว่า วิธีการอบไอน้ำ(Vapor heat treatment, VHT) มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันผลไม้ทั้ง 2 ชนิด ในผลมะม่วงพันธุ์หนังกลางวัน โดยที่ได้ตามมาตรฐานของวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (Unhawutti et al., 1986) ต่อมาในปีพ.ศ. 2534 ได้มีการวิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนด้วยกรรมวิธีใหม่ คือ วิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified vapor heat treatment, MVHT) มีประสิทธิภาพสามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงครอบคลุมถึง 4 พันธุ์คือ หนังกลางวัน น้ำดอกไม้ แรด พิมเสนแดง (Unhawutti et al., 1991) และล่าสุดพันธุ์มหาชนก (รัชฎา และคณะ., 2549) โดยที่วิธีการดังกล่าวไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของผลมะม่วง การใช้วิธีการอบไอน้ำเป็นวิธีการทางด้านกักกันพืช โดยในแต่ละประเทศจะใช้หลักการ เดียวกัน คือ การเพิ่มความร้อนให้กับพืชจนถึงระดับที่สามารถกำจัดแมลงได้เป็นที่ยอมรับทางกักกันพืช (probit 9) และต้องไม่ทำให้คุณภาพของผลไม้เสียหาย อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในเครื่องอบไอน้ำจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของผลไม้และแมลงที่ต้องการกำจัด นอกจากนี้วิธีการอบไอน้ำยังมีข้อดี ในแง่ของความปลอดภัยจากสารพิษตกค้างภายในผลไม้ด้วยเหตุนี้ความพยายามที่จะขยายตลาดการ ส่งออกมะม่วงจากประเทศไทยพันธุ์อื่น ๆ ที่น่าสนใจไปยังประเทศที่เข้มงวดทางด้านกฎหมายกักกันพืช จึงจำเป็นที่จะต้องมีการศึกษาความเป็นไปได้ของวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อน ซึ่งใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพกับผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มันเพื่อวิจัยและพัฒนาให้เป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช สำหรับกำจัดแมลงวันทองในผลพันธุ์น้ำดอกไม้มันเพื่อการส่งออก

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มัน
2. ตู้อบไอน้ำกำจัดแมลงขนาดเล็กสำหรับงานทดลอง 2 เครื่อง
3. ตู้ลดอุณหภูมิผลไม้
4. ห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้ 2 ห้อง
5. เครื่องอ่างน้ำร้อน
6. เครื่องวัดค่าความหวานของผลไม้
7. ห้องควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสำหรับงานทดลองขนาดเล็ก
8. ตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสำหรับงานทดลองขนาดเล็ก 4 ตู้
9. ห้องเย็นสำหรับเก็บผลไม้ที่ใช้ในการทดลอง
10. เครื่องบันทึกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์แบบต่อเนื่อง
11. แท่งวัดอุณหภูมิขนาดเล็กสำหรับงานทดลอง
12. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่งสำหรับงานทดลอง
13. อุปกรณ์สำหรับตรวจสอบผลการทดลอง ได้แก่ พู่กัน ปากคีบ เคาท์เตอร์ จานทดลองขนาดเล็ก ถาดใส่ผลไม้ ถุงผ้าตาข่าย ถุงมือ มีดปอกผลไม้ ถุงขยะดำ และอื่นๆ

วิธีการ

1. ศึกษาข้อมูลเบื้องต้นของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มันเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับงานทดลอง

โดยการสืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับชีววิทยา พื้นที่ปลูก ลักษณะประจำพันธุ์ และปริมาณการส่งออกของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มัน จากแหล่งข้อมูลอ้างอิงภายในประเทศ เช่น กรมวิชาการเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร และสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร เป็นต้น ฯลฯ และภายนอกประเทศ อาทิเช่น เว็บไซต์ และวารสารนานาชาติที่เกี่ยวข้อง เป็นต้น

สำรวจสวนและคัดเลือกมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มันให้ได้คุณภาพตามมาตรฐานส่งออก จากแหล่งปลูกมะม่วงน้ำดอกไม้มันที่สำคัญ ได้แก่ จังหวัด กรุงเทพมหานคร ราชบุรี และนครปฐม จากนั้นนำมะม่วงน้ำดอกไม้มันกลับมายังห้องปฏิบัติการกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เก็บมะละกอไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิและความชื้น เพื่อนำมาใช้ในงานทดลองขั้นตอนศึกษาด้านความเสียหายจากความร้อน และขั้นตอนศึกษาด้านการกำจัดแมลงด้วยความร้อนต่อไป

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

บันทึกข้อมูลชีววิทยา ลักษณะประจำพันธุ์ และข้อมูลแหล่งเพาะปลูกน้ำหนักและขนาดของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มันเพื่อใช้ในการทดลอง จำนวนแหล่งข้อมูลที่ใช้อ้างอิงทั้งหมด และจำนวนวารสารภายในและภายนอกที่มีการตีพิมพ์

ศึกษาด้านการกำจัดแมลงด้วยความร้อนจากวิธีการอบไอน้ำ

ดำเนินการทดลองด้วยเครื่องตู้อบความร้อนกำจัดแมลงวันผลไม้ขนาดเล็ก จำนวน 2 เครื่อง โดยการเตรียมมะม่วงให้มีแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัยที่ 1 อยู่ภายในผล จะใช้วิธีใส่หนอนวัยที่ 1 ที่ต้องการลงในผลมะม่วง (Artificial infestation method) การเตรียมหนอนวัยที่ 1ดำเนินการตามรายละเอียดใน (Intarakumheng *et al*., 2006) ใส่หนอนวัยที่ 1 ของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* จำนวน 100 ตัว/ผล มะม่วงที่ใช้ในการทดลองมีน้ำหนัก 250-350 กรัม/ผล จำนวนประมาณ 400 ผล (มะม่วงขนาดกลาง) มะม่วงที่ผ่านความร้อน treatment จำนวน 50 ผล/ตู้ และมะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน control จำนวน 10 ผล ก่อนการอบมะม่วงจะต้องทำการบันทึกข้อมูลน้ำหนัก และถ่ายรูปมะม่วงทุกครั้ง อบมะม่วงด้วยวิธีอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (MVHT) โดยช่วงแรกของการเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วงขึ้นถึง 43 องศาเซลเซียส อากาศร้อนมีความชื้นสัมพัทธ์ 50 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นจึงปรับเปลี่ยนเป็นอากาศร้อนที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำ ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ โดยอบมะม่วงให้อุณหภูมิภายในสุดผลเพิ่มขึ้นถึง 47 องศาเซลเซียส และคงความร้อนไว้ที่ 47 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 20 นาที สำหรับการวัดอุณหภูมิผลมะม่วงวัดจากมะม่วงที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิ (sensor fruit) จำนวน 3 ผล เมื่ออบมะม่วงครบตามอุณหภูมิ และระยะเวลาที่กำหนดไว้ นำมะม่วงที่ผ่านความร้อนออกจากตู้อบไอน้ำ และลดอุณหภูมิมะม่วงทันทีด้วยวิธีการผ่านด้วยน้ำนาน 1 ชั่วโมง ในเครื่องลดอุณหภูมิผลไม้ จากนั้นเก็บมะม่วงหลังผ่านความร้อนแล้ว ในห้องควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิประมาณ 25-27 องศาเซลเซียส บันทึกจำนวนแมลงที่รอดชีวิตในมะม่วงหลังจากผ่านความร้อนแล้วเป็นเวลานาน 5 วัน ทำการทดลอง จำนวน 4 ซ้ำ นำข้อมูลไปคำนวณหาอัตราการตายที่แท้จริง (Corrected mortality) โดยอาศัยสูตรของ Abbott (Abbott, 1925)

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2564 - กันยายน 2565 ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ทำการการศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของหนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มันและมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ จากการทดลองพบว่า หนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มีความทนทานต่อความร้อนมากกว่าหนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงพันธ์น้ำดอกไม้มันโดยหนอนวัย 1 ตายทั้งหมดที่อุณหภูมิ 47.0 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ในผลมะม่วงทั้ง 2 สายพันธุ์ 2. ทำการศึกษาเบื้องต้นประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดหนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มัน จากการทดลองพบว่า หนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงมะม่วงน้ำดอกไม้มัน ตายทั้งหมดที่อุณหภูมิ 47.0 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที

จากผลการทดลองในตารางที่ 1 จึงต้องมีการประเมินประสิทธิภาพเบื้องต้นของวิธีการอบไอน้ำ MVHT เพื่อหาอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการกำจัดแมลงวันผลไม้หนอนวัย 1 ในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มันโดยทดลองอบไอน้ำมะม่วงน้ำดอกไม้มันที่อุณหภูมิ 45.0 องศาเซลเซียล, 46 องศาเซลเซียล, 47.0 องศาเซลเซียล , 47.0 องศาเซลเซียล นาน 5 นาที 10 นาที พบว่าหนอนแมลงวันผลไม้มีร้อยละของอัตราการตายที่ 65.59,90.01,92.51,97.22, และ 100 100 ตามลำดับ (ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ)

จากผลการทดลองในตารางที่ 2 จึงต้องมีการประเมินประสิทธิภาพเบื้องต้นของวิธีการอบไอน้ำ MVHT เพื่อหาอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการกำจัดแมลงวันผลไม้หนอนวัย 1 ในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้โดยทดลองอบไอน้ำมะม่วงน้ำดอกไม้มันที่อุณหภูมิ 45.0 องศาเซลเซียล, 46 องศาเซลเซียล, 47.0 องศาเซลเซียล , 47.0 องศาเซลเซียล นาน 5 นาที 10 นาที พบว่าหนอนแมลงวันผลไม้มีร้อยละของอัตราการตายที่ 64.20,86.40,89.73,96.10, และ 100 100 ตามลำดับ (ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ)

จากผลการทดลองในตารางที่ 3 จึงต้องมีการประเมินประสิทธิภาพเบื้องต้นของวิธีการอบไอน้ำ MVHT เพื่อหาอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการกำจัดแมลงวันผลไม้หนอนวัย 1 ในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มันโดยทดลองอบไอน้ำมะม่วงน้ำดอกไม้มันที่อุณหภูมิ 45.0 องศาเซลเซียล, 46 องศาเซลเซียล, 47.0 องศาเซลเซียล , 47.0 องศาเซลเซียล นาน 5 นาที 10 นาที 15นาที 20 นาที พบว่าหนอนแมลงวันผลไม้มีร้อยละของอัตราการตายที่ 83.19,95.58,97.05, 98.82, และ 100 และ 100 และ100 และ 100 ตามลำดับ (ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1.หนอนแมลงวันผลไม้วัย 1 ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สามารถทนทานต่อความร้อนจากวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ได้มากกว่าในมะม่วงน้ำดอกไม้มัน

2.กระบวนการอบไอน้ำแบบปรับความชื้นสัมพัทธ์ที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียล. นาน 20 นาที สามารถกำจัด แมลงวันผลไม้ระยะที่ทนทานต่อความร้อนมากที่สุดในมะม่วงน้ำดอกไม้มันจำนวน 1,500 ตัวโดยไม่มี หนอนวัย 1 รอดชีวิต ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานวิธีการกำจัดแมลงด้านกักกันพืชที่จะต้องทดสอบได้ว่า สามารถกำจัดแมลงในผลไม้ในระดับ probit 9 คือจำนวนไม่น้อยกว่า 30,000 ตัว และต้องไม่มีแมลง รอดชีวิต

3.กระบวนการอบไอน้ำที่อุณหภูมิ 47องศาเซลเซียล นาน 20 นาทีสามารถเสนอเป็นวิธีการกำจัดแมลงด้านกักกันพืชเพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ในมะม่วง

คำขอบคุณ

งานทดลองนี้ประสบความสำเร็จได้จากความร่วมมือของเจ้าหน้าที่กลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ขอขอบคุณ คุณสมิทธิ์ อยู่เอี่ยม คุณมีนาจริงจิตร ที่มีส่วนช่วยในการเตรียมอุปกรณ์และวัสดุในการทดลอง รวมถึงการตรวจเช็คผลการทดลอง การป้อนและเก็บรวบรวมข้อมูล

เอกสารอ้างอิง

อุดร อุณหวุฒิ, มานะพุ่มทอง , รัชฎา อินทรกำแหง, วลัยกร วรวิศิษฏ์ธำรง และประเทือง ศรีสุข. 2536. การศึกษาความต้าทานต่อความร้อนของแมลงวันทองวัยที่ 1 ในมะม่วงหนังกลางวันน้ำดอกไม้แรด และพิมเสนแดง ว.วิชาการ กษ. 11: 133-147.

Abbott, W.S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol.; 18 : 265-267

Unahawutti, U., C. Chettanachitara, M. Poomthong, P. Konson, E. Smitasiri, C. Lapasathukool, W. Worawisitthumrong and R. Intarakumheng. 1986. Vapor heat treatment for ‘Nang Klarngwun’ mango, Mangifera indica Linn., infested with eggs and larvae of the oriental fruit fly, Dacus dorsalis Hendel and the melon fly, D. cucurbitae Coquillett (Diptera : Tephritidae). Technical Plant Quarantine Sub-Division, Agricultural Regulatory Division, Department of Agriculture, Bangkok. 108 p.

Unahawutti, U., M. Poomthong, R. Intarakumheng, W. Worawisitthumrong, C. Lapasathukool, E. Smitasiri, P. Srisoon and C. Ratanawaraha. 1991. Vapor heat as plant quarantine treatment of ‘Nang Klarngwan’, ‘Nam Dorkmai’, ‘Rad’ and 1073 ‘Pimsen Daeng’ mangoes infested with fruit flies (Diptera : Tephritidae). Technical Plant Quarantine Sub-Division, Agricultural Regulatory Division, Department of Agriculture, Bangkok. 342 p. Watanabe, N.F. Ichinohe and M. Sonda. 1973. Improvement of corn flour medium for larval culture or oriental fruit fly. Res. Bull.Plant. Prot.Japan. 11:57-5B

Table 1 Mortality[1/] of first instar of oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in mango(Nan Dok Mai Mun) treated with modified vapor heat treatment in susceptibility disinfestation test

Treatment[2/]	Number of treated (larvae)	Number of alive (larvae)	Number of dead (larvae)	Corrected mortality(%)[3/]
Control	4,500	3426	1,074	0
45.0 ° C	1,500	372	1128	65.59
46.0 ° C	1,500	108	1392	90.01
46.5 ° C	1,500	81	1,419	92.51
47.0 ° C	1,500	30	1,470	97.22
47.0 ° C + 5 min.	1,500	0	1,500	100
47.0 ° C + 10 min.	1,500	0	1,500	100

[1/]Combined data of 3 replicates.

[2/]Treatment: 5 fruits infested with 100 individuals/fruit.Control: 15 fruits infested with 100 individuals/fruit.

[3/]Mortality is corrected by using Abbott's formula (Abbott, 1925

Table 2 Mortality[1/] of first instar of oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in mango(Nam Dok Mai) treated with modified vapor heat treatment in susceptibility disinfestation test

Treatment[2/]	Number of treated (larvae)	Number of alive (larvae)	Number of dead (larvae)	Corrected mortality(%)[3/]
Control	4,500	2,977	1,523	0
45.0 ° C	1,500	387	1,113	64.20
46.0 ° C	1,500	147	1,353	86.40
46.5 ° C	1,500	111	1,389	89.73
47.0 ° C	1,500	42	1,458	96.10
47.0 ° C + 5 min.	1,500	0	1,500	100
47.0 ° C + 10 min.	1,500	0	1,500	100

[1/]Combined data of 3 replicates.

[2/]Treatment: 5 fruits infested with 100 individuals/fruit.Control: 15 fruits infested with 100 individuals/fruit.

[3/]Mortality is corrected by using Abbott's formula (Abbott, 1925).

Table 3 Mortality[1/] of first instar of oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in mango(Nam Dok Mai Mun) treated with modified vapor heat treatment in preliminary disinfestation test

Treatment[2/]	Number of treated(larvae)	Number of alive(larvae)	Number of dead(larvae)	Corrected Mortality (%)[3/]
Control	4,500	3,326	1,174	0
45.0 ° C	1,500	846	654	83.19
46.0 ° C	1,500	45	1455	95.58
46.5 ° C	1,500	30	1470	97.05
47.0 ° C	1,500	12	1,488	98.82
47.0 ° C + 5 min.	1,500	0	1,500	100
47.0 ° C + 10 min.	1,500	0	1,500	100
47.0 ° C + 15 min.	1,500	0	1,500	100
47.0 ° C + 20 min.	1,500	0	1,500	100

[1/]Combined data of 3 replicates.

[2/]Treatment: 5 fruits infested with 100 individuals/fruit.Control: 15 fruits infested with 100 individuals/fruit.

[3/]Mortality is corrected by using Abbott's formula (Abbott, 1925

Figure 1 Orchard of Nam Dok Mai Mun Mango in Ratchaburi province

Figure 2 Preparation of Nam Dok Mai Mun for an experiment

Figure 3 Preparation of the first instar larva of *B. dorsalis* for experiment

Figure 4 Comparison test for heat tolerance of *B. dorsalis* first instar in Nam Dok Mai Mun and Namdokmai mangoes with MVHT

Figure 5 Intermediate disinfestations test for Nam Dok Mai Mun mango

Figure 6 The examination of test mangoes for surviving larva was done 5 days after treatment

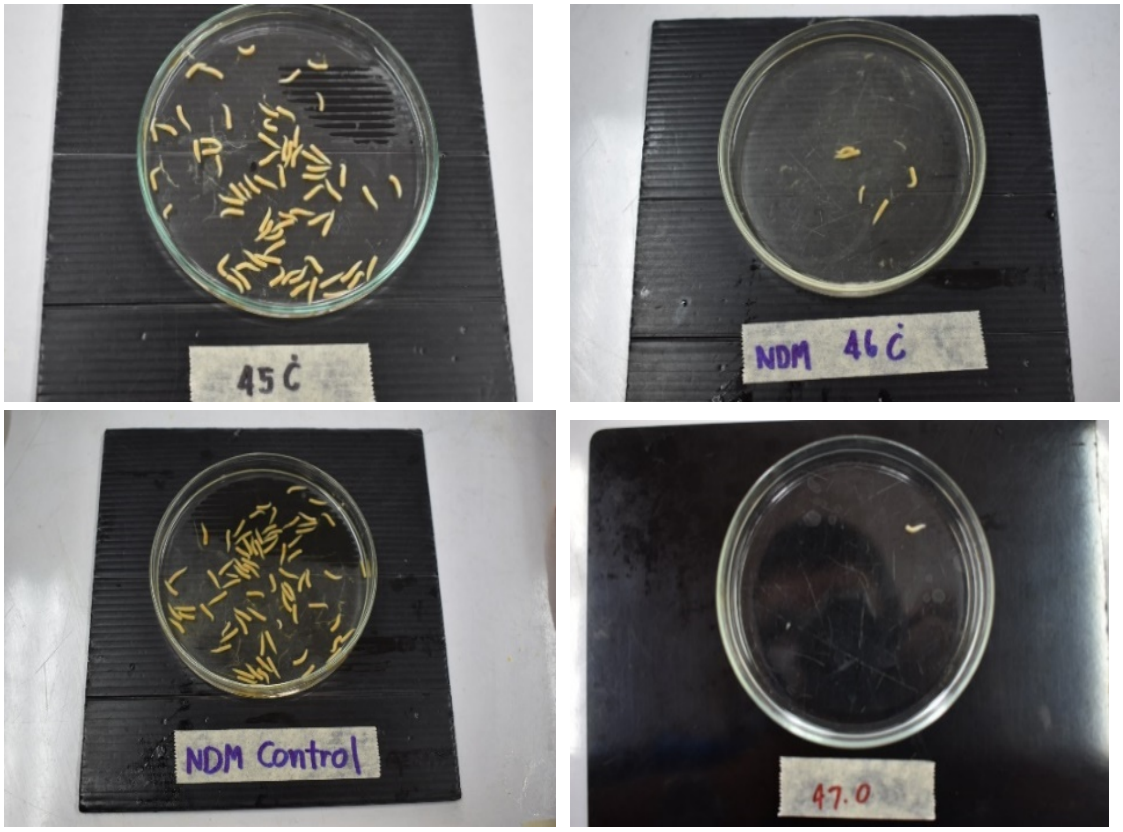


Figure 7 Surviving iarva of *B. dorsalis* in Nam Dok Mai Mun Mango after treatment for 5 days

วิจัยและพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงแดงจักรพรรดิเพื่อการส่งออก

Research and Development on Disinfestation with Heated Air Quarantine Treatment to Controlling the Oriental Fruit Fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) on Mango (Dangjakkrapad Variety) for Export

ปวีณา บูชาเทียน สลักจิต พานคำ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ ศิริพร คงทวี
ชัยณรัตน์ สนศิริ พุฒิพงษ์ เพ็งฤกษ์ พงษ์ศักดิ์ จิณฤทธิ์
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การทดลองวิจัยและพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงแดงจักรพรรดิเพื่อการส่งออก มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเสียหายจากความร้อนด้วยเทคโนโลยีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ต่อคุณภาพของมะม่วงแดงจักรพรรดิ จากการสืบค้นข้อมูลชีววิทยาลักษณะประจำพันธุ์ และแหล่งเพาะปลูก พบว่า มะม่วงแดงจักรพรรดิ หรือ มะม่วงยู่เหวิน เกิดจากการผสมเกสรของมะม่วงชื่อดัง 2 สายพันธุ์ของประเทศไต้หวัน คือ มะม่วงอ้ายเหวิน กับ มะม่วงจีนหวง ผลเป็นรูปกลมรียาวและอ้วนใหญ่ ผลโตเต็มที่มีน้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 1 กิโลกรัมต่อผล ผลมีสีแดงจนถึงม่วงเข้ม เนื้อมะม่วงมีกลิ่นหอม เมื่อสุกงอมเนื้อไม่เละ ไม่มีเสี้ยน เปลือกหนา สามารถเก็บรักษาได้นาน แหล่งเพาะปลูกในประเทศไทยที่ผ่านการรับรองจากกรมวิชาการเกษตร ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน พิจิตร แพร่ และแม่ฮ่องสอน เมื่ออบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์กับมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิ ที่อุณหภูมิ 46 47 และ48 องศาเซลเซียส และ นาน 0 1 และ 2 ชั่วโมง หลังจากเก็บมะม่วงไว้ที่ห้องควบคุมอุณหภูมิ 10-13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 85-95 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 7 วัน พบว่ามะม่วงที่อบไอน้ำที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส มีน้ำหนักลดลง ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับมะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน โดยมะม่วงที่ผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำไม่มีความแตกต่างกับมะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน แต่เมื่อมะม่วงได้รับความร้อนโดยมีอุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นเป็น 47 และ 48 องศาเซลเซียส ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำลดลงอย่างมีนัยสำคัญ อาการเกิดโรค และความเสียหายของผลมะม่วงแดงจักรพรรดิหลังได้รับความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆนั้น ไม่พบอาการผิดปกติ พบเพียงยางมะม่วงที่ไหลจากขั้วผลสัมผัสกับผิวเปลือกทำให้ผิวมะม่วงเป็นรอย หลังจากมะม่วงโดนความร้อนจะทำให้บริเวณที่โดนยางนั้นชัดเจนยิ่งขึ้น

คำหลัก : มะม่วงแดงจักรพรรดิ ความเสียหาย วิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์

รหัสการทดลอง FF65-55-05-65-00-05-65

คำนำ

มะม่วง (*Mangifera Indica*) เป็นผลไม้เมืองร้อนที่สามารถปลูกได้ทุกภาคของประเทศไทย ไม้พุ่มยืนต้น สูงประมาณ 10 - 15 ม. ลำต้นตรง ยอดกลม ทึบ ใบเดี่ยว การเกาะติดของใบบนกิ่งแบบเวียน ใบรูปหอกยาวแกมขอบขนาน ปลายเรียวแหลม โคนมนแหลม ออกดอกเดือนธันวาคม ถึง มกราคม ดอกออกเป็นช่อที่ปลายกิ่ง ในช่อดอกหนึ่งๆ จะมีช่อย่อยหลายช่อ ดอกย่อยขนาดเล็ก สีเหลืองอ่อน ก้านดอกสั้น ผลสุกเดือนพฤษภาคม ถึง มิถุนายน และมีพันธุ์ทวายซึ่งออกนอกฤดูกาล ผลเป็นแบบผลสด รูปทรง ขนาด และสีผิวแล้วแต่ชนิดพันธุ์นั้นๆ บริโภคได้ทั้งผลดิบและผลสุก รสเปรี้ยว มัน และหวาน มะม่วงในประเทศไทยมีหลากหลายพันธุ์ (ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง. มปป.)

มะม่วงแดงจักพรรดิ์ หรือ ยู่เหวิน เป็นพันธุ์มะม่วงจากประเทศไต้หวัน เป็นมะม่วงลูกผสมระหว่างพันธุ์จินหวงกับมะม่วงพันธุ์เออร์วิน (สืบค้นจาก: research.hrdi.or.th. มมป) ผลโตเต็มมีน้ำหนักเฉลี่ย 1 กิโลกรัม ลักษณะเด่นของมะม่วงแดงจักพรรดิ์ ติดผลดก ให้ผลผลิตเร็ว ปลูกง่าย เจริญเติบโตในทุกสภาพดิน ใบมะม่วงหนา ต้านทานโรคได้ดี เมล็ดมะม่วงเล็ก เนื้อหนา ไม่มีเสี้ยน เปลือกมะม่วงหนา สีม่วงอมแดง ผลใหญ่ ผลดิบมีรสชาติหวาน มัน กรอบ นิยมทานผลสุก เพราะรสชาติหวาน กลิ่นหอม ไม่มีเสี้ยน เนื้อไม่เละ ผลสุกเก็บได้นาน 7-10 วัน การส่งขายต่างประเทศจึงสามารถทำได้ง่าย เพราะสามารถอยู่ได้นาน

ประเทศไทยเป็นแหล่งแพร่ระบาดของแมลงวันผลไม้ และมักพบปัญหาไข่และหนอนแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ซึ่งเป็นศัตรูพืชกักกันที่สำคัญของต่างประเทศติดไปกับผักผลไม้ส่งออก ดังนั้น ก่อนการส่งออกผักผลไม้ไปยังประเทศที่มีความเข้มงวดด้านกักกันพืช จึงต้องมีการกำจัดแมลงวันผลไม้ตามเงื่อนไขระหว่างประเทศ การกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified Vapor Heat Treatment, MVHT) เป็นวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ที่มีประสิทธิภาพสูง ประเทศไทยได้วิจัยและพัฒนาวิธีการกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยวิธีการดังกล่าว และประสบความสำเร็จในการใช้วิธีการดังกล่าวเจรจาเปิดตลาดเพื่อส่งออกผลไม้สด เช่น มะม่วง ส้มโอ และมังคุด ไปยังประเทศที่มีความเข้มงวดทางด้านกักกันพืชหลายประเทศ นอกจากนี้แล้วยังจำเป็นที่จะต้องศึกษาผลกระทบต่อคุณภาพของผลไม้จากวิธีที่ใช้กำจัดแมลงวันผลไม้นี้ด้วย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเกิดขึ้นโดยมีวัตถุประสงค์

1) ศึกษาความเสียหายจากความร้อนด้วยเทคโนโลยีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ต่อคุณภาพของผลมะละกอพันธุ์แขกดำ และแขกนวล มะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า น้ำดอกไม้มัน แดงจักรพรรดิ และอกร่อง

2) ศึกษาประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ด้วยเทคโนโลยีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในผลมะละกอพันธุ์แขกดำ และแขกนวล มะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า น้ำดอกไม้มัน แดงจักรพรรดิ และอกร่อง เพื่อใช้ในการเจรจาเปิดตลาดส่งออก

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. มะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิ
2. ตู้อบไอน้ำกำจัดแมลงขนาดเล็กสำหรับงานทดลอง 2 เครื่อง
3. ตู้ลดอุณหภูมิผลไม้
4. ห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้ 2 ห้อง
5. เครื่องอ่างน้ำร้อน
6. เครื่องวัดค่าความเป็นกรดของผลไม้
7. เครื่องวัดค่าความหวานของผลไม้
8. ห้องควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสำหรับงานทดลองขนาดเล็ก
9. ตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสำหรับงานทดลองขนาดเล็ก 4 ตู้
10. ห้องเย็นสำหรับเก็บผลไม้ที่ใช้ในการทดลอง
11. เครื่องบันทึกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์แบบต่อเนื่อง
12. แท่งวัดอุณหภูมิขนาดเล็กสำหรับงานทดลอง
13. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่งสำหรับงานทดลอง
14. อุปกรณ์สำหรับเช็คผลการทดลอง ได้แก่ พู่กัน ปากคีบ เคาท์เตอร์ จานทดลองขนาดเล็ก ถาดใส่ผลไม้ ถุงผ้าตาข่าย ถุงมือ มีดปอกผลไม้ ถุงขยะดำ และอื่นๆ

วิธีการ

1. ศึกษาข้อมูลเบื้องต้นของมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับงานทดลอง

โดยการสืบค้นข้อมูลทางเว็บไซต์ของกรมวิชาการเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร และจากแหล่งข้อมูลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องต่างๆ ทั้งในประเทศและต่างประเทศ เพื่อจัดหาและคัดเลือกมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิ จากตลาดสี่มุมเมือง ตลาดไท และสวนมะม่วงของเกษตรกร อำเภอดอยหล่อ จอมทอง ดอยเต่า จังหวัดเชียงใหม่ แพร่ ปราจีนบุรี ใช้ผลมะม่วงขนาดกลาง นำมาเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิและความชื้น ของกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช เพื่อนำมาใช้ในการทดลองในขั้นตอนของการประเมินความเสียหายต่อความร้อน และขั้นตอนของการกำจัดแมลงด้วยความร้อนต่อไป

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

บันทึกข้อมูลชีววิทยา ลักษณะประจำพันธุ์ และข้อมูลแหล่งเพาะปลูกน้ำหนักและขนาดของมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิเพื่อใช้ในการทดลอง จำนวนแหล่งข้อมูลที่ใช้อ้างอิงทั้งหมด และจำนวนวารสารภายในและภายนอกที่มีการตีพิมพ์

2. ศึกษาด้านความเสียหายจากความร้อนและคุณภาพของผลมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิจากวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์

การประเมินความเสียหายของกระบวนการอบไอน้ำต่อมะม่วง แยกเป็นมะม่วงที่ผ่านความร้อน (treatment) และมะม่วงที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อน นำมะม่วงทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อน อบมะม่วงภายในเครื่องตู้อบความร้อนให้อุณหภูมิภายในสุดผลมะม่วงเพิ่มขึ้นจนถึง 46 47 และ 48 °C และคงความร้อนภายในผลไว้ที่อุณหภูมิ 46 47 และ 48 °C นาน 0 1 และ 2 ชั่วโมง เมื่อสิ้นสุดการให้ความร้อน ลดอุณหภูมิมะม่วงทันที โดยวิธีการผ่านด้วยน้ำนาน 1 ชั่วโมง ด้วยเครื่องลดอุณหภูมิผลไม้ นำมะม่วงทดลองทั้งหมดที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อนบรรจุใส่ในกล่องกระดาษ ด้านยาวทั้งสองข้างเจาะรู พร้อมทั้งปิดด้วยผ้าตาข่าย ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางไม่เกิน 1.6 มิลลิเมตร จำนวน 4 รู เก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 13-15 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 85-95 เปอร์เซ็นต์ นาน 7 วัน เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนดนำมะม่วงทั้งหมดที่ผ่านความร้อน และไม่ผ่านความร้อนมาประเมินความเสียหายจากความร้อน โดยใช้หลักเกณฑ์พิจารณา และดำเนินการในหัวข้อต่างๆ ดังต่อไปนี้

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. บันทึกภาพมะม่วงก่อนและหลังทดลองในแต่ละกรรมวิธีเปรียบเทียบกับมะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน

2. การสูญเสียน้ำหนัก (weight loss) ของมะม่วง โดยคำนวณเป็นร้อยละของน้ำหนักที่สูญเสียไปด้วยวิธีการบันทึกน้ำหนักมะม่วงก่อนการทดลอง และในวันที่ตรวจผลการทดลองชั่งน้ำหนักผลมะม่วงอีกครั้งหนึ่ง

3. ปริมาณน้ำตาล (brix value) ในการทดลองแต่ละครั้งคั้นน้ำจากเนื้อมะม่วงที่ผ่านความร้อน และไม่ผ่านความร้อน เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล ปริมาณน้ำตาลในรูปปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (total soluble solid, TSS) มีหน่วยเป็นค่าองศาบริกซ์ด้วยเครื่อง digital refractometer

4. ปริมาณกรด (acidity value)

5. ความแน่นเนื้อ (firmness)

6. ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงสีเปลือก น้ำหนักที่สูญหาย ความหวาน ปริมาณกรด และความแน่นเนื้อ หลังการอบไอน้ำที่ 7 วัน วิเคราะห์ผลทางสถิติ และตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยใช้วิธีการตรวจสอบแบบ t-test

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาดำเนินการ ตุลาคม 2564 - กันยายน 2565

สถานที่ดำเนินการ : ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. จากการศึกษาข้อมูลเบื้องต้นจากการสืบค้นพบข้อมูลว่า มะม่วงแดงจักพรรดิ (*Mangifera indica* L. : Anacardiaceae) เป็นมะม่วงพันธุ์ยู่เหวิน มีถิ่นกำเนิดอยู่ที่ประเทศไต้หวัน ซึ่งเป็นมะม่วงลูกผสมระหว่างพันธุ์จินหวง กับมะม่วงพันธุ์อ้ายเหวิน (มะม่วงพันธุ์อ้ายเหวินเป็นมะม่วงสายพันธุ์เดียวกับพันธุ์เออร์วิน) มะม่วงลูกผสมสายพันธุ์นี้ได้มีการนำยอดพันธุ์มาเสียบยอดในประเทศไทยประมาณ 4-5 ปีมาแล้ว เมื่อได้ลูกไม้ใหม่ออกมานำไปปลูกจนต้นโตและติดผลมีลักษณะประจำพันธุ์ดีกว่ามะม่วงที่เป็นสายพันธุ์พ่อและแม่อย่างชัดเจนหลายจุด เช่น ผลมีขนาดใหญ่กว่า ติดผลดก สีสันของผลเป็นสีม่วงเข้ม ทำให้ติดผลทั้งต้น มะม่วงแดงจักพรรดิ (Figure1) มีลักษณะทางพฤกษศาสตร์คือ เป็นไม้ยืนต้น สูง 10-20 เมตร ใบเดี่ยว ออกเรียงสลับ รูปรีแกมรูปขอบขนาน ปลายแหลม โคนมน แต่ใบมีขนาดใหญ่และยาวดูคล้ายใบของมะม่วงเขียวใหญ่มาก ดอกออกเป็นช่อที่ปลายยอด แต่ละช่อประกอบด้วยดอกย่อยขนาดเล็กจำนวนมาก ดอกมีกลิ่นหอม ผลมีลักษณะรูปกลมรียาวและอ้วนใหญ่ ผลโตเต็มที่มีน้ำหนักเฉลี่ยระหว่าง 1 กิโลกรัม ต่อผล ผลเป็นสีม่วงเข้มตลอดทั้งผลสวยงามมาก รสชาติอร่อยทั้งผลดิบและสุก (กรรณิการ์, มปป) สำหรับแหล่งเพาะปลูกมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิในประเทศไทย มีพื้นที่ปลูกที่ผ่านการรับรองจากกรมวิชาการเกษตรได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน พิจิตร แพร่ และแม่ฮ่องสอน จากข้อมูลของส่วนงานพัฒนาระบบและฐานข้อมูล กลุ่มพัฒนาระบบตรวจรับรองมาตรฐานการผลิต สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าพืช กรมวิชาการเกษตร ผลการดำเนินงานวันที่ 28 กรกฎาคม 2566 มีสวนที่ได้รับการรับรองแปลง GAP ของกรมวิชาการเกษตร ประมาณ 49 แปลง คิดเป็น 236 ไร่ (ส่วนงานพัฒนาระบบและฐานข้อมูล, 2012) (Figure2)

2. ศึกษาด้านความเสียหายจากความร้อนและคุณภาพของผลมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิจากวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ พบว่า การอบมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิด้วยวิธีการไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (MVHT)) โดยการเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วง ภายในเครื่องตู้อบความร้อนให้อุณหภูมิ ภายในผลมะม่วงเพิ่มขึ้นจนถึง 46 47 และ48 องศาเซลเซียส และคงความร้อนภายในผลไว้ที่อุณหภูมิ 46 47 และ48 องศาเซลเซียส นาน 0 1 และ2 ชั่วโมง ระยะเวลาที่ใช้ในการอบมะม่วงรวมทั้งน้ำหนักมะม่วงกำหนดอุณหภูมิ (sensor fruit) ที่ใช้ในการทดลองแต่ละครั้งได้แสดงไว้ใน (Table 1 and 2) หลังจากเก็บมะม่วงไว้ที่ห้องควบคุมอุณหภูมิ 10-13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 85-95 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 7 วัน พบว่ามะม่วงที่อบไอน้ำที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส มีน้ำหนักลดลงอย่างมีนัยยะสำคัญ เมื่ออบไอน้ำที่ระยะเวลาเพิ่มขึ้น (0 1 และ2 ชั่วโมง) เมื่อเปรียบเทียบกับมะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน (Table 3)

เมื่อนำมะม่วงแดงจักรพรรดิที่ความร้อน 46 47 และ 48 องศาเซลเซียส นาน 0 1 และ2 ชม. มาหาค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ ได้ด้วยเครื่องวัดความหวานรุ่น PAL-ALPHA และ รุ่น PAL-BX/ACID1 (Figure3) พบว่า อุณหภูมิที่ 46 47 และ 48 องศาเซลเซียส มะม่วงที่ผ่านความร้อนจะมีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับมะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน (Table4) พบว่าที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 0 1 และ 2 ชม. ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำไม่มีความแตกต่างกับ

มะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน แต่เมื่อมะม่วงมีอุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นเป็น 47 และ 48 องศาเซลเซียส นาน 0 1 และ 2 ชม. ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำมีความแตกต่างอย่างมีนัยยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับมะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน ซึ่งเมื่อมะม่วงได้รับความร้อนที่อุณหภูมิสูงขึ้นจะทำให้ความหวานลดลง

สำหรับอาการเกิดโรค และความเสียหายของผลมะม่วงแดงจักรพรรดิหลังได้รับความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆนั้น ไม่พบอาการผิดปกติ พบเพียงยางมะม่วงที่ไหลจากขั้วผลสัมผัสกับผิวเปลือกทำให้ผิวมะม่วงเป็นรอย หลังจากมะม่วงโดนความร้อนจะทำให้บริเวณที่โดนยางนั้นชัดเจนยิ่งขึ้น (Figure4)

เช่นเดียวกับมะม่วงมหาชนกสามารถทนทานต่อความร้อนโดยไม่เกิดอาการรูพรุนที่เนื้อเมื่อทำการอบไอน้ำที่อุณหภูมิ 47.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง (กลุ่มวิจัยการกักกันพืช, 2554)อุดร (2536) ได้ทำการศึกษาการอบไอน้ำ (Vapor heat teratment) มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้แรด และพิมเสนแดง โดยคงอุณหภูมิภายในผล (Fruit center temperature) ไว้ที่ระดับอุณหภูมิ 47.0 และ 48.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 0 60 และ 120 นาที ความชื้นสัมพัทธ์ 98% RH เก็บมะม่วงรอให้สุกในตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 70-80% RH ผลการทดลองพบว่า การสูญเสียน้ำหนักของมะม่วงอบไอน้ำน้อยกว่ามะม่วงที่ไม่อบไอน้ำ ปริมาณน้ำตาลและความเป็นกรดไม่แตกต่างกันระหว่างมะม่วงอบไอน้ำและไม่อบไอน้ำ มะม่วงแสดงอาการของโรคแอนแทรคโนส (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) และโรคเน่าขั้วผล (*diplodia natalensis* P. Evens) อย่างรุนแรงมีแนวโน้มลดน้อยลงในมะม่วงอบไอน้ำ การอบไอน้ำทำให้เกิดความเสียหาย (Phytotoxicity) ขึ้นภายในผลมะม่วงน้ำดอกไม้แรด และพิมเสนแดง ซึ่งแสดงอาการให้เห็น 2 ลักษณะ คือ จุดสีขาว (White spot) และเนื้อมะม่วงเป็นรูพรุนสีขาวลักษณะคล้ายฟองน้ำ (Spongy tissue) ลักษณะผิดปกติดังกล่าวนี้ไม่ปรากฏอาการให้สังเกตได้จากภายนอกและไม่แสดงอาการให้เห็นจนกว่ามะม่วงจะสุก

จากผลงานวิจัยในครั้งนี้ทำให้ทราบข้อมูลการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของมะม่วงแดงจักรพรรดิหลังการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในสภาพการเก็บรักษาในห้องควบคุมอุณหภูมิเย็น 10-13 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ประโยชน์ในการศึกษาด้านความเสียหายจากความร้อนด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในผลมะม่วงแดงจักรพรรดิในสภาพการจำลองการส่งออกทางเครื่องบินและทางเรือในปีงบประมาณ 2566-67 ต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

มะม่วงแดงจักพรรดิ เป็นมะม่วงพันธุ์ยู่เหวิน มีถิ่นกำเนิดอยู่ที่ประเทศไต้หวัน ซึ่งเป็นมะม่วงลูกผสมระหว่างพันธุ์จินหวง กับมะม่วงพันธุ์อ้ายเหวิน มีลักษณะประจำพันธุ์ที่เด่นชัดคือ ผลมีลักษณะรูปกลมรียาวและอ้วนใหญ่ ผลโตเต็มที่มีน้ำหนักเฉลี่ยระหว่าง 1 กิโลกรัมต่อผล ผลเป็นสีม่วงเข้มตลอดทั้งผล รสชาติหวานทั้งผลดิบและสุก แหล่งเพาะปลูกมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิในประเทศไทยที่ผ่านการรับรองจากกรมวิชาการเกษตรได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน พิจิตร แพร่ และแม่ฮ่องสอนสำหรับ

การศึกษาด้านความเสียหายจากความร้อนและคุณภาพของผลมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิจากวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (MVHT)) ที่อุณหภูมิ 46 47 และ48 องศาเซลเซียส และ นาน 0 1 และ 2 ชั่วโมง หลังจากเก็บมะม่วงไว้ที่ห้องควบคุมอุณหภูมิ 10-13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 85-95 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 7 วัน พบว่ามะม่วงที่อบไอน้ำที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส มีน้ำหนักลดลง สำหรับค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ หลังจากมะม่วงผ่านความร้อนที่อุณหภูมิอุณหภูมิที่ 46 47 และ 48 องศาเซลเซียส ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับมะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน โดยมะม่วงที่ผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 0 1 และ 2 ชม. ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำไม่มีความแตกต่างกับมะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน แต่เมื่อมะม่วงมีอุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นเป็น 47 และ 48 องศาเซลเซียส นาน 0 1 และ 2 ชม. ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับมะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน ซึ่งเมื่อมะม่วงได้รับความร้อนที่อุณหภูมิสูงขึ้นจะทำให้ความหวานลดลง สำหรับอาการเกิดโรค และความเสียหายของผลมะม่วงแดงจักรพรรดิหลังได้รับความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆนั้นไม่พบอาการผิดปกติ พบเพียงยางมะม่วงที่ไหลจากขั้วผลสัมผัสกับผิวเปลือกทำให้ผิวมะม่วงเป็นรอย หลังจากมะม่วงโดนความร้อนจะทำให้บริเวณที่โดนยางนั้นชัดเจนยิ่งขึ้น

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณสลักจิต พานคำ หัวหน้ากลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่ให้ความรู้ คำแนะนำและให้คำปรึกษางานวิจัย ขอขอบคุณเพื่อนร่วมงาน กลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ทุกท่านที่ช่วยในงานทดลองนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

การนำผลงานไปใช้ประโยชน์

1. เพื่อนำผลการศึกษาด้านความเสียหายจากความร้อนและคุณภาพของผลมะม่วงแดงจักรพรรดิจากวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ไปพัฒนาวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ให้ได้มาตรฐานตามวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชในระดับสากล และสอดคล้องกับข้อตกลงระหว่างประเทศได้ โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของผลไม้

2. เพื่อสามารถพัฒนาวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในผลมะม่วงพันธุ์อื่นๆ ที่มีศักยภาพในการส่งออกในเชิงพาณิชย์ได้ เช่นเดียวกับการพัฒนาวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ในผลมังคุด และส้มโอ ที่ประสบความสำเร็จสามารถส่งออกไปประเทศญี่ปุ่น และสาธารณรัฐเกาหลีได้แล้วในปัจจุบัน

3. ได้ฐานข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับวิธีการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูทางด้านกักกันพืชโดยเฉพาะแมลงวันผลไม้ด้วยวิธีการอบไอน้ำให้ผู้ที่เกี่ยวข้องและผู้ที่สนใจได้รับทราบข้อมูลอย่างถูกต้อง รวมถึงการสร้างเครือข่ายที่เกี่ยวข้องให้เพิ่มมากขึ้นทั้งในและต่างประเทศ

4. เกษตรกรชาวสวนมะม่วง ผู้ประกอบการโรงงานอบไอน้ำ และผู้ส่งออกในประเทศไทยสามารถส่งออกผลไม้ไปต่างประเทศได้มากขึ้น

เอกสารอ้างอิง

กรรณิการ์ มาระโภชน์. มปป. ของดีคลองเขื่อน. องค์การบริหารส่วนตำบลคลองเขื่อน อำเภอคลองเขื่อน จังหวัดฉะเชิงเทราร่วมกับมหาวิทยาลัยราชภัฏราชนครินทร์ อำเภอเมือง จังหวัดฉะเชิงเทรา. แหล่งข้อมูล : https://khlongkhuean.com (6 มิถุนายน 2566)

กลุ่มวิจัยการกักกันพืช. 2554. วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยความร้อนเพื่อการส่งออกมะม่วงมหาชนก. รายงานฉบับสมบูรณ์ผลงานวิจัยที่กลุ่มเป้าหมายนำไปใช้ประโยชน์เพื่อพัฒนาการเกษตร ปี 2554. 84pp.

มะม่วงโครงการหลวง. มมป. research.hrdi.or.th. แหล่งข้อมูล: https://research.hrdi.or.th/public/upload/lq407a15v2.pdf (24 พฤศจิกายน 2565)

ส่วนงานพัฒนาระบบและฐานข้อมูล. 2012. GAP DOA Online :ผลการดำเนินงานพืชมะม่วงแดงจักรพรรดิ. กลุ่มพัฒนาระบบตรวจรับรองมาตรฐานการผลิต สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าพืช กรมวิชาการเกษตร. แหล่งข้อมูล : https://gap.doa.go.th/ (4 เมษายน 2566)

ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง. มปป. ไม้ผล มะม่วง. แหล่งข้อมูล: http://clgc.agri.kps.ku.ac.th/resources/fruit/manaifera.html (2 มีนาคม 2566)

อุดร อุณหวุฒิ. 2536. คุณภาพมะม่วงน้ำดอกไม้ แรด และพิมเสนแดง หลังจากผ่านกระบวนการอบไอน้ำ Quality of 'Nam dorkmai', 'Rad' and 'Pimsen Daeng's Mangoes subjected to Vapor Heat Treatment. กรมวิชาการเกษตร

Table 1 Time for center of Dangjakkrapad mango fruits to attain 46, 47 and 48°C during modified vapor heat treatment (MVHT) of 65%RH.

Temp (°C).	Rep.	Sensor fruit weight (g)	Loading (kgs/cum.)	Time (h)[1/]		
				0:00	1:00	2:00
46	1	654.43	13	4:00	5:00	6:00
	2	642.80	13	3:51	4:51	5:51
47	1	766.32	16	4:10	5:10	6:10
	2	578.32	12	4:15	5:15	6:15
48	1	624.41	13	5:03	5:03	6:03
	2	645.14	12	5:30	5:30	5:30

[1/] Time for center of 3 sensor fruits in each replication to attain target temperature.

Table 2 Time for center of Dangjakkrapad mango fruits to attain 43, 46, 47 and 48 °C during modified vapor heat treatment in fruit injury test

Temp (°C).	Rep.	Time for fruit center to reach 43.0 °C (h)[1/]	Time for fruit center to reach 46, 47, 48 °C (h)[1/]	Time from 43 to 46, 47, 48 °C (h)[1/]
46	1	2:49	4:00	1:11
	2	2:52	3:51	0:59
47	1	3:02	4:10	1:08
	2	2:40	4:15	1:35
48	1	2:34	5:03	2:29
	2	2:44	5:30	2:46

[1/] Time for center of 3 sensor fruits in each replication to attain target temperature.

Table 3 Weight loss (%) of Dangjakkrapad mango fruits after subjecting to MVHT at 46, 47 and 48°C fruit center temperatures for various holding times and 7 days storage at 10-13 °C

Tail	Fruit temp[1/] (°C).	Weight loss (%)[2/]		
		Time (h)		
		0:00	1:00	2:00
1	46	4.48±1.03	5.87±0.90 *	5.43±0.88
	Control	5.00±0.87		
2	46	4.79±0.30	4.57±0.75	5.18±1.05
	Control	4.43±0.32		
1	47	3.84±0.20 *	4.09±0.64 *	3.78±0.90
	Control	3.35±0.80		
2		5.11±0.27 *	4.91±0.17 *	5.30±0.10 **
	Control	4.61±0.04		
1	48	4.67±1.47	5.65±1.05 *	5.78±2.09
	Control	4.52±1.27		
2		5.48±1.42	5.50±2.72	6.31±0.67 *
	Control	5.32±0.58		

[1/] Fruit temp[1] : mean of 7 fruits, Control: mean of 7 fruits.

[2/] The difference was statistically significant by t-test ($p < 0.05$).

Table 4 Total soluble solid (°Brix) of Dangjakkrapad mango fruits after subjecting to MVHT at 46, 47 and 48°C for various holding times and 7 days storage at 10-13 °C

Tail	Fruit temp[1/] (°C).	°Brix[2/]		
		Time (h)		
		0:00	1:00	2:00
1	46	11.90±0.67	10.40±1.38	9.83±3.41
	Control	11.07±1.28		
2	46	10.07±0.42	9.33±1.42	10.63±1.65
	Control	10.31±3.07		
1	47	16.63±1.54	15.27±3.37	15.97±3.34
	Control	16.19±5.40		
2	47	11.94±1.02*	11.50±0.28*	10.01±0.15
	Control	10.67±0.79		
1	48	12.14±2.44*	11.74±1.78*	10.07±6.16**
	Control	13.59±1.17		
2	48	10.71±2.39*	9.91±5.16*	8.85±2.27*
	Control	10.14±1.54		

[1/] Fruit temp[1] : mean of 7 fruits, Control: mean of 7 fruits.

[2/] The difference was statistically significant by t-test ($p < 0.05$).

Figure 1 The fruit color is red to dark purple of Dangjakkrapad mango

Figure 2 Characteristics of Dangjakkrapad mango orchards planted in Ratchaburi and Chiangmai province

Figure3 The indicator of soluble solid (°Brix) of Dangjakkrapad mango fruits are PAL-ALPHA model and PAL-BX/ACID1 model

Figure 4 The sticky strain of Dangjakkrapad mango before and after subjecting to Modified vapor heat treatment. VHT

วิจัยและพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* ในผลมะม่วงอกร่องเพื่อการส่งออก

Research and Development of Modified Vapor Heat Treatment for Ok Rong Mango infested with *Bactrocera dorsalis* (Hendel) for Export

ศิริพร คงทวี มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ ชัยณรัตน์ สนศิริ ปวีณา บูชาเทียน
พงษ์ศักดิ์ จิณฤทธิ์ พุฒิพงษ์ เพ็งฤกษ์ สลักจิต พานคำ
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Progress report

Thailand has successfully researched and developed Modified Vapor Heat Treatment (MVHT) as a quarantine treatment for mango, mangosteen, and pomelo before export to international markets without damaging fruit quality. The objective of this study is to develop MVHT to disinfest of *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in Ok Rong Mango to meet the plant quarantine regulation without damaging fruit quality. The fruit injury test was examined for fruit quality after subjecting to MVHT at 46, 47, and 48 °C and kept at each target temperature for 0, 1, and 2 hours. After treatment, all fruits were kept in a control cool room at 13-15 °C for 8 days and room temperature for 4 days. The result shows that the MVHT significantly decreased mango firmness. Fruit skin turned yellow, weight loss, acidity values, and soluble solids were not significantly different from the untreated fruits. Whereas the soluble solid value of 48 °C significantly decreased. Therefore, these results could be used to study the preliminary effectiveness of MVHT further to disinfest *B. dorsalis* in Ok Rong Mango fruit.

Keywords : Modified Vapor Heat Treatment mango quarantine pest fruit fly

---

รหัสการทดลอง FF65-55-05-65-00-06-65

รายงานความก้าวหน้า

ประเทศไทยได้ประสบความสำเร็จในการวิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified Vapor Heat Treatment, MVHT) เป็นวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (quarantine treatment) ในผลมะม่วง มังคุด และส้มโอ ก่อนส่งออกโดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของผลไม้ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis (Hendel)* ในผลมะม่วงอกร่อง ให้ได้ตามมาตรฐานวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชระหว่างประเทศ โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของผลไม้หลังอบไอน้ำ โดยศึกษาด้านความเสียหายจากความร้อนที่มีผลต่อคุณภาพของมะม่วงอกร่อง หลังผ่านความร้อนด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์มะม่วงอกร่องที่อุณหภูมิ 46 47 และ 48 °C นาน 0, 1 และ 2 ชั่วโมง และเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิเย็น 13-15 °C นาน 8 วัน และอุณหภูมิห้อง นาน 4 วัน พบว่าการอบไอน้ำทำให้ความแน่นเนื้อของมะม่วงลดลงอย่างมีนัยสำคัญ สีผิวของเปลือกมีการเปลี่ยนแปลงจากสีเขียวเป็นสีเหลือง การสูญเสียน้ำหนัก ปริมาณกรด ปริมาณน้ำตาลไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเทียบกับมะม่วงที่ไม่ผ่านการอบไอน้ำ ในขณะที่มะม่วงที่ผ่านการอบไอน้ำที่อุณหภูมิ 48 °C มีปริมาณน้ำตาลลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับมะม่วงที่ไม่ผ่านการอบไอน้ำ ดังนั้น กรรมวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์จึงเป็นกรรมวิธีที่เหมาะสมในการนำมาศึกษาในการกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงอกร่องเพื่อส่งออกต่อไป

คำหลัก : อบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ มะม่วง ศัตรูพืชกักกัน แมลงวันผลไม้

คำนำ

ประเทศไทยเป็นแหล่งแพร่ระบาดของแมลงวันผลไม้ และมักพบปัญหาไข่และหนอนแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ซึ่งเป็นศัตรูพืชกักกันที่สำคัญของต่างประเทศติดไปกับผักผลไม้ส่งออก ดังนั้น ก่อนการส่งออกผักผลไม้ไปยังประเทศที่มีความเข้มงวดด้านกักกันพืช จึงต้องมีการกำจัดแมลงวันผลไม้ตามเงื่อนไขระหว่างประเทศ การกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified Vapor Heat Treatment, MVHT) เป็นวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ที่มีประสิทธิภาพสูง ประเทศไทยได้วิจัยและพัฒนาวิธีการกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยวิธีการดังกล่าวและประสบความสำเร็จในการใช้วิธีการดังกล่าวเจรจาเปิดตลาดเพื่อส่งออกผลไม้สด เช่น มะม่วง ส้มโอ และมังคุด ไปยังประเทศที่มีความเข้มงวดทางด้านกักกันพืชหลายประเทศ มะละกอ *Carica papaya* L. เป็นหนึ่งในผลไม้ที่มีศักยภาพในการส่งออก เนื่องจากประเทศไทยจัดอยู่ในลำดับที่ 9 ของผู้ผลิตมะละกอทั่วโลก (Songpol, 2011) พันธุ์ที่นิยมปลูกเป็นการค้าที่ทนทานต่อโรคและการขนส่งได้ดี คือ พันธุ์แขกนวล แขกดำ แขกดำท่าพระ ฮอลแลนด์ เรดเลดี้ และปากช่อง (จริงแท้, 2552; Thaipong *et al*., 2011) อย่างไรก็ดีมะละกอเป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ ภายใต้เงื่อนไขการ

ส่งออกมะละกอไปจำหน่ายยังประเทศที่มีความเข้มงวดด้านกักกันพืช ประเทศไทยจำเป็นต้องหาวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ที่มีประสิทธิภาพ โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของผลไม้ และได้มาตรฐานตามวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช ปัจจุบันประเทศไทยสามารถส่งออกมะม่วงไปประเทศญี่ปุ่นได้ 7 พันธุ์ คือ พันธุ์หนังกลางวัน น้ำดอกไม้ แรด พิมเสนแดง มหาชนก เขียวเสวย และโชคอนันต์ และสามารถส่งออกไปสาธารณรัฐเกาหลีได้ 4 พันธุ์ คือ หนังกลางวัน น้ำดอกไม้ แรด และมหาชนก โดยในปี 2564 (มกราคม – มิถุนายน 2564) มีปริมาณการส่งออก 9,600 ตัน ซึ่งคิดเป็นมูลค่าการส่งออก 960 ล้านบาท สำหรับแนวโน้มการส่งออกเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง จากข้อมูลการส่งออกดังกล่าวแสดงให้เห็นว่ามะม่วงยังเป็นผลไม้ที่มีศักยภาพในการส่งออกและมีตลาดรองรับที่แน่นอน มะม่วงอกร่องมีพื้นที่ปลูกในประเทศไทยประมาณ 4,769 ไร่ จำนวนผู้ปลูก 2,245 ราย ในพื้นที่ 27 จังหวัด (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2560) ผลทรงรีมีร่องด้านข้างของผล ผลดิบมีรสชาติเปรี้ยวจัด และเมื่อสุกมีกลิ่นหอมและหวานจัด (Figure 1)

ดังนั้น ผู้วิจัยจึงทำการวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในมะม่วงอกร่อง ที่มีประสิทธิภาพตรงตามมาตรฐานด้านกักกันพืช โดยไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพของผลไม้ เพื่อใช้ในการเจรจาเปิดตลาดส่งออกผลไม้สดไปยังประเทศที่เข้มงวดด้านกักกันพืชได้มากขึ้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. มะม่วงพันธุ์อกร่อง ขนาด 200-250 กรัม/ผล
2. ตู้อบไอน้ำกำจัดแมลงขนาดเล็กสำหรับงานทดลอง ยี่ห้อ รุ่น
3. ตู้ลดอุณหภูมิผลไม้ ยี่ห้อ รุ่น
5. เครื่องอ่างน้ำร้อน
6. เครื่องวัดปริมาณกรดของผลไม้
7. เครื่องวัดค่าความหวานของผลไม้
10. ห้องเย็นสำหรับเก็บผลไม้ที่ใช้ในการทดลอง
11. เครื่องบันทึกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์แบบต่อเนื่อง
12. แท่งวัดอุณหภูมิขนาดเล็กสำหรับงานทดลอง
13. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง
14. อุปกรณ์สำหรับตรวจผลการทดลอง ได้แก่ ปากคีบ จานทดลองขนาดเล็ก ถาดใส่ผลไม้ ถุงมือ มีดปอกผลไม้ ถุงขยะดำ และอื่นๆ

วิธีการ

1. ศึกษาข้อมูลเบื้องต้นของมะม่วงพันธุ์อกร่องเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับงานทดลอง

สืบค้นข้อมูลชีววิทยา ลักษณะประจำพันธุ์ จากกรมวิชาการเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร และจากแหล่งข้อมูลอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องทั้งในและต่างประเทศ และสำรวจพื้นที่ปลูกและคัดเลือกมะม่วงอกร่องที่ได้คุณภาพตามมาตรฐานส่งออก จากตลาดไท ตลาดสี่มุมเมือง และจากแหล่งปลูกที่สำคัญ ได้แก่ ชลบุรี จันทบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ระยอง ราชบุรี ร้อยเอ็ด นครสวรรค์ ขอนแก่น เพชรบุรี สระบุรี สมุทรสาคร ตาก พิจิตร นครราชสีมา เพชรบูรณ์ สุโขทัย อุทัยธานี ฉะเชิงเทรา อุบลราชธานี ลพบุรี อุดรธานี หนองคาย ยโสธร นนทบุรี กาฬสินธุ์ สิงห์บุรี ชัยนาท และ นครปฐม เพื่อนำมาใช้ในการทดลองการประเมินความเสียหายของผลไม้ที่เกิดจากความร้อน และการกำจัดแมลงด้วยความร้อนต่อไป

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

บันทึกข้อมูลชีววิทยา ลักษณะประจำพันธุ์ และข้อมูลแหล่งเพาะปลูกน้ำหนักและขนาดของผลมะม่วงอกร่องเพื่อใช้ในการทดลอง

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาดำเนินการ : ตุลาคม 2564 - กันยายน 2565

สถานที่ดำเนินการ : ตลาดไท ตลาดสี่มุมเมือง สวนมะม่วงอกร่องของเกษตรกรในจังหวัด ชลบุรี จันทบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ระยอง ราชบุรี ร้อยเอ็ด นครสวรรค์ ขอนแก่น เพชรบุรี สระบุรี สมุทรสาคร ตาก พิจิตร นครราชสีมา เพชรบูรณ์ สุโขทัย อุทัยธานี ฉะเชิงเทรา อุบลราชธานี ลพบุรี อุดรธานี หนองคาย ยโสธร นนทบุรี กาฬสินธุ์ สิงห์บุรี ชัยนาท และ นครปฐม และห้องปฏิบัติการกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

2. ศึกษาด้านความเสียหายจากความร้อนและคุณภาพของผลมะม่วงพันธุ์อกร่องจากวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์

การประเมินความเสียหายของกระบวนการอบไอน้ำต่อมะม่วง แยกเป็นมะม่วงที่ผ่านความร้อน (treatment) และมะม่วงที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อน เสียบแท่งวัดอุณหภูมิบริเวณกึ่งกลางของผลมะม่วงที่ใช้เป็นตัววัดอุณหภูมิของมะม่วงทดลอง (Figure 2) นำมะม่วงทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อน (Figure 3) อบมะม่วงภายในเครื่องตู้อบความร้อนให้อุณหภูมิภายในสุดผลมะม่วงเพิ่มขึ้นจนถึง 46 47 และ 48 °C และคงความร้อนภายในผลไว้ที่อุณหภูมิ 46 47 และ 48 °C นาน 0 1 และ 2 ชั่วโมง เมื่อสิ้นสุดการให้ความร้อนลดอุณหภูมิมะม่วงทันที โดยวิธีการผ่านด้วยน้ำนาน 1 ชั่วโมง ด้วยเครื่องลดอุณหภูมิผลไม้ นำมะม่วงทดลองทั้งหมดที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อนบรรจุใส่ในกล่องกระดาษ ด้านยาวทั้งสองข้างเจาะรู พร้อมทั้งปิดด้วยผ้าตาข่าย ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางไม่เกิน 1.6 มิลลิเมตร จำนวน 4 รู เก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 13-15 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 85-95 เปอร์เซ็นต์ นาน 8 วัน และอุณหภูมิห้อง นาน 4 วัน เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนดนำ

มะม่วงทั้งหมดที่ผ่านความร้อน และไม่ผ่านความร้อนมาประเมินความเสียหายจากความร้อน โดยใช้หลักเกณฑ์พิจารณา และดำเนินการในหัวข้อต่างๆ ดังต่อไปนี้

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. บันทึกภาพมะม่วงก่อนและหลังทดลองในแต่ละกรรมวิธีเปรียบเทียบกับมะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน

2. การสูญเสียน้ำหนัก (weight loss) ของมะม่วง โดยคำนวณเป็นร้อยละของน้ำหนักที่สูญเสียไปด้วยวิธีการบันทึกน้ำหนักมะม่วงก่อนการทดลอง และในวันที่ตรวจผลการทดลองชั่งน้ำหนักผลมะม่วงอีกครั้งหนึ่ง

3. ปริมาณน้ำตาล (brix value) ในการทดลองแต่ละครั้งคั้นน้ำจากเนื้อมะม่วงที่ผ่านความร้อน และไม่ผ่านความร้อน เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล ปริมาณน้ำตาลในรูปปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (total soluble solid, TSS) มีหน่วยเป็นค่าองศาบริกซ์ ด้วยเครื่อง digital refractometer

4. ปริมาณกรด (acidity value)

5. ความแน่นเนื้อ (firmness)

วิเคราะห์ผลทางสถิติ และตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยใช้วิธีการตรวจสอบแบบ ANOVA ด้วยโปรแกรม IBM SPSS Statistics 23

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาดำเนินการ : ตุลาคม 2564 - กันยายน 2565

สถานที่ดำเนินการ : ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

มะม่วงอกร่องที่ใช้ในการทดลองเป็นผลขนาดกลางมีน้ำหนัก 200-250 กรัม/ผล จากสวนที่ได้รับการรับรองมาตรฐานการปฏิบัติทางการเกษตรที่ดี (Good Agricultural Practices; GAP) ในพื้นที่จังหวัดกาฬสินธุ์ (Figure 1) จากการศึกษาด้านความเสียหายจากความร้อนที่มีผลต่อคุณภาพของมะม่วงอกร่องหลังผ่านความร้อนด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ที่อุณหภูมิ 46 47 และ 48 °C นาน 0, 1 และ 2 ชั่วโมง และเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิเย็น 13-15 °C นาน 8 วัน และอุณหภูมิห้อง นาน 4 วัน พบว่ามะม่วงอกร่องมีการเปลี่ยนแปลงสีเปลือกจากสีเขียวเป็นสีเหลือง การสูญเสียน้ำหนักของผลมะม่วงที่ผ่านการอบไอน้ำสูงกว่ามะม่วงที่ไม่ผ่านการอบไอน้ำแต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 1) ปริมาณน้ำตาลของผลมะม่วงที่อบไอน้ำที่อุณหภูมิ 46 °C ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับมะม่วงที่ไม่ผ่านการอบไอน้ำ เช่นเดียวกับอุณหภูมิ 47 °C มะม่วงที่ผ่านการอบไอน้ำทุกช่วงเวลา ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับมะม่วงที่ไม่ผ่านการอบไอน้ำ ในขณะที่อุณหภูมิ 48 °C ปริมาณน้ำตาลของมะม่วง

ที่อบไอน้ำทุกช่วงเวลามีค่าลดลงและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับมะม่วงที่ไม่ผ่านการอบไอน้ำ ($p < 0.05$) (Table 2) ปริมาณกรดในผลมะม่วงที่ผ่านการอบไอน้ำมีปริมาณกรดลดลงแต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับปริมาณกรดในมะม่วงที่ไม่ผ่านการอบไอน้ำ (Table 3) ความแน่นเนื้อของผลมะม่วงที่ผ่านการอบไอน้ำทุกอุณหภูมิมีค่าน้อยกว่ามะม่วงที่ไม่ผ่านการอบไอน้ำ ($p < 0.05$) (Table 4)

นอกจากนี้ยังพบการเกิดโรคบริเวณผิว (Figure 4) ของผลมะม่วงที่ผ่านการอบไอน้ำเช่นเดียวกับมะม่วงที่ไม่ผ่านการอบไอน้ำซึ่งสอดคล้องกับ รัชฎา และคณะ (2554) ที่พบว่าการอบไอน้ำไม่มีผลต่อการเกิดโรคของมะม่วงมหาชนกและคาดว่าปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดโรคน่าจะเกิดจากการดูแลและจัดการสวนก่อนการเก็บเกี่ยว ข้อสังเกตด้านความเสียหายจากการอบไอน้ำต่อผลมะม่วงอกร่องด้วยอุณหภูมิที่สูงเป็นระยะเวลานานในมะม่วงที่มีรอยเปื้อนของยางมักทำให้ผิวของผลมะม่วงบริเวณดังกล่าวเกิดรอยไหม้ได้ (Figure 5) การใช้อุณหภูมิสูงและระยะเวลานานในการอบไอน้ำยังทำให้เกิดความเสียหายของเนื้อผลมะม่วง ทำให้เกิดลักษณะรูพรุน (spongy tissue) และเป็นจุดสีดำเมื่อมะม่วงสุกอีกด้วย (Unahawutti et al. 1991; อุดรและคณะ, 2536; รัชฎาและคณะ 2553) (Figure 6)

จากการศึกษาด้านความเสียจากความร้อนด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในผลมะม่วงอกร่องเพื่อการส่งออก พบว่ามะม่วงอกร่องสามารถทนทานต่อความร้อนที่อุณหภูมิ 47 °C ระยะเวลานาน 1 ชั่วโมง ในขณะที่วิธีการอบไอน้ำที่เสนอเป็นวิธีการทางด้านกักกันพืชสำหรับมะม่วงที่ส่งออกปัจจุบัน คือ 47 °C นาน 20 นาที ซึ่งเป็นอุณหภูมิและระยะเวลาที่สามารถใช้อบไอน้ำมะม่วงอกร่องส่งออกได้โดยไม่ส่งผลเสียหายต่อคุณภาพ ดังนั้น กรรมวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ จึงเป็นกรรมวิธีที่เหมาะสมในการศึกษาการกำจัดแมลงวันผลไม้ในมะม่วงอกร่องเพื่อส่งออกต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการศึกษาด้านความเสียหายจากความร้อนของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ต่อผลมะม่วงอกร่องการที่อุณหภูมิ 46 47 และ 48 °C นาน 0, 1 และ 2 ชั่วโมง และเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิเย็น 13-15 °C นาน 8 วัน และอุณหภูมิห้อง นาน 4 วัน พบว่ามะม่วงที่ผ่านการอบไอน้ำมีค่าความแน่นเนื้อลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับมะม่วงที่ไม่ผ่านการอบไอน้ำ การเปลี่ยนแปลงของสีผิวของผลจากสีเขียวเป็นสีเหลือง การสูญเสียน้ำหนัก ปริมาณกรด และปริมาณน้ำตาล ไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเทียบกับมะม่วงที่ไม่ผ่านการอบไอน้ำ ในขณะที่อุณหภูมิ 48 °C ทั้ง 3 ช่วงเวลา มีปริมาณน้ำตาลลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้น กรรมวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์จึงเป็นกรรมวิธีที่เหมาะสมในการนำมาศึกษาในการกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงอกร่องเพื่อส่งออกต่อไป แต่อย่างไรก็ตามเมื่ออบไอน้ำที่อุณหภูมิสูงเป็นระยะเวลานานจะทำให้เนื้อผลมะม่วงเกิดรูพรุน และเกิดรอยไหม้บริเวณผิวของผลมะม่วงที่เปื้อนน้ำยางของมะม่วงได้

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ที่สนับสนุนงบประมาณโครงการวิจัย คณะกรรมการที่ปรึกษาด้านวิชาการ คณะกรรมการบริหารงานวิจัย สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่ได้ช่วยกันพิจารณาแก้ไข และให้คำแนะนำในการจัดทำโครงการวิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดศัตรูพืชกักกันของพืชส่งออก และเจ้าหน้าที่จากกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่ช่วยให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2560. มะม่วง. [ออนไลน์]. http://www.agriinfo.doae.go.th/year60/plant/rortor/fruit2/mango.pdf. (31 มีนาคม 2566).

จริงแท้ ศิริพานิช. 2552. มะละกอไทย สถานภาพด้านสายพันธุ์ ระบบการผลิต และการตลาด. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย. กรุงเทพฯ. 136 หน้า.

รัชฎา อินทรกำแหง สลักจิต พานคำ ชัยณรัตน์ สนศิริ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ ชุติมา อ้อมกิ่ง จารุวรรณ จันทราและอุดร อุณหวุฒิ. 2553. วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในมะม่วงพันธุ์มหาชนก โชคอนันต์ และเขียวเสวยเพื่อการส่งออก (ฐานข้อมูลกรมวิชาการเกษตร). [ออนไลน์]. http://www.doa.go.th/research/attachment.php?aid=781. (25 กรกฎาคม 2566).

อุดร อุณหวุฒิ, วลัยกร วรวิศิษฏ์ธำรง, รัชฎา อินทรกำแหง, มานะ พุ่มทองและประเทือง ศรีสุข. 2536. คุณภาพมะม่วงน้ำดอกไม้ แรด และพิมเสนแดง หลังจากผ่านกระบวนการอบไอน้ำ. วารสารวิชาการเกษตร. 11: 31-44.

Songpol, S. 2011. Current study of papaya production in Thailand. 70 Pages. *In* : The International Symposium on Papaya. Dec. 19-22, 2011. Chiangmai.

Thaipong, K., S. Srimart, K. Iamjud, P. Sangwanankul and S. Wasee. 2011. Collection evaluation and selection of papaya varieties in Thailand. 70 Pages. *In* : The International Symposium on Papaya. Dec. 19-22, 2011. Chiangmai.

Unahawutti, U., M. Poomthong, R. Intarakumheng, W. Worawisitthumrong, C. Lapasathukool, E. Smitasiri, P. Srisook and C. Ratanawaraha. 1991. Vapor heat as plant quarantine treatment of 'Nang klarngwan', 'Nam Dorkmai', 'Rad' and 'Pimsen Daeng' mangoes, Infested with fruit flies (Diptera: Tephritidae). A report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries for approved of quarantine treatment on Thai mangoes to be exported to Japan. Tech. Plant Quarant. Sub Div., Agr. Regulat. Div., Dept. of Agr., Bangkok. 342 p.

Table 1 Mean ± SE of weight loss of Ok Rong mango after subjecting to MVHT at 46, 47, and 48 ℃ center temperature for various holding times and store at 13 ℃ for 8 days and room temperature for 4 days (LSD $p < 0.05$) not significant (N=10)

Treatment temperature (°C)	Weight loss (%)			
	Control	0:00 h	1:00 h	2:00 h
46	23.85 ± 0.14	25.42 ± 0.26	24.66 ± 1.03	24.93 ± 0.70
47	25.72 ± 1.28	27.38 ± 1.72	25.42 ± 0.45	27.79 ± 0.30
48	25.72 ± 1.28	26.94 ± 0.56	25.19 ± 0.79	24.77 ± 0.98

Table 2 Mean ± SE of total soluble solid (° brix) of Ok Rong mango after subjecting to MVHT at 46, 47, and 48 ℃ center temperature for various holding times and store at 13 ℃ for 8 days and room temperature for 4 days (LSD $p < 0.05$) (N=10)

Treatment temperature (°C)	Total soluble solid (° Brix)			
	Control	0:00 h	1:00 h	2:00 h
46	18.85 ± 0.55ab	18.74 ± 0.45b	19.89 ± 0.39a	20.04 ± 0.24a
47	21.90 ± 0.65	20.59 ± 0.52	20.55 ±0.52	21.88 ± 0.37
48	21.90 ± 0.65A	18.86 ± 0.28B	19.36 ± 0.43B	18.40 ± 0.33B

Table 3 Mean ± SE of acidity of Ok Rong mango after subjecting to MVHT at 46, 47, and 48 ℃ center temperature for various holding times and store at 13 ℃ for 8 days and room temperature for 4 days (LSD $p < 0.05$) (N=10)

Treatment temperature (°C)	Acidity (%)			
	Control	0:00 h	1:00 h	2:00 h
46	0.34 ± 0.02	0.33 ± 0.02	0.32 ± 0.03	0.31 ± 0.02
47	0.57 ± 0.12	0.51 ± 0.13	0.40 ± 0.06	0.41 ± 0.09
48	0.57 ± 0.12	0.53 ± 0.14	0.40 ± 0.04	0.48 ± 0.07

Table 4 Mean ± SE of firmness of Ok Rong mango after subjecting to MVHT at 46, 47, and 48 °C center temperature for various holding times and store at 13 °C for 8 days and room temperature for 4 days (LSD $p < 0.05$) (N=10)

Treatment temperature (°C)	Firmness (N)*			
	Control	0:00 h	1:00 h	2:00 h
46	10.94 ± 0.63a	9.01 ± 0.10b	9.15 ± 0.87b	8.73 ± 0.26b
47	14.90 ± 1.72**a**	12.66 ±0.80**b**	10.64 ± 0.27**b**	10.42 ± 0.47**b**
48	14.90 ± 1.72A	10.58 ± 0.09B	10.47 ± 0.12B	10.66 ± 0.21B

*N (Newton) = Testing pressure (kg.) x 9.807

Figure 1 Fresh Ok Rong mangoes of GAP orchard in Kalasin province for MVHT injury evaluation

Figure 2 Injury test of Modified vapor heat treatment (MVHT) on Ok Rong mangoes using Sanshu Vapor Heat Treatment System (Differential Pressure Type model EHK-1000D)

Figure 3 Fresh Ok Rong mango fruit with a fruit thermal sensor

Figure 4 Dark spots of disease on Ok Rong mango skin

Figure 5 Burned skin occurred in Ok Rong mango fruit after MVHT testing at 47 °C for 2 hours; left = normal skin, right = burned skin

Figure 6 Spongy tissue that turned to be dark spot tissue in ripened mango pulp after MVHT testing at 47 °C for 2 hours

การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas corrugata* ในประเทศไทย

Survey and Surveillance of *Pseudomonas corrugata* in Thailand

ชลธิชา รักใคร่[1/] วันเพ็ญ ศรีชาติ[3/] วานิช คำพานิช[1/]
พรรณิภา เปชัยศรี[1/] ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล[2/]
[1/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[3/]กลุ่มวิชาการ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 2

รายงานความก้าวหน้า

ประเทศไทยมีการนำเข้าพริกและมะเขือเทศจากหลายประเทศทั่วโลกเพื่อใช้ในปลูกขยายพันธุ์ ผลิตพ่อ-แม่พันธุ์ และบริโภคผลสดทำให้ความเสี่ยงที่เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas corrugata* มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์ได้ จึงจำเป็นต้องมีการสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย *P. corrugata* ในพื้นที่ปลูกพริกและมะเขือเทศของประเทศไทยเพื่อเป็นการยืนยันสถานภาพจึงดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจงตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (เฝ้าระวัง) ในพื้นที่ปลูกพริกและมะเขือเทศ ใน 26 พื้นที่ 9 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย พะเยา น่าน ขอนแก่น อุดรธานี เลย หนองคาย และนครราชสีมา 155 แปลง รวมทั้งสิ้น 265 ตัวอย่าง และเก็บตัวอย่างอาการของโรค bacterial pith necrosis และอาการที่สงสัยนำมาตรวจวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช ตรวจแล้วไม่พบเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas corrugata* สาเหตุโรค bacterial pith necrosis ดังนั้น ผลจากการศึกษาครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่าเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas corrugata* ไม่ปรากฏในพื้นที่ปลูกพริกและมะเขือเทศของประเทศไทย

คำหลัก: การสำรวจ เฝ้าระวัง เชื้อแบคทีเรีย

รหัสการทดลอง FF65-55-06-65-00-01-65

คำนำ

ประเทศไทยในฐานะที่เป็นสมาชิกขององค์การการค้าโลก (WTO) ซึ่งต้องปฏิบัติตามเงื่อนไขอนุสัญญาว่าด้วยการอารักขาพืชระหว่างประเทศ (International Plant Protection Convention, IPPC) ซึ่งกำหนดมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช (FAO, 2019) ส่วนมาตรการสุขอนามัยพืช (Phytosanitary measures) หมายถึง ตัวบทกฎหมาย กฎระเบียบข้อบังคับ หรือวิธีการใด ๆ ที่มีวัตถุประสงค์เพื่อป้องกันการเข้ามา และ/หรือ การแพร่กระจายของศัตรูพืชกักกัน (Quarantine pest) หรือเพื่อสกัดกั้นผลกระทบทางเศรษฐกิจของศัตรูพืชที่ไม่ใช่ศัตรูพืชกักกันที่ต้องมีการควบคุม (Regulated non-quarantine pest) รวมทั้งข้อกำหนดการนำเข้าด้านสุขอนามัยพืช (Phytosanitary import requirements) หมายถึงมาตรการสุขอนามัยพืชเฉพาะ ที่จัดทำขึ้นมาโดยประเทศผู้นำเข้าสำหรับสินค้าที่จะอนุญาตให้นำเข้า เป็นผลจากการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของสินค้านั้น และได้กำหนดให้กรมวิชาการเกษตร คือ องค์กรอารักขาพืชแห่งชาติ (National Plant Protection Organization; NPPO) เช่นเดียวกันกับการส่งออกสินค้าพืชของประเทศไทยไปยังประเทศที่ยังไม่เคยอนุญาตนำเข้ามาก่อนก็ต้องส่งมอบข้อมูลสินค้าพืชนั้นและบัญชีรายชื่อศัตรูพืช (Pest list) ที่เกี่ยวข้องเพื่อการทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของประเทศปลายทาง และป้องกันปัญหาเนื่องจากความตกลงว่าด้วยการใช้บังคับมาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures, SPS Agreement) ซึ่งกำหนดให้ประเทศสมาชิกWTO มีสิทธิ์กำหนดหรือใช้มาตรการใด ๆ สำหรับการนำเข้าสินค้า เพื่อป้องกันชีวิตหรือสุขภาพสัตว์หรือพืชจากความเสี่ยงของโรคและแมลงศัตรูพืชที่ทำให้เกิดโรคหรือเป็นพาหะของโรค เพื่อป้องกันชีวิต สุขภาพมนุษย์สัตว์ สิ่งแวดล้อม จากความเสี่ยงซึ่งเกิดจากการใช้สารปรุงแต่ง สิ่งเจือปน สารพิษ หรือสิ่งมีชีวิตที่ทำให้เกิดโรคในอาหาร เครื่องดื่ม หรืออาหารสัตว์ เพื่อป้องกันชีวิตหรือสุขภาพมนุษย์จากความเสี่ยงซึ่งเกิดจากโรคที่มีในสัตว์ พืช หรือผลิตภัณฑ์จากสิ่งนั้นเป็นพาหะ และเพื่อป้องกันหรือจำกัดความเสียหายอื่น ๆ จากการเข้ามา (Entry) การตั้งรกราก (Establishment) แพร่ระบาด (Spread) ของศัตรูพืช เช่น โรคพืช แมลง ไร วัชพืช และสัตว์ศัตรูพืช รวมทั้งสร้างความเสียหายกับพืชและผลิตพืชในประเทศไทย

การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูโดยการศึกษาและการสำรวจแบบติดตามข้อมูลศัตรูพืชในแหล่งปลูกเพื่อเป็นการเฝ้าระวัง (Surveillance) ตาม ISPMs (International Standard for Phytosanitary Measures) ฉบับที่ 6 เป็นกระบวนการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชชนิดใดชนิดหนึ่งในพื้นที่ ซึ่งการรวบรวมข้อมูลนั้นสามารถทำได้ 2 แบบ ได้แก่ การเฝ้าระวังโดยทั่วไป โดยการสืบค้นข้อมูลจากแหล่งข้อมูลที่น่าเชื่อถือ และการเฝ้าระวังโดยการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง สามารถดำเนินการโดยการสำรวจแบบตรวจหา แบบมีขอบเขต และแบบติดตามอย่างต่อเนื่อง (FAO, 2019; McMaugh, 2008) ประโยชน์ของการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจงสามารถบอกถึงสถานการณ์ของศัตรูพืชในพื้นที่ ข้อมูลที่ได้เป็นการรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืชในกรณีที่ไม่พบศัตรูพืชในพื้นที่นั้น ๆ เมื่อมีการรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืชแล้ว การที่จะคงสภาพพื้นที่ปลอดศัตรูพืชจะต้องมีการสำรวจแบบตรวจหาอย่างเป็นระบบข้อมูลต่าง ๆ ที่ได้

จากการสำรวจติดตามศัตรูพืชเพื่อการเฝ้าระวังนี้จะส่งให้ NPPO และสามารถนำไปใช้ในด้านต่าง ๆ เช่น ใช้ในการสนับสนุนการออกประกาศเรื่องการปลอดศัตรูพืชที่ดำเนินการโดย NPPO เป็นกระบวนการช่วยตรวจหาศัตรูพืชชนิดใหม่ได้ทันเวลา การให้การรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืช เป็นต้น

เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas corrugata* สาเหตุโรค bacterial pith necrosis ในพริกและมะเขือเทศเป็นเชื้อที่ไม่มีรายงานในประเทศไทยและประกาศเป็นศัตรูพืชกักกันตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 ภายใต้พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 ที่แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2551 เชื้อดังกล่าว เป็นเชื้อที่มีรายงานการแพร่ระบาดในแหล่งผลิตพืชวงศ์มะเขือ และมีแหล่งแพร่กระจายในหลายประเทศทั่วโลก ได้แก่ แอฟริกาใต้ อินเดีย อิสราเอล ญี่ปุ่น ฝรั่งเศส เยอรมนี โปแลนด์ สวีเดน แคนาดา เม็กซิโก สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ บราซิล และอาร์เจนตินา (CABI, 2019) และในต่างประเทศมีรายงานว่าอาการของโรคจะพัฒนาเมื่อต้นพืช อายุ 3 เดือน โดยเริ่มแรกใบอ่อนมีอาการเหลือง บริเวณลำต้นหรือกิ่งที่ถูกเชื้อเข้าทำลายจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และเนื้อเยื่อจะยุบลงไป เซลล์ของพืชจะแห้งตาย เมื่อผ่าลำต้นตามทางยาว พบว่าไส้ของลำต้นกลวง ท่อน้ำท่ออาหารถูกทำลาย และเป็นแผลเซลล์ตาย และยืนต้นตายในที่สุด (Moura et al., 2005) มีรายงานว่าเชื้อแบคทีเรียสามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้ และสามารถเจริญเติบโตได้ในดินที่มีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนสูง (Zutra, 1989) และยังคงต้องมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศเข้ามาเพื่อปลูก จึงมีความเสี่ยงที่เชื้อแบคทีเรีย *P. corrugata* จะติดมากับเมล็ดพันธุ์พริกและมะเขือเทศที่นำเข้า ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องสำรวจและเฝ้าระวังเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย *P. corrugata* เพื่อยืนยันสถานภาพการปรากฏและไม่ปรากฏของในพื้นที่ปลูกพืชอาศัยของเชื้อแบคทีเรียดังกล่าว เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการสนับสนุนการออกมาตรการเฝ้าระวังศัตรูพืช การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช และการรายงานศัตรูพืชต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่องแก้ว และอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ
2. ตู้อบ
3. เครื่องชั่ง
4. หม้อนึ่งความดันไอน้ำ
5. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ
6. ปิเปต
7. เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง

8. อ่างควบคุมอุณหภูมิ

6. เครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ

9. เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ

8. เครื่องแยกวิเคราะห์สารพันธุกรรม

9. เครื่องถ่ายภาพสารพันธุกรรม

10. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ สกัดดีเอ็นเอ และทำปฏิกิริยา Polymerase Chain Reaction (PCR)

วิธีการ

1. การสืบค้นข้อมูลเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas corrugata*

สืบค้นข้อมูลเชื้อแบคทีเรีย *P. corrugata* เช่น รายละเอียดของเชื้ออนุกรมวิธาน ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพ้อง รูปร่างลักษณะ การเข้าทำลาย พืชอาศัย การแพร่ระบาดพร้อมรูปภาพประกอบเป็นต้น จากทั้งในและต่างประเทศ ฐานข้อมูล เอกสารวิชาการ วารสาร รายงานการประชุม สัมมนาทางวิชาการและหน่วยงานอื่นที่เกี่ยวข้อง

2. การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas corrugata*

ทำการสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรียตามมาตรฐาน ISPMs (International Standard for Phytosanitary Measures) ดำเนินการสำรวจและเฝ้าระวังตามมาตรฐาน ISPMs ฉบับที่ 6 (Surveillance) ในแปลงปลูกพริกและมะเขือเทศ โดยดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) เพื่อให้ทราบข้อมูลเชื้อแบคทีเรีย *P. corrugata* ในพื้นที่สำรวจและในเวลาที่กำหนด ตามขั้นตอนต่อไปนี้

2.1 จัดทำคู่มือการสำรวจและจัดทำฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ

ทำการรวบรวมตัวอย่างอ้างอิงและรูปภาพของโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *P. corrugata* เพื่อใช้ในการตรวจสอบอ้างอิงขณะทำการสำรวจและจัดทำข้อมูลศัตรูพืช ชื่อสามัญ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพืชอาศัย อาการของโรค รูปภาพสีของโรค และรายละเอียดของศัตรูพืชชนิดอื่นที่คล้ายคลึงกับศัตรูพืชเป้าหมายและจัดทำแบบฟอร์มการสำรวจเพื่อบันทึกข้อมูลชื่อเกษตรกร สถานที่ วันที่เก็บ ข้อมูลพิกัดภูมิศาสตร์

2.2 การสำรวจ

- กำหนดพื้นที่ แหล่งปลูกพริกและมะเขือเทศในประเทศไทย ได้แก่ พื้นที่ภาคกลาง (จังหวัดปทุมธานี กาญจนบุรี ราชบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี ประจวบคีรีขันธ์) ภาคใต้ (ชุมพร นครศรีธรรมราช พังงา) ภาคตะวันออก (สระแก้ว จันทบุรี ตราด) ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (นครราชสีมา บุรีรัมย์ ชัยภูมิ ขอนแก่น มหาสารคาม กาฬสินธุ์ สกลนคร อำนาจเจริญ ศรีสะเกษ มุกดาหาร เลย อุดรธานี หนองบัวลำภู หนองคาย บึงกาฬ) และภาคเหนือ (พิษณุโลก เพชรบูรณ์ พิจิตร ตาก แม่ฮ่องสอน น่าน แพร่ ลำปาง พะเยา ลำพูน เชียงใหม่ เชียงราย)

- วางแผนการสำรวจ ดำเนินการสำรวจตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (Surveillance: ISPM No. 6) วางแผนการสำรวจในพื้นที่อย่างน้อย 10 แปลงต่อพื้นที่แต่ละแปลงทำการสุ่มตัวอย่างแบบเป็นระบบ สุ่มตรวจโรค 5 แถวต่อแปลง กำหนดการตรวจแบบแถวเว้นแถว

2.3 วิธีการตรวจเชื้อแบคทีเรีย *P. corrugata* ในแปลง เมื่อออกสำรวจให้สังเกตจากลักษณะอาการของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือการสำรวจที่จัดทำไว้ บันทึกรายละเอียดข้อมูลของแปลง บันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป เก็บตัวอย่างห่อกระดาษและใส่ถุง นำกลับมาตรวจหาเชื้อแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการ

2. การแยกเชื้อและจัดจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชในห้องปฏิบัติการ

ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช โดยการนำตัวอย่างที่เก็บมาหรือสุ่มใบ กิ่ง และลำต้นของพริกและมะเขือเทศที่แสดงอาการคล้ายกับรูปภาพนำมาแยกเชื้อตามวิธีการดังต่อไปนี้

1) วิธี tissue transplanting

ตัดใบพืชเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 2x2 มิลลิเมตร ฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรอง ภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อแล้ววางพืชลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar (NA) และอาหารเลี้ยงเชื้อ King’s B Medium หรือบนอาหาร Yeast Peptone Glucose Agar (YPGA) นำจานเลี้ยงเชื้อไปเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน จึงนำมาตรวจสอบหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรีย และนำไปศึกษาคุณลักษณะเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

2) วิธี dilution plate

ตัดใบพืชที่เป็นโรคเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมแล้วฆ่าเชื้อที่ผิว ด้วยสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อ แล้วบดชิ้นส่วนในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำมาทำให้เจือจางเป็นลำดับจาก 10-1 ถึง 10-5 ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar (NA) และอาหารเลี้ยงเชื้อ King’s B Medium หรือบนอาหาร Yeast Peptone Glucose Agar (YPGA) นำจานเลี้ยงเชื้อไปเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน จึงนำมาตรวจสอบหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรีย และนำไปศึกษาการจำแนกชนิดต่อไป

- การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

1) ทดสอบแกรม (gram reaction)

โดยใช้สารละลายโปรแตสเซียม-ไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ (3%KOH) ที่เตรียมใหม่ใช้ภายใน 2 สัปดาห์ หากตรวจพบเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative) มีรูปร่างเป็นท่อน (rod shape) และนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

2) ทดสอบ hypersensitivity reaction บนยาสูบ

โดยการฉีดสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียอายุ 24 ชั่วโมง ความเข้มข้น 108 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เข้าไปในใบยาสูบ (*Nicotiana tabacum* L.) บริเวณใต้ใบโดยฉีดเข้าเนื้อใบระหว่างเส้นใบ

สังเกตลักษณะอาการเซลล์ตายตรงเนื้อใบหลังการฉีดเชื้อ 24 - 48 ชั่วโมง หากพบอาการเซลล์ตายแสดงว่าเชื้อแบคทีเรีย ไอโซเลทดังกล่าวเป็นเชื้อสาเหตุโรคพืช

3) ทดสอบคุณสมบัติทางสรีรวิทยาและชีวเคมี (Physiological and biochemical properties) เช่น การใช้ยูเรีย การย่อยเจลาติน การย่อยเอสคูลิน และแป้ง reduce ไนเตรต ความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิต่าง ๆ เป็นต้น

4) การตรวจสอบด้วยวิธี Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) และคัดเฉพาะโคโลนีที่สงสัยมายืนยันการพบเชื้อ *P. corrugata* โดยใช้ specific primer โดยใช้วิธี Polymerase chain reaction (PCR)

3. รวบรวมข้อมูลการสำรวจและการตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ โดยทำการวิเคราะห์สถานภาพศัตรูพืช

4. สรุปผล และจัดทำรายงานผลการวิจัยสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย *P. corrugata*

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกรายละเอียดตำแหน่งของแปลงปลูกพริกและมะเขือเทศที่ทำการสำรวจ/เก็บตัวอย่าง

2. บันทึกข้อมูลจำนวนแปลง และจำนวนตัวอย่างที่ทำการสำรวจ/เก็บตัวอย่าง

3. บันทึกข้อมูลชนิดพืช ขนาดพื้นที่ปลูก ระยะการเจริญเติบโตของพืช และสภาพแวดล้อมอื่น ๆ

4. บันทึกลักษณะอาการการเกิดโรค ส่วนของพืชที่พบอาการของโรค ประเมินความรุนแรงของโรค และการแพร่กระจายในพื้นที่

5. บันทึกข้อมูลชนิดของเชื้อสาเหตุโรคพืช และลักษณะเชื้อสาเหตุที่ตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาเริ่มต้น ตุลาคม 2564 – กันยายน 2567

สถานที่ 1) ห้องปฏิบัติการของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2) แปลงผลิตพริกและมะเขือเทศ จำนวน 9 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย พะเยา น่าน ขอนแก่น อุดรธานี เลย หนองคาย และนครราชสีมา

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สืบค้นข้อมูลเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas corrugata*

เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas corrugata* เป็นศัตรูกักกัน ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์เรื่องกำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้าม ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ.2507 (ฉบับที่ 6) และมีแหล่งแพร่กระจายในหลายประเทศทั่วโลก ได้แก่ แอฟริกาใต้ อินเดีย อิสราเอล ญี่ปุ่น ฝรั่งเศส เยอรมนี โปแลนด์ สวีเดน แคนาดา เม็กซิโก สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ บราซิล และ

อาร์เจนตินา (CABI, 2019) และในต่างประเทศมีรายงานว่าอาการของโรคจะพัฒนาเมื่อต้นพืช อายุ 3 เดือน โดยเริ่มแรกใบอ่อนมีอาการเหลือง บริเวณลำต้นหรือกิ่งที่ถูกเชื้อเข้าทำลายจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และเนื้อเยื่อจะยุบลงไป เซลล์ของพืชจะแห้งตาย เมื่อผ่าลำต้นตามทางยาว พบว่าไส้ของลำต้นกลวง ท่อน้ำท่ออาหารถูกทำลาย และเป็นแผลเซลล์ตาย และยืนต้นตายในที่สุด (Moura *et al*., 2005) นอกจากนี้ยังรายงานเพิ่มเติมว่าอาการที่พบบนพริกและมะเขือเทศ คือ ใบอ่อนมีสีซีดเปลี่ยนสีเขียวเป็นสีเหลือง โดยส่วนใหญ่พบอาการดังกล่าวระยะผลพริกและมะเขือเทศใกล้สุก อาการบนลำต้นพบรอยสีน้ำตาลเข้มถึงดำที่ผิวลำต้น บางครั้งอาจยาวได้ถึง 30 เซนติเมตร เมื่อลำต้นแตกออกแกนกลางของลำต้นเป็นโพรง แกนกลางมีสีน้ำตาลเข้มและฉ่ำน้ำแต่ไม่นิ่ม เมื่อเชื้อเริ่มลามทำให้ระบบท่อน้ำท่ออาหารเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เนื้อเยื่อแผลเซลล์ตายและเปลี่ยนสีลามกระจายขยายไปทั่วทั้งลำต้นจากระดับดินจนถึงก้านดอกของพริกและมะเขือเทศ บางครั้งพบเชื้อแบคทีเรียจำนวนมาก สีขาวขุ่นไหลออกมาจากบาดแผล โดยเฉพาะอย่างยิ่งจากแผลที่เกิดขึ้นบนใบ และไหลลงมาตามลำต้น (CABI, 2019) นอกจากนี้มีรายงานว่าเชื้อแบคทีเรียสามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้ และสามารถเจริญเติบโตได้ในดินที่มีการใส่ปุ๋ยไนโตเจนสูง (CABI, 2019) เชื้อแบคทีเรีย *P. corrugata* เป็นแกรมลบ วิธีการตรวจสอบเชื้อนี้ สามารถตรวจสอบการไม่เรืองแสงบนอาหาร King's B medium และสามารถสร้างรงควัตถุสีเหลืองถึงน้ำตาล และสามารถ บนอาหาร Yeast Peptone Glucose Agar (YPGA) รวมทั้งสามารถตรวจสอบได้โดยวิธี RAPD PCR (Catara, 2007)

2. การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas corrugata*

จากการสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย *P. corrugata* ในประเทศไทย โดยจัดทำคู่มือการสำรวจ วางแผนการสำรวจอย่างมีระบบ และดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (Surveillance: ISPM No. 6) เพื่อให้ทราบข้อมูลการปรากฏหรือไม่ปรากฏเพื่อยืนยันสถานภาพที่เป็นปัจจุบันของประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 - กันยายน 2565 ในพื้นที่ปลูกพริกและมะเขือเทศ ใน 26 พื้นที่ 9 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย พะเยา น่าน ขอนแก่น อุดรธานี เลย หนองคาย และนครราชสีมา 155 แปลง และสุ่มเก็บตัวอย่างส่วนของพืชที่แสดงอาการคล้ายหรือสงสัย เช่น ใบเหลือง ไส้ของลำต้นกลวง ท่อน้ำท่ออาหารถูกผิดปกติ รวมทั้งสิ้น 265 ตัวอย่าง (Table 1, Figure 1 และ Figure 2)

3. การแยกเชื้อและจัดจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชในห้องปฏิบัติการ

จากการนำตัวอย่างที่สงสัยจำนวนทั้งสิ้น 265 ตัวอย่าง มาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ด้วยวิธี tissue transplanting และเลี้ยงเชื้อบนอาหาร King's B Medium และวิธีการทางชีวเคมี ผลการตรวจสอบพบว่าเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดไม่ใช่เชื้อแบคทีเรีย *P. corrugata* ทำให้สามารถยืนยันสถานภาพได้ว่าเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวยังคงสถานภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน (quarantine pest) ของประเทศไทย

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas corrugata* ในประเทศไทย โดยจัดทำคู่มือการสำรวจ วางแผนการสำรวจ อย่างมีระบบ และดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง ตาม ISPM No. 6 (Surveillance) ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 - กันยายน 2565 ในแปลงปลูกพริกและมะเขือเทศในพื้นที่ปลูกพริกและมะเขือเทศ ใน 26 พื้นที่ 9 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย พะเยา น่าน ขอนแก่น อุดรธานี เลย หนองคาย และนครราชสีมา 155 แปลง รวมทั้งสิ้น 265 ตัวอย่าง นำมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ด้วยวิธี tissue transplanting และเลี้ยงเชื้อบนอาหาร King's B Medium รวมทั้งตรวจสอบด้วยวิธีการทางชีวเคมี ผลการตรวจสอบพบว่าเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดไม่ใช่เชื้อแบคทีเรีย *P. corrugata* ทำให้สามารถยืนยันสถานภาพได้ว่าเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวยังคงสถานภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน ทั้งนี้จำเป็นต้องขยายขอบเขตการสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ในปีที่ 2 และ 3 อีกครั้ง เพื่อให้เป็นตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (Surveillance)

คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณ สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ที่สนับสนุนงบประมาณในการศึกษาวิจัย คุณสุรพล ยินอัศวพรรณ และคณะกรรมการที่ปรึกษาด้านวิชาการ ตลอดจนข้าราชการ พนักงานราชการ และพนักงานจ้างเหมา ของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่ให้คำแนะนำช่วยเหลือในการทำงานวิจัยให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2550. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 ประกาศ ณ วันที่ 1 มิถุนายน 2550 ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 124 ตอนพิเศษ 66 ง. ลงวันที่ 26 เมษายน 2550.

Blancard, D. 2012. Tomato Diseases (Identification, Biology and Control). Manson Publishing, London. England. 669 pp.

CABI (CAB International). 2019. *Pseudomonas corrugata*. CAB International. (Online). Available. https://www.cabi.org/ISC/datasheet/44945. (20 November 2019)

Catara, V. 2007. *Pseudomonas corrugata*: plant pathogen and/or biological resource. Molecular plant pathology. 8 (3), 233-244.

FAO. 2018. Surveillance. International Standards for Phytosanitary Measures (ISPM) No.6, FAO, Rome.

Moura, M.L., Jacques, M.A., Brito, L.M., Mourão, and I.M. Duclos. 2005. Tomato pith necrosis (TPN) caused by *Pseudomonas corrugata* and *P. mediterranea*: severity of damages and crop loss assessment. Acta Hort. (ISHS), 695, 365–372.

McMaugh, T. 2008. คำแนะนำในการสำรวจศัตรูพืชในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก. ACIAR Monograph No. 119c.

Table 1 Detective survey of *Pseudomonas corrugata* in producti on area of pepper and tomato in Thailand (October 2021 to September 2022)

No	Production area of tomato			Samples	Lab. results
	Sub district	District	Province		
1	Mueang	Mueang	Chiang Mai	5	Not found
2	Chang Phueak	Mueang	Chiang Mai	5	Not found
3	Banloung	Chomthong	Chiang Mai	5	Not found
4	Soptai	Chomthong	Chiang Mai	5	Not found
5	Mae Taeng	Mae Taeng	Chiang Mai	15	Not found
6	Mae Win	Maewang	Chiang Mai	15	Not found
7	San Sai	Fang	Chiang Mai	10	Not found
8	Tha Ton	Mae Ai	Chiang Mai	5	Not found
9	Si Dong Yen	Chaiprakarn	Chiang Mai	15	Not found
10	Bo Kaeo	Samoeng	Chiang Mai	5	Not found
11	Sanpapao	San Sai	Chiang Mai	15	Not found
12	Mae Kon	Mueang	Chiang Rai	10	Not found
13	Bantun	Muang Phayao	Phayao	10	Not found
14	Klang Wiang	Wiang Sa	Nan	15	Not found
15	Pa Wai Nang	Ban Fang	Khon Kaen	10	Not found
16	Nong Bua	Ban Fang	Khon Kaen	10	Not found
17	Sawathi	Mueang	Khon Kaen	15	Not found
18	Mueang Phia	Kut Chap	Udon Thani	10	Not found
19	Na Pong	Mueang	Loei	5	Not found
20	Pla Ba	Phu Ruea	Loei	15	Not found
21	Rong Chik	Phu Ruea	Loei	15	Not found
22	Ban Duea	Mueang	Nong Khai	5	Not found
23	Pan Phrao	Sri Chiang Mai	Nong Khai	5	Not found
24	Lao Pattana	Na Wa	Nakhon Phanom	15	Not found
25	Na Wa	Na Wa	Nakhon Phanom	10	Not found
26	Tha Ruea	Na Wa	Nakhon Phanom	15	Not found

Figure 1 Symptoms of *Pseudomonas corrugata*; A) The leaflets of this leaf are slightly chlorotic and wilted; the tip leaflets are drying out and B) The pith of the stem is glassy and dark to blackish depending on position. **Source:** Blancard, 2012

Figure 2 The specific survey of *Pseudomonas corrugata* in production areas of tomatoes

การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas vesicatoria* ในประเทศไทย

Survey and Surveillance of *Xanthomonas vesicatoria* in Thailand

ทิพวรรณ กันหาญาติ[1/] ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล[1/] ชลธิชา รักใคร่[2/]
ธิดาวรรณ ชมเดช[2/] วันเพ็ญ ศรีชาติ[3/]
[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[3/]กลุ่มวิชาการ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2

รายงานความก้าวหน้า

แบคทีเรีย *X. vesicatoria* สามารถถ่ายทอดทางเมล็ดได้ และเป็นศัตรูพืชกักกันที่มีรายชื่ออยู่ใน EPPO A2 list แบคทีเรียชนิดนี้ไม่มีปรากฏในประเทศไทยมาก่อน แต่เนื่องจากประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศเพื่อการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมในภายประเทศและส่งกลับไปจำหน่ายยังต่างประเทศ จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องทำการสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย *X. vesicatoria* ในประเทศไทย สำหรับเป็นข้อมูลยืนยันสถานภาพการเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย โดยการทดลองในเดือนตุลาคม 2564 - กันยายน 2565 ได้ดำเนินการสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคใบจุดในพริกและมะเขือเทศ ในจังหวัดหนองคาย บึงกาฬ นครพนม สกลนคร มุกดาหาร น่าน ตาก และเพชรบูรณ์ นำมาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ พบเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas* โดยเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ก่อให้เกิดโรคในมะเขือเทศหรือพริก ผลการตรวจเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดด้วยไพรเมอร์จำเพาะไม่พบเชื้อแบคทีเรีย *X. vesicatoria*

คำหลัก : เฝ้าระวัง ใบจุด พริก มะเขือเทศ

รหัสการทดลอง FF65-55-06-65-00-02-65

คำนำ

โรคใบจุดที่เกิดจากแบคทีเรียในกลุ่ม *Xanthomonas* ของพริกและมะเขือเทศเป็นโรคที่สำคัญของประเทศผู้ผลิตพริกและมะเขือเทศทั่วโลกโดยเฉพาะในเขตร้อนและร้อนชื้นเนื่องจากทำให้ผลผลิตลดลงถึง 50% (Pohronezny and Volin, 1983) เชื้อแบคทีเรียในกลุ่มนี้มีลักษณะอาการของโรคคล้ายคลึงกัน พบรายงานเชื้อหลายชนิดที่เป็นสาเหตุโรคซึ่งมีการจัดจำแนกและเปลี่ยนชื่อใหม่หลายครั้ง การจัดจำแนกเชื้อโดย Jones *et al*. (2004) พบความแตกต่างภายในกลุ่มเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas* สาเหตุโรคใบจุดในพริกและมะเขือเทศ จากการใช้แหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกันและผลการศึกษา DNA-DNA hybridization ทำให้แบ่งกลุ่มเชื้อออกเป็น 4 ชนิด ได้แก่ *X. euvesicatoria X. Perforans X. gardneri* และ *X. vesicatoria* (Jones *et al*., 2004) ในปัจจุบันมีการเสนอเปลี่ยนชื่อเชื้อทั้ง 4 ชนิด เป็น *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria X. euvesicatoria* pv. *perforans X. hortorum* pv. *gardneri* และ *X. vesicatoria* ตามลำดับ (Constantin *et al*., 2016; Timilsina *et al*., 2020; Morinière *et al*., 2020) สำหรับประเทศไทยมีรายงานเชื้อสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศที่เกิดจากแบคทีเรีย *X. campestris* pv. *vesicatoria* (Uematsu *et al*., 1983) และรายงานการจำแนกชนิดแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศโดยการเปรียบเทียบลำดับ นิวคลีโอไทด์หลายตำแหน่งพบเชื้อ 2 ชนิด ได้แก่ *X. euvesicatoria* และ *X. perforans* (สันติพงษ์ และคณะ, 2563)

เชื้อแบคทีเรีย *X. vesicatoria* สาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ เป็นศัตรูพืชกักกันที่มีรายชื่ออยู่ใน EPPO A2 list (EPPO, 2013) สามารถถ่ายทอดทางเมล็ดได้และไม่มีปรากฏในประเทศไทยมาก่อน จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องเฝ้าระวัง เนื่องจากประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศเพื่อการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมในภายประเทศและส่งกลับไปจำหน่ายยังต่างประเทศ ดังนั้น การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของเชื้อแบคทีเรีย *X. vesicatoria* สาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ เพื่อยืนยันสถานภาพการเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย เป็นข้อมูลซึ่งเป็นหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การกำหนด พื้นที่ปลอดศัตรูพืช และใช้ในการจัดเตรียมบัญชีรายชื่อศัตรูพืช ซึ่งข้อมูลจากการดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการสนับสนุนการส่งออกเมล็ดพันธุ์พริกและมะเขือเทศ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่องแก้ว และอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น กระบอกตวง จานเลี้ยงเชื้อ ลูป
2. อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่าง เช่น อุปกรณ์จับพิกัด GPS ถุงพลาสติก
3. ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven)
4. หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave)
5. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Incubator)

6. เครื่องชั่ง
7. ปิเปต (Pipette)
8. เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)
9. อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)
10. เครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ (Refrigerated Centrifuge)
11. เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (Thermal cycler)
12. เครื่องแยกวิเคราะห์สารพันธุกรรม (Gel Electrophoresis System)
13. เครื่องถ่ายภาพสารพันธุกรรม (Gel Documentation)
14. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ สกัดดีเอ็นเอ และทำปฏิกิริยา PCR เช่น ชุดสกัดดีเอ็นเอ QIAamp DNA Mini kit (Qiagen, USA) สารเคมี One PCR Master Mix (GeneDirex® Inc., Taiwan) ดีเอ็นเอขนาดมาตรฐาน Onemark 100 (GeneDirex® Inc., Taiwan)

วิธีการ

1 .การรวบรวมข้อมูลเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas vesicatoria*

สืบค้นรวบรวมข้อมูลเชื้อแบคทีเรีย *X. vesicatoria* เช่น อนุกรมวิธาน พืชอาศัย การเกิดโรค เป็นต้น จากทั้งในและต่างประเทศ ฐานข้อมูล จากเอกสารวิชาการ วารสาร รายงานการประชุม สัมมนาทางวิชาการและหน่วยงานอื่นที่เกี่ยวข้อง

2. การสำรวจและเฝ้าระวังตามมาตรฐาน ISPMs (International Standard for Phytosanitary Measures)

ดำเนินการสำรวจและเฝ้าระวังตามมาตรฐาน ISPMs ฉบับที่ 6 (Guidelines for Surveillance) ในแปลงปลูกพริกและมะเขือเทศ โดยดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) เพื่อให้ทราบข้อมูลแบคทีเรีย *X. vesicatoria* ในพื้นที่สำรวจและในเวลาที่กำหนด ตามขั้นตอนต่อไปนี้

2.1 จัดทำคู่มือการสำรวจ โดยการรวบรวมตัวอย่างอ้างอิงและรูปภาพของโรคที่เกิดจากแบคทีเรีย *X. vesicatoria* เพื่อใช้ในการตรวจสอบอ้างอิงขณะทำการสำรวจและจัดทำข้อมูลศัตรูพืช ชื่อสามัญ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพืชอาศัย อาการของโรค รูปภาพสีของโรค และรายละเอียดของศัตรูพืชชนิดอื่นที่คล้ายคลึงกับศัตรูพืชเป้าหมาย

2.2 จัดทำฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ ได้แก่ ชื่อที่อยู่ที่ตั้งของแปลง วันที่สำรวจ ตำแหน่งพิกัดภูมิศาสตร์ (พิกัด GPS) เป็นต้น

2.3 การสำรวจ กำหนดพื้นที่แหล่งปลูกพริกและมะเขือเทศที่สำคัญในประเทศไทย ในเขตภาคเหนือ เชียงราย เชียงใหม่ น่าน ลำพูน และ ลำปาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จังหวัดศรีสะเกษ ชัยภูมิ หนองคาย ขอนแก่น และสกลนคร เป็นต้น วางแผนการสำรวจในพื้นที่อย่างน้อย 10 แปลงต่อพื้นที่ แต่ละแปลงทำการสุ่มตัวอย่างแบบเป็นระบบ สุ่มตรวจโรค 5 แถวต่อแปลง กำหนดการตรวจแบบแถวเว้นแถว

2.4 วิธีการตรวจแบคทีเรีย *X. vesicatoria* ในแปลง เมื่อออกสำรวจให้สังเกตจากลักษณะอาการของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือการสำรวจที่จัดทำไว้ บันทึกรายละเอียดข้อมูลของแปลง บันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป เก็บตัวอย่างห่อกระดาษและใส่ถุง นำกลับมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ

3. การตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ

3 1.การแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชและเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์

นำตัวอย่างกลับมาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ โดยตัดส่วนของพืชบริเวณรอยต่อของส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรคเป็นชิ้นเล็กๆ แต่ละชิ้นตัวอย่างนำมาแช่ในแอลกอฮอล์ %70นาน นาที ล้างด้วย 5 ครั้ง แล้วนำมาบดในน้ำกลั่น และแยกเชื้อบนอาหาร 3 น้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วPSA หลังจากนั้นบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ ชั่วโมง เลือกเก็บเชื้อแบคทีเรียที่มีลักษณะโคโลนี 48 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 กลมนูน ขอบเรียบ ผิวเป็นมันวาวสีเหลือง และทำให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์ โดยเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อกลีเซอรอล %15และ %50ไว้ใช้ในการศึกษาต่อไป

3.2 ทดสอบการเกิดโรค)Pathogenicity test(

นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากการเก็บตัวอย่าง มาทดสอบการเกิดโรคกับพริกและมะเขือเทศ โดยเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนอาหาร PSA บ่มไว้ที่อุณหภูมิ ชั่วโมง นำมา 48 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 ปรับระดับความเข้มข้นของเชื้อโดยใช้ค่าดูดกลืนแสงO.D600. nm เท่ากับ ด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 0.2 10^8 มีความเข้มข้นของเชื้อประมาณ CFU/ml พ่นเชื้อแบคทีเรียบนพืชทดสอบแล้วใช้ถุงพลาสติกคลุมไว้ให้มีความชื้นเป็นเวลา ชั่วโมง จึงเปิดถุงออก และสังเกตอาการต้นพืชเปรียบเทียบกับกรรมวิธี 48 ควบคุมที่พ่นด้วยน้ำเปล่า และพิสูจน์โรคตามวิธีการของ Koch)Koch’s postulation(

3.3 ศึกษาคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และชีวเคมีของเชื้อ

ทำการศึกษาคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรียบางประการตามวิธีการของ Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria Third Edition (Schaad *et al*., 2001)

3.4 การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศด้วยเทคนิค PCR

ตรวจสอบเชื้อโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศด้วยเทคนิค PCR ตามรายงานของ Koenraadit *et al.* (2009) โดยใช้ปริมาตรรวมในการทำปฏิกิริยา PCR 20 ไมโครลิตร ประกอบด้วยดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรียความเข้มข้น 100 ng/µl, One PCR Master Mix (GeneDirex® Inc., Taiwan) และไพรเมอร์ชนิดละ 0.2 µM เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องควบคุมอุณหภูมิ Biometra® (Biometra biomedizinische Analytik GmbH, Germany) ตรวจสอบผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิสและตรวจดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอุลตราไวโอเลตด้วยเครื่อง UVITEC Cambridge Platinum (Uvitec Ltd., UK)

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2564 – กันยายน 2565

สถานที่ 1. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2. แหล่งปลูกพริกและมะเขือเทศ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคใบจุดในพริกและมะเขือเทศ ในจังหวัดหนองคาย บึงกาฬ นครพนม สกลนคร มุกดาหาร น่าน ตาก และเพชรบูรณ์ จำนวน 138 ตัวอย่าง แยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ พบเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas* spp. จำนวน 41 ตัวอย่าง เชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ก่อให้เกิดโรคในมะเขือเทศหรือพริก ตรวจเชื้อด้วยเทคนิค PCR ตามรายงานของ Koenraadt *et al*. (2009) ยังไม่พบเชื้อ *X. vesicatoria*

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ข้อมูลการสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas vesicatoria* ในประเทศไทย ปีที่ 1 ในจังหวัดหนองคาย บึงกาฬ นครพนม สกลนคร มุกดาหาร น่าน ตาก และพิษณุโลก ไม่พบเชื้อแบคทีเรีย *X. vesicatoria*

เอกสารอ้างอิง

สันติพงศ์ สิทธิธนสิน จุฑาเทพ วัชระไชยคุปต์ ชัญญานุช กอรักงาม ทิพวรรณ กันหาญาติ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล วิชัย โฆสิตรัตน และ สุจินต์ ภัทรภูวดล. 2563. การจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของมะเขือเทศในประเทศไทย. *วารสารวิชาการเกษตร.* 36: 80-88.

Constantin, E.C., I. Cleenwerck, M. Maes, S. Baeyen, C. Van Malderghem, P. De Vos and B. Cottyn. 2016. Genetic characterization of strains named as *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* leads to a taxonomic revision of the *X. axonopodis* species complex. *Plant Pathology* 65 (5): 792-806.

EPPO. 2013. PM 7/110 (1) *Xanthomonas* spp. (*Xanthomonas euvesicatoria*, *Xanthomonas gardneri*, *Xanthomonas perforans*, *Xanthomonas vesicatoria*) causing bacterial spot of tomato and sweet pepper. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 43: 7-20.

Jones, J.B., G.H. Lacy, H. Bouzar, R.E. Stall and N.W. Schaad. 2004. Reclassification of the xanthomonads associated with bacterial spot disease of tomato and pepper. *Systematic and Applied Microbiology.* 27: 755–762.

Koenraadt, H., B. Van Betteray, R. Germain, G. Hiddink, J.B. Jones, J. Oosterhof, A. Rijlaarsdam, P. Roorda and B. Woudt. 2009. Development of specific primers for the molecular detection of bacterial spot of pepper and tomato, pp. 99-102. *In* II International Symposium on Tomato Diseases 808. *International Soc. Hort. Sci.* Belgium.

Morinière, L., A. Burlet, E.R. Rosenthal, X. Nesme, P. Portier and C.T. Bull. 2020. Clarifying the taxonomy of the causal agent of bacterial leaf spot of lettuce through a polyphasic approach reveals that *Xanthomonas cynarae* Trébaol *et al*. 2000 emend. Timilsina *et al*. 2019 is a later heterotypic synonym of *Xanthomonas hortorum* Vauterin *et al*. 1995. *Systematic App. Microbiol.* 43: 126087.

Pohronezny, K. and R.B. Volin. 1983. The effect of bacterial spot on yield and quality of fresh market tomatoes. *Hort. Sci.* 18: 69-70.

Strayer, A., A. Jeyaprakash, G.V. Minsavage, S. Timilsina, G.E. Vallad and J.B. Jones. 2016. A multiplex real-time PCR assay differentiates four *Xanthomonas* species associated with bacterial spot of tomato. *Plant Dis.* 100: 1660–1668.

Timilsina, S., S. Kara, M.A. Jacques, N. Potnis, G.V. Minsavage, G.E. Vallad, J.B. Jones and M. Fischer-Le Saux. 2020. Corrigendum: Reclassification of *Xanthomonas gardneri* (ex Šutič 1957) Jones *et al*. 2006 as a later heterotypic synonym of *Xanthomonas cynarae* Trébaol *et al*. 2000 and description of *X. cynarae* pv. *cynarae* and *X. cynarae* pv. *gardneri* based on whole genome analyses. *Int J Syst Evol Microbiol* 69: 343-349, doi: 10.1099/ijsem.0.003104.

Uematsu, T., S. Chuenchitt, S. Kanjanarat, S. Vitithajinda, N. Napheerong, S. Benjathikul, S. Nilmanee, W. Dhirabhava and D. Buangsuwon. 1983. *Bacterial diseases on economic crops in Thailand*. Tropical Agricultural Research Center, Ministry of Agricultural, Forestry and Fisheries, Japan and Department of Agriculture, Ministry of Agriculture and Cooperative Thailand. 266 p.

Schaad, N. W., J. B. Jones and G. H. Lacy. 2001. Laboratory Guide for the Identification of Plant Pathogenic Bacteria. *American Phytopathological Society*. Minnesota 175-199.

การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas perforans* ในประเทศไทย

Survey and Surveillance of *Xanthomonas perforans* in Thailand

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล[1/] ทิพวรรณ กันหาญาติ[1/] ชลธิชา รักใคร่[2/]
ธิดาวรรณ ชมเดช[2/] วันเพ็ญ ศรีชาติ[3/]
[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[3/]กลุ่มวิชาการ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2

รายงานความก้าวหน้า

เชื้อแบคทีเรีย *X. perforans* เป็นศัตรูพืชกักกันที่มีรายชื่ออยู่ใน EPPO A2 สามารถถ่ายทอดทางเมล็ดได้ และมีการพบข้อมูลอ้างอิงเชื้อ *X. perforans* จากประเทศไทยในผลงานตีพิมพ์ของต่างประเทศ จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องทำการสำรวจเพื่อเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของเชื้อแบคทีเรีย *X. perforans* ในประเทศไทย สำหรับเป็นข้อมูลยืนยันสถานภาพการเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย โดยการทดลองในเดือนตุลาคม 2564 - กันยายน 2565 ได้ดำเนินการสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคใบจุดในพริกและมะเขือเทศ ในจังหวัดหนองคาย บึงกาฬ นครพนม สกลนคร มุกดาหาร น่าน ตาก และเพชรบูรณ์ นำมาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ พบเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas* โดยเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ก่อให้เกิดโรคในมะเขือเทศหรือพริก ผลการตรวจเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดด้วยไพรเมอร์จำเพาะ ไม่พบเชื้อแบคทีเรีย *X. perforans*

คำหลัก : เฝ้าระวัง ใบจุด พริก มะเขือเทศ

รหัสการทดลอง FF65-55-06-65-00-04-65

คำนำ

โรคใบจุดที่เกิดจากแบคทีเรียของพริกและมะเขือเทศเป็นโรคที่สำคัญของประเทศผู้ผลิตพริกและมะเขือเทศทั่วโลกโดยเฉพาะในเขตร้อนและร้อนชื้นเนื่องจากทำให้ผลผลิตลดลงถึง 50% (Pohronezny and Volin, 1983) มีรายงานเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas* หลายชนิดเป็นสาเหตุโรคและมีการจัดจำแนกเชื้อสาเหตุและเปลี่ยนชื่อใหม่หลายครั้ง การจัดจำแนกเชื้อโดย Jones *et al*. (2004) พบความแตกต่างกันภายในกลุ่มเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas* สาเหตุโรคใบจุดในพริกและมะเขือเทศ จากการใช้แหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกันและผลการศึกษา DNA-DNA hybridization ทำให้แบ่งกลุ่มเชื้อใหม่เป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ *X. Euvesicatoria X. Perforans X. vesicatoria* และ *X. gardneri* (Jones *et al*., 2004) สำหรับประเทศไทยมีรายงานเชื้อสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศเกิดจากเชื้อ *X. campestris* pv. *vesicatoria* (Uematsu *et al*., 1983)

โรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *X. perforans* สามารถถ่ายทอดทางเมล็ดได้ อีกทั้งการพบข้อมูลอ้างอิงเชื้อ *X. perforans* จากประเทศไทยในผลงานตีพิมพ์ของต่างประเทศ (Strayer *et al*., 2016; Timilsina *et al*., 2020) จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องทำการสำรวจเพราะประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศเพื่อการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมในประเทศและส่งกลับไปจำหน่ายยังต่างประเทศ นอกจากนี้เชื้อสาเหตุเป็นศัตรูพืชกักกันที่มีรายชื่ออยู่ใน EPPO A2 list (EPPO, 2013) ดังนั้น การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจและเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของเชื้อแบคทีเรีย *X. perforans* สาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศในประเทศไทย สำหรับยืนยันสถานภาพการเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่องแก้ว และอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น กระบอกตวง จานเลี้ยงเชื้อ ลูป
2. อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่าง เช่น อุปกรณ์จับพิกัด GPS ถุงพลาสติก
3. ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven)
4. หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave)
5. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Incubator)
6. เครื่องชั่ง
7. ปิเปต (Pipette)
8. เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)
9. อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)
10. เครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ (Refrigerated Centrifuge)
11. เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (Thermal cycler)
12. เครื่องแยกวิเคราะห์สารพันธุกรรม (Gel Electrophoresis System)

13. เครื่องถ่ายภาพสารพันธุกรรม (Gel Documentation)

14. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ สกัดดีเอ็นเอ และทำปฏิกิริยา PCR เช่น ชุดสกัดดีเอ็นเอ QIAamp DNA Mini kit (Qiagen, USA) สารเคมี One PCR Master Mix (GeneDirex® Inc., Taiwan) ดีเอ็นเอขนาดมาตรฐาน Onemark 100 (GeneDirex® Inc., Taiwan)

วิธีการ

1. การรวบรวมข้อมูลเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas perforans*

สืบค้นรวบรวมข้อมูลเชื้อแบคทีเรีย *X. perforans* เช่น อนุกรมวิธาน พืชอาศัย การเกิดโรค เป็นต้น จากทั้งในและต่างประเทศ ฐานข้อมูล จาก เอกสารวิชาการ วารสาร รายงานการประชุม สัมมนาทางวิชาการและหน่วยงานอื่นที่เกี่ยวข้อง

2. การสำรวจและเฝ้าระวังตามมาตรฐาน ISPMs (International Standard for Phytosanitary Measures)

ดำเนินการสำรวจและเฝ้าระวังตามมาตรฐาน ISPMs ฉบับที่ 6 (Guidelines for Surveillance) ในแปลงปลูกพริกและมะเขือเทศ โดยดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) เพื่อให้ทราบข้อมูลแบคทีเรีย *X. perforans* ในพื้นที่สำรวจและในเวลาที่กำหนด ตามขั้นตอนต่อไปนี้

2.1 จัดทำคู่มือการสำรวจ โดยการรวบรวมตัวอย่างอ้างอิงและรูปภาพของโรคที่เกิดจากแบคทีเรีย *X. perforans* เพื่อใช้ในการตรวจสอบอ้างอิงขณะทำการสำรวจและจัดทำข้อมูลศัตรูพืช ชื่อสามัญ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพืชอาศัย อาการของโรค รูปภาพสีของโรค และรายละเอียดของศัตรูพืชชนิดอื่นที่คล้ายคลึงกับศัตรูพืชเป้าหมาย

2.2 จัดทำฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ ได้แก่ ชื่อที่อยู่ที่ตั้งของแปลง วันที่สำรวจ ตำแหน่งพิกัดภูมิศาสตร์ (พิกัด GPS) เป็นต้น

2.3 การสำรวจ กำหนดพื้นที่แหล่งปลูกพริกและมะเขือเทศที่สำคัญในประเทศไทย ในเขตภาคเหนือ เชียงราย เชียงใหม่ น่าน ลำพูน และ ลำปาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จังหวัดศรีสะเกษ ชัยภูมิ หนองคาย ขอนแก่น และสกลนคร เป็นต้น วางแผนการสำรวจในพื้นที่อย่างน้อย 10 แปลงต่อพื้นที่ แต่ละแปลงทำการสุ่มตัวอย่างแบบเป็นระบบ สุ่มตรวจโรค 5 แถวต่อแปลง กำหนดการตรวจแบบแถวเว้นแถว

2.4 วิธีการตรวจแบคทีเรีย *X. perforans* ในแปลง เมื่อออกสำรวจให้สังเกตจากลักษณะอาการของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือการสำรวจที่จัดทำไว้ บันทึกรายละเอียดข้อมูลของแปลง บันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป เก็บตัวอย่างห่อกระดาษและใส่ถุง นำกลับมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ

3. การตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ

3 1.การแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชและเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์

นำตัวอย่างกลับมาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ โดยตัดส่วนของพืชบริเวณรอยต่อของส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรคเป็นชิ้นเล็กๆ แต่ละชิ้นตัวอย่างนำมาแช่ในแอลกอฮอล์ 70% นาน 5 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง แล้วนำมาบดในน้ำกลั่น และแยกเชื้อบนอาหาร PSA หลังจากนั้นบ่ม

เชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เลือกเก็บเชื้อแบคทีเรียที่มีลักษณะโคโลนีกลมนูน ขอบเรียบ ผิวเป็นมันวาวสีเหลือง และทำให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์ โดยเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อกลีเซอรอล 15 % และ 50 % ไว้ใช้ในการศึกษาต่อไป

3.2 ทดสอบการเกิดโรค (Pathogenicity test)

นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากการเก็บตัวอย่าง มาทดสอบการเกิดโรคกับพริกและมะเขือเทศ โดยเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนอาหาร PSA บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำมาปรับระดับความเข้มข้นของเชื้อโดยใช้ค่าดูดกลืนแสง O.D600. nm เท่ากับ 0.2 ด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ มีความเข้มข้นของเชื้อประมาณ 10^8 CFU/m พ่นเชื้อแบคทีเรียบนพืชทดสอบแล้วใช้ถุงพลาสติกคลุมไว้ให้มีความชื้นเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จึงเปิดถุงออก และสังเกตอาการต้นพืชเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่พ่นด้วยน้ำเปล่า และพิสูจน์โรคตามวิธีการของ Koch (Koch's postulation)

3.3 ศึกษาคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และชีวเคมีของเชื้อ

ทำการศึกษาคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรียบางประการตามวิธีการของ Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria Third Edition (Schaad *et al*., 2001)

3.4 การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศด้วยเทคนิค PCR

ตรวจสอบเชื้อโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศด้วยเทคนิค PCR ตามรายงานของ Koenraadit *et al.* (2009) โดยใช้ปริมาตรรวมในการทำปฏิกิริยา PCR 20 ไมโครลิตร ประกอบด้วยดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรียความเข้มข้น 100 ng/µl, One PCR Master Mix (GeneDirex® Inc., Taiwan) และไพรเมอร์ชนิดละ 0.2 µM เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องควบคุมอุณหภูมิ Biometra® (Biometra biomedizinische Analytik GmbH, Germany) ตรวจสอบผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส และตรวจดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอุลตราไวโอเลตด้วยเครื่อง UVITEC Cambridge Platinum (Uvitec Ltd., UK)

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2564 – กันยายน 2565

สถานที่ 1. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2. แหล่งปลูกพริกและมะเขือเทศ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคใบจุดในพริกและมะเขือเทศ ในจังหวัดหนองคาย บึงกาฬ นครพนม สกลนคร มุกดาหาร น่าน ตาก และเพชรบูรณ์ จำนวน 138 ตัวอย่าง นำมาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ พบเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas* spp. จำนวน 41 ตัวอย่าง เชื้อแบคทีเรียที่แยกได้

ก่อให้เกิดโรคในมะเขือเทศหรือพริก ผลการตรวจเชื้อด้วยไพรเมอร์ตามรายงานของ Koenraadt *et al*. (2009) ไม่พบเชื้อแบคทีเรีย *X. perforans*

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ข้อมูลการสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas perforans* ในประเทศไทย ปีที่ 1 ในจังหวัดหนองคาย บึงกาฬ นครพนม สกลนคร มุกดาหาร น่าน ตาก และพิษณุโลก ไม่พบเชื้อแบคทีเรีย *X. perforans*

เอกสารอ้างอิง

EPPO. 2013. PM 7/110 (1) *Xanthomonas* spp. (*Xanthomonas euvesicatoria*, *Xanthomonas gardneri*, *Xanthomonas perforans*, *Xanthomonas vesicatoria*) causing bacterial spot of tomato and sweet pepper. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 43: 7-20.

Jones, J.B., G.H. Lacy, H. Bouzar, R.E. Stall and N.W. Schaad. 2004. Reclassification of the xanthomonads associated with bacterial spot disease of tomato and pepper. *Systematic and Applied Microbiology.* 27: 755–762.

Koenraadt, H., B. Van Betteray, R. Germain, G. Hiddink, J.B. Jones, J. Oosterhof, A. Rijlaarsdam, P. Roorda and B. Woudt. 2009. Development of specific primers for the molecular detection of bacterial spot of pepper and tomato, pp. 99-102. *In* II International Symposium on Tomato Diseases 808. *International Soc. Hort. Sci.* Belgium.

Pohronezny, K. and R.B. Volin. 1983. The effect of bacterial spot on yield and quality of fresh market tomatoes. *Hort. Sci.* 18: 69-70.

Strayer, A., A. Jeyaprakash, G.V. Minsavage, S. Timilsina, G.E. Vallad and J.B. Jones. 2016. A multiplex real-time PCR assay differentiates four *Xanthomonas* species associated with bacterial spot of tomato. *Plant Dis.* 100: 1660–1668.

Timilsina, S., S. Kara, M.A. Jacques, N. Potnis, G.V. Minsavage, G.E. Vallad, J.B. Jones and M. Fischer-Le Saux. 2020. Corrigendum: Reclassification of *Xanthomonas gardneri* (ex Šutič 1957) Jones *et al*. 2006 as a later heterotypic synonym of *Xanthomonas cynarae* Trébaol *et al*. 2000 and description of *X. cynarae* pv. *cynarae* and *X. cynarae* pv. *gardneri* based on whole genome analyses. *Int J Syst Evol Microbiol* 69: 343-349, doi: 10.1099/ijsem.0.003104.

Uematsu, T., S. Chuenchitt, S. Kanjanarat, S. Vitithajinda, N. Napheerong, S. Benjathikul, S. Nilmanee, W. Dhirabhava and D. Buangsuwon. 1983. *Bacterial diseases on*

economic crops in Thailand. Tropical Agricultural Research Center, Ministry of Agricultural, Forestry and Fisheries, Japan and Department of Agriculture, Ministry of Agriculture and Cooperative Thailand. 266 p.

Schaad, N. W., J. B. Jones and G. H. Lacy. 2001. Laboratory Guide for the Identification of Plant Pathogenic Bacteria. *American Phytopathological Society*. Minnesota 175-199.

การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อรา *Pseudocercospora angolensis* ในประเทศไทย

Survey and Surveillance of *Pseudocercospora angolensis* in Thailand

วานิช คำพานิช[1/] ธิดาวรรณ ชมเดช[1/] ชนินทร ดวงสอาด[2/] ดนัย ชัยเรือนแก้ว[1/]
พรรณิภา เปชัยศรี[1/] ชุติมา อ้อมกิ่ง[1/] โสภา มีอำนาจ[1/] ชลธิชา รักใคร่[1/]
ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล[2/] อภินันท์ เอี่ยมสุวรรณสุข[1/]
[1/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อรา *Pseudocercospora angolensis* ในประเทศไทยโดยจัดทำคู่มือการสำรวจ วางแผนการสำรวจ อย่างมีระบบ และดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 ถึงเดือนกันยายน 2565 ในแปลงปลูกของพืชวงศ์ส้มในพื้นที่ 16 จังหวัด ได้แก่ เชียงราย เชียงใหม่ พะเยา น่าน เลย นครราชสีมา ชัยนาท กาญจนบุรี นครปฐม ราชบุรี สมุทรสาคร สมุทรสงคราม ระยอง ฉะเชิงเทรา ชุมพร และนครศรีธรรมราช จำนวน 80 แปลง ทำการสุ่มตรวจและเก็บตัวอย่างใบและผลที่มีอาการจุด นำมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ด้วยวิธีการตามมาตรฐานสากล ผลการตรวจสอบพบว่าเชื้อราทั้งหมดที่ตรวจพบทั้งหมดไม่ใช่เชื้อรา *P. angolensis* ทำให้สามารถยืนยันสถานภาพได้ว่าเชื้อราดังกล่าวยังคงสถานภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน (quarantine pest) ของประเทศไทย

คำหลัก : การสำรวจ เฝ้าระวัง พืชวงศ์ส้ม เชื้อรา

รหัสการทดลอง FF65-55-06-65-00-05-65

คำนำ

ประเทศไทยในฐานะที่เป็นสมาชิกขององค์การการค้าโลก (WTO) ซึ่งต้องปฏิบัติตามเงื่อนไขอนุสัญญาว่าด้วยการอารักขาพืชระหว่างประเทศ (International Plant Protection Convention, IPPC) ซึ่งกำหนดมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช (FAO, 2018) ส่วนมาตรการสุขอนามัยพืช (Phytosanitary measures) หมายถึง ตัวบทกฎหมาย กฎระเบียบข้อบังคับ หรือวิธีการใด ๆ ที่มีวัตถุประสงค์เพื่อป้องกันการเข้ามา และ/หรือ การแพร่กระจายของศัตรูพืชกักกัน (Quarantine pest) หรือเพื่อสกัดกั้นผลกระทบทางเศรษฐกิจของศัตรูพืชที่ไม่ใช่ศัตรูพืชกักกันที่ต้องมีการควบคุม (Regulated non-quarantine pest) รวมทั้งข้อกำหนดการนำเข้าด้านสุขอนามัยพืช (Phytosanitary import requirements) หมายถึงมาตรการสุขอนามัยพืชเฉพาะ ที่จัดทำขึ้นมาโดยประเทศผู้นำเข้าสำหรับสินค้าที่จะอนุญาตให้นำเข้า เป็นผลจากการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของสินค้านั้น และได้กำหนดให้กรมวิชาการเกษตร คือ องค์กรอารักขาพืชแห่งชาติ (National Plant Protection Organization; NPPO) เช่นเดียวกันกับการส่งออกสินค้าพืชของประเทศไทยไปยังประเทศที่ยังไม่เคยอนุญาตนำเข้ามาก่อนก็ต้องส่งมอบข้อมูลสินค้าพืชนั้นและบัญชีรายชื่อศัตรูพืช (Pest list) ที่เกี่ยวข้องเพื่อการทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของประเทศปลายทาง และป้องกันปัญหาเนื่องจากความตกลงว่าด้วยการใช้บังคับมาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures, SPS Agreement) ซึ่งกำหนดให้ประเทศสมาชิกWTO มีสิทธิ์กำหนดหรือใช้มาตรการใด ๆ สำหรับการนำเข้าสินค้า เพื่อป้องกันชีวิตหรือสุขภาพสัตว์หรือพืชจากความเสี่ยงของโรคและแมลงศัตรูพืชที่ทำให้เกิดโรคหรือเป็นพาหะของโรค เพื่อป้องกันชีวิต สุขภาพมนุษย์สัตว์ สิ่งแวดล้อม จากความเสี่ยงซึ่งเกิดจากการใช้สารปรุงแต่ง สิ่งเจือปน สารพิษ หรือสิ่งมีชีวิตที่ทำให้เกิดโรคในอาหาร เครื่องดื่ม หรืออาหารสัตว์ เพื่อป้องกันชีวิตหรือสุขภาพมนุษย์จากความเสี่ยงซึ่งเกิดจากโรคที่มีในสัตว์ พืช หรือผลิตภัณฑ์จากสิ่งนั้นเป็นพาหะ และเพื่อป้องกันหรือจำกัดความเสียหายอื่น ๆ จากการเข้ามา (Entry) การตั้งรกราก (Establishment) แพร่ระบาด (Spread) ของศัตรูพืช เช่น โรคพืช แมลง ไร วัชพืช และสัตว์ศัตรูพืช รวมทั้งสร้างความเสียหายกับพืชและผลิตพืชในประเทศไทย

การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูโดยการศึกษาและการสำรวจแบบติดตามข้อมูลศัตรูพืชในแหล่งปลูกเพื่อเป็นการเฝ้าระวัง (Surveillance) ตาม ISPMs (International Standard for Phytosanitary Measures) ฉบับที่ 6 เป็นกระบวนการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชชนิดใดชนิดหนึ่งในพื้นที่ ซึ่งการรวบรวมข้อมูลนั้นสามารถทำได้ 2 แบบ ได้แก่ การเฝ้าระวังโดยทั่วไป โดยการสืบค้นข้อมูลจากแหล่งข้อมูลที่น่าเชื่อถือ และการเฝ้าระวังโดยการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง สามารถดำเนินการโดยการสำรวจแบบตรวจหา แบบมีขอบเขต และแบบติดตามอย่างต่อเนื่อง (FAO, 2018; McMaugh, 2008) ประโยชน์ของการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจงสามารถบอกถึงสถานการณ์ของศัตรูพืชในพื้นที่ ข้อมูลที่ได้เป็นการรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืชในกรณีที่ไม่พบศัตรูพืชในพื้นที่นั้น ๆ เมื่อมีการรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืชแล้ว การที่จะคงสภาพพื้นที่ปลอดศัตรูพืชจะต้องมีการสำรวจแบบตรวจหาอย่างเป็นระบบข้อมูลต่าง ๆ ที่ได้

จากการสำรวจติดตามศัตรูพืชเพื่อการเฝ้าระวังนี้จะส่งให้ NPPO และสามารถนำไปใช้ในด้านต่าง ๆ เช่น ใช้ในการสนับสนุนการออกประกาศเรื่องการปลอดศัตรูพืชที่ดำเนินการโดย NPPO เป็นกระบวนการช่วยตรวจหาศัตรูพืชชนิดใหม่ได้ทันเวลา การให้การรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืช เป็นต้น

เชื้อรา *Pseudocercospora angolensis* เป็นเชื้อราที่มีชื่อพ้องกับ *Phaeoramularia angolensis* ซึ่งเป็นศัตรูกักกัน ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้าม ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ.2507 (ฉบับที่ 6) และ CABI (2019) รายงานว่า *Pseudocercospora angolensis* เป็นเชื้อราสาเหตุของโรคใบจุด ผลจุดของ พืชวงศ์ส้ม ได้แก่ สกุล *Citrus aurantiifolia* (lime), *C. aurantium* (sour orange), *C.deliciosa* (mediterranean mandarin), *C. jambhiri* (rough lemon), *Citrus latifolia* (tahiti lime), *C. limon* (lemon), *C. maxima* (pummelo), *C. medica* (citron), *C. reticulata* (mandarin), *C. sinensis* (navel orange), *C. unshiu* (satsuma), *Citrus* x *paradisi* (grapefruit) และ *Fortunella japonica* (round kumquat) (CABI, 2019) และในปี 1998 มีรายงานว่า เชื้อรา *P. angolensis* เมื่อทำลายส้มบางพันธุ์แสดงอาการใบจุด ผลจุด และสามารถทำให้ผลผลิตลดลงได้ถึง 50-100% รวมทั้งสร้างความเสียหายในระดับเศรษฐกิจ (CABI, 2019) เชื้อราชนิดสามารถแพร่กระจายได้โดยลม และสามารถไปผลและส่วนขยายพันธุ์ เช่น กิ่งพันธุ์ ต้นตอ สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. angolensis* คือ สภาพอากาศอบอุ่น มีความชื้นสัมพัทธ์สูง (European Food Safety Authority, 2017) ทำให้หลายประเทศให้ความสำคัญกับเชื้อราชนิดนี้ ซึ่งมีความเสี่ยงสูงต่อการผลิตส้มในพื้นที่ปลูก เนื่องจากเชื้อสามารถติดมากับผล ใบ ส่วนขยายพันธุ์พืช รวมทั้งสามารถเจริญเติบโตและแพร่กระจายได้ดีหากมีสภาพแวดล้อมเหมาะสม และสามารถสร้างความเสียหายทำให้ผลผลิตได้ทั้งเชิงปริมาณและคุณภาพ รวมทั้งส่งกระทบต่อการค้าระหว่างประเทศ ในกลุ่มสหภาพยุโรป (EU) จึงมีข้อกำหนดสำหรับการนำเข้าพืชวงศ์ส้มจากประเทศที่สาม เช่น ประเทศไทย คือ ผลพืชวงศ์ส้มที่ต้องการส่งออกไปประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรปต้องมาจากแหล่งหรือพื้นที่ที่ปราศจาก *P. angolensis* ดังนั้นเพื่อยืนยันสถานภาพว่าประเทศไทยไม่มีเชื้อรานี้ปรากฏ/ ไม่ปรากฏอยู่ หรือกำหนดว่าพื้นที่ของประเทศปราศจากเชื้อราดังกล่าวจึงต้องดำเนินการสำรวจและเฝ้าระวังให้สอดคล้องกับมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยสุขอนามัยพืช (ISPMs (International Standard for Phytosanitary Measures)) ฉบับที่ 6 เรื่องเฝ้าระวัง (Surveillance)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างได้แก่ ถุงพลาสติก กระดาษบันทึก ปากกาเคมี เครื่องระบุพิกัดภูมิศาสตร์

2. วัสดุและอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อ หม้อนึ่งความดัน ตู้อบฆ่าเชื้อ เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง อ่างควบคุมอุณหภูมิ เครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ เครื่องแยกวิเคราะห์สารพันธุกรรม

3. เครื่องถ่ายภาพสารพันธุกรรม

4. อุปกรณ์ทำตัวอย่างแห้ง เช่น กระดาษหนังสือพิมพ์ ไม้อัดตัวอย่าง กระดาษฟาง ซองกระดาษสำหรับใส่ตัวอย่าง

5. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดทดลอง ขวดดูแรน บีกเกอร์ ปิเปต สไลด์ และแผ่นแก้วปิดสไลด์ กระบอกตวง แท่งแก้ว ตะเกียงแอลกอฮอล์เข็มเขี่ยปลายแหลม ห่วงถ่ายเชื้อ ปากคีบ ใบมีดผ่าตัด

6. กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และ compound พร้อมกล้องถ่ายภาพ

7. สารเคมีที่ใช้ในการแยกและจำแนกชนิดของเชื้อรา ได้แก่ อาหารแยกและเลี้ยงเชื้อ water agar (WA) potato dextrose agar (PDA) สีย้อมเชื้อรา

8. สารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ ได้แก่ สารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ และ เอธิลแอลกอฮอล์ 75%

9. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ สกัดดีเอ็นเอ และทำปฏิกิริยา PCR

10. คู่มือสำรวจและจัดจำแนกชนิดของเชื้อ

วิธีการ

1. การรวบรวมข้อมูลเชื้อรา *Pseudocercospora angolensis*

สืบค้นรวบรวมข้อมูลเชื้อรา *P. angolensis* เช่น รายละเอียดของเชื้อ อนุกรมวิธาน ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพ้อง รูปร่างลักษณะ การเข้าทำลาย พืชอาศัย การแพร่ระบาดพร้อมรูปภาพประกอบ เป็นต้น จากทั้งในและต่างประเทศ ฐานข้อมูล จาก เอกสารวิชาการ วารสาร รายงานการประชุม สัมมนาทางวิชาการและหน่วยงานอื่นที่เกี่ยวข้อง

2. การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อรา *Pseudocercospora angolensis*

ทำการสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อรา *P. angolensis* ตามมาตรฐาน ISPMs (International Standard for Phytosanitary Measures) ดำเนินการสำรวจและเฝ้าระวังตามมาตรฐาน ISPMs ฉบับที่ 6 (Surveillance) ในแปลงปลูกพืชวงศ์ส้ม โดยดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) เพื่อให้ทราบข้อมูลเชื้อรา *P. angolensis* ในพื้นที่สำรวจและในเวลาที่กำหนด ตามขั้นตอนต่อไปนี้

2.1 จัดทำคู่มือการสำรวจและจัดทำฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ

ทำการรวบรวมตัวอย่างอ้างอิงและรูปภาพของโรคที่เกิดจากเชื้อรา *P. angolensis* เพื่อใช้ในการตรวจสอบอ้างอิงขณะทำการสำรวจและจัดทำข้อมูลศัตรูพืช ชื่อสามัญ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพืชอาศัย อาการของโรค รูปภาพสีของโรค และรายละเอียดของศัตรูพืชชนิดอื่นที่คล้ายคลึงกับศัตรูพืชเป้าหมาย และจัดทำแบบฟอร์มการสำรวจ เพื่อบันทึกข้อมูลชื่อเกษตรกร สถานที่ วันที่เก็บ ข้อมูลพิกัดภูมิศาสตร์

2.2 การสำรวจ

- กำหนดพื้นที่ แหล่งปลูกพืชวงศ์ส้ม เช่น ส้มเขียวหวาน ส้มโอ มะนาว ในประเทศไทย ได้แก่ แปลงปลูกพืชวงศ์ส้ม ในเขตพื้นที่เชียงราย เชียงใหม่ พะเยา น่าน เลย นครราชสีมา ชัยนาท กาญจนบุรี นครปฐม ราชบุรี สมุทรสาคร สมุทรสงคราม ระยอง ฉะเชิงเทรา ชุมพร และนครศรีธรรมราช

- วางแผนการสำรวจ ทำการแบบเฉพาะเจาะจง (Specific survey) ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (Surveillance: ISPM No. 6) โดยทำการสำรวจแบบสืบพบ (Detection survey) เพื่อสืบค้นหาศัตรูพืชเป้าหมาย สำรวจในพื้นที่อย่างน้อย 10 แปลงต่อพื้นที่ แต่ละแปลงทำการสุ่มตัวอย่างแบบเป็นระบบ

3. วิธีการตรวจเชื้อรา *Pseudocercospora angolensis*

เมื่อออกสำรวจให้สังเกตจากลักษณะอาการของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือการสำรวจที่จัดทำไว้ บันทึกรายละเอียดข้อมูลของแปลง บันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป เก็บตัวอย่างห่อกระดาษและใส่ถุง นำกลับมาตรวจหาเชื้อในห้องปฏิบัติการ

4. การตรวจสอบและจำแนกชนิดของเชื้อราที่ได้จากการเก็บตัวอย่าง

4.1 วิธีการตรวจเชื้อรา *Pseudocercospora angolensis*

โดยจัดทำรูปภาพลักษณะอาการของโรคทุกระยะของพืชจัดทำเป็นคู่มือในการสำรวจ เมื่อออกสำรวจให้สังเกตจากลักษณะอาการของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือ และบันทึกลักษณะอาการที่พบถ่ายรูป ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างพืชที่แสดงอาการของโรคบนใบ บนผล ที่แสดงอาการคล้ายคู่มือการสำรวจ รวมทั้งสุ่มเก็บตัวอย่างพืชปกติ มาตรวจสอบเชื้อราและจัดจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ

4.2 การแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืช

- ศึกษาลักษณะอาการของโรคและแยกเชื้อราโดยตรงจากชิ้นส่วนใบและส่วนของผลของพืชวงศ์ส้ม ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo หรือ ทำ moist chamber บ่มที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการนาน 3-5 วัน เมื่อพบเชื้อราสร้างเส้นใยหรือ นำมาตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และใช้เข็มเขี่ยส่วนของเชื้อรามาวางบนสไลด์ หรือใช้ใบมีดตัดขวางชิ้นส่วนใบและผลของพืช รวมทั้งตรวจดูลักษณะต่าง ๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound ถ่ายรูปลักษณะเชื้อและบันทึกลักษณะต่าง ๆ ของเชื้อ

- แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ โดยวิธี Tissue transplanting โดยนำส่วนของพืช เช่น ใบ หรือเปลือกผลพืชที่เป็นโรคมาตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 0.5x0.5 มิลลิเมตร ให้คาบต่อส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปรคลอไรท์ 10 % เป็นเวลา 3-5 นาที ล้างในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำไปซับบนกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้แห้งแล้วนำไปเลี้ยงบนอาหาร water agar (WA) และ Potato Dextrose Agar (PDA) บ่มที่อุณหภูมิ ห้องปฏิบัติการ นาน 7-10 วัน หลังจากนั้นแยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ และนำไปศึกษาในขั้นตอนต่อไป

4.3 การจำแนกชนิดเชื้อรา *Pseudocercospora angolensis*

- ศึกษาลักษณะทางชีววิทยา เช่น ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ สรีรวิทยา รูปร่างลักษณะของเชื้อรา mount slide ด้วยน้ำ หรือ shear’s solution และนำไปจำแนกชนิดของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound

- หากตรวจพบตัวอย่างเชื้อราที่สงสัยหรือไม่สามารถจัดจำแนกโดยวิธีการทางสัณฐานวิทยาได้ จึงทำการตรวจยืนยัน โดยวิธี Polymerase chain reaction (PCR) ลำดับเบส ITS1, ITS2 และตำแหน่ง 5.8s ribosomal DNA ที่อยู่ใน GenBank เพื่อเปรียบเทียบ

5. สรุปผลการศึกษาสถานภาพของเชื้อรา *Pseudocercospora angolensis*

โดยทำการสรุปผลการศึกษาสถานภาพของเชื้อราเพื่อนำไปใช้ในการจัดทำมาตรการเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกัน

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกรายละเอียดตำแหน่งของแปลงปลูกพืชวงศ์ส้มที่ทำการสำรวจ/เก็บตัวอย่าง
2. บันทึกข้อมูลจำนวนแปลง และจำนวนตัวอย่างที่ทำการสำรวจ/เก็บตัวอย่าง
3. บันทึกข้อมูลชนิดพืช ขนาดพื้นที่ปลูก ระยะการเจริญเติบโตของพืช และสภาพแวดล้อมอื่น ๆ
4. บันทึกลักษณะอาการการเกิดโรค ส่วนของพืชที่พบอาการของโรค ประเมินความรุนแรงของโรค และการแพร่กระจายในพื้นที่
5. บันทึกข้อมูลชนิดของเชื้อสาเหตุโรคพืชและลักษณะเชื้อสาเหตุที่ตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาเริ่มต้น ตุลาคม 2564 – กันยายน 2567

สถานที่ 1. ห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2. แปลงปลูกพืชวงศ์ส้มในพื้นที่จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ พะเยา น่าน เลย นครราชสีมา ชัยนาท กาญจนบุรี นครปฐม ราชบุรี สมุทรสาคร สมุทรสงคราม ระยอง ฉะเชิงเทรา ชุมพร และนครศรีธรรมราช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การรวบรวมข้อมูลเชื้อรา *Pseudocercospora angolensis*

รายละเอียดของเชื้อ

เชื้อรา *Pseudocercospora angolensis* เป็นเชื้อราที่มีชื่อพ้องกับ *Phaeoramularia angolensis* ซึ่งเป็นศัตรูกักกัน ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้าม ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ.2507 (ฉบับที่ 6)

ลักษณะทั่วไป

เชื้อรา *P. angolensis* สาเหตุโรคผลและใบจุด (fruit and leaf spot) มีชีวิตอยู่รอดในเนื้อเยื่อพืชและบนเศษซากพืช เช่นเดียวกับ *Cercospora* ชนิดอื่นๆ เชื้อราชนิดนี้มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยการสร้างโคนิเดียหรือสปอร์ และการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศโดยสร้าง Ascospores ตามที่ถูกจัดอยู่ในวงศ์ Mycosphaerellaceae โคนิเดียของเชื้อพบได้ที่ใบและผลสามารถแพร่กระจายได้ไปกับน้ำที่กระเซ็นหรือทางลมซึ่งจะแพร่กระจายได้ไกล อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเข้าทำลายและพัฒนาอาการของโรคที่ใบและผลส้มคือที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส แต่อาการของโรคที่

อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส โรคนี้พบได้ที่ระดับความสูงระหว่าง 80 ถึง 1,800 เมตรจากระดับน้ำทะเล (CABI, 2019) และในปี 1998 มีรายงานว่า เชื้อรา *P. angolensis* เมื่อทำลายส้มบางพันธุ์แสดงอาการใบจุด ผลจุด และสามารถทำให้ผลผลิตลดลงได้ถึง 50-100% รวมทั้งสร้างความเสียหายในระดับเศรษฐกิจ เชื้อราชนิดสามารถแพร่กระจายได้โดยลม และสามารถไปผลและส่วนขยายพันธุ์ เช่น กิ่งพันธุ์ ต้นตอ สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. angolensis* คือ สภาพอากาศอบอุ่น มีความชื้นสัมพัทธ์สูง (European Food Safety Authority, 2017) ทำให้หลายประเทศให้ความสำคัญกับเชื้อราชนิดนี้ ซึ่งมีความเสี่ยงสูงต่อการผลิตส้มในพื้นที่

อนุกรมวิธาน

เชื้อรา *Pseudocercospora angolensis* T. Carvalho & O. Mendes (1953) เป็นเชื้อรา

วงศ์ Mycosphaerellaceae

สกุล *Pseudocercospora*

ชนิด *angolensis*

-ชื่อพ้อง ได้แก่ *Cercospora angolensis* T. de Carvalho & O. Mendes

Phaeoramularia angolensis (T. de Carvalho & O. Mendes) P.M. Kirk

Pseudophaeoramularia angolensis (T. de Carvalho & O. Mendes) U. Braun

- ลักษณะอาการของโรคใบจุดและผลจุดที่เกิดจากเชื้อรา *P. angolensis* จะเข้าทำลายใบและผลของพืชวงศ์ส้ม ลูกผสมและสายพันธุ์ต่าง ๆ ทำให้เกิดอาการแผลจุดที่มีขนาดแตกต่างกัน อาการบนใบ จะปรากฏอาการใบจุด มักพบที่ใบอ่อนและต่อมาอาจหักพับลง ทำให้ใบร่วงก่อนแก่ สภาพอากาศร้อนชื้น สปอร์จะกลายเป็นสีดำ ส่วนผล จะมีจุดมีรูปทรงไม่สม่ำเสมอ มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 10 มิลลิเมตร ผลอ่อน มักพบอาการแผลที่คล้ายก้อนแข็งๆ ล้อมรอบโดยวงสีเหลือง เมื่อผลแก่ขึ้น แผลจะแบนและบางครั้งอาจจะมีสีน้ำตาลแตกตรงกลางแผล ล้อมรอบด้วยแผลที่มีขอบยกขึ้นเล็กน้อย (Brun, 1972; EFSA, 2017)

-พืชอาศัยที่สำคัญ ได้แก่ สกุล *Citrus aurantiifolia* (มะนาว), *C. aurantium* (sour orange), *C.deliciosa* (ส้มแมนดาริเมดิเตอร์เรเนียน), *C. jambhiri* (มะนาวผิวขรุขระ), *Citrus latifolia* (มะนาวตาฮิติ), *C. limon* (มะนาว), *C. maxima* (ส้มโอ), *C. medica* (ซิตรอน), *C. reticulata* (ส้มแมนดาริน), *C. sinensis* (ส้มนาเวล), *C. unshiu* (ส้มอุนชู), *Citrus x paradisi* (เกรฟฟรุ้ท) และ *Fortunella japonica* (คัมควอท) (CABI, 2019)

-แหล่งแพร่ระบาดของเชื้อรา *P. angolensis* ที่สำคัญ คือ ทวีปแอฟริกา แองโกลา (Angola) บุรุนดี (Burundi) คาเมรูน (Cameroon) สาธารณรัฐแอฟริกากลาง (Central African Republic) โคโมรอส (Comoros) คองโก (Congo) สาธาณรัฐประชาธิปไตยคองโก (Congo, Democratic republic) ไอวอรีโคสต์ (Cote d'Ivoire) เอธิโอเปีย (Ethiopia) กาบอง (Gabon) แกมเบีย (Gambia) กานา (Ghana) กินี (Guinea) โมซัมบิก (Mozambique) ไนจีเรีย (Nigeria) รวันดา (Rwanda)

เซียร์ราลีโอน (Sierra Leone) แทนซาเนีย (Tanzania) โตโก (Togo) ยูกันดา (Uganda) แซมเบีย (Zambia) และซิมบับเว (Zimbabwe) และทวีปเอเชีย: เยเมน (Yemen) (EFSA, 2017)

2. จัดทำแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ

จัดทำแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อรา *P. angolensis* และสร้างคู่มือการสำรวจในแปลงปลูกพืชวงศ์ส้ม โดยคู่มือที่ประกอบด้วย

- ข้อมูลพื้นฐานของเชื้อรา *P. angolensis* และภาพลักษณะอาการ ตลอดจนวิธีการตอบสอบและจัดจำแนกชนิดเชื้อรา *P. angolensis* โดยเปรียบกับลักษณะอาการ (Figure 1)

- แบบบันทึกรายงานการสำรวจโดยมีรายละเอียดคือ วันเดือนปีที่สำรวจ สถานที่สำรวจ (หมู่บ้าน ตำบล อำเภอ จังหวัด) พิกัดทางภูมิศาสตร์ ขนาดของพื้นที่ที่ทำการสำรวจ ชื่อผู้สำรวจ จำนวนแปลงที่สำรวจ ชื่อพืชที่พบลักษณะอาการ เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและพืชอาศัยอื่นที่อยู่ข้างเคียง

- รูปแบบการเดินสำรวจเชื้อรา *P. angolensis* ของพืชแบบตัว U สังเกตลักษณะอาการบนใบและผลส้ม อย่างน้อย 10 ต้นต่อแปลง

- การเก็บตัวอย่าง โดยเก็บส่วนของใบและผลส้มที่แสดงอาการคล้าย Figure 1 หลังจากนั้นสุ่มเก็บตัวอย่างใส่ในถุงกระดาษหรือห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์แล้วใส่ในถุงพลาสติก เพื่อมาตรวจสอบและจัดจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ

3. การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อรา *Pseudocercospora angolensis*

การสำรวจและเฝ้าระวังในแปลงปลูกของพืชวงศ์ส้มในพื้นที่ 16 จังหวัด ได้แก่ เชียงราย เชียงใหม่ พะเยา น่าน เลย นครราชสีมา ชัยนาท กาญจนบุรี นครปฐม ราชบุรี สมุทรสาคร สมุทรสงคราม ระยอง ฉะเชิงเทรา ชุมพร และนครศรีธรรมราช ในปีที่ 1 จำนวน 80 แปลง ผลสำรวจเมื่อตรวจดูลักษณะอาการจากการเก็บตัวอย่างและทำการเปรียบเทียบลักษณะอาการจากคู่มือการสำรวจและจัดจำแนกชนิดเชื้อรา *P. angolensis* ในห้องปฏิบัติการด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo และ compound รวมทั้งนำเชื้อราที่สงสัยมาเลี้ยงบน PDA ผลปรากฏว่า ยังไม่พบเชื้อรา *P. angolensis* เข้าทำลายพืชวงศ์ส้มที่ทำการสำรวจ ทั้งนี้เพื่อเป็นการยืนยันสถานภาพของเชื้อราชนิดนี้ในประเทศไทย จำเป็นต้องขยายขอบเขตการสำรวจเชื้อราชนิดนี้ในปีที่ 2 และ 3 อีกครั้ง เพื่อให้ได้ข้อมูลสถานภาพการปรากฏ หรือ ไม่ปรากฏของเชื้อราชนิดนี้ในประเทศไทยต่อไป และจะได้นำข้อมูลดังกล่าวยืนยันว่าเชื้อราชนิดนี้ยังคงสถานภาพเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อรา *Pseudocercospora angolensis* ในประเทศไทยโดยจัดทำคู่มือการสำรวจ วางแผนการสำรวจ อย่างมีระบบ และดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 ถึงเดือนกันยายน 2565 ในแปลงปลูกของพืชวงศ์ส้มในพื้นที่ 16 จังหวัด ได้แก่ เชียงราย เชียงใหม่ พะเยา น่าน เลย นครราชสีมา ชัยนาท กาญจนบุรี นครปฐม ราชบุรี สมุทรสาคร สมุทรสงคราม ระยอง ฉะเชิงเทรา ชุมพร และนครศรีธรรมราช จำนวน 80 แปลง ทำ

การสุ่มตรวจและเก็บตัวอย่างใบและผลที่มีอาการจุด นำมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ด้วยวิธีการตามมาตรฐานสากล ผลการตรวจสอบ พบว่าเชื้อราทั้งหมดที่ตรวจพบทั้งหมดไม่ใช่เชื้อรา *P. angolensis* ทำให้สามารถยืนยันสถานภาพได้ว่าเชื้อราดังกล่าวยังคงสถานภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน (quarantine pest) ของประเทศไทย

คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณ ข้าราชการ พนักงานราชการ และพนักงานจ้างเหมา ของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่ให้คำแนะนำช่วยเหลือในการทำงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2550. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 ประกาศ ณ วันที่ 26 เมษายน 2550 ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 124 ตอนพิเศษ 124 ง. ลงวันที่ 1 มิถุนายน 2550.

Brun, J., 1972. Citrus leaf spot caused by *Cercospora angolensis*. Fruits, 27, 539–541.

CABI (CAB International). 2019. *Pseudocercospora angolensis* (leaf spot of Citrus spp.). CAB International. (Online). Available. https://www.cabi.org/isc/datasheet/12184 (19 November 2019)

European Food Safety Authority (EFSA). 2017. Pest categorisation of *Pseudocercospora angolensis*. EFSA.https://efsa.onlinelibrary. wiley.com/doi/ full/10.2903/j.efsa. 2017.4883 (21 July 2017)

FAO. 2018. Surveillance. International Standards for Phytosanitary Measures (ISPM) No.6, FAO, Rome.

McMaugh, T. 2008. คำแนะนำในการสำรวจศัตรูพืชในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก .ACIAR Monograph No. 119c.

Figure 1 Symptoms of *Pseudocercospora angolensis* of *Citrus* sp.

Source: *M.C. Pretorius, 2005*

การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อรา *Verticillium albo-atrum* ในประเทศไทย

Survey and Surveillance of V*erticillium albo-atrum* in Thailand

ธิดาวรรณ ชมเดช[1/] วานิช คำพานิช[1/] ชนินทร ดวงสอาด[2/]
โสภา มีอำนาจ[1/] ดนัย ชัยเรือนแก้ว[1/] พรรณิภา เปชัยศรี[1/]
[1/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

เชื้อรา *Verticillium albo-atrum* เป็นศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานในประเทศไทยและเป็นศัตรูพืชกักกัน ลำดับที่ 67 ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2550) และเพื่อยืนยันสถานภาพของเชื้อรา *V. albo-atrum* ในประเทศไทย จึงดำเนินการสำรวจเชื้อรา *V. albo-atrum* แบบเฉพาะเจาะจง ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (surveillance: ISPM No.6) (FAO, 2018) และคำแนะนำในการสำรวจศัตรูพืชในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก (McMaugh, 2008) ในแหล่งปลูกพริกและมะเขือเทศซึ่งเป็นพืชอาศัยหลักของเชื้อ จำนวน 12 จังหวัด 45 แหล่งปลูก ได้แก่ จังหวัดสระบุรี ชัยภูมิ เชียงใหม่ น่าน เชียงราย กาญจนบุรี ขอนแก่น มุกดาหาร นครปฐม นครราชสีมา เพชรบุรี และประจวบคีรีขันธ์ เมื่อสุ่มเก็บตัวอย่างมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ ระหว่างการศึกษาตรวจแล้วไม่พบเชื้อรา *Verticillium albo-atrum*

คำหลัก : สำรวจ สถานภาพ พริก มะเขือเทศ เชื้อรา *Verticillium albo-atrum*

รหัสการทดลอง FF65-55-06-65-00-06-65

คำนำ

ประเทศไทยมีการนำเข้าพริกและมะเขือเทศ (Tomato; *Solanum lycopersicum* L.) จากหลายประเทศทั่วโลกเพื่อใช้ในปลูกขยายพันธุ์ ผลิตพ่อ-แม่พันธุ์ และบริโภคผลสดจึงมีความเสี่ยงที่เชื้อรา *Verticillium albo-atrum* จะติดเข้ามากับส่วนที่นำเข้าได้ จึงจำเป็นต้องมีการสำรวจสถานภาพของเชื้อรา *Verticillium albo-atrum* ในพื้นที่ปลูกมะเขือเทศของประเทศไทยเพื่อเป็นการยืนยันสถานภาพจึงมีความจำเป็นที่จะต้องมีการสำรวจเพื่อเฝ้าระวังศัตรูพืชชนิดนี้ในพื้นที่ปลูกพริกและมะเขือเทศของประเทศอย่างเป็นระบบตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (surveillance: ISPM No.6) (FAO, 2018) และคำแนะนำในการสำรวจศัตรูพืชในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก (McMaugh, 2008) เพื่อเป็นข้อมูลในการสนับสนุนการออกประกาศเรื่องการปลอดศัตรูพืช การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชและการรายงานศัตรูพืชอีกด้วย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. คู่มือ เอกสาร หนังสือ วารสาร
2. อุปกรณ์ในการสุ่มเก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติก ปากกามาร์กเกอร์ มีดคัตเตอร์
3. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องแก้ว อาหารเลี้ยงเชื้อ สารเคมี ชุดตรวจสอบ ตู้เขี่ยเชื้อ ตู้บ่มเชื้อ

วิธีการ

1. สืบค้นข้อมูล

- สืบค้นข้อมูลลักษณะของเชื้อรา *Verticillium albo-atrum* ได้แก่ รายละเอียดของเชื้อ ชื่อพ้อง ชื่อวิทยาศาสตร์ และลักษณะอาการโรค การเข้าทำลาย การแพร่ระบาด พร้อมรูปภาพ
- สืบค้นข้อมูลของพืชอาศัยของเชื้อรา *Verticillium albo-atrum* ได้แก่ ชนิดของพืชอาศัย ชื่อสามัญ ชื่อวิทยาศาสตร์ ความต้านทานและความอ่อนแอต่อโรค เป็นต้น
- สืบค้นข้อมูลพื้นที่ปลูกพริกและมะเขือเทศในประเทศ

2. จัดทำแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ

โดยรวบรวมข้อมูลลักษณะเชื้อ ลักษณะอาการโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Verticillium albo-atrum* พร้อมรูปภาพสีเพื่อใช้ในการตรวจสอบอาการที่พบในแปลง ตลอดจนรายละเอียดของอาการที่มีลักษณะคล้ายกับอาการของพืชเป้าหมาย และจัดทำแบบฟอร์มการสำรวจ เพื่อบันทึกข้อมูลชื่อเกษตรกร สถานที่ วันที่เก็บ ข้อมูลพิกัดภูมิศาสตร์

3. การสำรวจ

กำหนดพื้นที่ โดยเป็นแหล่งปลูกพริกและมะเขือเทศในประเทศไทย เช่น ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (นครราชสีมา บุรีรัมย์ มหาสารคาม มุกดาหาร อุบลราชธานี ศรีสะเกษ ขอนแก่น กาฬสินธุ์ สกลนคร นครพนม อุดรธานี หนองบัวลำภู เลย หนองคาย บึงกาฬ เป็นต้น) ภาคเหนือ

(เพชรบูรณ์ พิษณุโลก ตาก แม่ฮ่องสอน น่าน แพร่ ลำปาง ลำพูน เชียงใหม่ เชียงราย เป็นต้น) ภาคกลาง (ปทุมธานี นนทบุรี นครปฐม กาญจนบุรี สุพรรณบุรี ราชบุรี เป็นต้น) และภาคตะวันออก (ชลบุรี ระยอง จันทบุรี ตราด เป็นต้น) วางแผนการสำรวจ อย่างมีระบบ สำรวจแบบเฉพาะเจาะจง โดยการสำรวจแบบตรวจหาตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (surveillance: ISPM No.6) สำรวจอย่างน้อย 10 แปลงต่อพื้นที่ แต่ละแปลงทำการสุ่มตัวอย่างแบบเป็นระบบ สุ่มตรวจโรค 5 แถวต่อแปลง กำหนดการตรวจแบบแถวเว้นแถว ทำการเก็บตัวอย่างที่สงสัยว่าเป็นโรค โดยให้สังเกตจากลักษณะอาการของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือ และบันทึกลักษณะอาการ ถ่ายรูป เก็บตัวอย่างโรคทุกต้นที่สุ่มพบแสดงอาการคล้ายกับโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Verticillium albo-atrum* ตามคู่มือการสำรวจ และสำหรับต้นปกติ สุ่มเก็บตัวอย่างห่อกระดาษและใส่ถุง มาตรวจหาเชื้อในห้องปฏิบัติการ

4. การตรวจสอบและจำแนกชนิดของเชื้อราที่ได้จากการเก็บตัวอย่าง

4.1 วิธีการตรวจเชื้อรา *Verticillium albo-atrum*

โดยจัดทำรูปภาพลักษณะอาการของโรคทุกระยะของพืชจัดทำเป็นคู่มือในการสำรวจเมื่อออกสำรวจให้สังเกตจากลักษณะอาการของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือ และบันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป เก็บตัวอย่างโรคทุกต้นที่สุ่มที่พบต้นพริกและมะเขือเทศแสดงอาการคล้ายกับโรคเหี่ยวตามคู่มือการสำรวจ และสำหรับต้นปกติ สุ่มเก็บตัวอย่างมาตรวจหาเชื้อในห้องปฏิบัติการ จำนวน 10 เปอร์เซ็นต์ โดยเก็บตัวอย่างใบและลำต้นของพริกและมะเขือเทศมาตรวจ ห่อกระดาษหนังสือพิมพ์ เขียนรายละเอียดกำกับ และนำกลับมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันผล

4.2 การแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืช

ศึกษาลักษณะอาการของโรคและแยกเชื้อราโดยตรงจากเนื้อเยื่อพืช

ศึกษาลักษณะอาการของโรคและแยกเชื้อราโดยตรงจากชิ้นส่วนใบและตัดขวางลำต้นเพื่อดูการเข้าทำลายของเชื้อที่ใบและลำต้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณท่อน้ำและท่ออาหารภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo หรือ ทำ moist chamber บ่มที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ นาน 5 – 10 วัน เมื่อพบเชื้อราสร้างเส้นใยหรือ conidium ตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และใช้เข็มเขี่ยส่วนของเชื้อรามาวางบนสไลด์ หรือใช้ใบมีดตัดขวางชิ้นส่วนใบและส่วนของท่อน้ำ ท่ออาหารให้บาง ๆ และตรวจดูลักษณะต่าง ๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound ถ่ายรูปลักษณะเชื้อและบันทึกลักษณะต่าง ๆ ของเชื้อ

แยกเชื้อราโดยวิธี Tissue transplanting

นำส่วนของพืชที่เป็นโรคมาตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 0.5x0.5 มิลลิเมตร ให้คาบต่อส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปรคลอไรท์ 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 – 5 นาที ล้างในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำไปซับบนกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้แห้ง แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ ห้องปฏิบัติการ นาน 7 – 21 วัน แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ และเลี้ยงบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA)

4.3 การจำแนกชนิดเชื้อราสาเหตุโรคพืช

ศึกษารูปร่างลักษณะของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo และ compound microscope โดยตรวจดูลักษณะเส้นใย conidiophore และสปอร์ และศึกษาลักษณะของสปอร์และโครงสร้างอื่น ๆ ของเชื้อรา โดยการ mount slide ด้วยน้ำหรือ shear's solution

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อได้แก่ ลักษณะของเส้นใย ขนาด สี ลักษณะของสปอร์ conidiophore สี ขนาด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และ compound บันทึกขนาด รูปร่าง วาดภาพ และบันทึกภาพด้วยกล้องถ่ายภาพและถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Scanning Electron Microscope)

หากตรวจพบตัวอย่างเชื้อราที่สงสัยหรือไม่สามารถจัดจำแนกโดยวิธีการทางสัณฐานวิทยาได้จึงทำการตรวจยืนยัน โดยวิธี Polymerase chain reaction (PCR)

5. รวบรวมข้อมูลที่ได้จากการสำรวจและสรุปผลการทดลอง

การบันทึกข้อมูล โดยเก็บรวบรวมข้อมูลที่ได้ในรูป data sheet เพื่อใช้ในการวิเคราะห์สถานภาพศัตรูพืช จัดทำรายงานผลการวิจัย รวบรวมบันทึกข้อมูลจากการเฝ้าระวังของเชื้อรา *Verticillium albo-atrum* ที่ทำการสำรวจในประเทศไทย ดังนี้

- บันทึกรายละเอียดตำแหน่งของแปลงปลูกพริกและมะเขือเทศที่ทำการสำรวจ/เก็บตัวอย่าง
- บันทึกข้อมูลจำนวนแปลง และจำนวนตัวอย่างที่ทำการสำรวจ/เก็บตัวอย่าง
- บันทึกข้อมูลชนิดพืช ขนาดพื้นที่ปลูก ระยะการเจริญเติบโตของพืช และสภาพแวดล้อมอื่น ๆ
- บันทึกลักษณะอาการการเกิดโรค ส่วนของพืชที่พบอาการของโรค ประเมินความรุนแรงของโรค และการแพร่กระจายในพื้นที่
- บันทึกข้อมูลชนิดของเชื้อสาเหตุโรคพืช และลักษณะเชื้อสาเหตุที่ตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ

6. สรุปผล และจัดทำรายงาน

รวบรวมข้อมูลการสำรวจและการจำแนกในห้องปฏิบัติการ วิเคราะห์สถานภาพศัตรูพืช ผลการวิจัยสถานภาพเชื้อรา *Verticillium albo-atrum*

เวลาและสถานที่

เวลา : ระยะเวลาเริ่มต้น ตุลาคม 2564 - กันยายน 2567 (3 ปี)

สถานที่ 1) ห้องปฏิบัติการของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2) แหล่งปลูกพริกและมะเขือเทศในประเทศไทย

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสืบค้นข้อมูล พบว่า เชื้อรา *Verticillium albo-atrum* เป็นศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานในประเทศไทยและเป็นศัตรูพืชกักกัน ลำดับที่ 67 ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2550) เชื้อรา *V. albo-atrum* เป็นสาเหตุโรคในเศรษฐกิจหลายชนิด เช่น พริก มะเขือเทศ มันฝรั่ง ฮอปส์ (hops) เชื้อราชนิดนี้มีแหล่งแพร่กระจายดังนี้ แองโกลา เอธิโอเปีย เคนยา มาดากัสการ์ มาลาวี โมร็อคโค ไนจีเรีย แทนซาเนีย ตูนิเซีย ซาอีร์ ซิมบับเว อัฟกานิสถาน สาธารณรัฐประชาชนจีน อิหร่าน อิสราเอล เลบานอน ปากีสถาน ฟิลิปปินส์ ซาอุดิอาระเบีย ไซเลีย ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ สหราชอาณาจักร บัลแกเรีย ไซปรัส เชคโกสโลวาเกีย เดนมาร์ค ฟินแลนด์ ฝรั่งเศส เยอรมนี กรีซ ฮังการี อิตาลี เนเธอร์แลนด์ นอร์เวย์ โปแลนด์ โปรตุเกส โรมาเนีย สเปน สวีเดน สวิสเซอร์แลนด์ รัสเซีย ลัตเวีย ยูโกสลาเวีย แคนาดา เม็กซิโก สหรัฐอเมริกา เบลีซ กัวเตมาลา นิคารากัว เปอร์โตริโก อาร์เจนตินา บราซิล โคลัมเบีย เอกวาดอร์ กายอานา ชิลี เปรู อุกวัย เวเนซุเอลา (CABI, 2019) เชื้อรานี้เมื่อเข้าทำลายพืชทำให้ใบแก่เหี่ยวและมีสีเหลือง เมื่อเชื้อโรครุนแรงขึ้นจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลลุกลามเข้าไปในเนื้อใบทำให้ใบมีรูปร่างเป็นรูปตัววี (V-shape) จากนั้นใบแก่ทั้งหมดจะเหี่ยว และแห้งตาย ต่อมาเมื่อตัดโคนต้นตามขวาง ลำต้นจะมีสีน้ำตาลอ่อนๆ และจุดสีน้ำตาลเข้มกระจายอยู่ทั่วไปตามท่อน้ำ ท่ออาหาร ตลอดจนทำให้โคนต้นมีสีน้ำตาลถึงดำ ระบบรากถูกทำลาย นอกจากนี้เชื้อรายังสามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้ 2 – 30 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลทำให้ผลผลิตและคุณภาพของพืชลดลง (Goicoechea, 2006) และเชื้อสามารถเจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อทั่วไป เช่น Potato Dextrose Agar (PDA) และ Potato Dextrose Yeast Peptone (PDYP) broth นอกจากนี้มีรายงานว่าเชื้อราชนิดนี้ทำให้มะเขือเทศแสดงความเสียหายบนใบได้รุนแรงที่อุณหภูมิ 17 – 30 องศาเซลเซียส (Jahoun-Khiareddine, 2006) ส่วนในการจัดจำแนกชนิดของเชื้อราสามารถจัดจำแนกโดยการใช้ลักษณะรูปร่างการเจริญบนอาหาร ลักษณะทางสัณฐานวิทยารวมทั้งการใช้วิธีการทางด้านชีวโมเลกุลในการจัดจำแนกและยืนยันชนิดของเชื้อรา *V. albo-atrum* ได้ตามวิธีใน EPPO Standard PM 7/78 (1) (EPPO, 2007)

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างต้องสงสัยว่าคล้ายกับอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อรา *V. albo-atrum* (Figure 1) ที่แหล่งปลูกพริกและมะเขือเทศ (Figure 2) เดือนตุลาคม 2564 - กันยายน 2565 จำนวน 12 จังหวัด ในพื้นที่จังหวัดสระบุรี (1 แหล่งปลูก) ชัยภูมิ (2 แหล่งปลูก) เชียงใหม่ (3 แหล่งปลูก) น่าน (1 แหล่งปลูก) เชียงราย (8 แหล่งปลูก) กาญจนบุรี (1 แหล่งปลูก) ขอนแก่น (12 แหล่งปลูก) มุกดาหาร (6 แหล่งปลูก) นครปฐม (3 แหล่งปลูก) นครราชสีมา (2 แหล่งปลูก) เพชรบุรี (1 แหล่งปลูก) และประจวบคีรีขันธ์ (5 แหล่งปลูก) นำตัวอย่างมาตรวจสอบหาเชื้อรา *V. albo-atrum* ในห้องปฏิบัติการ ระหว่างการศึกษาตรวจตัวอย่างแล้วไม่พบเชื้อรา *Verticillium albo-atrum*

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจแหล่งปลูกพริกและมะเขือเทศ เพื่อยืนยันสถานภาพของเชื้อรา *Verticillium albo-atrum* ในประเทศไทย แบบเฉพาะเจาะจง ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (surveillance: ISPM No.6) (FAO, 2018) และคำแนะนำในการสำรวจศัตรูพืชในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก (McMaugh, 2008) ในแหล่งปลูกพริกและมะเขือเทศซึ่งเป็นพืชอาศัยหลักของเชื้อ จำนวน 12 จังหวัด 45 แหล่งปลูก ได้แก่ จังหวัดสระบุรี ชัยภูมิ เชียงใหม่ น่าน เชียงราย กาญจนบุรี ขอนแก่น มุกดาหาร นครปฐม นครราชสีมา เพชรบุรี และประจวบคีรีขันธ์ เมื่อสุ่มเก็บตัวอย่างมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ ระหว่างการศึกษาตรวจแล้วไม่พบเชื้อรา *Verticillium albo-atrum* และยังต้องดำเนินการสำรวจในพื้นที่ปลูกพริกและมะเขือเทศเพื่อให้ได้ข้อมูลที่ครบถ้วนต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณ ข้าราชการ พนักงานราชการ และพนักงานจ้างเหมา ของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่ให้คำแนะนำและช่วยเหลือในการทำงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2550. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 ประกาศ ณ วันที่ 26 เมษายน 2550 ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 124 ตอนพิเศษ 66 ง. ลงวันที่ 1 มิถุนายน 2550.

CABI (CAB International). 2019. *Verticillium albo-atrum* (Distribution). CAB International. (Online). Available. https://www.cabi.org/ISC/abstract/20056500365

EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization). 2007. PM 7/78 (1) *Verticillium albo-atrum and V. dahliae* on hop. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 37, 528-535.

FAO. 2018. Surveillance. International Standards for Phytosanitary Measures (ISPM) No.6, FAO, Rome.

Jahoun-Khiareddine., H., M., Daami-Ramadi, K., Hibar, j., Robb and M., El Mahjoub. 2006. Effect of temperature on Verticillium wilt of Tomato in Tunisia. Plant Pathology Journal. 5 (1): 1-6.

McMaugh, T. 2008. คำแนะนำในการสำรวจศัตรูพืชในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก .ACIAR Monograph No. 119c.

Goicoechea., N. 2006. *Verticillium*-induced Wilt in Pepper: Physiological Disorders and Perspectives for Controlling the Disease. Plant Pathology Journal, 5: 258-265.

Table 1 Detective survey of *Verticillium albo-atrum* in Thailand

No	Production area of grapevine			Source	Survey result
	Sub district	District	Province		
1	Nong Yang Sua	Muak Lek	Saraburi	1	Absent
2	Dong Klang	Khon San	Chaiyaphum	2	Absent
3	Bo Luang	Hot	Chiang Mai	1	Absent
4	Mae Suek	Mae Chaem	Chiang Mai	2	Absent
5	Na Rai Luang	Song Khwae	Nan	1	Absent
6	Dong Mada	Mae Lao	Chiang Rai	1	Absent
7	Mae Suai	Mae Suai	Chiang Rai	3	Absent
8	Mae Phrik	Mae Suai	Chiang Rai	3	Absent
9	Mae Kon	Mueang Chiang Rai	Chiang Rai	1	Absent
10	Wang Khanai	Tha Muang	Kanchanaburi	1	Absent
11	Non Thon	Mueang Khon Kaen	Khon Kaen	2	Absent
12	Non Thong	Nong Ruea	Khon Kaen	2	Absent
13	Non Sa-at	Chum Phae	Khon Kaen	1	Absent
14	Nong Tum	Mueang Khon Kaen	Khon Kaen	3	Absent
15	Tha Kra Soem	Nam Phong	Khon Kaen	1	Absent
16	Sawathi	Mueang Khon Kaen	Khon Kaen	1	Absent
17	Non Than	Nong Ruea	Khon Kaen	2	Absent
18	Pho Sai	Don Tan	Mukdahan	6	Absent
19	Thung Khwang	Kamphaeng Saen	Nakhon Pathom	2	Absent
20	Map Khae	Mueang Nakhon Pathom	Nakhon Pathom	1	Absent
21	Don Ta Nin Yai	Dan Khun Thot	Nakhon Ratchasima	1	Absent
22	Huai Bong	Dan Khun Thot	Nakhon Ratchasima	1	Absent
23	Pa Deng	Kaeng Krachan	Phetchaburi	1	Absent
24	Nong Phlap	Hua Hin	Prachuap Khiri Khan	2	Absent
25	Thap Tai	Hua Hin	Prachuap Khiri Khan	1	Absent
26	Huai Sat Yai	Hua Hin	Prachuap Khiri Khan	1	Absent
27	Hua Hin	Hua Hin	Prachuap Khiri Khan	1	Absent

Figure 1 Symptoms of old leaves are pale, yellow, V-shaped brown lesions. The edges of the old leaves wither and will eventually dry up and die. Source: Courtesy of Flavia Ruiz, Erieview, Inc. และ Gerald Holmes, California Polytechnic State University

Figure 2 Survey pattern and collecting sample

การสำรวจและเฝ้าระวังไส้เดือนฝอย *Ditylenchus destructor* ในประเทศไทย

Surveillance of Plant Parasitic Nematode *Ditylenchus destructor* in Thailand

ไตรเดช ข่ายทอง[1/] ธิติยา ชยาภัคพัฒนา[1/]
วานิช คำพานิช[2/] สุรศักดิ์ แสนโคตร[2/]
[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

เก็บตัวอย่างดินจากพื้นที่ปลูกมันฝรั่ง หอมหัวใหญ่ กระเทียม และหอมแดง จำนวน 3 จังหวัด ได้แก่ เชียงใหม่ ลำพูน และตาก จำนวน 93 แปลง แบ่งเป็น มันฝรั่ง 85 แปลง หอมหัวใหญ่ 5 แปลง กระเทียม 1 แปลง และหอมแดง 2 แปลง แยกไส้เดือนฝอยออกจากตัวอย่างดินโดยวิธี Decanting and Sieving with Bearmann Tray จากผลการตรวจตัวอย่างดิน **ไม่พบไส้เดือนฝอยสกุล *Ditylenchus* ในทุกตัวอย่าง** ทำสไลด์ถาวรของไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ตรวจพบและเก็บรักษาจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่พบโดยใช้ dichotomous key ของ Mai and Mullin (1996) ในการจำแนกไส้เดือนฝอยศัตรูพืชระดับสกุล พบไส้เดือนฝอยศัตรูพืช 9 สกุล คือ *Pratylenchus* spp. *Helicotylenchus* spp. *Rotylenchulus* spp. *Criconemoides* spp. *Meloidogyne* spp. *Heterodera* spp. *Tylenchorhynchus* spp. *Hirschmanniella* spp. *Hoplolaimus* spp.

คำหลัก : ศัตรูพืชกักกัน การเฝ้าระวังศัตรูพืช มาตรการสุขอนามัยพืช การตรวจวินิจฉัยศัตรูพืช

รหัสการทดลอง FF65-55-06-65-00-07-65

คำนำ

ไส้เดือนฝอย *Ditylenchus destructor* Thorne (potato tuber nematode) เป็นศัตรูกักกันตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้าม ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ.2507 (ฉบับที่ 6) และเป็นไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่มีความสำคัญกับการผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่ง มันเทศ หอมหัวใหญ่ กระเทียม หัวบีทรูท หัวแครอท ลิลลี่ ทิวลิป ไหลสตรอเบอร์รี โสม ในหลายประเทศ ได้แก่ สาธารณรัฐประชาชนจีน สหรัฐอเมริกา แคนาดา สหราชอาณาจักร เป็นต้น

โดยทั่วไปไส้เดือนฝอยชนิดนี้เข้าทำลายภายในหัวผ่านทางช่องเปิดธรรมชาติ จากนั้นเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณอย่างรวดเร็วภายในหัวพันธุ์ทำให้หัวพันธุ์มันฝรั่งถูกทำลาย และไส้เดือนฝอยยังคงความมีชีวิต และพัฒนาอยู่ในหัวพันธุ์ภายหลังการเก็บเกี่ยวได้ นอกจากนี้ไส้เดือนฝอยสามารถเคลื่อนที่อยู่ในดินได้เป็นระยะสั้นๆ และสามารถแพร่กระจายโดยติดไปกับหัวพันธุ์และดิน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในดินที่มีสภาพเย็นและชื้น นอกจากนี้ยังมีระยะฟักตัวที่ทนทานต่อสภาพแวดล้อม มีวงจรชีวิต 6-7 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส และยังพบว่าเป็นปัญหาสำคัญในพื้นที่ผลิตพืชที่มีสภาพอากาศหนาวเย็น อุณหภูมิ 15 - 20 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ มากกว่า 90% แต่ไส้เดือนฝอย *D. destructor* ไม่ทนทานต่อความแห้งแล้ง

ไส้เดือนฝอยชนิดนี้เมื่อเข้าทำลายมันฝรั่งจะเริ่มทำลายจากเปลือกของหัวพันธุ์และทำให้เห็นเป็นจุดเล็กสีขาวบนหัวพันธุ์ เมื่อขยายเป็นวงกว้าง จึงเปลี่ยนเป็นฝอยสีดำ และเน่าในที่สุด ถ้าเก็บไว้ในสภาพที่มีความชื้น ในหัวที่เน่าจะพบว่าไส้เดือนฝอยสามารถแพร่กระจายไปยังหัวพันธุ์อื่นได้ (CABI, 2019) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าไส้เดือนฝอยสามารถอยู่ได้ที่มีรายงานในประเทศสวีเดน ว่าหัวพันธุ์มันฝรั่งปกติที่นำไปปลูกในแปลง เมื่อมี การเข้าทำลายของไส้เดือนฝอย *D. destructor* 0.3 - 94% ทำให้หัวใหม่แสดงอาการผิดปกติได้ถึง 41-70 % โดยน้ำหนัก ไส้เดือนฝอยสามารถแยกไส้เดือนฝอยออกจากเนื้อเยื่อพืชโดยตรง ได้ตามวิธีใน EPPO Standard PM 7/119 (EPPO, 2013) การจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยชนิดนี้สามารถจัดจำแนกด้วยลักษณะสัณฐานวิทยาและเทคนิคชีวโมเลกุล เช่น ITS-rRNA PCR-RFLP ไพรเมอร์ 18S: 5′-TTG ATT ACG TCC CTG CCC TTT-3′ และ 26S: 5′-TTT CAC TCG CCG TTA CTA AGG-3′ แถบดีเอ็นเอขนาด 1,200 bp (Wendt *et al.,* 1995)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างดิน
2. อุปกรณ์สำหรับแยกไส้เดือนฝอยออกจากดินและส่วนของพืช
3. อุปกรณ์สำหรับปลูกพืช
4. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงชนิดหัวกลับ
5. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงและกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ
6. คอมพิวเตอร์และอุปกรณ์ถ่ายภาพ

7. เครื่องปั่นเหวี่ยง
8. สไลด์ กระจกปิดสไลด์
9. ถ้วยนับตัวอย่าง
10. เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม
11. เครื่องอิเล็กโตโฟรีสีส
12. microcentrifuge tube, pcr tube, pipette tip
13. ชุด kit สำหรับสกัดดีเอ็นเอ
14. agarose gel, gel star, pcr buffer, pcr mix

วิธีการ

1. สืบค้นข้อมูล

สืบค้นข้อมูลลักษณะของไส้เดือนฝอย *D. destructor* ได้แก่ รายละเอียดของไส้เดือนฝอย ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพ้อง รูปร่างลักษณะ การเข้าทำลาย พืชอาศัย การแพร่ระบาด พร้อมรูปภาพประกอบ

2. จัดทำคู่มือศัตรูพืช

รวบรวมข้อมูลอ้างอิง ข้อมูลลักษณะไส้เดือนฝอย ชื่อสามัญ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชนิดของพืชอาศัย สภาพแวดล้อมที่เหมาะสม แหล่งที่พบ ลักษณะอาการที่เกิดจากไส้เดือนฝอย *D. destructor* พร้อมรูปภาพสีเพื่อใช้ในการตรวจสอบอาการที่พบในแปลง ตลอดจนรายละเอียดของอาการที่มีลักษณะคล้ายกับอาการของพืชเป้าหมาย และรูปภาพลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไส้เดือนฝอย

3. จัดทำฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ

รวบรวมข้อมูลลักษณะไส้เดือนฝอย ลักษณะอาการที่เกิดจากไส้เดือนฝอย *D. destructor* พร้อมรูปภาพสีเพื่อใช้ในการตรวจสอบอาการที่พบในแปลง ตลอดจนรายละเอียดของอาการที่มีลักษณะคล้ายกับอาการของพืชเป้าหมาย และจัดทำแบบฟอร์มการสำรวจ เพื่อบันทึกข้อมูลชื่อเกษตรกร สถานที่ วันที่เก็บ ข้อมูลพิกัดภูมิศาสตร์

4. การสำรวจ

กำหนดพื้นที่ โดยเน้นพื้นที่ปลูกมันฝรั่ง ในประเทศไทย เช่น จังหวัดตาก เชียงราย เชียงใหม่ ลำพูน พะเยา เป็นต้น รวมทั้งพื้นที่ปลูกพืชอาศัยของไส้เดือนฝอย *D. destructor* ที่สำคัญ เช่น มันเทศ หอม กระเทียม เป็นต้น

วางแผนการสำรวจ ดำเนินการสำรวจตามแนวทางในมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (Surveillance: ISPM No. 6) เก็บตัวอย่างดินโดยแบ่งพื้นที่เป็นแปลงย่อย (grid) ขนาด 10 x 10 ตารางเมตร สุ่มเก็บตัวอย่างดินโดยเดินเก็บในลักษณะสลับฟันปลาให้ทั่วพื้นที่ เก็บดินที่ความลึก 25 เซนติเมตร ด้วย auger ขนาด 1 นิ้ว ให้ได้ตัวอย่างดินประมาณ 4 ลิตรต่อพื้นที่ 10,000 ตารางเมตร คลุกเคล้าตัวอย่างดินให้ทั่ว แล้วแบ่งตัวอย่างดิน 250 กรัม เพื่อตรวจหาไส้เดือนฝอย

5. การตรวจสอบและจำแนกไส้เดือนฝอย *D. destructor* ในห้องปฏิบัติการ

แยกไส้เดือนฝอยออกจากดินโดยวิธี Cobb's sieving and Baermann funnel และการแยกไส้เดือนฝอยออกจากหัวมันฝรั่งตามวิธีใน EPPO Standard PM 7/119 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

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

- รายละเอียดตำแหน่งของแปลงปลูกที่ทำการสำรวจ/เก็บตัวอย่าง
- ข้อมูลชนิดพืช ขนาดพื้นที่ปลูก ระยะการเจริญเติบโตของพืช และสภาพแวดล้อม
- ข้อมูลชนิดของไส้เดือนฝอย และลักษณะของไส้เดือนฝอยที่ตรวจพบ

เวลาและสถานที่

- ระยะเวลาดำเนินการ : ตุลาคม 2564 – กันยายน 2567

- สถานที่ดำเนินการ : ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

เก็บตัวอย่างดินจากพื้นที่ปลูกมันฝรั่ง หอมหัวใหญ่ กระเทียม และหอมแดง จำนวน 3 จังหวัด ได้แก่ เชียงใหม่ ลำพูน และตาก จำนวน 93 แปลง แบ่งเป็น มันฝรั่ง 85 แปลง หอมหัวใหญ่ 5 แปลง กระเทียม 1 แปลง และหอมแดง 2 แปลง

จากผลการตรวจตัวอย่างดิน**ไม่พบไส้เดือนฝอยสกุล Ditylenchus ในทุกตัวอย่าง** ตรวจพบไส้เดือนฝอยศัตรูพืช 9 สกุล คือ *Pratylenchus* spp. *Helicotylenchus* spp. *Rotylenchulus* spp. *Criconemoides* spp. *Meloidogyne* spp. *Heterodera* spp. *Tylenchorhynchus* spp. *Hirschmanniella* spp. *Hoplolaimus* spp. (Table 1)

ทำสไลด์ถาวรของไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ตรวจพบและเก็บรักษาจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่พบโดยใช้ dichotomous key ของ Mai and Mullin (1996) ในการจำแนกไส้เดือนฝอยศัตรูพืชระดับสกุล พบไส้เดือนฝอยศัตรูพืชสกุลต่าง ๆ ดังนี้

***Pratylenchus* spp.**

ไส้เดือนฝอยสกุล *Pratylenchus* spp. ลักษณะตัวเต็มวัยเพศเมียทรงกระบอก (cylindrical) ตำแหน่งของ vulva อยู่ค่อนไปทางหางประมาณ 1/3 ของความยาวลำตัว มี ovary ข้างเดียว ยื่นไปทางส่วนหัว ovary อีกด้านหนึ่งลดรูปเรียกว่า postvulval sac ลักษณะของหางส่วนมากมักจะมีปลายมนมีบางชนิดเท่านั้นที่ปลายหางแหลม ผนังลำตัว (cuticle) ไม่มีรอยหยักชัดเจน (not prominently

annulated) เมื่อตายตัวจะเหยียดตรงหรือโค้งเล็กน้อย ส่วนของ esophagus ซ้อนทับกับลำ ไส้ไปทางด้าน ventral ลักษณะของ median bulb และ valve ชัดเจน ส่วน stylet สมบูรณ์ ริมฝีปากต่ำ (lip region flattened) แข็งแรง (sclerotized) เมื่อส่องดูภายใต้กล้องเห็นเป็นสีเข้ม

***Helicotylenchus* spp.**

ไส้เดือนฝอยสกุล *Helicotylenchus* spp. ลักษณะตัวเต็มวัยเพศเมียทรงกระบอก (cylindrical) เมื่อถูกความร้อนและตายลำตัวมักจะโค้งงอคล้ายเลข 1 ไทย ส่วน esophagus ซ้อนทับกับลำไส้ทางด้าน ventral ส่วนริมฝีปากไม่มี longitudinal striation ส่วน dorsal esophageal gland opening อยู่หลัง stylet knob มีความยาวประมาณ 1/4 ของความยาว stylet Phasmid มีขนาดเล็กลักษณะเป็นรู มี ovary 2 ข้าง ตำแหน่ง vulva อยู่ประมาณ 2/3 ของความยาวลำตัว ส่วน median bulk แข็งแรง (sclerotized) มี valve ชัดเจน หางมีลักษณะ asymmetrical ด้าน dorsal มีลักษณะโค้งมากกว่าด้าน ventral ส่วนมากปลายหางโค้งมน

***Rotylenchulus* spp.**

ไส้เดือนฝอยสกุล *Rotylenchulus* spp. ตัวอ่อนมีความยาวประมาณ 340 ไมโครเมตร ตัวเต็มวัยเพศผู้มีความยาวประมาณ 420 ไมโครเมตร ตัวเต็มวัยเพศเมียมีความยาวประมาณ 380-520 ไมโครเมตร เมื่อถูกความร้อนและตายลำตัวจะมีลักษณะ C shaped ริมฝีปากของตัวเต็มวัยเพศเมียไม่ offset ส่วนของริมฝีปากชัดเจน (conspicuous) stylet ยาวประมาณ 16 – 20 ไมโครเมตร stylet knob กลมมีขนาดเล็ก dorsal gland orifice อยู่ห่างจากฐานของ stylet knob ประมาณมากกว่า 1/2 ของความยาว stylet ส่วน esophageal gland ซ้อนทับลำไส้ด้าน lateral หรือ ventral ตำแหน่ง vulva ประมาณ 63% ของความยาวลำตัว มี ovary 2 ข้าง แบบ amphidelphic หางของตัวเต็มวัยเพศเมียมักจะยาวเป็น 2 เท่าของความกว้างลำตัวบริเวณ anus หางของตัวอ่อนมีลักษณะ taper ปลายมนมี 20 – 24 annules ส่วน phasmid ลักษณะ pore-like ตัวเต็มวัยเพศผู้มี stylet และ stylet knob ไม่แข็งแรง esophagous ไม่สมบูรณ์ median bulb และ valve ไม่ชัดเจน มี caudal alae แบบ adanal ส่วน lateral field ของตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมีย และตัวอ่อนมี lateral lines 4 เส้น ไม่ areolated

***Criconemoides* spp.**

ไส้เดือนฝอยสกุล *Criconemoides* spp. ตัวเต็มวัยเพศเมียมีความยาวประมาณ 300 – 600 ไมโครเมตร มี annulation ชัดเจน cuticle ไม่มีลักษณะเป็นหนาม (spines) และมี cuticle เพียงชั้นเดียว ไม่มี extra cuticle หางมีลักษณะโค้งมน ริมฝีปากมี submedian lobe ชัดเจน แต่บาง species อาจไม่ชัดเจนก็ได้ วง annule แรกอาจไม่สมบูรณ์หรือหายไป annule ที่ 2 มักจะกว้างและชัดเจนกว่า ส่วน valva ปิด ตัวเต็มวัยเพศเมียมี stylet ยาว stylet knob มีลักษณะคล้ายสมอ

***Meloidogyne* spp.**

ไส้เดือนฝอยสกุล Meloidogyne spp. การแยกไส้เดือนฝอยจากตัวอย่างดินจะพบตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมระยะที่สอง ซึ่งสามารถจำแนกได้โดยลักษณะทางสัณฐาน ตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมระยะที่

สองมีความยาวประมาณ 200-380 ไมโครเมตร ริมฝีปากไม่ offset labial disc ยกสูง มักจะไม่มี lateral lip, stylet ยาว 11-25 ไมโครเมตร stylet knob offset มีลักษณะกลม หรือ transversely elongated มี hemizonid อยู่ด้านหน้า หรือใกล้ excretory pore หางยาว 15-60 ไมโครเมตร ปลายมน ความกว้างลำตัวบริตำแหน่ง anus ประมาณ 8-17 ไมโครเมตร มีเส้นข้างลำตัว (lateral lines) 4 เส้น และมี incisures หางมี phasmid อยู่บริเวณ subterminal ลักษณะเป็นจุด ใกล้ cloacal aperture

***Heterodera* spp.**

ไส้เดือนฝอยสกุล *Heterodera* spp. ที่แยกจากตัวอย่างดินพบตัวอ่อนระยะที่สองซึ่งสามารถจำแนกได้โดยลักษณะทางสัณฐาน โดยส่วนหัวจะมีลักษณะ offset รูปร่าง hemispherical มี 4 annules มี amphid apertures ด้านข้าง ใกล้ช่องปาก ส่วน stylet ชัดเจน stylet knob ชัดเจนชี้ไปด้านหน้า (forwardly-directed) มีเส้นข้างลำตัว 4 เส้น median bulb ชัดเจน dorsal gland orifice อยู่ห่างจากฐานของ stylet knob 3-4 ไมโครเมตร หางมีลักษณะรูปโคนแหลม (acutely conical) ปลายหางมน มี hyaline terminal section ยาว 1-1.25 เท่าของความยาว stylet มี phasmids ที่ไม่ชัดเจน อยู่ post-anal

***Tylenchorhynchus* spp.**

ไส้เดือนฝอยสกุล Tylenchorhynchus spp. ตัวเต็มวัยเพศเมียริมฝีปาก setoff โครงหัวมีความแข็งแรงลักษณะครึ่งวงกลม (hemispherical) ความยาวของ stylet สมบูรณ์มี stylet knob ชัดเจน esophageal gland ไม่ซ้อนทับกับลำไส้ ลักษณะหางแบบ conical หรือ cylindrical ปลายมน มี ovary 2 ข้าง ตำแหน่ง vulva 46-60 เปอร์เซ็นต์ของความยาวลำตัว

***Hirschmanniella* spp.**

ไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella* spp. ตัวเต็มวัยเพศเมียลำตัวมีความยาว 0.9-4.2 มิลลิเมตร ริมฝีปากไม่ offset จากลำตัว โครงหัวมีความแข็งแรงลักษณะครึ่งวงกลม (hemispherical) esophageal gland ซ้อนทับลำไส้ทางด้าน ventral stylet แข็งแรงยาวประมาณ 1/2-4 เท่าของความกว้างลำตัวมี stylet knob ชัดเจน ตำแหน่ง vulva ประมาณ 48-58 เปอร์เซ็นต์ของความยาวลำตัว มี ovary 2 ข้าง หางลักษณะ taper เรียวแหลม

***Hoplolaimus* spp.**

ไส้เดือนฝอยสกุล *Hoplolaimus* spp. ตัวเต็มวัยเพศเมียริมฝีปาก setoff โครงหัวมีความแข็งแรงลักษณะครึ่งวงกลม (hemispherical) ความยาว stylet มากกว่า 2 เท่าของความกว้างริมฝีปาก มี stylet knob ชัดเจน esophageal gland ซ้อนทับลำไส้ทางด้าน dorsal ส่วนของลำไส้มีสีเข้ม ปลายหางมนลักษณะครึ่งวงกลม (hemispherical) ตำแหน่ง vulva 51-62 เปอร์เซ็นต์ของความยาวลำตัว

จากผลการดำเนินการที่ผ่านมาสรุปได้ว่ายังไม่พบไส้เดือนฝอย *Ditylenchus destructor* ในประเทศไทย

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เก็บตัวอย่างดินจากพื้นที่ปลูกมันฝรั่ง หอมหัวใหญ่ กระเทียม และหอมแดง จำนวน 3 จังหวัด ได้แก่ เชียงใหม่ ลำพูน และตาก จำนวน 93 แปลง แบ่งเป็น มันฝรั่ง 85 แปลง หอมหัวใหญ่ 5 แปลง กระเทียม 1 แปลง และหอมแดง 2 แปลง จากผลการตรวจตัวอย่างดิน**ไม่พบไส้เดือนฝอยสกุล *Ditylenchus* ในทุกตัวอย่าง** พบไส้เดือนฝอยศัตรูพืช 9 สกุล คือ *Pratylenchus* spp. *Helicotylenchus* spp. *Rotylenchulus* spp. *Criconemoides* spp. *Meloidogyne* spp. *Heterodera* spp. *Tylenchorhynchus* spp. *Hirschmanniella* spp. *Hoplolaimus* spp.

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็น .2550 . ฉบับที่) 2507 .ศ.สิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ62550 .ศ.พ (ประกาศ ณ วันที่ 26 2550 เมษายน ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 66 ตอนพิเศษ 124 ง ลงวันที่ .1 มิถุนายน2550 .

CABI (CAB International). 2019. *Ditylenchus destructor* (Potato tuber nematode). CAB International. (Online). Available. https://www.cabi.org/isc/datasheet/19286. (22 November 2019)

EPPO.2013. PM 7/119 (1) Nematode extraction. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 43, 471–495.

FAO. 2018. Surveillance. International Standards for Phytosanitary Measures (ISPM) No.6, FAO, Rome.

McMaugh, T. 2008. Guidelines for Plant Pest Surveillance in Asia and the Pacific. ACIAR Monograph No. 119c.

Plant Health Australia (2018). The Australian Handbook for the Identification of Fruit Flies. Version 3.1. Plant Health Australia. Canberra, ACT.

Wendt, K.R., Swart, A., Vrain, T.C. & Webster, J.M. 1995. Ditylenchus africanus sp.n. from South Africa: A morphological and molecular characterization. *Fundamental and Applied Nematology*, 18: 241–250.

Table 1 Plant parasitic nematodes found in soil samples, collected from 85 potato 5 onion 1 garlic and 2 shallot fields in Chiang Mai Lamphun and Tak province for the surveillance of *Ditylenchus destructor*

Plant parasitic nematode (genus)	Number of samples	Frequency (%)
Pratylenchus spp.	15	16.13
Helicotylenchus spp.	25	26.88
Rotylenchulus spp.	8	8.60
Criconemoides spp.	2	2.15
Meloidogyne spp.	60	64.52
Heterodera spp.	1	1.07
Tylenchorhynchus spp.	21	22.58
Hirschmanniella spp.	32	34.40
Hoplolaimus spp.	4	4.30

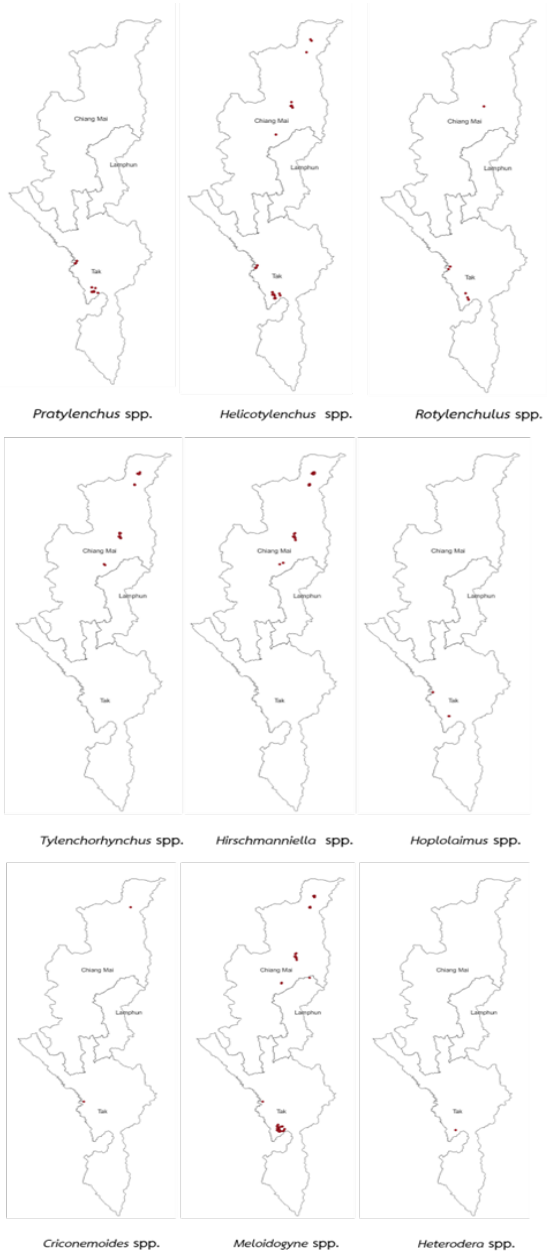


Figure 1 Distribution of plant parasitic nematodes genera found in soil samples collected from 85 potato 5 onion 1 garlic and 2 shallot fields in Chiang Mai Lamphun and Tak province for the surveillance of *Ditylenchus destructor*

การสำรวจและเฝ้าระวังแมลงวันผลไม้ *Bactrocera minax* (Enderlein) ในประเทศไทย

Survey and Surveillance of *Bactrocera minax* (Enderlein) (Chinese citrus fly) in Thailand

ดนัย ชัยเรือนแก้ว[1/] วานิช คำพานิช[1/] ยุวรินทร์ บุญทบ[2/] พรรณิภา เปชัยศรี[1/]
ธิดาวรรณ ชมเดช[1/] ชุติมา อ้อมกิ่ง[1/]
[1/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

แมลงวันผลไม้ *Bactrocera minax* (Enderlein) (Chinese citrus fly) คือแมลงที่อยู่ในอันดับ Diptera วงศ์ Tephritidae ซึ่งทำความเสียหายให้กับพืชตระกูลส้ม โดยตัวเต็มวัยเพศเมียจะวางไข่ในผลส้ม เมื่อหนอนฟักออกจากไข่จะกัดกินและอาศัยอยู่ภายในผลส้ม ทำให้ผลส้มที่ถูกทำลายไม่สามารถจำหน่ายได้ กระทบต่อการส่งออกผลผลิตทางการเกษตร แมลงชนิดนี้มีการเข้าทำลายเฉพาะพืชตระกูลส้มเท่านั้น และพบการระบาดในประเทศจีน (CABI, 2019) มีการส่งออกส้มมายังประเทศไทยมาอย่างต่อเนื่อง แต่ยังไม่มีการรายงานว่าพบแมลงชนิดนี้ในประเทศไทย จากการสำรวจแปลงปลูกพืชตระกูลส้มในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง แพร่ น่าน พิจิตร กำแพงเพชร สุโขทัย ชัยนาท นครปฐม ราชบุรี กาญจนบุรี เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พัทลุง ปทุมธานี สมุทรสงคราม ปราจีนบุรี ชัยภูมิ นครราชสีมา และอุบลราชธานี ในปีที่ 1 ซึ่งเป็นแหล่งปลูกพืชตระกูลส้มที่สำคัญในประเทศไทย จำนวน 102 แปลง 1,044 ไร่ ระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2564 ถึงเดือนกันยายน พ.ศ. 2565 ผลสำรวจเมื่อตรวจดูลักษณะภายนอกของแมลงวันผลไม้ที่ได้จากการเก็บตัวอย่างและทำการเปรียบเทียบลักษณะสำคัญของแมลงในห้องปฏิบัติการ ด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope พบว่า ยังไม่พบแมลงวันผลไม้ที่มีลักษณะภายนอกที่ใกล้เคียงกับแมลงชนิดนี้ เข้าทำลายพืชตระกูลส้มที่ทำการสำรวจ แต่พบว่ามีการเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้ชนิดอื่น จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ *B. dorsalis B. correcta B. cucurbitae* และ *B. papayae* โดยแมลงวันผลไม้ทั้ง 4 ชนิดนี้จัดเป็นศัตรูพืชที่สามารถพบได้ทั่วไปในประเทศไทยและภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิกอยู่แล้ว ทั้งนี้เพื่อเป็นการยืนยันสถานภาพของแมลงชนิดนี้ในประเทศไทย จำเป็นต้องขยายขอบเขตการสำรวจแมลงชนิดนี้ในปีที่ 2 และ 3 อีกครั้ง เพื่อให้ได้ข้อมูลสถานภาพการไม่ปรากฏของแมลงชนิดนี้ในประเทศไทยต่อไป และจะได้นำข้อมูลดังกล่าวยืนยันว่าแมลงชนิดนี้ยังคงสถานภาพเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย

คำหลัก : สำรวจ เฝ้าระวัง พืชตระกูลส้ม แมลงวันผลไม้

รหัสการทดลอง FF65-55-06-65-00-09-65

คำนำ

ประเทศไทยในฐานะที่เป็นสมาชิกขององค์การการค้าโลก (WTO) ซึ่งต้องปฏิบัติตามเงื่อนไขอนุสัญญาว่าด้วยการอารักขาพืชระหว่างประเทศ (International Plant Protection Convention, IPPC) ซึ่งกำหนดมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช (FAO, 2019) ส่วนมาตรการสุขอนามัยพืช (Phytosanitary measures) หมายถึง ตัวบทกฎหมาย กฎระเบียบข้อบังคับ หรือวิธีการใด ๆ ที่มีวัตถุประสงค์เพื่อป้องกันการเข้ามา และ/หรือ การแพร่กระจายของศัตรูพืชกักกัน (Quarantine pest) หรือเพื่อสกัดกั้นผลกระทบทางเศรษฐกิจของศัตรูพืชที่ไม่ใช่ศัตรูพืชกักกันที่ต้องมีการควบคุม (Regulated non-quarantine pest) รวมทั้งข้อกำหนดการนำเข้าด้านสุขอนามัยพืช (Phytosanitary import requirements) หมายถึงมาตรการสุขอนามัยพืชเฉพาะ ที่จัดทำขึ้นมาโดยประเทศผู้นำเข้าสำหรับสินค้าที่จะอนุญาตให้นำเข้า เป็นผลจากการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของสินค้านั้น และได้กำหนดให้กรมวิชาการเกษตร คือ องค์กรอารักขาพืชแห่งชาติ (National Plant Protection Organization; NPPO) เช่นเดียวกันกับการส่งออกสินค้าพืชของประเทศไทยไปยังประเทศที่ยังไม่เคยอนุญาตนำเข้ามาก่อนก็ต้องส่งมอบข้อมูลสินค้าพืชนั้นและบัญชีรายชื่อศัตรูพืช (Pest list) ที่เกี่ยวข้องเพื่อการทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของประเทศปลายทาง และป้องกันปัญหาเนื่องจากความตกลงว่าด้วยการใช้บังคับมาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures, SPS Agreement) ซึ่งกำหนดให้ประเทศสมาชิกWTO มีสิทธิ์กำหนดหรือใช้มาตรการใด ๆ สำหรับการนำเข้าสินค้า เพื่อป้องกันชีวิตหรือสุขภาพสัตว์หรือพืชจากความเสี่ยงของโรคและแมลงศัตรูพืชที่ทำให้เกิดโรคหรือเป็นพาหะของโรค เพื่อป้องกันชีวิต สุขภาพมนุษย์สัตว์ สิ่งแวดล้อม จากความเสี่ยงซึ่งเกิดจากการใช้สารปรุงแต่ง สิ่งเจือปน สารพิษ หรือสิ่งมีชีวิตที่ทำให้เกิดโรคในอาหาร เครื่องดื่ม หรืออาหารสัตว์ เพื่อป้องกันชีวิตหรือสุขภาพมนุษย์จากความเสี่ยงซึ่งเกิดจากโรคที่มีในสัตว์ พืช หรือผลิตภัณฑ์จากสิ่งนั้นเป็นพาหะ และเพื่อป้องกันหรือจำกัดความเสียหายอื่น ๆ จากการเข้ามา (Entry) การตั้งรกราก (Establishment) แพร่ระบาด (Spread) ของศัตรูพืช เช่น โรคพืช แมลง ไร วัชพืช และสัตว์ศัตรูพืช รวมทั้งสร้างความเสียหายกับพืชและผลิตพืชในประเทศไทย

การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูโดยการศึกษาและการสำรวจแบบติดตามข้อมูลศัตรูพืชในแหล่งปลูกเพื่อเป็นการเฝ้าระวัง (Surveillance) ตาม ISPMs (International Standard for Phytosanitary Measures) ฉบับที่ 6 เป็นกระบวนการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชชนิดใดชนิดหนึ่งในพื้นที่ ซึ่งการรวบรวมข้อมูลนั้นสามารถทำได้ 2 แบบ ได้แก่ การเฝ้าระวังโดยทั่วไป โดยการสืบค้นข้อมูลจากแหล่งข้อมูลที่น่าเชื่อถือ และการเฝ้าระวังโดยการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง สามารถดำเนินการโดยการสำรวจแบบตรวจหา แบบมีขอบเขต และแบบติดตามอย่างต่อเนื่อง (FAO, 2019; McMaugh, 2008) ประโยชน์ของการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจงสามารถบอกถึงสถานการณ์ของศัตรูพืชในพื้นที่ ข้อมูลที่ได้เป็นการรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืชในกรณีที่ไม่พบศัตรูพืชในพื้นที่นั้น ๆ เมื่อมีการรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืชแล้ว การที่จะคงสภาพพื้นที่ปลอดศัตรูพืชจะต้องมีการสำรวจแบบตรวจหาอย่างเป็นระบบข้อมูลต่าง ๆ ที่ได้จากการสำรวจติดตามศัตรูพืชเพื่อการเฝ้าระวังนี้จะส่งให้ NPPO และสามารถนำไปใช้ในด้าน

ต่าง ๆ เช่น ใช้ในการสนับสนุนการออกประกาศเรื่องการปลอดศัตรูพืชที่ดำเนินการโดย NPPO เป็นกระบวนการช่วยตรวจหาศัตรูพืชชนิดใหม่ได้ทันเวลา การให้การรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืช เป็นต้น

Bactrocera minax (Enderlein) (Chinese citrus fly) คือแมลงที่อยู่ในอันดับ Diptera วงศ์ Tephritidae เป็นแมลงที่ทำความเสียหายให้กับพืชตระกูลส้ม โดยตัวเต็มวัยเพศเมียจะวางไข่ในผลส้ม เมื่อหนอนฟักออกจากไข่จะกัดกินและอาศัยอยู่ภายในผลส้ม ทำให้ผลส้มที่ถูกทำลายไม่สามารถจำหน่ายได้ กระทบต่อการส่งออกผลผลิตทางการเกษตร แมลงชนิดนี้มีการเข้าทำลายเฉพาะพืชตระกูลส้มเท่านั้น และพบการระบาดในประเทศจีน (CABI, 2019) ซึ่งมีการส่งออกส้มมายังประเทศไทยมาอย่างต่อเนื่อง แต่ยังไม่มีการรายงานว่าพบแมลงชนิดนี้ในประเทศไทย จากวงจรชีวิตของแมลงวันผลไม้ชนิดนี้ พบว่าตัวเต็มวัยเพศเมีย 1 ตัว สามารถวางไข่ได้ 50 - 200 ฟอง และตัวหนอนที่อาศัยอยู่ภายในผลส้มจะสามารถทนต่ออุณหภูมิต่ำได้ และโอกาสการแพร่กระจายนั้นจะเกิดมาจากการขนส่ง โดยติดมากับผลส้มนำเข้าจากแหล่งที่มีแมลงวันชนิดนี้

พืชตระกูลส้มในประเทศไทยมีมากมายหลายชนิด จากการรายงานของ กรมส่งเสริมการเกษตร 2559 รายงานว่าพื้นที่ปลูกพืชตระกูลส้มในประเทศไทยทั้งหมด จำนวน 307,131 ไร่ โดยแบ่งเป็น มะนาว 145,755 ไร่ ส้มเขียวหวาน 92,473 ไร่ ส้มโอ 62,835 ไร่ มะกรูด 3,694 ไร่ ส้มเกลี้ยง และส้มตรา 2,354 ไร่ ตามลำดับ โดยได้รับความนิยมในการบริโภคอย่างมากทั้งภายในประเทศและส่งออกไปยังประเทศเพื่อนบ้าน นอกจากนี้ประเทศไทยมีการนำเข้าส้มเขียวหวานซึ่งเป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ชนิดนี้ จากวงจรชีวิตและลักษณะการทำลายของแมลงวันผลไม้ชนิดนี้มีความเป็นไปได้ที่จะสามารถเข้ามาตั้งรกรากอยู่ในประเทศไทยได้ และหากสามารถตั้งรกรากได้จริงย่อมจะมีโอกาสที่จะเกิดการระบาดและสร้างความเสียหายต่อส้มและพืชอื่นๆที่เป็นพืชอาศัยของแมลงชนิดนี้ได้
ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องทำการสำรวจเพื่อเฝ้าระวังศัตรูพืชชนิดนี้ในพื้นที่ เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการสนับสนุนการออกมาตรการเฝ้าระวังศัตรูพืช การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช และการรายงานศัตรูพืชอีกด้วย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. คู่มือ เอกสาร หนังสือ วารสาร

2. อุปกรณ์ในการสุ่มเก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติก ปากกามาร์กเกอร์ มีดคัตเตอร์ กรรไกรตัดกิ่ง กับดักแมลงวันผลไม้ เหยื่อโปรตีนสำหรับล่อแมลงวันผลไม้ สารฆ่าแมลง malathion 57%EC กล่องเก็บตัวอย่างแมลง เครื่องบันทึกพิกัดทางภูมิศาสตร์

3. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องแก้ว สารเคมี กล้องจุลทรรศน์ เข็มเขี่ย เข็มปักแมลง กล่องเก็บรักษาตัวอย่างแมลง

4. คู่มือการจำแนกแมลงวันผลไม้ *B. minax*

วิธีการ

1. สืบค้นข้อมูล (2564)

สืบค้นข้อมูลลักษณะของแมลงวันผลไม้ *B. minax* ศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืชของประเทศไทย ได้แก่ รายละเอียดของแมลงวันผลไม้ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพ้อง รูปร่างลักษณะ การเข้าทำลาย พืชอาศัย การแพร่ระบาด พร้อมรูปภาพประกอบ

2. จัดทำรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ (2564)

รวบรวมข้อมูลลักษณะของแมลงวันผลไม้ พร้อมรูปภาพสีเพื่อใช้เป็นคู่มือในการตรวจสอบ จัดทำแบบฟอร์มการสำรวจ เพื่อบันทึกข้อมูล เช่น ชื่อพืช ชื่อเกษตรกรเจ้าของแปลง สถานที่ วันที่สำรวจ ข้อมูลพิกัดภูมิศาสตร์ ข้อมูลการนำเข้าพืช ประเทศต้นทาง เป็นต้น

3. สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงวันผลไม้ (2564-2567)

- กำหนดพื้นที่ วางแผนการสำรวจ โดยการสำรวจแบบกำหนดขอบเขตตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (Surveillance: ISPM No.6) และการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชกักกันตามเงื่อนไขประกาศกรมวิชาการเกษตร

- สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงวันผลไม้ในแปลงปลูกพืชทั่วทุกภาคของประเทศไทย ทั้งหมด 150 แปลง (ปีละ 50 แปลง) เลือกกลุ่มตัวอย่างแบบเจาะจง (Purposive sampling) โดยแบ่งเป็นการสำรวจในพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ ซึ่งเป็นพืชตระกูลส้ม (Citrus) ได้แก่ มะกรูด (*C. hystrix*) 3 แปลง มะนาว (*C. aurantifolia*) 69 แปลง ส้มโอ (*C. maxima*) 30 แปลง ส้มเกลี้ยง (*C. sinensis*) 3 แปลง และส้มเขียวหวาน (*C. reticulata*) 45 แปลง โดยใช้จำนวนพื้นที่ปลูกมาเป็นเกณฑ์ในการตัดสินใจเลือกแปลงที่จะนำมาใช้ในการทดลอง

- สำรวจแมลงวันผลไม้โดยกับดักแมลงวันผลไม้ที่มีสารล่อเป็นเหยื่อโปรตีนร่วมกับสารเมทธิลยูจีนอลผสมกับสารฆ่าแมลง malathion 57%EC

- ทำการเก็บกับดักในทุกเดือน บันทึกสถานที่ พิกัดทางภูมิศาสตร์ วัน เดือน ปี ที่เก็บตัวอย่าง ชนิดและส่วนของพืชที่ถูกทำลาย รวมทั้งชื่อผู้เก็บ นำตัวอย่างแมลงวันผลไม้ที่เก็บรวบรวมได้ มาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการตรวจดูลักษณะภายนอกด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope ถ่ายภาพ บันทึกรายละเอียด เช่น ขนาด รูปร่างลักษณะและสีของแมลงวันผลไม้ก่อนนำตัวอย่างไปตรวจจำแนกชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope ที่มีกำลังขยายสูง ตรวจดูลักษณะสำคัญที่ใช้ในการจำแนก

- การบันทึกรายละเอียดบนป้ายชื่อตัวอย่าง เขียนรายละเอียดเกี่ยวกับพืชอาหาร วัน เดือน ปี สถานที่และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง ชื่อวิทยาศาสตร์ เพศ วันเดือนปี ชื่อผู้จำแนก และจัดเก็บตัวอย่างแมลงวันผลไม้ในกล่องนำเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามหลักสากล

4. สรุปผลการศึกษาสถานภาพของแมลงวันผลไม้ (2567)

ทำการสรุปผลการศึกษาสถานภาพของแมลงวันผลไม้ *B. minax* เพื่อนำไปใช้ในการจัดทำมาตรการเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกัน

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาการวิจัย

- ระยะเวลาโครงการ 3 ปี 0 เดือน
- วันที่เริ่มต้น 1 ตุลาคม 2564 วันที่สิ้นสุด 30 กันยายน 2567

สถานที่ทำการวิจัย

ในประเทศ/ต่างประเทศ	ชื่อประเทศ/จังหวัด	พื้นที่ที่ทำวิจัย	ชื่อสถานที่
ในประเทศ	ประเทศไทย/กรุงเทพฯ	ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช	ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
ในประเทศ	เชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง น่าน แพร่ กำแพงเพชร พิจิตร สุโขทัย ชัยนาท ปทุมธานี นครปฐม สมุทรสงคราม ปราจีนบุรี ราชบุรี กาญจนบุรี ชัยภูมิ นครราชสีมา อุบลราชธานี เพชรบุรี สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พัทลุง	แปลงเกษตรกร	แปลงปลูกพืชตระกูลส้มทั่วทุกภาคของประเทศไทย

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สืบค้นข้อมูลลักษณะของแมลงวันผลไม้ *B. minax*

สืบค้นข้อมูลสืบค้นข้อมูลลักษณะของแมลงวันผลไม้ *B. minax* (Chinese citrus fly) ได้แก่ รายละเอียดของแมลง ชื่อวิทยาศาสตร์ และลักษณะการทำลายบนพืช ตลอดจนถึงพืชอาศัยและเขตการแพร่กระจายของแมลงชนิดนี้ โดยมีรายละเอียดดังนี้

รายละเอียดของแมลง (CABI, 2021; EPPO, 2020) ดังนี้ (Figure 1)

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Bactrocera minax* (Enderlein)

ชื่อสามัญ: Chinese citrus fly

อันดับ: Diptera

วงศ์: Tephritidae

สกุล: Bactrocera

ลักษณะของแมลง

ตัวเต็มวัยของแมลงชนิดนี้ จัดอยู่ในสกุล Bactrocera ซึ่งจะมีรูปร่างลักษณะคล้ายกับแมลงในวงศ์ Tephritidae ส่วนใหญ่ โดยมากแล้วแมลงจะมีลวดลายบนปีก อีกทั้งตัวเมียยังมีท่อนำไข่ที่ยาว และมีลักษณะเป็นปลายแหลม ซึ่งคุณลักษณะเหล่านี้เป็นลักษณะสำคัญที่ทำให้แมลงถูกแยกออกจาก Diptera อื่น ๆ โดยรูปร่างของ *B. minax* เป็นสายพันธุ์ที่มีสีน้ำตาลส้มเด่น มีแถบสีเหลืองตรงกลางและด้านข้าง (แถบ) บนหนังหุ้ม รวมทั้งลักษณะที่ผิดปกติของแถบสีเหลืองด้านข้างด้านหน้าของรอยประสาน ไม่มีส่วนหน้าของ supra-alar setae และ aculeus ของตัวเมียมีจุดปลายมนจุดเดียว

วงจรชีวิตของแมลงชนิดนี้ประมาณ 5 สัปดาห์ ใน 1 ปี สามารถผลิตประชากรได้เพียง 1 รุ่น และการแพร่กระจายนั้นจะเกิดมาจากการขนส่ง โดยติดมากับผลส้มที่นำเข้ามาจากแหล่งที่มีรายงานการระบาด โดยแมลงวันผลไม้ชนิดนี้จะมีการพัฒนาวงจรชีวิตให้สอดคล้องกับระยะการเจริญเติบโตของส้ม ตัวเต็มวัยเพศเมียจะทำการผสมพันธุ์ และวางไข่ในระยะที่ส้มยังเป็นผลอ่อน และหนอนจะกัดกินอาศัยและพัฒนาวงจรชีวิตอยู่ภายในผล ก่อนจะออกจากผลเพื่อทิ้งตัวเข้าดักแด้ในผิวดินรอบ ๆ ผลส้ม

ลักษณะการทำลายบนพืช

แมลงชนิดนี้จะทำความเสียหายให้กับพืชตระกูลส้ม โดยตัวเต็มวัยเพศเมียจะวางไข่ในผลส้ม เมื่อหนอนฟักออกจากไข่จะกัดกินและอาศัยอยู่ภายในผลส้ม ทำให้ผลส้มที่ถูกทำลายไม่สามารถจำหน่ายได้ กระทบต่อการส่งออกผลผลิตทางการเกษตร แมลงชนิดนี้มีการเข้าทำลายเฉพาะพืชตระกูลส้มเท่านั้น และพบการระบาดในประเทศจีน (CABI, 2019) ซึ่งมีการส่งออกส้มมายังประเทศไทยมาอย่างต่อเนื่อง แต่ยังไม่มีการรายงานว่าพบแมลงชนิดนี้ในประเทศไทย จากวงจรชีวิตของแมลงวันผลไม้ชนิดนี้ พบว่าตัวเต็มวัยเพศเมีย 1 ตัว สามารถวางไข่ได้ 50 - 200 ฟอง และตัวหนอนที่อาศัยอยู่ภายในผลส้มจะสามารถทนต่ออุณหภูมิต่ำได้ และโอกาสการแพร่กระจายนั้นจะเกิดมาจากการขนส่ง โดยติดมากับผลส้มนำเข้าจากแหล่งที่มีแมลงวันชนิดนี้

การแพร่กระจาย

ส่วนใหญ่จะเกิดจากนำผลส้มที่มีหนอนแมลงวันผลไม้จากแหล่งที่พบว่ามีการระบาดเข้ามาในพื้นที่ นอกจากนี้ยังพบว่า แมลงวันผลไม้ชนิดนี้สามารถปรับตัวในพื้นที่ที่มีสภาพภูมิอากาศที่เหมาะสมได้ดีในระดับหนึ่ง

พื้นที่การระบาด

ทวีปเอเชีย – จีน ภูฏาน อินเดีย และเนปาล

พืชอาศัย

พืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ชนิดนี้จำกัดอยู่ในพืชวงศ์ส้มเท่านั้น (CABI, 2018; EPPO, 2020) ได้แก่ *Citrus aurantiifolia, Citrus aurantium, Citrus junos, Citrus limon, Citrus maxima, Citrus medica, Citrus paradisi, Citrus reticulata, Citrus sinensis, Citrus tangerina, Citrus trifoliata, Citrus unshiu, Citrus x nobilis, Citrus, Fortunella crassifolia, Fortunella japonica, Fortunella margarita, Fortunella* เป็นต้น

2. จัดทำแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ

จัดทำแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจแมลงวันผลไม้ชนิด *B. minax* และสร้างคู่มือการสำรวจในแปลงปลูกพืชตระกูลส้ม (Figure 2) โดยคู่มือประกอบด้วย

- ข้อมูลพื้นฐานของแมลง และภาพตัวอย่างการทำลาย ตลอดจนวิธีการจำแนกชนิดและความแตกต่างของรอยทำลายที่เกิดขึ้นของแมลงชนิดนี้เทียบกับแมลงวันผลไม้ที่เป็นศัตรูพืชเดิมของพืชชนิดนี้
- แบบบันทึกรายงานการสำรวจโดยมีรายละเอียดคือ วันเดือนปีที่สำรวจ สถานที่สำรวจ (หมู่บ้าน ตำบล อำเภอ จังหวัด) พิกัดทางภูมิศาสตร์ ขนาดของพื้นที่ที่ทำการสำรวจ ชื่อผู้สำรวจ จำนวนแปลงที่สำรวจ ชื่อพืชที่พบรอยทำลาย อัตราการทำลาย และพืชอาศัยอื่นที่อยู่ข้างเคียง
- รูปแบบการเดินสำรวจรอยทำลายของพืชแบบทแยงมุม สังเกตรอยทำลายบนผลส้ม ต้นละ 4 ทิศรอบทรงพุ่ม จำนวน 10 ต้นต่อแปลง เดินสำรวจในแนวทแยงมุม (Figure 3)
- รูปแบบและวิธีการติดตั้งกับดักชนิดเหยื่อโปรตีนในแปลงปลูก เพื่อดักจับแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัย
- การเก็บตัวอย่าง โดยเก็บส่วนของผลส้มที่มีรอยทำลาย ใส่ในถุงกระดาษหรือห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์แล้วใส่ในถุงพลาสติก เพื่อมาตรวจจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ

3. การสำรวจ

จากการสำรวจแปลงปลูกพืชตระกูลส้มในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง แพร่ น่าน พิจิตร กำแพงเพชร สุโขทัย ชัยนาท นครปฐม ราชบุรี กาญจนบุรี เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พัทลุง ปทุมธานี สมุทรสงคราม ปราจีนบุรี ชัยภูมิ นครราชสีมา และอุบลราชธานี ในปีที่ 1 ซึ่งเป็นแหล่งปลูกพืชตระกูลส้มที่สำคัญในประเทศไทย จำนวน 102 แปลง 1,044 ไร่ ระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2564 ถึงเดือนกันยายน พ.ศ. 2565 ผลสำรวจเมื่อตรวจดูลักษณะภายนอกของแมลงวันผลไม้ที่ได้จากการเก็บตัวอย่างและทำการเปรียบเทียบลักษณะสำคัญของแมลง

ในห้องปฏิบัติการ ด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope พบว่า ยังไม่พบแมลงวันผลไม้ที่มีลักษณะภายนอกที่ใกล้เคียงกับแมลงชนิดนี้ เข้าทำลายพืชตระกูลส้มที่ทำการสำรวจ แต่พบว่ามีการเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้ชนิดอื่น จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ *B. dorsalis B. correcta B. cucurbitae* และ *B. papayae* โดยแมลงวันผลไม้ทั้ง 4 ชนิดนี้จัดเป็นศัตรูพืชที่สามารถพบได้ทั่วไปในประเทศไทยและภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิกอยู่แล้ว

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจแปลงปลูกพืชตระกูลส้มในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง แพร่ น่าน พิจิตร กำแพงเพชร สุโขทัย ชัยนาท นครปฐม ราชบุรี กาญจนบุรี เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พัทลุง ปทุมธานี สมุทรสงคราม ปราจีนบุรี ชัยภูมิ นครราชสีมา และอุบลราชธานี ในปีที่ 1 ซึ่งเป็นแหล่งปลูกพืชตระกูลส้มที่สำคัญในประเทศไทย จำนวน 102 แปลง 1,044 ไร่ ระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2564 ถึงเดือนกันยายน พ.ศ. 2565 ผลสำรวจเมื่อตรวจดูลักษณะภายนอกของแมลงวันผลไม้ที่ได้จากการเก็บตัวอย่างและทำการเปรียบเทียบลักษณะสำคัญของแมลงในห้องปฏิบัติการ ด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope พบว่า ยังไม่พบแมลงวันผลไม้ที่มีลักษณะภายนอกที่ใกล้เคียงกับแมลงชนิดนี้ เข้าทำลายพืชตระกูลส้มที่ทำการสำรวจ แต่พบว่ามีการเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้ชนิดอื่น จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ *B. dorsalis B. correcta B. cucurbitae* และ *B. papayae* โดยแมลงวันผลไม้ทั้ง 4 ชนิดนี้จัดเป็นศัตรูพืชที่สามารถพบได้ทั่วไปในประเทศไทยและภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิกอยู่แล้ว ทั้งนี้เพื่อเป็นการยืนยันสถานภาพของแมลงชนิดนี้ในประเทศไทย จำเป็นต้องขยายขอบเขตการสำรวจแมลงชนิดนี้ในปีที่ 2 และ 3 อีกครั้ง เพื่อให้ได้ข้อมูลสถานภาพการไม่ปรากฏของแมลงชนิดนี้ในประเทศไทยต่อไป และจะได้นำข้อมูลดังกล่าวยืนยันว่าแมลงชนิดนี้ยังคงสถานภาพเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย

คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ที่สนับสนุนงบประมาณโครงการวิจัย และขอขอบพระคุณ ข้าราชการ พนักงานราชการ และพนักงานจ้างเหมา ของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่ให้คำแนะนำช่วยเหลือในการทำงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2550. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 ประกาศ ณ วันที่ 26 เมษายน 2550 ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 124 ตอนพิเศษ 124 ง. ลงวันที่ 1 มิถุนายน 2550.

CABI (CAB International). 2019. *Bactrocera minax* (Chinese citrus fly). (Online). Available. https://www.cabi.org/isc/datasheet/8726. (3 December 2019)

FAO. 2018. Surveillance. International Standards for Phytosanitary Measures (ISPM) No.6, FAO, Rome.

Plant Health Australia (2018). The Australian Handbook for the Identification of Fruit Flies. Version 3.1. Plant Health Australia. Canberra, ACT.

McMaugh, T. 2008. คำแนะนำในการสำรวจศัตรูพืชในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก. ACIAR Monograph No. 119c.

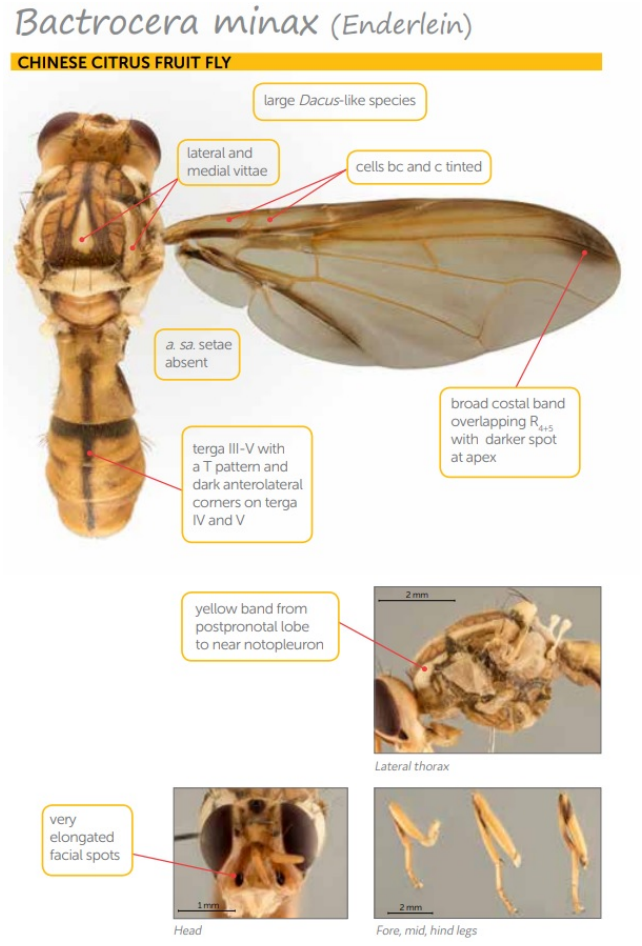


Figure 1 Characteristics of *Bactrocera minax*

Source: THE AUSTRALIAN HANDBOOK FOR THE IDENTIFICATION OF FRUIT FLIES, 2018.

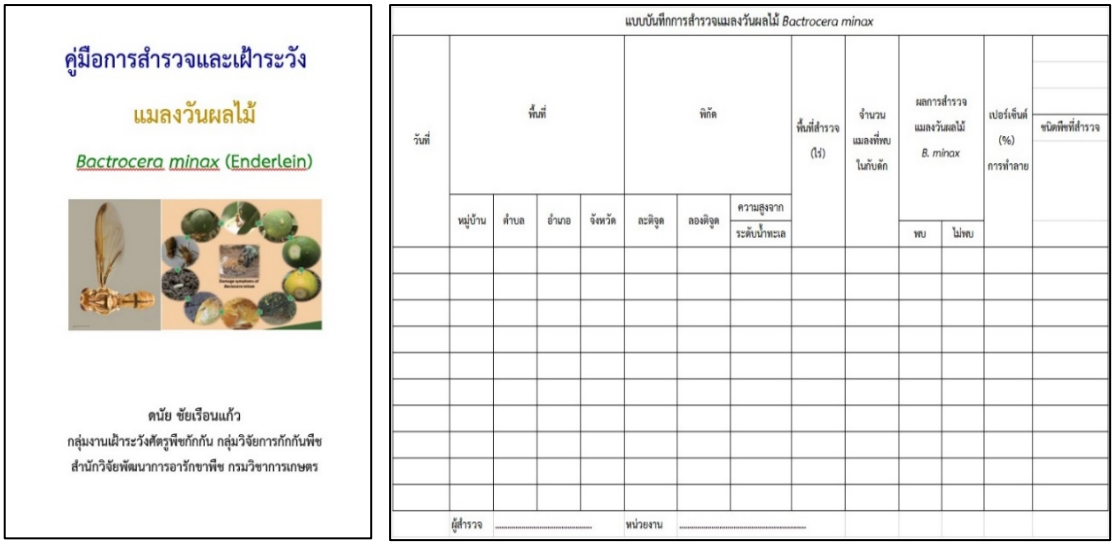


Figure 2 Survey guide and report form

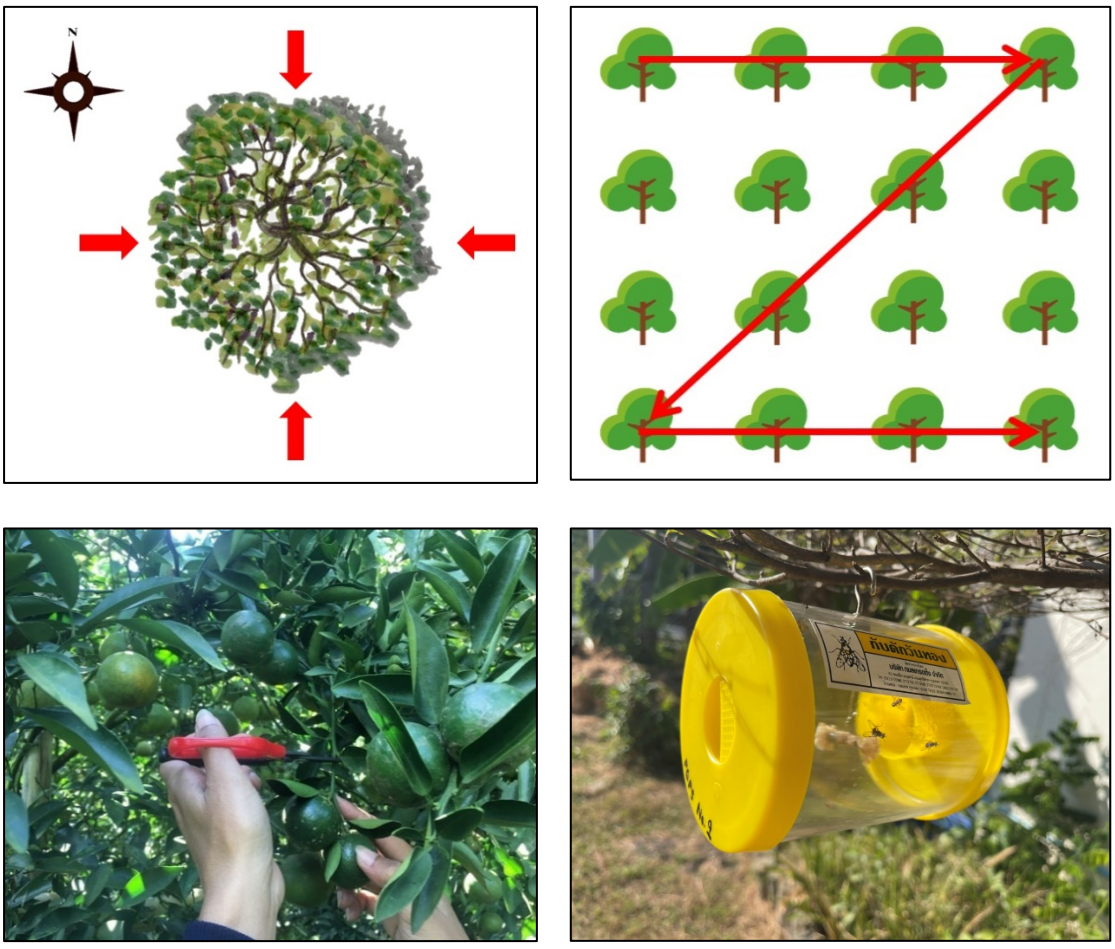


Figure 3 Survey pattern and collecting sample of *Citrus spp.*

การสำรวจและเฝ้าระวังตั๊กแตนไผ่ *Ceracris kiangsu* Tsai ในประเทศไทย

The surveillance of yellow-spine bamboo locust, *Ceracris kiangsu* Tsai in Thailand

จารุวัตถ์ แต้กุล ยุวรินทร์ บุญทบ สุนัดดา เชาวลิต ชมัยพร บัวมาศ
อิทธิพล บรรณาการเกศสุดา สนศิริ อาทิตย์ รักกสิกร
จอมสุรางค์ ดวงธิสาร สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

เนื่องจากมีรายงานการระบาดของตั๊กแตนไผ่ (Yellow-spined bamboo locust): *Ceracris kiangsu* Tsai ในสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว และไม่มีข้อมูลด้านการสำรวจและเฝ้าระวังตั๊กแตนไผ่ในประเทศไทยมากว่า 30 ปี วัตถุประสงค์ของการทดลอง เพื่อทราบสถานภาพ ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และแนวทางการวินิจฉัยของตั๊กแตนไผ่ *Ceracris kiangsu* Tsai ในประเทศไทย ความก้าวหน้าของผลการทดลองในระยะเวลา 1 ปี ได้แก่ สำรวจเก็บตัวอย่างในพื้นที่ภาคเหนือและภาคกลาง ได้แก่ เชียงใหม่ เชียงราย พะเยา น่าน สมุทรปราการ สมุทรสาคร สมุทรสงคราม เป็นต้น ได้ตัวอย่างตั๊กแตนรวมทั้งสิ้น 60 ตัวอย่าง วินิจฉัยชนิดของตั๊กแตนได้ 5 ชนิดได้แก่ 1) *Acrida willemsei* 2) *Oxya hyla* 3) *Hieroglyphus banian* 4) *Atractomorpha crenulata* 5) *Phlaeoba antennata* ไม่พบตั๊กแตนไผ่ *Ceracris kiangsu* ได้ชุดข้อมูลรายละเอียดของตั๊กแตนไผ่ วงจรชีวิต การแพร่กระจาย วินิจฉัยลักษณะ ตีพิมพ์ในบทความวิชาการ วารสารกีฏและสัตววิทยา จำนวน 1 บทความ ได้คู่มือการวินิจฉัยตั๊กแตนไผ่ ตั๊กแตนหนวดสั้นวงศ์ Acrididae จำนวน 1 ชุดข้อมูล ซึ่งเมื่อเสร็จสิ้นการทดลองผลลัพธ์ที่ได้คือ กลุ่มวิจัยกักกันพืชสามารถนำชุดข้อมูลการวินิจฉัยชนิดของตั๊กแตนไผ่ ใช้ทั้งประกอบการเจรจาการค้าระหว่างประเทศ รวมถึงเป็นข้อมูล ให้หน่วยงานราชการดำเนินการสำรวจ และเฝ้าระวังแมลงศัตรูพืชชนิดนี้ต่อไปในอนาคต ส่งผลกระทบที่สำคัญด้านเศรษฐกิจคือ ได้ฐานข้อมูล การแพร่กระจาย และสถานภาพของตั๊กแตนไผ่ ประกอบการเจรจาการค้าระหว่างประเทศ ทำให้สามารถส่งสินค้าเกษตร หรือต่อรองกับประเทศคู่ค้า สร้างรายได้ทางเศรษฐกิจให้กับประเทศ

Keywords : Yellow-spine bamboo locust bamboo locust bamboo grasshoppers *Rammeacris kiangsu*

รหัสการทดลอง FF65-55-06-65-00-10-65

คำนำ

ได้มีรายงานการระบาดของตั๊กแตนไผ่ (Yellow-spined bamboo locust): *Ceracris kiangsu* Tsai ในสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว ซึ่งทาง สปป.ลาว ได้รายงานในที่ประชุมคณะกรรมาธิการอารักขาพืชระหว่างประเทศแห่งภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก ครั้งที่ 29 เมื่อปี 2558 (The Asia and Pacific Plant Protection Commission: APPPC) ว่าเกิดการระบาดอย่างรุนแรงของตั๊กแตนไผ่ ทำลายพืชเศรษฐกิจ เช่น ข้าวไร่ ข้าวโพด และลูกเดือย การระบาดเกิดขึ้นในพื้นที่แขวงหัวพัน ซึ่งเป็นเขตติดต่อกับประเทศสาธารณรัฐสังคมนิยมเวียดนาม มีรายงานพบตั๊กแตนชนิดนี้ครั้งแรกในปี 2472 ที่สาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนจีน ในพื้นที่มณฑล เสฉวน หูเป่ย เกียงสู หูหนาน เกียงสี ฝูเจียน และกวางตุ้ง ซึ่งสร้างความเสียหายอย่างรุนแรงหลายครั้ง ในช่วงปี 2478 – 2489 โดยพบทำความเสียหายอย่างรุนแรงในพืชไผ่ ข้าวโพด และข้าว (Centre for overseas pest research, 1982) อย่างไรก็ตาม ไม่มีรายงานการระบาดของตั๊กแตนชนิดนี้ในประเทศไทย แต่มีรายงานว่าเคยพบที่จังหวัดเชียงใหม่และสุพรรณบุรี (Roffey, 1979) รวมทั้งมีตัวอย่างอ้างอิงในพิพิธภัณฑ์แมลงของกรมวิชาการเกษตร ซึ่งเก็บได้จากไผ่และธัญพืชที่จังหวัดสุพรรณบุรี (ปี 2506) เชียงใหม่ (ปี 2518) และสุรินทร์ (ปี 2518) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากลักษณะอากาศที่ร้อนของประเทศไทยไม่เหมาะสมกับแมลงชนิดนี้ ในปี 2558 มีรายงานการระบาดของตั๊กแตนไผ่เพิ่มในแขวงพงสาลีซึ่งเป็นเขตติดต่อกับสาธารณรัฐประชาชนจีนและปัจจุบันพบการระบาดในแขวงหลวงพระบางซึ่งอยู่ห่างจากประเทศไทยเพียง 114 กิโลเมตร การระบาดมีความรุนแรงจนไม่สามารถควบคุมการระบาดได้ ดังนั้นสปป.ลาว จึงได้ขอความช่วยเหลือไปยังองค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) ให้เข้ามาช่วยควบคุมการระบาดของตั๊กแตนไผ่ปัจจุบันยังไม่สามารถควบคุมได้ เนื่องจากพื้นที่ที่มีการระบาดของตั๊กแตนไผ่มีสภาพภูมิประเทศเป็นป่าและภูเขาสูงชัน ทำให้ไม่สามารถดำเนินการป้องกันกำจัดได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ตั๊กแตนชนิดนี้ พบแพร่กระจายอย่างกว้างขวางบริเวณพื้นที่ป่าไผ่ ทางตอนใต้ของประเทศจีนด้านตะวันออกเฉียงใต้ของมณฑลแจงสี บริเวณทางลาดเชิงเขา มีความสูงจากระดับน้ำทะเล 300 – 400 เมตร บางครั้งพบในพื้นที่มีความสูงกว่าระดับน้ำทะเลถึง 780 เมตร มีรายงานว่าพบแมลงชนิดนี้วางไข่จำนวนมากใต้ผิวดินไข่ของตั๊กแตนชนิดนี้จะฟักในบริเวณที่มีแสงแดดส่องถึง โดยมีอุณหภูมิสูงกว่า 32 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตามตัวเต็มวัยชอบอาศัยอยู่ในพื้นที่ที่มีอากาศค่อนข้างเย็น ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยมีการแพร่กระจายเป็นกลุ่ม ตัวอ่อนในระยะสุดท้ายเริ่มมีการอพยพเคลื่อนย้ายเป็นกลุ่มใหญ่ซึ่งเป็นระยะที่เริ่มสร้างความเสียหายให้กับพืชได้ ระยะตัวเต็มวัยจะสร้างความเสียหายได้กว้างขวางและรุนแรงที่สุด นอกจากพืชกลุ่มไผ่แล้วแมลงชนิดนี้ยังเป็นศัตรูพืชที่สำคัญของพืชในตระกูลหญ้า (graminivorous) และยังพบว่าสามารถเข้าทำลายพืชตระกูลปาล์มและพืชล้มลุกบางชนิด ถึงแม้ขณะนี้ยังไม่มีรายงานการระบาดสร้างความเสียหายภายในประเทศไทย แต่อย่างไรก็ตามตั๊กแตนชนิดนี้อาจจะมีโอกาสเข้ามาแพร่ระบาดสร้าง

ความเสียหายในประเทศไทยได้ ตั๊กแตนไผ่ มีวงจรชีวิตแบ่งเป็น 4 ระยะ คือ ระยะวางไข่ใต้ผิวดิน ในช่วงเดือน ม.ค.- เม.ย. ระยะตัวอ่อน (46-69 วัน) ในช่วงเดือน พ.ค.- ก.ค. ระยะตัวเต็มวัย (40 วัน) ในช่วงเดือน ส.ค.-ก.ย. และระยะไข่ในช่วงเดือน ต.ค.- ธ.ค. มีรายงานว่า พบแมลงชนิดนี้วางไข่จำนวนมากใต้ผิวดิน ไข่ของตั๊กแตนไผ่จะฟักในบริเวณที่มีแสงแดดส่องถึง โดยมีอุณหภูมิสูงกว่า 32 องศาเซลเซียส ตัวเต็มวัยของตั๊กแตนไผ่ ชอบอาศัยอยู่ในพื้นที่ที่มีอากาศค่อนข้างเย็น ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยมีการแพร่กระจายเป็นกลุ่ม ตัวอ่อนในระยะสุดท้ายเริ่มมีการอพยพเคลื่อนย้ายเป็นกลุ่มใหญ่

วัตถุประสงค์ของการทดลอง เพื่อทราบสถานภาพ ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และแนวทางการวินิจฉัยของตั๊กแตนไผ่ *Ceracris kiangsu* Tsai ในประเทศไทย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. กับดักแมลงประกอบไปด้วย กับดักแสงไฟ (Light trap) กับดักถ้วยสีเหลือง (Yellow pan trap) กับดักมุ้ง (Malaise trap และ Slam trap) รวมทั้งสวิงจับแมลง
2. ขวดฆ่าแมลง (killing jar) ซึ่งบรรจุน้ำยาเอททิล อะซิเตด (ethyl acetate)
3. อุปกรณ์สำหรับจัดรูปร่างแมลงเช่น เข็มสแตนเลส กระดาษลอกลาย
4. ethanol ความเข้มข้น 95% เพื่อใช้ในการจัดเก็บตัวอย่างสดของแมลง
5. กระดาษคุณภาพสูง (acid free) เพื่อการเก็บรักษาตัวอย่างแห้งในระยะยาว
6. อุปกรณ์บันทึกเขตการแพร่กระจายในระดับละเอียด (GPS)
7. Forceps ขนาดเล็ก
8. ขวดแก้วขนาดเล็กสำหรับตัวอย่างสด
9. กล้องจุลทรรศน์ stereo microscope กำลังขยายมากกว่า 50 เท่าขึ้นไป
10. สารเคมีในการทำแห้งตัวอย่างแมลง
11. โรงเรือนทดลองกรณีจำเป็นต้องเลี้ยงตั๊กแตน
12. กล้องจุลทรรศน์สเตริโอแบบกำลังขยายสูงสำหรับงานทางอนุกรมวิธานแมลง Leica M205 C พร้อมเลนซ์ Planapo Objective 1.0x สำหรับการถ่ายภาพเพื่อตีพิมพ์ในเอกสารวิชาการ

วิธีการ

ดำเนินการสำรวจตามคำแนะนำในการสำรวจศัตรูพืชในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิกซึ่งเป็นคู่มือการสำรวจขององการการอารักขาพืชแห่งชาติ (NPPO) และจาก ISPM no.6

1. ศึกษารายละเอียดของศัตรูพืช ชื่อ วงจรชีวิต เขตการแพร่กระจาย ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และแนวทางการวินิจฉัย รายละเอียดของพืชอาศัย โดยการสืบค้นข้อมูลทั้งในประเทศและต่างประเทศ

2. จัดทำคู่มือการวินิจฉัยชนิดศัตรูพืชรูปภาพของศัตรูพืชและพืชอาศัยลักษณะการทำลาย สำหรับเจ้าหน้าที่และนักวิชาการที่เกี่ยวข้อง

3. ระบุพื้นที่ที่ดำเนินการสำรวจ โดยสำรวจตัวอย่างแบบสุ่มในพื้นที่ปลูกพืชไร่ใบเลี้ยงเดี่ยวที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจได้แก่ อ้อย ข้าวโพด ข้าวฟ่าง และพืชอาหารของตั๊กแตนไผ่ได้แก่ ไผ่ และธัญพืช โดยสำรวจจังหวัดละ 10 % ของพื้นที่ในแต่ละภาคที่มีการปลูกพืชเหล่านี้ ได้แก่จังหวัด เชียงราย น่าน พะเยา เชียงใหม่ แม่ฮ่องสอน แพร่ ลำพูน อุตรดิตถ์ พิษณุโลก สุโขทัย เพชรบูรณ์ พิจิตร กำแพงเพชร นครสวรรค์ ลพบุรี ชัยนาท อุทัยธานี สิงห์บุรี อ่างทอง สระบุรี พระนครศรีอยุธยา สุพรรณบุรี นครนายก ปทุมธานี นนทบุรี นครปฐม สมุทรปราการ สมุทรสาคร สมุทรสงคราม หนองคาย นครพนม สกลนคร อุดรธานี หนองบัวลำภู เลย มุกดาหาร กาฬสินธุ์ ขอนแก่น อำนาจเจริญ ยโสธร ร้อยเอ็ด มหาสารคาม ชัยภูมิ นครราชสีมา บุรีรัมย์ สุรินทร์ ศรีสะเกษ อุบลราชธานี สระแก้ว ปราจีนบุรี ฉะเชิงเทรา ชลบุรี ระยอง จันทบุรี ตราด ตาก กาญจนบุรี ราชบุรี เพชรบุรี

4. แนวทางการเก็บตัวอย่าง

การเดินสำรวจใช้สวิงจับแมลงและใช้มือเก็บตัวอย่าง หลังจากได้ตัวอย่างตั๊กแตนแล้ว ดำเนินการฆ่าโดยใช้ขวดฆ่า (killing jar) ซึ่งบรรจุน้ำยาเอททิล อะซิเตด (ethyl acetate) หลังจากนั้นห่อตัวอย่างตั๊กแตนที่ตายแล้วด้วยกระดาษลอกลาย บิดหัวท้ายลักษณะคล้ายท็อฟฟี่ เก็บตัวอย่างลงกล่องพลาสติกใส่แมลง นำกล่องใส่ตัวอย่างใส่ไว้ในกล่องรักษาความเย็นอีกชั้นเพื่อป้องกันไม่ให้ตัวอย่างเน่าเสียหาย หลังจากนั้นเก็บรักษาตัวอย่างในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส รอเพื่อจัดรูปร่างและทำตัวอย่างแห้งต่อไป

การจัดรูปร่างตั๊กแตนเพื่อศึกษาด้านอนุกรมวิธานแมลง นำตัวอย่างตั๊กแตนจัดรูปร่าง บนไม้จัดรูปร่าง (setting board) โดยจัดให้มีรูปร่างเหมือนลักษณะในธรรมชาติ การจัดวางขาและหนวดอยู่ในลักษณะสมมาตรเหมือนกันทั้งสองข้าง หลังจากนั้นนำไปอบให้แห้งในตู้อบ (oven) ปรับอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 15-30 วัน ขึ้นกับขนาดตัวอย่าง การศึกษาครั้งนี้นอกจากตัวอย่างตั๊กแตนที่ได้จากการสำรวจแล้ว ยังใช้ตัวอย่างที่มีอยู่เดิมในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตรด้วย รวมถึงตัวอย่างที่ได้รับจากนักวิชาการหรือจากผู้มาขอรับบริการตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิดจากหน่วยต่างๆ ภายในกรมวิชาการเกษตร

การตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิด โดยดูลักษณะภายนอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด Stereo microscope แล้วบันทึกรายละเอียดต่างๆ ลักษณะโครงสร้างทางสัณฐานวิทยาที่สำคัญเช่น สี ขนาดลำตัว ลักษณะและตำแหน่งของแหนมแหลมบนลำตัว โดยตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานด้วยการใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยชนิด ประกอบกับการเปรียบเทียบตัวอย่างแมลงที่ได้จำแนกแล้วในพิพิธภัณฑ์ ดำเนินการจัดจำแนกในระดับอันดับ (order) และวงศ์ (family) โดยใช้แนวทางการวินิจฉัยของ Triplehorn & Johnson (2005) นับจำนวนของแมลงในแต่ละอันดับในแต่ละครั้งที่ทำการเก็บตัวอย่าง ทั้งนี้เพื่อศึกษาถึงศักยภาพของกับดัก วิธีการเก็บแมลง แมลงในกลุ่มเป้าหมาย Orthoptera การจัด

หมวดหมู่ในระดับ สกุลและชนิดใช้แนวทางการวินิจฉัยประกอบจาก Roffey (1979) และ Centre for overseas pest research (1982) ทั้งนี้ได้รับความร่วมมือจากนักวิจัยด้านตั๊กแตนจากประเทศสหรัฐอเมริกา ช่วยในการตรวจวินิจฉัยชนิด หลังจากนั้นดำเนินการถ่ายภาพใต้กล้อง stereo microscope ใช้โปรแกรมการถ่ายภาพ AutoMontage หรือ Cartograph extended-focus โดยใช้ JVC KY-F75U digital camera, Leica Z16 APOA

5. หลังจากจำแนกชนิดลงบันทึกรายละเอียดในป้ายตัวอย่าง (specimen label) ขนาด 1x2 เซนติเมตร ซึ่งประกอบด้วย แหล่งที่เก็บ พิกัดทางภูมิศาสตร์ วัน เดือน ปี ที่เก็บตัวอย่าง เทคนิคการเก็บตัวอย่าง ชื่อผู้เก็บตัวอย่าง นำป้ายดังกล่าวติดไว้ใต้ตัวอย่าง พร้องบันทึกรายละเอียดในฐานข้อมูลในโปรแกรม Excel จัดเก็บรักษาตัวอย่างในพิพิธภัณฑ์แมลง เพื่อเป็นตัวอย่างอ้างอิง (Voucher Specimens)

6. สรุปและรายงานผล สถานภาพศัตรูพืช (pest report)

7. หากมีการพบตัวอย่าง มีมาตรการในการทำลายอย่างรวดเร็วคือ ดำเนินการฆ่าโดยใช้ขวดฆ่า (killing jar) ซึ่งบรรจุน้ำยาเอททิล อะซิเตด (ethyl acetate) หลังจากนั้นรายงานต่อองการการอารักขาพืชแห่งชาติ (NPPO)

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

- บันทึกข้อมูลรายละเอียดแต่ละตัวอย่างที่เก็บได้ ประกอบด้วย แหล่งที่เก็บ พิกัดทางภูมิศาสตร์ พืชอาศัย วัน เดือน ปี ที่เก็บตัวอย่าง เทคนิคการเก็บตัวอย่าง ชื่อผู้เก็บตัวอย่าง เป็นต้น
- การลงทะเบียนในระบบฐานข้อมูลตั๊กแตนในประเทศไทยโดย ตัวอย่างแต่ละตัวอย่างมีรายละเอียดแยกกันอย่างชัดเจน (specimen barcode) หากมีการค้นพบชื่อวิทยาศาสตร์ชนิดใหม่ ดำเนินการตีพิมพ์และขึ้นทะเบียนกับ IZCN-Zoobank (Polaszek et al. 2005)
- รูปแบบการเขียนตีพิมพ์ผลงานวิจัย (taxonomic description) ดำเนินการตามแบบมาตรฐานของ Pyle *et al*. (2008)
- เก็บรักษาตัวอย่างแมลงทั้งตัวอย่างสดและตัวอย่างแห้ง ณ พิพิธภัณฑ์แมลง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

รูปร่างลักษณะและชีวประวัติ

ตั๊กแตนไผ่อยู่ในสกุล *Ceracris* (Aridiidae: Orthoptera) เป็นตั๊กแตนหนวดสั้นอยู่ในวงศ์ย่อย Acridinae ซึ่งมีหนวดเป็นแบบเส้นด้าย (filiform) หนวดค่อนข้างยาว ยาวกว่าส่วนอกและส่วนท้องรวมกัน ปัจจุบันตั๊กแตนไผ่ *Ceracris* มีอยู่ 13 ชนิดทั่วโลก ได้แก่ *C. amplicornis* Cao, Dang & Yin, 2019;

C. chuannanensis Ou, Zheng & Chen, 1995; *C. deflorata* (Brunner von Wattenwyl, 1893); *C. fasciata* (Brunner von Wattenwyl, 1893); *C. hainanensis* Liu & Li, 1995; *C. hoffmanni* Uvarov, 1931; *C. jianfenglingensis* Feng, Qiao & Yin, 2018; *C. jiangxiensis* Wang, 1992; *C. kiangsu* Tsai, 1929; *C. nigricornis* Walker, 1870; *C. pui* Liang, 1988; *C. striata* Uvarov, 1925; *C. versicolor* (Brunner von Wattenwyl, 1893); *C. xizangensis* Liu, 1981 (Cigliano *et al*., 2021) อย่างไรก็ตาม Roffey (1979) ได้รายงานว่าพบในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้จำนวน 7 ชนิดและพบในประเทศไทยเพียงแค่ 3 ชนิดได้แก่ *C. kiangsu* Tsai, *C. fasciata* (Brunner von Wattenwyl) และ *C. nigricornis* Walker ซึ่งแต่ละชนิดสามารถจำแนกได้โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาดังนี้

C. kiangsu หนวดเป็นแบบเส้นด้ายค่อนข้างยาว ในเพศผู้มีความยาวหนวดเป็นสองเท่าของความยาวส่วนหัวและส่วนอกรวมกัน ในเพศเมียมีความยาวเท่ากับความยาวส่วนหัวและอกรวมกัน แผ่นนูนด้านข้างอกปล้องแรก (lateral carina of pronotum) ไม่เป็นปื้นสีดำ (Figure 4.) *C. fasciata* ความยาวของหนวดมีขนาดสั้นกว่า *C. kiangsu* ด้านข้างอกปล้องแรกมีปื้นสีดำตรงฐาน ปลายหนวดมีสีขาว กล้ามขาหลัง (hind femur) ไม่มีแถบสีดำ *C. nigricornis* หนวดมีขนาดสั้นกว่า *C. kiangsu* ด้านข้างอกปล้องแรกมีปื้นสีดำตรงฐาน หนวดมีสีดำหรือปลายหนวดมีสีดำ กล้ามขาหลัง (hind femur) มีแถบสีดำเห็นชัดเจน

ลักษณะตัวเต็มวัยตั๊กแตนไผ่ มีขนาดกลางค่อนข้างหนา ขนาดความยาวลำตัวจากส่วนหัวถึงส่วนท้องปล้องสุดท้ายโดยเฉลี่ยในเพศผู้มีความยาว 18 – 25 มิลลิเมตร ส่วนเพศเมียมีความยาวลำตัว 31 – 40 มิลลิเมตร เมื่อมองจากด้านข้างลำตัว ส่วนหัวสูงกว่าอกปล้องแรก (Pronotum) เมื่อมองจากด้านบนส่วนหน้าผาก (fastigium vertex) ยื่นไปทางด้านหน้า (Figure 2 – 4) หนวดมีลักษณะเป็นเส้นด้ายมีขนาดค่อนข้างยาว ในเพศผู้มีความยาวมากกว่า 2 เท่าของความยาวส่วนหัวและอกรวมกันในเพศเมียหนวดยาวเป็น 2 เท่า ของความยาวหัวและอก ส่วนกลางอกปล้องแรกคอดเข้าหาลำตัว และค่อยขยายออกส่วนกลางอกเมื่อมองจากด้านบน (median carina) มีรอยหยักตัดผ่านตามขวาง 3 รอย รอยหยักสุดท้ายมีความลึกมากที่สุด (Figure 3) แผ่นนูนด้านข้างจางมองเห็นไม่ชัดเจน ปีกคู่หน้ามีลักษณะแคบและยาวขยายไปจนถึงขาคู่หลัง (Figure 1,2) ปีกคู่หลังพัฒนาอย่างสมบูรณ์ ลำตัวสีเขียวขุ่นทึบ เมื่อมองจากด้านบน เห็นแถบสีส้มเหลืองอยู่ตรงกลางของอกทั้งสามปล้องเห็นได้อย่างชัดเจน แถบมีลักษณะแคบและค่อยขยายขึ้นจากอกปล้องแรก จนถึงปล้องสุดท้าย ด้านหลังของปีกคู่หน้ามีสีเขียวหม่นและค่อยๆจางลงมาทางด้านหน้าของปีก ข้อเข่าของขาคู่หลังมีสีดำและถัดมามีแถบสีเหลืองสลับดำ (Figure 2, 3)

มีรายงานว่าพบแมลงชนิดนี้วางไข่จำนวนมากใต้ผิวดิน ไข่ของตั๊กแตนชนิดนี้จะฟักในบริเวณที่มีแสงแดดส่องถึง โดยมีอุณหภูมิสูงกว่า 32 องศาเซลเซียส ฝักไข่มีขนาดปานกลางยาวประมาณ 23 – 35 มิลลิเมตร แต่ละฝักมีไข่ 19 – 31 ฟอง ตัวอ่อนมี 5 ระยะ (Peng 1958; Roffey, 1979) ตัวเต็มวัยชอบ

อาศัยอยู่ในพื้นที่ที่มีอากาศค่อนข้างเย็น ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยมีการแพร่กระจายเป็นกลุ่ม ตัวอ่อนในระยะที่ 4 – 5 เริ่มมีการอพยพเคลื่อนย้ายเป็นกลุ่มใหญ่ซึ่งเป็นระยะที่เริ่มสร้างความเสียหายให้กับพืชได้ ระยะตัวเต็มวัยจะสร้างความเสียหายได้กว้างขวางและรุนแรงที่สุด ถึงแม้ขณะนี้ยังไม่มีรายงานการระบาดสร้างความเสียหายภายในประเทศไทย แต่อย่างไรก็ตามตั๊กแตนชนิดนี้อาจจะมีโอกาสเข้ามาแพร่ระบาดสร้างความเสียหายในประเทศไทยได้ ตั๊กแตนไผ่ มีวงจรชีวิตแบ่งเป็น 4 ระยะ คือ ระยะไข่ พบตั๊กแตนชนิดนี้วางไข่ใต้ผิวดินในช่วงเดือนมกราคมถึงเมษายน ระยะตัวอ่อนซึ่งมี 5 ระยะ พบในช่วงเดือนพฤษภาคมถึงกรกฎาคม ระยะนี้ใช้เวลาประมาณ 46 – 69 วัน หลังจากนั้นจะลอกคราบเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัยเริ่มจากเดือนสิงหาคมถึงกันยายน ใช้ระยะเวลาประมาณ 40 วัน และจะกลับมาวางไข่อีกครั้งในเดือนตุลาคมถึงธันวาคม ไข่จะฟักเมื่ออุณหภูมิและสภาวะแวดล้อมเหมาะสม

นิเวศวิทยาและเขตการแพร่กระจาย

เขตการแพร่กระจาย ตั๊กแตนชนิดนี้ พบแพร่กระจายอย่างกว้างขวางบริเวณพื้นที่ป่าไผ่ ทางตอนใต้ของประเทศจีน ด้านตะวันออกเฉียงใต้ของมณฑลแจงสี บริเวณทางลาดเชิงเขา มีความสูงจากระดับน้ำทะเล 300 – 400 เมตร บางครั้งพบในพื้นที่มีความสูงกว่าระดับน้ำทะเลถึง 780 เมตร ตั๊กแตนกลุ่มนี้เป็นแมลงที่ชอบอากาศค่อนข้างเย็น ที่อุณหภูมิสูงกว่า 32 องศาเซลเซียสตัวอ่อนและตัวเต็มวัยจะย้ายไปในที่ร่มเพื่อหลบแสงแดด ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยออกหาอาหารเป็นกลุ่ม ก่อนเข้ามาระบาดใน สปป.ลาวและเวียดนาม Roffey (1979) ได้รายงานเขตการแพร่กระจายของตั๊กแตนชนิดนี้ โดยมีการระบาดในประเทศจีนมณฑลเกียงสู หูเป่ย ซีเกียง ฝูเจียน กวางตุ้ง เกียงสี หูหนาน เสฉวน และบริเวณที่ปลูกไผ่ทางตอนใต้ของแม่น้ำแยงซี ประเทศอินเดียเมืองอัสสัม และรัฐมณีปุระ ในประเทศไทยพบตั๊กแตนชนิดนี้ที่จังหวัดเชียงใหม่และสุพรรณบุรี ตัวอ่อนในระยะสุดท้ายและตัวเต็มวัยเริ่มมีการอพยพเคลื่อนย้ายเป็นกลุ่มใหญ่ซึ่งเป็นระยะที่เริ่มสร้างความเสียหายให้กับพืช ระยะตัวเต็มวัยจะสร้างความเสียหายได้กว้างขวางและรุนแรงที่สุด นอกจากพืชกลุ่มไผ่แล้วแมลงชนิดนี้ยังเป็นศัตรูพืชที่สำคัญของธัญพืช ได้แก่ ข้าว ข้าวโพด ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ลูกเดือย เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบว่าสามารถเข้าทำลายพืชตระกูลปาล์มและพืชล้มลุกบางชนิด ถึงแม้ขณะนี้ยังไม่มีรายงานการระบาดสร้างความเสียหายภายในประเทศไทย แต่อย่างไรก็ตามตั๊กแตนชนิดนี้อาจจะมีโอกาสเข้ามาแพร่ระบาดสร้างความเสียหายในประเทศไทยได้ กรมวิชาการเกษตรจึงได้วางแผนที่จะทำการสำรวจเฝ้าระวังเพื่อกำหนดแนวทางการป้องกันการเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศไทย

การป้องกันกำจัด

กรมวิชาการเกษตรได้กำหนดมาตรการ การป้องกันกำจัดตั๊กแตนไผ่ ในกรณีพบระบาดในประเทศไทย กล่าวคือ ดำเนินการวางกับดักเหยื่อพิษ (ประกอบด้วยสารฆ่าแมลง fipronil 5% SC 100 มล. :กากน้ำตาล 100 มล. : น้ำ 1,000 มล.) นำกระดาษกรองขนาดประมาณ 15 x 20 ซม. ชุบสารละลายเหยื่อพิษ ผึ่งลมให้แห้ง แล้วนำไปติดบนใบพืช ถ้าพบว่ามีตั๊กแตนไผ่ในระยะตัวเต็มวัยติดกับดัก

จำนวนมากกว่า 10 ตัว/กับดัก ทำการป้องกันกำจัดโดยใช้สารฆ่าแมลงชนิดใดชนิดหนึ่งดังต่อไปนี้ 1) อีโทเฟนพรอกซ์ (Etofenprox) 20% EC อัตรา 40 มล./น้ำ 20 ลิตร หรือ 2) เดลทาเมทริน (Deltamethrin) 3% EC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร หรือ 3) แลมป์ดาไซฮาโลทริน (Lambda cyhalothrin) 2.5% EC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร

รายงานความก้าวหน้าการสำรวจและเฝ้าระวัง

สำรวจเก็บตัวอย่างในพื้นที่ภาคเหนือและภาคกลาง ได้แก่ เชียงใหม่ เชียงราย พะเยา น่าน สมุทรปราการ สมุทรสาคร สมุทรสงคราม เป็นต้น ได้ตัวอย่างตั๊กแตนรวมทั้งสิ้น 60 ตัวอย่าง วินิจฉัยชนิดของตั๊กแตนได้ 5 ชนิดได้แก่ 1) *Acrida willemsei* 2) *Oxya hyla* 3) *Hieroglyphus banian* 4) *Atractomorpha crenulata* 5) *Phlaeoba antennata* ไม่พบตั๊กแตนไผ่ *Ceracris kiangsu* ได้ชุดข้อมูลรายละเอียดของตั๊กแตนไผ่ วงจรชีวิต การแพร่กระจาย วินิจฉัยลักษณะ ตีพิมพ์ในบทความวิชาการวารสารกีฏและสัตววิทยา จำนวน 1 บทความ ได้คู่มือการวินิจฉัยตั๊กแตนไผ่ ตั๊กแตนหนวดสั้นวงศ์ Acrididae จำนวน 1 ชุดข้อมูล

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

สำรวจเก็บตัวอย่างในพื้นที่ภาคเหนือและภาคกลาง ได้แก่ เชียงใหม่ เชียงราย พะเยา น่าน สมุทรปราการ สมุทรสาคร สมุทรสงคราม เป็นต้น ได้ตัวอย่างตั๊กแตนรวมทั้งสิ้น 60 ตัวอย่าง วินิจฉัยชนิดของตั๊กแตนได้ 5 ชนิดได้แก่ 1) *Acrida willemsei* 2) *Oxya hyla* 3) *Hieroglyphus banian* 4) *Atractomorpha crenulata* 5) *Phlaeoba antennata* ไม่พบตั๊กแตนไผ่ *Ceracris kiangsu* ได้ชุดข้อมูลรายละเอียดของตั๊กแตนไผ่ วงจรชีวิต การแพร่กระจาย วินิจฉัยลักษณะ ตีพิมพ์ในบทความวิชาการวารสารกีฏและสัตววิทยา จำนวน 1 บทความ ได้คู่มือการวินิจฉัยตั๊กแตนไผ่ ตั๊กแตนหนวดสั้นวงศ์ Acrididae จำนวน 1 ชุดข้อมูล ซึ่งเมื่อเสร็จสิ้นการทดลองผลลัพธ์ที่ได้คือ กลุ่มวิจัยกักกันพืชสามารถนำชุดข้อมูลการวินิจฉัยชนิดของตั๊กแตนไผ่ ใช้ทั้งประกอบการเจรจาการค้าระหว่างประเทศ รวมถึงเป็นข้อมูล ให้หน่วยงานราชการดำเนินการสำรวจ และเฝ้าระวังแมลงศัตรูพืชชนิดนี้ต่อไปในอนาคต ส่งผลกระทบที่สำคัญด้านเศรษฐกิจคือ ได้ฐานข้อมูล การแพร่กระจาย และสถานภาพของตั๊กแตนไผ่ประกอบการเจรจาการค้าระหว่างประเทศ ทำให้สามารถส่งสินค้าเกษตร หรือต่อรองกับประเทศคู่ค้าสร้างรายได้ทางเศรษฐกิจให้กับประเทศ

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

แนวทางการนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์เมื่อเสร็จสิ้นโครงการสามารถระบุได้ถึง แนวทางวิธีการถ่ายทอด กลุ่มเป้าหมาย ระยะเวลาในการใช้ประโยชน์ และสถานที่ดังนี้

วิธีการถ่ายทอด	กลุ่มเป้าหมาย	ระยะเวลา	สถานที่
1. ความหลากชนิดของตั๊กแตนไผ่ศัตรูพืชเฝ้าระวังที่สำคัญของประเทศไทย โดยการเสวนา บรรยายพิเศษ และจัดพิมพ์เอกสารวิชาการประกอบการบรรยาย	นักวิชาการ นักวิชาการด้านกักกันพืช หน่วยงานราชการเช่น กรมส่งเสริมการเกษตร นิสิตนักศึกษา ประชาชนที่เกี่ยวข้อง	เมื่อสิ้นสุดโครงการ	กรมวิชาการเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร มหาวิทยาลัยด้านการเกษตร
2. เว็ปไซด์และฐานข้อมูล แนวทางการวินิจฉัยชนิดของตั๊กแตนไผ่ในประเทศไทย	บุคคลทั่วไป	เมื่อสิ้นสุดโครงการ	กรมวิชาการเกษตร ระบบ on-line
3. จัดทำเป็นหนังสือหรือเอกสารวิชาการ เรื่อง ตั๊กแตนไผ่ศัตรูพืชเฝ้าระวังและการวินิจฉัยชนิด	เกษตรกร นักวิชาการ นักเรียนนักศึกษาและผู้สนใจทั่วไป	เมื่อสิ้นสุดโครงการ	กรมวิชาการเกษตร
4. จัดทำเป็นเอกสารผลงานวิจัยเรื่องเต็ม หรือตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสารวิชาการ	นักวิชาการ นักวิจัย และบุคคลผู้สนใจทั่วไป	เมื่อสิ้นสุดโครงการ	กรมวิชาการเกษตร
5. จัดทำเอกสาร แผ่นพับ สรุปและเข้าใจง่าย	เกษตรกร และบุคคลที่สนใจทั่วไป	เมื่อสิ้นสุดโครงการ	กรมวิชาการเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตรและหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง
6. จัดทำผลงานวิจัยเพื่อนำเสนอในการประชุมวิชาการ	นักวิชาการ นักเรียน นักศึกษา และบุคคลที่สนใจ	เมื่อสิ้นสุดโครงการ	กรมวิชาการเกษตร และหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง

เอกสารอ้างอิง

Centre for overseas pest research. 1982. *The Locust and Grasshopper Agricultural Manual.* Hobbs the printers of Southampton, Great Britain, United Kingdom. 690 pp.

Cigliano, M.M., H. Braun, D.C. Eades & D. Otte. Orthoptera Species File. Version 5.0/5.0. Available at: http://orthoptera.speciesfile.org/Common/basic/Taxa.aspx?TaxonNameID =1103966. Access: November 25, 2021

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2020. Emergency assistance to strengthen regional response in the management of yellow-spined bamboo locust (*Ceracris kiangsu*). Rome, Italy T C P /R AS /3607.

Peng C. W. 1958. Biological note on the bamboo locust (*Ceracris kiangsu* Tsai) of Hunan, Chaina. Acta oecon. ent. sin. 1: 188 – 200.

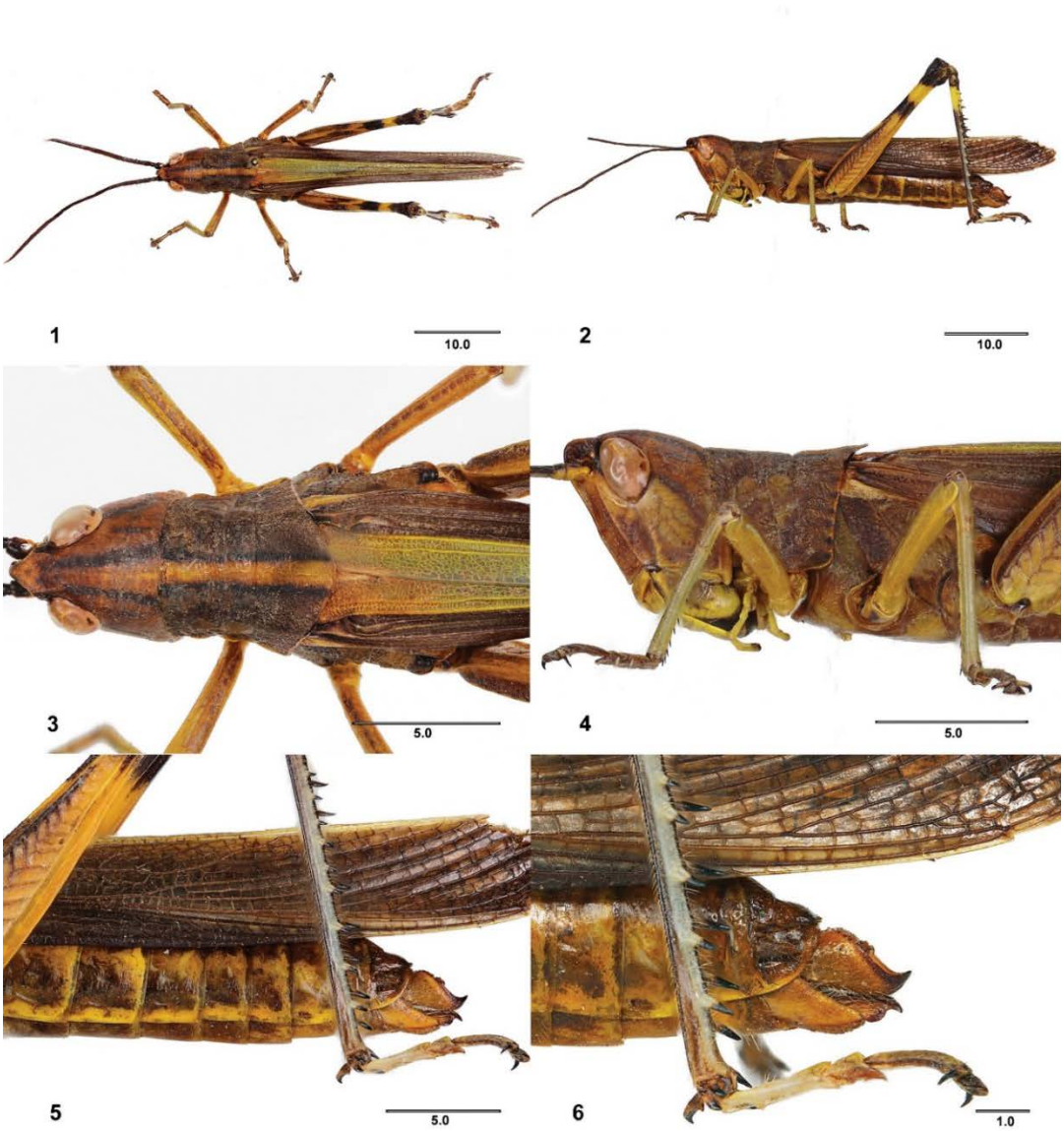
Pyle, R.L., J.L. Earle and B.D. Greene. 2008. Five new species of the damselfish genus *Chromis* (Perciform es: Labroidei: Pomacentridae) from deep coral reefs in the tropical western Pacific. *Zootaxa.* 1671: 3–31.

Roffey, J. 1979. Locusts and grasshoppers of economic importance in Thailand. *Anti-Locust Mem*. no. 14: 200 pp.

Triplehorn, C.A. and N.F. Johnson. 2005.*Borror and Delong's Introduction of the Study of Insects 7th edition.* United State of America. 864 pp.

กองกีฏและสัตววิทยา. 2544. คู่มือตรวจแมลงไรและสัตว์ศัตรูพืชเศษฐกิจ. เอกสารวิชาการ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 275 หน้า

ณัฐกฤติ พิทักษ์. 2547. แมลงศัตรูอ้อยและการป้องกันกำจัด หน้า 57 – 117 *ใน* เฉลิม ไหลรุ่งเรือง อุดม เลียบวัน อรรถลิทธิ์ บุญธรรม ประพันธ์ ประเสริฐศักดิ์ วันทนีย์ อู่วานิชย์ ณัฐกฤติ พิทักษ์ วิลลิภา สุชาโต สมศักดิ์ ทองศรี และตุลย์ อินทรัมพรรย์ *เอกสารวิชาการอ้อย*. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพมหานคร.147 หน้า.



FIGURES 1–6 *Ceracris kiangsu* Tsai, male (EMBT ENT 0006599). 1, Dorsal habitus; 2, Lateral habitus; 3, Head and thorax, dorsal view; 4, Head and thorax, lateral view; 5, Abdominal segments, lateral view; 6, Cercus and subgenital plate, lateral view. Scale bars in millimeters

การสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช *Raphanus raphanistrum* ของกะหล่ำปลีในประเทศไทย

Survey and Surveillance of *Raphanus raphanistrum* of Cabbage in Thailand

ชุติมา อ้อมกิ่ง[1/] วานิช คำพานิช[1/] อัณศยา พรมมา[2/]
ดนัย ชัยเรือนแก้ว[1/] ธิดาวรรณ ชมเดช[1/]
พรรณิภา เปชัยศรี[1/]
[1/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

วัชพืช *Raphanus raphanistrum* เป็นศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานในประเทศไทยและเป็นศัตรูพืชกักกัน ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2550) และ เพื่อยืนยันสถานภาพของวัชพืช *Raphanus raphanistrum* ในประเทศไทย จึงดำเนินการสำรวจวัชพืช *R. raphanistrum* แบบเฉพาะเจาะจง ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (surveillance: ISPM No.6) (FAO, 2018) และคำแนะนำในการสำรวจศัตรูพืชในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก (McMaugh, 2008) ในแหล่งปลูกกะหล่ำปลีซึ่งเป็นพืชอาศัยหลักของวัชพืช จำนวน 5 จังหวัด 33 แหล่งปลูก ได้แก่ จังหวัดเชียงราย พะเยา ขอนแก่น นครปฐม และประจวบคีรีขันธ์ เมื่อสุ่มเก็บตัวอย่างมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ ระหว่างการศึกษาตรวจแล้วไม่พบวัชพืช *Raphanus raphanistrum*

คำหลัก: สำรวจ สถานภาพ กำหล่ำปลี วัชพืช *Raphanus raphanistrum*

รหัสการทดลอง FF65-55-06-65-00-11-65

คำนำ

ประเทศไทยมีการนำเข้ากะหล่ำปลี (Cabbage; *Brassica oleracea L. var. capitata L.*) จากหลายประเทศทั่วโลกเพื่อใช้ในปลูกขยายพันธุ์ ผลิตพ่อ-แม่พันธุ์ และบริโภคผลสดจึงมีความเสี่ยงที่วัชพืช *Raphanus raphanistrum* จะติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าได้ จึงจำเป็นต้องมีการสำรวจสถานภาพของวัชพืช *Raphanus raphanistrum* ในพื้นที่ปลูกกะหล่ำปลีของประเทศไทยเพื่อเป็นการยืนยันสถานภาพจึงมีความจำเป็นที่จะต้องมีการสำรวจเพื่อเฝ้าระวังศัตรูพืชชนิดนี้ในพื้นที่ปลูกกะหล่ำปลีของประเทศอย่างเป็นระบบตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (surveillance: ISPM No.6) (FAO, 2018) และคำแนะนำในการสำรวจศัตรูพืชในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก (McMaugh, 2008) เพื่อเป็นข้อมูลในการสนับสนุนการออกประกาศเรื่องการปลอดศัตรูพืช การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชและการรายงานศัตรูพืชอีกด้วย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. คู่มือ เอกสาร หนังสือ วารสาร

2. อุปกรณ์ในการสุ่มเก็บตัวอย่าง เช่น กรรไกร มีด เสียม หรือพลั่ว สำหรับตัด/ขุด ตัวอย่างพืช แผงอัดตัวอย่างพรรณไม้พร้อมกระดาษฟูก ฟองน้ำและหนังสือพิมพ์ พร้อมเชือกไส้ตะเกียงและป้ายชื่อสำหรับผูกตัวอย่างพืช กระดาษติดตัวอย่างพืช ขวดแก้ว และน้ำยาสำหรับดองตัวอย่างพืช (หากจำเป็น) เครื่องวัดพิกัดภูมิศาสตร์ (GPS) และสมุดบันทึก

3. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น น้ำยาชุบตัวอย่างวัชพืช ประกอบด้วย ฟีนอล เมอคิวริคคลอไรด์ เอทธิลอัลกอฮอล์

วิธีการ

1. สืบค้นข้อมูล

- สืบค้นข้อมูลลักษณะของวัชพืช *Raphanus raphanistrum* ได้แก่ รายละเอียดของวัชพืช ชื่อพ้อง ชื่อวิทยาศาสตร์ และลักษณะทางพฤษศาสตร์ การแพร่ระบาด สภาพนิเวศน์ที่มักพบวัชพืชเหล่านี้พร้อมรูปภาพ

- สืบค้นข้อมูลพื้นที่ปลูกกะหล่ำปลีในประเทศ

2. จัดทำแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ

จัดทำเอกสารคู่มือสำหรับผู้ร่วมงานใช้ในการสำรวจภาคสนาม และสอบถามเกษตรกรในพื้นที่สำรวจ ประกอบภาพ ลักษณะต้น ใบ และดอก และสรุปผลกระทบของพืชนี้ ที่สามารถหาได้จากฐานข้อมูลของต่างประเทศที่สามารถเข้าถึงด้วยระบบเครือข่าย เช่น CABI, Plant Database USDA, invasive.org เป็นต้นตลอดจนรายละเอียดของวัชพืชอื่นๆที่มีลักษณะคล้ายกับวัชพืชเป้าหมาย และจัดทำแบบฟอร์มการสำรวจ เพื่อบันทึกข้อมูลสถานที่ วันที่เก็บ ข้อมูลพิกัดภูมิศาสตร์

3. การสำรวจ

กำหนดพื้นที่ โดยเป็นแหล่งปลูกกะหล่ำปลีในประเทศไทย เช่น ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (ขอนแก่น) ภาคเหนือ (เพชรบูรณ์ พิษณุโลก ตาก แม่ฮ่องสอน พะเยา เชียงใหม่ และเชียงราย เป็นต้น) ภาคกลาง (นครปฐม) และภาคใต้ (ประจวบคีรีขันธ์) วางแผนการสำรวจ อย่างมีระบบ สำรวจแบบเฉพาะเจาะจง โดยการสำรวจแบบตรวจหาตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (surveillance: ISPM No.6) ดำเนินการเดินสำรวจในพื้นที่ที่สามารถเข้าถึงด้วยรถยนต์หรืออยู่ในระยะที่เดินเข้าได้ โดยมีวัชพืช *Raphanus raphanistrum* เป็นพืชเป้าหมาย โดยเดินแบบซิกแซก รูป W ในพื้นที่ไม่น้อยกว่า 10% ของแปลงปลูกที่ทำการสำรวจเก็บตัวอย่างพืชที่พบ หากไม่สามารถระบุชนิดได้ เช่น มีลักษณะไม่ชัดเจน พืชยังไม่มีดอก หรือยังอยู่ในระยะต้นอ่อน เก็บตัวอย่างนำมาปลูกในเรือนทดลอง จนกว่าจะมีดอก หรือมีลักษณะที่สามารถระบุชนิดได้ ถ่ายภาพและจัดทำตัวอย่างแห้ง เพื่อใช้เป็นหลักฐานและเพื่อการตรวจสอบต่อไป

4. การตรวจสอบและจำแนกชนิดของเชื้อราที่ได้จากการเก็บตัวอย่าง

เนื่องจากไม่มีตัวอย่างแห้ง ทำการตรวจสอบตัวอย่างพืชที่รวบรวมได้ในภาคสนาม นำตัวอย่างมาศึกษาลักษณะโดยละเอียด เปรียบเทียบกับภาพ คำอธิบายลักษณะที่สามารถหาได้จากฐานข้อมูลที่สามารถเข้าถึงได้ด้วยระบบเครือข่าย เช่น CABI, USDA Plant Database, Oregon State University เป็นต้น

5. รวบรวมข้อมูลที่ได้จากการสำรวจและสรุปผลการทดลอง

การบันทึกข้อมูล โดยเก็บรวบรวมข้อมูลที่ได้ในรูป data sheet เพื่อใช้ในการวิเคราะห์สถานภาพศัตรูพืช จัดทำรายงานผลการวิจัย รวบรวมบันทึกข้อมูลจากการเฝ้าระวังของวัชพืช *Raphanus raphanistrum* ที่ทำการสำรวจในประเทศไทย ดังนี้

- พื้นที่ บันทึก ที่ตั้ง พิกัดภูมิศาสตร์ และระดับความสูงเฉลี่ยเหนือระดับน้ำทะเล สภาพนิเวศน์
- พืชปลูก บันทึกข้อมูล ชนิดของพืช
- ชนิดวัชพืชที่พบ บันทึกประเภท ลักษณะ ระยะการเจริญ การขยายพันธุ์ในพื้นที่ ปริมาณที่พบการกระจายในพื้นที่

6. สรุปผล และจัดทำรายงาน

รวบรวมข้อมูลการสำรวจและการจำแนกในห้องปฏิบัติการ วิเคราะห์สถานภาพศัตรูพืช ผลการวิจัยสถานภาพวัชพืช *Raphanus raphanistrum*

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาดำเนินการ : ระยะเวลาเริ่มต้น ตุลาคม 2564 - กันยายน 2567 (3 ปี)

สถานที่ดำเนินการ : 1) ห้องปฏิบัติการของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2) แหล่งปลูกกะหล่ำปลีในประเทศไทย

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสืบค้นข้อมูล พบว่า วัชพืช *Raphanus raphanistrum* เป็นศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานในประเทศไทยและเป็นศัตรูพืชกักกัน ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2550) วัชพืช *R. raphanistrum* เป็นสาเหตุของวัชพืชในเศรษฐกิจหลายชนิด เช่น กะหล่ำปลี คะน้า เป็นต้น วัชพืชชนิดนี้มีแหล่งแพร่กระจายดังนี้ อัฟกานิสถาน อาร์เมเนีย อาเซอร์ไบจาน ภูฏาน จีน จอร์เจีย อิหร่าน อิรัก อิสราเอล ญี่ปุ่น จอร์แดน เลบานอน เกาหลีใต้ ซีเรีย ตุรกี แอลเบเนีย ออสเตรีย เบลารุส เบลเยียม บอสเนียและเฮอร์เซโกวีนา บัลแกเรีย โครเอเชีย ไซปรัส เชคโกสโลวาเกีย สหพันธ์สาธารณรัฐยูโกสลาเวีย เดนมาร์ก เอสโตเนีย ฟินแลนด์ ฝรั่งเศส (คอร์ซิกา) เยอรมนี กรีซ ฮังการี ไอซ์แลนด์ ไอร์แลนด์ อิตาลี ลัตเวีย ลิทัวเนีย ลักเซมเบิร์ก มอลโดวา เนเธอร์แลนด์ นอร์เวย์ โปแลนด์ โปรตุเกส (อะซอเรส) โรมาเนีย รัสเซีย สโลวาเกีย สโลวีเนีย สเปน (หมู่เกาะแบลีแอริก หมู่เกาะคานารี) สวีเดน สวิตเซอร์แลนด์ ยูเครน สหราชอาณาจักร แคนาดา ฮอนดูรัส เม็กซิโก สหรัฐอเมริกา (แอละแบมา แคลิฟอร์เนีย คอนเนตทิคัต เดลาแวร์ ฟลอริดา จอร์เจีย ฮาวาย อิลลินอยส์ อินดีแอนา เคนทักกี แมริแลนด์ แมสซาชูเซตส์ มิชิแกน มินนิโซตา นิวแฮมป์เชียร์ นิวเจอร์ซีย์ นิวยอร์ก นอร์ทแคโรไลนา โอไฮโอ , เพนซิลเวเนีย โรดไอส์แลนด์ เซาท์แคโรไลนา เทนเนสซี เวอร์มอนต์ เวอร์จิเนีย เวสต์เวอร์จิเนีย วิสคอนซิน) ออสเตรเลีย (นิวเซาท์เวลส์ ควีนส์แลนด์ เซาท์ออสเตรเลีย แทสมาเนีย เวสเทิร์นออสเตรเลีย) นิวซีแลนด์ อาร์เจนตินา โบลิเวีย บราซิล (ดิสทริโต เฟเดอรัล, เอสปิริโต ซานโต, โกยาส, มาตู กรอสโซ โด ซุล, มินาส เกไรส์, ปารานา, ริโอ เดอจาเนโร, ริโอ กรันเด โดซุล, ซานตากาตารีนา, เซาเปาโล), ชิลี, โคลอมเบีย, เอกวาดอร์, ปารากวัย, เปรู, อุรุกวัย เฟรนช์เซาเทิร์นเทร์ริทอรีส์ แอลจีเรีย อียิปต์ เอธิโอเปีย เคนยา ลิเบีย โมร็อกโก โมซัมบิก เรอูนียง แอฟริกาใต้ ตูนิเซีย และซิมบับเว วัชพืช *R. raphanistrum* มีใบสีเขียวหรือเขียวอมฟ้า ขนแข็งและหยาบเล็กน้อยเมื่อสัมผัส ใบล่าง ความยาว 15-30 ซม. และกว้าง 5-10 ซม.) ก้านใบออกสลับจัดเรียงและใบบนสุดมีขนาดเล็กกว่า (ยาวไม่เกิน 7.5 ซม.) แคบกว่าและมีแฉกหรือฟันน้อยกว่าใบล่าง ลำต้นมีลักษณะกลมหรือเป็นเหลี่ยมเล็กน้อยและมักมีสีเขียวอมฟ้าถึงสีม่วง อาจจะแตกกิ่งก้านสาขาใกล้โคนต้น ส่วนของดอกมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 18-40 มม. ออกเรียงเป็นกระจุกยาวหลวมๆ ที่ปลายกิ่ง มี 4 กลีบ ความยาว 1-2 ซม. ดอกมีสีขาว เหลืองอ่อน ม่วง ชมพู หรือม่วง ส่วนใหญ่ออกดอกตั้งแต่ฤดูหนาวจนถึงต้นเดือนฤดูร้อน ผลยาวคล้ายฝัก ความยาว 3-9 ซม. กว้าง 3-6 มม. สีเขียวหรือสีม่วงเมื่อยังไม่แก่ แต่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอมเหลืองหรือมีสีเทาเมื่อแก่ เมื่อโตเต็มที่จะพร้อมแบ่งเป็นปล้องรูปลำกล้อง 3-10 ปล้อง ความยาว 3-7 มม. และกว้าง 2-5 มม. แต่ละปล้องมีเมล็ดเดียว เมล็ดมีรูปร่างคล้ายไข่ หรือทรงรี หรือเกือบกลม ความยาว 1.5-4 มม. มีพื้นผิวเป็นหลุมละเอียด และมีสีแดงหรือสีน้ำตาลอมเหลือง (CABI Compendium, 2021) *R. raphanistrum* มีรายงานว่า เป็นวัชพืชจาก 45 พืชใน 65 ประเทศ (Holm *et al*., 1997)

และจัดเป็นวัชพืชที่ร้ายแรงใน 9 ประเทศ และวัชพืชหลักในอีก 14 ประเทศ (Holm *et al*., 1991) ในประเทศเยอรมนี , Otto and Hilbig (1987) รายงานว่า มีวัชพืช *R. raphanistrum* ลดลงในจำนวนมาก อย่างไรก็ตามผลลัพธ์เหล่านี้ตรงกันข้ามกับของ Klaassen (1995) ที่แนะนำว่ามีการเพิ่มขึ้น 5 เท่าในช่วงเวลา 10 ปีที่ผ่านมา นำไปสู่การเพิ่มขึ้นของวัชพืชในพืชตระกูลกะหล่ำและหัวไชเท้าป่า ซึ่งประเทศไทยยังไม่พบการระบาดของวัชพืชชนิดนี้ แต่มีโอกาสที่จะติดมากับเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีที่นำเข้ามาได้

ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องทำการสำรวจเพื่อเฝ้าระวังศัตรูพืชชนิดนี้ในพื้นที่ เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการสนับสนุนการออกมาตรการเฝ้าระวังศัตรูพืช การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช และการรายงานศัตรูพืชอีกด้วย

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างต้องสงสัยว่าคล้ายกับวัชพืช *R. raphanistrum* (Figure 1) ที่แหล่งปลูกกะหล่ำปลี (Figure 2 and 3) เดือนตุลาคม 2564 - กันยายน 2565 จำนวน 5 จังหวัด ในพื้นที่จังหวัดเชียงราย (11 แหล่งปลูก) พะเยา (1 แหล่งปลูก) ขอนแก่น (2 แหล่งปลูก) นครปฐม (11 แหล่งปลูก) และประจวบคีรีขันธ์ (8 แหล่งปลูก) นำตัวอย่างมาตรวจสอบวัชพืช *R. raphanistrum* ในห้องปฏิบัติการ ระหว่างการศึกษาตรวจตัวอย่างแล้วไม่พบวัชพืช *Raphanus raphanistrum*

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจแหล่งปลูกกะหล่ำปลี เพื่อยืนยันสถานภาพของวัชพืช *Raphanus raphanistrum* ในประเทศไทย แบบเฉพาะเจาะจง ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (surveillance: ISPM No.6) (FAO, 2018) และคำแนะนำในการสำรวจศัตรูพืชในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก (McMaugh, 2008) ในแหล่งปลูกกะหล่ำปลีซึ่งเป็นพืชอาศัยหลักของวัชพืช จำนวน 5 จังหวัด 33 แหล่งปลูก ได้แก่ จังหวัดเชียงราย พะเยา ขอนแก่น นครปฐม และประจวบคีรีขันธ์ เมื่อสุ่มเก็บตัวอย่างมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ ระหว่างการศึกษาตรวจแล้วไม่พบวัชพืช *Raphanus raphanistrum* และยังต้องดำเนินการสำรวจในพื้นที่ปลูกกะหล่ำปลีเพื่อให้ได้ข้อมูลที่ครบถ้วนต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณ ข้าราชการ พนักงานราชการ และพนักงานจ้างเหมา ของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่ให้คำแนะนำและช่วยเหลือในการทำงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2550. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 ประกาศ ณ วันที่ 26 เมษายน 2550 ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 124 ตอนพิเศษ 66 ง. ลงวันที่ 1 มิถุนายน 2550.

CABI Compendium. 2021. *Raphanus raphanistrum* (wild radish)). CAB Internatio- nal. (Online). Available. https://www.cabidigitallibrary.org/doi/10.1079/cabicompendium.46795

FAO. 2018. Surveillance. International Standards for Phytosanitary Measures (ISPM) No.6, FAO, Rome.

Holm L; Doll J; Holm E; Pancho J; Herberger J, 1997. World Weeds. Natural Histories and Distribution. New York, USA: John Wiley and Sons, Inc.

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

McMaugh, T. 2008. คำแนะนำในการสำรวจศัตรูพืชในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก .ACIAR Monograph No. 119c.

Table 1 Detective survey of *Raphanus raphanistrum* in Thailand

No	Production area of grapevine			Source	Survey result
	Sub district	District	Province		
1	Mae Suai	Mae Suai	Chiang Rai	5	Absent
2	Chedi Luang	Mae Suai	Chiang Rai	1	Absent
3	Mae Phrik	Mae Suai	Chiang Rai	3	Absent
4	San Klang	Phan	Chiang Rai	1	Absent
5	Mae Korn	Mueang Chiang Rai	Chiang Rai	1	Absent
6	Pha Chang Noi	Pong	Pha Yao	1	Absent
7	Non Thong	Nong Ruea	Khon Kaen	2	Absent
8	Map Khae	Mueang Nakhon Pathom	Nakhon Pathom	4	Absent
9	Thung Noi	Mueang Nakhon Pathom	Nakhon Pathom	2	Absent
10	Huai Duan	DonToom	Nakhon Pathom	1	Absent
11	Huai Phra	DonToom	Nakhon Pathom	1	Absent
12	Sam Ngam	DonToom	Nakhon Pathom	1	Absent
13	Huai Khwang	Kamphaeng Saen	Nakhon Pathom	1	Absent
14	Huai Mon Thong	Kamphaeng Saen	Nakhon Pathom	1	Absent
15	Huai Sat Yai	Hua Hin	Prachuap Khiri Khan	2	Absent
16	Tab Tai	Hua Hin	Prachuap Khiri Khan	5	Absent
17	Nong Plup	Hua Hin	Prachuap Khiri Khan	1	Absent

Figure 1 Character of stem flower and seed of *Raphanus raphanistrum*

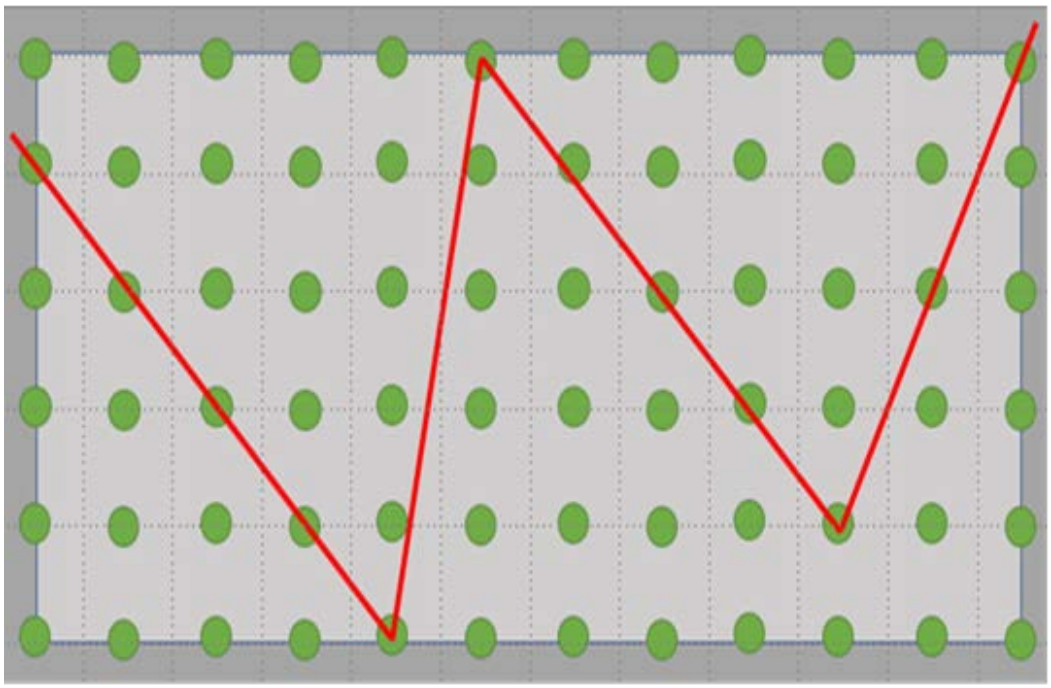


Figure 2 Survey pattern

Figure 3 Survey and collecting sample

การสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช *Galium aparine* L. ในประเทศไทย

Survey and Surveillance of *Galium aparine* L. in Thailand

พรรณิภา เปชัยศรี[1/] วานิช คำพานิช[1/] ธัญชนก จงรักไทย[2/] จันทร์พิศ เดชหามาตย์[1/]
ดนัย ชัยเรือนแก้ว[1/] ธิดาวรรณ ชมเดช[1/] ชุติมา อ้อมกิ่ง[1/]
[1/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

วัชพืช *Galium aparine* L. อยู่ในวงศ์ Rubiaceae จัดเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 และเป็นศัตรูพืชร้ายแรงในหลายประเทศทั่วโลก วัชพืช *G. aparine* เป็นวัชพืชใบกว้างที่มีการขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดสามารถเติบโตได้ในดินหลายประเภท ส่วนใหญ่มักพบในดินที่มีธาตุอาหารอุดมสมบูรณ์ ดินร่วนปนดินเหนียว และแหล่งที่อยู่อาศัยที่ชื้น เป็นปัญหาในพืชผัก ไม้ผล พืชไร่ และธัญพืชซึ่งทำให้ผลผลิตลดลงอย่างมาก วัชพืชชนิดนี้สามารถขึ้นปกคลุมพืชผล รบกวนการเก็บเกี่ยว และเป็นแหล่งอาศัยของโรคและแมลงศัตรูพืช เมล็ดวัชพืชถูกแพร่กระจายไปโดยลม น้ำ สัตว์ เครื่องจักรกลการเกษตร หรือปนเปื้อนไปกับเมล็ดพืชและผลไม้ และเมล็ดวัชพืชยังมีขนที่เป็นกลไกในการยึดติดกับขนสัตว์ หรือเสื้อผ้าและกระเป๋าของมนุษย์ หรืออาจแพร่กระจายไปกับฟางและปุ๋ยคอกที่ปนเปื้อน เมล็ดของวัชพืชมีขนาดเล็กและคล้ายคลึงกับเมล็ดของพืชผักวงศ์ผักกาดยากต่อการคัดแยกและมีโอกาสติดปะปนมากับผลผลิตพืชได้ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องทำการสำรวจและเฝ้าระวังศัตรูพืชเพื่อศึกษาสถานภาพ (การปรากฏ/ไม่ปรากฏ) ของวัชพืช *G. aparine* ที่เป็นศัตรูพืชกักกันในประเทศไทย ผลจากการสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช *G. aparine* จากแหล่งปลูกพืชผักวงศ์ผักกาดของประเทศไทยในปีที่ 1 ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 - กันยายน 2565 วางแผนการสำรวจตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 สำรวจแบบเฉพาะเจาะจง ที่จังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน ลำปาง เชียงราย แม่ฮ่องสอน น่าน แพร่ กำแพงเพชร นครปฐม ราชบุรี กาญจนบุรี ขอนแก่น อุดรธานี สกลนคร หนองคาย บึงกาฬ หนองบัวลำภู เพชรบุรี และ ประจวบคีรีขันธ์ จำนวน 55 แปลง ไม่พบวัชพืช *G. aparine* จากแหล่งปลูกพืชผักวงศ์ผักกาด

รหัสการทดลอง FF65-55-06-65-00-12-65

แต่อย่างไรก็ตามการสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช *G. aparine* ต้องดำเนินการสำรวจอย่างต่อเนื่อง เพื่อเป็นการยืนยันสถานภาพของศัตรูพืชกักกันในประเทศไทย และเพื่อใช้เป็นข้อมูลประกอบในการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชและสนับสนุนการออกประกาศพื้นที่ปลอดศัตรูพืชโดยหน่วยงานองค์กรอารักขาพืชแห่งชาติ (NPPO) ต่อไป

คำหลัก: สำรวจ เฝ้าระวัง วัชพืช *Galium aparine* L. พืชผัก

คำนำ

ประเทศไทยในฐานะที่เป็นสมาชิกขององค์การการค้าโลก (WTO) ซึ่งต้องปฏิบัติตามเงื่อนไขอนุสัญญาว่าด้วยการอารักขาพืชระหว่างประเทศ (International Plant Protection Convention, IPPC) ซึ่งกำหนดมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ส่วนมาตรการสุขอนามัยพืช (Phytosanitary measures) หมายถึง ตัวบทกฎหมาย กฎระเบียบข้อบังคับ หรือวิธีการใด ๆ ที่มีวัตถุประสงค์เพื่อป้องกันการเข้ามา และ/หรือ การแพร่กระจายของศัตรูพืชกักกัน (Quarantine pest) หรือเพื่อสกัดกั้นผลกระทบทางเศรษฐกิจของศัตรูพืชที่ไม่ใช่ศัตรูพืชกักกันที่ต้องมีการควบคุม (Regulated non-quarantine pest) รวมทั้งข้อกำหนดการนำเข้าด้านสุขอนามัยพืช (Phytosanitary import requirements) หมายถึงมาตรการสุขอนามัยพืชเฉพาะ ที่จัดทำขึ้นมาโดยประเทศผู้นำเข้าสำหรับสินค้าที่จะอนุญาตให้นำเข้า เป็นผลจากการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของสินค้านั้น และได้กำหนดให้กรมวิชาการเกษตร คือ องค์กรอารักขาพืชแห่งชาติ (National Plant Protection Organization; NPPO) เช่นเดียวกันกับการส่งออกสินค้าพืชของประเทศไทยไปยังประเทศที่ยังไม่เคยอนุญาตนำเข้ามาก่อนก็ต้องส่งมอบข้อมูลสินค้าพืชนั้นและบัญชีรายชื่อศัตรูพืช (Pest list) ที่เกี่ยวข้องเพื่อการทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของประเทศปลายทาง และป้องกันปัญหาเนื่องจากความตกลงว่าด้วยการใช้บังคับมาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures, SPS Agreement) ซึ่งกำหนดให้ประเทศสมาชิกWTO มีสิทธิ์กำหนดหรือใช้มาตรการใด ๆ สำหรับการนำเข้าสินค้า เพื่อป้องกันชีวิตหรือสุขภาพสัตว์หรือพืชจากความเสี่ยงของโรคและแมลงศัตรูพืชที่ทำให้เกิดโรคหรือเป็นพาหะของโรค เพื่อป้องกันชีวิต สุขภาพมนุษย์สัตว์ สิ่งแวดล้อม จากความเสี่ยงซึ่งเกิดจากการใช้สารปรุงแต่ง สิ่งเจือปน สารพิษ หรือสิ่งมีชีวิตที่ทำให้เกิดโรคในอาหาร เครื่องดื่ม หรืออาหารสัตว์ เพื่อป้องกันชีวิตหรือสุขภาพมนุษย์จากความเสี่ยงซึ่งเกิดจากโรคที่มีในสัตว์ พืช หรือผลิตภัณฑ์จากสิ่งนั้นเป็นพาหะ และเพื่อป้องกันหรือจำกัดความเสียหายอื่น ๆ จากการเข้ามา (Entry) การตั้งรกราก (Establishment) แพร่ระบาด (Spread) ของศัตรูพืช เช่น โรคพืช แมลง ไร วัชพืช และสัตว์ศัตรูพืช รวมทั้งสร้างความเสียหายกับพืชและผลิตพืชในประเทศไทย โดยการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูจากการศึกษาและการสำรวจแบบติดตามข้อมูลศัตรูพืชในแหล่งปลูกเพื่อเป็นการเฝ้าระวัง (Surveillance) ตาม ISPMs (International Standard for Phytosanitary Measures) ฉบับที่ 6 เป็นกระบวนการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชชนิดใดชนิดหนึ่งในพื้นที่ ซึ่งการรวบรวม

ข้อมูลนั้นสามารถทำได้ 2 แบบ ได้แก่ การเฝ้าระวังโดยทั่วไป โดยการสืบค้นข้อมูลจากแหล่งข้อมูลที่น่าเชื่อถือ และการเฝ้าระวังโดยการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง สามารถดำเนินการโดยการสำรวจแบบตรวจหา แบบมีขอบเขต และแบบติดตามอย่างต่อเนื่อง (FAO, 2018; McMaugh, 2008) ประโยชน์ของการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจงสามารถบอกถึงสถานการณ์ของศัตรูพืชในพื้นที่ ข้อมูลที่ได้เป็นการรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืชในกรณีที่ไม่พบศัตรูพืชในพื้นที่นั้น ๆ เมื่อมีการรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืชแล้ว การที่จะคงสภาพพื้นที่ปลอดศัตรูพืชจะต้องมีการสำรวจแบบตรวจหาอย่างเป็นระบบข้อมูลต่าง ๆ ที่ได้จากการสำรวจติดตามศัตรูพืชเพื่อการเฝ้าระวังนี้จะส่งให้ NPPO และสามารถนำไปใช้ในด้านต่าง ๆ เช่น ใช้ในการสนับสนุนการออกประกาศเรื่องการปลอดศัตรูพืชที่ดำเนินการโดย NPPO เป็นกระบวนการช่วยตรวจหาศัตรูพืชชนิดใหม่ได้ทันเวลา การให้การรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืช เป็นต้น

วัชพืช *Galium aparine* L. อยู่ในวงศ์ Rubiaceae จัดเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทยตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. ๒๕๐๗ (ฉบับที่ ๖) พ.ศ. ๒๕๕๐ และเป็นศัตรูพืชร้ายแรงในหลายประเทศทั่วโลก วัชพืช *G. aparine* เป็นวัชพืชใบกว้างที่มีการขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด มีถิ่นกำเนิดในอเมริกาเหนือ เกิดขึ้นในเขตอบอุ่นและในพื้นที่สูงในเขตร้อน วัชพืชชนิดนี้สามารถเติบโตได้ในดินหลายประเภท แต่ส่วนใหญ่พบในดินที่มีธาตุอาหารอุดมสมบูรณ์ ดินลึก ดินร่วนปนดินเหนียว มีฮิวมัส และแหล่งที่อยู่อาศัยที่ชื้น (Malik and Vanden Born, 1988) เป็นปัญหาในพืชผัก ไม้ผล พืชไร่ และธัญพืชซึ่งทำให้ผลผลิตลดลงอย่างมาก วัชพืชชนิดนี้สามารถขึ้นปกคลุมพืชผล รบกวนการเก็บเกี่ยว รวมทั้งเป็นแหล่งอาศัยของโรคและแมลงศัตรูพืช เมล็ดวัชพืชถูกแพร่กระจายไปโดยลม น้ำ สัตว์ เครื่องจักรกลการเกษตร หรือสารปนเปื้อนในเมล็ดพืช ผลไม้ที่มีขนและเมล็ดพืชเป็นกลไกในการยึดติดกับขนสัตว์ ขนนก หรือเสื้อผ้าและกระเป๋าของมนุษย์ หรืออาจแพร่กระจายไปกับฟางและปุ๋ยคอกที่ปนเปื้อน และระหว่างการเคลื่อนย้ายเครื่องจักรเก็บเกี่ยว อีกทั้งเมล็ดของวัชพืชมีขนาดเล็กยากต่อการตรวจพบทำให้มีข้อกังวลในการติดปะปนเข้ามากับผลผลิตพืชที่นำเข้า และวัชพืชชนิดนี้ยังสามารถเจริญเติบโตในสภาพแวดล้อมที่หลากหลายจึงมีโอกาสที่จะสามารถเข้ามา ตั้งรกราก และแพร่ระบาด และสร้างความเสียหายกับพืชและผลิตพืชในประเทศไทยได้ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องทำการสำรวจเพื่อเฝ้าระวังศัตรูพืชชนิดนี้ในพื้นที่ เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการสนับสนุนการออกมาตรการเฝ้าระวังศัตรูพืช การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แผงอัดพันธุ์ไม้ แผ่นฟองน้ำ กระดาษอัดพันธุ์ไม้ และป้ายกระดาษสำหรับผูกพันธุ์ไม้
2. กรรไกรตัดกิ่ง กรรไกรชัก หรือขวาน มีดพับ พลั่ว หรือเสียม
3. ถุงพลาสติกและยางสำหรับรัดปากถุง
4. ถุงกระดาษสำหรับเก็บและรักษาตัวอย่าง

5. กระดาษหนังสือพิมพ์
6. ขวดดองตัวอย่าง
7. เอทิลแอลกอฮอล์ 70% ใช้สำหรับดองตัวอย่าง
8. การบูรสำหรับป้องกันแมลง
9. ตู้ลมร้อน
10. เครื่องบันทึกพิกัด
11. กล้องถ่ายรูป
12. กล้องสเตอริโอ ไมโครสโคป

วิธีการ

1. สืบค้นข้อมูล

สืบค้น ข้อมูล เอกสาร งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับวัชพืช *Galium aparine* L. ได้แก่ รายละเอียดของวัชพืช ลักษณะต้น ใบ และดอก ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพ้อง และลักษณะทางพฤกษศาสตร์ การแพร่ระบาด สภาพนิเวศน์ที่มักพบวัชพืชเหล่านี้ พร้อมรูปภาพ รวมทั้งพื้นที่ปลูกพืชวงศ์ผักกาดในประเทศไทย

2. สำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช *Galium aparine* L.

วางแผนการสำรวจตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (Surveillance: ISPM No. 6) ในแปลงปลูกพืชวงศ์ผักกาด โดยดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) เพื่อให้ทราบข้อมูลของวัชพืช *Galium aparine* L.ในพื้นที่สำรวจและในเวลาที่กำหนด ตามขั้นตอนต่อไปนี้

2.1 จัดทำคู่มือการสำรวจและจัดทำฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ โดยรวบรวมข้อมูลลักษณะของวัชพืช *Galium aparine* L. พร้อมรูปภาพประกอบ ลักษณะต้น ใบ และดอก ตลอดจนรายละเอียดของลักษณะวัชพืชอื่น ๆ ที่มีลักษณะคล้ายกับวัชพืชเป้าหมาย เพื่อจัดทำเอกสารคู่มือสำหรับผู้ร่วมงานใช้ในการสำรวจภาคสนาม จัดทำแบบฟอร์มการสำรวจ เพื่อบันทึกข้อมูล เช่น ชื่อพืช ชื่อเกษตรกรเจ้าของแปลง สถานที่ วันที่สำรวจ ข้อมูลพิกัดภูมิศาสตร์ ข้อมูลการนำเข้าพืช ประเทศต้นทาง เป็นต้น

2.2 กำหนดพื้นที่แหล่งปลูกพืชวงศ์ผักกาด (กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก ผักกาดเขียว ผักกาดขาว ผักกาดหัว คะน้า กวางตุ้ง บร็อกโคลี่) ในประเทศไทย เช่น จังหวัดแม่ฮ่องสอน เชียงราย เชียงใหม่ ลำพูน ลำปาง แพร่ น่าน อุตรดิตถ์ ตาก นครสวรรค์ กำแพงเพชร เพชรบูรณ์ พิษณุโลก ชัยนาท นนทบุรี ปทุมธานี พระนครศรีอยุธยา ลพบุรี สระบุรี อ่างทอง สุพรรณบุรี กาญจนบุรี ราชบุรี นครปฐม เลย อุดรธานี หนองคาย บึงกาฬ นครพนม มุกดาหาร อำนาจเจริญ อุบลราชธานี สุรินทร์ บุรีรัมย์ สระแก้ว จันทบุรี ตราด เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร สุราษฎร์ธานี เป็นต้น

2.3 วางแผนการสำรวจ โดยดำเนินการสำรวจตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (Surveillance: ISPM No. 6) อย่างมีระบบ สำรวจแบบเฉพาะเจาะจง โดยมีวัชพืช *Galium aparine* L. เป็นพืชเป้าหมาย โดยเลือกพื้นที่ปลูกอย่างน้อย 10 แปลง ในแต่ละจังหวัด แต่ละแปลงทำการสุ่มตัวอย่างแบบเป็นระบบ

2.4 การเก็บตัวอย่าง เก็บและรวบรวมตัวอย่างวัชพืชที่พบว่ามีลักษณะคล้ายหรือใกล้เคียงกับวัชพืชเป้าหมาย โดยเทียบเคียงกับคู่มือในการสำรวจ บันทึกรายละเอียดตามแบบฟอร์มการสำรวจ เช่น วัน เดือน ปี พิกัดภูมิศาสตร์ พืชอาศัย ลักษณะของวัชพืชที่เก็บตัวอย่าง ขนาดทรงพุ่ม สี ใบ ดอก เมล็ด ถ่ายภาพ เป็นต้น และเก็บตัวอย่างวัชพืชมาจัดทำตัวอย่างแห้ง (herbarium) เพื่อใช้เป็นหลักฐานและเพื่อการตรวจสอบและจำแนกชนิดต่อไปในห้องปฏิบัติการ หากไม่สามารถระบุชนิดได้ เช่น มีลักษณะไม่ชัดเจน พืชยังไม่มีดอก หรือยังอยู่ในระยะต้นอ่อน เก็บตัวอย่าง นำมาปลูกในเรือนทดลองจนกว่าจะมีดอก หรือมีลักษณะที่สามารถระบุชนิดได้ ถ่ายภาพและจัดทำตัวอย่างแห้ง เพื่อใช้เป็นหลักฐานและตรวจสอบจำแนกชนิดต่อไปในห้องปฏิบัติการ

3. การตรวจสอบจำแนกชนิด

ทำการตรวจสอบตัวอย่างพืชที่รวบรวมได้ในภาคสนาม นำตัวอย่างมาศึกษาลักษณะโดยละเอียดในห้องปฏิบัติการตรวจดูลักษณะภายนอกด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope ถ่ายภาพ บันทึกรายละเอียด เช่น ลักษณะต้น ใบ ดอก และสี เปรียบเทียบกับภาพ คำอธิบายลักษณะจากฐานข้อมูล เช่น CABI, USDA Plant Database, Oregon State University เป็นต้น และจัดเก็บตัวอย่างไว้เป็นหมวดหมู่

4. สรุปผลการศึกษาสถานภาพของวัชพืช *Galium aparine* L.

ทำการสรุปผลการศึกษาสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช เพื่อนำไปใช้ในการจัดทำรายงานสถานภาพของวัชพืช *Galium aparine* L. ในประเทศไทย

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. บันทึกรายละเอียดตำแหน่งของแปลงปลูกพืชที่ทำการสำรวจ/เก็บตัวอย่าง
2. บันทึกข้อมูลจำนวนแปลง และจำนวนตัวอย่างที่ทำการสำรวจ/เก็บตัวอย่าง
3. บันทึกข้อมูลชนิดพืช ขนาดพื้นที่ปลูก ระยะการเจริญเติบโตของพืช และสภาพแวดล้อมอื่น ๆ
4. ชนิดวัชพืชที่พบ บันทึกประเภท ลักษณะ ระยะการเจริญ การขยายพันธุ์ในพื้นที่ ปริมาณที่พบการกระจายในพื้นที่

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาดำเนินการ

วันที่เริ่มต้น 1 ตุลาคม 2564 วันที่สิ้นสุด 30 กันยายน 2567 (3 ปี)

สถานที่ดำเนินการ

1. ห้องปฏิบัติการของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
2. โรงเรือนกักกันพืช กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
3. แปลงปลูกพืชผักวงศ์ผักกาดในประเทศไทย

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ข้อมูลลักษณะของวัชพืช *Galium aparine* L.

วัชพืช *Galium aparine* L. จัดอยู่ในวงศ์ Rubiaceae เป็นศัตรูพืชกักกันพืชของประเทศไทย ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. ๒๕๐๗ (ฉบับที่ ๖) พ.ศ. ๒๕๕๐ เป็นศัตรูพืชร้ายแรงในหลายประเทศทั่วโลก และเป็นปัญหาในพืชผัก ไม้ผล พืชไร่ และธัญพืชซึ่งทำให้ผลผลิตลดลงอย่างมาก ขึ้นปกคลุมพืชผลรบกวนการเก็บเกี่ยว รวมทั้งเป็นแหล่งอาศัยของโรคและแมลงศัตรูพืช

ชีววิทยาและนิเวศวิทยาทั่วไปของวัชพืชชนิดนี้ ลำต้นเป็นสี่เหลี่ยมมีขนคล้ายหนามลักษณะคล้ายตะขอขึ้นปกคลุม เมื่อโตเต็มที่มีความสูงประมาณ 120 เซนติเมตร ใบมีลักษณะรูปทรงไข่ ขนาดกว้าง 3 – 8 มิลลิเมตร ยาว 30 – 60 มิลลิเมตร มีเส้นใบ 1 เส้น และมีขนแข็งขึ้นโดยรอบ เรียงเป็นวงรอบลำต้น 6 – 8 ใบ ดอกมีสีขาว ขนาดเล็กเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2 มิลลิเมตร กลีบดอก 4 กลีบ และมีก้านดอก 1 ก้าน ออกดอกเป็นกระจุกตามซอกใบ มักออกดอกในช่วงต้นฤดูร้อน (Figure 1) ผลหุ้มเมล็ดมีลักษณะทรงกลม เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2 – 4 มิลลิเมตร ผลอ่อนมีสีเขียวแบ่งเป็นสองแฉก จากนั้นจะกลายเป็นสีแดง สีน้ำตาลอมเทา เมื่อผลเริ่มสุกแก่ และถูกปกคลุมด้วยขนรอบผลที่มีลักษณะคล้ายตะขอที่หนาแน่นซึ่งติดกับเสื้อผ้าและสัตว์ได้ง่าย ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด พบได้ทั่วไปในเขตอบอุ่นในทุกทวีป เจริญเติบโตในหลากหลายสภาพแต่เจริญเติบโตได้ดีในแหล่งอาศัยที่ชื้น มีการพักตัวเล็กน้อยสามารถงอกในช่วงอุณหภูมิที่กว้างกว่า (5 – 20 ° C) และในที่ไม่มีแสง พบได้ในพื้นที่เพาะปลูกพืชหลากหลายชนิด เช่น แปลงปลูกพืชตระกูลกะหล่ำ หัวใหญ่ มะเขือเทศ มันฝรั่ง ข้าว ข้าวบาร์เลย์ ข้าวไรย์ ข้าวสาลี บีทรูท ถั่วเหลือง ฝ้าย กาแฟ ทานตะวัน อ้อย เป็นต้น รวมทั้งและในสวนที่มีดินชื้น พื้นที่ป่าไม้ และพื้นที่รกร้าง เมล็ดวัชพืชอาจถูกแพร่กระจายไปโดยลม น้ำ สัตว์ เครื่องจักรกลการเกษตร หรือสารปนเปื้อนในเมล็ดพืช ผลไม้ที่มีขนและเมล็ดพืชเป็นกลไกในการยึดติดกับขนสัตว์ ขนนก หรือเสื้อผ้าและกระเป๋าของมนุษย์ ผลไม้ยังมีช่องว่างใกล้กับจุดยึดระหว่างสองซีก ซึ่งทำให้ลอยบนน้ำได้ หรืออาจแพร่กระจายไปกับฟางและปุ๋ยคอกที่ปนเปื้อน และระหว่างการเคลื่อนย้ายเครื่องจักรเก็บเกี่ยว โดย *G. aparine* สามารถเติบโตได้ในแหล่งที่อยู่อาศัยที่หลากหลาย และเจริญเติบโตได้ดีในแหล่งที่ดินชื้น ดินที่อุดมสมบูรณ์ด้วยสารอาหาร เจริญเติบโตได้ในถิ่นที่อยู่ที่ค่อนข้างแห้งและมีแสงแดดส่องถึง และไม่ทนต่อร่มเงา *G. aparine* เป็นวัชพืชที่พบได้ทั่วไปในเขตอบอุ่นของทุกทวีป ในยุโรปพบ *G. aparine* ในประเทศโปรตุเกสทางตะวันตกไปยังรัสเซียทางตะวันออก และจากสหราชอาณาจักรทางตอนเหนือไปยังอิตาลีทางตอนใต้ มันเกิดขึ้นในรัฐอลาสก้าและแพร่กระจายไปยังข้าวสาลีของแคนาดาและทั่วสหรัฐอเมริกา เป็นวัชพืชที่เป็นปัญหาในอาร์เจนตินา ชิลี และอุรุกวัย และในเอเชีย ขยายพันธุ์จากปากีสถานไปยังจีน และจากญี่ปุ่นถึงนิวซีแลนด์ พบได้น้อยในแอฟริกา โดยพบเป็นวัชพืชในธัญพืชในตูนิเซีย และพบในระดับความสูงที่สูงกว่าในเอธิโอเปีย นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าวัชพืชชนิดนี้มีแหล่งแพร่กระจายในหลายประเทศทั่วโลก ได้แก่ ทวีปแอฟริกา (เอธิโอเปีย เรอูนียง ตูนิเซีย) ทวีปเอเชีย(อัฟกานิสถาน ภูฏาน จีน ฮ่องกง อินเดีย อิสราเอล ญี่ปุ่น เกาหลีเหนือ

ปากีสถาน ตุรกี) ทวีปยุโรป (เบลเยียม บัลแกเรีย เช็กเกีย สหพันธ์สาธารณรัฐยูโกสลาเวีย ฟินแลนด์ ฝรั่งเศส เยอรมนี กรีซ ฮังการี ไอซ์แลนด์ อิตาลี นอร์เวย์ โปแลนด์ โปรตุเกส โรมาเนีย รัสเซีย สเปน สวาลบาร์ดและยานไมเอน สวีเดน สวิตเซอร์แลนด์ สหราชอาณาจักร) ทวีปออสเตรเลีย (เซาท์ออสเตรเลีย วิกตอเรีย เวสเทิร์นออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ ทวีปอเมริกาเหนือ: แคนาดา สหรัฐอเมริกา โอเชียเนีย) และทวีปอเมริกาใต้ (อาร์เจนตินา บราซิล ชิลี อุรุกวัย) (CABI, 2022)

ผลกระทบเมื่อมีวัชพืช *G. aparine* เกิดในพืชผัก หัวผักกาด ทุ่งหญ้า ไร่อุ่น และพืชไร่ และวัชพืชชนิดนี้สร้างปัญหามากที่สุดในธัญพืช มีการแข่งขันสูงกับพืชปลูก และก่อให้เกิดการสูญเสียผลผลิตอย่างมาก (30 – 60%) ในธัญพืช เนื่องจากวัชพืชจะเลื้อยพันปกคลุมเหนือยอดพืชปลูกพืชปลูกการเก็บเกี่ยวล่าช้า ส่งผลให้เกิดการรบกวนอย่างรุนแรงต่อการดำเนินการเก็บเกี่ยวด้วยเครื่องจักร (Froud-Williams, 1985) สารสกัดที่ละลายน้ำได้ของ *G. aparine* มีสารอัลลิโลพาธิกที่มีต่อการงอกของต้นโอ๊ค (Mateev and Timoteev, 1965) *Galium* spp. ยังผลิตสาร anthraquinones ที่เป็นพิษต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและอาจทำให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนัง (Batra, 1984) และอาจมีฤทธิ์ขับปัสสาวะเมื่อสัตว์กินเข้าไป (Long, 1960)

แบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจและเฝ้าระวัง

จัดทำแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช *G. aparine* L. และคู่มือการสำรวจในแปลงปลูกพืชผักวงศ์ผักกาด โดยคู่มือที่ประกอบด้วย

- ข้อมูลพื้นฐานของวัชพืช *G. aparine* L. และภาพตัวอย่างรายละเอียดของวัชพืช ลักษณะต้น ใบ ดอก ผล และลักษณะทางพฤกษศาสตร์ รวมทั้งลักษณะของวัชพืชชนิดอื่นที่มีความคล้ายคลึงเมื่อเปรียบเทียบกับวัชพืชเป้าหมายที่จะทำการสำรวจ

- แบบบันทึกรายงานการสำรวจโดยมีรายละเอียด วันเดือนปีที่สำรวจ สถานที่สำรวจ (ตำบล อำเภอ จังหวัด) พิกัดทางภูมิศาสตร์ ขนาดของพื้นที่ที่ทำการสำรวจ ชื่อผู้สำรวจ จำนวนแปลงที่สำรวจ ชื่อพืชที่ทำการสำรวจ และพืชอื่นที่อยู่ข้างเคียงแปลงปลูก

- รูปแบบการเดินสำรวจวัชพืช แบบแบบซิกแซก (รูป W) ในพื้นที่ไม่น้อยกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ของแปลงปลูก หรือแบบตัว U ตามความเหมาะสมกับพื้นที่ปลูกพืช

- การเก็บตัวอย่างวัชพืชมาจัดทำตัวอย่างแห้ง (herbarium) เพื่อใช้เป็นหลักฐานและเพื่อการตรวจสอบและจำแนกชนิดต่อไปในห้องปฏิบัติการ หากไม่สามารถระบุชนิดได้ เช่น มีลักษณะไม่ชัดเจน พืชยังไม่มีดอก หรือยังอยู่ในระยะต้นอ่อน เก็บตัวอย่าง นำมาปลูกในเรือนทดลอง จนกว่าจะมีดอกหรือมีลักษณะที่สามารถระบุชนิดได้ ถ่ายภาพและจัดทำตัวอย่างแห้ง เพื่อใช้เป็นหลักฐานและตรวจสอบจำแนกชนิดต่อไปในห้องปฏิบัติการ

สำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช *Galium aparine* L.

การสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช *Galium aparine* L. จากแหล่งปลูกพืชผักวงศ์ผักกาดของประเทศไทยในปีที่ 1 ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 - กันยายน 2565 วางแผนการสำรวจตามมาตรฐาน

ระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (Surveillance) สำรวจแบบเฉพาะเจาะจง โดยมีวัชพืช *Galium aparine* L. เป็นพืชเป้าหมาย เดินสำรวจแบบซิกแซก (รูป W) ในพื้นที่ไม่น้อยกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ ของแปลงปลูก หรือแบบตัว U ตามความเหมาะสมกับพื้นที่ปลูกพืช ในการดำเนินการสำรวจให้เทียบเคียงลักษณะวัชพืชภายนอกกับคู่มือในการสำรวจ เช่น ขนาดทรงพุ่ม สี ต้น ใบ ดอก เมล็ด เป็นต้น หากไม่สามารถระบุชนิดได้ เช่น มีลักษณะไม่ชัดเจน พืชยังไม่มีดอก หรือยังอยู่ในระยะต้นอ่อน เก็บตัวอย่าง นำมาปลูกในเรือนทดลอง จนกว่าจะมีดอก หรือมีลักษณะที่สามารถระบุชนิดได้ ถ่ายภาพและจัดทำตัวอย่างแห้ง เพื่อใช้เป็นหลักฐานและการตรวจสอบต่อไปในห้องปฏิบัติการ

จากการสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืชที่จังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน ลำปาง เชียงราย แม่ฮ่องสอน น่าน แพร่ กำแพงเพชร นครปฐม ราชบุรี กาญจนบุรี ขอนแก่น อุดรธานี สกลนคร หนองคาย บึงกาฬ หนองบัวลำภู เพชรบุรี และ ประจวบคีรีขันธ์ ในแหล่งปลูกพืชผักวงศ์ผักกาด(กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก ผักกาดเขียว ผักกาดขาว ผักกาดหัว คะน้า กวางตุ้ง บร็อกโคลี่) จำนวน 55 แปลง ไม่พบวัชพืช *Galium aparine* L. แต่พบวัชพืชทั่วไปที่รายงานพบในประเทศไทยแล้ว

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช *Galium aparine* L. จากแหล่งปลูกพืชผักวงศ์ผักกาดของประเทศไทยในปีที่ 1 ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 - กันยายน 2565 วางแผนการสำรวจตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (Surveillance) สำรวจแบบเฉพาะเจาะจง โดยมีวัชพืช *Galium aparine* L. เป็นพืชเป้าหมาย ผลการสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืชแหล่งปลูกพืชผักที่จังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน ลำปาง เชียงราย แม่ฮ่องสอน น่าน แพร่ กำแพงเพชร นครปฐม ราชบุรี กาญจนบุรี ขอนแก่น อุดรธานี สกลนคร หนองคาย บึงกาฬ หนองบัวลำภู เพชรบุรี และประจวบคีรีขันธ์ จำนวน 55 แปลง ไม่พบวัชพืช *Galium aparine* L. จากแหล่งปลูกพืชผัก แต่อย่างไรก็ตามการสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช *Galium aparine* L. ต้องดำเนินการสำรวจอย่างต่อเนื่อง เพื่อเป็นการยืนยันสถานภาพของศัตรูพืชกักกันในประเทศไทยต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ที่สนับสนุนงบประมาณโครงการวิจัย และขอขอบพระคุณคณะกรรมการที่ปรึกษาด้านวิชาการ คณะกรรมการบริหารงานวิจัยสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่กรุณาให้คำปรึกษาและคำแนะนำในการจัดทำโครงการวิจัย ตลอดจนข้าราชการ พนักงานราชการ ลูกจ้างประจำ และพนักงานจ้างเหมาที่ให้การสนับสนุนการปฏิบัติงานวิจัยเป็นอย่างดีทำให้รายงานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วง

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2550. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 ประกาศ ณ วันที่ 26 เมษายน 2550 ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 124 ตอนพิเศษ 66 ง. ลงวันที่ 1 มิถุนายน 2550.

CABI (CAB International). 2022. *Galium aparine* (cleavers). CAB International. (Online). Available. https://www.cabidigitallibrary.org/doi/10.1079/cabicompendium.24772. (8 December 2022).

FAO. 2018. Surveillance. International Standards for Phytosanitary Measures (ISPM) No.6, FAO, Rome.

Froud-Williams, R. J. 1985. The biology of cleavers (*Galium aparine*). Aspects of Applied Biology 1985 No.9 pp.189-195

Long, H. C. 1960. Weeds of arable land. Bull. 108, Ministry of Agriculture and Fisheries, London, U.K.

Malik, N. and Vanden Born, W.H. 1988. The biology of Canadian weeds. 86. *Galium aparine* L. and *Galium spurium* L. Can J Plant Sci.68:481-99.

Mateev, M. M. and Timoteev, P. O. 1965. Effect of water-soluble exudates of certain forest and forest-weed species on one-year oak seedlings. Ukr. Bot. Zh. 22(4): 28-32. in Weed Abstr. 1966, l5(4): 1225.

McMaugh, T. 2008.คำแนะนำในการสำรวจศัตรูพืชในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก. ACIAR Monograph. No. 119c, 199 หน้า

Figure 1 Characteristics of *Galium aparine* L.

Source: https://www.wildflower.org/plants/result.php?id_plant=gaap2

การทดสอบประสิทธิภาพสารคลุกเมล็ดและราดสารป้องกันกำจัดแมลงในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด

Efficacy of Seed Treatments and Soil Drenching for Controlling Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith)

วิภาดา ปลอดครบุรี นายศุภกร แต่งสวน นายกรกฎ รัตนมหามณีกร

[1/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาการทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดแมลงประเภทคลุกเมล็ดพันธุ์และราดต้นในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) ในข้าวโพดหวาน ดำเนินการทดลองจำนวน 2 แปลงทดลอง ที่อำเภอท่าม่วง และท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี ระหว่างเดือนมกราคม – เมษายน 2565 วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ได้แก่ กรรมวิธีคลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสาร cyantraniliprole 24%+thiamethoxam 24%FS อัตรา 8 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม คลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสาร chlorantraniliprole 62.5%FS อัตรา 9 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม กรรมวิธีใช้สาร cyantraniliprole 20%SC ผสมสารในอัตรา 10 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ราดต้นข้าวโพด อัตรา 10 มิลลิลิตร/ต้น (ราดสารที่ 3 วันหลังข้าวโพดงอก) และกรรมวิธีคลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสาร cyantraniliprole 20%SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม (กรรมวิธีเปรียบเทียบ) และกรรมวิธีไม่ใช้สารป้องกันกำจัดแมลง ผลการทดลองพบว่าทุกกรรมวิธีที่ใช้สารป้องกันกำจัดแมลง สามารถควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดได้ดีถึงข้าวโพดหวานอายุ 18 วัน หลังงอก และมีต้นทุนการใช้สารเท่ากับ 72, 162, 298.80 และ 216 บาท/ไร่ ตามลำดับ (คำนวณจากการใช้เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวาน 1.5 กิโลกรัม/ไร่ (8,300 ต้น))

คำหลัก : หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด ข้าวโพด สารป้องกันกำจัดแมลง

รหัสการทดลอง FF65-55-07-65-01-01-65

คำนำ

หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด (fall armyworm) *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) จัดอยู่ในอันดับ Lepidoptera วงศ์ Noctuidae เป็นศัตรูกักกันพืชที่สำคัญต่อการส่งออกพืชและผลผลิตพืช และเป็นแมลงศัตรูที่สำคัญของข้าวโพด พบระบาดในพื้นที่เขตร้อนและกึ่งเขตร้อนของทวีปอเมริกา ต่อมาในช่วงต้นปี 2559 มีรายงานการระบาดครั้งแรกในภาคกลางและภาคตะวันตกของทวีปแอฟริกา จากนั้นได้แพร่กระจายออกไปและเกิดการระบาดในหลายประเทศเกือบทั่วทวีปแอฟริกา ภายในระยะเวลาเพียง 2 ปี แล้วระบาดเข้ามาในทวีปเอเชียพบการระบาดครั้งแรกในปี 2561 เข้าทำลายข้าวโพดในพื้นที่รัฐ Chikkaballapur, Karnataka ของประเทศอินเดีย เนื่องจากเป็นแมลงศัตรูพืชที่สามารถบินได้ไกล และขยายพันธุ์ได้รวดเร็ว จึงสามารถสร้างความเสียหายได้อย่างรวดเร็วและเป็นวงกว้าง โดยตัวเต็มวัยสามารถบินเฉลี่ยได้เฉลี่ย 100 กิโลเมตรต่อคืน ขยายพันธุ์ได้รวดเร็วมาก จำนวน 30-40 วันต่อรุ่น ตัวเต็มวัยเมื่อผสมพันธุ์แล้ว ผีเสื้อเพศเมียจะวางไข่ในเวลากลางคืน โดยวางไข่เป็นกลุ่ม ประมาณ 100-200 ฟอง มีขนปกคลุมไข่ ผีเสื้อเพศเมียหนึ่งตัววางไข่ได้ประมาณ 1,500-2,000 ฟอง ระยะไข่ 2-3 วัน หนอนมี 6 วัย ระยะหนอน 14-22 วัน หนอนที่โตเต็มที่มีขนาดลำตัวยาว 3.2-4.0 เซนติเมตร เข้าดักแด้ในดิน ระยะดักแด้ 7-13 วัน จึงเป็นตัวเต็มวัย มีชีวิต 10-21 วัน และมีพืชอาหารมากกว่า 80 ชนิด นอกจากจะเข้าทำลายข้าวโพดแล้วยังสามารถทำลายพืชอาหารได้หลายชนิด เช่น ข้าว อ้อย ข้าวฟ่าง พืชตระกูลถั่ว มะเขือเทศ มันฝรั่ง ยาสูบ ฝ้าย ทานตะวัน กล้วย กระเทียม ขิง มันเทศ พริก พืชตระกูลกะหล่ำ พืชตระกูลแตง และพืชผักหลายชนิด เป็นต้น การทำลายพืชเข้าทำลายในระยะที่เป็นตัวหนอน โดยหนอนจะเข้าทำลายข้าวโพดตั้งแต่อายุประมาณ 7 วัน จนกระทั่งออกฝัก โดยกัดกินยอดและใบข้าวโพดเว้าแหว่งหรือกัดกินทั้งแผ่นใบ ทำลายช่อดอกตัวผู้ กัดกินไหม ฝัก เมล็ด และจะพบตัวหนอนหลบซ่อนอยู่ในยอดหรือโคนกาบใบข้าวโพด ความเสียหายเห็นได้ชัดคือในระยะต้นอ่อนทำให้พืชตาย ระยะต้นแก่พืชจะไม่เจริญเติบโต ฝักลีบเล็กไม่สมบูรณ์ หากระบาดรุนแรงจะทำให้ผลผลิตเสียหาย 73% ของพื้นที่ (FAO, 2019 (a); Prasanna *et al*., 2018) พบรายงานการระบาดครั้งแรกในประเทศไทยเมื่อวันที่ 14 ธันวาคม 2561 ในจังหวัดกาญจนบุรี และตาก (FAO, 2019 (b)) ซึ่งตรงกับข้าวโพดที่เป็นพืชนโยบายมีการส่งเสริมให้ปลูกเป็นพืชหลังนา จึงมีการปลูกข้าวโพดในหลายภูมิภาคของประเทศ ดังนั้น สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จึงได้ศึกษาวิจัยเพื่อแก้ปัญหาอย่างเร่งด่วนจากหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด ซึ่งเป็นแมลงศัตรูพืชอุบัติใหม่ระบาดข้ามพรหมแดนเข้ามาทำลายข้าวโพดในประเทศไทยอย่างรวดเร็ว โดยได้รับงบประมาณสนับสนุนจากเงินรายได้จากการดำเนินงานวิจัยด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ผลการวิจัยในปี 2562 พบว่าสารกำจัดแมลงพ่นทางใบที่มีประสิทธิภาพดี ได้แก่ spinetoram 25% WG อัตรา 10 กรัม, emamectin benzoate 5% WG อัตรา 10 กรัม, emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 20 มิลลิลิตร, spinetoram + methoxyfenozide 30%+ 6% SC อัตรา 30 มิลลิลิตร และ lufenuron 5% EC

อัตรา 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ส่วนวิธีการป้องกันกำจัดโดยใช้สารกำจัดแมลงทั้งประเภทรองก้นหลุมหรือคลุกเมล็ดพันธุ์ที่มีการขึ้นทะเบียนในไประเทศไทยในขณะนั้น ไม่สามารถควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดได้ ดังนั้นจึงได้ปรับกรรมวิธีการทดลองใหม่ ตามรายงานของ Thrash et al. (2013) ทำการศึกษา Bioassay ในห้องปฏิบัติการทดลอง พบว่า การใช้ Seed treatment ด้วยสาร cyantraniliprole และ chlorantraniliprole ในถั่วเหลือง มีประสิทธิภาพในการควบคุม *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) และในประเทศไทยมีการขึ้นทะเบียนสาร cyantraniliprole 20%SC (กลุ่ม 28) เป็นสูตรที่ใช้ผสมน้ำราดในกระบะต้นกล้า ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติในการดูดซึมสามารถดูดซึมจากรากเข้าสู่ลำต้นผ่านท่อลำเลียงน้ำ (xylem) ไปสู่ยอดพืช มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดแมลงได้หลายชนิด ทั้งปากดูดและปากกัด เช่น เพลี้ยไฟ แมลงหวี่ขาวยาสูบ หนอนแมลงวันชอนใบ รวมทั้งกลุ่มหนอนผีเสื้อ เพื่อแก้ปัญหาอย่างเร่งด่วน ดังนั้นจึงได้นำมาปรับใช้เป็นสารคลุกเมล็ดพันธุ์ ผลการทดลองพบว่าสาร cyantraniliprole 20%SC คลุกเมล็ดพันธุ์ในอัตรา 20 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ได้ดีเพียงกรรมวิธีเดียว สามารถควบคุมได้ประมาณ 20 วัน โดยมีเปอร์เซ็นต์การทำลายน้อยที่สุด เท่ากับ 67.78 น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สารป้องกันกำจัดแมลง ที่มีเปอร์เซ็นต์การทำลาย 88.15 แต่วิธีคลุกเมล็ดพันธุ์นี้มีต้นทุนการใช้สารสูงถึง 378-390 บาท/ไร่ (คำนวณจากการใช้เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ จำนวน 3 กิโลกรัม/ไร่ และราคาสาร 630-650 บาท/100 มิลลิลิตร) แม้ว่าวิธีการนี้มีข้อดีที่เป็นวิธีการป้องกันกำจัดตั้งแต่เริ่มปลูกข้าวโพด ช่วยอนุรักษ์ศัตรูธรรมชาติและเป็นการสนับสนุนให้ศัตรูธรรมชาติช่วยควบคุมแมลงศัตรูพืชเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถนำไปใช้บริหารจัดการแมลงศัตรูพืชร่วมกับวิธีการป้องกันกำจัดวิธีการต่าง ๆ ได้ ดังนั้นเมื่อมีการขึ้นทะเบียนสารคลุกเมล็ดหรือราดต้นข้าวโพดหวานและข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในประเทศไทย จึงได้นำมาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด สำหรับใช้เป็นคำแนะนำเพิ่มเติมให้กับเกษตรกร เจ้าหน้าที่ผู้เกี่ยวข้องทั้งภาครัฐและเอกชน เพื่อช่วยลดความเสียหายจากการเข้าทำลายผลผลิตข้าวโพด ส่งผลให้ผลผลิตมีคุณภาพและปริมาณเพียงพอต่อการบริโภคภายในประเทศและการส่งออกต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวานลูกผสม พันธุ์สงขลา 84-1
2. สารป้องกันกำจัดแมลงชนิดต่าง ๆ ได้แก่ cyantraniliprole 24%+thiamethoxam 24%FS [ฟอร์เทนซา ดูโอ 480 เอฟเอส (Fortenza Duo)], chlorantraniliprole 62.5%FS [ดูปองท์ ลูมิเวีย (DoPont Lumivia)] และ cyantraniliprole 20%SC [เวอริมาร์ค (Verimark)]

3. ป้ายแสดงกรรมวิธี

4. อุปกรณ์ชั่ง ตวง วัด เช่น ไมโครปิเปต กระบอกตวง บีกเกอร์ เครื่องชั่งน้ำหนัก เป็นต้น

5. อุปกรณ์เก็บข้อมูล เช่น แว่นขยาย ที่นับแมลง กล้องถ่ายรูป ปากกาเคมี เป็นต้น

วิธีการ

<u>แบบและวิธีการทดลอง</u>

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 cyantraniliprole 24%+thiamethoxam 24%FS อัตรา 8 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม (กลุ่มสาร 28 + 4A)

กรรมวิธีที่ 2 chlorantraniliprole 62.5%FS อัตรา 9 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม (กลุ่มสาร 28)

กรรมวิธีที่ 3 cyantraniliprole 20%SC ผสมสารอัตรา 10 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ราดต้นข้าวโพด อัตรา 10 มิลลิลิตร/ต้น (ราดสารที่ 3 วันหลังข้าวโพดงอก) (กลุ่มสาร 28)

กรรมวิธีที่ 4 cyantraniliprole 20%SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม (กรรมวิธีเปรียบเทียบ) (กลุ่มสาร 28)

กรรมวิธีที่ 5 ไม่ใช้สารป้องกันกำจัดแมลง

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

ดำเนินการในแปลงทดลองขนาดแปลงย่อย 5.25x6 เมตร จำนวน 20 แปลงย่อย ระยะห่างระหว่างแถว 0.75 เมตร ระยะระหว่างต้น 0.25 เมตร ระยะห่างระหว่างแปลงย่อย 1.5 เมตร สุ่มตรวจนับระดับการทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด ที่ข้าวโพดอายุ 5, 7, 10, 15, 20 และ 25 วัน หลังข้าวโพดงอก โดยสุ่มตรวจนับจากต้นข้าวโพดไม่น้อยกว่า 20 ต้นต่อแปลงย่อยใน 4 แถวกลาง ตรวจนับจำนวน 3 ใบต่อยอด ระดับการทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด ให้คะแนนโดยอ้างอิงจาก Davis scale (Davis and Williams, 1992) แบ่งเป็น 9 ระดับ ดังนี้

ระดับ 0 ไม่พบร่องรอยการทำลาย

ระดับ 1 พบร่องรอยทำลายเป็นรูเล็กๆ

ระดับ 2 พบร่องรอยทำลายเป็นรูเล็กๆ และรูกลมๆขนาดใหญ่ขึ้น

ระดับ 3 พบร่องรอยทำลายเป็นรูเล็กๆ และมีแผลกลมจำนวนเล็กน้อย รวมถึงรอยแทะบนผิวใบยาวเป็นขีด ขนาดยาวไม่เกิน 1.3 เซนติเมตร

ระดับ 4 พบรอยแทะบนผิวใบยาวเป็นขีด ขนาดยาว 1.3 – 2.5 เซนติเมตร จำนวนเพิ่มมากขึ้น

ระดับ 5 พบรอยแทะบนผิวใบยาวเป็นขีด ขนาดยาวมากกว่า 2.5 เซนติเมตร ขึ้นไปจำนวนเล็กน้อย และเริ่มมีรอยกัดกินทะลุเนื้อใบ

ระดับ 6 พบทั้งรอยแทะบนผิวใบยาวเป็นขีด และรอยกัดกินทะลุเนื้อใบขนาดใหญ่เพิ่มมากขึ้น รอยกัดกินมีรูปร่างที่ไม่แน่นอน

ระดับ 7 พบรอยแทะบนผิวใบยาวเป็นขีดทุกขนาดเป็นจำนวนมาก และพบรอยกัดกินทะลุเนื้อใบขนาดใหญ่เพิ่มมากขึ้น รอยกัดกินมีรูปร่างที่ไม่แน่นอน

ระดับ 8 พบทั้งรอยแทะบนผิวใบเป็นขีดยาวทุกขนาดจำนวนมาก และพบรอยกัดกินทะลุเนื้อใบขนาดกลางและใหญ่เกือบหมดทั้งใบ

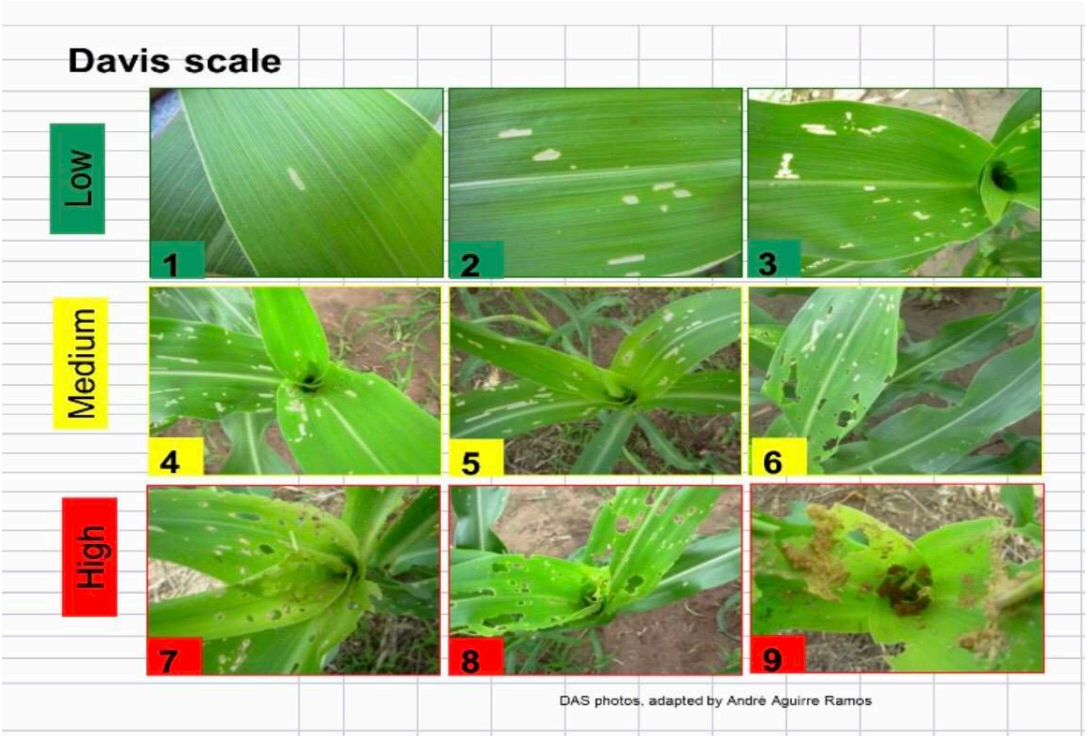
ระดับ 9 ใบถูกทำลายเกือบทั้งหมด

นำระดับการทำลายที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์การทำลาย โดยใช้สูตรของ Townsend-Heuberger (1943)

$$\text{การทำลาย (\%)} = \frac{\sum (nv)}{iV} \times 100$$

n = จำนวนต้นในแต่ละระดับการทำลาย v = คะแนนระดับการทำลาย

i = จำนวนต้นทั้งหมดที่สุ่มนับ V = คะแนนระดับการทำลายสูงสุด



ภาพที่ 1 ระดับการทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด แบ่งเป็น 9 ระดับ

นำข้อมูลเปอร์เซ็นต์การทำลายไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยวิธีทางสถิติที่เหมาะสม และตรวจอาการเป็นพิษของพืชจากการใช้สารป้องกันกำจัดแมลง (phytotoxicity)

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. ระดับการทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด
2. อาการเกิดพิษของพืช
3. ต้นทุนในการป้องกันกำจัด

เวลาและสถานที่

แปลงทดลองที่ 1 แปลงข้าวโพดหวานของเกษตรกร อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนมกราคม - กุมภาพันธ์ 2565

แปลงทดลองที่ 2 แปลงข้าวโพดหวานของเกษตรกร อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนมีนาคม - เมษายน 2565

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารคลุกเมล็ดพันธุ์และราดสารป้องกันกำจัดแมลงในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวาน มีรายละเอียดดังนี้

แปลงทดลองที่ 1 (ตารางที่ 1)

พบการทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด ตั้งแต่ 7 วัน หลังข้าวโพดหวานงอก โดยทุกกรรมวิธีมีเปอร์เซ็นต์การทำลายระหว่าง 0 – 1.39 ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนข้าวโพดหวานที่อายุ 10, 12, 15, 18, 20 และ 25 วันหลังงอก ทุกกรรมวิธีที่ใช้สารป้องกันกำจัดแมลงพบเปอร์เซ็นต์การทำลายระหว่าง 0 – 2.50, 1.39 – 2.50, 2.22 – 7.92, 9.72 – 15.56, 9.03 – 15.83 และ 19.31 – 23.19 ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติระหว่างกรรมวิธี แต่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สารป้องกันกำจัดแมลง ที่พบเปอร์เซ็นต์การทำลาย 15.83, 19.31, 43.89, 48.89, 48.19 และ 64.44 ตามลำดับ จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า ทุกกรรมวิธีที่ใช้สารป้องกันกำจัดแมลงทั้งประเภทคลุกเมล็ดพันธุ์และราดสารป้องกันกำจัดแมลง ได้แก่ กรรมวิธีคลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสาร cyantraniliprole 24%+thiamethoxam 24%FS (กลุ่มสาร 28 + 4A) อัตรา 8 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม คลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสาร chlorantraniliprole 62.5%FS (กลุ่มสาร 28) อัตรา 9 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม กรรมวิธีใช้สาร cyantraniliprole 20%SC (กลุ่มสาร 28) ผสมสารในอัตรา 10 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ราดต้นข้าวโพด อัตรา 10 มิลลิลิตร/ต้น (ราดสารที่ 3 วันหลังข้าวโพดงอก) และกรรมวิธีคลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสาร cyantraniliprole 20%SC (กลุ่มสาร 28) อัตรา 20 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม (กรรมวิธีเปรียบเทียบ) สามารถควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดได้ดี ที่มีเปอร์เซ็นต์การทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดน้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สารป้องกันกำจัดแมลง แต่เนื่องจากในแปลงทดลองนี้ในกรรมวิธีไม่ใช้สารป้องกันกำจัดแมลงมีการระบาดไม่รุนแรง มีระดับการทำลายของ Devis Scale ระดับ 4 ขึ้นไป (เปอร์เซ็นต์การทำลายมากกว่า 45 %) ซึ่งเป็นเกณฑ์กำหนดในการตัดสินใจพิจารณาป้องกันกำจัดด้วยวิธีการต่าง ๆ ที่ข้าวโพดหวานอายุ 18, 20 และ 25 วันหลังงอก นั้น ซึ่งเป็นระยะที่ข้าวโพดหวานเริ่มชดเชยความเสียหายจากการทำลายได้ จึงทำให้สารป้องกันกำจัดแมลงทุกกรรมวิธีสามารถควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดได้ถึง 25 วัน

ตลอดการทดลองทุกกรรมวิธีที่ใช้สารป้องกันกำจัดแมลง ไม่พบความเป็นพิษของสารป้องกันกำจัดแมลงต่อพืช (phytotoxicity) ต่อต้นข้าวโพดหวาน

แปลงทดลองที่ 2 (ตารางที่ 2)

พบการทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด ตั้งแต่ 5 วัน หลังข้าวโพดหวานงอก โดยตลอดการทดลองมีการระบาดที่รุนแรง เมื่อเปรียบเทียบระหว่างทุกกรรมวิธีที่ใช้สารป้องกันกำจัดแมลงทั้งประเภทใช้คลุกเมล็ดพันธุ์และผสมน้ำราดต้นข้าวโพด ที่ข้าวโพดหวานอายุ 5, 7, 10, 12, 15 และ 18 วันหลังงอก มีเปอร์เซ็นต์การทำลายเท่ากับ 4.17 – 6.81, 7.36 – 18.33, 12.92 – 42.08, 20.00 – 47.08, 32.19 – 51.94 และ 33.19 – 53.06 ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าและความแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สารป้องกันกำจัดแมลง ที่มีเปอร์เซ็นต์การทำลายเท่ากับ 22.22, 49.72, 75.97, 80.28, 74.58 และ 76.39 ตามลำดับ ส่วนที่ข้าวโพดหวานอายุ 20 และ 25 วันหลังงอก กรรมวิธีคลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสาร cyantraniliprole 24%+thiamethoxam 24%FS อัตรา 8 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม มีเปอร์เซ็นต์การทำลายเท่ากับ 63.71 และ 69.58 ตามลำดับ ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีไม่ใช้สารกำจัดแมลงที่มีเปอร์เซ็นต์การทำลายเท่ากับ 78.06 และ 83.89 ตามลำดับ

ตลอดการทดลองทุกกรรมวิธีที่ใช้สารป้องกันกำจัดแมลง ไม่พบความเป็นพิษของสารป้องกันกำจัดแมลงต่อพืช (phytotoxicity) ต่อต้นข้าวโพดหวานเช่นเดียวกับแปลงทดลองที่ 1

เมื่อพิจารณาทั้งสองแปลงทดลอง พบว่า กรรมวิธีคลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสาร cyantraniliprole 24%+thiamethoxam 24%FS อัตรา 8 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม คลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสาร chlorantraniliprole 62.5%FS อัตรา 9 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม กรรมวิธีใช้สาร cyantraniliprole 20%SC ผสมสารในอัตรา 10 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ราดต้นข้าวโพด อัตรา 10 มิลลิลิตร/ต้น (ราดสารที่ 3 วันหลังข้าวโพดงอก) และกรรมวิธีคลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสาร cyantraniliprole 20%SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม (กรรมวิธีเปรียบเทียบ) สามารถควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดได้ดีถึงข้าวโพดอายุ 18 วัน หลังงอก จึงจะสามารถควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดได้ครอบคลุมทั้งสองแปลงทดลอง

โดยทั้งสองแปลงทดลองตลอดการทดลองในทุกกรรมวิธีที่ใช้สารป้องกันกำจัดแมลง ไม่พบความเป็นพิษของสารป้องกันกำจัดแมลงต่อพืช (phytotoxicity) ต่อต้นข้าวโพดหวาน

เมื่อพิจารณาต้นทุนการใช้สาร (ตารางที่ 3) โดยคำนวณจากการใช้เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวาน 1.5 กิโลกรัม/ไร่ (8,300 ต้น) พบว่า กรรมวิธีคลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสาร cyantraniliprole 24%+thiamethoxam 24%FS อัตรา 8 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม คลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสาร chlorantraniliprole 62.5%FS อัตรา 9 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม กรรมวิธีใช้สาร cyantraniliprole 20%SC ผสมสารในอัตรา 10 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ราดต้นข้าวโพด อัตรา 10 มิลลิลิตร/ต้น (ราดสารที่ 3 วันหลังข้าวโพดงอก) และกรรมวิธีคลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสาร cyantraniliprole 20%SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม (กรรมวิธีเปรียบเทียบ) มีต้นทุนการใช้สารเท่ากับ 72, 162, 298.80 และ 216 บาท/ไร่ ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าในกรรมวิธีที่ใช้สารคลุกเมล็ดพันธุ์ที่มีการขึ้นทะเบียนในสูตรคลุกเมล็ดพันธุ์โดยตรงนั้น มีต้นทุนการใช้สารต่ำกว่ากรรมวิธีราดต้นและกรรมวิธีเปรียบเทียบ

ในการทดลองนี้สารป้องกันกำจัดแมลงที่นำมาใช้จัดอยู่ในกลุ่ม 28 จัดกลุ่มโดย IRAC (Insecticide Resistance Action Committee) ซึ่งเป็นการจัดกลุ่มสารแบ่งตามกลไกการออกฤทธิ์หรือตำแหน่งของการออกฤทธิ์ (Mode of Action หรือ Site of Action) สารในกลุ่มนี้เป็นสารที่มีกลไกการออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทและกล้ามเนื้อ โดยสารจะเข้าไปภายในเซลล์กล้ามเนื้อแมลงแล้วไปที่บริเวณ sarcoplasmic reticulum ซึ่งเป็นที่เก็บสะสม calcium ion แล้วสารจะไปจับตรง ryanodine receptors ที่อยู่บริเวณผิวของ sarcoplasmic reticulum ทำให้เกิดการกระตุ้นการปลดปล่อย calcium ion ออกมาภายในเซลล์กล้ามเนื้อ ซึ่ง calcium ion จะไปเหนี่ยวนำทำให้กล้ามเนื้อแมลงเกิดการหดตัว กล่าวได้ว่าสารฆ่ากลุ่มนี้ไปจับและกระตุ้นที่ ryanodine receptors ทำให้เกิดการปลดปล่อย calcium ion ออกมาเรื่อยๆ จึงทำให้กล้ามเนื้อแมลงเกิดการหดตัวอยู่ตลอดเวลา ไม่เกิดการคลายตัวกล้ามเนื้อแมลงจึงไม่สามารถทำงานเป็นปกติได้ เช่น กล้ามเนื้อส่วนปากไม่สามารถทำงานในการกัดกินใบพืชได้ แมลงไม่สามารถเดินหรือเคลื่อนไหวส่วนต่างๆ ของร่างกายและเป็นอัมพาต อีกทั้งเป็นสารที่มีคุณสมบัติในการดูดซึม สามารถดูดซึมจากรากเข้าสู่ลำต้นไปสู่ยอดพืชได้ดี และมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดแมลงได้ทั้งประเภทปากดูดและปากกัด รวมถึงหนอนผีเสื้อได้ (สุภราดา, 2555 และสุเทพ, 2556) เมื่อนำมาใช้คลุกเมล็ดพันธุ์ก่อนปลูกหรือใช้ราดต้นสามารถควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดได้ 18 วัน แต่เมื่อประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดแมลงลดลง จำเป็นต้องพิจารณาการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดโดยใช้วิธีพ่นสารทางใบเพิ่มเติม และเพื่อไม่ให้เกิดความต้านทานต่อสารป้องกันกำจัดแมลง ในการใช้สารพ่นทางใบจึงไม่ควรใช้สารในกลุ่ม 28 ซึ่งเป็นกลุ่มเดียวกันกับสารคลุกเมล็ดพันธุ์หรือราดต้น ให้พิจารณาใช้สารที่มีกลไกการออกฤทธิ์ในกลุ่มอื่นแทน เช่น สารในกลุ่ม 6 ได้แก่ สาร emamectin benzoate 5% WG หรือ emamectin benzoate 1.92% EC สารกลุ่ม 18 + 5 คือ สาร spinetoram+methoxyfenozide 30%+ 6% SC หรือสารกลุ่ม 15 คือสาร lufenuron 5% EC เป็นต้น

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดแมลงประเภทคลุกเมล็ดพันธุ์หรือราดต้น ในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) ในข้าวโพดหวาน ผลการทดลองพบว่า กรรมวิธีคลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสาร cyantraniliprole 24%+thiamethoxam 24%FS อัตรา 8 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม คลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสาร chlorantraniliprole 62.5%FS อัตรา 9 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม กรรมวิธีใช้สาร cyantraniliprole 20%SC ผสมสารในอัตรา 10 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ราดต้นข้าวโพด อัตรา 10 มิลลิลิตร/ต้น (ราดสารที่ 3 วันหลังข้าวโพดงอก) และกรรมวิธีคลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสาร cyantraniliprole 20%SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม (กรรมวิธีเปรียบเทียบ) สามารถควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดได้ดีถึงข้าวโพดอายุ 18 วัน หลังงอก และมีต้นทุนการใช้สารเท่ากับ 72, 162, 298.80 และ 216 บาท/ไร่ ตามลำดับ (คำนวณจากการใช้เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวาน 1.5 กิโลกรัม/ไร่ (8,300 ต้น)) ในปัจจุบันสาร

คลุกเมล็ดพันธุ์สามารถเลือกชนิดที่คลุกสำเร็จรูปมากับเมล็ดพันธุ์ได้ แต่หากจำเป็นต้องคลุกเมล็ดพันธุ์เอง ข้อแนะนำในการคลุกเมล็ดพันธุ์ ให้ใส่สารลงในถุงพลาสติกตามอัตราที่แนะนำ ปิดปากถุงให้สนิท รีดกระจายสารให้ทั่วถุง จากนั้นเปิดปากถุงแล้วนำเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดลงไป ทำให้ถุงพองลมแล้วมัดปากถุงให้แน่น เขย่าเมล็ดพันธุ์คลุกกับสารจนทั่ว เปิดปากถุงผึ่งให้เมล็ดแห้งในที่ร่มก่อนนำไปปลูก โดยปลูกในขณะที่ดินมีความชื้น วิธีคลุกเมล็ดพันธุ์ก่อนปลูกหรือผสมน้ำราดต้นข้าวโพดเป็นทางเลือกในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดวิธีการหนึ่ง โดยเป็นวิธีการที่ช่วยควบคุมตั้งแต่เริ่มปลูก อีกทั้งเป็นการอนุรักษ์ศัตรูธรรมชาติและสนับสนุนให้ศัตรูธรรมชาติในแปลงข้าวโพดช่วยควบคุมแมลงศัตรูพืชได้เพิ่มขึ้นอีกด้วย และจากข้อสังเกตในการวางไข่ของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด พบว่ามีการวางไข่อย่างต่อเนื่อง ตั้งแต่ 5 วัน หลังข้าวโพดงอก โดยพบการวางไข่สูงอย่างต่อเนื่องใน 2 สัปดาห์แรก แล้วจะค่อย ๆ ลดต่ำลงตามลำดับ ดังนั้นในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดจึงควรหมั่นสำรวจแปลงอย่างสม่ำเสมอ สังเกตกลุ่มไข่ และรอยทำลาย เพื่อช่วยในการพิจารณาตัดสินใจทำการป้องกันกำจัดด้วยการพ่นสารทางใบเพิ่มเติม ควรเลือกใช้สารป้องกันกำจัดแมลงที่มีกลไกการออกฤทธิ์ในกลุ่มอื่น ๆ ที่ไม่ใช่สารในกลุ่ม 28 (สารคลุกเมล็ดพันธุ์และใช้ผสมน้ำราดต้น) เพื่อช่วยลดการสร้างความต้านทานต่อสารกำจัดแมลง และจากพฤติกรรมที่หนอนมักกัดกินและซ่อนตัวอยู่ในยอด ดังนั้นหากจะพ่นสารทางใบ ควรเน้นการพ่นลงไปในยอดข้าวโพด จะช่วยลดการระบาดของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดลงได้ดียิ่งขึ้น

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณนายนพพล สัทยาสัย นักวิชาการโรคพืชปฏิบัติการ นางสาวณิชาพร ฉ่ำประวิง นางสาวสุภัสสา ประคองสุข นางสาวนิตยา พรหมวงศ์ นางสาวปุณิกา ศิริวรรณ นายวงษ์สยาม นิสสัย นางสาวนงค์ออน พลชัยมาตย์ นางสาวกัญญาภัค ตาแก้ว นักวิชาการเกษตร เจ้าหน้าที่กลุ่มบริหารศัตรูพืชและเจ้าหน้าที่ของศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท ที่ให้การช่วยเหลืองานวิจัยทุกท่าน ซึ่งทำให้งานวิจัยชิ้นนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

สุภราดา สุคนธาภิรมย์ ณ พัทลุง. 2555. ความรู้พื้นฐานความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงและการบริหารจัดการ. เอกสารวิชาการการอบรมเชิงปฏิบัติการ หลักสูตรการตรวจสอบและการจัดการความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง ครั้งที่ 1. กลุ่มบริหารศัตรูพืช 29-30 พฤษภาคม 2555 ณ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 62 หน้า.

สุเทพ สหายา. 2556. สารป้องกันกำจัดแมลงและไรศัตรูพืช. หน้า 1-63. *ใน*: เอกสารประกอบการอบรมหลักสูตรแมลง-สัตว์ศัตรูพืชและการป้องกันกำจัด ครั้งที่ 16. กลุ่มกีฏและสัตววิทยาและกลุ่มบริหารศัตรูพืช 29 กรกฎาคม-2 สิงหาคม 2556 ณ ห้องประชุมอารียันต์ สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

FAO, 2019 (a). Integrated management of the Fall Armyworm on maize. [Online]. Available. http://www.fao.org/3/I8665EN/i8665en.pdf. (25 January, 2019).

FAO, 2019 (b). First detection of Fall Armyworm on the border of Thailand. [Online]. Available. https://www.ippc.int/en/countries/thailand/pestreports/2018/12/first-detection-of-fall-army-worm-on-the-border-of-thailand/. (25 January, 2019).

Prasanna, B.M., J.E. Huesing, R. Eddy and V.M. Peschke. 2018. Fall armyworm in Africa: a guide for integrated pest management. [Online]. Available. https:// www.agrilinks.org/sites/default/files/fall-armyworm-ipm-guide-for-africa-jan_30-2018.pdf. (25 January, 2019).

Thrash, B., J. J. Adamczyk, Jr., G. Lorenz, A. W. Scott, J. S. Armstrong, R. Pfannenstiel and N. Taillon. 2013. Labroratory Evaluations of Lepidopteran-Active Soybean Seed Treatments on Surivorship of Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) Larvae. Florida Entomologist 96(3): 724-728.

Townsend, G.R. and Heuberger, J.W. (1943) Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. The Plant Disease Reporter, 27, 340-343.

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวาน จากการทดสอบประสิทธิภาพสารคลุกเมล็ดและราดสารป้องกันกำจัดแมลงในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวาน อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี ระหว่างเดือนมกราคม – กุมภาพันธ์ 2565 (แปลงทดลองที่ 1)

กรรมวิธี	อัตราการใช้	การทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด (%)[1/]							
		ตรวจนับหลังข้าวโพดงอก (วัน)							
		5	7	10	12	15	18	20	25
1. cyantraniliprole 24% + thiamethoxam 24%FS	8 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม	0.00	0.28 a	2.50 a	2.50 a	5.56 a	9.72 a	9.03 a	23.19 a
2. chlorantraniliprole 62.5%FS	9 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม	0.00	0.69 a	1.94 a	1.39 a	7.92 a	15.56 a	15.83 a	19.31 a
3. cyantraniliprole 20%SC	10 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ผสมน้ำราดโคนต้น ที่ 3 วันหลังงอก ต้นละ 10 มิลลิลิตร	0.00	0.00 a	0.00 a	1.94 a	2.50 a	11.67 a	11.67 a	23.06 a
4. cyantraniliprole 20%SC (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)	20 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม	0.00	0.28 a	0.00 a	2.08 a	2.22 a	10.69 a	13.33 a	21.25 a
5. ไม่ใช้สารกำจัดแมลง	-	0.00	1.39 a	15.83 b	19.31 b	43.89 b	48.89 b	48.19 b	64.44 b
C.V. (%)		-	242.9	100	77.3	58.7	48.9	54.2	51.2

[1/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวาน จากการทดสอบประสิทธิภาพสารคลุกเมล็ดและราดสารป้องกันกำจัดแมลงในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวาน อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี ระหว่างเดือนมีนาคม – เมษายน 2565 (แปลงทดลองที่ 2)

กรรมวิธี	อัตราการใช้	การทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด (%)[1/]							
		ตรวจนับหลังข้าวโพดงอก (วัน)							
		5	7	10	12	15	18	20	25
1. cyantraniliprole 24% + thiamethoxam 24%FS	8 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม	5.69 a	18.33 b	42.08 c	47.08 b	51.94 a	53.06 b	63.71 bc	69.58bc
2. chlorantraniliprole 62.5%FS	9 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม	4.17 a	7.36 a	12.92 a	20.00 a	32.64 a	33.19 a	34.72 a	44.72 a
3. cyantraniliprole 20%SC	10 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ผสมน้ำราดโคนต้น ที่ 3 วันหลังงอก ต้นละ 10 มิลลิลิตร	6.81 a	11.25 ab	20.69 ab	27.08 a	40.14 a	41.39 ab	50.42 ab	59.86 ab
4. cyantraniliprole 20%SC (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)	20 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม	5.42 a	14.72 ab	25.69 b	31.11 a	40.28 a	42.92 ab	47.78 ab	63.61 abc
5. ไม่ใช้สารกำจัดแมลง	-	22.22 b	49.72 c	75.97 d	80.28 c	74.58 b	76.39 c	78.06 c	83.89 c
C.V. (%)		63.5	28.8	21.9	18.8	24.5	16.7	24.4	19.8

[1/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 3 ต้นทุนการใช้สารป้องกันกำจัดแมลง

สารป้องกันกำจัดแมลง	อัตราการใช้	ขนาดบรรจุ (มิลลิลิตร)	ราคาต่อบรรจุภัณฑ์ (บาท/หน่วย)[1/]	ต้นทุนการใช้สาร (บาท)[2/]
1. cyantraniliprole 24% + thiamethoxam 24%FS	8 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม	100	600	72.00
2. chlorantraniliprole 62.5%FS	9 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม	1,000	12,000	162.00
3. cyantraniliprole 20%SC	10 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ผสมน้ำราดโคนต้น ที่ 3 วันหลังงอก ต้นละ 10 มิลลิลิตร	100	720	298.80
4. cyantraniliprole 20%SC (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)	20 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม	100	720	216.00

[1/]ราคา ณ มกราคม 2565

[2/]คำนวณจากเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวาน 1.50 กิโลกรัม/ไร่ (จำนวน 8,300 ต้น)

การใช้ไวรัส NPV ร่วมกับสารป้องกันกำจัดแมลงในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวาน

Using of NPV in Combination with Insecticides to Control The Fall Armyworm (*Spodoptera frugiperda*) in Sweet Corn

อนุสรณ์ พงษ์มี อิศเรส เทียนทัด

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

คัดเลือกวิธีการจากผลการทดลองในห้องปฏิบัติการ และดำเนินการทดลองในแปลงปลูกข้าวโพดหวานสภาพไร่ 4 กรรมวิธี ได้แก่ กรรมวิธี SfNPV อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร + chlorantraniliprole 5.17% W/V SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร + cypermethrin 35% W/V EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร + flubendiamide 20% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร, SfNPV อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร + deltamethrin 3% W/V EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร โดยเปรียบเทียบกับกรรมวิธี SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร และใช้กรรมวิธีไม่พ่นสารป้องกันกำจัดแมลงเป็นกรรมวิธีควบคุม โดยผลการทดลองในสภาพไร่ พบว่าทุกกรรมวิธีมีประสิทธิภาพในการลดการทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวานได้ดีและความเสียหายบนใบข้าวโพดมีอัตราลดลงเรื่อยๆ ตั้งแต่การพ่นครั้งแรก

เนื่องจากได้ทำการทดลองในช่วงเดือนกันยายน 2565 ซึ่งมีฝนตกหนักในจังหวัดกาญจนบุรี ทำให้เกิดน้ำท่วมขังหลายพื้นที่และท่วมแปลงข้าวโพดหวานที่ใช้การทดลองดังกล่าวโดยหลังจากทำการพ่นสารทดลองครั้งที่ 3 มีฝนตกต่อเนื่องและเกิดน้ำท่วมขังหลายวัน ทำให้ต้นข้าวโพดเจริญเติบโตได้ไม่เป็นปกติในช่วง 42 วัน หลังปลูก ทำให้ผลการทดลองที่ได้ไม่ถูกต้องจึงจะดำเนินการทดลองในสภาพไร่ซ้ำในปี 2566

คำหลัก : หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด SfNPV ข้าวโพดหวาน

รหัสการทดลอง FF65-55-07-65-01-02-65

คำนำ

หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด (fall armyworm) มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Family Noctuidae) เป็นแมลงศัตรูพืชท้องถิ่นในภูมิภาคเขตร้อนของซีกโลกตะวันตก (Cruz, 2012) หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด เป็นศัตรูพืชสำคัญของข้าวโพดในทวีปอเมริกา ความเสียหายของต้นข้าวโพดระดับที่สูงกว่า 55% สามารถทำให้ผลผลิตลดลง 15-73% (Hruska and Gould, 1997) การทำลายพืชเข้าทำลายในระยะที่เป็นตัวหนอน โดยหนอนจะเข้าทำลายข้าวโพดตั้งแต่อายุประมาณ 7 วัน จนกระทั่งออกฝัก โดยกัดกินยอดและใบข้าวโพดเว้าแหว่งหรือกัดกินทั้งแผ่นใบ ทำลายช่อดอกตัวผู้ กัดกินไหม ฝัก เมล็ด และจะพบตัวหนอนหลบซ่อนอยู่ในยอดหรือโคนกาบใบข้าวโพด ความเสียหายเห็นได้ชัดคือ ในระยะต้นอ่อนทำให้พืชตาย ระยะต้นแก่พืชจะไม่เจริญเติบโต ฝักลีบเล็กไม่สมบูรณ์ (FAO, 2019) หนอนชนิดนี้พืชอาหารมากกว่า 80 ชนิด ซึ่งนอกจากข้าวโพดแล้วยังมีพืชอาศัยอื่นที่เป็นแหล่งอาหาร เช่น ข้าว อ้อย ข้าวฟ่าง ข้าวสาลี มะเขือเทศ มันฝรั่ง ยาสูบ ฝ้าย ทานตะวัน กล้วย กระเทียม ขิง มันเทศ พริกหยวก พืชวงศ์กะหล่ำ พืชวงศ์แตง พืชวงศ์ถั่ว พืชวงศ์หญ้า และพืชผักอีกหลายชนิด (CABI, 2019)

ไวรัส NPV เป็นจุลินทรีย์ที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้เป็นหลักร่วมกับวิธีการป้องกันกำจัดวิธีต่างๆ ในระบบการจัดการศัตรูพืช ปัจจุบันถึงแม้ว่าจะมีสารฆ่าแมลงที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดได้เป็นอย่างดี แต่สารฆ่าแมลงเหล่านั้นมีความเสี่ยงที่หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดจะเกิดความต้านทานได้ ถ้าเกษตรกรมีการใช้อย่างผิดวิธีและไม่มีการควบคุมให้ใช้ในอัตราที่เหมาะสม ดังนั้นการศึกษาวิธีการนำไวรัส NPV มาใช้ร่วมกับสารฆ่าแมลง จะเป็นอีกวิธีการหนึ่งที่จะช่วยควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดได้มีประสิทธิภาพมากขึ้น สามารถที่จะลดอัตราการใช้สารฆ่าแมลงและลดระยะเวลาในการสร้างความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงในกลุ่มต่างๆ ของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด และลดความเสียหายของผลผลิตข้าวโพดหวานได้ดีขึ้น

หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด เป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญของข้าวโพดที่สามารถระบาดข้ามพรมแดน (transboundary insect pest) ได้อย่างรวดเร็วเนื่องจากเป็นแมลงศัตรูพืชที่สามารถบินได้ไกล โดยตัวเต็มวัยสามารถบินเฉลี่ยได้เฉลี่ย 100 กิโลเมตรต่อคืน ขยายพันธุ์ได้รวดเร็วมากจำนวน 30-40 วันต่อรุ่น มีพืชอาหารมากกว่า 80 ชนิด โดยเฉพาะข้าวโพด ซึ่งในปัจจุบันได้รับความเสียหายจากการทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดแล้วทั่วประเทศไทย การระบาดเป็นไปอย่างรวดเร็วรุนแรง ในระยะเวลาเพียงไม่กี่เดือน ซึ่งทำให้วิธีการป้องกันกำจัดแบบเดิมของเกษตรกรไม่ได้ผล อีกทั้งอาจก่อให้เกิดปัญหาแมลงสร้างความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงตามมา และเกษตรกรมักใช้สารเคมีฆ่าแมลงทั้งแบบฉีดพ่นและแบบผงโรยยอดเพื่อควบคุมศัตรูพืช อย่างไรก็ตามการใช้สารเคมีฆ่าแมลง อย่างไม่ถูกวิธีทำให้แมลงเกิดการดื้อยาและส่งผลกระทบต่อเกษตรกร (Hunt *et al*., 1999)

Mendes *et al*. (2002) พบว่าการทดลองใช้ เชื้อไวรัส SfMNPV ผสมกับสารฆ่าแมลง Spinosad ในอัตราส่วนผสม 20-70 occlusion bodies/mm^2 + 3 ppm พ่นในไร่ข้าวโพด สามารถลดการทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดลงได้ 90% ให้ผลดีกว่าการใช้ SfMNPV

เดี่ยวๆ ถึง 12.5-32 เปอร์เซ็นต์ และยังลดการกลับมาระบาดของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในรุ่นถัดไปได้ โดยนักวิจัยได้อธิบายผลการทดลองอย่างคร่าวๆ ว่า Spinosad นั้นจะสามารถทำให้หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดตายรวดเร็วในช่วง 0-100 ชั่วโมงหลังฉีดพ่น จากนั้น SfMNPV จะทำให้หนอนตายในช่วง 120-250 ชั่วโมงหลังฉีดพ่น ทำให้มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดที่สูงขึ้น ทำให้การใช้ชีวภัณฑ์สำหรับป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด เช่น NPV จึงเป็นวิธีที่น่าสนใจ เพื่อเป็นทางเลือกในการลดการใช้สารฆ่าแมลงที่อาจเป็นอันตรายต่อผู้ใช้และผู้บริโภค

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด
2. Nucleopolyhedro Virus (SfNPV)
3. abamectin 1.8% W/V EC
4. cypermethrin 35% W/V EC
5. chlorantraniliprole 5.17% W/V SC
6. thiodicarb 75% WP
7. deltamethrin 3% W/V EC
8. flubendiamide 20% WG
9. อาหารเทียมเลี้ยงแมลง
10. micropipette
11. eppendrop tube, ถ้วยพลาสติกขนาด 2 ออนซ์
12. แปลงข้าวโพดหวาน
13. เครื่องยนต์พ่นสารแบบสะพายหลังที่สามารถควบคุมความดันได้
14. อุปกรณ์ชั่งตวง เช่น ตาชั่ง บีกเกอร์ กระบอกตวง เป็นต้น
15. อุปกรณ์การบันทึกข้อมูล เช่น กระดาษ ปากกา แว่นขยาย เป็นต้น

วิธีการ

1. การทดลองในห้องปฏิบัติการ (ปี 2565) แบ่งเป็น 2 ขั้นตอน ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาประสิทธิภาพการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดหลังได้รับไวรัส SfNPV

ใช้หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดวัย 3 ในการทดลอง โดยแบ่งหนอนออกเป็น 2 ชุด ชุดละ 280 ตัว มาทำการ บังคับให้หนอนกินไวรัส SfNPV อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตรและ SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ด้วยวิธี diet surface contamination method บนผิวหน้าอาหารเทียมที่บรรจุในถ้วยพลาสติกที่มีฝาปิดขนาด 2 ออนซ์ หยดสารแต่ละกรรมวิธีด้วยเครื่องหยดสารละลาย อัตรา 30 ไมโครลิตรต่อถ้วย จากนั้นใช้แท่งแก้วรูปสามเหลี่ยมหมุนวนบนผิวหน้าของอาหารเทียม เพื่อให้สารทดลองเคลือบทั่วผิวหน้าอาหารปล่อยทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 3 นาที ปล่อยให้

หนอนกินอาหารเทียมที่ infect ไวรัส SfNPV อัตราต่างๆ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นย้ายหนอนทดลอง มาทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงชนิดต่างๆ ลงในอาหารเทียมเลี้ยงแมลงด้วยอัตราต่างๆ โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ (ใช้หนอน 10 ตัวต่อซ้ำ) จำนวน 15 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 infect ไวรัส SfNPV อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 infect ไวรัส SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 infect ไวรัส SfNPV อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร นาน 72 ชั่วโมง จึงบังคับให้กิน abamectin 1.8% W/V EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 infect ไวรัส SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร นาน 72 ชั่วโมง จึงบังคับให้กิน abamectin 1.8% W/V EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 infect ไวรัส SfNPV อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร นาน 72 ชั่วโมง จึงบังคับให้กิน cypermethrin 35% W/V EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 infect ไวรัส SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร นาน 72 ชั่วโมง จึงบังคับให้กิน cypermethrin 35% W/V EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 7 infect ไวรัส SfNPV อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร นาน 72 ชั่วโมง จึงบังคับให้กิน chlorantraniliprole 5.17% W/V SC อัตรา 20 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 8 infect ไวรัส SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร นาน 72 ชั่วโมง จึงบังคับให้กิน chlorantraniliprole 5.17% W/V SC อัตรา 20 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 9 infect ไวรัส SfNPV อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร นาน 72 ชั่วโมง จึงบังคับให้กิน thiodicarb 75% WP อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 10 infect ไวรัส SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร นาน 72 ชั่วโมง จึงบังคับให้กิน thiodicarb 75% WP อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 11 infect ไวรัส SfNPV อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร นาน 72 ชั่วโมง จึงบังคับให้กิน deltamethrin 3% W/V EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 12 infect ไวรัส SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร นาน 72 ชั่วโมง จึงบังคับให้กิน deltamethrin 3% W/V EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 13 infect ไวรัส SfNPV อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร นาน 72 ชั่วโมง จึงบังคับให้กิน flubendiamide 20% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 14 infect ไวรัส SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร นาน 72 ชั่วโมง จึงบังคับให้กิน flubendiamide 20% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 15 กรรมวิธีควบคุม

ทำการตรวจนับการตายของหนอนในแต่ละกรรมวิธีทุก 24 ชั่วโมง จนครบ 7 วัน โดยหนอนที่ไม่ตอบสนองต่อการเขี่ยของปลายพู่กันจะถูกพิจารณาว่าตายหากพบหนอนตายในกรรมวิธีควบคุมมากกว่า 5% ให้ปรับค่าเปอร์เซ็นต์การตายด้วย Abbott's formula (Abbott, 1925)

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

จำนวนหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดที่ตายในแต่ละกรรมวิธี

<u>ขั้นตอนที่ 2</u> ศึกษาประสิทธิภาพของไวรัส SfNPV ที่ผสมด้วยสารฆ่าแมลงชนิดต่างๆ

วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ (ใช้หนอน 10 ตัวต่อซ้ำ) จำนวน 15 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ไวรัส SfNPV อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 ไวรัส SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 ไวรัส SfNPV อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ผสมกับ abamectin 1.8%W/V EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 ไวรัส SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ผสมกับ abamectin 1.8% W/V EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 ไวรัส SfNPV อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ผสมกับ cypermethrin 35% W/V EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 ไวรัส SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ผสมกับ cypermethrin 35% W/V EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 7 ไวรัส SfNPV อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ผสมกับ chlorantraniliprole 5.17% W/V SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 8 ไวรัส SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ผสมกับ chlorantraniliprole 5.17% W/V SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 9 ไวรัส SfNPV อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ผสมกับ thiodicarb 75% WP อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 10 ไวรัส SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ผสมกับ thiodicarb 75%WP อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 11 ไวรัส SfNPV อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ผสมกับ deltamethrin 3% W/V EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 12 ไวรัส SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ผสมกับ deltamethrin 3% W/V EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 13 ไวรัส SfNPV อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ผสมกับ flubendiamide 20% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 14 ไวรัส SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ผสมกับ flubendiamide 20% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 15 กรรมวิธีควบคุม

วิธีปฏิบัติการทดลอง

ใช้หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดวัย 3 ในการทดลอง โดยใช้ไวรัส SfNPV อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และไวรัส SfNPV อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ผสมกับสารฆ่าแมลงชนิดต่างๆ และบังคับให้หนอนกิน ด้วยวิธี diet surface contamination method บนผิวหน้าอาหารเทียมที่บรรจุในถ้วยพลาสติกที่มีฝาปิดขนาด 2 ออนซ์ หยดสารแต่ละกรรมวิธีด้วยเครื่องหยดสารละลายอัตรา 30 ไมโครลิตรต่อถ้วย จากนั้นใช้แท่งแก้วรูปสามเหลี่ยมหมุนวนบนผิวหน้าของอาหารเทียมเพื่อให้สารทดลองเคลือบทั่วผิวหน้าอาหารปล่อยทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 3 นาที และปล่อยให้หนอนกิน ทำการตรวจนับการตายของหนอนในแต่ละกรรมวิธีทุก 24 ชั่วโมง จนครบ 7 วัน โดยหนอนที่ไม่ตอบสนองต่อการเขี่ยของปลายพู่กันจะถูกพิจารณาว่าตายหากพบหนอนตายในกรรมวิธีควบคุมมากกว่า 5% ให้ปรับค่าเปอร์เซ็นต์การตายด้วย Abbott's formula (Abbott, 1925)

การบันทึกข้อมูล

- จำนวนหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดที่ตายในแต่ละกรรมวิธี

2. การทดลองในสภาพไร่ (ปี 2565-66)

เมื่อได้ข้อมูลประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงจากทดลองในห้องปฏิบัติการแล้ว นำไปขยายผลในสภาพไร่ ในแปลงปลูกข้าวโพดหวาน

แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 สารทดลองที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด จากการทดลองในห้องปฏิบัติการขั้นตอนที่ 1
กรรมวิธีที่ 2 สารทดลองที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด จากการทดลองในห้องปฏิบัติการขั้นตอนที่ 2
กรรมวิธีที่ 3 สารฆ่าแมลงที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด จากการทดลองในห้องปฏิบัติการขั้นตอนที่ 1
กรรมวิธีที่ 4 สารฆ่าแมลงที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด จากการทดลองในห้องปฏิบัติการขั้นตอนที่ 2
กรรมวิธีที่ 5 ไวรัส SfNPV อัตรา ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดจาก จาก ข้อ 1.
กรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสารป้องกันกำจัดแมลง

วิธีปฏิบัติการทดลอง

เตรียมแปลงปลูกข้าวโพดหวาน ขนาดแปลงย่อยไม่น้อยกว่า 30 ตารางเมตร จำนวน 24 แปลงย่อย ระยะปลูก 75x25 เซนติเมตร ทำการพ่นครั้งแรกเมื่อพบระดับการทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดเฉลี่ยที่ระดับ 4 ทำการพ่นสารทดลองทุก 7 วัน สุ่มตรวจนับจำนวนหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด และตรวจนับระดับการทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด ก่อนพ่นสารและหลังพ่นสาร 7 วัน โดยสุ่มตรวจนับจากข้าวโพดไม่น้อยกว่า 20 ต้นต่อแปลงย่อยใน 4 แถวกลาง ตรวจนับจำนวน 3 ใบต่อยอด ให้คะแนนโดยอ้างอิงจาก Davis scale (Davis and Williams, 1992)

โดยแบ่งเป็น 9 ระดับ โดยสุ่มนับจำนวน 20 ต้น/แปลงย่อย นำระดับการทำลายที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์การทำลายโดยใช้สูตรของ Townsend-Heuberger

$$\text{การทำลาย (\%)} = \frac{\sum(nv)}{NV} \times 100$$

n = จำนวนต้นในแต่ละระดับการทำลาย v = คะแนนระดับการทำลาย

N = จำนวนต้นทั้งหมดที่สุ่มนับ V= คะแนนระดับการทำลายสูงสุด

นำข้อมูลจำนวน ระดับการทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด น้ำหนักผลผลิตของข้าวโพดหวานแบบที่ยังไม่ได้ลอกเปลือก น้ำหนักข้าวโพดหวานที่ลอกเปลือกแล้ว และน้ำหนักของข้าวโพดหวานที่มีคุณภาพในระยะส่งตลาดและน้ำหนักผลผลิตที่มีรอยทำลายในทุกกรรมวิธี มาวิเคราะห์ผลโดยวิธีทางสถิติที่เหมาะสม

การบันทึกข้อมูล

- จำนวนหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด
- ระดับการทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด
- น้ำหนักผลผลิตที่มีคุณภาพในระยะส่งตลาดและน้ำหนักผลผลิตที่มีรอยทำลาย
- ต้นทุนในการป้องกันกำจัด

เวลาและสถานที่

- 1 ตุลาคม 2564 ถึง 30 กันยายน 2566
- ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา อาคารวิจัยและพัฒนาศัตรูธรรมชาติ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
- แปลงข้าวโพดของเกษตรกร จังหวัดกาญจนบุรี หรือจังหวัดนครราชสีมา

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองในห้องปฏิบัติการ

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาประสิทธิภาพการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดหลังได้รับไวรัส SfNPV

ทำการทดลองโดยใช้หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดวัย 3 เป็นจำนวน 600 ตัว ในการทดลองโดยแบ่งหนอนออกเป็น 2 ชุด ชุดละ 600 ตัว ทำการทดลองโดยบังคับให้หนอนกินไวรัส SfNPV อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 280 ตัว และ SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 280 ตัว ด้วยวิธี diet surface contamination method บนผิวหน้าอาหารเทียมที่บรรจุในถ้วยพลาสติกที่มีฝาปิดขนาด 2 ออนซ์ เคลือบผิวหน้าอาหารเทียมด้วยสารแต่ละกรรมวิธีอัตรา 30 ไมโครลิตรต่อถ้วย จากนั้นปล่อยให้หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดกินอาหารเทียมที่เคลือบผิวหน้าด้วยไวรัส SfNPV อัตรา 10 และ 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นย้าย

หนอนทดลอง มากินอาหารที่เคลือบผิวหน้าด้วยสารเคมีชนิดต่างๆ ตามอัตราที่กำหนดต่ออีก 4 วัน ทำการบันทึกจำนวนหนอนที่ตายในแต่ละกรรมวิธี

ผลการทดลอง พบว่ากรรมวิธี SfNPV อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร นาน 72 ชั่วโมง จึงบังคับให้กิน cypermethrin 35% W/V EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร นาน 72 ชั่วโมง จึงบังคับให้กิน cypermethrin 35% W/V EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร นาน 72 ชั่วโมง จึงบังคับให้กิน deltamethrin 3% W/V EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ทำให้หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดวัย 3 ตาย 82.50 85.00 และ 75.00 เปอร์เซ็นต์ ในระยะเวลา 5 วัน ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ให้หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดกินเฉพาะไวรัส SfNPV และกรรรมวิธีอื่นๆ (ตารางที่ 1)

<u>ขั้นตอนที่ 2</u> ศึกษาประสิทธิภาพของไวรัส SfNPV ที่ผสมด้วยสารฆ่าแมลงชนิดต่างๆ

ทำการทดลองโดยใช้หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดวัย 3 เป็นจำนวน 600 ตัว ในการทดลองทำการทดลองโดยบังคับให้หนอนกินไวรัส SfNPV อัตรา 10 และ 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ที่ผสมด้วยสารฆ่าแมลงชนิดต่างๆ ด้วยวิธี diet surface contamination method บนผิวหน้าอาหารเทียมที่บรรจุในถ้วยพลาสติกที่มีฝาปิดขนาด 2 ออนซ์ เคลือบผิวหน้าอาหารเทียมด้วยสารแต่ละกรรมวิธี อัตรา 30 ไมโครลิตรต่อถ้วย จากนั้นปล่อยให้หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดกินอาหารเทียมดังกล่าวเป็นเวลา 7 วันทำการบันทึกจำนวนหนอนที่ตายในแต่ละกรรมวิธี

ผลการทดลอง พบว่ากรรมวิธีที่ทำให้หนอนตายมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ คือ กรรมวิธี SfNPV อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร + chlorantraniliprole 5.17% W/V SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร + cypermethrin 35% W/V EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ที่ทำให้หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดตายได้ 84.27 และ 82.39 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ได้ในวันที่ 2

กรรมวิธี SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร + chlorantraniliprole 5.17% W/V SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร + flubendiamide 20% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และ SfNPV อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร + deltamethrin 3% W/V EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ทำให้หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดตายได้ 100.0 97.5 และ 90.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ได้ในวันที่ 3 (ตารางที่ 2)

จากผลการทดลองทั้ง 2 ขั้นตอนข้างต้น พบว่า กรรมวิธีการทดลองที่ใช้ไวรัส SfNPV ที่ผสมด้วยสารฆ่าแมลงชนิดต่างๆ มีประสิทธิภาพในการกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดวัย 3 ในห้องปฏิบัติการได้มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ หลังจากได้รับสารทดลองไปในวันที่ 2-3 แตกต่างจากกรรมวิธีการทดลองที่ใช้หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดกินอาหารเทียมที่เคลือบผิวหน้าไวรัส SfNPV อัตราต่างๆ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นย้ายหนอนทดลอง มากินอาหารที่เคลือบผิวหน้าด้วยสารเคมีชนิดต่างๆ ที่ทำให้หนอนกระทู้ข่าวโพดลายจุดวัย 3 ตายได้มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 5 ของการ

ทดลอง จึงคัดเลือกวิธีการจากผลการทดลองข้างต้นเพื่อวางแผนการดำเนินการทดลองในแปลงปลูกข้าวโพดหวานสภาพไร่ ดังนี้

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 SfNPV อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร + chlorantraniliprole 5.17% W/V SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร + cypermethrin 35% W/V EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร + flubendiamide 20% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 SfNPV อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร + deltamethrin 3% W/V EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 ไวรัส SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสารป้องกันกำจัดแมลง

เตรียมแปลงปลูกข้าวโพดหวาน ขนาดแปลงย่อยไม่น้อยกว่า 30 ตารางเมตร จำนวน 24 แปลงย่อย ระยะปลูก 75x25 เซนติเมตร ทำการพ่นครั้งแรกเมื่อพบระดับการทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดเฉลี่ยที่ระดับ 4 ทำการพ่นสารทดลองทุก 7 วัน สุ่มตรวจนับจำนวนหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด และตรวจนับระดับการทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด ก่อนพ่นสารและหลังพ่นสาร 7 วัน โดยสุ่มตรวจนับจากข้าวโพดไม่น้อยกว่า 20 ต้นต่อแปลงย่อยใน 4 แถวกลาง ตรวจนับจำนวน 3 ใบต่อยอด ให้คะแนนโดยอ้างอิงจาก Davis scale (Davis and Williams, 1992) โดยแบ่งเป็น 9 ระดับ โดยสุ่มนับจำนวน 20 ต้น/แปลงย่อย นำระดับการทำลายที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์การทำลายโดยใช้สูตรของ Townsend-Heuberger

$$\text{การทำลาย (\%)} = \frac{\Sigma(nv)}{NV} \times 100$$

n = จำนวนต้นในแต่ละระดับการทำลาย v = คะแนนระดับการทำลาย

N = จำนวนต้นทั้งหมดที่สุ่มนับ V= คะแนนระดับการทำลายสูงสุด

นำข้อมูลจำนวน ระดับการทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด น้ำหนักผลผลิตของข้าวโพดหวานแบบที่ยังไม่ได้ลอกเปลือก น้ำหนักข้าวโพดหวานที่ลอกเปลือกแล้ว และน้ำหนักของข้าวโพดหวานที่มีคุณภาพในระยะส่งตลาดและน้ำหนักผลผลิตที่มีรอยทำลายในทุกกรรมวิธีมาวิเคราะห์ผลโดยวิธีทางสถิติที่เหมาะสม

การทดลองในสภาพไร่

ทำการทดลองในสภาพไร่ โดยใช้แปลงปลูกข้าวโพดหวานของเกษตรกรในตำบลเขาน้อย อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี ในขณะที่ต้นข้าวโพดหวานมีอายุ 26 วันหลังปลูกได้เริ่มทำการพ่นสารทดลอง

เนื่องจากสำรวจพบใบข้าวโพดหวานถูกหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดทำลาย มีความเสียหายบนใบเฉลี่ยมากกว่าระดับ 4 และมีความเสียหายบนใบข้าวโพดหวานสม่ำเสมอทั่วทั้งแปลงทดลอง

หลังจากพ่นสารทดลองครั้งที่ 1 ทุกกรรมวิธีพบความเสียหายบนใบไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติโดยใบของข้าวโพดหวานถูกทำลาย 15.56-26.39 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้นกรรมวิธีไม่พ่นสารป้องกันกำจัดแมลง ที่ใบถูกทำลาย 36.39 เปอร์เซ็นต์

หลังพ่นสารทดลองครั้งที่ 2 พบว่า ใบข้าวโพดที่เกิดความเสียหายจากหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดมีความเสียหายลดลงจากเมื่อ 7 วันก่อนหน้า โดยกรรมวิธีที่สามารถลดการทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดได้ดี ได้แก่ กรรมวิธี SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร + flubendiamide 20% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร, SfNPV อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร + chlorantraniliprole 5.17% W/V SC 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร ที่พบใบเกิดความเสียหาย 8.47 9.17 และ 10.56 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

หลังพ่นสารทดลองครั้งที่ 3 พบว่าใบข้าวโพดที่เกิดความเสียหายจากหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดมีความเสียหายลดลงจากเมื่อ 7 วันก่อนหน้า โดยทุกกรรมวิธีพบความเสียหายบนใบไม่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติโดยพบใบของข้าวโพดหวานถูกทำลาย 4.71-7.13 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้นกรรมวิธีไม่พ่นสารป้องกันกำจัดแมลง ที่ใบถูกทำลาย 24.12 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3)

เนื่องจากได้ทำการทดลองในช่วงเดือน กันยายน 2565 ซึ่งมีฝนตกหนักในจังหวัดกาญจนบุรี ทำให้เกิดน้ำท่วมขังหลายพื้นที่และท่วมแปลงข้าวโพดหวานที่ใช้การทดลองดังกล่าวโดยหลังจากทำการพ่นสารทดลองครั้งที่ 3 มีฝนตกต่อเนื่องและเกิดน้ำท่วมขังหลายวัน ทำให้ต้นข้าวโพดเจริญเติบโตได้ไม่เป็นปกติในช่วง 42 วัน หลังปลูก จึงไม่สามารถทำการพ่นสารทดลองครั้งที่ 4 ได้ และรอให้ข้าวโพดถึงเวลาเก็บเกี่ยวผลผลิตและเมื่อทำการเก็บเกี่ยวผลผลิตโดยสุ่มเก็บฝักข้าวโพด 20 ฝักจากแต่ละแปลงย่อย พบว่าทุกกรรมวิธีได้ผลผลิตดีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยมีน้ำหนักฝักดีเฉลี่ยต่อกรรมวิธีที่ 0.65-1.68 กิโลกรัม (ตารางที่ 4) ซึ่งจากผลการทดลองดังกล่าวให้ผลการทดลองที่ไม่ถูกต้องจึงจะดำเนินการทดลองซ้ำในปี 2566

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการศึกษาประสิทธิภาพการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดหลังได้รับไวรัส SfNPV และประสิทธิภาพของไวรัส SfNPV ที่ผสมด้วยสารฆ่าแมลงชนิดต่างๆ ในห้องปฏิบัติการ พบว่ากรรมวิธีการทดลองที่ใช้ไวรัส SfNPV ที่ผสมด้วยสารฆ่าแมลงชนิดต่างๆ มีประสิทธิภาพในการกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดวัย 3 ในห้องปฏิบัติการได้มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ หลังจากได้รับสารทดลองไปในวันที่ 2-3 แตกต่างจากกรรมวิธีการทดลองที่ใช้หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดกินอาหารเทียมที่เคลือบผิวหน้าไวรัส SfNPV อัตราต่างๆ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นย้ายหนอนทดลอง มากินอาหารที่เคลือบผิวหน้าด้วยสารเคมีชนิดต่างๆ ที่ทำให้หนอนกระทู้ข่าวโพดลายจุดวัย 3 ตายได้มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 5 ของการทดลอง จึงคัดเลือกวิธีการจากผลการทดลองข้างต้นเพื่อวางแผนการดำเนินการ

ทดลองในแปลงปลูกข้าวโพดหวานสภาพไร่ 4 กรรมวิธี ได้แก่ กรรมวิธี SfNPV อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร + chlorantraniliprole 5.17% W/V SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร + cypermethrin 35% W/V EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร , SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร + flubendiamide 20% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร, SfNPV อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร + deltamethrin 3% W/V EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร โดยเปรียบเทียบกับกรรมวิธี SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร และใช้กรรมวิธีไม่พ่นสารป้องกันกำจัดแมลงเป็นกรรมวิธีควบคุม โดยผลการทดลองในสภาพไร่ พบว่าทุกกรรมวิธีมีประสิทธิภาพในการลดการทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวานได้ดีและความเสียหายบนใบข้าวโพดมีอัตราลดลงเรื่อยๆ ตั้งแต่การพ่นครั้งแรก

เนื่องจากได้ทำการทดลองในช่วงเดือน กันยายน 2565 ซึ่งมีฝนตกหนักในจังหวัดกาญจนบุรี ทำให้เกิดน้ำท่วมขังหลายพื้นที่และท่วมแปลงข้าวโพดหวานที่ใช้การทดลองดังกล่าวโดยหลังจากทำการพ่นสารทดลองครั้งที่ 3 มีฝนตกต่อเนื่องและเกิดน้ำท่วมขังหลายวัน ทำให้ต้นข้าวโพดเจริญเติบโตได้ไม่เป็นปกติในช่วง 42 วัน หลังปลูก ทำให้ผลการทดลองที่ได้ไม่ถูกต้องจึงจะดำเนินการทดลองในสภาพไร่ซ้ำในปี 2566

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณมยุรา พงษ์ชวาล คุณปานนภา ภู่ทอง คุณจิราพร เอี่ยมงาม คุณอำไพ หาญมนตรี คุณรัญทม นำทวี คุณจันทร์ โยธาแก้ว และทีมงานทุกท่าน ที่ให้ความร่วมมือและช่วยปฏิบัติงานทดลองครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

CABI. 2019. *Spodoptera frugiperda* (fall armyworm). (Online). Available: https://www.cabi.org/isc/datasheet/29810

Cruz I., M. de L.C. Figueiredo, R.B. da Silva, I.F. da Silva, C. de Souza Paula and J.E. Foster. 2012. Using sex pheromone traps in the decision-making process for pesticide application against fall armyworm (*Spodoptera frugiperda* [Smith] [Lepidoptera: Noctuidae]) larvae in maize. International Journal of Pest Management. Vol. 58(1): 83-90.

Davis, F.M. 1992. Visual Rating Scales for Screening Whorl-stage Corn for Resistance to Fall Armyworm. Mississippi Agricultural & Forestry Experiment Station, Technical Bulletin 186, Mississippi State University, MS39762, USA.

FAO. 2019. Briefing note on FAO actions on fall armyworm. Plant Production and Protection Division. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Rome, Italy.

Hruska A.J. and F. Gould. 1997. Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) and *Diatraea lineolata* (Lepidoptera: Pyralidae): impact of larval population level and temporal occurrence on maize yield in Nicaragua. J. Econ. Entomol. 90. 611–622.

Hunt L.M., T. Ojanguren, R. Schwartz and N.D. Halperin. 1999. Balancing risks and resources: applying pesticides without safety equipment in southern Mexico. In: Hahn, R. (Ed.), Anthropology in Public Health. Oxford University Press, Oxford, UK, pp. 265-289.

Mendes W.A., J. Valle, J.E. Ibarra, J. Cisneros, D.I. Penagos and T. Williams. 2002. Spinosad and nucleopolyhedrovirus mixtures for control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in maize. Biological Control, 25. 195-206.

Table 1 Percentage mortality of *Spodoptera frugiperda* fed on SfNPV using diet surface contaminates technique for 72 h. and transferred to eat various types of chemicals for 7 days

Treatment	Percent cumulative mortality of the *Spodoptera frugiperda* (%) [1/]						
	1 day	2 days	3 days	4 days	5 days	6 days	7 days
SfNPV 10 ml / water 20 l	0	0	0	0.00 e	0.00 e	27.50 e	60.00 cd
SfNPV 20 ml / water 20 l ลิตร	0	0	0	6.10 bcd	50.00 b	60.00 cd	85.00 ab
SfNPV 10 ml / water 20 l for 72 Hrs. and forced to eat abamectin 1.8% W/V EC 20 ml / water 20 l	0	0	0	0.00 e	10.00 c	55.00 d	72.50 bc
SfNPV 20 ml / water 20 l for 72 Hrs. and forced to eat abamectin 1.8% W/V EC 20 ml / water 20 l	0	0	0	5.04 cd	22.50 c	60.00 cd	85.00 ab
SfNPV 10 ml / water 20 l for 72 Hrs. and forced to eat cypermethrin 35% W/V EC 30 ml / water 20 l	0	0	0	59.59 a	82.50 a	90.00 a	100.00 a
SfNPV 20 ml / water 20 l for 72 Hrs. and forced to eat cypermethrin 35% W/V EC 30 ml / water 20 l	0	0	0	46.82 ab	85.00 a	90.00 a	100.00 a
SfNPV 10 ml / water 20 l for 72 Hrs. and forced to eat chlorantraniliprole 5.17%W/V SC 20 ml / water 20 l	0	0	0	0.00 e	22.50 c	62.50 bcd	85.00 ab
SfNPV 20 ml / water 20 l for 72 Hrs. and forced to eat chlorantraniliprole 5.17%W/V SC 20 ml / water 20 l ลิตร	0	0	0	4.05 cd	45.00 b	85.00 a	100.00 a
SfNPV 10 ml / water 20 l for 72 Hrs. and forced to eat thiodicarb 75 % WP 10 g/ water 20 l	0	0	0	3.58 cd	15.00 c	30.00 e	55.00 d
SfNPV 20 ml / water 20 l for 72 Hrs. and forced to eat thiodicarb 75 % WP 10 g / water 20 l	0	0	0	3.58 cd	30.00 c	45.00 de	92.5 a
SfNPV 10 ml / water 20 l for 72 Hrs. and forced to eat deltamethrin 3 % W/V EC 20 ml / water 20 l	0	0	0	29.16 abc	55.00 b	62.50 bcd	75.00 b
SfNPV 20 ml / water 20 l for 72 Hrs. and forced to eat deltamethrin 3 % W/V EC 20 ml / water 20 l	0	0	0	42.49 ab	75.00 a	80.00 ab	95.00 a
SfNPV 10 ml / water 20 l for 72 Hrs. and forced to eat flubendiamide 20 % WG 10 g / water 20 l	0	0	0	28.34 abc	52.50 b	77.50 abc	85.00 ab
SfNPV 20 ml / water 20 l for 72 Hrs. and forced to eat flubendiamide 20 % WG 10 g / water 20 l	0	0	0	2.32 d	27.50 c	60.00 cd	82.50 ab
untreated	0	0	0	0.00 e	0.00 e	0.00 e	0.00
CV%	0	0	0	47.8	24.8	19.0	11.4

[1/] Means followed by the same letter in the column do not significantly different at 95 % by DMRT

Table 2 Percentage mortality of *Spodoptera frugiperda* fed on SfNPV mixed with various types of chemicals using diet surface contaminates technique for 7 days

Treatment	Percent cumulative mortality of the *Spodoptera frugiperda* (%) [1/]						
	1 day	2 days	3 days	4 days	5 days	6 days	7 days
SfNPV 10 ml / water 20 l	0 e	0 d	7.5 d	32.5 c	45.0 c	62.5 d	70.0 cd
SfNPV 20 ml / water 20 l	0 e	0 d	7.5 d	32.5 c	62.5 bc	80.0 abc	95.0 a
SfNPV 10 ml / water 20 l + abamectin 1.8% W/V EC 20 ml / water 20 l	0 e	0 d	5.0 d	7.5 d	22.5 d	35.0 e	55.0 d
SfNPV 20 ml / water 20 l + abamectin 1.8% W/V EC 20 ml / water 20 l	0 e	0.82 c	10.0 d	40.0 c	70.0 ab	85.0 ab	87.5 ab
SfNPV 10 ml / water 20 l + cypermethrin 35% W/V EC 30 ml / water 20 l	52.13 ab	56.71 ab	70.0 b	75.0 ab	82.5 ab	87.5 ab	90.0 ab
SfNPV 20 ml / water 20 l + cypermethrin 35% W/V EC 30 ml / water 20 l	69.29 a	82.39 a	85.0 ab	87.5 a	87.5 a	90.0 a	90.0 ab
SfNPV 10 ml / water 20 l + chlorantraniliprole 5.17%W/V SC 20 ml / water 20 l	69.29 a	84.27 a	87.5 ab	87.5 a	87.5 a	87.5 ab	90.0 ab
SfNPV 20 ml / water 20 l + chlorantraniliprole 5.17%W/V SC 20 ml / water 20 l	6.1 c	54.81 ab	100 a	100.0 a	100.0 a	100.0 a	100.0 a
SfNPV 10 ml / water 20 l + thiodicarb 75 % WP 10 g / water 20 l	0 e	0 d	12.5 d	45.0 c	65.0 bc	72.5 bcd	75.0 bc
SfNPV 20 ml / water 20 l + thiodicarb 75 % WP 10 g / water 20 l	0 e	2.32 c	32.5 c	55.0 ab	82.5 ab	85.0 ab	87.5 ab
SfNPV 10 ml / water 20 l + deltamethrin 3 % W/V EC 20 ml / water 20 l	0 e	2.90 c	90.0 a	100.0 a	100.0 a	100.0 a	100.0 a
SfNPV 20 ml / water 20 l + deltamethrin 3 % W/V EC 20 ml / water 20 l	16.87 bc	27.12 ab	37.5 c	47.5 c	75.0 ab	87.5 ab	90.0 ab
SfNPV 10 ml / water 20 l + flubendiamide 20 % WG 10 g / water 20 l	5.04 cd	24.52 ab	42.5 c	45.5 c	62.5 bc	67.5 cd	80.0 abc
SfNPV 20 ml / water 20 l + flubendiamide 20 % WG 10 g / water 20 l	0.82 d	20.12 b	97.5 a	100.0 a	100.0 a	100.0 a	100.0 a
untreated	0 e	0 d	0 e	0 e	2.5 e	2.5 f	2.5 e
CV%	29.9	27.2	28.5	30.9	21.8	15.5	14.0

[1/] Means followed by the same letter in the column do not significantly different at 95 % by DMRT

Table 3 The percentage of sweet corn leaf damage caused by the *Spodoptera frugiperda* was averaged from 20 plants per subplot

Treatment	Damage rate on a sweet corn leaf. (%) [1/]			
	Before	After 1st sprayed	After 2nd sprayed	After 3rd sprayed
SfNPV 10 ml / water 20 l + chlorantraniliprole 5.17%W/V SC 20 ml / water 20 l	57.22 a	15.56 a	9.17 a	5.61 a
SfNPV 20 ml / water 20 l + cypermethrin 35% W/V EC 30 ml / water 20 l	42.92 a	23.19 ab	14.56 ab	5.98 a
SfNPV 20 ml / water 20 l + flubendiamide 20 % WG 10 g / water 20 l	54.31 a	23.33 ab	8.47 a	6.99 ab
SfNPV 10 ml / water 20 l + deltamethrin 3 % W/V EC 20 ml / water 20 l	50.97 a	25.42 ab	19.59 b	4.71 a
SfNPV 20 ml / water 20 l	48.06 a	26.39 ab	10.56 a	7.13 ab
untreated	54.56 a	36.39 b	48.06 c	24.12 b
CV%	26.0	36.6	29.3	35.65

[1/] Means followed by the same letter in the column do not significantly different at 95 % by DMRT

Table 4 The average yield of sweet corn was collected by randomly sampling 20 maize ears per subplot

Treatment	Average weight of 20 sweet corn ears (kg.) [1/]		
	fresh	peeled	Marketable yield
SfNPV 10 ml / water 20 l + chlorantraniliprole 5.17%W/V SC 20 ml / water 20 l	4.15 a	3.45 b	1.08 ab
SfNPV 20 ml / water 20 l + cypermethrin 35% W/V EC 30 ml / water 20 l	5.23 a	4.43 a	0.93 ab
SfNPV 20 ml / water 20 l + flubendiamide 20 % WG 10 g / water 20 l	4.45 a	3.75 ab	1.68 a
SfNPV 10 ml / water 20 l + deltamethrin 3 % W/V EC 20 ml / water 20 l	4.48 a	3.65 b	0.65 b
SfNPV 20 ml / water 20 l	4.48 a	3.75 ab	1.53 ab
untreated	4.80 a	3.53 b	0.80 ab
CV%	15.7	8.5	53.2

[1/] Means followed by the same letter in the column do not significantly different at 95 % by DMRT

การศึกษาชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคตายพราย TR4 ในกล้วยคาเวนดิชของประเทศไทย

The study and classification of the causal agent of TR4 wilt disease in Cavendish banana in Thailand

ชนินทร ดวงสอาด[1/] มะโนรัตน์ สุดสงวน[1/] วันวิสาข์ เพ็ชรอำไพ[1/] สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ[1/]
อมรรัชฎ์ คิดใจเดียว[1/] ธารทิพย ภาสบุตร[1/] สุทธินี ลิขิตตระกูลรุ่ง[2/]
[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 1

รายงานความก้าวหน้า

ศึกษาจำแนกชนิดของเชื้อรา โรคปานามาสายพันธุ์ tropical race 4 ที่พบกล้วยคาเวนดิชในประเทศไทย เพื่อให้สามารถระบุชนิดหรือจำแนกชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้องและเป็นปัจจุบัน ด้วยวิธีการมาตรฐานและเป็นสากล ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 - กันยายน 2565 ได้เก็บรวบรวมตัวอย่างโรคตายพรายที่พบในกล้วยคาเวนดิชจากโครงการ “Capacity development on diagnostic and surveillance system of banana *Fusarium* wilt disease (TCP/RAS/3619 ที่เก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช และเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อสีน้ำตาลจากต้นกล้วยพันธุ์อื่นๆ ที่แสดงอาการโรคตายพราย รวมถึงดินบริเวณรอบราก ที่เก็บจากพื้นที่ปลูกกล้วยใน 33 จังหวัด จำนวน 145 ตัวอย่าง ทำการแยกเชื้อราได้จำนวน 95 ไอโซเลท และเชื้อรา *Fusarium* จาก culture collection จำนวน 10 ไอโซเลท มาแยกให้บริสุทธิ์อีกครั้งด้วยวิธี single spore isolation จำแนกชนิดเบื้องต้นของเชื้อรา *Fusarium* ที่แยกได้จากตัวอย่างด้วยรูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo และ compound microscope โดยตรวจดูลักษณะเส้นใย conidiophore conidia ขนาด สี และโครงสร้างอื่น ๆ พบว่าเป็นเชื้อรา *F. oxysporum* จำนวน 85 ไอโซเลท และเป็น *Fusarium* spp. อื่นๆ อีก 20 ไอโซเลท เช่น *F. sonali* และ *F. fujikuroi* เมื่อจำแนกชนิดเบื้องต้นด้วยข้อมูลทางพันธุกรรมโดยวิธี phylogenetic reconstruction ด้วยข้อมูลของยีนตำแหน่ง *tef1* พบว่าเชื้อรา *F. oxysporum* จำนวน 85 ไอโซเลท จัดอยู่ใน forma specialis *cubense* จำนวน 70 ไอโซเลท และมีความใกล้เคียงกับ forma specialis ได้แก่ *F. oxysporum* f. sp. *melonis* และ *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* จำนวน 15 ไอโซเลท ซึ่งต้องทำการจำแนกชนิดอย่างละเอียดต่อไป

คำหลัก : โรคตายพราย TR4 การจำแนกชนิด กล้วยคาเวนดิช

รหัสการทดลอง FF65-55-07-65-02-01-65

คำนำ

กล้วย (*Musa* spp.) เป็นพืชที่นิยมปลูกทั่วโลกโดยเฉพาะในเขตร้อนชื้น มีพื้นที่ปลูกมากกว่า 37.62 ล้านไร่ และให้ผลผลิตมากกว่า 125 ล้านตัน โดยพื้นที่ปลูกประมาณ 47 เปอร์เซ็นต์เป็นพื้นที่ปลูกกล้วยคาเวนดิช (Cavendish) (FAO, 2019) สำหรับประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกกล้วยในปี 2561-2562 ประมาณ 5 แสนไร่ พื้นที่ปลูกกว่า 68 เปอร์เซ็นต์ หรือ ประมาณ 3.28 แสนไร่ เป็นพื้นที่ปลูกกล้วยน้ำว้า รองลงมาคือกล้วยหอม กล้วยไข่ กล้วยตานี กล้วยเล็บมือนาง กล้วยหิน และมีพื้นที่ปลูกกล้วยคาเวนดิชเพียง 0.14 เปอร์เซ็นต์ หรือ 700 ไร่ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2562; สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2562)

โรคตายพราย หรือ โรคเหี่ยวกล้วย (Panama disease หรือ Fusarium wilt) มีสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* หรือ Foc สามารถเข้าทำลายและก่อให้เกิดความเสียหายต่อกล้วย และพืชสกุล *Heliconia* เชื้อจะเข้าทำลายและก่อให้เกิดความเสียหายต่อระบบท่อลำเลียงของพืช การเข้าทำลายส่วนใหญ่มักจะเข้าทางราก เจริญขึ้นไปตามท่อน้ำ (xylem) เริ่มจากบริเวณกาบใบด้านนอกของส่วนลำต้น (Warman and Aitken, 2018) โรคนี้เป็นโรคที่สำคัญต่อการปลูกกล้วย ซึ่งทำความเสียหายให้กับผลผลิตกล้วยอย่างรุนแรง และเป็น soil borne สามารถคงอยู่ได้ในดินในรูแปของ chlamydospore ได้นานกว่า 20 ปี ตั้งแต่ตอนต้นศตวรรษที่ 1900 โรคตายพรายที่เกิดจากเชื้อรา Foc สายพันธุ์ race 1 ทำความเสียหายให้กับกล้วยสายพันธุ์ Gros Michel ซึ่งเป็นกล้วยที่มีความสำคัญทางการค้าในภูมิภาคลาตินอเมริกาซึ่งเป็นแหล่งปลูกกล้วยสำคัญของโลก ทำให้มีการพัฒนากล้วยพันธุ์ที่ต้านทานต่อ Foc Race 1 ขึ้น พบว่า กล้วยพันธุ์คาเวนดิช (Cavendish) สามารถทดแทน กล้วยสายพันธุ์ Gros Michel ได้และเริ่มปลูกทดแทน ในช่วงปี 1960 อย่างไรก็ตาม หลังจากนั้นต่อมา ในช่วง 20 ปีที่ผ่านมากลับพบว่า พันธุ์กล้วยต้านทานโรคอย่างคาเวนดิช ที่ปลูกในพื้นที่เขตร้อนกลับอ่อนแอและเกิดโรคตายพรายได้ ซึ่งเมื่อจำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุแล้วพบว่าเกิดจากเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *cubense* (Foc) สายพันธุ์ใหม่ที่ยังไม่เคยพบมาก่อน คือ เชื้อรา Foc Tropical Race 4 หรือ Foc TR4

สายพันธุ์ของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *cubense* (Foc)

1. *F. oxysporum* f.sp. *cubense* Race 1 เข้าทำลายกล้วยเช่น พันธุ์ Gros Michel (กล้วยหอมทองgenome type AAA) Pisang Awak (กล้วยน้ำว้า genome type ABB) เป็นต้น

2. *F. oxysporum* f.sp. *cubense* Race 2 เข้าทำลายกล้วยเช่น พันธุ์ Bluggoe (กล้วยหักมุก genome type ABB) เป็นต้น

3. *F. oxysporum* f.sp. *cubense* Race 3 เข้าทำลายพืชในกลุ่ม Heliconia species

4. *F. oxysporum* f.sp. *cubense* Race 4 เข้าทำลายกล้วยพันธุ์ Cavendish (กล้วยหอมเขียวgenome type AAA) Foc Race 4 แยกออกได้เป็น 2 strain คือ Subtropical Race 4 (Foc SR4) พบการระบาดเฉพาะในเขต subtropics และ Tropical Race 4 (Foc TR4) พบในเขต Tropics และกำลังระบาดและทำความเสียหายแก่อุตสาหกรรมการผลิตกล้วยทั่วโลกอยู่ในขณะนี้

F. oxysporum f.sp. *cubense* race 1 เข้าทำลายกล้วยเช่น พันธุ์ Gros Michel หรือ กล้วยหอมทองซึ่งมี genome type AAA พันธุ์ Pisang Awak หรือ กล้วยน้ำว้า genome type ABB

ในภูมิภาคเอเชีย พบรายงานครั้งแรกในปี 1980 ที่ประเทศไต้หวัน หลังจากปี 1990 เริ่มพบรายงานการแพร่ระบาดไปยังประเทศอินโดนีเซีย มาเลเซีย จีน ฟิลิปปินส์ ลาว เวียดนาม รวมถึงประเทศอื่นๆ เช่น ประเทศในแถบลาตินอเมริกา จอร์แดน โมซัมบิค ปากีสถาน เลบานอน โอมาน ในปี 1997 พบการระบาดของ Foc TR4 ที่มี vegetative compatibility group (VCG) 01213/16 ระบาดอย่างรุนแรงในรัฐ Northern Territory บริเวณเมือง Darwin ซึ่งส่งผลต่ออุตสาหกรรมการผลิตกล้วยของประเทศออสเตรเลียอย่างรุนแรง โดยไม่สามารถปลูกกล้วยคาเวนดิชบนพื้นที่ที่มีการระบาดได้อีก (Conde and Pitkethley, 2001)

การจำแนกชนิดสายพันธุ์ของ Foc ไม่สามารถใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาในการจัดจำแนก เนื่องจากมีความแตกต่างไม่เพียงพอ อีกทั้งการจัดกลุ่ม vegetative compatibility groups หรือ VCGs ที่ออกแบบโดย Cove (1976) และ Puhalla (1985) ค่อนข้างยุ่งยากเนื่องมีข้อจำกัดมากมาย เช่น ต้องมี Foc จากแต่ละกลุ่ม VCGs เพื่อใช้ในการทดสอบซึ่งมีเพียงห้องปฏิบัติการไม่กี่แห่ง ที่มี Foc สำหรับการทดสอบ VCGs อีกทั้งการจัดจำแนกด้วย VCGs ใช้เวลาค่อนข้างนาน ทำให้ไม่ทันการณ์ต่อการตรวจสอบชนิดของเชื้อรา Foc ปัจจุบัน จึงมีผู้คิดค้นวิธีการชีวโมเลกุล โดยออกแบบไพร์เมอร์ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อรา Foc TR4 เพื่อให้สามารถใช้ตรวจสอบชนิดของรา Foc ได้ทันการณ์ (Bentley *et al*., 2001; Dita *et al*., 2010; Dita *et al*., 2011; Fraser-Smith *et al*., 2014)

การระบาดของโรคปานามาที่เกิดจากเชื้อราสายพันธุ์ใหม่ *F. oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 (Foc TR4 หรือ TR4) เป็นศัตรูพืชชนิดร้ายแรงที่มีความสำคัญทางด้านกักกันพืช กำลังทำความเสียหายและแพร่ระบาดในพื้นที่ปลูกกล้วยคาเวนดิชในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ FAO ได้จัดทำโครงการความร่วมมือในภูมิภาคเพื่อเฝ้าระวังการแพร่กระจายและการวินิจฉัยชนิดที่ถูกต้องของเชื้อรา Foc TR4 ผลจากการดำเนินงาน พบการปรากฏของเชื้อราชนิดนี้ในแปลงผลิตกล้วยคาเวนดิชที่อำเภอพญาเม็งราย และอำเภอเชียงของ จังหวัดเชียงราย โดยได้มีการกำหนดมาตรการเพื่อเฝ้าระวังสาเหตุและป้องกันกำจัด และได้ดำเนินการตามมาตรการเพื่อควบคุมการแพร่กระจายไปยังพื้นที่ที่ยังปลอดโรค อย่างไรก็ตามในประเทศไทยยังไม่มีการจำแนกชนิดของ Foc ที่พบเข้าทำลายกล้วยคาเวนดิช

ดังนั้น การทดลองนี้จะจำแนกชนิดของเชื้อรา โรคปานามาสายพันธุ์ tropical race 4 ที่พบกล้วยคาเวนดิชในประเทศไทย เพื่อให้สามารถระบุชนิดหรือจำแนกชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้องและเป็นปัจจุบัน ด้วยวิธีการมาตรฐานและเป็นสากล เพื่อนำไปใช้ในการหาแนวทางป้องกันกำจัดที่ถูกต้องเหมาะสมและมีประสิทธิภาพ และเป็นข้อมูลสำคัญในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับเปิดตลาดสินค้าเกษตร การเจรจาการค้าระหว่างประเทศ ซึ่งข้อมูลดังกล่าวนี้ เกษตรกร เอกชน และหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง สามารถนำเทคโนโลยี ระบบการผลิตพืชไปใช้ประโยชน์ ในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตพืช มีความมั่นคงด้านอาหารและพลังงานอย่างยั่งยืน

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ ถุงพลาสติก ถุงกระดาษ กรรไกรตัดแต่งกิ่ง ไม้ทับตัวอย่าง กระดาษหนังสือพิมพ์ ซองกระดาษสำหรับเก็บและรักษาตัวอย่าง

2. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่

- เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง (microcentrifuge)
- Thermal cyclers
- เครื่องเขย่า Vortex
- Tissue Lyser
- Gel electrophoresis (gel tank เครื่องกำเนิดกระแสไฟ gel plate comb)
- เครื่องถ่ายภาพเจล
- microwave
- micropipette ขนาด 10 100 200 และ 1000 ไมโครลิตร
- กล้องจุลทรรศน์แบบ compound
- กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo
- dry heat block
- water bath

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

- Green Hot Start PCR Master Mix (biotechrabbit™)
- Lysing Enzymes from *Trichoderma harzianum* (Glucanex®)
- Lithium Borate buffer (LB)
- PureDireX Genomic DNA Isolation Kit
- QIAquick Gel Extraction Kit
- SERVA HiSens Stain G
- Nuclease-Free Water
- อาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ potato dextrose agar (PDA)
- ไพร์เมอร์ ได้แก่

FocTR4-F	CACGTTTAAGGTGCCATGAGAG (Dita *et al*., 2010)
FocTR4-R1	CGCACGCCAGGACTGCCTCGTGA (Dita *et al*., 2010)
FocTR4-R2	GCCAGGACTGCCTCGTGA (Dita *et al*., 2010)

EF-1 ATGGGTAAGGARGACAAGAC (O'Donnell *et al*., 1998)

EF-2 GGARGTACCAGTSATCATGTT (O'Donnell *et al*., 1998)

RPB1-Fa (O'Donnell *et al*., 2010)

RPB1-G2R (O'Donnell *et al*., 2010)

RPB2-5f2 (O'Donnell *et al*., 2010)

RPB2-7cr (O'Donnell *et al*., 2010)

6. Sequence assemble programs เช่น Geneious Prime 2022

วิธีการ

1. รวบรวมตัวอย่าง (2565)

รวบรวมตัวอย่างโรคตายพราย TR4 ที่ได้จากโครงการ "Capacity development on diagnostic and surveillance system of banana *Fusarium* wilt disease (TCP/RAS/3619)" ทั้งที่เป็นตัวอย่าง เนื้อเยื่อลำต้นและ culture

2. การแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืช (2565-2566)

<u>แยกเชื้อราสาเหตุโรคพืชจากตัวอย่างเนื้อเยื่อลำต้น</u>

แยกเชื้อราโดยวิธี tissue transplanting นำตัวอย่างส่วนของท่อน้ำท่ออาหารของต้นกล้วยที่มีสีน้ำตาลแช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปรคลอไรท์ 10 % เป็นเวลา 3-5 นาที ล้างในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำไปซับบนกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้แห้ง ตัดเป็นเส้นเล็ก ๆ แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ ห้องปฏิบัติการ นาน 7-21 วัน แยกราให้บริสุทธิ์ และเลี้ยงบนอาหาร PDA

<u>แยกเชื้อราสาเหตุโรคพืชจาก culture collection</u>

เขี่ยเส้นใยของเชื้อรามาวางลงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ ห้องปฏิบัติการ นาน 7-21 วัน

<u>แยกเชื้อให้บริสุทธิ์</u>

แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ โดยวิธี single spore isolation ย้ายสปอร์เดี่ยวของเชื้อรา Foc เลี้ยงลงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ ห้องปฏิบัติการ นาน 7-21 วัน หากไม่มีการปนเปื้อน สามารถดำเนินการสกัดดีเอ็นเอ เชื้อที่เจริญจากสปอร์เดี่ยว จะทำการแยกเลี้ยงบนอาหาร PDA จากนั้นนำเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้เลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ศึกษาต่อไป

3. สกัดดีเอ็นเอ (2566)

ตักและย้ายเส้นใยของรา *Fusarium* spp. ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA ประมาณ 0.2-0.5 กรัม ลงในหลอดสำหรับสกัดดีเอ็นเอ และทำการสกัดตามวิธีของ Doungsa-ard *et al.* (2015) เก็บรักษาดีเอ็นเอที่สกัดได้จากแต่ละตัวอย่าง ไว้ที่อุณหภูมิ -20 หรือ -40 องศาเซลเซียส เพื่อรักษาสภาพและคุณภาพของดีเอ็นเอ

4. ตรวจสอบชนิดเบื้องต้นของเชื้อราสาเหตุโรคปานามาของกล้วยสายพันธุ์ tropical race 4 (2566)

ตรวจสอบชนิดเบื้องต้นของเชื้อราแต่ละไอโซเลท โดยทำ PCR ด้วยไพร์เมอร์จำเพาะ FocTR4-F/FocTR4-R2 (Dita *et al*., 2010) โดยมี EF-1/EF-2 (Czislowski *et al*., 2017) เป็น internal control กำหนด annealing temperature ที่ 60 องศาเซลเซียส

5. จำแนกชนิดของราโดยใช้ข้อมูลพันธุกรรม (2566-2567)

เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมาย

นำดีเอ็นเอที่สกัดได้จากแต่ละตัวอย่างและผ่านการตรวจชนิดเบื้องต้น มาทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายของ *Fusarium* spp. ตำแหน่ง the RNA polymerase largest subunit gene (*rpb1*) ด้วยไพร์เมอร์ RPB1-Fa/RPB1-G2R (O'Donnell *et al*., 2010) ตำแหน่ง the RNA polymerase second largest subunit gene (*rpb2*) ด้วยไพร์เมอร์ RPB2-5f2/RPB2-7cr (O'Donnell *et al*., 2010) และ the translation elongation factor 1-alpha gene (*tef1*) (O'Donnell *et al*., 1998) กำหนด annealing temperature ของแต่ละตำแหน่งที่ 56 องศาเซลเซียส ด้วยวิธี Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยใช้ Taq DNA Polymerase ใช้ cycling และ condition ของปฏิกิริยาตามที่ผู้ผลิตแนะนำ

การตรวจสอบผลิตภัณฑ์ PCR

ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำ PCR โดยตรวจสอบขนาดของชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่ต้องการด้วยวิธี 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) ส่งผลิตภัณฑ์ PCR ไปยัง บริษัท Macrogen Korea เพื่อทำให้ผลิตภัณฑ์ PCR บริสุทธิ์ และหาลำดับนิวคลีโอไทด์

การวิเคราะห์ และตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์

นำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ (sequence) มาทำการวิเคราะห์ โดยนำ forward sequence และ reverse sequence ที่ได้มาเปรียบเทียบเทียบกัน โดยใช้โปรแกรม Geneious Prime 2022 (http://www.geneious.com; Kearse *et al*., 2012) บันทึกข้อมูลของลำดับนิวคลีโอไทด์ในรูปแบบไฟล์ชนิด fasta ทำการตรวจสอบความถูกต้องของชนิดของจุลินทรีย์ที่ทำการศึกษากับฐานข้อมูลทางพันธุกรรม เช่น GenBank, Mycobank, Fusarium MLST DATABASE และ Fusarium-ID

การจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์

นำ contig ของลำดับนิวคลีโอไทด์ (consencus sequence ที่บันทึกไว้ในรูปแบบ fasta ไฟล์) มาจัดเรียง (align) ด้วยโปรแกรม MAFFT 6.611 (Katoh and Toh, 2008) จากนั้นตรวจสอบการจัดเรียง (alignment) โดยวิธี MUSCLE ในโปรแกรม the MEGA (Kumar *et al*., 2016) จากนั้นใช้โปรแกรม Gblocks (Talavera and Castresana, 2007) ทำการรวมชุดข้อมูลของดีเอ็นเอตำแหน่ง *rpb1 rpb2* และ *tef1* เป็น combined dataset บันทึกชุด alignment ในรูปแบบไฟล์ nexus หรือ .nex โดยใช้โปรแกรม Mesquite

วิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการเพื่อการจัดจำแนก

ประมวลผลและวิเคราะห์ข้อมูล ใช้สองเกณฑ์มาตรฐานคือ Maximum Likelihood และ Bayesian Inference เตรียมชุดของข้อมูลที่จะใช้ในการวิเคราะห์ในแต่ละวิธี ดังนี้

Maximum Likelihood (ML) เตรียมไฟล์ phy ใช้โปรแกรม RAxML v8.1.15 (Stamatakis, 2014) ในการวิเคราะห์ กำหนดค่า model of evolution แบบ GTRGAMMA วิเคราะห์ด้วย rapid

bootstrap (command –f a) เริ่มวิเคราะห์จาก random starting tree และ กำหนดค่า 1000 ซ้ำ สำหรับ maximum likelihood bootstrap

Bayesian inference (BI) เตรียมไฟล์ .nexus ใช้โปรแกรม MrBayes (Ronquist and Huelsenbeck, 2003) โดยใช้วิธี Markov Chain Monte Carlo (MCMC) ค่าตั้งต้นที่ใช้ในการวิเคราะห์ดังนี้ “ mcmc startingtree=user ngen=10 000 000 temp=0.25 nruns=4 samplefreq=1000 pintfreq=1000 nchains=4 savebrlens=yes stoprules=yes stopval=0.01;” ปรับค่า generation temperature substitution model parameters จำนวน generation และ burninเพื่อให้ได้ concensus topology ตรวจสอบความเชื่อมั่นของผลวิเคราะห์ด้วย cumulative and compare functions ด้วย AWTY (Nylander *et al*., 2008)

ประมวลผลและวิเคราะห์ข้อมูล ใช้สองเกณฑ์มาตรฐานคือ Maximum Likelihood ใช้โปรแกรม RAxML v8.1.15 (Stamatakis, 2014) และ Bayesian Inference ใช้โปรแกรม MrBayes (Ronquist and Huelsenbeck, 2003) ตรวจสอบความเชื่อมั่นของผลวิเคราะห์ด้วย cumulative and compare functions ด้วย AWTY (Nylander *et al*., 2008)

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. ข้อมูล DNA sequence ในรูปแบบของ FASTA ไฟล์

2. ข้อมูลของดีเอ็นเอต้นแบบ ประกอบด้วยพิกัดทางภูมิศาสตร์ วัน เดือน ปี ที่เก็บตัวชนิดของตัวอย่าง และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง

3. จัดเก็บดีเอ็นเอต้นแบบไว้ที่อุณหภูมิ –40 องศาเซลเซียส ณ พิพิธภัณฑ์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2564 – กันยายน 2565

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การเก็บรวบรวมตัวอย่าง

รวบรวมตัวอย่างโรคตายพรายจากโครงการ “Capacity development on diagnostic and surveillance system of banana *Fusarium* wilt disease (TCP/RAS/3619 ที่เก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืชจำนวน 50 ตัวอย่าง และเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อสีน้ำตาลจากต้นกล้วยที่แสดงอาการโรคตายพราย จำนวน 75 ตัวอย่าง รวมถึงดินบริเวณรอบรากจำนวน 20 ตัวอย่าง จากจังหวัดสระบุรี หนองบัวลำภู นครพนม สุรินทร์ ศรีสะเกษ เพชรบูรณ์ อุบลราชธานี เชียงราย เชียงใหม่ แม่ฮ่องสอน แพร่ น่าน พะเยา อุตรดิตถ์ จันทบุรี และกาญจนบุรี

2. การแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืช

ทำการแยกเชื้อราจากตัวอย่างเนื้อเยื่อลำต้นที่แสดงอาการของโรคเหี่ยวโดยวิธี tissue transplanting โดยแยกได้จากตัวอย่างกล้วยคาเวนดิช จำนวน 40 ไอโซเลท ตัวอย่างกล้วยน้ำว้า จำนวน 49 ไอโซเลท และจากตัวอย่างดิน 6 ไอโซเลท รวมจำนวน 95 ไอโซเลท

นำเชื้อราทั้ง 95 ไอโซเลท และเชื้อรา *Fusarium* จาก culture collection จำนวน 10 ไอโซเลท รวมจำนวน 105 ไอโซเลท มาแยกให้บริสุทธิ์อีกครั้งด้วยวิธี single spore isolation โดยย้ายสปอร์เดี่ยวของเชื้อรา Foc เลี้ยงลงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ ห้องปฏิบัติการ นาน 7-21 วัน จากนั้นนำไปสกัดดีเอ็นเอ

เชื้อที่เจริญจากสปอร์เดี่ยว จะทำการแยกเลี้ยงบนอาหาร PDA จากนั้นนำเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้เลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ศึกษาต่อไป

3. จำแนกชนิดเบื้องต้น

ทำการจำแนกชนิดเบื้องต้นของเชื้อรา *Fusarium* ที่แยกได้จากตัวอย่างด้วยรูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาของราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo และ compound microscope โดยตรวจดูลักษณะเส้นใย conidiophore conidia ขนาด สี และโครงสร้างอื่น ๆ ของเชื้อรา โดยอ้างอิงข้อมูลของ Booth (1971) และ Brayford (1992) พบว่าเป็นเชื้อรา *F. oxysporum* จำนวน 85 ไอโซเลท และเป็น *Fusarium* spp. อื่นๆ อีก 20 ไอโซเลท เช่น *F. sonali* และ *F. fujikuroi*

เมื่อจำแนกชนิดเบื้องต้ด้วยข้อมูลทางพันธุกรรมโดยวิธี phylogenetic reconstruction ด้วยข้อมูลของยีนตำแหน่ง *tef1* พบว่าเชื้อรา *F. oxysporum* จำนวน 85 ไอโซเลท จัดอยู่ใน forma specialis *cubense* จำนวน 70 ไอโซเลท และมีความใกล้เคียงกับ forma specialis ได้แก่ *F. oxysporum* f. sp. *melonis* และ *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* จำนวน 15 ไอโซเลท ซึ่งต้องทำการจำแนกชนิดอย่างละเอียดต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการศึกษาเพื่อจำแนกชนิดของเชื้อรา โรคปานามาสายพันธุ์ tropical race 4 ที่พบกล้วยคาเวนดิชในประเทศไทย ได้เก็บรวบรวมและได้ตัวอย่างเชื้อราจำนวน 105 ไอโซเลท พบว่าเชื้อรา *Fusarium* ที่พบในต้นกล้วยที่แสดงอาการเหี่ยว ดินบริเวณรอบราก สามารถพบได้ทั้งเชื้อรา *F. oxysporum F. solani* และ *F. fujikuroi* เมื่อทำการจำแนกชนิดเชื้อราที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ด้วยลักษะทางสัณฐานวิทยาพบว่า การจำแนกชนิดในระดับ species และ forma specialis ค่อนข้างยากเนื่องจากลักษณะและขนาดของสปอร์ของเชื้อรามีความใกล้เคียงกันมาก จึงจำเป็นต้องนำข้อมูลทางพันธุกรรมมาร่วมวิเคราะห์เพื่อจำแนกชนิดด้วย จึงพบว่าเชื้อรา *F. oxysporum* ที่ได้จากการศึกษาส่วนใหญ่เป็นเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense* และเชื้อราบางไอโซเลทมีความใกล้เคียงกับ *F. oxysporum* f. sp. *melonis* และ *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* ซึ่งต้องทำการจำแนกชนิดอย่างละเอียดต่อไป อย่างไรก็ตามผลที่ได้จากการศึกษาได้ระหว่างเดือนตุลาคม

2564 - กันยายน 2565 ได้เชื้อรา *F. oxysporum* ที่จำแนกชนิดด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาร่วมกับข้อมูลทางพันธุกรรมที่จัดอยู่ใน *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, *F. oxysporum* f. sp. *melonis* และ *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* ซึ่งสามารถจัดทำเป็นกระบวนจำแนกชนิดของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* ในระดับ forma specialis ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาร่วมกับข้อมูลทางพันธุกรรม

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ดร. ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล ผู้เชี่ยวชาญด้านโรคพืช ที่ให้คำแนะนำในการทดลอง ขอขอบคุณ ดร.พรพิมล อธิปัญญาคม คุณศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช อดีตผู้เชี่ยวชาญด้านโรคพืช สมาชิกเพื่อน พี่น้อง ในกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช ที่ให้ความร่วมมือ และช่วยเหลือในการดำเนินการทดลอง และการเก็บข้อมูล รวมถึงกำลังใจที่มีให้กันเสมอมา

เอกสารอ้างอิง

Bentley S, N.Y. Moore and J. Pattemore. 2001. *Fusarium wilt diagnostics laboratory manual*. CRC for Tropical Plant Protection, Brisbane.

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.

Correll, J.C., C.J.R. Klittich and J.F. Leslie. 1987. Nitrate non-utilizing mutants of *Fusarium oxysporum* and their use in vegetative compatibility tests. *Phytopathology* 77: 1640-1646.

Cove, D.J. 1976. Chlorate toxicity in *Aspergillus nidulans*: the selection and characterization of chlorate resistant mutants. *Heredity* 36: 191-203.

Dita, M.A., C. Waalwijk, I.W. Buddenhagen, M.T. Jr Souza and G.H. Kema. 2010. A molecular diagnostic for tropical race 4 of the banana fusarium wilt pathogen. *Plant Pathololog*y 59: 348–357.

Dita, M.A., C. Waalwijk, I.W. Buddenhagen, M.T. Jr Souza and G.H. Kema. 2011. Corrigendum. *Plant Pathology* 60: 384.

Doungsa-ard, C., A.R. McTaggart, A.D.W. Geering, T.U. Dalisay, J. Ray and R.G. Shivas. 2015. *Uromycladium falcatarium* sp. nov., the cause of gall rust on *Paraserianthes falcataria* in south-east Asia. *Australasian Plant Pathology* 44: 25-30.

Fraser-Smith, S., E. Czislowski, R.A. Meldrum, M. Zander, G.R. Balali and E.A.B. Aitken. 2014. Sequence variation in the putative effector gene SIX8 facilitates molecular differentiation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Plant Pathology* 63: 1044 –1052. doi: 10.1111/ppa.12184.

Katoh, K. and H. Toh. 2008. Recent developments in the MAFFT multiple sequence alignment program. *Briefings in Bioinformatics* 9: 286-298.

Kearse, M., R. Moir, A. Wilson, S. Stones-Havas, M. Cheung, S. Sturrock, S. Buxton, A. Cooper, S. Markowitz, C. Duran, T. Thierer, B. Ashton, P. Mentjies 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.

Kumar, S., G. Stecher and K. Tamura. 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution* 33: 1870-1874. doi: 10.1093/molbev/msw054.

Maryani N., L. Lombard, Y.S. Poerba, S. Subandiyah, P.W. Crous P.W. and G.H.J. Kema. 2019. Phylogeny and genetic diversity of the banana Fusarium wilt pathogen *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* in the Indonesian centre of origin. *Studies in Mycology* 92: 155-194.

Nylander, J.A., J.C. Wilgenbusch, D.L. Warren and D.L. Swofford. 2008. AWTY (are we there yet?): a system for graphical exploration of MCMC convergence in Bayesian phylogenetics. *Bioinformatics* 24: 581-583.

O'Donnell, K., H.C. Kistler, E. Cigelnik and R.C. Ploetz. 1998. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95: 2044–2049.

O'Donnell, K., D.A. Sutton, M.G. Rinaldi MG, B.A Sarver, S.A. Balajee, H.J. Schroers, R.C. Summerbell, V.A. Robert, P.W. Crous, N. Zhang, T. Aoki, K. Jung, J. Park, Y.H. Lee, S. Kang, B. Park and D.M. Geiser. 2010. Internet-accessible DNA sequence database for identifying fusaria from human and animal infections. *Journal of Clinical Microbiology* 48(10): 3708-3718. doi: 10.1128/JCM.00989-10.

Puhalla, J.E. 1985. Classification of strains of *Fusarium oxysporum* on the basis of vegetative compatibility. *Canadian Journal of Botany* 63: 179–183.

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

Stamatakis, A. 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30: 1312-1313.

Talavera, G. and J. Castresana. 2007. Improvement of phylogenies after removing divergent and ambiguously aligned blocks from protein sequence alignments. *Systematic Biology* 56: 564-577.

Warman, N.M. and E.A.B. Aitken. 2018. The movement of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (Sub-Tropical Race 4) in susceptible cultivars of banana. *Frontiers in Plant Science* 9: 1-9.

การตรวจสอบเชื้อราสาเหตุโรคตายพราย TR4 กล้วยในประเทศไทย ด้วยเทคนิค *SIX* genes

Detection of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* TR4 Causing Panama Diseases in Thailand by *SIX* Genes Technique

วันวิสาข์ เพ็ชรอำไพ[1/] ชนินทร ดวงสอาด[1/] มะโนรัตน์ สุดสงวน[1/]
สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ[1/] อมรรัชฎ์ คิดใจเดียว[1/]
สุทธินี ลิขิตตระกูลรุ่ง[2/]
[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 1

รายงานความก้าวหน้า

รวบรวมตัวอย่างโรคตายพรายทั้งที่เป็น culture collection และตัวอย่างเนื้อเยื่อลำต้นกล้วยของกลุ่มวิจัยโรคพืชมาแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืชและเลี้ยงให้บริสุทธิ์ ได้เชื้อรา จำนวน 65 ไอโซเลท สกัดดีเอ็นเอนำไปตรวจสอบชนิดเบื้องต้นของเชื้อราสาเหตุโรคตายพราย TR 4 ด้วย specific primer พบว่าเป็นเชื้อรา Foc TR4 จำนวน 30 ไอโซเลท และเมื่อตรวจสอบชนิดของเชื้อราโดยการศึกษาบริเวณ translation elongation factor 1a (*TEF-1a*) พบว่าเป็นเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *cubense* race 1 จำนวน 30 ไอโซเลท และ non-race จำนวน 5 ไอโซเลท ซึ่งดีเอ็นเอของเชื้อราจะนำไปใช้ศึกษาและจำแนกชนิดในระดับ race ด้วยเทคนิค *SIX* gene ต่อไป

คำหลัก : กล้วย *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense SIX* gene TR4

รหัสการทดลอง FF65-55-07-65-02-02-65

คำนำ

โรคปานามาที่เกิดจากเชื้อราสายพันธุ์ใหม่ *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 (Foc TR4 หรือ TR4) เป็นศัตรูพืชชนิดร้ายแรงและทำความเสียหายต่อพื้นที่ปลูกกล้วยทั่วโลก เชื้อราชนิดนี้มีต้นกำเนิดจากแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ปัจจุบันกำลังแพร่ระบาดและทำความเสียหายแก่พื้นที่ปลูกกล้วยคาเวนดิชของประเทศจีน ฟิลิปปินส์ และเริ่มพบรายงานในประเทศลาว พม่า และเวียดนาม โดยทำให้เกิดอาการเหี่ยวอย่างรุนแรงและยืนต้นตาย สร้างความเสียหายมูลค่านับหมื่นล้านบาทต่อการผลิตกล้วยหอมเขียวหรือกล้วยคาเวนดิชอย่างรุนแรง หลังจากพบต้นที่เป็นโรคที่เกิดจากเชื้อรา Foc TR4 เพียงต้นเดียว เชื้อสามารถลุกลามและทำลายต้นกล้วยหอมเขียวในพื้นที่ขนาดหลายพันไร่ในเวลาเพียง 2-3 ปี และพื้นที่นั้นก็ไม่สามารถปลูกกล้วยคาเวนดิชได้อีก แม้จะสลับด้วยการปลูกพืชหมุนเวียนก็ตาม เพื่อเป็นการลดความเสียหายและความรุนแรงที่เกิดจากการเข้าทำลายของ Foc TR4 ต่ออุตสาหกรรมกล้วย FAO ได้จัดทำโครงการเพื่อทำการเฝ้าระวังการแพร่กระจายและการวินิจฉัยชนิดที่ถูกต้องของเชื้อราสาเหตุ เพื่อเฝ้าระวัง ควบคุมการระบาด การแพร่กระจายไปยังพื้นที่ที่ยังปลอดโรค ภายใต้โครงการ “Capacity development on diagnostic and surveillance system of banana Fusarium wilt disease (TCP/RAS/3619)” เพื่อสร้างความตระหนักและเฝ้าระวัง และการเตรียมการรับมือกับการแพร่กระจายของโรคด้วยการวินิจฉัยที่ถูกต้องและการจัดการที่เหมาะสม โดยกำหนดมีเป้าหมายของการเฝ้าระวังในพื้นที่ปลูกกล้วยคาเวนดิช จากการดำเนินงานพบการปรากฏของเชื้อรา Foc TR4 ในแปลงผลิตกล้วยคาเวนดิช ที่อำเภอพญาเม็งรายและอำเภอเชียงของ จังหวัดเชียงราย โดยได้มีการกำหนดมาตรการเพื่อเฝ้าระวังและป้องกันกำจัด ซึ่งได้ดำเนินการตามมาตรการเพื่อควบคุมการแพร่กระจายไปยังพื้นที่ที่ยังปลอดโรค (กรมวิชาการเกษตร, 2562)

การจำแนกชนิดสายพันธุ์ของ Foc ไม่สามารถใช้เพียงลักษณะทางสัณฐานวิทยาในการจัดจำแนกได้ เนื่องจากมีความแตกต่างไม่เพียงพอ อีกทั้งการจัดกลุ่ม vegetative compatibility groups หรือ VCGs มีข้อจำกัด ใช้เวลาค่อนข้างนาน ในการตรวจสอบชนิดของเชื้อรา Foc ปัจจุบันสามารถตรวจสอบชนิดได้อย่างรวดเร็วโดยใช้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อรา Foc TR4 ถึงแม้การใช้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อ TR4 สูง แต่ยังไม่สามารถจำแนกเชื้อรา subtropical race 4 (STR4) ที่มีความใกล้เคียงได้ ดังนั้นจึงควรมีการพัฒนาและเพิ่มเทคนิคการตรวจสอบที่เหมาะสม

การทดลองนี้จึงดำเนินการทดสอบวิธีการการตรวจสอบเชื้อราสาเหตุโรคตายพราย TR4 กล้วยในประเทศไทยด้วยเทคนิค *Six* genes วิธีการนี้จะสามารถจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุของโรคปานามาที่เกิดจากเชื้อรา Foc race 1 STR4 และ TR4 รวมถึงเชื้อรา Foc ในกลุ่ม VCG 0121 และ VCG 0122 ได้ ซึ่งกลุ่ม VCG 0121 และ VCG 0122 เป็น Foc ที่ยังไม่มีข้อสรุปว่าจัดเป็น tropical race หรือ subtropical race 4 ซึ่งการระบุชนิดหรือจำแนกชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้องและเป็นปัจจุบันด้วยวิธีการมาตรฐานและเป็นสากล สามารถนำไปสู่การหาแนวทางป้องกันกำจัดที่ถูกต้องเหมาะสมและมีประสิทธิภาพ และเป็นข้อมูลสำคัญในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับเปิดตลาดสินค้าเกษตร การเจรจาการค้าระหว่างประเทศต่อไป

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 บีกเกอร์ 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 ไพรเมอร์ *SIX* genes (Czislowski *et al.*, 2017) ดังนี้

SIX9_Foc_F/ SIX9_Foc_F, SIX6b_210_F/ SIX6b_210_R, SIX1a_266_F/ SIX1a_266_R, SIX8b_206_F/SIX8b_206_R, SIX10a_309_F/ SIX10a_309_R, SIX13c_343_F/ SIX13c_343_R และ EF1/EF2 (O'Donnell *et* al., 1998)

restriction digestions enzymes *Hpy*AV (New England Biolabs) และ *Eag*I (*Eco*521) (New England Biolabs)

6. Sequence assemble programs เช่น Geneious Prime 2020

วิธีการ

1. รวบรวมตัวอย่าง

รวบรวมตัวอย่างโรคตายพราย TR4 ที่ได้จากโครงการ "Capacity development on diagnostic and surveillance system of banana *Fusarium* wilt disease (TCP/RAS/3619)" ทั้งที่เป็นตัวอย่าง เนื้อเยื่อลำต้น และ culture รวมถึง Foc race 1 จากพิพิธภัณฑ์โรคพืช และ culture collection ของกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

2. การแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืช (2565)

<u>แยกเชื้อราสาเหตุโรคพืชจากตัวอย่างเนื้อเยื่อลำต้น</u>

แยกเชื้อราโดยวิธี tissue transplanting นำตัวอย่างส่วนของท่อน้ำท่ออาหารของต้นกล้วยที่มีสีน้ำตาลแช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปรคลอไรท์ 10 % เป็นเวลา 3-5 นาที ล้างในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำไปซับบนกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้แห้ง ตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ แยกราให้บริสุทธิ์ และเลี้ยงบนอาหาร PDA

<u>แยกเชื้อราสาเหตุโรคพืชจาก culture collection</u>

เขี่ยเส้นใยของเชื้อรามาวางลงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ

<u>แยกเชื้อให้บริสุทธิ์</u>

แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ โดยวิธี single spore isolation ย้ายสปอร์เดี่ยวของเชื้อรา Foc เลี้ยงลงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ หากไม่มีการปนเปื้อน สามารถดำเนินการสกัดดีเอ็นเอเชื้อที่เจริญจากสปอร์เดี่ยว จะทำการแยกเลี้ยงบนอาหาร PDA จากนั้นนำเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้ เลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ศึกษาต่อไป

3. สกัดดีเอ็นเอ (2565 - 2566)

ตักและย้ายเส้นใยของรา *Fusarium* spp. ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA ประมาณ 0.2-0.5 กรัม ลงในหลอดสำหรับสกัดดีเอ็นเอ และทำการสกัดตามวิธีของ Doungsa-ard *et al*. (2015) เก็บรักษาดีเอ็นเอที่สกัดได้จากแต่ละตัวอย่าง ไว้ที่อุณหภูมิ -20 หรือ -40 องศาเซลเซียส เพื่อรักษาสภาพและคุณภาพของดีเอ็นเอ

4. ตรวจสอบชนิดเบื้องต้นของเชื้อราสาเหตุโรคตายพราย TR4 (2565-2566)

ตรวจสอบชนิดเบื้องต้นของเชื้อราแต่ละไอโซเลท โดยทำ PCR ด้วยไพรเมอร์จำเพาะ FocTR4-F/FocTR4-R2 (Dita *et al*., 2010) โดยมี EF-1/EF-2 (O'Donnell *et* al., 1998) เป็น internal control กำหนด annealing temperature ที่ 60 องศาเซลเซียส

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2564 – กันยายน 2565

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การรวบรวมตัวอย่างและแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืช

รวบรวมตัวอย่างโรคตายพรายทั้งที่เป็น culture collection และตัวอย่างเนื้อเยื่อลำต้นกล้วยของกลุ่มวิจัยโรคพืชมาแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืชและเลี้ยงให้บริสุทธิ์ ได้เชื้อรา จำนวน 65 ไอโซเลทเมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหาร PDA พบว่าเชื้อราสร้างเส้นใยฟูละเอียด สีขาว สีขาวแซมม่วง ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่าสร้าง microconidia ลักษณะทรงกระบอกสั้นหัวและท้ายมน ใส ไม่มีสี และยังพบ macroconidia ลักษณะรูปร่างโค้งงอเล็กน้อย ใส ไม่มีสี ส่วน basal cell มีลักษณะเป็น foot-shape ซึ่งมีลักษณะคล้ายคลึงกับเชื้อรา *Fusarium* spp. (Figure 1) ซึ่งจะใช้ในการสกัดดีเอ็นเอเพื่อศึกษาต่อไป

2. การตรวจสอบชนิดเบื้องต้นของเชื้อราสาเหตุโรคตายพราย TR4

เมื่อตรวจสอบชนิดของเชื้อรา *Fusarium* sp. ทั้ง 65 ไอโซเลท ด้วยไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะ (specific primer) ต่อเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *cubense* tropical race 4 (*Foc* TR4) พบว่าเชื้อรา จำนวน 30 ไอโซเลท เป็นเชื้อรา *Foc* TR4 และเมื่อตรวจสอบชนิดของเชื้อราโดยการศึกษาบริเวณ translation elongation factor 1a (*TEF-1a*) พบว่าเป็นเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *cubense* race 1 จำนวน 30 ไอโซเลท และ non-race จำนวน 5 ไอโซเลท (Figure 2)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการรวบรวมตัวอย่างโรคตายพรายจาก culture collection และตัวอย่างเนื้อเยื่อลำต้นกล้วยของกลุ่มวิจัยโรคพืช พบว่าเป็นเชื้อรา *Fusarium* spp. ทั้ง 65 ไอโซเลท เมื่อตรวจสอบด้วยไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะ (specific primer) ต่อเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *cubense* tropical race 4 (*Foc* TR4) พบว่าเชื้อรา จำนวน 30 ไอโซเลท เป็นเชื้อรา *Foc* TR4 และเมื่อตรวจสอบชนิดของเชื้อราโดยการศึกษาบริเวณ translation elongation factor 1a (*TEF-1a*) พบว่าเป็นเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *cubense* race 1 จำนวน 30 ไอโซเลท และ non-race จำนวน 5 ไอโซเลท ซึ่งดีเอ็นเอของเชื้อราจะนำไปใช้ศึกษาและจำแนกชนิดในระดับ race ด้วยเทคนิค *SIX* gene ต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณสมาชิกห้องปฏิบัติการวิทยาไมโค กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช ที่ให้ความช่วยเหลือและสนับสนุนในการดำเนินการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2562. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง กำหนดเขตควบคุมศัตรูพืช พ.ศ. 2562 ประกาศ ณ วันที่ 12 กรกฎาคม 2562 ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 136 ตอนพิเศษ 178 ง ลงวันที่ 11 กรกฎาคม 2562.

Czislowski, E., S. Fraser-Smith, M. Zander, W.T. O'Neill, R.A. Meldrum L.T.T. Tran-Nguyen, J. Batley and E.A.B. Aitken. 2017. Investigation of the diversity of effector genes in the banana pathogen, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, reveals evidence of horizontal gene transfer. *Molecular Plant Pathology* 19(5): 1155-1171. doi: 10.1111/mpp.12594.

Dita, M.A., C. Waalwijk, I.W. Buddenhagen, M.T. Jr Souza and G.H. Kema. 2010. A molecular diagnostic for tropical race 4 of the banana fusarium wilt pathogen. *Plant Pathology* 59: 348–357.

Doungsa-ard, C., A.R. McTaggart, A.D.W. Geering, T.U. Dalisay, J. Ray and R.G. Shivas. 2015. *Uromycladium falcatarium* sp. nov., the cause of gall rust on *Paraserianthes falcataria* in south-east Asia. *Australasian Plant Pathology* 44: 25-30.

O'Donnell, K., H.C. Kistler, E. Cigelnik and R.C. Ploetz. 1998. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95: 2044–2049.

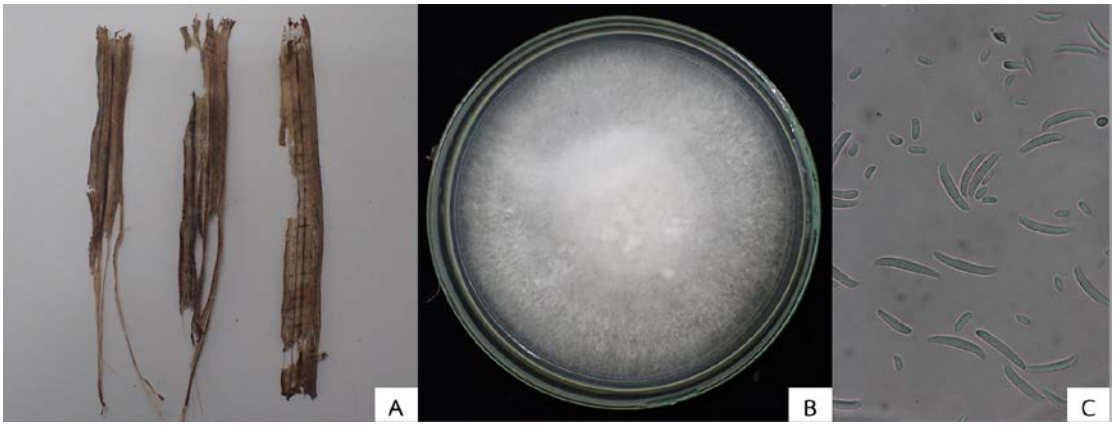


Figure 1 Specimens of banana vascular tissue (A), colonies of *Fusarium* sp. on PDA (B), macroconidia and microconidia of *Fusarium* spp. (C)

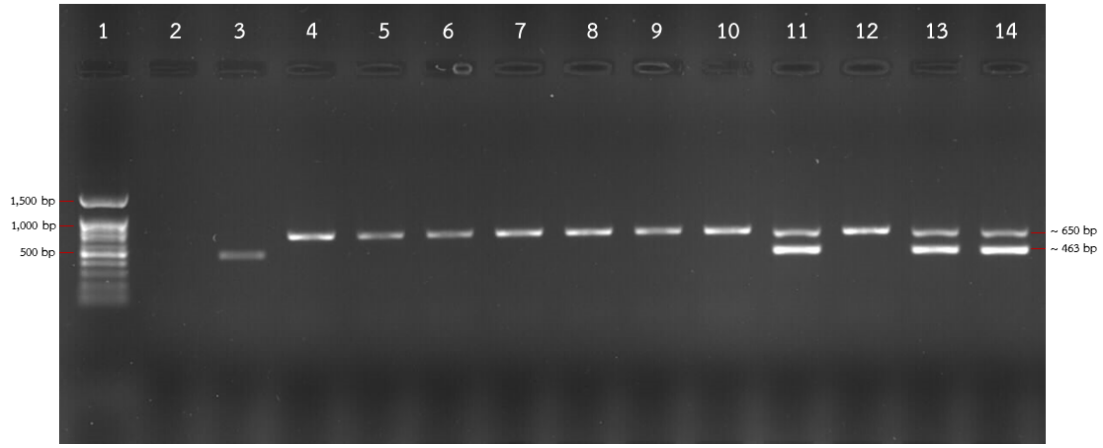


Figure 2 PCR amplification analyses of *Fusarium* spp. isolates using a specific primer (FocTR4-F/FocTR4-R2) and internal control (EF-1/EF-2), only tropical race 4 isolates showed an amplicon of approximately 463 bp. Lane 1, 100 bp ladder; 2, Non-template (Negative control); 3 , TR4 plasmid (positive control); 4, M0447; 5, M0448; 6, M0449; 7, M0450; 8, M0451; 9, M0453; 10, M0454; 11, M0455; 12, M0457; 13, M0458 and 14, M0459 in 1% agarose gel

การศึกษาปฏิกิริยาของสายพันธุ์/พันธุ์กล้วยต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* tropical race 4

Studies on the Pathogenicity of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* Tropical Race 4 to Banana Lines and Varieties

วันวิสาข์ เพ็ชรอำไพ[1/] ราตรี บุญเรืองรอด[2/] สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ[1/] อารยา อาจเจริญ เทียนหอม[3/] ประภาษ กาวิชา[4/] ธัญญ์วนิช ธัญสิริวรรธน์[4/] มณฑา วงศ์มณีโรจน์[2/]

[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

[3/]มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

[4/]มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ

รายงานความก้าวหน้า

ทดสอบปฏิกิริยาของสายพันธุ์/พันธุ์กล้วย จำนวน 20 สายพันธุ์/พันธุ์ ประเมินลักษณะอาการภายในหลังจากปลูกเชื้อ 4 สัปดาห์ คำนวณดัชนีความรุนแรงของโรค (Disease severity index; DSI) แล้วจัดระดับความต้านทานจากลักษณะอาการภายใน พบว่ากล้วย จำนวน 18 สายพันธุ์/พันธุ์ มีความต้านทานต่อเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* tropical race 4 ในระดับ Highly Susceptible (HS) ซึ่งมีดัชนีความรุนแรงของโรค 62.5-100% ยกเว้นกล้วยรหัสพันธุ์ HB002 และ HB038 ที่มีระดับความต้านทาน Intermediate Resistant (IR) และ Immune (I) ตามลำดับ

คำหลัก : กล้วย โรคกล้วย *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* TR4 ปฏิกิริยาพันธุ์

รหัสการทดลอง FF65-55-07-65-02-03-65

คำนำ

กล้วยเป็นพืชที่ขึ้นในเขตร้อนชื้นแนวเส้นศูนย์สูตรแถบอเมริกากลาง อเมริกาใต้ แอฟริกา และเอเชีย โดยเฉพาะเอเชียตอนใต้รวมถึงประเทศไทย จัดเป็นแหล่งกำเนิดกล้วยด้วย (เบญจมาศ, 2545)

ปัจจุบันพันธุ์กล้วยในประเทศไทย พบว่ามีอยู่ 71 พันธุ์ รวมทั้งกล้วยป่าและกล้วยประดับ จำแนกชนิดตามจีโนม (สารานุกรมไทย, ม.ป.ท.) ดังนี้

1. กลุ่ม AA ที่พบในประเทศไทยมี กล้วยป่า กลุ่มนี้มีขนาดเล็ก รสหวาน กลิ่นหอม รับประทานสด ได้แก่ กล้วยไข่ กล้วยเล็บมือนาง กล้วยหอมจันทร์ กล้วยไข่ทองร่วง กล้วยไข่จีน กล้วยน้ำนม กล้วยไล กล้วยสา กล้วยหอม กล้วยหอมจำปา กล้วยทองกาบดำ

2. กลุ่ม AAA กลุ่มนี้มีจำนวน โครโมโซม 2n = 33 ผลจึงมีขนาดใหญ่กว่ากลุ่มแรก รูปร่างผลเรียวยาว มีเนื้อนุ่ม รสหวาน กลิ่นหอม รับประทานสดเช่นกัน ได้แก่ กล้วยหอมทอง กล้วยนาก กล้วยครั่ง กล้วยหอมเขียว กล้วยกุ้งเขียว กล้วยหอมแม้ว กล้วยไข่พระตะบอง กล้วยคลองจัง

3. กลุ่ม BB ในประเทศไทยจะมีแต่กล้วยตานี ซึ่งเป็นกล้วยป่าชนิดหนึ่ง แต่ไม่ได้มีถิ่นกำเนิดในประเทศไทย

4. กลุ่ม BBB กล้วยในกลุ่มนี้เกิดจากกล้วยตานี (*Musa balbisiana*) ขนาดผลใหญ่ เช่น กล้วยเล็บช้างกุด

5. กลุ่ม AAB กล้วยกลุ่มนี้เกิดจากการผสมระหว่างกล้วยป่ากับกล้วยตานี ได้แก่ กล้วยน้ำ กล้วยน้ำฝาด กล้วยนมสวรรค์ กล้วยนิ้วมือนาง กล้วยไข่โบราณ กล้วยทองเดช กล้วยศรีนวล กล้วยขม กล้วยนมสาว แต่มีกล้วยกลุ่ม AAB บางชนิดที่มีความคล้ายกับ ABB กล่าวคือ เนื้อจะค่อนข้างแข็ง มีแป้งมาก เมื่อสุกเนื้อไม่นุ่ม ทั้งนี้อาจได้รับเชื้อพันธุกรรมของกล้วยป่าที่ต่าง sub species กัน จึงทำให้ลักษณะต่างกัน กล้วยในกลุ่มนี้เรียกว่า plantain subgroup ซึ่งจะต้องทำให้สุกโดยการต้ม ปิ้ง เผา เช่นเดียวกับกลุ่ม ABB ได้แก่ กล้วยกล้าย กล้วยงาช้าง กล้วยนิ้วจระเข้ กล้วยหิน กล้วยพม่าแหกคุก

6. กลุ่ม ABB กล้วยกลุ่มนี้เป็นลูกผสมระหว่างกล้วยป่ากับกล้วยตานี ได้แก่ กล้วยหักมุกเขียว กล้วยหักมุกนวล กล้วยเปลือกหนา กล้วยส้ม กล้วยนางพญา กล้วยนมหมี กล้วยน้ำว้า สำหรับกล้วยน้ำว้าแบ่งออกเป็น 3 ชนิด ตามสีของเนื้อ คือ น้ำว้าแดง น้ำว้าขาว และน้ำว้าเหลือง นอกจากนี้ยังมีกล้วยน้ำว้าดำ ซึ่งเปลือกมีสีครั่งปนดำ แต่เนื้อมีสีขาว และกล้วยตีบ

7. กลุ่ม ABBB กล้วยในกลุ่มนี้เป็นลูกผสมเช่นกัน มีอยู่พันธุ์เดียว คือ กล้วยเทพรส หรือกล้วยทิพรส

8. กลุ่ม AABB เป็นลูกผสมมีเชื้อพันธุกรรมของกล้วยป่ากับกล้วยตานี กล้วยในกลุ่มนี้มีอยู่ชนิดเดียวในประเทศไทย คือ กล้วยเงิน

นอกจากนี้ยังมีกล้วยป่าที่เกิดในธรรมชาติซึ่งมีเมล็ดมาก ทั้งกล้วยในสกุล *Musa acuminata* และ *Musa itinerans* หรือที่เรียกว่า กล้วยหก หรือกล้วยอ่างขาง และกล้วยป่าที่เป็นกล้วยประดับ เช่น กล้วยบัวสีส้ม และกล้วยบัวสีชมพู

โรคตายพรายกล้วย หรือ Panama disease หรือ โรคเหี่ยวฟิวซาเรียม (Fusarium wilt) เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (E.F. Sm.) W.C. Snyder & H.N. Hansen หรือ Foc เป็นเชื้อราดิน (soil-borne fungi) ประกอบไปด้วย 4 Race ได้แก่

1. *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* race 1 เข้าทำลายกล้วย เช่น พันธุ์ Gros Michel (กล้วยหอมทอง genome type AAA) Pisang Awak (กล้วยน้ำว้า genome type ABB) เป็นต้น

2. *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* race 2 เข้าทำลายกล้วย เช่น พันธุ์ Bluggoe (กล้วยหักมุก genome type ABB) เป็นต้น

3. *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* race 3 เข้าทำลายพืชในกลุ่ม Heliconia species

4. *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* race 4 เข้าทำลายกล้วยพันธุ์ Cavendish (กล้วยหอมเขียว genome type AAA) Foc race 4 แยกออกได้เป็น 2 strain คือ subtropical race 4 (Foc SR4) พบการระบาดเฉพาะในเขต subtropics และ tropical race 4 (Foc TR4) พบในเขต Tropics และกำลังระบาดและทำความเสียหายแก่อุตสาหกรรมการผลิตกล้วยทั่วโลกอยู่ในขณะนี้

เชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *cubense* (Foc) เข้าสู่พืชทางราก และแพร่กระจายเข้าสู่ท่อลำเลียงน้ำ ทำให้เกิดอาการเนื้อเยื่อของลำต้นเทียมตายเป็นสีน้ำตาล และลุกลามขึ้นสู่ก้านใบ โคนใบแก่ด้านนอกมีสีซีดเหลือง และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล โดยเริ่มพบจากใบล่างด้านนอกรอบลำต้น จะแสดงลักษณะเหี่ยว เฉา และเริ่มมีสีเหลือง และเป็นเกือบรอบต้น หลังจากแสดงอาการใบเหลือง มักพบอาการขอบใบแห้ง ใบหักพับภายใน 1-2 สัปดาห์ เมื่อเป็นโรคอย่างรุนแรง ใบล่างรอบลำต้นเหี่ยวเฉาใบไหม้ และโค้งงอลงรอบลำต้น ทำให้มีลักษณะคล้ายกระโปรง (skirt) และยืนต้นตายในที่สุด เมื่อผ่าลำต้นเทียม หรือกาบใบบริเวณโคนต้น จะพบท่อลำเลียงเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เมื่อผ่าตามแนวยาวจะเห็นเป็นสีน้ำตาลเป็นแนวต่อเนื่อง แต่เมื่อผ่าตามขวางจะเห็นเป็นสีน้ำตาลหรือน้ำตาลอมม่วงในช่องของท่อลำเลียง บริเวณหน่อหรือโคนต้นอาจพบลักษณะลำต้นแตก หรือโคนต้นแตก บริเวณเหง้าเมื่อผ่าดูจะพบเป็นปื้นเหลืองและเมือกหรือยางกล้วยเป็นสีเหลือง

โรคตายพราย TR4 มีสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* tropical race 4 (Foc TR4) ทำความเสียหายอย่างมากและแพร่ระบาดในพื้นที่ปลูกกล้วยคาเวนดิชในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เป็นศัตรูพืชกักกัน ของหลายประเทศที่เป็นแหล่งผลิตกล้วยที่สำคัญ เช่น ออสเตรเลีย อินโดนีเซีย และฟิลิปปินส์ สำหรับประเทศไทยเพิ่งมีรายงานพบการปรากฏของเชื้อรา Foc TR4 ในแปลงผลิตกล้วยคาเวนดิช จังหวัดเชียงราย ในเดือนกรกฎาคม 2562 ถึงแม้ว่าได้มีการกำหนดมาตรการเพื่อเฝ้าระวังเชื้อสาเหตุโรคและป้องกันกำจัด เพื่อควบคุมการแพร่กระจายของเชื้อในพื้นที่นั้นไปยังพื้นที่ที่ยังปลอดโรค (FAO, 2019; กรมวิชาการเกษตร, 2562) แต่เนื่องจาก Foc TR4 เป็นเชื้อสาเหตุโรคอุบัติใหม่ของกล้วยที่เพิ่งมีรายงานพบในประเทศไทย จึงยังไม่มีการศึกษาข้อมูลของเชื้อในด้านต่าง ๆ และยังขาดข้อมูลที่สำคัญของเชื้ออีกมาก

การใช้พันธุ์ต้านทานนับว่าเป็นวิธีการที่ดีที่สุดในการควบคุมโรคตายพรายของกล้วย ในการปรับปรุงพันธุ์นั้น มีความซับซ้อนและต้องใช้เวลา ทั้งการทดสอบในแปลงต้องใช้เวลา แรงงาน และ

พื้นที่จำนวนมาก ดังนั้น ขั้นตอนหนึ่งในการปรับปรุงพันธุ์ที่นำมาใช้ เพื่อลดปัญหาดังกล่าว คือ การคัดเลือกพันธุ์ ซึ่งมีการนำไปใช้ในหลายพืช เช่น การคัดพันธุ์ต้านทานโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium* ของมันสำปะหลัง เป็นต้น การคัดเลือกพันธุ์ในสภาพโรงเรือนด้วยการดูลักษณะที่แสดงออกของพืช ทำให้มีความสะดวกมากขึ้น สามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ ส่งผลให้สามารถทำซ้ำได้มากขึ้น การปรับปรุงพันธุ์เร็วขึ้น (Smith *et al*., 2008)

การศึกษาครั้งนี้จึงได้ทำการทดสอบสายพันธุ์/พันธุ์กล้วย จำนวน 20 สายพันธุ์/พันธุ์ เพื่อดูปฏิกิริยาของพันธุ์กล้วยต่อการเข้าทำลายของ Foc TR4 เพื่อใช้เป็นแนวทางในการบริหารจัดการศัตรูพืชของกล้วย และใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนงานด้านการปรับปรุงพันธุ์กล้วยต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สายพันธุ์/พันธุ์กล้วยจาก germ plasm ของภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน

2. เชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4

3. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการโรคพืช เช่น ตู้เขี่ยเชื้อ เข็มเขี่ย จานแก้วเลี้ยงเชื้อ ตะเกียงแอลกอฮอล์ กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (Compound microscope) กล้อง Stereoscopic microscope และกล้องถ่ายภาพพร้อมอุปกรณ์

4. อาหารเลี้ยงเชื้อรา เช่น Potato Dextrose Agar (PDA), Water Agar (WA), และ Corn Leaf Ager (CLA)

5. อุปกรณ์ในโรงเรือน เช่น ดินปลูก กระถาง จานรอง ป้ายปัก

วิธีการ

1. การเตรียมต้นกล้า โดยใช้ต้นกล้ากล้วยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออายุประมาณ 45 วัน ล้างรากให้สะอาด เพื่อย้ายปลูก

2. เพาะชำต้นกล้ากล้วยในพีทมอสให้มีความสูงประมาณ 15-25 เซนติเมตร

3. เลี้ยงเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ประมาณ 5-7 วัน จากนั้นนำไปเลี้ยงเพิ่มปริมาณบนเมล็ดข้าวฟ่างที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ ประมาณ 7 วัน ล้างสปอร์ของเชื้อราด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ปรับความเข้มข้นของสปอร์แขวนลอยของเชื้อราให้มีความเข้มข้น 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร (ทั้ง macro และ microconidia)

4. ปลูกเชื้อโดยการตัดปลายรากและจุ่มรากต้นกล้ากล้วยลงในสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 ที่ความเข้มข้นของสปอร์ 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 2 ชั่วโมง (Mak *et al*., 2004) จากนั้นนำต้นกล้ามาปลูกในดินที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว

5. ประเมินลักษณะอาการภายนอกทุก 1 สัปดาห์ และประเมินครั้งสุดท้ายเมื่อครบ 4 สัปดาห์ (ประเมินลักษณะอาการภายนอกและภายใน) บันทึกระดับความรุนแรงของโรค ดัดแปลงวิธีการจาก Dita *et al*. (2021) ดังนี้

การประเมินโรคด้วยลักษณะภายนอก แบ่งเป็น 5 ระดับ คือ

0 ต้นกล้าไม่แสดงอาการ

1 ใบล่างเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเหลือง

2 ใบล่างเปลี่ยนสีเป็นสีเหลืองทั้งหมด และใบอ่อนเริ่มเปลี่ยนสี

3 ใบทั้งหมดเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้ม

4 ต้นกล้ากล้วยตาย

การประเมินโรคด้วยลักษณะภายใน แบ่งเป็น 5 ระดับ คือ

0 เนื้อเยื่อภายในเหง้าไม่แสดงอาการ

1 เนื้อเยื่อภายในเหง้าเริ่มเปลี่ยนเป็นสี

2 เนื้อเยื่อภายในเหง้าและท่อลำเลียงเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเล็กน้อย

3 เนื้อเยื่อภายในเหง้าเกือบทั้งหมดแสดงอาการ necrosis

4 เนื้อเยื่อภายในเหง้าทั้งหมดแสดงอาการ necrotic

6. คำนวณดัชนีความรุนแรงของโรค (Disease severity index; DSI) จากสูตร

$$\text{ดัชนีความรุนแรงของโรค (\%)} = \frac{\text{ผลรวมของ (จำนวนต้นที่เป็นโรคในแต่ละระดับ X ระดับ)}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด X ระดับสูงสุด}} \times 100$$

เกณฑ์การประเมินความต้านทาน (Dita *et al*., 2021)

DSI (%)	Disease reaction	Reaction group
0	Immune	I
> 0 ≤ 5	Resistant	R
> 5 ≤ 20	Intermediate Resistant	IR
> 20 ≤ 50	Susceptible	S
> 50	Highly Susceptible	HS

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2564 – กันยายน 2565

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

เมื่อประเมินลักษณะอาการของกล้วย 20 สายพันธุ์/พันธุ์ เมื่อสังเกตุลักษณะอาการ หลังจากปลูกเชื้อ 4 สัปดาห์ และนำมาคำนวณดัชนีความรุนแรงของโรค (Disease severity index; DSI) แล้วจัดระดับความต้านทานจากลักษณะอาการภายใน พบว่ากล้วย จำนวน 18 สายพันธุ์/พันธุ์ มีความต้านทานต่อเชื้อรา Foc TR4 ในระดับ Highly Susceptible (HS) ซึ่งมีดัชนีความรุนแรงของโรค 62.5-100% ยกเว้นกล้วยรหัสพันธุ์ HB002 และ HB038 ที่มีระดับความต้านทาน Intermediate Resistant (IR) และ Immune (I) ตามลำดับ (Figure 1) เมื่อนำเนื้อเยื่อภายในของต้นกล้ากล้วยมาแยกเชื้อกลับเพื่อยืนยันถึงสาเหตุการเกิดโรค พบเชื้อรา Foc TR4 ในทุกตัวอย่างเนื้อเยื่อกล้วยที่แสดงอาการของโรค

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการประเมินลักษณะอาการของกล้วย 20 สายพันธุ์/พันธุ์ เมื่อสังเกตุลักษณะอาการหลังจากปลูกเชื้อ 4 สัปดาห์ พบว่ากล้วย จำนวน 18 สายพันธุ์/พันธุ์ มีความต้านทานต่อเชื้อรา Foc TR4 ในระดับ Highly Susceptible (HS) ซึ่งมีดัชนีความรุนแรงของโรค 62.5-100% ยกเว้นกล้วยรหัสพันธุ์ HB002 และ HB038 ที่มีระดับความต้านทาน Intermediate Resistant (IR) และ Immune (I) ตามลำดับ ซึ่งในการทดสอบปฏิกิริยาของพันธุ์กล้วยต่อเชื้อรา Foc TR4 จะดำเนินการต่อเนื่องเพื่อให้ครอบคลุมพันธุ์กล้วยที่มีในประเทศไทย เพื่อใช้เป็นแนวทางในการบริหารจัดการศัตรูพืชและใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนงานด้านการปรับปรุงพันธุ์กล้วยต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณสมาชิกห้องปฏิบัติการวิทยาไมโค กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช ที่ให้ความช่วยเหลือในการดำเนินการทดลอง และภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้ความร่วมมือสนับสนุนสายพันธุ์/พันธุ์กล้วยในการดำเนินการทดสอบ พร้อมให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ในการดำเนินการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2562. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง กำหนดเขตควบคุมศัตรูพืช พ.ศ. 2562 ประกาศ ณ วันที่ 12 กรกฎาคม 2562 ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 136 ตอนพิเศษ 178 ง ลงวันที่ 11 กรกฎาคม 2562.

เบญจมาศ ศิลาย้อย. 2545. *กล้วย.* สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 357 หน้า.

สารานุกรมไทย, ม.ป.ท. *พันธุ์กล้วยในประเทศไทย*. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : http://saranukromthai.or.th/sub/book/book.php?book=30&chap=6&page=t30-6-infodetail05.html (2 มีนาคม 2563)

Dita, M., L. Teixeira, C. Li, S. Zheng, W. O' Neill and J. Daniels. 2021. Phenotyping Musa spp. for host reaction to *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*, under greenhouse and field conditions, pp. 4-19. *In* : Dita, M., ed. *Practical Guidelines for Early Screening and Field Evaluation of Banana against Fusarium Wilt, Pseudocercospora Leaf Spots and Drought*. Bioversity International: Montpellier, France.

FAO. 2019. Detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 in Thailand. (Online). Available: https://www.ippc.int/en/countries/thailand/pestreports/2019/11/detection-of-fusarium-oxysporum-f-sp-cubense-tropical-race-4-in-thailand/. (December 20, 2019).

Mak, C., A.A. Mohamed, K.W. Liew and Y.W. Ho. 2004. Early screening technique for Fusarium wilt resistance in banana micropropagated plants. pp.219-227. *In* : S.M. Jain and R. Swennen., eds. *Banana Improvement: Cellular, Molecular Biology, and Induced Mutations*. Science Publishers, Inc. Enfield (NH), USA.

Smith, L. J., Smith, M. K., Tree, D., O'keefe, D., and V. J. Galea. 2008. Development of a small-plant bioassay to assess banana grown from tissue culture for consistent infection by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Australas. Plant Pathol*. 37 : 171–179.

Figure 1 External and internal symptoms of banana lines/varieties at 4 weeks after inoculations with *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* TR4 isolate M0455 *;* A: HB038 and B: HB132

ศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวยาสูบ (*Bemisia tabaci* (Gennadius)) ในโหระพา/กะเพรา เพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้

Efficacy of selected insecticides against whitefly (*Bemisia tabaci* (Gennadius)) on holy basil (*Ocimum tenuiflorum*) to replace banned insecticides for the European Union (EU)

วนาพร วงษ์นิคง กรกต ดำรักษ์ สัญญาณี ศรีคชา หทัยภัทร เจษฎารมย์
กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Progress Report

The study of the efficacy of selected insecticides against whitefly (*Bemisia tabaci* (Gennadius)) on holy basil (*Ocimum tenuiflorum*) to replace banned insecticides for the European Union (EU) was carried out at a farmer's plantation in the Huai Mon Thong sub-district, Kamphaeng Saen district, Nakhon Pathom province, between May and June 2022. The experiments were conducted in RCB with four replications and six treatments including flonicamid 50% WG, spirotetramat 15% OD, spiromesifen 24% SC, sulfoxaflor 50% WG, and buprofezin 40% SC at the rates of 20 g, 20 ml, 20 ml, 10 g, and 30 ml per 20 litres of water, respectively, compared with the untreated treatment. The results showed that all synthetic insecticides provided good results for controlling *B. tabaci*. Moreover, there were no symptoms of phytotoxic damage to the plants. However, this experiment will be conducted in 2023 to confirm these results.

Keywords : *Bemisia tabaci* holy basil insecticides European Union (EU)

รหัสการทดลอง FF65-57-01-65-00-01-65

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวยาสูบ (*Bemisia tabaci* (Gennadius)) ในกะเพราเพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้ ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนพฤษภาคม - มิถุนายน 2565 ที่แปลงเกษตรกรตำบลห้วยหมอนทอง อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) มี 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี คือ พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 29) พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23) พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23) พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 4C) พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 16) เปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลงสามารถควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบได้ดี มีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารกำจัดแมลงไม่พบความเป็นพิษกับกะเพรา ทั้งนี้ควรมีการดำเนินการทดลองซ้ำในปีถัดไป เพื่อเป็นการยืนยันผลการทดลอง

คำหลัก : แมลงหวี่ขาวยาสูบ กะเพรา สารป้องกันกำจัดแมลง สหภาพยุโรป

คำนำ

ประเทศไทยมีการส่งออกผักและผลไม้สดไปยังสหภาพยุโรปเป็นปริมาณมาก และเป็นรายได้ที่สำคัญของประเทศ โดยพืชผักที่ส่งไปกลุ่มสหภาพยุโรป (EU) ได้แก่ กะเพรา โหระพา ผักชีฝรั่ง มะเขือเปราะ มะระ พริก สินค้าเหล่านี้ส่วนใหญ่ถูกนำไปใช้ในกิจการร้านอาหารไทยในต่างประเทศ และพบว่ามีแมลงศัตรูพืชกักกันติดไปกับสินค้าผักและผลไม้ของไทยอย่างต่อเนื่อง ได้แก่ เพลี้ยไฟฝ้าย หนอนแมลงวันชอนใบ แมลงหวี่ขาวยาสูบ และหนอนแมลงวันผลไม้ ทำให้ต้องมีการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูอยู่ประจำ

แมลงหวี่ขาวยาสูบ (tobacco whitefly; *Bemisia tabaci* (Gennadius)) จัดอยู่ในอันดับ Hemiptera วงศ์ Aleyrodidae เป็นแมลงศัตรูสำคัญชนิดหนึ่งในพืชหลายชนิด จัดเป็นสายพันธุ์ที่ซับซ้อน (species complex) ซึ่ง Kanakala and Ghanim (2019) ได้ทำการวิเคราะห์โดยใช้ลำดับของ mitochondrial cytochrome *c* oxidase subunit I โดยใช้เกณฑ์ความแตกต่างทางพันธุกรรม (genetic divergence) ที่ 3.5 และ 4% พบว่าแมลงหวี่ขาวยาสูบจะมี 44 ชนิด (genetic groups) ที่แตกต่างกันทางพันธุกรรม โดยในประเทศไทยส่วนใหญ่คือชนิด *Bemisia tabaci* Asia1 (Götz and Winter, 2016) ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของแมลงหวี่ขาวยาสูบดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบ ทำให้ใบหงิกงอ และ เหี่ยวแห้ง ต้นแคระแกร็น นอกจากนี้ยังเป็นพาหะนำเชื้อไวรัส พบระบาดมากในฤดูแล้ง ตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบจะวางไข่ติดกับเนื้อเยื่อของพืช โดยวางเป็นกลุ่มใต้ใบพืช ไข่รูปร่างยาวรี สีเหลืองอ่อน ขนาด 0.1-0.3 มิลลิเมตร ตัวเต็มวัยเพศเมียวางไข่ได้สูงสุดมากกว่าร้อยฟอง ตัวอ่อนมี

ลักษณะแบนราบติดกับผิวใบพืช ตัวอ่อนมี 3 ระยะ ตัวอ่อนมีอายุ 11-18 วัน ดักแด้ขนาด 0.6-0.8 มิลลิเมตร ระยะดักแด้ 5-7 วัน ตัวเต็มวัยจะออกจากดักแด้ตรงรอยแตกที่ส่วนอก ตัวเต็มวัยมีอายุ 2-11 วัน สืบพันธุ์แบบ parthenogenesis (การออกลูกเป็นตัวโดยไม่มีการผสมพันธุ์) (กลุ่มบริหารศัตรูพืชและกลุ่มกีฏและสัตววิทยา, 2559) แมลงหวี่ขาวยาสูบมีพืชอาหารที่สำคัญหลายชนิด ได้แก่ ฝ้าย ยาสูบ พริก มันเทศ มะเขือเทศ กระเจี๊ยบเขียว มะเขือเปราะ กะเพรา โหระพา แมงลัก ผักชี ปอแก้ว ถั่วเหลือง และถั่วต่างๆ โดยกลุ่มกีฏและสัตววิทยา (2553) ได้ให้คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉพาะในพืช ยาสูบ ฝ้าย ถั่วเหลือง ถั่วเขียว ทานตะวัน มะเขือเทศ และกระเจี๊ยบเขียว โดยในปัจจุบัน สัญญาณีและคณะ (2560) ได้มีคำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวยาสูบในพืช กะเพรา โหระพา แมงลัก ผักชี สำหรับการผลิตผักเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรป คือ หมั่นสำรวจแปลงปลูกสัปดาห์ละครั้ง โดยเดินสำรวจแบบสลับฟันปลา ใช้การติดกับดักกาวเหนียวสีเหลืองอัตรา 80 กับดัก/ไร่ เพื่อดักจับตัวเต็มวัย และถ้าพบตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบมากกว่า 3 ตัว/ใบ ให้ใช้อิมิดาโคลพริด 70% WG (กลุ่ม 4A) อัตรา 12 กรัม/น้ำ 20 ลิตร หรือไทอะมีโทแซม 25% WG (กลุ่ม 4A) อัตรา 12 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (PHI = 5 วัน) หรือปิโตรเลียมสเปรย์ออยล์ 83.9% EC อัตรา 150 มล./น้ำ 20 ลิตร หรือบูโพรเฟซิน 25% WP (กลุ่ม 16) อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (PHI = 5 วัน) หรือไวท์ออยล์ 67% EC อัตรา 150 มล./น้ำ 20 ลิตร เพื่อป้องกันการสร้างความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงของแมลงหวี่ขาวยาสูบ ไม่ควรใช้สารชนิดใดชนิดหนึ่งติดต่อกันเกิน 2 ครั้ง

นอกจากนี้แมลงหวี่ขาวยาสูบยังจัดเป็นแมลงศัตรูกักกันในกลุ่มสหภาพยุโรป เนื่องจากเป็นพาหะนำเชื้อไวรัสได้หลายชนิด ดังนั้นเกษตรกรจึงมีการใช้สารเคมีเพื่อเป็นการลดจำนวนประชากรแมลงหวี่ขาวยาสูบให้มากที่สุด ปัจจุบันทางสหภาพยุโรปได้รับการอนุมัติจากประเทศสมาชิก ให้มีข้อบังคับห้ามใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชกลุ่มนีโอนิโคตินอยด์ (Neonicotinoids) เนื่องจากเป็นสารเคมีที่มีผลกระทบและก่อให้เกิดอันตรายต่อผึ้ง โดยเฉพาะสาร Imidacloprid, Clothianidin และ Thiamethoxam ที่คณะกรรมาธิการยุโรปเสนอให้เห็นควรระงับการจำหน่ายและการใช้สารฆ่าแมลง 3 ชนิดนี้มาก่อนหน้านี้แล้ว และคาดว่าจะมีผลบังคับใช้ในช่วงสิ้นปีของ พ.ศ. 2561 (Askew, 2018) นอกจากนี้คณะกรรมาธิการยุโรปยังมีแผนเสนอข้อกำหนดการถอดถอนสารเคมีที่ใช้ป้องกันกำจัดศัตรูพืชกลุ่มที่เป็นสารรบกวนการทำงานของต่อมไร้ท่อ (endocrine disruptor) เพื่อความปลอดภัยของประชาชนและสิ่งแวดล้อม (European Commission - Press release, 2017) สารรบกวนการทำงานของต่อมไร้ท่อ หรือ Endocrine disrupting chemicals (EDC) มีผลต่อสุขภาพของมนุษย์และมีความเสี่ยงก่อให้เกิดมะเร็ง ตัวอย่างสารฆ่าแมลงบางชนิดที่เป็นสารรบกวนการทำงานของต่อมไร้ท่อ ได้แก่ Aldrin, Allethrin, Carbaryl, Chlordane, Cypermethrin, DDT, Dieldrin, Endosulfan, Heptachlor, Malathion และ Permethrin เป็นต้น (Mnif *et al*., 2011) ซึ่งสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชในทั้งสองกลุ่มดังกล่าวยังคงเป็นสารที่ใช้แนะนำให้กับเกษตรกรสำหรับการผลิตผักเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรปในปัจจุบัน เพื่อให้เป็นไปตามข้อบังคับของกลุ่มสหภาพยุโรปจึงจำเป็นต้องตัดสารที่อยู่ในทั้งสองกลุ่มดังกล่าวออกจากคำแนะนำ ดังนั้นจึงต้องทำการศึกษาวิจัยเพื่อหา

สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวยาสูบ เพื่อใช้เป็นคำแนะนำสำหรับการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชในแปลงปลูกโหระพา/กะเพราให้กับเกษตรกร และได้ผลผลิตที่มีคุณภาพปลอดภัยเป็นไปตามข้อกำหนดการผลิตผักเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป (EU) ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แปลงโหระพา/กะเพราของเกษตรกร
2. สารฆ่าแมลง flonicamid 50% WG, spirotetramat 15% OD, spiromesifen 24% SC, sulfoxaflor 50% WG และ buprofezin 40% SC
3. เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลังที่สามารถวัดความดันได้
4. ถังพลาสติก กระบอกตวง บีกเกอร์
5. ไม้ปักแปลง และแผ่นป้ายสำหรับแต่ละกรรมวิธี
6. อุปกรณ์สำหรับบันทึกข้อมูล

วิธีการ

การทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงเพื่อการป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวยาสูบในโหระพา/กะเพรา วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 29)
กรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23)
กรรมวิธีที่ 3 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23)
กรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 4C)
กรรมวิธีที่ 5 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 16)
กรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร

<u>หมายเหตุ</u>

- สารเคมีที่นำมาใช้ในการทดสอบเป็นสารเคมีที่กลุ่มสหภาพยุโรปอนุญาตให้ใช้ อาจปรับเปลี่ยนสารเคมีหากพบว่าเป็นสารเคมีที่กลุ่มสหภาพยุโรปยกเลิกการใช้
- อัตราการใช้ของสารเคมีที่นำมาทดสอบเป็นอัตราการใช้ที่อ้างอิงมาจากแมลงชนิดเดียวกันแต่มีคำแนะนำในพืชอื่นที่มีลักษณะทางสรีรวิทยาใกล้เคียงกัน และใช้ข้อมูลงานวิจัยจากต่างประเทศที่ทำในพืชเดียวกัน

ดำเนินการทดลองในแปลงกะเพราของเกษตรกร โดยแบ่งเป็นแปลงย่อย ขนาดแปลงย่อยไม่น้อยกว่า 15 ตารางเมตร ระยะห่างระหว่างแปลงย่อย 1 เมตร จำนวน 24 แปลงย่อย สุ่มนับแปลงย่อยละ 10 ต้น (ไม่ตรวจนับแถวริม) ต้นละ 5 ใบ นับจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยก่อนพ่นสาร 1 วัน และหลังพ่นสาร 3, 5 และ 7 วัน และหลังพ่นสารครั้งสุดท้ายที่ 3, 5, 7, 10, 12

และ 14 วัน เริ่มทำการพ่นสารทดลองตามกรรมวิธีต่าง ๆ ด้วยเครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง โดยใช้อัตราพ่น 100 ลิตรต่อไร่ เมื่อพบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยมากกว่า 2 ตัว/ต้น พ่นสารทุก 7 วัน อย่างน้อย 2 ครั้ง หรือตามความเหมาะสมโดยเว้นระยะการพ่นตามการระบาดของแมลง นำข้อมูลจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ (โดยใช้โปรแกรม IRRISTAT) วิเคราะห์ความแปรปรวนหลังพ่นสารด้วยวิธี Analysis of Variance กรณีข้อมูลจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบก่อนพ่นสารแตกต่างกันทางสถิติ วิเคราะห์ความแปรปรวนหลังพ่นสารด้วยวิธี Analysis of Covariance จากนั้นเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของแต่ละกรรมวิธีด้วยวิธี DMRT และคำนวณเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพการป้องกันกำจัด โดยใช้สูตรของ Henderson-Tilton (Puntener, 1992)

%Efficacy = [(Ca.Tb – Ta.Cb)/Ca.Tb] x 100

Ta = จำนวนแมลงในแปลงที่พ่นสารหลังพ่นสาร

Tb = จำนวนแมลงในแปลงที่พ่นสารก่อนพนสาร

Ca = จำนวนแมลงในแปลงที่ไม่ได้พ่นสารหลังพ่นสาร

Cb = จำนวนแมลงในแปลงที่ไม่ได้พ่นสารก่อนพ่นสาร

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

- จำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบ
- ผลกระทบต่อพืช
- ต้นทุนการใช้สารฆ่าแมลง

เวลาและสถานที่

- วันที่เริ่มต้น ตุลาคม 2564 วันที่สิ้นสุด กันยายน 2566
- กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
- แปลงปลูกกะเพราของเกษตรกร ตำบลห้วยหมอนทอง อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวยาสูบ (*Bemisia tabaci* (Gennadius)) ในกะเพรา

แปลงที่ 1 ดำเนินการทดลองที่แปลงโหระพาของเกษตรกร ตำบลห้วยหมอนทอง อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

การศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวยาสูบ (*Bemisia tabaci* (Gennadius)) ในกะเพราเพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้ (ตารางที่ 1) ก่อนการพ่นสารทดลองครั้งที่ 1 พบจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบในแต่ละกรรมวิธีระหว่าง 6.98-8.15 ตัวต่อต้น ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ดังนั้นหลังพ่นสารฆ่าแมลงครั้งที่ 1 ที่ 3 5 และ 7 วัน จึงวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี Analysis of variance

หลังการพ่นสารครั้งที่ 1 (ตารางที่ 1)

ที่ 3 วันหลังการพ่นสาร พบว่า กรรมวิธีที่มีการพ่นสารฆ่าแมลง พบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยระหว่าง 4.13-5.30 ตัวต่อต้น ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ซึ่งพบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 8.05 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่า กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบดีที่สุด โดยพบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยจำนวน 4.13 ตัวต่อต้น รองลงมา คือกรรมวิธีที่ 3 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 5 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ที่พบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยจำนวน 4.33 4.43 4.83 และ 5.30 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ที่ 5 วันหลังการพ่นสาร พบว่า กรรมวิธีที่มีการพ่นสารฆ่าแมลงพบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยระหว่าง 4.30-5.80 ตัวต่อต้น ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ซึ่งพบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 11.78 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่า กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบดีที่สุด โดยพบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยจำนวน 4.30 ตัวต่อต้น รองลงมา ได้แก่ กรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 5 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 3 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ซึ่งพบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยจำนวน 4.90 4.95 5.30 และ 5.80 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ที่ 7 วันหลังการพ่นสาร พบว่า กรรมวิธีที่มีการพ่นสารฆ่าแมลง พบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยระหว่าง 3.08-4.55 ตัวต่อต้น ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารที่พบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 8.83 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสาร พบว่า กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบดีที่สุด พบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 3.08 ตัวต่อต้น ซึ่งแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 3 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ที่พบจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 4.20 และ 4.55 ตัวต่อต้น แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 5 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ ซึ่งพบจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 3.63 และ 4.03 ตัวต่อต้น ตามลำดับ

หลังการพ่นสารครั้งที่ 2 (ตารางที่ 1)

ก่อนการพ่นสารทดลองครั้งที่ 2 พบจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบในแต่ละกรรมวิธีระหว่าง 3.08-4.55 ตัวต่อต้น ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติ ดังนั้นหลังพ่นสารฆ่าแมลงครั้งที่ 2 ที่ 3 5 และ 7 วัน จึงวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี Analysis of covariance

ที่ 3 วันหลังการพ่นสาร พบว่า กรรมวิธีที่มีการพ่นสารฆ่าแมลง พบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยระหว่าง 1.85-2.83 ตัวต่อต้น ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ซึ่งพบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 9.18 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่า กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบดีที่สุด โดยพบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยจำนวน 1.85 ตัวต่อต้น รองลงมา ได้แก่ กรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 5 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตรกรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 3 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ซึ่งพบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยจำนวน 1.98 2.60 2.80 และ 2.83 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ที่ 5 วันหลังการพ่นสาร พบว่า กรรมวิธีที่มีการพ่นสารฆ่าแมลง พบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยระหว่าง 2.55-4.00 ตัวต่อต้น ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ซึ่งพบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 11.15 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่า กรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร สามารถควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบดีที่สุด โดยพบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยจำนวน 2.55 ตัวต่อต้น รองลงมา ได้แก่ กรรมวิธีที่ 3 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 5 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ซึ่งพบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยจำนวน 2.78 3.05 3.13 และ 4.00 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ที่ 7 วันหลังการพ่นสาร พบว่า กรรมวิธีที่มีการพ่นสารฆ่าแมลง พบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยระหว่าง 0.90-1.53 ตัวต่อต้น ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ซึ่งพบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 11.13 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่า กรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบดีที่สุด โดยพบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยจำนวน 0.90 ตัวต่อต้น รองลงมา ได้แก่ กรรมวิธีที่ 3 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 5 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ซึ่งพบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยจำนวน 0.93 1.05 1.43 และ 1.53 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ

หลังการพ่นสารครั้งที่ 3 (ตารางที่ 1)

ก่อนการพ่นสารทดลองครั้งที่ 2 พบจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบในแต่ละกรรมวิธีระหว่าง 0.90-1.53 ตัวต่อต้น ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติ ดังนั้นหลังพ่นสารฆ่าแมลงครั้งที่ 2 ที่ 3 5 และ 7 วัน จึงวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี Analysis of covariance

ที่ 3 วันหลังการพ่นสาร พบว่า กรรมวิธีที่มีการพ่นสารฆ่าแมลง พบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยระหว่าง 0.83-2.10 ตัวต่อต้น ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ซึ่งพบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 6.55 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่า กรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบดีที่สุด โดยพบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยจำนวน 0.83 ตัวต่อต้น รองลงมา ได้แก่ กรรมวิธีที่ 5 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 3 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ซึ่งพบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยจำนวน 1.00 1.13 1.23 และ 2.10 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ที่ 5 วันหลังการพ่นสาร พบว่า กรรมวิธีที่มีการพ่นสารฆ่าแมลง พบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยระหว่าง 0.43-0.98 ตัวต่อต้น ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ที่พบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 5.43 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสาร พบว่า กรรมวิธีที่ 5 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบดีที่สุด พบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยน้อยที่สุด 0.43 ตัวต่อต้น ซึ่งแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยมากที่สุด 0.98 ตัวต่อต้น แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 3 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ซึ่งพบจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 0.53 0.58 และ 0.65 ตัวต่อต้น ตามลำดับ

ที่ 7 วันหลังการพ่นสาร พบว่า กรรมวิธีที่มีการพ่นสารฆ่าแมลง พบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยระหว่าง 0.35-0.98 ตัวต่อต้น ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ซึ่งพบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 6.95 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่า กรรมวิธีที่ 3 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบดีที่สุด โดยพบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยจำนวน 0.35 ตัวต่อต้น รองลงมา ได้แก่ กรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 5 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ

20 ลิตร ซึ่งพบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยจำนวน 0.63 0.63 0.68 และ 0.98 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ที่ 10 วันหลังการพ่นสาร พบว่า กรรมวิธีที่มีการพ่นสารฆ่าแมลง พบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยระหว่าง 0.29-0.80 ตัวต่อต้น ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารที่พบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 2.93 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสาร พบว่า กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบดีที่สุด พบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยน้อยที่สุด 0.29 ตัวต่อต้น ซึ่งแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 3 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยมากที่สุด 0.80 ตัวต่อต้น แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 5 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ซึ่งพบจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 0.34 0.56 และ 0.61 ตัวต่อต้น ตามลำดับ

ที่ 12 วันหลังการพ่นสาร พบว่า กรรมวิธีที่มีการพ่นสารฆ่าแมลง พบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยระหว่าง 0.40-0.65 ตัวต่อต้น ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารที่พบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 4.48 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสาร พบว่า กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยน้อยที่สุด 0.40 ตัวต่อต้น รองลงมาได้แก่ กรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 3 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ซึ่งพบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยจำนวน 0.45 0.58 และ 0.65 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ที่ 14 วันหลังการพ่นสาร พบว่า กรรมวิธีที่มีการพ่นสารฆ่าแมลง พบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยระหว่าง 0.25-0.50 ตัวต่อต้น ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ซึ่งพบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 3.93 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่า กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบดีที่สุด โดยพบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยจำนวน 0.25 ตัวต่อต้น รองลงมา ได้แก่ กรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 3 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 5 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ซึ่งพบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยจำนวน 0.40 0.40 0.48 และ 0.50 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารกำจัดแมลงไม่พบอาการเป็นพิษต่อกะเพรา

2. การประเมินประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวยาสูบ (*Bemisia tabaci* (Gennadius)) ในกะเพรา

หลังการพ่นสารครั้งที่ 1

ที่ 3 วันหลังการพ่นสาร สารฆ่าแมลง sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบดีที่สุดคิดเป็น 52.46% รองลงมา ได้แก่ flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพ 50.79 49.28 และ 47.49% ตามลำดับ ส่วน สารฆ่าแมลง spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพน้อยที่สุดคือ 45.92%

ที่ 5 วันหลังการพ่นสาร สารฆ่าแมลง spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบดีที่สุดคิดเป็น 58.91% รองลงมา ได้แก่ flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และ buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพ 57.90 56.36 และ 52.66% ตามลำดับ ส่วนสารแมลง spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพน้อยที่สุดคือ 44.18%

ที่ 7 วันหลังการพ่นสาร สารฆ่าแมลง flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบดีที่สุดคิดเป็น 59.77% รองลงมา ได้แก่ buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ซึ่งมีประสิทธิภาพ 56.74 54.92 และ 50.59% ตามลำดับ ส่วนสารฆ่าแมลง spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพน้อยที่สุดคือ 41.58%

หลังการพ่นสารครั้งที่ 2

ที่ 3 วันหลังการพ่นสาร สารฆ่าแมลง spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบดีที่สุดคิดเป็น 78.70% รองลงมา ได้แก่ flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพ 76.76 70.20 และ 68.35% ตามลำดับ ส่วนสารฆ่าแมลง spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพน้อยที่สุดคือ 65.05%

ที่ 5 วันหลังการพ่นสาร สารฆ่าแมลง spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบดีที่สุดคิดเป็น 77.41% รองลงมา ได้แก่ spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และflonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพ 71.73

70.46 และ 68.54% ตามลำดับ ส่วนสารฆ่าแมลง sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพน้อยที่สุดคือ 62.74%

ที่ 7 วันหลังการพ่นสาร สารฆ่าแมลงทุกชนิดมีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบมากกว่า 85% โดยสารฆ่าแมลง spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบดีที่สุดคิดเป็น 92.01% รองลงมา ได้แก่ spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพ 90.53 90.07 และ 85.72% ตามลำดับ ส่วนสารฆ่าแมลง flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพน้อยที่สุดคือ 85.18%

หลังการพ่นสารครั้งที่ 3

ที่ 3 วันหลังการพ่นสาร สารฆ่าแมลง spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบดีที่สุดคิดเป็น 87.48% รองลงมา ได้แก่ buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพ 83.93 80.44 และ 78.34% ตามลำดับส่วนสารฆ่าแมลง sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพน้อยที่สุดคือ 66.70%

ที่ 5 วันหลังการพ่นสาร สารฆ่าแมลง buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตรมีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบดีที่สุดคิดเป็น 91.67% รองลงมา ได้แก่ spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และ sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพ 89.45 86.19 และ 81.25% ตามลำดับ ส่วนสารฆ่าแมลง spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพน้อยที่สุดคือ 80.93%

ที่ 7 วันหลังการพ่นสาร สารฆ่าแมลงทุกชนิดมีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบมากกว่า 85% โดยสารฆ่าแมลง spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบดีที่สุดคิดเป็น 94.29% รองลงมา ได้แก่ spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพ 91.05 90.46 และ 88.72% ตามลำดับ ส่วนสารฆ่าแมลง sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตรมีประสิทธิภาพน้อยที่สุดคือ 85.35%

ที่ 10 วันหลังการพ่นสาร สารฆ่าแมลง flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบดีที่สุดคิดเป็น 88.59% รองลงมา ได้แก่ buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพ 87.79 81.12 และ

78.37% ตามลำดับ ส่วนสารฆ่าแมลง spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพน้อยที่สุดคือ 69.04%

ที่ 12 วันหลังการพ่นสาร สารฆ่าแมลงทุกชนิดมีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบมากกว่า 80% โดยสารฆ่าแมลง buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบดีที่สุดคิดเป็น 90.60% รองลงมา ได้แก่ สารฆ่าแมลง spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร สารฆ่าแมลง flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และ สารฆ่าแมลง spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ มีประสิทธิภาพ 90.08 89.70 และ 85.32% ตามลำดับ ส่วนสารฆ่าแมลง sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพน้อยที่สุดคือ 84.93%

ที่ 14 วันหลังการพ่นสาร สารฆ่าแมลงทุกชนิดมีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบมากกว่า 85% โดยสารฆ่าแมลง flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบดีที่สุดคิดเป็น 92.66% รองลงมา ได้แก่ spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพ 89.95 88.46 และ 87.15% ตามลำดับ ส่วนสารฆ่าแมลง sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพน้อยที่สุดคือ 86.78%

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวยาสูบในแปลงปลูกกะเพราของเกษตรกร พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลงสามารถควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบได้ดี มีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร สารฆ่าแมลงที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบ ได้แก่ flonicamid 50% WG (กลุ่ม 29) อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร spirotetramat 15% OD (กลุ่ม 23) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร spiromesifen 24% SC (กลุ่ม 23) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร buprofezin 40% SC (กลุ่ม 16) อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ sulfoxaflor 50% WG (กลุ่ม 4C) อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ซึ่งควรพ่นอย่างน้อย 2 ครั้ง ทุก 7 วัน ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารกำจัดแมลงไม่พบความเป็นพิษกับกะเพรา

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณมยุรา ไม้ชัยมงคล เกษตรกรเจ้าของแปลงทดลองกะเพรา ที่เอื้อเฟื้อแปลงปลูกกะเพรา สำหรับดำเนินงานทดลอง ขอขอบคุณพนักงานราชการและเจ้าหน้าที่กลุ่มบริหารศัตรูพืชที่ให้การช่วยเหลืองานวิจัยทุกท่าน ทำให้งานวิจัยชิ้นนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2553. *คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืชปี ปี 2553*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 303 หน้า.

กลุ่มบริหารศัตรูพืชและกลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2559. *แมลงศัตรูผัก เห็ด และไม้ดอก*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 106 หน้า.

สัญญาณี ศรีคชา สุเทพ สหายา สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น และพวงผกา อ่างมณี. 2560. *คู่มือการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช สำหรับการผลิตผักเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรป (ฉบับปรับปรุงแก้ไขเพิ่มเติม)*. กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 53 หน้า.

Askew K. 2018. EU Member States back neonicotinoid ban (Online). https://www.foodnavigator.com /Article/2018/04/27/EU-Member-States-back-neonicotinoid-ban, 6 May 2018.

European Commission - Press Release. 2017. Endocrine disruptors: major step towards protecting citizens and environment (Online). http://europa.eu/rapid/press-release_IP-17-1906_en.htm, 6 May 2018.

Götz M. and S. Winter. 2016. Diversity of *Bemisia tabaci* in Thailand and Vietnam and indications of species replacement. *Journal of Asia-Pacific Entomology* 19 (2): 537-543.

Kanakala S. and M. Ghanim. 2019. Global genetic diversity and geographical distribution of *Bemisia tabaci* and its bacterial endosymbionts. *PLoS ONE* 14 (3): e0213946.

Mnif W., A.I. Hadj-Hassine, A. Bouaziz, A. Bartegi, O. Thomas, and B. Roig. 2011. Effect of endocrine disruptor pesticides: a review. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 8: 2265–2303.

Puntener, W. 1992. Manual for Field Trials in Plant Protection. Third edition. Plant Protection Division, Ciba-Geigy Ltd., Switzerland. 269 pp.

Table 1 Number of whitefly (*Bemisia tabaci* (Gennadius)) on Holy basil (*Ocimum tenuiflorum*) before and after application of insecticides to evaluate the efficacy of selected insecticides at holy basil plantation: Huai Mon Thong, Kamphaeng Saen District, Nakhon Pathom province, between May and June 2022

Treatment	Rate (per 20 liters of water)	Mean number of whitefly/1 plant of holy basil (adult and larva)												
		Before application	After 1st application (days)			After 2nd application (days)			After 3rd application (days)					
			3		7	3	5	7	3	5	7	10	12	14
1. flonicamid 50% WG (gr. 29)	20 g	6.98	4.13 a	4.30 a	3.08 a	1.85 a	3.05 a	1.43 a	1.23 a	0.65 ab	0.68 a	0.29 a	0.40 a	0.25 a
2. spirotetramat 15% OD (gr. 23)	20 ml	8.15	5.30 a	4.90 a	4.03 ab	1.98 a	2.55 a	0.90 a	0.83 a	0.58 ab	0.63 a	0.56 ab	0.45 a	0.40 a
3. spiromesifen 24% SC (gr. 23)	20 ml	7.10	4.33 a	5.80 a	4.55 b	2.83 a	2.78 a	0.93 a	1.13 a	0.53 ab	0.35 a	0.80 b	0.58 a	0.40 a
4. sulfoxaflor 50% WG (gr. 4C)	10 g	7.75	4.43 a	4.95 a	4.20 b	2.80 a	4.00 a	1.53 a	2.10 a	0.98 b	0.98 a	0.61 ab	0.65 a	0.50 a
5. buprofezin 40% SC (gr. 16)	30 ml	7.65	4.83 a	5.30 a	3.63 ab	2.60 a	3.13 a	1.05 a	1.00 a	0.43 a	0.63 a	0.34 ab	0.40 a	0.48 a
6. untreated	-	8.05	9.68 b	11.78 b	8.83 c	9.18 b	11.15 b	11.13 b	6.55 b	5.43 c	6.95 b	2.93 c	4.48 b	3.93 b
CV (%)	-	13.4	24.1	18.1	14.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
R.E. (%)	-	-	-	-	-	26.7	26.5	28	61.2	53.4	51.5	101.8	54.1	67.5

Means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

R.E. stands for Relative Efficacy

Table 2 Efficacy of selected insecticides against whitefly (*Bemisia tabaci* (Gennadius)) on Holy basil (*Ocimum tenuiflorum*) at Huai Mon Thong, Kamphaeng Saen District, Nakhon Pathom province, between May and June 2022

Treatment	Rate (per 20 liters of water)	Control efficacy (%)											
		After 1st application (days)			After 2nd application (days)			After 3rd application (days)					
		3	5	7	3	5	7	3	5	7	10	12	14
1. flonicamid 50% WG (gr. 29)	20 g	50.79	57.90	59.77	76.76	68.54	85.18	78.34	86.19	88.72	88.59	89.70	92.66
2. spirotetramat 15% OD (gr. 23)	20 ml	45.92	58.91	54.92	78.70	77.41	92.01	87.48	89.45	91.05	81.12	90.08	89.95
3. spiromesifen 24% SC (gr. 23)	20 ml	49.28	44.18	41.58	65.05	71.73	90.53	80.44	80.93	94.29	69.04	85.32	88.46
4. sulfoxaflor 50% WG (gr. 4C)	10 g	52.46	56.36	50.59	68.32	62.74	85.72	66.70	81.25	85.35	78.37	84.93	86.78
5. buprofezin 40% SC (gr. 16)	30 ml	47.49	52.66	56.74	70.20	70.46	90.07	83.93	91.67	90.46	87.79	90.60	87.15

ศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนฝ้าย (*Aphis gossypii* Glover) ในโหระพา/กะเพรา เพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้

Efficacy of insecticides for controlling cotton aphid (*Aphis gossypii* Glover) on basil to replace banned insecticides for the European Union (EU)

กรกต ดำรักษ์ วนาพร วงษ์นิคง สัญญาณี ศรีคชา หทัยภัทร เจษฎ์ารมย์

กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ศึกษาประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนฝ้ายในโหระพา/กะเพรา ในแปลงปลูกโหระพาของเกษตรกรที่ ต.หนองงูเหลือม อ.เมือง จ.นครปฐม ระหว่างเดือนกันยายน - ตุลาคม 2565 โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) มี 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี คือ กรรมวิธีพ่นสาร flonicamid 50% WG, buprofezin 40% SC, lambda-cyhalothrin 2.5% CS, spirotetramat 15% OD และ spinetoram 12% SC อัตรา 3 กรัม 20 มิลลิลิตร อัตรา 40 มิลลิลิตร อัตรา 10 มิลลิลิตร และ 15 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร ตามลำดับ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร พบว่า spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพดีในการป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนฝ้ายในโหระพา โดยทุกกรรมวิธีที่พ่นสารกำจัดแมลงพบจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร และทุกกรรมวิธีที่พ่นสารกำจัดแมลงไม่พบความเป็นพิษต่อต้นโหระพา ซึ่งต้องดำเนินการทดลองซ้ำอีกครั้งหนึ่งเพื่อยืนยันผลการทดลอง

คำหลัก : เพลี้ยอ่อนฝ้าย โหระพา สารป้องกันกำจัดแมลง

รหัสการทดลอง FF65-57-01-65-00-02-65

คำนำ

โหระพา (sweet basil) *Ocimum basilicum* Linn. และกะเพรา (holy basil) *O. tenuiflorum* Linn. หรือ *O. sanctum* Linn. จัดอยู่ในสกุล *Ocimum* วงศ์ Lamiaceae (เดิมคือ Labiatae) (เต็ม, 2523; สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าพืช, 2556) เป็นพืชผักสวนครัวพื้นบ้านของไทย และเป็นหนึ่งในพืชผักสมุนไพรที่เป็นที่รู้จักกันดี ในประเทศไทยนิยมปลูกกันทั่วไป มีประโยชน์และสรรพคุณทางยา มีกลิ่นหอมเฉพาะตัวและสามารถนำมาประกอบอาหารเมนูต่าง ๆ ได้มากมายหลากหลาย และยังใช้ใบเป็นผักสดกินกับอาหารได้ ปัจจุบันมีการส่งออกโหระพาไปจำหน่ายในต่างประเทศหลายประเทศ จากข้อมูลการส่งออกสินค้าเกษตร (พืช) ไปต่างประเทศ ปี 2563 ที่มีการขอใบรับรองสุขอนามัยพืช มีการส่งออกโหระพา/กะเพราในรูปแบบผักสด 208,099.37 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่า 9,532,292.98 บาท โดยเฉพาะสหภาพยุโรปมีการส่งออกไปยัง 8 ประเทศ ได้แก่ ออสเตรีย เบลเยี่ยม สาธารณรัฐเช็ก เดนมาร์ก ฟินแลนด์ เยอรมนี สวีเดน และเนเธอร์แลนด์ (กลุ่มบริการส่งออกสินค้าเกษตร, 2564) เนื่องจาก โหระพา/กะเพรา อยู่ในรายชื่อผัก 22 ชนิดภายใต้มาตรการควบคุมพิเศษระบบบัญชีรายชื่อโรงคัดบรรจุ (Establishment List: EL) สำหรับผักผลไม้สดส่งออกไปสหภาพยุโรป นอร์เวย์และสมาพันธรัฐสวิส (สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าพืช, 2556) ทำให้การส่งออกผักไปยังต่างประเทศโดยเฉพาะสหภาพยุโรปนั้น เกษตรกรต้องให้ความสำคัญเกี่ยวกับการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชและควบคุมการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชตามข้อกำหนดของสหภาพยุโรป เพราะหากพบว่าสารพิษต้องห้ามและแมลงศัตรูพืชกักกันเกินปริมาณที่กำหนดก็จะสั่งระงับการนำเข้า ส่งผลกระทบต่อรายได้เกษตรกรและประเทศสูญเสียรายได้จากการส่งออกด้วย โดยแมลงศัตรูพืชที่สำคัญของพืชกลุ่มกะเพรา โหระพา แมงลักและผักชีที่มีความสำคัญและมีคำแนะนำให้ป้องกันกำจัด ได้แก่ แมลงหวี่ขาวยาสูบ หนอนชอนใบ เพลี้ยไฟโหระพา เพลี้ยอ่อนฝ้าย และหนอนเจาะสมอฝ้าย (สัญญาณีและคณะ, 2560) โดยจากรายงานของหน่วยงานอารักขาพืชของสมาพันธ์ยุโรปและตะวันออกกลาง (European and Mediterranean Plant Protection Organization : EPPO) พบว่า ประเทศไทยเคยได้รับการแจ้งเตือนถึงการตรวจพบเพลี้ยอ่อนฝ้าย *Aphis gossypii* ปนเปื้อนไปกับโหระพาที่ส่งออกไปยังประเทศอังกฤษเมื่อ พ.ศ. 2551 (EPPO Secretariat, 2009) ซึ่งเพลี้ยอ่อนฝ้าย *A. gossypii* นี้ได้ถูกสำรวจพบในประเทศไทยจากพืชอาหารหลายชนิดรวมทั้งโหระพา (*O. basilicum*) มาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2517-2520 (Bänziger, 1980)

เตือนจิตต์และคณะ (2547) ได้สำรวจชนิดและปริมาณแมลงศัตรูกะเพรา และโหระพา พบแมลงศัตรูสำคัญ 7 ชนิด คือ หนอนม้วนใบ (*Ophanostigma abruptalis* (Walker)) หนอนชอนใบ (*Liriomyza* sp.) หนอนกระทู้ผัก(*Spodoptera litura* (Fabricius)) หนอนเจาะสมอฝ้าย (*Helicoverpa armigera* (Hübner)) เพลี้ยไฟ (*Dorcadothrips* sp.) และมวนปีกแก้ว (*Monanthia globulifera* Walker) นอกจากนี้ยังพบเพลี้ยอ่อนยังไม่ทราบชื่อวิทยาศาสตร์ Bänziger (1980) ได้ทำการสำรวจเพลี้ยอ่อนในประเทศไทยตั้งแต่ปี พ.ศ. 2517-2520 พบเพลี้ยอ่อนฝ้าย *Aphis gossypii* บนพืชอาหารหลายชนิดรวมทั้งโหระพา (*O. basilicum*) ด้วย โดยกลุ่มกีฏและสัตววิทยา (2553) มีคำแนะนำ

การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชในกะเพรา (Holy Basil) และโหระพา (Sweet Basil) คือ เพลี้ยไฟ (*Bathrips melacornis* และ *Dorcadothrips* sp.) และ หนอนเจาะสมอฝ้าย (*Helicoverpa armigera*) เท่านั้น ส่วนการป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนฝ้ายจะอยู่ในคำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชในฝ้าย และกระเจี๊ยบเขียว ซึ่งจัดเป็นพืชคนละกลุ่มกับโหระพา

เพลี้ยอ่อนฝ้าย (cotton aphid) *Aphis gossypii* Glover จัดอยู่ในอันดับ Hemiptera วงศ์ Aphididae เพลี้ยอ่อนเป็นแมลงปากดูดขนาดเล็ก ขนาด 1-2 มิลลิเมตร ตัวอ่อนมีการลอกคราบเป็นระยะ ระยะตัวอ่อน 4-8 วัน ตัวเต็มวัยมีทั้งชนิดมีปีกและไม่มีปีก รูปร่างค่อนข้างกลมคล้ายลูกแพร์ หัวและอกเล็ก ส่วนท้องโต พบตามใต้ใบพืช เพลี้ยอ่อนขยายพันธุ์โดยการผสมพันธุ์หรือไม่ผสมแบบ parthenogenesis ก็ได้ การแพร่กระจายของเพลี้ยอ่อนอาศัยลมเป็นตัวแพร่กระจาย เพลี้ยอ่อนฝ้ายเป็นศัตรูของพืชผัก พืชไร่ และไม้ผลหลายชนิด ดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบและยอด ทำให้ต้นพืชชะงักการเจริญเติบโต เป็นพาหะนำเชื้อไวรัสโรคพืชหลายชนิด พบระบาดมากในช่วงอากาศค่อนข้างแห้งแล้งหรือในฤดูหนาว พืชอาหารอื่น ๆ ได้แก่ ยาสูบ พริก มันฝรั่ง มะเขือเทศ กระเจี๊ยบเขียว มะเขือเปราะ ถั่วฝักยาว ถั่วต่าง ๆ และพืชตระกูลกะหล่ำ มีคำแนะนำในการป้องกันกำจัดในพืชกะเพรา โหระพา แมงลักและผักชี สำหรับการผลิตผักเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรป คือ ควรกำจัดวัชพืชในบริเวณแปลงปลูก เพราะเป็นที่หลบอาศัยของเพลี้ยอ่อน ถ้าพบพืชมีอาการยอดหงิกให้ตัดส่วนที่แสดงอาการเผาทำลาย และถ้าพบการระบาดใช้อิมิดาโคลพริด 10% SL (กลุ่ม 4A) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรืออีโทเฟนพรอกซ์ 20% EC (กลุ่ม 3A) อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร เลือกใช้สารเคมีชนิดใดชนิดหนึ่ง ควรพ่นสารเคมีติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน (สัญญาณีและคณะ, 2560)

จากสถานการณ์ปัจจุบันทางสหภาพยุโรปได้รับการอนุมัติจากประเทศสมาชิก ให้มีข้อบังคับห้ามใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชกลุ่มนีโอนิโคตินอยด์ (Neonicotinoids) เนื่องจากเป็นสารเคมีที่มีผลกระทบและก่อให้เกิดอันตรายต่อผึ้ง โดยเฉพาะสาร Imidacloprid, Clothianidin และ Thiamethoxam ที่คณะกรรมาธิการยุโรปเสนอให้เห็นควรระงับการจำหน่ายและการใช้สารกำจัดแมลง 3 ชนิดนี้มาก่อนหน้านี้แล้ว และคาดว่าจะมีผลบังคับใช้ในช่วงสิ้นปีของ พ.ศ. 2561 (Askew, 2018) นอกจากนี้คณะกรรมาธิการยุโรปยังมีแผนเสนอข้อกำหนดการถอดถอนสารเคมีที่ใช้ป้องกันกำจัดศัตรูพืชกลุ่มที่เป็นสารรบกวนการทำงานของต่อมไร้ท่อ (endocrine disruptor) เพื่อความปลอดภัยของประชาชนและสิ่งแวดล้อม (European Commission - Press release, 2017) สารรบกวนการทำงานของต่อมไร้ท่อ หรือ Endocrine disrupting chemicals (EDC) มีผลต่อสุขภาพของมนุษย์และมีความเสี่ยงก่อให้เกิดมะเร็ง ตัวอย่างสารกำจัดแมลงบางชนิดที่เป็นสารรบกวนการทำงานของต่อมไร้ท่อ ได้แก่ Aldrin, Allethrin, Carbaryl, Chlordane, Cypermethrin, DDT, Dieldrin, Endosulfan, Heptachlor, Malathion และ Permethrin เป็นต้น (Mnif *et al*., 2011) ซึ่งสารกำจัดแมลงดังกล่าว ยังคงเป็นสารที่ใช้แนะนำให้กับเกษตรกรสำหรับการผลิตผักเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรปในปัจจุบัน โดยสำหรับเพลี้ยอ่อนฝ้ายนั้นมีคำแนะนำการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเมื่อพบการระบาดในโหระพา คือ ให้ใช้อิมิดาโคลพริด 10% SL (กลุ่ม 4A) อัตรา 20 มิลลิลิตร

ต่อน้ำ 20 ลิตร หรืออีโทเฟนพรอกซ์ 20% EC (กลุ่ม 3A) อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือไดโนทีฟูแรน 10% WP (กลุ่ม 4A) เลือกใช้สารเคมีชนิดใดชนิดหนึ่ง ควรพ่นสารเคมีติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน (กองพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าพืช, 2558; สัญญาณีและคณะ, 2560) ซึ่งปัจจุบันสารกำจัดแมลงไดโนทีฟูแรนและสารอิมิดาโคลพริดเป็นสารที่ไม่อนุญาตให้ใช้แล้ว ส่วนสารอีโทเฟนพรอกซ์ก็กำลังจะสิ้นสุดการอนุญาตให้ใช้สำหรับการผลิตพืชเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรปในปี พ.ศ. 2566 นี้ (European Commission, 2022) ดังนั้นจึงต้องทำการศึกษาวิจัยเพื่อหาสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชมีประสิทธิภาพและเหมาะสมมาทดแทน เพื่อใช้เป็นคำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชในแปลงปลูกโหระพา/กะเพราให้กับเกษตรกร และได้ผลผลิตที่มีคุณภาพและปลอดภัยตามข้อกำหนดการผลิตผักเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรปได้ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แปลงโหระพาของเกษตรกร
2. สารกำจัดแมลง flonicamid 50% WG, buprofezin 40% SC, lambda-cyhalothrin 2.5% CS, spirotetramat 15% OD และ spinetoram 12% SC
3. เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลังที่สามารถวัดความดันได้
4. ถังพลาสติก กระบอกตวง บีกเกอร์
5. ไม้ปักแปลง และแผ่นป้ายสำหรับแต่ละกรรมวิธี
6. อุปกรณ์สำหรับบันทึกข้อมูล

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 29)

กรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 16)

กรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 3A)

กรรมวิธีที่ 4 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23)

กรรมวิธีที่ 5 พ่น spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 5)

กรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร

<u>หมายเหตุ</u>

- สารเคมีที่นำมาใช้ในการทดสอบเป็นสารเคมีที่กลุ่มสหภาพยุโรปอนุญาตให้ใช้ อาจปรับเปลี่ยนสารเคมีหากพบว่าเป็นสารเคมีที่กลุ่มสหภาพยุโรปยกเลิกการใช้

- อัตราการใช้ของสารเคมีที่นำมาทดสอบเป็นอัตราการใช้ที่อ้างอิงมาจากแมลงชนิดเดียวกัน แต่มีคำแนะนำในพืชอื่นที่มีลักษณะทางสรีรวิทยาใกล้เคียงกัน และใช้ข้อมูลงานวิจัยจากต่างประเทศที่ทำในพืชเดียวกัน

ดำเนินการทดลองในแปลงโหระพา/กะเพราของเกษตรกร ขนาดแปลงย่อยไม่น้อยกว่า 15 ตารางเมตร ระยะห่างระหว่างแปลงย่อย 1 เมตร จำนวน 24 แปลงย่อย เริ่มทำการพ่นสารทดลองตามกรรมวิธีต่าง ๆ ด้วยเครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง โดยใช้อัตราพ่น 100 ลิตรต่อไร่ สุ่มนับจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายจากแถวกลางของแปลงย่อย แปลงย่อยละ 10 ต้น ต้นละ 10 ใบจาก 3 ยอด เมื่อพบเพลี้ยอ่อนฝ้ายทำลายมากกว่า 2 ตัวต่อต้น พ่นสารทุก 7 วัน อย่างน้อย 2 ครั้ง โดยนับเพลี้ยอ่อนฝ้ายทุกวัยรวมกัน สุ่มนับจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายก่อนพ่นสาร 1 วัน และหลังพ่นสาร 3, 5 และ 7 วัน และหลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย 3, 5, 7, 10, 12 และ 14 วัน หรือตามความเหมาะสมโดยเว้นระยะการพ่นตามการระบาดของแมลง นำข้อมูลจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายไปวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยโปรแกรม IRRISTAT กรณีข้อมูลจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายก่อนพ่นสารไม่แตกต่างกันทางสถิติ วิเคราะห์ความแปรปรวนหลังพ่นสารด้วยวิธี Analysis of Variance กรณีข้อมูลจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายก่อนพ่นสารแตกต่างกันทางสถิติ วิเคราะห์ความแปรปรวนหลังพ่นสารด้วยวิธี Analysis of Covariance จากนั้นเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของแต่ละกรรมวิธีด้วยวิธี DMRT และคำนวณเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพการป้องกันกำจัด โดยใช้สูตรของ Henderson-Tilton (Puntener, 1992)

$$\%Efficacy = [(Ca.Tb - Ta.Cb)/Ca.Tb] \times 100$$

Ta = จำนวนแมลงในแปลงที่พ่นสารหลังพ่นสาร

Tb = จำนวนแมลงในแปลงที่พ่นสารก่อนพ่นสาร

Ca = จำนวนแมลงในแปลงที่ไม่ได้พ่นสารหลังพ่นสาร

Cb = จำนวนแมลงในแปลงที่ไม่ได้พ่นสารก่อนพ่นสาร

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

- จำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้าย
- ผลกระทบต่อพืช
- ต้นทุนการใช้สารกำจัดแมลง
- พิษตกค้างของสารกำจัดแมลง (ดำเนินการในปีที่ 2 เมื่อได้สารและอัตราที่จะแนะนำให้แก่เกษตรกร)

เวลาและสถานที่

- เริ่มต้น ตุลาคม 2564 - สิ้นสุด กันยายน 2566
- กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
- แปลงปลูกโหระพาของเกษตรกร ต.หนองงูเหลือม อ.เมือง จ.นครปฐม

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

แปลงทดลองที่ 1 ต.หนองงูเหลือม อ.เมือง จ.นครปฐม ในเดือนกันยายน - ตุลาคม 2565 (Table 1, 2)

ประสิทธิภาพสารกำจัดแมลงในการป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนฝ้าย

ก่อนพ่นสาร พบว่า จำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 2.35 – 6.60 ตัวต่อต้น มีความแตกต่างกันทางสถิติ ดังนั้นหลังพ่นสารครั้งที่ 1 ที่ 3, 5 และ 7 วัน จึงวิเคราะห์ผลด้วยวิธี Analysis of covariance

หลังพ่นสารครั้งที่ 1 แล้ว 3 วัน พบว่า กรรมวิธีที่พ่นสาร spirotetramat 15% OD มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยที่สุด 1.48 ตัวต่อต้น ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร flonicamid 50% WG, buprofezin 40% SC และ lambda-cyhalothrin 2.5% CS ที่พบจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 3.55, 4.05 และ 4.68 ตัวต่อต้น ตามลำดับ แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร spinetoram 12% SC และกรรมวิธีไม่พ่นสาร ซึ่งมีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 8.50 และ 8.25 ตัวต่อต้น ตามลำดับ โดยกรรมวิธีที่พ่นสาร buprofezin 40% SC, lambda-cyhalothrin 2.5% CS และ spinetoram 12% SC มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ พบว่า กรรมวิธีที่พ่นสาร flonicamid 50% WG, buprofezin 40% SC, lambda-cyhalothrin 2.5% CS, spirotetramat 15% OD และ spinetoram 12% SC มีเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ -20.85, -27.06, -52.82, 61.18, และ -112.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

หลังพ่นสารครั้งที่ 1 แล้ว 5 วัน พบว่า กรรมวิธีที่พ่นสาร spirotetramat 15% OD มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยที่สุด 0.78 ตัวต่อต้น ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร flonicamid 50% WG, buprofezin 40% SC และ lambda-cyhalothrin 2.5% CS ที่พบจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 3.75, 4.35 และ 4.40 ตัวต่อต้น ตามลำดับ แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร spinetoram 12% SC และกรรมวิธีไม่พ่นสาร ซึ่งมีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 5.05 และ 6.78 ตัวต่อต้น ตามลำดับ โดยกรรมวิธีที่พ่นสาร flonicamid 50% WG, buprofezin 40% SC, lambda-cyhalothrin 2.5% CS และ spinetoram 12% SC มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ พบว่า กรรมวิธีที่พ่นสาร flonicamid 50% WG, buprofezin 40% SC, lambda-cyhalothrin 2.5% CS, spirotetramat 15% OD และ spinetoram 12% SC มีเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ -55.34, -66.06, -74.82, 75.11 และ -53.62 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

หลังพ่นสารครั้งที่ 1 แล้ว 7 วัน พบว่า กรรมวิธีที่พ่นสาร spirotetramat 15% OD มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยที่สุด 1.28 ตัวต่อต้น ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร lambda-cyhalothrin 2.5% CS, flonicamid 50% WG และ buprofezin 40% SC ที่มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 3.53, 4.10 และ 4.75 ตัวต่อต้น ตามลำดับ แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร spinetoram 12% SC และกรรมวิธีไม่พ่นสาร ซึ่งมีจำนวน

เพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 11.38 และ 9.95 ตัวต่อต้น ตามลำดับ โดยกรรมวิธีที่พ่นสาร spinetoram 12% SC มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ พบว่า กรรมวิธีที่พ่นสาร flonicamid 50% WG, buprofezin 40% SC, lambda-cyhalothrin 2.5% CS, spirotetramat 15% OD และ spinetoram 12% SC มีเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ -15.73, -23.56, 4.43, 72.16 และ -135.89 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ส่วนการวิเคราะห์ผลหลังพ่นสารครั้งที่ 2 ที่ 3, 5 และ 7 วัน ซึ่งใช้ข้อมูลหลังพ่นสารครั้งที่ 1 ที่ 7 วัน เป็นข้อมูลก่อนพ่นสารครั้งที่ 2 พบว่า จำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยมีความแตกต่างกันทางสถิติ จึงวิเคราะห์ผลด้วยวิธี Analysis of covariance พบว่า หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 3 วัน กรรมวิธีที่พ่นสาร spirotetramat 15% OD มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยที่สุด 0.10 ตัวต่อต้น ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร lambda-cyhalothrin 2.5% CS, flonicamid 50% WG และ buprofezin 40% SC ที่มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 0.23, 1.05 และ 3.13 ตัวต่อต้น ตามลำดับ แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร spinetoram 12% SC และกรรมวิธีไม่พ่นสาร ซึ่งพบจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 7.20 และ 8.90 ตัวต่อต้น ตามลำดับ โดยกรรมวิธีที่พ่นสาร buprofezin 40% SC มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ spinetoram 12% SC แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร โดยกรรมวิธีที่พ่นสาร spinetoram 12% SC มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ พบว่า กรรมวิธีที่พ่นสาร flonicamid 50% WG, buprofezin 40% SC, lambda-cyhalothrin 2.5% CS, spirotetramat 15% OD และ spinetoram 12% SC มีเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ 66.87, 8.98, 93.04, 97.57 และ -66.85 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 5 วัน พบว่า กรรมวิธีที่พ่นสาร lambda-cyhalothrin 2.5% CS และ spirotetramat 15% OD ไม่พบเพลี้ยอ่อนฝ้ายทั้งสองกรรมวิธี ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร flonicamid 50% WG, buprofezin 40% SC และ spinetoram 12% SC ที่พบจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 0.73, 4.68 และ 6.30 ตัวต่อต้น ตามลำดับ โดยทุกกรรมวิธีที่พ่นสารพบจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ซึ่งมีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 21.43 ตัวต่อต้น เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ พบว่า กรรมวิธีที่พ่นสาร flonicamid 50% WG, buprofezin 40% SC, lambda-cyhalothrin 2.5% CS, spirotetramat 15% OD และ spinetoram 12% SC มีเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ 90.43, 43.48, 100, 100 และ 39.37 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 7 วัน พบว่า กรรมวิธีที่พ่นสาร lambda-cyhalothrin 2.5% CS มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยที่สุด 0.05 ตัวต่อต้น ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร spirotetramat 15% OD, flonicamid 50% WG, buprofezin 40% SC และ spinetoram 12% SC ที่มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 0.08, 0.15, 1.98 และ 4.43 ตัวต่อต้น ตามลำดับ โดยทุก

กรรมวิธีที่พ่นสารพบจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ซึ่งมีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 20.65 ตัวต่อต้น เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ พบว่า กรรมวิธีที่พ่นสาร flonicamid 50% WG, buprofezin 40% SC, lambda-cyhalothrin 2.5% CS, spirotetramat 15% OD และ spinetoram 12% SC มีเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ 97.96, 75.18, 99.35, 99.16 และ 55.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 10 วัน พบว่า กรรมวิธีที่พ่นสาร lambda-cyhalothrin 2.5% CS และ spirotetramat 15% OD มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยที่สุดจำนวนเท่ากัน 0.03 ตัวต่อต้น ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร flonicamid 50% WG, buprofezin 40% SC และ spinetoram 12% SC ที่พบจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 1.03, 1.70 และ 8.20 ตัวต่อต้น ตามลำดับ แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ซึ่งมีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 22.00 ตัวต่อต้น โดยกรรมวิธีที่พ่นสาร spinetoram 12% SC มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ พบว่า กรรมวิธีที่พ่นสาร flonicamid 50% WG, buprofezin 40% SC, lambda-cyhalothrin 2.5% CS, spirotetramat 15% OD และ spinetoram 12% SC มีเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ 86.85, 80.00, 99.63, 99.70 และ 23.13 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 12 วัน พบว่า กรรมวิธีที่พ่นสาร lambda-cyhalothrin 2.5% CS มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยที่สุด 0.03 ตัวต่อต้น ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร spirotetramat 15% OD, flonicamid 50% WG, buprofezin 40% SC และ spinetoram 12% SC ที่มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 0.08, 0.73, 1.20 และ 9.03 ตัวต่อต้น ตามลำดับ โดยทุกกรรมวิธีที่พ่นสารพบจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ซึ่งมีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 25.48 ตัวต่อต้น เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ พบว่า กรรมวิธีที่พ่นสาร flonicamid 50% WG, buprofezin 40% SC, lambda-cyhalothrin 2.5% CS, spirotetramat 15% OD และ spinetoram 12% SC มีเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ 91.95, 87.81, 99.68, 99.32 และ 26.91 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 14 วัน พบว่า กรรมวิธีที่พ่นสาร lambda-cyhalothrin 2.5% CS และ spirotetramat 15% OD ไม่พบเพลี้ยอ่อนฝ้ายทั้งสองกรรมวิธี ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร flonicamid 50% WG, buprofezin 40% SC และ spinetoram 12% SC ที่มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 0.65, 2.00 และ 10.28 ตัวต่อต้น ตามลำดับ โดยทุกกรรมวิธีที่พ่นสารพบจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ซึ่งมีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 24.75 ตัวต่อต้น เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ พบว่า กรรมวิธีที่พ่นสาร flonicamid 50% WG, buprofezin 40% SC, lambda-cyhalothrin 2.5% CS, spirotetramat 15% OD และ spinetoram 12% SC มีเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพ 99.62, 79.08, 100, 100 และ 14.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ความเป็นพิษต่อพืช (phytotoxicity) ของสารทดลองที่มีต่อต้นโหระพา

ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารกำจัดแมลงไม่พบอาการเป็นพิษต่อต้นโหระพา

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการทดสอบเบื้องต้นเพื่อหาประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนฝ้ายในแปลงปลูกโหระพาของเกษตรกรที่ ต.หนองงูเหลือม อ.เมือง จ.นครปฐม ระหว่างเดือนกันยายน - ตุลาคม 2565 พบว่า กรรมวิธีพ่นสาร spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพดีในการป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนฝ้ายในโหระพา โดยหลังจากพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว ที่ 7, 12 และ 14 วัน ในทุกกรรมวิธีพ่นสารกำจัดแมลงมีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร และทุกกรรมวิธีที่พ่นสารกำจัดแมลงไม่พบความเป็นพิษต่อต้นโหระพา

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเกษตรกรเจ้าของแปลงที่เอื้อเฟื้อแปลงปลูกโหระพาสำหรับดำเนินงานทดลอง ขอขอบคุณพนักงานราชการและเจ้าหน้าที่กลุ่มบริหารศัตรูพืชที่ให้การช่วยเหลืองานวิจัยทุกท่าน ทำให้งานวิจัยชิ้นนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2553. *คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ปี 2553*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 303 หน้า

กลุ่มบริการส่งออกสินค้าเกษตร. 2564. *ข้อมูลการส่งออกสินค้าเกษตร (พืช) ไปต่างประเทศ ปี 2563 ที่มีการขอใบรับรองสุขอนามัยพืช*. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : https://www.doa.go.th/ard/?page_id=7381 (22 มิถุนายน 2564)

กองพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าพืช. 2558. พิมพ์ครั้งที่ 3 *คู่มือหลักเกณฑ์การจัดทำเอกสารภายใต้มาตรการควบคุมพิเศษระบบบัญชีรายชื่อโรงคัดบรรจุ (Establishment List: EL) สำหรับเจ้าหน้าที่*. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด กรุงเทพฯ. 128 หน้า.

เต็ม สมิตินันทน์. 2523. พิมพ์ครั้งที่ 2. *ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย (ชื่อพฤกษศาสตร์-ชื่อพื้นเมือง)*. หจก.ฟันนี่พับบลิชชิ่ง กรุงเทพฯ. 379 หน้า.

เตือนจิตต์ สัตยาวิรุฑธ์ ไพศาล รัตนเสถียร อัจฉรา หวังอาษา และวรจิต ผาภูมิ. 2547. ชนิดและปริมาณแมลงศัตรูที่สำคัญของพืชผักสวนครัวส่งออก 3 ชนิด (กะเพรา โหระพา และผักชีฝรั่ง).

หน้า 319-326. *ใน : รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มปี 2547.* สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

สัญญาณี ศรีคชา สุเทพ สหายา สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น และพวงผกา อ่างมณี. 2560. พิมพ์ครั้งที่ 3. *คู่มือการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชสำหรับการผลิตผักเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป ฉบับปรับปรุงแก้ไขเพิ่มเติม.* โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด กรุงเทพฯ. 53 หน้า.

สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าพืช. 2556. พิมพ์ครั้งที่ 2. *คู่มือหลักเกณฑ์การจัดทำเอกสารมาตรการควบคุมพิเศษระบบบัญชีรายชื่อโรงคัดบรรจุ (Establishment List: EL).* บริษัท แฮนดี เพรส จำกัด กรุงเทพฯ. 42 หน้า.

Askew, K. 2018. *EU Member States back neonicotinoid ban.* (Online). Available. https://www.foodnavigator.com/Article/2018/04/27/EU-Member-States-back-neonicotinoid-ban (May 6, 2018).

Bänziger, H. 1980. Aphids (Homoptera, Aphididae) collected in Thailand (1974-1977). *Journal of the Swiss Entomological Society* 53: 143-150.

EPPO Secretariat. 2009. *EPPO Reporting Service no. 09 - 2009*. (Online). Available. https://gd.eppo.int/reporting/Rse-2009-09 (May 6, 2018).

European Commission. 2022. *EU Pesticides database* (Online) Available. https:// ec.europa. eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/start/screen/active-substances (Feb 28, 2022).

European Commission - Press Release. 2017. *Endocrine disruptors: major step towards protecting citizens and environment* (Online). Available. http://europa.eu/rapid/press-release_IP-17-1906_en.htm (May 6, 2018).

Mnif, W., A.I. Hadj-Hassine, A. Bouaziz, A. Bartegi, O. Thomas and B. Roig. 2011. Effect of endocrine disruptor pesticides: a review. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 8: 2265–2303.

Puntener, W. 1992. *Manual for Field Trials in Plant Protection*. 3rd edition. Plant Protection Division, Ciba-Geigy Ltd., Switzerland. 269 p.

Table 1 Mean number of cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover in treatments found on sweet basil at Nong Ngu Luam sub-district, Muang district, Nakhon Pathom province, September - October 2022

Treatment	Rate of application (g, ml/20 l of water)	Mean number of cotton aphid[1/]									
		Before spraying	Day after 1st application			Day after 2nd application					
			3	5	7	3	5	7	10	12	14
1. flonicamid 50% WG	3	2.35 a	3.55 a	3.75 ab	4.10 a	1.05 a	0.73 a	0.15 a	1.03 a	0.73 a	0.65 a
2. buprofezin 40% SC	20	2.55 a	4.05 ab	4.35 ab	4.75 a	3.13 ab	4.68 a	1.98 a	1.70 a	1.20 a	2.00 a
3. lambda-cyhalothrin 2.5% CS	40	2.45 a	4.68 ab	4.40 ab	3.53 a	0.23 a	0.00 a	0.05 a	0.03 a	0.03 a	0.00 a
4. spirotetramat 15% OD	10	3.05 ab	1.48 a	0.78 a	1.28 a	0.10 a	0.00 a	0.08 a	0.03 a	0.08 a	0.00 a
5. spinetoram 12% SC	15	3.20 ab	8.50 b	5.05 b	11.38 b	7.20 bc	6.30 a	4.43 a	8.20 ab	9.03 a	10.28 a
6. untreated (control)	-	6.60 b	8.25 b	6.78 b	9.95 b	8.90 c	21.43 b	20.65 b	22.00 b	25.48 b	24.75 b
C.V. (%)		69.7	58.2	54.6	50.4	105.5	91.7	76.5	156.8	169.3	108.7
R.E. (%)			84.0	88.3	119.5	82.9	249.5	194.0	121.0	84.0	106.0

[1/] In a column, means followed by the same letters are not significantly different at the level of 95% level by DMRT

Average from 4 replications

[2/] Relative efficacy

Table 2 Percent efficiency of variance insecticides for controlling cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover on sweet basil at Nong Ngu Luam sub-district, Muang district, Nakhon Pathom province, September - October 2022

Treatment	Rate of application (g, ml/20 l of water)	Control efficiency (%)								
		Day after 1st application			Day after 2nd application					
		3	5	7	3	5	7	10	12	14
1. flonicamid 50% WG	3	-20.85	-55.34	-15.73	66.87	90.43	97.96	86.85	91.95	92.62
2. buprofezin 40% SC	20	-27.06	-66.06	-23.56	8.98	43.48	75.18	80.00	87.81	79.08
3. lambda-cyhalothrin 2.5% CS	40	-52.82	-74.82	4.43	93.04	100.00	99.35	99.63	99.68	100.00
4. spirotetramat 15% OD	10	61.18	75.11	72.16	97.57	100.00	99.16	99.70	99.32	100.00
5. spinetoram 12% SC	15	-112.50	-53.62	-135.89	-66.85	39.37	55.75	23.13	26.91	14.33
6. untreated (control)	-									

ศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดหนอนแมลงวันชอนใบ (*Liriomyza brassicae* (Riley)) ในโหระพา/กะเพรา เพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้

Efficacy of insecticides for controlling leafminer (*Liriomyza brassicae* (Riley)) on basil to replace banned insecticides for the European Union (EU)

กรกต ดำรักษ์ วนาพร วงษ์นิคง สัญญาณี ศรีคชา หทัยภัทร เจษฎารมย์

กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ศึกษาประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดหนอนแมลงวันชอนใบในโหระพา/กะเพรา ในแปลงปลูกโหระพาของเกษตรกร โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) มี 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี คือ กรรมวิธีพ่นสาร emamectin benzoate 1.92% EC, spirotetramat 24% SC, cyantraniliprole 10% OD, sulfoxaflor 50% WG และ spiromesifen 24% SC อัตรา 30 มิลลิลิตร อัตรา 20 มิลลิลิตร อัตรา 40 มิลลิลิตร อัตรา 10 กรัม และ 30 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร ตามลำดับ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร แต่เมื่อได้ทำการติดตามการระบาดของหนอนแมลงวันชอนใบในแปลงปลูกโหระพาของเกษตรกรที่ ต.หนองงูเหลือม อ.เมือง จ.นครปฐม แล้ว ไม่พบการระบาด ทำให้ไม่สามารถทำการทดลองต่อได้ จึงเริ่มทำการทดลองใหม่ในแปลงปลูกโหระพาของเกษตรกรที่ ต.วังขนาย อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี โดยจะเริ่มพ่นสารตามกรรมวิธีเมื่อพบหนอนแมลงวันชอนใบระบาดเพียงพอต่อการทดลอง

คำหลัก : หนอนแมลงวันชอนใบ โหระพา/กะเพรา สารป้องกันกำจัดแมลง

รหัสการทดลอง FF65-57-01-65-00-03-65

คำนำ

โหระพา/กะเพรา จัดอยู่ในสกุล *Ocimum* วงศ์ Lamiaceae มีชื่อสามัญและชื่อวิทยาศาสตร์ คือ โหระพา (sweet basil) *Ocimum basilicum* Linn และกะเพรา (holy basil) *O. tenuiflorum* Linn. หรือ *O. sanctum* Linn (เต็ม, 2523; สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าพืช, 2556) โหระพา/กะเพรา เป็นพืชผักสวนครัวและเป็นพืชผักสมุนไพรที่เป็นที่นิยมปลูกกันทั่วไปในประเทศไทย นอกจากจะใช้ใบเป็นผักสดกินกับอาหาร หรือนำมาประกอบอาหารเมนูต่าง ๆ ได้มากมายหลากหลายแล้ว ยังมีมีกลิ่นหอมเฉพาะตัวและมีสรรพคุณทางยาอีกด้วย ปัจจุบันมีการส่งออกโหระพาไปจำหน่ายในต่างประเทศหลายประเทศ จากข้อมูลการส่งออกสินค้าเกษตร (พืช) ไปต่างประเทศ ปี 2563 ที่มีการขอใบรับรองสุขอนามัยพืช มีการส่งออกโหระพา/กะเพราในรูปแบบผักสด 208,099.37 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่า 9,532,292.98 บาท โดยเฉพาะสหภาพยุโรปมีการส่งออกไปยัง 8 ประเทศ ได้แก่ ออสเตรีย เบลเยี่ยม สาธารณรัฐเช็ก เดนมาร์ก ฟินแลนด์ เยอรมนี สวีเดน และเนเธอร์แลนด์ (กลุ่มบริการส่งออกสินค้าเกษตร, 2564) เนื่องจาก โหระพา/กะเพรา อยู่ในรายชื่อผัก 22 ชนิดภายใต้มาตรการควบคุมพิเศษระบบบัญชีรายชื่อโรงคัดบรรจุ (Establishment List: EL) สำหรับผักผลไม้สดส่งออกไปสหภาพยุโรป นอร์เวย์และสมาพันธรัฐสวิส (สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าพืช, 2556) ทำให้การส่งออกผักไปยังต่างประเทศโดยเฉพาะสหภาพยุโรปนั้น เกษตรกรต้องให้ความสำคัญเกี่ยวกับการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชและควบคุมการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชตามข้อกำหนดของสหภาพยุโรป เพราะหากพบว่าสารพิษต้องห้ามและแมลงศัตรูพืชกักกันเกินปริมาณที่กำหนดก็จะสั่งระงับการนำเข้า ส่งผลกระทบต่อรายได้เกษตรกรและประเทศสูญเสียรายได้จากการส่งออกด้วย โดยแมลงศัตรูพืชที่สำคัญของพืชกลุ่มกะเพรา โหระพา แมงลักและผักชีที่มีความสำคัญและมีคำแนะนำให้ป้องกันกำจัด ได้แก่ แมลงหวี่ขาวยาสูบ หนอนชอนใบ เพลี้ยไฟโหระพา เพลี้ยอ่อนฝ้าย และหนอนเจาะสมอฝ้าย (สัญญาณีและคณะ, 2560)

จากการสำรวจชนิดและปริมาณแมลงศัตรูกะเพรา และโหระพา โดยเตือนจิตต์และคณะ (2547) พบว่า โหระพา/กะเพรา มีแมลงศัตรูสำคัญ 7 ชนิด คือ หนอนม้วนใบ (*Ophanostigma abruptalis* (Walker)) หนอนชอนใบ (*Liriomyza* sp.) หนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura* (Fabricius)) หนอนเจาะสมอฝ้าย (*Helicoverpa armigera* (Hübner)) เพลี้ยไฟ (*Dorcadothrips* sp.) และมวนปีกแก้ว (*Monanthia globulifera* Walker) นอกจากนี้ยังพบเพลี้ยอ่อนยังไม่ทราบชื่อวิทยาศาสตร์ โดยกลุ่มกีฏและสัตววิทยา (2553) ได้มีคำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชในกะเพรา (Holy Basil) และโหระพา (Sweet Basil) คือ เพลี้ยไฟ (*Bathrips melacornis* และ *Dorcadothrips* sp.) และ หนอนเจาะสมอฝ้าย (*Helicoverpa armigera*) เท่านั้น

หนอนชอนใบ (leafminer) *Liriomyza brassicae* (Riley) จัดอยู่ในอันดับ Diptera วงศ์ Agromyzidae ตัวเต็มวัยเป็นแมลงวันขนาดเล็ก มีสีดำเหลือง ตัวเต็มวัยเพศเมียวางไข่บริเวณใบในเนื้อเยื่อพืช ระยะไข่ 2-4 วัน หนอนมีลักษณะหัวแหลมท้ายป้าน ไม่มีขา ขนาดประมาณ 0.5-1 มิลลิเมตร ตัวหนอนชอนไชและกินในเนื้อเยื่อพืช ระยะหนอน 7-10 วัน ดักแด้อยู่ในดินมีลักษณะคล้ายเมล็ดข้าวสาร ขนาด 0.8-1 มิลลิเมตร ระยะดักแด้ 5-7 วัน ตลอดวงจรชีวิตใช้เวลาประมาณ 3-4 สัปดาห์ ตัวเต็มวัยเพศเมียวางไข่ใต้ผิวใบ ตัวหนอนมีลักษณะหัวแหลมท้ายป้าน ไม่มีขา หนอนชอนไชภายในใบทำให้เกิดรอยเส้นสีขาวคดเคี้ยวไปมา หากระบาดรุนแรงจะทำให้ใบเสียหายร่วงหล่นและพืชตายได้ พืชอาหารของหนอนชอนใบได้แก่ โหระพา แมงลัก พืชตระกูลกะหล่ำ หอม มะเขือเทศ มะเขือเปราะ มะระ พริก บวบ กระเจี๊ยบเขียว พืชตระกูลถั่ว ดาวเรือง เบญจมาศ กุหลาบ และเยอบีร่า มีคำแนะนำในการป้องกันกำจัดในพืชกะเพรา โหระพา แมลงลักและผักชี สำหรับการผลิตผักเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรป คือ หมั่นสำรวจแปลงปลูก โดยเดินสำรวจแบบสลับฟันปลา สัปดาห์ละครั้งติดกับดักกาวเหนียวสีเหลืองอัตรา 80 กับดัก/ไร่ เพื่อดักจับตัวเต็มวัย และเผาทำลายใบพืชที่ถูกแมลงวันหนอนชอนใบทำลาย การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเมื่อพบหนอนชอนใบระบาด ให้ใช้อิมิดาโคลพริด 10% SL (กลุ่ม 4A) อัตรา 20-30 มล./น้ำ 20 ลิตร หรือไซเพอร์เมทริน 40% WP (กลุ่ม 3A) อัตรา 15-20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร เลือกใช้สารเคมีชนิดใดชนิดหนึ่ง ควรพ่นสารเคมีติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน (กองพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าพืช, 2558; สัญญาณีและคณะ, 2560)

ในปัจจุบัน คณะกรรมาธิการยุโรปได้มีแผนเสนอข้อกำหนดการถอดถอนสารเคมีที่ใช้ป้องกันกำจัดศัตรูพืชกลุ่มที่เป็นสารรบกวนการทำงานของต่อมไร้ท่อ (endocrine disruptor) เพื่อความปลอดภัยของประชาชนและสิ่งแวดล้อม (European Commission - Press release, 2017) สารรบกวนการทำงานของต่อมไร้ท่อ หรือ Endocrine disrupting chemicals (EDC) มีผลต่อสุขภาพของมนุษย์และมีความเสี่ยงก่อให้เกิดมะเร็ง ตัวอย่างสารกำจัดแมลงบางชนิดที่เป็นสารรบกวนการทำงานของต่อมไร้ท่อ ได้แก่ Aldrin, Allethrin, Carbaryl, Chlordane, Cypermethrin, DDT, Dieldrin, Endosulfan, Heptachlor, Malathion และ Permethrin เป็นต้น (Mnif *et al*., 2011) โดยทางสหภาพยุโรปได้รับการอนุมัติจากประเทศสมาชิก ให้มีข้อบังคับห้ามใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชกลุ่มนีโอนิโคตินอยด์ (Neonicotinoids) เนื่องจากเป็นสารเคมีที่มีผลกระทบและก่อให้เกิดอันตรายต่อผึ้ง โดยเฉพาะสาร Imidacloprid, Clothianidin และ Thiamethoxam ที่คณะกรรมาธิการยุโรปเสนอให้เห็นควรระงับการจำหน่ายและการใช้สารกำจัดแมลง 3 ชนิดนี้มาก่อนหน้านี้แล้ว และคาดว่าจะมีผลบังคับใช้ในช่วงสิ้นปีของ พ.ศ. 2561 (Askew, 2018) ซึ่งสารกำจัดแมลงดังกล่าวยังคงเป็นสารที่ใช้แนะนำให้กับเกษตรกรสำหรับการผลิตผักเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรปในปัจจุบัน โดยเฉพาะหนอนชอนใบ ที่มีคำแนะนำการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเมื่อพบการระบาดในโหระพาเพียงสอง

ชนิด คือ ให้ใช้อิมิดาโคลพริด 10% SL (กลุ่ม 4A) อัตรา 20-30 มล./น้ำ 20 ลิตร หรือไซเพอร์เมทริน 40% WP (กลุ่ม 3A) อัตรา 15-20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร เลือกใช้สารเคมีชนิดใดชนิดหนึ่ง ควรพ่นสารเคมีติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน (กองพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าพืช, 2558; สัญญาณี และคณะ, 2560) โดยปัจจุบันสารอิมิดาโคลพริดเป็นสารที่ไม่อนุญาตให้ใช้แล้ว เหลือเพียงสารไซเพอร์เมทรินที่ยังคงได้รับการต่ออายุอนุญาตให้ใช้สำหรับการผลิตพืชเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรป (European Commission, 2022) แต่สารไซเพอร์เมทรินเป็นสารที่จัดอยู่ในกลุ่มสารรบกวนการทำงานของต่อมไร้ท่อ (endocrine disruptor) ซึ่งอยู่ในแผนเสนอข้อกำหนดการถอดถอนสารเคมีที่ใช้ป้องกันกำจัดศัตรูพืชกลุ่มที่เป็นสารรบกวนการทำงานของต่อมไร้ท่อเพื่อความปลอดภัยของประชาชนและสิ่งแวดล้อมของคณะกรรมาธิการยุโรป นอกจากนี้การใช้สารกำจัดแมลงชนิดเดียวหรือสารที่มีกลไกการออกฤทธิ์ (Mode of Action) เดียวกันติดต่อกันเป็นเวลานาน อาจทำให้แมลงศัตรูพืชสร้างความต้านได้ ส่งผลให้การใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชไม่มีประสิทธิภาพเท่าที่ควร ดังนั้นจึงทำการศึกษาหาสารเคมีที่มีประสิทธิภาพมาทดแทนเพิ่มเติมสำหรับใช้ในป้องกันกำจัดที่เหมาะสม เพื่อใช้เป็นคำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชในแปลงปลูกโหระพา/กะเพราให้กับเกษตรกร และได้ผลผลิตที่มีคุณภาพและปลอดภัยตามข้อกำหนดการผลิตผักเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรปได้ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แปลงโหระพาของเกษตรกร
2. สารกำจัดแมลง emamectin benzoate 1.92% EC, spirotetramat 24% SC, cyantraniliprole 10% OD, sulfoxaflor 50% WG และ spiromesifen 24% SC
3. เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลังที่สามารถวัดความดันได้
4. ถังพลาสติก กระบอกตวง บีกเกอร์
5. ไม้ปักแปลง และแผ่นป้ายสำหรับแต่ละกรรมวิธี
6. อุปกรณ์สำหรับบันทึกข้อมูล

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่น emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 6)

กรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23)

กรรมวิธีที่ 3 พ่น cyantraniliprole 10% OD อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 28)

กรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 4C)

กรรมวิธีที่ 5 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23)

กรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร

หมายเหตุ

- สารเคมีที่นำมาใช้ในการทดสอบเป็นสารเคมีที่กลุ่มสหภาพยุโรปอนุญาตให้ใช้ อาจปรับเปลี่ยนสารเคมีหากพบว่าเป็นสารเคมีที่กลุ่มสหภาพยุโรปยกเลิกการใช้

- อัตราการใช้ของสารเคมีที่นำมาทดสอบเป็นอัตราการใช้ที่อ้างอิงมาจากแมลงชนิดเดียวกัน แต่มีคำแนะนำในพืชอื่นที่มีลักษณะทางสรีรวิทยาใกล้เคียงกัน และใช้ข้อมูลงานวิจัยจากต่างประเทศที่ทำในพืชเดียวกัน

ดำเนินการทดลองในแปลงโหระพา/กะเพราของเกษตรกร โดยใช้ขนาดแปลงย่อยไม่น้อยกว่า 15 ตารางเมตร ระยะห่างระหว่างแปลงย่อย 1 เมตร จำนวน 24 แปลงย่อย เริ่มทำการพ่นสารทดลองตามกรรมวิธีต่าง ๆ ด้วยเครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง โดยใช้อัตราพ่น 100 ลิตรต่อไร่ เมื่อพบรอยทำลายหนอนแมลงวันชอนใบมากกว่า 10% พ่นสารทุก 7 วัน อย่างน้อย 2 ครั้ง สุ่มนับใบที่ถูกหนอนแมลงวันชอนใบเข้าทำลายโดยดูทั้งต้นจากแถวกลางของแปลงย่อย แปลงย่อยละ 10 ต้น และคิดเป็นเปอร์เซ็นต์พื้นที่ใบที่ถูกทำลาย สุ่มนับรอยทำลายหนอนแมลงวันชอนใบก่อนพ่นสาร 1 วัน และหลังพ่นสาร 3, 5 และ 7 วัน และหลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย 3, 5, 7, 10, 12 และ 14 วัน หรือตามความเหมาะสมโดยเว้นระยะการพ่นตามการระบาดของแมลง นำข้อมูลไปวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยโปรแกรม IRRISTAT กรณีข้อมูลการทำลายของหนอนแมลงวันชอนใบก่อนพ่นสารไม่แตกต่างกันทางสถิติ วิเคราะห์ความแปรปรวนหลังพ่นสารด้วยวิธี Analysis of Variance กรณีข้อมูลการทำลายของหนอนแมลงวันชอนใบก่อนพ่นสารแตกต่างกันทางสถิติ วิเคราะห์ความแปรปรวนหลังพ่นสารด้วยวิธี Analysis of Covariance จากนั้นเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของแต่ละกรรมวิธีด้วยวิธี DMRT และคำนวณเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพการป้องกันกำจัด โดยใช้สูตรของ Henderson-Tilton (Puntener, 1992)

$$\%Efficacy = [(Ca.Tb - Ta.Cb)/Ca.Tb] \times 100$$

Ta = จำนวนแมลงในแปลงที่พ่นสารหลังพ่นสาร

Tb = จำนวนแมลงในแปลงที่พ่นสารก่อนพ่นสาร

Ca = จำนวนแมลงในแปลงที่ไม่ได้พ่นสารหลังพ่นสาร

Cb = จำนวนแมลงในแปลงที่ไม่ได้พ่นสารก่อนพ่นสาร

การบันทึกข้อมูล

- เปอร์เซ็นต์พื้นที่ใบที่ถูกทำลายจากหนอนแมลงวันชอนใบ
- ผลกระทบต่อพืช
- ต้นทุนการใช้สารกำจัดแมลง

- พิษตกค้างของสารกำจัดแมลง (ดำเนินการในปีที่ 2 เมื่อได้สารและอัตราที่จะแนะนำให้แก่เกษตรกร)

เวลาและสถานที่

- เริ่มต้น ตุลาคม 2564 - สิ้นสุด กันยายน 2566
- กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
- แปลงปลูกโหระพาของเกษตรกร ต.หนองงูเหลือม อ.เมือง จ.นครปฐม

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการติดตามการระบาดของหนอนแมลงวันชอนใบในแปลงปลูกของเกษตรกร ต.หนองงูเหลือม อ.เมือง จ.นครปฐม ซึ่งมีลักษณะแปลงปลูกแบบสภาพสวน ขนาดแปลงย่อย 5x7 เมตร จำนวน 24 แปลงย่อย แต่ละแปลงย่อยยกร่องแปลงปลูก 7 ร่อง ระยะห่างระหว่างร่อง 1 เมตร เว้นระยะห่างระหว่างแปลงย่อย 1 ร่อง (1 เมตร) และมีจำนวนต้นโหระพา 168 ต้นต่อ 1 แปลงย่อย ซึ่งมีปริมาณต้นเพียงพอต่อการทำการทดลอง แต่เมื่อได้ทำการติดตามการระบาดของหนอนแมลงวันชอนใบแล้วไม่พบการระบาด ทำให้ไม่สามารถดำเนินการทดลองในขั้นตอนต่อไปได้ จึงได้ทำการติดต่อและสำรวจแปลงเกษตรกรแปลงใหม่เพิ่มเติมที่ ต.วังขนาย อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี ซึ่งมีประวัติพบการระบาดของหนอนแมลงวันชอนใบในแปลงปลูก โดยมีลักษณะแปลงปลูกแบบสภาพสวน ขนาดพื้นที่ 2 ไร่ 2 งาน มีขนาดแปลงย่อยและจำนวนต้นโหระพาเพียงพอต่อการทดลอง จึงทำการติดตามการระบาดและจะเริ่มดำเนินการพ่นสารตามกรรมวิธีเมื่อพบหนอนแมลงวันชอนใบเพียงพอต่อการทดลอง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากผลการดำเนินงานพบว่า เมื่อติดตามการระบาดของหนอนแมลงวันชอนใบในแปลงปลูกโหระพาของเกษตรกรที่ ต.หนองงูเหลือม อ.เมือง จ.นครปฐม แล้ว ไม่พบการระบาดของหนอนแมลงวันชอนใบในแปลงทดลอง ทำให้ไม่สามารถทำการทดลองในขั้นตอนต่อไปได้นั้น อาจเนื่องมาจากปัญหาเรื่องการให้น้ำในแปลง และสภาพอากาศมีการเปลี่ยนแปลง ทำให้โหระพาชะงักการเจริญเติบโตและเติบโตไม่สม่ำเสมอ แปลงโหระพามีการระบาดของราน้ำค้าง เกษตรกรมีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช ทำให้ในพื้นที่ที่ทำการทดลองไม่เอื้ออำนวยต่อการระบาดของหนอนแมลงวันชอนใบ

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเกษตรกรเจ้าของแปลงที่เอื้อเฟื้อแปลงปลูกโหระพาสำหรับดำเนินงานทดลอง ขอขอบคุณพนักงานราชการและเจ้าหน้าที่กลุ่มบริหารศัตรูพืชที่ให้การช่วยเหลืองานวิจัยทุกท่าน ทำให้งานวิจัยชิ้นนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2553. *คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ปี 2553*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 303 หน้า

กลุ่มบริการส่งออกสินค้าเกษตร. 2564. *ข้อมูลการส่งออกสินค้าเกษตร (พืช) ไปต่างประเทศ ปี 2563 ที่มีการขอใบรับรองสุขอนามัยพืช*. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : https://www.doa.go.th/ard/?page_id=7381 (22 มิถุนายน 2564)

กองพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าพืช. 2558. พิมพ์ครั้งที่ 3 *คู่มือหลักเกณฑ์การจัดทำเอกสารภายใต้มาตรการควบคุมพิเศษระบบบัญชีรายชื่อโรงคัดบรรจุ (Establishment List: EL) สำหรับเจ้าหน้าที่*. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด กรุงเทพฯ. 128 หน้า.

เต็ม สมิตินันทน์. 2523. พิมพ์ครั้งที่ 2. *ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย (ชื่อพฤกษศาสตร์-ชื่อพื้นเมือง)*. หจก. ฟันนี่พับบลิชชิ่ง กรุงเทพฯ. 379 หน้า.

เตือนจิตต์ สัตยาวิรุฑธ์ ไพศาล รัตนเสถียร อัจฉรา หวังอาษา และวรจิต ผาภูมิ. 2547. ชนิดและปริมาณแมลงศัตรูที่สำคัญของพืชผักสวนครัวส่งออก 3 ชนิด (กะเพรา โหระพา และผักชีฝรั่ง). หน้า 319-326. *ใน : รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มปี 2547*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

สัญญาณี ศรีคชา สุเทพ สหายา สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น และพวงผกา อ่างมณี. 2560. พิมพ์ครั้งที่ 3. *คู่มือการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชสำหรับการผลิตผักเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป ฉบับปรับปรุงแก้ไขเพิ่มเติม*. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด กรุงเทพฯ. 53 หน้า.

สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าพืช. 2556. พิมพ์ครั้งที่ 2. *คู่มือหลักเกณฑ์การจัดทำเอกสารมาตรการควบคุมพิเศษระบบบัญชีรายชื่อโรงคัดบรรจุ (Establishment List: EL)*. บริษัท แฮนดี เพรส จำกัด กรุงเทพฯ. 42 หน้า.

Askew, K. 2018. *EU Member States back neonicotinoid ban.* (Online). Available. https://www.foodnavigator.com/Article/2018/04/27/EU-Member-States-back-neonicotinoid-ban (May 6, 2018).

European Commission. 2022. *EU Pesticides database* (Online) Available. https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/start/screen/active-substances (Feb 28, 2022).

European Commission - Press Release. 2017. *Endocrine disruptors: major step towards protecting citizens and environment* (Online). Available. http://europa.eu/rapid/press-release_IP-17-1906_en.htm (May 6, 2018).

Mnif, W., A.I. Hadj-Hassine, A. Bouaziz, A. Bartegi, O. Thomas and B. Roig. 2011. Effect of endocrine disruptor pesticides: a review. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 8: 2265–2303.

Puntener, W. 1992. *Manual for Field Trials in Plant Protection*. 3rd edition. Plant Protection Division, Ciba-Geigy Ltd., Switzerland. 269 p.

ศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนฝ้าย (*Aphis gossypii* Glover) ในมะระจีนเพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้

Efficacy of selected insecticides against cotton aphids (*Aphis gossypii* Glover) on Chinese bitter melon (*Momordica charantia*) to replace banned insecticides for the European Union (EU)

วนาพร วงษ์นิคง กรกต ดำรักษ์ สัญญาณี ศรีคชา หทัยภัทร เจษฎารมย์

กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Progress report

The study of the efficacy of selected insecticides against cotton aphids (*Aphis gossypii* Glover) on Chinese bitter melon (*Momordica charantia*) to replace banned insecticides for the European Union (EU) was carried out at a farmer's plantation in the Wang Khanai sub-district, Tha Muang District, Kanchanaburi province, between January and February 2023. The experiments were conducted in RCB with four replications and six treatments including flonicamid 50% WG, buprofezin 40% SC, lambda-cyhalothrin 2.5% CS, spirotetramat 15% OD, and spinetoram 12% SC at the rates of 3 g, 20 ml, 40 ml, 10 ml, and 15 ml per 20 litres of water, respectively, compared with the untreated treatment. The results showed that all synthetic insecticides provided good results for controlling cotton aphids. Moreover, there were no symptoms of phytotoxic damage to the plants. However, this experiment will be conducted in 2023 to confirm these results.

Keywords : *Aphis gossypii* Chinese bitter melon insecticides European Union (EU)

รหัสการทดลอง FF65-57-01-65-00-04-65

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนฝ้าย (*Aphis gossypii* Glover) ในมะระจีนเพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้ ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนมกราคม-กุมภาพันธ์ 2566 ที่แปลงเกษตรกรตำบลวังขนาย อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) มี 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี คือ พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 29) พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 16) พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 3A) พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23) พ่น spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 5) เปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลงสามารถควบคุมเพลี้ยอ่อนฝ้ายได้ดี มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยกว่ากับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารกำจัดแมลงไม่พบความเป็นพิษกับมะระจีน ทั้งนี้ควรมีการดำเนินการทดลองซ้ำในปีถัดไป เพื่อเป็นการยืนยันผลการทดลอง

คำหลัก : เพลี้ยอ่อนฝ้าย มะระจีน สารป้องกันกำจัดแมลง สหภาพยุโรป

คำนำ

ประเทศไทยมีการส่งออกผักและผลไม้สดไปยังสหภาพยุโรปเป็นปริมาณมาก และเป็นรายได้ที่สำคัญของประเทศ โดยพืชผักที่ส่งไปกลุ่มสหภาพยุโรป (EU) ได้แก่ มะระจีน โหระพา ผักชีฝรั่ง มะเขือเปราะ มะระ พริก สินค้าเหล่านี้ส่วนใหญ่ถูกนำไปใช้ในกิจการร้านอาหารไทยในต่างประเทศ และพบว่ามีแมลงศัตรูพืชกักกันติดไปกับสินค้าผักและผลไม้ของไทยอย่างต่อเนื่อง ได้แก่ เพลี้ยไฟฝ้าย หนอนแมลงวันชอนใบ เพลี้ยอ่อนฝ้าย และหนอนแมลงวันผลไม้ ทำให้ต้องมีการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูอยู่ประจำ มะระจีน (*Momordica charantia*) จัดอยู่ในวงศ์ Cucurbitaceae แมลงศัตรูที่เข้าทำลายมะระจีน ได้แก่ เพลี้ยไฟ (cotton thrips, *Thrips palmi* Karny) เพลี้ยอ่อนฝ้าย (cotton aphid; *Aphis gossypii* Glover) และแมลงวันแตง (melon fly, *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett))

เพลี้ยอ่อนฝ้าย (cotton aphid; *Aphis gossypii* Glover) จัดอยู่ในอันดับ Hemiptera วงศ์ Aphididae เพลี้ยอ่อนเป็นศัตรูของพืชผัก พืชไร่ และไม้ผลหลายชนิด เพลี้ยอ่อนเป็นแมลงปากดูดขนาดเล็ก ดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบและยอด ทำให้ต้นพืชชะงักการเจริญเติบโต เป็นพาหะนำเชื้อไวรัสโรคพืชหลายชนิด เพลี้ยอ่อนพบระบาดมากในช่วงอากาศค่อนข้างแห้งแล้งหรือในฤดูหนาว มีขนาด 1-2 มิลลิเมตร ตัวอ่อนมีการลอกคราบเป็นระยะ ระยะตัวอ่อน 4-8 วัน ตัวเต็มวัยมีทั้งชนิดมีปีกและไม่มีปีก รูปร่างค่อนข้างกลมคล้ายลูกแพร์ หัวและอกเล็ก ส่วนท้องโต พบตามใต้ใบพืช พืชอาหารของเพลี้ยอ่อน ได้แก่ ฝ้าย ยาสูบ พริก มันฝรั่ง มะเขือเทศ กระเจี๊ยบเขียว มะเขือเปราะ ถั่วฝักยาว ถั่วต่างๆ และพืชตระกูลกะหล่ำ การป้องกันกำจัดสามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ กำจัดวัชพืชในบริเวณแปลงปลูก

เนื่องจากเป็นที่หลบอาศัยของเพลี้ยอ่อน สำหรับเพลี้ยอ่อนฝ้ายในมะระจีน ยังไม่มีคำแนะนำการใช้สารเคมีป้องกันกำจัด มีเพียงคำแนะนำในโหระพา แมงลักและผักชี โดยใช้ imidacloprid (Confidor 100 SL 10% SL) (กลุ่ม 4A) อัตรา 20-40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร หรือ etofenprox 20% EC (กลุ่ม 3A) อัตรา 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร เลือกใช้สารเคมีชนิดใดชนิดหนึ่ง ควรพ่นสารเคมีติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน (สัญญาณีและคณะ, 2560)

สารฆ่าแมลง imidacloprid นั้นเป็นสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชกลุ่มนีโอนิโคตินอยด์ (Neonicotinoids) ซึ่งทางสหภาพยุโรปได้รับการอนุมัติจากประเทศสมาชิก ให้มีข้อบังคับห้ามใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชกลุ่มนีโอนิโคตินอยด์ (Neonicotinoids) เนื่องจากเป็นสารเคมีที่มีผลกระทบและก่อให้เกิดอันตรายต่อผึ้ง โดยเฉพาะสาร Imidacloprid, Clothianidin และ Thiamethoxam ที่คณะกรรมาธิการยุโรปเสนอให้เห็นควรระงับการจำหน่ายและการใช้สารฆ่าแมลง 3 ชนิดนี้มาก่อนหน้านี้แล้ว และคาดว่าจะมีผลบังคับใช้ในช่วงสิ้นปีของ พ.ศ. 2561 (Askew, 2018) ส่วนสารฆ่าแมลง etofenprox จะสิ้นสุดการอนุญาตให้ใช้สำหรับการผลิตพืชเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรปในปี พ.ศ. 2564 นี้ (European Commission, 2020) ดังนั้นจึงต้องทำการศึกษาวิจัยเพื่อหาสารเคมีป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนฝ้ายในมะระจีนที่มีประสิทธิภาพและเหมาะสมมาทดแทน เพื่อใช้เป็นคำแนะนำสำหรับการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชในแปลงปลูกมะระจีนให้กับเกษตรกร และได้ผลผลิตที่มีคุณภาพปลอดภัยเป็นไปตามข้อกำหนดการผลิตผักเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป (EU) ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แปลงมะระจีนของเกษตรกร
2. สารฆ่าแมลง flonicamid 50% WG, buprofezin 40% SC, lambda-cyhalothrin 2.5% CS, spirotetramat 15% OD และ spinetoram 12% SC
3. เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลังที่สามารถวัดความดันได้
4. ถังพลาสติก กระบอกตวง บีกเกอร์
5. ไม้ปักแปลง และแผ่นป้ายสำหรับแต่ละกรรมวิธี
6. อุปกรณ์สำหรับบันทึกข้อมูล

วิธีการ

การทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงเพื่อการป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนฝ้ายในมะระจีน วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 29)

กรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 16)

กรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 3A)

กรรมวิธีที่ 4 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23)

กรรมวิธีที่ 5 พ่น spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 5)

กรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร

<u>หมายเหตุ</u>

- สารเคมีที่นำมาใช้ในการทดสอบเป็นสารเคมีที่กลุ่มสหภาพยุโรปอนุญาตให้ใช้ อาจปรับเปลี่ยนสารเคมีหากพบว่าเป็นสารเคมีที่กลุ่มสหภาพยุโรปยกเลิกการใช้
- อัตราการใช้ของสารเคมีที่นำมาทดสอบเป็นอัตราการใช้ที่อ้างอิงมาจากแมลงชนิดเดียวกันแต่มีคำแนะนำในพืชอื่นที่มีลักษณะทางสรีรวิทยาใกล้เคียงกัน และใช้ข้อมูลงานวิจัยจากต่างประเทศที่ทำในพืชเดียวกัน

ดำเนินการทดลองในแปลงมะระจีนของเกษตรกร ขนาดแปลงย่อยไม่น้อยกว่า 30 ตารางเมตร ระยะห่างระหว่างแปลงย่อย 1 เมตร จำนวน 24 แปลงย่อย เริ่มทำการพ่นสารทดลองตามกรรมวิธีต่างๆ ด้วยเครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง โดยใช้อัตราพ่น 100 ลิตรต่อไร่ เมื่อพบเพลี้ยอ่อนฝ้ายทำลายมากกว่า 10% พ่นสารทุก 7 วัน อย่างน้อย 2 ครั้ง หรือตามความเหมาะสมโดยเว้นระยะการพ่นตามการระบาดของแมลง สุ่มนับจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายจากแถวกลางของแปลงย่อย แปลงย่อยละ 16 ต้น (ต้นละ 1 ยอด ยอดละ 8 ใบ) โดยนับเพลี้ยอ่อนฝ้ายทุกวัยรวมกัน สุ่มนับจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายก่อนพ่นสาร 1 วัน และหลังพ่นสาร 3, 5 และ 7 วัน และหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายที่ 3, 5, 7, 10, 12 และ 14 วัน นำข้อมูลจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ (โดยใช้โปรแกรม IRRISTAT) วิเคราะห์ความแปรปรวนหลังพ่นสารด้วยวิธี Analysis of Variance กรณีข้อมูลจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายก่อนพ่นสารแตกต่างกันทางสถิติ วิเคราะห์ความแปรปรวนหลังพ่นสารด้วยวิธี Analysis of Covariance จากนั้นเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของแต่ละกรรมวิธีด้วยวิธี DMRT และคำนวณเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพการป้องกันกำจัด โดยใช้สูตรของ Henderson-Tilton (Puntener, 1992)

$$\%Efficacy = [(Ca.Tb - Ta.Cb)/Ca.Tb] \times 100$$

Ta = จำนวนแมลงในแปลงที่พ่นสารหลังพ่นสาร

Tb = จำนวนแมลงในแปลงที่พ่นสารก่อนพ่นสาร

Ca = จำนวนแมลงในแปลงที่ไม่ได้พ่นสารหลังพ่นสาร

Cb = จำนวนแมลงในแปลงที่ไม่ได้พ่นสารก่อนพ่นสาร

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

- จำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้าย
- ผลกระทบต่อพืช
- ต้นทุนการใช้สารฆ่าแมลง

เวลาและสถานที่

- วันที่เริ่มต้น ตุลาคม 2564 วันที่สิ้นสุด กันยายน 2566
- กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
- แปลงปลูกมะระจีนของเกษตรกร ตำบลวังขนาย อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนฝ้าย (*Aphis gossypii* Glover) ในมะระจีนเพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้

แปลงที่ 1 ดำเนินการทดลองที่แปลงมะระจีนของเกษตรกร ตำบลวังขนาย อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี

การศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนฝ้าย (*Aphis gossypii* Glover) ในมะระจีนเพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้ (ตารางที่ 1) ก่อนการพ่นสารทดลองครั้งที่ 1 พบจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายในแต่ละกรรมวิธีระหว่าง 1.86-3.00 ตัวต่อยอด ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ดังนั้นหลังพ่นสารฆ่าแมลงครั้งที่ 1 ที่ 3 5 และ 7 วัน จึงวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี Analysis of variance

หลังการพ่นสารครั้งที่ 1 (ตารางที่ 1)

ที่ 3 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีที่มีการพ่นสารฆ่าแมลง พบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 0.35-0.70 ตัวต่อยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่ากรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ควบคุมเพลี้ยอ่อนฝ้ายดีที่สุด โดยพบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยจำนวน 0.35 ตัวต่อยอด รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 4 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยจำนวน 0.42 และ 0.47 ตัวต่อยอด ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ซึ่งพบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 0.90 ตัวต่อยอด ส่วนกรรมวิธีที่ 5 พ่น spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร พบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยจำนวน 0.56 และ 0.70 ตัวต่อยอด ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ที่ 5 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีที่มีการพ่นสารฆ่าแมลง พบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 0.41-0.88 ตัวต่อยอด ซึ่งน้อยกว่ากรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ซึ่งพบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 1.03 ตัวต่อยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่ากรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ควบคุมเพลี้ยอ่อนฝ้ายดีที่สุด โดยพบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยจำนวน 0.41 ตัวต่อยอด รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 4 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 5 พ่น

spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยจำนวน 0.47 0.60 0.70 และ 0.88 ตัวต่อยอด ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ที่ 7 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีที่มีการพ่นสารฆ่าแมลง พบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 0.41-0.51 ตัวต่อยอด ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ซึ่งพบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 1.19 ตัวต่อยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่ากรรมวิธีที่ 5 พ่น spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ควบคุมเพลี้ยอ่อนฝ้ายดีที่สุด โดยพบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยจำนวน 0.41 ตัวต่อยอด รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 4 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยจำนวน 0.42 0.43 0.50 และ 0.51 ตัวต่อยอด ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ

หลังการพ่นสารครั้งที่ 2 (ตารางที่ 1)

ก่อนการพ่นสารทดลองครั้งที่ 2 พบจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายในแต่ละกรรมวิธีระหว่าง 0.41-1.19 ตัวต่อยอด ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติ ดังนั้นหลังพ่นสารฆ่าแมลงครั้งที่ 2 ที่ 3 5 7 10 12 และ 14 วัน จึงวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี Analysis of covariance

ที่ 3 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีที่มีการพ่นสารฆ่าแมลง พบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 0.18-0.33 ตัวต่อยอด ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ซึ่งพบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 0.75 ตัวต่อยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่ากรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ควบคุมเพลี้ยอ่อนฝ้ายดีที่สุด โดยพบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยจำนวน 0.18 ตัวต่อยอด รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 4 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 5 พ่น spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยจำนวน 0.25 0.25 0.27 และ 0.33 ตัวต่อยอด ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ที่ 5 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีที่มีการพ่นสารฆ่าแมลง พบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 0.16-0.78 ตัวต่อยอด ซึ่งน้อยกว่ากรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ซึ่งพบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 0.79 ตัวต่อยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่ากรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ควบคุมเพลี้ยอ่อนฝ้ายดีที่สุด โดยพบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยจำนวน 0.16 ตัวต่อยอด รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 4 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น spinetoram 12%

SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยจำนวน 0.22 0.28 0.30 และ 0.78 ตัวต่อยอด ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ที่ 7 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีที่มีการพ่นสารฆ่าแมลง พบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 0.06-0.31 ตัวต่อยอด ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ซึ่งพบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 0.92 ตัวต่อยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่ากรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ควบคุมเพลี้ยอ่อนฝ้ายดีที่สุด โดยพบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยจำนวน 0.06 ตัวต่อยอด รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 4 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยจำนวน 0.07 0.13 0.14 และ 0.31 ตัวต่อยอด ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ที่ 10 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีที่มีการพ่นสารฆ่าแมลง พบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 0.11-0.66 ตัวต่อยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่ากรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ควบคุมเพลี้ยอ่อนฝ้ายดีที่สุด โดยพบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยจำนวน 0.11 ตัวต่อยอด ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ซึ่งพบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 0.70 ตัวต่อยอด รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 4 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยจำนวน 0.21 0.22 0.24 และ 0.66 ตัวต่อยอด ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ที่ 12 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีที่มีการพ่นสารฆ่าแมลง พบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 0.11-0.49 ตัวต่อยอด ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ซึ่งพบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 1.78 ตัวต่อยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่ากรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ควบคุมเพลี้ยอ่อนฝ้ายดีที่สุด โดยพบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยจำนวน 0.11 ตัวต่อยอด รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 4 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 0.19 0.24 0.29 และ 0.49 ตัวต่อยอด ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ที่ 14 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีที่มีการพ่นสารฆ่าแมลง พบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 0.27-0.69 ตัวต่อยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่ากรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ควบคุมเพลี้ยอ่อนฝ้ายดีที่สุด โดยพบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยจำนวน 0.27 ตัวต่อยอด รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 4 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ

20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยจำนวน 0.31 0.50 และ 0.56 ตัวต่อยอด ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ซึ่งพบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 1.18 ตัวต่อยอด ขณะที่กรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 0.69 ตัวต่อยอด

ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารกำจัดแมลงไม่พบอาการเป็นพิษต่อมะระจีน

2. การประเมินประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนฝ้าย (*Aphis gossypii* Glover) ในมะระจีน

เปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพการป้องกันกำจัด หลังการพ่นสารครั้งที่ 1 (ตารางที่ 2)

ที่ 3 วันหลังการพ่นสาร สารฆ่าแมลง buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยอ่อนฝ้ายดีที่สุด คิดเป็น 42.53% รองลงมา ได้แก่ spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ซึ่งมีประสิทธิภาพ 24.73 24.73 22.06 และ 21.17% ตามลำดับ

ที่ 5 วันหลังการพ่นสาร สารฆ่าแมลง flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยอ่อนฝ้ายดีที่สุด คิดเป็น 59.66% รองลงมา ได้แก่ spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ซึ่งมีประสิทธิภาพ 17.79 6.04 0.77 และ -27.52% ตามลำดับ

ที่ 7 วันหลังการพ่นสาร สารฆ่าแมลง flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยอ่อนฝ้ายดีที่สุด คิดเป็น 63.38% รองลงมา ได้แก่ spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ซึ่งมีประสิทธิภาพ 58.32 47.84 37.29 และ 30.88% ตามลำดับ

เปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพการป้องกันกำจัด หลังการพ่นสารครั้งที่ 2 (ตารางที่ 2)

ที่ 3 วันหลังการพ่นสาร สารฆ่าแมลง flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยอ่อนฝ้ายดีที่สุด คิดเป็น 75.68% รองลงมา ได้แก่ spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ซึ่งมีประสิทธิภาพ 59.68 46.27 46.24 และ 34.98% ตามลำดับ

ที่ 5 วันหลังการพ่นสาร สารฆ่าแมลง flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยอ่อนฝ้ายดีที่สุด คิดเป็น 71.78% รองลงมา ได้แก่ lambda-

cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ซึ่งมีประสิทธิภาพ 69.77 47.62 38.75 และ -19.44% ตามลำดับ

ที่ 7 วันหลังการพ่นสาร สารฆ่าแมลง lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยอ่อนฝ้ายดีที่สุด คิดเป็น 90.27% รองลงมา ได้แก่ buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ซึ่งมีประสิทธิภาพ 88.76 84.58 77.21 และ 59.24% ตามลำดับ

ที่ 10 วันหลังการพ่นสาร สารฆ่าแมลง buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยอ่อนฝ้ายดีที่สุด คิดเป็น 76.78% รองลงมา ได้แก่ flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ซึ่งมีประสิทธิภาพ 69.59 53.09 44.70 และ -14.06% ตามลำดับ

ที่ 12 วันหลังการพ่นสาร สารฆ่าแมลง flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยอ่อนฝ้ายดีที่สุด คิดเป็น 93.74% รองลงมา ได้แก่ lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ซึ่งมีประสิทธิภาพ 84.07 80.07 73.72 และ 66.70% ตามลำดับ

ที่ 14 วันหลังการพ่นสาร สารฆ่าแมลง flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยอ่อนฝ้ายดีที่สุด คิดเป็น 76.81% รองลงมา ได้แก่ spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ซึ่งมีประสิทธิภาพ 57.63 42.59 37.38 และ 12.72% ตามลำดับ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนฝ้ายในแปลงปลูกมะระจีนของเกษตรกร พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลงสามารถควบคุมเพลี้ยอ่อนฝ้ายได้ดี มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยกว่ากรรมวิธีไม่พ่นสาร สารฆ่าแมลงที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยอ่อนฝ้าย ได้แก่ lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และ spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ซึ่งควรพ่นอย่างน้อย 2 ครั้ง ทุก 7 วัน ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารกำจัดแมลงไม่พบความเป็นพิษกับมะระจีน

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณกรวัลล์ ประเสริฐบุณย์ เกษตรกรแปลงมะระจีน ตำบลวังขนาย อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี ที่เอื้อเฟื้อแปลงปลูกมะระจีน สำหรับดำเนินงานทดลอง ขอขอบคุณพนักงานราชการและเจ้าหน้าที่กลุ่มบริหารศัตรูพืชที่ให้การช่วยเหลืองานวิจัยทุกท่าน ทำให้งานวิจัยชิ้นนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

สัญญาณี ศรีคชา สุเทพ สหายา สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น และพวงผกา อ่างมณี. 2560. *คู่มือการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช สำหรับการผลิตผักเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรป (ฉบับปรับปรุงแก้ไขเพิ่มเติม)*. กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 53 หน้า.

Askew K. 2018. EU Member States back neonicotinoid ban (Online). https://www.foodnavigator.com /Article/2018/04/27/EU-Member-States-back-neonicotinoid-ban, 6 May 2018.

European Commission - Press Release. 2017. Endocrine disruptors: major step towards protecting citizens and environment (Online). http://europa.eu/rapid/press-release_IP-17-1906_en.htm, 6 May 2018.

Puntener, W. 1992. Manual for Field Trials in Plant Protection. Third edition. Plant Protection Division, Ciba-Geigy Ltd., Switzerland. 269 pp.

Table 1 Number of cotton aphids (*Aphis gossypii* Glover) on Chinese bitter melon (*Momordica charantia*) before and after application of insecticides to evaluate the efficacy of selected insecticides at Chinese bitter melon plantation: Wang Khanai sub-district, Tha Muang district, Kanchanaburi province, between January and February 2023

Treatment	Rate (per 20 liters of water)	Mean number of whitefly/1 plant of holy basil (adult and larva)									
		Before application	After 1st application (days)			After 2rd application (days)					
			3	5	7	3	5	7	10	12	14
1. flonicamid 50% WG (gr. 29)	3 g	2.96	0.70 ab	0.41	0.43 a	0.18 a	0.22	0.14 a	0.21 ab	0.11 a	0.27 a
2. buprofezin 40% SC (gr. 16)	20 ml	2.03	0.35 a	0.47	0.42 a	0.33 a	0.28	0.07 a	0.11 a	0.24 a	0.50 a
3. lambda-cyhalothrin 2.5% CS (gr. 3A)	40 ml	2.01	0.47 a	0.88	0.50 a	0.27 a	0.16	0.06 a	0.22 ab	0.19 a	0.69 ab
4. spirotetramat 15% OD (gr. 23)	10 ml	1.86	0.42 a	0.60	0.51 a	0.25 a	0.30	0.13 a	0.24 ab	0.29 a	0.31 a
5. spinetoram 12% SC (gr. 5)	15 ml	2.48	0.56 ab	0.70	0.41 a	0.25 a	0.78	0.31 a	0.66 ab	0.49 a	0.56 a
6. untreated	-	3.00	0.90 b	1.03	1.19 b	0.75 b	0.79	0.92 b	0.70 b	1.78 b	1.18 b
C.V. (%)	-	42.5	44	75.6	36.2	-	-	-	-	-	-
R.E. (%)	-	-	-	-	-	60.6	61.8	62.8	60.5	60.8	60.6

Means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

R.E. stands for Relative Efficacy

Table 2 Efficacy of selected insecticides against cotton aphids (*Aphis gossypii* Glover) on Chinese bitter melon (*Momordica charantia*) at Wang Khanai sub-district, Tha Muang district, Kanchanaburi province, between January and February 2023

Treatment	Rate (per 20 liters of water)	Control efficacy (%)								
		After 1st application (days)			After 2rd application (days)					
		3	5	7	3	5	7	10	12	14
1. flonicamid 50% WG (gr. 29)	3 g	21.17	59.66	63.38	75.68	71.78	84.58	69.59	93.74	76.81
2. buprofezin 40% SC (gr. 16)	20 ml	42.53	0.77	47.84	34.98	47.62	88.76	76.78	80.07	37.38
3. lambda-cyhalothrin 2.5% CS (gr. 3A)	40 ml	22.06	-27.52	37.29	46.27	69.77	90.27	53.09	84.07	12.72
4. spirotetramat 15% OD (gr. 23)	10 ml	24.73	6.04	30.88	46.24	38.75	77.21	44.70	73.72	57.63
5. spinetoram 12% SC (gr. 5)	15 ml	24.73	17.79	58.32	59.68	-19.44	59.24	-14.06	66.70	42.59

ศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟฝ้าย (*Thrips palmi* Karny) ในมะระจีนเพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้

The efficacy of insecticides for controlling cotton thrips (*Thrips palmi* Karny) on Chinese bitter melon

สัญญาณี ศรีคชา[1/] กรกต ดำรักษ์[1/] วนาพร วงษ์นิคง[1/] หทัยภัทร เจษฎารมย์[1/]

[1/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Progress Report

The efficacy of insecticides for controlling cotton thrips (*Thrips palmi* Karny) on Chinese bitter melon is in the insect pest monitoring stage because of low level of the insect outbreak in the field condition.

Keywords : efficacy of insecticides *Thrips palmi* Chinese bitter melon

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟฝ้าย (*Thrips palmi* Karny) ในมะระจีนเพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้ ขณะนี้อยู่ระหว่างการติดตามการระบาดของในแปลงทดลอง เนื่องจากแมลงยังระบาดในระดับต่ำ

คำหลัก : การศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลง เพลี้ยไฟฝ้าย มะระจีน

รหัสการทดลอง FF65-57-01-65-00-05-65

คำนำ

กลุ่มสหภาพยุโรป (EU) ได้รับการอนุมัติจากประเทศสมาชิกให้มีข้อบังคับห้ามใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชกลุ่ม Neonicotinoids เนื่องจากเป็นสารเคมีที่มีผลกระทบและก่อให้เกิดอันตรายต่อผึ้ง โดยเฉพาะสาร imidacloprid, clothianidin และ thiamethoxam และมีแผนเสนอข้อกำหนดการถอดถอนสารเคมีที่ใช้ป้องกันกำจัดศัตรูพืชกลุ่มที่เป็นสารรบกวนการทำงานของต่อมไร้ท่อ (Endocrine disrupting chemicals (EDC)) เพื่อความปลอดภัยของประชาชนและสิ่งแวดล้อม (European Commission - Press release, 2017) สารรบกวนการทำงานของต่อมไร้ท่อ (EDC) มีผลต่อสุขภาพของมนุษย์และมีความเสี่ยงก่อให้เกิดมะเร็ง เช่น aldrin, allethrin, carbaryl, chlordane, cypermethrin, DDT, dieldrin, endosulfan, heptachlor, malathion และ permethrin เป็นต้น (Mnif *et al*., 2011) ซึ่งสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชในทั้งสองกลุ่มดังกล่าวยังคงเป็นสารที่ใช้แนะนำให้กับเกษตรกรสำหรับการผลิตผักเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรปในปัจจุบัน เพื่อให้เป็นไปตามข้อบังคับของกลุ่มสหภาพยุโรปจึงจำเป็นต้องตัดสารที่อยู่ในทั้งสองกลุ่มดังกล่าวออกจากคำแนะนำ สำหรับมะระจีนแมลงศัตรูที่พบระบาดได้แก่ เพลี้ยไฟ (cotton thrips, *Thrips palmi* Karny) เพลี้ยอ่อนฝ้าย (cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover) และแมลงวันแตง (melon fly, *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett)) เกษตรกรมีการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชเหล่านี้โดยเลือกใช้สารเคมีเป็นหลัก กรณีพบการระบาดเพลี้ยไฟฝ้ายที่ยอดหรือดอกหรือผลอ่อนมากกว่า 5 ตัวต่อยอด/ดอก/ผลอ่อน มีคำแนะนำใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ คือ spinosad 12% SC (กลุ่ม 5) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ imidacloprid (Confidor 100 SL 10% SL) (กลุ่ม 4A) อัตรา 20-40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร หรือ emamectin benzoate 1.92% EC (กลุ่ม 6) อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร โดยเลือกใช้สารเคมีชนิดใดชนิดหนึ่ง ควรพ่นสารเคมีติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน (สัญญาณีและคณะ, 2560) ซึ่งสารฆ่าแมลงอิมิดาโคลพริดเป็นสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชในกลุ่มนีโอนิโคตินอยด์ ดังนั้นจึงต้องทำการศึกษาวิจัยเพื่อหาสารเคมีป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟฝ้ายในมะระจีน ที่มีประสิทธิภาพและเหมาะสมมาทดแทน เพื่อใช้เป็นคำแนะนำสำหรับการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชในแปลงปลูกมะระจีนให้กับเกษตรกร และได้ผลผลิตที่มีคุณภาพปลอดภัยเป็นไปตามข้อกำหนดการผลิตผักเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป (EU) ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แปลงมะระจีนของเกษตรกร
2. สารฆ่าแมลง emamectin benzoate 1.92% EC, spirotetramat 15% OD, cyantraniliprole 10% OD, sulfoxaflor 50% WG และ spiromesifen 24% SC
3. เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลังที่สามารถวัดความดันได้

4. ถังพลาสติก กระบอกตวง บีกเกอร์

5. ไม้ปักแปลง และแผ่นป้ายสำหรับแต่ละกรรมวิธี

6. อุปกรณ์สำหรับบันทึกข้อมูล

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่น emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 6)

กรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23)

กรรมวิธีที่ 3 พ่น cyantraniliprole 10% OD อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 28)

กรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 4C)

กรรมวิธีที่ 5 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23)

กรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร

<u>หมายเหตุ</u>

- สารเคมีที่นำมาใช้ในการทดสอบเป็นสารเคมีที่กลุ่มสหภาพยุโรปอนุญาตให้ใช้ อาจปรับเปลี่ยนสารเคมีหากพบว่าเป็นสารเคมีที่กลุ่มสหภาพยุโรปยกเลิกการใช้

- อัตราการใช้ของสารเคมีที่นำมาทดสอบเป็นอัตราการใช้ที่อ้างอิงมาจากแมลงชนิดเดียวกันแต่มีคำแนะนำในพืชอื่นที่มีลักษณะทางสรีรวิทยาใกล้เคียงกัน และใช้ข้อมูลงานวิจัยจากต่างประเทศที่ทำในพืชเดียวกัน

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

ดำเนินการทดลองในแปลงมะระจีนของเกษตรกร ขนาดแปลงย่อยไม่น้อยกว่า 30 ตารางเมตร ระยะห่างระหว่างแปลงย่อย 1 เมตร จำนวน 24 แปลงย่อย เริ่มทำการพ่นสารทดลองตามกรรมวิธีต่าง ๆ ด้วยเครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง โดยใช้อัตราพ่น 100 ลิตรต่อไร่ เมื่อพบเพลี้ยไฟที่ยอดหรือดอก หรือผลอ่อนมากกว่า 5 ตัว/ยอด หรือดอก หรือผลอ่อน พ่นสารทุก 7 วัน อย่างน้อย 2 ครั้ง สุ่มนับใบที่ถูกเพลี้ยไฟเข้าทำลายโดยดูทั้งต้นจากแถวกลางของแปลงย่อย แปลงย่อยละ 10 ต้น สุ่มนับรอยทำลายของเพลี้ยไฟก่อนพ่นสาร 1 วัน และหลังพ่นสาร 3, 5 และ 7 วัน และหลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย 3, 5, 7, 10, 12 และ 14 วัน หรือตามความเหมาะสม โดยเว้นระยะการพ่นตามการระบาดของแมลง นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ และคำนวณเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพการป้องกันกำจัด โดยใช้สูตรของ Henderson-Tilton (Puntener, 1992)

$$\%Efficacy = [(Ca.Tb - Ta.Cb)/Ca.Tb] \times 100$$

Ta = จำนวนแมลงในแปลงที่พ่นสารหลังพ่นสาร

Tb = จำนวนแมลงในแปลงที่พ่นสารก่อนพ่นสาร

Ca = จำนวนแมลงในแปลงที่ไม่ได้พ่นสารหลังพ่นสาร

Cb = จำนวนแมลงในแปลงที่ไม่ได้พ่นสารก่อนพ่นสาร

การบันทึกข้อมูล

- จำนวนเพลี้ยไฟฝ้าย
- ผลกระทบต่อพืช
- ต้นทุนการใช้สารฆ่าแมลง
- พิษตกค้างของสารฆ่าแมลง (ดำเนินการในปีที่ 2 เมื่อได้สารและอัตราที่จะแนะนำให้แก่เกษตรกร)

เวลาและสถานที่

- ตุลาคม 2564 - กันยายน 2565
- กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
- แปลงปลูกมะระจีนของเกษตรกร จังหวัดสุพรรณบุรี (ตำบลศรีประจันต์ อำเภอศรีประจันต์)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ได้สารเคมีที่จะใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันเพลี้ยไฟฝ้ายในมะระจีน และแปลงมะระจีนสำหรับดำเนินการทดลอง จำนวน 1 แปลง ที่ตำบลวังขนาน อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี ขณะนี้อยู่ระหว่างการติดตามการระบาดของเพลี้ยไฟ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

อยู่ระหว่างการติดตามการระบาดของเพลี้ยไฟ

คำขอบคุณ

-

เอกสารอ้างอิง

สัญญาณี ศรีคชา สุเทพ สหายา สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น และพวงผกา อ่างมณี. 2560. *คู่มือการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชสำหรับการผลิตผักเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรป (ฉบับปรับปรุงแก้ไขเพิ่มเติม)*. กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 53 หน้า

EPPO Secretariat. 2009. *EPPO report on notifications of non-compliance* (Online). Available. https://gd.eppo.int/ reporting/article-160 (May 6, 2018).

Mnif W., A.I. Hadj-Hassine, A. Bouaziz, A. Bartegi, O. Thomas, and B. Roig. 2011. Effect of endocrine disruptor pesticides: a review. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 8: 2265–2303.

เทคโนโลยีการจัดการศัตรูพริกในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป

Integrated Pest Management of Chili under Greenhouse Conditions for Export to the European Union (EU)

สัญญาณี ศรีคชา[1/] กรกต ดำรักษ์[1/] วนาพร วงษ์นิคง[1/] หทัยภัทร เจษฎารมย์[1/]
บุษราคัม อุดมศักดิ์[2/] ประภัสสร เชยคำแหง[3/] อทิติยา แก้วประดิษฐ์[3/]
ประชาธิปัตย์ พงษ์ภิญโญ[4/] อดุลย์รัตน์ แคล้วคลาด[5/]

[1/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[3/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[4/]กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษทางการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
[5/]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครปฐม สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 5

Progress Report

The study of integrated pest management of chili under greenhouse conditions for export to the EU has revealed good practices or formats for the control of chili pests. The practices of IPM in chili under greenhouse conditions included the following: 1) A pest survey checklist at seven days interval (sampling for 100 chili plants) was used to record the events. The Economic Threshold Level (ETL) was also used to help a grower decide when to apply pesticides. Pesticides were applied if the number of pests exceeded ETL. 2) In the greenhouse, yellow and blue sticky traps were used in four rows (two rows for blue sticky traps and two rows for yellow) at an interval of two meters when thrips were found throughout the chili growth stages. The sticky traps were changed every 14 days. The results showed that when using IPC practices, the spraying of insecticides in the field trials was reduced by 32.26%, while that of fungicides was reduced by 74.19%. The chili yield was 497 kilograms/ 306 meter2, and the value of the product was 54,670 Thai Baht. The production costs and net profit from the IPC field were 10,990 and 43,680 Thai Baht, respectively. The benefit–cost ratio (B/C) in the IPC field was 4.97, which was greater than that in the farmer fields (4.03).

Keywords : integrated pest management of chili greenhouse conditions export to the EU

รหัสการทดลอง FF65-57-02-65-00-01-65

รายงานความก้าวหน้า

เทคโนโลยีการจัดการศัตรูพริกในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป ได้รูปแบบการจัดการศัตรูพริกในระบบโรงเรือนที่ประกอบด้วย 1. การสำรวจประชากรของศัตรูพืช โดยทำการสุ่ม 100 ต้น/โรงเรือน ทุก 7 วัน และใช้ระดับเศรษฐกิจ (ET) ในการตัดสินใจ ถ้าพบศัตรูพืชเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) ดำเนินการป้องกันกำจัด 2. ติดตั้งกับดักกาวเหนียวสีฟ้าและสีเหลืองในโรงเรือนทุกระยะ 2 เมตร จำนวน 4 แถว (สีฟ้า 2 แถว และสีเหลือง 2 แถว) ตั้งแต่เริ่มพบเพลี้ยไฟระบาดในโรงเรือนตลอดการปลูกพริก โดยเปลี่ยนกับดักทุก 14 วัน พบว่า วิธี IPC สามารถลดจำนวนการใช้สารกำจัดแมลงได้ 32.26% และสารป้องกันกำจัดโรคพืชได้ 74.19% เก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 497 กิโลกรัม/พื้นที่ 306 ตารางเมตร คิดเป็นมูลค่า 54,670 บาท ต้นทุนการผลิต 10,990 บาท มีกำไรสุทธิ 43,680 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 4.97 มากกว่าแปลงเกษตรกรที่ได้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 4.03

คำหลัก : การจัดการศัตรูพริก ระบบโรงเรือน ส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป

คำนำ

การจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน (Integrated Pest Management-IPM) กองกีฏและสัตววิทยา (2544) รายงานว่าการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสานเป็นวิทยาการแขนงหนึ่งสำหรับใช้ควบคุมศัตรูพืช มีผู้นำไปใช้สลับกับคำว่า IPC (Integrated Pest Control) หรือการป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน จึงเกิดความเข้าใจว่าใช้แทนกันได้ ซึ่งโดยความหมายที่แท้จริงแล้ว IPM และ IPC มีความคล้ายคลึงกันในทางทฤษฎี และแนวทางการปฏิบัติ แต่ IPC เป็นวิธีการนำเอาวิธีการควบคุมศัตรูพืชวิธีการต่าง ๆ มาใช้ควบคุมศัตรูพืชเป้าหมายในพื้นที่ที่มีการระบาดในท้องที่เดียวกัน เช่น การใช้พันธุ์ต้านทานร่วมกับการใช้สารเคมี หรือร่วมกับการใช้ศัตรูธรรมชาติมาควบคุมศัตรูพืชซึ่งวิธีการต่าง ๆ เหล่านั้นจะต้องไม่ทำให้เกิดความเสียหายต่อสิ่งมีชีวิตอื่นนอกเป้าหมายและสภาพแวดล้อม ส่วน IPM เป็นแนวทางในการดำเนินงานที่จะเลือกใช้วิธีการควบคุมใด ๆ ก็ตามมาใช้กำจัดหรือปราบหรือควบคุมศัตรูพืชโดยใช้หลักทางด้านนิเวศวิทยาและเศรษฐศาสตร์ และเกี่ยวข้องกับการตัดสินใจ โดยมีการตรวจสอบประชากรแมลงและคำนึงถึงสภาพแวดล้อม ซึ่งผลการตัดสินใจนั้นอาจจะไม่ต้องมีการควบคุมหรืออาจเลือกใช้วิธีการควบคุมวิธีใดวิธีหนึ่ง หรือหลายวิธีการผสมผสานกันเพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดทั้งทางด้านเศรษฐกิจ สังคม และสิ่งแวดล้อม

<u>ศัตรูพริกที่สำคัญ</u>

1. แมลงวันทองพริก (Solanum fruit fly) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Bactrocera latifrons* (Hendel) จัดอยู่ในวงศ์ Tephritidae อันดับ Diptera พบว่ามีอัตราการแพร่ระบาดสูงในพืชตระกูลพริกและพืชตระกูลมะเขือ จึงเป็นแมลงศัตรูพืชกักกันที่สำคัญที่มีการเฝ้าระวังและตรวจสอบอย่างเข้มงวด (Follett *et al.*, 2021) มีขอบเขตแพร่กระจายในประเทศต่าง ๆ ในเขตโอเชียเนีย ได้แก่

รัฐฮาวาย สหรัฐอเมริกา ทวีปแอฟริกา ได้แก่ แทนซาเนีย เคนย่า และบุรุนดี และในทวีปเอเชีย ได้แก่ ปากีสถาน อินเดีย ศรีลังกา บังกลาเทศ พม่า จีนตอนใต้ ญี่ปุ่นแถบโอกินาว่า ไต้หวัน ลาว เวียดนาม มาเลเซียฝั่งเพนนินซูลา สิงคโปร์ บูรไน และไทย (Plant Health Australia, 2018) ซึ่งเป็นหนึ่งในกลุ่มของแมลงวันผลไม้ที่พบแพร่กระจายทั่วประเทศไทย ตัวเต็มวัยวางไข่ในผลพริก ระยะพริกเปลี่ยนสีหรือผลใกล้สุก ตัวหนอนชอนไชอยู่ภายในผล เมื่อหนอนโตเต็มที่จะเจาะรูออกมาเพื่อเข้าดักแด้ในดิน ตัวเต็มวัยเป็นแมลงวันมีปีกบางใสสะท้อนแสง 1 คู่ และมีแถบสีเหลืองที่ส่วนอก ตัวเต็มวัยเพศเมียใช้อวัยวะวางไข่ (ovipositor) แทงที่ผิวของเนื้อเยื่อพืชแล้ววางไข่ ไข่มีลักษณะยาวรี สีขาวขุ่น ผิวเป็นมันสะท้อนแสง เมื่อใกล้ฟักจะมีสีคล้ายน้ำนม ระยะไข่ 2-3 วัน หนอนมี 3 วัย หนอนมีลักษณะหัวแหลมท้ายป้าน ไม่มีขา สีขาวหรือสีใกล้เคียงกับสีของพืชอาหาร ตัวหนอนเคลื่อนที่ด้วยการยืดหดลำตัว ส่วนปากมีลักษณะเป็นตะขอแข็งสีดำหนึ่งคู่ เรียกว่า “mouth hook” เป็นอวัยวะที่หนอนใช้ชอนไชกินเนื้อเยื่อพืช หนอนวัยที่ 3 มีความสามารถพิเศษในการงอตัวและดีดตัวได้ไกล การดีดตัวเพื่อหาทำเลที่เหมาะสมในการเข้าดักแด้ในดิน ระยะหนอน 8-10 วัน ดักแด้มีลักษณะกลมรีคล้ายถังเบียร์ ดักแด้ระยะแรกมีสีขาว และจะค่อยเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล สีจะค่อย ๆ เข้มขึ้นเมื่อใกล้ฟัก ระยะนี้ไม่มีการเคลื่อนไหว ระยะดักแด้ 11-14 วัน ระยะตัวเต็มวัย 77-183 วัน วงจรชีวิตของแมลงวันทองพริก 23-25 วัน พืชอาหารอยู่ในวงศ์ Solanaceae (พริกและมะเขือ) ได้แก่ พริกชี้ฟ้า พริกขี้หนู มะแว้งต้น มะแว้งเครือ มะเขือเปราะ มะเขือพวง มะเขือยาว (สัญญาณีและคณะ, 2560)

2. เพลี้ยไฟพริก (chilli thrips) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Scirtothrips dorsalis* Hood จัดอยู่ในวงศ์ Thripidae อันดับ Thysanoptera เพลี้ยไฟพริกเป็นศัตรูสำคัญของผักและไม้ผลหลายชนิด จากการศึกษาแมลงศัตรูพืชในพริกชี้ฟ้า *Capsicum annum* L. พบเพลี้ยไฟพริกเป็นแมลงศัตรูพืชเข้าทำลายพริกจำนวนมากที่สุด ในการป้องกันกำจัดแบบผสมผสานต้องติดตามการระบาดเพื่อทำการป้องกันกำจัด (Sarwar, 2012) เพลี้ยไฟพริกทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยเข้าทำลายพริกโดยดูดกินน้ำเลี้ยงจากยอด ใบอ่อน ตาดอก และดอก ทำให้ใบหรือยอดอ่อนหงิก ขอบใบหงิกม้วนงอขึ้นด้านบน ถ้าเกิดกับดอกทำให้ดอกร่วง ถ้าระบาดในช่วงพริกติดผล ผลบิดงอเสียรูปทรง พบระบาดมากในช่วงหน้าแล้ง เพลี้ยไฟพริกมีขนาดเล็ก ลำตัวยาว 1.0 มิลลิเมตร สีน้ำตาลอ่อน ทำลายพืชเมื่ออยู่ในระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัย ตัวเต็มวัยมีปีก 2 คู่ ประกอบด้วยขนเส้นเล็ก ตัวอ่อนแตกต่างจากตัวเต็มวัย คือไม่มีปีกและมีขนาดเล็กกว่า ตัวเต็มวัยเคลื่อนไหวได้เร็วกว่า ตัวเต็มวัยเพศเมียวางไข่ตามเส้นใบในเนื้อเยื่อ ระยะไข่ 3-4 วัน ตัวอ่อนเมื่อฟักจากไข่จะอาศัยดูดกินน้ำเลี้ยงเช่นเดียวกับตัวเต็มวัย มักพบที่ใบ ดอก ผล หรือส่วนที่อ่อน ๆ ของต้นพริก ระยะตัวอ่อน 5-6 วัน ดักแด้อยู่ตามพื้นดินบริเวณโคนต้น ระยะก่อนเข้าดักแด้ 2-3 วัน ระยะดักแด้ 3-5 วัน ระยะตัวเต็มวัย 14-24 วัน วงจรชีวิตของเพลี้ยไฟพริก 13-18 วัน พืชอาหารได้แก่ พริก ถั่วลิสง เงาะ มะม่วง ส้ม ทุเรียน มะละกอ มะขาม ส้มโอ มังคุด และมะม่วงหิมพานต์ (สัญญาณีและคณะ, 2560)

3. แมลงหวี่ขาวยาสูบ (tobacco whitefly) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Bemisia tabaci* (Gennadius) จัดอยู่ในวงศ์ Aleyrodidae อันดับ Hemiptera แมลงชนิดนี้เป็นศัตรูที่สำคัญของพืชผัก

และพืชเส้นใย ระบาดมากในฤดูแล้ง ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณใบ และเป็นพาหะนำโรคที่เกิดจากไวรัสสาเหตุโรคใบหงิกเหลืองพริก (พัชราภรณ์, 2560) ทำให้ใบพริกหงิกงอ ชีดด่าง หรือใบหงิกเหลือง ยอดไม่เจริญ และต้นพริกแคระแกร็นไม่สมบูรณ์ ผลพริกที่ได้ไม่มีคุณภาพ ตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบจะวางไข่ติดกับเนื้อเยื่อของพืช โดยวางเป็นกลุ่มใต้ใบพืช ไข่รูปร่างยาวรี สีเหลืองอ่อน ขนาด 0.1-0.3 มิลลิเมตร ตัวเต็มวัยเพศเมียวางไข่ได้สูงสุดมากกว่าร้อยฟอง ตัวอ่อนมีลักษณะแบนราบติดกับผิวใบพืช ตัวอ่อนมี 3 ระยะ ตัวอ่อนมีอายุ 11-18 วัน ดักแด้ขนาด 0.6-0.8 มิลลิเมตร ระยะดักแด้ 5-7 วัน ตัวเต็มวัยจะออกจากดักแด้ตรงรอยแตกที่ส่วนอก ตัวเต็มวัยมีอายุ 2-11 วัน พืชอาหารได้แก่ ฝ้าย ยาสูบ พริก มันเทศ มะเขือเทศ กระเจี๊ยบเขียว มะเขือเปราะ กะเพรา โหระพา แมงลัก ผักชี ปอแก้ว ถั่วเหลือง และถั่วต่าง ๆ (สัญญาณีและคณะ, 2560)

4. โรคแอนแทรคโนส หรือโรคกุ้งแห้ง (Anthracnose Disease) เกิดจากเชื้อราสาเหตุ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz. & Sacc.) หรือ *Colletotrichum capsici* (Syd. & P.Syd) Butler & Bisley โรคแอนแทรคโนส ส่งผลให้คุณภาพผลผลิตลดลงอย่างมาก De Silva *et al*. (2019) ได้สำรวจเชื้อ *Colletotrichum* ที่เกี่ยวข้องกับรอยโรคของใบพริกและผลที่เน่าเปื่อยจากแหล่งผลิตพริกของอินโดนีเซีย มาเลเซีย ศรีลังกา ไทย และไต้หวัน พบว่าสามารถจำแนกได้ถึง 260 ไอโซเลท โรคแอนแทรคโนสเกิดได้ทุกระยะการเจริญเติบโตของพืช โดยเฉพาะผลพริกใกล้สุก อาการเริ่มแรกเป็นแผลวงกลมช้ำสีน้ำตาล แผลลึกลงไปในเนื้อเยื่อพืช ต่อมาจุดช้ำสีน้ำตาลนี้จะลุกลามกว้างออกไป แผลวงกลมหรือแผลรูปไข่ ขนาดของแผลไม่แน่นอน ถ้าอากาศมีความชื้นสูงจะเห็นเป็นเมือกเยิ้มสีส้มอ่อน หรือสีดำ ซ้อนกันเป็นวง ผลพริกเน่าและร่วงก่อนการเก็บเกี่ยว ถ้าเกิดโรคที่ก้านใบและก้านผลจะทำให้ใบและผลร่วง สปอร์ของเชื้อราสามารถแพร่กระจายไปกับลม น้ำฝน หรือไปกับน้ำที่ใช้ในการเพาะปลูก สามารถอยู่ข้ามฤดูได้โดยติดอยู่กับเศษซากพืชหรือพืชอาศัยอื่น ๆ โรคจะระบาดรุนแรงในสภาพที่มีความชื้นสูง หรือฝนตก

<u>การป้องกันกำจัด</u>

1. คัดเลือกเมล็ดพันธุ์ที่สมบูรณ์จากผลผลิตที่ไม่เป็นโรคมาปลูก

2. ก่อนปลูกควรทำลายเชื้อที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ด้วยการแช่เมล็ดพันธุ์ในน้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 50-52 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เพื่อกำจัดเชื้อราที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์

3. ไม่ปลูกพริกแน่นเกินไป ทำให้มีความชื้นในแปลงสูง และโรคจะระบาดได้ง่ายและรวดเร็ว

4. หมั่นตรวจแปลงอย่างสม่ำเสมอ หากพบโรคทำลายต้นพืชที่เป็นโรค โดยการถอนไปเผาทิ้ง เพื่อลดปริมาณเชื้อสาเหตุในฤดูปลูกถัดไป (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, 2557)

5. โรคเน่าเปียก (Wet Rot Disease) เกิดจากเชื้อราสาเหตุ *Choanephora cucurbitarum* (Berlk. & Ravenel) Thaxt. เชื้อราเข้าทำลายส่วนที่เป็นยอดอ่อน ใบอ่อน ตาดอกและดอก ลักษณะฉ่ำน้ำ ยอดอ่อนแห้งดำและลุกลามไปตามกิ่ง ทำให้กิ่งแห้ง ราเข้าทำลายผลทำให้ผลเน่าพบโรคระบาดรุนแรงในช่วงสภาพอากาศชื้น หรือหลังฝนตก ในช่วงเข้าตรู่มักพบเชื้อราสร้างสปอร์บริเวณแผลเน่าดำ

ลักษณะเป็นขนสีเทา ปลายมีลักษณะเป็นตุ่มสีดำ ลักษณะคล้ายหนวดแมว สปอร์ของเชื้อราสามารถแพร่กระจายไปกับลม น้ำฝน หรือไปกับน้ำที่ใช้ในการเพาะปลูก สามารถอยู่ข้ามฤดูได้โดยติดอยู่กับเศษซากพืชหรือพืชอาศัยอื่น ๆ โรคจะระบาดรุนแรงเมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม เช่น ฝนตก อากาศเย็น ใบพืชเปียกเป็นเวลานานติดต่อกัน หรือมีอากาศแห้งในเวลากลางวันและอากาศเย็นมีน้ำค้างลงจัดในเวลากลางคืน

การป้องกันกำจัด

1. หมั่นตรวจแปลงอย่างสม่ำเสมอ หากพบโรคทำลายต้นพืชที่เป็นโรค โดยการถอนไปเผาทิ้ง เพื่อลดปริมาณเชื้อสาเหตุ

2. กำจัดวัชพืชที่เป็นพืชอาศัยของโรค เช่น หญ้ายาง

3. ไม่ปลูกพริกแน่นเกินไป ทำให้มีความชื้นในแปลงสูง และโรคจะระบาดได้ง่ายและรวดเร็ว (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, 2557).

ดังนั้นเพื่อพัฒนาระบบการผลิตพริกสำหรับส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป (EU) ที่เหมาะสมในสภาพพื้นที่ ให้เป็นไปตามมาตรฐานที่กลุ่มสหภาพยุโรป (EU) ยอมรับ และลดปริมาณเพลี้ยไฟฝ้าย แมลงหวี่ขาวยาสูบ และหนอนแมลงวันผลไม้ ให้มีปริมาณน้อยที่สุด ผลผลิตไม่มีปัญหาสารพิษตกค้าง และปลอดภัยตั้งแต่ในระดับแปลงปลูกก่อนนำเข้าโรงคัดบรรจุ จึงได้นำเอาวิธีการป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบต่าง ๆ มาใช้ร่วมกัน เพื่อหาเทคโนโลยีในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสานในการผลิตพริกสำหรับส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป (EU

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สารกำจัดแมลง ได้แก่ spinetoram 12% SC, cyantraniliprole 10% OD, spiromesifen 24% SC, emamectin benzoate 1.92% EC, buprofezin 40% SC, sulfur 80% WP, ปิโตรเลียมสเปรย์ออยล์ (petroleum spray oil) 83.9% EC สารกำจัดโรคพืช ได้แก่ azoxystrobin 25% SC, difenoconazole 25% EC, pyraclostrobin 25% EC และ copper hydroxide 77% WP ชีวภัณฑ์ป้องกันกำจัดศัตรูพืช ได้แก่ แบคทีเรีย Bacillus thuringiensis var. kurstaki และ Bacillus subtilis 20W16 หรือ 20W33

2. ฟิวเจอร์บอร์ด กาวเหนียว ถุงพลาสติก

3. เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง

4. ไม้ปักแปลง ป้ายแสดง ลวด อุปกรณ์สำหรับบันทึกข้อมูล

5. แปลงพริกของเกษตรกร

6. โรงเรือนตาข่ายกันแมลงขนาด 32 mesh ขนาดกว้าง 9 เมตร ยาว 34 เมตร สูง 5.20 เมตร

วิธีการ

- แบบและวิธีการทดลอง

มี 2 วิธี คือ วิธีป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน (IPM) ในระบบโรงเรือน และวิธีของเกษตรกร

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

คัดเลือกเกษตรกร 2 ราย โดยเกษตรกรต้องเป็นเครือข่ายของบริษัทส่งออก แต่ละรายดำเนินการ 2 วิธีดังนี้

วิธีที่ 1 วิธีป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน (IPM) ในระบบโรงเรือน ดำเนินการดังนี้

1. ดำเนินการผลิตพริกในโรงเรือนตาข่ายกันแมลงขนาด 32 mesh ขนาด กว้าง 9 เมตร ยาว 34 เมตร สูง 5.20 เมตร (Figure 1)

2. ติดตั้งกับดักกาวเหนียวสีฟ้าและสีเหลืองในโรงเรือนทุกระยะ 2 เมตร จำนวน 4 แถว (สีฟ้า 2 แถว และสีเหลือง 2 แถว) ตั้งแต่เริ่มพบเพลี้ยไฟระบาดในโรงเรือนตลอดการปลูกพริก โดยเปลี่ยนกับดักทุก 14 วัน (Figure 2)

3. ทำการสำรวจประชากรของศัตรูพืชในโรงเรือน โดยมีขนาดการสุ่ม 100 ต้น/โรงเรือน ทุก 7 วัน (Table 1) ถ้าพบศัตรูพืชเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) ที่กำหนด ให้ดำเนินการป้องกันกำจัด ดังนี้

เพลี้ยไฟ ระดับเศรษฐกิจ (ET) ≥ 50 ต้น/100 ต้น ถ้าเกินระดับ ET พ่นสารกำจัดแมลง spinetoram 12% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ cyantraniliprole 10% OD อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ spiromesifen 24% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน

เพลี้ยอ่อน ระดับเศรษฐกิจ (ET) ≥ 10 ต้น/100 ต้น ถ้าเกินระดับ ET พ่นสารกำจัดแมลง emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ spinetoram 12% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ spiromesifen 24% SC อัตรา 8 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน

เพลี้ยแป้ง ระดับเศรษฐกิจ (ET) ≥ 10 ต้น/100 ต้น ถ้าเกินระดับ ET พ่นสารกำจัดแมลง ปิโตรเลียมสเปรย์ออยล์ (petroleum spray oil) 83.9% EC อัตรา 60 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน

แมลงหวี่ขาวยาสูบ ระดับเศรษฐกิจ (ET) ≥ 10 ต้น/100 ต้น ถ้าเกินระดับ ET พ่นสาร spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ buprofezin 40% SC อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน

ไรขาวพริก ระดับเศรษฐกิจ (ET) ≥ 10 ต้น/100 ต้น ถ้าเกินระดับ ET พ่นสารกำจัดแมลง sulfur 80% WP อัตรา 80 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ spiromesifen 24% SC อัตรา 8 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 5 วัน

กลุ่มหนอนผีเสื้อ ระดับเศรษฐกิจ (ET) ≥ 5 ต้น/100 ต้น ถ้าเกินระดับ ET พ่นชีวภัณฑ์ *Bacillus thuringiensis var. kurstaki* (10600 IU/mg SC) อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือสารกำจัดแมลง emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร เลือกใช้สารหรือชีวภัณฑ์ชนิดใดชนิดหนึ่ง พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน กรณีที่พบไม่ถึงระดับเศรษฐกิจ (ET) เก็บตัวหนอนออกจากโรงเรือน หรือพ่นชีวภัณฑ์ *Bacillus thuringiensis var. kurstaki* (10600 IU/mg SC) อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

โรคแอนแทรคโนส ให้พ่นชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* 20W16 หรือ 20W33 อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ทุก 30 วัน หลังย้ายปลูก หรือถ้าพบโรค ≥ 10 ต้น/100 ต้น พ่นสารกำจัดโรคพืช azoxystrobin 25% SC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร เลือกใช้สารหรือชีวภัณฑ์ชนิดใดชนิดหนึ่ง พ่นทุก ๆ 7-10 วัน

โรคเน่าเปียก/โรคยอดและดอกไหม้ ถ้าเริ่มพบโรค ให้พ่นสารกำจัดโรคพืช difenoconazole 25% EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ pyraclostrobin 25% EC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ copper hydroxide 77% WP อัตรา 30 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นสารทุก ๆ 7-10 วัน

โรคที่มีสาเหตุจากไวรัส ถ้าเริ่มพบโรค ให้กำจัดออกจากโรงเรือนโดยการถอนทิ้งออกไปทั้งต้น

หมายเหตุ การเลือกใช้สารเคมีหรือชีวภัณฑ์ต้องพิจารณาตามอายุพืชด้วย ถ้าพืชอยู่ในระยะเจริญเติบโตจะเลือกใช้สารเคมี และถ้าพืชอยู่ในระยะใกล้เก็บเกี่ยวถึงเก็บเกี่ยวจะเลือกใช้ชีวภัณฑ์เป็นหลัก

วิธีที่ 2 วิธีของเกษตรกร ในระบบโรงเรือน

1. ดำเนินการผลิตพริกในโรงเรือนตาข่ายกันแมลงขนาด 32 mesh ขนาดกว้าง 9 เมตร ยาว 34 เมตร สูง 5.20 เมตร (Figure 1)

2. ใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชตามรายการที่บริษัทส่งออกได้กำหนดไว้

- การบันทึกข้อมูล
- จำนวนและชนิดของแมลงศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ
- บันทึกจำนวนต้นที่เป็นโรคไวรัส
- บันทึกการเป็นโรค
- ชนิดและจำนวนครั้งที่ใช้สารในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช
- ชนิดและจำนวนครั้งที่ใช้สารชีวภัณฑ์ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช
- บันทึกปริมาณผลผลิตและราคา
- ต้นทุนการใช้สารในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช/สารชีวภัณฑ์ ข้อมูลค่าใช้จ่ายที่เป็นต้นทุนการผลิตทั้งหมด

- วิเคราะห์ผลตอบแทนเชิงเศรษฐศาสตร์ มูลค่าผลผลิต (บาท/ไร่) ต้นทุนในการผลิต (บาท/ไร่) สัดส่วนผลตอบแทนต่อการลงทุน (R/C) ระหว่างแปลง IPC และ แปลงเกษตรกร

- บันทึกผลการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง ตามวิธีการของ codex

- วิเคราะห์ผลความแตกต่างทางสถิติในการควบคุมศัตรูพริก

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2564 - กันยายน 2565

แปลงพริกเกษตรกรที่มีระบบโรงเรือนในอำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ดำเนินการทดสอบเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพริกในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป การดำเนินครั้งที่ 1 อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม ระหว่างเดือนธันวาคม 2564 - กันยายน 2565 โดยเปรียบเทียบระหว่างวิธีเกษตรกรและวิธี IPM ผลการดำเนินการพบว่า

วิธี IPM จากการสำรวจประชากรศัตรูพืชในโรงเรือน จำนวน 31 ครั้ง พบเพลี้ยไฟเกินระดับเศรษฐกิจ 20 ครั้ง แมลงหวี่ขาวยาสูบเกินระดับเศรษฐกิจ 9 ครั้ง ไรขาวพริกเกินระดับเศรษฐกิจ 5 ครั้ง เพลี้ยอ่อนเกินระดับเศรษฐกิจ 1 ครั้ง เพลี้ยแป้งเกินระดับเศรษฐกิจ 5 ครั้ง และโรคแอนแทรคโนสเกินระดับเศรษฐกิจ 2 ครั้ง (Table 1) ดำเนินการพ่นสารป้องกันกำจัดแมลงรวม 21 ครั้ง โดยพ่นสาร spiromesifen 24% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 6 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ แมลงหวี่ขาวยาสูบ และไรขาวพริก พ่นสาร spinetoram 12% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 6 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ พ่นสาร emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 3 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ และเพลี้ยอ่อน พ่นสาร cyantraniliprole 10% OD อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 3 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ และพ่นสาร petroleum spray oil 83.9% EC อัตรา 60 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 3 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้ง และพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช 8 ครั้ง โดยพ่นสารชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* 20W33 หลังย้ายกล้าปลูก 30 วัน และพริกอายุ 60, 90, 120, 150, 180, 210 และ 240 วันหลังย้ายปลูก อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร เพื่อป้องกันโรคแอนแทรคโนส (Table 2)

วิธีเกษตรกร พบเพลี้ยไฟเกินระดับเศรษฐกิจ 18 ครั้ง แมลงหวี่ขาวยาสูบเกินระดับเศรษฐกิจ 12 ครั้ง ไรขาวพริกเกินระดับเศรษฐกิจ 2 ครั้ง เพลี้ยอ่อนเกินระดับเศรษฐกิจ 12 ครั้ง เพลี้ยแป้งเกินระดับเศรษฐกิจ 14 ครั้ง และโรคแอนแทรคโนสเกินระดับเศรษฐกิจ 5 ครั้ง (Table 1) พ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชสัปดาห์ละครั้ง พ่นสารป้องกันกำจัดแมลง 31 ครั้ง โดยพ่นสาร abamectin 1.8% EC อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 6 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ และแมลงหวี่ขาวยาสูบ พ่นสาร spinetoram 12% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 6 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ พ่นสาร spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 6 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ พ่นสาร

cyantraniliprole 10% OD อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 6 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ พ่นสาร sulfur 80% WP อัตรา 80 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 3 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดไรขาวพริก และพ่นสาร petroleum spray oil 83.9% EC อัตรา 60 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 4 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้ง และพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช 31 ครั้ง โดยพ่นสาร copper hydroxide 77% WP อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 18 ครั้ง เพื่อป้องกันโรคพืช พ่นสาร azoxystrobin 25% SC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 4 ครั้ง เพื่อป้องกันโรคแอนแทรคโนส และพ่นสารชีวภัณฑ์ Bacillus subtilis 20W33 อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร เพื่อป้องกันโรคแอนแทรคโนส (Table 2)

การปนเปื้อนของสารเคมีในผลพริก ผลผลิตพริกวิธี IPC และวิธีเกษตรกร ไม่พบการปนเปื้อนของสารเคมี (Table 3)

ผลตอบแทนเชิงเศรษฐศาสตร์ในการปลูกพริกระบบโรงเรือน วิธี IPM ตลอดการทดลองเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 497 กิโลกรัม/พื้นที่ 306 ตารางเมตร จำหน่ายให้บริษัทส่งออกในราคาประกันกิโลกรัมละ 110 บาท คิดเป็นมูลค่าผลผลิต 54,670 บาท ต้นทุนการผลิต 10,990 บาท เป็นค่าสารเคมีป้องกันกำจัดในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช ปุ๋ย ต้นพันธุ์ เตรียมแปลง และค่าแรงงาน เมื่อหักต้นทุนการผลิตแล้ว พบว่า วิธี IPM มีกำไรสุทธิ 43,680 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 4.97 มากกว่าวิธีเกษตรกร ส่วนวิธีเกษตรกร ตลอดการทดลองเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 523 กิโลกรัม/พื้นที่ 306 ตารางเมตร จำหน่ายให้บริษัทส่งออกในราคาประกันกิโลกรัมละ 110 บาท คิดเป็นมูลค่าผลผลิต 57,530 บาท ต้นทุนการผลิต 14,275 บาท วิธีเกษตรกรมีกำไรสุทธิ 43,255 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 4.03 น้อยกว่าวิธี IPM (Table 3)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เทคโนโลยีการจัดการศัตรูพริกในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป ได้รูปแบบการจัดการศัตรูพริกในระบบโรงเรือนที่ประกอบด้วย 1. การสำรวจประชากรของศัตรูพืช โดยทำการสุ่ม 100 ต้น/โรงเรือน ทุก 7 วัน และใช้ระดับเศรษฐกิจ (ET) ในการตัดสินใจ ถ้าพบศัตรูพืชเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) ดำเนินการป้องกันกำจัด 2. ติดตั้งกับดักกาวเหนียวสีฟ้าและสีเหลืองในโรงเรือนทุกระยะ 2 เมตร จำนวน 4 แถว (สีฟ้า 2 แถว และสีเหลือง 2 แถว) ตั้งแต่เริ่มพบเพลี้ยไฟระบาดในโรงเรือนตลอดการปลูกพริก โดยเปลี่ยนกับดักทุก 14 วัน พบว่า วิธี IPC สามารถลดจำนวนการใช้สารกำจัดแมลงได้ 32.26% และสารป้องกันกำจัดโรคพืชได้ 74.19% เก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 497 กิโลกรัม/พื้นที่ 306 ตารางเมตร คิดเป็นมูลค่า 54,670 บาท ต้นทุนการผลิต 10,990 บาท มีกำไรสุทธิ 43,680 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 4.97 มากกว่าแปลงเกษตรกรที่ได้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 4.03

คำขอบคุณ

-

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนเงินอุดหนุนเพื่อการวิจัยจากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ผ่านทางแผนปฏิบัติงานโครงการวิจัยกรมวิชาการเกษตร คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณที่ได้ให้การสนับสนุนการดำเนินงานโครงการวิจัย

ขอขอบพระคุณคณะผู้เชี่ยวชาญ และคณะกรรมการ ทั้งจากสำนักวิจัยวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และกรมวิชาการเกษตร ที่ให้คำเสนอแนะ และข้อแก้ไขต่าง ๆ ในการจัดทำโครงการวิจัยนี้

ขอขอบคุณเกษตรกรเจ้าของแปลงที่เอื้อเฟื้อแปลงปลูกสำหรับดำเนินงานทดลอง ขอขอบคุณพนักงานราชการและเจ้าหน้าที่กลุ่มบริหารศัตรูพืช กลุ่มกีฏและสัตววิทยา ที่ให้การช่วยเหลืองานวิจัยทุกท่าน ทำให้การทดลองในโครงการวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กองกีฏและสัตววิทยา. 2544. *เทคโนโลยีทางเลือกสำหรับ ไอ พี เอ็ม*. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 309 หน้า.

พัชราภรณ์ สุวอ. 2560. โรคไวรัสใบหงิกเหลืองในพริก และแนวทางในการจัดการโรค. *วารสารเกษตรพระจอมเกล้า* 35(2): 147-152.

สัญญาณี ศรีคชา สุเทพ สหายา สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น และพวงผกา อ่างมณี. 2560. *คู่มือการป้องกันกำจัด แมลงศัตรูพืชสำหรับการผลิตผักเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรป (ฉบับปรับปรุงแก้ไขเพิ่มเติม)*. กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 53 หน้า

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. 2557. *คู่มือศัตรูพริก*. กลุ่มบริหารศัตรูพืช กลุ่มกีฏและสัตววิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 87 หน้า.

De Silva, D.D.; J.Z. Groenewald; P.W. Crous, P.K. Ades; A. Nasruddin; O. Mongkolporn and P.W.J. Taylor. 2019. Identification, prevalence and pathogenicity of Colletotrichum species causing anthracnose of *Capsicum annuum* in Asia. *IMA Fungus* 10(1): 1-32.

Follett, P.; F. Haynes and B.C. Dominiak. 2021. Host Suitability Index for Polyphagous Tephritid Fruit Flies. *Journal of Economic Entomology*. 114(3): 1021–1034.

Plant Health Australia. 2018. The Australian Handbook for the Identification of Fruit Flies. Version 3.1. Plant Health Australia. Canberra, ACT. 162 p.

Sarwar, M. 2012. Frequency of Insect and mite Fauna in Chilies *Capsicum annum* L., Onion *Allium cepa* L. and Garlic, *Allium sativum* L. Cultivated Areas, and their Integrated Management. *International Journal of Agronomy and Plant Production* 3: 173-178.

Table 1 Number of plants in IPC fields and farmer fields found thrips, whitefly, broad mite, aphid, mealy bug and anthracnose disease at Sampran district Nakhon Pathom province during December 2021 – July 2022

Checking date	Number of plants in 100 plants											
	thrips (plants)		whitefly (plants)		Broad mite (plants)		aphid (plants)		mealy bug (plants)		anthracnose (plants)	
	IPM	Farmer	IPM	Farmer	IPM	Farmer	IPM	Farmer	IPM	Farmer	IPM	Farmer
9/12/2564	32	13	7	2	0	0	0	0	0	0	0	0
23/12/2564	14	57	1	5	0	4	0	0	0	0	0	0
29/12/2564	52	53	0	0	4	1	0	0	0	0	0	1
6/1/2565	94	35	4	2	9	0	4	0	0	0	0	0
13/1/2565	71	34	14	5	21	1	0	0	0	0	0	10
20/1/2565	94	11	7	8	16	1	31	0	0	0	0	0
27/1/2565	62	72	8	9	12	4	0	0	0	3	0	10
3/2/2565	42	95	10	20	18	21	0	1	1	12	9	15
10/2/2565	84	100	8	13	4	2	0	0	0	6	3	0
17/2/2565	93	100	0	19	17	30	0	11	0	20	25	67
24/2/2565	77	100	1	6	5	3	0	20	0	4	22	35
3/3/2565	97	99	3	1	1	1	0	56	0	10	0	0
10/3/2565	28	100	0	4	0	0	0	88	0	12	0	0
17/3/2565	14	99	0	10	0	0	0	89	0	46	0	0
24/3/2565	100	100	7	8	0	0	0	77	0	61	0	0
31/3/2565	100	99	1	5	0	0	0	52	0	21	0	0
8/4/2565	100	100	0	2	0	0	0	27	0	56	0	0
21/4/2565	100	100	0	5	0	0	0	5	0	73	0	0
28/4/2565	100	100	0	0	0	0	0	0	0	49	0	0
5/5/2565	100	95	1	11	0	0	0	0	0	93	0	0
11/5/2565	34	87	0	5	0	0	0	2	0	53	0	0
19/5/2565	12	59	0	5	0	0	0	0	0	3	0	0
26/5/2565	44	19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2/6/2565	13	9	4	14	0	0	0	0	1	3	0	0
9/6/2565	65	9	16	12	0	0	0	6	0	3	0	0
16/6/2565	74	16	14	9	0	0	0	2	6	7	0	0
23/6/2565	40	12	25	27	0	0	0	0	12	0	0	0
30/6/2565	50	13	53	54	0	0	0	42	10	6	1	0
7/7/2565	61	15	85	91	0	0	0	91	19	38	0	0
12/7/2565	51	20	85	97	0	0	0	91	27	11	0	0
21/7/2565	9	29	77	97	0	0	0	80	21	3	0	0

[1/]Bold numbers mean the exceed of economic threshold level (ETL)

Table 2 Comparison of pesticides application, number of application and costs between IPC field and farmer field at Sampran district Nakhon Pathom province during December 2021 – July 2022

Pesticides application	No. of application	Cost
IPC field		
Insecticide		
- spiromesifen 24% SC	6	87 baht/30 ml
- spinetoram 12% SC	6	147 baht/30 ml
- emamectin benzoate 1.92% EC	3	42 baht/30 ml
- cyantraniliprole 10% OD	3	158.40 baht/40 ml
- petroleum spray oil 83.9% EC	3	10.80 baht/60 ml
Fungicide		
- *Bacillus subtilis*	8	20 baht/40 g
Farmer field		
Insecticide		
- abamectin 1.8% EC	6	22.50 baht/50 ml
- spinetoram 12% SC	6	98 baht /20 ml
- spiromesifen 24% SC	6	58 baht/20 ml
- cyantraniliprole 10% OD	6	158.40 baht/40 ml
- sulfur 80% WP	3	**14.40 baht/80 g**
- petroleum spray oil 83.9% EC	4	10.80 baht/60 ml
Fungicide		
- copper hydroxide 77% WP	18	21.50 baht/50 g
- azoxystrobin 25% SC	4	45 baht/10 ml
- *Bacillus subtilis*	9	20 baht/40 g

Table 3 Pesticides application, residue and economic return of chili plantation compared between IPC method and farmer method at Sampran district Nakhon Pathom province during December 2021 – July 2022

Item	IPC method	Farmer method
1. Pesticides application		
- Insecticides	5	6
- number of application Insecticides	21	31
- IPC reduced the insecticides used (%)	32.26	
- Fungicides	1	3
- number of application Insecticides	8	31
- IPC reduced the Fungicide used (%)	74.19	
2. Residue of pesticide	ND	ND
3. Economic return		
- Product value (baht/306m^3 (B)	54,670.00	57,530.00
- Cost of production (baht/306m^3) (C)	10,990.00	14,275.00
- Net profit (baht/306m^3)	43,680.00	43,255.00
- benefit cost ratio (B/C)	4.97	4.03

ND = not detected

Figure 1 Chili plantation in greenhouses; IPM method (A.) and Farmer method (B.)

Figure 2 Yellow and blue sticky traps in greenhouses (IPM method)

เทคโนโลยีการจัดการศัตรูคะน้าแบบผสมผสานเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป

The integrated pest management of Kale for export to the EU

ธีราทัย บุญญะประภา[1/] บุษบง มนัสมั่นคง[1/] วิภาดา ปลอดครบุรี[1/]
พวงผกา อ่างมณี[1/] ยุรวรรณ อนันตนมณี[1/] บุษราคัม อุดมศักดิ์[2/]
[1/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

เทคโนโลยีการจัดการศัตรูคะน้าแบบผสมผสานเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป ดำเนินการทดลองในแปลงคะน้า อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี ระหว่างเดือนเมษายน – มิถุนายน 2565 ทำการป้องกันกำจัดศัตรูคะน้าแบบผสมผสานเมื่อพบศัตรูพืชชนิดต่างๆเกินระดับเศรษฐกิจ (ETL) โดยมีกรรมวิธีที่ใช้ร่วมกัน ได้แก่ วิธีติดกับดักกาวเหนียวสีเหลืองจำนวน 80 กับดักต่อไร่ เว้นระยะห่าง 3 เมตร ระหว่างกับดักและเปลี่ยนกับดักทุก 14 วัน การใช้ชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืช และการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช จากการทดลองได้รูปแบบการป้องกันกำจัดศัตรูพืช คือ ทำการป้องกันกำจัดศัตรูพืชเมื่อพบศัตรูพืชชนิดต่าง ๆ เกินระดับเศรษฐกิจ (ET) ด้วยสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืชและสารเคมีกำจัดศัตรูพืช ร่วมกับวิธีติดกับดักกาวเหนียวสีเหลือง พบว่ากรรมวิธี IPM สามารถลดการใช้สารกำจัดแมลงลงได้ 47.83% และการตกค้างของสารกำจัดแมลงอยู่ในระดับต่ำกว่าในกรรมวิธีเกษตรกร สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตคะน้าได้ 2,370 กิโลกรัมต่อไร่ มูลค่าผลผลิต 47,400 บาท ต้นทุนการผลิตในการกำจัดศัตรูพืชเป็น 7,972 บาท มีกำไรสุทธิ 39,428 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 5.95 มากกว่ากรรมวิธีเกษตรกรที่มีผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 3.98

คำหลัก : คะน้า การจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน

รหัสการทดลอง FF65-57-02-65-00-02-65

คำนำ

คะน้า (cabbage) เป็นพืชผักที่สำคัญในประเทศไทย เนื่องจากใช้บริโภคในชีวิตประจำวัน และมีการปลูกอยู่ในทั่วทุกภาคของประเทศไทย และมีความสำคัญทางด้านเศรษฐกิจ และการผลิตพืชตระกูลกะหล่ำเพื่อการค้า ในพื้นที่ขนาดใหญ่ และปลูกติดต่อกันตลอดปี ทำให้เกิดปัญหาศัตรูพืชเข้าทำลายโดยเฉพาะแมลงศัตรูพืช และโรคพืช โดยศัตรูพืชในคะน้าที่สำคัญในกลุ่มแมลง เช่น หนอนใยผัก หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก หนอนเจาะยอดกะหล่ำ หนอนแมลงวันชอนใบ ซึ่งจะเข้าทำลายในส่วนของใบ และส่วนยอด และพวกด้วงปีกแข็ง เช่น ด้วงหมัดผัก ที่ตัวแก่กัดกินใบ และตัวอ่อนกัดกินส่วนราก ในกลุ่มโรคพืช ได้แก่ โรคใบจุดในคะน้า และโรคราน้ำค้าง ซึ่งหากระบาดในวงกว้าง คุณภาพและผลผลิตจะลดลง แนวทางในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชเหล่านี้มีความซับซ้อน และหลายพื้นที่ศัตรูพืชมีความต้านทานต่อสารกำจัดแมลง จึงต้องใช้วิธีการในการดูแลร่วมกันหลายวิธี เช่น วิธีการเขตกรรม วิธีกล การใช้ระดับเศรษฐกิจ (ET) ทั้งนี้เพื่อให้ได้ผลผลิตที่ดีทั้งปริมาณและคุณภาพ รวมถึงได้วิธีการที่ปลอดภัยต่อผู้ปลูกและผู้บริโภค และไม่มีผลให้เกิดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม (กลุ่มบริหารศัตรูพืชและกลุ่มกีฏและสัตววิทยา, 2559)

สารที่ใช้ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช methoxyfenozide 24% SC, emamectin benzoate 1.92% EC, spinosad 12% SC, gamma-cyhalothrin 1.5% CS, lambda-cyhalothrin 2.5% CS, imidacloprid 70% WG, *Bacillus thuringiensis*, (กลุ่มกีฏและสัตววิทยา, 2553) *Steinernema carpocapsae*, azoxystrobin 25% SC, tetraconazole 40% EW, mancozeb 80% WP , cymoxanil 8%+mancozeb 64% WP และ metalaxyl+mancozeb 72% WP

การจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน (Integrated Pest Management-IPM) กองกีฏและสัตววิทยา (2544) รายงานว่าการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสานเป็นวิทยาการแขนงหนึ่งสำหรับใช้ควบคุมศัตรูพืช มีผู้นำไปใช้สลับกับคำว่า IPC (Integrated Pest Control) หรือการป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน จึงเกิดความเข้าใจว่าใช้แทนกันได้ ซึ่งโดยความหมายที่แท้จริงแล้ว IPM และ IPC มีความคล้ายคลึงกันในทางทฤษฎี และแนวทางการปฏิบัติ แต่ IPC เป็นวิธีการนำเอาวิธีการควบคุมศัตรูพืชวิธีการต่าง ๆ มาใช้ควบคุมศัตรูพืชเป้าหมายในพื้นที่ที่มีการระบาดในท้องที่เดียวกัน เช่น การใช้พันธุ์ต้านทานร่วมกับการใช้สารเคมี หรือร่วมกับการใช้ศัตรูธรรมชาติมาควบคุมศัตรูพืชซึ่งวิธีการต่าง ๆ เหล่านั้นจะต้องไม่ทำให้เกิดความเสียหายต่อสิ่งมีชีวิตอื่นนอกเป้าหมาย และสภาพแวดล้อม ส่วน IPM เป็นแนวทางในการดำเนินงานที่จะเลือกใช้วิธีการควบคุมใด ๆ ก็ตามมาใช้กำจัดหรือปราบหรือควบคุมศัตรูพืชโดยใช้หลักทางด้านนิเวศวิทยาและเศรษฐศาสตร์ และเกี่ยวข้องกับการตัดสินใจ โดยมีการตรวจสอบประชากรแมลงและคำนึงถึงสภาพแวดล้อม ซึ่งผลการตัดสินใจนั้น อาจจะไม่ต้องมีการควบคุมหรืออาจเลือกใช้วิธีการควบคุมวิธีใดวิธีหนึ่ง หรือหลายวิธีการผสมผสานกัน เพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดทั้งทางด้านเศรษฐกิจ สังคม และสิ่งแวดล้อม

ประเทศไทยต้องพัฒนาปรับปรุงระบบการผลิต และระบบการส่งออกพืชให้เป็นไปตามมาตรฐานที่ EU ยอมรับ เพื่อพัฒนาระบบการผลิตคะน้า สำหรับส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป (EU) ที่เหมาะสม ให้เป็นไปตามมาตรฐานที่ EU ยอมรับ ไม่มีปัญหาสารพิษตกค้างและปลอดภัยตั้งแต่ในระดับแปลงปลูกก่อนนำผลผลิตเข้าไปในโรงคัดบรรจุ จึงได้นำเอาวิธีการป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบต่าง ๆ มาใช้ร่วมกัน เพื่อหาเทคโนโลยีในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสานในการผลิตคะน้าสำหรับส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป (EU) ที่เหมาะสม เพื่อให้ได้ผลผลิตที่ปลอดภัย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แปลงคะน้าของเกษตรกร
2. ฟิวเจอร์บอร์ด กาวเหนียว ถุงพลาสติก
3. เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง
4. ไม้ปักแปลง ป้ายแสดง ลวด อุปกรณ์สำหรับบันทึกข้อมูล

<u>สารที่ใช้ในการทดลอง</u>

1. สารกำจัดแมลง
   - 1.1 spinetoram 12% W/V SC
   - 1.2 emamectin benzoate 1.92% W/V EC
   - 1.3 methoxyfenozide 30%+spinetoram 6% W/V SC
2. สารกำจัดโรคพืช
   - 2.1 dimethomorph 50% WP
   - 2.2 pyraclostrobin 25% W/V EC
3. ชีวภัณฑ์ป้องกันกำจัดศัตรูพืช
   - 3.1 แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai*
   - 3.2 *Bacillus subtilis*
   - 3.3 ไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง *Steinernema carpocapsae*

วิธีการ

ดำเนินการทดลอง 2 วิธี คือ วิธีป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน (IPM) และวิธีของเกษตรกรโดยคัดเลือกเกษตรกร 2 ราย แต่ละรายดำเนินการ 2 วิธี ดังนี้

<u>วิธีที่ 1 วิธีป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน (IPM)</u> ดำเนินการดังนี้

1. เมล็ดพันธุ์คะน้าที่นำมาใช้ต้องแช่น้ำร้อนที่ 52 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที

2. ติดตั้งกับดักกาวเหนียวสีเหลืองอัตรา 80 กับดัก/ไร่ ตลอดการปลูกคะน้า โดยเปลี่ยนกับดักทุก 14 วัน

3. ทำการสำรวจประชากรของศัตรูพืชในแปลงปลูก โดยมีขนาดการสุ่ม 50 ต้น/แปลง ทุก 4 วัน ถ้าพบศัตรูพืชเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) ที่กำหนด ให้ดำเนินการป้องกันกำจัด ดังนี้

หนอนใยผัก ระดับเศรษฐกิจ (ET) > 1 ตัว/ต้น ถ้าเกินระดับ ET พ่นชีวภัณฑ์ *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* อัตรา 200 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือสารกำจัดแมลง spinetoram 12% SC อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร เลือกใช้สารหรือชีวภัณฑ์ชนิดใดชนิดหนึ่ง พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน กรณีที่พบไม่ถึงระดับเศรษฐกิจ (ET) เก็บหนอนหรือดักแด้ออกจากแปลงปลูกหรือพ่นชีวภัณฑ์ *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* อัตรา 200 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กลุ่มหนอนผีเสื้อ ระดับเศรษฐกิจ (ET) > 2 ตัว/10 ต้น ถ้าเกินระดับ ET พ่นชีวภัณฑ์ *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือสารฆ่าแมลง emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ methoxyfenozide 24% SC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ gamma-cyhalothrin 1.5% CS อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร เลือกใช้สารหรือชีวภัณฑ์ชนิดใดชนิดหนึ่ง พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน กรณีที่พบไม่ถึงระดับเศรษฐกิจ (ET) เก็บตัวหนอนออกจากแปลงหรือพ่นชีวภัณฑ์ *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

ด้วงหมัดผัก ระดับเศรษฐกิจ (ET) > 1 ตัว/ต้น ถ้าเกินระดับ ET พ่นไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง *Steinernema carpocapsae* อัตรา 50 ล้านตัวต่อน้ำ 20 ลิตร และพ่นทุก 7 วัน กรณีที่พบไม่ถึงระดับเศรษฐกิจ (ET) พ่นไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง *Steinernema carpocapsae* อัตรา 50 ล้านตัวต่อน้ำ 20 ลิตร

โรคใบจุด ถ้าเริ่มพบโรค ให้พ่นชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* 20W1 หรือสารกำจัดโรคพืช azoxystrobin 25% SC อัตรา 5-10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร เลือกใช้สารหรือชีวภัณฑ์ชนิดใดชนิดหนึ่ง พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน

โรคราน้ำค้าง ถ้าพบระบาดใช้สารกำจัดโรคพืช dimethomorph 50% WP อัตรา 20 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นทุก 5-7 วัน

หมายเหตุ การเลือกใช้สารเคมีหรือชีวภัณฑ์ต้องพิจารณาตามอายุพืช ถ้าพืชอยู่ในระยะเจริญเติบโตจะเลือกใช้สารเคมี และถ้าพืชอยู่ในระยะใกล้เก็บเกี่ยวถึงเก็บเกี่ยวจะเลือกใช้ชีวภัณฑ์เป็นหลัก

<u>วิธีที่ 2 วิธีของเกษตรกร</u>

1. ดำเนินการผลิตคะน้าในแปลงปลูก

2. ใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชตามวิธีเกษตรกร

การบันทึกข้อมูล

- จำนวนและชนิดของแมลงศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ
- บันทึกการเป็นโรค
- ชนิดและจำนวนครั้งที่ใช้สารในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช
- ชนิดและจำนวนครั้งที่ใช้สารชีวภัณฑ์ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช
- บันทึกปริมาณผลผลิตและราคา
- ต้นทุนการใช้สารในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช/สารชีวภัณฑ์ ข้อมูลค่าใช้จ่ายที่เป็นต้นทุนการผลิตทั้งหมด
- วิเคราะห์ผลตอบแทนเชิงเศรษฐศาสตร์ มูลค่าผลผลิต (บาท/ไร่) ต้นทุนในการผลิต (บาท/ไร่) สัดส่วนผลตอบแทนต่อการลงทุน (R/C) ระหว่างแปลง IPM และ แปลงเกษตรกร
- บันทึกผลการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง ตามวิธีการของ codex
- วิเคราะห์ผลความแตกต่างทางสถิติในการควบคุมศัตรูคะน้า

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาดำเนินการ ตุลาคม 2564 – กันยายน 2566

สถานที่ แปลงคะน้าเกษตรกรในตำบลวังขนาย อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ดำเนินการในแปลงคะน้า อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี ระหว่างเดือนเมษายน – มิถุนายน 2565 ทั้งกรรมวิธี IPM และกรรมวิธีเปรียบเทียบของเกษตรกร ทำการป้องกันกำจัดโรคแมลงตามกรรมวิธี IPM และกรรมวิธีเกษตรกร

ศัตรูพืชที่พบในแปลงคะน้า (Table 1)

- หนอนกระทู้หอม ในแปลงกรรมวิธี IPM และกรรมวิธีเกษตรกร ไม่พบหนอนกระทู้หอมเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) ที่กำหนดไว้
- หนอนแมลงวันชอนใบ ในแปลงกรรมวิธี IPM และกรรมวิธีเกษตรกร ไม่พบหนอนแมลงวันชอนใบเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) ที่กำหนดไว้
- หนอนเจาะยอดกะหล่ำ ในแปลงกรรมวิธี IPM และกรรมวิธีเกษตรกร ไม่พบหนอนเจาะยอดกะหล่ำเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) ที่กำหนดไว้
- หนอนใยผัก ในแปลงกรรมวิธี IPM ไม่พบหนอนใยผักเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) ที่กำหนดไว้ ส่วนในแปลงกรรมวิธีเกษตรกร พบหนอนใยผักเกินระดับเศรษฐกิจ 1 ครั้ง
- ด้วงหมัดผักแถบลาย ในแปลงกรรมวิธี IPM พบด้วงหมัดผักแถบลายเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) ที่กำหนดไว้ 4 ครั้ง และกรรมวิธีเกษตรกรพบด้วงหมัดผักแถบลายเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) ที่กำหนดไว้ 2 ครั้ง

- โรคใบจุดคะน้า ในแปลงกรรมวิธี IPM พบโรคใบจุดคะน้าเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) ที่กำหนดไว้ 5 ครั้ง และกรรมวิธีเกษตรกร พบโรคใบจุดคะน้าเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) ที่กำหนดไว้ 6 ครั้ง

การป้องกันกำจัดศัตรูพืช (Table 2)

ในกรรมวิธี IPM ทำการติดกับดักกาวเหนียวสีเหลืองจำนวน 80 กับดักต่อไร่โดยแต่ละกับดักมีระยะห่าง 3 เมตร ร่วมกับชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืช และสารเคมีกำจัดศัตรูพืช เมื่อศัตรูพืชแต่ละชนิดเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) จากการทดลองพบด้วงหมัดผักแถบลาย และโรคใบจุดคะน้าเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) จึงดำเนินการพ่นสารกำจัดศัตรูพืช และสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืช รวมทั้งหมดจำนวน 24 ครั้ง โดยพ่นสารกำจัดแมลง spinetoram 12% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 4 ครั้ง, emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 2 ครั้ง, methoxyfenozide 30%+spinetoram 6% W/V SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 1 ครั้ง พ่นสารชีวภัณฑ์กำจัดแมลง จำนวน 7 ครั้ง ได้แก่ไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง อัตรา 75 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร หลังทำการหว่านเมล็ด จำนวน 1 ครั้ง และพ่นทุก 7 วัน จำนวน 3 ครั้ง, *Bacillus turingenesis* sub. *aizawai* อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 3 ครั้ง พ่นสารกำจัดโรคพืชจำนวน 8 ครั้ง ได้แก่ dimethomorph 50% WP อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 4 ครั้ง, pyraclostrobin 25% EC อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 2 ครั้ง พ่นสารชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร หลังทำการหว่านเมล็ด จำนวน 1 ครั้ง และจำนวน 3 ครั้ง ระหว่างปลูก

ในกรรมวิธีเกษตรกรทำการพ่นสารกำจัดศัตรูพืชรวมทั้งหมด 43 ครั้ง โดยพ่นสารกำจัดโรคพืช 17 ครั้ง ได้แก่ dimethomorph 50% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 10 ครั้ง และ pyraclostrobin 25% W/V EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 7 ครั้ง

พ่นสารกำจัดแมลง 26 ครั้ง ได้แก่ spinetoram 12% W/V SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 6 ครั้ง, acetamiprid 20% W/V SP อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 8 ครั้ง, abamectin 1.8% W/V EC อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 6 ครั้ง และ emamectin benzoate 1.92% W/V EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 6 ครั้ง

การดำเนินการป้องกันศัตรูพืชในกรรมวิธี IPM สามารถลดการใช้สารกำจัดแมลงได้ 47.83% และการตกค้างของสารกำจัดแมลงอยู่ในระดับต่ำกว่าในกรรมวิธีเกษตรกร (Table 3)

ผลตอบแทนเชิงเศรษฐศาสตร์ (Table 3)

กรรมวิธี IPM เก็บเกี่ยวผลผลิตคะน้าได้ 2,370 กิโลกรัมต่อไร่ คิดเป็นราคากิโลกรัมละ 20 บาท มูลค่าผลผลิต 47,400 บาท ต้นทุนการผลิตในการกำจัดศัตรูพืชเป็น 7,972 บาท เมื่อหักต้นทุนการผลิตแล้วพบว่า แปลงวิธี IPM มีกำไรสุทธิ 39,428 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 5.95

กรรมวิธีเกษตรกร เก็บเกี่ยวผลผลิตคะน้าได้ 2,670 กิโลกรัมต่อไร่ คิดเป็นราคากิโลกรัมละ 20 บาท มูลค่าผลผลิต 53,400 บาท ต้นทุนการผลิตในการกำจัดศัตรูพืชเป็น 13,422 บาท เมื่อหักต้นทุนการผลิตแล้วพบว่าแปลงกรรมวิธีเกษตรกร มีกำไรสุทธิ 39,978 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 3.98

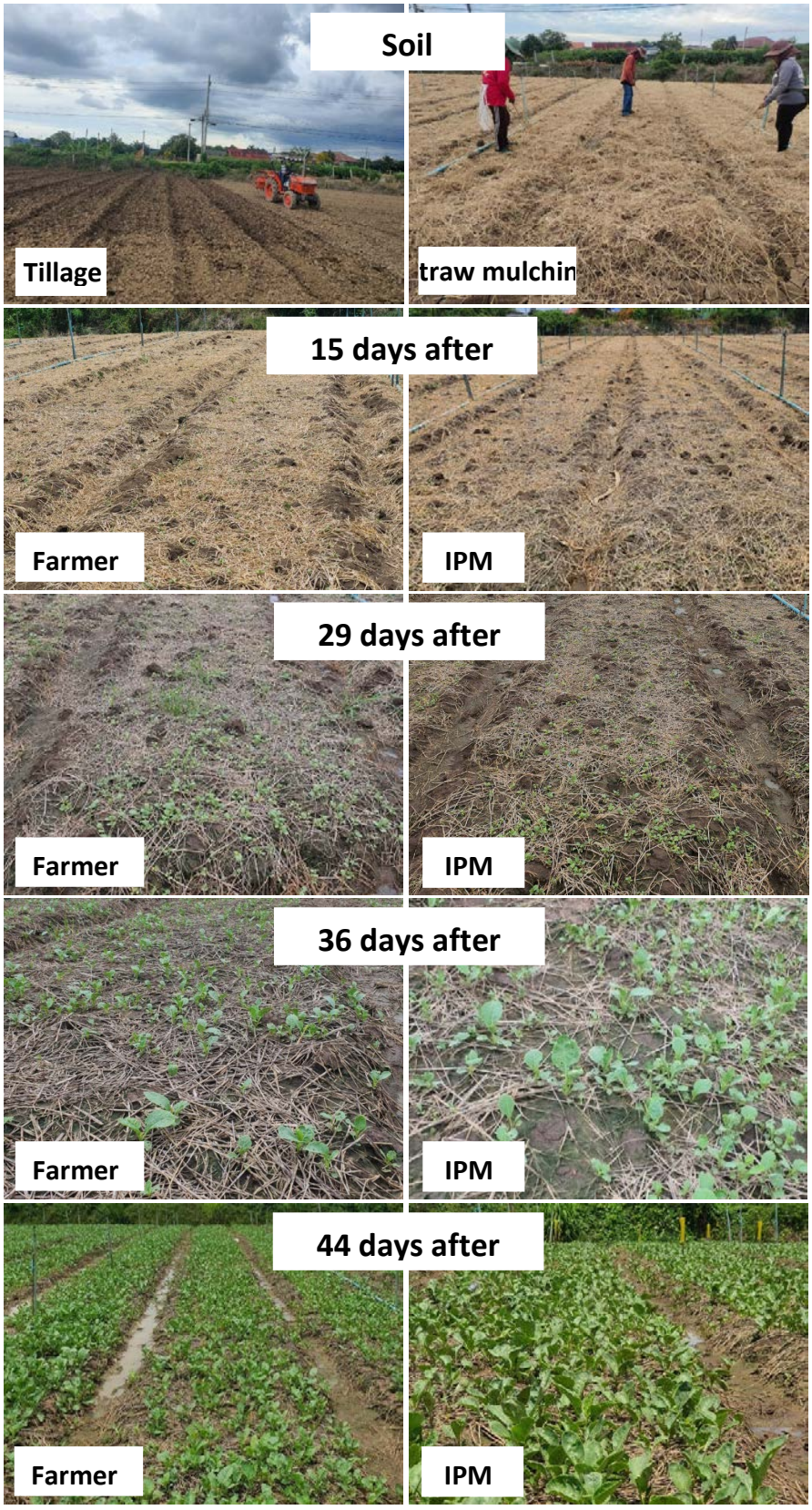


Figure 1 Kale field at pre-planting and post-planting stages at 15, 29, 36 and 44 days of age

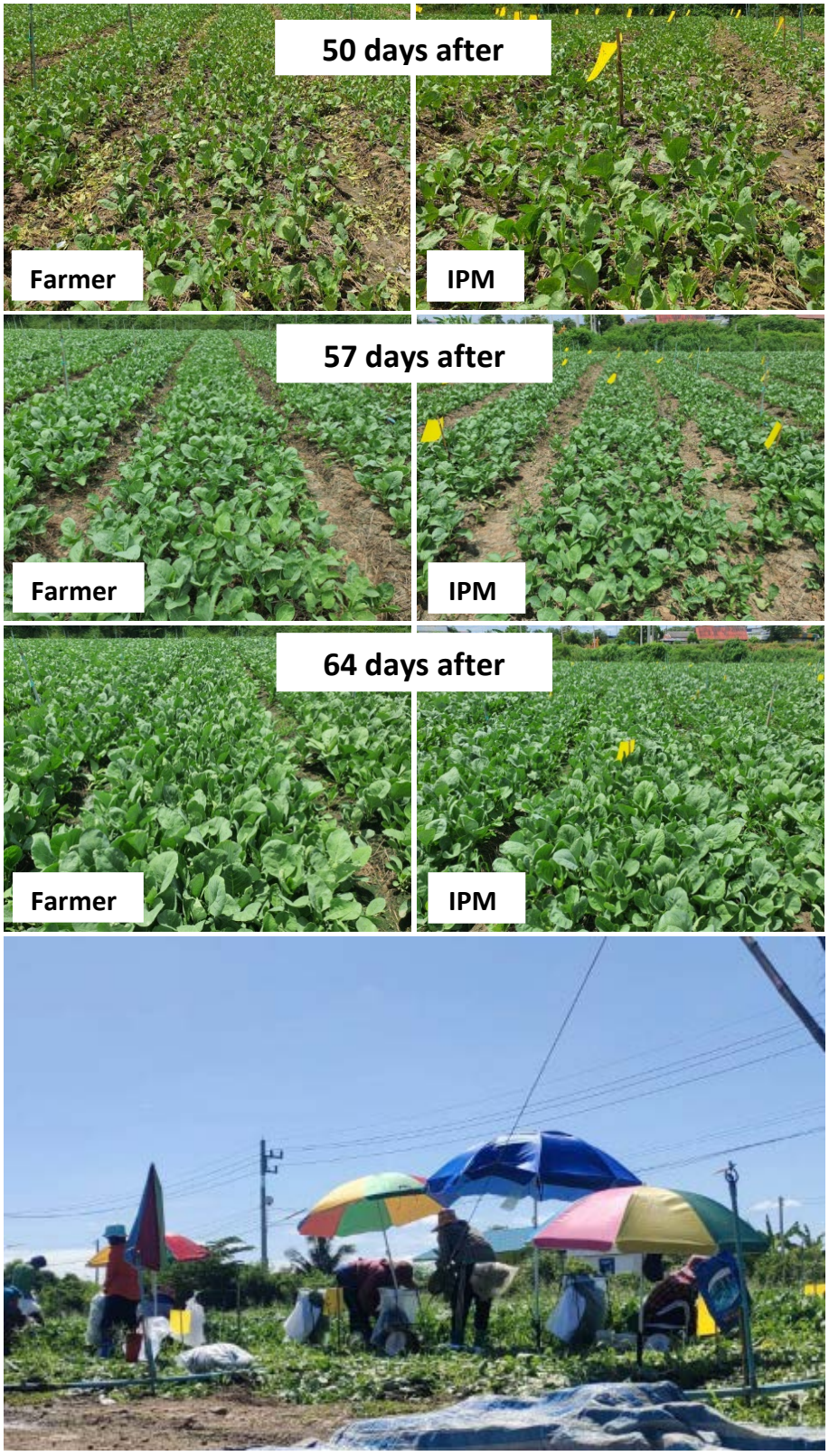


Figure 2 Kale field at post-planting stages at 50, 57and 64 days of age and harvesting

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากผลการทดลองกรรมวิธี IPM ทำการป้องกันกำจัดศัตรูพืชเมื่อพบศัตรูพืชชนิดต่าง ๆ เกินระดับเศรษฐกิจ (ET) ร่วมกันระหว่างวิธีติดกับดักกาวเหนียวสีเหลือง ชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืช และสารเคมีกำจัดศัตรูพืช จากผลการทดลองดำเนินการพ่นสารกำจัดศัตรูพืช และสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืช รวมทั้งหมดจำนวน 24 ครั้งเพื่อป้องกันกำจัดด้วงหมัดผักแถบลาย และโรคใบจุดคะน้า ส่วนกรรมวิธีเกษตรกรทำการพ่นสารกำจัดศัตรูพืชรวมทั้งหมด 43 ครั้ง เพื่อกำจัดโรคพืช และแมลงศัตรูพืชโดยทำการพ่นเป็นประจำทุก 5 - 7 วัน การดำเนินการป้องกันศัตรูพืชในกรรมวิธี IPM สามารถลดการใช้สารกำจัดแมลงลงได้ 47.83% และการตกค้างของสารกำจัดแมลงอยู่ในระดับต่ำกว่าในกรรมวิธีเกษตรกร สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตคะน้าได้ 2,370 กิโลกรัมต่อไร่ คิดเป็นราคากิโลกรัมละ 20 บาท มูลค่าผลผลิต 47,400 บาท ต้นทุนการผลิตในการกำจัดศัตรูพืชเป็น 7,972 บาท เมื่อหักต้นทุนการผลิตแล้วพบว่า แปลงวิธี IPM มีกำไรสุทธิ 39,428 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 5.95 มากกว่ากรรมวิธีเกษตรกรที่มีผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 3.98 จากการทดลองในแปลงปลูกคะน้าพบด้วงหมัดผักแถบลายมีการระบาดอย่างมากในช่วงที่ทำการปลูก จึงทำให้สูญเสียผลผลิตในช่วงคะน้าต้นเล็กไปจำนวนมาก ทำให้ในส่วนของต้นทุนการป้องกันกำจัดศัตรูพืชกรรมวิธี IPM มีปริมาณผลผลิตที่เก็บเกี่ยวได้น้อยกว่า แม้จะมีต้นทุนการผลิตที่ต่ำกว่าวิธีเกษตรกร ทั้งนี้จะดำเนินการทดลอง เทคโนโลยีการจัดการศัตรูคะน้าแบบผสมผสานเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรปซ้ำอีกครั้งในปีถัดไป เพื่อเป็นการสรุปรูปแบบการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสานในพืชดังกล่าวต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กองกีฏและสัตววิทยา. 2544. *เทคโนโลยีทางเลือกสำหรับ ไอ พี เอ็ม*. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 309 หน้า.

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2553. *คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ปี 2553*. กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 303 หน้า.

กลุ่มบริหารศัตรูพืช และกลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2559. ชนิดของพืชผักและแมลงศัตรูที่ทำลายพืชผักตระกูลกะหล่ำ. หน้า 2-3. *ใน*: *แมลงศัตรูผัก เห็ด และไม้ดอก*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

สัญญาณี ศรีคชา สุเทพ สหายา สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น และพวงผกา อ่างมณี. 2560. คู่มือการป้องกันกำจัด แมลงศัตรูพืชสำหรับการผลิตผักเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรป (ฉบับปรับปรุงแก้ไขเพิ่มเติม). กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 53 หน้า.

European Commission. 2020. EU Pesticides database (Online). Available. https://ec.europa.eu/food/ plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=pesticide.residue.selection&language=EN (Feb 28, 2020).

European Commission - Press Release. 2017. Endocrine disruptors: major step towards protecting citizens and environment (Online). Available. http://europa.eu/rapid/press-release_IP-17-1906_en.htm (May 6, 2018).

Mnif W., A.I. Hadj-Hassine, A. Bouaziz, A. Bartegi, O. Thomas, and B. Roig. 2011. Effect of endocrine disruptor pesticides: a review. International Journal of Environmental Research and Public Health 8: 2265–2303.

Puntener,W. 1992. Manual for Field Trials in Plant Protection. Third edition. Plant Protection Division, Ciba-Geigy Ltd., Switzerland. 269 p.

Table 1 The number of plants in the IPM field and the farmer field that found insect pests and disease at Tha-Moung district Kanchanaburi province between April – June 2022

Date	The number of plants [1/]											
	leaf eating beetle		diamondback moth		cabbage webworm		cabbage leafminer		beet armyworm		leaf spot disease	
	IPM	Farmer	IPM	Farmer	IPM	Farmer	IPM	Farmer	IPM	Farmer	IPM	Farmer
19/04/65	38	35	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
26/04/65	**56**[2/]	58	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
03/05/65	57	64	0	0	8	7	0	0	0	0	2	4
10/05/65	64	48	0	0	7	5	0	0	0	0	10	16
17/05/65	53	20	17	20	0	0	0	0	0	0	33	24
23/05/65	15	11	10	28	1	0	0	3	1	0	8	2
30/05/65	0	0	4	4	0	0	4	1	0	1	0	2
06/06/65	1	2	3	7	0	0	0	0	0	0	0	0

[1/] Survey data from 50 plot.

[2/] Bold characters mean that exceed the economic threshold level (ETL) for each pest.

Table 2 The comparison of types of pesticides, times of use and prices between IPM field and Farmer field at Tha-Moung district Kanchanaburi province between April – June 2022

types of pesticides	times of use	prices
Farmer field		
fungicide		
dimethomorph 50% WP	10	1,440 baht/1600g.
pyraclostrobin 25% W/V EC	7	1,444.8 baht/560 Ml.
Insecticides		
spinetoram 12% W/V SC	6	6,192 baht/720 Ml.
acetamiprid 20% W/V SP	8	2,560 baht/1600 Ml.
abamectin 1.8% W/V EC	6	576 baht/960 Ml.
emamectin benzoate 1.92% EC	6	1,209.6 baht/720 Ml.
IPM field		
fungicide and biological fungicide		
dimethomorph 50% WP	4	576 baht/320 g.
pyraclostrobin 25% W/V EC	2	412.8 baht/160 Ml.
Bacillus subtilis	4	600 baht/1,600 g.
Insecticides and biological insecticide		
spinetoram 12% W/V SC	4	2,752 baht/320 Ml.
methoxyfenozide 30%+spinetoram 6% W/V SC	1	288 baht/120 Ml.
emamectin benzoate 1.92% EC	2	403.2 baht/240 Ml.
Bacillus thuringiensis sub. *aizawai*	3	540 baht/1200 Ml.
Steinernema carpocapsae	4	2,400 baht/1,200 Ml.

Table 3 Use and residue of pesticides and economic return compared between IPM method and farmer method in kale plantation at Tha-Moung district Kanchanaburi province between April – June 2022

Details	IPM method	Farmer method
1. The use of pesticides		
a. types of pesticides		
fungicide	3	2
Insecticides	5	4
b. number of times of spraying pesticide	24	43
IPM reduces the insecticides use (%)	47.83%	
2. Residue of pesticides		
spinetoram	0.01	0.03
emamectin benzoate	<LOQ[1/]	0.01
methoxyfenozide	<LOQ	<LOQ
dimethomorph	0.08	0.47
3. Economic return		
Product value (baht/rai) (B)	47,400	53,400
Cost of production (baht/rai) (C)	7,972	13,422
Net profit (baht/rai)	39,428	39,978
benefit cost ratio (B/C)	5.95	3.98

[1/] LOQ ของการวิเคราะห์สารเท่ากับ 0.01 mg/kg

เทคโนโลยีการจัดการศัตรูข้าวโพดฝักอ่อนแบบผสมผสานเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป

Integrated Pest management on Baby corn for exporting to EU

อุราพร หนูนารถ

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ในปี 2564 ได้ดำเนินทดลองในแปลงข้าวโพดฝักอ่อนของเกษตรกร อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี โดยเป็นแปลง IPM 1 แปลง และ แปลงเกษตรกรเปรียบเทียบ 1 แปลง จากการตรวจนับชนิดของศัตรูพืชในข้าวโพดฝักอ่อน ทุก 7 วันจำนวน 6 ครั้ง พบแมลงศตรูพืช 1 ชนิด ได้แก่ หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด พบในข้าวโพดหลังงอก 10 วัน และพบโรคพืชคือ โรคราน้ำค้าง พบวัชพืช หญ้ายาง แห้วหมู และหญ้าตีนนก นอกจากนั้นพบแมลงศัตรูธรรมชาติ 1 ชนิดคือแมงมุม ทั้งวิธีผสมผสาน และวิธีเกษตรกร

การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูข้าวโพดฝักอ่อน ในแปลงทดสอบแบบผสมผสาน พบหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด เกินระดับเศรษฐกิจ 3 ครั้ง ดำเนินการพ่นสาร emamectin benzoate 5 % WG ในอัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 3 ครั้ง ในแปลงเกษตรกรพบหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดเกินระดับเศรษฐกิจ 4 ครั้ง เกษตรกรทำการพ่นสาร chlorfluazuron อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 2 ครั้ง

การจัดการด้านโรคพืชจากการสำรวจ เมื่อข้าวโพดอายุ 3 สัปดาห์ สำรวจพบโรคราน้ำค้าง 20% ของพื้นที่ ดำเนินการพ่น dimethomorph 50% WP อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร เมื่อข้าวโพดอายุ 7-10 วัน ทุก 7 วันจำนวน 2 ครั้ง

การจัดการด้านวัชพืช จากการสุ่มเก็บชนิดและปริมาณวัชพืช ในพื้นที่ 0.5 ตารางเมตร จำนวน 2 จุด ในแต่ละกรรมวิธี ระยะเวลาประมาณ 1 เดือน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ทั้งในแปลงผสมผสาน และแปลงเกษตรกร ประกอบด้วยวัชพืชใบแคบคือ หญ้าตีนนก และ แห้วหมู วัชพืชใบกว้าง คือ หญ้ายาง ผักโขม และ ตีนตุ๊กแก ในแปลงผสมผสานดำเนินการพ่น halosulfuron methyl 75% WGส่วนแปลงเกษตรกรดำเนินการพ่น อะทราซีน

เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักผลผลิตต่อไร่ พบว่าวิธีผสมผสานได้ทั้งหมด 2453 กก./ไร่ ส่วนวิธีเกษตรกรได้2050 กก./ไร่ น้ำหนักฝักมาตรฐาน ได้ 855 กก./ไร่ และ 650 กก./ไร่ ในแปลงผสมผสานและแปลงเกษตรกร ตามลำดับ ราคาผลผลิตในวิธีผสมผสานมีมูลค่า 17171 บาท ต่อไร่ ขณะที่แปลงเกษตรกร มีมูลค่า 14350 บาท ต่อไร่

รหัสการทดลอง FF65-57-02-65-00-03-65

ผลการเปรียบเทียบต้นทุนการผลิตต่อไร่ พบว่า วิธีผสมผสาน เสียค่าใช้จ่ายเป็นต้นทุนในการผลิต 4255 บาทต่อไร่ ส่วนวิธีของเกษตรกร มีต้นทุนในการผลิต 4031 บาท/ไร่ เมื่อหักต้นทุนการผลิตพบว่า วิธีผสมผสาน และวิธีเกษตรกรได้กำไรสุทธิ 12916 และ 10319 บาทต่อไร่ ตามลำดับ พบว่า วิธีผสมผสานและวิธีเกษตรกรได้ผลตอบแทนการลงทุน 4.035 และ 3.55 ตามลำดับ

คำนำ

ไทยเป็นประเทศผู้ผลิตสินค้าเกษตรรายใหญ่ของโลก ผลิตผลที่ได้ใช้เพื่อการบริโภคภายในประเทศและส่งออกไปจำหน่ายยังตลาดต่างประเทศจำนวนมาก เนื่องจากอยู่ในเขตร้อนชื้น สภาพแวดล้อมเหมาะสมทำให้สามารถปลูกพืชได้ตลอดปี ส่งผลให้เกิดการระบาดของศัตรูพืชอย่างต่อเนื่องทำความเสียหายให้กับผลผลิตทั้งปริมาณและคุณภาพ เพื่อไม่ให้ผลผลิตได้รับความเสียหาย เกษตรกรจำเป็นต้องทำการป้องกันกำจัดอย่างมีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตามมีศัตรูพืชบางชนิดมีชีววิทยา หรือนิเวศวิทยาที่มีผลทำให้ไม่อาจทำการป้องกันกำจัดได้ด้วยการใช้วิธีการใดวิธีการหนึ่ง ตัวอย่างเช่น แมลงวันผลไม้ซึ่งเป็นแมลงศัตรูที่เข้าทำลายภายในผลและตัวเต็มวัยอาศัยอยู่ภายนอกแปลงปลูก ด้วงหมัดผักมีลักษณะทางชีววิทยาของตัวอ่อนเข้าทำลายรากและตัวเต็มวัยเข้าทำลายบนใบ หนูศัตรูพืชที่อาศัยอยู่ในที่หลบซ่อนและมีการเพิ่มประชากรได้อย่างรวดเร็ว และแมลงศัตรูพืชชนิดที่มีปัญหาต้านทานต่อสารกำจัดศัตรูพืช เช่น หนอนใยผัก ศัตรูพืชเหล่านี้จำเป็นต้องใช้ “การป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยวิธีผสมผสาน (Integrated Pest Control: IPC)” ซึ่งเป็นหลักการป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่นำวิธีการป้องกันกำจัดศัตรูพืชวิธีต่างๆ เช่น การใช้พันธุ์ต้านทาน วิธีการทางเขตกรรม การควบคุมโดยชีววิธี การป้องกันกำจัดโดยวิธีฟิสิกส์ การใช้สารเคมีในการควบคุมพฤติกรรมแมลง การป้องกันกำจัดโดยวิธีกล และการป้องกันกำจัดโดยใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช โดยใช้วิธีการป้องกันกำจัดตั้งแต่ 2 วิธีขึ้นไป มาใช้ผสมผสานร่วมกันอย่างเหมาะสม โดยมีเป้าหมายที่จะใช้ควบคุมศัตรูพืชสำคัญชนิดที่ไม่สามารถควบคุมโดยวิธีการป้องกันกำจัดวิธีการใดวิธีการหนึ่งได้ และเมื่อได้วิธีการป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยวิธีผสมผสาน (IPC) สำหรับศัตรูพืชที่สำคัญแต่ละชนิดแล้วก็จะนำมาบูรณาการจัดทำการบริหารศัตรูพืชแบบผสมผสาน

“การบริหารศัตรูพืชแบบผสมผสาน (Integrated Pest Management: IPM)” เป็นวิธีการป้องกันกำจัดศัตรูพืชทุกชนิดที่มีความสำคัญในพืชเศรษฐกิจชนิดต่างๆ (แมลง ไร และสัตว์ศัตรูพืช โรคพืช และวัชพืช) ซึ่งการบริหารศัตรูพืชแบบผสมผสานนี้สามารถนำไปใช้แก้ไขปัญหาการระบาดของศัตรูพืชในการผลิตพืชเศรษฐกิจของประเทศไทย ทั้งเพื่อใช้สำหรับบริโภคภายในประเทศและเพื่อการส่งออก เกษตรกรส่วนใหญ่นิยมทำการป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย ให้ผลรวดเร็ว สะดวก ราคาไม่แพง และใช้แรงงานน้อย แต่ผลการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชเป็นหลักติดต่อกัน และใช้เกินความจำเป็นทำให้เกิดผลกระทบทางลบตามมา คือ ปัญหาพิษภัยต่อตัวเกษตรกร สารพิษสะสมในสิ่งแวดล้อม ปัญหาการต้านทานต่อสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช (Resistance) เกิดการระบาดเพิ่มของศัตรูพืช (Resurgence) รวมทั้งปัญหาสารพิษตกค้างในผลผลิต

(Residue) ที่เกินค่ามาตรฐาน (Maximum Residue Limit: MRL) โดยเฉพาะปัญหาในสินค้าเกษตรส่งออก ซึ่งในปี 2550 สหภาพยุโรป (EU) ได้แจ้งเตือนประเทศไทยเรื่องการตรวจพบสารพิษตกค้างในสินค้าเกษตรบางกลุ่มเป็นจำนวนมากและต่อเนื่อง และได้ออกมาตรการ 669/2009 ในปี 2552 เรื่องการตรวจเข้มสินค้าพืชประเภทผักของไทยจากที่เคยสุ่มตรวจ 10% เป็น 50% ในสินค้า 3 ประเภท คือ ผักตระกูลกะหล่ำ (brassica vegetable) ผักตระกูลมะเขือ (aubergine) และพืชผักตระกูลถั่ว (beans) ปัญหาต่างๆ ที่ได้กล่าวมานี้สามารถแก้ไขด้วยการใช้ “การบริหารศัตรูพืชแบบผสมผสาน (Integrated Pest Management: IPM)” ซึ่งเป็นหลักการป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจที่จะคงระดับศัตรูพืชให้ต่ำกว่าระดับที่ก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจเพื่อให้เกิดสมดุลในธรรมชาติระหว่างศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ และใช้ระดับเศรษฐกิจ (economic threshold: ET) มาเป็นเครื่องมือในการตัดสินใจในการป้องกันกำจัด โดยวิธีการป้องกันกำจัดด้วยการใช้สารเคมีจะนำมาใช้เป็นวิธีสุดท้าย ซึ่งนำไปสู่การลดปัญหาศัตรูพืช ลดปัญหาการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชไม่ให้มีสารพิษตกค้างเกินค่ามาตรฐาน ลดสารพิษสะสมในสิ่งแวดล้อม ลดโอกาสที่ศัตรูพืชจะสร้างความต้านต่อสารกำจัดศัตรูพืช และเป็นการลดต้นทุนการผลิตเนื่องจากการใช้สารกำจัดศัตรูพืชเท่าที่จำเป็นเท่านั้น ซึ่งสอดคล้องกับนโยบายของรัฐบาลที่ต้องการหาวิธีการลดต้นทุนการผลิตให้กับเกษตรกร รวมทั้ง เป็นการป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่ยั่งยืน

ผลงานวิจัยจากโครงการนี้ สามารถนำไปใช้เพื่อแนะนำให้แก่เกษตรกรและผู้ที่เกี่ยวข้อง เช่น เจ้าหน้าที่กรมวิชาการเกษตรและกรมส่งเสริมการเกษตร นำไปแก้ไขปัญหาศัตรูพืช และสารพิษตกค้างในพืชเศรษฐกิจที่สำคัญทั้งเพื่อการบริโภคภายในประเทศและสำหรับการส่งออก

ข้าวโพดฝักอ่อน (Baby corn) เป็นผลผลิตการเกษตรที่สำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย สามารถสร้างรายได้จากการส่งออกปีละกว่าพันล้านบาท

ข้าวโพดฝักอ่อน เป็นข้าวโพดที่เก็บเกี่ยวฝักในระยะฝักอ่อน ยังไม่มีเมล็ดหรือมีเมล็ดเป็นไข่ขนาดเล็ก มีรสชาติอร่อย หวานกรอบ โดยนำเอาฝักอ่อนมาบริโภคในรูปของผัก ใช้ประกอบอาหารทั้งในรูปบริโภคฝักสดหรือปรุงสุก และส่งโรงงานแปรรูปเป็นข้าวโพดฝักอ่อนกระป๋อง

ศัตรูข้าวโพดฝักอ่อนที่สำคัญ

โรคที่สำคัญของข้าวโพดฝักสด ได้แก่ โรคใบไหม้แผลใหญ่ โรคราน้ าค้าง โรคไวรัสใบด่าง และโรคราสนิม (พีระวรรณและคณะ, 2541) โรคใบไหม้แผลใหญ่ของข้าวโพด เกิดจากเชื้อรา *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard &Suggs เป็นโรคที่ทำความเสียหายให้กับอุตสาหกรรมข้าวโพดฝักอ่อนของไทย ทำให้ผลผลิตไม่ได้มาตรฐาน ฝักมีขนาดเล็กเรียวลีบที่ปลาย เมล็ดไม่เต็มฝักและมีขนาดเล็กลง ในประเทศไทยพบการระบาดของโรคอย่างรุนแรง ตั้งแต่ปี 2548 โดยพบการระบาดของโรคในแหล่งผลิตที่สำคัญของประเทศไทยในพื้นที่เพาะปลูกทางภาคเหนือและจังหวัดอื่น ๆ เช่น กาญจนบุรี เชียงใหม่ และเชียงราย ปัจจุบัน พบการระบาดมากขึ้น ในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคกลาง โดยเฉพาะในแหล่งที่มีการปลูกข้าวโพดฝักอ่อนติดต่อกันหลายปี และพบการระบาดได้ตลอดฤดูกาล ความเสียหายที่เกิดจากโรคใบไหม้แผลใหญ่ต่อผลผลิตมีความผัน

แปรขึ้นอยู่กับพันธุ์ สภาพแวดล้อม และการจัดการ ผลผลิตข้าวโพดฝักอ่อนเสียหายตั้งแต่ 20-90 เปอร์เซ็นต์ประเทศไทยคิดมูลค่าความ เสียหายสูงถึง 800 ล้านบาทต่อปี (ทวีศักดิ์, 2551) นอกจากนี้ โรคดังกล่าวยังมีผลต่อคุณภาพของฝัก ต้นที่เป็นโรคทำให้ขนาดฝักไม่ได้มาตรฐาน (Raid, 1991) แมลงศัตรูเป็นปัญหาที่สำคัญของการปลูกข้าวโพด ซึ่งเข้าทำาลายในระยะต่างๆ ในแต่ละการเจริญเติบโตของข้าวโพดตั้งแต่ปลูกจนกระทั่งเก็บเกี่ยว แมลงศัตรูข้าวโพดนั้นแบ่งออกตามลักษณะการทำลายได้ 2 กลุ่ม กลุ่มแรกคือแมลงศัตรูประเภทปากกัด ทำลายพืชโดยการกัดกินใบ ยอด ช่อดอก เส้นไหม ฝัก หรือเข้าไปอาศัยกัดกินอยู่ภายในลำต้น ทำให้พืชชะงักการเจริญเติบโต ลำต้นหักพับ คุณภาพฝักเสียหาย ได้แก่ หนอนเจาะลำต้นข้าวโพด หนอนเจาะสมอฝ้ายหรือหนอนเจาะฝักข้าวโพด หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด และหนอนกระทู้ข้าวโพด มอดดิน ด้วงกุหลาบ และด้วงปีกแข็งอีกหลาย กลุ่มที่สองคือแมลงศัตรูประเภทปากดูด ทั้งตัวอ่อน และตัวเต็มวัย ทำความเสียหายโดยดูดกินน้ำเลี้ยงจากส่วนต่างๆ ของพืช ได้แก่ เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน เพลี้ยกระโดดดำ มวนอ้อย เป็นต้น แมลงศัตรูข้าวโพดที่พบเห็นในแปลงปลูกมีมากกว่า 70 ชนิด แต่ที่พบเห็นประจำและก่อให้ปัญหาบ่อยครั้งในข้าวโพด ที่สำคัญพบเพียง 8 ชนิดดังต่อไปนี้มอดดิน, *Calomycterus* sp. เพลี้ยไฟข้าวโพด, *Frankliniella williamsi* Hood เพลี้ยอ่อนข้าวโพด, *Rhopalosiphum maidis* (Fitch) หนอนกระทู้ข้าวโพด, *Mythimna separata* (Walker) หนอนเจาะลำต้นข้าวโพด, *Ostrinia furnacalis* (Guenée) หนอนกระทู้หอม, *Spodoptera exigua* (Hübner) หนอนเจาะสมอฝ้ายหรือหนอนเจาะฝักข้าวโพด, *Helicoverpa armigera* (Hübner) หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด, *Spodoptera frugiperda* JE Smith และด้วงกุหลาบ, *Adoretus compressus* (Weber) แมลงบางชนิด เช่น เพลี้ยอ่อนเป็นแมลงพาหะนำเชื้อไวรัสสาเหตุของโรคใบด่าง (อรนุชและวัชรา, 2535)

สำหรับปัญหาด้านอารักขาพืชในข้าวโพดฝักอ่อน ยังขาดเทคโนโลยีการป้องกันกำจัดโรคแมลงที่เหมาะสมเนื่องจากขาดการวิจัยมานานแล้ว คำแนะนำเป็นข้อมูลที่วิจัยมานานมากกว่า 10 ปี (กลุ่มกีฏและสัตววิทยา, 2553) โดยเฉพาะหากมีศัตรูพืชระบาดจะทำให้มีผลผลิตลดลง หรือกรณีใช้สารที่ไม่ถูกต้องอาจมีปัญหาพิษตกค้างในผลผลิตได้ โดยเฉพาะข้าวโพดฝักสด ซึ่งนอกจากจะส่งผลต่อเกษตรกรโดยตรงแล้วยังอาจส่งผลกระทบต่ออุตสาหกรรมภายในประเทศ ตลอดจนการนำเข้าส่งออกด้วย ดังนั้นแนวทางแก้ไขในการเพิ่มผลผลิตและลดการสูญเสียผลผลิตข้าวโพดจากการทำลายของโรคและแมลงศัตรู คือวิจัยการป้องกันกำจัดโรคและแมลง โดยมุ่งเน้นวิธีการที่มีประสิทธิภาพ ปลอดภัยต่อผู้บริโภคและศัตรูธรรมชาติ เพื่อให้ได้วิธีการป้องกันกำจัดโรคและแมลงศัตรูแมลงศัตรูข้าวโพดแบบผสมผสานเหมาะสมสำหรับข้าวโพดฝักสด โรคและแมลงศัตรูพืช เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลกระทบต่อการผลิตข้าวโพดข้าวโพดฝักสดเป็นอย่างมาก ซึ่งวัตถุประสงค์ของกิจกรรมเพื่อพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตข้าวโพดฝักสดที่ถูกต้องเหมาะสมตรงตามความต้องการของตลาดทั้งภายในและต่างประเทศ การจัดการผลิต ข้อมูลการจัดการโรคแมลงศัตรู และวัชพืชในข้าวโพดฝักอ่อน ที่มีประสิทธิภาพสำหรับแนะนำให้เกษตรกรต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

1. สารฆ่าแมลง deltamethrin 3% EC, cyantraniliprole 10% OD, *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, metalaxyl 35% SD, dimethomorph 50% WP, azoxystrobin+difenoconazole 20%+12.5% SC, difenoconazole 25% EC, emamectin benzoate 5 % WG, lambda-cyhalothrin 2.5% EC , spinetoram 12% SC

แบบและวิธีการทดลอง

มี 2 วิธี คือ วิธีป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน (IPM) และวิธีของเกษตรกร

วิธีการ

(1) วิธีป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน (IPM)

1. เลือกแปลงเกษตรกร ทดสอบการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูข้าวโพดฝักอ่อนโดยวิธีผสมผสาน (IPM) โดยการควบคุมของนักวิชาการ เปรียบเทียบกับวิธีของเกษตรกร (F) โดยเกษตรกรเป็นผู้ดูแลเอง โดยแบ่งพื้นที่ออกเป็น 2 แปลง ๆ ละ 1 ไร่

2. การป้องกันกำจัดศัตรูข้าวโพดฝักอ่อน

แปลง IPM ดำเนินการโดยตรวจนับศัตรูพืชทุกสัปดาห์ โดยสุ่มนับจากต้นข้าวโพดฝักอ่อน จำนวน 100 ต้น พ่นสารฆ่าแมลง เมื่อพบแมลงระบาดหรือเข้าทำลายถึงระดับเศรษฐกิจ

การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูข้าวโพดฝักอ่อน

หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด

- คลุกเมล็ดก่อนปลูกด้วยสารฆ่าแมลง cyantraniliprole 20% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อเมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม
- พ่นชีวภัณฑ์ *Bacillus thuringiensis* อัตรา 40-80 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ทุก 5 วัน จนถึงเก็บเกี่ยว เน้นพ่นสารที่ยอด

หนอนเจาะลำต้นข้าวโพด

- สำรวจกลุ่มไข่ของหนอนเจาะลำต้นข้าวโพด ถ้าพบกลุ่มไข่ของหนอนเจาะลำต้นข้าวโพด ให้ปล่อยแตนเบียนไข่ *Trichogramma confusum* Viggiani อัตรา 30,000 ตัว/ไร่ จำนวน 3 ครั้ง
- สำรวจในระยะก่อนออกดอก ถ้าพบยอดข้าวโพดฝักอ่อนถูกทำลายมากกว่า 30% ให้พ่นสารฆ่าแมลง deltamethrin 3% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือชีวภัณฑ์ *Bacillus thuringiensis* อัตรา 40-80 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
- สำรวจในระยะออกดอก ถ้าพบหนอนเจาะลำต้นข้าวโพด มากกว่า 50 ตัวต่อต้น หรือพบรูเจาะ 50 รู จากข้าวโพดฝักอ่อน 100 ต้น ให้พ่นสารฆ่าแมลง deltamethrin 3% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือชีวภัณฑ์ *Bacillus thuringiensis* อัตรา 40-80 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

หนอนเจาะฝักข้าวโพด

ตรวจนับหนอนเจาะฝักข้าวโพด ถ้าพบหนอนเจาะฝักข้าวโพด 1 ตัวต่อต้น ให้พ่นเชื้อไวรัส NPV ของหนอนเจาะสมอฝ้าย อัตรา 20-30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

หนอนกระทู้หอม

ตรวจนับหนอนกระทู้หอม ถ้าพบหนอนกระทู้หอม 2-3 ตัวต่อต้น เชื้อไวรัส NPV ของหนอนกระทู้หอม อัตรา 10-20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

เพลี้ยอ่อนข้าวโพด

- ระยะก่อนออกดอก ถ้าพบเพลี้ยอ่อนข้าวโพด มากกว่า 25% ของพื้นที่ใบทั้งต้น ให้พ่นสารฆ่าแมลง flonicamid 50% WG อัตรา 3-5 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร หรือสารสกัดสะเดา อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

- ระยะออกดอก ถ้าพบเพลี้ยอ่อนข้าวโพด มากกว่า 25% ของช่อดอก ให้พ่นสารฆ่าแมลง flonicamid 50% WG อัตรา อัตรา 3-5 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร หรือสารสกัดสะเดา อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

การป้องกันกำจัดโรคข้าวโพดฝักอ่อน

โรครานำ้ค้าง

- สาเหตุจากเชื้อรา *Peronosclerospora sorghi* (Weston & Uppal) C.G. Shaw

- คลุกเมล็ดพันธุ์ก่อนปลูกด้วยสารกำจัดโรคพืช metalaxyl 35% SD อัตรา 7 มิลลิลิตรต่อเมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม หรือเคลือบเมล็ดด้วยพอลิเมอร์ผสม dimethomorph 50% WP อัตรา 20 กรัมต่อเมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม หรือคลุกเมล็ดพันธุ์ก่อนปลูกด้วย dimethomorph 50% WP อัตรา 20 กรัมต่อเมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม กรณีของโรครุนแรงควรเพิ่มการพ่นสารอัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร เมื่อข้าวโพดอายุ 7-10 วัน ทุก 7 วันจำนวน 3-4 ครั้ง

- หมั่นตรวจไร่ตั้งแต่เริ่มปลูก ถ้าพบข้าวโพดฝักอ่อนเริ่มแสดงอาการของโรคให้ถอนและเผาทำลายทันที

โรคใบไหม้แผลใหญ่

- สาเหตุจากเชื้อรา *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard & Suggs

- ใช้พันธุ์ต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ เช่น พันธุ์ไฮบริกซ์ 39 ไฮบริกซ์ 53

- เมื่อพบใบข้าวโพดฝักอ่อนแสดงอาการของโรค ให้พ่นสารกำจัดโรคพืช azoxystrobin+ difenoconazole 20%+12.5% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นทุก 7 วัน จำนวน 3 ครั้ง

โรคราสนิม

- สาเหตุจากเชื้อรา *Puccinia polysora* Underw

- หมั่นตรวจไร่ ถ้าพบข้าวโพดเริ่มแสดงอาการของโรคในฤดูที่มีการระบาดของโรครุนแรงควรพ่นด้วยสารป้องกันกำจัดโรคพืช

- พ่นสารกำจัดโรคพืช difenoconazole 25% EC อัตรา 20-30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นทุก 7 วัน จำนวน 2-4 ครั้ง

โรคไวรัสใบด่าง

- สาเหตุจากเชื้อ Sugarcane Mosaic Virus (SCMV) ซึ่งถ่ายทอดโรคโดยเพลี้ยอ่อน *Rhopalosiphum maidis* และ Maize Chlorotic Mottle Virus (MCMV) ซึ่งถ่ายทอดโรคโดยเพลี้ยไฟ *Frankliniella williamsi* และ *Thrips tabaci*

- หมั่นตรวจไร่ ถ้าพบข้าวโพดเริ่มแสดงอาการที่ผิดปกติ ได้แก่ อาการใบด่างลายใบด่างประจุดเหลือง ให้กำจัดออกจากแปลงโดยการถอนทิ้งออกไปทั้งต้น และหากพบการระบาดของเพลี้ยอ่อน (*Rhopalosiphum maidis*) ซึ่งเป็นแมลงพาหะ ให้พ่นสารฆ่าแมลง พ่นสารฆ่าแมลง flonicamid 50% WG อัตรา 3-5 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร หรือพ่นสารสกัดสะเดา อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หยุดใช้สารก่อนเก็บเกี่ยว 14 วัน และถ้าพบการระบาดของเพลี้ยไฟ (*Frankliniella williamsi* และ *Thrips tabaci*) ซึ่งเป็นแมลงพาหะ ให้พ่นสารฆ่าแมลง lambda-cyhalothrin 2.5% EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ spinetoram 12% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

หมายเหตุ : การเลือกใช้สารเคมีหรือชีวภัณฑ์ต้องพิจารณาตามอายุพืชด้วย ถ้าพืชอยู่ในระยะเจริญเติบโตจะเลือกใช้สารเคมี และถ้าพืชอยู่ในระยะใกล้เก็บเกี่ยวถึงเก็บเกี่ยวจะเลือกใช้ชีวภัณฑ์เป็นหลัก

การป้องกันกำจัดวัชพืช

- ก่อนการไถเตรียมแปลงหากพบวัชพืชข้ามปี เช่น แห้วหมู และหญ้าคา ให้กำจัดก่อนการไถเตรียมแปลง 10-15 วัน

- เตรียมดินโดยการไถ และตากดิน 10-15 วัน พรวนดิน แล้วคราดเก็บเศษซาก ราก เหง้า หัว และไหลของวัชพืชข้ามปีออกจากแปลง

- หลังจากปลูกข้าวโพด พ่นสารกำจัดวัชพืช dimethenamid-p 72% EC อัตรา 180 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ขณะดินมีความชื้น

- เมื่อข้าวโพดอายุ 20-30 วันหลังปลูก ถ้าพบว่ามีวัชพืชขึ้นในแปลงให้ใช้แรงงานกำจัด หรือถ้ามีปริมาณมากให้พ่นสารกำจัดวัชพืชตามประเภทหรือชนิดของสารกำจัดวัชพืช เมื่อวัชพืชมีจำนวนใบ 3-5 ใบ ระหว่างแถวต้นข้าวโพด พ่นขณะลมสงบ

(2) วิธีของเกษตรกร

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

- ชนิดและปริมาณของแมลงศัตรูข้าวโพดฝักอ่อน
- ชนิดและปริมาณของศัตรูธรรมชาติ
- เปอร์เซ็นต์การเป็นโรคและความรุนแรงของโรค
- ชนิดและความหนาแน่นของวัชพืช
- ชนิดของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช

- จำนวนครั้งในการพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช
- ค่าสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช
- ค่าใช้จ่ายอื่น ๆ
- ผลผลิตและราคาผลผลิต
- วิเคราะห์ผลตอบแทนเชิงเศรษฐศาสตร์ มูลค่าผลผลิต (บาท/ไร่) ต้นทุนในการผลิต (บาท/ไร่) สัดส่วนผลตอบแทนต่อการลงทุน (R/C) ระหว่างแปลง IPM และแปลงเกษตรกร
- บันทึกผลการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง ตามวิธีการของ codex
- วิเคราะห์ผลความแตกต่างทางสถิติในการควบคุมศัตรูข้าวโพดฝักอ่อน

เวลาและสถานที่

- **ระยะเวลาดำเนินการ**

  เริ่มต้น กันยายน - ตุลาคม 2565

- **สถานที่ดำเนินการ**

  แปลงข้าวโพดฝักอ่อนของเกษตรกร อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในปี 2564 ได้ดำเนินทดลองในแปลงข้าวโพดฝักอ่อนของเกษตรกร อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี โดยเป็นแปลง IPM 1 แปลง และ แปลงเกษตรกรเปรียบเทียบ 1 แปลง จากการตรวจนับชนิดของศัตรูพืชในข้าวโพดฝักอ่อน ทุก 7 วันจำนวน 6 ครั้ง พบแมลงศตรูพืช 1 ชนิด ได้แก่ หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด พบในข้าวโพดหลังงอก 10 วัน และพบโรคพืชคือ โรคราน้ำค้าง พบวัชพืช หญ้ายาง แห้วหมู และหญ้าตีนนก

นอกจากนั้นพบแมลงศัตรูธรรมชาติ 1 ชนิดคือแมงมุม ทั้งวิธีผสมผสาน และวิธีเกษตรกร

การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูข้าวโพดฝักอ่อน ในแปลงทดสอบแบบผสมผสาน พบหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด เกินระดับเศรษฐกิจ 3 ครั้ง ดำเนินการพ่นสาร emamectin benzoate 5 % WG ในอัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 3 ครั้ง ในแปลงเกษตรกรพบหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดเกินระดับเศรษฐกิจ 4 ครั้ง เกษตรกรทำการพ่นสาร chlorfluazuron อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 2 ครั้ง

การจัดการด้านโรคพืชจากการสำรวจ เมื่อข้าวโพดอายุ 3 สัปดาห์ สำรวจพบโรคราน้ำค้าง 20% ของพื้นที่ ดำเนินการพ่น dimethomorph 50% WP อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร เมื่อข้าวโพดอายุ 7-10 วัน ทุก 7 วันจำนวน 2 ครั้ง

การจัดการด้านวัชพืช จากการสุ่มเก็บชนิดและปริมาณวัชพืช ในพื้นที่ 0.5 ตารางเมตร จำนวน 2 จุด ในแต่ละกรรมวิธี ระยะเวลาประมาณ 1 เดือน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ทั้งในแปลงผสมผสาน และแปลงเกษตรกร ประกอบด้วยวัชพืชใบแคบคือ หญ้าตีนนก และ แห้วหมู วัชพืชใบ

กว้าง คือ หญ้ายาง ผักโขม และ ตีนตุ๊กแก ในแปลงผสมผสานดำเนินการพ่นสาร halosulfuron methyl 75% WG หนึ่งครั้งและดำเนินการถอนทิ้ง ส่วนแปลงเกษตรกรดำเนินการพ่น อะทราซีน

เมื่อเปรียบเทียบนำหนักผลผลิตต่อไร่ พบว่าวิธีผสมผสานได้ทั้งหมด 2453 กก./ไร่ ส่วนวิธีเกษตรกรได้2050 กก./ไร่ น้ำหนักฝักมาตราฐาน ได้ 855 กก./ไร่ และ 650 กก./ไร่ ในแปลงผสมผสานและแปลงเกษตรกร ตามลำดับ ราคาผลผลิตในวิธีผสมผสานมีมูลค่า 17171 บาท ต่อไร่ ขณะที่แปลงเกษตรกร มีมูลค่า 14350 บาท ต่อไร่

ผลการเปรียบเทียบต้นทุนการผลิตต่อไร่ พบว่า วิธีผสมผสาน เสียค่าใช้จ่ายเป็นต้นทุนในการผลิต 6,255 บาทต่อไร่ ส่วนวิธีของเกษตรกร มีต้นทุนในการผลิต 6,031 บาท/ไร่ เมื่อหักต้นทุนการผลิตพบว่า วิธีผสมผสาน และวิธีเกษตรกรได้กำไรสุทธิ 10,916 และ 8,319 บาทต่อไร่ ตามลำดับ พบว่า วิธีผสมผสานและวิธีเกษตรกรได้ผลตอบแทนการลงทุน 2.745 และ 2.38 ตามลำดับ

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2547. เอกสารวิชาการข้าวโพดฝักสด. หจก. ไอเดีย สแควร์. 140 หน้า. กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา. 2553. คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ปี 2553. กลุ่มวิจัยกีฏและ สัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์ การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. กรุงเทพฯ. 303หน้า. 2548.

พีระวรรณ พัฒนวิภาส ดิลก อัญชลิสังกาศ และเตือนใจ บุญ-หลง. 2541. โรคของข้าวโพดฝักอ่อนในประเทศไทย. ข่าวสารโรคพืชและจุลชีววิทยา. 8(1):18-19.

ทวีศักดิ์ ภู่หล่ำ. 2551. สถานการณ์การผลิตข้าวโพดฝักสดของโลก. ใน: เอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการข้าวโพดฝักสดไทยในหลากหลายมุมมอง. วันที่ 29-30 กรกฎาคม 2551 ณ โรงแรมลพบุรีอินน์ รีสอร์ท จ. ลพบุรี. หน้า 5/1-5/20.

อรนุช กองกาญจนะ และวัชรา ชุณหวงศ์. 2535. แมลงศัตรูข้าวโพดและแนวทางการบริหาร. หน้า 111 –127. ใน เอกสารวิชาการฉบับพิเศษ พ.ศ. 2535. แมลงและศัตรูที่สำคัญของพืชเศรษฐกิจและการบริหาร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

Raid, R. N. 1991.Fungicidal. Control of foliar sweet corn disease in the presence of high inoculum levels. Proc. Fla. State Hort. Soc. 104:267-270

ตารางที่1 แสดงชนิดและจำนวนครั้งในการใช้สารกำจัดศัตรูพืช

รายการ	วิธีผสมผสาน	วิธีของเกษตรกร
สารฆ่าแมลง	emamectin benzoate 5% WG/3	chlorfluazuron 5%EC/2
สารกำจัดโรคพืช	dimethomorph 50% WP /2	dimethomorph 50% WP/2
สารกำจัดวัชพืช	halosulfuron methyl 75% WG/1	alachlor 48% EC/1
รวม	**3 ชนิด**	**3 ชนิด**

ตารางที่ 2 น้ำหนักผลผลิต จำนวนผลผลิต และราคาผลผลิตต่อไร่ ของข้าวโพดฝักอ่อนในแปลงป้องกันกำจัดศตรูพืชแบบผสมผสาน และแปลงเกษตรกร ที่ อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี ระหว่างเดือนสิงหาคม-ตุลาคม 2565

รายการ	วิธีผสมผสาน	วิธีของเกษตรกร
น้ำหนักผลผลิต (กิโลกรัม/ไร่)		
น้ำหนักฝักทั้งหมด	2,453	2,050
น้ำหนักหลังปอกเปลือก	885	650
ราคาผลผลิตทั้งหมด (บาทต่อไร่)	17,171	14,350
ราคาผลผลิต	**คำนวนจากน้ำหนักทั้งเปลือก 7 บาทต่อกิโลกรัม**	

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบต้นทุนการผลิต รายได้สุทธิ ตลอดจนผลตอบแทนการลงทุน ระหว่างการป้องกันกำจัดศตรูพืชแบบผสมผสาน และแปลงเกษตรกร ที่ อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี ระหว่างเดือนสิงหาคม-ตุลาคม 2565

รายการ	วิธีผสมผสาน	วิธีของเกษตรกร
-เมล็ดพันธุ์	1100	1100
-ค่าไถ	800	800
-ค่าปลูก	200	200
-ค่าสารฆ่าแมลง	240	176
-ค่าสารกำจัดโรคพืช	215	215
-ค่าสารกำจัดวัชพืช	200	40
-ค่าปุ๋ย	1500	1500
-ค่าเก็บผลผลิต+ค่าดูแล	2000	2000
รวมต้นทุนการผลิต (C) (บาท/ไร่)	6255	6031
ราคาผลผลิต (R)	17171	14350
รายได้สุทธิ (บาท/ไร่)	10916	8319
ผลตอบแทนการลงทุน	**2.745**	**2.38**

การจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยสกุล Hirschmanniella (Nematoda: Pratylenchidae) ในพรรณไม้น้ำ

Identification of the genus Hirschmanniella (Nematoda: Pratylenchidae) in aquatic plants

ธิติยา ชยาภัคพัฒนา[1/] ไตรเดช ข่ายทอง[1/] วานิช คำพานิช[2/] สุรศักดิ์ แสนโคตร[2/]

[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Progress report

Samples of aquatic plants were collected between October 2021–September 2022 from 66 plant species from Nakhon Ratchasima, Chachoengsao, Phayao, Nan, Nakhon Pathom, Nonthaburi, Ayutthaya, Pathum Thani and Chiang Mai. From the study, *Hirschmanniella* fifteen adult females were studied morphology and morphometric characteristics which were *Hirschmanniella oryzae*. The important characteristics follow, as there are both males and females. The lip region is relatively flat and not hemispherical. The body length ranges from 1600 µm to 2500 µm, the length of stylet from 18.5 µm to 25.0 and is well-developed. The stylet knobs well-defined with rounded, equal-sized knobs. The secretory excretory pore is anterior to the pharyngeal-intestinal junction. The long pharyngeal glands overlapping the intestine's ventral region. The female genital system is didelphic which have two functional and equally developed ovaries. The female gonad, with a spheroid sometime an oval shape spermatheca filled with sperm cells. Many of genus *Hirschmanniella* which have only a spermatheca but no sperm cell inside. The vulva position nearly middle body about 47-55 % of the body length. A tail with an elongate-conoid shape with a pointed or rounded terminus that has a ventral needle-shape mucro and with a length of about 4.3-5.5 times the width of the anal area. And there have c' value cover of 3.0 to 6.9. In the male part, the bursa is present in the males, arising near the head of the spicule and ending near the tail tip, and the spicules are slightly arcuate and set off distinctly, and the gubernaculum is not-protruding.

Keywords : Identification Hirschmanniella aquatic plants

รหัสการทดลอง FF65-20-03-65-00-01-65

รายงานความก้าวหน้า

เก็บตัวอย่างพรรณไม้น้ำ ระหว่าง เดือน ตุลาคม 2564 ถึง กันยายน 2565 จากพืช 66 ชนิด จาก จังหวัดนครราชสีมา ฉะเชิงเทรา พะเยา น่าน นครปฐม นนทบุรี อยุธยา ปทุมธานี และเชียงใหม่ จาก การศึกษาพบว่าไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella* เพศเมียเต็มวัย 15 ตัวศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา และวัดลักษณะสัณฐานวิทยาของไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella* พบว่าเป็นไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella oryzae* โดยมีลักษณะที่สำคัญดังนี้ มีทั้งตัวผู้และตัวเมีย ส่วนของ Lip region ที่ ค่อนข้างแบนเรียบไม่เป็นครึ่งวงกลม ความยาวของลำตัวอยู่ในช่วง 1600 ไมครอน (µm) ถึง 2500 µm ความยาวของหลอดดูดอาหารอยู่ในช่วง 18.5 µm ถึง 25.0 µm และมีพัฒนาการดี และปุ่มควบคุมหลอด ดูดอาหารมีพัฒนาการดี รูปร่างกลมและขนาดค่อนข้างเท่ากัน ในส่วนของช่องขับถ่ายของเสียอยู่ก่อน pharyngo-intestinal junction ส่วนของหลอดอาหารค่อนข้างยาวและซ้อนทับกับลำไส้ไปด้านท้องของ ลำตัว ลักษณะหางยาวมีลักษณะเป็นทรงโคนค่อนข้างยาวแคบมีความยาว ประมาณ 4.3-5.5 เท่าของ ความกว้างของของบริเวณทวาร และ ปลายหางมีติ่งหนามเหมือนเข็มอยู่ด้านท้อง 1 อัน มีค่า c' ส่วนใหญ่ อยู่ในช่วง 3.0 ถึง 6.9 ระบบสืบพันธุ์ของเพศเมียเป็นแบบ Didelphic ในระบบสืบพันธุ์มีถุงเก็บน้ำเชื้อตัว ผู้รูปร่างกลม หรือบางครั้งพบรูปร่างวงรีภายในบรรจุเชื้ออสุจิ ซึ่งหลายชนิดมีเฉพาะถุงเก็บน้ำเชื้อแต่ ภายในไม่มีเชื้ออสุจิ และตำแหน่งอวัยวะเพศเมียอยู่ค่อนขางกึ่งกลางลำตัวประมาณร้อยละ 47-55 ของ ความยาวลำตัว ในส่วนของเพศผู้ถุงน้ำกันเสียดสีเริ่มมีช่วงโคนของอวัยวะเพศผู้และครอบคุมไปถึงเกือบ สุดปลายหาง ส่วนอวัยวะเพศผู้โค้งงอคล้ายคันศร ส่วนของท่อนำอสุจิไม่ค่อยยื่นออกมา

คำหลัก : การจำแนกชนิด Hirschmanniella พรรณไม้น้ำ

คำนำ

การส่งออกพืชที่ส่งออก ต้นพันธุ์ กิ่งพันธุ์ และ พืชเพื่อปลูก (plant intend for planting) ไป ยังสหภาพยุโรป ต้องได้รับการรับรองว่าปราศจากจากไส้เดือนฝอยในสกุล *Hirschmanniella* ทุกชนิด ยกเว้น *H. gracilis* ซึ่งมีในสหภาพยุโรป (EPPO ,2009) และ *H. oryzae* เป็นศัตรูพืชกักกันของกลุ่ม ประเทศและหมู่เกาะในเขตทะเลแคริเบียน และประเทศบราซิล นอกจากนี้ยังมีรายงานการห้ามนำเข้า พรรณไม้น้ำจากประเทศไทยและสิงคโปร์ ซึ่งพบไส้เดือนฝอย *H. caudacrena* โดยตรวจพบในไม้น้ำ *Vallisneria* sp. ที่ส่งออกจากประเทศไทย(Ryss and Karnkowsk ,2010) และจากการตรวจสอบ ไส้เดือนฝอยศัตรูพืชก่อนการส่งออกพบว่าไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella* เป็นไส้เดือนฝอย ศัตรูพืชที่พบมากที่สุดในพรรณไม้น้ำของไทยแต่ยังไม่สามารถจัดจำแนกชนิดได้ (ธิติยา และคณะ, 2559) เนื่องจากยังไม่มีการรวบรวมแนวทางการวินิจฉัยชนิดของไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella* ซึ่งมีความหลากหลายของชนิดถึง 35 ชนิด และในประเทศไทยมีรายงานของ Pliansinchai and Boonduang (1986) พบ 4 ชนิด ได้แก่ *H. bispina*, *H. mucronate*, *H. oryzae*, *H. thornei* ซึ่ง เป็นข้อมูลกว่า 30 ปีมาแล้ว จึงจำเป็นต้องศึกษาวิจัยการจัดจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella* ซึ่งผลที่ได้จากการวิจัยในครั้งนี้สามารถนำข้อมูล เทคนิค องค์ความรู้ ในการจำแนก

ชนิดไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella* ไปใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงในการตรวจรับรองไส้เดือนฝอยศัตรูพืชในไม้ประดับส่งออกได้ และเป็นการปรับฐานข้อมูลอ้างอิงของประเทศไทยให้ทันสมัยและเป็นมาตรฐานที่สามารถสร้างความเชื่อมั่นให้แก่ประเทศผู้นำเข้าได้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างดิน วัสดุปลูกและต้นพืชของพรรณไม้น้ำ
2. อุปกรณ์การเก็บตัวอย่างในแปลง
3. ไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella*
4. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและกำลังขยายสูงและอุปกรณ์ถ่ายภาพ
5. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการไส้เดือนฝอย ตู้ปลอดเชื้อและอาหารเลี้ยงเชื้อ

วิธีการ

1. เก็บตัวอย่างพืช ดิน วัสดุปลูกของพรรณไม้น้ำ

เก็บตัวอย่างทั้งรากและต้นพืช ได้แก่ ต้นข้าว วัชพืชในนาข้าว และพรรณไม้น้ำ เช่น หญ้าหนวดปลาดุก ขาเขียด เทียนนา แห้วหมู สันตะวาใบ เป็นต้น ใส่ถุงพลาสติกแล้วนำกลับมาตรวจวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการ และเก็บตัวอย่างดินหรือวัสดุปลูก บริเวณทรงพุ่มของพืชที่เก็บตัวอย่าง ความลึกอยู่ในช่วงประมาณ 0-25 เซนติเมตร จำนวน 10 จุดต่อต้น รวมกันปริมาณ 250 กรัม นำกลับมาตรวจวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการ บันทึกข้อมูลพิกัดทางภูมิศาสตร์ วันที่เก็บตัวอย่าง ชนิด/พันธุ์ของพืชที่เก็บตัวอย่าง

2. การแยกเชื้อไส้เดือนฝอย

2.1 แยกเชื้อไส้เดือนฝอยจากรากพืช

การแยกเชื้อไส้เดือนฝอยจากรากพืชด้วยวิธี Maceration and filtration เป็นขั้นตอนและวิธีการตาม EPPO Standard PM 7/119 (1) Nematode extraction (EPPO, 2013) สามารถดำเนินการดังนี้

นำตัวอย่างรากพืชตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ ประมาณ 0.5 มิลลิเมตร จำนวน 50 กรัม ในเครื่องปั่นแล้วเติมน้ำ 100 มิลลิลิตร แล้วปั่นที่ 12,000 รอบ นาน 30 วินาที เก็บสารละลาย ล้างผ่านชั้นตะแกรง 20 mesh 100 mesh และ 400 mesh ตามลำดับ เก็บตะกอนที่ได้ จากตะแกรง 400 mesh นำไปกรองด้วย Oostenbrink dish โดยการกรองใช้เวลาประมาณ 24 - 48 ชั่วโมง จากนั้นเก็บน้ำไปตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ และกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง

2.2 แยกเชื้อไส้เดือนฝอยจากตัวอย่างดินและตัวอย่างวัสดุปลูก แยกเชื้อไส้เดือนฝอยจากตัวอย่างดินและตัวอย่างวัสดุปลูก ด้วยวิธี Cobb sieving มีขั้นตอนการดำเนินงาน ดังนี้

1. ชั่งตัวอย่างดินปริมาณ 250 กรัม ใส่ในภาชนะพลาสติกเทน้ำลงไปแล้วขยี้ดินให้แตกเพื่อให้ไส้เดือนฝอยแยกตัวหลุดออกมาจากดิน ทิ้งไว้ประมาณ 3 นาที เพื่อให้ดินนอนก้น แล้วเทน้ำลงในตะแกรง (sieve) ขนาด 20 mesh (ประมาณ 840 ไมครอน)

2. นำน้ำที่ผ่านตะแกรงแรกแล้ว มาเทลงในตะแกรงขนาด 100 mesh โดยมีภาชนะรองรับไส้เดือนฝอยที่มีขนาดเล็กจะผ่านตะแกรงลงสู่ภาชนะที่รองรับอยู่ด้านล่าง จะมีไส้เดือนฝอยบางชนิดที่มีขนาดใหญ่ค้างอยู่บนตะแกรง เอาน้ำฉีดบนตะแกรงจนน้ำใส แล้วใช้น้ำฉีดด้านหลังตะแกรง โดยมีภาชนะรองรับไส้เดือนฝอย

3. นำน้ำที่ผ่านตะแกรงขนาด 100 mesh เทลงในตะแกรงขนาด 400 mesh โดยไม่ต้องมีภาชนะรองรับ เนื่องจากไส้เดือนฝอยเกือบทุกชนิดจะติดอยู่บนตะแกรงนี้ ใช้ฝอยน้ำฉีดเบาๆให้ทั่วตะแกรงเพื่อให้ตะกอนดินหลุดลงมา แล้วเก็บน้ำจากตะแกรงนี้เพื่อกรองต่อไป

4. นำน้ำที่กรองจากตะแกรงขนาด 400 mesh เทลงบนตะแกรงที่มีกระดาษกรองไส้เดือนฝอยวางอยู่ด้านบน แล้วนำตะแกรงวางบนกรวยที่มีท่อยางสวมไว้ ในกรวยบรรจุน้ำปลายท่อยางมีคลิปหนีบสายยางกันน้ำรั่ว ทิ้งไว้ประมาณ 24 - 48 ชั่วโมง เพื่อให้ไส้เดือนฝอยมาอยู่ที่ปลายก้านกรวย ในกรณีน้ำมีความขุ่น ต้องนำน้ำของตัวอย่างดังกล่าวกรองผ่านกรวยโดยวิธี Baermann funnel method หรือ Oostenbrink dish

5. นำน้ำที่มีไส้เดือนฝอยมาตรวจสอบ และจัดจำแนกชนิดด้วยวิธีการทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ และกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง

3. การตรวจและวินิจฉัยไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ตรวจและวินิจฉัยไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและหรือกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง เทียบกับคู่มือการจำแนกสกุลของไส้เดือนฝอย Plant-parasitic nematodes; A pictorial key to genera (Mai *et al.*, 1996) Manual of agricultural nematology (Nickle (ed), 1991) Tylenchida: parasites of plant sand insects. 2nd ed. (Siddiqi, M.R. 2000.)

4. การทำสไลด์ถาวรของไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella*

เตรียมตัวอย่างไส้เดือนฝอยตามวิธีการของ De Grisse, 1969 ตามขั้นตอน ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 เขี่ยตัวไส้เดือนฝอยลงใน staining block เติมน้ำ 400 µl นำไปต้มใน water bath ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ตรวจดูไส้เดือนฝอยแล้วเติม Solution I ประมาณ 0.5 ml นำไปใส่ไว้ในขวดโหลที่บรรจุ Ethanol 96% นำเข้าตู้อบ อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง

ขั้นตอนที่ 2 นำ staining block ออกจากตู้อบ เพื่อเติม Solution II เล็กน้อย และอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทุก 1 ชั่วโมง 30 นาที จำนวน 4 ครั้ง จากนั้นเติม Solution III เล็กน้อยอีกครั้ง แล้วอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง

ขั้นตอนที่ 3 นำ staining block ออกจากตู้อบ ตรวจดูไส้เดือนฝอยภายใต้กล้องจุลทรรศน์จนกระทั่งไม่พบการหดตัวของผนังลำตัวไส้เดือนฝอย จึงจะสามารถนำไส้เดือนฝอยไปใช้ในการทำสไลด์ถาวรได้

5. การเก็บสไลด์ถาวรของไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella*

ตัวอย่างไส้เดือนฝอยที่ผ่านการเตรียมแล้ว นำมาวางลงในสไลด์โดยหยด anhydrous glycerin ลงบนสไลด์แก้ว เขี่ยไส้เดือนฝอยที่เตรียมไว้จัดเรียงเป็นแถว โดยใช้ไม้เขี่ยกดให้ทุกตัวติดกับผิวสไลด์ และไม่ให้ตัวไส้เดือนฝอยลอย จัดเรียงให้สวยงามเพื่อให้ง่ายต่อการดูรายละเอียดต่าง ๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ปิดด้วย cover slip ยาแนวขอบด้วยน้ำยาทาเล็บสีใสให้สนิท แล้วเก็บในกล่องสไลด์ การเก็บสไลด์ถาวรของไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella* ต้องมีข้อมูลประกอบ ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ของไส้เดือนฝอย พืชอาศัย สถานที่เก็บตัวอย่าง วันที่เก็บ และชื่อผู้เก็บ วันเดือนปีที่จำแนกชนิด ชื่อผู้จำแนกชนิด วันที่ทำการจำแนกยืนยัน และชื่อผู้จำแนกยืนยัน และข้อมูลอื่น ๆ ที่เป็นประโยชน์

6. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานของไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella*

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานของไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella* โดยเปรียบเทียบกับเอกสารการจัดจำแนกชนิดของ EPPO PP 7/94 (1): *Hirschmanniella* spp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง โดยมีลักษณะสำคัญที่ต้องบันทึก อาทิ ความยาวของลำตัว ลักษณะริมฝีปาก ความยาวของ stylet ความกว้างของฐานของ stylet ลักษณะหาง เส้นผ่านศูนย์กลางลำตัว ความยาวของ oesophagus ค่า De Man's ratios เช่น ค่า a (อัตราส่วนของความยาวลำตัวต่อเส้นผ่านศูนย์กลางลำตัว) ค่า b (อัตราส่วนของความยาวลำตัวต่อความยาวของ oesophagus) ค่า c (อัตราส่วนของความยาวลำตัวต่อความกว้างของหาง) ค่า c' (อัตราส่วนของความกว้างของหางต่อความกว้างลำตัว) เป็นต้น

7. บันทึกภาพ และวิเคราะห์ข้อมูลลักษณะทางสัณฐานของไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella* เพื่อจัดจำแนกชนิด บันทึกภาพถ่ายลักษณะทางสัณฐานและวัดขนาดของไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella* ที่ สำคัญภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง รวมถึงการวิเคราะห์ข้อมูลลักษณะทางสัณฐานของไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella* เพื่อจัดจำแนกชนิด PP 7/94(1): *Hirschmanniella* spp. (EPPO, 2009) และ Manual of agricultural nematology (Nickle (ed), 1991) และเอกสารอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง

8. ศึกษาลักษณะทางชีวโมเลกุลของไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella*

8.1 การสกัดดีเอ็นเอ

สกัดดีเอ็นเอตามวิธีการของ Schizas et al., 1997 ร่วมกับคำแนะนำของ GeneReleaser® (BioVentures) ที่แนบมากับผลิตภัณฑ์ ดังนี้ เขี่ยไส้เดือนฝอย 1 ตัว ใส่ลงบนหยด PCR Buffer II (500 mM KCl, 100 mM Tris-HCl, pH 8.3) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร บนสไลด์แก้ว ตัดตัวไส้เดือนฝอยออกเป็น 2-3 ท่อน แล้วดูดสารละลายทั้งหมดใส่ลงในหลอดไมโครทิวบ์ ขนาด 500 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 70oC เป็นเวลา 10 นาที แล้วเติม proteinase K ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 2 ไมโครลิตร ลงในหลอดและบ่มที่ 55 oC ใน water bath เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นนำหลอดไปบ่มใน heating block ที่อุณหภูมิ 100 oC เป็นเวลา 5 นาที เพื่อหยุดการทำงานของ proteinase K จากนั้นเติม GeneReleaser ปริมาตร 20 ไมโครลิตรลงในหลอด นำหลอดใส่ในเตาไมโครเวฟ เป็นเวลา 6 นาที ถ้าเตาไมโครเวฟเป็นชนิด 750 วัตต์ (สามารถปรับเวลาตามกำลังไฟของเตาไมโครเวฟให้ได้ 4,500 วัตต์-นาที ซึ่งเป็นช่วงที่เหมาะสม)

8.2 การเพิ่มปริมาณ DNA ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (Polymerase chain reaction: PCR)

การเพิ่มปริมาณ DNA ด้วยเทคนิค PCR ด้วยไพรเมอร์และขั้นตอนการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่รายงานโดย Subbotin et al. (2000) และ Habteweld et al. (2019) เมื่อปฏิกิริยาเสร็จสมบูรณ์ ตรวจสอบดีเอ็นเอผลผลิตด้วย 1.2% agarose gel electrophoresis ที่เติม Redsafe Nucleic Acid Straining Solution ใน 1X TBE buffer ใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ นาน 30 นาที ตรวจดูแถบดีเอ็นเอผลผลิตในเจลภายใต้แสง UV ด้วยเครื่อง ChemiDoc Touch Imaging System

8.3 การหาลำดับนิวคลิโอไทด์ (DNA sequencing)

นำดีเอ็นเอผลผลิต D2-D3 expansion region และ ITS1 regions ที่ได้จากการเพิ่มปริมาณ DNA มาทำให้บริสุทธิ์ด้วย Qiagen QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen) หรือ ExoSAP-IT® For PCR Product Clean-Up (Affymetrix) โดยใช้วิธีการตามคำแนะนำที่แนบมากับผลิตภัณฑ์ เตรียมตัวอย่างตามคำแนะนำและส่งตัวอย่างไปหาลำดับนิวคลิโอไทด์ (direct sequencing)

8.4 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลิโอไทด์กับฐานข้อมูล

วิเคราะห์ลำดับนิวคลิโอไทด์ของไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella* ที่ได้มาเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลจาก Genbank ด้วยโปรแกรม Blastn และวิเคราะห์ความผันแปรทางพันธุกรรมด้วยโปรแกรม Clustal Omega แล้วทำการจัดกลุ่มของไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella* ด้วยโปรแกรม MEGA 10 (Kumar *et al.,* 2018)

9. พิจารณาจัดจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella* จากทั้งสองวิธี (2565-2567) จำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella* อย่างสมบูรณ์โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาร่วมกับข้อมูลด้านชีวโมเลกุล

- การบันทึกข้อมูล ภาพและข้อมูลที่สำคัญในการวิเคราะห์ข้อมูลลักษณะทางสัณฐานของไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella* เพื่อจัดจำแนกชนิด บันทึกภาพถ่าย และข้อมูลจากการวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ เทคนิค PCR

เวลาและสถานที่ ตุลาคม 2564 – กันยายน 2565
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

เก็บตัวอย่างพืช และแยกไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella* จากพืช ระหว่าง เดือน ตุลาคม 2564 ถึง มิถุนายน 2565 จากพืช 66 ชนิด จากจังหวัดนครราชสีมา ฉะเชิงเทรา พะเยา น่าน นครปฐม นนทบุรี อยุธยา ปทุมธานี และเชียงใหม่ รวมทั้งสิ้น 1,289 ต้น และตรวจวินิจฉัยเมื่อพบว่าเป็นไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella* ทำการบันทึกการตรวจพบซึ่งในการศึกษานี้พบไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella* จำนวน 1,126 ตัว จากการศึกษาพบว่าไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella* ที่พบส่วนใหญ่มาจากพืชข้าว (*Oryza sativa*) จำนวน 571 ตัว พืช *Vallisneria* spp. จำนวน 267 ตัว พืช

Acorus spp.จำนวน 77 ตัว พืช *Hygrophila* spp.จำนวน 26 ตัว พืช *Elodea najas* จำนวน 18 ตัว พืช *Anubias barteri* var. *barteri* จำนวน 16 ตัว (Table 2) จากนั้นถ้าคาดว่าเป็นไส้เดือนฝอยตัวเต็มวัยจึงนำไปทำสไลด์ถาวรเพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาซึ่งจะนำไปสู่การจำแนกชนิดต่อไป ส่วนตัวอ่อนนำไปเลี้ยงในต้นข้าวเพราะการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาใช้ไส้เดือนฝอยตัวเต็มวัยส่วนใหญ่ของไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella* เข้าทำลายข้าวดังนั้นจึงนำตัวอ่อนนำไปเลี้ยงในต้นข้าว และทำสไลด์ถาวรของไส้เดือนฝอย *Hirschmanniella* จำนวน 75 ตัวอย่าง แต่ได้การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาใช้ไส้เดือนฝอยเพียงบางส่วนยังไม่ได้ดำเนินการอย่างสมบูรณ์ เนื่องจากเก็บตัวอย่างพืช การแยกไส้เดือนฝอย การตรวจวินิจฉัย และการการทำสไลด์ถาวร เป็นสิ่งที่ต้องทำอย่างเร่งด่วนก่อน เพราะเมื่อไส้เดือนฝอยอยู่ในขั้นตอนการเก็บไว้ใน staining block โดยตัวของไส้เดือนฝอยอยู่ใน anhydrous glycerin แล้วสามารถพัน staining block ด้วยพาราฟิล์มใส่ในโถดูดความชื้นสามารถเก็บไว้ได้หลายปี เมื่อพร้อมจึงนำมาทำสไลด์ถาวรได้ และได้แปลแนวทางวินิจฉัยเพื่อจัดจำแนกชนิดเบื้องต้น ตามแนวทางของ EPPO PP 7/94(1): *Hirschmanniella* spp. และไดโคโตมัสคีย์การจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella* และโพลีโตมัสคีย์ ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและรหัสที่ใช้ในการจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella* และเอกสารตีพิมพ์อื่นๆที่เกี่ยวข้องเพื่อสามารถจัดทำแนวทางการจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella* ให้ถูกต้องผลการจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella* โดยเปรียบเทียบกับแนวทางการวัดลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ PP 7/94(1): *Hirschmanniella* spp. (EPPO, 2009) และ Manual of agricultural nematology (Nickle (ed), 1991) สามารถกล่าวได้ว่าไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella* เพศเมีย จำนวน 15 ตัว พบว่าค่าที่ได้จากวัดลักษณะทางสัณฐานวิทยาไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella* ของการศึกษานี้มีค่าใกล้เคียง และอยู่ในช่วงเดียวกันทุกลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไส้เดือนฝอย *Hirschmanniella oryzae* ได้แก่ ความยาวของลำตัวของตัวอย่างที่ศึกษา (Body length) ความยาวของ Stylet การมีระบบสืบพันธุ์แบบ (Didelphic) ซึ่งระบบสืบพันธุ์ส่วนหน้า (Female gonad anterior branch) และส่วนท้าย (Female gonad posterior branch) มีความยาวค่อนข้างใกล้เคียงกัน ความยาวของส่วนปลายหัวถึงตำแหน่ง Excretory pore สัดส่วนของตำแหน่งของ Vulva ต่อความยาวลำตัว (Vulva %) ความกว้างของบริเวณทวาร และเปอร์เซ็นต์ ค่า De Man’s ratios โดยเปรียบเทียบ

ค่า a (อัตราส่วนของความยาวของลำตัวต่อส่วนที่กว้างที่สุดของลำตัว)

ค่า b' (อัตราส่วนของความยาวของลำตัวต่อความยาวของ esophageal glands)

ค่า c (อัตราส่วนของความยาวของลำตัวต่อความยาวหาง)

ค่า c' (อัตราส่วนของความยาวของลำตัวต่อความกว้างของของบริเวณ anus) (Table 1) และเมื่อพิจารณาร่วมกันของลักษณะทางสัณฐานวิทยาจากผลการวิจัยนี้สามารถจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella* และ ผลการวัดลักษณะสัณฐานวิทยาของไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella* พร้อมทั้งค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเปรียบเทียบกับผลการวัดลักษณะ

สัณฐานวิทยา (Table 1)(Figure 1) และ ไดโคโตมัสคีย์ในการจำแนกสกุลของไส้เดือนฝอยในวงศ์ Pratylenchidae และไดโคโตมัสคีย์ของสปีชีส์ในสกุล *Hirschmanniella* พบว่า ไส้เดือนฝอย *Hirschmanniella* ที่พบมีทั้งตัวผู้และตัวเมีย ตัวผู้มีอย่ทั่วไป ลักษณะส่วนหัวของตัวเมียโครงสร้างแข็งแรง มีส่วนของ Lip region ที่ค่อนข้างแบนเรียบไม่เป็นครึ่งวงกลม ความยาวของลำตัวของตัวอย่างที่ศึกษา (Body length) อยู่ในช่วง 1600 ไมครอน (µm) ถึง 2500 µm ความยาวของหลอดดูดอาหาร (stylet) อยู่ในช่วง 18.5 µm ถึง 25.0 และมีพัฒนาการดีตำแหน่ง และปุ่มควบคุมหลอดดูดอาหาร (Stylet basal knobs) มีพัฒนาการดี รูปร่างกลมและขนาดค่อนข้างเท่ากัน ในส่วนของหลอดอาหาร (Oesophagus) ค่อนข้างยาวแบ่งออกเป็น 3 ส่วน 1) หลอดอาหารส่วนบน (Porcorpus) ซึ่งมีลักษณะรูปทรงกระบอก 2)หลอดอาหารส่วนกลาง (Metacorpus) เป็นทรงรีและมีพัฒนาการดีจนสามารถมองเห็นอวัยวะที่เกี่ยวข้องได้ชัดเจน เช่น มีระบบมีลักษณะลิ้นเปิด-ปิด (Valvular Apparatus) หรือ pump chamber ท่ออาหารอย่างชัดเจน และพบช่องขับถ่ายของเสีย (Excretory pore) และท่อลำเลียงของเสีย (Excretory duct) อยู่ก่อนเทียบกับ pharyngo-intestinal junction (PIJ) ส่วนของหลอดอาหาร (Oesophagus) ค่อนข้างยาวและซ้อนทับกับลำไส้ไปด้านท้องของลำตัว ผิวหนังค่อนข้างบางเรียบ ลักษณะหางยาว ประมาณ 4.3-5.5 เท่าของ ความกว้างของของบริเวณ anus และมีลักษระเป็นทรงโคนค่อนข้างยาวแคบ (elongate-conoid)ปลายหางมีติ่งหนามเหมือนเข็มอยู่ด้านท้อง 1 อัน มีค่า c' (อัตราส่วนของความยาวของลำตัวต่อความกว้างของของบริเวณ anus) เท่ากับ 7.5 หรือ น้อยกว่า ส่วนใหญ่อยู่ในช่วง 3.0 ถึง 6.9 ระบบสืบพันธุ์ของเพศเมียเป็นแบบ (Didelphic) ในส่วนของอวัยวะเพศเมียมีแขนงของระบบสืบพันธุ์อยู่ตรงข้ามกันระหว่างด้านหน้าและด้านท้ายมีความยาวและขนาดใกล้เคียงกัน) ตำแหน่งอวัยวะเพศเมียอยู่ค่อนขางกึ่งกลางลำตัวประมาณร้อยละ 47-55 ของความยาวลำตัว ภายในมีถุงเก็บน้ำเชื้อตัวผู้ (Spermatheca) รูปร่างกลม หรือบางครั้งพบรูปร่างวงรีภายในบรรจุเชื้ออสุจิ ซึ่งหลายชนิดมีเฉพาะถุงเก็บน้ำเชื้อแต่ภายในไม่มีเชื้ออสุจิ ในส่วนของเพศผู้ส่วนใหญ่คล้ายกันยกเว้นมีหลายชนิดที่เพศผู้หายากมีน้อย เป็นส่วนสำคัญในการจำแนกชนิด ส่วนลักษณะอื่นๆค่อนข้างคล้ายกันไม่ว่าจะเป็นส่วนของ bursa ที่เริ่มมีช่วงโคนของ spicule และครอบคุมไปถึงเกือบสุดปลายหาง ส่วน spicule โค้งงอคล้ายคันศร ส่วนของ gubernaculum ไม่ค่อยยื่นออกมา

ดังนั้นจากข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไส้เดือนฝอยศัตรูพืช *Hirschmanniella* และค่าการวัดลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ศึกษาได้ เปรียบเทียบกับเอกสารอ้างอิงข้างต้น สามารถจัดจำแนกชนิดได้เป็นไส้เดือนฝอย *Hirschmanniella oryzae* (Van Breda de Haan, 1902) Luc & Goodey, 1964

โดยมีการจัดหมวดหมู่ดังนี้ *Hirschmanniella oryzae* (Van Breda de Haan, 1902) Luc & Goodey, 1964

โดเมน (Domain) : Eukaryota
อาณาจักร (Kingdom) : Metazoa
ไฟลัม (Phylum) : Nematoda

ชั้น (Class) : Secernentea
อันดับ (Order) : Tylenchida
อันดับย่อย (Suborder) ylenchina
วงศ์ (Family) : Pratylenchidae
สกุล (Genus) : *Hirschmanniella*
ชนิด (Species) : *Hirschmanniella oryzae*

ซึ่งมีชื่อพ้องดังนี้ : *Anguillulina oryzae* (van Breda de Haan) Goodey
Hirschmannia oryzae (van Breda de Haan) Luc & Goodey
Hirschmanniella abnormalis Renubala, Dhanachand & Gambhir
Hirschmanniella exigua Khan
Radopholus oryzae (van Breda de Haan) และยังมีชื่อพ้องอื่น (Siddiqi, 2000)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เก็บตัวอย่างพรรณไม้น้ำ ระหว่าง เดือน ตุลาคม 2564 ถึง มิถุนายน 2565 จากพืช 66 ชนิด จากจังหวัดนครราชสีมา ฉะเชิงเทรา พะเยา น่าน นครปฐม นนทบุรี อยุธยา ปทุมธานี และเชียงใหม่ รวมทั้งสิ้น 1,289 ต้น และตรวจวินิจฉัยเมื่อพบว่าเป็นไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella* ทำการบันทึกการตรวจพบซึ่งในการศึกษานี้พบไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella* จำนวน 1,126 ตัว จากการศึกษาพบว่าไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella* เพศเมียเต็มวัย 15 ตัวศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา และวัดลักษณะสัณฐานวิทยาของไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella* พร้อมทั้งค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน พบว่าเป็นไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella oryzae*

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นางสาวอังคณา พวงเงินมาก นายอนุทธัต อู่หิรัญ นางสาวจุฑามาส ฮวดประสิทธิ์ นายอภิชัย อยู่เอี่ยม กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร และสถานประกอบการผู้ส่งออกไม้ประดับ และพรรณไม้น้ำทุกแห่งที่ให้ความร่วมมือกับภาครัฐอย่างดียิ่ง

เอกสารอ้างอิง

ธิติยา สารพัฒน์ ไตรเดช ข่ายทอง วีรกรณ์ แสงไสย์ และวานิช คำพานิช . 2559. *สถานการณ์การตรวจวินิจฉัยไส้เดือนฝอยศัตรูพืชในพรรณไม้น้ำเพื่อการส่งออก*. การประชุมวิชาการประจำปี 2559. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช.กรมวิชาการเกษตร.หน้า 41-53.

De Grisse, A.T. 1969. Redescription ou modifications dequelques techniques utilisées dans l'étude des nématodesphytoparasitaires. *Mededelingen Rijksfakulteit Landbouw-wetenschappenGent* 34: 351-369.

EPPO.2013. PM 7/119 (1) Nematode extraction. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 43, 471–495. Available from https://doi.org/10.1111/epp.12077(17/02/2020).

EPPO. 2009. PP 7/94(1): *Hirschmanniella* spp. Bulletin OEPP / EPPO Bulletin 39, 369–375. (online). Available from https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.2009.02324.x (17/02/2020).

Habteweld, A., F., Akyazi, J., Soumi, C., William., A. Eyualem., M., Tesfamariam, A., Zafar. 2019. Description of *Hirschmanniella dicksoni* n. sp. (Nematoda: Pratylenchidae) from rhizosphere soil of limpograss from Florida, USA. *Journal of nematology*. 51. 1-15. DOI: 10.21307/jofnem-2019-083

Kumar, S., G. Stecher, M. Li, C. Knyaz, and K. Tamura. 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution* 35: 1547-1549.

Mai, W.F., P.G. Mullin, H.H. Lyon and K. Loeffler. 1996. *Plant-parasitic nematodes: a pictorial key to genera*. Cornell University Press, New York. pp.277.

Nickle, W.R. (ed) .1991. *Manual of agricultural nematology.* Marcel Dekker,INC. New York. pp.1035.

Pliansinchai, U and A. Boonduang. 1986. A systematic study of *Pratylenchidae* in Thailand. *Nematodelogy Section Technical Bulletin No.4*. Plant pathology and Microbiology Division. Department of Agriculture.

Ryss, A.Y. and W. Karnkowsk. 2010. Hirschmanniella caudacrena Sher, 1968 intercepted in aquarium plants imported to Poland. *Journal compilation 2010 OEPP/EPPO*, Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 40: 204–210.

Schizas, N., Street, G.T., Coull, B.C., Chandler, G. and Quattro, J. 1998. An efficient DNA extraction method for small metazoans. *Molecular marine biology and biotechnology*. 6. 381-3.

Siddiqi, M.R. 2000. *Tylenchida: parasites of plant sand insects*. 2nded. CABI Publishing UK, Wallingford GB. pp.353–358.

Subbotin, S.A., Sturhan, D., Chizhov, V.N., Vovlas,N.& Baldwin, J.G. 2006. Phylogenetic analysis of Tylenchida Thorne, 1949 as inferred from D2 and D3 expansion fragments of the 28S rRNA gene sequences. *Nematology*. 8(3): 455-474

Table 1 Morphometric characteristics of female of *Hirschmanniella* comparison between this study and *Hirschmanniella gracilis*, *H. oryzae* (India) and *H. oryzae* (Taiwan) from mean± standard deviation of 15 different samples (measurement in µm)

Character	*H.gracilis*	*H. oryzae*	*H. oryzae*	*H. oryzae*	
Female	(EU)	(India)	(Taiwan)	This study	
Body length	1.48–2.22	1.03-1.55	1.4-1.6	1.61-2.25	(1.70±0.19)
a	50–65	53-65	52-58	53.70 -71.48	(56.81±0.19)
b	11–17	-	-	-	-
b'	5.2– 8.7	4.5-7.2	-	4.11 -6.97	(5.87±0.80)
c	14–21	15-19	13-17	12.22 -18.91	(15.73±2.46)
c'	4.0–6.1	4.3-5.5		3.92 -6.78	(5.94±0.91)
Stylet length	20–24	16-19	19-20	18.30 -26.63	(22.20±2.42)
% Vulva position	48–55	50-55	48-54	47.1 -55.66	(50.47±2.99)

Table 2 Conducting sampling of aquatic plants in the diagnosis of plant - parasitic nematodes of the genus *Hirschmanniella*

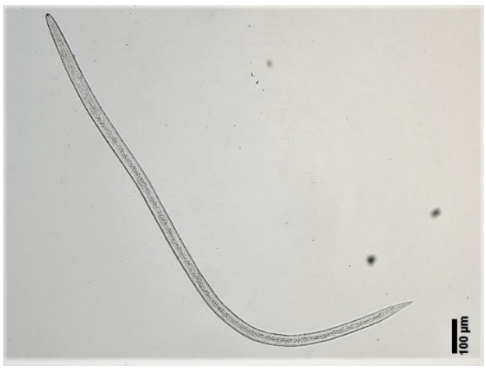
No.	List of aquatic plants	Thai name	Source of samples	Quantity plants	Number of *Hirschmanniella*	Total number of *Hirschmanniella*
1	*Acorus* spp.	ว่านน้ำ	Nakhon Ratchasima	31	34	34
			Chachoengsao	13	43	43
2	*Acorus gramineus*		Nakhon Ratchasima	20	0	0
3	*Alternanthera lilacina*		Nakhon Ratchasima	10	0	0
4	*Alternanthera sessilis*	ผักเป็ดแดง	Phayao	10	6	6
5	*Alternanthera* spp.		Nakhon Ratchasima	24	2	2
6	*Anubias barteri* 'Broad Leaf'		Nakhon Ratchasima	11	0	0
7	*Anubias barteri* var. *barteri*		Chachoengsao	20	16	16
8	*Anubias congensis*		Chachoengsao	15	1	1
9	*Anubias nana*		Nakhon Ratchasima	11	2	6
			Chachoengsao	15	4	4
10	*Bacopa crenata*		Chachoengsao	30	0	0
11	*Bacopa caroliniana*		Chachoengsao	30	0	0
12	*Bacopa monnieri*	พรมมิ	Phayao	10	7	7
13	*Blyxa echinosperma*	สันตะวาใบข้าว	Nan	10	5	5
14	*Blyxa echinosperma*	สันตะวาหางไก่	Nan	10	6	6

Table 2 Conducting sampling of aquatic plants in the diagnosis of plant - parasitic nematodes of the genus *Hirschmanniella* (continue)

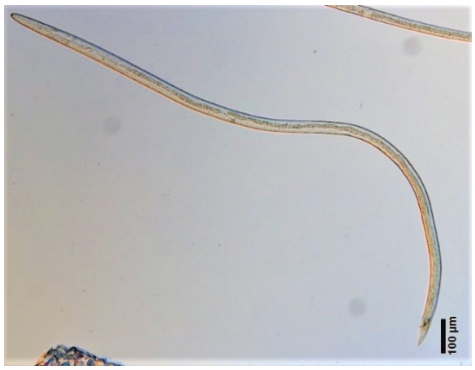
No.	List of aquatic plants	Thai name	Source of samples	Quantity plants	Number of *Hirschmanniella*	Total number of *Hirschmanniella*
15	*Bucephalandra* Apple Leaf		Nakhon Ratchasima	10	0	0
16	*Cabomba aquatica*		Nakhon Ratchasima	10	0	0
17	*Cabomba caroliniana*		Chachoengsao	30	0	0
18	*Ceratophyllum demersum*	สาหร่ายพุงชะโด	Nakhon Pathom	20	9	9
19	*Ceratopteris thalictroides*	ผักกูดนา ผักกูดเขากวาง	Nan	10	9	9
20	*Cryptocoryne balansae* (RED)		Chachoengsao	20	0	0
21	*Cryptocoryne axelrodi*		Nakhon Ratchasima	15	0	0
22	*Cryptocoryne parva*		Nakhon Ratchasima	15	0	0
23	*Cryptocoryne undulatus*		Nakhon Ratchasima	15	0	0
24	*Cryptocoryne retrospilasis*		Chachoengsao	20	0	0
25	*Echinodorus arna*		Nakhon Ratchasima	22	0	0
26	*Echinodorus cordifolius*		Nakhon Ratchasima	22	0	0
27	*Echinodorus* spp.	อเมซอน	Nakhon Ratchasima	22	2	2
28	Eleocharis parvulus		Chachoengsao	10	1	1
29	*Elodea najas*		Chachoengsao	10	18	18
30	*Elodea* spp.		Nakhon Ratchasima	24	1	1
31	*Eriocaulon setaceum*	สาหร่ายหัวไม้ขีด หรือกระดุมน้ำ	Phayao	10	10	10
32	*Eriocaulon spp.*	กระดุม	Nakhon Ratchasima	12	1	1
33	*Helanthium spp.*		Nakhon Ratchasima	18	1	1
34	*Hydrocotyle sibthorpioides*	แว่นแก้ว	Nan	10	4	4
35	*Hygrophila corymbosa*	หางนกยูงใบยาว	Nakhon Ratchasima	10	2	12
			Chachoengsao	10	10	
36	*Hygrophila difformis*	ดาวกระจายเขากวาง	Nan	10	0	0
37	*Hygrophila polysperma*	ขาไก่	Nakhon Ratchasima	10	0	0
38	*Hygrophila rosanervis*	ขาไก่ลาย	Nakhon Ratchasima	10	0	0
38	*Hygrophila rosanervis*	ขาไก่ลาย	Chachoengsao	10	0	0
39	*Hydrilla verticillata*	สาหร่ายหางกระรอก	Nonthaburi	15	10	10
40	*Hygrophila* spp.		Nakhon Ratchasima	23	5	5

Table 2 Conducting sampling of aquatic plants in the diagnosis of plant - parasitic nematodes of the genus *Hirschmanniella* (continue)

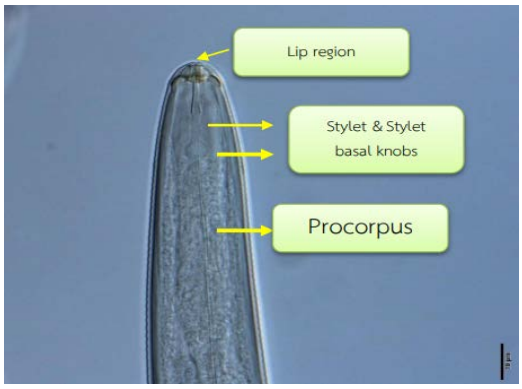
No.	List of aquatic plants	Thai name	Source of samples	Quantity plants	Number of *Hirschmanniella*	Total number of *Hirschmanniella*
41	Lilaeopsis Novae-Zelandiae		Nakhon Ratchasima	10	0	0
42	Lilaeopsis *aromatica*	ผักแขยง	Phayao	10	5	5
43	*Lindernia* spp.		Nakhon Ratchasima	22	1	1
44	*Limnophila heterophylla*	สาหร่ายฉัตร	Nakhon Pathom	10	3	3
45	*Limnophila* spp.		Nakhon Ratchasima	22	11	11
46	*Ludwigia repens*		Nakhon Ratchasima	10	0	0
47	*Ludwigia adscendens*	แพงพวยน้ำ ผักปอดน้ำ	Nan	10	0	0
48	*Microsorium spp.*		Nakhon Ratchasima	22	2	2
49	*Najas* spp.		Chachoengsao	20	3	3
50	*Nomaphila* spp.		Nakhon Ratchasima	24	0	0
51	*Nymphaea* spp.		Nakhon Ratchasima	24	0	1
52	*Nymphooides* spp.		Nakhon Ratchasima	18	1	1
53	*Nuphar japonica*		Chachoengsao	10	0	0
54	*Ophiopogon japonica*		Chachoengsao	20	0	0
55	*Oryza sativa*	ข้าว	Ayutthaya	10	203	203
			Pathum Thani	20	312	312
			Chiang Mai	20	56	56
56	*Piptospatha spp.*		Nakhon Ratchasima	12		2
57	*Pista* stratiotes	จอก	Nonthaburi	15	0	0
58	*Rotala sp. (green)*		Nakhon Ratchasima	10	0	0
59	*Rotala wallichii*	สาหร่ายแปรงล้างขวด	Ayutthaya	20	13	13
60	*Rotala* spp.		Nakhon Ratchasima	22	5	5
61	*Saururus* cernuus		Chachoengsao	20	0	0
62	*Trapa bicornis*	กระจับเขาควาย	Ayutthaya	10	0	0
63	*Trapa* spp.		Nakhon Ratchasima	20	6	6
			Chachoengsao	12	0	0
64	*Vallisneria spiralis*	เทปเกลียว เทปเล็ก	Nakhon Ratchasima	20	0	5
			Chachoengsao	35	5	5
65	*Vallisneria gigantea*	เทปยักษ์	Nakhon Ratchasima	20	0	0
66	*Vallisneria* spp.	เทป	Nakhon Ratchasima	23	212	212
			Chachoengsao	40	55	55
	Total quantity plants samples			**1289**		
	Total number of *Hirschmanniella*					**1126**



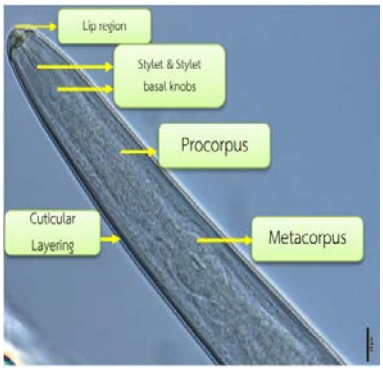
A) Female body



B) Male body

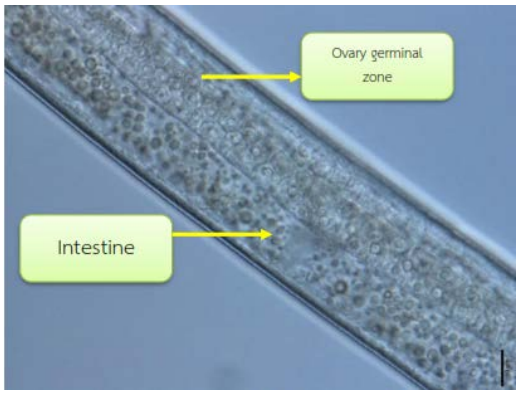


C) Lip region, stylet, stylet knobs and procorpus

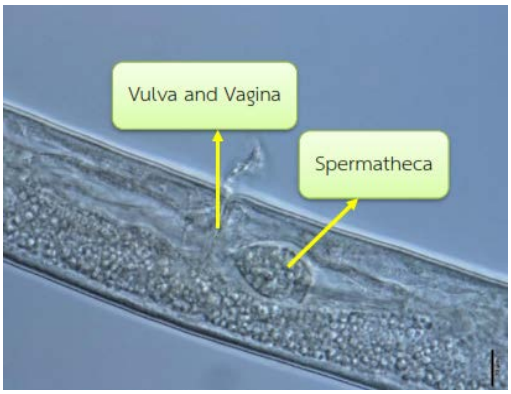


D) Anterior end, procorpus, metacorpus and cuticular layering

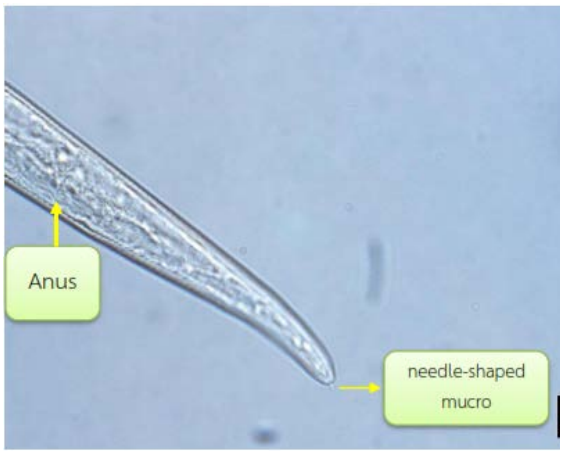
Figure 1 Differential interference contrast (DIC) microscope photographs of *Hirschmanniella*. (A) The female's whole-body length is well over 1 mm. (B) The whole male body, and males are common. (C) The lip region is not hemispherical, and the stylet well-defined with rounded, equal-sized knobs. (D) Anterior end, including the long pharyngeal glands overlapping the intestine's ventral region. Procorpus well-developed and has a cylindrical form. Metacorpus well-developed and elongate to ellipsoidal shape with distinctly valves. (E) The female genital system is composed of two opposed branches (Didelphic) which have two functional and equally developed ovaries. (F) The female gonad, with a spheroid spermatheca filled with sperm cells. (G) A tail with an elongate-conoid shape with a pointed or rounded terminus that has a ventral needle-shape mucro. (H) The bursa is present in the males, arising near the head of the spicule and ending near the tail tip, and the spicules are slightly arcuate and set off distinctly



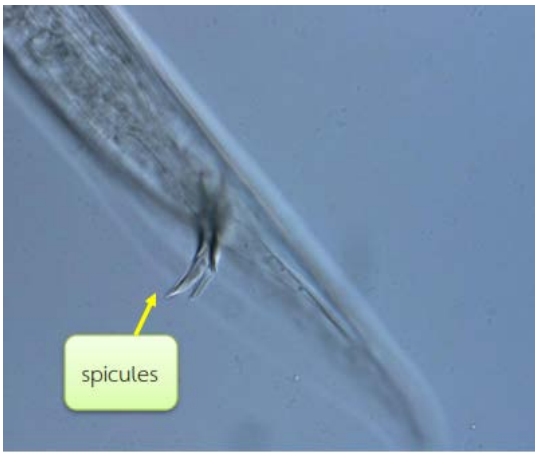
E) The female genital system; Ovary germinal zone and Intestine



F) Female gonad and Spermatheca



G) Tail terminus



H) Bursa and Spicules

Figure 1 Differential interference contrast (DIC) microscope photographs of *Hirschmanniella*. (A) The female's whole-body length is well over 1 mm. (B) The whole male body, and males are common. (C) The lip region is not hemispherical, and the stylet well-defined with rounded, equal-sized knobs. (D) Anterior end, including the long pharyngeal glands overlapping the intestine's ventral region. Procorpus well-developed and has a cylindrical form. Metacorpus well-developed and elongate to ellipsoidal shape with distinctly valves. (E) The female genital system is composed of two opposed branches (Didelphic) which have two functional and equally developed ovaries. (F) The female gonad, with a spheroid spermatheca filled with sperm cells. (G) A tail with an elongate-conoid shape with a pointed or rounded terminus that has a ventral needle-shape mucro. (H) The bursa is present in the males, arising near the head of the spicule and ending near the tail tip, and the spicules are slightly arcuate and set off distinctly (continue)

การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้าแก้วมังกร จากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก

Pest Risk Assessment for the Importation of Dragon Fruit from the Countries in the Asia Pacific Region

คมศร แสงจินดา[1/] สุคนธ์ทิพย์ สมบัติ[1/] โสภา มีอำนาจ[1/]
เกศสุดา สนศิริ[2/] สาวสุณีรัตน์ สีมะเดื่อ[3/]
[1/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[3/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของแก้วมังกรจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก ระหว่างเดือนตุลาคม 2565 - กันยายน 2565 ณ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช แก้วมังกร (dragon fruit, Pitaya) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Hylocercus undatus* (Haw) Brit. & Rose อยู่ในวงศ์ Cactaceae ซึ่งเป็นวงศ์เดียวกับตะบองเพชร การขยายพันธุ์สามารถทำได้โดยใช่ เมล็ด หรือกิ่งพันธุ์ ปัจจุบันมีหลายประเทศปลูกแก้วมังกรเพื่อการค้า เช่น เวียดนาม ศรีลังกา ฟิลิปปินส์ กัมพูชา ไทย ไต้หวัน มาเลเซีย อินโดนีเซีย และ บังกลาเทศ ในปี 2560 ประเทศไทยมีการนำเข้าผลสดแก้วมังกรจากเวียดนาม ปริมาณ 39,407,244.80 กิโลกรัม มูลค่า 511,318,451.01 บาท การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ขั้นตอนการจัดกลุ่มศัตรูพืช (Pest categorization) ของเมล็ดพันธุ์และกิ่งชำแก้วมังกรนำเข้าจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก ได้ชนิดศัตรูพืชที่มีโอกาสติดมากับกักกันของเมล็ดพันธุ์และกิ่งชำแก้วมังกรนำเข้าจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก ที่ไม่มีในประเทศไทย จำนวน 37 ชนิด คือ แมลง 13 ชนิด แบคทีเรีย 5 ชนิด รา 12 ชนิด ไส้เดือนฝอย 1 ชนิด และไวรัส 6 ชนิด ซึ่งจะนำไปดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนต่อไป

คำหลัก : แก้วมังกร ประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช เอเชียแปซิฟิก

รหัสการทดลอง FF65-55-02-65-00-02-65

คำนำ

ปัจจุบันประเทศไทยมีการเปิดการค้าเสรีกับหลาย ๆ ประเทศ (Free Trade Area, FTA) เพื่อชิงความได้เปรียบในการแข่งขันทางการค้า (กรมเจรจาค้าระหว่างประเทศ, 2553) รวมถึงการดำเนินงานภายใต้ยุทธศาสตร์ความร่วมมือทางเศรษฐกิจระหว่างไทยกับเพื่อนบ้าน (Ayeyawady-Chao Phraya-Mekong Economic Corporation Strategy, ACMECS) ระบบการค้า และระบบโลจิสติกส์ระหว่างประเทศหรือภูมิภาค ได้ขยายตัวอย่างรวดเร็ว ทำให้มีการเคลื่อนย้ายสินค้าเกษตรเป็นจำนวนและปริมาณมากเพิ่มขึ้น ซึ่งทำให้ศัตรูพืชมีโอกาสเคลื่อนย้ายจากสถานที่แห่งหนึ่งไปยังสถานที่ใหม่ด้วยเช่นเดียวกัน หลายประเทศจึงนำมาตรการทางสุขอนามัยพืชมาใช้เพื่อควบคุมการนำเข้า โดยมีวัตถุประสงค์หลักเพื่อปกป้องสินค้าเกษตรของประเทศตนเอง มิให้ศัตรูพืชกักกันจากต่างประเทศหลุดลอดเข้ามาทำความเสียหายต่อระบบการเกษตรภายในประเทศ

กฎหมายของประเทศไทยที่เกี่ยวข้องกับการนำเข้าและส่งออกสินค้าเกษตร คือ พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 และที่แก้ไขเพิ่มเติม ได้แบ่งประเภทสินค้าพืชออกเป็น 3 ประเภท ได้แก่ สิ่งต้องห้าม สิ่งกำกัด และสิ่งไม่ต้องห้าม ซึ่งมีขั้นตอนการพิจารณาอนุญาตการนำเข้า และขั้นตอนการนำเข้าที่แตกต่างกัน การนำเข้าพืช ผลิตผลพืช รวมถึงวัสดุปลูกที่นำเข้ามาพร้อมกับมีพืชที่ปลูกติดมากับวัสดุปลูกด้วย มีปริมาณการนำเข้ามาก จึงมีโอกาสที่ศัตรูพืชร้ายแรงจากต่างประเทศจะติดมากับพืชที่นำเข้า เช่น แมลงวันผลไม้เมดิเตอร์เรเนียน (Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*) ที่ติดมากับผลไม้นำเข้าเพื่อการบริโภค หรือการนำเข้าส่วนขยายพันธุ์พืช เช่น เมล็ดพันธุ์ หัวพันธุ์ กิ่งพันธุ์ หรือกิ่งชำ ต้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ รวมถึงวัสดุปลูกที่นำเข้าร่วมกับพืชปลูก อาจเกิดการแพร่กระจายศัตรูพืชกักกันร้ายแรงอุบัติใหม่หรือชนิดใหม่ที่ไม่มีรายงานพบในประเทศไทย เช่น แบคทีเรีย *Xylella fastidiosa*, *Xylophilus ampelinus* ไวรัส *Grapevine leafroll-associated viruses* ไฟโตพลาสมา *Grapevine yellows phytoplasmas* ที่มีโอกาสติดมากับกิ่งพันธุ์องุ่น เป็นพืชสิ่งไม่ต้องห้าม ไส้เดือนฝอย *Ditylenchus destructor* ที่มีโอกาสติดมากับหัวพันธุ์ลิลลี่ และเชื้อรา *Cylindrosporium phalaenopsidis* ที่มีโอกาสติดมากับต้นกล้วยไม้ เป็นพืชสิ่งกำกัด รวมถึงสัตว์ศัตรูพืช เช่น หอย ที่มีโอกาสติดมากับวัสดุปลูกที่อาจเคลื่อนย้ายวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูก ซึ่งปัจจุบันยังไม่มีข้อกำหนดการนำเข้าด้านสุขอนามัยพืชที่เหมาะสม การนำเข้าเพื่อการค้าที่มีปริมาณมากจึงมีความเสี่ยงของศัตรูพืชมากส่วนการนำเข้าพืชเพื่อการเพาะปลูก (plant for planting) เป็นกลุ่มสินค้าที่มีความเสี่ยงสูงกว่ากลุ่มอื่น

พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 มาตรา 8 (2) กำหนดว่าการนำเข้าหรือ นำผ่าน ซึ่งสิ่งต้องห้ามเพื่อการค้าจะต้องผ่านการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช และปฏิบัติตามหลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไขที่อธิบดีกำหนด ซึ่งการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเป็นกระบวนการประเมินหลักฐานด้านชีววิทยาหรือด้านวิทยาศาสตร์ และด้านเศรษฐกิจเพื่อบ่งชี้ว่าศัตรูพืชชนิดใดควรจะต้องมีการควบคุม และระดับความเข้มงวดของมาตรการสุขอนามัยพืชที่จะนำมาใช้ในการควบคุมศัตรูพืชชนิดนั้น โดยมีจุดเริ่มต้นการวิเคราะห์ ซึ่งเป็นผลจากการระบุชี้เส้นทางผ่าน (PRA initiated by the identification

of a pathway) หรือการระบุชี้ชนิดศัตรูพืช (PRA initiated by the identification of a pest) หรือการทบทวนนโยบาย (PRA initiated by the revision of a policy) การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชที่เริ่มต้นโดยการระบุขี้เส้นทางผ่าน เช่น การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของพืชที่มีการนำเข้า ซึ่งส่วนของพืชที่นำเข้าคือเส้นทางผ่าน ในปัจจุบันมีประเทศคู่ค้าหลายประเทศได้ยื่นขอเปิดตลาดนำเข้าพืชสิ่งต้องห้ามชนิดใหม่ที่ไม่เคยอนุญาตการนำเข้ามาก่อน เพื่อการบริโภค เช่น ผลเชอรี่สดและผลแก้วมังกรสด หรือวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูก นอกจากนี้ พบว่ามีการนำเข้าพืชบางชนิดที่มีสถานภาพเป็นสิ่งกำกัด เช่น ส่วนขยายพันธุ์ลิลลี่และกล้วยไม้ ตลอดจนการนำเข้าพืชที่มีสภานภาพเป็นสิ่งไม่ต้องห้าม เช่น ผลบลูเบอรี่สด และส่วนขยายพันธุ์องุ่น โดยที่พืชดังกล่าวอาจมีศัตรูพืชร้ายแรงติดมากับส่วนที่นำเข้า จึงจำเป็นต้องวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเพื่อใช้เป็นหลักฐานสนับสนุนในการเปลี่ยนสถานภาพของพืชจากสิ่งกำกัดหรือสิ่งไม่ต้องห้ามให้เป็นสิ่งต้องห้ามต่อไป

ดังนั้นการศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้าสินค้าเกษตรจากต่างประเทศจึงมีความจำเป็นเพื่อทราบว่าศัตรูพืชชนิดใดที่ต้องมีการควบคุมและหาแนวทางการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชเพื่อจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช ป้องกันศัตรูพืชร้ายแรงไม่ให้เข้ามาแพร่ระบาดทำความเสียหายแก่ภาคการเกษตรของไทย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. มาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 2 เรื่อง กรอบสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Framework for Pest Risk Analysis (2007))

2. มาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกัน (Pest Risk Analysis for Quarantine Pests (2013))

3. แนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืชของประชาคมตลาดร่วมแคริบเบียน (Caribbean Community and Common Market, CARICOM)

4. หนังสือ ตำรา วารสาร เอกสารวิชาการที่เกี่ยวข้อง ทั้งในและต่างประเทศ และฐานข้อมูลออนไลน์ เช่น Crop Protection Compendium, Description of Fungi and Bacteria, Description Maps of Plant Pests, Description Maps of Plant Diseases เป็นต้น

5. วัสดุคอมพิวเตอร์ เช่น หมึกพิมพ์ และแผ่นบันทึกข้อมูล เป็นต้น

6. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างศัตรูพืช เช่น พู่กัน กล่องพลาสติก เป็นต้น

7. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น ขวดแก้ว อุปกรณ์ในการทำสไลด์ กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และ compound microscope เป็นต้น

8. สารเคมี เช่น สารเคมีสำหรับเก็บรักษาตัวอย่างศัตรูพืช สารเคมีกันเชื้อรา สารเคมีสำหรับเตรียมอาหาร

วิธีการ

มีขั้นตอนและวิธีดำเนินการดังนี้

1. การสืบค้นและรวบรวมข้อมูล

1.1 สืบค้นและรวบรวมข้อมูลทั่วไปของแก้วมังกรที่นำเข้า เช่น ชื่อวิทยาศาสตร์ พันธุ์หรือสายพันธุ์ แหล่งผลิตในประเทศผู้ส่งออก ผลผลิต การรับรองสุขอนามัยของประเทศผู้ส่งออก เป็นผลสด เมล็ดพันธุ์และกิ่งพันธุ์

1.2 สืบค้นและรวบรวมข้อมูลศัตรูแก้วมังกร เช่น ชื่อวิทยาศาสตร์ การจำแนกทางอนุกรมวิธาน พืชอาศัย/พืชอาหาร ลักษณะการทำลาย การแพร่ระบาด ความเสียหายของผลผลิตที่เกิดจากการทำลายของศัตรูพืช ที่มีรายงานในประเทศไทย และประเทศอื่น ๆ

2. การตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับแก้วมังกรนำเข้าในห้องปฏิบัติการ

เก็บตัวอย่างแก้วมังกรนำเข้าจากด่านตรวจพืช นำมาตรวจสอบศัตรูพืชดังนี้

2.1 ตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับแก้วมังกรนำเข้า เช่น แมลง ไร หอย วัชพืช เชื้อรา และแบคทีเรีย โดยตรวจสอบภายนอกหรือผ่าดูภายในหากพบอาการผิดปกติ และสังเกตลักษณะผิดปกติที่อาจเกิดจากโรคพืชหรือแมลงศัตรูพืช

2.2 หากพบแมลง ไร หอย และวัชพืช จะตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและสูงจำแนกกลุ่มของแมลง ไร หอย และวัชพืช โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphology) และส่งจำแนกชนิดต่อไป

2.3 หากพบอาการผิดปกติที่อาจเกิดจากเชื้อสาเหตุโรคพืชให้ตรวจสอบด้วยวิธีการ ดังนี้

(1) ตรวจสอบเชื้อราด้วย Blotter method (Mathur and Kongdal, 2003) และตรวจจำแนกชนิดของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและกำลังขยายสูง จากนั้นแยกตรวจสอบจำแนกเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) เพื่อตรวจสอบและจำแนกชนิดของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและกำลังขยายสูง

(2) ตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย ด้วย Dilution plate method เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar (NA) เพื่อตรวจสอบและจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

3. การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

ดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเชิงคุณภาพ ในการนำเข้าผลสด เมล็ดพันธุ์และกิ่งพันธุ์แก้วมังกร จากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิกโดยการประยุกต์แนวทางการวิเคราะห์ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 2 เรื่อง กรอบสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Framework for Pest Risk Analysis adopted 2007) (FAO, 2007) และฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกัน (Pest risk analysis for quarantine pests, adopted 2013) (FAO, 2013) และแนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืชของประชาคมตลาดร่วมแคริบเบียน (Caribbean Community and Common Market) (CAHFSA, 2016) ซึ่งประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 การเริ่มวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 1: Initiation)

1.1 ระบุจุดเริ่มต้นของการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช/ระบุพื้นที่ซึ่งมีการดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช/ตรวจสอบว่าเคยมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงโดยศัตรูพืช หรือเส้นทางศัตรูพืช หรือนโยบายของรัฐจากแหล่งข้อมูลภายในประเทศไทยและต่างประเทศพิจารณานำมาใช้ประกอบการวิเคราะห์ศัตรูพืช

1.2 นำข้อมูลศัตรูพืชที่ได้จากการสืบค้นและรวบรวมจากหนังสือ ตำรา เอกสารวิชาการ ฐานข้อมูลศัตรูพืช และจากการตรวจสอบศัตรูพืชที่พบติดมากับแก้วมังกรที่นำเข้าจากต่างประเทศมาจัดทำตารางศัตรูพืชเพื่อใช้สำหรับการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนต่อไป

ขั้นตอนที่ 2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 2: Pest Risk Assessment)

การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชมี 4 ขั้นตอนที่สัมพันธ์กัน ดังนี้

2.1 การจัดประเภทศัตรูพืช (Pest categorization)

2.1.1 นำรายชื่อศัตรูพืชที่ได้จากขั้นตอนที่ 1 มาพิจารณาจัดประเภทศัตรูพืชว่ามีคุณสมบัติเป็นศัตรูพืชกักกันหรือไม่ โดย (1) ระบุชนิดของศัตรูพืช (pest identity) (2) ตรวจสอบว่าเป็นศัตรูพืชที่มีพบในประเทศไทยหรือไม่ (3) ตรวจสอบสถานภาพการควบคุมศัตรูพืช (Regulatory status) กรณีที่ศัตรูพืชชนิดนั้นมีปรากฏในประเทศไทย (4) ประเมินศักยภาพของศัตรูพืชในการเข้ามาตั้งรกรากและการแพร่กระจายในประเทศไทยหรือไม่ โดยพิจารณาข้อมูลทางชีววิทยาของศัตรูพืช สภาพแวดล้อมและสภาพภูมิอากาศที่เหมาะสมต่อการเจริญแพร่ขยายพันธุ์ พืชอาศัย/พืชอาหาร และพาหะของศัตรูพืชชนิดนั้นที่มีรายงานการพบในประเทศไทย (5) ประเมินศักยภาพของศัตรูพืช ในการก่อให้เกิดผลตามมาทางเศรษฐกิจในประเทศไทย

2.1.2 จัดทำตารางผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนการจัดประเภทศัตรูพืช และนำรายชื่อศัตรูพืชที่มีศักยภาพติดมากับเส้นทางศัตรูพืช (ส่วนของพืชที่นำเข้า) มีในประเทศผู้ส่งออก และไม่มีในประเทศไทย หรือมีแต่อยู่ภายใต้การควบคุมอย่างเป็นทางการ มีศักยภาพในการตั้งรกรากและการแพร่กระจายในประเทศไทย ตลอดจนมีศักยภาพที่จะทำให้เกิดความเสียหายหรือผลกระทบทางเศรษฐกิจไปวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป

บันทึกข้อมูล: รายละเอียดของศัตรูพืชแต่ละชนิด เช่น พืชอาศัย ชีววิทยา นิเวศวิทยา พาหะของศัตรูพืชชนิดนั้นมีในประเทศไทยหรือไม่ รวมถึง สถานภาพของศัตรูพืชแต่ละชนิดว่ามีรายงานพบในประเทศไทยหรือไม่ เอกสารอ้างอิง

2.2 การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการนำเข้ามาและแพร่กระจายของศัตรูพืช (Assessment of the probability of introduction and spread)

นำรายชื่อศัตรูพืชที่ได้จากการประเมินในข้อ 2.1 มาประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการนำเข้ามาและแพร่กระจายของศัตรูพืชภายหลังการตั้งรกรากของศัตรูพืช โดยแยกประเมินศัตรูพืชแต่ละชนิด ดังนี้

2.2.1 การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการนำเข้ามา (introduction) ของศัตรูพืชประกอบด้วย

(1) การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการเข้ามา (probability of entry) ของศัตรูพืช โดยประเมินความน่าจะเป็นไปได้ที่ศัตรูพืชจะปะปนมากับกิ่งพันธุ์ เมล็ด และผลแก้วมังกรที่นำเข้ามาในประเทศไทย

(2) การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการตั้งรกราก (probability of establish) ของศัตรูพืช โดยประเมินความน่าจะเป็นไปได้ที่ศัตรูพืชสามารถมีชีวิตอยู่รอดและเจริญแพร่ขยายพันธุ์ได้ในประเทศไทย

2.2.2 การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการแพร่กระจายหลังการตั้งรกราก (Probability of spread after establishment) Spread) โดยประเมินความน่าจะเป็นไปได้ที่ศัตรูพืชสามารถแพร่กระจายในประเทศไทย

ปัจจัยที่นำมาใช้พิจารณาประเมินความน่าจะเป็นไปได้ใช้ตามแนวทางการวิเคราะห์ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกัน (FAO, 2013) สำหรับรายละเอียดหลักเกณฑ์การประเมินความน่าจะเป็นไปได้แต่ละเหตุการณ์ ตลอดจนการรวมผลการประเมินใน 2 เหตุการณ์ โดยใช้กฎเมตริกซ์สำหรับการรวมโอกาสที่จะเกิดขึ้นเชิงคุณภาพ (Matrix of rules for combining qualitative likelihoods) ดำเนินการตามแนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืชของประชาคมตลาดร่วมแคริบเบียน (CAHFSA, 2016)

2.3 การประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้น (Assessment of Potential Economic Consequence) ภายหลังการเข้ามาของศัตรูพืช

นำรายชื่อศัตรูพืชที่ได้จากการประเมินในข้อ 2.1 มาประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้นภายหลังการเข้ามาของศัตรูพืชในประเทศไทย การพิจารณาผลกระทบของศัตรูพืชทั้งทางตรง และทางอ้อม ที่มีต่อเศรษฐกิจ สิ่งแวดล้อม และสังคม โดยใช้หลักเกณฑ์การประเมินผลกระทบในแต่ละด้านตามแนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืชของประชาคมตลาดร่วมแคริบเบียน (CAHFSA, 2016)

2.4 สรุปผลในขั้นตอนการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Conclusion of the pest risk assessment stage)

นำผลการประเมินความน่าจะเป็นไปได้ในข้อ 2.2.1 การนำเข้ามาและการแพร่กระจายของศัตรูพืช และข้อ 2.2.2 การประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้นภายหลังการเข้ามาของศัตรูพืช มารวมกันโดยใช้ เมตริกซ์การประเมินความเสี่ยง (risk estimation matrix) (CAHFSA, 2016) บันทึกปัจจัยที่ไม่แน่นอน (uncertainty)

ขั้นตอนที่ 3 การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 3: Pest Risk Management)

นำรายชื่อศัตรูพืชกักกัน ที่ได้จากการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนที่ 2 มาพิจารณาหาแนวทางการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชเพื่อจัดการความเสี่ยงของศัตรูพืชแต่ละชนิด

โดยจำแนกวิธีการที่จะดำเนินการกับความเสี่ยงที่ศัตรูพืชในการเข้ามาเจริญและแพร่ขยายพันธุ์ในประเทศไทยตลอดจนผลกระทบทางด้านเศรษฐกิจเพื่อลดความเสี่ยงลงให้ถึงระดับต่ำสุดที่ยอมรับได้ โดยมีความเป็นไปได้ในทางปฏิบัติและไม่เป็นอุปสรรคต่อการค้าระหว่างประเทศ สำหรับนำไปใช้เป็นแนวทางในการกำหนดเงื่อนไขการนำเข้าตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 และที่แก้ไขเพิ่มเติม ทั้งนี้ การพิจารณาระดับความเสี่ยง (Level of risk): ใช้หลักการจัดการความเสี่ยงให้อยู่ในระดับที่มีระดับที่เหมาะสมซึ่งสามารถยอมรับได้ (Appropriate Level of acceptable; ALOP) หรือระดับความเสี่ยงที่สามารถยอมรับได้ (acceptable) โดยในการทดลองนี้กำหนดให้มีระดับความเสี่ยงที่ยอมรับได้ คือ “ความเสี่ยงในระดับที่ละเลยได้ (negligible)”

4. สรุปผลศึกษาการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช

สรุปผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนต่าง ๆ รวมถึงรายชื่อศัตรูพืชกักกันของการนำเข้าผลสด เมล็ดพันธุ์และกิ่งพันธุ์แก้วมังกรจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก ที่มีระดับความเสี่ยงแตกต่างกัน แนวทางการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันแต่ละชนิด และมาตรการสนับสนุนอื่น ๆ สำหรับใช้เป็นข้อมูลกำหนดมาตรการทางกฎหมายต่อไป

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. รายละเอียดของศัตรูพืชแต่ละชนิด เช่น ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อสามัญ เขตแพร่กระจายส่วนของพืชที่ถูกทำลาย/อาศัย และมีพาหะ หรือเป็นพาหะของศัตรูพืชชนิดอื่นหรือไม่ การติดมากับส่วนของพืชที่นำเข้า พืชอาศัย ชีววิทยา นิเวศวิทยา เอกสารอ้างอิง

2. ชนิดของศัตรูพืชกักกัน ศัตรูพืช หรืออื่น ๆ ที่ปนเปื้อนหรือติดมากับแก้วมังกรนำเข้า วัน เวลา สถานที่ และวิธีการที่ใช้ในการจำแนกชนิดศัตรูพืช ลักษณะอาการบนพืช

3. สถานภาพของศัตรูพืชแต่ละชนิดว่ามีรายงานพบในประเทศไทยหรือไม่ และเอกสารอ้างอิง

4. ชนิดของศัตรูพืชกักกัน เขตแพร่กระจาย (ชื่อประเทศ) ในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก และมาตรการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันของแก้วมังกรนำเข้าจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2564 - กันยายน 2565

สถานที่ 1. ห้องปฏิบัติการและโรงเรือนทดลอง กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

2. ด่านตรวจพืชด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ กรุงเทพฯ และด่านตรวจพืชท่าเรือแหลมฉบัง จ.ชลบุรี สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสืบค้นและรวบรวมข้อมูล

1.1 ข้อมูลทั่วไปของแก้วมังกรที่นำเข้า

แก้วมังกร (dragon fruit, Pitaya) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Hylocercus undatus* (Haw) Brit. & Rose อยู่ในวงศ์ Cactaceae ซึ่งเป็นวงศ์เดียวกับตะบองเพชร มีพื้นเพดั้งเดิมอยู่ในเม็กซิโกเข้ามาในเอเชียที่เวียดนามก่อน และนำเข้าจากเวียดนามมาในไทยเมื่อประมาณปี 2534 เป็นพันธ์เนื้อขาว ส่วนพันธ์เนื้อแดงที่ชื่อแดงสยามเป็นพันธ์นำเข้ามาจากไต้หวัน แก้วมังกรเป็นพืชอีกชนิดหนึ่งที่มีศักย์ภาพสูงในการส่งออก แก้วมังกรเป็นไม้เลื้อย มีลำต้นยาวประมาณ 5 เมตร มีรากทั้งในดินและรากอากาศ ชอบดินร่วนระบายน้ำดี ชอบแสงแดดพอเหมาะ โล่งแจ้ง แต่ไม่แรงเกินไป การขยายพันธุ์สามารถทำได้โดยใช้ เมล็ด หรือกิ่งพันธุ์

พันธุ์ ที่นิยมปลูกมีดังนี้

- พันธุ์เนื้อขาวเปลือกแดง (ชื่อวิทยาศาสตร์: *Hylocercus undatus* (Haw) Brit. & Rose.) เปลือกสีชมพูสด ปลายกลีบสีเขียว รสหวานอมเปรี้ยวหรือหวานจัด
- พันธุ์เนื้อขาวเปลือกเหลือง (ชื่อวิทยาศาสตร์: *Hylocercus megalanthus*) เปลือกสีเหลือง ผลเล็กกว่าพันธุ์อื่น ๆ เนื้อสีขาว เมล็ดขนาดใหญ่และมีน้อยกว่าพันธุ์อื่น รสหวาน
- พันธุ์เนื้อแดงเปลือกแดง (ชื่อวิทยาศาสตร์: *Hylocercus costaricensis*) หรือพันธุ์คอสตาริกา เปลือกสีแดงจัด ผลเล็กกว่าพันธุ์เนื้อขาวเปลือกแดง แต่รสหวานกว่า

ประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิกที่ปลูกแก้วมังกรเพื่อการค้า ปัจจุบันมีหลายประเทศปลูกแก้วมังกรเพื่อการค้า เช่น เวียดนาม ศรีลังกา ฟิลิปปินส์ กัมพูชา ไทย ไต้หวัน มาเลเซีย อินโดนีเซีย และ บังกลาเทศ

การกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าแก้วมังกรจากประเทศต่าง ๆ

การวิเคราะห์ความเสี่ยงของ APHIS สรุปได้ว่าการนำเข้าแก้วมังกรจากเวียดนามจำเป็นต้องมีมาตรการเฉพาะดังต่อไปนี้ เพื่อลดความเสี่ยงด้านสุขอนามัยพืชจากการนำเข้าแก้วมังกรพันธุ์ *Hylocereus* sp. จากเวียดนามเข้าสู่ภาคพื้นทวีปของสหรัฐอเมริกา ได้แก่ การฉายรังสี (ด้วยปริมาณรังสีที่ดูดซึมขั้นต่ำ 400 เกรย์) ภายหลังการเก็บเกี่ยว โดยมีใบรับรองสุขอนามัยพืชที่ออกโดยกรมวิชาการเกษตรเวียดนาม เอกสารใบรับรองสุขอนามัยพืชที่นำเข้าผ่านการตรวจสอบแล้วองค์กรอารักขาพืชแห่งชาติของรัฐบาลเวียดนามและว่าสินค้าฝากขายได้รับการรักษาด้วย 400 Grey แก้วมังกรจะถูกตรวจสอบท่าเรือมาตรฐานเมื่อเดินทางมาถึงสหรัฐอเมริกาและต้องปราศจากศัตรูพืชกักกัน (USDA, 2008)

การนำเข้าผลสดแก้วมังกรจากเวียดนามมายังนิวซีแลนด์ต้องปฏิบัติมาตามข้อกำหนดโดยการทำ Vapour Heat Treatment ที่อุณหภูมิเพิ่มขึ้นจนกระทั่งแกนผลไม้สูงถึง 46.5°C เป็นอย่างน้อย เป็นเวลาอย่างน้อย 40 นาที (MPI, 2014)

1.2 ข้อมูลศัตรูแก้วมังกร

จากการสืบค้นข้อมูลศัตรูแก้วมังกร ได้ข้อมูลศัตรูแก้วมังกรที่มีรายงานในประเทศไทย และประเทศอื่น ๆ ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ การจำแนกทางอนุกรมวิธาน พืชอาศัย/พืชอาหาร ลักษณะการทำลาย โดยพบว่าศัตรูแก้วมังกรมีรายงานในไทยและและประเทศอื่น ๆ โดยศัตรูแก้วมังกรมีจำนวน 140 ชนิด ได้แก่ แมลง 67 ชนิด แบคทีเรีย 7 ชนิด รา 54 ชนิด ไส้เดือนฝอย 6 ชนิด และไวรัส 6 ชนิด (ตารางที่ 1)

2. การตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับแก้วมังกรนำเข้าในห้องปฏิบัติการ

ในการทดลองปี 2565 ไม่พบการนำเข้าส่วนขยายพันธุ์ของแก้วมังกร อย่างไรก็ตามประเทศไทยมีการนำเข้าผลสดแก้วมังกรจากเวียดนาม ซึ่งได้มีการสุ่มผลแก้วมังกรที่นำเข้ามาตรวจสอบศัตรูพืช ผลการสุ่มเก็บตัวอย่างผลแก้วมังกรนำเข้าระหว่างเดือนตุลาคม 2564 – กุมภาพันธ์ 2565 จำนวน 108 ชิปเม้น จากด่านตรวจพืชท่าเรือแหลมฉบัง อำเภอศรีราชา จังหวัดชลบุรี ผลการตรวจสอบศัตรูพืชไม่พบศัตรูพืช

3. การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

ดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์และกิ่งชำแก้วมังกรนำเข้าจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก ในขั้นตอนการจัดกลุ่มศัตรูพืช (Pest categorization) ผลการวิเคราะห์ได้ชนิดศัตรูพืชที่ไม่มีในประเทศไทยที่มีโอกาสติดเข้ามา จำนวน 37 ชนิด ได้แก่ แมลง 13 ชนิด แบคทีเรีย 5 ชนิด รา 12 ชนิด ไส้เดือนฝอย 1 ชนิด และไวรัส 6 ชนิด โดยศัตรูพืชที่มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์แก้วมังกร จำนวน 17 ชนิด ได้แก่ แบคทีเรีย 5 ชนิด ได้แก่ *Erwinia chrysanthemi, Erwinia caratovora, Enterobacter cloacae, Rhizobium radiobacter, Rhizobium rhizogenes* รา 12 ชนิด ได้แก่ *Aspergillus avenaceus, Aspergillus flavus var. flavus, Aspergillus niger, Aspergillus tubingensis, Fusarium pallidoroseum, Fusarium compactum, Fusarium solani, Fusarium chlamydosporum, Gibberella baccata, Gilbertella persicaria, Khuskia oryzae* and *Penicillium charlesii* กิ่งชำแก้วมังกรนำเข้าจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก ศัตรูพืชที่มีโอกาสติดมากับที่ไม่มีในประเทศไทย จำนวน 26 ชนิด คือ แมลง 2 ชนิด แบคทีเรีย 5 ชนิด รา 12 ชนิด ไส้เดือนฝอย 1 ชนิด และไวรัส 6 ชนิด แมลง ได้แก่ *Acutaspis albopicta*, *Dysmicoccus lepelleyi*, แบคทีเรีย ได้แก่ *Erwinia chrysanthemi*, *Erwinia caratovora*, *Enterobacter cloacae*, *Rhizobium radiobacter*, *Rhizobium rhizogenes* รา ได้แก่ *Aspergillus avenaceus*, *Aspergillus flavus* var. *flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus tubingensis*, *Fusarium pallidoroseum*, *Fusarium compactum*, *Fusarium solani*, *Fusarium chlamydosporum*, *Gibberella baccata*, *Gilbertella persicaria*, *Khuskia oryzae*, *Penicillium charlesii* ไส้เดือนฝอย ได้แก่ *Tylenchorhynchus annulatus* และไวรัส ได้แก่ *Cactus virus X*, *Pitaya virus X*, *Schlumbergera Virus X*, *Zygocactus virus X*, *Opuntia virus X* and *Impatiens necrotic spot*

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

สรุปผลการดำเนินงานทดลองในปี 2565 ได้ข้อมูลเกี่ยวกับแก้วมังกรที่นำเข้าจากต่างประเทศ เช่น พันธุ์ สถิติการนำเข้า และการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชของประเทศที่นำเข้าแก้วมังกร จากการตรวจสอบผลสดแก้วมังกรที่นำเข้าจากประเทศเวียดนามพบว่าไม่พบศัตรูพืชติดมากับสินค้า นอกจากนี้จากผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์และกิ่งชำแก้วมังกรนำเข้าทำให้ทราบว่าศัตรูพืชที่มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์และกิ่งชำแก้วมังกรที่นำเข้า ที่มีศักยภาพในการเป็นศัตรูพืชกักกันและตลอดจนยังไม่มีรายงานพบในประเทศไทย มีจำนวน 37 ชนิด ได้แก่ แมลง 13 ชนิด แบคทีเรีย 5 ชนิด รา 12 ชนิด ไส้เดือนฝอย 1 ชนิด และไวรัส 6 ชนิด แมลง ได้แก่ *Acutaspis albopicta, Ceratitis capitata, Ceratitis rosa, Dysmicoccus lepelleyi, Frankliniella bispinosa, Frankliniella insularis, Frankliniella kelliae, Frankliniella occidentalis, Iridomyrmex humilis, Lopholeucaspis cockerelli, Metamasius spinolae, Pseudococcus viburni, Pheidole megacephala* แบคทีเรีย ได้แก่ *Erwinia chrysanthemi, Erwinia caratovora, Enterobacter cloacae, Rhizobium radiobacter, Rhizobium rhizogenes* รา ได้แก่ *Aspergillus avenaceus, Aspergillus flavus var. flavus, Aspergillus niger, Aspergillus tubingensis, Fusarium pallidoroseum, Fusarium compactum, Fusarium solani, Fusarium chlamydosporum, Gibberella baccata, Gilbertella persicaria, Khuskia oryzae, Penicillium charlesii* ไส้เดือนฝอย ได้แก่ *Tylenchorhynchus annulatus* และไวรัส ได้แก่ *Cactus virus X, Pitaya virus X, Schlumbergera Virus X, Zygocactus virus X, Opuntia virus X, Impatiens necrotic spot*

การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการนำเข้ามาและแพร่กระจายของศัตรูพืชรวมถึงผลกระทบทางเศรษฐกิจและแนวทางการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์และกิ่งชำแก้วมังกร รวมถึงการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของการนำเข้าผลสดแก้วมังกรจะดำเนินการในปีต่อไป

เอกสารอ้างอิง

CABI (Centre for Agriculture and Bioscience International). 2020. Crop Protection Compendium. Wallingford, UK: CAB International. (Online). Available. http://www.cabi.org/. (March 06, 2020).

FAO (Food and Agriculture Organization). 2011. International Standards for Phytosanitary Measures no. 2: Framework for pest risk analysis (2007). (Online). Available. http://www.ippc.int/publications/framework-pest-risk-analysis. (May 14, 2014)

FAO (Food and Agriculture Organization). 2014. *International Standards for Phytosanitary Measures no. 11: Pest Risk Analysis for Quarantine Pests (2013).* (Online).

Available. http://www.ippc.int/publications/pest-risk-analysis-quarantine-pests. (May 14, 2014)

MPI (Ministry for Primary Industries), 2014. Fresh Dragon Fruit for Consumption. This Import Health Standard is issued under section 24A of the Biosecurity Act 1993.

USDA (United States Department of Agriculture). 2008. Determination by the Administrator: Conditions for Importation into the Continental United States of Dragon Fruit (*Hylocereus* species and relatives) from Vietnam. Animal and Plant Health Inspection Service.

Table 1 Pest associated with dragon fruit

Organism	Scientific name
Insect (67)	*Acutaspis albopicta, Aphis* sp.*, Aphis gossypii, Bactrocera* sp.*, Bactrocera carambolae,Bactrocera correcta, Bactrocera cucurbitae, Bactrocera dorsalis, Bactrocera umbrosa, Ceratitis capitata, Ceratitis rosa, Cardiocondyla wroughtoni, Conogethes* sp.*, Conopomorpha* sp.*, Cardiocondyla* sp.*, Cardiocondyla wroughtoni, Cataenococcus* sp.*, Coccus* sp.*, Coccus hesperidum, Conogethes* sp.*, Conopomorpha* sp.*, Chrysomphalus dictyospermi, Dysmicoccus* sp.*, Diaspis echinocacti, Dysmicoccus brevipes, Dysmicoccus lepelleyi, Dysmicoccus neobrevipes, Ephestia elutella, Ferrisia virgata, Frankliniella bispinosa, Frankliniella insularis, Frankliniella kelliae, Frankliniella occidentalis, Iridomyrmex humilis, Lopholeucaspis cockerelli, Maconellicoccus hirsutus, Metamasius spinolae, Monomorium* sp.*, Monomorium pharaonic, Mictis longicornis, Nezara viridula, Orgyia* sp.*, Oxycetonia* sp.*, Opogona sacchari, Paracoccus* sp.*, Planococcus* sp.*, Planococcus citri, Planococcus lilacinus, Planococcus minor, Platynota* sp.*, Pentalonia nigronervosa, Paraputo* sp.*, Paratrechina longicornis, Pheidole megacephala, Phenacoccus madeirensis, Pseudococcus* sp.*, Pseducoccus brevipes, Pseudococcus cryptus, Pseudococcus jackbeardsleyi, Pseudococcus viburni, Protaetia* sp.*, Xylosandrus compactus, Pheidole megacephala, Scirtothrips dorsalis, Solenopsis geminata, Tarsonemus* sp. and*Thrips palmi*
Bacteria (7)	*Xanthomonas campestris, Erwinia chrysanthemi, Erwinia caratovora, Enterobacter cloacae,* Erwinia sp., *Rhizobium radiobacter, Rhizobium rhizogenes*

Table 1 Pest associated with dragon fruit (continue)

Organism	Scientific name
Fungi (54)	*Alternaria alternata, Alternaria* sp., *Aspergillus avenaceus, Aspergillus flavus var. flavus, Aspergillus niger, Aspergillus niger van Tieghem, anamoph, Aspergillus tubingensis, Bipolaris cactivolar, Botryosphaeria dothidea, Capnodium* sp., *Cercospora* sp., *Chaonephora* sp., *Cladosporium* sp., *Cladosporium herbarum, Cochliobolus lunatus, Colletotrichum* sp., *Colletotrichum aenigma, Colletotrichum capsica, Colletotrichum coccodes, Colletotrichum gloeosporioides, Colletotrichum musae, Colletotrichum truncatum, Curvularla* sp., *Curvularia oryzae, Diplodia* sp., *Diaporthe phaseolorum, Dothiorella* sp., *Fusarium* sp., *Fusarium proliferatum, Fusarium pallidoroseum, Fusarium merismoides, Fusarium compactum, Fusarium solani, Fusarium chlamydosporum, Fusarium Dimerum, Gibberella baccata, Gilbertella persicaria, Glomerella cingulate, Fusarium moniliforme, Fusarium oxysporum, Gloeosporium* sp., *Gibberella moniliformis, Glomerella cingulata, Khuskia oryzae, Lasiodiplodia theobromae, Leptosphaeria* sp., *Mycosphaerella* sp., *Penicillium charlesii, Pestalotiopsis* sp., *Phoma* sp., *Phomopsis* sp., *Pythium debaryanum, Phytophthora cactorum and Thanatephorus cucumeris*
Nematode (6)	*Cactodera cacti, Helicotylenchus dihystera, Meloidogyne incognita, Rotylenchulus reniformis, Tylenchorhynchus annulatus* and *Tylenchorhynchus crassicaudatus*
Virus (6)	*Cactus virus X, Pitaya virus X, Schlumbergera Virus X, Zygocactus virus X, Opuntia virus X* and *Impatiens necrotic spot virus*

การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้าเชอรี่จากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก

Pest Risk Assessment for the Importation of Cherry from the Countries in Asia Pacific

ชวลิต จิตนันท์[1/] วรัญญา มาลี[1/] สุคนธ์ทิพย์ สมบัติ[1/]
สุนัดดา เชาวลิต[2/] ชนินทร ดวงสอาด[3/]
[1/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[3/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้าเชอรี่จากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2564 ถึงกันยายน 2565 ณ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช ซึ่งดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชตามแนวทางของมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ผลการสืบค้นและรวบรวมข้อมูลศัตรูเชอรี่ ได้ข้อมูลศัตรูพืชของเชอรี่ที่มีรายงานในประเทศต้นทาง ประเทศไทย และประเทศอื่น ๆ จำนวน 262 ชนิด ประกอบด้วย แมลง 165 ชนิด ไร 17 ชนิด แบคทีเรีย 9 ชนิด รา 43 ชนิด ไวรัส 19 ชนิด ไวรอยด์ 3 ชนิด และไส้เดือนฝอย 6 ชนิด ผลการตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับผลเชอรี่สดนำเข้า พบรา 2 ชนิด คือ *Alternaria alternata* และ *Botrytis cinerea* ทั้งนี้ การจัดประเภทศัตรูพืช ได้รายชื่อศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกันของผลเชอรี่สดนำเข้าจากประเทศต้นทางในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก จำนวน 9 ชนิด เช่น ไร 1 ชนิด แมลง 8 ชนิด สำหรับการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของผลเชอรี่สดจะดำเนินการในขั้นตอนการประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการนำเข้ามาและแพร่กระจายของศัตรูพืชต่อไป

คำหลัก : เชอรี่ ประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช เอเชียแปซิฟิก cherry Pest risk assessment Asia Pacific

---

รหัสการทดลอง FF65-55-02-65-00-03-65

คำนำ

กฎหมายของไทยที่เกี่ยวข้องกับการนำเข้าและส่งออกสินค้าเกษตร คือ พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 และที่แก้ไขเพิ่มเติม แบ่งประเภทสินค้าพืชเป็น 3 ประเภท ได้แก่ สิ่งต้องห้าม สิ่งกำกัด และสิ่งไม่ต้องห้าม โดยสิ่งต้องห้ามนั้นหมายความว่า พืช ศัตรูพืช และพาหะที่รัฐมนตรีว่าการกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ประกาศกำหนดในราชกิจจานุเบกษาให้เป็นสิ่งต้องห้าม เมื่อ พ.ศ. 2550 ได้มีการกำหนดพืชและพาหะเป็นสิ่งต้องห้าม โดยออกเป็นประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2550) ทำให้พืชและพาหะหลายชนิดมีสถานภาพเป็นสิ่งต้องห้าม เช่น ผลสดของพืชสกุลพรูนัส *Prunus* spp.

การนำเข้าสิ่งต้องห้ามเพื่อการค้า ในมาตรา 8 (2) แห่งพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 ซึ่งแก้ไขเพิ่มเติม โดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 กำหนดว่าการนำเข้าหรือนำผ่านซึ่งสิ่งต้องห้ามเพื่อการค้าจะต้องผ่านการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis) เพื่อให้ทราบชนิดศัตรูพืชกักกันและนำไปพิจารณากำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชที่เหมาะสมเพื่อป้องกันหรือกำจัดศัตรูพืชกักกันนั้น ๆ

สาธารณรัฐอุซเบกิสถานและสาธารณรัฐตุรกีได้ยื่นขออนุญาตนำเข้าผลเชอรี่สด (*Prunus avium*) เพื่อการค้าเมื่อเดือนธันวาคม 2561 และเดือนพฤษภาคม 2562 ตามลำดับ ซึ่งผลเชอรี่สดจัดเป็นสิ่งต้องห้ามตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 ซึ่งจากข้อมูลเบื้องต้นพบว่า เชอรี่นำเข้าจากแหล่งดังกล่าวมีศัตรูพืชที่สำคัญที่ไม่มีในประเทศไทย เช่น แมลงวันผลไม้ *Ceratitis capitata* และจากตรวจสอบข้อมูลการนำเข้าสินค้าพืชในปี พ.ศ. 2559 และ 2560 พบว่าประเทศไทยมีการนำเข้าต้นเชอรี่จากตุรกี เนเธอร์แลนด์ และอิตาลี คิดเป็นมูลค่า 134,700 บาท และ 87,100 บาทตามลำดับ เนื่องจากต้นเชอรี่ไม่จัดเป็นสิ่งต้องห้าม โดยการนำเข้าต้นเชอรี่จะมีใบรับรองสุขอนามัยพืชแนบมาพร้อมสินค้าแต่มิได้มีการจัดการศัตรูพืชจากต่างประเทศแต่อย่างใด ซึ่งการนำเข้าต้นเชอรี่อาจจะนำศัตรูพืชที่ไม่มีในประเทศไทยติดเข้ามาได้ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องดำเนินการศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของผลเชอรี่สด และต้นเชอรี่นำเข้าจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก เพื่อทราบชนิดของศัตรูพืชกักกันและหาแนวทางกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช ป้องกันศัตรูพืชร้ายแรงไม่ให้เข้ามาแพร่ระบาดทำความเสียหายแก่ภาคการเกษตรของไทย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. มาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 2 เรื่อง กรอบสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Framework for Pest Risk Analysis (2007))

2. มาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกัน (Pest Risk Analysis for Quarantine Pests (2013))

3. แนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืชของประชาคมตลาดร่วมแคริบเบียน (Caribbean Community and Common Market, CARICOM)

4. หนังสือ ตำรา วารสาร เอกสารวิชาการที่เกี่ยวข้องทั้งในและต่างประเทศ และฐานข้อมูลออนไลน์ เช่น Crop Protection Compendium, Description of Fungi and Bacteria, Description Maps of Plant Pests, Description Maps of Plant Diseases เป็นต้น

5. วัสดุคอมพิวเตอร์ เช่น หมึกพิมพ์ และแผ่นบันทึกข้อมูล เป็นต้น

6. วัสดุเกษตร เช่น ถุงซิปล็อคสำหรับเก็บตัวอย่าง

7. วัสดุวิทยาศาสตร์ เช่น จานเลี้ยงเชื้อ อาหารเลี้ยงเชื้อ กระจกสไลด์ สารเคมีสำหรับการเก็บตัวอย่าง

วิธีการ

1. การสืบค้นและรวบรวมข้อมูล (2565-2567)

1.1 สืบค้นและรวบรวมข้อมูลทั่วไปของเชอรี่ที่นำเข้า เช่น ชื่อวิทยาศาสตร์ พันธุ์หรือสายพันธุ์ แหล่งผลิตในประเทศผู้ส่งออก ผลผลิต การรับรองสุขอนามัยของประเทศผู้ส่งออก เป็นต้น

1.2 สืบค้นและรวบรวมข้อมูลศัตรูเชอรี่ เช่น ชื่อวิทยาศาสตร์ การจำแนกทางอนุกรมวิธาน พืชอาศัย/พืชอาหาร ลักษณะการทำลาย การแพร่ระบาด ความเสียหายของผลผลิตที่เกิดจากการทำลายของศัตรูพืช ที่มีรายงานในประเทศต้นทาง ประเทศไทย และประเทศอื่น ๆ

2. การตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับเชอรี่นำเข้าในห้องปฏิบัติการ (2565-2567)

เก็บตัวอย่างเชอรี่นำเข้าจากด่านตรวจพืช/โรงเรือน/แปลง นำมาตรวจสอบศัตรูพืชดังนี้

2.1 ตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับเชอรี่นำเข้า เช่น แมลง ไร หอย วัชพืช เชื้อรา และแบคทีเรีย โดยตรวจสอบภายนอกหรือผ่าดูภายในหากพบอาการผิดปกติ และสังเกตลักษณะผิดปกติที่อาจเกิดจากโรคพืชหรือแมลงศัตรูพืช

2.2 หากพบแมลง ไร หอย และวัชพืช จะตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและสูงจำแนกกลุ่มของแมลง ไร หอย และวัชพืช โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphology) และส่งจำแนกชนิดต่อไป

2.3 หากพบอาการผิดปกติที่อาจเกิดจากเชื้อสาเหตุโรคพืชให้ตรวจสอบด้วยวิธีการ ดังนี้

(1) ตรวจสอบเชื้อราด้วย Blotter method (Mathur and Kongdal, 2003) และตรวจจำแนกชนิดของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและกำลังขยายสูง จากนั้นแยกตรวจสอบจำแนกเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) เพื่อตรวจสอบและจำแนกชนิดของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและกำลังขยายสูง

(2) ตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียด้วย Dilution plate method เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar (NA) เพื่อตรวจสอบและจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

(3) ตรวจสอบไส้เดือนฝอยด้วยวิธีการของ Cobb's sieving & Baermann และจำแนกชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (compound microscope) ในห้องปฏิบัติการ

3. การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (2565-2567)

ดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเชิงคุณภาพ ในการนำเข้าผลสดและต้นเชอรี่จากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิกโดยการประยุกต์แนวทางการวิเคราะห์ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 2 เรื่อง กรอบสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Framework for Pest Risk Analysis adopted 2007) (FAO, 2007) และฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกัน (Pest risk analysis for quarantine pests, adopted 2013) (FAO, 2013) และแนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืชของประชาคมตลาดร่วมแคริบเบียน (Caribbean Community and Common Market) (CAHFSA, 2016) ซึ่งประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 1: Initiation) (2565)

1.1 ระบุจุดเริ่มต้นของการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช/ระบุพื้นที่ซึ่งมีการดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช/ตรวจสอบว่าเคยมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงโดยศัตรูพืช หรือเส้นทางศัตรูพืช หรือนโยบายของรัฐจากแหล่งข้อมูลภายในประเทศไทยและต่างประเทศพิจารณานำมาใช้ประกอบการวิเคราะห์ศัตรูพืช

1.2 นำข้อมูลศัตรูพืชที่ได้จากการสืบค้นและรวบรวมจากหนังสือ ตำรา เอกสารวิชาการ ฐานข้อมูลศัตรูพืช และจากการตรวจสอบศัตรูพืชที่พบติดมากับเชอรี่ที่นำเข้าจากต่างประเทศมาจัดทำตารางศัตรูพืชเพื่อใช้สำหรับการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนต่อไป

ขั้นตอนที่ 2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 2: Pest Risk Assessment) (2565-2567)

การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชมี 4 ขั้นตอนที่สัมพันธ์กัน ดังนี้

2.1 การจัดประเภทศัตรูพืช (Pest categorization) (2565-2567)

2.1.1 นำรายชื่อศัตรูพืชที่ได้จากขั้นตอนที่ 1 มาพิจารณาจัดประเภทศัตรูพืชว่ามีคุณสมบัติเป็นศัตรูพืชกักกันหรือไม่ โดย (1) ระบุชนิดของศัตรูพืช (pest identity) (2) ตรวจสอบว่าเป็นศัตรูพืชที่มีพบในประเทศไทยหรือไม่ (3) ตรวจสอบสถานภาพการควบคุมศัตรูพืช (Regulatory status) กรณีที่ศัตรูพืชชนิดนั้นมีปรากฏในประเทศไทย (4) ประเมินศักยภาพของศัตรูพืชในการเข้ามาตั้งรกรากและการแพร่กระจายในประเทศไทยหรือไม่ โดยพิจารณาข้อมูลทางชีววิทยาของศัตรูพืช สภาพแวดล้อมและสภาพภูมิอากาศที่เหมาะสมต่อการเจริญแพร่ขยายพันธุ์ พืชอาศัย/พืชอาหาร และพาหะของศัตรูพืชชนิดนั้นที่มีรายงานการพบในประเทศไทย (5) ประเมินศักยภาพของศัตรูพืช ในการก่อให้เกิดผลตามมาทางเศรษฐกิจในประเทศไทย

2.1.2 จัดทำตารางผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนการจัดประเภทศัตรูพืช และนำรายชื่อศัตรูพืชที่มีศักยภาพติดมากับเส้นทางศัตรูพืช (ส่วนของพืชที่นำเข้า) มีใน

ประเทศผู้ส่งออก และไม่มีในประเทศไทย หรือมีแต่อยู่ภายใต้การควบคุมอย่างเป็นทางการ มีศักยภาพในการตั้งรกราก และการแพร่กระจายในประเทศไทย ตลอดจนมีศักยภาพที่จะทำให้เกิดความเสียหายหรือผลกระทบทางเศรษฐกิจไปวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป

2.2 การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการนำเข้ามาและแพร่กระจายของศัตรูพืช (Assessment of the probability of introduction and spread) (2566-2567)

นำรายชื่อศัตรูพืชที่ได้จากการประเมินในข้อ 2.1 มาประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการนำเข้ามาและแพร่กระจายของศัตรูพืชภายหลังการตั้งรกรากของศัตรูพืช โดยแยกประเมินศัตรูพืชแต่ละชนิด ดังนี้

2.2.1 การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการนำเข้ามา (introduction) ของศัตรูพืชประกอบด้วย

(1) การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการเข้ามา (probability of entry) ของศัตรูพืช โดยประเมินความน่าจะเป็นไปได้ที่ศัตรูพืชจะปะปนมากับผลและต้นเชอรี่ที่นำเข้ามาในประเทศไทย

(2) การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการตั้งรกราก (probability of establish) ของศัตรูพืช โดยประเมินความน่าจะเป็นไปได้ที่ศัตรูพืชสามารถมีชีวิตอยู่รอดและเจริญแพร่ขยายพันธุ์ได้ในประเทศไทย

2.2.2 การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการแพร่กระจายหลังการตั้งรกราก (Probability of spread after establishment) โดยประเมินความน่าจะเป็นไปได้ที่ศัตรูพืชสามารถแพร่กระจายในประเทศไทย

ปัจจัยที่นำมาใช้พิจารณาประเมินความน่าจะเป็นไปได้ใช้ตามแนวทางการวิเคราะห์ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกัน (FAO, 2013) สำหรับรายละเอียดหลักเกณฑ์การประเมินความน่าจะเป็นไปได้แต่ละเหตุการณ์ ตลอดจนการรวมผลการประเมินใน 2 เหตุการณ์ โดยใช้กฎเมตริกซ์สำหรับการรวมโอกาสที่จะเกิดขึ้นเชิงคุณภาพ (Matrix of rules for combining qualitative likelihoods) ดำเนินการตามแนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืชของประชาคมตลาดร่วมแคริบเบียน (CAHFSA, 2016)

2.3 การประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้น (Assessment of Potential Economic Consequence) ภายหลังการเข้ามาของศัตรูพืช (2566-2567)

นำรายชื่อศัตรูพืชที่ได้จากการประเมินในข้อ 2.1 มาประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้นภายหลังการเข้ามาของศัตรูพืชในประเทศไทย การพิจารณาผลกระทบของศัตรูพืชทั้งทางตรง และทางอ้อม ที่มีต่อเศรษฐกิจ สิ่งแวดล้อม และสังคม โดยใช้หลักเกณฑ์การประเมินผลกระทบในแต่ละด้านตามแนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืชของประชาคมตลาดร่วมแคริบเบียน (CAHFSA, 2016)

2.4 สรุปผลในขั้นตอนการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Conclusion of the pest risk assessment stage) (2566-2567)

นำผลการประเมินความน่าจะเป็นไปได้ในข้อ 2.2 การนำเข้ามาและการแพร่กระจายของศัตรูพืช และข้อ 2.3 การประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้นภายหลังการเข้ามาของศัตรูพืช มารวมกันโดยใช้ เมตริกซ์การประเมินความเสี่ยง (risk estimation matrix) (CAHFSA, 2016) บันทึกปัจจัยที่ไม่แน่นอน (uncertainty)

ขั้นตอนที่ 3 การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 3: Pest Risk Management) (2566-2567)

นำรายชื่อศัตรูพืชกักกัน ที่ได้จากการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนที่ 2 มาพิจารณาหาแนวทางการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชเพื่อจัดการความเสี่ยงของศัตรูพืชแต่ละชนิด โดยจำแนกวิธีการที่จะดำเนินการกับความเสี่ยงที่ศัตรูพืชในการเข้ามาเจริญและแพร่ขยายพันธุ์ในประเทศไทยตลอดจนผลกระทบทางด้านเศรษฐกิจเพื่อลดความเสี่ยงลงให้ถึงระดับต่ำสุดที่ยอมรับได้ โดยมีความเป็นไปได้ในทางปฏิบัติและไม่เป็นอุปสรรคต่อการค้าระหว่างประเทศ สำหรับนำไปใช้เป็นแนวทางในการกำหนดเงื่อนไขการนำเข้าตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 และที่แก้ไขเพิ่มเติม ทั้งนี้ การพิจารณาระดับความเสี่ยง (Level of risk): ใช้หลักการจัดการความเสี่ยงให้อยู่ในระดับที่มีระดับที่เหมาะสมซึ่งสามารถยอมรับได้ (Appropriate Level of acceptable; ALOP) หรือระดับความเสี่ยงที่สามารถยอมรับได้ (acceptable) โดยในการทดลองนี้กำหนดให้มีระดับความเสี่ยงที่ยอมรับได้ คือ “ความเสี่ยงในระดับที่ละเลยได้ (negligible)”

4. สรุปผลศึกษาการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (2566, 2567)

สรุปผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนต่าง ๆ รวมถึงรายชื่อศัตรูพืชกักกันของการนำเข้าผลสดและต้นเชอรี่จากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก ที่มีระดับความเสี่ยงแตกต่างกัน แนวทางการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันแต่ละชนิด และมาตรการสนับสนุนอื่น ๆ สำหรับใช้เป็นข้อมูลกำหนดมาตรการทางกฎหมายต่อไป

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. รายละเอียดของศัตรูพืชแต่ละชนิด เช่น ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อสามัญ เขตแพร่กระจาย ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย/อาศัย และมีพาหะ หรือเป็นพาหะของศัตรูพืชชนิดอื่นหรือไม่ การติดมากับส่วนของพืชที่นำเข้า พืชอาศัย ชีววิทยา นิเวศวิทยา เอกสารอ้างอิง

2. ชนิดของศัตรูพืชกักกัน ศัตรูพืช หรืออื่น ๆ ที่ปนเปื้อนหรือติดมากับเชอรี่นำเข้า วันเวลา สถานที่ และวิธีการที่ใช้ในการจำแนกชนิดศัตรูพืช ลักษณะอาการบนพืช

3. สถานภาพของศัตรูพืชแต่ละชนิดว่ามีรายงานพบในประเทศไทยหรือไม่ และเอกสารอ้างอิง

4. ชนิดของศัตรูพืชกักกัน เขตแพร่กระจาย (ชื่อประเทศ) ในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก และมาตรการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันของเชอรี่นำเข้าจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก

เวลาและสถานที่

เวลา : ตุลาคม 2564 - กันยายน 2565

สถานที่ : กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการดำเนินการทดลอง

1. การสืบค้นและรวบรวมข้อมูล

1.1 สืบค้นและรวบรวมข้อมูลทั่วไปของเชอรี่

เชอรี่ (cherry) ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Prunus avium* (L.) L. ชื่อพ้อง *Cerasus avium* (L.) Moench, *Druparia avium* (L.) Clairv. และ *Prunus cerasus* var. *avium* L. เป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็ก มีถิ่นกำเนิดในทวีปยุโรป แอฟริกา และเอเชีย กระจายไปประเทศในเขตอบอุ่นและเขตหนาว ลักษณะทางพฤกษศาสตร์คือ ต้น เป็นไม้พุ่มแตกกิ่งก้าน หรือไม้ยืนต้นไม่ทิ้งใบ ทรงพุ่มขนาดเล็ก มีความสูงประมาณ 2-5 เมตร ทรงต้นไม่ใหญ่และกิ่งก้านเหนียวทำให้ตัดแต่งควบคุมทรงต้นได้ง่าย ใบเป็นใบเดี่ยว ออกเรียงสลับ มีลักษณะรูปไข่ ยาวรี ขอบใบหยัก มีก้านใบยาว ใบมีสีเขียว ดอก ออกดอกเป็นช่อ 3-5 ดอกต่อช่อ มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1.3 ซม. กลีบดอก 5 กลีบ จะออกดอกตามซอกก้านใบจากกิ่งที่แตกใหม่หรือปลาย spur จากกิ่งแก่ ผล เป็นผลเดี่ยว อยู่เป็นพวง มีลักษณะทรงกลมเล็ก ๆ ผิวเปลือกเรียบลื่น มีก้านผลยาว ผลอ่อนสีเขียว ผลสุกจะมีสีแดง สีแดงเข้ม สีส้ม หรือสีเหลือง มีเนื้อสีแดง เนื้อนุ่มฉ่ำน้ำ มีรสชาติหวานหรือหวานอมเปรี้ยว ตามสายพันธุ์ มีกลิ่นหอม สภาพนิเวศวิทยา ชอบดินร่วนที่มีการระบายน้ำดี แสงแดดจัด (RPRP, 2565)

ผลเชอรี่จะสุกก่อน stone fruits ชนิดอื่น ทำให้ผลเชอรี่เป็นผลิตภัณฑ์แรกในตลาด stone fruits จึงมีความต้องการสูงในช่วงปลายฤดูใบไม้ผลิและต้นฤดูร้อน พันธุ์ที่มีผลสีแดงได้รับความนิยมในตลาด ขณะที่พันธุ์ที่มีผลสีเหลือง สีขาว มีความต้องการของตลาดน้อยกว่า

ข้อมูลการผลิตเชอรี่จากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก (Quero-García *et. al*., 2017) มีดังนี้

(1) สหรัฐอเมริกา แหล่งผลิตผลเชอรี่ที่ใหญ่ที่สุดคือ วอชิงตัน รองลงมาคือ แคลิฟอร์เนีย ออริกอน และมิชิแกน เชอรี่ส่วนใหญ่ที่ปลูกบนชายฝั่งตะวันตกของสหรัฐอเมริกานั้นเพื่อการบริโภค ในขณะที่เชอรี่ที่ปลูกในรัฐมิชิแกนนั้นสำหรับการแปรรูปเป็นโยเกิร์ต และ maraschino ในแคลิฟอร์เนีย พันธุ์หลักคือ ‘Bing’ สายพันธุ์รองคือ ‘Burlat’, ‘Brooks’ และ ‘Coral Champagne’ ต่อกิ่งบนต้นตอ (rootstocks) ของ Mazzard (*P. avium*)

(2) ชิลี เป็นประเทศที่การผลิตผลเชอรี่เติบโตอย่างรวดเร็ว โดยเพิ่มขึ้นหลายพันเฮกตาร์ในแต่ละปี แหล่งปลูกหลักอยู่ระหว่างภูมิภาค Valparaíso และ Metropolitana สายพันธุ์หลักที่ปลูกคือ ‘Sweetheart’ และ ‘Bing’ สายพันธุ์รองคือ ‘Lapins’, ‘Santina’ และ‘Royal Dawn’ เก็บเกี่ยวผลผลิตในช่วงเดือน พฤศจิกายนและธันวาคม ปริมาณ 75 % ของผลผลิตเชอรี่จะถูกส่งออกไปยังเอเชีย

(3) จีน เป็นประเทศที่มีความต้องการผลเชอรี่มากที่สุด จึงได้เพิ่มปริมาณการผลิตเชอรี่อย่างรวดเร็ว พันธุ์หลักคือ ‘Hongde’ (~50%) สายพันธุ์รองคือ ‘Longguan’, ‘Van’, ‘Lapins’, ‘Summit’ และ ‘Sunburst’ ผลผลิตส่วนใหญ่สำหรับการบริโภคสด (90%) ส่วนที่เหลืออีก 10% ใช้ในผลิตภัณฑ์แปรรูป เช่น เหล้าเชอรี่ ผลไม้กระป๋อง และน้ำผลไม้ แหล่งปลูกเชอรี่ที่สำคัญ ได้แก่ เหลียวหนิง ซานตง หูเป่ย์ และปักกิ่ง

(4) ออสเตรเลีย มีการผลิตผลเชอรี่เพื่อการค้า มีสายพันธุ์หลักคือ ‘Lapins’, ‘Sweetheart’, ‘Kordia’, ‘Van’, ‘Simone’, ‘Stella’ และ ‘Merchant’ ต่อกิ่งบนต้นตอ Mazzard และ 'Colt' แหล่งปลูกเชอรี่หลักในรัฐนิวเซาท์เวลส์ วิกทอเรีย และแทสเมเนีย

(5) ญี่ปุ่น มีพื้นที่ปลูกเชอรี่เพื่อการค้าในจังหวัดยามากาตะ สายพันธุ์หลักที่ปลูกคือ ‘Satonishiki’ ต่อกิ่งบนต้นตอ ‘Aobazakura’ (*Prunus lannesiana*)

(6) แคนาดา สวนเชอรี่ที่ผลิตเพื่อการค้าส่วนใหญ่อยู่ในรัฐบริติชโคลัมเบีย โดยมีพันธุ์หลักได้แก่ ‘Lapins’, ‘Bing’, ‘Sweetheart’, ‘Skeena’ และ ‘13S2009’ (Staccato™)

การคาดการณ์ผลผลิตเชอรี่ทั้งโลกในฤดูกาลผลิตปี 2564/2565 ของหน่วยงาน Foreign Agricultural Service ของสหรัฐอเมริกา พบว่า จะมีปริมาณผลเชอรี่ประมาณ 4,000,000 ตัน โดยมีประเทศที่เป็นผู้ผลิตเชอรี่รายใหญ่ 4 อันดับแรก ได้แก่ ตุรกี จีน ชิลี และสหรัฐอเมริกา ซึ่งคาดการณ์จะมีผลผลิตของเชอรี่ประมาณ 860,000, 600,000 397,000 392,000 ตัน ตามลำดับ และประเทศที่เป็นผู้ส่งออกผลเชอรี่ 5 อันดับแรก ได้แก่ ชิลี สหรัฐอเมริกา ตุรกี อุซเบกิสถาน และอาเซอร์ไบจาน และคาดการณ์ปริมาณผลเชอรี่ที่จะการส่งออกประมาณ 365,000 77,000 72,000 45,000 และ 25,000 ตัน ตามลำดับ (USDA FAS, 2021)

1.2 สืบค้นและรวบรวมข้อมูลศัตรูเชอรี่

ได้ข้อมูลศัตรูพืชของเชอรี่ที่มีรายงานในประเทศต้นทาง ประเทศไทย และประเทศอื่น ๆ จำนวน 262 ชนิด ประกอบด้วย แมลง 165 ชนิด ไร 17 ชนิด แบคทีเรีย 9 ชนิด รา 43 ชนิด ไวรัส 19 ชนิด ไวรอยด์ 3 ชนิด และไส้เดือนฝอย 6 ชนิด

2. การตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับเชอรี่นำเข้าในห้องปฏิบัติการ

ผลการตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับผลเชอรี่นำเข้า คือ ไม่พบแมลง ไร และวัชพืชบนผลเชอรี่นำเข้า แต่พบอาการผิดปกติที่อาจเกิดจากเชื้อสาเหตุโรคพืช จึงดำเนินการตรวจสอบในห้องปฏิบัติการของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช (Figure 1) พบรา 2 ชนิด คือ *Alternaria alternata* และ *Botrytis cinerea* ซึ่งราทั้ง 2 ชนิดนี้มีรายงานพบในประเทศไทย

3. การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

ขั้นตอนที่ 1 การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 1: Initiation)

1.1 อุซเบกิสถานและตุรกีได้ยื่นขออนุญาตนำเข้าผลเชอรี่สดเพื่อการค้าเมื่อเดือนธันวาคม 2561 และเดือนพฤษภาคม 2562 ตามลำดับ ซึ่งผลสดของพืชในสกุลพรูนัส *Prunus* spp. เช่น *Prunus avium* จากทุกแหล่งเป็นสิ่งต้องห้ามตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนด

พืช และพาหะ จากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้นและเงื่อนไข ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 ทั้งนี้ ส่วนขยายพันธุ์ของเชอรี่ที่มีการนำเข้ามาในประเทศไทย เช่น ต้นเชอรี่ จัดเป็นสิ่งไม่ต้องห้ามตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 โดยพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชที่กำหนดในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้าเชอรี่ คือ ประเทศไทย

ปัจจุบันในการนำเข้าผลเชอรี่สดของประเทศต่าง ๆ มีการกำหนดเงื่อนไขการนำเข้าแตกต่างกันไป เช่น ประเทศนิวซีแลนด์ กำหนดให้นำเข้าผลเชอรี่มาจากสหรัฐอเมริกา ต้องดำเนินการกำจัดแมลงวันผลไม้ ได้แก่ *Rhagoletis fausta, Rhagoletis indifferens* และ *Rhagoletis pomonella* โดยให้รมแก๊สผลเชอรี่สดด้วยสารรมเมทิลโบรไมด์ที่อัตราความเข้มข้นที่อุณหภูมิและระยะเวลาตามที่กำหนด และสหรัฐอเมริกากำหนดให้นำเข้าผลเชอรี่สดมาจากแอฟริกาใต้ต้องกำจัดแมลงผลไม้ *Ceratitis capitata* โดยใช้วิธีกำจัดศัตรูพืชด้วยความเย็น (T107-a) ที่อุณหภูมิและระยะเวลาตามที่กำหนด

ปัจจุบันประเทศไทยอนุญาตให้มีการนำเข้าผลเชอรี่สดจากหลายประเทศ เช่น ออสเตรเลีย ชิลี แคนาดา นิวซีแลนด์ ญี่ปุ่น และสหรัฐอเมริกา ซึ่งศัตรูพืชที่ถูกกำหนดให้เป็นศัตรูพืชกักกัน เช่น แมลงวันผลไม้ *Bactrocera tryoni*, *Ceratitis capitata* เพลี้ยหอย *Parthenolecanium persicae*, ไร *Panonychus ulmi* และ หนอนเจาะผล *Cydia pomonella* เป็นต้น

1.2 ได้ข้อมูลศัตรูพืชของเชอรี่ที่ได้จากการสืบค้นและรวบรวมจากหนังสือ ตำรา เอกสารวิชาการ ฐานข้อมูลศัตรูพืช มาจัดทำตารางศัตรูพืช (Table 1) เพื่อใช้สำหรับการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนต่อไป

ขั้นตอนที่ 2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 2: Pest Risk Assessment)

2.1 การจัดประเภทศัตรูพืช (Pest categorization)

นำรายชื่อศัตรูพืชที่ได้จากขั้นตอนที่ 1 มาพิจารณาจัดประเภทศัตรูพืช ได้ตารางผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนการจัดประเภทศัตรูพืช (Table 2) และนำรายชื่อศัตรูพืชที่มีศักยภาพติดมากับเส้นทางศัตรูพืช (ผลเชอรี่สด) มีในประเทศผู้ส่งออก และไม่มีในประเทศไทย หรือมีแต่อยู่ภายใต้การควบคุมอย่างเป็นทางการ มีศักยภาพในการตั้งรกราก และการแพร่กระจายในประเทศไทย ตลอดจนมีศักยภาพที่จะทำให้เกิดความเสียหายหรือผลกระทบทางเศรษฐกิจ จึงได้รายชื่อศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกันของผลเชอรี่สดนำเข้าจากประเทศต้นทางในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก จำนวน 9 ชนิด เช่น ไร *Amphitetranychus viennensis* เพลี้ยหอย *Parthenolecanium corni, Diaspidiotus ostreaeformis, Lepidosaphes ulmi, Parlatoria oleae* เพลี้ยแป้ง *Phenacoccus aceris* หนอนผีเสื้อ *Archips rosana, Cydia pomonella, Lobesia botrana* สำหรับการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของผลเชอรี่สดจะดำเนินการในขั้นตอนการประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการนำเข้ามาและแพร่กระจายของศัตรูพืชต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้าเชอรี่จากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก ได้ดำเนินการสืบค้นและรวบรวมข้อมูลทั่วไปของเชอรี่ พบว่า เชอรี่ เป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็ก มีถิ่นกำเนิดในทวีปยุโรป แอฟริกา และเอเชีย กระจายไปประเทศในเขตอบอุ่นและเขตหนาว ได้ข้อมูลการผลิตเชอรี่จากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก เช่น จีน ญี่ปุ่น ออสเตรเลีย มีการคาดการณ์ผลผลิตเชอรี่ทั้งโลกในฤดูกาลผลิตปี 2564/2565 จะมีปริมาณผลเชอรี่ประมาณ 4,000,000 ตัน โดยมีประเทศที่เป็นผู้ผลิตเชอรี่รายใหญ่ 4 อันดับแรก ได้แก่ ตุรกี จีน ชิลี และสหรัฐอเมริกา

จากการสืบค้นและรวบรวมข้อมูลศัตรูเชอรี่ ได้ข้อมูลศัตรูพืชของเชอรี่ที่มีรายงานในประเทศต้นทาง ประเทศไทย และประเทศอื่น ๆ จำนวน 262 ชนิด ประกอบด้วย แมลง 165 ชนิด ไร 17 ชนิด แบคทีเรีย 9 ชนิด รา 43 ชนิด ไวรัส 19 ชนิด ไวรอยด์ 3 ชนิด และไส้เดือนฝอย 6 ชนิด

การตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับผลเชอรี่นำเข้า คือ ไม่พบแมลง ไร และวัชพืชบนผลเชอรี่นำเข้า แต่พบอาการผิดปกติที่อาจเกิดจากเชื้อสาเหตุโรคพืช จึงดำเนินการตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ พบรา 2 ชนิด คือ *Alternaria alternata* และ *Botrytis cinerea*

การจัดประเภทศัตรูพืช (pest categorization) โดยนำรายชื่อศัตรูพืชที่มีศักยภาพติดมากับเส้นทางศัตรูพืช (ผลเชอรี่สด) มีในประเทศผู้ส่งออก และไม่มีในประเทศไทย มีศักยภาพในการตั้งรกราก และการแพร่กระจายในประเทศไทย ตลอดจนมีศักยภาพที่จะทำให้เกิดความเสียหายหรือผลกระทบทางเศรษฐกิจ จึงได้รายชื่อศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกันของผลเชอรี่สดนำเข้าจากประเทศต้นทางในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก จำนวน 9 ชนิด เช่น ไร 1 ชนิด แมลง 8 ชนิด สำหรับการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของผลเชอรี่สดจะดำเนินการในขั้นตอนการประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการนำเข้ามาและแพร่กระจายของศัตรูพืชต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2550. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และ เงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 ประกาศ ณ วันที่ 26 เมษายน พ.ศ. 2550 ราชกิจจานุเบกษา เล่ม124 ตอนพิเศษ 66 ง ลงวันที่ 1 มิถุนายน 2550

BA (Biosecurity Australia). 2009. *Draft import risk analysis report for fresh apple fruit from the United States of America Pacific Northwest States.* Biosecurity Australia, Canberra, Australia. 479 p.

BA (Biosecurity Australia). 2010. *Final import risk analysis report for fresh stone fruit [apricot, nectarine, peach and plums] from California, Idaho, Oregon and Washington*. Biosecurity Australia. Canberra. 308 p.

Bangels, E., G. Peusens, D. Bylemans and T. Belien. 2014. Biology and control of the apple mealybug Phenacoccus aceris (signoret) in Belgium. *Commun. Agric. Appl. Biol. Sci.* 79 (2): 239 – 244.

CABI (Centre for Agriculture and Biosciences International). 2022. *Crop Protection Compendium*. (Online). Available. http://www.cabi.org/cpc/. (February 08, 2022)

CAHFSA (Caribbean Agricultural Health and Food Safety Agency). 2016. *Guidelines for pest risk analysis of imported plant and plant products.* Version 1.1 published October 2016. 33p.

Customs of China. 2022. *Phytosanitary requirements for imported fresh cherries from Uzbekistan.* (Online). Available. http://www.customs.gov.cn/dzs/2746776/2753511/index.html (March 9, 2022).

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2007. *International Standards for Phytosanitary Measures No. 2 (ISPM 2): Framework for pest risk analysis*. (Online). Available. https://www.ippc.int/en/core-activities/standards-setting/ispms/. (February 6, 2020)

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2013. *International Standards for Phytosanitary Measures No. 11 (ISPM 11): Pest risk analysis for quarantine pests*. (Online). Available. https://www.ippc.int/en/core-activities/standards-setting/ispms/. (February 6, 2020)

García, M.M., B.D. Denno, D.R. Miller, G.L. Miller, Y. Ben-Dov and N.B. Hardy. 2016. *ScaleNet.* (Online). Available. http://scalenet.info (August 9, 2022).

Gilligan, T. M. and M. E. Epstein. 2022. *TortAI, Tortricids of Agricultural Importance.* (Online). Available. http://idtools.org/id/leps/tortai/index.html (October 8, 2022)

LAW of Korea (National Law Information Center of Korea). 2022. *Criteria for Excluding Import Prohibition of Fresh Cherry Fruits from Uzbekistan*. (Online). Available. https://www.law.go.kr/LSW/admRulLsInfoP.do?admRulSeq=2100000178746#AJAX. (March 9, 2022)

Migeon, A. and F. Dorkeld. 2022. *Spider Mites Web: a comprehensive database for the Tetranychidae.* (Online). Available. https://www1.montpellier.inra.fr/CBGP/spmweb/index.php (February 7, 2022).

Quero-García, J., A. Iezzoni, J. Puławska and G. Lang. 2017. *Cherries Botany, Production and Uses.* CAB International, Oxfordshire. 533 p.

RPRP (Royal Park Rajapruek). 2565. *รายละเอียดพรรณไม้ : RPRP-05053*. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : http://rprp.hwt.co.th/Plants/5056. (25 กุมภาพันธ์ 2565)

Ulenberg, S. A. 2022. *Diaspididae of the World 2.0. Naturalis Biodiversity Center.* (Online). Available. http://diaspididae.linnaeus.naturalis.nl/linnaeus_ng/app/views/ introduction/topic.php?id=3377&epi=155 (February 09, 2022)

USDA APHIS (United States Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service). 2007. *Importation of Sweet Cherry, Prunus avium, from Australia into the 50 States of the United States, including the District of Columbia*. A Qualitative, Pathway-initiated Risk Assessment. United States Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service, North Carolina. 36 p.

USDA APHIS (United States Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service). 2010. *Importation of Fresh Apricot (Prunus armeniaca L.), Sweet Cherry (Prunus avium (L.) L.), and Plumcot (Prunus domestica x Prunus armeniaca) Fruit from South Africa into the Continental United States*. A Qualitative, Pathway-Initiated Risk Assessment with Risk Mitigation Options. United States Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service, North Carolina. 63 p.

USDA FAS (United States Department of Agriculture, Foreign Agricultural Service). 2021. *Fresh Peaches and Cherries: World Markets and Trade.* (Online). Available. https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/StoneFruit.pdf (June 7, 2022).

Venette R. C., E. E. Davis, M. DaCosta, H. Heisler and M. Larson. 2003. *Mini Risk Assessment Grape berry moth, Lobesia botrana (Denis & Schiffermuller) [Lepidoptera: Tortricidae].* Department of Entomology, University of Minnesota. St. Paul, Minnesota. 29 p.

WADA (Western Australia Department of Agriculture). 2001. *Final State Import Risk Analysis of cherry fruit (Prunus avium) from South Australia into Western Australia.* Policy and Risk Assessment, Plant Industry Protection, Western Australia Department of Agriculture. Western Australia. 152 p.

Table 1 Pests associated with cherry

Pest	Scienctific name
Insect (165)	*Xylotrechus namanganensis, Scolytus rugulosus, Xyleborus dispar, Involvulus cylindricollis, Parabemisia myricae, Philaenus spumarius, Rhynchites auratus, Chaetocnema confinis, Eucolaspis brunnea, Syneta albida, Forficula auricularia, Stethorus nigripes, Ambrosiodmus rubricollis, Ambrosiodmus tachygraphus, Anthonomus quadrigibbus, Anthonomus rectirostris, Coccotorus scutellaris, Conotrachelus nenuphar, Leptopius squalidus, Magdalis gracilis, Naupactus xanthographus, Otiorhynchus cribricollis, Pantomorus cervinus, Phlyctinus callosus, Sitona discoideus, Xylosandrus crassiusculus, Aporia crataegi, Aleurodicus dispersus, Drosophila suzukii, Drosophila melanogaster, Anastrepha fraterculus, Anastrepha serpentina, Bactrocera correcta, Bactrocera dorsalis, Bactrocera tryoni, Ceratitis capitata, Euphranta japonica, Malacosoma parallela, Euproctis chrysorrhoea, Rhagoletis cerasi, Rhagoletis cingulata, Rhagoletis fausta, Rhagoletis indifferens, Rhagoletis pomonella, Parabemisia myricae, Aphis fabae, Aphis gossypii, Aphis spiraecola, Appelia prunicola, Brachycaudus amygdalinus, Brachycaudus helichrysi, Brachycaudus persicae, Chaetosiphon fragaefolii, Hyalopterus amygdali, Hyalopterus pruni, Hysteroneura setariae, Myzus cerasi, Myzus persicae, Rhopalosiphum nymphaeae, Eulecanium pruinosum, Eulecanium tiliae, Parthenolecanium corni, Parthenolecanium persicae, Pulvinaria hydrangea, Saissetia oleae, Sphaerolecanium prunastri, Coccinella californica, Aonidiella aurantii, Aspidiotus nerii, Diaspidiotus ancylus, Diaspidiotus ostreaeformis, Diaspidiotus perniciosus, Diaspidiotus prunorum, Epidiaspis leperii, Hemiberlesia lataniae, Lepidosaphes ulmi, Lopholeucaspis japonica, Parlatoria oleae, Pseudaulacaspis pentagona, Quadraspidiotus juglansregiae*

Table 1 Pests associated with cherry (continue)

Pest	Scienctific name
Insect (continue)	*Metcalfa pruinosa, Lymantria dispar, Leucoptera malifoliell, Phenacoccus aceris, Pseudococcus calceolariae, Pseudococcus comstocki, Pseudococcus longispinus, Pseudococcus maritimus, Cacopsylla pyricola, Monosteira unicostata, Urochela luteovaria, Diprion pallidus, Diprion pini, Myrmica rubra, Technomyrmex albipes, Caliroa cerasi, Eriocampoides limacina, Hoplocampa cookei, Hyphantria cunea, Choreutis pariana, Cossus cossus, Anarsia lineatella, Agriopis bajaria, Bupalus piniarius, Operophtera brumata, Oiketicus platensis, Acrobasis indigenella, Acrobasis tricolorella, Amyelois transitella, Cadra cautella, Euzophera semifuneralis, Saturnia pyri, Synanthedon exitiosa, Synanthedon hector, Synanthedon pictipes, Adoxophyes orana, Archips argyrospilus, Archips breviplicanus, Archips cerasivoranus, Archips fuscocupreanus, Archips podana, Archips rosana, Archips xylosteanus, Argyrotaenia citrana, Argyrotaenia mariana, Argyrotaenia velutinana, Cacoecimorpha pronubana, Carposina adreptella, Ctenopseustis herana, Ctenopseustis obliquana, Cydia pomonella, Choristoneura rosaceana, Epichoristodes acerbella, Epiphyas postvittana, Grapholita funebrana, Grapholita molesta, Grapholita packardi, Grapholita prunivora, Hedya nubiferana, Homona magnanima, Lobesia botrana, Pandemis limitata, Pandemis cerasana, Pandemis heparana, Pandemis pyrusana, Planotortrix excessana, Planotortrix octo, Platynota idaeusalis, Platynota stultana, Proeulia auraria, Spilonota ocellana, Yponomeuta padellus, Frankliniella occidentalis, Frankliniella fusca, Frankliniella tritici, Leptothrips mali, Neohydatothrips variabilis, Scirtothrips citri, Scirtothrips perseae, Taeniothrips inconsequens, Thrips angusticeps, Thrips meridionalis, Thrips obscuratus, Thrips imagines, Thripes tabaci*

Table 1 Pests associated with cherry (continue)

Pest	Scienctific name
Mite (17)	*Aculus fockeui, Amphitetranychus viennensis, Bryobia practiosa, Bryobia rubrioculus, Oiigonychus perseae, Panonychus citri, Panonychus ulmi, Tetranychus canadensis, Tetranychus cinnabarinus, Tetranychus kanzawai, Tetranychus ludeni, Tetranychus mcdanieli, Tetranychus neocaledonicus, Tetranychus pacificus, Tetranychus turkestani, Tetranychus urticae, Orthotydeus californicus*
Bacteria (9)	*Agrobacterium tumefaciens, Pseudomonas fluorescens, Pseudomonas syringae, Pseudomonas syringae pv. morsprunorum, Pseudomonas syringae pv. syringae, Pseudomonas viridiflava, Rhizobium radiobacter, Rhizobium rhizogenes, Xanthomonas arboricola pv. pruni*
Fungi (43)	*Armillaria mellea, Blumeriella jaapii, Botryosphaeria obtusa, Botrytis cinerea, Chalara elegans, Globisporangium irregular, Monilinia fructicola, Monilinia fructigena, Monilinia kusanoi, Monilinia laxa, Mucor piriformis, Mycosphaerella cerasella, Mycosphaerella tassiana, Nectria cinnabarina, Penicillium expansum, Pithomyces sacchari, Podosphaera clandestina var. clandestina, Podosphaera leucotricha, Podosphaera tridactyla, Podosphaera pannosa, Pucciniastrum areolatum, Pythium irregular, Phytophthora cactorum, Phytophthora cryptogea, Phytophthora drechsleri, Phytophthora megasperma, Rosellinia necatrix, Rhizopus arrhizus, Stereum purpureum, Taphrina deformans, Taphrina pruni, Taphrina wiesneri, Thielaviopsis basicola, Thyrostroma carpophilum, Trametes versicolor, Tranzschelia discolor, Tranzschelia pruni-spinosae, Trichothecium roseum, Valsa cincta, Valsa leucostoma, Venturia carpophila, Venturia cerasi, Verticillium dahlia*

Table 1 Pests associated with cherry (continue)

Pest	Scienctific name
Virus (19)	*Apple chlorotic leaf spot virus Tricovirus, Apple mosaic Ilarvirus, Apple stem grooving virus Capillovirus, Arabis mosaic Nepovirus, Carnation ringspot virus, Cherry leaf roll virus, Cherry mottle leaf Trichovirus, Cherry necrotic rusty mottle virus, Cherry rasp leaf virus, Cherry green ring mottle virus, Cucumber mosaic virus, Little cherry virus 1, Plum pox virus, Prune dwarf virus, Prunus necrotic ringspot virus, Raspberry ringspot virus, Strawberry latent ringspot virus, Tobacco ringspot virus, Tomato ringspot virus*
Viroid (3)	*Apple scar skin viroid, Hop stunt viroid, Peach latent mosaic viroid*
Nematode (6)	*Pratylenchus loosi, Pratylenchus penetrans, Pratylenchus vulnus, Xiphinema americanum, Xiphinema index, Xiphinema rivesi*

Table 2 Pest categorization of cherry fruit from the Countries in Asia Pacific

Scientific Name	Plant part affected	Present in Asia Pacific	Present in Thailand	Under official control	Potential to be on pathway	Potential for establishment and spread	Potential for economic consequences	Consider further
Amphitetranychus viennensis [Tetranychidae] hawthorn spider mite	Fruit (BA, 2010) leaves, stems (CABI, 2022)	China, Iran, Japan, Turkey and Uzbekistan (CABI, 2022; Migeon and Dorkeld, 2022).	No	No	*A. viennensis* has host plant such as apple cherry, apricot, peach, plum, pear, (BA, 2010; CABI, 2022). Plant parts liable to carry the pest in trade/transport is fruit (BA, 2010).	Peach, fig, plum and pear are grown in Northern of Thailand. *A. viennensis* produces from 3 to 10 generations a year in China (BA, 2010). Laboratory studies indicated that the population of the mites could double in 12.2 days at 15 °C and in 2.6 days at 35 °C (BA, 2010).	*A. viennensis* is an important pest in apple, peach, pear, apricot, plum, sweet cherry and raspberry in China, Japan, Russia, Turkey and Ukraine. The mite causes a reduction in fruit size and weight, but not in the number of fruit produced (CABI, 2022).	Yes

Table 2 Pest categorization of cherry fruit from the Countries in Asia Pacific (continue)

Scientific Name	Plant part affected	Present in Asia Pacific	Present in Thailand	Under official control	Potential to be on pathway	Potential for establishment and spread	Potential for economic consequences	Consider further
Parthenolecanium corni [Hemiptera: Coccidae] European brown scale	Fruit (WADA, 2001)	China, Iran, Israel, Japan, Turkey, Uzbekistan, Australia, New Zealand (García *et al*., 2016; CABI, 2022)	No	No	*P. corni* has host plant such as fig, apple, plum, peach, pear, cherry and grapevine (WADA, 2001; CABI, 2022). Plant parts liable to carry the pest in trade/transport are fruit (WADA, 2001)	Grapevine is grown wide area in Thailand. Fig, apple, plum, peach and pear are grown in Northern of Thailand. On apple in Turkey, *P. corni* had one generation a year, the female were laid 502-4025 eggs per female (CABI, 2022). Dispersal is by the first-instar crawler, aided by wind and animal agencies, and by human transport of infested material (CABI, 2022)	*P. corni* has direct feeding damage, the honeydew excreted forms a substrate for the growth of black sooty moulds, fouling fruit and impairing photosynthesis, sometimes causing premature leaf drop. Sooty mould fouling reduces the value and marketability (CABI, 2022).	Yes

Table 2 Pest categorization of cherry fruit from the Countries in Asia Pacific (continue)

Scientific Name	Plant part affected	Present in Asia Pacific	Present in Thailand	Under official control	Potential to be on pathway	Potential for establishment and spread	Potential for economic consequences	Consider further
Diaspidiotus ostreaeformis [Hemiptera: Diaspididae] pear oyster scale	Fruit (USDA APHIS, 2007; BA, 2010)	China, Iran, Israel, Japan, Turkey, Uzbekistan (García *et al*., 2016; CABI, 2022)	No	No	*D. ostreaeformis* has host plant such as apple, date palm, cherry, plum, peach and pear (BA, 2010; CABI, 2022). Plant parts liable to carry the pest in trade/transport are fruit (USDA APHIS, 2007; BA, 2010).	Apple, date palm, cherry, plum, peach and pears are grown in Northern of Thailand. *D. ostreaeformis* has one generation per year. There are 3 instars in the female and 5 in the male. It overwinters as second-instar larvae. In central Europe, the adults appear at the end of April, and in northern Europe 1 or 2 months later. Egg-laying continues for 2 month, the females each lay about 60-200 eggs (CABI, 2022).	*D. ostreaeformis* also causes red spots on the fruits, and poorly educated quarantine specialists could refuse the import or export of infested fruits or plants thinking it was D. perniciosus (CABI, 2022).	Yes

Table 2 Pest categorization of cherry fruit from the Countries in Asia Pacific (continue)

Scientific Name	Plant part affected	Present in Asia Pacific	Present in Thailand	Under official control	Potential to be on pathway	Potential for establishment and spread	Potential for economic consequences	Consider further
Lepidosaphes ulmi [Hemiptera: Diaspididae] oystershell scale	Fruit, leaf and stem (USDA APHIS, 2010; Customs of China, 2022)	Iran, Turkey (García *et al*., 2016) Uzbekistan (García *et al*., 2016; Customs of China, 2022)	No	No	*L. ulmi* has host plant such as apple, stone fruit, cherry, pear, pomegranate (USDA APHIS, 2010; García *et al*., 2016). Plant parts liable to carry the pest in trade/transport are fruit leaf and stem (USDA APHIS, 2010; Customs of China, 2022).	Stone fruit are grown in Northern of Thailand. The eggs laid on apple were found to contain primitive embryos which develop when conditions become favourable (CABI, 2022). The populations in the more north-eastern regions of the USA have one generation per year, while two generations occur in more southern areas (CABI, 2022).	If left uncontrolled, heavy infestations can weaken or stunt plants. In addition to reducing plant vigour, heavy infestations reduce plant growth and lower frost resistance, endangering trees and possibly leading to death in 2-3 years (CABI, 2022).	Yes

Table 2 Pest categorization of cherry fruit from the Countries in Asia Pacific (continue)

Scientific Name	Plant part affected	Present in Asia Pacific	Present in Thailand	Under official control	Potential to be on pathway	Potential for establishment and spread	Potential for economic consequences	Consider further
Parlatoria oleae [Hemiptera: Diaspididae] olive scale	Fruit (USDA APHIS, 2007)	China, Iran, Israel, Turkey (García *et al*., 2016; CABI, 2022) Uzbekistan (García *et al*., 2016)	No	No	*P. oleae* has host plant such as apple, cherry, pear, grape and mango (USDA APHIS, 2007; García *et al*., 2016; Ulenberg, 2022). Plant parts liable to carry the pest in trade/transport is fruit (USDA APHIS, 2007).	Grape and mango are grown wide area in Thailand, apple and pear are grown in Northern of Thailand. In central Asia, *P. oleae* has two generations per year. Adult females each lay a maximum of about 100 eggs although 30 is about average (García *et al*., 2016). *P. oleae* overwinters as fertilized females on the bark (CABI, 2022).	Crawlers that settle during early fruit development cause abnormalities and deformations on the fruit making it unpalatable, heavily infested olives may have their oil content reduced by as much as 20 percent (García *et al*., 2016).	Yes

Table 2 Pest categorization of cherry fruit from the Countries in Asia Pacific (continue)

Scientific Name	Plant part affected	Present in Asia Pacific	Present in Thailand	Under official control	Potential to be on pathway	Potential for establishment and spread	Potential for economic consequences	Consider further
Phenacoccus aceris [Hemiptera: Pseudococcidae] apple mealybug	Fruit (BA, 2010)	China, Iran, Turkey (BA, 2010; García *et al*., 2016) Uzbekistan (García *et al*., 2016)	No	No	*P. aceris* has host plant such as apple, cherry, pear, plum, grape and apricot (BA, 2010; CABI, 2022). Plant parts liable to carry the pest in trade/transport are fruit (BA, 2010).	Grape is grown in wide area in Thailand. Plum, apricot and pear are grown in Northern of Thailand. *P. aceris* has one generation per year. The second instar nymphs overwinter in the bark, twigs or leaves of the host plant in the autumn and emerge in early spring. They mature, mate and begin egg-laying on twigs in mid-spring. Eggs hatch early summer and the nymphs disperse and attack host plant parts including fruit, twigs and leaves (BA, 2010)	Damage at harvest is considerable when sooty molds, a consequence of the pest's honeydew production, cover the fruits. Indirect damage of an infection is caused in cherry cultivation through transmission of the Little cherry virus (LChV2) (Bangels *et al*., 2014).	Yes

Table 2 Pest categorization of cherry fruit from the Countries in Asia Pacific (continue)

Scientific Name	Plant part affected	Present in Asia Pacific	Present in Thailand	Under official control	Potential to be on pathway	Potential for establishment and spread	Potential for economic consequences	Consider further
Archips rosana [Lepidoptera: Tortricidae] European leaf roller	Fruit (BA, 2009)	Azerbaijan, Kazakhstan, Turkey (CABI, 2022) Uzbekistan (LAW of Korea, 2022)	No	No	*A. rosana* has host plant such as apple, pear, peach, nectarine, apricot, plum, cherry, raspberry (BA, 2009; Gilligan and Epstein, 2022; CABI, 2022). Plant parts liable to carry the pest in trade/transport is fruit (BA, 2009).	Peach, nectarine, apricot, plum and pear are grown in Northern of Thailand. *A. rosana* have one generation a year throughout the USA and overwinter in the egg stage (BA, 2009). On hatching, the larvae mainly feed on leaf rolls but will also feed on the buds, flowers and fruits of the attacked plant (CABI, 2022).	Damage is frequent on apple and pear; incisions on the bud peduncle lead to premature drop and feeding on fruit can be quite deep resulting in markedly deformed fruits (BA, 2009).	Yes

Table 2 Pest categorization of cherry fruit from the Countries in Asia Pacific (continue)

Scientific Name	Plant part affected	Present in Asia Pacific	Present in Thailand	Under official control	Potential to be on pathway	Potential for establishment and spread	Potential for economic consequences	Consider further
Cydia pomonella [Lepidoptera: Tortricidae] codling moth	Fruit (USDA APHIS, 2007)	India, Iran, Israel, Turkey (CABI, 2022) Uzbekistan (CABI, 2022; Customs of China, 2022; LAW of Korea, 2022)	No	No	*C. pomonella* has host plant such as apple, pear, cherry, apricot, plum, peach, nectarine and walnut (BA, 2010). Plant parts liable to carry the pest in trade/transport is fruit (USDA APHIS, 2007; BA, 2010).	Apricot, plum and peach are grown in Northern of Thailand. The number of generations per year varies from 1 to 4, depending on the climate and on the host plant (BA, 2010). Adult females usually lay approximately 250-300 eggs, ovipositing for 4 to 7 days. The mean development times at 15, 20, 25 and 30°C are 16-17, 8-9, 5-6 and 4-5 days, respectively (CABI, 2022).	In warmer climates, where two or more generations occur, damage to apples has been reported as being as high as 84% in the Crimea (CABI, 2022).	Yes

Table 2 Pest categorization of cherry fruit from the Countries in Asia Pacific (continue)

Scientific Name	Plant part affected	Present in Asia Pacific	Present in Thailand	Under official control	Potential to be on pathway	Potential for establishment and spread	Potential for economic consequences	Consider further
Lobesia botrana [Lepidoptera: Tortricidae] grape berry moth	Fruit (CABI, 2022)	Iran, Israel, Turkey, Uzbekistan (CABI, 2022)	No	No	*L. botrana* has host plant such as persimmon, grapevine, cherry, plum, peach, pomegranate and jujube (CABI, 2022). Plant parts liable to carry the pest in trade/transport is fruit (LAW of Korea, 2022; CABI, 2022).	Cherry, peach, plum and persimmon are grown in Northern of Thailand. Grapevine and jujube are grown wide area in Thailand. About 35 eggs are laid per day, for a total of over 300 (Venette *et al*., 2003). Egg-laying can occur at temperatures ranging from 13-34.5°C, though it was observed that optimal temperature range for oviposition was 21-25°C (Venette *et al*., 2003)	Damage may appear of little importance if it is evaluated exclusively as weight loss (direct damage), because greater damage is due to rot-derived reduction in quality (indirect damage) (CABI, 2022).	Yes

Figure 1 Inspection of pests that may be attached to imported cherries in the laboratory

การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้าส่วนขยายพันธุ์องุ่นจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก

Pest risk assessment for plant propagation of grapevine (*Vitis* spp.) from country in Asia-Pacific region

สุคนธ์ทิพย์ สมบัติ[1/] วานิช คำพานิช[1/] ชวลิต จิตนันท์[1/]
เยาวภา ตันติวานิช[2/] ณฐมน แก้วนุ้ย[2/]
[1/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ส่วนขยายพันธุ์องุ่น (*Vitis* spp.) นำเข้าเพื่อปลูกตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 และ ที่แก้ไขเพิ่มเติม ยังไม่มีการควบคุมการนำเข้าด้านสุขอนามัยพืช เพื่อป้องกันศัตรูพืชจากต่างประเทศ จึงดำเนินการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับกิ่งพันธุ์องุ่นจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิกระหว่างเดือนตุลาคม 2564 ถึงธันวาคม 2565 ได้ข้อมูลชื่อวิทยาศาสตร์ สายพันธุ์องุ่น ตลาด แหล่งผลิต สถิติการนำเข้า และข้อมูลศัตรูพืชขององุ่นในประเทศไทยและต่างประเทศ จำนวน 479 ชนิด จากผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของกิ่งพันธุ์องุ่นนำเข้าจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก ในขั้นตอนการจัดประเภทศัตรูพืช พบศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน จำนวน 40 ชนิด ได้แก่ แมลง *Parthenolecanium corni*, *Ceroplastes rusci, Eulecanium tiliae*, *Pulvinaria vitis* ไร *Brevipalpus lewisi* แบคทีเรีย *Xylella fastidiosa, Xylophilus ampelinus* ไฟโตพลาสมา ได้แก่ *Candidatus* Phytoplasma trifolii, *Candidatus* Phytoplasma australiense, *Candidatus* Phytoplasma fraxini, *Candidatus* Phytoplasma phoenicium, *Grapevine yellows phytoplasmas* ไวรัส *Grapevine asteroid mosaic-associated virus, Grapevine deformation virus, Grapevine fanleaf virus, Grapevine Pinot gris virus, Grapevine red blotch virus, Grapevine Roditis leaf discoloration-associated virus, Grapevine rupestris stem pitting-associated virus, Grapevine rupestris vein feathering virus, Grapevine virus A, Grapevine virus B, Grapevine virus E, Grapevine leafroll-associated viruses, Grapevine berry inner necrosis virus, Grapevine Syrah virus-1 , Grapevine fleck virus, Grapevine anatolian ringspot virus, Grapevine fabavirus, Arabis mosaic virus, Tobacco ringspot virus, Sowbane mosaic virus, Strawberry latent ringspot virus, Peach rosette mosaic*

รหัสการทดลอง FF65-55-02-65-00-06-65

virus, Raspberry ringspot virus ไวรอยด์ *Grapevine yellow speckle viroid-3, Grapevine latent viroid, Japanese grapevine viroid* เชื้อรา *Phoma negriana, Pseudopezicula tracheiphila*

คำหลัก : การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช มาตรการสุขอนามัยพืช องุ่น

คำนำ

ปัจจุบันประเทศไทยมีการค้าขายพืชและผลผลิตพืชกับต่างประเทศเพิ่มขึ้น มาตรการสุขอนามัยพืชที่ใช้สำหรับป้องกันมิให้ศัตรูพืชร้ายแรงจากต่างประเทศเข้ามาและ/หรือแพร่กระจายในประเทศไทยอาศัยกฎหมายในการควบคุมการนำเข้าพืชและผลิตผลพืช ได้แก่ พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติม โดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 ที่มีผลใช้บังคับตั้งแต่ 28 สิงหาคม 2551 ซึ่งแบ่งพืชออกเป็น 3 ประเภท ได้แก่ สิ่งต้องห้าม สิ่งกำกัด และสิ่งไม่ต้องห้าม โดยมาตรควบคุมการนำเข้าสิ่งไม่ต้องห้าม เพื่อนำมาเพาะปลูกในประเทศไทย เช่น พืชเพื่อการเพาะปลูก (plant for planting) โดยเฉพาะส่วนขยายพันธุ์พืชองุ่นที่ประเทศผู้ส่งออกต้องปฏิบัตินั้น มีเพียงใบรับสุขอนามัยพืชกำกับมากับพืชนำเข้าเท่านั้น

ส่วนขยายพันธุ์พืชนำเข้า ได้แก่ กิ่งชำ ต้นกล้าเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และเมล็ดพันธุ์ เพื่อการเพาะปลูก ปัจจุบันจัดเป็นสิ่งไม่ต้องห้าม แต่มีความเสี่ยงสูงที่มีโอกาสศัตรูพืชกักกันร้ายแรงติดมากับส่วนขยายพันธุ์องุ่นนำเข้า จากการศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชในเบื้องต้น พบว่ามีศัตรูพืชกักกันร้ายแรงที่ไม่ปรากฏพบในประเทศไทย ได้แก่ *Xylella fastidiosa, Grapevine leafroll-associated viruses, Grapevine yellows phytoplasmas, Candidatus Phytoplasma australiense, Xylophilus ampelinus, Phomopsis viticola, Uncinula necator* จึงควรมีการศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของส่วนขยายพันธุ์องุ่น โดยใช้ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์เป็นเหตุผลในการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชที่เหมาะสม เพื่อป้องกันการเข้ามาของศัตรูพืชดังกล่าวจากประเทศแหล่งกำเนิดในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก และเพื่อใช้เป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ เพื่อทบทวนประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไข ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. ๒๕๐๗ (ฉบับที่ ๕) พ.ศ. ๒๕๕๐ เกี่ยวกับชนิดพืชและศัตรูพืชกักกันที่ต้องประกาศเพิ่มเติม รวมถึงข้อกำหนดการนำเข้าให้มีประสิทธิภาพและรัดกุมยิ่งขึ้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. มาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 2 เรื่อง กรอบสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Framework for Pest Risk Analysis (2007))

2. มาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกัน (Pest Risk Analysis for Quarantine Pests (2013))

3. แนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืชของประชาคมตลาดร่วมแคริบเบียน (Caribbean Community and Common Market, CARICOM)

4. หนังสือ ตำรา วารสาร เอกสารวิชาการที่เกี่ยวข้องทั้งในและต่างประเทศ และฐานข้อมูลออนไลน์ เช่น Crop Protection Compendium, Description of Fungi and Bacteria, Description Maps of Plant Pests, Description Maps of Plant Diseases เป็นต้น

5. วัสดุคอมพิวเตอร์ เช่น หมึกพิมพ์ และแผ่นบันทึกข้อมูล เป็นต้น

6. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างศัตรูพืช เช่น พู่กัน กล่องพลาสติก เป็นต้น

7. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น ขวดแก้ว อุปกรณ์ในการทำสไลด์ กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และ compound microscope เป็นต้น

8. สารเคมี เช่น สารเคมีสำหรับเก็บรักษาตัวอย่างศัตรูพืช สารเคมีกันเชื้อรา สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและแยกเชื้อ เป็นต้น

วิธีการ

1. การสืบค้นและรวบรวมข้อมูล (2565-2567)

1.1 สืบค้นและรวบรวมข้อมูลทั่วไปขององุ่นที่นำเข้า เช่น ชื่อวิทยาศาสตร์ พันธุ์หรือสายพันธุ์ แหล่งผลิต ในประเทศผู้ส่งออก ผลผลิต การรับรองสุขอนามัยของประเทศผู้ส่งออก เป็นต้น

1.2 สืบค้นและรวบรวมข้อมูลองุ่น เช่น ชื่อวิทยาศาสตร์ การจำแนกทางอนุกรมวิธาน พืชอาศัย/พืชอาหาร ลักษณะการทำลาย การแพร่ระบาด ความเสียหายของผลผลิตที่เกิดจากการทำลายของศัตรูพืช ที่มีรายงานในประเทศต้นทาง ประเทศไทย และประเทศอื่น ๆ

2. การตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับองุ่นนำเข้าในห้องปฏิบัติการ (2565-2567)

เก็บตัวอย่างองุ่นนำเข้าจากด่านตรวจพืชนำมาตรวจสอบศัตรูพืชดังนี้

2.1 ตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับองุ่นที่นำเข้า เช่น แมลง ไร หอย วัชพืช เชื้อรา และแบคทีเรีย โดยตรวจสอบภายนอกหรือผ่าดูภายในหากพบอาการผิดปกติ และสังเกตลักษณะผิดปกติที่อาจเกิดจากโรคพืชหรือแมลงศัตรูพืช

2.2 หากพบแมลง ไร หอย และวัชพืช จะตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและสูงจำแนกกลุ่มของแมลง ไร หอย และวัชพืช โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphology) และส่งจำแนกชนิดต่อไป

2.3 หากพบอาการผิดปกติที่อาจเกิดจากเชื้อสาเหตุโรคพืชให้ตรวจสอบด้วยวิธีการ ดังนี้

(1) ตรวจสอบเชื้อราด้วย Blotter method (Mathur and Kongdal, 2003) และตรวจจำแนกชนิดของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและกำลังขยายสูง จากนั้นแยกตรวจสอบจำแนกเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) เพื่อตรวจสอบและจำแนกชนิดของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและกำลังขยายสูง

(2) ตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียด้วย Dilution plate method เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar (NA) เพื่อตรวจสอบและจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

(3) ตรวจสอบไส้เดือนฝอยด้วยวิธีการของ Cobb's sieving & Baermann และจำแนกชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (compound microscope) ในห้องปฏิบัติการ

3. การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (2565-2567)

ดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเชิงคุณภาพ ในการนำเข้ากิ่งพันธุ์องุ่นจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิกโดยการประยุกต์แนวทางการวิเคราะห์ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 2 เรื่อง กรอบสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Framework for Pest Risk Analysis adopted 2007) (FAO, 2007) และฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกัน (Pest risk analysis for quarantine pests, adopted 2013) (FAO, 2013) และแนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืชของประชาคมตลาดร่วมแคริบเบียน (Caribbean Community and Common Market) (CAHFSA, 2016) ซึ่งประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 1: Initiation) (2565)

1.1 ระบุจุดเริ่มต้นของการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช/ระบุพื้นที่ซึ่งมีการดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช/ตรวจสอบว่าเคยมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงโดยศัตรูพืช หรือเส้นทางศัตรูพืช หรือนโยบายของรัฐจากแหล่งข้อมูลภายในประเทศไทยและต่างประเทศพิจารณานำมาใช้ประกอบการวิเคราะห์ศัตรูพืช

1.2 นำข้อมูลศัตรูพืช/กลุ่มศัตรูพืชที่ได้จากการสืบค้นและรวบรวมจากหนังสือ ตำรา เอกสารวิชาการ ฐานข้อมูลศัตรูพืช และจากการตรวจสอบศัตรูพืชที่พบติดมากับองุ่นที่นำเข้าจากต่างประเทศ มาจัดทำตารางศัตรูพืชเพื่อใช้สำหรับการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนต่อไป

ขั้นตอนที่ 2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 2: Pest Risk Assessment) (2565-2567)

การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชมี 4 ขั้นตอนที่สัมพันธ์กัน ดังนี้

2.1 การจัดประเภทศัตรูพืช (Pest categorization) (2565-2567)

2.1.1 นำรายชื่อศัตรูพืช/กลุ่มศัตรูพืชที่ได้จากขั้นตอนที่ 1 มาพิจารณาจัดประเภทศัตรูพืชว่ามีคุณสมบัติเป็นศัตรูพืชกักกันหรือไม่ โดย (1) ระบุชนิดของศัตรูพืช (pest identity) (2) ตรวจสอบว่าเป็นศัตรูพืชที่มีพบในประเทศไทยหรือไม่ (3) ตรวจสอบสถานภาพการควบคุมศัตรูพืช (Regulatory status) กรณีที่ศัตรูพืชชนิดนั้นมีปรากฏในประเทศไทย (4) ประเมินศักยภาพของศัตรูพืชในการเข้ามาตั้งรกรากและการแพร่กระจายในประเทศไทยหรือไม่ โดยพิจารณาข้อมูลทางชีววิทยาของศัตรูพืช สภาพแวดล้อมและสภาพภูมิอากาศที่เหมาะสมต่อการเจริญแพร่ขยายพันธุ์ พืชอาศัย/พืชอาหารและพาหะของศัตรูพืชชนิดนั้นที่มีรายงานการพบในประเทศไทย (5) ประเมินศักยภาพของศัตรูพืช ในการก่อให้เกิดผลตามมาทางเศรษฐกิจในประเทศไทย

2.1.2 จัดทำตารางผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนการจัดประเภทศัตรูพืช และนำรายชื่อศัตรูพืชที่มีศักยภาพติดมากับเส้นทางศัตรูพืช (ส่วนกิ่งพันธุ์องุ่น) มีในประเทศผู้ส่งออก และไม่มีในประเทศไทย หรือมีแต่อยู่ภายใต้การควบคุมอย่างเป็นทางการ มีศักยภาพในการตั้งรกราก และการแพร่กระจายในประเทศไทย ตลอดจนมีศักยภาพที่จะทำให้เกิดความเสียหายหรือผลกระทบทางเศรษฐกิจไปวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป

2.2 การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการนำเข้ามาและแพร่กระจายของศัตรูพืช (Assessment of the probability of introduction and spread) (2566-2567)

นำรายชื่อศัตรูพืชที่ได้จากการประเมินในข้อ 2.1 มาประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการนำเข้ามาและแพร่กระจายของศัตรูพืชภายหลังการตั้งรกรากของศัตรูพืช โดยแยกประเมินศัตรูพืชแต่ละชนิด ดังนี้

2.2.1 การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการนำเข้ามา (introduction) ของศัตรูพืชประกอบด้วย

(1) การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการเข้ามา (probability of entry) ของศัตรูพืช โดยประเมินความน่าจะเป็นไปได้ที่ศัตรูพืชจะปะปนมากับส่วนขยายพันธุ์องุ่น (กิ่งพันธุ์) นำเข้ามาในประเทศไทย

(2) การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการตั้งรกราก (probability of establish) ของศัตรูพืช โดยประเมินความน่าจะเป็นไปได้ที่ศัตรูพืชสามารถมีชีวิตอยู่รอดและเจริญแพร่ขยายพันธุ์ได้ในประเทศไทย

2.2.2 การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการแพร่กระจายหลังการตั้งรกราก (Probability of spread after establishment) Spread) โดยประเมินความน่าจะเป็นไปได้ที่ศัตรูพืชสามารถแพร่กระจายในประเทศไทย

ปัจจัยที่นำมาใช้พิจารณาประเมินความน่าจะเป็นไปได้ใช้ตามแนวทางการวิเคราะห์ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกัน (FAO, 2013) สำหรับรายละเอียดหลักเกณฑ์การประเมินความน่าจะเป็นไปได้แต่ละเหตุการณ์ ตลอดจนการรวมผลการประเมินใน 2 เหตุการณ์ โดยใช้กฎเมตริกซ์ สำหรับการรวมโอกาสที่จะเกิดขึ้นเชิงคุณภาพ (Matrix of rules for combining qualitative likelihoods) ดำเนินการตามแนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืชของประชาคมตลาดร่วมแคริบเบียน (CAHFSA, 2016)

2.3 การประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้น (Assessment of Potential Economic Consequence) ภายหลังการเข้ามาของศัตรูพืช (2566-2567)

นำรายชื่อศัตรูพืชที่ได้จากการประเมินในข้อ 2.1 มาประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้นภายหลังการเข้ามาของศัตรูพืชในประเทศไทย การพิจารณาผลกระทบของศัตรูพืชทั้งทางตรง และทางอ้อม ที่มีต่อเศรษฐกิจ สิ่งแวดล้อม และสังคม โดยใช้หลักเกณฑ์การ

ประเมินผลกระทบในแต่ละด้านตามแนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืชของประชาคมตลาดร่วมแคริบเบียน (CAHFSA, 2016)

2.4 สรุปผลในขั้นตอนการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Conclusion of the pest risk assessment stage) (2566-2567)

นำผลการประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของ 2.2.1 การนำเข้ามาและการแพร่กระจายของศัตรูพืช และ 2.2.2 การประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้นภายหลังการเข้ามาของศัตรูพืช มารวมกันโดยใช้ เมตริกซ์การประเมินความเสี่ยง (risk estimation matrix) (CAHFSA, 2016) บันทึกปัจจัยที่ไม่แน่นอน (uncertainty)

ขั้นตอนที่ 3 การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 3: Pest Risk Management) (2566-2567)

นำรายชื่อศัตรูพืชกักกัน ที่ได้จากการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนที่ 2 มาพิจารณาหาแนวทางการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชเพื่อจัดการความเสี่ยงของศัตรูพืชแต่ละชนิด โดยจำแนกวิธีการที่จะดำเนินการกับความเสี่ยงที่ศัตรูพืชในการเข้ามาเจริญและแพร่ขยายพันธุ์ในประเทศไทยตลอดจนผลกระทบทางด้านเศรษฐกิจเพื่อลดความเสี่ยงลงให้ถึงระดับต่ำสุดที่ยอมรับได้ โดยมีความเป็นไปได้ในทางปฏิบัติและไม่เป็นอุปสรรคต่อการค้าระหว่างประเทศ สำหรับนำไปใช้เป็นแนวทางในการกำหนดเงื่อนไขการนำเข้าตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 และที่แก้ไขเพิ่มเติม ทั้งนี้ การพิจารณาระดับความเสี่ยง (Level of risk): ใช้หลักการจัดการความเสี่ยงให้อยู่ในระดับที่มีระดับที่เหมาะสมซึ่งสามารถยอมรับได้ (Appropriate Level of acceptable; ALOP) หรือระดับความเสี่ยงที่สามารถยอมรับได้ (acceptable) โดยในการทดลองนี้กำหนดให้มีระดับความเสี่ยงที่ยอมรับได้ คือ “ความเสี่ยงในระดับที่ละเลยได้ (negligible)”

4. สรุปผลศึกษาการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (2566, 2567)

สรุปผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนต่าง ๆ รวมถึงรายชื่อศัตรูพืชกักกันของการนำเข้ากิ่งพันธุ์องุ่นจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก ที่มีระดับความเสี่ยงแตกต่างกัน แนวทางการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันแต่ละชนิด และมาตรการสนับสนุนอื่น ๆ สำหรับใช้เป็นข้อมูลกำหนดมาตรการทางกฎหมายต่อไป

- **การบันทึกข้อมูล**

1. รายละเอียดของศัตรูพืชแต่ละชนิด เช่น ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อสามัญ เขตแพร่กระจาย ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย/อาศัย และมีพาหะ หรือเป็นพาหะของศัตรูพืชชนิดอื่นหรือไม่ การติดมากับส่วนของพืชที่นำเข้า พืชอาศัย ชีววิทยา นิเวศวิทยา เอกสารอ้างอิง

2. ชนิดของศัตรูพืชกักกัน ศัตรูพืช หรืออื่น ๆ ที่ปนเปื้อนหรือติดมากับองุ่นนำเข้า วัน เวลา สถานที่ และวิธีการที่ใช้ในการจำแนกชนิดศัตรูพืช ลักษณะอาการบนพืช

3. สถานภาพของศัตรูพืชแต่ละชนิดว่ามีรายงานพบในประเทศไทยหรือไม่ และเอกสารอ้างอิง

4. ชนิดของศัตรูพืชกักกัน เขตแพร่กระจาย (ชื่อประเทศ) ในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก และมาตรการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันขององุ่นนำเข้าจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2564 - กันยายน 2565

สถานที่ 1. ห้องปฏิบัติการและโรงเรือนทดลองกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

2. แปลงปลูกพืชองุ่น จังหวัดนครราชสีมา

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสืบค้นและรวบรวมข้อมูล

1.1 สืบค้นและรวบรวมข้อมูลทั่วไปขององุ่นที่นำเข้า

ลักษณะโดยทั่วไป องุ่น (Grape) มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Vitis vinifera* เป็นไม้เลื้อยประเภทยืนต้น มีอายุยาวนานหลายปี การปลูกจะต้องมีค้างรองรับ เถาองุ่น จะมีลักษณะเป็นปล้อง บริเวณข้อจะมีใบ 1 ใบอยู่เรียงสลับกันไปตามข้อ และมีมือจับซึ่งเป็นช่อดอก ที่ไม่พัฒนาอยู่ตรงข้ามกับใบ บริเวณโคนก้านใบจะมีกิ่งแขนงเล็ก 1 กิ่งและตา 1 ตา เป็นตารวมประกอบด้วยตาเอก (Primary bud) 1 ตาอยู่ตรงกลางและตารอง (Secondary bud) 2 ตา ตาเอกมีความสำคัญมาก เพราะประกอบด้วยตายอดมือและกลุ่มของดอก ผลองุ่นจะมีลักษณะเป็นพวง แบบที่เรียกว่าราคีส (rachis) ผลมีหลากหลายลักษณะ ขนาดและสี ภายในผลอาจจะมีเมล็ดหรือไม่มีก็ได้ ขึ้นอยู่กับพันธุ์ ในเขตอบอุ่นหรือเขตหนาว องุ่นจะพักตัวในฤดูหนาว เมื่ออากาศอบอุ่นก็จะแตกตาเกิดยอดใหม่ ซึ่งจะออกดอกและติดผลบนกิ่งใหม่ แต่ในประเทศไทย ซึ่งอากาศไม่หนาวเย็น ต้นองุ่นจะไม่พักตัว วิธีการทำให้องุ่นให้ผลผลิตคือ เมื่อกิ่งแก่เป็นสีน้ำตาลแล้ว จะใช้วิธีการตัดแต่ง และใช้สารบังคับให้ตาแตกออกมาเป็นยอดใหม่ และออกดอกให้ผลผลิต

การปลูก และสภาพภูมิอากาศ เนื่องจากองุ่นเป็นพันธุ์พืชป่าที่มีถิ่นกำเนิดดั้งเดิมในทวีปอเมริกาก่อนจะกระจายพันธุ์เข้าสู่ทวีป ยุโรป จากหลักฐานทางประวัติศาสตร์ มีการบ่งบอกว่ามีการปลูกองุ่นกันมามากกว่า 5,000 ปี มีหลายสายพันธุ์และเป็นพืชที่สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพภูมิอากาศต่างๆ ได้ดี จึงสามารถปลูกได้ในสภาพพื้นที่หลากหลาย แต่พื้นที่ที่มีอากาศหนาวเย็นจะทำให้องุ่นออกดอกและให้ผลผลิตได้ดี และผลผลิตมีคุณภาพดี แต่อย่างไรก็ตามในพื้นที่มีฝนตกมากเกินไปและแสงแดดน้อย ทำให้มีปัญหาเรื่องโรคทำลายมาก จึงมีการปลูกในสภาพโรงเรือน โดยส่วนใหญ่การปลูกองุ่นมักชอบพื้นที่อุณหภูมิค่อนข้างสูง แดดจัด และความชื้นอากาศต่ำ ถ้าความชื้นสูงมักมีโรคแมลง ต้องลงทุนป้องกันและกำจัดสูง การปลูกที่ดีควรยกร่อง เพื่อให้เกิดน้ำเข้าออกคล่อง ทำให้ถ่ายเทอากาศบนดินสะดวก ที่ดินดอนหรือดินทรายก็ปลูกได้ แต่ต้องเป็นดินสมบูรณ์ บนไหล่เขา ต้องลงรากลึกถึง 2 ฟุต และไม่ควรเป็นดินดาน การปลูกทั้งแบบยกร่อง และปลูกในที่ดอน ทั้งสองแบบต้องขุดหลุม เมื่อองุ่นอายุครบปีควรขึ้นค้าง ทำค้างเป็นเสาคู่ ถ้าใช้เสาซีเมนต์ค่าใช้จ่ายสูงแต่ได้ความทนทาน

ถ้าค้างไม้ ต้องเป็นไม้เนื้อแข็ง ในแปลงหนึ่งใช้เสาเพียง 3 คู่ มีมากไปก็สิ้นเปลือง ปักหัวแปลง กลางแปลง และท้ายแปลง จากนั้นก็ขึงด้วยเส้นลวดแข็ง และใช้ไผ่รวกค้ำคานหรือเสา และค้ำเส้นลวดให้มั่นคงตึงตัว องุ่นเป็นพืชที่ขยายพันธุ์ได้ง่ายและรวดเร็ว และสามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ เพาะเมล็ด การปักชำ การตอน การติดตา การเสียบยอดหรือทาบกิ่ง แต่อย่างไรก็ตามไม่นิยมขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเมล็ดเพราะจะทำให้กลายพันธุ์ได้ และติดโรคพืชได้ง่าย

สายพันธุ์องุ่น ที่ใช้ผลิตไวน์มีมากมายกว่า 1,000 สายพันธุ์ทั่วโลก และที่นิยมปลูกทั่วไป แบ่งได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ คือ 1) พันธุ์ยุโรป และเอเชียไมเนอร์ เป็นองุ่นที่รู้จักก่อนยุคประวัติศาสตร์ ใช้บริโภคสด ทำไวน์ และลูกเกด เป็นพันธุ์ผลดก ช่อผลใหญ่ ผลก็ใหญ่ เมล็ดในน้อย ไม่แข็ง รสหวานมากกว่าเปรี้ยว 2) พันธุ์พื้นเมืองอเมริกา เป็นพันธุ์ป่ามาแต่เดิม ใช้บริโภคไม่ได้หลายชนิด คุณภาพสู้ของยุโรปไม่ได้ ช่อผลเล็ก ผลก็เล็ก รสอมเปรี้ยว เมล็ดในแข็ง ส่วนดีคือ ใช้ลำต้นทาบด้วยพันธุ์ยุโรป และ 3) พันธุ์ลูกผสม ส่วนมากเป็นพันธุ์ผสมในหมู่พันธุ์ยุโรปด้วยกัน มีปลูกกันแพร่หลาย เพราะรสหวานอร่อย มีทั้งลูกผสม ที่ผสมระหว่างพันธุ์ยุโรปและอเมริกา ที่ชาวฝรั่งเศสเป็นผู้ผสม จึงเรียกว่า ลูกผสมฝรั่งเศส และลูกผสมอเมริกา ที่ผสมระหว่างพันธุ์ยุโรปกับพันธุ์อเมริกา มีชาวอเมริกันทำการผสม

แหล่งผลิตองุ่นของสาธารณรัฐประชาชนจีน มีพื้นที่บริเวณตะวันออกเฉียงเหนือของเมืองทูรูฟานที่เป็นพื้นที่ลุ่มต่ำ จึงเป็นแหล่งปลูกองุ่นที่สำคัญ ถือว่าที่นี่เป็นแหล่งปลูกองุ่นไร้เมล็ด และดินแดนองุ่นหวานของประเทศจีนที่สร้างผลิตผลถึงร้อยละ 90 ของประเทศทีเดียว และมีสัดส่วนในการผลิตองุ่นมากถึงร้อยละ 52.48 ของปริมาณการผลิตทั่วประเทศจีน ปัจจุบันในพื้นที่มีการปลูกองุ่นหลายสายพันธุ์ เช่น องุ่นเขียว องุ่นไร้เมล็ด องุ่นแดง องุ่นดำ องุ่นพันธุ์ Midnight Beauty รวมแล้วกว่า 550 สายพันธุ์

องุ่นส่งออกของญี่ปุ่น มีมูลค่าที่ 147 ล้านเยน โดยเฉพาะพันธุ์ไชน์มัสคัส (Shine Muscat) ซึ่งถูกเพาะพันธุ์ขึ้นมาจากศูนย์วิจัยพืชผลไม้ของญี่ปุ่นในปี 1988 ในขณะที่ประเทศเกาหลีใต้ส่งออกมากกว่าญี่ปุ่นถึง 5 เท่า โดยมูลค่าขององุ่นทั้งหมดที่ถูกส่งออกสูงถึง 800 ล้านเยน เมื่อต้นปี 2020 เติบโตกว่า 50% โดย 90% เป็นองุ่นไชน์มัสคัส ทางด้านประเทศจีนสามารถเพาะปลูกองุ่นไชน์มัสคัสถึง 53,000 เอเคอร์ ซึ่งมากกว่าของญี่ปุ่นที่ 1,200 เอเคอร์ถึง 40 เท่า ส่วนเกาหลีใต้มีพื้นที่ฟาร์มกว่า 1,800 เอเคอร์

นอกจากนี้องุ่นออสเตรเลีย มีหลากสายพันธุ์มีความโดดเด่นและแตกต่างจากองุ่นทั่วไป เช่น มีปริมาณน้ำมาก มีน้ำตาลต่ำรสชาติหวานฉ่ำน้ำ เนื้อสัมผัสกรอบและแน่น ที่สำคัญมีประโยชน์มากมาย ทั้งช่วงสร้างภูมิคุ้มกัน อุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ ช่วยให้หัวใจแข็งแรง และยังช่วยชะลอความแก่อีกด้วย ได้แก่ องุ่นแดงไร้เมล็ดสายพันธุ์คริมสัน (Crimson seedless) องุ่นแดงเขียวไร้เมล็ดทอมป์สัน (Thompson seedless) และองุ่นดำไร้เมล็ดสายพันธุ์สวีทซัฟไฟร์ (Sweet Sapphire)

สำหรับประเทศไทยมีการปลูกองุ่นมาตั้งแต่สมัยอยุธยา ในสมัยพระบาทสมเด็จพระจุลจอมเกล้าเจ้าอยู่หัว รัชกาลที่ 5 และทดลองปรับปรุงพันธุ์กันนานมากในช่วงรัชกาลที่ 7 แต่ไม่ประสบความสำเร็จเพราะผลองุ่นที่ได้มีรสเปรี้ยว ทำให้การปลูกองุ่นซบเซาลง ปี พ.ศ. 2493 หลวงสมานวนกิจ ได้นำเข้าสายพันธุ์องุ่น จากมลรัฐแคลิฟอร์เนีย สหรัฐอเมริกาเข้ามาปลูกองุ่นอย่างจริงจัง แต่ยังไม่สำเร็จเท่าที่ควร จนกระทั่งปี พ.ศ.2497 ดร.พิศ ปัญญาลักษณ์ ได้นำพันธุ์องุ่น จากทวีปยุโรปเข้ามาปลูก เริ่มได้ผลผลิตคุณภาพดี และมีการปลูกองุ่นกันแพร่หลายมากขึ้น การปลูกองุ่นในประเทศไทยได้รับความมนิยมเป็นอย่างมากในภาคตะวันออก และด้วยองุ่นเป็นพืชที่สามารถปลูกได้ในหลายๆ สภาพอากาศจึงทำให้การปลูกขยายไปบางในภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียบหนือ และภาคกลาง แต่องุ่นเป็นพืชที่ไม่ได้ทนต่อแมลงและโรคพืช

ฤดูกาลเก็บเกี่ยวผลผลิต องุ่นสามารถตัดแต่งต้นให้มีผลผลิตได้ตลอดปี แต่นิยมบังคับองุ่นให้มีผลผลิตในช่วงเวลาที่ผลผลิตมีคุณภาพสูง คือ ในช่วงเดือนธันวาคมถึงมกราคม และเดือนมีนาคมถึงพฤษภาคม

ตลาดและการใช้ประโยชน์ องุ่นผลิตทั่วโลก 77,518,398 ตันต่อปี จีนเป็นผู้ผลิตองุ่นที่ใหญ่ที่สุดในโลกด้วยปริมาณการผลิต 14,842,680 ตันต่อปี อิตาลีมาเป็นอันดับสองด้วยการผลิต 8,201,914 ตันต่อปี ประเทศไทยมี 80,837 อยู่ในอันดับที่ 52 องุ่นเป็นผลไม้ที่ส่วนใหญ่จะนิยมบริโภคผลสด และนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น น้ำองุ่นและไวน์ ปัจจุบันการนำเข้าส่วนขยายพันธุ์องุ่นมายังประเทศไทย เช่น กิ่งพันธุ์ เมล็ดพันธุ์ จัดเป็นสิ่งไม่ต้องห้ามตาม พ.ร.บ. กักพืช พ.ศ. 2507 และที่แก้ไขเพิ่มเติม สามารถนำเข้าได้จากทุกแหล่งหรือทุกประเทศ โดยแจ้งการนำเข้าต่อพนักงานเจ้าหน้าที่และมีใบรับรองสุขอนามัยพืชแนบมาพร้อมกับสินค้าเท่านั้น โดยจากข้อมูลสถิติการนำเข้า (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2562) พบว่ามีการนำเข้าส่วนขยายพันธุ์องุ่น เช่น ต้นองุ่นจากอิตาลี ฝรั่งเศส เนเธอร์แลนด์ และสหรัฐอเมริกา รวมถึงประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก เช่น ญี่ปุ่น จีน เป็นต้น

1.2 สืบค้นและรวบรวมข้อมูลศัตรูองุ่น

ผลรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชของส่วนขยายพันธุ์องุ่นที่มีรายงานจากประเทศต้นทางประเทศไทย และประเทศอื่นๆทั่วโลก พบจำนวน 479 ชนิด แบ่งเป็นแมลง 175 ชนิด ไร 22 ชนิด แบคทีเรีย 21 ชนิด เชื้อรา 118 ชนิด ไวรัส 48 ไวรอยด์ 4 ชนิด ไส้เดือนฝอย 43 ชนิด หอยทาก 3 ชนิด วัชพืช 45 ชนิด

ผลการสำรวจศัตรูพืชในแปลงองุ่นพันธุ์แบล็คโอปอ (Black Opal) จำนวน 1 แปลง ในอำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา พบศัตรูพืช ได้แก่ เพลี้ยไฟ ราน้ำค้าง และใบไหม้ ที่เกิดจากเชื้อราสาเหตุ *Colletotriuchum* sp., *Alternaria* sp. และ *Phoma* sp.

2. การตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับส่วนขยายพันธุ์องุ่นนำเข้าในห้องปฏิบัติการ

ผลตรวจสอบข้อมูลการนำเข้าส่วนขยายพันธุ์องุ่น ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 ถึง กันยายน2565 ยังไม่มีการนำเข้าส่วนขยายพันธุ์องุ่นจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก

3. การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

ขั้นตอนที่ 1 การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 1: Initiation)

การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเป็นผลมาจากปัจจุบันส่วนขยายพันธุ์องุ่น (*Vitis* spp.) จัดเป็นสิ่งไม่ต้องห้ามตาม พ.ร.บ. กักพืช พ.ศ. 2507 และที่แก้ไขเพิ่มเติม และจัดอยู่ในกลุ่มพืชที่มีความเสี่ยงสูงมากกว่ากลุ่มอื่นของสินค้าตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ ๓๒ (ISPM no. 32 : Categorization of commodities according to their pest risk) เนื่องจากวัตถุประสงค์เพื่อใช้การเพาะปลูก (plant for planting) ซึ่งมีโอกาสที่ติดมากับเส้นทางศัตรูพืช (ส่วนขยายพันธุ์องุ่น) นำเข้าในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิค จำเป็นต้องวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของส่วนขยายพันธุ์องุ่น (กิ่งพันธุ์) โดยใช้ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์เป็นเหตุผลในการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชที่เหมาะสม เพื่อป้องกันการเข้ามาของศัตรูพืชดังกล่าวจากประเทศแหล่งกำเนิดในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก และเพื่อใช้เป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ เพื่อทบทวนประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไข ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. ๒๕๐๗ (ฉบับที่ ๕) พ.ศ. ๒๕๕๐ เกี่ยวกับชนิดพืชและศัตรูพืชกักกันที่ต้องประกาศเพิ่มเติม รวมถึงข้อกำหนดการนำเข้าให้มีประสิทธิภาพและรัดกุมยิ่งขึ้น ดังนั้น พื้นที่ซึ่งมีการดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช คือ ประเทศไทย

จากผลข้อมูลการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชที่ดำเนินการเสร็จแล้วในต่างประเทศสำหรับส่วนขยายพันธุ์องุ่น พบว่า เครือรัฐออสเตรเลีย มีศัตรูพืชกักกันของส่วนขยายพันธุ์องุ่น (กิ่งชำองุ่น ต้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และเมล็ดพันธุ์องุ่น) จำนวน 81 ชนิด ดังนี้ **แบคทีเรีย 3 ชนิด** ได้แก่ *Xanthomonas campestris* pv. *viticola, Xylella fastidiosa, Xylophilus ampelinus,* **เชื้อรา 38 ชนิด** ได้แก่ *Alternaria viticola, Cadophora luteo-olivacea, Cadophora melinii, Eutypella leprosa, Eutypella vitis, Fomitiporia mediterranea, Fomitiporia polymorpha, Guignardia species (Guignardia bidwellii, Guignardia bidwellii f. euvitis, Guignardia bidwellii f. muscadinii), Inocutis jamaicensis, Monilinia fructigena Phaeoacremonium* species (*P. alvesii, P. angustius, P. argentinense, P. armeniacum, P. austroafricanum, P. cinereum, P. croatiense, P. globosum, P. griseorubrum, P. hispanicum, P.hungaricum, P. inflatipes, P. iranianum, P. krajdenii, P. mortoniae, P. occidentale, P. rubrigenum, P. scolyti, P. sicilianum, P. subulatum, P. tuscanum, P. venezuelense, P. viticola*), *Phakopsora* species (*Phakopsora euvitis, Phakopsora muscadiniae, Phakopsora uva*) **ไฟโตรพลาสมา 8 ชนิด** ได้แก่ *Candidatus Phytoplasma asteris* [Aster yellows group], *Candidatus* Phytoplasma fraxini [Ash yellows group], *Candidatus*

Phytoplasma phoenicium, *Candidatus Phytoplasma pruni*, *Candidatus Phytoplasma solani* [Stolbur group], *Candidatus Phytoplasma ulmi* [Elm yellows group EY group], *Candidatus Phytoplasma vitis* [Elm yellows group], *European stone fruit yellows Phytoplasma* [Apple proliferation group] **และไวรัส 32 ชนิด** *Arabis mosaic virus* (ArMV) – grape strain, *Artichoke Italian latent virus* (AILV), *Blueberry leaf mottle virus* (BLMV), *Cherry leafroll virus* (CLRV) – grape, *Cherry leafroll virus* (CLRV) grape isolate, *Grapevine ajinashika virus* (GAgV), *Grapevine Anatolian ringspot virus* (GARSV), *Grapevine angular mosaic associated virus* (GAMaV), *Grapevine asteroid mosaic associated virus* (GAMV), *Grapevine berry inner necrosis virus* (GINV), *Grapevine Bulgarian latent virus* (GBLV), *Grapevine chrome mosaic virus* (GCMV), *Grapevine deformation virus* (GDefV), *Grapevine fanleaf virus* (GFLV), *Grapevine leafroll associated virus* (GLRaV), *Grapevine line pattern virus* (GLPV), *Grapevine red blotch-associated virus* (GRBaV), *Grapevine red globe virus* (GRGV), *Grapevine rupestris vein feathering virus* (GRVFV), *Grapevine syrah virus-I* (GSyV-I), *Grapevine Tunisian ringspot virus* (GTRSV), *Grapevine virus B* (strains associated with corky bark) (GVB), *Grapevine virus E* (GVE), *Grapevine virus F* (GVF), *Peach rosette mosaic virus* (PRMV), *Petunia asteroid mosaic virus* (PeAMV), *Raspberry ringspot virus* (RpRSV) – grapevine strain, *Sowbane mosaic virus* (SoMV) – grape infecting strain, *Strawberry latent ringspot virus* (SLRSV), *Tobacco necrosis virus* (TNV) – grape strain, *Tomato black ring virus* (TBRV), *Tomato ringspot virus* (ToRSV) โดยมีข้อกำหนดด้านสุขอนามัยพืชก่อนการนำเข้า ได้แก่ ตรวจสอบต้นพืชในช่วงการเจริญเติบโต และทดสอบในห้องปฏิบัติการ (field inspection and laboratory test) นอกจากนี้ส่วนขยายพันธุ์องุ่น เมื่อนำเข้ามายังเครือรัฐออสเตรเลีย ต้องตรวจสอบอาการบนต้นองุ่น และทดสอบในห้องปฏิบัติการ ภายหลังการนำเข้า (Post entry quarantine) และต้องผ่านการกำจัดศัตรูพืช ได้แก่ อิมิดาโคลพริด ความเข้มข้น 100 ppm และ 1% Eco-Oil® นาน 30 วินาที) แช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์หรือคลอรีน ความเข้มข้น 1% นาน 5 นาที และแช่ในน้ำร้อนอุณหภูมิ 50°C นาน 30 นาทีก่อนทำการปลูก โดยทำการปลูกเป็นระยะเวลา 16 เดือน (ปลูกในสถานกักพืช 12 เดือน และตรวจสอบบนต้นพืช และทดสอบโรคพืชในห้องปฏิบัติการ เป็นเวลา 4 เดือน)

ขั้นตอนที่ 2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 2: Pest Risk Assessment)

2.1 การจัดประเภทศัตรูพืช (Pest categorization)

ผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนการจัดประเภทศัตรูพืช โดยนำรายชื่อศัตรูพืชในข้อ 1.2 ที่มีรายงานในประเทศภูในมิภาคเอเชียแปซิฟิค และไม่มีในประเทศไทย สามารถติดมากับกิ่งพันธุ์องุ่นนำเข้า ซึ่งมีศักยภาพในการตั้งรกราก และการแพร่กระจายในประเทศ

ไทย ตลอดจนมีศักยภาพที่จะทำให้เกิดผลกระทบทางเศรษฐกิจ พบมีศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกันของส่วนยายพันธุ์องุ่น (กิ่งพันธุ์) นำเข้าจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก จำนวน 40 ชนิด ได้แก่ แมลง *Parthenolecanium corni*, *Ceroplastes rusci, Eulecanium tiliae*, *Pulvinaria vitis* ไร *Brevipalpus lewisi* แบคทีเรีย *Xylella fastidiosa, Xylophilus ampelinus* ไฟโตพลาสมา ได้แก่ *Candidatus Phytoplasma trifolii, Candidatus Phytoplasma australiense, Candidatus Phytoplasma fraxini, Candidatus Phytoplasma phoenicium, Grapevine yellows phytoplasmas* ไวรัส *Grapevine asteroid mosaic-associated virus, Grapevine deformation virus, Grapevine fanleaf virus, Grapevine Pinot gris virus, Grapevine red blotch virus, Grapevine Roditis leaf discoloration-associated virus, Grapevine rupestris stem pitting-associated virus, Grapevine rupestris vein feathering virus, Grapevine virus A, Grapevine virus B, Grapevine virus E, Grapevine leafroll-associated viruses, Grapevine berry inner necrosis virus, Grapevine Syrah virus-1, Grapevine fleck virus, Grapevine anatolian ringspot virus, Grapevine fabavirus, Arabis mosaic virus, Tobacco ringspot virus, Sowbane mosaic virus, Strawberry latent ringspot virus, Peach rosette mosaic virus, Raspberry ringspot virus* ไวรอยด์ *Grapevine yellow speckle viroid-3, Grapevine latent viroid, Japanese grapevine viroid* เชื้อรา *Phoma negriana, Pseudopezicula tracheiphila*

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ส่วนขยายพันธุ์องุ่น (*Vitis* spp.) นำเข้าเพื่อปลูก ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 และที่แก้ไขเพิ่มเติม ยังไม่มีการควบคุมการนำเข้าด้านสุขอนามัยพืช เพื่อป้องกันศัตรูพืชจากต่างประเทศ จึงต้องประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับส่วนขยายพันธุ์องุ่นนำเข้าจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก ได้แก่ กิ่งพันธุ์องุ่น ซึ่งผลการดำเนินการเดือนตุลาคม 2564 ถึงธันวาคม 2565 ได้ข้อมูลพืชทั่วไปขององุ่น ได้แก่ ชื่อ ชนิด สายพันธุ์ การตลาด สถิติการนำเข้า แหล่งผลิต และการเพาะปลูกองุ่นในประเทศไทย และข้อมูลศัตรูพืชของส่วนขยายพันธุ์องุ่น จำนวน 479 ชนิด ได้แก่ แมลง 175 ชนิด ไร 22 ชนิด แบคทีเรีย 21 ชนิด เชื้อรา 118 ชนิด ไวรัส 48 ไวรอยด์ 4 ชนิด ไส้เดือนฝอย 43 ชนิด หอยทาก 3 ชนิด วัชพืช 45 ชนิด และเมื่อตรวจสอบข้อมูลการนำเข้าส่วนขยายพันธุ์ยังไม่พบการนำเข้าจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก และผลการสำรวจศัตรูพืชในแปลงปลูกองุ่น อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา พบเพลี้ยไฟ ราน้ำค้าง และใบไหม้ (*Colletotriuchum* sp., *Alternaria* sp., *Phoma* sp.) และผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของกิ่งพันธุ์องุ่นนำเข้าจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก โดยจุดเริ่มต้นของการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำกิ่งพันธุ์องุ่นเข้ามาในประเทศไทยเกิดขึ้นจากการทบทวนด้านนโยบายเพื่อปรับปรุงมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้ากิ่งพันธุ์องุ่นจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิกให้รัดกุมยิ่งขึ้น ซึ่งในขั้นตอนจัดประเภทศัตรูพืชพบศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน จำนวน 40 ชนิด ได้แก่ แมลง *Parthenolecanium corni*, *Ceroplastes rusci,*

Eulecanium tiliae, *Pulvinaria vitis* ไร *Brevipalpus lewisi* แบคทีเรีย *Xylella fastidiosa*, *Xylophilus ampelinus* ไฟโตพลาสมา ได้แก่ *Candidatus Phytoplasma trifolii, Candidatus Phytoplasma australiense, Candidatus Phytoplasma fraxini, Candidatus Phytoplasma phoenicium, Grapevine yellows phytoplasmas* ไวรัส *Grapevine asteroid mosaic-associated virus, Grapevine deformation virus, Grapevine fanleaf virus, Grapevine Pinot gris virus, Grapevine red blotch virus, Grapevine Roditis leaf discoloration-associated virus, Grapevine rupestris stem pitting-associated virus, Grapevine rupestris vein feathering virus, Grapevine virus A, Grapevine virus B, Grapevine virus E, Grapevine leafroll-associated viruses, Grapevine berry inner necrosis virus, Grapevine Syrah virus-1, Grapevine fleck virus, Grapevine anatolian ringspot virus, Grapevine fabavirus, Arabis mosaic virus, Tobacco ringspot virus*, *Sowbane mosaic virus, Strawberry latent ringspot virus, Peach rosette mosaic virus, Raspberry ringspot virus* ไวรอยด์ *Grapevine yellow speckle viroid-3, Grapevine latent viroid, Japanese grapevine viroid* เชื้อรา *Phoma negriana*, *Pseudopezicula tracheiphila* ซึ่งศัตรูพืชกักกันเหล่านี้จะนำไปประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการนำเข้ามาและแพร่กระจายของศัตรูพืช และผลกระทบทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้นภายหลังการเข้ามาของศัตรูพืช เพื่อจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กรรณิการ์ เพี้ยนภักตร์.2547.เอกสารวิชาการ : *Sphaceloma* spp. สาเหตุโรคสแคปของพืชต่างๆในประเทศไทย.สำนักงานเลขานุการกรม กรมวิชาการเกษตร. จตุจักร กรุงเทพฯ. 74 หน้า

การปลูกองุ่นอย่างละเอียด. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล :www.farmthailand.com/266. (5 มีนาคม 2563)

พันธุ์องุ่นเบื้องต้น. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: www.lucariscrystal.com/th/blog/พันธุ์องุ่นเบื้องต้น. (5 มีนาคม 2563)

ศิริพร ดอนเหนือ บุณยาพร ภาคภูมิ และเกรียงศักดิ์ ไทยพงษ์. 2564. *Candidatus* phytoplasma solani สาเหตุโรคของมะละกอที่เกิดจากไฟโตพลาสมาใน ประเทศไทย. แก่นเกษตร 49 ฉบับที่ 5: 1249-1258.

สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2560. ข้อมูลการนำเข้าพืช ปี 2559-2560. สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

องุ่น พืชเมืองหนาว เติบโตได้ดีในเขตร้อน. เทคโนโลยีชาวบ้านออนไลน์. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: https://www.sentangsedtee.com/farming-trendy/article_70121. (5 มีนาคม 2563)

Biosecurity New Zealand. 2021. Import health standard amends the Import Health Standard: Importation of Nursery Stock (155.02.06). (Online). Available. https://www.biosecurity.govt.nz/importing/plants/nursery-stock/requirement-documents-for importing-nursery-stock/. (March 20, 2022)

CABI (CAB International). 2022. Crop Protection Compendium. Wallingford, UK: CAB International. (Online). Available. http://www.cabi.org/. (September 18, 2022).

Department of Agriculture, Water and the Environment (AWE). 2020. *Vitis* spp. (grape) for use as nursery stock. (Online). Available. https://bicon.agriculture.gov.au/BiconWeb4.0/ImportConditions/Search/. (February 7, 2023)

FAO (Food and Agriculture Organization). 2007. International Standards for Phytosanitary Measures no. 2: Framework for Pest Risk Analysis (2007). (Online). Available. http://www.ippc.int/publications/pest-risk-analysis- quarantine-pests. (March 4, 2020)

FAO (Food and Agriculture Organization). 2014. International Standards for Phytosanitary Measures no. 11: Pest Risk Analysis for Quarantine Pests (2013). (Online). Available. http://www.ippc.int/publications/pest-risk-analysis- quarantine-pests. (March 4, 2020)

Jiang D., T. Sano, M. Tsuji, H. Araki, K. Sagawa, C.H.A. Purushothama, Z. Zhang, R. Guoa, L. Xie, Z. Wub, H. Wangd and S. Li, 2012. Comprehensive diversity analysis of viroids infecting grapevine in China and Japan. *Virus Research* 169: 237–245.

Jo, Y., M. K. Song, H. Choi, J. S. Park, J. W. Lee, and W. K. Cho. 2017. First Report of *Grapevine fabavirus* in Diverse *Vitis* Species in Korea. (Online). Available. https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PDIS-04-17-0513-PDN. (June 24, 2023)

Morgan, S. W., D. A. Read, J. T. Burger and G. Pietersen. 2023. Diversity of viroids infecting grapevines in the South African Vitisgermplasm collection. *Virus Genes* 59:244–253.

PPRD (Plant Protection Research and Development Office). 2016. List of Insect, Mite and Other Zoological Pests of Economic Plants in Thailand. Department of Agriculture, Bangkok.199 p.

Saengmanee, P., P. Burns and T. Wetzel. 2018. First Report of *Australian grapevine viroid* in Grapevine in Thailand. (Online). Available. https://doi.org/10.1094/PDIS-01-18-0187-PDN. (March 20, 2023)

Zhang, Z., S. Qi, N. Tang, X. Zhang, S. Chen and P. Zhu. 2014. Discovery of Replicating Circular RNAs by RNA-Seq and Computational Algorithms. PLoS Pathog 10(12): e100455. (Online). Available. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004553 (July 20, 2023)

Table 1 Pest categorization of grapevine (*Vitis* spp.) from Asia and Pacific Countries

Science Name	Common name	Distribution (Asia and Pacific Countries)	plant part attack	Consider Furter	Reference
INSECT					
Adoretus sinicus	Chinese rose beetle	Thailand	leaf, whole plant	No	CABI online, 2022
Agrotis segetum	turnip moth	Thailand	leaf, stem, root	No	CABI online, 2022
Ceresa alta	buffalo treehopper	Armenia, Azerbaijan, Georgia, Kazakhstan	leaf	No	CABI online, 2022
Ceroplastes sinensis	Chinese wax scale	Azerbaijan (introduced), China, Georgia, India, Iran, Japan, Syria, Turkey, Viet Nam, Australia, New Zealand	Fruit, leaf, shoot or branch	No	CABI online, 2022
Melolontha melolontha	white grub cockchafer	China, India, Turkey	root, bare rooted plants	No	CABI online, 2022
Otiorhynchus sulcatus	vine weevil	Japan, Malaysia	root, bare-rooted plants	No	CABI online, 2022
Parasaissetia nigra	pomegranate scale	Thailand	leaf	No	CABI online, 2022
Parthenolecanium corni	brown scale	China, Iran, India, Japan, Israel, Australia, New Zealand	leaf, stem, branch	Yes	CABI online, 2022

Table 1 Pest categorization of grapevine (*Vitis* spp.) from Asia and Pacific Countries (continue)

Science Name	Common name	Distribution (Asia and Pacific Countries)	plant part attack	Consider Furter	Reference
Philaenus spumarius	meadow froghopper	Afghanistan, Armenia, Azerbaijan, China, Georgia, Iran, Iraq, Japan, Kazakhstan, Kyrgyzstan, Mongolia, Syria, Turkey New Zealand	leaf	No	CABI online, 2022
Scirtothrips dorsalis	chilli thrips	Thailand	leaf, fruit	No	PPRDO, 2016
Sparganothis pilleriana	Long-palped tortrix	Armenia, China, Japan, Turkey	leaf, shoot	No	CABI online, 2022
Xestia c-nigrum	spotted cutworm	Afghanistan, China, Georgia, India, Japan, Kazakhstan, Kyrgyzstan, North Korea, Pakistan, South Korea, Turkey, Uzbekistan, Vietnam	fruit, leaf	No	CABI online, 2022
Xyleborus dispar	pear blight beetle	Armenia, Azerbaijan, China, Georgia, Iran, Mongolia, Turkey	bark, wood	No	CABI online, 2022
Ceroplastes rusci	fig wax scale	Afghanistan, China, India, Indonesia, Iran, Iraq, Israel, Jordan, Lebanon, Saudi Arabia, Syria, Turkey, United Arab Emirates, Vietnam Australia	foliage, stems, branches	Yes	CABI online, 2022

Table 1 Pest categorization of grapevine (*Vitis* spp.) from Asia and Pacific Countries (continue)

Science Name	Common name	Distribution (Asia and Pacific Countries)	plant part attack	Consider Furter	Reference
Costelytra zealandica	grass grub	New Zealand	leaf, root	No	CABI online, 2022
Eulecanium tiliae	nut scale	Armenia, Azerbaijan, Georgia, India, Iran, Iraq, Israel, Pakistan, Turkey	stem	Yes	CABI online, 2022
Hyphantria cunea	mulberry moth	Azerbaijan, China, India, Georgia, Iran, Japan, Kazakhstan, Kyrgyzstan, North Korea, South Korea, Turkey, New Zealand	leaf	No	CABI online, 2022
Otiorhynchus rugosostriatus	rough strawberry root weevil	Turkey, Australia	root, bare-rooted plants	No	CABI online, 2022
Agriotes lineatus	wireworm	Iran, Israel, Turkey	root, bare-rooted plants	No	CABI online, 2022
Metcalfa pruinosa	frosted moth-bug	South Korea, Turkey, Georgia	leaf	No	CABI online, 2022
Otiorhynchus ligustici	alfalfa snout beetle	Turkey	root, bare-rooted plants	No	CABI online, 2022
Aleurocanthus woglumi	citrus blackfly	India, Indonesia, Cambodia, Singapore, Sri Lanka, Thailand, China (excluding Hong Kong, China), Nepal, Pakistan, Bangladesh, Philippines, Bhutan, Viet Nam, Hong Kong, China, Malay, Christmas Island, Papua New Guinea, Hawaiian Islands	stem, leaf, all plant	No	CABI online, 2022

Table 1 Pest categorization of grapevine (*Vitis* spp.) from Asia and Pacific Countries (continue)

Science Name	Common name	Distribution (Asia and Pacific Countries)	plant part attack	Consider Furter	Reference
Naupactus leucoloma	white fringed weevil	Australia, New Zealand	root, leaf	No	CABI online, 2022
Pulvinaria vitis	cottony maple, scale	China, Iran, New Zealand	stem, branch	Yes	CABI online, 2022
MITE					
Brevipalpus lewisi	citrus flat mite	Georgia, India, Iran, Japan, Lebanon, Taiwan, Tajikistan, Turkey, Australia	fruit, leaf, root, bare rooted plants	Yes	CABI online, 2022
Colomerus vitis	grape erineum mite	India, Iran, Israel, Pakistan, Turkey	leaf, bud	No	CABI online, 2022
Tetranychus pacificus	Pacific spider mite	Japan	leaf	No	CABI online, 2022
Tetranychus turkestani	strawberry, spider mite	Chin, India, Iran, Iraq, Japan, Thailand	root, bare-rooted plants	No	CABI online, 2022
BACTERIA					
Xanthomonas campestris pv. *viticola*	leafspot, canker	India, Thailand	leaf	No	CABI online, 2022
Xylella fastidiosa	Pierce's disease of grapevines	Israel, Iraq, Iran, Turkey, Lebanon, Chines Taipei,	leaf, stem, whole plant	Yes	CABI online, 2022
Xylophilus ampelinus		Japan, Jordan	leaf, stem, whole plant	Yes	CABI online, 2022

Table 1 Pest categorization of grapevine (*Vitis* spp.) from Asia and Pacific Countries (continue)

Science Name	Common name	Distribution (Asia and Pacific Countries)	plant part attack	Consider Furter	Reference
FUNGUS					
Botryosphaeria stevensii	Botryosphaeria disease, grapevine	India, Iran, Australia, New Zealand	leaf, shoot	No	CABI online, 2022
Botryotinia fuckeliana (Syn. *Botrytis cinerea*)	grey mould-rot	Thailand	bulb, leaf, seed, flower	No	CABI online, 2022
Botryotinia pseudofuckeliana (Syn. *Botrytis pseudocinerea*)	grapevine grey mould	China, New Zealand	fruit, leaf	No	CABI online, 2022
Elsinoë ampelina (Sphaceloma ampelinum)	(grape anthracnose)	Thailand	leaf, fruit	No	CABI online, 2022; Kanika *et al*., 2004
Eutypa lata	Eutypa dieback	India, Pakistan, Israel, Turkey, Lebanon, Australia, New Zealand	leaf, shoot	No	CABI online, 2022
Phaeomoniella chlamydospora	Petri disease	Iran, Lebanon, Turkey, Australia, New Zealand	flower, fruit, leaf	No	CABI online, 2022
Phakopsora euvitis	grape rust fungus	Thailand	leaf	No	CABI online, 2022
Phomopsis viticola	Phomopsis cane and leaf spot	Thailand	fruit, leaf	No	CABI online, 2022

Table 1 Pest categorization of grapevine (*Vitis* spp.) from Asia and Pacific Countries (continue)

Science Name	Common name	Distribution (Asia and Pacific Countries)	plant part attack	Consider Furter	Reference
Pseudopezicula tracheiphila	red fire disease of grapevine	Jordan	stem	Yes	CABI online, 2022
Colletotrichum nymphaeae	twig anthracnose	China, South Korea, Malaysia	leaf	No	CABI online, 2022
Phoma glomerata	blight of grapevine	China, India, Syria, Australia	seed, leaf	No	CABI online, 2022
Phoma negriana	black rot	Iran	leaf, stem, fruit	Yes	CABI online, 2022
PHYTOPLASMA					
Candidatus Phytoplasma australiense		Israel, Australia, New Zealand	leaf, stem, flower	Yes	CABI online, 2022
Candidatus Phytoplasma solani	black wood of grapevine	China, Iran, Israel, Japan, Jordan, Korea Republic, Kyrgyzstan, Lebanon, Saudi Arabia, Syria, Taiwan, Tajikistan, Thailand, Uzbekistan	fruit, leaf, stem, flower, whole plant	No	CABI online, 2022; Siriporn *et al*, 2021
Candidatus Phytoplasma trifolii	clover proliferation phytoplasma	Bangladesh, China, Iran, Lebanon, Malaysia, Oman, South Korea, Syria, Turkey, Uzbekistan, Australia	fruit, leaf, stem, flower, whole plant	Yes	CABI online, 2022

Table 1 Pest categorization of grapevine (*Vitis* spp.) from Asia and Pacific Countries (continue)

Science Name	Common name	Distribution (Asia and Pacific Countries)	plant part attack	Consider Furter	Reference
Grapevine yellows phytoplasmas		Israel, Australia (widespread)	leaf, stem, flower, root, seedlings/ micropropagated plants	Yes	CABI online, 2022
Candidatus Phytoplasma asteris	yellow disease phytoplasmas	Thailand	leaf	No	CABI online, 2022
Clover phyllody phytoplasma	phyllody of clover	Thailand, India, Indonesia, Australia	fruit, leaf, stem, whole plant	No	CABI online, 2022
Candidatus Phytoplasma fraxini	Ash yellows group	Iran	leaf, shoot, fruit, whole plant	Yes	CABI online, 2022
Candidatus Phytoplasma phoenicium		India, Iran, Lebanon	seedlings, pot plants, rooted or unrooted cuttings, tissue culture, scions, and rootstocks	Yes	CABI online, 2022
VIROID					
Grapevine yellow speckle viroid 1		Thailand, Japan, China	leaf, whole plant	No	CABI online, 2022
Grapevine yellow speckle viroid 2		Thailand, China	leaf, whole plant	No	CABI online, 2022

Table 1 Pest categorization of grapevine (*Vitis* spp.) from Asia and Pacific Countries (continue)

Science Name	Common name	Distribution (Asia and Pacific Countries)	plant part attack	Consider Furter	Reference
Grapevine yellow speckle viroid-3		China, Japan	leaf, branches, stem/unrooted cuttings, tissue culture, scions, and rootstocks	Yes	Jiang *et al*, 2012, CABI online, 2022
Citrus exocortis viroid	citrus exocortis	Thailand, China	leaf, whole plant	No	CABI online, 2022
Hop stunt viroid	hop stunt viroid	Thailand, Japan, China	leaf, whole plant	No	CABI online, 2022
Australian grapevine viroid		Thailand, China	leaf, whole plant	No	CABI online, 2022; Saengmanee *et al*., 2018
Grapevine latent viroid		China	leaf, branches, stem/unrooted cuttings, tissue culture, scions, and rootstocks	Yes	Zhang *et al*., 2014; CABI online, 2022
Japanese grapevine viroid		Japan	leaf, branches, stem/unrooted cuttings, tissue culture, scions, and rootstocks	Yes	Morgan *et al*., 2023; CABI online, 2022

Table 1 Pest categorization of grapevine (*Vitis* spp.) from Asia and Pacific Countries (continue)

Science Name	Common name	Distribution (Asia and Pacific Countries)	plant part attack	Consider Furter	Reference
VIRUS					
Arabis mosaic virus	hop bare-bine	India, Iran, Japan, Kazakhstan, Lebanon, Syria, Turkey, Australia, New Zealand	leaf, fruit, whole plant	Yes	CABI online, 2022
Grapevine deformation virus		Iran	leaf, whole plant	Yes	CABI online, 2022; NZ, 2021
Grapevine fanleaf virus	grapevine court-noué virus	Armenia, China, India, Iran, Israel, Japan, Jordan, Kazakhstan, Lebanon, Pakistan, Palestine, Philippines, Syria, Turkey New Zealand	leaf, seed, whole plant	Yes	CABI online, 2022; NZ, 2021
Grapevine leafroll-associated viruses	leafroll disease	Armenia, China, India, Israel, Japan, Jordan, Kazakhstan, Lebanon, Pakistan, South Korea, Taiwan, Turkey, Yemen Australia, New Zealand	leaf, whole plant	Yes	CABI online, 2022
Grapevine Pinot gris virus		Armenia, China, India, Iran, Japan, Lebanon, North Korea, Pakistan, South Korea, Turkey Australia	leaf, whole plant	Yes	CABI online, 2022; NZ, 2021
Grapevine red blotch virus	grapevine red blotch virus	India, South Korea Oceania: Australia	leaf, whole plant	Yes	CABI online, 2022; NZ, 2021

Table 1 Pest categorization of grapevine (*Vitis* spp.) from Asia and Pacific Countries (continue)

Science Name	Common name	Distribution (Asia and Pacific Countries)	plant part attack	Consider Furter	Reference
Grapevine Roditis leaf discoloration-associated virus		Turkey	stem, whole plant	Yes	CABI online, 2022
Grapevine rupestris stem pitting-associated virus		China, Pakistan, South Korea, Turkey Oceania: Australia	leaf, stem, whole plant	Yes	CABI online, 2022; NZ, 2021
Grapevine rupestris vein feathering virus		China, Iran, Japan, Pakistan, South Korea, Turkey Oceania: Australia, New Zealand	leaf, stem	Yes	CABI online, 2022; NZ, 2021
Grapevine Syrah virus-1		China, South Korea, Turkey	leaf	Yes	CABI online, 2022
Grapevine virus A	grapevine closterovirus	Afghanistan, Armenia, China, Iran, Israel, Jordan, Kazakhstan, Lebanon, Pakistan, Syria, Turkey, Yemen, Australia, New Zealand	leaf, bark, petioles	Yes	CABI online, 2022; NZ, 2021
Peach rosette mosaic virus	rosette mosaic of peach	India	fruit, leaf, stem, seed	Yes	CABI online, 2022; NZ, 2021
Raspberry ringspot virus	ringspot of raspberry	Iran, Kazakhstan, Turkey, Uzbekistan	fruit, leaf, whole plant	Yes	CABI online, 2022; NZ, 2021
Alfalfa mosaic virus	alfalfa yellow spot	Taiwan, Turkey	leaf	No	CABI online, 2022
Cherry leaf roll virus	walnut ringspot	China, Syria, Australia, New Zealand	leaf, whole plant	No	CABI online, 2022; NZ, 2021

Table 1 Pest categorization of grapevine (*Vitis* spp.) from Asia and Pacific Countries (continue)

Science Name	Common name	Distribution (Asia and Pacific Countries)	plant part attack	Consider Furter	Reference
Grapevine asteroid mosaic-associated virus	asteroid mosaic of grapevine	Japan, New Zealand	leaf	Yes	CABI online, 2022; NZ, 2021
Tobacco ringspot virus		China, Indonesia, Iran, Israel, Japan, Kyrgyzstan, Nepal, Saudi Arabia, Sri Lanka, Taiwan, Australia, New Zealand	leaf, seed, whole plant	Yes	CABI online, 2022
Tomato ringspot virus		Chin, India, Iran, Japan, Jordan, Korea Republic, Oman, Pakistan, Taiwan, New Zealand	leaf, seed	No	CABI online, 2022
Grapevine anatolian ringspot virus		Iran	leaf	Yes	CABI online, 2022
Grapevine berry inner necrosis virus		China, Japan	leaf	Yes	CABI online, 2022
Grapevine fleck virus	(fleck of grapevine)	Armenia, China, Georgia, India, Iran, Jordan, Lebanon, Pakistan, South Korea, Syria, Turkey	leaf	Yes	CABI online, 2022
Grapevine virus B		Korea, China	leaf, bark, whole plant	Yes	CABI online, 2022
Grapevine virus E		China	leaf	Yes	CABI online, 2022
Blueberry leaf mottle virus		Korea republic	leaf	No	CABI online, 2022

Table 1 Pest categorization of grapevine (*Vitis* spp.) from Asia and Pacific Countries (continue)

Science Name	Common name	Distribution (Asia and Pacific Countries)	plant part attack	Consider Furter	Reference
Grapevine fabavirus		Japan, Korea	leaf	Yes	CABI online, 2022; Jo et al., 2017
Sowbane mosaic virus		Japan, Australia	leaf, whole plant	Yes	CABI online, 2022; NZ, 2021
Strawberry latent ringspot virus		India, Israel, Lebanon, Taiwan	leaf, whole plant	Yes	CABI online, 2022; NZ, 2021

การสำรวจและเฝ้าระวังไส้เดือนฝอย *Ditylenchus dipsaci* ในประเทศไทย

Surveys and Surveillance of *Ditylenchus dipsaci* in Thailand

ธิติยา ชยาภัคพัฒนา[1/] ไตรเดช ข่ายทอง[1/] วานิช คำพานิช[2/]
สุรศักดิ์ แสนโคตร[2/]
[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Progress report

This research to conduct surveys and surveillance of *Ditylenchus dipsaci* in Thailand between October 2021–September 2022. The experimental collected of 308 samples of plants and growing soil such as Thai garlics, spring onions, shallots and onions from the areas are important for growing in Thailand as follows at the provinces of Uttaradit, Phrae, Nan, Phayao, Phetchabun, Lampang, Lamphun, Mae Hong Son and Chiang Mai. The detected plant-parasitic nematodes were only in growing soils, mostly *Helicotylenchus* spp., *Tylenchorhychus* spp., *Aphelenchus* spp., *Meloidogyne* spp., *Aphelenchoides* spp. and *Hirschmanniella* spp. However, in garlic plant-parasitic nematodes were detected *Hirschmanniella* spp., *Pratylenchus* spp., and *Radopholus* spp. But, in onion plant-parasitic nematodes were not detected. Therefore, this report concluded that from the diagnosis of plant-parasitic nematodes from 308 samples, none of them found *Ditylenchus dipsaci.*

Keywords : Surveys Surveillance *Ditylenchus dipsaci* garlic onion

---

รหัสการทดลอง FF65-55-06-65-00-08-65

รายงานความก้าวหน้า

การวิจัยดำเนินการสำรวจและเฝ้าระวังไส้เดือนฝอย *Ditylenchus dipsaci* ในประเทศไทย ระหว่าง ตุลาคม 2564 – กันยายน 2565 ในพื้นที่ จังหวัด อุตรดิตถ์ แพร่ น่าน พะเยา เพชรบูรณ์ ลำปาง ลำพูน แม่ฮ่องสอน และ เชียงใหม่ ได้เก็บตัวอย่างพืชและหรือดินปลูก เช่น กระเทียมพันธุ์พื้นเมือง หอมแบ่ง หอมแดง หอมหัวใหญ่ ไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ตรวจพบมีเฉพาะในดินปลูกซึ่งส่วนใหญ่คือ *Helicotylenchus* spp. *Tylenchorhychus* spp. *Aphelenchus* spp. *Meloidogyne* spp. *Aphelenchoides* spp. และ *Hirschmanniella* spp. สำหรับกระเทียมตรวจพบไส้เดือนฝอย *Hirschmanniella* spp. *Pratylenchus* spp. และ *Radopholus* spp. และในหอมหัวใหญ่ไม่พบไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ดังนั้นสรุปได้ว่าจากการตรวจวินิจฉัยไส้เดือนฝอยศัตรูพืช จากตัวอย่างพืชและดินปลูก จำนวน 308 ตัวอย่าง ทุกตัวอย่างไม่พบไส้เดือนฝอย *Ditylenchus dipsaci*

คำหลัก : การสำรวจ เฝ้าระวังไส้เดือนฝอย *Ditylenchus dipsaci* กระเทียม หอมหัวใหญ่

คำนำ

ไส้เดือนฝอย *Ditylenchus dipsaci* (Kühn, 1857) Filip'ev, 1936 ชื่อสามัญ stem and bulb nematode เป็นศัตรูกักกัน ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์เรื่องกำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้าม ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ.2507 (ฉบับที่ 6) (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2550) ไส้เดือนฝอยชนิดนี้มีถิ่นกำเนิด และการ แพร่กระจายในบริเวณเขตอบอุ่นของโลก (temperate regions) เช่น ยุโรปและภูมิภาคเมดิเตอร์เรเนียน อเมริกาเหนือและใต้ แอฟริกาเหนือและใต้ เอเชียและโอเชียเนีย เป็นต้น ชีววิทยาของเชื้อ *D. dipsaci* เป็นไส้เดือนฝอยสามารถเคลื่อนย้ายตัวได้ภายในเซลล์ของพืช (migratory endoparasite)มีการเจริญพันธุ์แบบ Amphimixis แต่การขยายตัวของประชากรเกิดได้อย่างรวดเร็วเพราะหลังจากที่ลอกคราบเป็นตัวอ่อนระยะที่ 2 ได้เพียง 2 วัน ก็เจริญเป็นตัวเต็มวัยเพียง 4-5 วัน วัฏจักรชีวิต ประมาณ 19-23 วัน ที่อุณหภูมิ 15 °C และตัวเมียหนึ่งตัวสามารถวางไข่ได้กว่า 500 ฟอง อีกทั้งสามารถมีชีวิตอยู่ได้มากกว่า 10 สัปดาห์ สิ่งที่สำคัญของเชื้อ *D. dipsaci* นี้คือความสามารถในการทนต่อสภาพความแห้งแล้ง หรือ แม้แต่การตายของพืชอาศัย โดยเชื้อควบคุมการสูญเสียของน้ำและมีขดตัวอย่างแน่นหนา เรียกว่า “eelworm wool”ซึ่งสามารถอยู่ได้นานหลายปี และเมื่อได้รับความชื้นก็จะกลับเข้าทำลายพืชอีกครั้ง จากการทดลองในห้องปฏิบัติการพบว่าสามารถเก็บ eelworm wool ได้นาน 10 ปี และมีหลักฐานการพบเชื้อ *D. dipsaci* ในตัวอย่างแห้งของพืช *Dipsacus fullonum* (wild teasel)ในพิพิธภัณฑ์ที่เก็บไว้กว่า 23 ปี อีกทั้งเชื้อยังมีความทนทานอุณหภูมิที่ต่ำกว่าจุดเยือแข็ง และจากการทดลองในห้องปฏิบัติการพบว่าสามารถมีชีวิตอยู่รอดที่อุณหภูมิ -150 °C นาน 18 เดือน ส่วนการเข้าการทำลายของ *D. dipsaci* พบมากเข้าทำลายพืชในสกุล Allium และในพืชสกุลอื่นๆมีพบการเข้าทำลาย เช่น หอมหัวใหญ่ (*Allium cepa*; onion) หอมแดง (*Allium cepa* var. *aggregatum*; shallot) กระเทียม (*Allium sativum*; garlic) แครอท (*Daucus carota*; carrot) และถั่วปากอ้า (*Vicia faba*; faba bean) เป็นต้น ส่วนใหญ่มีอาการเหลือง

และแห้งตาย สำหรับกระเทียมหอมหัวใหญ่ หอมแดง ใบจะบวมพองและเป็นแผลปริแตก ส่วนหัวของพืชในวงนี้เป็นหัวที่เกิดจากกาบใบ เมื่อถูกเข้าทำลายกาบใบจะแตกออกใกล้ฐานของหัวหรือใกล้กับรากและกาบใบด้านในมักจะถูกทำลายมากกว่ากาบใบด้านนอก เมื่อเนื้อเยื่อภายในจะถูกทำลายก็จะทำให้ไม่สามารถเก็บรักษาหัวไว้ได้นาน (Perry and Moens, 2006)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ ถุงพลาสติก ถุงกระดาษ กรรไกรตัดแต่งกิ่ง ไม้ทับตัวอย่าง กระดาษ หนังสือพิมพ์ ซองกระดาษสำหรับเก็บและรักษาตัวอย่าง เป็นต้น

2. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ อุปกรณ์แยกไส้เดือนฝอย ได้แก่ เครื่องชั่ง ตะแกรง (sieve) ขนาด 18 - 60 mesh 200 และ 325 mesh ตะแกรง เครื่อง ultrasonic เครื่องปั่น กรวยแก้ว (funnel) พร้อมสายยาง คลิปหนีบสายยาง Oostenbrink dish ถังกะละมัง กระดาษกรอง กระบอกฉีดน้ำ ตู้เย็นเก็บตัวอย่าง เป็นต้น กล้องจุลทรรศน์ชนิดหัวกลับ(Inverted Microscope) กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo พร้อมอุปกรณ์ถ่ายภาพ เป็นต้น

3. อุปกรณ์ทำสไลด์ไส้เดือนฝอย ได้แก่ เข็มเขี่ย มีดและใบมีดผ่าตัด ปากคีบ ตะเกียงแอลกอฮอล์ water bath และ heat block และ embryo dish โถดูดความชื้น บีกเกอร์ ขวดดูแรน กระบอกตวง สไลด์และแผ่นแก้วปิดสไลด์ สไลด์หลุม กล่องเก็บสไลด์ สารเคมี เช่น silica gel, formalin, glycerin, ethyl alcohol เป็นต้น

4. สารเคมีและอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการชีวโมเลกุล ได้แก่ เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม เครื่องแยกสารพันธุกรรมด้วยไฟฟ้า (gel electrophoresis) เครื่องสเปคโทรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometor) ตู้ปลอดเชื้อ เครื่องปั่นตกตะกอน เครื่องดูดสารละลายปริมาตรต่ำ (micropipettes) ตู้แช่ 4 องศาเซลเซียส ตู้แช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส เป็นต้น สารเคมีได้แก่ DNA/RNA template, DNA polymerase, primers (forward and reverse), deoxynucleotide triphosphates (dNTPs) ,PCR buffers ,Taq polymerase ,PCR buffers (Tris-HCl, potassium chloride (KCl) and magnesium chloride (MgCl2)) Agarose gel และ น้ำกลั่น เป็นต้น

5. คู่มือสำรวจและจัดจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอย

วิธีการ

การสำรวจและเฝ้าระวังไส้เดือนฝอย *Ditylenchus dipsaci* ดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจงตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (surveillance: ISPM No. 6)

1. การรวบรวมข้อมูลไส้เดือนฝอย *Ditylenchus dipsaci* สืบค้นข้อมูลลักษณะของไส้เดือนฝอย ได้แก่ รายละเอียดของไส้เดือนฝอย ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพ้อง รูปร่างลักษณะ การเข้าทำลาย พืชอาศัย การแพร่ระบาด จากทั้งในและต่างประเทศ ฐานข้อมูล เอกสารวิชาการ วารสาร รายงานการประชุม สัมมนาทางวิชาการและหน่วยงานอื่นที่เกี่ยวข้อง

2. การสำรวจและเฝ้าระวังไส้เดือนฝอย *Ditylenchus dipsaci*

2.1 จัดทำคู่มือศัตรูพืชและจัดทำฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ (2565) โดยรวบรวมข้อมูลอ้างอิง ข้อมูลลักษณะไส้เดือนฝอย ชื่อสามัญ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชนิดของพืชอาศัย สภาพแวดล้อมที่เหมาะสม แหล่งที่พบ ลักษณะอาการที่เกิดจากไส้เดือนฝอย *D. dipsaci* พร้อมรูปภาพสีเพื่อใช้ในการ ตรวจสอบอาการที่พบในแปลง ตลอดจนรายละเอียดของอาการที่มีลักษณะคล้ายกับอาการของพืชเป้าหมาย และรูปภาพ ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไส้เดือนฝอย และจัดทำแบบฟอร์มการสำรวจ เพื่อบันทึกข้อมูลชื่อเกษตรกร สถานที่ วันที่เก็บ ข้อมูลพิกัดภูมิศาสตร์

2.2 การสำรวจ (2565-2567)

กำหนดพื้นที่ แหล่งปลูกกระเทียม และหอมหัวใหญ่ ในประเทศไทย เช่น จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ ลำพูน ลำปาง แม่ฮ่องสอน ตาก พะเยา แพร่ น่าน นครสวรรค์ ศรีสะเกษ กาญจนบุรี เป็นต้น และวางแผนการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (Specific survey) ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (Surveillance: ISPM No. 6) โดยทำการสำรวจแบบสืบพบ (Detection survey) เพื่อสืบค้นหาศัตรูพืชเป้าหมาย โดยการสำรวจอย่างน้อย 10 แปลงต่อพื้นที่ แต่ละแปลงทำการสุ่มตัวอย่างดินและพืชแบบเป็นระบบ

2.3 วิธีการตรวจไส้เดือนฝอย *D. dipsaci* ในแปลงปลูกกระเทียมและหอมหัวใหญ่ เมื่อออกสำรวจให้สังเกตจากลักษณะอาการเปรียบเทียบกับคู่มือการสำรวจที่จัดทำไว้ บันทึกรายละเอียดข้อมูลของแปลง บันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป สุ่มเก็บตัวอย่าง อย่างน้อย 30 จุด ต่อแปลง หรือ 10 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่แปลง รวมทั้งเก็บตัวอย่างหัวกระเทียมและหอมหัวใหญ่ 50-100 หัวต่อแปลง ห่อกระดาษหนังสือพิมพ์ เขียนรายละเอียดกำกับ นำกลับมาแยก ตรวจสอบและจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ

3. การตรวจสอบและจำแนกไส้เดือนฝอย *D. disaci* ในห้องปฏิบัติการ (2565-2567) การแยกเชื้อทำสองส่วนโดยแยกจากดินและจากพืช (กระเทียม และหอมหัวใหญ่) ตามวิธีใน EPPO Standard PM 7/119 (1) Nematode extraction (EPPO ,2013) ดังนี้

3.1 แยกไส้เดือนฝอยจากดิน โดยวิธี Cobb's sieving and Baermann funnel หรือ Oostenbrink dish ตามขั้นตอนโดยย่อดังนี้ นำตัวอย่างดิน 250กรัม ใส่ในภาชนะพลาสติกเทน้ำลงไป ขยี้ดินให้แตก เพื่อให้ไส้เดือนฝอยแยกตัวหลุดออกมาจากดินมากที่สุด ทิ้งไว้ประมาณ 30 วินาที เทน้ำลงในตะแกรง (sieve) ขนาด 18 - 60 mesh (ความยาว 1 นิ้วมี 18 - 60 ช่อง) โดยมีภาชนะรองรับ เศษพืช เศษไม้ จะติดอยู่บนตะแกรงนำน้ำที่ผ่านตะแกรงแรกแล้ว มาเทลงในตะแกรงขนาด 200 mesh นำน้ำที่ผ่านตะแกรงขนาด 200 mesh เทลงในตะแกรงขนาด 325 - 400 mesh โดยไม่ต้องมีภาชนะรองรับ เนื่องจากไส้เดือนฝอยเกือบทุกชนิดจะติดอยู่บนตะแกรงนี้ ใช้ฝอยน้ำฉีดเบาๆให้ทั่วตะแกรงเพื่อให้ตะกอนดินหลุดลงมา แล้วเก็บน้ำจากตะแกรงนี้กรองผ่านกระดาษกรองโดยใช้วิธี Oostenbrink dish วางไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 24 - 48 ชั่วโมง ไส้เดือนฝอยจะว่ายน้ำไชผ่านกระดาษกรองมาอยู่ในน้ำ นำน้ำที่ได้ไปตรวจสอบและจัดจำแนกชนิดด้วยวิธีการทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ และกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง

3.2 แยกไส้เดือนฝอยจากรากและหัวกระเทียม หรือหอมหัวใหญ่ โดยการนำตัวอย่างกระเทียม หรือหอมหัวใหญ่ ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ แล้ววางลงตะแกรงที่มีกระดาษกรองวางอยู่ด้านบนโดยวิธี Baermann funnel หรือ Oostenbrink dish วางไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 24 - 48 ชั่วโมง ไส้เดือนฝอยจะว่ายน้ำไชผ่านกระดาษกรองมาอยู่ในน้ำ จากนั้นเก็บน้ำไปตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ และกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง

4. การวินิจฉัยไส้เดือนฝอยศัตรูพืชโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

การตรวจวินิจฉัยไส้เดือนฝอยที่พบภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ และกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง โดยเปรียบเทียบกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไส้เดือนฝอยที่พบกับ คู่มือการจำแนกสกุลของไส้เดือนฝอย Plant-parasitic nematodes ; A pictorial key to genera (Mai et al., 1996) และ Manual of agricultural nematology (Nickle (ed),1991 และหากสงสัยว่าเป็นไส้เดือนฝอย *Ditylenchus dipsaci* ก็เปรียบเทียบกับข้อมูลลักษณะทางสัณฐาน EPPO Standard PM 7/87 (2) *Ditylenchus destructor* and *Ditylenchus dipsaci* (EPPO, 2017) และ Diagnostic protocols for regulated pests. DP 8: *Ditylenchus dipsaci* and *Ditylenchus destructor* (ISPM 27,2016) และเอกสารอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง

5. ศึกษาลักษณะทางชีวโมเลกุลของไส้เดือนฝอยสกุล *D. dipsaci*

5.1 การสกัดดีเอ็นเอ

ใช้วิธีการตาม 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 โดยใช้ส่วนปลายของ 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)

5.2 การเพิ่มปริมาณ DNA ด้วยปฏิกริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (PCR)

การเพิ่มปริมาณ DNA ด้วยปฏิกริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส ในส่วน D2-D3 expansion region ของ 28s ribosomal RNA gene (rDNA) โดยใช้ forward primer D2A (5' - ACA AGT ACC GTG AGG GAA AGT TG -3') และ reverse primer D3B (5' - TCG GAA GGA ACC AGC TAC TA -3') แล้วนำ เพิ่มปริมาณ DNA บริเวณ (Kaplan et al., 2000; Subbotin et al., 2006) โดยสารที่ใช้ในปฏิกริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส ปริมาตรรวม 25 ไมโครลิตร ประกอบด้วย 1.0 U AmpliTaq® DNA Polymerase, 10 mM Tris-Cl, pH 8.3, 50 mM KCL, 2.5 mM MgCl2, 200 uM dNTPs ,0.2 µM

primers และ 1.0 µl DNA template เมื่อเตรียม master mix ใส่ หลอด PCR แล้วเติม DNA template ในหลอด PCR นำหลอด ดังกล่าวใส่ลงในเครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุ์กรรม (Thermocycle) จากนั้นตั้งอุณหภูมิและเวลาของขั้นตอนปฏิกิริยา PCR ดังนี้

ปฏิกิริยา	อุณหภูมิ (°C)	เวลา(นาที)	
1. Initial denaturation	94	1	
2. Denaturation	94	1	35 cycles
3. Annealing	55	1	
4. Extension	72	1	
5. Final extension	72	5	

เมื่อได้ PCR product ที่ดีสามารถนำมาทดสอบกับ SCAR primers ด้วยการเพิ่มปริมาณ DNA ด้วยปฏิกริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส ในส่วน ITS region ประกอบด้วย ITS1, ITS2 และ 5.8S rDNA gene โดยใช้ primers เฉพาะชนิดของ Ditylenchus dipsaci ได้แก่ DdpS1 primer (5′-TGG CTG CGT TGA AGA GAA CT-3′) และ rDNA2 (5′-TTT CAC TCG CCG TTA CTA AGG-3′) โดย D. dipsaci มีขนาด 517 bp และหรือ DdpS2 primer (5′-CGA TCA ACC AAA ACA CTA GGA ATT-3′) และ rDNA2 (5′-TTT CAC TCG CCG TTA CTA AGG-3′) ซึ่ง D. dipsaci มีขนาด 707 bp เมื่อเตรียม master mix ใส่ หลอด PCR แล้วเติม DNA template ในหลอด PCR นำหลอด ดังกล่าวใส่ลงในเครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุ์กรรม (Thermocycle) จากนั้นตั้งอุณหภูมิและเวลาของขั้นตอนปฏิกิริยา PCR ดังนี้

ปฏิกิริยา	อุณหภูมิ (°C)	เวลา(นาที)	
1. Initial denaturation	94	1	
2. Denaturation	94	30s	40 cycles
3. Annealing	60	30s	
4. Extension	72	45s	
5. Final extension	72	10	

5.3 การทำอิเลกโทรโฟรีซีสแบบอะกาโรส

เตรียม 1.5% ของอะกาโรส โดยชั่งอะกาโรส 1.5 กรัม ผสมกับ สารละลายบัฟเฟอร์ 0.5xTBE ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปต้มให้สารละลายใส ตั้งไว้ให้เย็น แล้วเทอะกาโรสลงในชุด gel box ที่ปรับสมดุล และวางหวีไว้แล้ว เมื่อเจลแข็งตัว จึงดึงหวีออก แล้วนำเจลที่ได้ไปวางในแชมเบอร์ จากนั้นเทสารละลายบัฟเฟอร์ 0.5xTBE ให้ท่วมแผ่นเจล นำ DNA ที่ได้ผสมกับสีย้อมดีเอ็นเอ ในอัตราส่วน 5 ต่อ 1 จากนั้นหยอดตัวอย่าง 10 ไมโครลิตรลงในหลุมของเจลอะกาโรสในแชมเบอร์ เรียบร้อยแล้วจึงต่อขั้วไฟฟ้าเข้ากับเครื่องกำเนิดไฟฟ้า ใช้กระแสไฟ 100 โวลต์ นานประมาณ 40-50 นาที แล้วเจลอะกาโรสไปย้อมสี DNA แล้วนำไปส่องดูภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต ด้วยเครื่อง UV-transilluminator แล้วถ่ายภาพ

5.4 การหาลำดับนิวคลีโอไทด์ (DNA sequencing)

ผลผลิตปฏิกิริยา PCR จาก D2-D3 expansion region และ ITS regions นำไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ DNA โดยตรง (direct sequencing) ทั้ง 2 ทิศทางโดยใช้ทั้ง forward และ reverse primers โดยทำผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยา PCR (PCR product) ที่ได้ให้บริสุทธิ์ด้วย Qiagen QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen) หรือ ExoSAP-IT® For PCR Product Clean-Up (Affymetrix) โดยใช้วิธีการตามคำแนะนำที่แนบมากับผลิตภัณฑ์ เตรียมตัวอย่างตามคำแนะนำและส่งตัวอย่างไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์

5.5 เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์กับฐานข้อมูลเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้กับฐานข้อมูลของไส้เดือนฝอย *D. dipsaci* จาก Genbank

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. วัน เดือน ปี รายละเอียดตำแหน่งของแปลงปลูกกระเทียมและหอมหัวใหญ่ที่ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่าง
2. ข้อมูลจำนวนแปลง และจำนวนตัวอย่างที่ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่าง
3. ข้อมูลชนิดพืช ขนาดพื้นที่ปลูก ระยะการเจริญเติบโตของพืช และสภาพแวดล้อมอื่น ๆ พืชข้างเคียงประวัติการเพาะปลูก (ถ้ามี) เกษตรกรเจ้าของแปลง (ถ้ามี)
4. ถ่ายภาพลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่สำคัญ เช่น ลำตัวทั้งหมด ส่วนหัว กลางลำตัว หาง stylet ลักษณะและตำแหน่งอวัยวะเพศ ระบบสืบพันธุ์ cuticle เป็นต้น และลักษณะสำคัญอื่นที่ใช้ในการจัดจำแนก และ morphometric ในห้องปฏิบัติการ

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2564 – กันยายน 2565

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การสำรวจและเฝ้าระวังไส้เดือนฝอย *Ditylenchus dipsaci* ในประเทศไทยระหว่าง ตุลาคม 2564 – กันยายน 2565 ในพื้นที่ จังหวัด อุตรดิตถ์ แพร่ น่าน พะเยา เพชรบูรณ์ ลำปาง ลำพูน แม่ฮ่องสอน และ เชียงใหม่ ได้เก็บตัวอย่างพืชและดินปลูก ดังนี้ <u>กลุ่มตัวอย่างที่ 1</u> กระเทียมพันธุ์พื้นเมืองพร้อมดินปลูกจำนวนตัวอย่างรวม 80 สุ่มตรวจ 100% ของจำนวนตัวอย่างเป็น 80 ตัวอย่าง <u>กลุ่มตัวอย่างที่ 2</u> กระเทียมพันธุ์พืชเมืองพร้อมดินปลูกจำนวนตัวอย่างรวม 230 สุ่มตรวจ 10%ของจำนวนเป็นตัวอย่าง 23 ตัวอย่าง <u>กลุ่มตัวอย่างที่ 3</u> หอมแบ่ง (หอมขาว) พร้อมดินปลูกจำนวนตัวอย่างรวม 350 สุ่มตรวจ 10%ของจำนวนตัวอย่างเป็น 35 ตัวอย่าง <u>กลุ่มตัวอย่างที่ 4</u> หอมแดง อายุ 30 วัน พร้อมดินปลูกจำนวนตัวอย่างรวม 300 สุ่มตรวจ 10%ของจำนวนตัวอย่างเป็น 30 ตัวอย่าง ตัวอย่างของกลุ่มตัวอย่างที่ 1-4 ไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ตรวจพบมีเฉพาะในดินปลูกซึ่งส่วนใหญ่คือ *Helicotylenchus* spp. *Tylenchorhychus* spp. *Aphelenchus* spp. *Meloidogyne* spp. *Aphelenchoides* spp. *Hirschmanniella* spp. <u>กลุ่มตัวอย่างที่ 5</u> กระเทียมแห้ง จำนวนตัวอย่าง

รวม 200 ตัวอย่าง สุ่มตรวจ 10%ของจำนวนตัวอย่างเป็น 20 ตัวอย่าง ไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่พบเป็นไส้เดือนฝอย *Hirschmanniella* spp. *Pratylenchus* spp. และ *Radopholus* spp. กลุ่มตัวอย่างที่ 6 หอมหัวใหญ่ จำนวนตัวอย่างรวม 1,200 สุ่มตรวจ 10%ของจำนวนตัวอย่างเป็น 120 ตัวอย่างไม่พบไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ดังแสดงในตาราง 1-6

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การสำรวจและเฝ้าระวังไส้เดือนฝอย *Ditylenchus dipsaci* ในประเทศไทยระหว่าง ตุลาคม 2564 – กันยายน 2565 ในพื้นที่ จังหวัด อุตรดิตถ์ แพร่ น่าน พะเยา เพชรบูรณ์ ลำปาง ลำพูน แม่ฮ่องสอน และ เชียงใหม่ ได้เก็บตัวอย่างพืชและหรือดินปลูก เช่น กระเทียมพันธุ์พื้นเมือง หอมแบ่ง (หอมขาว) หอมแดง หอมหัวใหญ่ ไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ตรวจพบมีเฉพาะในดินปลูกซึ่งส่วนใหญ่คือ *Helicotylenchus* spp. *Tylenchorhychus* spp. *Aphelenchus* spp. *Meloidogyne* spp. *Aphelenchoides* spp. และ *Hirschmanniella* spp. สำหรับกระเทียมแห้ง ตรวจพบไส้เดือนฝอย *Hirschmanniella* spp. *Pratylenchus* spp. และ *Radopholus* spp. และในหอมหัวใหญ่ไม่พบไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ดังนั้นสรุปได้ว่าในการสำรวจและเฝ้าระวังไส้เดือนฝอย *Ditylenchus dipsaci* ในประเทศไทยระหว่าง ตุลาคม 2564 – กันยายน 2565 จากการตรวจวินิจฉัยไส้เดือนฝอยศัตรูพืช จากตัวอย่างพืชและดินปลูก จำนวน 308 ตัวอย่าง ทุกตัวอย่างไม่พบไส้เดือนฝอย *Ditylenchus dipsaci*

คำขอบคุณ

คณะวิจัยขอขอบคุณ นายอนุทธัต อู่หิรัญ นายอภิชัย อยู่เอี่ยม นางสาวจุฑามาส ฮวดประสิทธิ์ ที่เป็นผู้ร่วมทีมที่ทำงานอย่างเต็มที่

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2550. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 ประกาศ ณ วันที่ 26 เมษายน 2550 ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 124 ตอนพิเศษ 66 ง. ลงวันที่ 1 มิถุนายน 2550.

EPPO.2017 PM 7/87 (2) *Ditylenchus destructor* and *Ditylenchus dipsaci.* OEPP/EPPO Bulletin 47 (3), 401–419

International Standards for Phytosanitary Measures (ISPM 6.). 2018. Surveillance. Rome, IPPC, FAO.

International Standards for Phytosanitary Measures (ISPM 27. Anex 8). 2016. Diagnostic protocols for regulated pests DP 8: *Ditylenchus dipsaci* and *Ditylenchus destructor*. Rome, IPPC, FAO.

Perry R. N. and Moens M. 2006. *Plant nematology*. CABI Publishing: Wallingford, UK. pp.447.

Mai, W.F., P.G. Mullin, H.H. Lyon, K. Loeffler. 1996. *Plant-parasitic nematodes: a pictorial key to genera*. Cornell University Press, New York. pp.277

Table 1 Samples of Thai garlic with growing soil for plant-parasitic nematode examinations

List	Area Sampling	Geographic coordinates	Number of samples	Random 100% of the number of samples	Plant-parasitic nematodes
Thai garlic with growing soil	San Sai Subdistrict, Fang District, Chiang Mai Province	19.8993692 N 99.2143106 E	35	35	*Helicotylenchus* spp. *Tylenchorhychus* spp. *Aphelenchus* spp. *Meloidogyne* spp. *Aphelenchoides* spp. *Hirschmanniella* spp.
Thai garlic with growing soil	Wiang Subdistrict, Fang District, Chiang Mai Province	19.9405321 N 99.1693058 E	27	27	*Helicotylenchus* spp. *Tylenchorhychus* spp. *Aphelenchus* spp. *Meloidogyne* spp. *Aphelenchoides* spp. *Hirschmanniella* spp.
Thai garlic with growing soil	Pong Nam Ron Subdistrict, Fang District, Chiang Mai Province	19.9405321 N 99.1693058 E	15	15	*Helicotylenchus* spp. *Tylenchorhychus* spp. *Aphelenchus* spp. *Meloidogyne* spp. *Aphelenchoides* spp. *Hirschmanniella* spp.
Thai garlic with growing soil	Ban Tham Subdistrict, Dok Khamtai District, Phayao Province	19°06'58.0 N 100°04'00.0 E	3	3	*Helicotylenchus* spp. *Tylenchorhychus* spp. *Aphelenchus* spp. *Meloidogyne* spp. *Aphelenchoides* spp. *Hirschmanniella* spp.
	Total number of samples			**80**	

Table 2 Samples of Thai garlic with growing soil for plant-parasitic nematode examinations

List	Area Sampling	Geographic coordinates	Number of samples	Random 10% of the number of samples	Plant-parasitic nematodes
Thai garlic with growing soil	San Sai Subdistrict, Fang District, Chiang Mai Province	19.8993692 N 99.2143106 E	50	5	*Helicotylenchus* spp. *Tylenchorhychus* spp. *Aphelenchus* spp. *Meloidogyne* spp. *Aphelenchoides* spp. *Hirschmanniella* spp.
Thai garlic with growing soil	Wiang Subdistrict, Fang District, Chiang Mai Province	19.9405321 N 99.1693058 E	50	5	*Helicotylenchus* spp. *Tylenchorhychus* spp. *Aphelenchus* spp. *Meloidogyne* spp. *Aphelenchoides* spp. *Hirschmanniella* spp.
Thai garlic with growing soil	Pong Nam Ron Subdistrict, Fang District, Chiang Mai Province	19.9405321 N 99.1693058 E	50	5	*Helicotylenchus* spp. *Tylenchorhychus* spp. *Meloidogyne* spp. *Hirschmanniella* spp. *Radopholus* spp.
	Total number of samples			**150**	
	Totally random 10% of the number of samples			**15**	

Table 3 Samples of spring onion with growing soil for plant-parasitic nematode examinations

List	Area Sampling	Geographic coordinates	Number of samples	Random 10% of the number of samples	Plant-parasitic nematodes
spring onion with growing soil	Chai Chumphon Sub-district, Laplae District, Uttaradit Province	17.6266875 N 100.0434217 E	50	5	*Helicotylenchus* spp. *Tylenchorhychus* spp. *Aphelenchus* spp. *Meloidogyne* spp. *Aphelenchoides* spp. *Hirschmanniella* spp.
spring onion with growing soil	Chai Chumphon Sub-district, Laplae District, Uttaradit Province	17.6183535 N 100.0445589 E	50	5	*Helicotylenchus* spp. *Tylenchorhychus* spp. *Meloidogyne* spp. *Hirschmanniella* spp. Criconemoides spp.
spring onion with growing soil	Chai Chumphon Sub-district, Laplae District, Uttaradit Province	17.6236455 N 100.0513144 E	50	5	*Criconemoides* spp. *Helicotylenchus* spp. *Aphelenchus* spp. Aphelenchoides spp. *Radopholus* spp.
spring onion with growing soil	Sri Dongyen Subdistrict Chai Prakan District, Chiang Mai Province	19.6935933 N 99.1523822 E	100	10	*Criconemoides* spp. *Aphelenchus* spp. Aphelenchoides spp. *Radopholus* spp.
spring onion with growing soil	Sri Dongyen Subdistrict Chai Prakan District, Chiang Mai Province	19.7021558 N 99.153389 E	100	10	*Helicotylenchus* spp. *Criconemoides* spp. *Aphelenchus* spp. Aphelenchoides spp. *Radopholus* spp.
	Total number of samples			**350**	
	Totally random 10% of the number of samples			**35**	

Table 4 Samples of shallot with growing soil for plant-parasitic nematode examinations

List	Area Sampling	Geographic coordinates	Number of samples	Random 10% of the number of samples	Plant-parasitic nematodes
shallot with growing soil	Chai Chumphon Sub-district, Laplae District, Uttaradit Province	17.6201791 N 100.0491472 E	100	10	*Helicotylenchus spp.* *Tylenchorhychus spp.* *Meloidogyne spp.* *Pratylenchus spp.* *Hirschmanniella spp.* *Radopholus spp.*
shallot with growing soil	Nong Bua Subdistrict, Chai Prakan District Chiang Mai Province	19.7200489 N 99.1283327 E	100	10	*Helicotylenchus spp.* *Tylenchorhychus spp.* *Meloidogyne spp.* *Hirschmanniella spp.* *Radopholus spp.*
shallot with growing soil	Nong Bua Subdistrict, Chai Prakan District Chiang Mai Province	19.7146329 N 991211190 E	100	10	*Helicotylenchus spp.* *Tylenchorhychus spp.* *Meloidogyne spp.* *Hirschmanniella spp.* *Radopholus spp.*
	Total number of samples			**300**	
	Totally random 10% of the number of samples			**30**	

Table 5 Samples of Thai garlic for plant-parasitic nematode examinations**.**

List	Area Sampling	Geographic coordinates	Number of samples	Random 10% of the number of samples	Plant-parasitic nematodes
Thai garlic	Pang Moo Subdistrict, Mueang District, Mae Hong Son Province	19.3731615"N 97.8848775"E	100	10	*Hirschmanniella* spp. *Pratylenchus* spp. *Radopholus* spp.
Thai garlic	Pang Moo Subdistrict, Mueang District, Mae Hong Son Province	19.37312 N 97.88497 E	50	5	*Hirschmanniella* spp
Thai garlic	Pang Moo Subdistrict, Mueang District, Mae Hong Son Province	19.37312 N 97.88497 E	50	5	*Hirschmanniella* spp
	Total number of samples			200	
	Totally random 10% of the number of samples			20	

Table 6 Samples of onion for plant-parasitic nematode examinations

List	Area Sampling	Geographic coordinates	Number of samples	Random 10% of the number of samples	Plant-parasitic nematodes
Onion	Pang Mapha Subdistrict, Pang Mapha District, Mae Hong Son Province	19.9113765 N 98.2025519 E	100	10	not found
Onion	Thung Yao Subdistrict, Pai District, Mae Hong Son Province	19.3316785N 98.4334523 E	50	5	not found
Onion	Thung Yao Subdistrict, Pai District, Mae Hong Son Province	19.3136178 N 98.4439841 E	50	5	not found
Onion	Mae Hee Subdistrict, Pai District, Mae Hong Son Province	19.2965173 N 98.4714025 E	50	5	not found
Onion	Chilek Subdistrict, Mae Taeng District, Chiang Mai Province	19.0881336 N 98.8911098 E	50	5	not found
Onion	Mon Pin Subdistrict, Fang District, Chiang Mai	19.9113765 N 99.1745869 E	300	30	not found
Onion	Mon Pin Subdistrict, Fang District, Chiang Mai	19.9134628 99.1792388	50	5	not found
Onion	Mon Pin Subdistrict, Fang District, Chiang Mai	19.9113765N 99.1745869 E	300	30	not found
Onion	Fang Onion Growers Cooperative, Mon Pin Subdistrict, Fang District, Chiang Mai Province		250	25	not found
	Total number of samples			**1,200**	
	Totally random 10% of the number of samples			**120**	

ผู้รวบรวมและแก้ไข

นางสาวภัทรพร	สรรพนุเคราะห์
นางสาวดาราพร	รินทะรักษ์
นางสาวอมรรัชฎ์	คิดใจเดียว
นางสาวกาญจณา	วาระวิชะณี
นางสาวอุษณีย์	จินดากุล
นายเอกรัตน์	ธนูทอง
นางวรัญญา	มาลี
นางศรีจำนรรจ์	ศรีจันทรา
นางสาววิภาดา	ปลอดครบุรี

ผู้สอบทาน

นางสาวณฐวรรณ	ชนะโชติ
นางสาวจิราภรณ์	สินทร

กรมวิชาการเกษตร

DOA TOGETHER

Hearing for Changing, Acting for Moving forward

50 ปีกรมวิชาการเกษตร
DOA TOGETHER

กรมวิชาการเกษตร
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

ANNUAL REPORT 2023