เล่มที่ ๔

ผลงานวิจัยประจำปี ๒๕๖๖

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Plant Protection Research and Development office

เอกสารวิชาการเลขที่ ๑/๒๕๖๗

รายงาน
ผลงานวิจัยประจำปี ๒๕๖๖
เล่ม ๔

เอกสารวิชาการลำดับที่ ๑/๒๕๖๗

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 2566 งานวิจัยของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ประกอบด้วยแผนงานวิจัย โครงการวิจัย และการทดลอง รวม 16 แผนงานวิจัย 39 โครงการ และ 214 การทดลอง ซึ่งรวมถึงแผนงานวิจัยภายใต้สังกัดสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จำนวน 5 แผนงานวิจัย 23 โครงการวิจัย แผนงานวิจัยงานบูรณาการส่งเสริมวิจัยและนวัตกรรมปี พ.ศ. 2565-2567 อยู่ภายใต้แผนปฏิบัติการวิจัยและนวัตกรรม กรมวิชาการเกษตร ปี 2564-2569 และภายใต้ทิศทางการดำเนินงานวิจัยกรมวิชาการเกษตรปี 2565-2567 ซึ่งแผนงานวิจัยของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เป็นแผนงานวิจัยที่รองรับ และสนับสนุนการขับเคลื่อนประเทศด้วยโมเดลเศรษฐกิจ BCG (Bio-Circular Economy)

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

แผนงานวิจัยที่สนับสนุนเศรษฐกิจชีวภาพ (Bio Economy) ของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ประกอบด้วยการทดลองในโครงการวิจัยเทคโนโลยีการผลิตพืชสกุลกัญชาเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ โครงการวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการอารักขากัญชาในสภาพการปลูกภายในอาคาร อยู่ภายใต้แผนงานวิจัยสังกัดสำนักผู้เชี่ยวชาญ โครงการวิจัยนวัตกรรมแหล่งโปรตีนใหม่จากความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตนเพื่อสร้างมูลค่าเพิ่ม ขับเคลื่อนธุรกิจชีวภาพ อยู่ภายใต้แผนงานวิจัยสังกัดสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

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

รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2566 เป็นผลงานวิจัยที่นักวิจัยสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช มีความมุ่งมั่นดำเนินการ สนับสนุนการนำไปใช้ประโยชน์ในกลุ่มเป้าหมาย เพื่อก่อให้เกิดผลกระทบในวงกว้าง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ขอขอบคุณในความตั้งใจ ความมุ่งมั่นของนักวิจัย และขอบคุณที่ได้รับความร่วมมืออย่างดีเสมอมา

(นางช่อทิพย์ ศัลยพงษ์)
ผู้อำนวยการสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
สิงหาคม 2567

สารบัญ

รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2566 เล่มที่ 1..... 1-784
รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2566 เล่มที่ 2..... 785-1519
รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2566 เล่มที่ 3..... 1520-2324
รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2566 เล่มที่ 4..... 2325-3067

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาพืชสกุลกัญชาและพืชกระท่อมเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์

โครงการวิจัย การวิจัยและพัฒนาพืชสกุลกัญชาและพืชกระท่อมเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์

กิจกรรมที่ 6 การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการอารักขากัญชาในสภาพการปลูกแบบภายในอาคาร

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง

➢ 6.1 การศึกษาชนิดของไรศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติ..... 1
ในกัญชา
FF65-01-01-65-06-01-65
❖ พลอยชมพู กรวิภาสเรือง และคณะ

➢ 6.2 การศึกษาชนิดของแมลงศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ.... 29
ในกัญชา
FF65-01-01-65-06-02-65
❖ สุนัดดา เชาวลิต และคณะ

➢ 6.3 การใช้มวนตัวห้ำเอ็กซีกูอัส *Cardiastethus* 52
exiguus Poppius (Hemiptera: Anthocoridae) ในการควบคุมแมลงและไรศัตรูกัญชาโดยชีววิธี✪
FF65-01-01-65-06-03-66
❖ อทิติยา แก้วประดิษฐ์ และคณะ

➢ 6.4 คัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพ..... 58
ในการควบคุมไรศัตรูพืชในกัญชา
FF65-01-01-65-06-04-66
❖ ภัททิรา ศาตร์วงษ์ และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาการสร้างมูลค่าเพิ่มจากความหลากหลายทางชีวภาพของพืช เห็ด จุลินทรีย์ และศัตรูธรรมชาติ เพื่อการอนุรักษ์ใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน

โครงการวิจัย นวัตกรรมแหล่งโปรตีนใหม่จากความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตน (Orthoptera) เพื่อสร้างมูลค่าเพิ่ม ขับเคลื่อนธุรกิจชีวภาพ

กิจกรรมที่ -

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง
➢ 1. การศึกษาคัดเลือกชนิดของตั๊กแตนกินได้..... 68
(Orthoptera) จากความหลากหลายทางชีวภาพเพื่อพัฒนาเป็นแหล่งโปรตีนใหม่สร้างมูลค่าเพิ่มทางเศรษฐกิจ
FF65-02-05-65-00-01-65
❖ จารุวัตถ์ แต้กุล และคณะ
➢ 2. การศึกษาเทคนิคการเลี้ยงขยายตั๊กแตนจากวัตถุดิบ..... 87
เหลือทิ้งทางการเกษตรเพื่อผลิตขยายให้ได้ปริมาณมาก
FF65-02-05-65-00-02-65
❖ จารุวัตถ์ แต้กุล และคณะ
➢ 5. การสร้างแอพพลิเคชั่นฐานข้อมูลความหลากหลาย..... 97
ทางชีวภาพของตั๊กแตนเพื่อเพิ่มมูลค่า ใช้ประโยชน์และอนุรักษ์อย่างยั่งยืน
FF65-02-05-65-00-04-65
❖ จารุวัตถ์ แต้กุล และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาการผลิตพืชอัตลักษณ์พื้นถิ่นภาคเหนือตอนล่างเพื่อสร้างมูลค่า

โครงการวิจัยการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตกล้วยตานีเพื่อสร้างเสถียรภาพด้านรายได้

กิจกรรมที่ 2. การวิจัยและพัฒนาการควบคุมโรคและแมลงศัตรูกล้วยตานี

กิจกรรมย่อยที่ –

การทดลอง
➢ 2.1 การประเมินชนิดและฤดูกาลระบาดของโรค.....
กล้วยตานี
FF65-07-03-65-02-01-65
❖ พจนา ตระกูลสุขรัตน์ และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยนวัตกรรมการผลิตและเทคโนโลยีการใช้ชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืชเพื่อการอารักขาพืชอย่างยั่งยืน

โครงการวิจัย วิจัยพัฒนาการผลิตและการใช้ตัวห้ำตัวเบียนเพื่อควบคุมศัตรูพืชในการผลิตพืชปลอดภัย

กิจกรรมที่ 1.วิจัยการผลิตขยายแมลงห้ำแมลงเบียนเพื่อพัฒนาศักยภาพเป็นชีวภัณฑ์ใหม่ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช

กิจกรรมย่อยที่ 1.1 พัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายด้วงเต่าและมวนตัวห้ำชนิดใหม่ที่มีศักยภาพควบคุมแมลงศัตรูพืชที่สำคัญ

การทดลอง

➢ 1.1.1 พัฒนาสูตรอาหารเทียมเพื่อเพาะเลี้ยงเพิ่ม..... 107
ปริมาณด้วงเต่าสีส้ม *Micraspis discolor* (Fabricius)
FF65-10-01-65-01-01-65

❖ ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ และคณะ

➢ 1.1.2 พัฒนาสูตรอาหารเทียมเพื่อเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณ.. 118
ด้วงเต่าลายหยัก *Coccinella transversalis* (Fabricius)
FF65-10-01-65-01-02-65

❖ ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ และคณะ

➢ 1.1.3 พัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยง..... 130
ด้วงเต่าตัวห้ำ *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) ด้วยเหยื่ออาหารเพื่อใช้ควบคุมเพลี้ยแป้ง
FF65-10-01-65-01-03-65

❖ ณัฏฐิณี ศิริมาจันทร์ และคณะ

➢ 1.1.5 การศึกษาประสิทธิภาพของ..... 136
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..... 145
แตนเบียนดักแด้ *Brachymeria nephantidis* Gahan และศักยภาพการทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว *Opisina arenosella* Walker
FF65-10-01-65-01-06-65
❖ ณัฏฐิณี ศิริมาจันทร์ และคณะ
➢ 1.2.2 การศึกษาศักยภาพ การผลิตขยาย 152
และผลกระทบของสารเคมีต่อแตนเบียน *Encarsia sophia* (Girault & Dodd) (Hymenoptera: Aphelinidae) ในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบ *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) ✪
FF65-10-01-65-01-07-65
❖ สุพรรณี ภูคะฮาด และคณะ

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

กิจกรรมย่อยที่ –

➢ 2.2 ศึกษาผลของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่มีต่อ..... 3013
แมลงช้างปีกใส *Chrysoperla carnea*
FF65-10-01-65-02-02-66
❖ประภัสสร เชยคำแหง และคณะ
➢ 2.3 การใช้แมลงช้างปีกใส *Chrysoperla carnea*..... 3023
ควบคุมเพลี้ยอ่อนในการปลูกคะน้าในโรงเรือน
FF65-10-01-65-02-03-66
❖ ประภัสสร เชยคำแหง และคณะ

กิจกรรมที่ 3. การใช้มวนเพชฌฆาต *Sycanus versicolor* Dohrn ควบคุมหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดในถั่วฝักยาว

กิจกรรมย่อยที่ –

➢ 3.2 ศึกษาช่วงการระบาดที่เหมาะสมและอัตรา..... 168
การปล่อยมวนเพชฌฆาตควบคุมหนอนเจาะฝักถั่วลายจุด
ในถั่วฝักยาว
FF65-10-01-65-03-02-66
❖ สาทิพย์ มาลี และคณะ

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

กิจกรรมย่อยที่ -

➢ 4.2 ศึกษาผลของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่..... 176
ใช้ในผักกาดขาวปลีที่มีผลต่อแมลงหางหนีบขาวงแหวน
Euborellia annulipes (Lucus)
FF65-10-01-65-04-02-66
❖ นันทนัช พินศรี และคณะ
➢ 4.3 ศึกษาอัตราการใช้และวิธีการปล่อยแมลงหางหนีบ..... 214
ขาวงแหวน *Euborellia annulipes* (Lucus) เพื่อควบคุม
เพลี้ยอ่อนในผักกาดขาวปลีในสภาพแปลงเกษตรกร
FF65-10-01-65-04-03-66
❖ นันทนัช พินศรี และคณะ

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

กิจกรรมย่อยที่ –

➢ 5.2. ศึกษาการใช้ไรตัวห้ำ 221
Amblyseius longispinosus (Evans) ในการควบคุมไรสอง
จุดในราสป์เบอร์รีที่ปลูกในโรงเรือนของเกษตรกร✪
FF65-10-01-65-05-02-65
❖อทิติยา แก้วประดิษฐ์ และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยพัฒนาการผลิตและการใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช

กิจกรรมที่ 1. เทคโนโลยีการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงและไวรัส NPV ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช

กิจกรรมย่อยที่ –

การทดลอง

➢ 1.1 การศึกษาวิธีการผลิตขยายไส้เดือนฝอย..... 238
ศัตรูแมลง *Steinernema glaseri* ด้วยอาหารเทียม
FF65-10-02-65-01-01-65
❖ อัจฉรียา นิจจรัลกุล และคณะ

➢ 1.2 การพัฒนาสูตรสำเร็จไวรัส NPV 248
หนอนกระทู้หอมในรูปผงละลายน้ำ
FF65-10-02-65-01-02-65
❖ อนุสรณ์ พงษ์มี และคณะ

กิจกรรมที่ 2. เทคโนโลยีการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงและไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในการควบคุมแมลงศัตรูผัก

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง

➢ 2.1 การใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม; *Metarhizium*..... 263
anisopliae (Metsch) Sorokin เพื่อควบคุมด้วงหมัดผักแถบลาย; *Phyllotreta sinuata* Stephens ในผักกาดหัว✪
FF65-10-02-65-02-01-65
❖ เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ และคณะ

➢ 2.2 การใช้เชื้อรา *Metarhizium anisopliae*..... 274
Beauveria bassiana และ *Isaria javanica* ควบคุมแมลงหวี่ขาว *(Bemisia tabasi* (Gennadius)) ในมะเขือเปราะ
FF65-10-02-65-02-02-65
❖ทิภาพร นวลเนตร และคณะ

➢ 2.3 การใช้เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* 291
และ *Beauveria bassiana* ควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่ว (*Aphis craccivora* (Koch)) ในถั่วฝักยาว
FF65-10-02-65-02-03-65
❖ ภัททิรา ศาตร์วงษ์ และคณะ

➢ 2.4 การใช้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง..... 301
Steinernema carpocapsae สูตรผงละลายน้ำในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลาย (*Phyllotreta sinuata* Stephans)✪
FF65-10-02-65-02-04-65
❖ ปาริชาติ จำรัสศรี และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยพัฒนาการผลิตและใช้ประโยชน์ชีวภัณฑ์ควบคุมโรคพืชเพื่อการผลิตพืชอย่างยั่งยืน

กิจกรรมที่ 1. การพัฒนานวัตกรรมการผลิตและการใช้แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ควบคุมโรคพืชเพื่อเพิ่มผลผลิต

กิจกรรมย่อยที่ –

การทดลอง ➢ 1.1 ศึกษาและทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรีย..... 319
Bacillus subtilis ในการควบคุมโรคผลเน่า (bacterial fruit blotch) ของพืชตระกูลแตง
FF65-10-03-65-01-01-65
❖ รุ่งนภา ทองเครั่ง และคณะ
➢ 1.2 ศึกษาและทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรีย 329
Bacillus subtilis ในการควบคุมโรคใบติดทุเรียน
FF65-10-03-65-01-02-65
❖ นพพล สัทยาสัย และคณะ
➢ 1.3 การพัฒนารูปแบบชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis*.....
เพื่อใช้ควบคุมโรคเน่าคอดิน (damping-off) สาเหตุจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ในมะเขือเทศ
FF65-10-03-65-01-03-65
❖ มะลิดา ชูรินทร์ และคณะ
➢ 1.4 พัฒนารูปแบบการผลิตและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์..... 336
Bacillus subtilis เพื่อควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม
FF65-10-03-65-01-04-65
❖ ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ

➢ 1.5 พัฒนารูปแบบการผลิตและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์ 346
Bacillus subtilis เพื่อควบคุมโรคเน่าดำของคะน้า
FF65-10-03-65-01-05-65
❖ ณัฐธิดา เติมสังข์ และคณะ
➢ 1.6 พัฒนารูปแบบการผลิตและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์..... 356
Bacillus spp. เพื่อควบคุมโรคราแป้งพืชตระกูลแตง
FF65-10-03-65-01-06-65
❖ ทัศนาพร ทัศคร และคณะ
➢ 1.7 พัฒนารูปแบบการผลิตและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์..... 376
Bacillus subtilis เพื่อควบคุมโรคแคงเคอร์ในมะนาว
FF65-10-03-65-01-07-65
❖ บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ และคณะ
➢ 1.8 พัฒนารูปแบบการผลิตและการใช้ชีวภัณฑ์..... 387
Bacillus subtilis เพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนสมะม่วง
FF65-10-03-65-01-08-65
❖ ธารทิพย ภาสบุตร และคณะ
➢ 1.9 ศึกษาและทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรีย.....
Bacillus subtilis ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนที่เกิดจากเชื้อ *Phytophthora palmivora*
FF65-10-03-65-01-09-65
❖มะลิดา ชูรินทร์ และคณะ

กิจกรรม 2. วิจัยพัฒนาชีวภัณฑ์ไตรโคเดอร์มาในการควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราใน พริก หอม และมะเขือเทศ เพื่อการผลิตพืชอย่างยั่งยืน

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง

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

➢ 2.2 การคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp. 397
ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าคอดินของพริกที่เกิด
จากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum*
FF65-10-03-65-02-02-65
❖ อมรรัชฎ์ คิดใจเดียว และคณะ
➢ 2.3 การคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp. 408
ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบจุดสีม่วงของหอม
สาเหตุจากเชื้อรา *Alternaria porri*
FF65-10-03-65-02-03-65
❖ หทัยภัทร เจษฎารมย์ และคณะ
➢ 2.4 ศึกษาอัตราการใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC..... 420
2550 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา
Fusarium oxysporum f.sp. *lycopersici*
FF65-10-03-65-02-04-66
❖ จุฬารัตน์ หน่อแก้ว และคณะ
➢ 2.5 ศึกษาอัตราการใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC..... 427
2550 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของพริกที่เกิดจากเชื้อรา
Fusarium oxysporum
FF65-10-03-65-02-05-66
❖ จุฬารัตน์ หน่อแก้ว และคณะ

กิจกรรมที่ 3. เทคโนโลยีการใช้เห็ดเรืองแสงสิรินรัศมีในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียน เพื่อการผลิตพืชอย่างยั่งยืน

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง ➢ 3.1 เทคโนโลยีการใช้เห็ดเรืองแสงสิรินรัศมีในการ..... 435
ควบคุมโรครากเน่า และโคนเน่าของทุเรียน เพื่อการผลิตพืช
อย่างยั่งยืน
FF65-10-03-65-03-01-65
❖ สุรีย์พร บัวอาจ และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนานวัตกรรมเพื่อเพิ่มมูลค่าสารสกัดพืช (Plant extract) ควบคุมศัตรูพืช เพื่อเกษตรปลอดภัย

กิจกรรมที่ 2. วิจัยและพัฒนาสารสกัดและสูตรผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน สำหรับควบคุมแมลงศัตรูพืชในพืชผักตระกูลกะหล่ำ

การทดลอง

➢ 2.2 ทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดและสูตร..... 447
ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน เพื่อใช้ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก *Plutella xylostella* (Linnaeus) ในคะน้า
FF65-10-04-65-02-02-66
❖ สัญญาณี ศรีคชา และคณะ

➢ 2.3 ทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดและสูตร..... 461
ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปกากเมล็ดชาน้ำมัน เพื่อใช้ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก *Plutella xylostella* (Linnaeus) ในกะหล่ำปลี
FF65-10-04-65-02-03-66
❖ วนาพร วงษ์นิคง และคณะ

โครงการวิจัย เทคโนโลยีการผลิตและใช้ประโยชน์ชีวินทรีย์ควบคุมหอยทากและหนูศัตรูพืช

กิจกรรมที่ 1. เทคโนโลยีการผลิตชีวินทรีย์ควบคุมหอยทากศัตรูพืช

กิจกรรมย่อยที่ -

➢ 1.2 เทคนิคการผลิตขยายและประสิทธิภาพ..... 471
ของหอยนักล่าทูโทน *Gulella bicolor* ในการกำจัดหอยทากศัตรูพืช
FF65-10-05-65-01-02-65
❖ ดาราพร รินทะรักษ์ และคณะ

➢ 1.3 เทคนิคการผลิตขยายและประสิทธิภาพของ..... 485
ไส้เดือนฝอยวงศ์ Rhabditidae ในการกำจัดหอยทากศัตรูพืช
FF65-10-05-65-01-03-65
❖ อภินันท์ เอี่ยมสุวรรณสุข และคณะ

➢ 1.4 เทคนิคการผลิตขยายและประสิทธิภาพของ..... 498
สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินวงศ์ Oscillatoriaceae ในการ
กำจัดหอยทากศัตรูพืช
FF65-10-05-65-01-04-66
❖ ศุภกร วงษ์เรืองพิบูล และคณะ

กิจกรรมที่ 2. เทคโนโลยีการผลิตชีวินทรีย์ควบคุมหนูศัตรูพืช

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง ➢ 2.1 การเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์โปรโตซัวสกุล *Eimeria*..... 3028
ที่มีประสิทธิภาพความรุนแรงก่อโรคกับหนูทดลอง
FF65-10-05-65-02-01-65
❖ วิชาญ วรรธนะไกวัล และคณะ
➢ 2.2 การทดสอบประสิทธิภาพความรุนแรงก่อโรค..... 518
ของโอโอซีสต์โปรโตซัวสกุล Eimeria
FF65-10-05-65-02-02-66
❖ วิชาญ วรรธนะไกวัล และคณะ
➢ 2.3 การพัฒนาต้นแบบและทดสอบประสิทธิภาพ..... 521
เหยื่อพิษหางไหลในรูปแบบเม็ดแกรนูล
FF65-10-05-65-02-03-66
❖ ทัสดาว เกตุเนตร และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตและแก้ปัญหาท้าทายด้านการผลิตพืชปลอดภัย

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาประสิทธิภาพสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในพืชไร่ (อ้อย มันสำปะหลัง และข้าวโพด)

กิจกรรมที่ 1.ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในพืชไร่ (อ้อย มันสำปะหลัง และข้าวโพด)

การทดลอง ➢ 1.1 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในอ้อย..... 529
เพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-01-65-01-01-65
❖ ปรัชญา เอกฐิน และคณะ

➢ 1.2 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชใน..... 604
มันสำปะหลังเพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-01-65-01-02-65
❖ ยุรวรรณ อนันตนมณี และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาประสิทธิภาพสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในพืชผัก (ผักกาดขาวปลี ผักกาดหอม กะหล่ำปลี คะน้า และพริก)

กิจกรรมที่ 1.ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อใช้ก่อนปลูกในพืชผัก (pre-planting herbicides)

การทดลอง ➢ 1.1 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภท..... 620
ใช้ก่อนปลูก (pre-planting herbicides) ในผักกาดขาวปลี
เพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-02-65-01-01-65
❖ เทอดพงษ์ มหาวงศ์ และคณะ
➢ 1.2 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภท..... 634
ใช้ก่อนปลูก (pre-planting herbicides) ในผักกาดหอม
เพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-02-65-01-02-65
❖ เทิดพงษ์ มหาวงศ์ และคณะ
➢ 1.3 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภท..... 647
ใช้ก่อนปลูก (pre-planting herbicides) ในคะน้าเพื่อเป็น
สารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-02-65-01-03-65
❖ ยุรวรรณ อนันตนมณี และคณะ
➢ 1.4 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภท..... 661
ใช้ก่อนปลูก (pre-planting herbicides) ในกะหล่ำปลีเพื่อ
เป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-02-65-01-04-65
❖ อมฤต ศิริอุดม และคณะ

➢ 1.5 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อใช้..... 673
กำจัดวัชพืชระหว่างแถวปลูกในพริกเพื่อเป็นสารทางเลือก
และผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-02-65-01-05-65
❖ สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาประสิทธิภาพสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในไม้ผล (มะม่วง ส้มโอ ทุเรียน)

กิจกรรมที่ 1. ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในไม้ผล (มะม่วง ส้มโอ ทุเรียน)

การทดลอง ➢ 1.1 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในมะม่วง..... 689
เพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-03-65-01-01-65
❖ ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย และคณะ
➢ 1.2 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในส้มโอ..... 719
เพื่อทดแทนสารกำจัดวัชพืช paraquat✪
FF65-11-03-65-01-02-65
❖ อมฤต ศิริอุดม และคณะ
➢ 1.3 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในทุเรียน..... 738
เพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-03-65-01-03-65
❖ สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาประสิทธิภาพสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในพืชอุตสาหกรรม (ปาล์มน้ำมัน ยางพารา มะพร้าว และกาแฟ)

กิจกรรมที่ 1. วิจัยและพัฒนาประสิทธิภาพสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในพืชอุตสาหกรรม (ปาล์มน้ำมัน ยางพารา มะพร้าว และกาแฟ)

การทดลอง ➢ 1.1 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชใน..... 746
ปาล์มน้ำมันเพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-04-65-01-01-65
❖ อุษณีย์ จินดากุล และคณะ

➢ 1.2 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชใน..... 785
ยางพารา เพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-04-65-01-02-65
❖ สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ
➢ 1.3 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชใน..... 793
มะพร้าวเพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-04-65-01-03-65
❖ เอกรัตน์ ธนูทอง และคณะ
➢ 1.4 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชใน..... 823
กาแฟเพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-04-65-01-04-65
❖ เทอดพงษ์ มหาวงศ์ และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีด้านอารักขาพืชเพื่อการเพิ่มขีดความสามารถในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการชักนำภูมิต้านทานของพืชต่อศัตรูพืชเพื่อประยุกต์ใช้ร่วมกับระบบการผลิตพืชปลอดภัย

กิจกรรมที่ 1. การใช้สารประกอบอินทรีย์ในการชักนำภูมิต้านทานของพืช

การทดลอง
➢ 1.1 ประสิทธิภาพของสารประกอบอินทรีย์บางชนิด..... 844
ในการชักนำภูมิต้านทานของพริกต่อไส้เดือนฝอยรากปม
FF65-12-01-65-01-01-65
❖ ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ
➢ 1.2 ประสิทธิภาพของสารประกอบอินทรีย์..... 860
บางชนิดในการชักนำภูมิต้านทานของคะน้าต่อแบคทีเรีย
Xanthomonas campestris pv. *campestris*
FF65-12-01-65-01-02-65
❖ รุ่งนภา ทองเครั่ง และคณะ
➢ 1.3 ประสิทธิภาพของสารประกอบอินทรีย์..... 871
บางชนิดในการชักนำภูมิต้านทานของมะนาวต่อแบคทีเรีย
Xanthomonas citri subsp. *citri*
FF65-12-01-65-01-03-65
❖ รุ่งนภา ทองเครั่ง และคณะ

กิจกรรมที่ 2. การใช้จุลินทรีย์ในการชักนำภูมิต้านทานของพืช

การทดลอง ➢ 2.3 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. 882
ในการชักนำภูมิต้านทานของพริกต่อไส้เดือนฝอยรากปม
FF65-12-01-65-02-03-65
❖ ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ

โครงการวิจัย การเพิ่มขีดความสามารถการป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยลดการใช้สารเคมีเพื่อเกษตรดีที่เหมาะสมอย่างยั่งยืน

กิจกรรมที่ 1. พัฒนาเทคโนโลยีการใช้สารป้องกันกำจัดแมลง และสัตว์ฟันแทะเพื่อใช้เป็นคำแนะนำการป้องกันกำจัดศัตรูพืชเพื่อเกษตรปลอดภัย

กิจกรรมย่อยที่ 1.1 พัฒนารูปแบบการใช้สารป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ร่วมกับสารชีวภัณฑ์และสารธรรมชาติ เพื่อการผลิตสินค้าพืชปลอดภัย

การทดลอง ➢ 1.1.1 วิจัยการใช้สารฆ่าแมลงร่วมกับการใช้..... 896
ไส้เดือนฝอย (*Steinernema capocapsae*) ในการป้องกันกำจัดด้วงหมัดผัก (*Phyllotetra* spp.) ในผักกวางตุ้ง
FF65-12-02-65-01-01-65
❖ พวงผกา อ่างมณี และคณะ

➢ 1.1.2 ประสิทธิภาพการใช้สารฆ่าแมลงร่วมกับ..... 902
การใช้เชื้อราโรคแมลงในการป้องกันกำจัดบั่วกล้วยไม้ (*Contarinia maculipennis*) Felt
FF65-12-02-65-01-02-65
❖ ศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา และคณะ

➢ 1.1.3 ประสิทธิภาพการใช้สารฆ่าหนูร่วมกับ..... 3040
การใช้เหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู *Sarcocystis singaporensis* ในการป้องกันกำจัดหนูในไร่ข้าวโพด
FF65-12-02-65-01-03-65
❖ วิชาญ วรรธนะไกวัล และคณะ

➢ 1.1.4 ประสิทธิภาพการใช้สารกำจัดหนูและ..... 925
สารชีวภัณฑ์เพื่อการป้องกันกำจัดหนูในไร่ถั่วเหลือง
FF65-12-02-65-01-04-65
❖ สมเกียรติ กล้าแข็ง และคณะ

➢ 1.1.5 วิจัยการใช้สารฆ่าแมลงร่วมกับการใช้..... 942
ไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* ในการป้องกัน
กำจัดด้วงหมัดผัก *Phyllotreta* spp.ในผักกาดหัว
FF65-12-02-65-01-05-66
❖ วิไลวรรณ เวชยันต์ และคณะ

กิจกรรมย่อยที่ 1.2 วิจัยประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดแมลงเพื่อเป็นคำแนะนำรองรับปัญหาศัตรูพืชสร้างความต้านทาน

การทดลอง ➢ 1.2.1 ประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟในมะระ..... 950
FF65-12-02-65-01-05-65
❖ อุราพร หนูนารถ และคณะ
➢ 1.2.2 ประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงกลุ่ม..... 963
กลไกการออกฤทธิ์ต่างๆ ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟหอม
(*Thrips tabaci* Lindeman) ในพืชตระกูลหอม
FF65-12-02-65-01-06-65
❖ สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น และคณะ
➢ 1.2.3 ประสิทธิภาพสารฆ่าแมลง เชื้อรา..... 977
โรคแมลง และสารสกัดสะเดาในการป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อน
ในถั่วฝักยาว
FF65-12-02-65-01-07-65
❖ สุชาดา สุพรศิลป์ และคณะ
➢ 1.2.4 ประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการ.....
ป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวยาสูบ (tobacco whitefly); 1001
Bemisia tabaci (Gennadius) ในมะเขือเทศ
FF65-12-02-65-01-08-65
❖ นลินา ไชยสิงห์ และคณะ
➢ 1.2.5 ศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการ..... 1011
ป้องกันกำจัดเพลี้ยจักจั่นฝอยทุเรียน *Amrasca durianae*
Hongsaprug ในทุเรียน
FF65-12-02-65-01-09-65
❖ บุษบง มนัสมั่นคง และคณะ

➢ 1.2.6 ประสิทธิภาพ สารฆ่าแมลงในการป้องกัน..... 1029
กำจัดเพลี้ยไฟในข้าวโพด
FF65-12-02-65-01-10-65
❖ สิริกัญญา ขุนวิเศษ และคณะ

➢ 1.2.7 ประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงและสารสกัด..... 1043
จากธรรมชาติ ในการป้องกันกำจัดแมลงวัน หนอนชอน
ใบหอม ในหอมแดง
FF65-12-02-65-01-11-66

❖ ยุทธนา แสงโชติ และคณะ

➢ 1.2.8 ประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงกลุ่มกลไก..... 1047
การออกฤทธิ์.ต่างๆ ในการป้องกันกำจัดบั่วกล้วยไม้
Contarinia maculipennis Felt ในมะลิ
FF65-12-02-65-01-12-66

❖ ไกรวิชญ์ เรืองสุข และคณะ

กิจกรรมที่ 2. พัฒนาเทคโนโลยีการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช เพื่อเป็นคำแนะนำการป้องกันกำจัดโรคพืชสำหรับเกษตรปลอดภัย

กิจกรรมย่อยที่ 2.1 พัฒนารูปแบบการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืชร่วมกับสารชีวภัณฑ์ และสารธรรมชาติ เพื่อการผลิตสินค้าพืชปลอดภัย

การทดลอง ➢ 2.1.1 เทคนิคการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อรา..... 1055
ร่วมกับเชื้อ *Bacillus subtilis* (20W1) ในการควบคุมโรค
ใบจุดคะน้า สาเหตุจากเชื้อรา *Alternaria brassicicola*
FF65-12-02-65-02-01-65

❖ นพพล สัทยาสัย และคณะ

➢ 2.1.2 ประสิทธิภาพการใช้สารป้องกันกำจัด.....
โรคราน้ำค้างร่วมกับการใช้น้ำนมเจือจางในผักกาดขาว
FF65-12-02-65-02-02-65

❖ มะลิดา ชูรินทร์ และคณะ

กิจกรรมย่อยที่ 2.2 วิจัยสารป้องกันกำจัดโรคพืชที่เพื่อเป็นคำแนะนำสำหรับเกษตรดีที่เหมาะสม

การทดลอง

➢ 2.2.1 ประสิทธิภาพการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช..... 1068
ในการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp.
FF65-12-02-65-02-03-65
❖ ธารทิพย ภาสบุตร และคณะ

➢ 2.2.2 การศึกษาประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัด..... 1091
โรคพืชในการป้องกันกำจัดโรคผลเน่าของฝรั่งที่มีสาเหตุจาก *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Phyllosticta psidiicola*
FF65-12-02-65-02-04-65
❖ พจนา ตระกูลสุขรัตน์ และคณะ

➢ 2.2.3 ประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัด..... 1105
เชื้อราโรคพืชตามกลุ่มกลไกการออกฤทธิ์ต่างๆ ในการป้องกันกำจัดโรคราแป้งในเงาะ
FF65-12-02-65-02-05-65
❖ นพพล สัทยาสัย และคณะ

➢ 2.2.4 การทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัด..... 1120
โรคพืชในการป้องกันกำจัดโรคเน่าคอดินมะเขือเทศ สาเหตุจากเชื้อ *Pythium aphanidermatum*
FF65-12-02-65-02-06-65
❖ วรางคนา โชติเศรษฐี และคณะ

➢ 2.2.5 ประสิทธิภาพการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช..... 1135
ในการป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอย *Radopholus similis* ในพืช Monstera
FF65-12-02-65-02-07-66
❖ ธิติยา ชยาภัคพัฒนา และคณะ

กิจกรรมที่ 3. วิจัยและพัฒนาการใช้สารกำจัดวัชพืช เพื่อการผลิตพืชปลอดภัยสู่เกษตรกร

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง

➢ 3.1 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อ..... 1142
ใช้เป็นคำแนะนำในการกำจัดวัชพืชในกล้วยหอม
FF65-12-02-65-03-01-65
❖ เอกรัตน์ ธนูทอง และคณะ

➢ 3.2 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อ..... 1184
ใช้เป็นคำแนะนำในการกำจัดวัชพืชในโกโก้
FF65-12-02-65-03-02-65
❖ อมฤต ศิริอุดม และคณะ

➢ 3.3 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อ..... 1193
ใช้เป็นคำแนะนำในการกำจัดวัชพืชในมะละกอ
FF65-12-02-65-03-03-65
❖ อุษณีย์ จินดากุล และคณะ

➢ 3.4 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อ..... 1221
ใช้เป็นคำแนะนำในการกำจัดวัชพืชในมะนาว
FF65-12-02-65-03-04-65
❖ ยุรวรรณ อนันตนมณี และคณะ

➢ 3.5 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อ..... 1245
ใช้เป็นคำแนะนำในการกำจัดวัชพืชในฟักทอง
FF65-12-02-65-03-05-65
❖สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ

➢ 3.6 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อใช้เป็น..... 1252
คำแนะนำในการกำจัดวัชพืชในแตงโม
FF65-12-02-65-03-06-65
❖ ปรัชญา เอกฐิน และคณะ

➢ 3.7 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อ..... 1288
ใช้เป็นคำแนะนำในการกำจัดวัชพืชในแกลดิโอลัส
FF65-12-02-65-03-07-65
❖ ภัทร์พิชา รุจิระพงศ์ชัย และคณะ

กิจกรรมที่ 4. วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชสู่เกษตรปลอดภัย

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง

➢ 4.1 เทคนิคการพ่นสารแบบต่าง ๆ 1310
ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยจักจั่นฝ้าย (*Amrasca biguttula bigguttula* Ishida) ในมะเขือเปราะ
FF65-12-02-65-04-01-65
❖ สิริกัญญา ขุนวิเศษ และคณะ

➢ 4.2 เทคนิคการใช้สารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัด..... 1320
เพลี้ยไฟฝ้าย (*Thrips palmi* Karny) ในเมล่อนด้วยระบบการให้น้ำแบบน้ำหยด
FF65-12-02-65-04-06-66
❖ สุภางคนา ถิรวุธ และคณะ

➢ 4.3 ประสิทธิภาพของการใช้อากาศยานไร้คนขับ.....
ในการพ่นสารป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ (Thysanoptera : Thripidae) ในมะม่วง
FF65-12-02-65-04-02-65
❖ วรวิช สุดจริตธรรมจริยางกูร และคณะ

➢ 4.4 การตกค้างของละอองสารและ..... 1330
ประสิทธิภาพของสารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นก่อนวัชพืชงอก (pre-emergence) (โดยใช้อากาศยานไร้คนขับ) ในข้าวนาหว่านน้ำตม
FF65-12-02-65-04-03-65
❖ ยุรวรรณ อนันตนมณี และคณะ

➢ 4.5 อัตราการใช้น้ำและประสิทธิภาพของ..... 1353
เครื่องพ่นสารแบบแรงลมในพื้นที่สวนทุเรียน
FF65-12-02-65-04-04-65
❖ ศุภกร แต่งสวน และคณะ

➢ 4.6 อุปกรณ์ลดการปนเปื้อนของสารป้องกันกำจัด..... 1387
ศัตรูพืชในนาข้าวจากการผสมและล้างอุปกรณ์พ่นสาร
FF65-12-02-65-04-05-65
❖ศุภกร แต่งสวน และคณะ

โครงการวิจัย เทคโนโลยีการอารักขาพืชเพื่อแก้ปัญหาศัตรูพืชต้านทานและการใช้สารกำจัดศัตรูพืชเกินความจำเป็นในระบบการทำเกษตรแปลงใหญ่

กิจกรรมที่ 1. ประเมินความต้านทานของแมลงศัตรูพืชต่อสารกำจัดศัตรูพืชเพื่อวางแผนการใช้สารแบบหมุนเวียนในระบบการทำเกษตรแปลงใหญ่

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง

- 1.1 ประเมินความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง..... 1403
  ในเพลี้ยไฟพริกที่ทำลายส้มในเขตภาคเหนือของประเทศไทย
  FF65-12-03-65-01-01-65
  - กรกฎ รัตนมหามณีกร และคณะ
- 1.2 ประเมินความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง..... 1417
  ในเพลี้ยไฟพริกที่ทำลายส้มโอในพื้นที่ปลูกสำคัญ
  FF65-12-03-65-01-02-65
  - กรกฎ รัตนมหามณีกร และคณะ
- 1.3 ประเมินความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง..... 1431
  ในเพลี้ยไฟ (*Thrips palmi* Karny) ที่ทำลายมะเขือในพื้นที่ปลูกสำคัญ
  FF65-12-03-65-01-03-65
  - ศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา และคณะ
- 1.4 ระดับความต้านทานต่อสารกำจัดแมลงในเพลี้ยไฟ..... 1449
  (*Thrips palmi* Karny) ที่ทำลายแตงโมในพื้นที่ปลูกสำคัญ
  FF65-12-03-65-01-04-65
  - ธีราทัย บุญญะประภา และคณะ
- 1.5 ระดับความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงใน..... 1467
  หนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigua* (Hübner) ที่ทำลายหอมแดงในพื้นที่ปลูกสำคัญ
  FF65-12-03-65-01-05-65
  - สุภางคนา ถิรวุธ และคณะ
- 1.6 ระดับความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง..... 1479
  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 การจัดการสารฆ่าแมลงแบบหมุนเวียนกลุ่ม..... 1494
กลไกการออกฤทธิ์เพื่อป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอม (*Spodoptera exigua* Hubner) ในหอมแดง✪
FF65-12-03-65-02-03-65
❖ สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น และคณะ

➢ 2.4 การใช้สารแบบหมุนเวียนในการป้องกันกำจัด..... 1502
เพลี้ยจักจั่นฝ้าย *Amrasca biguttula biguttula* (Ishida) ในกระเจี๊ยบเขียวเพื่อลดปัญหาความต้านทานสารฆ่าแมลง
FF65-12-03-65-02-04-65
❖ สมรวย รวมชัยอภิกุล และคณะ

➢ 2.5 การจัดการความต้านทานต่อสารกำจัด..... 1520
ศัตรูพืชในเพลี้ยไฟ (*Thrips palmi* Karny) ที่ทำลายแตงโมโดยการใช้สารกำจัดแมลงแบบหมุนเวียน
FF65-12-03-65-02-05-65
❖ธีราทัย บุญญะประภา และคณะ

กิจกรรมที่ 3. ประเมินความต้านทานของวัชพืชต่อสารกำจัดวัชพืชที่ใช้ในนาข้าวในระบบการทำเกษตรแปลงใหญ่และเทคโนโลยีในการจัดการปัญหาความต้านทาน

กิจกรรมย่อยที่ –

การทดลอง

➢ 3.2 ศึกษาความต้านทานสารกำจัดวัชพืชกลุ่ม..... 1541
ยับยั้งการสร้างไขมัน (cyhalofop-butyl และ fenoxaprop-p-ethyl) ในหญ้าดอกขาว (*Leptochloa chinensis*) เพื่อการจัดการวัชพืช
FF65-12-03-65-03-02-65
❖ ปรัชญา เอกฐิน และคณะ

➢ 3.3 ศึกษาความต้านทานสารกำจัดวัชพืช..... 1572
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..... 1591
ยับยั้งการสร้างกรดอะมิโน (pyrazosulfuron-ethyl และ bensulfuron-methyl) ในกกขนาก (*Cyperus difformis*) เพื่อการจัดการวัชพืช
FF65-12-03-65-03-04-65
❖ เอกรัตน์ ธนูทอง และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยอนุกรมวิธานเชิงลึกมุ่งแก้ปัญหาท้าทายด้านศัตรูพืชเพื่อสนับสนุนและเพิ่มศักยภาพการผลิตสินค้าเกษตร

โครงการวิจัย อนุกรมวิธาน ชีววิทยาแมลง ไร สัตว์ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ

กิจกรรมที่ 1. อนุกรมวิธานแมลง ไร สัตว์ศัตรูพืชเศรษฐกิจโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

การทดลอง ➢ 1.1 อนุกรมวิธานด้วงที่พบในธัญพืชนำเข้าส่งออก..... 1625
FF65-20-01-65-01-01-65
❖ อิทธิพล บรรณาการ และคณะ
➢ 1.2 อนุกรมวิธานและการแพร่กระจายเชิง..... 1672
ภูมิศาสตร์ของทากศัตรูพืช
FF65-20-01-65-01-02-65
❖ ดาราพร รินทะรักษ์ และคณะ
➢ 1.3 อนุกรมวิธานเพลี้ยไฟที่พบในไม้ดอก..... 1687
FF65-20-01-65-01-03-65
❖ อิทธิพล บรรณาการ และคณะ
➢ 1.4 อนุกรมวิธานของผีเสื้อหนอนกระทู้ สกุล..... 1724
Spodoptera Guenée, 1852 (Lepidoptera: Noctuidae)
FF65-20-01-65-01-04-65
❖ อาทิตย์ รักกสิกร และคณะ

กิจกรรมที่ 2. ชีววิทยาของแมลง ไรศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจและศัตรูธรรมชาติที่มีศักยภาพในการควบคุมศัตรูพืช

การทดลอง ➢ 2.1 การศึกษาชีววิทยาของไรแดงอัญชัน..... 1742
Tetranychus piercei McGrego
FF65-20-01-65-02-01-65
❖ วีระชัย สมศรี และคณะ

➢ 2.2 ชีววิทยา และศักยภาพภาพการกิน.....
เหยื่อของแมลงช้างสีน้ำตาล ชนิด *Micromus timidus* 1755
Hagen, 1853 (Neuroptera: Hemerobiidae) และแมลงช้าง
ปีกแป้ง ชนิด *Semidalis aleyrodiformis* (Stephens, 1836)
(Neuroptera: Coniopterygidae)
FF65-20-01-65-02-02-65
❖ อาทิตย์ รักกสิกร และคณะ

➢ 2.3 การจำแนกชนิดและชีววิทยามวนตัวห้ำ..... 1766
สกุล *Nesidiocoris* (Hemiptera: Miridae)
FF65-20-01-65-02-03-65
❖ จอมสุรางค์ ดวงธิสาร และคณะ

โครงการวิจัย การจำแนกชนิดแมลง สัตว์ศัตรูพืชที่สำคัญด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล

กิจกรรมที่ -

การทดลอง ➢ 1. การจำแนกชนิดและเขตการแพร่กระจายจักจั่น..... 1779
ศัตรูอ้อย (Hemiptera: Cicadidae) ในประเทศไทย✪
FF65-20-02-65-00-01-65
❖ เกศสุดา สนศิริ และคณะ

➢ 2. การจำแนกชนิดเพลี้ยหอยเกล็ด..... 1793
สกุล *Pinnaspis* Cockerell, 1892 ด้วยสัณฐานวิทยาและ
เทคนิคทางชีวโมเลกุล
FF65-20-02-65-00-02-65
❖ ชมัยพร บัวมาศ และคณะ

➢ 3.การจำแนกชนิดของทากเล็บมือนางสกุล 1808
Parmarion ในประเทศไทยด้วยสัณฐานวิทยาและเทคนิคทางชีวโมเลกุล
FF65-20-02-65-00-03-65
❖ ศุภกร วงษ์เรืองพิบูล และคณะ

➢ 4. การจำแนกชนิดและความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของ....
เพลี้ยแป้ง cryptic species สกุล *Planococcus* Ferris 1950 1857
ด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล
FF65-20-02-65-00-04-65
❖ ชมัยพร บัวมาศ และคณะ

➢ 5. การจำแนกไบโอไทป์ของแมลงหวี่ขาวยาสูบ..... 1867
Bemisia tabaci ในแหล่งปลูกพริกอินทรีย์และแหล่งปลูกพริกใช้สารเคมีในภาคตะวันออกเฉียงเหนือโดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล
FF65-20-02-65-00-05-65
❖ สุนัดดา เชาวลิต และคณะ

➢ 6. การศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ด ความสัมพันธ์ทาง..... 1885
วิวัฒนาการ และมอร์โฟเมตริกส์ ของแมลงวันหนอนชอนใบในพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย✪
FF65-20-02-65-00-06-65
❖ ยุวรินทร์ บุญทบ และคณะ

โครงการวิจัย การจำแนกชนิดและคุณลักษณะชีวโมเลกุลของจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชที่สำคัญ

กิจกรรมที่ -

การทดลอง ➢ 1.การจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยสกุล..... 1900
Hirschmanniella (Nematoda : Pratylenchidae) ในพรรณไม้น้ำ
FF65-20-03-65-00-01-65
❖ ธิติยา ชยาภัคพัฒนา และคณะ

➢ 2 การจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยสกุล..... 1917
Xiphinema (Nematoda: Longidoridae)
FF65-20-03-65-00-02-65
❖ ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ
➢ 3 การจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยสกุล..... 1926
Scutellonema (Nematoda: Hoplolaimidae)
FF65-20-03-65-00-03-65
❖ ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ
➢ 4. อนุกรมวิธานของราน้ำค้างในพืชตระกูลแตง..... 1934
และพืชตระกูลกะหล่ำ
FF65-20-02-65-00-04-65
❖ มะโนรัตน์ สุดสงวน และคณะ
➢ 5. การจำแนกชนิดและคุณลักษณะชีวโมเลกุล..... 1945
ของเชื้อไวรัสที่ก่อให้เกิดโรคในมันเทศ
FF65-20-03-65-00-05-65
❖ ภูวนารถ มณีโชติ และคณะ

โครงการวิจัย การจำแนกชนิดของจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชที่มีความซับซ้อน (complex species)

กิจกรรมที่ -

การทดลอง ➢ 2. การจำแนกชนิดของเชื้อรา..... 1965
Fusarium oxysporum f.sp. *cubense* race 1 complex สาเหตุโรคตายพรายกล้วย
FF65-20-04-65-00-02-65
❖ ชนินทร ดวงสอาด และคณะ
➢ 3. การจำแนกชนิดของแบคทีเรีย *Xanthomonas* spp..... 1977
สาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ
FF65-20-04-65-00-03-65
❖ ทิพวรรณ กันหาญาติ และคณะ

โครงการวิจัย การศึกษาชนิดวัชพืชที่สำคัญเพื่อแก้ปัญหาท้าทายด้านวัชพืชและเพิ่มศักยภาพการผลิตสินค้าเกษตร

กิจกรรมที่ –

การทดลอง

➢ 1. ชนิดและสัณฐานวิทยาของวัชพืชสกุล..... 1987
Echinochloa P.Beauv
FF65-20-05-65-00-01-65
❖ อุษณีย์ จินดากุล และคณะ

➢ 2. ชนิดและสัณฐานวิทยาของวัชพืชสกุล..... 2001
Fimbristylis Vahl
FF65-20-05-65-00-02-65
❖ ธัญชนก จงรักไทย และคณะ

3. ชนิดและสัณฐานวิทยาของวัชพืชสกุล 2009
Spilanthes Jacq.
FF65-20-05-65-00-03-66
❖ อัณศยา พรมมา และคณะ

แผนงานวิจัย การศึกษาชีววิทยา และนิเวศวิทยาของวัชพืชที่สำคัญเพื่อแก้ปัญหาท้าทายด้านวัชพืชและเพิ่มศักยภาพการผลิตสินค้าเกษตร

กิจกรรมที่ –

การทดลอง

➢ 1. ศึกษาชีววิทยา และนิเวศวิทยาของผักกระฉูด..... 2017
(*Neptunia plena* (L.) Benth) วัชพืชแพร่ระบาดในพื้นที่ชุ่มน้ำทางการเกษตร
FF65-20-06-65-00-01-65
❖ อัณศยา พรมมา และคณะ

➢ 2. ศึกษาชีววิทยา และนิเวศวิทยาของโทงเทงประดับ..... 2041
(*Nicandra physalodes* (L.) Gaertn) วัชพืชแพร่ระบาดในพื้นที่เกษตรภาคเหนือ
FF65-20-06-65-00-02-65
❖ ธัญชนก จงรักไทย และคณะ

➢ 3. ศึกษาชีววิทยา และนิเวศวิทยาของ *Oxalis*..... 2055
debilis .Kunth วัชพืชแพร่ระบาดในพื้นที่เกษตรภาคเหนือ
FF65-20-06-65-00-03-65
❖ อัณศยา พรมมา และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาพันธุ์มันสำปะหลังเพื่อผลผลิตและคุณภาพสูงสำหรับอุตสาหกรรม

โครงการวิจัย การวิจัยและพัฒนาพันธุ์มันสำปะหลังเพื่อต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลัง(ระยะที่ 1)

กิจกรรมที่ –

การทดลอง ➢ 1.6 ทดสอบความต้านทานต่อโรคใบด่างมันสำปะหลัง..... 2068
ในมันสำปะหลังโดยการเสียบยอด
FF65-23-02-65-01-04-65
❖ วานิช คำพานิช และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตพืชไร่ตระกูลถั่วและข้าวโพดฝักสดเพื่อความมั่นคงทางอาหาร

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตข้าวโพดฝักสดเพื่อความมั่นคงทางอาหาร

กิจกรรมที่ 1.วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตข้าวโพดฝักสด

กิจกรรมย่อยที่ 1.2 วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการอารักขาข้าวโพดฝักสด

การทดลอง ➢ 1.2.6 ผลกระทบของสารกำจัดวัชพืชประเภท..... 2077
ใช้ทางใบต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวโพดหวาน
FF65-45-04-65-01-10-65
❖ ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย และคณะ

➢ 1.2.7 ผลของน้ำบาดาลและน้ำผิวดินต่อประสิทธิภาพ..... 2090
การกำจัดวัชพืชในพื้นที่ปลูกข้าวโพดหวาน
FF65-45-04-65-01-11-65
❖ อมฤต ศิริอุดม และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาการกักกันพืชเพื่อการค้าสินค้าเกษตรด้านพืชระหว่างประเทศ

โครงการวิจัย การศึกษาชนิดของศัตรูพืชในประเทศเพื่อการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช

กิจกรรมที่ –

การทดลอง

➢ 1.1 การศึกษาชนิดของแมลงศัตรู อินทผลัม มันเทศ 2096
ลิลลี่ กล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิส เพื่อจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช
FF65-55-01-65-00-01-65
❖ เกศสุดา สนศิริ และคณะ

➢ 1.2 การศึกษาชนิดของไรศัตรู อินทผลัม มันเทศ.....
ลิลลี่ กล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิส เพื่อจัดทำ 2118
บัญชีรายชื่อศัตรูพืช
FF65-55-01-65-00-02-65
❖ พลอยชมพู กรวิภาสเรือง และคณะ

➢ 1.3 การศึกษาชนิดของโรค อินทผลัม มันเทศ ลิลลี่..... 2146
กล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิส เพื่อจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช
FF65-55-01-65-00-03-65
❖ วันวิสาข์ เพ็ชรอำไพ และคณะ

➢ 1.4 การศึกษาชนิดของวัชพืชใน อินทผลัม มันเทศ..... 2159
ลิลลี่ กล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิส เพื่อจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช
FF65-55-01-65-00-04-65
❖ ธัญชนก จงรักไทย และคณะ

โครงการวิจัย ศึกษาความเสี่ยงศัตรูพืชที่สัมพันธ์กับการนำเข้าสินค้าเกษตรจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก

กิจกรรมที่ -

การทดลอง

➢ 1. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้า..... 2173
บลูเบอรี่จากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-01-65
❖วรัญญา มาลี และคณะ

➢ 2. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้า..... 2193
แก้วมังกรจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-02-65
❖ คมศร แสงจินดา และคณะ
➢ 3. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้า..... 2210
เชอรี่จากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-03-65
❖ ชวลิต จิตนันท์ และคณะ
➢ 4. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้า..... 2241
สับปะรดจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-04-65
❖ ณัฐสุดา บรรเลงสวรรค์ และคณะ
➢ 5. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้า..... 2265
อินทผลัมจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-05-65
❖ อมรพร คุณะพันธ์ และคณะ
➢ 6. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้า..... 2284
ส่วนขยายพันธุ์องุ่นจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-06-65
❖ สุคนธ์ทิพย์ สมบัติ และคณะ
➢ 7. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้า..... 2306
ลิลลี่จากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-07-65
❖ วาสนา ฤทธิ์ไธสง และคณะ
➢ 8. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้า..... 2325
กล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิสจากประเทศ
ในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-08-65
❖ วาสนา ฤทธิ์ไธสง และคณะ

➢ 9. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการ..... 2340
นำเข้าวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูกจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-09-65
❖ อลงกต โพธิ์ดี และคณะ

โครงการวิจัย การตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักและหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้า

กิจกรรมที่ -

การทดลอง

➢ 1. การตรวจวินิจฉัยชนิดของไวรัสจีนัส *Tobamovirus*..... 2351
ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้า
FF65-55-03-65-00-01-65
❖ โสภา มีอำนาจ และคณะ

➢ 2. การตรวจวินิจฉัยไส้เดือนฝอยศัตรูพืช 2363
Potato cyst nematode ที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้า✪
FF65-55-03-65-00-02-65
❖ สุรศักดิ์ แสนโคตร และคณะ

➢ 3. การตรวจวินิจฉัย *Candidatus* Liberibacter 2402
solanacearum ที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้า
FF65-55-03-65-00-03-65
❖ สุรศักดิ์ แสนโคตร และคณะ

➢ 4. การตรวจและศึกษาชนิดเมล็ดวัชพืชที่ติดมากับ..... 2437
เมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่ายนำเข้า
FF65-55-03-65-00-04-65
❖ จันทร์พิศ เดชหามาตย์ และคณะ

➢ 5. การตรวจวินิจฉัยและจำแนกชนิดของเชื้อไวรอยด์..... 2456
ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้า✪
FF65-55-03-65-00-05-66
❖ วาสนา รุ่งสว่าง และคณะ

➢ 6. การตรวจวินิจฉัย Potato spindle tuber viroid 2466
ที่ติดมาหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้า
FF65-55-03-65-00-06-66
❖ สุรศักดิ์ แสนโคตร และคณะ

➢ 7. การตรวจและศึกษาชนิดเมล็ดวัชพืชที่ติดมากับ..... 2484
เมล็ดพันธุ์แครอทนำเข้า
FF65-55-03-65-00-07-66
❖ จันทร์พิศ เดชหามาตย์ และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชและชีวภัณฑ์เพื่อการค้าสินค้าเกษตรด้านพืช

กิจกรรมที่ 1. พัฒนาเทคโนโลยีการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืช

การทดลอง ➢ 1.1 การพัฒนา การตรวจสอบ..... 2493
แมลงวันทองฝรั่ง *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..... 2505
Xanthomonas perforans สาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ
FF65-55-04-65-01-03-65
❖ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ
➢ 1.4 พัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย 2513
Xanthomonas vesicatoria สาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ
FF65-55-04-65-01-04-65
❖ ทิพวรรณ กันหาญาติ และคณะ

➢ 1.5 การเปรียบเทียบและประเมินประสิทธิภาพ..... 2521
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..... 2532
เพื่อการตรวจวินิจฉัยเชื้อรา *Trichoderma asperellum*
FF65-55-04-65-02-01-65
❖ ชนินทร ดวงสอาด และคณะ

➢ 2.2 การพัฒนาเทคนิคสำหรับตรวจสอบเชื้อรา..... 2544
Metarhizium anisopliae ด้วยไพรเมอร์จำเพาะ
FF65-55-04-65-02-02-65
❖ ทิภาพร นวลเนตร และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในผลมะละกอและมะม่วงเพื่อเพิ่มศักยภาพในการส่งออก

กิจกรรมที่ -

การทดลอง
➢ 1. วิจัยและพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพ..... 2551
ความชื้นสัมพัทธ์สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะละกอแขกดำเพื่อการส่งออก
FF65-55-05-65-00-01-65
❖ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ และคณะ

➢ 2. วิจัยและพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพ..... 2562
ความชื้นสัมพัทธ์สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะละกอแขกนวลเพื่อการส่งออก
FF65-55-05-65-00-02-65
❖ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ และคณะ

➢ 3. วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อน..... 2573
เพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในมะม่วงมันเดือนเก้าเพื่อการส่งออก✪
FF65-55-05-65-00-03-65
❖ ชัยณรัตน์ สนศิริ และคณะ

➢ 4. วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีกำจัดแมลงวัน..... 2603
ผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในผลมะม่วงน้ำดอกไม้มันเพื่อเพิ่มศักยภาพในการส่งออก✪
FF65-55-05-65-00-04-65
❖ พงษ์ศักดิ์ จิณฤทธิ์ และคณะ

➢ 5. วิจัยและพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพ..... 2629
ความชื้นสัมพัทธ์สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงแดงจักรพรรดิเพื่อการส่งออก
FF65-55-05-65-00-05-65
❖ ปวีณา บูชาเทียน และคณะ

➢ 6. วิจัยและพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพ..... 2640
ความชื้นสัมพัทธ์สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงอกร่องเพื่อการส่งออก
FF65-55-05-65-00-06-65
❖ ศิริพร คงทวี และคณะ

โครงการวิจัย การสำรวจ และเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกันของพืชและผลผลิตพืชในประเทศไทย

กิจกรรมที่ -

การทดลอง

➢ 1. การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย 2650
Pseudomonas corrugata ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-01-65
❖ วานิช คำพานิช และคณะ

➢ 2. การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย..... 2657
Xanthomonas vesicatoria ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-02-65
❖ ทิพวรรณ กันหาญาติ และคณะ

➢ 4. การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย..... 2663
Xanthomonas perforans ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-04-65
❖ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ
➢ 5. การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อรา..... 2670
Pseudocercospora angolensis ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-05-65
❖ วานิช คำพานิช และคณะ
➢ 6. การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อรา..... 2677
Verticillium albo-atrum ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-06-65
❖ ธิดาวรรณ ชมเดช และคณะ
➢ 7. การสำรวจและเฝ้าระวังไส้เดือนฝอย..... 2687
Ditylenchus destructor ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-07-65
❖ นภลภัส บุษบงก์ และคณะ
➢ 8. การสำรวจและเฝ้าระวังไส้เดือนฝอยศัตรูพืช..... 2696
Ditylenchus dipsaci ในประเทศไทย✪
FF65-55-06-65-00-08-65
❖ ธิติยา ชยาภัคพัฒนา และคณะ
➢ 9. การสำรวจและเฝ้าระวังแมลงวันผลไม้..... 2719
Bactrocera minax (Enderlein) ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-09-65
❖ ดนัย ชัยเรือนแก้ว และคณะ
➢ 10. การสำรวจและเฝ้าระวังตั๊กแตนไผ่..... 2729
Ceracris kiangsu Tsai ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-10-65
❖ จารุวัตถ์ แต้กุล และคณะ

➢ 11. การสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช..... 2740
Raphanus raphanistrum ของกะหล่ำปลีในประเทศไทย
Survey and Surveillance of *Raphanus raphanistrum* ✪
FF65-55-06-65-00-11-65
❖ ชุติมา อ้อมกิ่ง และคณะ
➢ 12. การสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช..... 2748
Galium aparine L. ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-12-65
❖ พรรณิภา เปชัยศรี และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืชอุบัติใหม่ในข้าวโพดและกล้วยเพื่อการส่งออก

กิจกรรมที่ 1. วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการจัดการหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพด

การทดลอง ➢ 1.1 การทดสอบประสิทธิภาพสารคลุกเมล็ดและ..... 2757
ราดสารป้องกันกำจัดแมลงในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด
FF65-55-07-65-01-01-65
❖ วิภาดา ปลอดครบุรี และคณะ
➢ 1.2 การใช้ไวรัส NPV ร่วมกับสารป้องกันกำจัดแมลง..... 2775
ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวาน
FF65-55-07-65-01-02-65
❖ อนุสรณ์ พงษ์มี และคณะ
➢1.3 การใช้การใช้เชื้อแบคทีเรีย..... 2790
Bacillus thuringiensis ร่วมกับสารป้องกันกำจัดแมลงในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวาน
FF65-55-07-65-01-03-66
❖ อิศเรส เทียนทัด และคณะ
➢ 1.4 ศึกษารูปแบบการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติ..... 2800
ร่วมกับชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวาน
FF65-55-07-65-01-04-66
❖ พัชรีวรรณ จงจิตเมตต์ และคณะ

➢ 1.5 ศึกษารูปแบบการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติ..... 2811
ร่วมกับชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด
ในข้าวโพดฝักอ่อน
FF65-55-07-65-01-03-66
❖ สุพรรณี ภูคะฮาด และคณะ

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

การทดลอง ➢ 2.1 การศึกษาชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคตายพราย..... 2823
TR4 ในกล้วยคาเวนดิช ของประเทศไทย
FF65-55-07-65-02-01-65
❖ ชนินทร ดวงสอาด และคณะ
➢ 2.2 การตรวจสอบเชื้อราสาเหตุโรคตายพราย..... 2837
TR4 กล้วยในประเทศไทยด้วยเทคนิค SIX genes
FF65-55-07-65-02-02-65
❖ วันวิสาข์ เพ็ชรอำไพ และคณะ
➢ 2.3 การศึกษาปฏิกิริยาของสายพันธุ์/พันธุ์กล้วย..... 2845
ต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp.
cubense tropical race 4
FF65-55-07-65-02-03-65
❖ วันวิสาข์ เพ็ชรอำไพ และคณะ
➢ 2.4 การทดสอบการใช้ยูเรียและปูนขาวอบดินร่วม.....
กับการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ในการควบคุมโรคตายพราย
TR4 ของกล้วย
FF65-55-07-65-02-04-65
❖ สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยการบริหารศัตรูพืชแบบผสมผสานในพืชผักสำหรับส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป (EU) เพื่อการผลิตที่ยั่งยืน

โครงการวิจัย ทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชเพื่อทดแทนสารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชที่กลุ่มสหภาพยุโรป (EU) ห้ามใช้

กิจกรรมที่ –

การทดลอง

➢ 1. ศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกัน..... 2853
กำจัดแมลงหวี่ขาวยาสูบ (*Bemisia tabaci* (Gennadius)) ในโหระพา/กะเพรา เพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้
FF65-57-01-65-00-01-65
❖ วนาพร วงษ์นิคง และคณะ

➢ 2. ศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกัน..... 2871
กำจัดเพลี้ยอ่อนฝ้าย (*Aphis gossypii* Glover) ในโหระพา/กะเพรา เพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้
FF65-57-01-65-00-02-65
❖ กรกต ดำรักษ และคณะ

➢ 3. ศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกัน..... 2888
กำจัดหนอนแมลงวันชอนใบ (*Liriomyza brassicae* (Riley)) ในโหระพา/กะเพรา เพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้
FF65-57-01-65-00-03-65
❖ กรกต ดำรักษ และคณะ

➢ 4. ศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกัน..... 2896
กำจัดเพลี้ยอ่อนฝ้าย (*Aphis gossypii* Glover) ในมะระจีน เพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้
FF65-57-01-65-00-04-65
❖ วนาพร วงษ์นิคง และคณะ

➢ 5. ศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกัน..... 2909
กำจัดเพลี้ยไฟฝ้าย (*Thrips palmi*) ในมะระจีนเพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้
FF65-57-01-65-00-05-65
❖ สัญญาณี ศรีคชา และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยการบริหารศัตรูพืชแบบผสมผสานในพืชผักสำหรับส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป (EU) เพื่อการผลิตที่ยั่งยืน

กิจกรรมที่ –

การทดลอง

- 1. เทคโนโลยีการจัดการศัตรูพริกในระบบโรงเรือน..... 2922
  เพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป
  FF65-57-02-65-00-01-65
  - สัญญาณี ศรีคชา และคณะ
- 2. เทคโนโลยีการจัดการศัตรูคะน้าแบบผสมผสาน..... 2939
  เพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป
  FF65-57-02-65-00-02-65
  - ธีราทัย บุญญะประภา และคณะ
- 3. เทคโนโลยีการจัดการศัตรูข้าวโพดฝักอ่อน..... 2960
  แบบผสมผสานเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป
  FF65-57-02-65-00-03-65
  - อุราพร หนูนารถ และคณะ
- 4. เทคโนโลยีการจัดการศัตรูคะน้าแบบผสมผสาน..... 2976
  ในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป
  FF65-57-02-65-00-04-66
  - หทัยภัทร เจษฎารมย์ และคณะ
- 5. เทคโนโลยีการจัดการศัตรูผักชีฝรั่งในระบบโรงเรือน..... 2982
  เพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป
  FF65-57-02-65-00-05-66
  - วนาพร วงษ์นิคง และคณะ
- 6. เทคโนโลยีการจัดการศัตรูกะเพรา/โหระพา..... 2994
  ในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป
  FF65-57-02-65-00-06-66
  - กรกต ดำรักษ์ และคณะ
- 7. เทคโนโลยีการจัดการศัตรูมะระจีนสำหรับ..... 3004
  การส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป
  FF65-57-02-65-00-07-66
  - สัญญาณี ศรีคชา และคณะ

หมายเหตุ ✪ ชื่อการทดลองที่นักวิจัยแจ้งไม่ตรงกับชื่อการทดลองจากกองแผนงาน

การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้ากล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิส จากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก

Pest Risk Assessment for Importation of *Dendrobium* spp. and *Phalaenopsis* spp. from the Countries in the Asia-Pacific Region

วาสนา ฤทธิ์ไธสง[1/] ณฐมน แก้วนุ้ย[2/] ชมัยพร บัวมาศ[3/] วาสนา รุ่งสว่าง[1/]

[1/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[3/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

กล้วยไม้จัดเป็นสิ่งกำกัด การนำจึงมีเพียงใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาพร้อมกับสินค้าโดยไม่มีมาตรการจัดการก่อนนำเข้า ซึ่งอาจเป็นสาเหตุให้ศัตรูพืชของกล้วยไม้ที่ไม่มีรายงานพบในประเทศติดเข้ามากับส่วนของกล้วยไม้ที่นำเข้า การประเมินความเสี่ยงสำหรับการนำเข้ากล้วยไม้สกุลหวายและฟาแลนนอปซิสจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิกในส่วนของ ต้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กิ่งชำ ก้านช่อดอกและเมล็ด จากการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชของกล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิสที่มีในประเทศ และต่างประเทศ ผลการศึกษาพบว่ามีศัตรูพืชรวมทั้งสิ้นจำนวน 112 ชนิด ประกอบด้วย ไร 5 ชนิด แมลง 45 ชนิด รา 20 ชนิด แบคทีเรีย 6 ชนิด ไวรัส 28 ชนิด ไวรอยด์ 1 ชนิด และหอยทาก 7 ชนิด นำข้อมูลศัตรูพืชมาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชตามมาตรฐานสุขอนามัยพืช (ISPM) ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกัน พบว่ามีศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานพบประเทศไทยและมีโอกาสติดเข้ามากับนำเข้า ต้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กิ่งชำ ก้านช่อ ดอกและเมล็ดของกล้วยไม้สกุลหวายและฟาแลนนอปซิส จำนวน 12 ชนิด จากการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชนั้น จำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องมีการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้า ต้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กิ่งชำ ก้านช่อกล้วยไม้ ดอก และเมล็ดกล้วยไม้สกุลหวายและฟาแลนนอปซิส

คำหลัก : กล้วยไม้สกุลหวาย กล้วยไม้ฟาแลนนอปซิส การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช ภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก

รหัสการทดลอง FF65-55-02-65-00-08-65

คำนำ

ปัจจุบันตลาดการค้ากล้วยไม้ทั่วโลกมีการแข่งขันที่สูงขึ้นนั้น ส่งผลกระทบต่อประเทศไทยซึ่งเป็นแหล่งผลิตกล้วยไม้ที่มีปริมาณและมูลค่าการส่งออกมากที่สุดเป็นอันดับหนึ่ง การถูกกีดกันทางการค้า การกดราคาของประเทศคู่ค้าและการเพิ่มขึ้นของประเทศคู่แข่ง ประเทศไทยจึงต้องเร่งพัฒนาและปรับปรุงคุณภาพความหลากหลายของสายพันธุ์ไม้ดอกไม้ประดับเพื่อรักษาตำแหน่งผู้ส่งออกไม้ดอกไม้ประดับที่สำคัญของโลกต่อไป ฉะนั้นจึงมีการนำเข้ากล้วยไม้จากต่างประเทศ ซึ่งวัตถุประสงค์เพื่อนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธ์เป็นหลัก หรือนำเข้ามาเลี้ยงขยายพันธุ์เพื่อการส่งออกต่อไป ชนิดกล้วยไม้ที่สำคัญที่มีการนำเข้าจากต่างประเทศได้แก่ กล้วยไม้สกุลหวาย และกล้วยไม้ฟาแลนนอปซิส

กล้วยไม้จัดเป็นสิ่งกำกัดตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งกำกัด ข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พ.ศ. 2550 การนำเข้ามามีเพียงการรับรองด้านสุขอนามัยพืช โดยไม่มีมาตรการในการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชที่อาจติดเข้ามากับส่วนของกล้วยไม้ที่นำเข้า ทั้งนี้ประเทศไทยมีการนำเข้าต้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กิ่งชำ ก้านช่อดอกและเมล็ดจากหลายประเทศ เช่น จีน เวียดนาม ไต้หวัน ญี่ปุ่น เกาหลี และมาเลเซีย ซึ่งจากแหล่งที่มามีภูมิอากาศใกล้เคียงกับประเทศไทยนั้น อาจมีความเสี่ยงที่จะนำศัตรูพืชกักกัน (Quarantine pest) อาจเล็ดลอดติดเข้ามากับสินค้าที่นำเข้า สามารถแพร่ระบาด และเจริญพันธุ์อย่างถาวรในประเทศได้ จึงมีความจำเป็นต้องมีการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชให้เหมาะสม โดยใช้การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเป็นหลักในวิธีการประเมินเพื่อกำหนดชนิดศัตรูพืชกักกันควบคุมและกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันดังกล่าวเป็นสิ่งที่มีความสำคัญยิ่งในการป้องกันความเสียหายที่อาจเกิดขึ้นกับระบบเกษตรกรรมการผลิตกล้วยไม้ของประเทศไทย ถ้าหากเกิดความเสียหายของผลผลิตนั้นจะส่งผลกระทบอย่างยิ่งต่อการบริโภคและการส่งออกกล้วยไม้

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

มีขั้นตอนและวิธีการ ดังต่อไปนี้

1. การสืบค้นและรวบรวมข้อมูล (2565-2566)

1.1 สืบค้นและรวบรวมข้อมูลทั่วไปของกล้วยไม้สกุลหวาย สกุลฟาแลนนอปซิสที่นำเข้า เช่น ชื่อวิทยาศาสตร์ พันธุ์หรือสายพันธุ์ แหล่งผลิตในประเทศผู้ส่งออก ผลผลิต การรับรองสุขอนามัยของประเทศผู้ส่งออก เป็นต้น

1.2 สืบค้นและรวบรวมข้อมูลศัตรูกล้วยไม้สกุลหวาย สกุลฟาแลนนอปซิส เช่น ชื่อวิทยาศาสตร์ การจำแนกทางอนุกรมวิธาน พืชอาศัย/พืชอาหาร ลักษณะการทำลาย การแพร่ระบาด ความเสียหายของผลผลิตที่เกิดจากการทำลายของศัตรูพืช ที่มีรายงานในประเทศต้นทาง ประเทศไทย และประเทศอื่น ๆ

2. การตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับกล้วยไม้สกุลหวาย สกุลฟาแลนนอปซิสนำเข้าในห้องปฏิบัติการ/โรงเรือน (2565-2567)

เก็บตัวอย่างกล้วยไม้สกุลหวาย สกุลฟาแลนนอปซิสนำเข้าจากด่านตรวจพืช/โรงเรือน/แปลงปลูก นำมาตรวจสอบ ดังนี้

2.1 ตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับกล้วยไม้สกุลหวาย สกุลฟาแลนนอปซิสนำเข้า เช่น แมลง ไร หอย วัชพืช เชื้อรา และแบคทีเรีย โดยตรวจสอบภายนอกหรือภายในหากพบอาการผิดปกติและสังเกตลักษณะผิดปกติที่อาจเกิดจากโรคพืชหรือแมลงศัตรูพืช

2.2 หากพบแมลง ไร หอย และวัชพืช จะตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและสูง จำแนกกลุ่มของแมลง ไร หอย และวัชพืช โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphology) และส่งจำแนกชนิดต่อไป

2.3 หากพบอาการผิดปกติที่อาจเกิดจากเชื้อสาเหตุโรคพืชให้ตรวจสอบด้วยวิธีการ ดังนี้

(1) ตรวจสอบเชื้อราด้วย Blotter method (Mathur and Kongdal, 2003) และตรวจจำแนกชนิดของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและกำลังขยายสูง และ/หรือตรวจสอบจำแนกเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 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

(4) ตรวจสอบเชื้อไวรัส/ไวรอยด์/ไฟโตพลาสมาโดยนำส่วนขยายพันธุ์มาปลูกเพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติในโรงเรือน (seedling symptom test) หากพบอาการผิดปกติส่งตัวอย่างเพื่อแยกเชื้อและจำแนกชนิดต่อไป

3. การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (2565-2567)

ดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเชิงคุณภาพ ในการนำเข้าดอก ต้น กล้วยไม้สกุลหวาย สกุลฟาแลนนอปซิสจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิกโดยการประยุกต์แนวทางการวิเคราะห์ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช 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, 2017) และแนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืชของประชาคมตลาดร่วมแคริบเบียน (Caribbean Community and Common Market) (CAHFSA, 2016) ซึ่งประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ดังนี้

<u>ขั้นตอนที่ 1 การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 1: Initiation) (2565)</u>

1.1 ระบุจุดเริ่มต้นของการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช/ระบุพื้นที่ซึ่งมีการดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช/ตรวจสอบว่าเคยมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงโดยศัตรูพืช หรือเส้นทางศัตรูพืช หรือนโยบายของรัฐจากแหล่งข้อมูลภายในประเทศไทยและต่างประเทศพิจารณานำมาใช้ประกอบการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

1.2 นำข้อมูลศัตรูพืชที่ได้จากการสืบค้นและรวบรวมจากหนังสือ ตำรา เอกสารวิชาการ ฐานข้อมูลศัตรูพืช และจากการตรวจสอบศัตรูพืชที่พบติดมากับกล้วยไม้สกุลหวาย สกุลฟาแลนนอปซิสที่นำเข้าจากต่างประเทศ มาจัดทำตารางศัตรูพืชเพื่อใช้สำหรับการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนต่อไป

<u>ขั้นตอนที่ 2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 2: Pest Risk Assessment) (2565-2567)</u>

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 สภาพแวดล้อมและสภาพภูมิอากาศที่เหมาะสมต่อการเจริญแพร่พันธุ์ พืชอาศัย/พืชอาหาร และพาหะ

ของศัตรูพืชชนิดนั้นที่มีรายงานการพบในประเทศไทย (5) ประเมินศักยภาพของศัตรูพืช ในการก่อให้เกิดผลตามมาทางเศรษฐกิจในประเทศไทย

2.1.2 จัดทำตารางผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนการจัดประเภทศัตรูพืช และนำรายชื่อศัตรูพืชที่มีศักยภาพติดมากับเส้นทางศัตรูพืช (ส่วนของพืชที่นำเข้า) 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) ของศัตรูพืช ประกอบด้วย

(1) การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการเข้ามา (probability of entry) ของศัตรูพืช โดยประเมินความน่าจะเป็นไปได้ที่ศัตรูพืชจะปะปนมากับดอก ต้น และหัวพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวาย สกุลฟาแลนนอปซิสที่นำเข้ามาในประเทศไทย

(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 (2566-2567)

นำรายชื่อศัตรูพืชที่ได้จากการประเมินในข้อ 2.1 มาประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้นภายหลังการเข้ามาของศัตรูพืชในประเทศไทย การพิจารณาผลกระทบของศัตรูพืชทั้งทางตรงและทางอ้อม ที่มีต่อเศรษฐกิจ สิ่งแวดล้อม และสังคม โดยใช้หลักเกณฑ์การประเมิน ผลกระทบในแต่ละด้านตามแนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืชของประชาคมตลาดร่วมแคริบเบียน (CAHFSA, 2016)

2.4 สรุปผลในขั้นตอนการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Conclusion of the pest risk assessment stage) (2566-2567)

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) (2566-2567)

นำรายชื่อศัตรูพืชกักกัน ที่ได้จากการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนที่ 2 มาพิจารณาหาแนวทางการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชเพื่อจัดการความเสี่ยงของศัตรูพืชแต่ละชนิด โดยจำแนกวิธีการที่จะดำเนินการกับความเสี่ยงศัตรูพืชในการเข้ามาเจริญและแพร่กระจายในประเทศไทยตลอดจนผลกระทบทางด้านเศรษฐกิจเพื่อลดความเสี่ยงลงให้ถึงระดับต่ำสุดที่ยอมรับได้ 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 รวมถึงรายชื่อศัตรูพืชกักกันของการนำเข้าดอก ต้น และหัวพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวาย สกุลฟาแลนนอปซิสจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก 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 ที่ปนเปื้อนหรือติดมากับกล้วยไม้สกุลหวายและฟาแลนนอปซิส นำเข้า วัน เวลา สถานที่ และวิธีการที่ใช้ในการจำแนกชนิดศัตรูพืช ลักษณะอาการบนพืช

3. สถานภาพของศัตรูพืชแต่ละชนิดว่ามีรายงานพบในประเทศไทยหรือไม่ และเอกสารอ้างอิง

4. ชนิดของศัตรูพืชกักกัน เขตแพร่กระจาย (ชื่อประเทศ) ในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก และมาตรการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันของกล้วยไม้สกุลหวายและฟาแลนนอปซิสนำเข้าจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2564 - กันยายน 2566

สถานที่ 1. ห้องปฏิบัติการและโรงเรือนทดลอง กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

2. ห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

3. ด่านตรวจพืชท่าอากาศสุวรรณภูมิ จ.สมุทรปราการ และด่านตรวจพืชท่าอากาศยานเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร

4. แปลงเกษตรกร/บริษัท จ.นครปฐม และ จ.ปทุมธานี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สืบค้นและรวบรวมข้อมูลศัตรูกล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิส

จากการสืบค้นชนิดศัตรูพืชของกล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิสต้นเพาะเลี้ยง เนื้อเยื่อ กิ่งชำ ก้านช่อ ดอกและเมล็ด มีศัตรูพืชรวมทั้งสิ้นจำนวน 112 ชนิด ประกอบด้วย ไร 5 ชนิด แมลง 45 ชนิด รา 20 ชนิด แบคทีเรีย 6 ชนิด ไวรัส 28 ชนิด ไวรอยด์ 1 ชนิด และหอยทาก 7 ชนิด นำข้อมูลศัตรูพืชมาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชตามมาตรฐานสุขอนามัยพืช (ISPM) ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกัน

ไร 5 ชนิด ได้แก่ *Brevipalpus californicus, Brevipalpus phoenicis, Dolichotetranychus vandergooti, Tenuipalpus pacificus, Tetranychus urticae*

แมลง 45 ชนิด ได้แก่ *Adoretus compressus, Aspidiotus nerii, Bemisia tabaci, Bactrocera papaye, Brevipalpus californicus, Cerataphis lataniae, Cerataphis orchidearum, Contarinia maculipennis, Coccus hesperidum, Chaetanaphothrips signipennis, Chliaria othona, Chaetanaphothrips orchidii, Diaspis boisduvalii, Diorymerellus laevimargo, Dichromothrips corbetti, Dysmicoccus brevipes, Dichromothrips smithi, Elimaea chloris, Frankliniella occidentalis, Frankliniella intonsa, Frankliniella schultzei, Hypolycaena kina, Hypolycaena othona, Helionothrips errans, Lema pectoralis, Mertila malayensis, Microcephalothrips abdominalis, Nipaecoccus nipae, Oxya chinensis, Orchidophilus*

aterrimus, Orgyia postica, Parlatoria proteus, Parlatoria ziziphin, Planococcus citri, Planococcus minor, Psuedococcus longispinus, Pseudococcus jackbeardsleyi, Rhaphildopalpa semilis, Scirtothrips dorsalis, Spodoptera exigua, Spodoptera litura, Thrips palmi, Thrips hawaiiensis, *Toxoptera aurantia, Trichoplusia ni* และ *Xylosandrus compactus*

รา 20 ชนิด ได้แก่ *Alternaria alternata, Botrytis cinerea, Colletotrichum crassipes*, *Colletotrichum gloeosporiodes, Fusarium moniliforme, Fusarium oxysporum, Fusarium solani, Glomerella cingulate, Lasiodiplodia theobromae, Phyllosticta capitalensis, Phyllostictina pyriformis, Phytophthora cactorum, Phyllosticta capitalensis, Phytophthora nicotianae, Phytophthora palmivora, Pseudocercospora dendrobii, Pseudocochliobolus eragrostidis, Pseudocercospora dendrobii, Sclerotium rolfsii* และ *Thanatephorus cucumeris* (Anamorph*: Rhizoctonia solani)*

แบคทีเรีย 6 ชนิด ได้แก่ *Dickeya fangzhongdai, Dickeya chrysanthemi, Burkholderia cepacia, Burkholderia gladioli* pv *gladioli, Pectobacterium carotovorum* subsp. *Carotovorum* และ *Pectobacterium cypripedii*

ไวรัส 28 ชนิด ได้แก่ *Bean yellow mosaic virus* (BYMV), *Carnation mottle virus* (CarMV), *Calanthe mild mosaic virus* (CalMMV), *Capsicum chlorosis virus* (CaCV), *Ceratobium mosaic virus* (CerMV), *Clover yellow vein virus* (ClYVV), *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Cymbidium mosaic virus* (CymMV), *Cymbidium ringspot virus (CyRSV), Dasheen mosaic virus* (DsMV), *Dendrobium mosaic virus* (DenMV), *Dendrobium vein Necrosis virus* (DVMV), *Dendrobium chlorotic mosaic virus* (DeCMV), *Diurus virus Y (DVY)*, *Groundnut bud necrosis virus* (GBNV), *Impatiens necrotic spot virus* (INSV), *Orchid fleck virus* (OFV), *Pecteilis mosaic virus* (PcMV), *Phalaenopsis chlorotic spot virus* (PhCSV), *Sarcochilus Virus Y* (SVY), *Tomato bushy stunt virus* (TBSV), *Tobacco mosaic virus-orchid strain* (TMV-Orchid), *Tobacco rattle virus* (TRV), *Tomato ringspot virus* (TomRSV), *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), *Turnip mosaic virus* (TMV) และ *Vanilla mosaic virus* (VaMV)

ไวรอยด์ 1 ชนิด ได้แก่ *Dendrobium viroid*

หอยทาก 7 ชนิด ได้แก่ *Achatina fulica*, *Cryptozona siamensis*, *Lamellaxis gracilis*, *Ovachlamys fulgens*, *Pamarion siamensis*, *Prosopeas walker* และ *Succinea chrysys*

จากจำนวนศัตรูพืชทั้งหมดพบในประเทศไทยจำนวน 79 ชนิด พบว่ามีศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานพบประเทศไทยและมีโอกาสติดเข้ามากับนำเข้า ต้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กิ่งชำ ก้านช่อ ดอกและเมล็ดของกล้วยไม้สกุลหวายและฟาแลนนอปซิส จำนวน 12 ชนิด แมลง 1 ชนิด ได้แก่ *Aspidiotus nerii* ไวรัส 10 ชนิด ได้แก่ *Calanthe mosaic virus, Capsicum chlorosis virus-phalaenopsis isolate,*

Impatiens necrotic spot virus, Dendrobium mosaic virus, Orchid fleck virus, Phalaenopsis chlorotic spot virus, Tobacco rattle virus, Tomato ringspot virus, Tomato spotted wilt orthotospovirus, Vanilla mosaic virus ไวรอยด์ 1 ชนิด *Dendrobium viroid*

2. การตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับกล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิสนำเข้าในห้องปฏิบัติการ

การตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับตัวอย่างกล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิส (ต้นกล้วยไม้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ก้านช่อดอก และเมล็ดพันธุ์) ที่นำเข้าในห้องปฏิบัติการจำนวน 26 ตัวอย่าง ได้แก่ ต้นกล้วยไม้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสกุลหวาย จำนวน 8 ตัวอย่าง ต้นกล้วยไม้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อฟาแลนนอปซีสจำนวน 12 ตัวอย่าง ก้านช่อกล้วยไม้ฟาแลนนอปซีส จำนวน 5 ตัวอย่าง และเมล็ดพันธุ์กล้วยไม้ฟาแลนนอปซีส จำนวน 1 ตัวอย่าง การตรวจสอบดำเนินการเบื้องต้นโดยการสังเกตด้วยตาเปล่าและตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ไม่พบสิ่งมีชีวิต จากนั้นนำตัวอย่างตรวจสอบในห้องปฏิบัติเพื่อตรวจสอบเชื้อสาเหตุโรคพืชในห้องปฏิบัติการอย่าง การตรวจสอบเชื้อราแบคทีเรีย และไวรัสด้วยวิธีการที่เหมาะสม เช่น การใช้เทคนิคเซรุ่มวิทยาด้วยวิธี ImmunoStrip® Tests (Agdia, USA) เทคนิคทางชีวโมเลกุลด้วยวิธี Polymerase chain reaction (PCR) และ Reverse Transcriptase PCR (RT-PCR) พบว่าตรวจพบเชื้อไวรัส จำนวน 3 ตัวอย่าง คือ ตัวอย่างกล้วยไม้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสกุลหวายตรวจพบเชื้อไวรัส CyMV จำนวน 1 ตัวอย่าง คิดเป็น 12.5% ของตัวอย่างกล้วยไม้สกุลหวาย และพบเชื้อตรวจพบเชื้อไวรัส TMV, ORSV และ CyMV ในกล้วยไม้ฟาแลนนอปซีสเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจำนวน 2 ตัวอย่างคิดเป็น 16.66% ของตัวอย่างกล้วยไม้ฟาแลนนอปซีสเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ผลการตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับตัวอย่างกล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิสนำเข้าคิดเป็น 11.53% ของตัวอย่างทั้งหมด ชนิดศัตรูพืชที่ตรวจพบ คือ ไวรัส TMV, ORSV และ CyMV ซึ่งไวรัสทั้งสามชนิดที่นั้นพบเฉพาะส่วนกล้วยไม้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และเป็นศัตรูพืชของกล้วยไม้ที่มีรายงานในประเทศไทย

การตรวจติดตามภายหลังการนำเข้ากล้วยไม้ฟาแลนนอปซีสเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งบริษัทนำเข้ากล้วยไม้นำมาใช้เพื่อการขยายพันธุ์ต้นกล้าและนำมาอนุบาลไว้ในโรงเรือนกล้วยไม้ก่อนจำหน่ายและส่งออกต่อไป สุ่มตัวอย่างต้นกล้ากล้วยไม้ที่แสดงลักษณะอาการผิดปกติมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ เชื้อรา แบคทีเรีย และไวรัสด้วยวิธีการที่เหมาะสม เช่น การใช้เทคนิคเซรุ่มวิทยา เทคนิคทางชีวโมเลกุล พบเชื้อสาเหตุโรค 2 ชนิด คือ เชื้อแบคทีเรีย *Dickeya chrysanthemi* เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ซึ่งเป็นเชื้อราและแบคทีเรียที่มีรายงานในประเทศไทย และพบโดยทั่วไปในแปลงปลูกกล้วยไม้

3. การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

<u>การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช</u>

กล้วยไม้จัดอยู่ในวงศ์ออคิดาซีอี้ (Orchidaceae) ส่วนหนึ่งส่วนใดของพืชในวงศ์ออคิดาซีอี้จัดเป็นสิ่งกำกัด ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่ง

กำกัด ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พ.ศ. 2550 ซึ่งการนำเข้าต้องนำเข้านำผ่านทางด่านตรวจพืช และต้องมีใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาด้วย ปัจจุบันประเทศไทยนำเข้าส่วนต่าง ๆ ของกล้วยไม้เพื่อการค้า และการขยายพันธุ์ กล้วยไม้ที่มีความสำคัญทางการค้า

ปัจจุบันการนำเข้ากล้วยไม้ชนิดต่าง ๆ มีการกำหนดเงื่อนไขการนำเข้าแตกต่างกันไป เช่น สหรัฐอเมริกากำหนดข้อกำหนดที่เกี่ยวข้องการนำเข้าสินค้าดอกไม้ตัดดอก โดย Animal and Plant Health Inspection Service หรือ APHIS กระทรวงเกษตรสหรัฐฯ (U.S. Department of Agriculture) ภายใต้โปรแกรมควบคุมและกักกันพืช (Plant Protection and Quarantine หรือ PPQ) โปรแกรมการตรวจสอบล่วงหน้า (Preclearance Inspection) และการกำจัดแมลง (Treatment) ณ จุดนำเข้า เพื่อป้องกันการแพร่ระบาดของโรคหรือแมลงศัตรูพืชจากต่างประเทศ หรือการนำเข้ากล้วยไม้ไปไต้หวันต้องแนบหนังสือรับรองสุขอนามัยพืช (Phytosanitary Certificate) ผู้ส่งออกต้องทำ Treatment ด้วยวิธีการที่เหมาะสมก่อนการส่งออกเพื่อกำจัดเพลี้ยไฟ แมลงหวี่ขาว และแมลงวันหนอนชอนใบ ต้นพืชเพื่อปลูกจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (tissue culture) ส่งออกในสภาพต้นอ่อนที่ยังอยู่ในอาหาร (Seedling in flask) ดอกกล้วยไม้ต้องผ่านการทำสารรมเมทิลโบรไมด์ที่อัตราความเข้มข้นที่อุณหภูมิและระยะเวลาตามที่กำหนดเป็นต้น

ประเทศไทยมีการนำเข้ากล้วยไม้จากต่างประเทศโดยไม่มีมาตรการสุขอนามัยพืชใด ๆ การนำเข้ามีเพียงใบรับรองสุขอนามัยพืชแนบมากับสินค้าเท่านั้น จึงมีความเสี่ยงที่อาจมีศัตรูพืชร้ายแรงที่ไม่มีในประเทศไทยจะติดมากับส่วนหนึ่งส่วนใดของกล้วยไม้ เช่น เชื้อไวรัส *Tomato ringspot virus* เป็นศัตรูพืชที่ไม่มีในประเทศไทยและถูกประกาศเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 ซึ่งศัตรูพืชที่กล่าวมานี้มีรายงานในประเทศคู่ค้าของไทย หากการนำเข้ากล้วยไม้มีศัตรูพืชที่ร้ายแรงข้ามาจะส่งผลกระทบอย่างยิ่งต่อการส่งออกกล้วยไม้ของไทย ซึ่งจะสร้างความเสียหายที่ส่งผลกระทบต่อมูลค่าทางเศรษฐกิจอย่างมหาศาล

<u>การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช</u>

การจัดประเภทศัตรูพืช (pest categorization)

ผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนการจัดประเภทศัตรูพืช โดยนำรายชื่อศัตรูพืชที่มีศักยภาพติดมากับเส้นทางศัตรูพืชต้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กิ่งชำ ก้านช่อ ดอกและเมล็ดกล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิส ที่มีในประเทศผู้ส่งออก และไม่มีในประเทศไทย หรือมีแต่อยู่ภายใต้การควบคุมอย่างเป็นทางการ ศัตรูพืชเหล่านี้มีศักยภาพในการตั้งรกราก และการแพร่กระจายในประเทศไทยตลอดจนมีศักยภาพที่จะทำให้เกิดความเสียหายหรือผลกระทบทางเศรษฐกิจ จึงได้รายชื่อศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกันของกล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิสนำเข้าจากประเทศต้นทางในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก ศัตรูพืชที่มีความเสี่ยงสูง จำนวน 12 ชนิด แมลง 1 ชนิด ได้แก่ *Aspidiotus nerii* ไวรัส 10 ชนิด ได้แก่ *Calanthe mosaic virus, Capsicum chlorosis virus-phalaenopsis isolate, Impatiens necrotic spot virus, Dendrobium mosaic virus, Orchid fleck virus, Phalaenopsis chlorotic spot virus, Tobacco rattle virus, Tomato ringspot virus,*

Tomato spotted wilt orthotospovirus, Vanilla mosaic virus และไวรอยด์ 1 ชนิด ได้แก่ *Dendrobium viroid*

4. การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช

หลายประเทศมีข้อกำหนดด้านสุขอนามัยพืชให้มีการรับรองการปลอดเชื้อไวรัส เช่น ต้องรับรองต้นกล้วยไม้ปราศจากเชื้อ *Orchid fleck virus, Tomato ring spot virus* และ *Potyvirus* ซึ่งมีรายการการระบาดอยู่หลายประเทศ ได้แก่ ญี่ปุ่น ไต้หวัน เกาหลี เป็นต้น ฉะนั้น มาตรการและการจัดการความเสี่ยงกล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิสชนิด เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กิ่งพันธุ์ และก้านช่อ พบรายงานชนิดศัตรูพืชอื่นที่ไม่มีรายงานในประเทศไทย และเป็นศัตรูพืชที่มีความเสี่ยงและมีโอกาสติดมากับกล้วยไม้นำเข้า จึงมีความจำเป็นต้องมีมาตรการควบคุมจัดการ เพื่อลดความเสี่ยงอันเนื่องมาจากศัตรูพืช โดยกำหนดมาตรการเบื้องต้นดังนี้

1. การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชโดยจำแนกวิธีการที่จะดำเนินการกับศัตรูพืชแต่ละชนิด โดยมีความเป็นไปได้ในทางปฏิบัติและไม่เป็นอุปสรรคต่อการค้าระหว่างประเทศ โดยการจำแนกและคัดเลือกวิธีการที่มีประสิทธิภาพ เพื่อลดโอกาสที่ศัตรูพืชจะติดไปกับสินค้าส่งออก เพื่อใช้เสนอให้กับประเทศคู่ค้าพิจารณาประกอบด้วยมาตรการ

- มาตรการที่ใช้กับสินค้าโดยตรง เช่น กำหนดเงื่อนไขสำหรับการเตรียมสินค้า กำหนดมาตรการป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่อาจติดมากับสินค้า โดยวิธีการกำจัดศัตรูพืชอาจดำเนินการหลังการเก็บเกี่ยว และอาจจะรวมถึงการใช้สารเคมี อุณหภูมิ รังสี และวิธีการทางฟิสิกส์อื่น ๆ

- มาตรการเพื่อป้องกันหรือลดการเข้าทำลายของศัตรูพืชในแหล่งผลิต เช่น การป้องกันกำจัดศัตรูพืชในแปลงผลิต หรือสถานที่ผลิต การปลูกภายใต้สภาพควบคุมเฉพาะ เก็บเกี่ยวพืชในช่วงอายุที่เหมาะสม หรือผลิตพืชภายใต้กระบวนการที่ได้รับการรับรอง

- มาตรการที่ทำให้เชื่อมั่นว่าพื้นที่ผลิตหรือสถานที่ผลิตปราศจากศัตรูพืช เช่น การกำหนดพื้นที่ผลิตปลอดศัตรูพืช แหล่งผลิตปลอดศัตรูพืช

2. การตรวจสอบพืชเพื่อยืนยันว่าสินค้าปราศจากศัตรูพืชและออกใบรับรองสุขอนามัยพืช (Phytosanitary certificate) พิจารณากำหนดให้มีการรับรองว่าสินค้าที่ส่งออกปราศจากศัตรูพืชกักกัน เพื่อยืนยันว่าได้มีการจัดการความเสี่ยงตามที่กำหนด และอาจกำหนดให้ระบุข้อความเพิ่มเติม (additional declaration) เพื่อแสดงให้เห็นว่าได้มีการดำเนินมาตรการสุขอนามัยพืชเป็นการเฉพาะ ซึ่งเป็นวิธีการที่ได้รับการยอมรับในสากล

3. การตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น ณ ด่านตรวจพืช หรือจุดนำเข้า พร้อมสุ่มเก็บตัวอย่างเพื่อตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมา

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

กล้วยไม้สกุลหวาย และฟาแลนนอปซิสเป็นกล้วยไม้ที่เป็นที่นิยมและนำเข้ามามากที่สุดของประเทศ โดยมีการนำเข้ามาเพื่อการเพาะปลูก และประดับเพื่อความสวยงาม ซึ่งมีการนำเข้ามาใน

ประเทศในรูปแบบของต้นกล้วยไม้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กิ่งชำ ก้านช่อ ดอก และเมล็ดพันธุ์ จากการสืบค้นข้อมูลพืช ศัตรูพืชของกล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิส มีรายงานศัตรูพืชรวมทั้งสิ้น 112 ชนิด จากรายงานศัตรูพืชทั้งหมดพบในประเทศไทยจำนวน 79 ชนิด เมื่อนำมาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชในส่วนของ ต้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กิ่งชำ ก้านช่อ ดอกและเมล็ดของกล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิส เมื่อนำข้อมูลศัตรูพืชดังกล่าวมาวิเคราะห์ระดับความเสี่ยง พบว่ามีศัตรูพืช 12 ชนิด ที่มีความเสี่ยงสูง มีความจำเป็นต้องหาแนวทางการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันแต่ละชนิดของกล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิส เพื่อป้องกันมิให้ศัตรูพืชต่างถิ่นที่เป็นศัตรูพืชกักกันหรือศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชร้ายแรงเข้ามาแพร่ระบาดทำความเสียหายให้กับการเกษตรในประเทศ

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นักวิชาการและเจ้าหน้าที่กลุ่มงานวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช กลุ่มวิจัยการกักกันพืช และกลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช ทุกท่าน ที่ช่วยให้คำแนะนำและความช่วยเหลือในการทำงานวิจัย รวมทั้งขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร ในการให้ข้อมูลทางวิชาการที่เกี่ยวข้องกับการดำเนินงานวิจัย

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 (Centre for Agriculture and Bioscience International). 2021. Crop Protection Compendium. Wallingford, UK: CAB International. (Online). Available. http://www.cabi.org/. (May 10, 2021).

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.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2007. *International Standards for Phytosanitary Measures No. 2 (ISPM 2): Framework for pest risk analysis (2007).* (Online). Available. http://www.ippc.int/publications/framework-pest-risk-analysis. (May 20, 2021)

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, 2021)

Mahasan, 2535. *Orchids.* (Online). Available: https://mahasan2535.wordpress.com/ (12 March 2020)

Mathur, S.B. and O. Kongdal. 2003. *Common laboratory seed health testing methods for detecting fungi.* First Edition. ISTA, Rome.

Sun, Z.Y., Zhang, Y.H., Xu, Q.Q., Chen, Z.X., Xie, L., Mao, B.Z., 2019. First report of sweet potato feathery mottle virus infecting dendrobium candidum in China. *Plant Dis*. 103, 1047.

Zheng, Y.-X., Chen, C.-C, Chen. Y.-K., and F.-J. 2008. Identification and characterization of potyvirus causing chlorotic spots on phalaenopsis orchids. *Eur. J. Plant Pathol.* 121:87-95.

Zettler,F.W., N.J. Ko, G.C. Wisler, M.S. Elliottanc and S.M. Wong. 1990. Viruses of Orchids and Thair Control. *Plant Dis*. 74(9): 621-626.

Figure 1 Orchid seedling in media bottle; A : *Phalaenopsis* spp., B : *Dendrobium* spp

Figure 2 Peduncle with buds of *Phalaenopsis* from the Countries in the Asia-Pacific Region

Figure 3 The *Phalaenopsis* seeds were tested and found free of the quarantine pest

Figure 4 The *Phalaenopsis* were growing under nursery conditions

Figure 5 Disease symptoms in leaves of *Phalaenopsis* orchid

การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้าวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูกจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก

Pest Risk Assessment for Importation of growing media in association with plants for planting from the Countries in the Asia-Pacific Region

อลงกต โพธิ์ดี วาสนา ฤทธิ์ไธสง วานิช คำพานิช สุรศักดิ์ แสนโคตร
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้าวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูกจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม 2564 - กันยายน 2567 ซึ่งจากการร่วมตรวจสอบขาเข้าสินค้าที่ส่งมอบกับพนักงานเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชเชียงของ พบว่า พืชสำหรับปลูกที่นำเข้า เช่น ไม้ประดับ (ไม้กระถาง) โดยชนิด (species) ของพืชสำหรับปลูกดังกล่าวจัดเป็นสิ่งกำกัดและสิ่งไม่ต้องห้ามตามกฎหมายว่าด้วยการกักพืชซึ่งยังไม่มีข้อกำหนดการนำเข้าด้านสุขอนามัยพืชเฉพาะ และพบว่าวัสดุปลูกที่ใช้เป็นหรือมีส่วนประกอบเป็นสิ่งต้องห้ามหรือส่วนหนึ่งส่วนใดของสิ่งต้องห้าม เช่น เส้นใยมะพร้าว (กาบมะพร้าว ขุยมะพร้าว) รวมทั้งการนำเข้าพืชสำหรับปลูกจะมีดินติดเข้ามาด้วย ตลอดจนพบสิ่งมีชีวิต เช่น แมลง (ตัวอ่อนแมลงในอันดับ Coleoptera วงศ์ Scarabaeidae) ทาก หอย และไส้เดือน นอกจากนี้ สินค้าที่ส่งมอบดังกล่าว มีใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาด้วย ทั้งนี้ จากการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช พบกลุ่มศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน เช่น รา เช่น *Chalara elegans*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lilii*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *narcissi*, *Phytophthora boehmeriae*, *Phytophthora capsica*, *Phytophthora citricola*, *Phytophthora cryptogea*, *Phytophthora hibernalis*, *Phytophthora katsurae*, *Phytophthora megakarya*, *Phytophthora megasperma*, *Phytophthora porri*, *Sclerotium cepivorum* ไส้เดือนฝอย เช่น *Globodera pallida*, *Globodera rostochiensis*, *Meloidogyne brevicauda*, *Meloidogyne camelliae*, *Paratrichodorus porosus*, *Pratylenchus goodeyi*, *Pratylenchus loosi*, *Xiphinema americanum*, *Xiphinema diversicaudatum*

คำหลัก : วัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูก, การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช, ภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก

รหัสการทดลอง FF65-55-02-65-00-09-65

คำนำ

ดินเป็นวัสดุปลูกที่ได้รับการพิจารณาแล้วว่าเป็นเส้นทางผ่านความเสี่ยงสูง (high-risk pathway) เนื่องจากสามารถเป็นที่หลบซ่อนของศัตรูพืชกักกัน นอกจากนี้ วัสดุปลูกอื่น ๆ ซึ่งเป็นที่รู้ว่าเป็นเส้นทางผ่านสำหรับการนำเข้ามา (introduction) และการแพร่กระจาย (spread) ของศัตรูพืชกักกันเช่นเดียวกัน ทั้งนี้ ความเสี่ยงศัตรูพืชของวัสดุปลูกในการรวมกันกับพืชสำหรับปลูกขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องของทั้งการผลิตวัสดุปลูกและการผลิตพืชสำหรับปลูก ตลอดจนอันตรกิริยาระหว่างทั้งสอง ซึ่งหลายประเทศมีตัวบทกฎหมายที่ควบคุมการเคลื่อนย้ายวัสดุปลูกโดยเฉพาะดินหรือวัสดุปลูกซึ่งมีดินเป็นองค์ประกอบแต่ไม่จำเป็นสำหรับวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูก โดยดินมักถูกกำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม อย่างไรก็ดีมีความเป็นไปได้ในการย้ายวัสดุปลูกออกจากพืชสำหรับปลูกบางชนิดได้ แต่อาจเป็นการยากที่จะหลีกเลี่ยงการเคลื่อนย้ายวัสดุปลูกในการรวมกันกับพืชสำหรับปลูกเนื่องจากพืชบางชนิดสามารถมีชีวิตระหว่างขนส่งเมื่อเคลื่อนย้ายในวัสดุปลูกเท่านั้น

แหล่งกำเนิดและวิธีการผลิตส่วนประกอบของวัสดุปลูกสามารถส่งผลต่อความเสี่ยงศัตรูพืชของวัสดุปลูกในการรวมกันกับพืชสำหรับปลูกได้ วัสดุปลูกควรจะได้รับการผลิต เก็บรักษา และมีการดูแลรักษาสภาพเพื่อป้องกันการปนเปื้อนหรือการเข้าทำความเสียหายซึ่งขึ้นอยู่กับวัสดุปลูกที่นำมาใช้ รวมทั้งอาจต้องได้รับการบำบัด (treatment) อย่างเหมาะสมก่อนนำมาใช้ นอกจากนี้ วิธีการผลิตพืชสำหรับปลูกอาจส่งผลต่อความเสี่ยงศัตรูพืชของวัสดุปลูกในการรวมกันกับพืชสำหรับปลูก ซึ่งทางเลือกการบริหารจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชที่เกี่ยวข้องกับวัสดุปลูกในการรวมกันกับพืชสำหรับปลูกรวมไปถึงมาตรการสุขอนามัยพืชต่าง ๆ เช่น การบำบัด การตรวจสอบ การเก็บตัวอย่าง การทดสอบ การกักกัน และการห้าม ควรนำมาใช้อย่างเหมาะสม ทั้งนี้ ข้อกำหนดการนำเข้าด้านสุขอนามัยพืช (phytosanitary import requirements) สำหรับวัสดุปลูกในการรวมกันกับพืชสำหรับปลูกควรชี้แจงได้ตามหลักวิชาการ (technically justified) จึงจำเป็นต้องดำเนินการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (pest risk analysis) ของวัสดุปลูกในการรวมกันกับพืชสำหรับปลูก

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. มาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 40 เรื่อง การเคลื่อนย้ายวัสดุปลูกร่วมกับพืชพืชสำหรับปลูกระหว่างประเทศ (International movement of growing media in association with plants for planting (2017))

4. แนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืชของประชาคมตลาดร่วมแคริบเบียน (Caribbean Community and Common Market, CARICOM)

5. 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

6. วัสดุคอมพิวเตอร์ เช่น หมึกพิมพ์ และแผ่นบันทึกข้อมูล เป็นต้น

7. วัสดุเกษตร เช่น ดิน กระถาง เป็นต้น

8. วัสดุวิทยาศาสตร์ เช่น อาหารแยกเชื้อ จานเพาะเชื้อ สารเคมี เป็นต้น

วิธีการ

มีขั้นตอนและวิธีการ ดังต่อไปนี้

1. การสืบค้นและรวบรวมข้อมูล (2565-2566)

1.1 สืบค้นและรวบรวมข้อมูลทั่วไปของวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูกที่นำเข้า เช่น ชนิด ต้นกำเนิด ส่วนประกอบของวัสดุปลูก รวมทั้งข้อมูลของพืชสำหรับปลูก แหล่งผลิตในประเทศผู้ส่งออก การรับรองสุขอนามัยของประเทศผู้ส่งออก เป็นต้น

1.2สืบค้นและรวบรวมข้อมูลศัตรูที่มีโอกาสนำเข้ามากับวัสดุปลูก เช่น ชื่อวิทยาศาสตร์ การจำแนกทางอนุกรมวิธาน พืชอาศัย/พืชอาหาร ลักษณะการทำลาย การแพร่ระบาด ความเสียหายของผลผลิตที่เกิดจากการทำลายของศัตรูพืช ที่มีรายงานในประเทศต้นทาง ประเทศไทย และประเทศอื่น ๆ

2. การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (2565-2567)

ดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเชิงคุณภาพ ในการนำเข้าวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูกจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิกโดยการประยุกต์แนวทางการวิเคราะห์ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 2 เรื่อง กรอบสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Framework for Pest Risk Analysis adopted 2007) และฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกัน (Pest risk analysis for quarantine pests adopted 2013) แนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืชของประชาคมตลาดร่วมแคริบเบียน (Caribbean Community and Common Market, CARICOM) และแนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชขององค์การความมั่นคงทางชีวภาพออสเตรเลีย (Biosecurity Australia) (BA, 2006) โดยการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชจะพิจารณาปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลกระทบต่อความเสี่ยงศัตรูพืชของวัสดุปลูกตามที่ระบุไว้ในมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 40 เรื่อง การเคลื่อนย้ายวัสดุปลูกร่วมกันกับพืชสำหรับปลูกระหว่างประเทศ (International movement of growing media in association with plants for planting 2017) ซึ่งรวมถึงปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิตพืชสำหรับปลูกที่เป็นไปตามที่ระบุไว้ในมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 36 เรื่อง มาตรการผสมผสานสำหรับพืชสำหรับปลูก (Integrated measures for plants for planting 2012) ซึ่งประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 1: Initiation) (2565-2566)

1.1 ระบุจุดเริ่มต้นของการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช/ระบุพื้นที่ซึ่งมีการดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช/ตรวจสอบว่าเคยมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงโดยศัตรูพืช หรือเส้นทางศัตรูพืช หรือนโยบายของรัฐจากแหล่งข้อมูลภายในประเทศไทยและต่างประเทศพิจารณานำมาใช้ประกอบการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

1.2 นำข้อมูลศัตรูพืชที่ได้จากการสืบค้นและรวบรวมจากหนังสือ ตำรา เอกสารวิชาการ ฐานข้อมูลศัตรูพืช และจากการตรวจสอบศัตรูพืชที่พบติดมากับวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูกที่นำเข้าจากต่างประเทศ 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 นำรายชื่อศัตรูพืชที่ได้จากขั้นตอนที่ 1 มาพิจารณาจัดประเภทศัตรูพืชว่ามีคุณสมบัติเป็นศัตรูพืชกักกันหรือไม่ โดย (1) ระบุชนิดของศัตรูพืช (pest identity) (2) ตรวจสอบว่าเป็นศัตรูพืชที่มีพบในประเทศไทยหรือไม่ (3) ตรวจสอบสถานภาพการควบคุมศัตรูพืช (Regulatory status) กรณีที่ศัตรูพืชชนิดนั้นมีปรากฏในประเทศไทย (4) ประเมินศักยภาพของศัตรูพืชในการเข้ามาตั้งรกรากและการแพร่กระจายในประเทศไทยหรือไม่ โดยพิจารณาข้อมูลทางชีววิทยาของศัตรูพืช สภาพแวดล้อมและสภาพภูมิอากาศที่เหมาะสมต่อการเจริญแพร่พันธุ์ พืชอาศัย/พืชอาหาร และพาหะของศัตรูพืชชนิดนั้นที่มีรายงานการพบในประเทศไทย (5) ประเมินศักยภาพของศัตรูพืช ในการก่อให้เกิดผลตามมาทางเศรษฐกิจในประเทศไทย

2.1.2 จัดทำตารางผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนการจัดประเภทศัตรูพืช และนำรายชื่อศัตรูพืชที่มีศักยภาพติดมากับเส้นทางศัตรูพืช (วัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูก) มีในประเทศผู้ส่งออก และไม่มีในประเทศไทย หรือมีแต่อยู่ภายใต้การควบคุมอย่างเป็นทางการ มีศักยภาพในการตั้งรกราก และการแพร่กระจายในประเทศไทย ตลอดจนมีศักยภาพที่จะทำให้เกิดความเสียหายหรือผลกระทบทางเศรษฐกิจไปวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป

2.2 การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการนำเข้ามาและแพร่กระจายของศัตรูพืช (Assessment of the probability of introduction and spread) (2566-2567)

นำรายชื่อศัตรูพืช/กลุ่มศัตรูพืชที่ได้จากการประเมินในข้อ 2.1 มาประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการนำเข้ามาและแพร่กระจายของศัตรูพืชภายหลังการตั้งรกรากของศัตรูพืช โดยแยกประเมินศัตรูพืชแต่ละชนิด ดังนี้

2.2.1 การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการนำเข้ามา (introduction) ของศัตรูพืช ประกอบด้วย

(1) การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการเข้ามา (probability of entry) ของศัตรูพืช โดยประเมินความน่าจะเป็นไปได้ที่ศัตรูพืชจะปะปนมากับวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูกที่นำเข้ามาในประเทศไทย

(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 (2566-2567)

นำรายชื่อศัตรูพืชที่ได้จากการประเมินในข้อ 2.1 มาประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้นภายหลังการเข้ามาของศัตรูพืชในประเทศไทย การพิจารณาผลกระทบของศัตรูพืชทั้งทางตรงและทางอ้อม ที่มีต่อเศรษฐกิจ สิ่งแวดล้อม และสังคม โดยใช้หลักเกณฑ์การประเมิน ผลกระทบในแต่ละด้านตามแนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืชของประชาคมตลาดร่วมแคริบเบียน (CAHFSA, 2016)

2.4 สรุปผลในขั้นตอนการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Conclusion of the pest risk assessment stage) (2567)

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) (2567)

นำรายชื่อศัตรูพืชกักกัน/กลุ่มศัตรูพืช ที่ได้จากการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนที่ 2 มาพิจารณาหาแนวทางการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชเพื่อจัดการความเสี่ยงของศัตรูพืชแต่ละชนิด โดยจำแนกวิธีการที่จะดำเนินการกับความเสี่ยงศัตรูพืชในการเข้ามาเจริญและแพร่กระจายใน

ประเทศไทยตลอดจนผลกระทบทางด้านเศรษฐกิจเพื่อลดความเสี่ยงลงให้ถึงระดับต่ำสุดที่ยอมรับได้ โดยมีความเป็นไปได้ในทางปฏิบัติและไม่เป็นอุปสรรคต่อการค้าระหว่างประเทศ สำหรับนำไปใช้เป็นแนวทางในการกำหนดเงื่อนไขการนำเข้าตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 และที่แก้ไขเพิ่มเติม ทั้งนี้ การพิจารณาระดับความเสี่ยง (Level of risk) ใช้หลักการจัดการความเสี่ยงให้อยู่ในระดับที่มีระดับที่เหมาะสมซึ่งสามารถยอมรับได้ (Appropriate Level of acceptable; ALOP) หรือระดับความเสี่ยงที่สามารถยอมรับได้ (acceptable) โดยในการทดลองนี้กำหนดให้มีระดับความเสี่ยงที่ยอมรับได้ คือ “ความเสี่ยงในระดับที่ละเลยได้ (negligible)”

3.สรุปผลศึกษาการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (2567)

สรุปผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนต่าง ๆ รวมถึงรายชื่อศัตรูพืชกักกัน/กลุ่มศัตรูพืชของการนำเข้าวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูกจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก ที่มีระดับความเสี่ยงแตกต่างกัน แนวทางการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันแต่ละชนิด และมาตรการสนับสนุนอื่น ๆ สำหรับใช้เป็นข้อมูลกำหนดมาตรการทางกฎหมายต่อไป

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2564 - กันยายน 2566

สถานที่ 1. ห้องปฏิบัติการและโรงเรือนทดลอง กลุ่มวิจัยการกักกันพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

2. ด่านตรวจพืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการดำเนินงานของการทดลอง (ปี 2565-2566)

1. การสืบค้นและรวบรวมข้อมูล

1.1 ระเบียบข้อบังคับ (regulations)

ตามมาตรา 4 แห่งพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 ซึ่งแก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 กำหนดนิยามคำว่า “ดิน” หมายความว่า ดินชนิดที่มีอินทรีย์วัตถุหรือเป็นที่อาศัยของศัตรูพืชได้ และคำว่า “พาหะ” หมายความว่า เครื่องปลูก ดิน ทราย ภาชนะ หรือสิ่งอื่นที่ใช้ห่อหุ้มมาพร้อมกับพืช ปุ๋ยอินทรีย์หรือสิ่งอื่นใดที่อาจเป็นสื่อนำศัตรูพืช ซึ่งกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ได้ออกประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 ลงวันที่ 26 เมษายน พ.ศ. 2550 กำหนดให้พืชและพาหะตามรายชื่อแนบท้ายประกาศจากทุกแหล่งเป็นสิ่งต้องห้าม ซึ่งในรายชื่อดังกล่าวนี้ มี “ดิน” และ “ปุ๋ยอินทรีย์” โดยประกาศฉบับนี้ได้ให้นิยามคำว่า “ปุ๋ยอินทรีย์” หมายความว่า ปุ๋ยที่ได้หรือทำมาจากวัสดุอินทรีย์ ซึ่งผลิตด้วยกรรมวิธีทำให้

ชื้น สับ หมัก บด ร่อน สกัด หรือด้วยวิธีการอื่น แต่ไม่ใช่ปุ๋ยเคมีและปุ๋ยชีวภาพ นอกจากนี้ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ได้ออกประกาศกำหนดให้พืช ศัตรูพืช และพาหะ เป็นสิ่งต้องห้ามหรือสิ่งกำกัดอีกหลายฉบับ ซึ่งการนำเข้าหรือนำผ่านซึ่งสิ่งต้องห้ามหรือสิ่งกำกัดต้องปฏิบัติตามหลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไขที่อธิบดีกรมวิชาการเกษตรกำหนด อย่างไรก็ดี ยังไม่มีข้อกำหนดการนำเข้าด้านสุขอนามัยพืชเฉพาะที่จัดทำขึ้นเกี่ยวกับวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูกซึ่งเคลื่อนย้ายเข้าสู่ประเทศ

1.2 ประเภทหรือส่วนประกอบของวัสดุปลูกที่ใช้ เช่น เม็ดดินเผา วัสดุสังเคราะห์ (เช่น ฉนวนใยแก้ว ฉนวนไยหิน พอลิสไตรีน โฟมจัดดอกไม้ อนุภาคพลาสติก โพลีเอทิลีน แป้งโพลีเมอร์เสถียร โพลียูรีเทน โพลิเมอร์ที่ดูดซับน้ำ) เวอร์มิคูไลท์ เพอร์ไลท์ หินภูเขาไฟ ซีโอไลต์ สคอเรีย ดินเหนียว (clay) กรวด ทราย กระดาษ รวมถึงกระดาษลูกฟูก วัสดุปลูกเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (วุ้น) เส้นใยมะพร้าว (กาบมะพร้าว ขุยมะพร้าว) ขี้เลื่อย ขี้กบไม้ (ไม้ที่ใช้ในการบรรจุหีบห่อเพื่อกันไม่ให้ของแตกหัก) น้ำ แผ่นชิ้นไม้ ไม้ก๊อก ถ่านหินเลน (ไม่รวมดินพรุ) มอสส์ที่ไม่มีชีวิต (สแฟคนั่ม) วัสดุจากพืชอื่น ๆ (เช่น แกลบ ฟาง เปลือกเมล็ด เปลือกกาแฟ ใบไม้ร่วง ขยะจากอ้อย กากองุ่น ฝักโกโก้ ถ่านกะลาปาล์มน้ำมัน) เปลือกไม้ ของเสียชีวภาพ ปุ๋ยหมัก (เช่น ขยะชุมชน ขยะหมักทางการเกษตร ซากพืช ใบไม้ผุบนผิวดิน) ดิน แผ่นต้นไม้เฟิร์น ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนดิน

1.3 ประเภทของพืชสำหรับปลูกที่มีการเคลื่อนย้ายระหว่างประเทศ เช่น ต้นไม้แคระเทียม ต้นไม้ล้างราก หัวที่เกิดจากกาบใบ (bulb) และหัวที่เกิดจากต้น (tuber) ที่อยู่ในระยะพักตัว รากสะสมอาหาร (tuberous root) และรากพวกพืชยืนต้นสลับล้มลุก พืชที่ขึ้นเกาะอยู่กับต้นไม้อื่น ไม้กระถาง กล้าไม้ ไม้ประดับและไม้ดอกในอาคาร พืชเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ต้นไม้และไม้พุ่ม หญ้า

1.4 วัสดุปลูกก่อให้เกิดความเสี่ยงเนื่องจากมีศักยภาพเป็นที่อยู่ หลบซ่อนหรือเป็นสื่อนำกลุ่มศัตรูพืชที่มีความเสี่ยง เช่น เมล็ดวัชพืช รา แบคทีเรีย ไส้เดือนฝอย แมลง ไร หอยทาก

ทั้งนี้ ปัจจัยที่มีผลต่อความเสี่ยงศัตรูพืชของวัสดุปลูกนั้น วิธีการผลิตพืชสำหรับปลูกอาจส่งผลต่อความเสี่ยงศัตรูพืชของวัสดุปลูกที่ใช้ ในขณะที่วัสดุปลูกบางอย่างอาจก่อให้เกิดความเสี่ยงศัตรูพืชต่ำโดยลักษณะของการผลิต อย่างไรก็ตาม วัสดุปลูกอาจถูกปนเปื้อนหรือเข้าทำความเสียหาย ขึ้นอยู่กับประเภทและส่วนประกอบของวัสดุปลูกระหว่างกระบวนการผลิตสินค้านั้น ได้แก่ วัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูก ซึ่งนอกจากคำนึงถึงความเสี่ยงศัตรูพืชของวัสดุปลูกแล้ว มากไปกว่านั้น ความเสี่ยงศัตรูพืชยังอาจขึ้นอยู่กับ วัสดุปลูกใหม่หรือใช้ซ้ำ ต้นกำเนิดของวัสดุปลูก ส่วนประกอบของวัสดุปลูก มาตรการที่ใช้ในการผลิตวัสดุปลูก รวมไปถึงระดับของการแปรรูป (process) หรือการบำบัด (treatment) ใด ๆ ก็ตาม มาตรการป้องกันการปนเปื้อนหรือการเข้าทำความเสียหายของวัสดุปลูกก่อนปลูก ระยะเวลาของวงจรการผลิตพืช และปริมาณของวัสดุปลูกที่มีอยู่ร่วมกับพืชสำหรับปลูกทั้งหมดในสินค้าที่ส่งมอบ (consignment)

2. การตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูกนำเข้า

2.1 จากการจัดทำแผนและประสานงานกับด่านตรวจพืชในเบื้องต้น และร่วมตรวจสอบขาเข้าสินค้าที่ส่งมอบกับพนักงานเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชท่าเรือแหลมฉบังและด่านตรวจพืชเชียงของ พบว่า

พืชสำหรับปลูกที่นำเข้า เช่น ไม้ประดับ (ไม้กระถาง) โดยชนิด (species) ของพืชสำหรับปลูกดังกล่าว จัดเป็นสิ่งกำกัดและสิ่งไม่ต้องห้ามตามกฎหมายว่าด้วยการกักพืชซึ่งยังไม่มีข้อกำหนดการนำเข้าด้านสุขอนามัยพืชเฉพาะ และพบว่าวัสดุปลูกที่ใช้เป็นหรือมีส่วนประกอบเป็นสิ่งต้องห้ามหรือส่วนหนึ่งส่วนใดของสิ่งต้องห้าม เช่น เส้นใยมะพร้าว (กาบมะพร้าว ขุยมะพร้าว) รวมทั้งการนำเข้าพืชสำหรับปลูกจะมีดินติดเข้ามาด้วย ตลอดจนพบสิ่งมีชีวิต เช่น แมลง (ตัวอ่อนแมลงในอันดับ Coleoptera วงศ์ Scarabaeidae) ทาก หอย และไส้เดือน นอกจากนี้ สินค้าที่ส่งมอบดังกล่าว มีใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาด้วย

3. การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

ขั้นตอนที่ 1 การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 1: Initiation)

กระบวนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเริ่มต้นเป็นผลมาจากการทบทวนหรือแก้ไขนโยบายและลำดับความสำคัญด้านสุขอนามัยพืช เพื่อทบทวนระเบียบข้อบังคับ ข้อกำหนด หรือการดำเนินงานด้านสุขอนามัยพืช โดยพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชที่กำหนดในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้าวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูก คือ ประเทศไทย ซึ่งเป็นพื้นที่ที่อยู่ในอันตราย (endangered area) ที่ศัตรูพืชอาจจะติดเข้ามาพร้อมกับการนำเข้าวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูก และประเทศไทยยังไม่เคยมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูกนำเข้าจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก และมีการระบุกลุ่มศัตรูพืช

ขั้นตอนที่ 2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 2: Pest Risk Assessment)

2.1 การจัดประเภทศัตรูพืช (Pest categorization)

นำรายชื่อกลุ่มศัตรูพืชที่ได้จากขั้นตอนที่ 1 มาดำเนินการจัดประเภทของศัตรูพืชว่าศัตรูพืชมีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน พบว่า กลุ่มศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน เช่น รา เช่น *Chalara elegans*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lilii*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *narcissi*, *Phytophthora boehmeriae*, *Phytophthora capsica*, *Phytophthora citricola*, *Phytophthora cryptogea*, *Phytophthora hibernalis*, *Phytophthora katsurae*, *Phytophthora megakarya*, *Phytophthora megasperma*, *Phytophthora porri*, *Sclerotium cepivorum* ไส้เดือนฝอย เช่น *Globodera pallida*, *Globodera rostochiensis*, *Meloidogyne brevicauda*, *Meloidogyne camelliae*, *Paratrichodorus porosus*, *Pratylenchus goodeyi*, *Pratylenchus loosi*, *Xiphinema americanum*, *Xiphinema diversicaudatum*

ทั้งนี้ ยังดำเนินการไม่แล้วเสร็จ ซึ่งต้องดำเนินการต่อในปี 2567

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

พืชสำหรับปลูกที่นำเข้า เช่น ไม้ประดับ (ไม้กระถาง) โดยชนิดของพืชสำหรับปลูกดังกล่าว จัดเป็นสิ่งกำกัดและสิ่งไม่ต้องห้ามตามกฎหมายว่าด้วยการกักพืชซึ่งยังไม่มีข้อกำหนดการนำเข้าด้าน

สุขอนามัยพืชเฉพาะ และพบว่าวัสดุปลูกที่ใช้เป็นหรือมีส่วนประกอบเป็นสิ่งต้องห้ามหรือส่วนหนึ่งส่วนใดของสิ่งต้องห้าม เช่น เส้นใยมะพร้าว (กาบมะพร้าว ขุยมะพร้าว) รวมทั้งการนำเข้าพืชสำหรับปลูกจะมีดินติดเข้ามาด้วย ตลอดจนพบสิ่งมีชีวิต เช่น แมลง (ตัวอ่อนแมลงในอันดับ Coleoptera วงศ์ Scarabaeidae) ทาก หอย และไส้เดือน นอกจากนี้ สินค้าที่ส่งมอบดังกล่าว มีใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาด้วย และจากการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนการจัดประเภทศัตรูพืช กลุ่มศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน เช่น ราในสกุล *Chalara, Fusarium, Phytophthora* และ *Sclerotium* ไส้เดือนฝอยในสกุล เช่น *Globodera*, *Meloidogyne*, *Paratrichodorus*, *Pratylenchus*, *Xiphinema*

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).

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.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2007. *International Standards for Phytosanitary Measures No. 2 (ISPM 2): Framework for pest risk analysis (2007).* (Online). Available. http://www.ippc.int/publications/framework-pest-risk-analysis. (May 20, 2021)

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2012 . *International Standards for Phytosanitary Measures No. 36 (ISPM 36): Integrated measures for plants for planting.* (Online). Available. https://www.ippc.int/en/core-activities/ standards-setting/ispms/. (February 6, 2021)

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, 2021)

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2017 . *International Standards for Phytosanitary Measures No. 40 (ISPM 40): International movement of growing media in association with plants for planting.* (Online). Available. https://www.ippc.int/en/core-activities/standards-setting/ispms/. (February 6, 2021)

Figure 1 Samples of growing media in association with plants for planting

Figure 2 Samples of prohibited growing media and pests

การตรวจวินิจฉัยชนิดของไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้า

Diagnostic of genus *Tobamovirus* associated with imported tomato seeds and chili seeds

โสภา มีอำนาจ[1/] วาสนา รุ่งสว่าง[1/] ปรียพรรณ พงศาพิชญ์[1/] วันเพ็ญ ศรีชาติ[1/]
จันทร์พิศ เดชหามาตย์[1/] สุรศักดิ์ แสนโคตร[1/] เยาวภา ตันติวานิช[2/]
[1/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

Diagnosis of the genus *Tobamovirus* virus infecting imported tomato and chili seeds. Tomato seeds were imported from 24 country including Brazil Chile China England France Guatemala Hungary India Indonesia Israel Italy Japan Kenya Korea Malaysia Myanmar Netherlands Peru Philippines South Africa Spain Taiwan and USA and Chili seeds were imported from 21 country including Chile China France India Indonesia Israel Italy Japan Korea Malaysia Netherlands Peru Philippines Spain Taiwan Tanzania UK USA and Vietnam. Results of the diagnosis of the genus *Tobamovirus* using by ELSA and RT-PCR techniques found *Tomato brown rugose fruit virus* (ToBRFV) in tomato seeds imported from Japan. and Spain (country of origin is China), *Tomato mosaic virus* (ToMV) in tomato seeds imported from France (origin from China) and *Tomato mottle mosaic virus* (ToMMV) in chili seeds imported from the Netherlands, and Spain.

Keywords : Tomato, Chili, Imported, *Tobamovirus*

รหัสการทดลอง FF65-55-03-65-00-01-65

บทคัดย่อ

การตรวจวินิจฉัยชนิดของไวรัสจีนัส Tobamovirus ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้า เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ จำนวน 275 ตัวอย่าง นำเข้าจาก 24 ประเทศ ได้แก่ Brazil Chile China England France Guatemala Hungary India Indonesia Israel Italy Japan Kenya Korea Malaysia Myanmar Netherlands Peru Philippines South Africa Spain Taiwan และUSA และเมล็ดพันธุ์พริก จำนวน 235 ตัวอย่าง นำเข้าจาก 21 ประเทศ ได้แก่ Chile China France India Indonesia Israel Italy Japan Korea Malaysia Netherlands Peru Philippines Spain Taiwan Tanzania UK USA และ Vietnam ผลการตรวจวินิจฉัยเชื้อไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ด้วยเทคนิค ELISA และ RT-PCR พบไวรัส *Tomato brown rugose fruit virus* (ToBRFV) ในเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากญี่ปุ่น และสเปน(ประเทศต้นทางคือจีน) ไวรัส *Tomato mosaic virus* (ToMV) ในเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากฝรั่งเศส (ต้นทางจากจีน) และไวรัส *Tomato mottle mosaic virus* (ToMMV) ในเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากเนเธอแลนด์ และสเปน

คำหลัก : เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ, เมล็ดพันธุ์พริก, นำเข้า, ไวรัสจีนัส *Tobamovirus*

คำนำ

มะเขือเทศ (Tomato, *Solanum lycopersicum*) และพริก (Pepper, *Capsicum annuum* L.) อยู่ในวงศ์ *Solanaceae* จัดเป็นสิ่งต้องห้ามตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกมีการนำเข้าโดยมีวัตถุประสงค์ใช้เป็นเมล็ดพันธุ์เพื่อการค้าและใช้ผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมเพื่อการส่งออก ในแต่ละปีประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและพริกจากหลายๆ ประเทศ เช่น อินเดีย สาธารณรัฐประชาชนจีน อิสราเอล ญี่ปุ่น เกาหลีใต้ อเมริกา เนเธอร์แลนด์ เป็นต้น (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2559) และในขณะเดียวกันประเทศไทยก็ส่งออกเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและพริกไปยังประเทศต่างๆ เป็นจำนวนมากด้วย สิ่งสำคัญของการนำเข้า ส่งออกเมล็ดพันธุ์จากแหล่งผลิตไปยังพื้นที่ปลูกใหม่คือ การคำนึงถึงศัตรูพืชที่อาจจะปนเปื้อนหรือติดไปกับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว ดังนั้นไม่ว่าจะในฐานะของประเทศผู้นำเข้าหรือประเทศผู้ส่งออก เจ้าหน้าที่และหน่วยงานที่เกี่ยวข้องจึงจำเป็นต้องมีการตรวจวินิจฉัยและจำแนกชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว เพื่อการจัดการและการรับมือกับศัตรูพืชที่อาจจะสร้างความเสียหายและส่งผลกระทบร้ายแรงกับพืชและผลิตผลของพืชได้อย่างถูกต้อง เหมาะสมและทันต่อสถานการณ์

เชื้อไวรัสถือเป็นศัตรูพืชอีกหนึ่งชนิดที่มีความสำคัญสามารถเข้าทำลายและก่อโรคในพืชผักและพืชไร่หลายๆ ชนิด ทั้งยังสามารถสร้างความเสียหายทั้งกับพืชผลิตผลของพืช และยิ่งไปกว่านั้นคือสามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์ของพืชชนิดนั้นๆ ได้อีกด้วย โดยที่เชื้อไวรัสจีนัส *Tobamovirus* เป็นไวรัส

กลุ่มที่มีความสำคัญที่สุดสำหรับการเพาะปลูกมะเขือเทศ และพริก ซึ่งสามารถถ่ายทอดได้โดยไม่ต้องอาศัยแมลงพาหะ จีโนมเป็นอาร์เอ็นเอสายเดี่ยวชนิดบวก (positive-sense single-stranded RNA) ขนาดประมาณ 6.3 - 6.6 กิโลเบส บรรจุอยู่ในภายอนุภาครูปทรงท่อนที่มีขนาดกว้าง x ยาว ประมาณ 18 x 300 นาโนเมตร (ICTV, 2019; Kenyon *et. al*., 2014) อนุภาคของเชื้อไวรัสมีความคงทนและเพิ่มปริมาณได้สูงในพืชอาศัยที่อ่อนแอ ไวรัสจีนัส *Tobamovirus* สามารถถ่ายทอดได้โดยการสัมผัสและสามารถถ่ายทอดผ่านทางเมล็ดได้อีกด้วย เมล็ดพันธุ์ที่ได้จากต้นพืชที่ถูกเชื้อไวรัสเข้าทำลาย (infected plant) จะมีการปนเปื้อนของเชื้อไวรัสปริมาณมากที่บริเวณภายนอกเมล็ด โดยที่เชื้อจะไม่เข้าไปภายในเมล็ด (Kenyon *et. al*., 2014) ไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ประกอบด้วยเชื้อไวรัสชนิดต่าง ๆ กว่า 35 ชนิด (species) อีกทั้งยังเป็นไวรัสที่ค่อนข้างทนต่อความร้อน ซึ่งมีความคงทนต่อความร้อน (thermal inactivation points, TIP) ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ได้นานถึง 10 นาที และสามารถมีชีวิตอยู่ในน้ำคั้นพืช (sap) ได้นานหลายปี นอกจากนั้นยังมีพืชอาศัยที่กว้างสามารถเข้าทำลายและแพร่กระจายอยู่ในทุกส่วนของพืชได้ (ICTV, 2018)

ในปี 2557 มีรายงานพบเชื้อไวรัสชนิดใหม่ในจีนัส *Tobamovirus* โดยมีชื่อเรียกว่า *Tomato brown rugose fruit virus* (ToBRFV) เป็นครั้งแรก ในแหล่งปลูกมะเขือเทศประเทศอิสราเอล ต่อมามีรายงานพบไวรัสชนิดนี้ในหลายภูมิภาคดังนี้ ปี 2558 พบในจอร์แดน ปี 2561 พบในเม็กซิโก เยอรมัน และในรัฐแคลิฟอร์เนีย สหรัฐอเมริกา ปี 2562 พบในอิตาลี ปาเลสไตน์ ตุรกี สหราชอาณาจักร และในมณฑลซานตง สาธารณรัฐประชาชนจีน (EPPO, 2019) ToBRFV สามารถเข้าทำลาย และก่อให้เกิดโรคกับมะเขือเทศสายพันธุ์การค้าในปัจจุบันที่มียีนส์ *Tm22* และพริกที่มียีนส์ *L1*, *L3* และ *L4* ซึ่งต้านทานต่อ *Tobamovirus* ชนิดอื่น ทำให้เกิดอาการรุนแรง คุณภาพผลผลิตไม่เป็นที่ต้องการของตลาด มีรายงานการระบาดอย่างรุนแรงเกือบ 100 เปอร์เซ็นต์ กับมะเขือเทศในจอร์แดน และในอิสราเอลพบครั้งแรกทางตอนใต้ของประเทศในปี 2557 และเกิดระบาดในพื้นที่ปลูกมะเขือเทศทั่วประเทศภายในระยะเวลา 2 ปี (Luria และคณะ, 2017) ขณะนี้หลายประทศ เช่น อเมริกา สหภาพยุโรป ออสเตรเลีย และนิวซีแลนด์ เป็นต้น เริ่มตื่นตัวและมีการเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัส ToBRFV โดยออกกฎระเบียบในการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและพริก ต้องมีการรับรองว่ามาจากประเทศหรือแหล่งผลิตที่ปลอดจากเชื้อไวรัส ToBRFV หรือต้องตรวจเมล็ดในห้องปฏิบัติการว่าปราศจากเชื้อไวรัส ToBRFV (กรมวิชาการเกษตร, 2562) ถึงจะส่งออกไปยังประเทศปลายทางตามเงื่อนไขที่กำหนด ปัจจุบันเชื้อ ToBRFV ยังไม่มีรายงานปรากฏในประเทศไทย และมีความสำคัญต่อการค้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกอย่างยิ่ง ดังนั้นจึงเป็นที่มาของวัตถุประสงค์ของงานวิจัยในครั้งนี้ การตรวจวินิจฉัยชนิดไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้า เพื่อไม่ให้มีศัตรูพืชร้ายแรงที่มีผลกระทบต่อการค้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศไทย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. คู่มือ เอกสาร หนังสือ วารสาร
2. อุปกรณ์ในการสุ่มเก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติก คัตเตอร์ ปากกาเคมี เป็นต้น
3. อุปกรณ์ในการเพาะเมล็ด เช่น กล่องพลาสติก เพลทแก้ว น้ำกลั่น กระดาษกรอง เป็นต้น
4. วัสดุและอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น สารเคมีต่าง ๆ ชุดสกัดดีเอ็นเอ โกร่งบดเมล็ด ไปเปรต ทิป บีกเกอร์ ไมโครทิว เครื่อง PCR เครื่องส่องและบันทึกภาพเจล เป็นต้น
5. โรงเรือนปลูกพืช ถุงพลาสติกปลูกพืช ดินปลูก แท็กพลาสติก เป็นต้น

วิธีการ

1. สืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับเชื้อไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ที่มีรายงานการเข้าทำลายในมะเขือเทศทั้งของประเทศไทยและประเทศคู่ค้า รวมทั้งข้อมูลในเรื่องของวิธีการตรวจสอบด้วยเทคนิคด้านเซรุ่มวิทยาและชีวโมเลกุล เพื่อนำมาใช้ในการวางแผนการตรวจสอบ

2. สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าตามมาตรฐาน International Seed Testing Association (ISTA, 2020) โดยทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าโดยนำเข้าผ่านด่านตรวจพืชต่าง ๆ และทำการตรวจสอบเบื้องต้นโดยการตรวจสอบด้วยตาเปล่า บันทึกข้อมูลต่าง ๆ และบันทึกภาพ

3. การตรวจวินิจฉัยและจัดจำแนกเชื้อไวรัสจีนัส *Tobamovirus* โดยใช้เทคนิค ELISA enzyme-linked immunosorbent assay ด้วยชุดตรวจสอบสำเร็จรูป ตามวิธีการดังนี้

เตรียม ELISA plate โดยการเติมสารละลาย capture antibody ที่ความเข้มข้น 1:200 (ปริมาตรของแอนติบอดีต่อบัฟเฟอร์ carbonate coating) ลงไปในแต่ละหลุม ปริมาตร 100 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นานข้ามคืน

3.1 เตรียมตัวอย่างสำหรับการตรวจสอบ โดยการนำตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ที่เตรียมไว้ไปชั่งน้ำหนักและนำไปปั่นละเอียดด้วยเครื่องบดเมล็ดพันธุ์ (Tube-mill, IKA) จากนั้นเติมบัฟเฟอร์ Extraction ลงใบในเมล็ดพันธุ์ที่บดละเอียดแล้วด้วยอัตราส่วน 1:10 (น้ำหนักของเมล็ดต่อปริมาตรของบัฟเฟอร์) จะได้สารละลายเมล็ดสำหรับการนำไปตรวจสอบ

3.2 นำ ELISA plate ในข้อที่ 1 มาทำการล้างด้วยบัฟเฟอร์ PBST wash ปริมาตร 400 ไมโครลิตรต่อหลุม โดยการใส่สารลงไปในแต่ละหลุม บ่มไว้ 3-5 นาที ทิ้งสารโดยการคว่ำเพลทและตบบนกระดาษซับ จากนั้นทำซ้ำอีก 3 ครั้ง ก่อนดำเนินการในขั้นถัดไป

3.3 นำสารละลายเมล็ดจากข้อที่ 2 ใส่ลงในแต่ละหลุม ปริมาตร 100 ไมโครลิตร จากนั้น นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

3.4 นำ ELISA plate ในข้อที่ 4 มาทำการล้างด้วยบัฟเฟอร์ PBST wash ปริมาตร 400 ไมโครลิตรต่อหลุม โดยการใส่สารลงไปในแต่ละหลุม บ่มไว้ 3-5 นาที ทิ้งสารโดยการคว่ำเพลทและตบบนกระดาษซับ จากนั้นทำซ้ำอีก 3 ครั้ง ก่อนดำเนินการในขั้นถัดไป

3.5 เติมสารละลาย alkaline phosphatase enzyme conjugate ที่ความเข้มข้น 1:200 (ปริมาตรของแอนติบอดีต่อบัฟเฟอร์ ECI) ลงไปในแต่ละหลุม ปริมาตร 100 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

3.6 นำ ELISA plate ในข้อที่ 6 มาทำการล้างด้วยบัฟเฟอร์ PBST wash ปริมาตร 400 ไมโครลิตรต่อหลุม โดยการใส่สารลงไปในแต่ละหลุม บ่มไว้ 3-5 นาที ทิ้งสารโดยการคว่ำเพลทและตบบนกระดาษซับ จากนั้นทำซ้ำอีก 3 ครั้ง ก่อนดำเนินการในขั้นถัดไป

3.7 เติมสารละลายฟอสเฟต ที่ความเข้มข้นของสารซับสเตรท (para-Nitrophenylphosphate; *pNPP*) 1 มิลลิกรัมต่อบัฟเฟอร์ PNP ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงไปในแต่ละหลุม ปริมาตร 100 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง (ในที่มืด) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

3.8 ตรวจสอบผลโดยการตรวจดูการเปลี่ยนสีด้วยตาเปล่า และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (optical density; O.D.) ที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง ELISA reader โดยหลุมที่สารละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลือง และมีค่า O.D. มากกว่า 2 เท่าของตัวอย่างเมล็ดปกติ จะบ่งชี้ถึงการตรวจพบเชื้อไวรัสในตัวอย่างนั้นๆ (ให้ผลการตรวจสอบเป็นบวก)

4. ตรวจวินิจฉัยและจัดจำแนกเชื้อไวรัสจีนัส *Tobamovirus* โดยใช้เทคนิค RT-PCR (reverse-transcription polymerase chain reaction) ตามวิธีการดังนี้

4.1 สกัดสารพันธุกรรมชนิดอาร์เอ็นเอ (Total RNA) จากเมล็ดพันธุ์นำเข้าแต่ละรายการ โดยใช้ชุดสกัดสำเร็จรูป

4.2 เพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสจีนัส *Tobamovirus* แต่ละชนิดด้วยเทคนิค RT-PCR แบบ one-step โดยใช้คู่ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงกับเชื้อไวรัสแต่ละชนิด

4.3 ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอ (PCR product) ด้วยเทคนิคเจลอิเล็กโตโฟรีซีส (gel electrophoresis) โดยใช้ 1.5% อะกาโรสเจล ให้กระแสไฟฟ้าที่ 100 โวลต์ เป็นเวลา 35-40 นาที

4.4 ตัวอย่างที่ปรากฏแถบแบนของดีเอ็นเอเป้าหมายถือว่าให้ผลบวกกับการตรวจสอบ ทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมอีกครั้งเพื่อส่งตัวอย่างไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

4.5 วิเคราะห์และเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของแต่ละตัวอย่างไป โดยจัดการข้อมูลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป DNASTAR และเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลใน GenBank

5. ติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้า โดยทำการติดตามตรวจสอบในแปลงผลิตหรือในโรงเรือนเพาะเมล็ดของบริษัทที่นำเข้าในจังหวัดขอนแก่น อุดรธานี สกลนคร เชียงใหม่ เชียงราย และตาก

6. สรุปผลการทดลอง

เวลาและสถานที่

เวลา ปีเริ่มต้น 2565 สิ้นสุดปี 2566

สถานที่ 1. ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

2. โรงเรือนเพาะกล้าของบริษัทเอกชนและพื้นที่เพาะปลูกเมล็ดพันธุ์นำเข้าในจังหวัดขอนแก่น สกลนคร อุดรธานีเชียงใหม่ เชียงราย และตาก

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. จากการสืบค้นข้อมูล ไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ได้แก่ *Tobacco mosaic virus* (TMV) *Tomato mosaic virus* (ToMV) *Pepper mild mottle virus* (PMMoV, PMMV) *Tobacco mild green mosaic virus* (TMGMV) *Tomato mottle mosaic virus* (ToMMV) *Tomato brown rugose fruit virus* (ToBRFV) *Tobacco mild green mosaic virus* (TMGMV) ซึ่งไวรัสจีนัส *Tobamovirus* มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและพริก (Carlye *et. al*., 2000) และรายงานพบเชื้อไวรัสชนิดใหม่ในจีนัส *Tobamovirus* โดยมีชื่อเรียกว่า *Tomato brown rugose fruit virus* (ToBRFV) เป็นครั้งแรก ในแหล่งปลูกมะเขือเทศประเทศอิสราเอล ต่อมามีรายงานพบไวรัสชนิดนี้ในหลายภูมิภาคดังนี้ ปี 2558 พบในจอร์แดน ปี 2561 พบในเม็กซิโก เยอรมัน และในรัฐแคลิฟอร์เนีย สหรัฐอเมริกา ปี 2562 พบในอิตาลี ปาเลสไตน์ ตุรกี สหราชอาณาจักร และในมณฑลซานตง สาธารณรัฐประชาชนจีน (EPPO, 2019) ToBRFV สามารถเข้าทำลาย และก่อให้เกิดโรคกับมะเขือเทศสายพันธุ์การค้าในปัจจุบันที่มียีนส์ *Tm22* และพริกที่มียีนส์ *L1*, *L3* และ *L4* ซึ่งต้านทานต่อ *Tobamovirus* ชนิดอื่น ทำให้เกิดอาการรุนแรง คุณภาพผลผลิตไม่เป็นที่ต้องการของตลาด มีรายงานการระบาดอย่างรุนแรงเกือบ 100 เปอร์เซ็นต์ กับมะเขือเทศในจอร์แดน และในอิสราเอลพบครั้งแรกทางตอนใต้ของประเทศในปี 2557 และเกิดระบาดในพื้นที่ปลูกมะเขือเทศทั่วประเทศภายในระยะเวลา 2 ปี (Luria และคณะ, 2017) ขณะนี้หลายประทศ เช่น อเมริกา สหภาพยุโรป ออสเตรเลีย และนิวซีแลนด์ เป็นต้น เริ่มตื่นตัวและมีการเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัส ToBRFV โดยออกกฎระเบียบในการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและพริก ต้องมีการรับรองว่ามาจากประเทศหรือแหล่งผลิตที่ปลอดจากเชื้อไวรัส ToBRFV หรือต้องตรวจเมล็ดในห้องปฏิบัติการว่าปราศจากเชื้อไวรัส ToBRFV (กรมวิชาการเกษตร, 2562) ถึงจะส่งออกไปยังประเทศปลายทางตามเงื่อนไขที่กำหนด ปัจจุบันเชื้อ ToBRFV ยังไม่มีรายงานปรากฏในประเทศไทย และมีความสำคัญต่อการค้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกอย่างยิ่ง

ประเทศที่มีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ ได้แก่ Brazil Chile China England France Guatemala Hungary India Indonesia Israel Italy Japan Kenya Korea Malaysia Myanmar Netherlands Peru Philippines South Africa Spain Taiwan USA และ Vietnam และเมล็ดพันธุ์พริก ได้แก่ Chile China France India Indonesia Israel Italy Japan Korea Malaysia Netherlands Peru Philippines Spain Taiwan Tanzania UK USA และ Vietnam (กลุ่มวิจัยการกักกันพืช, 2022) เทคนิควิธีการในการตรวจวินิจฉัยไวรัสจีนัส *Tobamovirus* โดยเทคนิค Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) เป็นวิธีการทางด้านเซรุ่มวิทยา (รัชนี, 2558) และ เทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) เป็นเทคนิคด้านชีวโมเลกุลสำหรับเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยอาศัยหลักการ DNA replication (Kary Mullis *et. al*., 2000)

2. จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าตามมาตรฐาน International Seed Testing Association เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ มีการนำเข้า จำนวน 275 ตัวอย่าง นำเข้าจาก 24 ประเทศ ได้แก่ Brazil Chile China England France Guatemala Hungary India Indonesia Israel Italy Japan Kenya Korea Malaysia Myanmar Netherlands Peru Philippines South Africa Spain Taiwan USA และ Vietnam ทำการตรวจวินิจฉัยเชื้อไวรัสจีนัส

Tobamovirus โดยใช้เทคนิค RT-PCR ผลการตรวจเชื้อไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ในห้องปฏิบัติการด้วยเทคนิค RT-PCR ไม่พบไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้า และเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจำนวน 235 ตัวอย่าง นำเข้าจาก 21 ประเทศ ได้แก่ Chile China France India Indonesia Israel Italy Japan Korea Malaysia Netherlands Peru Philippines Spain Taiwan Tanzania UK USA และ Vietnam ผลการตรวจเชื้อไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ในห้องปฏิบัติการด้วยเทคนิค RT-PCR พบไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ได้แก่ ไวรัส *Tomato brown rugose fruit virus* (ToBRFV) ในเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากญี่ปุ่น และสเปน (ประเทศต้นทางคือจีน) ไวรัส *Tomato mosaic virus* (ToMV) ในเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากฝรั่งเศส (ประเทศต้นทางจากจีน) และไวรัส *Tomato mottle mosaic virus* (ToMMV) ในเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากเนเธอแลนด์ และสเปน

3.ปลูกสังเกตุลักษณะอาการผิดปกติในโรงเรือนปลูกพืช ไม่พบอาการผิดปกติที่เกิดจากเชื้อไวรัสจีนัส *Tobamovirus*

4. ติดตามตรวจสอบเชื้อไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและพริกนำเข้า จังหวัดขอนแก่น อุดรธานี สกลนคร เชียงใหม่ เชียงราย และตาก จำนวน 10 แปลง ผลการดำเนินงานไม่พบเชื้อไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ที่เป็นศัตรูพืชกักกันในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและพริกนำเข้า

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการตรวจวินิจฉัยไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้า ผลการตรวจวินิจฉัยไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ในห้องปฏิบัติการด้วยเทคนิค RT-PCR พบไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ได้แก่ ไวรัส *Tomato brown rugose fruit virus* (ToBRFV) ในเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากญี่ปุ่น และสเปน (ประเทศต้นทางคือจีน) ไวรัส *Tomato mosaic virus* (ToMV) ในเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากฝรั่งเศส (ต้นทางจากจีน) และไวรัส *Tomato mottle mosaic virus* (ToMMV) ในเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากเนเธอแลนด์ และสเปน ซึ่งเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย เมล็ดพันธุ์ดังกล่าวจะถูกดำเนินการตามมาตรการทางสุขอนามัยพืช เมื่อทำการปลูกสังเกตุลักษณะอาการผิดปกติในโรงเรือนปลูกพืช ไม่พบอาการผิดปกติที่เกิดจากเชื้อไวรัสจีนัส *Tobamovirus* และจากการติดตามในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและพริกนำเข้า จังหวัดขอนแก่น อุดรธานี สกลนคร เชียงใหม่ เชียงราย และตาก ผลการดำเนินงานไม่พบเชื้อไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ที่เป็นศัตรูพืชกักกันในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ และพริกนำเข้า

ปัจจุบันมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกจากหลายประเทศ ซึ่งเมล็ดพันธุ์ทั้งสองชนิดเป็นพืชอาศัยหลักของไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ที่มีโอกาสที่จะติดเข้ามาแพร่ระบาดสร้างความเสียหายได้ โดยเฉพาะเชื้อไวรัส *Tomato brown rugose fruit virus* ซึ่งเป็นศัตรูพืชที่มีความสำคัญต่อการส่งออกเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกเป็นอย่างยิ่ง ปัจจุบันในการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกนั้น ประเทศไทยได้มีการกำหนดเงื่อนไขการนำเข้า ตามประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ และเงื่อนไขการนำเข้าเมล็ด

พันธุ์พริก ประเทศใดที่จะนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกต้องมาจากประเทศที่ไม่พบศัตรูพืชกักกันตามที่กำหนดหรือต้องทดสอบในห้องปฏิบัติการด้วยวิธีที่เหมาะสมว่าปราศจากศัตรูพืชกักกันที่กำหนด จากการกำหนดมาตรการหรือเงื่อนการนำเข้านั้น ทำให้ลดความเสี่ยงของการเข้ามาแพร่ระบาดของศัตรูพืชกักกันหรือศัตรูพืชที่ยังไม่มีในประเทศไทย แต่อย่างไรก็ตามหากตรวจพบไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริก หากเป็นศัตรูพืชกักกันจะดำเนินมาตรการโดยทำลายหรือส่งสินค้ากลับ และหากเป็นไวรัสที่มีรายงานพบในประเทศไทยจะดำเนินการ โดยให้คำแนะนำแก่บริษัทหรือผู้ประกอบการให้ทำการกำจัดศัตรูพืชด้วยสารเคมี 10% TSP ก่อนนำเมล็ดพันธุ์ไปเพาะปลูก เพื่อลดความเสียหายที่อาจเกิดจากการเข้าทำลายของไวรัสจีนัส *Tobamovirus*

จากการวิจัยครั้งนี้มีการตรวจพบไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและพริก ดังนี้ พบเชื้อไวรัส *Tomato brown rugose fruit virus* (ToBRFV) ในเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากญี่ปุ่น และสเปน (ประเทศต้นทางคือจีน) ไวรัส *Tomato mosaic virus* (ToMV) ในเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากฝรั่งเศส (ประเทศต้นทางจากจีน) และไวรัส *Tomato mottle mosaic virus* (ToMMV) ในเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากเนเธอแลนด์ และสเปน ซึ่งเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย เมล็ดพันธุ์ดังกล่าวจะถูกดำเนินการตามมาตรการทางสุขอนามัยพืช และได้มีการเสนอมาตรการไปยังประเทศต้นทางเพื่อให้ปฏิบัติมาตรการสำหรับเชื้อดังกล่าวเข้มงวดมากยิ่งขึ้น จากการพบศัตรูพืชกักกันบ้างชนิด ซึ่งประเทศที่ส่งออกไม่มีรายงานการปรากฏของเชื้อ แต่มีการตรวจเจอเชื้อกับเมล็ดพันธุ์เมื่อนำเข้า ทำให้เป็นข้อมูลในการวิเคราะความเสี่ยงสำหรับการติดเข้ามาของศัตรูพืช เนื่องจากเมล็ดพันธุ์มีการค้าขายทั่วโลก หากนำเข้ามาต้องศึกษาข้อมูลของประเทศต้นกำเนิดของเมล็ดพันธุ์ ซึ่งมีความเสี่ยงในการที่จะมีเชื้อศัตรูพืชกักกันติดเข้ามาได้

คำขอบคุณ

ขอบคุณเจ้าหน้าที่กลุ่มงานวินิจฉัยศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช ที่ให้ความร่วมมือและมีส่วนช่วยในการวิจัยในครั้งนี้สำเร็จได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. (2562, ธันวาคม) *Tomato brown rugose fruit virus* (ToBRFV). *เอกสารในการประชุมเชิงปฏิบัติการเรื่อง มาตรการกำจัดและป้องกันการแพร่ระบาดของ ToBRFV*. การจัดประชุมโดย สมาคมการค้าเมล็ดพันธุ์ไทย (THASTA) ร่วมกับ กรมวิชาการเกษตรและหน่วยงาน APSA. ห้องประชุมโรงแรมเจริญธานี อ.เมือง จ.ขอนแก่น.

รัชนี ฮงประยูร. 2558. *เทคนิคทางซีรัมวิทยาในการวินิจฉัยโรคพืช.* ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. นครปฐม. 88 หน้า.

วีระ ภาคอุทัย และ เยาวรัตน์ ศรีวรานนท์. 2557. *พริก ปลูกอย่างไรในภาวะโลกกำลังร้อน*. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.). 30 หน้า

สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2559. *ปริมาณและมูลค่าการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ควบคุมฯ. ณ ด่านตรวจพืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร.* กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

EPPO Global Database. 2019. *Tomato brown rugose fruit virus* (*Tobamovirus*-ToBRFV).https://www.eppo.int/ACTIVITIES/plant_quarantine/alert_list_viruses/tomato_brown_rugose_fruit_virus. สืบค้นเมื่อวันที่ 8 พฤศจิกายน 2562.

International Committee on Taxonomy of Viruses. 2018. *Virus Taxonomy: 2018b Release. Genus: Tobamovirus.* Retrieved March 7, 2020, from https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/positive-sense-rna-viruses/w/virgaviridae/672/genus-tobamovirus

International Seed Testing Association. 202 0 . *International Rules for Seed Testing. International Seed Testing Association (ISTA).* Bassersdort, Switzerland.

Kenyon L., Kumar S., Tsai W.S. & Hughes Jd. 2014. Chapter Six - Virus Diseases of Peppers (*Capsicum* spp.) and Their Control. *Advances in Virus Research.* 90: 297-354.

Luria N., Smith E., Reingold V., Bekelman I., Lapidot M., Levin I., Elad N., Tam Y., Sela N., Abu-Ras A., Ezra N., Haberman A., Yitzhak L., Lachman O. & Dombrovsky A. 2017. A New *Israeli Tobamovirus* Isolate Infects Tomato Plants Harboring Tm-22 Resistance Genes. *PLoS ONE* 12(1): e0170429.

Table 1 *Tobamovirus* associated with imported tomato seeds

	Countries	1 Oct. 2022 - 30 Sep. 2024		*Tobamovirus*	Number of detected
		Quantity (kgs)	Consignment		
1	Brazil	0.01	1	-	-
2	Chile	0.507	3	-	-
3	China	37.895	6	-	-
4	England	0.022	1	-	-
5	France	148.964	23	*Tomato mosaic virus* (ToMV)	1
6	Hungary	0.0048	1	-	-
7	Guatemala	3.568	2	-	-
8	India	2,036.48	48	-	-
9	Indonesia	2.437	5	-	-
10	Israel	3.717	23	-	-
11	Italy	1.002	3	-	-
12	Japan	4.022	14	*Tomato brown rugose fruit virus* (ToBRFV)	1
13	Kenya	3.395	3	-	-
14	Korea	0.045	1	-	-
15	Malaysia	1.114	1	-	-
16	Myanmar	11.218	2	-	-
17	Netherlands	7,057	83	-	-
18	Peru	2.513	4	-	-
19	Philippines	409.893	5	-	-
20	South Africa	0.656	2	-	-
21	Spain	1.851	6	*Tomato brown rugose fruit virus* (ToBRFV)	1
22	Taiwan	1.047	5	-	-
23	USA	292.328	32	-	-
24	Vietnam	30	1	-	-
	Total	**10,050.0728**	**275**		

Table 2 *Tobamovirus* associated with imported pepper seeds

	Countries	1 Oct. 2022 - 30 Sep. 2024		*Tobamovirus*	Number of detected
		Quantity (kgs)	Consignment		
1	Chile	12.742	3	-	-
2	China	3,811.060	12	-	-
3	France	19.719	34	-	-
4	Guatemala	13.324	1	-	-
5	Hungary	0.175	1	-	-
6	India	4,907.069	45	-	-
7	Indonesia	44.885	10	-	-
8	Isael	30.875	11	-	-
9	Italy	2.160	1	-	-
10	Japan	1.086	5	-	-
11	Korea	130.852	6	-	-
12	Malaysia	480.559	3	-	-
13	Netherlands	726.800	38	*Tomato mottle mosaic virus* (ToMMV)	1
14	Peru	63.368	1	-	-
15	Philippines	38.930	3	-	-
16	Spain	8.842	14	*Tomato mottle mosaic virus* (ToMMV)	1
17	Taiwan	10.672	4	-	-
18	Tanzania	0.018	1	-	-
19	UK	0.217	1	-	-
20	USA	329.157	37	-	-
21	Vietnam	64.561	4	-	-
	Total	**10,697.071**	**235**		

Figure 1 Seedling symptom test

Figure 2 Field inspection in tomato crops

Figure 3 Field inspection in pepper crops

การตรวจวินิจฉัย Potato cyst nematode ที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้า

Interception on the potato cyst nematode quarantine pest Associated with imported Seed Potatoes

สุรศักดิ์ แสนโคตร[1/] ไตรเดช ข่ายทอง[2/] อังคณา สิริปิยะสิงห์[3/] วานิช คำพานิช[1/]
โสภา มีอำนาจ[1/] จันทร์พิศ เดชหามาตย์[1/] วาสนา รุ่งสว่าง[1/]
[1/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[3/]กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1

Abstract

Diagnosis of the Potato cyst nematode (PCN) *Globodera* spp. from sampling of imported seed potatoes from 2 0 2 to 2 0 2 3 imported from 6 countries: 1) Commonwealth of Australia, imported 49 times, total weight 4,316,320,000.00 kilograms 2) Canada, imported 10 times, total weight 2,349,000,000.00 kilograms 3) Kingdom of the Netherlands, imported 7 times, total weight 337,500,000.00 kilograms 4) Kingdom of New Zealand, imported 3 times, total weight 175,000,000.0 0 kilograms 5) Kingdom of Scotland, imported 62 times, total weight 12,422,750,000.00 kilograms and 6) United States, imported 3 times, total weight 390 kilograms. Isolation of pest nematodes from seed potato. Soil attached to the seed potato and monitoring and collecting soil samples from imported seed potato field in the planting area. Wiang Pa Pao District, Thoeng District, Chiang Rai Province, Mae Chaem District, Chiang Mai Province, Phop Phra District, Tak Province, Chiang Kham District, Phayao Province, Phang Khon District, Mueang District, Sakon Nakhon Province and Wang Yang District, Nakhon Phanom, did not find the pest nematode type Potato cyst nematode by examining morphological characteristics combine with the Polymerase chain reaction (PCR) technique to identify the type of cyst nematode attached to imported seed potatoes.

Keywords : Potato cyst nematode, Plant-parasitic nematode, Quarantine pests imported plants seed potato

รหัสการทดลอง FF65-55-03-65-00-02-65

บทคัดย่อ

การตรวจวินิจฉัยไส้เดือนฝอยศัตรูพืช Potato cyst nematode (PCN) *Globodera* spp. จากการสุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าตั้งแต่ปี พ.ศ. 2564 ถึง พ.ศ. 2566 มีการนำเข้าจาก 6 ประเทศ ได้แก่ 1) เครือรัฐออสเตรเลีย นำเข้าจำนวน 49 ครั้ง น้ำหนักรวม 4,316,320,000.00 กิโลกรัม 2) แคนาดา นำเข้าจำนวน 10 ครั้ง น้ำหนักรวม 2,349,000,000.00 กิโลกรัม 3) ราชอาณาจักรเนเธอร์แลนด์ นำเข้าจำนวน 7 ครั้ง น้ำหนักรวม 337,500,000.00 กิโลกรัม 4) ราชอาณาจักรนิวซีแลนด์ นำเข้าจำนวน 3 ครั้ง น้ำหนักรวม 175,000,000.00 กิโลกรัม 5) ราชอาณาจักรสกอตแลนด์ นำเข้าจำนวน 62 ครั้ง น้ำหนักรวม 12,422,750,000.00 กิโลกรัม และ 6) สหรัฐอเมริกา นำเข้าจำนวน 3 ครั้ง น้ำหนักรวม 390 กิโลกรัม การแยกไส้เดือนฝอยศัตรูพืชจากหัวพันธุ์มันฝรั่ง ดินที่ติดมากับหัวพันธุ์ และการติดตามสำรวจเก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าในพื้นที่แปลงปลูก อำเภอเวียงป่าเป้า อำเภอเทิง จังหวัดเชียงราย อำเภอแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่ อำเภอพบพระ จังหวัดตาก อำเภอเชียงคำ จังหวัดพะเยา อำเภอพังโคน อำเภอเมือง จังหวัดสกลนคร และอำเภอวังยาง นครพนม ยังไม่พบไส้เดือนฝอยศัตรูพืชชนิด Potato cyst nematode โดยตรวจสอบจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาร่วมกับเทคนิค Polymerase chain reaction (PCR) เพื่อระบุชนิดไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้า

คำหลัก : ไส้เดือนฝอยซีสต์มันฝรั่ง, ไส้เดือนฝอยศัตรูพืช, ศัตรูพืชกักกัน, พืชนำเข้า, หัวพันธุ์มันฝรั่ง

คำนำ

มันฝรั่ง (Potato; *Solanum tuberosum*) เป็นพืชที่จัดว่าเป็นสิ่งต้องห้ามตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 และเป็นพืชที่ประเทศไทยได้มีการนำเข้ามาปริมาณมากเพื่อใช้ทำพันธุ์ปลูกและใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรม เช่น แปรรูปเป็นมันฝรั่งทอดกรอบหรือบริโภคหัวสด ประเทศไทยมีการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจากหลายประเทศด้วยกันได้แก่ เครือรัฐออสเตรเลีย ราชอาณาจักรสก็อตแลนด์ ราชอาณาจักรเนเธอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา แคนาดา ราชอาณาจักรนิวซีแลนด์ และรัฐอิสราเอล เป็นต้น ประเทศไทยในฐานะประเทศสมาชิกองค์การค้าโลก ต้องปฏิบัติตามกฎเกณฑ์เกี่ยวกับการค้าสินค้าเกษตร ภายใต้ข้อตกลงที่ว่าด้วยการบังคับใช้มาตรการด้านสุขอนามัย และสุขอนามัยพืช ซึ่งเป็นมาตรการในการป้องกันมิให้ศัตรูพืชเข้ามาทำอันตรายหรือก่อให้เกิดความเสียหายต่อสุขภาพมนุษย์ สัตว์ พืช และสิ่งแวดล้อม วิธีการปฏิบัติคือประเทศผู้นำเข้าสินค้าเกษตรต้องมีการตรวจสอบศัตรูพืช โดยทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชและมีการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชซึ่งอาจจะเป็นไส้เดือนฝอยชนิดใดชนิดหนึ่งซึ่งอาจจะติดมากับสินค้าเกษตร ดังเช่นหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ

ปัญหาของการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งในปีที่ผ่านมา นอกจากจะมีดินติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่ง แล้วยังมีเชื้อโรคพืช ได้แก่ เชื้อรา ไวรัส รวมทั้งอาจจะมีศัตรูพืชชนิดอื่นติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่ง เช่น ไส้เดือนฝอยศัตรูพืชบางชนิดที่ยังไม่มีรายงานในประเทศไทย ซึ่งอยู่ในข้อตกลงระหว่างประเทศ และเงื่อนไขการนำเข้า เช่น ไส้เดือนฝอยซีสต์มันฝรั่ง [Potato cyst nematode; (*Globodera. rostochiensis* และ *Globodera pallida*] ซึ่งเป็นศัตรูพืชกักกันตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้าม ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ.2507 (ฉบับที่ 6 พ.ศ. 2550) และเป็นไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่มีความสำคัญกับผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่ง ในการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจากประเทศจากแหล่งที่มีการแพร่ระบาดของไส้เดือนฝอยซีตส์มันฝรั่งมีความเสี่ยงต่อการนำไส้เดือนฝอยศัตรูพืชร้ายแรงจะติดเข้ามาทั้งในส่วนของดินและหัวพันธุ์มันฝรั่ง ดังนั้นจึงจำเป็นที่ต้องหาวิธีการตรวจวินิจฉัยไส้เดือนฝอยซีตส์มันฝรั่งติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจากต่างประเทศ ที่รวดเร็ว แม่นยำ มีประสิทธิภาพเพื่อเป็นการสกัดกั้นมิให้ไส้เดือนฝอยซีตส์มันฝรั่งที่เป็นศัตรูพืชกักกันติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งภายหลังการนำเข้าจากต่างประเทศ และป้องกันมิให้เข้ามาระบาดในพื้นที่เพาะปลูกมันฝรั่งและพืชอาศัยในประเทศไทย และลดความเสี่ยงศัตรูพืชที่เกิดจากไส้เดือนฝอยซีตส์มันฝรั่ง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างดินและหัวพันธุ์มันฝรั่ง
2. อุปกรณ์แยกไส้เดือนฝอยจากดิน ได้แก่ เครื่องชั่ง ตะแกรง (sieve) ขนาด 60, 120 และ 325 mesh กรวยแก้ว พร้อมสายยาง คลิ๊ปหนีบสายยาง ถังและกะละมัง
3. เครื่องมือตัดเนื้อเยื่อ แท่งพาราฟิน พร้อมสีย้อมต่างๆ
4. อุปกรณ์ปอกเปลือกมันฝรั่ง
5. อุปกรณ์ในการทำสไลด์ กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และแบบ compound
6. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง เช่น พลั่ว เสียม ถุงพลาสติก ยางรัด ปากกา
7. วัสดุวิทยาศาสตร์ต่าง ๆ
8. วัสดุเกษตรต่าง ๆ
9. สารเคมีต่าง ๆ ที่ใช้ในการย้อมสี เช่น acid fuchsin cotton blue lactophenol และ glycerine

วิธีการ

1. สืบค้นข้อมูล Potato cyst nematode

ทำการสืบค้นข้อมูล Potato cyst nematode และวิธีการตรวจวินิจฉัยจากฐานข้อมูล ตำราวิชาการ วารสารทางวิชาการ รายงานการประชุมและสัมมนาทางวิชาการ และเอกสารวิชาการที่สามารถสืบค้นข้อมูลจากแหล่งต่าง ๆ ทั่วโลก เช่น ฐานข้อมูลออนไลน์ European and

Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO) และ Centre for Agriculture and Biosciences International (CABI)

2. การสุ่มเก็บตัวอย่าง

สุ่มเก็บตัวอย่างหัวพันธุ์นำเข้า 600 หัวต่อครั้ง ตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งและดินที่ติดมา จากด่านตรวจพืชสุ่มตัวอย่างนำส่งมา ตรวจดูอาการภายนอก บันทึกภาพตัวอย่าง และข้อมูลการนำเข้า ชื่อประเทศนำเข้า น้ำหนัก ฯลฯ

3. วิธีการแยกไส้เดือนฝอย Potato cyst nematode (EPPO, 2013)

3.1 วิธีแยกไส้เดือนฝอยจากหัวพันธุ์มันฝรั่ง ดัดแปลงจากวิธี Maceration และ centrifugal flotation (Coolen and D'Herde, 1972) เพื่อแยกไส้เดือนฝอยระยะตัวอ่อนที่ 2 3 และ 4 (J2 J3 and J4) ที่เข้าทำลายหัวมันฝรั่ง มีขั้นตอนดังนี้

1) หั่นหัวมันฝรั่งเป็นชิ้นเล็ก ๆ
2) เติมน้ำและปั่นให้ละเอียดนานไม่เกิน 30 วินาที
3) กรองผ่านกระแกรง (sieve) ขนาด 120 Mesh และ 325 Mesh ตามลำดับ
4) นำตัวอย่างน้ำที่กรองผ่าน sieve ขนาด 325 Mesh ในขั้นตอนสุดท้ายซึ่งมีเม็ดแป้งและเนื้อเยื่อหัวมันฝรั่งไปปั่นเหวี่ยง เพื่อแยกไส้เดือนฝอยออกจากตะกอน
5) นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที โดยเนื้อเยื้อหัวมันฝรั่งและไส้เดือนฝอยจะอยู่ที่ก้นหลอด และเทส่วนใสทิ้ง
6) นำตะกอนที่ได้เติมด้วย 40% sucrose syrup (น้ำเชื่อม) ปริมาตร 20 มิลลิลิตรต่อหลอด ละลายตะกอนให้เข้ากัน
7) นำตะกอนที่ละลายในน้ำเชื่อมไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 rpm เป็นเวลา 3 นาที
8) เทส่วนใสอย่างระมัดระวังผ่านตะแกรงขนาด 325 Mesh แล้วรีบล้างด้วยน้ำสะอาด และเก็บไส้เดือนฝอยในบีกเกอร์เพื่อนำไปตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และจัดจำแนกชนิดต่อไป

3.2 วิธีแยก cyst ของไส้เดือยฝอย potato cyst nematode จากดินที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่ง ด้วยวิธี Centrifugal flotation (Caveness and Jensen, 1955) โดยใช้สารละลายน้ำตาลซูโครส เพื่อแยกไส้เดือนฝอยตัวเต็มวัยเพศเมีย และตัวอ่อนระยะที่ 2 ที่ปนเปื้อนมากับดิน

1) นำดินตัวอย่างที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งละลายในน้ำ
2) เทสารละลายดินลงในหลอดขนาด 80 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที
3) นำตะกอนที่ได้เติมด้วย sucrose syrup (น้ำเชื่อม) 40 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตรต่อหลอด ละลายตะกอนให้เข้ากัน
4) นำตะกอนที่ละลายในน้ำเชื่อมไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 rpm เป็นเวลา 3 นาที

5) เทส่วนใสอย่างระมัดระวังผ่านตะแกรงขนาด 325 Mesh แล้วรีบล้างด้วยน้ำสะอาด และเก็บไส้เดือนฝอยในบีกเกอร์เพื่อนำไปตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และจัดจำแนกชนิดต่อไป

4. วิธีการจัดจำแนกไส้เดือนฝอย Potato cyst nematode (EPPO, 2017)

4.1 จัดจำแนกชนิดด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphological) ทำการจัดจำแนกชนิดด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายกล้องจุลทรรศน์

4.2 จัดจำแนกชนิดโดยวิธีทางชีวโมเลกุลด้วยเทคนิค Multiplex PCR test (Bulman and Marshall, 1997)

4.2.1 การสกัดดีเอ็นเอไส้เดือยฝอยศัตรูพืช มีขั้นตอนดังนี้

1) แยกตัวอ่อนไส้เดือนฝอยระยะที่ 2 3 และ 4 (J2 J3 and 4) จากหัวพันธุ์มันฝรั่งโดยดัดแปลงจากวิธี Maceration และ centrifugal flotation (Coolen and D'Herde, 1972) สำหรับตัวเต็มวัยเพศเมีย (cyst nematode) ที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งหรือดินที่ติดมากับหัวพันธุ์ด้วยวิธี Centrifugal flotation (Caveness and Jensen, 1955)เติมสารละลาย DNA extraction kit ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงในหลอด PCR ขนาด 200 ไมโครลิตร แล้วเขี่ยไส้เดือนฝอยภายใต้กล้องสเตริโอโดยใช้เข็มเขี่ยที่ทำความสะอาดด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ก่อนเขี่ยไส้เดือนฝอยลงหลอด

2) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ในเครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (PCR machine) และเติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาณ 40 ไมโครลิตร

3) นำไปเก็บรักษาตัวอย่างดีเอ็นเอไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

4.2.2 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค Multiplex PCR test (Bulman and Marshall, 1997)

1) ทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในส่วนของยีน 18S rRNA gene ถึง ส่วน ITS1

2) โดยใช้ไพรเมอร์ 3 คู่ คือ ITS5 PITSp4 และ PITSr3

ITS5 5'-GGAAGTAAAAGTAACAAGG-3'

PITSp4 5'-ACAACAGCAATCGTCGAG-3'

PITSr3 5'-AGCGCAGACATGCCGCAA-3'

ITS5 และ PITSp4 มีความจำเพาะเจาะจงกับ *Globodera rostochiensis* ให้ PCR product ขนาด 265 bp

ITS5 และ PITSr3 มีความจำเพาะเจาะจงกับ *Globodera pallida* ให้ PCR product ขนาด 434 bp

3) สารละลายในปฏิกิริยา Polymerase Chain Reaction (PCR) ประกอบไปด้วย

สารละลาย	ความเข้มข้นสุดท้าย	ปริมาตร [ไมโครลิตร (µl)]
Distilled water	-	16.1
PCR buffer	-	3.5
$MgCl_2$	2 mM	2
dNTPs	0.16 mM	0.4
primer ITS5	0.25 mM	0.625
Primer PITSp4	0.25 mM	0.625
Primer PITSr3	0.25 mM	0.625
Taq DNA polymerase	0.6U	0.12
DNA template	-	1
รวม		25

กระบวนการปฏิกิริยา PCR

Initial denature	94 องศาเซลเซียส	2 นาที	
Denature	94 องศาเซลเซียส	30 วินาที	35 รอบ
Annealing	60 องศาเซลเซียส	30 วินาที	
Extension	72 องศาเซลเซียส	30 วินาที	
Final	72 องศาเซลเซียส	5 นาที	

4) Gel electrophoresis เตรียม Agarose 2 เปอร์เซ็นต์ ในสารละลาย TBE buffer 0.5X โดยใช้กระแสไฟฟ้าขนาด 100 V นาน 45 นาที นำข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยาร่วมกับวิธีทางชีวโมเลกุล ในการระบุชนิดของไส้เดือนฝอยซีสต์มันฝรั่ง Potato Cyst nematode

5. ติดตามและตรวจสอบในแปลงปลูกมันฝรั่งภายหลังการนำเข้า

โดยทำการติดตามและตรวจสอบในแปลงปลูกของบริษัทเอกชนหรือเกษตรกรนำเข้าหัวมันฝรั่งในจังหวัด เชียงใหม่ เชียงราย พะเยา ตาก สกลนคร และนครพนม

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม พ.ศ. 2564 ถึง กันยายน พ.ศ. 2566

สถานที่ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สืบค้นข้อมูลไส้เดือนฝอยซีสต์มันฝรั่ง (Potato cyst nematode)

ไส้เดือนฝอยซีตส์มันฝรั่ง (potato cyst nematode; *Globerdera* spp.) ทั้ง 2 ชนิดได้แก่ ไส้เดือนฝอยซีตส์มันฝรั่งชนิด *Globodera rostochiensis* และ *Globodera pallida* นั้นสามารถ

แพร่กระจายระบาดได้ทั้งเขตประเทศอบอุ่นและประเทศเขตร้อน เช่น รัฐนิกริลลิส ในประเทศอินเดีย โดยติดไปกับหัวมันฝรั่ง ไส้เดือนฝอยศัตรูพืชชนิด cyst nematode ในมันฝรั่ง พบการระบาดครั้งแรกที่เทือกเขาแอนดีส (Andes) ในประเทศอเมริกาใต้ แล้วแพร่ระบาดไปยังทวีปยุโรปจากหัวมันฝรั่ง โดยการขนส่งข้ามทวีป และพบว่า cyst nematode สามารถติดมากับส่วนราก ส่วนหัว ของมันฝรั่ง และดินที่ติดระหว่างการขนส่งก่อให้เกิดการระบาดใหม่ในพื้นที่ที่พบว่ามีสภาพภูมิอากาศและพืชอาศัยที่เหมาะสมเพียงพอเอื้อต่อการเพิ่มปริมาณประชากรไส้เดือนฝอยซีตส์มันฝรั่ง และสามารถปนเปื้อนไปกับเครื่องจักรการเกษตร อุปกรณ์ รองเท้า แพร่กระจายได้จากลมพายุหมุนที่พัดนำเอาเศษดินและถุงซีตส์ (cyst) ไปด้วย ทั้งยังสามารถแพร่กระจายไปกับน้ำฝนและระบบน้ำคลองชลประทานได้

ไส้เดือนฝอยซีตส์มันฝรั่งชนิด *G. pallida* นั้นสามารถผลิตไข่ได้สูงสุดถึง 500 ฟองต่อตัว ไข่ที่อยู่ภายในถุงซีสต์ของตัวเต็มวัยเพศเมียสามารถพักตัวอยู่ในดินได้นานหลายปีมากถึง 20 ปีในประเทศเขตหนาว ซึ่งพบว่าปัจจัยที่ส่งผลต่อการฟักออกจากไข่ของตัวอ่อนจะมีปัจัยที่คล้ายคลึงกันกับไส้เดือนฝอยซีตส์มันฝรั่งชนิด *G. rostochiensis* ซึ่งไส้เดือนฝอยทั้งสองชนิดเป็นไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่มีการแพร่กระจายระบาดทำลายมันฝรั่งจากหลายแหล่งทั่วโลกทั้งประเทศเขตอบอุ่นและประเทศเขตร้อน ซึ่งปริมาณความชื้นในดินมีผลต่อการเคลื่อนที่ของตัวอ่อนระยะที่สองเป็นอย่างมากหลังจากฟักออกการไข่ โดยความชื้นในดินมีความสำคัญในการช่วยให้ตัวอ่อนไส้เดือนฝอยเคลื่อนที่เข้าหารากพืชได้สำเร็จ ทั้งยังพบว่าสารอินทรีย์บางชนิดที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากรากพืชเป็นตัวช่วยกระตุ้นให้ไข่ของไส้เดือนฝอยภายในถุงซีตส์เกิดการฟักตัว ยกตัวอย่างเช่น root diffusateสารประกอบอินทรีย์ และอนินทรีย์บางชนิด (Clarke and Hennessy, 1987) พบว่าไส้เดือนฝอยซีตส์มันฝรั่งชนิด *G. pallida* สามารถฟักไข่ที่อุณหภูมิประมาณ 10 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่าได้ โดยสามารถปรับตัวให้เหมาะกับการพัฒนาการของตัวอ่อนที่อุณหภูมิต่ำ 10 องศาเซลเซียส และ 18 องศาเซลเซียส ซึ่งไส้เดือนฝอยซีตส์มันฝรั่งชนิด *G. rostochiensis* จะไม่สามารถพัฒนาการหรือช่วงอุณหภูมิที่ต่ำมากจะไม่เหมาะสมต่อการพัฒนาของตัวอ่อนแต่จะสามารถเจริญเติบโตได้ดีในช่วงอุณหภูมิที่ 15 องศาเซลเซียส ถึง 25 องศาเซลเซียส จำนวนชั่วโมงของแสงสว่างต่อวันก็ส่งผลต่อการฟักไข่ไส้เดือนฝอยเช่นกัน โดยช่วงแสงที่ยาวจะกระตุ้นการฟักไข่ ได้ดีกว่าช่วงแสงสั้น (CABI, 2019)

<u>ไส้เดือนฝอยซีตส์มันฝรั่งชนิด *Globodera rostochiensis*</u> (EPPO, 2024)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Globodera rostochiensis* (Wollenweber, 1923) Skarbilovich, 1959

ชื่อวิทยาศาสตร์ที่พ้องกัน (Synonyms): *Heterodera rostochiensis* Wollenweber *Heterodera schachtii rostochiensis* Wollenweber และ *Globodera schachtii solani* Zimmermann

ชื่อสามัญ (Common Name) Golden nematode, golden potato cyst nematode, yellow potato cyst nematode

ข้อมูลทางอนุกรมวิธาน (Taxonomic information)

Phylum Nematoda

Class Secernentea

Order Tylenchida

Family Heteroderidae

Genus *Globodera*

Species *Globodera rostochiensis*

ไส้เดือนฝอยซีสต์มันฝรั่ง (potato cyst nematodes : PCN) รายงานครั้งแรกโดย Kühn เมื่อปี ค.ศ. 1881 ถูกจัดจำแนกและระบุชื่อวิทยาศาสตร์เป็น *Heterodera schachtii* ซึ่งเป็นไส้เดือนฝอยซีสต์มันฝรั่งชนิดเดียวที่รู้จักในเวลานั้น ต่อมาเมื่อมีการสำรวจและค้นพบไส้เดือนฝอยซีสต์มันฝรั่งอย่างกว้างขวางมากขึ้นในสหภาพยุโรป นักวิทยาศาสตร์จึงเรียกประชากรไส้เดือนฝอยกลุ่มนี้ว่า *H. schachtii* แต่ก็ยังมีนักวิทยาศาสตร์ท่านอื่นที่มีความเชี่ยวชาญด้านมันฝรั่งอย่างเช่น Wollenweber (1923) ทำการศึกษาพบว่ามีความแตกต่างกันของลักษณะทางสัณฐานวิทยาระหว่างไส้เดือนฝอยซีสต์ที่ทำลายมันฝรั่ง กับเข้าทำลายหัวบีทรูท ต่อจากนั้นมีการจัดจำแนกและระบุชนิดไส้เดือนฝอยซีสต์มันฝรั่งชนิดใหม่เป็น *H. rostochiensis* (Subbotin *et al*., 2010) และต่อมาในปี ค.ศ. 1973 ได้มีการจัดจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยซีสต์มันฝรั่งชนิดใหม่เพิ่มคือ *Heterodera pallida* (Stone, 1973a) แต่อย่างไรก็ตามข้อมูลและหลักฐานทางด้านวิทยาศาสตร์ในการจัดจำแนกระบุชนิดยังคงอ้างอิงถึงไส้เดือนฝอยชนิด *H. rostochiensis* sensu lato ซึ่งให้หมายรวมถึงทั้งสองชนิด ดังนั้นจึงไม่สามารถระบุได้แน่ชัดว่าไส้เดือนฝอยชนิดใดที่ถูกอ้างถึงก่อนหน้านี้

ไส้เดือนฝอยซีตส์มันฝรั่งชนิด *Globodera rostochiensis* และ *Globodera pallida* หรือไส้เดือนฝอยซีสต์มันฝรั่ง (potato cyst nematodes) นั้นทำให้เกิดการสูญเสียครั้งใหญ่ในมันฝรั่ง (*Solanum tuberosum*) ซึ่งตัวอ่อนไส้เดือนฝอยระยะที่ 2 เมื่อฟักออกจากไข่จะเคลื่อนที่เข้าหารากพืชอาศัย สำหรับการแพร่กระจายคือ หัวพันธุ์หรือส่วนใต้ดินที่มีการเข้าทำลาย และการเคลื่อนย้ายดิน เช่น ดินที่มีการปนเปื้อนไส้เดือนฝอยติดไปกับเครื่องจักรในฟาร์มไปยังพื้นที่อื่น ๆ ตัวอ่อนระยะที่ 2 เมื่อฟักออกจากไข่จะเข้าไปในรากพืชใกล้ส่วนเจริญของปลายรากโดยการเจาะผนังเซลล์ของพืชด้วยหลอดดูดอาหาร (stylet) ไส้เดือนฝอยจะกระตุ้นให้เซลล์รากขยายตัวและสลายผนังเซลล์พืชให้หลอมรวมเป็นเซลล์ขนาดใหญ่ที่มีลักษณะการเชื่อมต่อกันหลายเซลล์ (syncytium) (Figure 1) ซึ่งเซลล์ที่ผิดปกตินี้จะทำหน้าที่สร้างสารอาหารให้กับตัวไส้เดือนฝอย ต้นมันฝรั่งที่ถูกทำลายจะมีระบบรากที่ลดลงจึงทำให้การลำเลียงน้ำลดน้อยลงส่งผลให้พืชตายได้ในที่สุด

พืชอาศัย

พืชอาศัยของไส้เดือนฝอยศัตรูพืชชนิด *Globodera rostochiensis* นั้นจำกัดอยู่เฉพาะพืชในวงศ์ Solanaceae เท่านั้น และมันฝรั่ง (*Solanum tuberosum*) เป็นพืชอาศัยที่สำคัญที่สุด สำหรับมะเขือเทศ (*S. lycopersicum*) และมะเขือยาว (*S. melongena*) ไม่มีรายงานความเสียหายทางเศรษฐกิจ (EFSA, 2019) พืชตระกูลพริกมะเขือ *Solanum* spp. มากกว่า 130 ชนิด รวมทั้งลูกผสม

และวัชพืช ได้รับการระบุว่าเป็นพืชอาศัยที่มีศักยภาพ เช่นเดียวกับ *Datura*, *Hyoscyamus*, *Lycopersicon*, *Nicotiana*, *Physalis*, *Physochlaina*, *Salpiglossis* และ *Saracha* ทั้งหมดอยู่ในวงศ์ Solanaceae

การแพร่กระจาย

แหล่งกำเนิดครั้งแรกของไส้เดือนฝอยซีสต์มันฝรั่งชนิด *G. pallida* และ *G. rostochiensis* อยู่บริเวณเทือกเขาแอนดีสในประเทศอเมริกาใต้ โดยไส้เดือนฝอยได้ติดมากับหัวมันฝรั่งที่นำเข้ามายังสหภาพยุโรป คาดว่าในช่วงกลางศตวรรษที่ 19 จากนั้นจึงได้แพร่กระจายยังพื้นที่ต่าง ๆ ด้วยหัวพันธุ์มันฝรั่งที่ใช้ปลูก และพบว่าการแพร่กระจายของประชากรไส้เดือนฝอยซัสต์มันฝรั่งในปัจจุบันครอบคลุมในเขตอบอุ่นจนถึงระดับน้ำทะเลและในเขตร้อน

จากการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากรไส้เดือนฝอย *G. rostochiensis* ในประเทศโบลิเวีย ซึ่งเป็นบริเวณแหล่งกำเนิด จากการวิเคราะห์การกระจายตัวของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนในส่วนไมโตรคอนเดรียดีเอ็นเอ (mtDNA) ของประชากร PCN จากทั่วทุกมุมโลก ยืนยันว่าไส้เดือนฝอยทั้งสองชนิด *G. pallida* และ *G. rostochiensis* มีแหล่งกำเนิดที่แตกต่างกันในเทือกเขาแอนดีส ปัจจุบันพบการแพร่กระจายตัวของไส้เดือนฝอย *G. rostochiensis* ดังต่อไปนี้ (Figure 7)

ทวีปยุโรป ได้แก่ประเทศ 1) แอลเบเนีย 2) แอลจีเรีย 3) อาร์เมเนีย 4) ออสเตรีย 5) เบลารุส 6) เบลเยียม 7) บอสเนียและเฮอร์เซโกวีนา 8) บัลแกเรีย 9) โครเอเชีย 10) ไซปรัส 11) สาธารณรัฐเช็ก 12) เดนมาร์ก 13) เอสโตเนีย 14) ฟินแลนด์ 15) ฝรั่งเศส (แผ่นดินใหญ่) 16) จอร์เจีย 17) เยอรมนี 18) กรีซ (แผ่นดินใหญ่ คริติ) 19) ฮังการี, 20) ไอร์แลนด์, 21) อิตาลี (แผ่นดินใหญ่, ซิซิเลีย), 22) คาซัคสถาน, 23) คีร์กีซสถาน, 24) ลัตเวีย, 25) ลิทัวเนีย, 26) ลักเซมเบิร์ก, 27) มอลตา, 28) **เนเธอร์แลนด์**, 29) นอร์เวย์, 30) โปแลนด์, 31) โปรตุเกส (แผ่นดินใหญ่, อะซอเรส, มาเดรา), 32) โรมาเนีย, 33) รัสเซีย (รัสเซียกลาง, ไซบีเรียตะวันออก, ตะวันออกไกล , รัสเซียตอนเหนือ, รัสเซียตอนใต้, ไซบีเรียตะวันตก), 34) เซอร์เบีย, 35) สโลวาเกีย, 36) สโลวีเนีย, 37) สเปน (แผ่นดินใหญ่, อิสลาสบาเลียเรส, อิสลาสคานาเรียส), 38) สวีเดน, 39) สวิตเซอร์แลนด์, 40) ตูนิเซีย, 41) เตอร์กิเย, 42) ยูเครน, 43) **สหราชอาณาจักร** (หมู่เกาะแชนเนล, **อังกฤษ**, ไอร์แลนด์เหนือ, **สกอตแลนด์**)

ทวีปแอฟริกา ได้แก่ประเทศ 1) แอลจีเรีย, 2) อียิปต์, 3) เคนยา, 4) ลิเบีย, 5) รวันดา, 6) แอฟริกาใต้, 7) ตูนิเซีย, 8) ยูกันดา

ทวีปเอเชีย ได้แก่ประเทศ 1) จีน (กุ้ยโจว เสฉวน ยูนนาน) 2) อินเดีย (หิมาจัลประเทศ ชัมมูและแคชเมียร์ ทมิฬนาฑู อุตตราขัณฑ์) 3) อินโดนีเซีย (ชวา สุลาเวสี สุมาตรา) 4) อิหร่าน 5) ญี่ปุ่น (ฮอกไกโด คิวชู) 6) คาซัคสถาน 7) คีร์กีซสถาน 8) เลบานอน 9) โอมาน 10) ปากีสถาน 11) ฟิลิปปินส์ 12) ศรีลังกา 13) ทาจิกิสถาน

ทวีปอเมริกาเหนือ ได้แก่ประเทศ 1) **แคนาดา** (บริติชโคลัมเบีย นิวฟันด์แลนด์ ควิเบก) 2) เม็กซิโก 3) **สหรัฐอเมริกา** (นิวยอร์ก)

ทวีปอเมริกากลางและแคริบเบียน ได้แก่ประเทศ 1) ปานามา

ทวีปอเมริกาใต้ ได้แก่ประเทศ 1) โบลิเวีย, 2) ชิลี, 3) โคลอมเบีย, 4) เอกวาดอร์, 5) เปรู, 6) เวเนซุเอลา

ทวีปโอเชียเนีย ได้แก่ประเทศ 1) **ออสเตรเลีย** (วิกตอเรีย) และ 2) **นิวซีแลนด์** เกาะนอร์ฟอล์ก

ลักษณะทางชีววิทยา

ไส้เดือนฝอย *G. rostochiensis* เป็นไส้เดือนฝอยที่เข้าไปฝังตัวอยู่ในรากพืชโดยไม่มีการเคลื่อนที่ภายในเนื้อเยื่อพืชมีพัฒนาการจนครบชีพจักร (sedentary endoparasite) ตัวอ่อนระยะที่ 2 (J2) ฟักออกจากไข่ที่อยู่ภายในซีสต์ ซึ่งได้รับการกระตุ้นจากสารที่รากพืชผลิตออกมาของพืชอาศัยตระกูล Solanaceae เมื่อตัวอ่อนใช้หลอดดูดอาหารเจาะเข้าสู่เซลล์รากพืชตัวอ่อนจะแทรกซึมเข้าไปในเซลล์และปล่อยสารซึ่งทำให้เซลล์สลายผนังเซลล์และหลอมรวมเป็นเซลล์ที่มีหลายนิวเคลียสขนาดใหญ่ เรียกว่า ซินไซเทียม (syncytium) ซึ่งเกิดจากการละลายของผนังเซลล์ที่อยู่ติดกัน ไส้เดือนฝอยจะฝังตัวตลอดการพัฒนาไปสู่ระยะตัวอ่อน 3 4 และสู่ระยะตัวเต็มวัยเพศเมียหรือเพศผู้ ตัวเมียจะบวมพองจนทะลุถึงผิวชั้นนอกของรากพืชส่วนหัวยังติดอยู่ในรากพืช ตัวเต็มวัยเพศผู้จะออกจากรากและดึงดูดให้ตัวเมียปล่อยฟีโรโมนออกมา ตัวผู้หลายตัวอาจล้อมรอบตัวเมียแต่ละตัวและเกิดการผสมพันธุ์หลายครั้ง ตัวผู้มีชีวิตอยู่เพียงไม่กี่วัน หลังจากการผสมพันธุ์ สำหรับตัวเมียจะยังคงฝังตัวอยู่ที่รากและผลิตไข่ประมาณ 200 - 500 ฟองพัฒนาอยู่ภายใน ลำตัวของตัวเต็มวัยเพศเมียจะมีสีขาวในระยะแรกเมื่อยื่นออกมาจากผิวราก และจะพัฒนาเป็นสีเหลืองทองระยะ 4 - 6 สัปดาห์ เรียกว่า ซีสต์ (cyst) ผนังลำตัวจะพองกลมแข็งและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเพื่อเป็นเกราะปกป้องไข่ที่อยู่ข้างในท้อง และหลุดลงสู่ดิน สำหรับเขตอบอุ่น โดยทั่วไปแล้วไส้เดือนฝอย *G. rostochiensis* จะมีหนึ่งรุ่นต่อปี อย่างไรก็ตาม มีงานวิจัยหลายผลงานที่กล่าวถึงการเกิดขึ้นของไส้เดือนฝอยรุ่นที่สอง โดยไม่ต้องมีการพักตัว ของประชากรตัวอย่างไส้เดือนฝอยในประเทศเคนยา มีวงจรชีวิตสิ้นสุดที่ระยะ 40 - 60 วัน

พบว่าอุณหภูมิของดินมีอิทธิพลต่อพัฒนาการของตัวอ่อนไส้เดือนฝอยและชนิด *G. rostochiensis* สามารถปรับตัวได้ดีกว่าชนิด *G. pallida* ในอุณหภูมิที่อุ่นกว่า สำหรับอุณหภูมิที่เหมาะสมในการฟักไข่เป็นตัวอ่อนระยะที่ 2 อยู่ระหว่าง 15 - 27 องศาเซลเซียส การฟักไข่เริ่มต้นที่อุณหภูมิ 11 องศาเซลเซียส และการสืบพันธุ์ของตัวเต็มวัยที่เหมาะสมที่สุดคือระหว่าง 17.5 - 22.5 องศาเซลเซียส (Jones *et al*., 2017) การฟักไข่ของไส้เดือนฝอยชนิด *G. rostochiensis* จะฟักได้เร็วกว่าชนิด *G. pallida* ในช่วงระยะเวลาที่สั้นกว่าแต่มีจำนวนการฟักได้น้อยกว่าชนิด *G. pallida* (Den)

ซีสต์สามารถคงสภาพอยู่ข้ามฤดูได้เป็นเวลาหลายปี ตัวอ่อนระยะที่ 2 จะมีอัตราการรอดชีวิตที่สั้น (สัปดาห์) เมื่อไม่ได้อาศัยอยู่บนพืชอาศัย และมีการคาดการจากข้อมูลการสำรวจหลายปีพบว่าประชากรไส้เดือนฝอยซีสต์มันฝรั่งจะมีแนวโน้มลดลงตามธรรมชาติที่ระดับ 30 - 35 เปอร์เซนต์ ต่อปี และปัจจุบันจากการศึกษาพบว่าประเภทของดินแหล่งอาศัยส่งผลต่อการลดลงของประชากรไส้เดือนฝอย เช่น ในดินทรายและดินพรุ มีอัตราการลดลงของประชากรโดยเฉลี่ยในปีแรกหลังการปลูกมันฝรั่งจะสูงกว่าดินเหนียวเลนทะเลและดินร่วนมาก (69 เปอร์เซนต์ ต่อ 26 เปอร์เซนต์) ดินเหนียวเลน

ทะเลและดินร่วน ยังพบว่าประชากรของไส้เดือนฝอย *G. rostochiensis* ก็ลดลงช้ากว่าประชากร *G. pallida* เช่นกัน

ลักษณะอาการ

อาการที่เกิดจากไส้เดือนฝอยศัตรูพืชชนิด *G. rostochiensis* ไม่เฉพาะเจาะจง โดยทั่วไปจะพบอาการเจริญเติบโตของพืชในแปลงปลูกแคระแกร็นไม่สม่ำเสอเป็นหย่อมๆ เหลือง เหี่ยวเฉา หรือใบเหลืองซีด รากเน่า แห้งตายในที่สุด หัวของพืชที่ถูกทำลายมีขนาดลดลงผิดปกติ และอาจพบซีสต์กลมสีน้ำตาลติดอยู่ที่หัวหรือระบบรากพืช หากแต่ส่งผลต่อใบพืชกระทบน้อยมาก ทั้งยังกระตุ้นทำให้รากพืชมีการแตกแขนงอย่างกว้างขวาง ทำให้ดินยึดติดกับระบบรากมากขึ้น ในกรณีที่มีการระบาดหนักจะส่งผลให้พืชปลูกเสียหายก่อนระยะเวลาเก็บเกี่ยว

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ไส้เดือนฝอยตัวอ่อนระยะที่ 2 หลังฟักจากไข่มีความยาวลำตัวขนาด 468 (425 – 505) ไมโครเมตร (µm) มีหลอดดูดอาหาร (stylet) ที่ได้พัฒนาสมบูรณ์ความยาว 21.8 (19 - 23) ไมโครเมตร (µm) มีปุ่มกลมเล็กและโค้งมน (stylet knob) กว้าง 3 - 4 ไมโครเมตร (µm) บางครั้งหลอดดูดอาหารแบนไปด้านหน้าเล็กน้อยและปลายแหลม ลักษณะหางของตัวเต็มวัยเพศผู้มีลักษณะโดยทั่วไปคล้ายคลึงกัน โดยเฉลี่ยแล้วจะมีความยาวประมาณ 1,200 ไมโครเมตร (µm) โดยมีปลายหางที่สั้นและแหลม ตัวเต็มวัยเพศเมียมีสีขาวหรือสีครีมและทรงกลม มีส่วนคอยื่นออกมา เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 445 µm ซีสต์ (cyst) มีลักษณะกลมมนเรียบ ไม่มีกรวยปลาย มีผิวสีแทน บริเวณช่องเปิดอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย (Vulva) ประกอบด้วยเส้นรอยย่นของผนังลำตัวรอบ ๆ ช่องเปิดทวาร (Anun) และช่องเปิดอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย (Vulva) (Ridges between Anus and Vulval Basin) ระหว่าง 16 - 31 เส้น (Ridges) ซึ่งโดยทั่วไปจะสูงกว่า 14 อัตราส่วนของ Granek (Granek’s Raito) คือ 1.3 - 9.5 โดยทั่วไปจะสูงกว่า 3 ได้ ซึ่งลักษณะสัณฐานวิทยาข้างต้นสามารถใช้ในการประกอบการระบุชนิดของไส้เดือนฝอยซีสต์มันฝรั่งได้

การจำแนกทางสัณฐานวิทยาของไส้เดือนฝอย PCN 3 ชนิด (species) ที่คล้ายคลึงกันได้แก่ *G. pallida*, *G. rostochiensis* และ *G. ellingtonae* ต้องเป็นบุคคลที่ได้รับการฝึกอบรมมาเป็นอย่างดีเท่านั้น โดยคำนึงถึงความแปรผันภายในสูงและการทับซ้อนกันระหว่างชนิด จำเป็นต้องตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาและรูปร่าง ซึ่งรวมถึงจำนวนรอยตัดระหว่างทวารหนักและเฟเนสตรา อัตราส่วนของ Granek’s Ratio ความยาวของสไตเล็ต (stylet) และรูปร่างของปุ่มสไตเล็ต *G. rostochiensis* แตกต่างจาก *G. pallida* เนื่องจากมีสีเหลืองมากกว่าตัวเมียสีขาว ความยาวของ stylet J2 สั้นกว่า (22 ต่อ 24 µm) stylet knob ที่แคบกว่า (กว้าง 3 - 4 กับ 4 - 5 µm) และ stylet knob ที่แตกต่างกัน รูปร่างขนาดเล็กและโค้งมน

ลักษณะการแพร่กระจาย

ไส้เดือนฝอย *G. rostochiensis* มีศักยภาพในการเคลื่อนที่ตามธรรมชาติอย่างจำกัด ตัวอ่อนระยะที่ 2 ซึ่งเป็นระยะการเข้าทำลายพืชและสามารถเคลื่อนที่ในระยะทางสั้น ๆ ในดินได้โดยอาศัยสาร

ดึงดูดที่ปลดปล่อยจากรากพืช เคลื่อนที่ได้ระยะทางมากสุดเพียง 1 เมตรต่อปี และตัวซีสต์สามารถกระจายไปยังแปลงปลูกที่อยู่ติดกันได้ด้วยลมหรือน้ำ การแพร่กระจายที่สำคัญคือหัวมันฝรั่งที่ติดเชื้อไส้เดือนฝอย และการเคลื่อนย้ายของดินที่ปนเปื้อนติดไปบนพืชที่ไม่ใช่พืชอาศัย เช่น พืชสำหรับปลูกเรือนเพาะชำ และหัวดอกไม้ เครื่องจักรในฟาร์ม เครื่องเก็บหัวมันฝรั่ง หรือชิ้นส่วนอื่น ๆ ของพืชที่เพาะปลูกสำหรับบริโภคหรือแปรรูป

ผลกระทบทางด้านเศรษฐกิจ

ไส้เดือนฝอยซีสต์มันฝรั่งจัดเป็นศัตรูพืชหลักของการปลูกมันฝรั่งในประเทศเขตหนาวและเขตอบอุ่น มีการประเมินการสูญเสียในยุโรปที่ 9 เปอร์เซนต์ ของการผลิตมันฝรั่งทั้งหมด และในพื้นที่ปลูกมันฝรั่งอื่น ๆ ที่ใช้กลยุทธ์การควบคุมน้อยหรือไม่มีเลย อาจเกิดการสูญเสียเกือบทั้งหมดได้ ความเสียหายที่เกิดขึ้นกับหัวมันฝรั่งขนาดและน้ำหนักต่อหัวของมันฝรั่งที่ผลิตได้ ซึ่งมีความสัมพันธ์กันกับจำนวนไข่ไส้เดือนฝอยต่อหน่วยดิน มีการประมาณกันว่ามันฝรั่งจะสูญเสียไปประมาณ 2 ตันต่อเฮกตาร์ต่อไข่ 20 ฟองต่อกรัมของดิน ผลผลิตสามารถสูญเสียได้ถึง 80 เปอร์เซนต์ เพราะจำนวนประชากรไส้เดือนฝอยที่เพิ่มขึ้นสู่ระดับที่สูงมากเนื่องจากการปลูกมันฝรั่งแปลงเดิมหลายรอบ หากเกณฑ์การตรวจพบซีสต์ในอัตรา 1-2 ฟองต่อกรัมดิน ในดินแปลงปลูก อาจไม่ทำให้เกิดความเสียหายมากนักกับผลผลิตและยังขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมและระดับความทนทานของสายพันธุ์มังฝรั่งที่ปลูก นอกจากการสูญเสียผลผลิตแล้ว ยังมีผลกระทบทางอ้อมเนื่องจากต้นทุนในการควบคุมและมาตรการสุขอนามัยพืชอีกด้วย ในสหภาพยุโรปมีเครื่องมือสำหรับช่วยการตัดสินใจบนระบบออนไลน์ว่า 'Nemadecide' ที่ได้รับการพัฒนามาเพื่อช่วยให้เกษตรกรผู้ปลูกมันฝรั่งสามารถรักษาระดับของประชากรไส้เดือนฝอย PCN ให้อยู่ในระดับความหนาแน่นที่ต่ำและยอมรับได้ในเชิงเศรษฐกิจ

การควบคุมไส้เดือนฝอย

การควบคุมไส้เดือนฝอยซีสต์มันฝรั่งโดยวิธีการปลูกพืชหมุนเวียนติดต่อกันหลายปีพบว่าจำนวนประชากรไส้เดือนฝอยลดลงจนถึงระดับต่ำกว่าเกณฑ์ความเสียหาย ซึ่งมีหลักเกณฑ์คำแนะนำทั่วไปคืองดปลูกมันฝรั่งเป็นเวลา 6-7 ปี สำหรับแนวทางปฏิบัติในการจัดการในสภาพแปลงเพื่อจำกัดจำนวนประชากรไส้เดือนฝอย ได้แก่ การใช้มันฝรั่งพันธุ์ต้านทานโรคและปลูกพืชดักจับล่อไส้เดือนฝอย เช่น ปลูกต้น sticky nightshade (*S. sisymbriifolium*) เทคนิคการรมควัน ปล่อยขังในแปลงปลูกหรือการทำลายต้นมันฝรั่งที่อ่อนแอก่อนก่อนการพัฒนาครบวงจรชีวิตไส้เดือนฝอยจะสิ้นสุดลง นอกจากนี้ การจัดการฟาร์มหรือแปลงปลูกที่ดี รวมถึงการล้างทำความสะอาดอุปกรณ์และเครื่องจักรในการทำงาน พร้อมกับการสำรวจประชากรไส้เดือนฝอย PCN เป็นประจำ และการใช้พันธุ์มันฝรั่งที่ต้านทานอย่างมีประสิทธิภาพ

ในทศวรรษที่ผ่านมามีความก้าวหน้าอย่างมากในการปรับปรุงพันธุ์มันฝรั่งให้ต้านทานต่อไส้เดือนฝอย *G. rostochiensis* ที่มียีนต้านทานต่อไส้เดือนฝอยคือ ยีนส์ Gro1.2, Gro1.3, Gro1.4 และ Grp1หรือ ชุดยีนส์ H1, Gro1, และ GroVI ซึ่งยีนส์ H1 ได้รับการแนะนำอย่างกว้างขวางในพันธุ์มันฝรั่งเชิงพาณิชย์จำนวนมาก

ไส้เดือนฝอยซีตส์มันฝรั่งชนิด *Globodera pallida* (EPPO, 2024)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Globodera pallida* Stone 1973

ชื่อวิทยาศาสตร์ที่พ้องกัน (Synonyms): *Globodera pallida* (Stone, 1973) Behrens, 1975 *Heterodera pallida* Stone, 1973

ชื่อสามัญ (Common Name) pale potato cyst nematode, white potato cyst nematode

ข้อมูลทางอนุกรมวิธาน (Taxonomic information)

Phylum Nematoda

Class Secernentea

Order Tylenchida

Family Heteroderidae

Genus *Globodera*

Species *Globodera pallida*

ไส้เดือนฝอยมันซีสต์ฝรั่ง (potato cyst nematode: PCN) ชนิด *Heterodera pallida* มีรายงานครั้งแรกในปี ค.ศ. 1973 (พ.ศ. 2516) จากแปลงปลูกมันฝรั่งในรัฐลินคอล์นเชียร์ ประเทศอังกฤษ (Stone, 1973a) โดยก่อนหน้านั้นข้อมูลเชิงสัณฐานวิทยาจะอ้างอิงจากชนิด *H. rostochiensis* sensu lato ซึ่งรวมถึงทั้งสองชนิด (species) ดังนั้นจึงไม่อาจสรุปได้แน่ชัดว่าการค้นพบชนิดใดก่อนหลัง และได้มีการระบุชื่อสกุล (*Genus*) ใหม่ที่ใช้เรียกไส้เดือนฝอยกลุ่มที่สร้าง ถุงซีสต์กลมว่า สกุล *Globodera* Behrens (1975) อ้างถึง (Mulvey and Stone, 1976) จากการศึกษาทางด้านพันธุ์ศาสตร์ประชากรของไส้เดือนฝอยชนิด *Globodera pallida* จากยุโรป อเมริกาใต้ และภูมิภาคอื่น ๆ พบว่ามีความแตกต่างกันระหว่างประชากร ซึ่งสอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Picard และคณะ (2007) ที่ระบุว่าประชากรไส้เดือนฝอย *G. pallida* จากแหล่งอเมริกาใต้มีความหลากหลายทางพันธุกรรมมากและเรียกกลุ่มประชากรนี้ว่า “pallida Chilean type” และยังพบอีกว่ามีสองกลุ่มประชากร ที่มีความหลากหลายและแปรปรวนทางพันธุกรรมสูง ซึ่งบ่งชี้ว่าประชากรดังกล่าวที่ถูกระบุว่าเป็นไส้เดือนฝอยชนิด *G. pallida* อาจเป็นไส้เดือนฝอยซีสต์มันฝรั่งอีกชนิดเป็นได้ ซึ่งผลจากการศึกษายังคงต้องการข้อมูลทางด้านอนุกรมวิธานด้านสัณฐานวิทยาและพฤติกรรมเพิ่มเติม พร้อมด้วยข้อมูลทางด้านรหัสพันธุกรรมดีเอ็นเอ เพื่อใช้ในการจัดจำแนกและระบุชนิดต่อไป

พืชอาศัย

พืชอาศัยของไส้เดือนฝอยซีสต์มันฝรั่ง *G. pallida* ยังคงจำเพาะเฉพาะพืชในวงศ์ Solanaceae เท่านั้น โดยมันฝรั่ง (*Solanum tuberosum*) ระบุเป็นพืชอาศัยที่สำคัญที่สุด สำหรับมะเขือเทศ (*S. Lycopersicum*) และสำหรับการเข้าทำลายต้นมะเขือ (*S. melongena*) ยังไม่พบรายงานความเสียหายทางเศรษฐกิจ พืชตระกูลพริกมะเขือ *Solanum* spp. มากกว่า 130 ชนิด

เช่นเดียวกับ *Datura, Hyoscyamus, Lycopersicon, Physalis, Physochlaina, Salpiglossis* และ *Saracha* ทั้งหมดอยู่ในวงศ์ Solanaceae

การแพร่กระจาย

แหล่งกำเนิดครั้งแรกของไส้เดือนฝอยซีสต์มันฝรั่งชนิด *G. pallida* และ *G. rostochiensis* อยู่บริเวณเทือกเขาแอนดีสในประเทศอเมริกาใต้ โดยไส้เดือนฝอยได้ติดมากับหัวมันฝรั่งที่นำเข้ามายังสหภาพยุโรป คาดว่าในช่วงกลางศตวรรษที่ 19 จากนั้นจึงได้แพร่กระจายยังพื้นที่ต่าง ๆ ด้วยหัวพันธุ์มันฝรั่งที่ใช้ปลูก และพบว่าการแพร่กระจายของประชากรไส้เดือนฝอยซัสต์มันฝรั่งในปัจจุบันครอบคลุมในเขตอบอุ่นจนถึงระดับน้ำทะเลและในเขตร้อน

จากการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากรไส้เดือนฝอย *G. rostochiensis* ในประเทศโบลิเวีย ซึ่งเป็นบริเวณแหล่งกำเนิด จากการวิเคราะห์การกระจายตัวของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนในส่วนไมโตรคอนเดรียดีเอ็นเอ (mtDNA) ของประชากร PCN จากทั่วทุกมุมโลกยืนยันว่าไส้เดือนฝอยทั้งสองชนิด *G. pallida* และ *G. rostochiensis* มีแหล่งกำเนิดที่แตกต่างกันในเทือกเขาแอนดีส ปัจจุบันพบการแพร่กระจายตัวของไส้เดือนฝอย *G. rostochiensis* ดังต่อไปนี้ (Figure 8)

ทวีปยุโรป ได้แก่ประเทศ 1) แอลจีเรีย 2) ออสเตรีย 3) เบลเยียม 4) บอสเนียและเฮอร์เซโกวีนา 5) บัลแกเรีย 6) โครเอเชีย 7) ไซปรัส 8) สาธารณรัฐเช็ก 9) เดนมาร์ก 10) เอสโตเนีย 11) ฟินแลนด์ 12) ฝรั่งเศส (แผ่นดินใหญ่) 13) เยอรมนี 14) กรีซ (แผ่นดินใหญ่ ครีต) 15) ฮังการี 16) ไอร์แลนด์ 17) อิตาลี (แผ่นดินใหญ่, ซิซิลี), 18) ลัตเวีย, 19) ลิทัวเนีย, 20) ลักเซมเบิร์ก, 21) มอลตา, 22) โมร็อกโก, 23) เนเธอร์แลนด์, 24) นอร์เวย์, 25) โปรตุเกส (แผ่นดินใหญ่, มาเดรา), 26) โรมาเนีย, 27) เซอร์เบีย, 28) สโลวาเกีย, 29) สเปน (แผ่นดินใหญ่, 30) หมู่เกาะแบลีแอริก, หมู่เกาะคานารี), 31) สวีเดน, 32) สวิตเซอร์แลนด์, 33) ตูนิเซีย, 34) ตุรกี, 35) ยูไนเต็ด ราชอาณาจักร (หมู่เกาะแชนเนล อังกฤษ ไอร์แลนด์เหนือ สกอตแลนด์ เวลส์)

ทวีปแอฟริกา ได้แก่ประเทศ 1) แอลจีเรีย 2) เคนยา 3) โมร็อกโก 4) ตูนิเซีย

ทวีปเอเชีย ได้แก่ประเทศ 1) อินเดีย (หิมาจัลประเทศ ชัมมูและแคชเมียร์ เกรละ ทมิฬนาฑู อุตตราขัณฑ์) 2) ญี่ปุ่น (ฮอกไกโด) 3) ปากีสถาน

ทวีปอเมริกาเหนือ ได้แก่ประเทศ 1) แคนาดา (นิวฟันด์แลนด์) 2) สหรัฐอเมริกา (ไอดาโฮ)

ทวีปอเมริกากลางและแคริบเบียน ได้แก่ประเทศ 1) คอสตาริกา 2) ปานามา

ทวีปอเมริกาใต้ ได้แก่ประเทศ 1) โบลิเวีย 2) ชิลี 3) โคลอมเบีย 4) เอกวาดอร์ หมู่เกาะฟอล์กแลนด์ 5) เปรู 6)เวเนซุเอลา

ทวีปโอเชียเนีย ได้แก่ประเทศ 1) นิวซีแลนด์

ลักษณะทางชีววิทยา

ไส้เดือนฝอย *G. pallida* เป็นไส้เดือนฝอยที่เข้าไปฝังตัวอยู่ในรากพืชโดยไม่มีการเคลื่อนที่ภายในเนื้อเยื่อพืชมีพัฒนาการจนครบชีพจักร (sedentary endoparasite) ตัวอ่อนระยะที่ 2 (J2) ฟัก

ออกจากไข่ที่อยู่ภายในซีสต์ ซึ่งได้รับการกระตุ้นจากสารที่รากพืชผลิตออกมาของพืชอาศัยตระกูล Solanaceae เมื่อตัวอ่อนใช้หลอดดูดอาหารเจาะเข้าสู่เซลล์รากพืชตัวอ่อนจะแทรกซึมเข้าไปในเซลล์และปล่อยสารซึ่งทำให้เซลล์สลายผนังเซลล์และหลอมรวมเป็นเซลล์ที่มีหลายนิวเคลียสขนาดใหญ่เรียกว่า ซินไซเทียม (syncytium) ซึ่งเกิดจากการละลายของผนังเซลล์ที่อยู่ติดกัน ไส้เดือนฝอยจะฝังตัวตลอดการพัฒนาไปสู้ระยะตัวอ่อน 3 4 และสู่ระยะตัวเต็มวัยเพศเมียหรือเพศผู้ (Figure 1) ตัวเมียจะบวมพองจนทะลุถึงผิวชั้นนอกของรากพืชส่วนหัวยังติดอยู่ในรากพืช ตัวเต็มวัยเพศผู้จะออกจากรากและดึงดูดให้ตัวเมียปล่อยฟีโรโมนออกมา ตัวผู้หลายตัวอาจล้อมรอบตัวเมียแต่ละตัวและเกิดการผสมพันธุ์หลายครั้ง ตัวผู้มีชีวิตอยู่เพียงไม่กี่วัน หลังจากการผสมพันธุ์ สำหรับตัวเมียจะยังคงฝังตัวอยู่ที่รากและผลิตไข่ประมาณ 200 - 500 ฟองพัฒนาอยู่ภายใน ลำตัวของตัวเต็มวัยเพศเมียจะมีสีขาวในระยะแรกเมื่อยื่นออกมาจากผิวราก และจะพัฒนาเป็นสีเหลืองทองระยะ 4 - 6 สัปดาห์ เรียกว่า ซีสต์ (cyst) ผนังลำตัวจะพองกลมแข็งและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเพื่อเป็นเกราะปกป้องไข่ที่อยู่ข้างในท้อง และหลุดลงสู่ดิน สำหรับเขตอบอุ่น โดยทั่วไปแล้วไส้เดือนฝอย *G. rostochiensis* จะมีหนึ่งรุ่นต่อปี อย่างไรก็ตาม มีงานวิจัยหลายผลงานที่กล่าวถึงการเกิดขึ้นของไส้เดือนฝอยรุ่นที่สอง โดยไม่ต้องมีการพักตัว ของประชากรตัวอย่างไส้เดือนฝอยในประเทศเคนยา มีวงจรชีวิตสิ้นสุดที่ระยะ 40 - 60 วัน

พบว่าอุณหภูมิของดินมีอิทธิพลต่อพัฒนาการของตัวอ่อนไส้เดือนฝอยและชนิด *G. rostochiensis* สามารถปรับตัวได้ดีกว่าชนิด *G. pallida* ในอุณหภูมิที่อุ่นกว่า สำหรับอุณหภูมิที่เหมาะสมในการฟักไข่เป็นตัวอ่อนระยะที่ 2 อยู่ระหว่าง 15 - 27 องศาเซลเซียส การฟักไข่เริ่มต้นที่อุณหภูมิ 11 องศาเซลเซียส และการสืบพันธุ์ของตัวเต็มวัยที่เหมาะสมที่สุดคือระหว่าง 17.5 - 22.5 องศาเซลเซียส การฟักไข่ของไส้เดือนฝอยชนิด *G. rostochiensis* จะฟักได้เร็วกว่าชนิด *G. pallida* ในช่วงระยะเวลาที่สั้นกว่าแต่มีจำนวนการฟักได้น้อยกว่าชนิด *G. pallida*

ซีสต์สามารถคงสภาพอยู่ข้ามฤดูได้เป็นเวลาหลายปี ตัวอ่อนระยะที่ 2 จะมีอัตราการรอดชีวิตที่สั้น (สัปดาห์) เมื่อไม่ได้อาศัยอยู่บนพืชอาศัย และมีการคาดการจากข้อมูลการสำรวจหลายปีพบว่าประชากรไส้เดือนฝอยซีสต์มันฝรั่งจะมีแนวโน้มลดลงตามธรรมชาติที่ระดับ 30 - 35% ต่อปี และปัจจุบันจากการศึกษาพบว่าประเภทของดินแหล่งอาศัยส่งผลต่อการลดลงของประชากรไส้เดือนฝอย เช่น ในดินทรายและดินพรุ มีอัตราการลดลงของประชากรโดยเฉลี่ยในปีแรกหลังการปลูกมันฝรั่งจะสูงกว่าดินเหนียวเลนทะเลและดินร่วนมาก (69 เปอร์เซนต์ ต่อ 26 เปอร์เซนต์) ดินเหนียวเลนทะเลและดินร่วน ยังพบว่าประชากรของไส้เดือนฝอย *G. rostochiensis* ก็ลดลงช้ากว่าประชากร *G. pallida* เช่นกัน

ลักษณะอาการ

อาการที่เกิดจากไส้เดือนฝอยศัตรูพืชชนิด *G. rostochiensis* ไม่เฉพาะเจาะจง โดยทั่วไปจะพบอาการเจริญเติบโตของพืชในแปลงปลูกแคระแกร็นไม่สม่ำเสอเป็นหย่อมๆ เหลือง เหี่ยวเฉา หรือใบเหลืองซีด รากเน่า แห้งตายในที่สุด หัวของพืชที่ถูกทำลายมีขนาดลดลงผิดปกติ และอาจพบซีสต์กลมสีน้ำตาลติดอยู่ที่หัวหรือระบบรากพืช หากแต่ส่งผลต่อใบพืชกระทบน้อยมาก ทั้งยังกระตุ้นทำให้

รากพืชมีการแตกแขนงอย่างกว้างขวาง ทำให้ดินยึดติดกับระบบรากมากขึ้น ในกรณีที่มีการระบาดหนักจะส่งผลให้พืชปลูกเสียหายก่อนระยะเวลาเก็บเกี่ยว

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ไส้เดือนฝอยตัวอ่อนระยะที่ 2 หลังฟักจากไข่มีความยาวลำตัวขนาด 484 (440 – 525) ไมโครเมตร (µm) มีหลอดดูดอาหาร (stylet) ที่ได้พัฒนาสมบูรณ์ความยาว 23.8 (22 - 24) ไมโครเมตร (µm) มีปุ่มกลมเล็กและโค้งมน (stylet knob) กว้าง 4 - 5 ไมโครเมตร (µm) บางครั้งหลอดดูดอาหารแบนไปด้านหน้าเล็กน้อยและปลายแหลม ลักษณะหางของตัวเต็มวัยเพศผู้มีลักษณะโดยทั่วไปคล้ายคลึงกัน โดยเฉลี่ยแล้วจะมีความยาวประมาณ 1,200 ไมโครเมตร (µm) โดยมีปลายหางที่สั้นและแหลม ตัวเต็มวัยเพศเมียมีสีขาวหรือสีครีมและทรงกลม มีส่วนคอยื่นออกมา เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 450 µm ซีสต์ (cyst) มีลักษณะกลมมนเรียบ ไม่มีกรวยปลาย มีผิวสีแทน บริเวณช่องเปิดอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย (Vulva) ประกอบด้วยเส้นรอยย่นของผนังลำตัวรอบ ๆ ช่องเปิดทวาร (Anun) และช่องเปิดอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย (Vulva) (Ridges between Anus and Vulval Basin) ระหว่าง 8 - 20 เส้น (Ridges) ซึ่งโดยทั่วไปจะต่ำกว่า 14 Ridges อัตราส่วนของ Granek (Granek's Raito) คือ 1.2 - 3.5 โดยทั่วไปจะต่ำกว่า 3 ซึ่งลักษณะสัณฐานวิทยาข้างต้นสามารถใช้ในการประกอบการระบุชนิดของไส้เดือนฝอยซีสต์มันฝรั่งได้

การจำแนกทางสัณฐานวิทยาของไส้เดือนฝอย PCN 3 ชนิด (species) ที่คล้ายคลึงกันได้แก่ *G. pallida*, *G. rostochiensis* และ *G. ellingtonae* ต้องเป็นบุคคลที่ได้รับการฝึกอบรมมาเป็นอย่างดีเท่านั้น โดยคำนึงถึงความแปรผันภายในสูงและการทับซ้อนกันระหว่างชนิด จำเป็นต้องตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาและรูปร่าง ซึ่งรวมถึงจำนวนรอยตัดระหว่างทวารหนักและเฟนเนสตรา อัตราส่วนของ Granek's Ratio ความยาวของสไตเล็ต (stylet) และรูปร่างของปุ่มสไตเล็ต *G. pallida* แตกต่างจาก *G. rostochiensis* ตัวเต็มวัยเพศเมียมีสีขาวมากกว่าสีเหลือง ความยาวของ stylet J2 ยาวกว่า (24 ต่อ 22 µm) stylet knob และ stylet knob ทรงเหลี่ยมไม่โค้งมน

ผลกระทบทางเศรษฐกิจ

ไส้เดือนฝอยซีสต์มันฝรั่งจัดเป็นศัตรูพืชหลักของการปลูกมันฝรั่งในประเทศเขตหนาวและเขตอบอุ่น มีการประเมินการสูญเสียในยุโรปที่ 9 เปอร์เซนต์ ของการผลิตมันฝรั่งทั้งหมด และในพื้นที่ปลูกมันฝรั่งอื่น ๆ ที่ใช้กลยุทธ์การควบคุมน้อยหรือไม่มีเลย อาจเกิดการสูญเสียเกือบทั้งหมดได้ พบว่าสายพันธุ์มันฝรั่งที่นิยมปลูกในปัจจุบันไม่ต้านทานต่อการเข้าทำลายไส้เดือนฝอยซีสต์มันฝรั่งชนิด *G. pallida* โดยความเสียหายที่เกิดขึ้นกับหัวมันฝรั่งขนาดและน้ำหนักต่อหัวของมันฝรั่งที่ผลิตได้นั้น มีความสัมพันธ์กันกับจำนวนไข่ไส้เดือนฝอยต่อหน่วยดิน มีการประมาณกันว่ามันฝรั่งจะสูญเสียไปประมาณ 2 ตันต่อเฮกตาร์ต่อไข่ 20 ฟองต่อกรัมของดิน ผลผลิตสามารถสูญเสียได้ถึง 80 เปอร์เซนต์ เพราะจำนวนประชากรไส้เดือนฝอยที่เพิ่มขึ้นสู่ระดับที่สูงมากเนื่องจากการปลูกมันฝรั่งแปลงเดิมหลายรอบ หากเกณฑ์การตรวจพบซีสต์ในอัตรา 1-2 ฟองต่อกรัมดิน ในดินแปลงปลูก อาจไม่ทำให้เกิดความเสียหายมากนักกับผลผลิตและยังขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมและระดับความทนทานของสายพันธุ์มังฝรั่ง

ที่ปลูก นอกจากการสูญเสียผลผลิตแล้ว ยังมีผลกระทบทางอ้อมเนื่องจากต้นทุนในการควบคุมและมาตรการสุขอนามัยพืชอีกด้วย ในสหภาพยุโรปมีเครื่องมือสำหรับช่วยการตัดสินใจบนระบบออนไลน์ว่า 'Nemadecide' ที่ได้รับการพัฒนามาเพื่อช่วยให้เกษตรกรผู้ปลูกมันฝรั่งสามารถรักษาระดับของประชากรไส้เดือนฝอย PCN ให้อยู่ในระดับความหนาแน่นที่ต่ำและยอมรับได้ในเชิงเศรษฐกิจ

การควบคุมไส้เดือนฝอย

การควบคุมไส้เดือนฝอยซีสต์มันฝรั่งโดยวิธีการปลูกพืชหมุนเวียนติดต่อกันหลายปีพบว่าจำนวนประชากรไส้เดือนฝอยลดลงจนถึงระดับต่ำกว่าเกณฑ์ความเสียหาย ซึ่งมีหลักเกณฑ์คำแนะนำทั่วไปคืองดปลูกมันฝรั่งเป็นเวลา 6 - 7 ปี สำหรับแนวทางปฏิบัติในการจัดการในสภาพแปลงเพื่อจำกัดจำนวนประชากรไส้เดือนฝอย ได้แก่ การใช้มันฝรั่งพันธุ์ต้านทานโรคและปลูกพืชดักจับล่อไส้เดือนฝอย เช่น ปลูกต้น sticky nightshade (*S. sisymbriifolium*) เทคนิคการรมควัน ปล่อยขังในแปลงปลูก หรือการทำลายต้นมันฝรั่งที่อ่อนแอก่อนก่อนการพัฒนาครบวงจรชีวิตไส้เดือนฝอยจะสิ้นสุดลง นอกจากนี้ การจัดการฟาร์มหรือแปลงปลูกที่ดี รวมถึงการล้างทำความสะอาดอุปกรณ์และเครื่องจักรในการทำงาน การสำรวจประชากรไส้เดือนฝอย PCN เป็นประจำ และการใช้พันธุ์มันฝรั่งที่ต้านทานอย่างมีประสิทธิภาพ

ในทศวรรษที่ผ่านมามีการพัฒนาสายพันธุ์มันฝรั่งให้ต้านทานต่อไส้เดือนฝอยได้ แต่การปรับปรุงพันธุ์ให้มียีนเด่นเพียงยีนเดียวทำได้ยากมากประกอบกับความหลากหลายทางด้านพันธุกรรมของไส้เดือนฝอยชนิด *G. pallida* สูง และไม่มียีนต้านทานเพียงยีนเดียวที่สามารถมีกลไกการต้านทานได้อย่างสมบูรณ์ ไม่เหมือนกับยีนต้านทาน H1 ที่สามารถยับยั้งไส้เดือนฝอย *G. rostochiensis* ได้เพียงชนิดเดียว ปัจจุบันสายพันธุ์มันฝรั่งที่มีระดับความต้านทานปานกลางถึงสูง เช่น สายพันธุ์ Innovator, Arsenal และ Ivetta อย่างไรก็ตามสายพันธุ์ Inovator ไม่เป็นที่นิยมมากนักเนื่องจากมีระดับความสามารถในการต้านทานต่อไส้เดือนฝอยลดลงเมื่อประชากรไส้เดือนฝอยเริ่มเพิ่มมากขึ้นในแปลงปลูก และการปลูกมันฝรั่งในยุโยปเพื่อนำไปแปรรูปนั้นจะปลูกสายพันธุ์ Innovator และ Arsenal สำหรับสายพันธุ์ Ivetta เหมาะสำหรับบริโภคประกอบอาหาร

2. การสุ่มเก็บตัวอย่าง

จากการสุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจากทุกประเทศตามมาตรฐาน ISPM 31 (Methodologies for sampling of consignments) โดยทำการสุ่มตัวอย่างจากด่านตรวจพืชจำนวน 600 หัวต่อครั้ง ได้แก่ ด่านตรวจพืชลาดกระบังและด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิที่มีการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งที่มีการนำเข้าจากต่างประเทศระหว่างปี พ.ศ. 2564 ถึง พ.ศ. 2566 มีการนำเข้าจาก 6 ประเทศ ได้แก่ มีการนำเข้าจาก 6 ประเทศ ได้แก่ 1) เครือรัฐออสเตรเลีย นำเข้าจำนวน 49 ครั้ง น้ำหนักรวม 4,316,320,000.00 กิโลกรัม 2) แคนาดา นำเข้าจำนวน 10 ครั้ง น้ำหนักรวม 2,349,000,000.00 กิโลกรัม 3) ราชอาณาจักรเนเธอร์แลนด์ นำเข้าจำนวน 7 ครั้ง น้ำหนักรวม 337,500,000.00 กิโลกรัม 4) ราชอาณาจักรนิวซีแลนด์ นำเข้าจำนวน 3 ครั้ง น้ำหนักรวม

175,000,000.00 กิโลกรัม 5) ราชอาณาจักรสกอตแลนด์ นำเข้าจำนวน 62 ครั้ง น้ำหนักรวม 12,422,750,000.00 กิโลกรัม และ 6) สหรัฐอเมริกา นำเข้าจำนวน 3 ครั้ง น้ำหนักรวม 390 กิโลกรัม

3. วิธีการแยกและตรวจวินิจฉัยไส้เดือนฝอย Potato cyst nematode

วิธีการแยกไส้เดือนฝอย Potato cyst nematode มีหลายวิธีดังนี้ แยกสกัดตัวอ่อนและตัวเต็มวัยตามกรรมวิธีมาตรฐาน Nematode extraction ของหน่วยงาน EPPO (2013) ซึ่งวิธีแยกสกัดไส้เดือนฝอยซีตส์มันฝรั่งจากหัวพันธุ์มันฝรั่งด้วยวิธี Maceration และ centrifugal flotation (Coolen and D'Herde, 1972) และ วิธีแยกสกัดถุง cyst ของไส้เดือยฝอยตัวเต็มวัยเพศเมีย potato cyst nematode ออกจากดินที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งด้วยวิธี Centrifugal flotation method (Caveness and Jensen, 1955) ร่วมกับการใช้สารละลายน้ำตาล ผลการแยกไส้เดือยฝอยศัตรูพืชจากหัวมันฝรั่งและเศษดินที่ติดมากับหัวพันธุ์จากตัวอย่างนำเข้าตามกรรมวิธีของ EPPO (2017) และนำไปตรวจสอบจัดจำแนกชนิดด้วยลักษณะสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์เบื้องต้นจากตัวอย่างหัวพันธุ์ที่นำเข้าและตัวอย่างดินจากแปลงปลูกไม่พบตัวอ่อนไส้เดือนฝอยสกุล *Globodera* spp. หากตรวจพบตัวอ่อนหรือตัวเต็มวัยของไส้เดือนฝอยสกุลดังกล่าวจึงนำไปตรวจสอบขั้นละเอียดด้วยการสกัดดีเอ็นเอและนำไปเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์ที่จำเพาะเจาะจงด้วยเทคนิค PCR สรุปผลและระบุชนิดไส้เดือนฝอยจากข้อมูลทางสัณฐานวิทยาร่วมกับเทคนิค Multiplex-PCR หากตรวจพบไส้เดือนฝอยซีตส์มันฝรั่งศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย จักต้องดำเนินการควบคุมกำกับดูแลโดยอาศัยอำนาจตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ.2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดย พ.ร.บ. กักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ.2542 และ พ.ร.บ. กักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ.2551 เพื่อป้องกันมิให้ศัตรูพืชกักกันดังกล่าวติดเข้ามากับหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้า และแพร่ระบาดกับพืชอาศัยภายในประเทศ

4. ติดตามและตรวจสอบในแปลงปลูกมันฝรั่งภายหลังการนำเข้า

ผลการติดตามและตรวจสอบในแปลงปลูกมันฝรั่งภายหลังการนำเข้าในพื้นที่แปลงปลูก อำเภอ เวียงป่าเป้า อำเภอ เทิง จังหวัดเชียงราย อำเภอ แม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่ อำเภอเชียงคำ จังหวัดพะเยา อำเภอ พบพระ จังหวัดตาก อำเภอเมือง อำเภอพังโคน จังหวัดสกลนคร และอำเภอวังยาง จังหวัดนครพนมสุ่มเก็บตัวอย่างดินในแปลงปลูกหัวพันธุ์มันฝรั่ง นำมาแยก ตรวจวินิจฉัยและจัดจำแนก ผลปรากฏว่าตรวจแล้วไม่พบ potato cyst nematode แต่ตรวจพบไส้เดือนฝอยชนิด *Meloidogyne* spp. ซึ่งมีลักษณะการเข้าทำลายและการฝังตัวในหัวมันฝรั่งคล้ายกับ potato cyst nematode ในระยะตัวอ่อน รวมทั้งไส้เดือนฝอยชนิดอื่น ๆ (Table 5)

แต่อย่างไรก็ตามยังมีความจำเป็นที่จะต้องมีการตรวจสอบ และติดตาม ตรวจสอบในทุก ๆ พื้นที่ที่มีการปลูกมันฝรั่งที่ใช้หัวพันธุ์ที่นำเข้า เพื่อป้องกันมิให้ไส้เดือนฝอยซีตส์มันฝรั่งแพร่ระบาดทำความเสียหายต่อการปลูกมันฝรั่งและพืชอาศัยอื่นในประเทศไทยต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. จากการสุ่มตรวจตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าโดยการแยกไส้เดือนฝอยจากหัวพันธุ์และเศษดินที่ติดมากับหัวพันธุ์ และตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อจัดจำแนกชนิดด้วยลักษณะทางสัญฐานวิทยาร่วมกับเทคนิคทางด้านชีวโมเลกุล ซึ่งได้จากวิธีการแยกไส้เดือนฝอยศัตรูพืชในหัวพันธุ์มันฝรั่งด้วยวิธีการ Maceration และ centrifugal flotation และวิธีการแยก cyst nematode ตัวเต็มวัยเพศเมียจากดินด้วยวิธีการ Centrifugal flotation method ร่วมกับการใช้สารละลายน้ำตาล (sucrose syrup) 40 เปอร์เซนต์ เป็นวิธีการที่เหมาะสมสำหรับการแยกตัวอ่อนภายในหัวมันฝรั่งและตัวเต็มวัยเพศเมียที่อาจติดปนมากับหัวพันธุ์หรือดิน กรณีห้องปฏิบัติการที่ไม่มีอุปกรณ์สำหรับแยกตัวเต็มวัยเพศเมียจากดิน เช่น เครื่องแยกซีตส์มันฝรั่ง Fenwick-can สามารถใช้อุปกรณ์พื้นฐานในห้องปฏิบัติการทั่วไปดังกล่าวได้เช่นกัน

2. จากการตรวจวินิจฉัยตัวอย่างหัวพันธุ์และดินที่ติดกับมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าตามวิธีการแยกตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของไส้เดือนฝอยซีตส์มันฝรั่งตามวิธีมาตรฐาน และการตรวจวินิจฉัยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่าตัวอย่างหัวพันธุ์ที่นำเข้าทั้ง 6 ประเทศที่มีการอนุญาตนำเข้าแล้วไม่พบตัวอ่อนระยะที่ 2 3 4 และตัวเต็มวัยของไส้เดือนฝอยซีตส์มันฝรั่ง หากแต่พบลักษณะอาการของสาเหตุโรคในมันฝรั่งอื่น ๆ เช่น โรค black scurf จากเชื้อสาเหตุ *Rhizoctonia solani* จากเครือรัฐออสเตรเลีย 1 ครั้ง และ โรค common scab จากเชื้อสาเหตุ *Streptomyces* spp. จากราชอาณาจักรสกอตแลนด์ 2 ครั้ง ปริมาณหัวพันธุ์มันฝรั่งที่พบอาการโรคดังกล่าวไม่เกินกว่าเงื่อนไขการอนุญาตนำเข้า

3. จากการติดตามและตรวจสอบในแปลงปลูกมันฝรั่งภายหลังการนำเข้าในพื้นที่แปลงปลูกวิธีการแยกตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของไส้เดือนฝอยซีตส์มันฝรั่งตามวิธีมาตรฐาน และการตรวจวินิจฉัยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยายังไม่พบตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของไส้เดือนฝอยซีตส์มันฝรั่ง และพบว่าอุณหภูมิในช่วงฤดูปลูกมันฝรั่งหัวพันธุ์ที่นำเข้าในเขตพื้นที่ภาคเหนือและอิสานเป็นช่วงฤดูหนาว ซึ่งเป็นช่วงฤดูที่มีอุณหภูมิเหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณของประชากรไส้เดือนฝอยซีตส์มันฝรั่งและหากจนถึงฤดูที่เก็บเกี่ยว cyst ตัวเต็มวัยเพศเมียก็สามารถที่จะอยู่ข้ามฤดูและฟักออกจากไข่เมื่อมีการปลูกพืชอาศัยและอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 15-27 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิในช่วงฤดูหนาวของประเทศไทยได้ ประกอบกับอายุการเก็บเกี่ยวมันฝรั่งอายุ 100-120 วัน ซึ่งไส้เดือนฝอยซีตส์มันฝรั่งมีวงจรชีวิตในการเพิ่มจำนวนประชากรต่อรุ่นใช้เวลาประมาณ 40- 60 วัน หากมีการติดมาของไส้เดือนฝอยและนำมาเพาะปลูกในช่วงฤดุหนาวของประเทศที่มีอุณหภูมิเหมาะสมไส้เดือนฝอยสามารถที่จะเพิ่มจำนวนประชากรตลอดอายุการปลูกมันฝรั่งได้สูงสุดถึงสองรุ่น ซึ่งจะทำให้เพิ่มการแพร่ระบาดและพักตัวในพื้นที่ได้มากขึ้นไปด้วย โดยเฉพาะพื้นที่ปลูกพืชชนิดเดิมไม่มีการหมุนเวียนชนิดพืช เช่น อำเภอพบพระ จังหวัดตาก หากแต่พื้นที่อื่น ๆ ในการสำรวจครั้งนี้เป็นการปลูกหมุนเวียนสลับกับการเพาะปลูกข้าวซึ่งไม่ใช่พืชอาศัยหลัก สามารถช่วยลดประชากรไส้เดือนฝอยไม่ให้เพิ่มจำนวน

ประชากรจนทำลายความเสียหายกับพืชหลักในการเพาะปลูกครั้งถัดไปได้อย่างมีประสิทธิภาพในการควบคุมจำนวนประชากรไส้เดือนฝอยศัตรูพืช

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการจัดจำแนกลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ร่วมกับการจัดจำแนกชนิดด้วยเทคนิคทางด้านชีวโมเลกุล เนื่องจากการตรวจสอบตัวอย่างไส้เดือนฝอยที่แยกได้ตามกรรมวิธีมาตรฐานและนำไปตรวจสอบภายใต้กล้องจุลลทรรศน์ไม่พบตัวอ่อนหรือตัวเต็มวัยของไส้เดือนฝอยซีตส์มันฝรั่งจึงไม่สามารถนำมาทดสอบกับไพรเมอร์ที่จำเพาะเจาะจงด้วยเทคนิค PCR ได้ และได้นำวิธีการสกัดดีเอ็นเอและการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอกับตัวอย่างโรคหัวหูดในหัวมันฝรั่งที่เกิดจากไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* spp. จากแหล่งปลูกที่พบอาการ ซึ่งไส้เดือยฝอยศัตรูพืชชนิดดังกล่าวมีลักษณะการเข้าทำลายและลักษณะทางชีววิทยาใกล้เคียงกับ cyst nematode จึงใช้ตัวอย่างโรคหัวหูดในมันฝรั่งเป็นตัวอย่างทดสอบในการแยกไส้เดือนฝอยจากหัวมันฝรั่งและนำตัวอ่อนไส้เดือนฝอยที่แยกได้นำไปสกัดดีเอ็นเอและเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR ได้อย่างรวดเร็ว ถูกต้อง แม่นยำ สำหรับการตรวจวินิจฉัยไส้เดือนฝอยศัตรูพืชในหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้า เนื่องจากขาดงบประมาณที่ไม่เพียงพอสำหรับการสังเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนดีเอ็นเออ้างอิงเพื่อนำมาทดสอบกับการใช้ได้ของวิธีตรวจสอบด้วยเทคนิค Multi-PCR จึงได้ดำเนินการทดสอบตามวิธีการสกัดดีเอ็นเอและตรวจสอบการใช้ได้ของวิธีการสกัดด้วยการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากตัวอย่างตัวอ่อนไส้เดือนฝอย 1 ตัวด้วยเทคนิค PCR กับไพรเมอร์ที่จำเพาะกับไส้เดือนฝอยศัตรูพืชเพื่อเป็นการยืนยันวิธีการสกัดดีเอ็นเอมีประสิทธิภาพและรวดเร็วสำหรับใช้ในการระบุชนิดจากตัวอย่างเพียง 1 ตัวเท่านั้น ดังนั้นจากการศึกษาวิธีการตรวจสอบไส้เดือนฝอยซีตส์มันฝรั่งได้อย่างถูกต้องแม่นยำ และรวดเร็วกับสินค้านำเข้า จึงเป็นการสกัดกั้นไม่ให้ไส้เดือนฝอยศัตรูพืชและศัตรูพืชของมันฝรั่งที่ไม่เคยปรากฏในประเทศไทยและมีศักยภาพในการเพิ่มปริมาณประชากรหรือแพร่ระบาดให้กับพืชอาศัยได้ จึงมีความจำเป็นในการติดตามสำรวจศัตรูพืชที่อาจติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งอย่างสม่ำเสมอทั้งก่อนและหลังการนำเข้า ทั้งยังเป็นการเฝ้าระวังศัตรูพืชใหม่ๆ ที่ไม่เคยปรากฏในประเทศไทยเข้ามาระบาดในประเทศและเป็นแหล่งข้อมูลเพื่อปรับปรุงเงื่อนไขการนำเข้าที่อนุญาตก่อนแล้วและประเทศที่ต้องการขออนุญาตนำเข้าในอนาคตต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชลาดกระบังและด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ที่อำนวยความสะดวกในการสุ่มตรวจตัวอย่างในเบื้องต้นและนำส่งตัวอย่างมายังห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักพืชและอนุเคราะห์ให้ข้อมูลการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งเสมอมา และขอขอบคุณผู้ร่วมงานวิจัยทุกท่านที่อนุเคราะห์อุปกรณ์ สถานที่และให้คำปรึกษาข้อมูลด้านศัตรูพืชและวิธีการตรวจสอบได้จนสำเร็จครบตามวัตถุประสงค์ของโครงการ

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.

Abad, P. and Williamson V. 2010. Pant nematode interaction: A sophisticated dialogue. Adv Bot Res 53:148–192.

Bulman, S.R. and Marshall, J.W. 1997. Differentiation of Australasian potato cyst nematode (PCN) populations using the polymerase chain reaction (PCR). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*. 25, 123–129.

CABI. *Globodera rostochiensis (yellow potato cyst nematode)*. [ออนไลน์] 2019. แหล่งที่มา: https://www.cabidigitallibrary.org/doi/10.1079/cabicompendium.27034 สืบค้นเมื่อ 1 พฤศจิกายน 2564

Caveness, F. E. and Jensen, H. J. 1955. Modification of the centrifugal flotation technique for the isolation and concentration of nematodes and their eggs from soil and plant tissue. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*. 22, 87–89.

Coolen, W. A., Hendrickx, G. and Herde, C. J. 1972. *Method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue and its application in the testing of rose rootstocks for resistance to endoparasitic root nematodes*. Rijksstation voor Nematologie en Entomologie, Publicatie No. W6, Wetteren, Belgium, p. 34.

EPPO. 2013. PM 7/119 (1) Nematode extraction. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 43, 471–495.

EPPO. 2017. PM 7/40 (4) *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 47(2), 147-197.

EPPO. *Globodera rostochiensis*. [ออนไลน์]. 2024. แหล่งที่มา: https://gd.eppo.int/taxon/HETDRO สืบค้นเมื่อ 1 มีนาคม 2567

EPPO. *Globodera pallida*. [ออนไลน์]. 2024. แหล่งที่มา: https://gd.eppo.int/taxon/HETDPA สืบค้นเมื่อ 1 มีนาคม 2567

Picard D, Sempere T & Plantard O (2007) A northward colonisation of the Andes by the PCN during geological times suggests multiple host-shifts from wild to cultivated potatoes. *Molecular Phylogenetics and Evoluations* 42, 308-316.

Stone AR (1973a) *Heterodera pallida n. sp*. (Nematoda: Heteroderidae), a second species of potato cyst nematode. *Nematologica* 18, 591-606.

Subbotin SA, Mundo-Ocampo & Maldwin JG (2010) *Systematics of cyst nematodes (Nematoda: Heteroderidae).* In Nematology Monographs and Perspectives 8A (eds Hunt DJ & Perry RN), Brill, Leiden, (NL).

Table 1 Volume and value of seed potato imports from Thailand during 2021 – 2023

importing country	Year 2021		Year 2022		Year 2023	
	Quantity (Ton)	Value (Million Bath)	Quantity (Ton)	Value (Million Bath)	Quantity (Ton)	Value (Million Bath)
Australia	1,917.00	56.24	1,650.00	54.92	749.32	24.69
Canada	513.00	11.26	729.00	18.51	1,107.00	32.18
Netherlands	137.50	3.81	125.00	3.83	75.00	2.50
Scotland	4,433.00	133.18	5,011.75	165.42	2,899.84	90.38
New Zealand	-	-	25.00	0.96	150.00	5.80
United States of America	-	-	0.37	0.34	0.02	0.13
รวม	**7,000.50**	**204.49**	**7,541.12**	**243.98**	**4,981.18**	**155.68**

Table 2 List of important pests in potatoes (EPPO, 2024)

Type of Pest	Quantity	Pest
Acari	3	1) *Aculops lycopersici* 2) *Aculops lycopersici* (as Solanaceae) 3) *Tetranychus evansi*
Bacteria	20	1) *Xanthomonas vesicatoria* 2) *'Candidatus Arsenophonus phytopathogenicus'* 3) *Clavibacter michiganensis* 4) *Erwinia chrysanthemi* 5) *Potato marginal flavescence agent* (as Solanum) 6) *Potato purple-top roll agent* 7) *Potato purple-top roll agent* (as Solanum) 8) *'Candidatus* Liberibacter solanacearum' 9) *Clavibacter sepedonicus* 10) *Dickeya dianthicola* 11) *Pectobacterium Polaris* 12) *Potato marginal flavescence agent*

Table 2 List of important pests in potatoes (EPPO, 2024)(Continued)

Type of Pest	Quantity	Pest
		13) *Ralstonia pseudosolanacearum*
		14) *Ralstonia solanacearum*
		15) *Ralstonia solanacearum* race 1 (no longer in use)
		16) *Ralstonia solanacearum* race 3 (no longer in use)
		17) *Ralstonia solanacearum* species complex
		18) *Ralstonia syzygii*
		19) *Ralstonia syzygii* subsp. *indonesiensis*
		20) *Xanthomonas vesicatoria* (as Solanum)
Fungi	21	1) *Dematophora bunodes*
		2) *Fusarium foetens*
		3) *Phymatotrichopsis omnivora*
		4) *Phytophthora cryptogea*
		5) *Phytophthora erythroseptica*
		6) *Septoria malagutii (as Solanum)*
		7) *Stagonosporopsis crystalliniformis*
		8) *Synchytrium endobioticum* (as Solanum)
		9) *Aecidium cantense*
		10) *Boeremia foveata*
		11) *Polyscytalum pustulans*
		12) *Puccinia pittieriana*
		13) *Rhizoctonia solani*
		14) *Septoria malagutii*
		15) *Spongospora subterranea*
		16) *Stagonosporopsis andigena*
		17) *Synchytrium endobioticum*
		18) *Thecaphora solani*
		19) *Stagonosporopsis andigena* (as Solanaceae)
		20) *Stagonosporopsis andigena* (as Solanum)
		21) *Thecaphora solani* (as Solanum)

Table 2 List of important pests in potatoes (EPPO, 2024)(Continued)

Type of Pest	Quantity	Pest
Insect	88	1) *Agrius convolvuli* 2) *Agrotis segetum* 3) *Anthonomus eugenii* (as Solanum) 4) *Aonidomytilus albus* (as Solanum) 5) *Asproparthenis punctiventris* 6) *Bagrada hilaris* 7) *Beastie the Bug* 8) *Bemisia tabaci* (as Solanaceae) 9) *Brachyplatys subaeneus* 10) *Cacoecimorpha pronubana* 11) *Ceratothripoides brunneus* 12) *Chrysodeixis eriosoma* 13) *Circulifer tenellus* 14) *Clavigralla tomentosicollis* 15) *Conoderus rufangulus* 16) *Dacus bivittatus* 17) *Diabrotica undecimpunctata howardi* 18) *Diabrotica undecimpunctata undecimpunctata* 19) *Diabrotica virgifera zeae* (as Solanum) 20) *Epicaerus cognatus* 21) *Epilachna vigintioctomaculata* (as Solanaceae) 22) *Epiphyas postvittana* 23) *Epitrix hirtipennis* 24) *Helicoverpa armigera* 25) *Helicoverpa zea* 26) *Jacobiasca lybica* 27) *Keiferia lycopersicella* 28) *Liriomyza huidobrensis* 29) *Liriomyza trifolii* 30) *Listroderes costirostris* 31) *Listroderes difficilis* 32) *Lobesia botrana* 33) *Megalurothrips usitatus* 34) *Naupactus leucoloma* 35) *Naupactus xanthographus* 36) *Neoceratitis cyanescens*

Table 2 List of important pests in potatoes (EPPO, 2024)(Continued)

Type of Pest	Quantity	Pest
		37) *Opogona sacchari*
		38) *Pentastiridius leporinus*
		39) *Phenacoccus solenopsis*
		40) *Phthorimaea operculella* (as Solanaceae)
		41) *Phyrdenus muriceus*
		42) *Premnotrypes latithorax* (as Solanum)
		43) *Premnotrypes sanfordi* (as Solanum)
		44) *Premnotrypes solani* (as Solanum)
		45) *Premnotrypes suturicallus* (as Solanum)
		46) *Premnotrypes vorax* (as Solanum)
		47) *Prodiplosis longifila*
		48) *Rhigopsidius tucumanus*
		49) *Scirtothrips dorsalis*
		50) *Spodoptera eridania*
		51) *Spodoptera frugiperda*
		52) *Spodoptera litura*
		53) *Spodoptera ornithogalli*
		54) *Spodoptera praefica*
		55) *Thrips angusticeps*
		56) *Thrips palmi*
		57) *Thrips parvispinus*
		58) *Thrips setosus*
		59) *Trialeurodes ricini*
		60) *Tuta absoluta Bactericera cockerelli*
		61) *Diabrotica speciosa*
		62) *Epilachna vigintioctomaculata*
		63) *Epitrix cucumeris*
		64) *Epitrix papa*
		65) *Epitrix similaris*
		66) *Epitrix subcrinita*
		67) *Epitrix tuberis*
		68) *Heteronychus arator*
		69) *Leptinotarsa decemlineata*
		70) *Limonius californicus*
		71) *Liriomyza sativae*
		72) *Melanotus communis*

Table 2 List of important pests in potatoes (EPPO, 2024) (Continued)

Type of Pest	Quantity	Pest
		73) *Omophlus lepturoides*
		74) *Phthorimaea operculella*
		75) *Premnotrypes latithorax*
		76) *Premnotrypes sanfordi*
		77) *Premnotrypes solani*
		78) *Premnotrypes suturicallus*
		79) *Premnotrypes vorax*
		80) *Pseudococcus viburni*
		81) *Russelliana solanicola*
		82) *Spodoptera littoralis*
		83) *Tecia solanivora*
		84) *Spodoptera praefica* (as Solanum)
Nematode	17	1) *Radopholus similis*
		2) *Ditylenchus dipsaci*
		3) *Meloidogyne enterolobii*
		4) *Meloidogyne graminicola*
		5) *Meloidogyne luci*
		6) *Meloidogyne minor*
		7) *Rotylenchus buxophilus*
		8) *Trichodorus viruliferus*
		9) *Xiphinema americanum* sensu stricto
		10) *Xiphinema rivesi*
		11) *Ditylenchus destructor*
		12) *Globodera pallida*
		13) *Globodera rostochiensis*
		14) *Meloidogyne chitwoodi*
		15) *Meloidogyne ethiopica*
		16) *Meloidogyne fallax*
		17) *Nacobbus aberrans* sensu lato
Phytoplasma	7	1) *'Candidatus Phytoplasma americanum'* (as Solanum)
		2) *'Candidatus Phytoplasma australiense'*
		3) *'Candidatus Phytoplasma fraxini'*
		4) *'Candidatus Phytoplasma trifolii'*
		5) *'Candidatus Phytoplasma trifolii'* (as Solanum)
		6) *'Candidatus Phytoplasma americanum'*
		7) *'Candidatus Phytoplasma solani'*

Table 2 List of important pests in potatoes (EPPO, 2024)(Continued)

Type of Pest	Quantity	Pest
Viroid	6	1) *Columnea latent viroid* 2) *Potato spindle tuber viroid* (as Solanum) 3) *Chrysanthemum stunt viroid* 4) *Pepper chat fruit viroid* 5) *Pepper chat fruit viroid* (as Solanaceae) 6) *Potato spindle tuber viroid*
Virus	60	1) *Cheravirus arracaciae oca strain* (as Solanaceae) 2) *Pepino mosaic virus* 3) *Tobacco streak ilarvirus potato strain* (as Solanaceae) 4) *Tomato brown rugose fruit virus* 5) *Tomato infectious chlorosis virus* 6) *Tomato yellow vein streak virus* 7) *Alfalfa mosaic virus* 8) *Alphanucleorhabdovirus tuberosum* 9) *Beet curly top virus* 10) *Cheravirus arracaciae oca strain* (as Solanum) 11) *Cheravirus avii* 12) *Cucurbit yellow stunting disorder virus* 13) *Lucerne enation virus* 14) *Nepovirus arabis* 15) *Nepovirus betasolani* 16) *Nepovirus nigranuli* 17) *Nepovirus nigranuli* (as Solanum) 18) *Orthotospovirus arachianuli* 19) *Orthotospovirus impatiensnecromaculae* 20) *Orthotospovirus tomatozonae* 21) *Pepper ringspot virus* 22) *Phenacoccus peruvianus* 23) *Potato deforming mosaic virus* (Argentina) (as Solanum) 24) *Potato leaflet stunt agent* 25) *Potato leaflet stunt agent* (as Solanum) 26) *Potato mop-top virus* 27) *Potato mop-top virus* (as Solanum) 28) *Potato virus P* 29) *Potato virus Y tobacco veinal necrosis strain*

Table 2 List of important pests in potatoes (EPPO, 2024)(Continued)

Type of Pest	Quantity	Pest
		1) *Potato virus Y tobacco veinal necrosis strain* (as Solanum)*Potato yellow mosaic virus*
		2) *Potato yellow vein virus* (as Solanum)
		3) *Tobacco rattle virus*
		4) *Tobacco streak ilarvirus potato strain* (as Solanum)
		5) *Tobacco streak virus*
		6) *Tomato chlorosis virus*
		7) *Tomato yellow leaf curl virus*
		8) *Tymovirus dulcamarae* (as Solanum)
		9) *Alphanucleorhabdovirus melongenae*
		10) *Cheravirus arracaciae* oca strain
		11) *Comovirus andesense*
		12) *Nepovirus solani*
		13) *Orthotospovirus tomatomaculae*
		14) *Potato deforming mosaic virus* (Argentina)
		15) *Potato latent virus*
		16) *Potato leafroll virus*
		17) *Potato rugose stunting virus*
		18) *Potato virus* H
		19) *Potato virus* T
		20) *Potato yellowing virus*
		21) *Potato yellow vein virus*
		22) *Tobacco streak ilarvirus potato strain*
		23) *Tomato leaf curl New Delhi virus*
		24) *Tomato yellow mosaic virus*
		25) *Tymovirus dulcamarae*
		26) *Tymovirus latandigenum*
		27) *Tymovirus mosandigenum*
		28) *Alphanucleorhabdovirus tuberosum* (as Solanaceae)
		29) *Alphanucleorhabdovirus tuberosum* (as Solanum)
		30) *Potato yellowing virus* (as Solanum)

Table 3 The status of pest for potato cyst nematodes. *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida* (EPPO, 2024)

Countries that allow the import of seed potato	Status of cyst nematode in country		Reported
	Globodera rostochiensis	*Globodera pallida*	
Australia	YES	NO	***Globodera rostochiensis*** -Victoria Present, restricted distribution -Western Australia Absent, pest eradicated
Canada	YES	YES	***Globodera rostochiensis*** -Alberta Absent, pest no longer present -British Columbia, Present, restricted distribution -Newfoundland Present, restricted distribution -Québec Present, few occurrences ***Globodera pallida*** - Newfoundland Present, few occurrences
Netherlands	YES	YES	***Globodera rostochiensis*** -Present, restricted distribution ***Globodera pallida*** -Present, restricted distribution
Scotland UK	YES	YES	***Globodera rostochiensis*** -Channel Islands Present, no details -England Present, restricted distribution -Northern Ireland Present, restricted distribution -Scotland Present, restricted distribution ***Globodera pallida***

Table 3 The status of pest for potato cyst nematodes. *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida* (EPPO, 2024)(Continued)

Countries that allow the import of seed potato	Status of cyst nematode in country		Reported
	Globodera rostochiensis	*Globodera pallida*	
			-Channel Islands Present, no details -England Present, restricted distribution -Northern Ireland Present, restricted distribution -Scotland Present, restricted distribution -Wales Present, no details
New Zealand	YES	YES	-Present, widespread
United States of America	YES	YES	***Globodera rostochiensis*** -Delaware Absent, pest eradicate -New York Present, few occurrences ***Globodera pallida*** -Idaho Present, restricted distribution
Israel	YES	NO	***Globodera rostochiensis*** -Absent, pest eradicated

Table 4 Diagnosis of potato cyst nematode attached to imported seed potato between 2021 to 2023

Country	Quantity of sample	Quantity (Ton)	Cyst nematode	Other Pest	Pest of status in Thailand	Frequency
Australia	49	4,316.32	Not	*Rhizoctonia solani*	Present	2
Canada	10	2,349.00	Not	Not found	-	0
Netherlands	7	3,37.50	Not	Not found	-	0
Scotland	62	12,344.59	Not	*Streptomyces scabies*	Present	1
New Zealand	3	175.00	Not	Not found	-	0
United States of America	3	0.39	Not	Not found	-	0
Total	**134**	**19,522.80**				

Table 5 Monitoring of potato cyst nematodes from imported seed potato in the field

No.	ID sample	Area		Location (X,Y : GPS)	Results of a survey of potato cyst nematodes.	Other species of plant-parasitic nematodes
		District	Province			
1	PVP1	Wiang Pa Pao	Chiang Rai	19.209906,99.524330	Not	*Aphelenchus* spp. *Tylenchus* spp.
2	PVP2	Wiang Pa Pao	Chiang Rai	19.212894,99.533905	Not	*Aphelenchus* spp. *Helicotylenchus* spp.
3	PMC1	Mae Chaem	Chiang Mai	18.505785,98.348495	Not	*Meloidogyne* spp.
4	PMC2	Mae Chaem	Chiang Mai	18.516085,98.356354	Not	*Tylenchus* spp. *Meloidogyne* spp.
5	PMC3	Mae Chaem	Chiang Mai	18.516088,98.356400	Not	*Meloidogyne* spp.
6	PMC4	Mae Chaem	Chiang Mai	18.503693,98.355118	Not	*Meloidogyne* spp.
7	PCH1	Chiang Kham	Phayao	19.460657,100.336754	Not	*Tylenchorhynchus* spp.
8	PCH2	Chiang Kham	Phayao	19.458719,100.336143	Not	*Tylenchorhynchus* spp.
9	PCH3	Chiang Kham	Phayao	19.463728,100.340408	Not	*Tylenchorhynchus* spp.
10	PCH4	Chiang Kham	Phayao	19.470993,100.337334	Not	*Tylenchorhynchus* spp.
11	PTT1	Thoeng	Chiang Rai	19.680710,100.264610	Not	*Tylenchorhynchus* spp.
12	PTT2	Thoeng	Chiang Rai	19.707636,100.286598	Not	*Tylenchorhynchus* spp.
13	PPT1	Phop Phra	Tak	16.593417,98.776481	Not	Helicotylenchus spp. Pratylenchus spp.
14	PPT2	Phop Phra	Tak	16.593586,98.775317	Not	*Helicotylenchus* spp. *Pratylenchus* spp. *Criconemella* spp.

Table 5 Monitoring of potato cyst nematodes from imported seed potato in the field (Continued)

No.	ID sample	Area		Location (X,Y : GPS)	Results of a survey of potato cyst nematodes.	Other species of plant-parasitic nematodes
		District	Province			
15	PPT3	Phop Phra	Tak	16.529611,98.746911	Not	*Helicotylenchus* spp. *Pratylenchus* spp. *Meloidogyne* spp.
16	PPT4	Phop Phra	Tak	16.554108,98.823697	Not	*Helicotylenchus* spp. *Pratylenchus* spp. *Meloidogyne* spp.
17	SKH1	Muang	Sakon Nakhon	17.125953,104.290058	Not	*Meloidogyne* spp.
18	SKH2	Muang	Sakon Nakhon	17.131453,104.287633	Not	*Meloidogyne* spp.
19	SKH3	Muang	Sakon Nakhon	17.131328,104.302286	Not	*Meloidogyne* spp.
20	SKH4	Muang	Sakon Nakhon	17.131447,104.287642	Not	*Meloidogyne* spp.
21	SKH5	Phang Khon	Sakon Nakhon	17.354119,103.760042	Not	*Meloidogyne* spp.
22	NKH1	Wang Yang	Nakhon Phanom	17.063889,104.368097	Not	*Pratylenchus* spp. *Meloidogyne* spp.
23	NKH2	Wang Yang	Nakhon Phanom	17.062417,104.373553	Not	*Pratylenchus* spp. *Meloidogyne* spp.

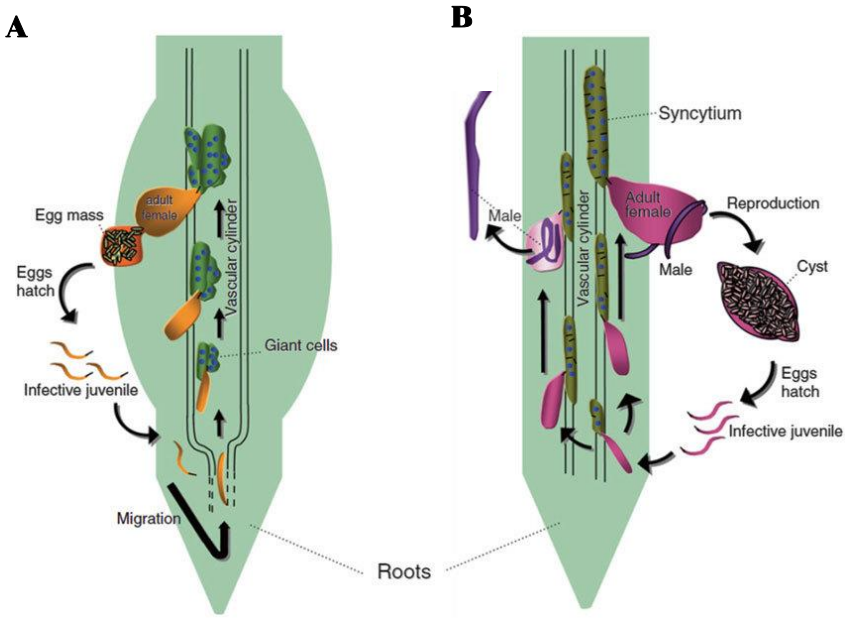


Figure 1 Life cycle between the plant-parasitc nematodes A) Root-knot nematode [Meloidogyne spp.] and B) Potato cyst nematode [Globerdera spp.] (Abad and Williamson, 2010)

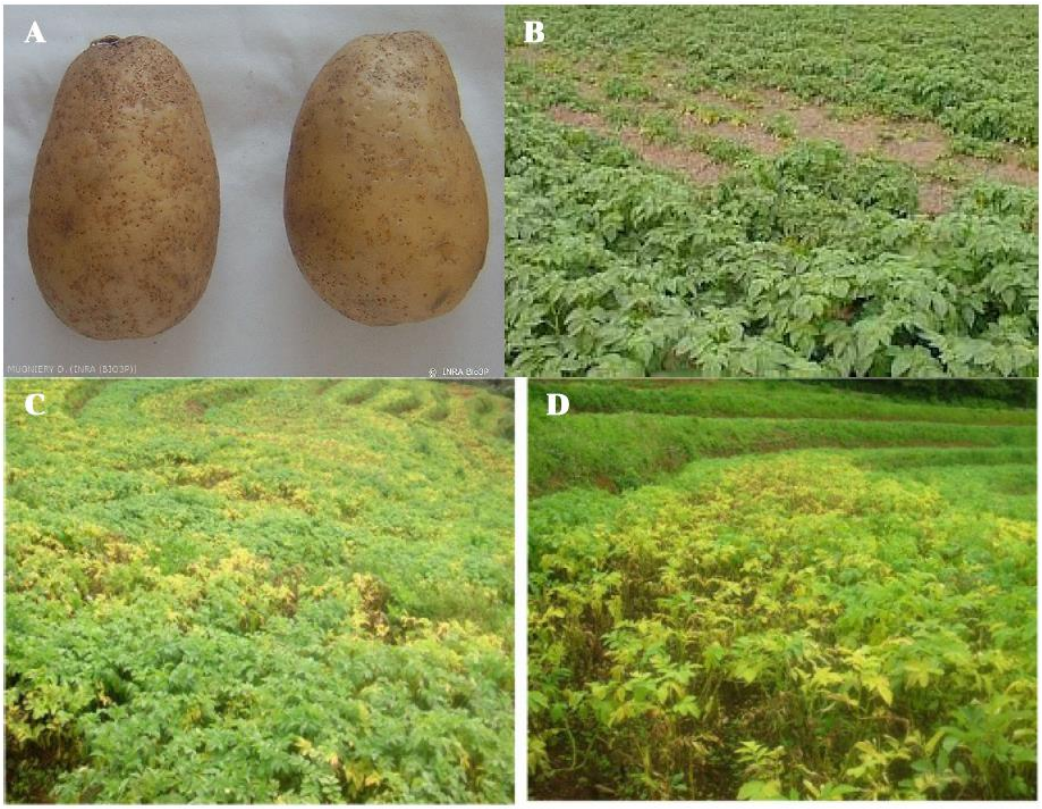


Figure 2 A) Characteristics of potato tubers infested by potato cyst nematode B), C) and D) Potato plants infested by potato cyst nematode in the planting field

Figure 3 Potato cyst nematode infected potato rootes

A) Photo credit by DuPont (2017)

B) Photo credit Ulrich Zunke, University of Hamburg (2010)

C) Photo credit Bonsak Hammeraas, NIBIO - The Norwegian Institute of Bioeconomy Research (2009)

D) Photo credit Theirry Vrain, Agriculture and Agri-Food Canada (2010)

E) Photo credit Bonsak Hammeraas, NIBIO - The Norwegian Institute of Bioeconomy Research (2007)

F) Photo credit Bonsak Hammeraas, NIBIO - The Norwegian Institute of Bioeconomy Research (2008)

Figure 4 A) Second stage Juvenil of G. rosthochiensis,
B) Cysts of the potato cyst nematode and approximately 200-500 eggs.
C) and D) Symptoms of the potato infected by cyst nematode.
(Photo credit : Ulrich Zunke, University of Hamburg, 2023)

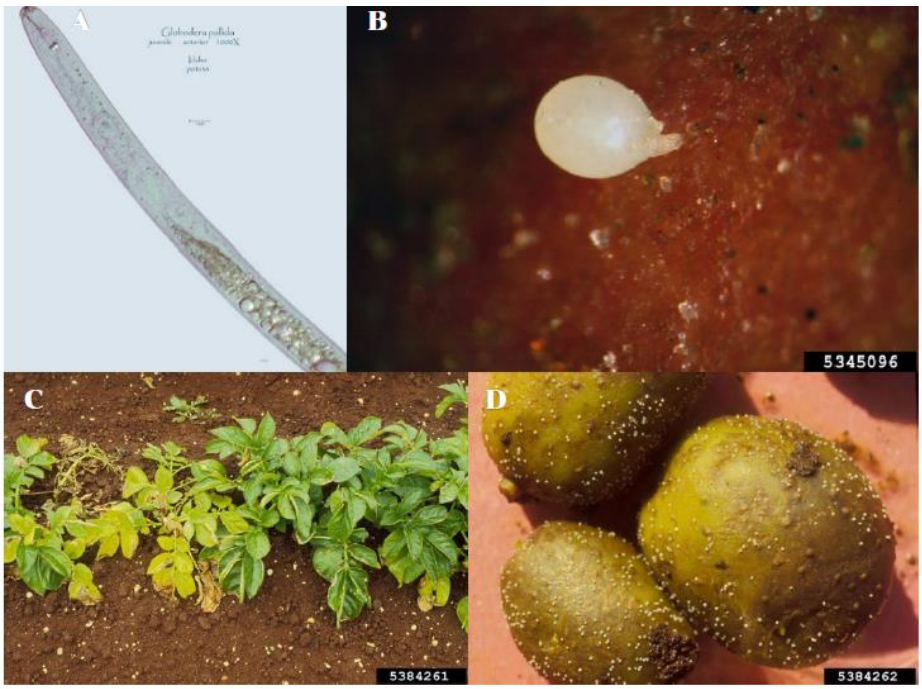


Figure 5 A) Second stage G. pallida b) Adult female inside of the cyst produces 200-500 eggs,
C) Symptom of infected with cyst nematodes, and D) Potato tuber infected with cyst nematodes (Photo credit: Ulrich Zunke, University of Hamburg, 2023)

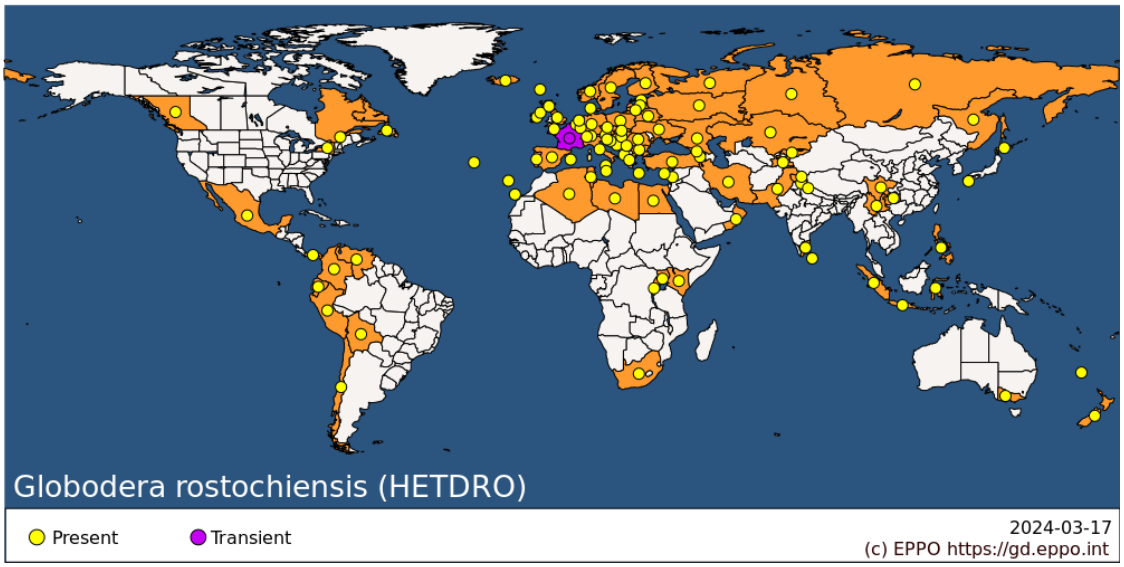


Figure 6 Distribution Map of the potato cyst nematode *Glododera rostochiensis*.(EPPO, 2024)

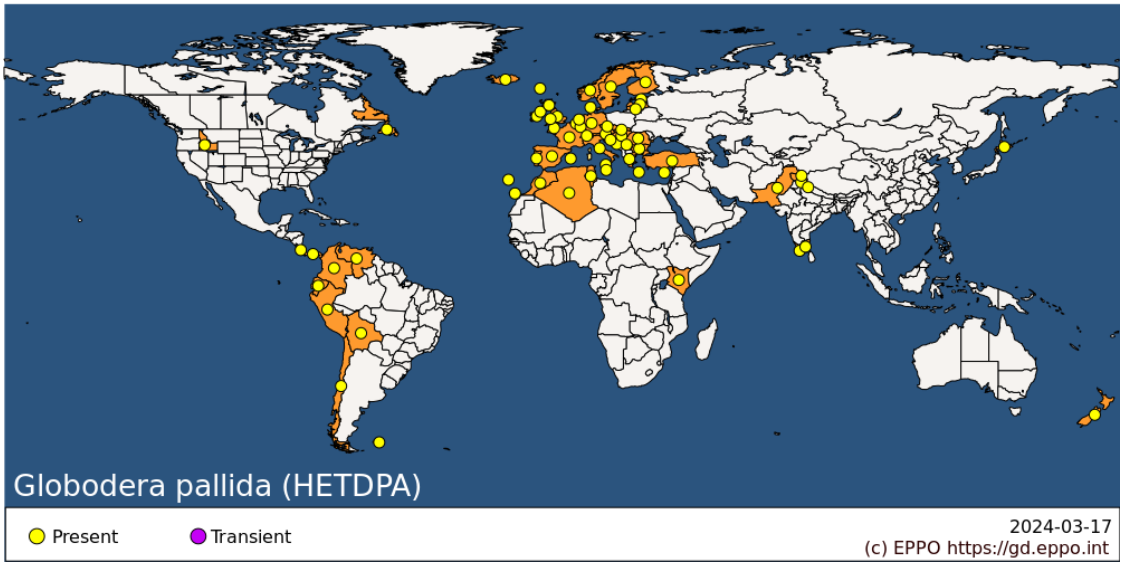


Figure 7 Distribution Map of the potato cyst nematode Glododera pallida (EPPO, 2024)

Figure 8 Sampling of seed potato imported from the Kingdom of Scotland

Figure 9 Potato planting plot from imported seed potatoes A) Wiang Pa Pao District Chiang Rai Province B) Theing District, Chiang Rai Province C) Chiang Kham District, Phayao Province D) Phop Phra District, Tak Province E) Mae Chaem District, Chiang Rai Province F) Phop Phra District, Tak Province G) Mueang Sakon Nakhon District

การตรวจวินิจฉัย ‘*Candidatus* Liberibacter solanacearum’ ที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้า

Interception on ‘*Candidatus* Liberibacter solanacearum’ the quarantine pest Associated with imported Seed Potatoes

สุรศักดิ์ แสนโคตร[1/] วันเพ็ญ ศรีชาติ[2/] โสภา มีอำนาจ[1/]
จันทร์พิศ เดชหามาตย์[1/] วาสนา รุ่งสว่าง[1/]
[1/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิชาการ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 2

Abstract

Diagnosis of ‘*Candidatus* Liberibacter solanacearum’ the cause of Zebra chip disease in seed potatoes. The sampling of imported seed potato during 2021 to 2023 has been imported from 6 countries: 1) Commonwealth of Australia imported 49 times, total weight 4,316,320,000.00 kilograms. 2) Canada imported 10 times, total weight 2,349,000,000.00 kilograms. 3) Kingdom of the Netherlands imported 7 times, total weight 337,500,000.00 kilograms. 4) Kingdom of New Zealand imported 3 times. times, total weight 175,000,000.00 kilograms, 5) Kingdom of Scotland, imported 62 times, total weight 12,422,750,000.00 kilograms, and 6) United States, imported 3 times, total weight 390 kilograms, by examining symptoms of Zebra chip disease from seed potato imported using the technique Biomolecules No symptoms of disease from the tubers and the causative agent were found using the Nested-PCR technique and monitoring of imported seed potato in the planting area. Wiang Pa Pao District, Thoeng District, Chiang Rai Province, Mae Chaem District, Chiang Mai Province, Phop Phra District, Tak Province, Chiang Kham District, Phayao Province, Phang Khon District, Mueang District, Sakon Nakhon Province and Wang Yang District Nakhon Phanom Province Zebra chip symptoms has not been found in potato fields.

Keywords : Potato Seed potato Zebra chip Nested-PCR

รหัสการทดลอง FF65-55-03-65-00-03-65

บทคัดย่อ

การตรวจวินิจฉัย ‘*Candidatus* Liberibacter solanacearum’ สาเหตุโรค Zebra chip ในหัวมันฝรั่งการสุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าระหว่างปี พ.ศ. 2564 ถึง พ.ศ. 2566 มีการนำเข้าจาก 6 ประเทศ ได้แก่ 1) เครือรัฐออสเตรเลีย นำเข้าจำนวน 49 ครั้ง น้ำหนักรวม 4,316,320,000.00 กิโลกรัม 2) แคนาดา นำเข้าจำนวน 10 ครั้ง น้ำหนักรวม 2,349,000,000.00 กิโลกรัม 3) ราชอาณาจักรกรเนเธอร์แลนด์ นำเข้าจำนวน 7 ครั้ง น้ำหนักรวม 337,500,000.00 กิโลกรัม 4) ราชอาณาจักรนิวซีแลนด์ นำเข้าจำนวน 3 ครั้ง น้ำหนักรวม 175,000,000.00 กิโลกรัม 5) ราชอาณาจักรสกอตแลนด์ นำเข้าจำนวน 62 ครั้ง น้ำหนักรวม 12,422,750,000.00 กิโลกรัม และ 6) สหรัฐอเมริกา นำเข้าจำนวน 3 ครั้ง น้ำหนักรวม 390 กิโลกรัม โดยการตรวจสอบอาการของโรค Zebra chip จากหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าร่วมกับเทคนิคชีวโมเลกุล ยังไม่พบอาการของโรคจากหัวพันธุ์และเชื้อสาเหตุด้วยเทคนิค Nested-PCR และการติดตามสำรวจแปลงปลูกหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าในพื้นที่แปลงปลูก อำเภอเวียงป่าเป้า อำเภอเทิง จังหวัดเชียงราย อำเภอแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่ อำเภอพบพระ จังหวัดตาก อำเภอเชียงคำ จังหวัดพะเยา อำเภอพังโคน อำเภอเมือง จังหวัดสกลนคร และอำเภอวังยาง จังหวัดนครพนม ยังไม่พบกลุ่มอาการของโรค Zebra chip ในแปลงปลูกมันฝรั่ง

คำหลัก : หัวพันธุ์มันฝรั่ง Zebra chip Nested-PCR

คำนำ

เชื้อ ‘*Candidaus* Literibacter solanacearum’ ซึ่งเป็นสาเหตุโรค Zebra chip ในหัวพันธุ์มันฝรั่ง และมีพืชอาศัยในวงศ์มะเขือ (Solanaceae) และวงศ์ผักชี (Apiaceae) แต่พบว่าประเทศไทยมีการประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าผลพริกสดจากนิวซีแลนด์ พ.ศ. 2558 (กรมวิชาการเกษตร, 2558) รายชื่อศัตรูพืชกักกันของผลพริกสดจากนิวซีแลนด์ แนบท้ายประกาศกรมวิชาการเกษตร กำหนดให้เชื้อ ‘*Candidaus* Literibacter solanacearum’ เป็นศัตรูพืชกักกัน ซึ่งจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องมีการตรวจสอบเชื้อนี้กับหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าเพื่อป้องกันการติดเข้ามาของเชื้อกับหัวพันธุ์ และป้องกันการเข้ามาแพร่ระบาด สร้างความเสียหายให้กับพืชเศรษฐกิจที่เป็นพืชอาศัยของเชื้อได้แก่ มะเขือเทศ พริก แครอท และขึ้นฉ่าย ซึ่งเชื้อ *‘Candidaus* Literibacter solanacearum’ เป็นแบคทีเรียแกรมลบ แบคทีเรียมีรูปร่างสัณฐานวิทยาแบบแท่งและมีขนาดประมาณ 0.2 ไมโครเมตร กว้างและยาว 4 ไมโครเมตร โดยส่วนใหญ่แบคทีเรียเจริญเติบโตได้ดีเฉพาะในท่ออาหารพืช (phloem-limited) ในต่างประเทศพบรายงานครั้งแรกในรัฐแคลิฟอร์เนีย สหรัฐอเมริกาในปี พ.ศ. 2551 โดยพบเชื้อนี้ในมะเขือเทศและมันฝรั่ง มีเพลี้ยไก่แจ้ (Psyllid; *Bactericera cockerelli*) เป็นแมลงพาหะนำโรค โดยนอกจากนี้มีการรายงานการตรวจพบเชื้อนี้ในมันฝรั่ง มะเขือเทศ และพริก รวมถึงมีการรายงานพบในแครอท โดยมีเพลี้ยไก่แจ้แครอท (Psyllid, *Trioza apicalis*) เป็นแมลงพาหะนำโรค

และพืชวงศ์ผักชี (Apiaceae) มีแมลงพาหะของโรคคือเพลี้ยไก่แจ้ *Trioza apicalis* และเพลี้ยไก่แจ้ *Bactericera trigonica*

ลักษณะอาการในมันฝรั่ง แสดงอาการเริ่มแรกกับมันฝรั่งสายพันธุ์ Atlantic มีลักษณะใบม้วนงอและบริเวณใบยอดเป็นสีม่วง การเข้าทำลายในหัวมันฝรั่งสดสายพันธุ์ Shepody แสดงอาการสีของเนื้อแป้งในหัวเข้มและจางสลับกันจนคล้ายลายสีบนตัวของม้าลาย เมื่อนำมันฝรั่งไปทอดจะเห็นลักษณะเป็นลวดลายสีจางเข้มสลับกันชัดเจน แหล่งแพร่ระบาด โมร็อกโก อิสราเอล ออสเตรีย เบลเยี่ยม เอสโตเนีย ฟินแลนด์ ฝรั่งเศส เยอรมันนี กรีซ อิตาลี นอร์เวย์ โปรตุเกส สเปน สวีเดน สหราชอาณาจักร สกอตแลนด์ เอลซัลวาดอร์ กัวเตมาลา ฮอนดูรัส สหรัฐอเมริกา นิวซีแลนด์ และเกาะนอร์ฟอล์ก ส่วนการจัดจำแนก ‘*Candidatus* Literibacter solanacearum’ แบ่งได้เป็น 5 haplotypes ตามชนิดแมลงพาหะและพืชอาศัยจากพื้นที่ทางภูมิศาสตร์ที่แตกต่างกันด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล ได้แก่ haplotype A B C D และ E นั้น เพื่อเป็นการป้องกันมิให้โรค Zebra chip ที่เกิดจากเชื้อ ‘*Candidatus* Literibacter solanacearum’ เข้ามาระบาดในพื้นที่เพาะปลูกมันฝรั่งและพืชอาศัยอื่นในประเทศไทย จึงได้นำเอาวิธีการตรวจสอบวินิจศัตรูพืชในหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าตามวิธีการมาตรฐานสากล โดยเลือกเทคนิคการตรวจวินิจฉัยที่รวดเร็ว มีความแม่นยำสูงและค่าใช้จ่ายต่อการตรวจที่เหมาะสม เพื่อเป็นการสกัดกั้นไม่ให้เชื้อสาเหตุโรคที่อาจติดมากับหัวพันธุ์จากต่างประเทศได้อย่างมีประสิทธิภาพ และใช้เป็นข้อมูลการตรวจพบศัตรูพืชเพื่อใช้ปรับปรุงเงื่อนไขการนำเข้าให้ครอบคลุมทุกพืชอาศัยต่อไป

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) โดยทำการสุ่มตัวอย่างจากด่านตรวจพืชต่าง ๆ ที่มีการนำเข้าจำนวน 600 หัวต่อครั้ง

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

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

4.1 สกัดสารพันธุกรรมชนิดดีเอ็นเอ (Total DNA) จากใบและก้านที่ปลูกจากหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าที่แสดงอาการ zebra chip ที่หัวหรือส่วนของพืชโดยใช้ชุดสกัดสำเร็จรูปหรือการสกัดด้วยวิธี CTAB (Munyaneza และคณะ, 2010)

4.2 เพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของเชื้อ *Candidatus* Liberibacter solanacearum ด้วยเทคนิค Nested-PCR โดยใช้คู่ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงกับเชื้อดังกล่าว และ ใช้ไพรเมอร์สำหรับยีน16S bacterial and Plant chromosomal เป็น Internal control ให้ขนาดผลิตภัณฑ์ PCR 1400-1500 bp

4.3 ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอ (PCR product) ด้วยเทคนิคเจลอิเล็กโตโฟรีซีส (gel electrophoresis) โดยใช้วุ้นอะกาโรส (Agarose Gel) 2 เปอร์เซนต์ ให้แรงดันไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 45-60 นาที

4.4 ตัวอย่างที่ปรากฏแถบแบนของดีเอ็นเอเป้าหมายถือว่าให้ผลบวกกับการตรวจสอบ ทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมอีกครั้งเพื่อส่งตัวอย่างไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

4.5 วิเคราะห์และเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของแต่ละตัวอย่าง โดยจัดการข้อมูลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป DNASTAR และเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลใน GenBank

5. ติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้า โดยทำการติดตามตรวจสอบในแปลงของบริษัทที่นำเข้าในจังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ ตาก พะเยา สกลนคร และนครพนม

6. การบันทึกข้อมูล

ข้อมูลการตรวจพบและไม่พบเชื้อ *Candidatus* Liberibacter solanacearum จำนวนครั้ง ปริมาณ และประเทศผู้ส่งออกหัวพันธุ์มันฝรั่ง

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม พ.ศ. 2564 ถึง กันยายน พ.ศ. 2566

สถานที่ 1. ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

2. แปลงปลูกหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าของบริษัทเอกชนหรือเกษตรกรในจังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ ตาก พะเยา สกลนคร และนครพนม

ผลและวิจารณ์การทดลอง

1. สืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับเชื้อ ‘*Candidatus* Liberibacter solanacearum’

ประเทศไทยมีเงื่อนไขอนุญาตให้นำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจาก 7 ประเทศ ได้แก่

1) ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจากแคนาดา พ.ศ. ๒๕๕๒

2) ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจากราชอาณาจักรเนเธอร์แลนด์ พ.ศ. ๒๕๕๒

3) ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจากนิวซีแลนด์ พ.ศ. ๒๕๕๒

4) ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจากสกอตแลนด์ พ.ศ. ๒๕๕๒

5) ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจากสหรัฐอเมริกา (ฉบับที่ ๒) พ.ศ. ๒๕๕๔

6) ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจากเครือรัฐออสเตรเลีย พ.ศ. ๒๕๕๒

7) ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจากรัฐอิสราเอล พ.ศ. ๒๕๕๒

เชื้อแบคทรีเรีย ‘*Candidatus* Liberibacter solanacearum’ สาเหตุโรค Zebra chip ในมันฝรั่ง (EPPO, 2024)

ชื่อวิทยาศาสตร์ (Scientific Names) ‘*Candidatus* Liberibacter solanacearum’ Liefting et al., 2009

ชื่อสามัญ (Common Name) Zebra chip

ชื่อวิทยาศาสตร์อื่น (Other Scientific Names) *‘Candidatus* Liberibacter psyllaurous’ Hansen et al., 2008 *Liberibacter psyllaurous Liberibacter solanacearum*

แบคทีเรียชนิดนี้มีรายงานพบครั้งแรกก่อโรคในพืชตระกูลพริกมะเขือเทศ (Solanaceae) และมีความสัมพันธ์กับเพลี้ยไก่แจ้จากประเทศนิวซีแลนด์และสหรัฐอเมริกา ได้ถูกเสนอชื่อระบุเป็น ‘*Candidatus* Liberibacter psyllaurous’ (Hansen *et al*., 2008) ในครั้งแรก และต่อมาได้ถูกเสนอชื่อใหม่เป็น ‘*Candidatus* Liberibacter solanacearum’ (Lso) (Liefting *et al*., 2009c) และถูกใช้เรียกเป็นชื่อวิทยาสาสตร์จนถึงปัจจุบัน ซึ่งจัดเป็นเชื้อแบคทรีเรียที่ไม่สามารถเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ได้ จึงมีสถานะเรียกเป็น ‘Candidatus’(*Ca.*) เชื้อแบคทรีเรียชนิดนี้มีความหลากหลายทางพันธุกรรมและสามารถจัดแบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้ถึง 10 halotype ตามชนิดพืชอาศัยและแมลงพาหะ ซึ่งแต่ละ halotype มีความแตกต่างกันระหว่างพืชอาศัยและชนิดเพลี้ยไก่แจ้ที่เป็นพาหะ จากข้อมูลการรายงานพบว่าการระบาดของเชื้อโดยส่วนใหญ่พบกลุ่มของ haplotypes 4ชนิด ได้แก่ A, B, F และ G ในพืชอาศัยมันฝรั่งและพืชชนิดอื่น ๆ ในตระกูลพริกมะเขือเทศ และอีก 4 ชนิด ได้แก่ halotype C, D, E และ H-European ในแครอทและพืชชนิดอื่นในพืชตระกูลผักชี พร้อมกับมีการรายงานเพิ่มเติมว่า haplotype H-European พบในพืชวงศ์ผักไผ่ (Polygonaceae) เป็นพืชอาศัยของเชื้อด้วย และ ตรวจพบhaplotypes H-North America และ U ไม่ก่อโรคในพืชวงศ์ผักบุ้ง (Convolvulaceae) และพืชวงศ์กะลังตังช้าง (Urticaceae) ตามลำดับ haplotype H-North

America นั้นพบรายงานในประเทศเม็กซิโก ซึ่งมีความแตกต่างทางด้านพันธุกรรมจาก haplotype H-European ที่มีรายงานพบในยุโรปตอนเหนือ สำหรับข้อมูลการสำรวจในประเทศยุโรปพบ haplotypes หลายชนิดในพืชตระกูลผักชี เช่นเดียวกันกับการพบเชื้อในแมลงเพลี้ยไก่แจ้พาหะ (Psyllid) หลายชนิด แต่ชนิด haplotypes ที่ก่อโรคในพืชตระกูลพริกมะเขือเทศยังไม่พบรายงานในประเทศยุโรป

สัณฐานวิทยา

เป็นแบคทีเรียรูปร่างท่อน (Liefting และคณะ., 2009a; Secor และคณะ., 2009) ขนาดความกว้างประมาณ 0.2 ไมโครเมตร และยาว 4 ไมโครเมตร (Liefting และคณะ., 2009a)

พืชอาศัย

'*Candidatus* Liberibacter solanacearum' เป็นเชื้อก่อโรคในพืชตระกูลพริกะมเขือเทศ เช่น มันฝรั่ง (*Solanum tuberosum*) มะเขือเทศ (*Solanum lycopersicum*) พริก (*Capsicum annuum*) มะเขือ (*Solanum melongena*) tomatillo (*Physalis peruviana*) ทามาริลโล (*Solanum betaceum*) ยาสูบ (*Nicotiana tabacum*) และวัชพืชหลายชนิดในวงศ์ Solanaceae เชื้อสามารถถ่ายทอดได้ด้วยแมลงพาหะคือเพลี้ยไก่แจ้ชนิด *Bactericera cockerelli* และสามารถก่อโรคในพืชตระกูลผักชี (Apiaceae) เช่นแครอท (*Daucus carota*) คื่นฉ่าย (*Apium graveolens*) Celeriac (*A. graveolens* rapaceum) parsnip (*Pastinaca sativa*) ผักชีฝรั่ง (*Petroselinum crisum*) ยี่หรา (*Anthriscus cerefolium*) เชอร์วิล (*Anthriscus cerefolium*) และวัชพืชหลายชนิดในวงศ์ Apiaceae พบการระบาดของเชื้อในยุโรปตอนเหนือในพืชตระกูลผักชี โดยมีเพลี้ยไก่แจ้ชนิด *Trioza apicalis* (carrot phyllid) เป็นแมลงพาหะ ส่วนพื้นที่ยุโรปตอนใต้และเมดิเตอร์เรเนียนพบเพลี้ยไก่แจ้ *B. trigonica* เป็นแมลงพาหะ

จากรายงานผลการวิจัยหลายแหล่งพบว่าเชื้อ '*Ca* L. Solanacearum' มีพืชอาศัยกว้างไม่ได้จำกัดเฉพาะในพืชวงศ์พริกมะเขือเทศ (Solanaceae) และพืชวงศ์ผักชี (Apiaceae) พบผลการศึกษาการตรวจสอบในห้องปฏิบัติการพบว่า พืชในวงศ์ผักไผ่ (Convolvulaceae) มันเทศ (*Ipomoea batatas*) และหญ้าสนาม (*Convolvulus arvensis*) ให้ผลปฏิกิริยาบวกในตัวอย่างที่มีการปลูกเชื้อด้วยแมลงพาหะเพลี้ยไก่แจ้ชนิด *B. cockerelli* และในปี ค.ศ. 2018 รัฐแคลิฟอร์เนีย สหรัฐอเมริกา มีรายงานพบเชื้อ '*Ca* L. Solanacearum' ในตำแย (*Urtica dioica*) ประเทศฟินแลนด์พบเพลี้ยไก่แจ้ชนิด *Trioza urticae* ในเป็นพาหะของเชื้อ รายงานล่าสุดในแคริฟอร์เนีย สหรัฐอเมริกาตรวจพบเชื้อ '*Ca* L. Solanacearum' ในพืชวงศ์ Polygonaceae (*Fallopia convolvulus* และ *Persicaria lapathifolia*)

พืชอาศัยได้แก่: *Aegopodium podagraria, Anthriscus cerefolium, Anthriscus sylvestris, Apiumgraveolens var. rapaceum, Apium graveolens, Capsicum annuum, Capsicum frutescens, Chenopodium album, Datura stramonium, Daucus aureus, Daucus carota, Fallopia convolvulus, Foeniculum vulgare, Galium* sp., *Heracleum sphondylium,*

Lycium barbarum, Nicotiana tabacum, Pastinaca sativa, Persicaria lapathifolia, Petroselinum crispum, Physalis ixocarpa, Physalis peruviana, Physalis virginiana, Solanum americanum, Solanum betaceum, Solanum dulcamara, Solanum elaeagnifolium, Solanum lycopersicum, Solanum melongena, Solanum pseudocapsicum, Solanum tuberosum, Solanum umbelliferum, Urtica dioica

ลักษณะทางชีววิทยา

เชื้อ '*Ca* L. Solanacearum' จัดเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ ส่วนใหญ่จะเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณภายในท่ออาหารของพืช (phloem-limited) และมีการถ่ายทอดเชื้อไปยังต้นพืชอื่นด้วยแมลงพาหะกลุ่มเพลี้ยไก่แจ้ (psyllid) (Liefting *et al*., 2009c)

เชื้อ '*Ca* L. Solanacearum' halotypes A และ B ถ่ายทอดโดยเพลี้ยไก่แจ้ชนิด *Bactericera cockerelli* ในตระกูลพริกมะเขือเทศ haplotype C ถ่ายทอดเชื้อโดยเพลี้ยไก่แจ้ชนิด *Trioza apicalis* ในพืชตระกูลผักชี และสำหรับ halotype D และ E ถ่ายทอดเชื้อโดย *Bactericera trigonica* แม้ว่า *B. tremblayi* (หัวหอม/ต้นหอม psyllid) และ *B. nigricornis* อาจได้รับ '*Ca*. L. solanacearum' โดยการเข้าทำลายพืชวงศ์ Apiaceae ในประเทศสเปนพบรายงานว่าเพลี้ยไก่แจ้ชนิด *B. Tremblayi* ไม่สามารถถ่ายทอดเชื้อไปยังแครอทได้ และไม่น่าที่จะเป็นแมลงพาหะในแครอท การถ่ายทอดเชื้อของเพลี้ยไก่แจ้ *B. nigricornis* ยังอยู่อยู่ระหว่างการศึกษา และมีการตรวจพบ haplotype U ในเพลี้ยไก่แจ้ชนิด *Trioza urticae* จากต้นตำแยที่เข้าทำลาย ข้อมูลปัจจุบันจากการศึกษาพบว่าเชื้อ *Ca* L. solanacearum ส่วนใหญ่ถ่ายทอดระหว่างต้นโดยแมลงพาหะเพลี้ยไก่แจ้ชนิด *B. cockerelli* และยังไม่พบข้อมูลการถ่ายทอดเชื้อสาเหตุระหว่างต้นพืชโดยเพลี้ยไก่แจ้ 2 ชนิด คือ *T. apicalis* และ *B. trigonica*

Pitman และคณะ (2011) ผลการศึกษาพบว่าการถ่ายทอดของเชื้อผ่านหัวพันธุ์ที่ติดเชื้อมีผลกระทบน้อย แต่อย่างก็ตามจากผลการศึกษาการถ่ายทอดของเชื้อจะยังไม่มากพอแต่ก็แสดงให้ว่าเชื้อไม่ถ่ายทอดผ่านเมล็ดพันธุ์ในพืชตระกูลพริกมะเขือ สำหรับพืชตระกูลผักชี (Apiaceae) อย่างเช่นแครอท และพืชตระกูลผักชีชนิด อื่น ๆ จากผลการศึกษาของ Bertolini และคณะ (2014) ยังไม่สามารถสรุปผลได้แน่ชัดว่ามีการถ่ายถอดของเชื้อผ่านเมล็ดเช่นเดียวกับผลการศึกษาของหลายท่าน เช่น Loiseau และคณะ.,2017a,b; Oishi และคณะ., 2017; Mawassi และคณะ., 2018; Haapalainen และคณะ., 2018b; Carminati และคณะ., 2019; Denton และคณะ 2019) ดังนั้นข้อมูลปัจจุบันพบว่าเชื้อ '*Candidatus* Liberibacter solanacearum' ยังไม่พบการถ่ายทอดผ่านทางเมล็ด มีเพียงแต่การถ่ายทอดเชื้อระหว่างต้นพืชได้โดยอาศัยแมลงพาหะเท่านั้น และการถ่ายทอดเชื้อจากหัวพันธุ์ที่เป็นโรคไปยังหัวพันธุ์อื่นได้น้อยมากหรือไม่มีการติดเชื้อระหว่างหัวพันธุ์เป็นลักษณะการปนเปื้อนของเชื้อ

อย่างไรก็ตามการศึกษาความรุนแรงอาการบนพืชที่เกิดจากเชื้อที่ต่างชนิด halotype กัน พบว่าชนิด halotype B จะมีความรุนแรงของโรครุนแรงกว่าชนิด halotype A ในมะเขือเทศ แต่ใน

มันฝรั่งความรุนแรงของชนิด B จะรุนแรงน้อยกว่า A และจากการศึกษาความหลากหลายของเชื้อด้วยลักษณะทางพันธุกรรม ก็พบว่า halotype ที่ก่อโรคในพืชวงศ์เดียวกันก็ไม่ได้ถูกจัดในกลุ่มเดียวกัน มีรายงานพบว่าเชื้อชนิด halotype C ในประเทศฟินแลนด์ และ halotype E ทั้งสองชนิดสามารถก่อโรคในมันฝรั่งได้ แต่การแพร่ระบาดของเชื้อแตกต่างกันเนื่องจากความสามารถของแมลงพาหะที่เข้าทำลายพืชอาศัยแต่ละตระกูลแตกต่างกันสำหรับในพืชวงศ์พริกมะเขือ (Solanaceae) และวงศ์ผักชี (Apiaceae) เช่นการถ่ายทอดของเชื้อชนิด halotype B โดยมีเพลี้ยไก่แจ้ *B. Cockerelli* เป็นแมลงพาหะ ซึ่งพบว่าเพลี้ยไก่แจ้มีประสิทธิภาพในการถ่ายทอดเชื้อลดน้อยลง ประเทศฟินด์แลนด์พบว่าแปลงปลูกแครอท ที่ปลูกใกล้เคียงกับแปลงปลูกมันฝรั่งตรวจพบการติดเชื้อ halotype C แต่ต้นมันฝรั่งและหัวมันไม่พบอาการ สำหรับในประเทศสเปนเชื้อชนิด halotype E ซึ่งมีแมลงพาหะเป็นเพลี้ยไก่แจ้ *B. cockerelli* พบอาการของโรคในหัวมันฝรั่งในพื้นที่ปลูกเมือง Castilla y Leon และเมือง Cantabria (EPPO, 2017) อย่างไรก็ตามเพลี้ยไก่แจ้ชนิด *B. trigonica* ไม่สามารถถ่ายทอดเชื้อไปยังมันฝรั่งได้ จากการศึกษาข้างต้นควรมีข้อมูลการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างสายพันธุ์ให้ดียิ่งขึ้นและจำเป็นต้องมีการระบุตัวแปรสำคัญของความหลากหลายทางพันธุกรรมเชื้อแบคทรีเรียเพื่อใช้ในการศึกษาหาความสัมพันธ์ต่อไป ซึ่งต้องมีการหารือกันในนักวิทยาศาสตร์ทั่วโลก

สภาวะแวดล้อมที่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ ‘*Candidatus* Liberibacter solanacearum’ ยังไม่พบการรายงานมากนัก อย่างไรก็ตามอุณหภูมิมีผลอย่างมากต่อการพัฒนาของแบคทรีเรียชนิดนี้เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อชนิดที่ก่อโรคในส้ม และพบว่าเชื้อ ‘*Candidatus* Liberibacter solanacearum’ ไม่สามารถทนต่อสภาพอุณหภูมิที่สูงกว่า 32 องศาเซียลเซียส

โดยทั่วไปแล้วลักษณะทางชีวิทยาของเชื้อ ‘*Candidatus* Liberibacter solanacearum’ จะขึ้นอยู่กับวงจรชีวิตของแมลงพาหะ โดยเชื้อสามารถปรับเปลี่ยนไปได้ตามสรีรวิทยาของแมลงพาหะและสภาพแวดล้อมที่ส่งเสริมต่อการพัฒนาของเชื้อแบคทรีเรียและการถ่ายทอดที่สมบูรณ์ของแมลง จากกรณีเพลี้ยไก่แจ้ชนิด *T. apicalis* และ *B. trigonica* ซึ่งเป็นพาหะในการถ่ายทอดเชื้อชนิด halotype C ตัวเต็มวัยสามารถทนอยู่ข้ามฤดูในฤดูหนาวบนต้นสนได้นาน เพลี้ยไก่แจ้ชนิด *B. Trigonica* ที่เป็นแมลงพาหะในพืชตระกูลผักชี ในเขตยุโรปใต้และแถบเมดิเตอร์เลเนียน สามารถขยายพันธุ์ได้ 2 - 3 รุ่นต่อปีและตัวเต็มวัยสามารถอยู่ข้ามฤดูได้โดยอาศัยกับพืชอื่น ๆ ดังนั้นแมลงพาหะที่มีความสำคัญเป็นอย่างมากในการแพร่ระบาดของเชื้อและชนิดแมลงพาหะที่สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมสามารถอยู่ข้ามฤดูได้ ก็จะมีความสามารถในการติดเชื้อได้นานและสามารถเข้าทำลายพืชอาศัยพร้อมกับการถ่ายทอดโรคต่อไปได้อย่างกว้างขวางและยากการการป้องกันกำจัดสำหรับแมลงพาหะชนิดดังกล่าว

ลักษณะอาการของโรค

ลักษณะอาการของต้นพืชที่เป็นโรคในพืช มันฝรั่ง มะเขือเทศ และพืชชนิดอื่นในวงศ์พริกมะเขือเทศ จะมีลักษณะอาการคล้ายอาการติดเชื้อไฟโตพลาสม่า ซึ่งพบอาการแคระแกร็น ใบยอดชี้ตรง ใบซีดเหลือง มีอาการใบสีม่วงและม้วน ปลายใบสั้นลงและหนาขั้น ข้อปล้องขยายบวมพองที่

ซอกตาใบเกิดการงอกหัว ใบไหม้ มีผลขนาดเล็กรูปร่างผิดปกติ สำหรับอาการในหัวมันฝรั่งท่อลำเลียงมีสีน้ำตาลร่วมกับรอยจุดของเนื้อเยื่อตายเป็นเส้นตามระบบท่อลำเลียง เมื่อนำหัวมันฝรั่งไปแปรรูปจะแสดงรอยอาการเนื้อเยื่อตายสีที่เข้มจางสลับกับเนื้อเยื่อปกติจนมองดูคล้ายลายของม้าลายจึงถูกเรียกอาการของโรคว่า Zebra chip และส่งผลกระทบกับอุตสาหกรรมแปรรูปมันฝรั่งไม่สามารถแปรรูปผลผลิตได้เนื่องจากไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

สำหรับอาการของโรคในแครอทจะพบอาการใบง้วนงอ ใบเหลืองซีด ใบสีม่วง ระบบรากแคะแกร็นส่งผลให้ผลผลิตหัวแครอทขนาดเล็กไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค ซึ่งลักษณะอาการดังกล่าวคล้านคลึงกับอาการของการติดเชื้อไฟโตพลาสม่าที่มีเพลี้ยจักจั่นเป็นแมลงพาหะในแครอท และพืชที่ไม่แสดงอาการก็สามารถตรวจพบเชื้อได้เช่นกัน

ลักษณะสำคัญทางเศรษฐกิจ

เป็นเชื้อแบคทรีเรียซึ่งมีความสัมพันธ์กับแมลงพาหะที่มีความซับซ้อนและก่อให้เกิดความเสียหายร้อายแรงต่ออุตสาหกรรมแปรรูปมันฝรั่งและมะเขือเทศในสหรัฐอเมริกาและนิวซีแลนด์

เชื้อ ‘*Candidatus* Liberibacter solanacearum’ ถูกพบครั้งแรกในปี 2008 (Hansen *et al*., 2008; Liefting *et al*., 2008a,b) และมีหลักฐานแสดงให้เห็นว่าเกี่ยวข้องกับอาการ zebra chip ในมันฝรั่งโรคนี้พบครั้งแรกเริ่มในปี 1990 โดยมีผลกระทบเพิ่มขึ้น และมีข้อมูลความเชื่อมโยงถึงเพลี้ยไก่แจ้ *B. cockerelli* เป็นครั้งแรกในปี 2007 (Munyaneza *et al*., 2007a,b) ประเทศเม็กซิโกรายงานการพบโรค zebra chip ในปี 1990 ก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจอย่างร้ายแรง และพบบางส่วนของรัฐเท็กซัสตอนใต้ในปี 2004 - 2005 ในมังฝรั่งสำหรับมังฝรั่งที่เป็นโรคจะมีแถบของเนื้อเยื่อตายสีเข้มชัดเจนเมื่อนำไปทอดจึงไม่เป็นที่นิยมสำหรับผู้บริโภค ทำให้เกิดผลกระทบรุนแรงในผู้ปลูกมันฝรั่งเพื่อแปรรูปและบริโภคเนื่องจากไม่สามารถขายได้ หัวพันุ์ที่ติดเชื้อจะไม่งอก และหากงอกจะเป็นต้นที่อ่อนแอ และสร้างผลกระทบอย่างมากในพืชตระกูลพริกมะเขือ อื่น ๆ เช่น มะเขือเทศ พริก มะเขือ ทามาริลโล และยาสูบ ซึ่งในปี 2013 รัฐเท็กซัส สหรัฐอเมริกา และนิวซีแลนด์ สูญเสียผลผลิตมันฝรั่งจากโรค zebra chip ประมาณ 33 ล้านเหรียญสหรัฐ และ 50 ล้านเหรียญนิวซีแลนด์ ตามลำดับ

การตรวจพบเชื้อสาเหตุในประเทศอาจส่งผลต่อตลาดส่งออกได้เช่นกัน ในประเทเทศนิวซีแลนด์การส่งออกพริกผลสดมีปริมาณลดลงมูลค่า 5.22 ล้านเหรียญนิวซีแลนด์ ในปี 2008 และอุตสาหกรรมผลิตมะเขือเทศสูญเสียรายได้ไปเกือบ 3 ล้านเหรียญนิวซีแลนด์ ในยุโรปรายงานความเสียหายที่เกิดกับผลผลิตแครอทเกือบ 100 เปอร์เซนต์

การควบคุม

ควรใช้สารป้องกันกำจัดแมลงโดยมุ่งเป้าไปที่แมลงพาหะกลุ่มเพลี้ยไก่แจ้ในมันฝรั่งและแครอท การใช้ตาข่ายเป็นวิธีเดียวในการจัดการโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Munyaneza, 2012; De Winter, 2019)

มาตรการด้านสุขอนามัยพืช

1. มาตรการการป้องกันการเข้ามาของเชื้อนี้ หัวพันธุ์มันฝรั่งควรมาจากพื้นที่ที่ไม่มีการระบาดของเชื้อนี้และหัวพันธุ์มันฝรั่งควรคัดเลือกเกรดสูง หากมีการนำเข้ามาแล้วควรอยู่ภายใต้การกักกันภายหลังการกักกัน (post-entry quarantine) ส่วนมันฝรั่งที่นำเข้าเพื่อการแปรรูปทางอุตสาหกรรมเท่านั้น นอกจากนี้ยังแนะนำให้ประเทศต่างๆ จัดตั้งระบบควบคุมการกำกับดูแลระดับชาติสำหรับแมลง *Bactovera cockerelli* และ '*Candidatus* Liberibacter solanacearum' (โดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับ haplotypes A และ B) เพื่อปกป้องการระบาดของโรคนี้ในมันฝรั่งและต้องมีการดำเนินการอย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพหากเกิดการระบาดของโรคนี้

2. สุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจากทุกประเทศตามมาตรฐาน ISPM 31 (Methodologies for sampling of consignments) โดยทำการสุ่มตัวอย่างจากด่านตรวจพืชต่าง ๆ ที่มีการนำเข้า 600 หัวต่อครั้ง

3. หัวพันธุ์มันฝรั่งที่มีการนำเข้าตั้งแต่ปี พ.ศ. 2564 ถึง พ.ศ. 2566 มีการนำเข้าจาก 6 ประเทศ ได้แก่ 1) เครือรัฐออสเตรเลีย นำเข้าจำนวน 31 ครั้ง น้ำหนักรวม 2,806,750.00 กิโลกรัม 2) แคนาดา นำเข้าจำนวน 8 ครั้ง น้ำหนักรวม 1,936,000.00 กิโลกรัม 3) ราชอาณาจักรเนเธอร์แลนด์ นำเข้าจำนวน 7 ครั้ง น้ำหนักรวม 10,025,750.00 กิโลกรัม 4) ราชอาณาจักรนิวซีแลนด์ นำเข้าจำนวน 3 ครั้ง น้ำหนักรวม 513,000.00 กิโลกรัม 5) ราชอาณาจักรสกอตแลนด์ นำเข้าจำนวน 4 ครั้ง น้ำหนักรวม 12,422,750.00 กิโลกรัม 6) สหรัฐอเมริกา นำเข้าจำนวน 2 ครั้ง น้ำหนักรวม 375.5 กิโลกรัม และ 7) สหราชอาณาจักร นำเข้าจำนวน 6 ครั้ง น้ำหนักรวม 9,115,500.00 กิโลกรัม โดยทำการสุ่มหัวพันธุ์มันฝรั่งจำนวน 600 หัวต่อครั้ง เพื่อใช้สำหรับการตรวจสอบโรคกับหัวพันธุ์ การตรวจสอบเบื้องต้นโดยการตรวจสอบด้วยตาเปล่า และผ่าหัวมันฝรั่งเป็นสังเกตอาการ zebra chip ภายในหัวมันฝรั่ง บันทึกข้อมูลต่าง ๆ และบันทึกภาพ หากตรวจพบลักษณะอาการเป็นลายน่าสงสัยนำหัวมันฝรั่งไปปลูกเพื่อสังเกตอาการและเก็บตัวอย่างใบหรือกิ่งมาตรวจวินิจฉัยและจัดจำแนกต่อไป จากการตรวจสอบตัวอย่างนำเข้าจากทั้ง 6 ประเทศ ได้แก่ 1) ราชอาณาจักรสกอตแลนด์ 2) แคนาดา 3) เครือรัฐออสเตรเลีย 4) ราชอาณาจักรเนเธอร์แลนด์ 5) ราชอาณาจักรนิวซีแลนด์ 6) สหรัฐอเมริกา บริเวณรอบหัวพันธุ์มันฝรั่งมีลักษณะรอยกระแทกหรือรอยที่เกิดจากของมีคม และมีอาการเน่าเละบางหัว มีเศษดินติดมาเล็กน้อย และหัวพันธุ์ที่นำเข้าจากสกอตแลนด์ พบลักษณะอาการ powdery scab แต่ไม่เกินเงื่อนไขที่ประเทศไทยกำหนด และเมื่อผ่าหัวพันธุ์เพื่อสังเกตลักษณะอาการ zebra chip (ภาพที่ 2) ไม่พบลักษณะอาการที่สงสัย เนื้อหัวมีลักษณะปกติไม่มีลาย (ภาพที่ 3) นำหัวพันธุ์ไปปลูกทดสอบในโรงเรือนปลูกพืชเพื่อสังเกตอาการต่อไป

4. การตรวจวินิจฉัยเชื้อ '*Candidatus* Liberibacter solanacearum' โดยใช้เทคนิค Nested-PCR ตามวิธีการดังนี้

4.1 การสกัดดีเอ็นเอจากหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าที่แสดงอาการ zebra chip และสุ่มตรวจจากหัวพันธุ์ที่ไม่พบอาการ ด้วยวิธี CTAB ตามวิธีการมาตรฐานของ PM 7/143 (1) '*Candidatus*

Liberibacter solanacearum' (EPPO, 2020) ที่อ้างอิงโดย Munyaneza และคณะ, 2010 การสกัดดีเอ็นเอจากหัวพันธุ์มันฝรั่งบริเวณเนื้อเยื่อ vascular ring (ภาพที่ 1 และ 7) ด้วยวิธี cetyltrimethyl ammonium bromide (CTAB) ตามวิธีการของ European and Mediterranean Plant Protection Organization (Munyaneza *et al*., 2010) โดยนำเนื้อเยื่อพืชส่วนท่อลำเลียงน้ำหนัก 0.5 กรัมต่อสารละลาย CTAB 1 มิลลิลิตร (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) บดให้ละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน และดูดสารละลายลงในหลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง นำไปปั่นเหวี่ยงตกตะตอนที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที่ นาน 10 นาที ดูดส่วนใสใสในหลอดใหม่ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และเติมสารละลาย Chloroform: isoamyl (24:1) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมสารละลายให้เข้ากันด้วยการพลิกกลับหลอดไปมา และนำไปปั่นเหวี่ยงตกตะกอนที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ดูดส่วนใสด้านบนใสในหลอดใหม่ แล้วเติมด้วยสาระลลาย isopropanal ที่แช่เย็นปริมาตร 1 เท่าของสารละลายส่วนใสและกลับหลอดไปมาให้สารละลายเข้ากันจะสังเกตเห็นการตกตะกอนของโมเลกุลดีเอ็นเอถ้าความเข้มข้นของโมเลกุลดีเอ็นเอสูง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงตกตะกอนดีเอ็นเอที่ความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที เทส่วนสารละลายใสทิ้งแล้วล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วยเอทานอลเย็นจัดเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ สองครั้ง และนำตะกอนดีเอ็นเอไปตากไว้ที่อุณภูมิห้องจนสารละลายเอลกอฮอร์ระเหยจนแห้งสนิท จึงนำตะกอนดีเอ็นเอมาละลายด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 20 – 50 ไมโครลิตร เมื่อตะกอนดีเอ็นเอละลายดีแล้วจึงนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเพื่อนำไปตรวจหาเชื้อ '*Candidatus* Liberibacter solanacearum' ด้วยเทคนิค Nested-PCR ต่อไป

4.2 การเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของเชื้อ '*Candidatus* Liberibacter solanacearum' ด้วยเทคนิค Nested-PCR โดยใช้คู่ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงกับเชื้อ และคู่ไพรเมอร์สำหรับยีน 16S bacterial and Plant chromosomal เป็นชุดควบคุมภายใน Internal control ด้วยวิธีการของหน่วยงาน Prepared for Subcommittee on Plant Health Diagnostic Standards (SPHDS) , 2012 ประเทศออสเตรเลีย ซึ่งใช้ในการทำปฏิกิริยา Nested-PCR ครั้งที่ 1 ด้วยคู่ไพรเมอร์ OA2 (GCGCTTATTTTAATAGGAGCGGCA) และ OI2c (GCCTCGCGACTTCGCAACCCAT) ให้ผลิตภัณฑ์ PCR ขนาด 1160 bp ปฏิกิริยาครั้งที่ 2 ด้วยคู่ไพรเมอร์ Lib16S01F (TTCTACGGGATAACGCACGG) และ Lib16S01R (CGTCAGTATCAGGCCAGTGAG) ให้ผลิตภัณฑ์ PCR 580 bp โดยใช้สารละลายในการทำปฏิกิริยา PCR ดังต่อไปนี้คือ สารละลายสำเร็จรูปสำหรับทำปฏิกิริยา PCR DreamTaq Green Master mix 2X (Thermo Scientific™) ปริมาตร 12.5 ไมโครลิตร (µl) สารละลายไพรเมอร์ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ (µM) ใช้สารละลายดีเอ็นเอ 3 ไมโครลิตร และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 7.5 ไมโครลิตร ปริมาตรรวมทั้งหมดในการทำปฏิกิริยาเท่ากับ 25 ไมโครลิตร (µl) นำสารละลายทำปฏิกิริยาครั้งที่ 1 จากคู่ไพรเมอร์ OA2 และ OI2c ด้วยเครื่อง PCR ที่อุณหภูมิเริ่มต้น 94 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที และ

ในขั้นตอนการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 45 วินาที อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 45 วินาที อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที โดยทำปฏิกิริยาทั้งหมดจำนวน 40 รอบ และขั้นตอนสุดท้ายที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 7 นาที และ นำสารละลายทำปฏิกิริยาครั้งที่ 2 ด้วยคู่ไพรเมอร์ Lib16S01F และ Lib16S01R ด้วยเครื่อง PCR ที่อุณหภูมิเริ่มต้น 94 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที และในขั้นตอนการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที อุณหภูมิ 58 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 45 วินาที โดยทำปฏิกิริยาทั้งหมดจำนวน 40 รอบ และขั้นตอนสุดท้ายที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 7 นาที

4.3 การตรวจสอบผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอ (PCR product) ด้วยเทคนิคเจลอิเล็กโตโฟรีซีส (gel electrophoresis) ตามขั้นตอนดังนี้

4.3.1 เตรียมอะกาโรสเจล 2 เปอร์เซ็นต์ โดยชั่งผงวุ้นอะกาโรส 2 กรัม ละลายในบัฟเฟอร์ 0.5X TBE buffer ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ทำให้เดือดและละลายเป็นสารละลายด้วยเครื่องไมโครเวฟ จากนั้นนำสารละลายวุ้นผสมสารย้อมสีดีเอ็นเอ (RedSafe™ Nucleic Acid Staining Solution) ลงในสารละลายเจลก่อนการเทเจลบนถาดสำหรับเตรียมแผ่นเจล

4.3.2 นำสารละลายผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอ (PCR-Product) ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงในเจลที่เตรียมไว้และใช้ดีเอ็นเอมาตรฐานขนาด 100 bp DNA ladder เป็นตัวเปรียบเทียบขนาดของผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอ และให้กระแสไฟฟ้าที่ 100 โวลต์ เป็นเวลา 45 นาที

4.3.3 ตรวจสอบแถบดีเอ็นเอภายใต้แสง UV ด้วยเครื่อง gel documentation บันทึกภาพ แล้วนำไปวิเคราะห์ผล

4.3.4 ตัวอย่างที่ปรากฏแถบแบนของดีเอ็นเอเป้าหมายถือว่าให้ผลบวกกับการตรวจสอบ ทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมอีกครั้งเพื่อส่งตัวอย่างไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

4.3.5 นำผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ไปเปรียบเทียบกับในฐานข้อมูลของ GenBank

5. ติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้า โดยทำการติดตามตรวจสอบในแปลงของบริษัทที่นำเข้าในอำเภอแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่ อำเภอเวียงป่าเป้า อำเภอเทิง จังหวัดเชียงราย อำเภอเชียงคำ จังหวัดพะเยา อำเภอพังโคน อำเภอเมือง จังหวัดสกลนคร และอำเภอวังยาว จังหวัดนครพนม ผลการติดตามในแปลงปลูกยังไม่พบอาการสงสัยของโรค zebra chip ในพื้นที่

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการตรวจสอบลักษระอาการของโรค Zebra chip บนหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้ายังไม่พบกลุ่มอาการของโรค และการตรวจสอบหาสารพันธุกรรมของเชื้อสาเหตุด้วยเทคนิค Nested-PCR จากเนื้อเยื่อท่อลำเลียงส่วนหัวยังตรวจไม่พบสารพันธุกรรมของเชื้อสาเหตุ ‘*Candidatus* Liberibacter solanacearum’ จากการศึกษาครั้งพบว่าการตรวจวินิจฉัยด้วยเทคนิค Nested-PCR เป็นเทคนิคที่มีความไว (sensitivity of detection) ในการตรวจหาเชื้อสาเหตุได้ในระดับ 10^{-6} เนื่องจากเชื้อ

‘*Candidatus* Liberibacter solanacearum’ เป็นศัตรูพืชที่ยังไม่ปรากฏในประเทศไทยและมีความเสี่ยงสูงที่จะติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งจากแหล่งปลูกที่มีการอนุญาตนำเข้าจาก 7 ประเทศ ณ ปัจจุบัน จึงนำสารพันธุกรรมดีเอ็นเอของเชื้อสาเหตุโรคที่ได้จากการสังเคราะห์เลียนแบบจำลองจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อเป็น positive control เป็นตัวแทนของเชื้อสาเหตุจากธรรมชาติ โดยอ้างอิงจากลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูล NCBI No. EU935004.1 ‘*Candidatus* Liberibacter solanacearum’ 16S ribosomal RNA gene and 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer, partial sequence; and tRNA-Ile and tRNA-Ala genes, complete sequence 2,049 bp และการติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้าในแหล่งปลูกหัวพันธุ์นำเข้า ยังไม่พบลักษณะอาการกลุ่มของโรค Zebra chip บนต้นมันฝรั่ง สำหรับวิธีการสกัดดีเอ็นเอของเชื้อสาเหตุจากตำแหน่งที่พบมากที่สุดคือส่วนเนื้อเยื่อท่อลำเลียง vascular ring นั้นยังพบการปนเปื้อนของอนุภาคเม็ดแป้งจากหัวมันฝรั่งสูง หลังจากการสกัดดีเอ็นเอก่อนนำสารละลายดีเอ็นเอตัวอย่างไปตรวจสอบด้วยเทคนิค Nested-PCR ควรเจือจางสารละลายดีเอ็นเอให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสมก่อนนำไปใช้ในปฏิกิริยา PCR ซึ่งระดับความเข้มข้นดีเอ็นเอที่เหมาะสมที่ 1:10 หรือ 1:100 เพื่อช่วยลดปริมาณอนุภาคแป้งจากหัวมันฝรั่งทำให้ลดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์และปฏิกิริยาของสารเคมีในระหว่างกระบวนการเพิ่มชิ้นส่วนปริมาณดีเอ็นเอ ซึ่งหากสกัดดีเอ็นเอด้วยชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูปชนิดคอลัมภ์จะช่วยกำจัดปริมาณแป้งที่ปนเปื้อนมาทำให้ได้ดีเอ็นเอที่บริสุทธิ์กว่าวิธีการสกัดด้วยสารละลาย CTAB แต่จะมีต้นทุนต่อหน่วยสูงต่อการตรวจตัวอย่าง ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาพัฒนาอุปกรณ์การเก็บตัวอย่างชิ้นเนื้อเยื่อหัวพันธุ์มันฝรั่งได้สะดวกรวดเร็วมากยิ่งขึ้นกว่าการใช้ใบมีดผ่าตัดตัดตามท่อน้ำท่อลำเลียงจากหัวมันฝรั่ง และควรพัฒนาวิธีการตรวจสอบหาเชื้อสาเหตุด้วยเทคนิค Quantitative real tine-PCR (qPCR) พร้อมด้วยวิธีการสกัดดีเอ็นเอที่สะดวกรวดเร็วมากยิ่งขึ้น อย่างไรก็ตามจากรายงาน Takashi และคณะ (2020) พบว่าเชื้อ ‘*Candidatus* Liberibacter solanacearum’ ไม่ถ่ายทอดผ่านทางเมล็ดพันธุ์ของแครอทจากตัวอย่างที่สุ่มตรวจเมล็ดพันธุ์นำเข้าเพื่อปลูกของประเทศญี่ปุ่น หากเป็นเพียงการปนเปื้อนติดมากับเมล็ดพันธุ์เท่านั้น (seed contamination) จึงมีความเป็นไปได้ว่าเชื้อดังกล่าวยังถูกจำกัดการแพร่ระบาดไปยังระหว่างต้นพืช หรือระหว่างพืชอาศัยอื่นยังคงต้องอาศัยแมลงพาหะเพลี้ยไก่แจ้เป็นแมลงให้การแพร่กระจายของเชื้อ เพื่อเป็นการป้องกันไม่ให้เกิดความเสียหายให้กับผลผลิตยังคงให้ความสำคัญในการป้องกันกำจัดแมลงพาหะเป็นหลักและวิธีอื่นร่วมด้วย และหากจะยกระดับสถานะศัตรูพืชกักกันของประเทศไทยก็ยังมีความสำคัญทั้งในแง่การเฝ้าระวังและการติดตามสำรวจชนิดแมลงเพลี้ยไก่แจ้ชนิดที่รายงานเป็นแมลงพาหะถ่ายทอดโรคปรากฏในแหล่งปลูกหรือไม่ แต่จากข้อมูลการสืบค้นพบว่าชนิดของเพลี้ยไก่แจ้ที่เป็นแมลงพาหะของโรคไม่ปรากฏการรายงานพบในประเทศไทย ดังนั้นเห็นสมควรเป็นอย่างยิ่งว่าจะต้องมีการศึกษาสำรวจแมลงพาหะ พร้อมการตรวจสอบและติดตามอาการโรคในแปลงปลูกมันฝรั่ง พืชตระกูลพริกมะเขือเทศ และพืชตระกูลผักชี และศึกษาวิจัยวิธีการบำบัดเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธีกล เช่น การแช่น้ำร้อน หรือสารเคมีที่สามารถป้องกันกำจัดเชื้อที่ปนเปื้อนมากับเมล็ดพันธุ์หากพบการปนเปื้อนมากับชิ้นส่วนของพืชที่นำเข้า

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชลาดกระบังและด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ที่อำนวยความสะดวกในการสุ่มตรวจตัวอย่างในเบื้องต้นและนำส่งตัวอย่างมายังห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักพืชและอนุเคราะห์ให้ข้อมูลการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งเสมอมา และขอขอบคุณผู้ร่วมงานวิจัยทุกท่านที่อนุเคราะห์อุปกรณ์ สถานที่และให้คำปรึกษาข้อมูลด้านศัตรูพืชและวิธีการตรวจสอบได้จนสำเร็จครบตามวัตถุประสงค์ของโครงการ

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.

Binoy Babu, Mathews L. Paret, Nicholas Dufault, and Carrie L. Harmon. 2019. *‘Candidatus Liberibacter Solanacearum’: An Emerging Pathogen Infecting Potato And Tomato*. The Plant Pathology Department, UF/IFAS Extension.

Original publication date August 2015. Reviewed February 2019. Visit the EDIS website at http://edis.ifas.ufl.edu.

Bertolini E, Teresani GR, Loiseau M, Tanaka FAO, Barbé S, Martínez C, Gentit P, López MM, Cambra M. 2015. Transmission of 'Candidatus Liberibacter solanacearum' in carrot seeds. *Plant Pathology* 64, 276-285.

CABI. *'Candidatus Liberibacter solanacearum' (zebra chip).* [ออนไลน์] 2024. แหล่งที่มา: https://www.cabidigitallibrary.org/doi/10.1079/cabicompendium.109434 สืบค้นเมื่อ 1 มีนาคม 2567

Denton G, Yao C, Preston J, Gawthrop F. 2019. *Laboratory and field investigations into vertical transmission of CaLsol in parsnips, and practical application in seed production.*

De Winter C. 2019. Economic impact of '*Candidatus* Liberibacter solanacearum' in carrot farming in the EU. Master thesis business economics. Available online: https://edepot.wur.nl/496773 (last access 31 March 2024)

Erik J. Wenninger and Arash Rashed. 2022. *Insect Pests of Potato (Second Edition).*

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

EPPO (2024) '*Candidatus Liberibacter solanacearum'* Available online: https:// gd.eppo.int/taxon/LIBEPS (last access 31 March 2024)

EPPO (2017) '*Candidatus Liberibacter solanacearum' haplotype E detected on potatoes in Spain.* EPPO Reporting Service article 2017/134 https://gd.eppo.int/ reporting/article-6102

Haapalainen M, Wang J, Latvala S, Lehtonen MT, Pirhonen M, Nissinen AI. 2018b. Genetic variation of '*Candidatus* Liberibacter solanacearum' haplotype C and identification of a novel haplotype from Trioza urticae and stinging nettle. *Phytopathology* 108(8), 925-934.

Hansen AK, Trumble JT, Stouthamer R, Paine TD. 2008. A new huanglongbing species, '*Candidatus* Liberibacter psyllaurous' found to infect tomato and potato, is vectored by the psyllid Bactericera cockerelli (Sulc). *Applied Environmental Microbiology* 74, 5862– 5865.

Liefting LW, Perez-Egusquiza ZC, Clover GRG, Anderson JAD. 2008a. A new '*Candidatus* Liberibacter' species in Solanum tuberosum in New Zealand. *Plant Disease* 92, p 1474.

Liefting LW, Ward LI, Shiller JB, Clover GRG. 2008b. A new '*Candidatus* Liberibacter' species in Solanum betaceum (tamarillo) and Physalis peruviana (Cape gooseberry) in New Zealand. *Plant Disease* 92, p 1588.

Liefting, L.W.; Weir, B.S.; Pennycook, S.R.; Clover, G.R.G. 2009. '*Candidatus* Liberibacter solanacearum', associated with plants in the family Solanaceae. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 59(9): 2274-2276.Parent reference International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology; DOI:10.1099/ijs.0.007377-0

Liefting LW, Sutherland PW, Ward LI, Paice KL, Weir BS, Clover GRG. 2009a. A new '*Candidatus* Liberibacter' species associated with diseases of solanaceous crops. *Plant Disease* 93, 208–214.

Liefting LW, Veerakone S, Ward LI, Clover GRG. 2009b. First report of '*Candidatus* Phytoplasma australiense' in potato. *Plant Disease* 93, p 969.

Liefting LW, Weir BS, Pennycook SR, Clover GRG. 2009c. '*Candidatus* Liberibacter solanacearum', associated with plants in the family Solanaceae. *International Journal of Systematics and Evolutionary Microbiology* 59, 2274–2276.

Mawassi M, Dror O, Bar-Joseph M, Piasezky A, Sjolund JM, Levitzky N, Shoshana N, Meslenin L, Haviv S, Porat C, Katsir L, Kontsedalov S, Ghanim M, Zelinger-Reichert E, Arnsdorf YM, Gera A, Bahar O. 2018. '*Candidatus* Liberibacter solanacearum' is tightly associated with carrot yellows symptoms in Israel and transmitted by the prevalent psyllid vector *Bactericera trigonica*. *Phytopathology* 108(9), 1056-1066.

Munyaneza JE, Crosslin JM, Upton JE. 2007a. Association of *Bactericera cockerelli* (Homoptera: Psyllidae) with 'zebra chip', a new potato disease in southwestern United States and Mexico. *Journal of Economic Entomology* 100, 656–663.

Munyaneza JE, Goolsby JA, Crosslin JM, Upton JE. 2007b. Further evidence that zebra chip potato disease in the lower Rio Grande Valley of Texas is associated with *Bactericera cockerelli. Subtropical Plant Science* 59, 30–37.

Munyaneza JE, Fisher TW, Sengoda VG, Garczynski SF, Nissinen A, Lemmetty A. 2010a. First report of '*Candidatus* Liberibacter solanacearum' in carrots in *Europe. Plant Disease* 94, p 639.

Munyaneza JE, Sengoda VG, Buchman JL, Fisher TW. 2012a. Effects of temperature on 'Candidatus Liberibacter solanacearum' and zebra chip potato disease symptom development. *Plant Disease* 96, 18–23.

Oihi M, Hoshino S, Fujiwara Y, Ushiku S, Kobayashi Y, Namba I. 2017. A comparison of protocols to detect '*Candidatus* Liberibacter solanacearum' from carrot seeds. Research on the effectiveness of propidium monoazide treatment and evaluation of seed transmission in carrot. *Research Bulletin of the Plant Protection Service* 53, 111-117.

Oey, I., Faridnia, F., Leong, S.Y., Burritt, D.J., Liu, T. 2016. Determination of Pulsed Electric Fields Effects on the Structure of Potato Tubers. In: Miklavcic, D. (eds) Handbook of Electroporation. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-26779-1_151-1

Piman AR, Drayton GM, Kraberger SJ, Genet RA, Scott IAW. 2011. Tuber transmission of 'Candidatus Liberibacter solanacearum' and its association with zebra chip on potato in New Zealand. *European Journal of Plant Pathology* 129, 389–398.

SPHDS. *Diagnostic Protocol for the Identification and Detection of 'Candidatus Liberibacter Solanacearum', the Causal Agent of Zebra Chip of Potatoes*. Subcommittee on Plant Health Diagnostic Standards. Australian Government, Department of Agriculture. [ออนไลน์]. 2023. https://www.plantbiosecuritydiagnostics.net.au/app/uploads/2018/11/NDP-18-Zebra- chip-Candidatus-Liberibacter-solanacearum-V1.2.pdf. สืบค้นเมื่อ 1 กุมภาพันธ์ 2566

Takashi Fujikawa, Kohji Yamamura, Kohei Osaki, Nobuya Onozuka, Mariko Taguchi, Akane Sasaki, Masatoshi Sato. 2020. Seed transmission of 'Candidatus Liberibacter solanacearum' is unlikely in carrot. *Journal of General Plant Pathology* 86 p: 266-273.

Table 1 Volume and value of seed potato imports from Thailand during 2021 - 2023

importing country	Year 2021		Year 2022		Year 2023	
	Quantity (Ton)	Value (Million Bath)	Quantity (Ton)	Value (Million Bath)	Quantity (Ton)	Value (Million Bath)
Australia	1,917.00	56.24	1,650.00	54.92	749.32	24.69
Canada	513.00	11.26	729.00	18.51	1,107.00	32.18
Netherlands	137.50	3.81	125.00	3.83	75.00	2.50
Scotland	4,433.00	133.18	5,011.75	165.42	2,899.84	90.38
New Zealand	-	-	25.00	0.96	150.00	5.80
United States of America	-	-	0.37	0.34	0.02	0.13
รวม	**7,000.50**	**204.49**	**7,541.12**	**243.98**	**4,981.18**	**155.68**

Table 2 List of important pests in potatoes (EPPO, 2024)

Type of Pest	Quantity	Pest
Acari	3	1) *Aculops lycopersici* 2) *Aculops lycopersici* (as Solanaceae) 3) *Tetranychus evansi*
Bacteria	20	1) *Xanthomonas vesicatoria* 2) *'Candidatus Arsenophonus phytopathogenicus'* 3) *Clavibacter michiganensis* 4) *Erwinia chrysanthemi* 5) *Potato marginal flavescence agent* (as Solanum) 6) *Potato purple-top roll agent* 7) *Potato purple-top roll agent* (as Solanum) 8) *'Candidatus* Liberibacter solanacearum' 9) *Clavibacter sepedonicus* 10) *Dickeya dianthicola* 11) *Pectobacterium polaris* 12) *Potato marginal flavescence agent* 13) *Ralstonia pseudosolanacearum* 14) *Ralstonia solanacearum* 15) *Ralstonia solanacearum* race 1 (no longer in use) 16) *Ralstonia solanacearum* race 3 (no longer in use) 17) *Ralstonia solanacearum* species complex 18) *Ralstonia syzygii* 19) *Ralstonia syzygii* subsp. *indonesiensis* *Xanthomonas vesicatoria* (as Solanum)

Table 2 List of important pests in potatoes (EPPO, 2024)(Continued)

Type of Pest	Quantity	Pest
Fungi	21	1) *Dematophora bunodes*
		2) *Fusarium foetens*
		3) *Phymatotrichopsis omnivora*
		4) *Phytophthora cryptogea*
		5) *Phytophthora erythroseptica*
		6) *Septoria malagutii (as Solanum)*
		7) *Stagonosporopsis crystalliniformis*
		8) *Synchytrium endobioticum* (as Solanum)
		9) *Aecidium cantense*
		10) *Boeremia foveata*
		11) *Polyscytalum pustulans*
		12) *Puccinia pittieriana*
		13) *Rhizoctonia solani*
		14) *Septoria malagutii*
		15) *Spongospora subterranea*
		16) *Stagonosporopsis andigena*
		17) *Synchytrium endobioticum*
		18) *Thecaphora solani*
		19) *Stagonosporopsis andigena* (as Solanaceae)
		20) *Stagonosporopsis andigena* (as Solanum)
		Thecaphora solani (as Solanum)
Insect	88	1) *Agrius convolvuli*
		2) *Agrotis segetum*
		3) *Anthonomus eugenii* (as Solanum)
		4) *Aonidomytilus albus* (as Solanum)
		5) *Asproparthenis punctiventris*
		6) *Bagrada hilaris*
		7) *Beastie the Bug*
		8) *Bemisia tabaci* (as Solanaceae)
		9) *Brachyplatys subaeneus*
		10) *Cacoecimorpha pronubana*
		11) *Ceratothripoides brunneus*
		12) *Chrysodeixis eriosoma*
		13) *Circulifer tenellus*
		14) *Clavigralla tomentosicollis*
		15) *Conoderus rufangulus*
		16) *Dacus bivittatus*
		17) *Diabrotica undecimpunctata howardi*
		18) *Diabrotica undecimpunctata undecimpunctata*
		19) *Diabrotica virgifera zeae* (as Solanum)
		20) *Epicaerus cognatus*

Table 2 List of important pests in potatoes (EPPO, 2024)(Continued)

Type of Pest	Quantity	Pest
		1) *Epilachna vigintioctomaculata* (as Solanaceae)
		2) *Epiphyas postvittana*
		3) *Epitrix hirtipennis*
		4) *Helicoverpa armigera*
		5) *Helicoverpa zea*
		6) *Jacobiasca lybica*
		7) *Keiferia lycopersicella*
		8) *Leucinodes orbonalis*
		9) *Leucinodes ugandensis* (as Solanum)
		10) *Liriomyza bryoniae*
		11) *Liriomyza huidobrensis*
		12) *Liriomyza trifolii*
		13) *Listroderes costirostris*
		14) *Listroderes difficilis*
		15) *Lobesia botrana*
		16) *Megalurothrips usitatus*
		17) *Naupactus leucoloma*
		18) *Naupactus xanthographus*
		19) *Neoceratitis cyanescens*
		20) *Opogona sacchari*
		21) *Pentastiridius leporinus*
		22) *Phenacoccus solenopsis*
		23) *Phthorimaea operculella* (as Solanaceae)
		24) *Phyrdenus muriceus*
		25) *Premnotrypes latithorax* (as Solanum)
		26) *Premnotrypes sanfordi* (as Solanum)
		27) *Premnotrypes solani* (as Solanum)
		28) *Premnotrypes suturicallus* (as Solanum)
		29) *Premnotrypes vorax* (as Solanum)
		30) *Prodiplosis longifila*
		31) *Rhigopsidius tucumanus*
		32) *Scirtothrips dorsalis*
		33) *Spodoptera eridania*
		34) *Spodoptera frugiperda*
		35) *Spodoptera litura*
		36) *Spodoptera ornithogalli*
		37) *Spodoptera praefica*
		38) *Thrips angusticeps*
		39) *Thrips palmi*
		40) *Thrips parvispinus*
		41) *Thrips setosus*

Table 2 List of important pests in potatoes (EPPO, 2024)(Continued)

Type of Pest	Quantity	Pest
		42) *Trialeurodes ricini*
		43) *Tuta absoluta*
		44) *Bactericera cockerelli*
		45) *Diabrotica speciosa*
		46) *Epilachna vigintioctomaculata*
		47) *Epitrix cucumeris*
		48) *Epitrix papa*
		49) *Epitrix similaris*
		50) *Epitrix subcrinita*
		51) *Epitrix tuberis*
		52) *Heteronychus arator*
		53) *Leptinotarsa decemlineata*
		54) *Limonius californicus*
		55) *Liriomyza sativae*
		56) *Melanotus communis*
		57) *Omophlus lepturoides*
		58) *Phthorimaea operculella*
		59) *Premnotrypes latithorax*
		60) *Premnotrypes sanfordi*
		61) *Premnotrypes solani*
		62) *Premnotrypes suturicallus*
		63) *Premnotrypes vorax*
		64) *Pseudococcus viburni*
		65) *Russelliana solanicola*
		66) *Spodoptera littoralis*
		67) *Tecia solanivora*
		68) *Spodoptera praefica* (as Solanum)
Nematode	17	1) *Radopholus similis*
		2) *Ditylenchus dipsaci*
		3) *Meloidogyne enterolobii*
		4) *Meloidogyne graminicola*
		5) *Meloidogyne luci*
		6) *Meloidogyne minor*
		7) *Rotylenchus buxophilus*
		8) *Trichodorus viruliferus*
		9) *Xiphinema americanum* sensu stricto
		10) *Xiphinema rivesi*
		11) *Ditylenchus destructor*
		12) *Globodera pallida*
		13) *Globodera rostochiensis*
		14) *Meloidogyne chitwoodi*

Table 2 List of important pests in potatoes (EPPO, 2024)(Continued)

Type of Pest	Quantity	Pest
		15) *Meloidogyne ethiopica*
		16) *Meloidogyne fallax*
		17) *Nacobbus aberrans* sensu lato
Phytoplasma	**7**	1) *'Candidatus Phytoplasma americanum'* (as Solanum)
		2) *'Candidatus Phytoplasma australiense'*
		3) *'Candidatus Phytoplasma fraxini'*
		4) *'Candidatus Phytoplasma trifolii'*
		5) *'Candidatus Phytoplasma trifolii'* (as Solanum)
		6) *'Candidatus Phytoplasma americanum'*
		7) *'Candidatus Phytoplasma solani'*
Viroid	**6**	1) *Columnea latent viroid*
		2) *Potato spindle tuber viroid* (as Solanum)
		3) *Chrysanthemum stunt viroid*
		4) *Pepper chat fruit viroid*
		5) *Pepper chat fruit viroid* (as Solanaceae)
		6) *Potato spindle tuber viroid*
Virus	60	1) *Cheravirus arracaciae oca strain* (as Solanaceae)
		2) *Pepino mosaic virus*
		3) *Tobacco streak ilarvirus potato strain* (as Solanaceae)
		4) *Tomato brown rugose fruit virus*
		5) *Tomato infectious chlorosis virus*
		6) *Tomato yellow vein streak virus*
		7) *Alfalfa mosaic virus*
		8) *Alphanucleorhabdovirus tuberosum*
		9) *Beet curly top virus*
		10) *Cheravirus arracaciae oca strain* (as Solanum)
		11) *Cheravirus avii*
		12) *Cucurbit yellow stunting disorder virus*
		13) *Lucerne enation virus*
		14) *Nepovirus arabis*
		15) *Nepovirus betasolani*
		16) *Nepovirus nigranuli*
		17) *Nepovirus nigranuli* (as Solanum)
		18) *Orthotospovirus arachianuli*
		19) *Orthotospovirus impatiensnecromaculae*
		20) *Orthotospovirus tomatozonae*
		21) *Pepper ringspot virus*
		22) *Phenacoccus peruvianus*
		23) *Potato deforming mosaic virus* (Argentina) (as Solanum)
		24) *Potato leaflet stunt agent*

Table 2 List of important pests in potatoes (EPPO, 2024)(Continued)

Type of Pest	Quantity	Pest
		25) *Potato leaflet stunt agent* (as Solanum)
		Potato mop-top virus
		26) *Potato mop-top virus* (as Solanum)
		27) *Potato virus P*
		28) *Potato virus Y tobacco veinal necrosis strain*
		29) *Potato virus Y tobacco veinal necrosis strain*
		(as Solanum)
		30) *Potato yellow mosaic virus*
		31) *Potato yellow vein virus* (as Solanum)
		32) *Tobacco rattle virus*
		33) *Tobacco streak ilarvirus potato strain* (as Solanum)
		34) *Tobacco streak virus*
		35) *Tomato chlorosis virus*
		36) *Tomato yellow leaf curl virus*
		37) *Tymovirus dulcamarae* (as Solanum)
		38) *Alphanucleorhabdovirus melongenae*
		39) *Cheravirus arracaciae* oca strain
		40) *Comovirus andesense*
		41) *Nepovirus solani*
		42) *Orthotospovirus tomatomaculae*
		43) *Potato deforming mosaic virus* (Argentina)
		44) *Potato latent virus*
		45) *Potato leafroll virus*
		46) *Potato rugose stunting virus*
		47) *Potato virus* H
		48) *Potato virus* T
		49) *Potato yellowing virus*
		50) *Potato yellow vein virus*
		51) *Tobacco streak ilarvirus potato strain*
		52) *Tomato leaf curl New Delhi virus*
		53) *Tomato yellow mosaic virus*
		54) *Tymovirus dulcamarae*
		55) *Tymovirus latandigenum*
		56) *Tymovirus mosandigenum*
		57) *Alphanucleorhabdovirus tuberosum* (as Solanaceae)
		58) *Alphanucleorhabdovirus tuberosum* (as Solanum)
		59) *Potato yellowing virus* (as Solanum)

Table 3 The status of pest of '*Candidatus* Liberibacter solanacearum' (EPPO, 2024)

Countries that allow the import of seed potato	Status of '*Candidatus* Liberibacter solanacearum' in country	Reported
Australia	Absent	-
Canada	Present	-Alberta Present, few occurrences -Saskatchewan Present, no details
Netherlands	Absent	Absent, confirmed by survey
Scotland UK	Present	Present, no details
New Zealand	Present	Present, restricted distribution
United States of America	Present	-Arizona Present, no details -California Present, no details -Colorado Present, no details -Idaho Present, no details -Kansas Present, no details -Montana Absent, unreliable record -Nebraska Present, no details -Nevada Present, no details -New Mexico Present, no details -North Dakota Absent, unreliable record -Oregon Present, no details -Texas Present, no details Absent, unreliable record -Washington Present, no details -Wyoming Present, no details
Israel	**Present**	**Present, restricted distribution**

Table 4 Diagnosis of '*Candidatus* Liberibacter solanacearum' infected from imported seed potato between 2021 to 2023

Country	Quantity of sample	Quantity (Ton)	Zebra chip	Other Pest	Pest of status in Thailand	Frequency
Australia	49	4,316.32	Not	*Rhizoctonia solani*	Present	2
Canada	10	2,349.00	Not	Not	-	0
Netherlands	7	3,37.50	Not	Not	-	0
Scotland	62	12,344.59	Not	*Streptomyces scabies*	Present	1
New Zealand	3	175.00	Not	Not	-	0
United States of America	3	0.39	Not	Not	-	0
Total	**134**	**19,522.80**				

Table 5 Monitoring of Zebra chip disease from imported seed potato in the field

No.	ID sample	Area		Location (X,Y : GPS)	Results of a survey of zebra chip disease
		District	Province		
1	PVP1	Wiang Pa Pao	Chiang Rai	19.209906,99.524330	Not
2	PVP2	Wiang Pa Pao	Chiang Rai	19.212894,99.533905	Not
3	PMC1	Mae Chaem	Chiang Mai	18.505785,98.348495	Not
4	PMC2	Mae Chaem	Chiang Mai	18.516085,98.356354	Not
5	PMC3	Mae Chaem	Chiang Mai	18.516088,98.356400	Not
6	PMC4	Mae Chaem	Chiang Mai	18.503693,98.355118	Not
7	PCH1	Chiang Kham	Phayao	19.460657,100.336754	Not
8	PCH2	Chiang Kham	Phayao	19.458719,100.336143	Not
9	PCH3	Chiang Kham	Phayao	19.463728,100.340408	Not
10	PCH4	Chiang Kham	Phayao	19.470993,100.337334	Not
11	PTT1	Thoeng	Chiang Rai	19.680710,100.264610	Not
12	PTT2	Thoeng	Chiang Rai	19.707636,100.286598	Not
13	PPT1	Phop Phra	Tak	16.593417,98.776481	Not
14	PPT2	Phop Phra	Tak	16.593586,98.775317	Not
15	PPT3	Phop Phra	Tak	16.529611,98.746911	Not

Table 5 Monitoring of Zebra chip disease from imported seed potato in the field (Continued)

No.	ID sample	Area		Location (X,Y : GPS)	Results of a survey of zebra chip disease
		District	Province		
16	PPT4	Phop Phra	Tak	16.554108,98.823697	Not
17	SKH1	Muang	Sakon Nakhon	17.125953,104.290058	Not
18	SKH2	Muang	Sakon Nakhon	17.131453,104.287633	Not
19	SKH3	Muang	Sakon Nakhon	17.131328,104.302286	Not
20	SKH4	Muang	Sakon Nakhon	17.131447,104.287642	Not
21	SKH5	Phang Khon	Sakon Nakhon	17.354119,103.760042	Not
22	NKH1	Wang Yang	Nakhon Phanom	17.063889,104.368097	Not
23	NKH2	Wang Yang	Nakhon Phanom	17.062417,104.373553	Not

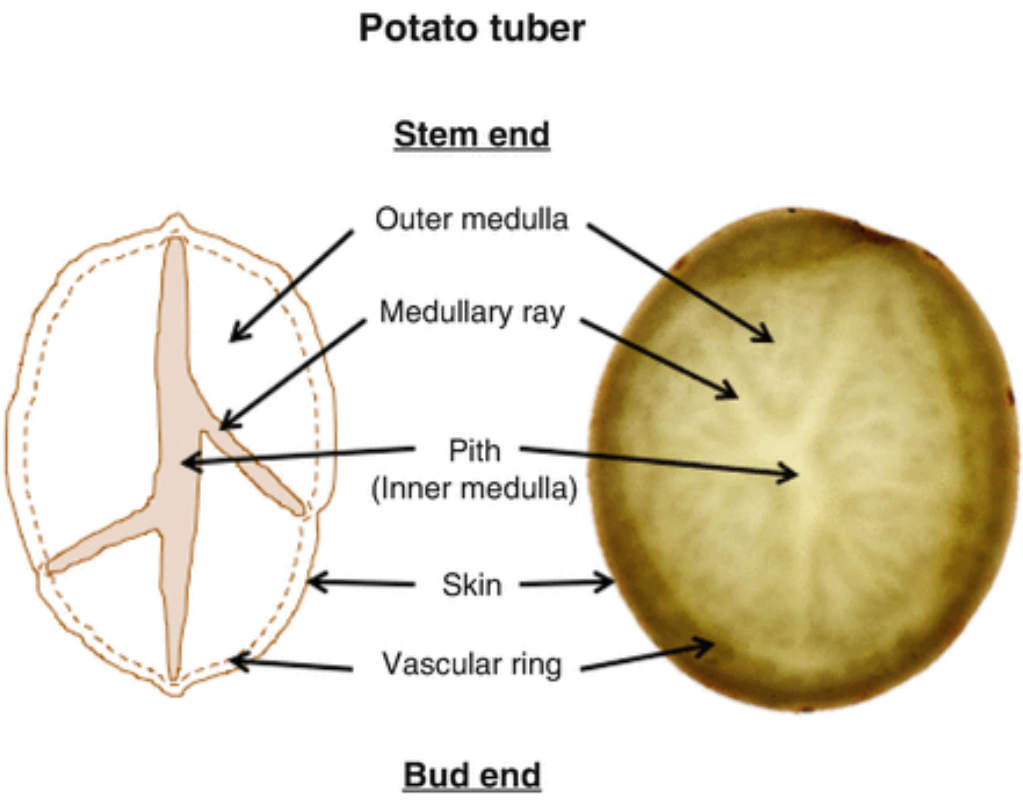


Figure 1 Vascular ring of Potato tuber (Oey, 2016)

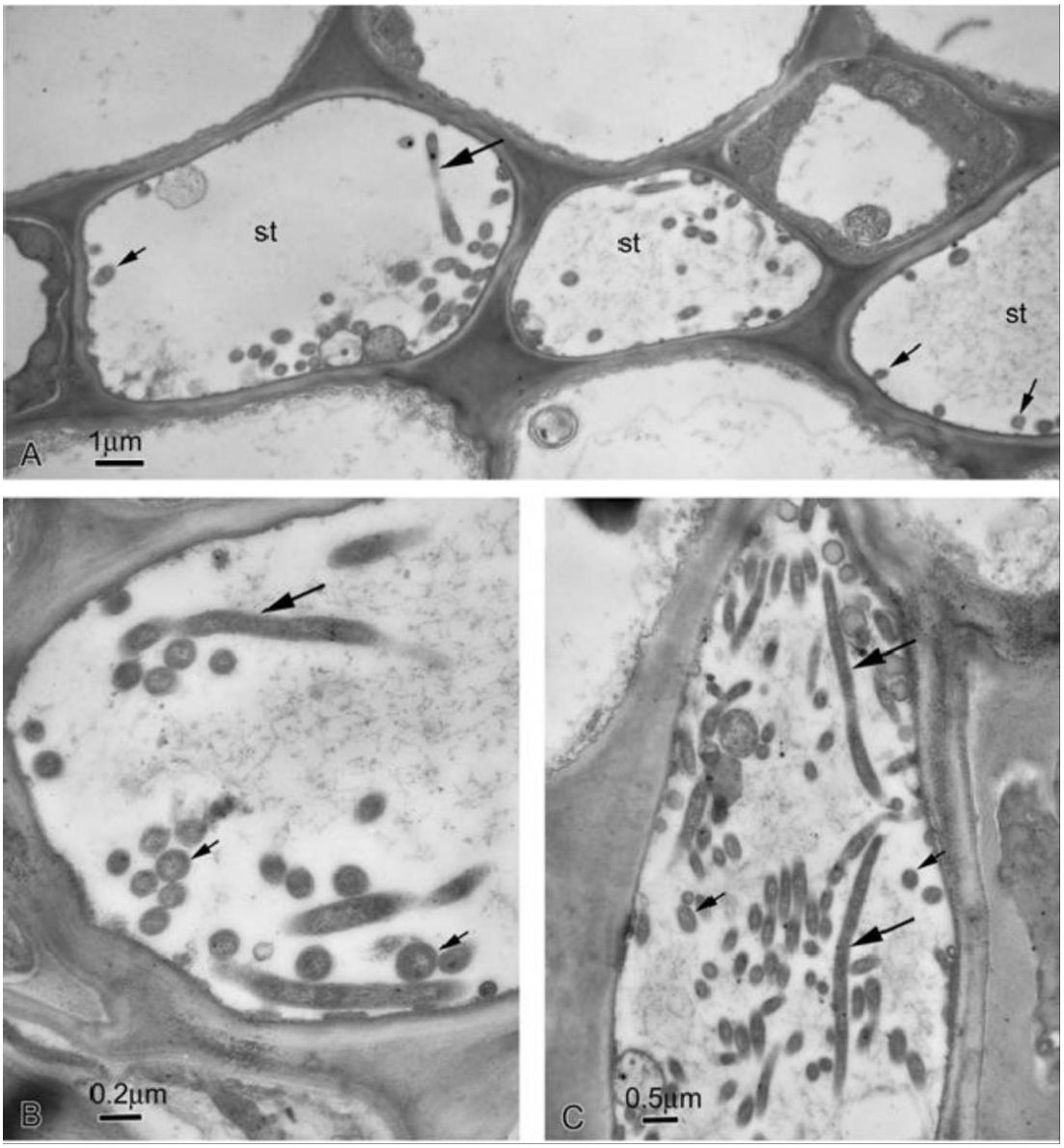


Figure 2 Transmission electron micrograph of bacteria-like organisms in phloem cells in the stem of '*Candidatus* Liberibactor solanacearum'(Lieftin *et al*., 2009)

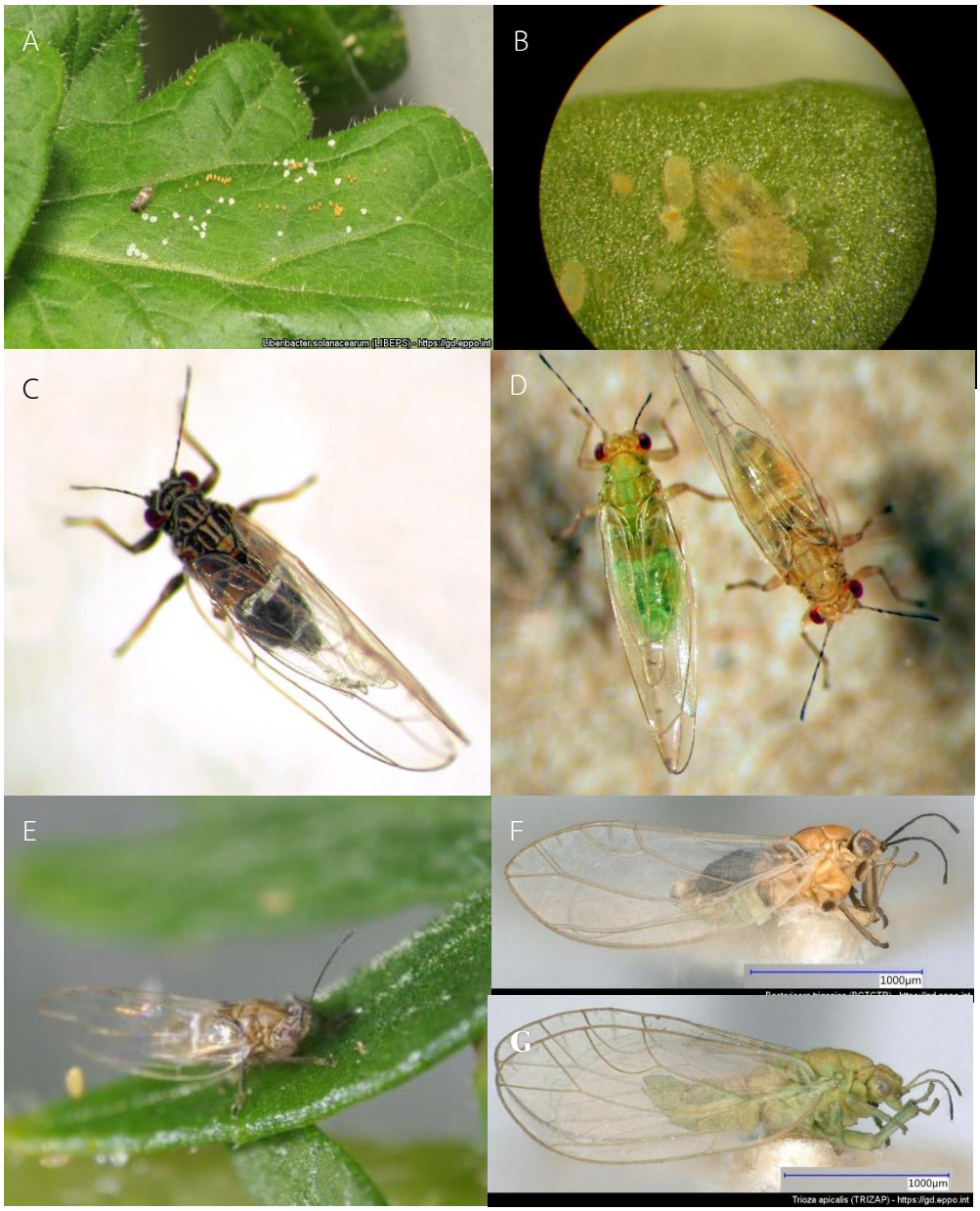


Figure 3 A) and B) *Bactericera cockerelli* adults with eggs and white granule excrements (EPPO, 2024) C) and D) 3 -4 th instar potato psyllid (*Bactericera cockerelli*, vector of *'Candidatus* Liberibacter solanacearum') (CABI, 2024) E) Psyllid *Bactericera nigricornis* vector (Erik J. W. and Arash R., 2022) F) Psyllid *Bactericera trigonica* (EPPO, 2024) and G Psyllid *Trioza apicalis* vector (EPPO, 2024)

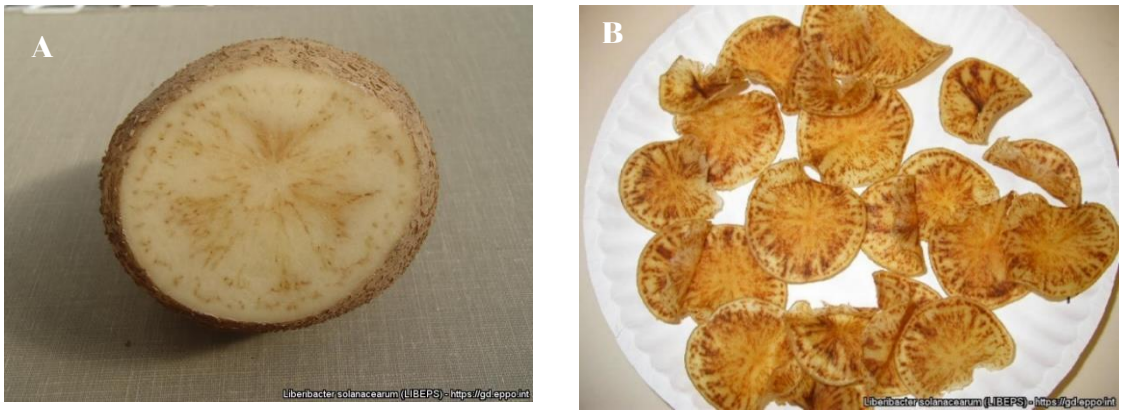


Figure 4 Symptoms of zebra chip disease on potato tuber A) Zebra chip infected potato tuber shows brown color in vascular tube B) Zebra chip symptoms on fried chips (EPPO, 2024)

Figure 5 Symptoms of zebra chip on Potato

A) Potato plant infected with '*Candidatus* Liberibacter solanacearum' the shoot show purple (EPPO, 2024)

B) Aerial tuber formation in potato plants infected with '*Ca*. L. solanacearum' (Binoy, 2022; credits: Dr. Lia Liefting)

C) Potato plants mortality due to zebra chip (EPPO, 2024)

Figure 6 A and B Symptoms of zebra chip on Carrot (EPPO, 2024)
C and D Symptoms of zebra chip on Celery (EPPO, 2024)
E Symptoms of zebra chip on Cape gooseberry (EPPO, 2024)

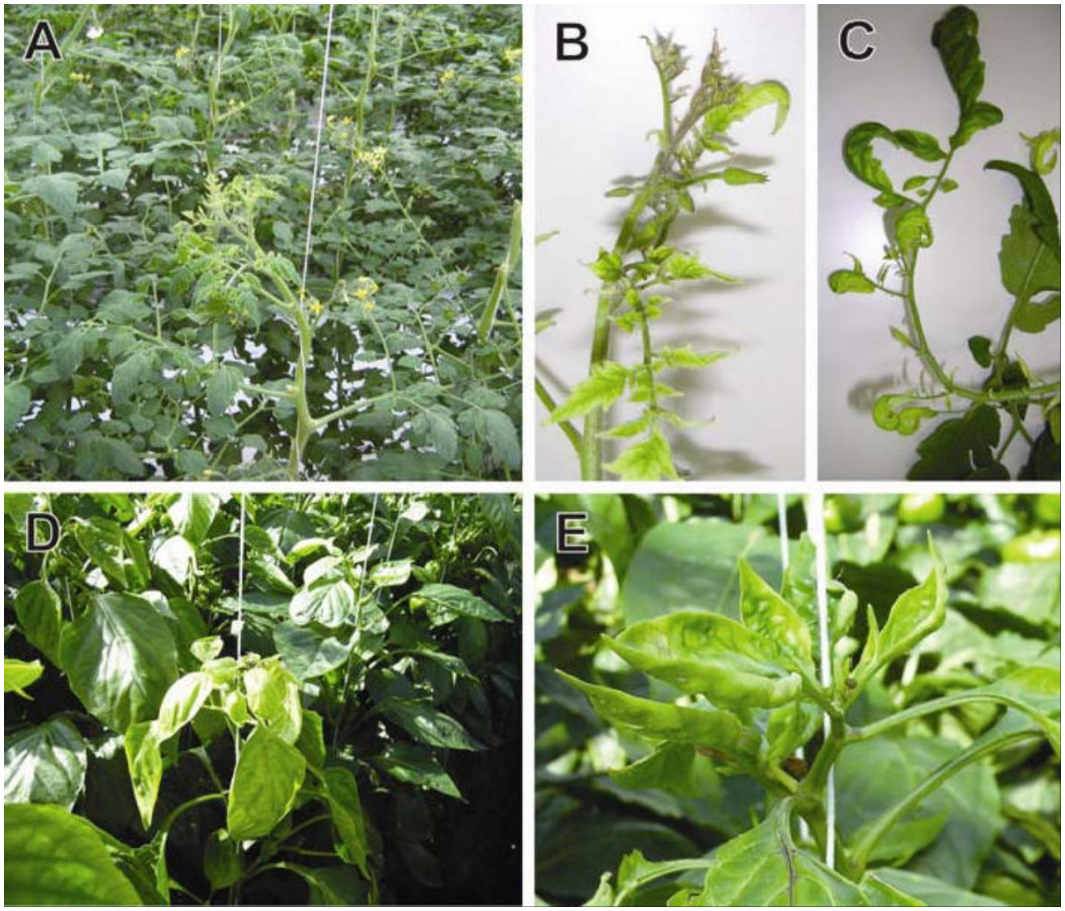


Figure 7 A B and C Symptoms of zebra chip on tomato (Liefting *et al*., 2009)
D and E Symptoms of zebra chip on peper (Liefting *et al*., 2009)

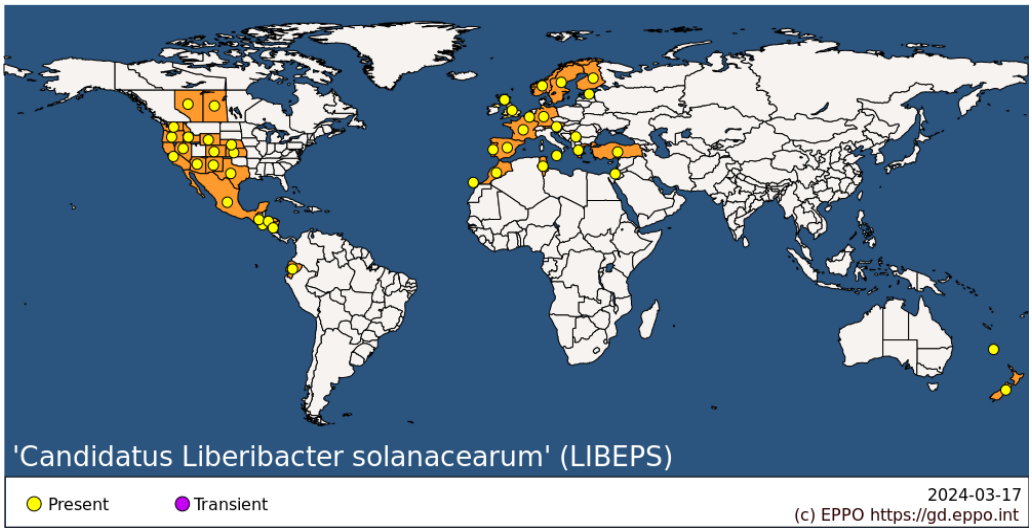


Figure 8 Distribution map of '*Candidatus* Liberibacter solanecearum'

Figure 9 Seed potato imported form Scottland UK

A) Seed potato

B) Healthy of seed potato

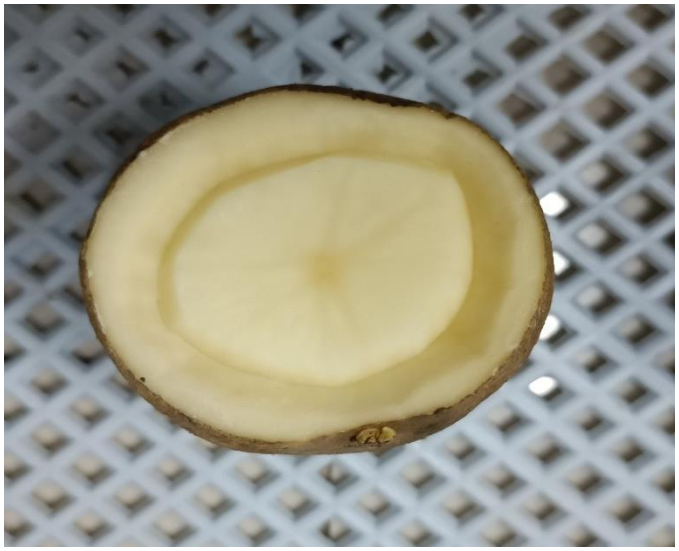


Figure 10 The cutting of Vascular ring for detected by Nested-PCR

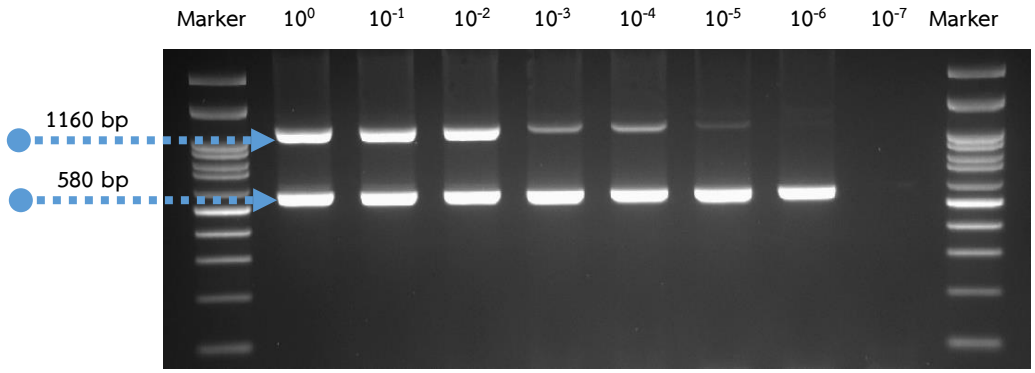


Figure 11 Dilution of Synthesis of '*Candidatus* Liberibacter solanacearum' (Lso) positive DNA by Nested-PCR

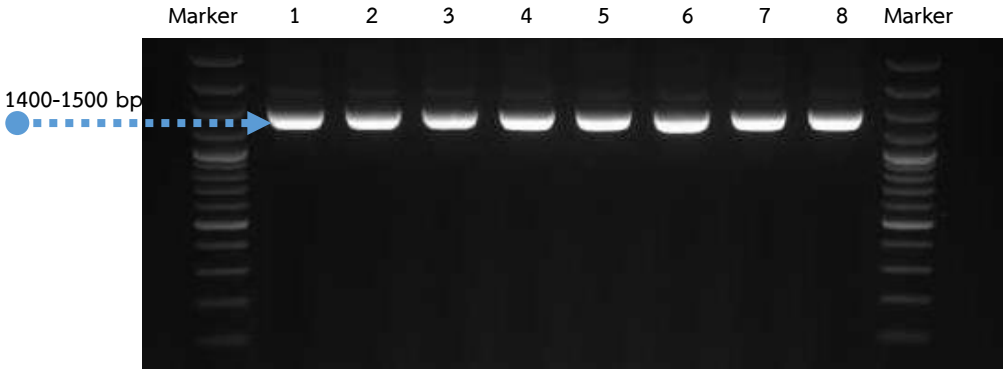


Figure 12 PCR Product of 16S bacterial and plant chromosomal by CTAB Extraction from Vascular ring of Potato seed

Lane 1 and 2 : DNA of Potato seed form Kingdom of Scotland

Lane 3 : DNA of Potato seed form Australia

Lane 4 : DNA of Potato seed form Canada

Lane 5 : DNA of Potato seed form Kingdom of Netherlands

Lane 6 : DNA of Potato seed form New Zealand

Lane 7 : DNA of Potato seed form United States

Lane 8 : DNA of Potato seed form United Kingdom

Figure 13 Sampling of seed potato imported from the Kingdom of Scotland

Figure 14 Potato planting plot from imported seed potatoes, A) Wiang Pa Pao District Chiang Rai Province, B) Theing District, Chiang Rai Province, C) Chiang Kham District, Phayao Province, D) Phop Phra District, Tak Province, E) Mae Chaem District, Chiang Rai Province, F) Phop Phra District, Tak Province, G) Mueang Sakon Nakhon District

การตรวจและศึกษาชนิดเมล็ดวัชพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่ายนำเข้า

Inspection and Study on Contamination of Weed seeds in imported celery seeds

จันทร์พิศ เดชหามาตย์[1/] ปรียพรรณ พงศาพิชญ์[1/] วันเพ็ญ ศรีชาติ[2/]
โสภา มีอำนาจ[1/] สุรศักดิ์ แสนโคตร[1/] วาสนา รุ่งสว่าง[1/]
วานิช คำพานิช[1/] จรัญญา ปิ่นสุภา[3/]
[1/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิชาการ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ ๒ จังหวัดพิษณุโลก
[3/]กลุ่มวิชาการ สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน

Abstract

Celery (*Apium Graveolens*) seeds imported from foreign countries were randomly sampled to examine. Twenty seven samples were inspected for contaminated weed seeds, then they were identified the species and tested for gemination. According to seeds from Mexico, five weed species were found in six samples namely *Amaranthus viridis, Chenopodium murale, Echinochloa colona, Melilotus indicus* and *Polygonum* sp. Three weed species were detected in fifteen samples from Italy, namely, *Helminthotheca echioides, Chenopodium album and Solanum ptychanthum*. The specie of *Polygonum* sp. were found from four samples of the United States. Whilst samples from China and France were not found any weed seeds. From this study, three important plant quarantine pests i.e. *C. album* which is quarantine pest and weed species of *C. murale* and *H. echioides* have not yet been reported found in Thailand. The detected weed species were tested for germination, and they could germinate. The result of inspection at planting areas including Tak and Chiang Mai Provinces, the quarantine pests were not found.

Keywords : Celery, Weed seed, Quarantine pest

รหัสการทดลอง FF65-55-03- 65-00-04-65

บทคัดย่อ

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่ายนำเข้าจากต่างประเทศจำนวน 27 ตัวอย่าง ทำการตรวจสอบการปนของเมล็ดวัชพืชเบื้องต้น จากนั้นนำเมล็ดวัชพืชที่ตรวจพบมาจัดจำแนกชนิดขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ และทดสอบความงอกของเมล็ดวัชพืช ผลการตรวจสอบตัวอย่างจากประเทศเม็กซิโกจำนวน 6 ตัวอย่าง พบเมล็ดวัชพืช 5 ชนิด ได้แก่ *Amaranthus viridis, Chenopodium murale, Echinochloa colona, Melilotus indicus* และ *Polygonum* sp. ตัวอย่างจากประเทศฝรั่งเศสจำนวน 1 ตัวอย่าง ซึ่งไม่พบเมล็ดวัชพืช ประเทศอิตาลีจำนวน 15 ตัวอย่าง พบเมล็ดวัชพืช 3 ชนิด ได้แก่ *Helminthotheca echioides, Chenopodium album, Solanum ptychanthum* ประเทศสหรัฐอเมริกาจำนวน 4 ตัวอย่าง พบเมล็ดวัชพืช 1 ชนิด ได้แก่ *Polygonum* sp. และสาธารณรัฐประชาชนจีนจำนวน 1 ตัวอย่าง ไม่พบเมล็ดวัชพืชปนมากับเมล็ดพันธุ์ จากการศึกษาครั้งนี้พบวัชพืชที่มีความสำคัญทางกักกันพืช 3 ชนิด คือ *Chenopodium album* ซึ่งเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย และวัชพืช 2 ชนิดที่ยังไม่มีรายงานการพบในประเทศไทย คือ *C. murale* และ *H. echioides* และจากการทดสอบความงอกเพาะในทรายพบว่าเมล็ดวัชพืชที่ตรวจพบสามารถงอกได้ ส่วนผลการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชภายหลังการนำเข้าในแปลงปลูกของเกษตรกรในพื้นที่จังหวัดตากและเชียงใหม่ ไม่พบศัตรูพืชที่มีความสำคัญด้านกักกันพืช

คำหลัก : ขึ้นฉ่าย, วัชพืช, ศัตรูพืชกักกัน

คำนำ

ขึ้นฉ่ายจัดเป็นสิ่งกำกัดตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งกำกัด ข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. ๒๕๐๗ พ.ศ. ๒๕๕๐ ซึ่งกำหนดให้ส่วนหนึ่งส่วนใดของพืชในวงศ์ Apiaceae เป็นสิ่งกำกัด เมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่ายเป็นพาหะของวัชพืชที่เป็นศัตรูพืชร้ายแรงหลายชนิดที่ยังไม่มีรายงานพบในประเทศไทย เช่น *Chenopodiastrum murale, Polygonum avic*ulare, *Senecio vulgaris, Amaranthus blitum, Cirsium arvense, Emex australis, Orobanche aegyptiaca, Orobanche crenata, Orobanche minor, Orobanche ramosa,* และ *Poa annua* (CABI, 2024) มีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่ายจากหลายประเทศ เช่น ประเทศสหรัฐอเมริกา ฝรั่งเศส อิตาลี และสาธารณรัฐประชาชนจีน จากการสุ่มตัวอย่างและตรวจสอบศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่ายนำเข้าพบการปนเปื้อนของเมล็ดวัชพืช *Chenopodium album* L., *Cirsium arvense* L., *Phalaris minor*, *Polygonum aviculare* L, *Chenopodium murale, Medicago sativa, Melilotus indicus, Physalis pubescens, Echinochloa crus galli, Euphorbia falcate, Phalaris* sp., *Picris echioides* และ *Polygonum lapathifolium* L. (กลุ่มวิจัยการกักกันพืช, 2562) ซึ่งเมล็ดวัชพืช *Chenopodium album* L., *Cirsium arvense* L., *Phalaris minor* และ *Polygonum aviculare* L. จัดเป็นสิ่งต้องห้ามของ

ประเทศไทยตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่องกำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. ๒๕๐๗ (ฉบับที่ ๖) พ.ศ. ๒๕๕๐ นอกจากนี้ยังมีการรายงานพบการปนเปื้อนของเมล็ดวัชพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์นำเข้าดังนี้ Rowarth *et al*. (1990) รายงานพบการปนเปื้อนของเมล็ดวัชพืช *Sheradia arvensis, Stellaria media Chenopodium album, Rumex acetosella, Anagallis arvensis* และ *Circium arvense* ติดมากับเมล็ดพันธุ์ *Trifolium repens* นำเข้า Huelma, *et al*. (1996) พบการปนเปื้อนของเมล็ดวัชพืช 20 ชนิดปนมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวนำเข้าของประเทศฟิลิปปินส์ โดยชนิดที่ตรวจพบความถี่สูง คือ เมล็ดวัชพืช *Echinochloa crus galli* พบการปนของเมล็ดและส่วนผลของวัชพืชกับเมล็ดพันธุ์ *Brassica napus* L. มากกว่า 40 ชนิด (Mikhailova et al.,2015) Hafliger, *et al*. (1981) รายงานพบการแพร่ระบาดของวัชพืช *Phalaris minor* L. ในแหล่งปลูกพืชของประเทศบราซิล อาเจนตินา ชิลี อิตาลี ฝรั่งเศส ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ สาธารณรัฐประชาชนจีน ญี่ปุ่น ฟิลิปปินส์ เกาหลี สหรัฐอเมริกา แคนาดา เม็กซิโก โบลิเวีย เปรู โคลัมเบีย เวเนซูเอล่า ซึ่งวัชพืชชนิดนี้ทำความเสียหายให้กับระบบการเกษตร และ Wei Y., *et al*. (2011) รายงานผลการสำรวจชนิดวัชพืชที่พบในแปลงปลูกข้าวสาลีหมุนเวียนกับผักกาดด้วยระบบอนุรักษ์การไถพรวนในจังหวัดชิงไห่ของสาธารณรัฐประชาชนจีน พบวัชพืช 55 ชนิด จัดอยู่ใน 22 วงศ์ โดยพบวัชพืชที่สำคัญ 4 ชนิด คือ *Elsholtzia densa* Benth, *Chenopodium album*, *Polygonum convolvulus* และ *thlaspi arvense* Linn. ดังนั้นการนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศมีความเสี่ยงที่ศัตรูพืชจะติดปนเข้ากับเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้า การศึกษาชนิดศัตรูพืชที่ติดมากับขึ้นฉ่ายนำเข้าจากต่างประเทศเพื่อให้ทราบชนิดของศัตรูพืช แหล่งที่มา การปรากฏของศัตรูพืชในประเทศคู่ค้า และเส้นทางการเข้ามาของศัตรูพืช ข้อมูลดังกล่าวสามารถใช้เป็นข้อมูลสำหรับอ้างอิงทางวิชาการ เพื่อกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชให้เหมาะสมรัดกุม และป้องกันไม่ให้ศัตรูพืชกักกันเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่ายนำเข้า
2. อุปกรณ์สุ่มเก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติก มาร์กเกอร์ คัตเตอร์ หลาว
3. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างเมล็ดวัชพืช เช่น ตะแกรงร่อน ถุงซิป ขวดแก้ว ปากกาเคมี กล่องพลาสติก ปากคีบ ถาดอลูมิเนียม
4. คู่มือจำแนกชนิดวัชพืช เอกสาร หนังสือ และวารสาร กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope)
5. อุปกรณ์ทดสอบความงอก เช่น จานเพาะเลี้ยง กระดาษสำหรับเพาะเมล็ด ทราย บิกเกอร์ น้ำกลั่น

วิธีการ

1. สืบค้นข้อมูลวัชพืชเป้าหมายที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่ายนำเข้า

ทำการสืบค้นข้อมูลวัชพืชที่สามารถปนเปื้อนมากับเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่ายจากฐานข้อมูลอิเล็กทรอนิกส์ เอกสาร หรือตำราวิชาการ และชีววิทยาของวัชพืช เพื่อทราบชนิด วิธีการตรวจสอบที่เหมาะสม และวิธีการกำจัดวัชพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่าย

2. สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่ายนำเข้า

ทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่ายนำเข้าจากด่านตรวจพืชตามมาตรฐานสมาคมทดสอบเมล็ดพันธุ์นานาชาติ (International Seed Testing Association; ISTA) โดยปริมาณเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่ายที่ใช้สำหรับตรวจสอบวัชพืชในห้องปฏิบัติการน้ำหนัก 10 กรัม โดยสุ่มตามวิธีการ ดังนี้

2.1 การสุ่มตัวอย่างที่บรรจุอยู่ในกระสอบ หรือภาชนะอื่นๆ ที่มีขนาดบรรจุของภาชนะแต่ละใบเท่าๆกัน 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. การตรวจสอบวัชพืชเบื้องต้น

ตรวจสอบตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่ายด้วยตาเปล่า (visual inspection) และภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) สังเกตลักษณะสี ผิว และรูปร่างของเมล็ดวัชพืชที่ปนเปื้อนมากับเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่าย แล้วนำไปตรวจสอบวัชพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ เพื่อจำแนกชนิดเมล็ดวัชพืชในห้องปฏิบัติการ

4. การตรวจวัชพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

ตรวจสอบและจัดจำแนกชนิดของเมล็ดวัชพืชภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) เพื่อศึกษาและบันทึกลักษณะภายนอกของเมล็ด เช่น สี (colour) ผิว (Texture) รูปร่าง (Shape) และลายบนผิวของเมล็ด วัดขนาดความกว้าง ความยาวของเมล็ดวัชพืช (Alexander and William,1968) และเปรียบเทียบกับตัวอย่างเมล็ดวัชพืชในพิพิธภัณฑ์และใช้คู่มือจำแนกวัชพืชที่เป็นเอกสารและเวบไซต์ที่เชื่อถือได้

5. การทดสอบความงอกของเมล็ดวัชพืช

5.1 การทดสอบความงอกด้วยวิธีการเพาะในกระดาษเพาะ ทำการตัดกระดาษเพาะสองชิ้นวางลงในจานให้สนิท ค่อยๆหยอดน้ำลงบนกระดาษให้เปียกทั่วถึง แต่ไม่แฉะ (เอียงจานเล็กน้อยหยอดน้ำจากด้านบนลงมา เมื่อน้ำเริ่มสะสมที่มุมจานด้านล่าง แสดงว่าความชื้นพอดี) วางเมล็ดบนกระดาษ

เพาะโดยให้เมล็ดสัมผัสกระดาษเพาะให้มากที่สุด เมล็ดให้ทั่วกระดาษอาจปิดหรือเปิดฝาจานเพื่อช่วยรักษาหรือลดความชื้น แล้ววางจานในที่อุณหภูมิห้อง

5.2 การทดสอบความงอกด้วยวิธีการเพาะในทราย ใส่ทรายที่เตรียมไว้ (ทรายละเอียดสม่ำเสมอ และสะอาด) ในกล่องพลาสติกให้แน่นพอสมควร โดยใช้แผ่นไม้ปาดผิวทรายให้ได้ระดับสม่ำเสมอ ค่อยๆ รดน้ำในกล่องทรายให้ทั่วถึง คอยเอียงกล่องและดูที่มุมกล่อง หากมีน้ำเริ่มขังที่มุมล่างแสดงว่ามีความชื้นพอดี วางเมล็ดลงบนทรายไว้ที่อุณหภูมิห้อง (กิตติ, 2559)

6. การติดตามตรวจสอบวัชพืชภายหลังการนำเข้า

โดยทำการติดตามตรวจสอบในแปลงผลิตขึ้นฉ่ายหรือในโรงเรือนเพาะเมล็ดขึ้นฉ่ายของเกษตรกรและแปลงของบริษัทที่นำเข้าเมล็ดพันธุ์ในพื้นที่ปลูกจังหวัดนครราชสีมา อุบลราชธานี นครปฐม ราชบุรี พะเยา ตาก และเชียงใหม่ โดยสำรวจตรวจหาวัชพืชในแปลงขึ้นฉ่ายและบันทึกข้อมูลวัชพืชที่ตรวจพบ

7. รวบรวมสรุปผลและจัดทำข้อมูลวัชพืชที่ตรวจพบ

ทำการสรุปรายชื่อวัชพืชที่ตรวจพบติดมากับเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่าย บันทึกชนิดและลักษณะของเมล็ดวัชพืชที่ตรวจพบ บันทึกภาพเมล็ดวัชพืช และเก็บตัวอย่างเมล็ดเพื่อใช้เป็นหลักฐานทางวิชาการ

เวลาและสถานที่

เวลา วันที่เริ่มต้น 1 ตุลาคม 2564 วันที่สิ้นสุด 30 กันยายน 2566 (2 ปี)

สถานที่ 1) ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

2) แปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ของเกษตรกรพื้นที่จังหวัดนครราชสีมา อุบลราชธานี นครปฐม ราชบุรี พะเยา ตาก และเชียงใหม่

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสืบค้นข้อมูลวัชพืชที่สามารถติดปนมากับเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่าย

จากการสืบค้นข้อมูลวัชพืชที่สามารถติดมากับเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่ายได้จำนวน 12 ชนิด ได้แก่ วัชพืช *Amaranthus blitum, Polygonum aviculare, Circium arvense, Orobanche aegyptiaca, Orobanche minor, Orobanche crenata, Orobanche ramosa, Poa annua, Senecio vulgaris, Chenopodium murale, Polygonum lapathifolium, Emex australis* (CABI, 2024) โดยรายชื่อวัชพืชดังกล่าวมีวัชพืชจำนวน 7 ชนิด จัดอยู่ในรายชื่อศัตรูพืชที่เป็นสิ่งต้องห้ามตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 ได้แก่ *P. aviculare, C. arvense, O. aegyptiaca, O. minor, O. crenata, O. ramosa,* และ *S. vulgaris* (Table 1) นอกจากนี้ยังมีวัชพืชที่ไม่มีรายงานพบในประเทศไทย ได้แก่ *C. murale* และ *E. australis* โดยวัชพืชดังกล่าวมีรายละเอียด ดังนี้

1.1 *Amaranthus blitum* จัดอยู่ในวงศ์ Amarathaceae เป็นวัชพืชที่มีรายงานพบในประเทศไทย เป็นวัชพืชล้มลุกหรือวัชพืชฤดูเดียว ลำต้นตั้งตรงและสูง 10 ถึง 80 เซนติเมตรหรืออาจสูงถึง 90 เซนติเมตร จัดแบ่งได้ 3 ชนิด ได้แก่ *Amarabthus blitum* subsp. blitum, *Amarabthus blitum* subsp. *emaginatus* และ *Amarabthus blitum* subsp. *oleraceus* มีถิ่นกำเนิดแถบพื้นที่เมดิเตอร์เรเนียน ยุโรป แอฟริกาเหนือ และยังเป็นวัชพืชต่างถิ่นของประเทศอเมริกาเหนือ เมล็ดมีลักษณะกลม มันวาว สีดำ สีดำน้ำตาลเข้ม และสีแดงเข้ม เมล็ดมีขนาดขนาด 0.7-1.9 มิลลิเมตร (CABI, 2024)

1.2 *Polygonum aviculare* จัดอยู่ในวงศ์ Polygonaceae เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทยตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่องกำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. ๒๕๐๗ (ฉบับที่ ๖) พ.ศ. ๒๕๕๐ พบแพร่ระบาดทั่วไปในแถบประเทศเขตร้อนและมีถิ่นกำเนิดจากยุโรป แพร่กระจายทั่วไปทางตอนใต้ ตอนกลาง และตะวันออกของเครือรัฐออสเตรเลีย ซึ่งมีรายงานว่าวัชพืช *P. aviculare* จัดเป็นวัชพืชร้ายแรงที่ทำความเสียหายกับพืชปลูกรบกวนสภาพแวดล้อมและแพร่กระจายทำความเสียหายให้กับพืชผักและสภาพแวดล้อมของรัฐนิวเซาท์เวล และวิคตอเรียเป็นอย่างมาก เมล็ดมีลักษณะสามเหลี่ยมยาวเล็กสีน้ำตาลแดงขนาดกว้าง 1.3-2.3 มิลลิเมตร ยาว 2.0-3.5 มิลลิเมตร วัชพืชชนิดนี้มีถิ่นกำเนิดจากยุโรป และแพร่กระจายไปทั่วโลกไม่ว่าจะเป็นเขตอบอุ่นหรือเขตหนาว (CABI, 2024)

1.3 *Circium arvense* จัดอยู่ในวงศ์ Asteraceae เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทยตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่องกำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. ๒๕๐๗ (ฉบับที่ ๖) พ.ศ. ๒๕๕๐ *C. arvense* เป็นวัชพืชข้ามปีที่เป็นปัญหาในภูมิภาคยุโรปตะวันออกเฉียงใต้ ซึ่งระบาดในยุโรปจากการปนเปื้อนในเมล็ดพันธุ์ของประเทศฝรั่งเศสและประเทศอังกฤษ แพร่กระจายอย่างรวดเร็วและกลายเป็นวัชพืชที่สร้างความเสียหายทางการเกษตร ปัจจุบันแพร่กระจายทั่วเขตอบอุ่นของทวีปอเมริกาเหนือ สามารถแพร่กระจายอย่างรวดเร็วโดยติดไปกับเมล็ดพันธุ์ผัก ระบบชลประทาน และสัตว์ มีอัตราการงอกสูง เมล็ดมีสีน้ำตาล ผิวเรียบ มันวาว เมล็ดมีขนาดความยาว 3.5 มิลลิเมตร (CABI, 2024)

1.4 *Orobanche aegyptiaca* จัดอยู่ในวงศ์ Orobanchaceae เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทยตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่องกำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. ๒๕๐๗ (ฉบับที่ ๖) พ.ศ. ๒๕๕๐ วัชพืชชนิดนี้เป็นวัชพืชข้ามปีเป็นพืชกาฝากเนื่องจากไม่มีคลอโรฟิลล์ จึงต้องเกาะอาศัยกับพืชอื่น เมล็ดมีขนาดเล็กสามารถกระจายจากที่หนึ่งไปอีกที่หนึ่งได้อย่างง่ายดายโดยติดไปกับน้ำ ลม สัตว์ และมนุษย์ เมล็ดของวัชพืชชนิดนี้สามารถมีชีวิตติดปนไปกับมูลสัตว์โดยผ่านทางเดินอาหารของสัตว์สามารถขยายพันธุ์โดยเมล็ด มีถิ่นกำเนิดจากตะวันออกกลาง และสามารถเจริญเติบโตได้ดีกับดินที่มีค่า ph สูง (CABI, 2024) Holm และคณะ (1979) ได้รายงานว่าวัชพืช *O. aegyptiaca* จัดเป็นร้ายแรงในอัฟกานิสถาน อาระเบีย อิหร่าน จอร์แดน และอิตาลี และมีรายงานวัชพืชนี้สามารถทำให้ผลผลิตแตงโมลดลง 50% (Panchenko,

1974) ผลจะประกอบด้วยเมล็ดขนาดเล็กคล้ายฝุ่นสีน้ำตาลจำนวนมากขนาด 0.3-0.4 มิลลิเมตร เมื่อเมล็ดแก่จะเปลี่ยนสีจากสีน้ำตาลเป็นสีน้ำตาลเข้ม

1.5 *Orobanche minor* จัดอยู่ในวงศ์ Orobanchaceae เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทยตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่องกำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. ๒๕๐๗ (ฉบับที่ ๖) พ.ศ. ๒๕๕๐ เป็นวัชพืชกาฝากไม่มีคลอโรฟิลล์ เมื่องอกแล้วจะเกาะอาศัยกับรากของพืชอื่น พบแพร่กระจายอยู่ในยุโรป แอฟริกาเหนือ และเอเชียตะวันตก พบกระจายในอเมริกา ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ และแอฟริกาใต้ มีรายงานว่า *O. minor* เป็นวัชพืชร้ายแรงในแปลงยาสูบของประเทศนิวซีแลนด์ (CABI, 2024) เป็นพืชท้องถิ่นทางตะวันออกกลางและแพร่ระบาดติดปนกับเมล็ดพันธุ์พืชของประเทศอเมริกาเหนือ เมล็ดมีขนาดเล็กมาก (ขนาดฝุ่น)และเมล็ดมีชีวิตได้นานถึง 10 ปีหรือมากกว่า (invasive.org, 1997)

1.6 *Orobanche crenata* จัดอยู่ในวงศ์ Orobanchaceae เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทยตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่องกำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. ๒๕๐๗ (ฉบับที่ ๖) พ.ศ. ๒๕๕๐ เป็นวัชพืชกาฝากที่มีลำต้นไม่แตกแขนง ขนาดความสูง 1.3 เมตร ดอกมีสีแดงเข้ม ผลแคปซูลสีน้ำตาลเข้ม สามารถขยายพันธุ์โดยเมล็ด และเมล็ดจะงอกได้โดยอาศัยสารจากรากพืชอาศัย ความชื้น และอุณหภูมิอบอุ่น (FAO, 2024)

1.7 *Orobanche ramosa* จัดอยู่ในวงศ์ Orobanchaceae เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทยตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่องกำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. ๒๕๐๗ (ฉบับที่ ๖) พ.ศ. ๒๕๕๐ วัชพืชชนิดนี้ไม่ได้แพร่กระจายอย่างรวดเร็ว หากปนเปื้อนไปกับดินหรือเมล็ดพันธุ์เป็นการยากที่จะตรวจพบ เมล็ดมีลักษณะเป็นเหลี่ยม รูปไข่ สีน้ำตาลอมเหลือง ผิวเมล็ดเป็นตาข่ายสีเข้ม ขยายพันธุ์โดยเมล็fแพร่กระจายโดยน้ำ และปนเปื้อนในดิน และจัดเป็นศัตรูพืชกักกันของรัฐแคลิฟอร์เนีย (University of California, 2024)

1.8 *Poa annua* จัดอยู่ในวงศ์ Poaceae เป็นหญ้าที่ถูกระบุเป็นพืชรุกรานบนพื้นที่สูงจากระดับน้ำทะเล 1,200 เมตร จัดเป็นวัชพืชร้ายแรงชนิดหนึ่งในจำนวน 38 ชนิดของ 80 ประเทศ และยังถูกจัดเป็นวัชพืชร้ายแรงของ 16 รัฐของอเมริกา ที่เจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในทุกสภาพดิน ทนทานกับสภาพอากาศเย็น และมีศักยภาพในการแข่งขันกับพืชปลูกสูง (Holm et al., 1997) ช่อดอกมีสีน้ำตาล รูปไข่ ขนาด 3-6 มิลลิเมตร

1.9 *Senecio vulgaris* จัดอยู่ในวงศ์ Asteraceae เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทยตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่องกำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. ๒๕๐๗ (ฉบับที่ ๖) พ.ศ. ๒๕๕๐ เป็นพืชสมุนไพรอายุปีเดียวสูง 4-60 เซนติเมตร ใบมีขนแข็ง ขอบใบคล้ายปุยฝ้าย ลำต้นอวบน้ำ กลวง โค้งงอ แตกแขนง หนา ตั้งตรง เมล็ดและผลจะเหนียวเมื่อโดนความชื้น ขยายพันธุ์โดยเมล็ดและแพร่กระจายโดยลม สร้างความเสียหายให้พืชปลูกในระยะแรกของการเจริญเติบโต เมล็ดมีความงอกสูงและการแข่งขันกับพืชปลูกสูง วัชพืชชนิดนี้พบแพร่กระจายทั่วโลกแถบประเทศยุโรปและอเมริกาเหนือ แต่แพร่กระจายในภูมิภาคเขตร้อนบางพื้นที่ เช่น บาง

ประเทศแถบแอฟริกาใต้และอเมริกาใต้ที่ได้รับผลกระทบ เมล็ดกระจุกอยู่ส่วนหัวของเมล็ด เมล็ดมีสีเทาหรือน้ำตาลแดง ยาว 0.25-0.5 เซนติเมตร เมล็ดมีรูปทรงกระบอกมีสันตามยาว 5-10 สัน มีขนแบนเล็กๆระหว่างร่องเมล็ด (CABI, 2024)

1.10 *Chenopodium murale* จัดอยู่ในวงศ์ Chenopodiaceae พืชชนิดนี้ไม่มีรายงานพบในประเทศไทย เป็นพืชล้มลุกปีเดียวความสูงของต้น 70-90 เซนติเมตร ลำต้นตั้งตรงกิ่งก้านแผ่ขยาย มีถิ่นกำเนิดในยุโรปตอนกลางและตอนใต้ แอฟริกาเหนือ และเอเชียตะวันตกเฉียงใต้ พบมีรายงานกว่า 100 ประเทศว่าวัชพืชชนิดนี้มีพิษโดยมีสารไนโตรฟิลิกที่สามารถทำให้ผลผลิตพืชผักเสียหายอย่างมากจากความสามารถในการแข่งขันสูงและความเป็นพิษ และยังเป็นพืชรุกรานในหลายพื้นที่ ทั้งนี้เมล็ดยังสามารถมีชีวิตในดินได้นานนับหลายปีทั้งยังเป็นพืชรุกรานต่างถิ่นในประเทศเม็กซิโก สหรัฐอเมริกา เปอร์โตริโก สาธารณรัฐเช็ก และญี่ปุ่น (CABI, 2024) เมล็ดมีลักษณะกลม ขอบเมล็ดแบน ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1-1.5 มิลิเมตร หนาประมาณ 1 มิลลิเมตร ผิวเมล็ดขรุขระเป็นหลุมเล็ก (Idtool.org., 2011)

1.11 *Polygonum lapathifolium* จัดอยู่ในวงศ์ Polygonaceae เป็นพืชล้มลุก ลำต้นแตกแขนง ใบเรียวยาว ดอกมีสีขาวแกมเขียว พืชชนิดนี้มีรายงานพบในประเทศไทย สกุล Polygonum มีประมาณ 175 สายพันธุ์ พบทั่วไปแถบประเทศเขตอบอุ่นและแอฟริกาใต้ เป็นวัชพืชที่พบขึ้นตามที่รกร้างว่างเปล่า พื้นที่เพาะปลูก คูน้ำ หรือพื้นที่ชื้นริมน้ำที่ดินมีความอุดมสมบูรณ์ สามารถผลิตเมล็ด 800-850 เมล็ด มีรายงานเมล็ดที่เก็บไว้ 10-11 ปี เมล็ดสามารถงอกได้ 10 เปอร์เซ็นต์ แต่หากเก็บเมล็ด 6 ปี จะมีอัตราการงอก 90 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดมีลักษณะมันวาว แบน มีขนาด 2.5-3.0 มิลลิเมตร (CABI, 2024)

1.12 *Emex australis* จัดอยู่ในวงศ์ Polygonaceae วัชพืชชนิดนี้ไม่มีรายงานพบในประเทศไทย มีถิ่นกำเนิดจากแอฟริกาใต้ เป็นพืชล้มลุกขยายพันธุ์โดยเมล็ดเท่านั้น หนามแหลมของ *E. australis* เป็นคุณสมบัติพิเศษที่ทำให้ถูกจัดเป็นวัชพืชรุกราน สามารถติดปนไปกับผลิตผลทางการเกษตรและไปได้ไกล เมล็ดมีชีวิตในดินได้นานถึง 8 ปี ซึ่งวัชพืชชนิดนี้ส่งผลกระทบสร้างความเสียหายทำให้ลดผลผลิตทางการเกษตรเป็นอย่างมาก พบรายงานสร้างความเสียหายในพื้นที่ทุ่งหญ้าสองล้านเฮคเตอร์และพื้นที่ปลูกธัญพืชหนึ่งล้านเฮคเตอร์ของประเทศออสเตรเลีย และเพื่อจำกัดการแพร่ระบาดของวัชพืชชนิดนี้จึงถูกจัดเป็นวัชพืชร้ายแรงในหลายประเทศ ได้แก่ ออสเตรเลีย สหรัฐอเมริกา ญี่ปุ่น และนิวซีแลนด์ เมล็ดมีลักษณะเปลือกแข็งสีฟางหรือน้ำตาล มีหนามแหลมคมคล้ายเขา ยาว 4.5-11 มิลลิเมตร กว้าง 2.5-5.5 มิลลิเมตร (CABI, 2024)

2. การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์และการตรวจสอบวัชพืชเบื้องต้น

สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่ายนำเข้าทั้งหมด 27 ตัวอย่าง นำเข้าจากประเทศสหรัฐอเมริกา 4 ครั้งปริมาณ 29,647.20 กิโลกรัม เม็กซิโก 6 ครั้ง ปริมาณ 28,897.50 กิโลกรัม อิตาลี 15 ครั้งปริมาณ 24,986.00 กิโลกรัม ฝรั่งเศส 1 ครั้งปริมาณ 1.20 กิโลกรัม และสาธารณรัฐประชาชนจีน 1 ครั้ง ปริมาณ 0.50 กิโลกรัม นำเข้าทางด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ 18 ครั้ง ด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ 5 ครั้ง ด่านตรวจพืชลาดกระบัง 3 ครั้ง และด่านตรวจพืชไปรษณีย์ 1 ครั้ง (Table 2) ทำ

การตรวจสอบการปนของเมล็ดวัชพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่า (visual inspection) และภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) พบเมล็ดวัชพืชปนมากับตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่ายจากประเทศเม็กซิโก อิตาลี และสหรัฐอเมริกา (Figure 1)

3. การตรวจวัชพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

ทำการตรวจสอบวัชพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ สามารถจำแนกชนิดของเมล็ดวัชพืชที่พบปนมากับเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่ายนำเข้าได้ 8 ชนิด ดังนี้ (Table 3, Figure 2)

3.1 เมล็ดวัชพืชติดมากับตัวอย่างจากสหรัฐอเมริกา 1 ชนิด ได้แก่ *Polygonum* sp. โดยเมล็ดมีลักษณะมันวาว เป็นสามเหลี่ยม สีเหลือง หรือสีน้ำตาล มีเปลือกหุ้มเมล็ดแข็งสีน้ำตาล เมล็ดมีขนาดความกว้างxยาว 1.7x2.0 มิลลิเมตร

3.2 เมล็ดวัชพืชติดมากับตัวอย่างจากประเทศเม็กซิโก 5 ชนิด ได้แก่ *Amaranthus viridis, Chenopodium murale, Echinochloa colona, Melilotus indicus* และ *Polygonum* sp.

เมล็ดวัชพืช *Amaranthus viridis* เมล็ดมีลักษณะกลมมันวาว สีน้ำตาลเข้ม หรือสีดำเข้ม เมล็ดมีขนาดกว้างxยาว 1x1.2 มิลลิเมตร

เมล็ดวัชพืช *Chenopodium murale* เมล็ดกลมมันวาวขนาดกว้างxยาว 1.1x1 .5 มิลลิเมตร สีน้ำตาลดำหรือดำเข้ม เมล็ดมีความหนาประมาณ 1 มิลลิเมตร ขอบเมล็ดแบนคม เมล็ดถูกปกคลุมด้วยผิวขรุขระแข็งเป็นหลุมเล็กๆ

เมล็ดวัชพืช *Echinochloa colona* เมล็ดเป็นรูปไข่ ด้านบนมีลักษณะโค้งนูน ด้านล่างแบน สีน้ำตาลหรือเหลืองอ่อน ผิวเมล็ดเรียบมันขนาดกว้างxยาว 2.0x3.0 มิลลิเมตร

เมล็ดวัชพืช *Melilotus indicus* เมล็ดมีสี เหลือง น้ำตาล หรือน้ำตาลแดง ผิวขรุขระ มีรอยหยักด้านหนึ่ง เมล็ดมีขนาดกว้างxยาว 1.4x1.5 มิลลิเมตร

3.3 เมล็ดวัชพืชติดมากับตัวอย่างจากประเทศอิตาลี 3 ชนิด ได้แก่ *Helminthotheca echioides, Chenopodium album* และ *Solanum ptychanthum*

เมล็ดวัชพืช *Helminthotheca echioides* เมล็ดยาวรีสีน้ำตาลเหลืองหรือน้ำตาลเข้มมันวาว ผิวเป็นคลื่นแนวขวาง ขนาดกว้างxยาว 0.4x2.5 มิลลิเมตร หนา 0.8 มิลลิเมตร

เมล็ดวัชพืช *Chenopodium album* เมล็ดมีลักษณะกลม มันวาว ขนาด 0.5-1.0 มิลลิเมตร ภายนอกเมล็ดมีแว็กแข็งปกคลุมเมล็ด

เมล็ดวัชพืช *Solanum ptychanthum* เมล็ดสีเหลืองอ่อน เมล็ดรูปไข่แบน ปลายเรียวแหลม ขนาดกว้างxยาว 1.1x1.4 มิลลิเมตร

จากการสืบค้นข้อมูลวัชพืชที่มีความสำคัญด้านกักกันพืชที่ตรวจพบปนมากับเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่าย วัชพืช *Chenopodium album* จัดเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2550) มีถิ่นกำเนิดจากยุโรปและอเมริกาเหนือ แพร่กระจายไปทั่วโลก สามารถเจริญเติบโตได้ดีทั้งในเขตร้อนและเขตหนาว ถูกจัดเป็นวัชพืชร้ายแรงในพืชปลูกฤดูร้อนและฤดูหนาวในข้าวสาลี ถั่วชิกพี ข้าวบาร์เล่ย์ และผักฤดูหนาวในสหรัฐอเมริกาและเม็กซิโก (CABI, 2024) วัชพืช *Chenopodium murale* ไม่มี

รายงานพบในประเทศไทย มีถิ่นกำเนิดในยุโรปตอนกลางและตอนใต้ แอฟริกาเหนือ และเอเชียตะวันตกเฉียงใต้ พบมีรายงานกว่า 100 ประเทศว่าวัชพืชชนิดนี้มีพิษโดยมีสารไนโตรฟิลิกที่สามารถทำให้ผลผลิตพืชผักเสียหายอย่างมากจากความสามารถในการแข่งขันสูงและความเป็นพิษ และยังเป็นพืชรุกรานในหลายพื้นที่ ทั้งนี้เมล็ดยังสามารถมีชีวิตในดินได้นานนับหลายปีทั้งยังเป็นพืชรุกรานต่างถิ่นในประเทศเม็กซิโก สหรัฐอเมริกา เปอร์โตริโก สาธารณรัฐเช็ก และญี่ปุ่น (CABI, 2024) วัชพืช *Helminthotheca echioides* เป็นพืชฤดูร้อนและฤดูหนาว มีถิ่นกำเนิดจากยุโรป และแพร่กระจายไปหลายประเทศ เช่น ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ และสหรัฐอเมริกา สามารถทนแล้งและอากาศหนาวได้ดี แพร่กระจายโดยลมติดไปกับเสื้อผ้าหรือขนสัตว์ (California invasive plant council, 2024)

4. การทดสอบความงอกของเมล็ดวัชพืชที่ตรวจพบ

ทำการทดสอบความงอกของเมล็ดวัชพืชที่ตรวจพบด้วยวิธีการเพาะในกระดาษเพาะและวิธีการเพาะในทรายละเอียด ให้ความชื้นสม่ำเสมอและวางไว้ในสภาพห้อง พบว่าเมล็ดวัชพืช *C. album, C. murale*, *Solanum ptychanthum, E. colona* และ *H. echioides* สามารถงอกและเจริญเติบโตได้ ซึ่งแสดงว่าเมล็ดวัชพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่ายนำเข้ายังมีชีวิต (Figure 3)

5. การติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้า

จากการติดตามและตรวจสอบวัชพืชภายหลังการนำเข้าในแปลงปลูกขึ้นฉ่ายนำเข้าในพื้นที่จังหวัดตากและเชียงใหม่ ไม่พบวัชพืชที่มีความสำคัญด้านกักกันพืช (Figure 4, Figure 5) แต่อย่างไรก็ตามยังมีความจำเป็นต้องติดตามและตรวจสอบศัตรูพืชภายหลังการนำเข้าในแปลงปลูกต่อไป เพื่อป้องกันศัตรูพืชร้ายแรงซึ่งมีความสำคัญทางกักกันพืช เช่น *Chenopodium album* ซึ่งจัดเป็นศัตรูพืชกักกันมิให้เข้ามาตั้งรกราก แพร่ระบาด และสร้างความเสียหายให้กับการผลิตพืชในประเทศต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. ศัตรูพืชที่มีความสำคัญด้านกักกันพืชที่สามารถติดปนมากับเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่ายนำเข้าจากต่างประเทศจำนวน 6 ชนิด ได้แก่ *Polygonum aviculare, Circium arvense, Orobanche aegyptiaca, Orobanche crenata, Orobanche ramosa* และ *Senecio vulgaris*

2. จากการสุ่มตัวอย่างและตรวจสอบศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่ายนำเข้าจากต่างประเทศทั้งหมด 27 ตัวอย่าง ตรวจพบเมล็ดวัชพืชปนมากับเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่ายจากประเทศเม็กซิโก 5 ชนิด ได้แก่ *Amaranthus viridis, Chenopodium murale, Echinochloa colona, Melilotus indicus* และ *Polygonum* sp. อิตาลี 3 ชนิด ได้แก่ *Helminthotheca echioides, Chenopodium album* และ *Solanum ptychanthum* และสหรัฐอเมริกา 1 ชนิด ได้แก่ *Polygonum* sp.

3. การทดสอบความงอกของเมล็ดวัชพืช ได้แก่ *C. album, C. murale*, *Solanum ptychanthum, E. colona* และ *H. echioides* ในทรายและให้ความชื้นสม่ำเสมอ พบว่าเมล็ดวัชพืชดังกล่าวสามารถงอกได้ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเมล็ดวัชพืชยังมีชีวิตและจะสามารถเจริญเติบโตและแพร่ระบาดในสภาพแวดล้อมได้

4. การติดตามตรวจสอบในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่ายภายหลังการนำเข้าในพื้นที่จังหวัดตากและเชียงใหม่ ไม่พบศัตรูพืชกักกัน

จากข้อมูลรายชื่อเมล็ดวัชพืชที่ตรวจพบ วัชพืชที่ตรวจพบที่มีความสำคัญด้านกักกันพืช คือ วัชพืช *Chenopodium album* ตรวจพบปนมากับเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่ายจากประเทศอิตาลี ซึ่งวัชพืชชนิดนี้มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชร้ายแรงและเป็นศัตรูพืชกักกันตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 นอกจากนี้ยังพบเมล็ดวัชพืช *Chenopodium murale, Helminthotheca echioides* และ *Solanum ptychanthum* ซึ่งจากการสืบค้นข้อมูลวัชพืชทั้งสามชนิดเป็นวัชพืชที่ไม่มีรายงานพบในประเทศไทย (CABI, 2024; EPPO, 2024) ทั้งยังเป็นวัชพืชร้ายแรง (Noxious weed) และวัชพืชรุกรานต่างถิ่นของต่างประเทศ (Invasive species) โดยได้ดำเนินมาตรการควบคุม กำกับ ดูแล โดยอาศัยอานาจตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 และที่แก้ไขเพิ่มเติม ในการป้องกันมิให้ศัตรูพืชกักกันติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่ายให้ทำลายโดยการเผาทำลายหรือส่งกลับประเทศต้นทาง ดังนั้นเพื่อเป็นการป้องกันวัชพืชร้ายแรงซึ่งมีความสำคัญทางกักกันพืชสำหรับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่าย จึงควรกำหนดมาตรการและเงื่อนไขในการนำเข้าดังต่อไปนี้

1) ต้องขอใบอนุญาตนำเข้า (import permit) และต้องแจ้งการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ผัก (ขึ้นฉ่าย)

2) มีใบรับรองสุขอนามัยพืชจากประเทศต้นทาง (Phytosanitary certificate; PC) และหนังสือรับรองว่าไม่เป็นพืชดัดแปลงพันธุกรรม (Non-GMOs certificate) กำกับมาด้วย

3) เมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่ายที่นำเข้าจะต้องมาจากพื้นที่ที่ปลอดจากวัชพืช *Chenopodium album* หรือผ่านการตรวจสอบรับรองในห้องปฏิบัติการว่าเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวปลอดจากวัชพืชตามที่กำหนด

4) เมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่ายที่นำเข้าจะต้องสะอาด บรรจุอยู่ในภาชนะบรรจุสะอาดที่ปิดมิดชิด ไม่พบการปนเปื้อนของเมล็ดวัชพืช ไม่มีดินและเศษซากพืชปะปนมาเพื่อป้องกันเมล็ดวัชพืชร้ายแรง

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นักวิชาการและเจ้าหน้าที่กลุ่มงานวินิจฉัยศัตรูพืชกักกันทุกท่าน ที่ให้ความความช่วยเหลือในการทำงานวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณนายวานิช คำพานิช นักวิชาการเกษตรชำนาญการพิเศษที่ให้คำแนะนำและคำปรึกษาในการทำงานวิจัยครั้งนี้ รวมทั้งขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการสุ่มเก็บตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ขึ้นฉ่ายนำเข้า

เอกสารอ้างอิง

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

ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ.2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ.2550 (2550, 1 มิถุนายน). ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 124 ตอนพิเศษ 66 ง.

CABI Plantwise Plus. 2024. *Chenopodiaster murale*. Available source:https://plantwiseplusknowledgebank.org/doi/10.1079/PWKB.Species.12652. *Chenopodiaster murale*. (site date: March 8, 2024).

California invasive plant council. 2024. *Helminthotheca echioides*. (Online) Available source: https://www.cal-ipc.org/plants/profile/picris-echioides-profile/ (April4, 2024).

Center for Invasive Species and Ecosystem Health. 2024. *Bristly oxtongue Helminthotheca echioides* (L.) Holub. Available source:https://www.invasive.org/browse/subinfo.cfm?sub=18761 (site date: March 8, 2024).

EPPO Global Database. 2024. *Solanum americanum* (SONAM) Available source: https://gd.eppo.int/taxon/SOLAM. (March 8, 2024).

FAO (Food and Agricultural Organization of the United Nations). 2024. *Orobanche crenata FORSK.* (Online). Available source: https://www.fao.org/agriculture/crops/thematic-sitemap/theme/biodiversity/weeds/listweeds/oro-cre/en/. (March 26, 2024).

Holm LG, Pancho JV, Herberger JP, Plucknett DL, 1979. *A geographical atlas of world weeds.* New York, USA: John Wiley and Sons, 391 pp.

Holm LG, Doll J, Holm E, Pancho JV, Herberger JP, 1997. *World Weeds: Natural Histories and Distribution.* New York, USA: John Wiley & Sons Inc.

Huelma,C. C., K. Moody and T.W. Mew. 1996. *Weed seeds in rice shipments: a case study.* International Journal of Pest Management. 42(3) 147-150.

Idtools.org. 2011. *Identification Tool to Weed Disseminules of California Central Valley Table Grape Production Areas. Chenopodium murale L.* (Online). Available source: https://idtools.org/id/weed-tool/key/GrapeSeedKey/Media/Html/factsheets/Che-mur.html. (March 26, 2024)

James RW, Frater KC, 1977. The control of broomrape (Orobanche minor) in flue-cured tobacco. *New Zealand Tobacco Growers Journal*, October:10, 11, 13.

International Seed Testing Association. 2020. *International Seed Testing Association (ISTA).* Bassersdort, Switzerland.

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

Mikhailova,S.I., A.S. Babenko, S.A. Nuzhnyh, S.A. Suckkova and T.P. Astafurova. 2015. Weed Plants of Oilseed Rape Agrocoenoses in Tomsk Oblast. *Biosciences Biotechnology Research Asia December 2015.* Vol.12(3): 2273-2278.

Panchenko VP, 1974. [Micro-organisms in the control of Egyptian broomrape parasitising water melons.] *Mikologia I Fitopathalogya*, 8:122-125 (in Russian).

Rowarth, J.S., A.A. Johnson, P.T.P., Clifford and M.P. Rolston. 1990. Weed seed contamination in white clover seedlots. *Proceedings of the New Zealand Glassland Assosiation* 52:99-102.

University of California. 2024. *Branched broomrape (Orobanche ramosa).* (Online). Available source: https://ipm.ucanr.edu/PMG/WEEDS/broomrape.html. (March 26, 2024)

CABI Plantwise Plus. 2024. *Chenopodiaster murale*. Available source: https://plantwiseplusknowledgebank.org/doi/10.1079/PWKB.Species.12652. *Chenopodiaster murale*. (site date: March 8, 2024).

California invasive plant council. 2024. *Helminthotheca echioides*. (Online) Available source: https://www.cal-ipc.org/plants/profile/picris-echioides-profile/ (April4, 2024).

Center for Invasive Species and Ecosystem Health. 2024. *Bristly oxtongue Helminthotheca echioides* (L.) Holub. Available source:https://www.invasive.org /browse/subinfo.cfm?sub=18761 (site date: March 8, 2024).

EPPO Global Database. 2024. *Solanum americanum* (SONAM) Available source: https://gd.eppo.int/taxon/SOLAM. (March 8, 2024).

FAO (Food and Agricultural Organization of the United Nations). 2024. *Orobanche crenata FORSK.* (Online). Available source: https://www.fao.org/agriculture/crops/thematic-sitemap/theme/biodiversity/weeds/listweeds/oro-cre/en/. (March 26, 2024).

Holm LG, Pancho JV, Herberger JP, Plucknett DL, 1979. *A geographical atlas of world weeds.* New York, USA: John Wiley and Sons, 391 pp.

Holm LG, Doll J, Holm E, Pancho JV, Herberger JP, 1997. *World Weeds: Natural Histories and Distribution.* New York, USA: John Wiley & Sons Inc.

Huelma,C.C., K. Moody and T.W. Mew. 1996. *Weed seeds in rice shipments: a case study.* International Journal of Pest Management. 42(3) 147-150.

Idtools.org. 2011. *Identification Tool to Weed Disseminules of California Central Valley Table Grape Production Areas*. Chenopodium murale L. (Online).

Available source: https://idtools.org/id/weed-tool/key/GrapeSeedKey/Media/Html/fact_sheets/ Che-mur.html. (March 26, 2024)

James RW, Frater KC, 1977. *The control of broomrape (Orobanche minor) in flue-cured tobacco.* New Zealand Tobacco Growers Journal, October:10, 11, 13.

International Seed Testing Association. 202 0 . *International Seed Testing Association (ISTA).* Bassersdort, Switzerland.

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

Mikhailova,S.I., A.S. Babenko, S.A. Nuzhnyh, S.A. Suckkova and T.P. Astafurova. 2015. Weed Plants of Oilseed Rape Agrocoenoses in Tomsk Oblast. *Biosciences Biotechnology Research Asia* December 2015. Vol.12(3): 2273-2278.

Panchenko VP, 1974. [Micro-organisms in the control of Egyptian broomrape parasitising water melons.] *Mikologia I Fitopathalogya*, 8:122-125 (in Russian).

Rowarth, J.S., A.A. Johnson, P.T.P., Clifford and M.P. Rolston. 1990. Weed seed contamination in white clover seedlots. *Proceedings of the New Zealand Glassland Assosiation* 52:99-102.

University of California. 2024. *Branched broomrape (Orobanche ramosa).* (Online). Available source: https://ipm.ucanr.edu/PMG/WEEDS/broomrape.html. (March 26, 2024)

Table 1 The quarantine weeds of Thailand in celery were present in foreign countries

Quarantine pest	Countries				
	Mexico	USA	Italy	France	China
Chenopodium album	✓	✓	✓	-	✓
Circium arvense	✓	✓	✓	✓	✓
Orobanche aegyptiaca	-	✓	✓	-	✓
Orobanche ramosa	✓	✓	✓	✓	✓
Polygonum aviculare	✓	✓	✓	✓	✓
Senecio vulgaris	✓	✓	✓	✓	✓

Table 2 Celery seeds imported from foreign countries (2021-2023)

Country	Consignments	Quantity (Kgs.)	Number of detected weed seeds
USA	4	29,647.20	1
Mexico	6	28,897.50	2
Italy	15	24,986.00	5
France	1	1.20	0
China	1	0.50	0
Total	**27**	**83,532.40**	

Table 3 Weed seed associated with imported celery seeds (October 2021 to September 2023)

Country	Consignments	Quantity (Kgs.)	Species of weed	Number of detected weed seeds	Quarantine pest
Mexico	6	28,897.50	*Amaranthus viridis*	1	No
			Chenopodium murale	2	No*
			Echinochloa colona	2	No
			Melilotus indicus	1	No
			Polygonum sp.	2	-
Italy	15	24,986.00	*Chenopodium album*	2	yes
			Helminthotheca echioides	5	No*
			Solanum ptychanthum	2	No*
USA	4	29,647.20	*Polygonum* sp.	1	-
Total	**25**	**83,530.70**			

*absent in Thailand

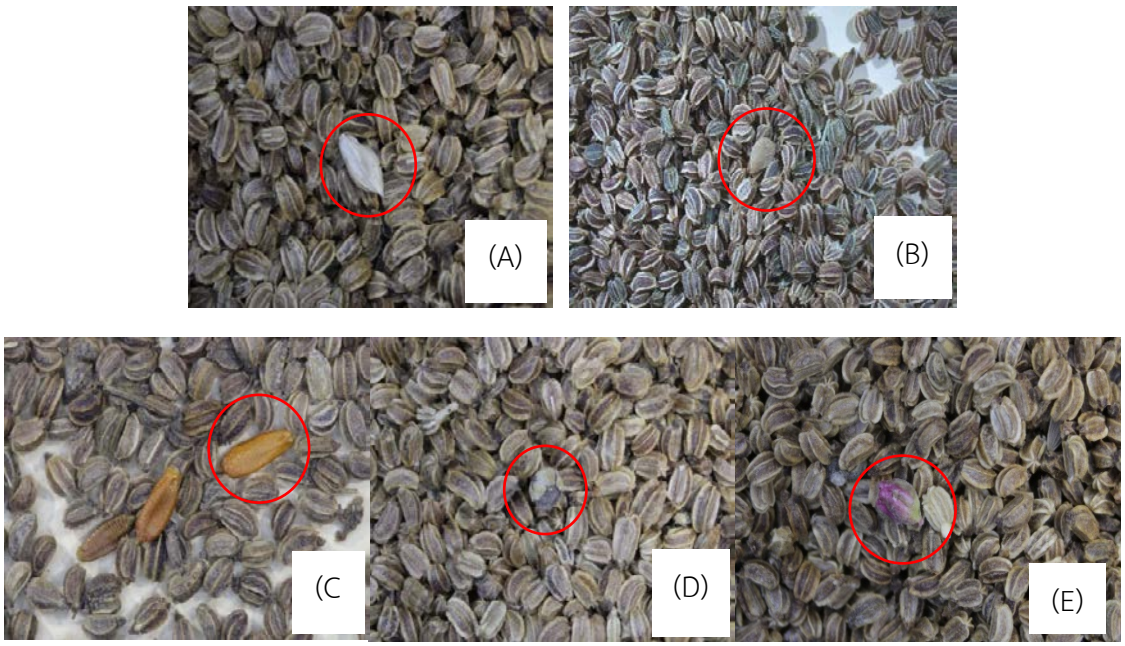


Figure 1 Weed seeds contaminated in imported celery seed from foreign countries

(A) *E. Colona* from from Mexico

(B) *S. ptychanthum* from Italy

(C) *H. echioides* from Italy

(D) *C. murale* from Mexico

(E) *Polygonum* sp. from USA

Figure 2 Weed seeds contaminated in imported celery seed.

(A) *Chenopodium album*

(B) *Chenopodium murale*

(C) *Polygonum* sp.

(D) *Echinochloa colona*

(E) *Amaranthus viridis*

(F) *Melilotus indicus*

(G) *Helminthotheca echioides*

(H) *Solanum ptychanthum*

Figure 3 Germination test of detected weed seed.

(A) *Chenopodium album*

(B) *Chenopodium murale*

(C) *Helminthotheca echioides*

(D) *Solanum ptychanthum*

Figure 4 Field inspection in celery crop at Tak province

Figure 5 Field inspection in celery crop at Chiang Mai province

การตรวจวินิจฉัยและจำแนกชนิดของเชื้อไวรอยด์ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้า

Diagnostic and Identification of Pospiviroids Associated with Tomato Seeds and Pepper Seeds Imported

วาสนา รุ่งสว่าง[1/] โสภา มีอำนาจ[1/] จันทร์พิศ เดชหามาตย์[1/]
สุรศักดิ์ แสนโคตร[1/] ปริเชษฐ์ ตั้งกาญจนภาสน์[2/]
[1/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ทำการตรวจวินิจฉัยและจำแนกชนิดของเชื้อไวรอยด์ที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกนำในช่วงเดือนตุลาคม 2565 ถึง กันยายน 2566 จำนวนทั้งสิ้น 10 ครั้งจากทั้งหมด 5 ประเทศ ประกอบด้วย เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่มีแหล่งกำเนิดจาก 4 ประเทศ ได้แก่ สาธารณรัฐประชาชนจีน อินเดีย เนเธอร์แลนด์ และอิสราเอล รวม 29 ตัวอย่าง และเมล็ดพันธุ์พริกที่มีแหล่งกำเนิดจาก 4 ประเทศ ได้แก่ สาธารณรัฐประชาชนจีน อินเดีย สหรัฐอเมริกา และอิสราเอล รวม 36 ตัวอย่าง โดยทำการสุ่มตัวอย่างตามมาตรฐาน ISTA จากนั้นนำมาสกัดสารพันธุกรรมชนิดอาร์เอ็นเอ และนำไปตรวจสอบเพื่อหาเชื้อไวรอยด์ที่อาจติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว โดยทำการตรวจหาเชื้อไวรอยด์ด้วยวิธี RT-PCR (reverse-transcription polymerase chain reaction) แบบ one-step ผลการตรวจสอบพบว่าในเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศทั้ง 29 ตัวอย่างไม่พบเชื้อไวรอยด์ติดมากับเมล็ดพันธุ์ที่มีการนำเข้า ส่วนในเมล็ดพันธุ์พริกตรวจพบเชื้อไวรอยด์ติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์จำนวน 3 ตัวอย่าง ซึ่งทั้งสามตัวอย่างมีแหล่งกำเนิดจากประเทศอินเดีย และเมื่อทำการวิเคราะห์เพื่อจำแนกชนิดของเชื้อไวรอยด์ที่ตรวจพบในทั้งสามตัวอย่าง พบว่าเป็นเชื้อ *Columnea latent viroid* (CLVd) ซึ่งเป็นศัตรูพืชกักกันของของประเทศไทย

คำหลัก : การตรวจวินิจฉัย, การจำแนกชนิด, เชื้อไวรอยด์, เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ, เมล็ดพันธุ์พริก

รหัสการทดลอง FF65-55-03-65-00-05-66

คำนำ

ประเทศไทยเป็นศูนย์กลางผลิตและส่งออกสินค้าเกษตร ในขณะเดียวกันมีความจำเป็นต้องนำเข้าสินค้าเกษตรจากต่างประเทศ จากหลายภูมิภาค เพื่ออุปโภค บริโภค เพาะปลูกและปรับปรุงพันธุ์ หรือนำเข้าเมล็ดพันธุ์พ่อแม่เพื่อผลิตเป็นเมล็ดพันธุ์ลูกผสมเพื่อการส่งออก ซึ่งอาจจะเป็นพาหะของ ศัตรูพืชหลายชนิดที่ยังไม่มีรายงานในประเทศไทย หากศัตรูพืชร้ายแรงดังกล่าวแพร่ระบาดเข้ามาในประเทศไทย นอกจากจะทำความเสียหายกับพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศแล้ว ยังก่อให้เกิดผลกระทบกับการส่งออกสินค้าเกษตรไปยังต่างประเทศด้วย ซึ่งจะส่งผลกับเศรษฐกิจของประเทศและต้องใช้งบประมาณสูงในการป้องกันกำจัด ดังนั้น การศึกษาและจัดจำแนกชนิดของศัตรูพืชที่อาจจะติดเข้ามากับพืชที่นำเข้าจากแหล่งต่างๆ ก่อนที่จะอนุญาตให้นำออกจากสถานกักพืชได้ เป็นการป้องกันมิให้ศัตรูพืชที่ร้ายแรงซึ่งเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย เข้ามาแพร่ระบาดทำความเสียหายต่อการเกษตรในประเทศ และข้อมูลที่ได้จะเป็นประโยชน์ต่องานด้านกักกันพืชทำให้ทราบข้อมูลศัตรูพืชของประเทศคู่ค้า และเก็บตัวอย่างศัตรูพืชไว้เป็นหลักฐานทางวิชาการ และช่วยในการกำหนดมาตรการทางสุขอนามัยพืชให้ประเทศผู้ส่งออกปฏิบัติ เพื่อลดความเสี่ยงที่ศัตรูพืชจะติดเข้ามาเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว อีกทั้งการตรวจวินิจฉัยและจัดจำแนกชนิดของศัตรูพืชจำเป็นต้องมีประสิทธิภาพและมีความแม่นยำ เพื่อป้องกันไม่ให้ศัตรูพืชร้ายแรงต่างถิ่นหรือศัตรูพืชกักกันติดมากับเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้ามาในประเทศไทย และใช้เป็นเครื่องมือในการตรวจรับรองสินค้าเกษตรเพื่อการส่งออก และที่สำคัญต้องมีการพัฒนาให้สามารถตรวจสอบได้รวดเร็วขึ้น เพื่อนำไปสู่แนวทางการป้องกันกำจัดศัตรูพืชให้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และควบคุมการระบาดของศัตรูพืชได้ทันต่อสถานการณ์

ไวรอยด์เป็นศัตรูพืชชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญและส่งผลการทบต่อพืชในวงศ์ Solanaceae ได้แก่ มะเขือ มะเขือเทศ พริก และมันฝรั่ง เป็นต้น ทั้งในด้านของผลกระทบต่อต้นพืชที่ถูกเชื้อไวรอยด์เข้าทำลายและผลิตผลของพืชดังกล่าวที่สามารถเป็นแหล่งสะสมของเชื้อและสามารถถ่ายทอดเชื้อไปยังแหล่งต่าง ๆ ได้ จึงนำไปสู่ผลกระทบที่เกิดขึ้นในการนำเข้าและส่งออกเมล็ดพันธุ์ระหว่างประเทศคู่ค้า เนื่องจากเป็นเชื้อศัตรูพืชที่สามารถถ่ายทอดผ่านทางเมล็ดพันธุ์ได้ ปัจจุบันประเทศไทยมีข้อกำหนดและเงื่อนไขในการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกจากต่างประเทศ ดังรายละเอียดที่แสดงไว้ในประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ พ.ศ. 2563 และประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าเมล็ดพันธุ์พริก พ.ศ. 2563 ซึ่งเชื้อไวรอยด์หลายชนิดถูกกำหนดเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย ได้แก่ เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศมีเชื้อไวรอยด์ที่เป็นศัตรูพืชกักกัน จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ *Columnea latent viroid* (CLVd), *Potato spindle tuber viroid* (PSTVd), *Tomato apical stunt viroid* (TASVd), *Tomato chlorotic dwarf viroid* (TCDVd) และ *Tomato planta macho viroid* (TPMVd) ส่วนเมล็ดพันธุ์พริกมีเชื้อไวรอยด์ที่เป็นศัตรูพืชกักกัน จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ CLVd และ PSTVd

ในแต่ละปีประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและพริกจากหลายประเทศเป็นจำนวนมากและมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นในทุก ๆ ปี ทั้งในลักษณะของการนำเข้าพ่อ-แม่พันธุ์เพื่อนำมา

ผลิตเมล็ดพันธุ์ส่งกลับไปขายยังต่างประเทศ และการนำเข้าเพื่อนำมาเพาะปลูกในประเทศ ดังนั้น ไม่ว่าจะเป็นการนำเข้ามาในประเทศไทยเพื่อวัตถุประสงค์ใด ก็จำเป็นต้องทำการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและพริกดังกล่าวที่มีการนำเข้าเพื่อตรวจหาเชื้อไวรอยด์ที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวได้ ทั้งนี้ก็เพื่อเป็นการป้องกันการติดเข้ามาของศัตรูพืชต่างถิ่นซึ่งอาจก่อให้เกิดปัญหาและผลกระทบกับทั้งการปลูกพืชและการผลิตเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและพริกของเกษตรกรในประเทศไทย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้า
2. วัสดุวิทยาศาสตร์ ประกอบด้วย
   - หลอดไมโครทิวป์ ขนาด 1.5 มิลลิลิตร
   - หลอดไมโครทิวป์ ขนาด 2.0 มิลลิลิตร
   - ทิปดูดสารละลาย ขนาด 10 ไมโครลิตร
   - ทิปดูดสารละลาย ขนาด 200 ไมโครลิตร
   - ทิปดูดสารละลาย ขนาด 1 มิลลิลิตร
3. สารเคมี ประกอบด้วย
   - สารละลาย Phosphate buffer saline (PBS)
   - ชุดสกัดอาร์เอ็นเอสำเร็จรูป (FavorPrep™ Plant Genomic RNA Mini Kit)
   - สารเคมี 2-mercaptoethanol (β-ME)
   - สารละลาย 70% EtOH
   - ชุดเอนไซม์สำหรับเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมแบบ One-Step RT-PCR (Invitrogen, SuperScript™ III One-Step RT-PCR System with Platinum™ Taq DNA Polymerase)
   - สารละลายไพรเมอร์ที่จำเพาะ
   - ผงอะกาโรล (agarose gel)
   - สารย้อมสีดีเอ็นเอ (RedSafe™ Nucleic Acid Staining Solution)
   - 6X loading dye (Bio-Helix, Novel juice supplied in 6X loading buffer)
   - สารละลายดีเอ็นเอมาตรฐาน (Bio-Helix, One mark 100 DNA Ladder)
4. วัสดุสำนักงาน ประกอบด้วย
   - ถุงพลาสติก
   - ปากกามาร์กเกอร์
5. เครื่องมือ ประกอบด้วย
   - เครื่องชั่งละเอียด ทศนิยม 3 ตำแหน่ง (METTLER TOLEDO, digital scale)
   - เครื่องบดเมล็ดพันธุ์ (IKA® Tube mill control)

- เครื่องปั่นเหวี่ยง (Thermo Scientific, Sorvall Legend Micro 21 Centrifuge)
- อ่างควบคุมอุณหภูมิ (MEMMERT, water bath)
- ตู้แช่แข็ง -30 องศาเซลเซียส (SANYO, freezer)
- เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (Eppendorf, DNA thermocycler)
- เครื่องแยกขนาดดีเอ็นเอด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส (BIO-RAD, Gel Electrophoresis)
- เครื่องถ่ายภาพเจล (BIO-RAD, Gel documentation)

วิธีการ

1. สืบค้นข้อมูลที่เกี่ยวกับเชื้อไวรอยด์กลุ่ม *Pospiviroid* ที่มีรายงานการเข้าทำลายในมะเขือเทศและพริกทั้งของประเทศไทยและที่มีรายงานในต่างประเทศ

2. สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกที่มีการนำเข้าจากต่างประเทศ ตามมาตรฐานของ International Seed Testing Association (ISTA, 2022) จากนั้นบันทึกข้อมูลและรายละเอียดของเมล็ดพันธุ์แต่ละตัวอย่าง

3. ทำการตรวจวินิจฉัยเชื้อไวรอยด์กลุ่ม *Pospiviroid* โดยใช้เทคนิค RT-PCR (reverse-transcription polymerase chain reaction) และจัดจำแนกชนิดของเชื้อไวรอยด์ด้วยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ ตามขั้นตอนและวิธีการ ดังนี้

3.1 การเตรียมตัวอย่าง

3.1.1 สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์จำนวน 3,000 เมล็ดต่อตัวอย่าง สำหรับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศแบ่งเป็น 3 ตัวอย่างย่อย ๆ ละ 1,000 เมล็ด และสำหรับเมล็ดพันธุ์พริก แบ่งเป็น 6 ตัวอย่างย่อย ๆ ละ 500 เมล็ด (ISF, 2023) กรณีที่มีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ปริมาณน้อย (small seed lot) จะสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ที่ 10 เปอร์เซ็นต์

3.1.2 นำเมล็ดพันธุ์ไปปั่นละเอียดด้วยเครื่องบดเมล็ดพันธุ์ ที่ความเร็ว 20,000 รอบต่อนาที (rpm) เป็นเวลา 40 วินาที โดยทำการปั่นสองครั้งเพื่อให้ละเอียด

3.1.3 เติมสารละลาย phosphate buffer saline (PBS) ปริมาตร 40 มิลลิลิตรในแต่ละตัวอย่างที่ปั่นละเอียดไว้เรียบร้อยแล้ว (กรณีเมล็ดพันธุ์ปริมาณน้อยให้คำนวณปริมาตรของสารละลาย PBS ตามสัดส่วนของน้ำหนักแต่ละชนิดตัวอย่าง) ผสมสารละลาย PBS และเมล็ดให้เข้ากัน แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำไปดำเนินการสกัดอาร์เอ็นเอต่อไป

3.2 สกัดสารพันธุกรรมชนิดอาร์เอ็นเอ (Total RNA)

3.2.1 ทำการสกัดสารพันธุกรรมด้วยชุดสกัดสำเร็จรูป FavorPrep™ Plant Genomic RNA Mini Kit โดยดูดสารละลายเมล็ด (seed sap) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดขนาด 2 มิลลิลิตร เติมสาร FARB buffer (ที่เติม β-ME แล้ว) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน (vortex mix) แล้วบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 นาที

3.2.2 เตรียม Filter column จากนั้นเทสารละลายในข้อ 3.2.1 ลงไป แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นดูดส่วนของ supernatant ปริมาตร 400 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร

3.2.3 เติมสาร 70% EtOH ปริมาตร 1 เท่า แล้วผสมให้เข้ากัน (vortex mix)

3.2.4 เตรียม FARB Mini Column แล้วเทสารละลายในข้อ 3.2.3 ใส่ลงไป แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นทิ้งของเหลว

3.2.5 เติมสาร Wash buffer 1 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นทิ้งของเหลว

3.2.6 เติมสาร Wash buffer 2 ปริมาตร 700 ไมโครลิตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นทิ้งของเหลว

3.2.7 ปั่นเหวี่ยงที่ 13,000 rpm เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นย้าย FARB Column ใส่ลงในหลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร แล้วเติมสาร RNase-free ddH_2O ปริมาตร 100 ไมโครลิตร บริเวณกึ่งกลางเมมเบรน จากนั้นบ่มไว้นาน 2 นาที

3.2.8 ปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที ก็จะได้สารละลาย total RNA จากนั้นนำไปเก็บรักษาที่ตู้แช่แข็ง -30 องศาเซลเซียส

3.3 การตรวจหาเชื้อไวรอยด์กลุ่ม *Pospiviroid* ด้วยเทคนิค RT-PCR (reverse-transcription polymerase chain reaction) โดยใช้คู่ไพรเมอร์ cPC2: 5’ TGTTTCWRCDGGGATTACTCCTG 3’/ Hpc2: 5’ GGGTTTTCACCCTTCCTTTC 3’ (Tangkanchanapas *et al*., 2005) ซึ่งเป็น universal primer ที่จำเพาะกับเชื้อไวรอยด์ในกลุ่มนี้

3.3.1 เตรียมส่วนผสมของปฏิกิริยา ที่ปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 25 ไมโครลิตร (µl) ดังนี้

น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ	7.5	µl
2X Reaction Mix	12.5	µl
10 µM cPC2	1.0	µl
10 µM hPc2	1.0	µl
SuperScript™ III RT/Platinum™ Taq Mix	1.0	µl
Total RNA	2.0	µl

3.3.2 นำตัวอย่างทั้งหมดเข้าเครื่อง thermal cycler โดยตั้งโปรแกรมการทำงาน ดังนี้

48 °C	นาน	45	นาที	1 รอบ
94 °C	นาน	3	นาที	
94 °C	นาน	30	วินาที	35 รอบ
56 °C	นาน	45	วินาที	
68 °C	นาน	1	นาที	
68 °C	นาน	10	นาที	1 รอบ

20 ºC นาน 10 นาที 1 รอบ

3.3.3 ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอ (PCR product) ด้วยเทคนิค gel electrophoresis เตรียมสารละลายเจล 2% agarose ในสารละลาย 0.5x TBE หลอมละลายให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นเติมสารย้อมสีดีเอ็นเอ (RedSafe™ Nucleic Acid Staining Solution) และเทเจลลงในถาดเจลตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 40 นาทีเพื่อให้เจลแข็งตัว จากนั้น ดูดสารละลาย PCR product ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ผสมกับ 6X loading dye ปริมาตร 2 ไมโครลิตร ใส่ลงไปในแต่ละหลุม (well) และใส่ดีเอ็นมาตรฐาน ปริมาตร 3 ไมโครลิตร หลังจากนั้นให้กระแสไฟฟ้าที่ 100 โวลต์ เป็นเวลา 40-50 นาที เมื่อครบเวลานำแผ่นเจลไปตรวจดูแถบแบนดีเอ็นเอภายใต้แสง UV ด้วยเครื่อง Gel document พร้อมทั้งบันทึกภาพ

3.3.4 หากตรวจพบตัวอย่างที่ปรากฏแถบแบนของดีเอ็นเอเป้าหมายถือว่าให้ผลบวกกับการตรวจสอบ จึงทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมอีกครั้งเพื่อส่งตัวอย่างไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และนำผลของลำดับนิวคลีโอไทด์ไปเปรียบเทียบกับข้อมูลในฐานข้อมูลของ GenBank

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2565 – กันยายน 2566

สถานที่ ห้องปฏิบัติการตรวจสอบศัตรูพืช กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสืบค้นข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับเชื้อไวรอยด์ พบว่า ไวรอยด์ (viroid) เชื้อสาเหตุโรคพืชที่มีขนาดเล็กที่สุดที่สามารถทำให้พืชเกิดโรคได้ ที่มีรายงานการศึกษาลำดับเบสแล้วมีความยาว 246-463 นิวคลีโอไทด์ มีน้ำหนักประมาณ 1.1-1.3 x 10^5 ดาลตัน มีโครงสร้างเป็นอาร์เอ็นเอสายเดี่ยวที่เป็นวงปิด (single-stranded circular RNA) เป็นอาร์เอ็นเอแบบไม่มีโปรตีนห่อหุ้ม (naked RNA) นอกจากนี้อาร์เอ็นเอของไวรอยด์ยังไม่สามารถแปลรหัสเป็นโปรตีนได้ (non-translated RNA) (Diener, 1989; Flores *et al*.,2014; คนึงนิตย์, 2556) ไวรอยด์เป็นศัตรูพืชอีกชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญที่สามารถก่อโรคให้กับพืชปลูกและสร้างความเสียหายกับพืชและผลิตผลของพืชได้ อีกทั้งยังมีความสำคัญและเกี่ยวกับการนำเข้าและส่งออกเมล็ดพันธุ์พืชผัก เช่น เมล็ดพันธุ์พริกและมะเขือเทศอีกด้วย โดยที่เชื้อไวรอยด์ที่อยู่ในกลุ่ม *Pospiviroid* ประกอบด้วย สมาชิกจำนวน 9 ชนิด ได้แก่ *Potato spindle tuber viroid* (PSTVd), *Citrus exocortis viroid* (CEVd), *Chrysanthemum stunt viroid* (CSVd), *Columnea latent viroid* (CLVd), *Iresine viroid I* (IrVd), *Pepper chat fruit viroid* (PCFVd), *Tomato apical stunt viroid* (TASVd), *Tomato chlorotic dwarf viroid* (TCDVd) และ *Tomato planta macho viroid* (TPMVd) (Serio *et. al*., 2017) โดยเชื้อไวรอยด์ที่สามารถเข้าทำลายพืชในวงศ์ Solanaceae มีจำนวน 6 ชนิด ได้แก่ เชื้อไวรอยด์ PSTVd, TPMVd, TCDVd, TASVd, CLVd และ PCFVd เชื้อไวรอยด์ PSTVd ที่ก่อโรคในมันฝรั่งในสภาพแปลงปลูกและ

ทำให้ผลผลิตลดลง 17-24 เปอร์เซ็นต์ สำหรับเชื้อที่เป็นสายพันธุ์ไม่รุนแรง (mild strains) และผลผลิตเสียหายถึง 64 เปอร์เซ็นต์ในเชื้อที่มีความรุนแรง ซึ่งความเสียหายจะขึ้นกับชนิดพันธุ์ของมันฝรั่งและความรุนแรงของเชื้อและช่วงระยะเวลาที่มันฝรั่งได้รับเชื้อ PSTVd ทำให้หัวมันฝรั่งมีรอยแตก จำนวนผลผลิตต่อต้นลดลงทั้งจำนวนหัวและน้ำหนักหัว สามารถถ่ายทอดทั้งโดยวิธีกล โดยเมล็ด และละอองเกสร (pollen) นอกจากนี้เชื้อ PSTVd ทำให้ผลผลิตมะเขือเทศลดลง 10-60 เปอร์เซ็นต์ทั้งนี้ขึ้นกับพันธุ์มะเขือเทศและอายุการเจริญเติบโตของมะเขือเทศที่ได้รับเชื้อและความรุนแรงของเชื้อสาเหตุด้วย ความงอกของเมล็ดลดลง 24-48 เปอร์เซ็นต์ เชื้อไวรอยด์สามารถถ่ายทอดโรคได้ทั้งทางเมล็ด ละอองเกสรมะเขือเทศและแมลงพาหะ เชื้อไวรอยด์ TPMVd ก่อให้เกิดความเสียหายกับมะเขือเทศที่ปลูกเป็นการค้าในประเทศเม็กซิโก โดยทำให้ผลมะเขือเทศมีขนาดเล็ดจนไม่สามารถขายได้ เชื้อไวรอยด์ TCDVd ก่อให้เกิดอาการกับผลมะเขือเทศ ทำให้ผลมีขนาดเล็ก สำหรับในมันฝรั่งทำให้มันฝรั่งหัวแตก (cracked tuber) พบรายงานเข้าทำลายมะเขือเทศในสภาพโรงเรือน ไม่พบกับมะเขือเทศในสภาพแปลงปลูก อย่างไรก็ตามมะเขือเทศที่ถูกเชื้อ TCDVd เข้าทำลายผลผลิตจะไม่ได้คุณภาพและมาสามารถออกสู่ตลาดได้ (คนึงนิตย์, 2556)

ทำการสุ่มตรวจตัวอย่างเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกที่มีการนำเข้าในช่วงเดือนตุลาคม 2565 ถึง กันยายน 2566 จำนวน 10 ครั้ง โดยนำเข้าจาก 5 ประเทศ ได้แก่สาธารณรัฐประชาชนจีน อินเดีย สหรัฐอเมริกา เนเธอร์แลนด์ และอิสราเอล ประกอบด้วยเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจำนวน 29 ตัวอย่าง และเมล็ดพันธุ์พริก จำนวน 36 ตัวอย่าง (**Table 1**) ทำการสกัดอาร์เอ็นเอแล้วนำไปตรวจหาเชื้อไวรอยด์ด้วยเทคนิค one-step RT-PCR พบเชื้อไวรอยด์ติดมากับเมล็ดพันธุ์พริกจำนวน 3 ตัวอย่าง ซึ่งเมล็ดพันธุ์ทั้งสามตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อไวรอยด์มีแหล่งกำเนิดจากประเทศอินเดีย (**Table 2**) หลังจากนั้นทำการเพิ่มปริมาณยีนเป้าหมายอีกครั้งเพื่อส่งวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทป์ของเชื้อไวรอยด์ที่ตรวจพบแล้วนำมาวิเคราะห์เพื่อจำแนกชนิดของเชื้อไวรอยด์ ผลการวิเคราะห์และจัดจำแนกชนิดไวรอยด์ที่ตรวจพบในเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าทั้ง 3 ตัวอย่างเป็นเชื้อไวรอยด์ชนิดเดียวกันคือ เชื้อ *Columnea latent viroid* (CLVd)

เชื้อไวรอยด์ CLVd ที่ตรวจพบติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์พริก จำนวน 3 ตัวอย่างที่มีแหล่งกำเนิดและการนำเข้ามาจากประเทศอินเดียนั้น เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทยตามประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าเมล็ดพันธุ์พริก พ.ศ. 2563 โดยมีข้อกำหนดไว้ว่าหากตรวจพบ CLVd ระหว่างการตรวจสอบนำเข้าเมล็ดพริก ต้องส่งกลับ หรือทำลาย โดยผู้นำเข้าต้องเป็นผู้รับผิดชอบค่าใช้จ่าย ดังนั้น เมล็ดพันธุ์พริกทั้ง 3 ตัวอย่างจึงถูกปฏิเสธการนำเข้า

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ทำการตรวจวินิจฉัยและจำแนกชนิดของเชื้อไวรอยด์ที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกนำ จำนวนทั้งสิ้น 10 ครั้ง ประกอบด้วย เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่มีแหล่งกำเนิดจาก 4 ประเทศ ได้แก่ สาธารณรัฐประชาชนจีน อินเดีย เนเธอร์แลนด์ และอิสราเอล รวมทั้งหมด 29 ตัวอย่าง

พบว่าทุกตัวอย่างไม่มีเชื้อไวรอยด์ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ ในส่วนของเมล็ดพันธุ์พริกที่มีแหล่งกำเนิดจาก 4 ประเทศ ได้แก่ สาธารณรัฐประชาชนจีน อินเดีย สหรัฐอเมริกา และอิสราเอล รวมทั้งหมด 36 ตัวอย่าง ตรวจพบเชื้อไวรอยด์ติดมากับเมล็ดพันธุ์พริกจำนวน 3 ตัวอย่าง ซึ่งทั้งสามตัวอย่างมีแหล่งกำเนิดและนำเข้าจากประเทศอินเดีย และเมื่อทำการวิเคราะห์เพื่อจำแนกชนิดของเชื้อไวรอยด์ที่ตรวจพบในทั้งสามตัวอย่าง คือเชื้อ *Columnea latent viroid* และเป็นศัตรูพืชกักกันของของประเทศไทย

เอกสารอ้างอิง

คนึงนิตย์ เหรียญวรากร. 2556. *โรคพืชที่เกิดจากเชื้อไวรอยด์.* ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. นนทบุรี. 164 หน้า.

Diener, T.O., 1989. Circular RNAs: relics of precellular evolution? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86, 9370-9374.

Flores, R., Gago-Zachert, S., Serra, P., Sanjuan, R., Elena, S.F., 2014. Viroids: survivors from the RNA world. *Annu. Rev. Microbiol*. 68, 395-414.

Serio F. D., Li S. F., Palla´s V., Owens R. A., Randles J. W., Sano T., Verhoeven J. T., Vidalakis G. and Flores R. 2017. Viroids and Satellites, *Chapter 13: Viroid Taxonomy.* 135-146.

Tangkanchanapas P, Reanwarakorn K, Chanprame S, Hongprayoon R, 2005. An RT-PCR primer pair for the detection of six pospiviroid in tomato plants. *Thai Phytopathology* 19, 13-21.

Table 1 The details of the tomato seeds and pepper seeds imported

No.	PQ no.	Date	Plants	Place of origin	Weight(KG)	Amount of varieties
1	66I 0072	29/1/2566	TOMATO	CHINA	0.270	1
			PEPPER	CHINA	0.375	1
2	66I 0197	11/3/2566	TOMATO	INDIA	257.700	3
			PEPPER	INDIA	20.050	1
3	66I 0199	13/3/2566	PEPPER	U.S.A.	0.355	2
4	66I 0296	28/3/2566	PEPPER	INDIA	600.000	5
5	66I 0361	18/4/2566	TOMATO	NETHERLANDS	0.011648	2
6	66I 0363	19/4/2566	PEPPER	CHINA	24.195	1
7	66I 0427	25/4/2566	TOMATO	INDIA	0.735	3
8	66I 0472	2/5/2566	PEPPER	INDIA	37.908	2
9	66I 0495	9/5/2566	PEPPER	INDIA	245.000	10
10	66I 0541	16/5/2566	TOMATO	ISRAEL	0.801	20
			PEPPER	ISRAEL	0.693	14
				Total amount of tomato varieties		**29 varieties**
				Total amount of pepper varieties		**36 varieties**

Table 2 Results of Pospiviroids associated with tomato seeds and pepper seeds imported detection

No.	PQ no.	Plants	Place of origin	Amount of varieties	Pospiviroids detection by PC2 primers
1	66I 0072	TOMATO	CHINA	1	-
		PEPPER	CHINA	1	-
2	66I 0197	TOMATO	INDIA	3	-
		PEPPER	INDIA	1	-
3	66I 0199	PEPPER	U.S.A.	2	-
4	66I 0296	PEPPER	INDIA	5	+ (2 out of 5 varieties are positive)
5	66I 0361	TOMATO	NETHERLANDS	2	-
6	66I 0363	PEPPER	CHINA	1	-
7	66I 0427	TOMATO	INDIA	3	-
8	66I 0472	PEPPER	INDIA	2	-
9	66I 0495	PEPPER	INDIA	10	+ (1 out of 10 varieties is postive)
10	66I 0541	TOMATO	ISRAEL	20	-
		PEPPER	ISRAEL	14	-
Amount of Pospiviroids positive of tomato seeds					**Not detected**
Amount of Pospiviroids positive of pepper seeds					**3 out of 36 varieties**

Remark: -, negative; Pospiviroids not detected +, positive; Pospiviroids detected

การตรวจวินิจฉัย *Potato spindle tuber viroid* (PSTVd) ที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้า

Interception on the *Potato spindle tuber viroid* (PSTVd) quarantine pest Associated with imported Seed Potatoes

สุรศักดิ์ แสนโคตร สุคนทิพย์ สมบัติ วาสนา รุ่งสว่าง
โสภา มีอำนาจ จันทร์พิศ เดชหามาตย์
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การตรวจวินิจฉัย *Potato spindle tuber viroid* (PSTVd) จากการสุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าตั้งแต่ปี พ.ศ. ปี 2565 ถึง 2566 มีการนำเข้าจาก 6 ประเทศ ได้แก่ 1) เครือรัฐออสเตรเลีย นำเข้าจำนวน 33 ครั้ง น้ำหนักรวม 239,932,000 กิโลกรัม 2) แคนาดา นำเข้าจำนวน 8 ครั้ง น้ำหนักรวม 1,836,000 กิโลกรัม 3) เนเธอร์แลนด์ นำเข้าจำนวน 4 ครั้ง น้ำหนักรวม 200,000 กิโลกรัม 4) ราชอาณาจักรสกอตแลนด์ นำเข้าจำนวน 40 ครั้ง น้ำหนักรวม 791,159,000 กิโลกรัม กิโลกรัม 5) ราชอาณาจักรนิวซีแลนด์ 3 ครั้ง น้ำหนักรวม 175,000 กิโลกรัม 6) สหรัฐอเมริกา นำเข้าจำนวน 3 ครั้ง น้ำหนักรวม 390 กิโลกรัม โดยทำการสุ่มหัวพันธุ์มันฝรั่งจำนวน 600 หัวต่อตัวอย่าง สำหรับการตรวจสอบลักษณะอาการที่เกิดจากไวรอยด์จากหัวพันธุ์ผิดปกติ และการติดตามในแปลงปลูกหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าในพื้นที่แปลงปลูกอำเภอพบพระ จังหวัดตาก ยังไม่พบลักษณะอาการที่หัวมันฝรั่งผิดปกติ และต้นมันฝรั่งในแปลงปลูกที่มีอาการคล้ายกับอาการของโรคที่เกิดจากไวรอยด์ และการตรวจสอบไวรอยด์ด้วยวิธีการสกัดอาร์เอ็นจากส่วนตาอ่อน (sprouted potato) ด้วยเทคนิค RT-PCR ยังไม่พบสารพันธุกรรมของไวรอยด์

คำหลัก : ไวรอยด์, มันฝรั่ง, PSTVd

รหัสการทดลอง FF65-55-03-65-00-06-66

คำนำ

ไวรอยด์ *Potato spindle viroid* (PSTVd) สาเหตุโรคในมันฝรั่งทำให้หัวมันฝรั่งรูปร่างผิดปกติ ขนาดเล็กผลผลิตลดลง มีองค์ประกอบเป็นอาร์เอ็นเอสายเดี่ยว (ssRNA) ไม่มีโปรตีนห่อหุ้มเหมือนกับไวรัส สาเหตุโรคพืช มีขนาดความยาวของลำดับนิวคลีโอไทด์ 359 เบส ซึ่งเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไฮโดรเจนและในสภาพธรรมชาติอาร์เอ็นเอของไวรอยด์จะอยู่ในลักษณะโครงสร้างทุติยะภูมิคล้ายท่อนตรง (rod-like) เนื่องจากการเชื่อมเกาะกันด้วยพันธะโควาเลนของนิวคลีโอไทด์ใกล้เคียงกัน (stem-loop) ทำให้เกิดโครงสร้างที่แข็งแรงของอาร์เอ็นเอไวรอยด์ และเป็นไวรอยด์ชนิดแรกที่รายงานการก่อโรคในมันฝรั่ง จัดจำแนกในวงศ์ (Family) *Pospiviroidae* สกุล (Genus) *Pospiviroid* ไวรอยด์ชนิดนี้เข้าทำลายพืชได้หลายชนิด เช่น มันฝรั่ง มะเขือเทศ พริก ไม้ผลและไม้ดอกไม้ประดับ โดยเป็นโรคที่สำคัญสำหรับ มันฝรั่ง มะเขือเทศ และพริก จากการรายงานพบว่าอาการของโรคในไม้ผลและไม้ดอกไม้ประดับแสดงอาการเพียงเล็กน้อยหรือไม่พบการแสดงอาการของโรค ซึ่งไวรอยด์สามารถถ่ายทอดโรคได้หลายทาง ได้แก่ วิธีกล เช่น การสัมผัส ติดไปกับอุปกรณ์ทางการเกษตร เมล็ดพันธุ์ หัวพันธุ์ แต่สำหรับเมล็ดพันธุ์มันฝรั่งยังไม่พบรายงานการถ่ายทอดของไวรอยด์ (EPPO, 2024)

ประเทศไทยมีการนำเข้าพืชอาศัยที่สำคัญเป็นจำนวนมาก รวมถึงหัวพันธุ์มันฝรั่งจำนวนมากในแต่ละปีมาปลูกภายในประเทศเพื่อผลิตหัวมันฝรั่งในอุตสาหกรรมแปรรูป ซึ่งพื้นที่ส่วนใหญ่พบการปลูกพืชอาศัยหลายชนิดร่วมกันในฤดูการเพาะปลูก และไวรอยด์ *Potato spindle viroid* (PSTVd) เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ.2507 (ฉบับที่ 6 พ .ศ.2550) เพื่อเป็นการสกัดกั้นไม่ให้ศัตรูพืชกักกันร้ายแรงดังกล่าวติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้า มาแพร่ระบาดสร้างความเสียหายให้กับมันฝรั่งและพืชอาศัยอื่นที่เพาะปลูกภายในประเทศ จึงได้ศึกษาวิธีการตรวจวินิจฉัยไวรอยด์ที่เหมาะสม รวดเร็ว แม่นยำสำหรับหัวพันธุ์มันฝรั่งจากประเทศที่มีการอนุญาตนำเข้าทั้ง 7 ประเทศในปัจจุบันได้แก่ เครือรัฐออสเตรเลีย แคนนาดา ราชอาณาจักรเนเธอแลนด์ ราชอาณาจักรสก็อตแลนด์ ราชอาณาจักรนิวซีแลนด์ สหรัฐอเมริกา และรัฐอิสราเอล

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. คู่มือ เอกสาร หนังสือ วารสาร
2. อุปกรณ์ในการสุ่มเก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติก มาร์กเกอร์ คัตเตอร์
3. วัสดุและอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น สารเคมีต่าง ๆ สารละลายสกัดอาร์เอ็นเอ ไปเปรต ทิปบีกเกอร์ หลอดพลาสติกขนาด 1.5 - 2 มิลลิลิตร

4. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)

5. เครื่อง Thermal cycler (PCR)

6. เครื่อง Gel electrophoresis

7. เครื่อง Gel Documentation UV-transilluminator

8. ตู้แช่แข็ง -20 หรือ -80 องศาเซลเซียส

9. โรงเรือนปลูกพืช กระถางปลูกพืช ดินปลูก ปุ๋ยเคมี

วิธีการ

1. สืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับเชื้อไวรอยด์ *potato spindle tuber viroid* ที่มีรายงานการเข้าทำลายในหัวพันธุ์มันฝรั่งของประเทศคู่ค้าที่ประเทศไทยมีการนำเข้า รวมทั้งข้อมูลเทคนิควิธีการตรวจสอบเชื้อและมาตรการการป้องกันการเข้ามาของเชื้อนี้

2. สุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจากทุกประเทศตามมาตรฐาน ISPM 31 Methodologies for sampling of consignmentsโดยทำการสุ่มตัวอย่างจากด่านตรวจพืชต่า ๆ ที่มีการนำเข้า 600 หัวต่อครั้ง

3. การตรวจสอบเบื้องต้นโดยการตรวจสอบด้วยตาเปล่า บันทึกข้อมูลต่าง ๆ และบันทึกภาพหากตรวจพบลักษณะอาการหัวผิดปกติหรือขนาดเล็กกว่าปกติ นำมาตรวจวินิจฉัยขั้นละเอียดด้วยเทคนิค PCR ต่อไป

4. การตรวจวินิจฉัยเชื้อไวรอยด์ *potato spindle tuber viroid* จากหัวพันุ์มันฝรั่งนำเข้าโดยใช้เทคนิค Conventional-PCR ตามวิธีการดังนี้

4.1 สกัดสารพันธุกรรมชนิดอาร์เอ็นเอ ตาอ่อนจากหัวพันธุ์มันฝรั่ง (sprouted potato) ด้วยสารละลาย CTAB (Gambino *et al*., 2008)

4.2 เพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมเชื้อไวรอยด์ *potato spindle tuber viroid* ด้วยเทคนิค one-step RT-PCR โดยใช้คู่ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงสำหรับไวรอยด์กลุ่ม *pospiviroid*

4.3 ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอ (PCR product) ด้วยเทคนิคเจลอิเล็กโตโฟรีซีส (gel electrophoresis) โดยใช้วุ้นอะกาโรส (Agarose Gel) 2 เปอร์เซนต์ ให้แรงดันไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 45 นาที

4.4 ตัวอย่างที่ปรากฏแถบแบนของดีเอ็นเอเป้าหมายถือว่าให้ผลบวกกับการตรวจสอบทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมอีกครั้งเพื่อส่งตัวอย่างไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

4.5 วิเคราะห์และเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของแต่ละตัวอย่าง โดยจัดการข้อมูลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป DNASTAR และเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลใน GenBank

5. ติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้า โดยทำการติดตามตรวจสอบในแปลงของบริษัทที่นำเข้าในจังหวัดตาก

6. การบันทึกข้อมูลการตรวจพบและไม่พบเชื้อไวรอยด์ *potato spindle tuber viroid* จำนวนครั้ง ปริมาณ และประเทศผู้ส่งออกหัวพันธุ์มันฝรั่ง

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2565 - กันยายน 2566

สถานที่ 1. ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

2. แปลงปลูก หัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าของบริษัทเอกชนหรือเกษตรกรใน อำเภอพบพระ จังหวัดตาก

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับเชื้อไวรอยด์ *potato spindle tuber viroid* (PSTVd) ที่มีรายงานการเข้าทำลายในหัวพันธุ์มันฝรั่งของประเทศคู่ค้าที่ประเทศไทยมีการนำเข้า ประเทศไทยมีเงื่อนไขการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจาก 7 ประเทศ ได้แก่ หัวพันธุ์นำเข้าจากเครือรัฐออสเตรเลีย (กรมวิชาการเกษตร, 2552จ) จากประเทศแคนาดา (กรมวิชาการเกษตร, 2559) ราชอาณาจักรเนเธอร์แลนด์ (กรมวิชาการเกษตร, 2552ข) ราชอาณาจักรสกอตแลนด์ (กรมวิชาการเกษตร, 2552ค) นิวซีแลนด์ (กรมวิชาการเกษตร , 2552ก) สหรัฐอเมริกา (กรมวิชาการเกษตร, 2552ง) และรัฐอิสราเอล (กรมวิชาการเกษตร, 2552ฉ)

เชื้อไวรอยด์ *Potato spindle tuber viroid* (PSTVd) (EPPO, 2024)

เชื้อไวรอยด์ Family : *Pospiviroidae* Genus : *Pospiviroid*

ชื่อวิทยาสาสตร์ (Scientific name) : *Potato spindle tuber vroid*

ชื่อวิทยาศาสตร์อื่น ๆ : PSTVd, *Potato gothic virus*, *Potato spindle tuber pospiviroid*, *Potato spindle tuber virus*, *Tomato bunchy top viroid*

ชื่อสามัญ (common name): bunchy top of tomato spindle tuber of potato

Potato spindle tuber viroid (PSTVd) เป็นเชื้อก่อโรคพืชชนิดแรกที่ถูกระบุชื่อว่าเป็นไวรอยด์ ซึ่งคุณสมบัติของเชื้อมีความแตกต่างจากแบคทีเรียและไวรัส จากการทำนายโครงสร้างของสารพันธุกรรมลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวน 359 เบส (nt) เชื่อมต่อกันคล้ายท่อนตรง เมื่อนำไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์จึงทำให้เข้าใจว่าเป็นโมเลกุลของ RNA ที่เรียกว่าไวรอยด์ ซึ่งเชื้อ PSTVd จัดอยู่ในสกุล (Genus) ไวรอยด์ *Pospiviroid* ภายใต้วงศ์ (Family) *Pospiviroidae*

พืชอาศัย

พืชอาศัยหลักได้แก่ มันฝรั่ง (*Solanum tuberosum*) และพืชสกุล Solanum ชนิดอื่น ๆ ที่สร้างหัวสะสมอาหาร และพืชในตระกูลพริกมะเขือเทศ (Solanaceae) หลายชนิดมีรายงานเป็นพืชอาศัยของเชื้อไวรอยด์ เช่น มะเขือเทศ (*Solanum lycopersicum*) พริก (*Capsicum* spp.) ไม้ผล ไม้ดอกไม้ประดับ

และวัชพืช สำหรับการติดเชื้อในไม้ดอกไม้ประดับและวัชพืชพบการแสดงอาการเพียงเล็กน้อยหรือไม่พบแสดงอาการเป็นโรค เช่นเดียวกับพืชบางชนิดในพืชสกุลพริกมะเขือเทศจากการทดสอบปลูกเชื้อก็พบอาการเพียงเล็กน้อย และพืชที่มีผลกระทบจากเชื้อไวรอยด์ PSTVd ที่สำคัญคือยังคงเป็น มันฝรั่ง และมะเขือเทศ

ชนิดพืชอาศัยที่มีรายงานพบเชื้อไวรอยด์ PSTVd ได้แก่ *Atriplex semilunaris, Brugmansia hybrids, Brugmansia sanguinea, Brugmansia suaveolens, Calibrachoa* sp., *Capsicum annuum, Cestrum aurantiacum, Cestrum elegans, Cestrum endlicheri, Cestrum nocturnum, Chenopodium eremaeum*, *Dahlia* sp., *Datura leichhardtii*, *Datura* sp., *Erigeron bonariensis*, *Hevea brasiliensis*, *Ipomoea batatas*, *Lycianthes rantonnetii*, *Lycium* sp., *Nicandra physalodes, Persea americana, Petunia sp., Physalis angulata, Physalis peruviana, Solanum anguivi, Solanum coagulans, Solanum dasyphyllum, Solanum laxum, Solanum lycopersicum, Solanum muricatum, Solanum nigrum, Solanum pseudocapsicum, Solanum sisymbriifolium, Solanum tuberosum, Streptoglossa sp., Streptosolen jamesonii*

การแพร่กระจาย

เชื้อไวรอยด์ *Potato spindle tuber viroid* (PSTVd) ถูกพบรายงานครั้งแรกที่ประเทศสหรัฐอเมริกา และต่อมามีรายงานพบในทวีปอเมริกา เอเชีย แอฟริกา ยุโรป และโอเชียเนีย (ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์) มีรายงานว่า PSTVd หลายประเทศสามารถมีมาตรการป้องกันกำจัดได้สำเร็จ อย่างไรก็ตาม เนื่องจากการติดเชื้อ PSTVd อาจไม่แสดงอาการในพืชอาศัยหลายชนิด ดังนั้นจึงมีไม่อาจสรุปได้แน่นนอนถึงสถานะการแพร่กระจายที่ปรากฏในข้อมูลปัจจุบัน

ยุโรป : ออสเตรีย อาเซอร์ไบจาน เบลารุส เบลเยียม โครเอเชีย สาธารณรัฐเช็ก จอร์เจีย เยอรมนี กรีซ (แผ่นดินใหญ่ ครีต) ฮังการี อิสราเอล อิตาลี (แผ่นดินใหญ่) คาซัคสถาน มอลตา มอนเตเนโกร เนเธอร์แลนด์ รัสเซีย (รัสเซียกลาง ตะวันออก ไซบีเรีย ตะวันออกไกล รัสเซียตอนเหนือ รัสเซียตอนใต้ สโลวีเนีย สเปน (แผ่นดินใหญ่) สวิตเซอร์แลนด์ ตุรกี ยูเครน สหราชอาณาจักร (อังกฤษ)

แอฟริกา : อียิปต์ กานา เคนยา ไนจีเรีย ยูกันดา

เอเชีย : อัฟกานิสถาน บังคลาเทศ จีน (กวางสี) , เหอเป่ย, เฮยหลงเจียง, เจียงซู, จี๋หลิน, เหลียวหนิง, เน่ยเมงกู, ชิงไห่, ส่านซี, ซานตง), อินเดีย (หิมาจัลประเทศ, กรณาฏกะ, มหาราษฏระ), อิหร่าน, อิสราเอล, ญี่ปุ่น (ฮอนชู), คาซัคสถาน, ปากีสถาน, เวียดนาม

อเมริกาเหนือ : เม็กซิโก

อเมริกากลางและแคริบเบียน : คอสตาริกา สาธารณรัฐโดมินิกัน

อเมริกาใต้ : เปรู เวเนซุเอลา

โอเชียเนีย : ออสเตรเลีย (ควีนส์แลนด์ ออสเตรเลียใต้ วิกตอเรีย ออสเตรเลียตะวันตก)

ลักษณะทางชีววิทยาเชื้อสาเหตุ

เชื้อไวรอยด์ PSTVd ที่เข้าทำลายต้นมะเขือเทศสามารถถ่ายทอดได้ผ่านทางท่ออาหารพืชโฟลเอ็ม (phloem) จากการทดสอบการปลูกเชื้อที่ใบพืชสามารถถ่ายทอดเชื้อได้ไปทั่วทั้งต้นของพืช เช่นส่วนของใบใหม่หรือส่วนของผล และมีแนวโน้มกลไกในการถ่ายทอดของเชื้อคล้ายกับไวรัสพืช สำหรับต้นมันฝรั่งสามารถตรวจพบไวรอยด์ได้ทั่วทั้งต้น รวมทั้งส่วนหัวด้วย และพบว่าตำแหน่งของใบที่ต่างกัน มีความเข้มข้นของเชื้อที่ต่างกันเพียงเล็กน้อยเท่านั้น เช่นเดียวกันกับส่วนต่าง ๆ ของส่วนหัวมันฝรั่ง แต่สำหรับพริกยังไม่มีรายละเอียดเพิ่มเติมมากพอจากการตรวจสอบสามารถพบเชื้อ PSTVd ทั้งในส่วนใบและผลของพริก ซึ่งการติดเชื้อในระยะเริ่มแรกมักพบความเข้มข้นสูงสุดของเชื้อที่ส่วนใบยอด และระยะฟักตัวของเชื้อยังเป็นเรื่องยากในการศึกษาเนื่องจากขึ้นอยู่กับชนิดของไวรอยด์ ปริมาณของเชื้อ ชนิดพันธุ์และพันธุ์พืชอาศัย ตลอดจนสภาพแวดล้อม โดยเฉพาะอุณหภูมิ โดยเชื้อ PSTVd สามารถถ่ายทอดได้โดยการสัมผัส แมลง ละอองเกสร (pollen) และเมล็ดพืช (seed)

การถ่ายทอดของเชื้อ

วิธีการถ่ายทอดของ PSTVd ที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดคือผ่านการขยายพันธุ์พืช เมื่อมีการติดเชื้อในต้นพ่อแม่พันธุ์ ไวรอยด์จะสามารถถ่ายทอดไปยังรุ่นลูกทั้งหมดที่ได้รับจากพืชที่ติดเชื้อ รวมทั้งส่วนหัวใต้ดิน กิ่งชำ กิ่งตอน ต้นกล้า วิธีการขยายพันธุ์พืชเป็นสาเหตุสำคัญของการแพร่กระจายของ PSTVd ในมันฝรั่งและไม้ประดับที่นำไปขยายพันธุ์ต่อ

การถ่ายทอดด้วยวิธีกล (Mechanical transmission)

ต้นพืชที่ติดเชื้อ PSTVd จะเป็นแหล่งแพร่กระจายของเชื้อผ่านการสัมผัสระหว่างพืชที่เป็นโรคกับพืชไม่เป็นโรคในระหว่างการเพาะปลูก การถ่ายทอดด้วยวิธีกลนั้นอาจเกิดขึ้นได้ในระหว่างการจัดการแปลงปลูกโดยเชื้อติดไปกับเครื่องมือการเกษตรและเครื่องจักร และพบว่าประสิทธิภาพในการถ่ายทอดของเชื้อจะเพิ่มมากขึ้นในสภาพอุณหภูมิสูงกว่า 20 องศาเซลเซียส ดังนั้นลักษณะการถ่ายทอดของเชื้อ PSTVd ไม่เหมาะสมสำหรับพื้นที่เพาะปลูกมันฝรั่งในประเทศเขตอบอุ่น แต่ก็ยังพบการรายงานการระบาดในพื้นที่เพาะปลูกมันฝรั่ง เช่น แคนาดา จีน ยูเครน และสหรัฐอเมริกา ในการปลูกมะเขือเทศในสภาพโรงเรือนซึ่งมีอุณหภูมิภายในค่อนข้างสูง พบว่าการติดเชื้อ PSTVd แพร่กระจายอย่างรวดเร็วภายในพืชแถวที่ใกล้ชิดกัน และพบว่าสายพันธุ์มะเขือเทศที่มีขนใบเยอะจะช่วยส่งเสริมให้เกิดการถ่ายทอดของเชื้อด้วยวิธีกลง่ายยิ่งขึ้นเช่นกัน

การถ่ายทอดเชื้อด้วยละอองเกสรตัวผู้ และเมล็ดพันธุ์ (pollen and seeds)

จากการศึกษาพบว่าเชื้อสามารถถ่ายทอดผ่านทางละอองเกสรตัวผู้ (pollen) และ เมล็ดพันธุ์ของมันฝรั่งได้ ทั้งยังมีรายงานพบว่า PSTVd ถูกตรวจพบในเมล็ดพันธุ์พริก และมะเขือเทศ ซึ่งมีการรายงานอัตราการถ่ายทอดสู่เมล็ดพันธุ์ตั้งแต่ 0 ถึง 100 เปอร์เซนต์ จากพันธุ์พืชและสถานที่ที่แตกต่างกัน โดย

ข้อมูลการศึกษาได้จากการทอสอบระดับห้องปฏิบัติการ อย่างไรก็ตาม เนื่องจาก PSTVd สามารถถ่ายทอดได้ง่ายผ่านการสัมผัสและการปลิวของละอองเกษรจากต้นที่เป็นโรค แต่ก็เป็นที่ถกเถียงกันว่าอาจเกิดจากการปนเปื้อนระหว่างต้นในการเพาะปลูก การเก็บตัวอย่าง การปนเปื้อนระหว่างทดสอบ ดังนั้นข้อมูลการถ่ายทอดของเชื้อผ่านละอองเกสรตัวผู้จึงเป็นที่ถกเถียงกันในการระบาดของเชื้อ PSTVd

การถ่ายทอดเชื้อด้วยแมลง (insects)

บทบาทของแมลงในการถ่ายทอดเชื้อ PSTVd ในมันฝรั่งยังไม่พบข้อมูลที่ชัดเจน เดิมพบการรายงานว่าเพลี้ยอ่อนเป็นแมลงพาหะสามารถถ่ายทอดเชื้อได้ แต่ก็มีการศึกษาที่ให้ผลตรงกันข้ามกับการศึกษาก่อนหน้านี้อย่างไรก็ตาม มีรายงานการถ่ายทอดเชื้อ PSTVd โดยเพลี้ยอ่อนจากต้นมันฝรั่งที่ติดเชื้อไวรัส potato leaf roll virus ได้ สำหรับในมะเขือเทศมีรายงานการการถ่ายทอดเชื้อ *Pospiviroids* โดยเพลี้ยอ่อน แต่ก็ยังไม่สามารถยืนยันได้สำหรับ PSTVd การผสมเกสรโดยผึ้งบัมเบิลบีมีความเกี่ยวข้องกับการถ่ายทอดเชื้อไวรอยด์ในมะเขือเทศที่ปลูกในสภาพโรงเรือนจากต้นที่เป็นโรคได้ แต่ไม่พบในเชื้อ PSTVd เนื่องจากปฏิสัมพันธ์ที่ไม่เฉพาะเจาะจงระหว่างผึ้งบัมเบิลบีกับไวรอยด์ จึงไม่สามารถถ่ายทอดโดยแมลงผสมเกสรได้

ลักษณะอาการ

ชนิดและความรุนแรงอาการที่เกิดจากเชื้อ PSTVd ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ไวรอยด์ ชนิดและพันธุ์พืชอาศัย รวมถึงสภาพแวดล้อม การติดเชื้อ PSTVd อาจไม่แสดงอาการหรือแสดงอาการเพียงเล็กน้อยถึงรุนแรง เชื้อจะเพิ่มปริมาณสะสมเพิ่มขึ้นที่อุณหภูมิสูงขึ้น ซึ่งอาจส่งผลให้เกิดอาการรุนแรงมากขึ้น สำหรับพืชอาศัยหลัก เช่น มันฝรั่ง มะเขือเทศ และพริก มีการอธิบายอาการโดย Owens and Verhoeven (2009) คำอธิบายโดยย่อของอาการที่โดดเด่นที่สุดดังต่อไปนี้ สำหรับการติดเชื้อ PSTVd ในพืชอาศัยอื่นในวงศ์ Solanaceae เช่น *Solanum melongena* (มะเขือยาว) และ *Solanum muricatum* (pepino) และไม้ดอกไม้ประดับส่วนใหญ่ โดยทั่วไปยังคงไม่แสดงอาการ

ลักษณะอาการโรคในมันฝรั่ง

พืชที่ติดเชื้ออาจต้นแคระแกรน ใบอาจเล็กกว่า ตั้งตรงมากขึ้น มีสีเขียวเข้มกว่าปกติ และมีลักษณะขรุขระเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับพืชปกติ ส่วนหัวที่ติดเชื้ออาจมีขนาดเล็ก ยาวบิวเกลียว มีรูปทรงผิดรูปและแตกร้าว ส่วนตาใบของพืชอาจเด่นชัดมากขึ้นและมีส่วนที่ยื่นออกมาคล้ายปุ่มอาจพัฒนาเป็นหัวขนาดเล็ก

ลักษณะอาการโรคในมะเขือเทศ

ในระยะแรกของการติดเชื้อ พืชที่ติดเชื้อจะมีการเจริญเติบโตลดลงและมีคลอรีนบริเวณส่วนบนของพืช การเจริญเติบโตลดลงอาจรุนแรงมากขึ้น และใบที่มีสีซีดเปลี่ยนสีอาจเปลี่ยนเป็นสีแดงและ/หรือสีม่วงและเปราะบาง ในระยะนี้การออกดอกและติดผลจะชะงัก พืชอาจตายหรือฟื้นตัวได้บางส่วน

ลักษณะอาการโรคในพริก

โดยทั่วไปพืชที่ติดเชื้อจะไม่แสดงอาการหรือมีอาการเพียงเล็กน้อย เช่น ขอบใบปลายบิดเบี้ยว ในสถาพห้องทดลอง ออกดอกล่าช้าและส่วนของผลมีสีไม่สม่ำเสมอและมีรูปร่างผิดปกติ

ลักษณะลักษณะสัณฐานวิทยา

PSTVd ประกอบด้วยโมเลกุล RNA สายเดี่ยวที่เป็นวงกลมปิดด้วยโควาเลนต์ซึ่งมีนิวคลีโอไทด์ ประมาณ 359 นิวคลีโอไทด์ (nt) เปล่าสร้างโครงสร้างคล้ายแท่งโดยการจับคู่ฐานภายใน

การตรวจวินิจฉัย

การติดเชื้อ PSTVd อาจตรวจพบได้ด้วยการตรวจในสภาพแปลงปลูกและสภาพปลูกในโรงเรือน เรือน ขึ้นอยู่กับปัจจัยสภาพแวดล้อม เช่น ชนิดของไวรอยด์ ชนิดพืชอาศัยและพันธุ์พืช และสภาพแวดล้อม ขั้นตอนการตรวจวินิจฉัยสำหรับมันฝรั่ง มะเขือเทศ และพริก ตามมาตรฐานขององค์กร EPPO PM 3/71 (EPPO, 2007) และ PM 3/77 (EPPO, 2015) ตามลำดับ ระหว่างการเก็บเกี่ยวผลผลิตมันฝรั่งจะมีการตรวจสอบหัวมันฝรั่งที่มีหัวลักษณะอาการขนาดหัวรูปร่างผิดปกติลักษณะบิดเกลียว สำหรับการตรวจสอบด้วยเทคนิคในห้องปฏิบัติการสำหรับพืชที่ไม่แสดงอาการหรือมีอาการเพียงเล็กน้อยเพื่อตรวจหาไวรอยด์และการตรวจหาไวรอยด์ชนิดอื่นมนกลุ่ม pospiviroid ซึ่งทำให้เกิดอาการคล้ายกัน (Verhoeven et al., 2004) วิธีการทดสอบที่ต้องการสำหรับการตรวจหา PSTVd คือวิธีทางชีวโมเลกุล เช่น RT-PCR และ real time RT-PCR อย่างไรก็ตาม เทคนิค PCR ยังไม่มีไพรเมอร์ที่จำเพาะเจาะจงสำหรับระบุชนิดของ PSTVd เพียงชนิดเดียว ออกจากไวรอยด์ชนิดอื่นที่อยู่ในกลุ่มเดียวกันได้ โดยเฉพาะไวรอยด์ tomato chlorotic dwarf viroid และบางไอโซเลทของไวรอยด์ tomato planta macho viroid ดังนั้นการระบุชนิดของไวรอยด์จำเป็นต้องนำผลิตภัณฑ์ PCR ไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ และควรเป็นลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งจีโนม รายละเอียดเพิ่มเติมและการทดสอบอื่น ๆ สำหรับการตรวจหาและระบุชนิดไวรอยด์ PSTVd สามารถปฏิบัติตามมาตรฐานการวินิจฉัยของ EPPO และ IPPC

การแพร่ระบาดของเชื้อ

PSTVd สามารถแพร่ระบาดไปกับส่วนขยายพันธุ์และถ่ายทอดเชื้อระหว่างต้นโดยการสัมผัส แมลง ละอองเกสร และเมล็ดพันธุ์พืช ส่วนขยายพันธุ์ที่ติดเชื้อ เช่น หัวจากกาบใบ (bull) หัวสะสมอาหาร (tuber) กิ่งตอน ต้นหน่ออ่อน และเมล็ดพืช ซึ่งส่วนขยายพันธุ์เหล่านี้ที่ติดเชื้อสามารถแพร่กระจายไวรอยด์ไปแหล่งต่าง ๆ ทั่วโลกได้

การแพร่ระบาดของไวรอยด์ได้อย่างกว้างขวางโดยส่วนขยายพันธุ์ของพืชและอุปกรณ์ทางการเกษตรที่มีการติดเชื้อ สำหรับการถ่ายทอดไวรอยด์ผ่านทางเมล็ดพันธุ์ของมันฝรั่ง ยังคงไม่มีข้อสนับสนุนมากเพียงพอที่จะสรุปได้ว่าสามารถถ่ายทอดผ่านทางเมล็ด แม้ว่าปัจจุบันจะมีการซื้อขายเมล็ดพันธุ์มันฝรั่งเพื่อปลูกเพิ่มมากขึ้นก็ตาม แต่อย่างไรจำเป็นต้องมีการศึกษาข้อมูลเชิงลึกเพิ่มเติมเกี่ยวกับกลไกการเคลื่อน

ย้านของไวรอยด์ PSTVd ในเมล็ดพันุ์มันฝรั่ง แต่สำหรับมะเขือเทศและพริก มีรายงานการตรวจพบไวรอยด์ PSTVd ในเมล็ดพันธุ์นำเข้าเป็นจำนวนมาก อย่างไรก็ตาม มีรายงานการแพร่ของไวรอยด์ชนิดนี้ในจำนวนจำกัดเท่านั้น การปลูกเพื่อผลิตเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและพริกไทยที่เพื่อจำหน่ายเชิงการค้ามีการตรวจพบเชื้อ PSTVd หรือไวรอยด์กลุ่ม *pospiviroid* แต่ไม่ส่งผลกระทบในต้นกล้าราว 100,000 ต้น และการศึกษาไวรอยด์ PSTVd พบว่าต้นกล้ามะเขือเทศ 1 ใน 370 ต้นจากล็อตเมล็ดมะเขือเทศที่ปนเปื้อนสำหรับไวรอยด์ tomato chlorotic dwarf viroid และรายงานว่าต้นกล้ามะเขือเทศ 2 - 20 ต้นจาก 2,500 ต้นที่พบเชื้อ ข้อเท็จจริงที่ว่าในปี 2016 มีการตรวจพบอาการจากไวรอยด์ในต้นมะเขือเทศที่มาจากเมล็ดที่มีการปนปเปื้อนของเชื้อไวรอยด์ ในปี 1992 อย่างน้อย 10 ปีก่อนที่จะมีการบังคับการตรวจสอบไวรอยด์ เป็นไปได้ว่า *Pospiviriod* ที่ปนปเปื้อนในเมล็ดพันธุ์ เดิมไม่ค่อยมีการบันทึกถึงความเสียหายและการระบาด จึงสรุปว่าการแพร่ระบาดของเชื้อในมะเขือเทศมาจากการปนปื้อนไวรอยด์ในเมล็ดพันธุ์ สำหรับพริกยังไม่มีหรือพบการระบาดมากนัก ดังนั้นการแพร่ระบาดของ PSTVd จึงอาจถูกประเมินสูงเกินไปในอดีต สำหรับการแพร่กระจายของ PSTVd ในพื้นที่ปลูกนั้น ๆ และการถ่ายทอดด้วยวิธีกลจึงเป็นวิธีการถ่ายทอดที่ดีที่สุด รวมถึงกิจกรรมของมนุษย์ เช่น ถ่ายทอดผ่านอุปกรณ์และเครื่องจักรที่ใช้ในระหว่างการเพาะปลูก ตัวอย่างเช่น การระบาดหลายครั้งในมะเขือเทศอาจเกี่ยวข้องกับการติดเชื้อในไม้ประดับไม้ประดับ จากข้อมูลการวิเคราะห์สายวิวัฒนาการของไวรอยด์ที่แยกได้ในพืชเหล่านี้

ผลกระทบทางเศรษฐกิจ

ผลกระทบทางเศรษฐกิจจากไวรอยด์ PSTVd ทั้งผลกระทบทางตรงและทางอ้อม ผลกระทบโดยตรง ได้แก่ การสูญเสียผลผลิตและคุณภาพ ในขณะที่ผลกระทบทางอ้อมเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของราคาและผลกระทบต่อการค้าระหว่างประเทศ ได้ทำการประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจทั้งหมดโดยอาศัยการสร้างแบบจำลอง โดยคำนึงถึงความชุก การสูญเสียผลผลิต ข้อมูลภูมิอากาศ (อุณหภูมิ) รวมถึงราคาและการเปลี่ยนแปลงทางการค้า การประเมินผลกระทบนี้แสดงให้เห็นความแตกต่างอย่างมากขึ้นอยู่กับอุบัติการณ์โดยประมาณของไวรอยด์ และยากต่อการหาปริมาณ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเนื่องจากความไม่แน่นอนเกี่ยวกับความเป็นไปได้ของการแพร่กระจายและการแพร่กระจายต่อไปในพืชและภูมิภาค อย่างไรก็ตาม สรุปได้ว่าผลกระทบโดยตรงรวมกับการสูญเสียการส่งออกมันฝรั่งและมะเขือเทศ ทำให้เกิดต้นทุนของมาตรการสุขอนามัยพืชในปัจจุบันในสหภาพยุโรป ในช่วงศตวรรษที่ผ่านมา มีรายงานการสูญเสียผลผลิตอย่างมีนัยสำคัญเนื่องจากการติดเชื้อ PSTVd ในมันฝรั่ง ปัจจุบันซึ่งรวมถึงมาตรการสุขอนามัยพืชที่ครอบคลุม ในทำนองเดียวกัน PSTVd อาจทำให้เกิดการติดเชื้อร้ายแรงในมะเขือเทศเป็นครั้งคราว สำหรับไม้ผลมีผลกระทบต่ำมีการรายงานตรวจพบน้อย แต่สำหรับพริกไม่มีรายงานอาการหรือมีอาการเพียงเล็กน้อยเท่านั้น จากการทดลองพบว่าขนาดผลพริกจะลดลงและยังไม่มีข้อมูลเพิ่มเติมเกี่ยวกับการระบาด

และผลกระทบในพริก สำหรับไม้ผลอื่น ๆ ที่ไม่แสดงอาการ คาดว่าจะไม่ได้รับผลกระทบโดยตรง แต่การส่งออกพืชเหล่านี้และไม้ผลอื่น ๆ อาจได้รับผลกระทบ

การป้องกันและควบคุม

เนื่องจากยังไม่มีวิธีการทางเคมีหรือชีวภาพในการควบคุม PSTVd ภายในต้นพืชที่ติดเชื้อ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการป้องกันเพื่อหลีกเลี่ยงการติดเชื้อ PSTVd มาตรการกำจัดเป็นสิ่งจำเป็นในกรณีที่มีการระบาด

ควรมีขั้นตอนสุขอนามัยตลอดกระบวนการผลิตเพื่อป้องกันการติดเชื้อจากการปนเปื้อน มาตรการอาจเกี่ยวข้องกับการแยกพื้นที่ของพืช (โฮสต์) รวมถึงการใช้เครื่องมือที่สะอาด (ฆ่าเชื้อ) และชุดป้องกันโดยเจ้าหน้าที่ในระหว่างการจัดการการปลูกภายในแปลงปลูกพืช

2. สุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจากทุกประเทศตามมาตรฐาน ISPM 31 (Methodologies for sampling of consignments) โดยทำการสุ่มตัวอย่างจากด่านตรวจพืชต่างๆ ที่มีการนำเข้า 600 หัวต่อครั้ง หัวพันธุ์มันฝรั่งที่มีการนำเข้าตั้งแต่ ปี 2565 ถึง 2566 มีการนำเข้าจาก 6 ประเทศ ได้แก่ 1) เครือรัฐออสเตรเลีย นำเข้าจำนวน 33 ครั้ง น้ำหนักรวม 239,932,000 กิโลกรัม 2) แคนาดา นำเข้าจำนวน 8 ครั้ง น้ำหนักรวม 1,836,000 กิโลกรัม 3) เนเธอร์แลนด์ นำเข้าจำนวน 4 ครั้ง น้ำหนักรวม 200,000 กิโลกรัม 4) ราชอาณาจักรสกอตแลนด์ นำเข้าจำนวน 40 ครั้ง น้ำหนักรวม 791,159,000 กิโลกรัม กิโลกรัม 5) ราชอาณาจักรนิวซีแลนด์ 3 ครั้ง น้ำหนักรวม 175,000 กิโลกรัม 6) สหรัฐอเมริกา นำเข้าจำนวน 3 ครั้ง น้ำหนักรวม 390 กิโลกรัม โดยทำการสุ่มหัวพันธุ์มันฝรั่งจำนวน 600 หัวต่อตัวอย่าง สำหรับการตรวจสอบอาการของโรคที่เกิดจากไวรอยด์ในหัวพันธุ์มันฝรั่ง การตรวจสอบเบื้องต้นโดยการตรวจสอบด้วยตาเปล่า บันทึกข้อมูลต่าง ๆ และบันทึกภาพ หากตรวจพบลักษณะอาการคล้ายโรคที่เกิดจากไวรอยด์ในมันฝรั่งให้นำไปบ่มหัวพันธุ์เพื่อให้เกิดตาอ่อน (sprouted potato) ประมาณ 7-14 วัน และนำไปสกัดอาร์เอ็นเอเพื่อตรวจหาเชื้อสาเหตุต่อไป

3. จากการติดตามและตรวจสอบโรคภายหลังการนำเข้าในแหล่งปลูก อำเภอพบพระ จังหวัดตาก ยังไม่พบลักษณะอาการที่เกิดจากไวรอยด์ในพื้นที่ปลูก

4. การตรวจวินิจฉัยเชื้อไวรอยด์ Potato spindle tuber viroid (PSTVd) ด้วยเทคนิค RT-PCR ตามวิธีการดังนี้

4.1 การสกัดอาร์เอ็นเอจากตาอ่อนบนหัวมันฝรั่ง (sprouted potato) ด้วยสารละลายสกัด CTAB ตามวิธี Gambino และคณะ (2008) การสกัดดีเอ็นเอจากหัวพันธุ์มันฝรั่งบริเวณเนื้อเยื่อ vascular ring (Figure 1) ด้วยวิธี cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) โดยนำส่วนตาอ่อนบดให้ละเอียดและเติมสารละลาย CTAB 1 มิลลิลิตร (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) บดให้ละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน และดูดสารละลายลงในหลอดทดลองขนาด 1.5

มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 นาที แล้วจึงทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง นำไปปั่นเหวี่ยงตกตะตอนที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที่ นาน 10 นาที ดูดส่วนใสใส่ในหลอดใหม่ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และเติมสารละลาย Chloroform: isoamyl (24:1) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมสารละลายให้เข้ากันด้วยการพลิกกลับหลอดไปมา และนำไปปั่นเหวี่ยงตกตะกอนที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ดูดส่วนใสด้านบนใส่ในหลอดใหม่ แล้วเติมด้วยสาระลลาย isopropanal ที่แช่เย็นปริมาตร 1 เท่าของสารละลายส่วนใสและกลับหลอดไปมาให้สารละลายเข้ากันจะสังเกตเห็นการตกตะกอนของโมเลกุลดีเอ็นเอถ้าความเข้มข้นของโมเลกุลดีเอ็นเอสูง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงตกตะกอนดีเอ็นเอที่ความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที เทส่วนสารละลายใสทิ้งแล้วล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วยเอทานอลเย็นจัดเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ สองครั้ง และนำตะกอนดีเอ็นเอไปตากไว้ที่อุณภูมิห้องจนสารละลายเอลกอฮอร์ระเหยจนแห้งสนิท จึงนำตะกอนดีเอ็นเอมาละลายด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 20 – 50 ไมโครลิตร เมื่อตะกอนดีเอ็นเอละลายดีแล้วจึงนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ไม่เกิน 30 วัน ที่ -80 องศสเซลเซียส สามารถเก็บได้นานหลายปี เพื่อนำไปตรวจหาเชื้อไวรอยด์ *Potato spindle tuber* viroid ด้วยเทคนิค PCR ต่อไป

4.2 การเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของเชื้อไวรอยด์ Potato spindle tuber viroid ด้วยเทคนิค RT-PCR (reverse-transcription polymerase chain reaction)โดยใช้คู่ไพรเมอร์ cPC2: 5’ TGTTTCWRCDGGGATTACTCCTG 3’ Hpc2: 5’ GGGTTTTCACCCTTCCTTTC 3’ (Tangkanchanapas et al., 2005) ซึ่งเป็น universal primer ที่จำเพาะกับเชื้อไวรอยด์ในกลุ่มนี้

4.2 1.เตรียมส่วนผสมของปฏิกิริยา ที่ปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 25 ไมโครลิตร)µl) ดังนี้

น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ	7.5	µl
2X Reaction Mix	12.5	µl
10 µM cPC2	1.0	µl
10 µM Hpc2	1.0	µl
SuperScript™ III RT/Platinum™ Taq Mix	1.0	µl
Total RNA	2.0	µl

4.2.2 นำตัวอย่างทั้งหมดเข้าเครื่อง thermal cycler (PCR) โดยตั้งโปรแกรมการทำงาน ดังนี้

48 °C	นาน	45	นาที	1 รอบ
94 °C	นาน	3	นาที	
94 °C	นาน	30	วินาที	35 รอบ
56 °C	นาน	45	วินาที	
68 °C	นาน	1	นาที	

68 ºC	นาน	10	นาที	1 รอบ
20 ºC	นาน	10	นาที	1 รอบ

4.2 3.ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอ (PCR product) ด้วยเทคนิค gel electrophoresis เตรียมสารละลายเจล 2 เปอร์เซนต์อะกาโรสเจล (gel agarose) ในสารละลาย 0.5x TBE buffer หลอมละลายให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นเติมสารย้อมสีดีเอ็นเอ (RedSafe™ Nucleic Acid Staining Solution) และเทเจลลงในถาดเจลตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 40 นาทีเพื่อให้เจลแข็งตัว จากนั้น ดูดสารละลาย PCR product ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ผสมกับ 6X loading dye ปริมาตร 2 ไมโครลิตร ใส่ลงไปในแต่ละหลุม (well) และใส่ดีเอ็นมาตรฐาน ปริมาตร 3 ไมโครลิตร หลังจากนั้นให้กระแสไฟฟ้าที่ 100 โวลต์ เป็นเวลา 40-50 นาที เมื่อครบเวลานำแผ่นเจลไปตรวจดูแถบแบนดีเอ็นเอภายใต้แสง UV ด้วยเครื่อง Gel document พร้อมทั้งบันทึกภาพ

4.2.4 หากตรวจพบตัวอย่างที่ปรากฏแถบแบนของดีเอ็นเอเป้าหมายถือว่าให้ผลบวกกับการตรวจสอบ จึงทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมอีกครั้งเพื่อส่งตัวอย่างไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และนำผลของลำดับนิวคลีโอไทด์ไปเปรียบเทียบกับข้อมูลในฐานข้อมูลของ GenBank

5. ติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้า โดยทำการติดตามตรวจสอบในแปลงของบริษัทที่นำเข้าในอำเภอพบพระ จังหวัดตาก ผลการติดตามในแปลงปลูกยังไม่พบลักษณะอาการของโรคที่เกิดจากไวรอยด์

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการศึกษาวิธีการสกัดอาร์เอ็นเอที่เหมาะสมและเพื่อประหยัดค่าใช้จ่ายสำหรับการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างนำเข้าที่มีปริมาณมาก จึงนำวิธีการสกัดอาร์เอ็นเอด้วยสารละลาย CTAB ซึ่งทำตามกรรมวิธีของ Gambino และคณะ20) 08(ซึ่งสามารถบดสกัดกับสารละลายได้ในปริมาณที่มาก ทำให้เพิ่มอัตราการตรวจพบสารพันธุกรรมของเชื้อสาเหตุมากยิ่งขึ้นทั้งยังเป็นวิธีสกัดที่ได้ความเข้มข้นของอาร์เอ็นที่ที่สูงและมีความสะอาดมากเพียงพอต่อการทำปฏิกิริยา RT-PCR หากแต่ก่อนการนำสารละลายอาร์เอ็นเอจากการสกัดได้ไปใช้ในปฏิกิริยา PCR ควรมีการเจือจางในระดับ 1:10 เป็นอย่างน้อย และควรตรวจสอบคุณภาพและปริมาณอาร์เอ็นเอด้วยเครื่อง spectrophotometer (Nano drop) หรือนำสารละลายอาร์เอ็นเอที่ได้จากการสกัดนำมาทำปฏิกิริยา RT-PCR ด้วยไพรเมอร์ที่จำเพาะเจาะจงกับอาร์เอ็นเอพืชคือ Nad5-F: 5’-GATGCTTCTTGG GGCTTCTTGTT-3’ Nad5-R: 5’-CTCCAGTCACCAACATTGGCATAA-3’ (Menzel *et al*., 2002) จากการตรวจสอบไวรอยด์ PSTVd เนื่องจากเป็นศัตรูพืชกักกันที่ยังไม่ปรากฏในประเทศไทยจึงใช้การสังเคราะห์จำลองลำดับนิวคลีโอไทด์ชนิดอาร์เอ็นเอจากต้นแบบลำดับนิวคลีโอไทด์ของไวรอยด์ *potato spindle tuber viroid* จากฐานข้อมูล NCBI หมายเลข No. U23058.1 *Potato spindle tuber viroid* (PSTVd) strain RG 1, complete genome 359 bp การตรวจวินิจฉัยไวรอยด์

Potato spindle tuber viroid (PSTVd) จากการสกัดอาร์เอ็นเอส่วนตาอ่อน (sprouted potato) }ด้วยเทคนิค one-step RT-PCR ยังไม่พบสารพันธุกรรมของไวรอยด์ในหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจากประเทศต่าง ๆ

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชลาดกระบังและด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ที่อำนวยความสะดวกในการสุ่มตรวจตัวอย่างในเบื้องต้นและนำส่งตัวอย่างมายังห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักพืชและอนุเคราะห์ให้ข้อมูลการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งเสมอมา และขอขอบคุณผู้ร่วมงานวิจัยทุกท่านที่อนุเคราะห์อุปกรณ์ สถานที่และให้คำปรึกษาข้อมูลด้านศัตรูพืชและวิธีการตรวจสอบได้จนสำเร็จครบตามวัตถุประสงค์ของโครงการ

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.

EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization). 2024. *Potato spindle tuber viroid (PSTVd)* [ออนไลน์]. https://gd.eppo.int/taxon/PSTVD0 : (1 มีนาคม 2567)

EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization). 2020. Diagnostic, PM 7/138 (1) Pospiviroids (genus Pospiviroid). *OEPP/EPPO Bulletin* (2021) 51 (1), 144–17.

Gambino G, Perrone I and Gribaudo I. 2008. A Rapid and effectivemethod for RNA extraction from different tissues of grapevine andother woody plants. *Phytochemical AnalysisPhytochemical Analysis.* 19(6), 520–525. https://doi.org/10.1002/pca.1078.

Hammond, R. W. and Owens, R. A. 2006. *Viroids: New and Continuing Risks for Horticultural and Agricultural Crops.* Oniine. APSnet Features. doi: 10.1094/APSnetFeature-2006-1106.

Tangkanchanapas P, Reanwarakorn K, Chanprame S, Hongprayoon R, 2005. An RT-PCR primer pair for the detection of six pospiviroid in tomato plants. *Thai Phytopathology 19*, 13-21.

Table 1 Quantity and value of seed potato imports from Thailand during 2022 – 2023

importing country	Year 2022		Year 2023	
	Quantity (Ton)	Value (Million Bath)	Quantity (Ton)	Value (Million Bath)
Australia	1,650.00	54.92	749.32	24.69
Canada	729.00	18.51	1,107.00	32.18
Netherlands	125.00	3.83	75.00	2.50
Scotland	5,011.75	165.42	2,899.84	90.38
New Zealand	25.00	0.96	150.00	5.80
United States of America	0.37	0.34	0.02	0.13
Total	**7,541.12**	**243.98**	**4,981.18**	**155.68**

Table 2 Pest status of Potato spindle tuber viroid (PSTVd) (EPPO, 2024)

Countries that allow the import of seed potato	Status of *potato spindle tuber viroid* (PSTVd)	Reported
Australia	Present	New South Wales : Absent, pest eradicated Northern Territory : Absent, pest eradicated Queensland : Present, few occurrences South Australia : Present, few occurrences Victoria : Present, few occurrences Western Australia : Present, restricted distribution
Canada	Absent	
Netherlands	Present	Present, few occurrences
Scotland	Absent	Absent, intercepted only
New Zealand	Absent	Absent, pest no longer present
United States of America	Absent	Alaska : Absent, pest eradicated California : Absent, pest eradicated Colorado : Absent, pest eradicated Idaho : Absent, pest eradicated Kansas : Absent, invalid record Maine : Absent, pest eradicated Maryland : Absent, invalid record Michigan : Absent, pest eradicated Minnesota : Absent, pest eradicated Mississippi : Absent, pest eradicated Montana : Absent, pest eradicated Nebraska : Absent, pest eradicated
		New Hampshire : Absent, pest eradicated New York : Absent, pest eradicated North Carolina : Absent, pest eradicated
Israel	Present	Present, no details

Table 3 Detected of *Potato spindle tuber viroid* (PSTVd) of imported seed potato during 2022 to 2023

Country	Quantity of sample	Quantity (Ton)	PSTVd	Other Pest	Pest of status in Thailand	Frequency
Australia	33	2,399.32	Not	Not	Present	0
Canada	8	1,836.00	Not	Not	Absent	0
Netherlands	4	200.00	Not	Not	Present	0
Scotland	40	7,911.59	Not	Not	Absent	0
New Zealand	3	175.00	Not	Not	Absent	0
United States of America	3	0.39	Not	Not	Absent	0
Total	**91**	**12,522.30**				

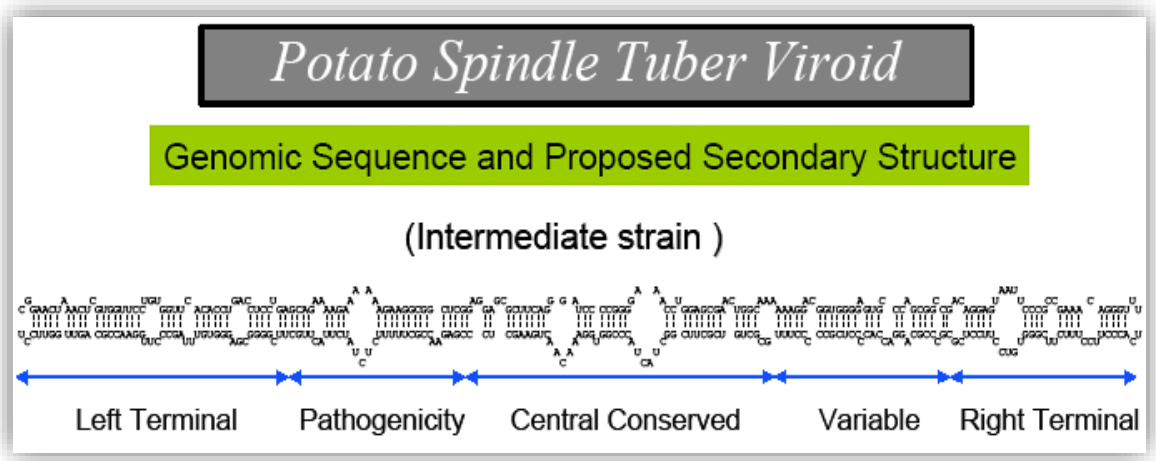


Figure 1 Secondary structure ssRNA of *Potato spindle tuber viroid* (PSTVd) Hammond, R. W. and Owens, R. A (2006)

Figure 2 Symptoms disease of *Potato spindle tuber viroid* in tuber potato (EPPO, 2024)

Figure 3 Symptoms disease of *Potato spindle tuber viroid* in potato (EPPO, 2024)

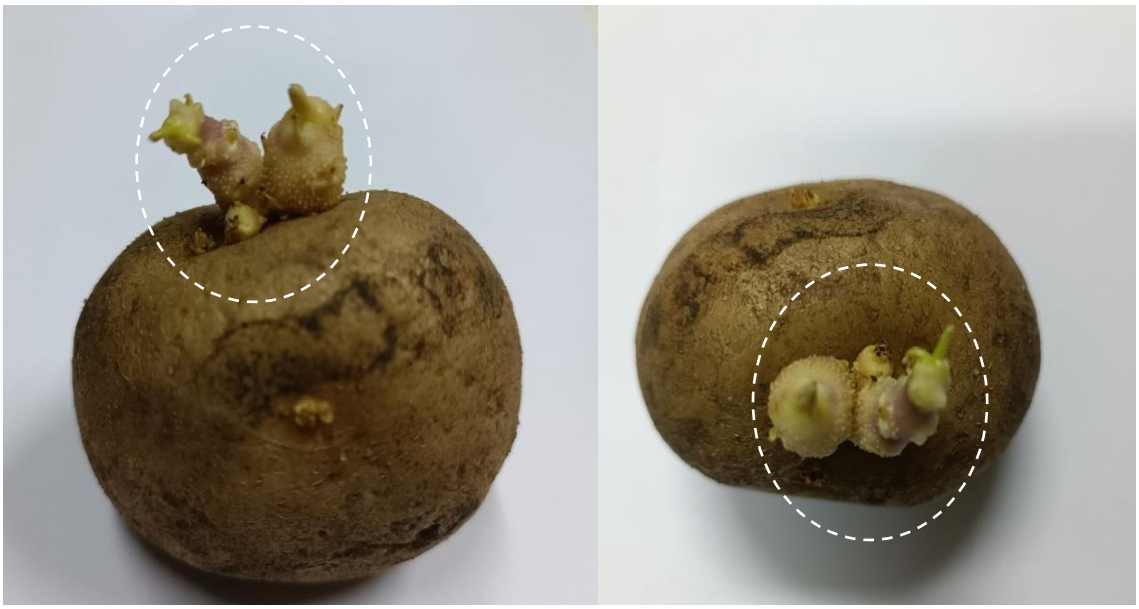


Figure 4 Extraction RNA of viroid from the sprouted potato

การตรวจและศึกษาชนิดเมล็ดวัชพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์แครอทนำเข้า

Inspection and Study on Contamination of Weed seeds in imported carrot seeds

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

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์แครอทนำเข้าจากต่างประเทศ มีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์แครอท 24 ครั้ง จากประเทศนิวซีแลนด์ อิตาลี ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย แอฟริกาใต้ ชิลี อาร์เจนตินา บราซิล และสาธารณรัฐประชาชนจีน ทางด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ สุวรรณภูมิ ลาดกระบัง ไปรษณีย์ และท่าอากาศยานเชียงใหม่ ปริมาณทั้งสิ้น 19,785.718 กิโลกรัม ผลการตรวจสอบวัชพืชพบการปนของเมล็ดวัชพืช 3 ครั้ง จากประเทศนิวซีแลนด์ 1 ครั้ง อิตาลี 1 ครั้ง และสาธารณรัฐประชาชนจีน 1 ครั้ง และทำการตรวจสอบขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการเพื่อจัดจำแนกชนิดเมล็ดวัชพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์แครอทนำเข้า โดยตัวอย่างจากประเทศนิวซีแลนด์พบเมล็ดวัชพืช 1 ชนิด ได้แก่ *Lolium rigidum* ตัวอย่างจากประเทศอิตาลีพบ 2 ชนิด ได้แก่ *Lolium rigidum* และ *Solanum ptychanthum* และตัวอย่างจากสาธารณรัฐประชาชนจีนพบ 4 ชนิด ได้แก่ *Amaranthus retroflexus*, *Cuscuta* sp., *Echinochloa* sp. และ *Medicago sativa* และเมื่อทำการทดสอบความงอกของเมล็ดวัชพืชโดยการเพาะในทรายพบว่าเมล็ดวัชพืช *L. rigidum* และ *A. retroflexus* สามารถงอกได้

รหัสการทดลอง FF65-55-03-65-00-07-66

คำนำ

แครอท (*Daucus carota* L.) จัดเป็นสิ่งกำกัดตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนด เป็นสิ่งกำกัด ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พ.ศ. 2550 ซึ่งกำหนดให้ส่วนหนึ่งส่วนใดของพืชในวงศ์ผักชี ในการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ต้องแจ้งการนำเข้า และมีใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาโดยไม่มีมาตรการสุขอนามัยพืชกำหนดไว้แต่อย่างใด จึงมีความเสี่ยงสูงที่จะมีวัชพืชติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากต่างประเทศได้ ประเทศไทยเป็นแหล่งผลิตเมล็ดพันธุ์ผักเพื่อการส่งออกที่สำคัญ ซึ่งทำรายได้แก่เกษตรกรจำนวนมาก ในแต่ละปีมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์แครอทจากแหล่งต่างๆเพื่อใช้ในการเพาะปลูก บริโภค และการผลิตเมล็ดพันธุ์เพื่อส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศ เมล็ดพันธุ์แครอทเป็นพาหะของวัชพืชร้ายแรงหลายชนิดที่ยังไม่มีรายงานพบในประเทศไทย เช่น วัชพืช *Amaranthus palmeri*, *Amaranthus retroflexus*, *Ambrosia artemisiifolia*, *Chenopodiastrum murale*, *Cuscuta epithymum, Pathenium hysterophorus, Orobanche crenata*, *Polygonum aviculare*, *Polygonum lapathifolium* (CABI, 2024) จึงมีความเสี่ยงที่วัชพืชเหล่านี้จะติดเข้ามาและสามารถแพร่กระจายในสภาพแวดล้อมของประเทศไทย ซึ่งจะก่อให้เกิดผลกระทบต่อการเกษตรในประเทศและการส่งออกเมล็ดพันธุ์ไปยังต่างประเทศ ดังนั้นการศึกษาชนิดศัตรูพืชที่ติดมากับพืชนำเข้าเพื่อให้ทราบชนิดของศัตรูพืช แหล่งที่มา การปรากฏของศัตรูพืชในประเทศคู่ค้า และเส้นทางการเข้ามาของศัตรูพืช ข้อมูลดังกล่าวสามารถใช้เป็นฐานข้อมูล สำหรับอ้างอิงทางวิชาการ เพื่อกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชให้เหมาะสม รัดกุม และป้องกันไม่ให้ศัตรูพืชกักกันเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์แครอทนำเข้า
2. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope)
3. อุปกรณ์ในการสุ่มเก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติค มาร์กเกอร์ คัตเตอร์ หลาว
3. อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างเมล็ดวัชพืช เช่น ตะแกรงร่อน ถุงซิป ขวดแก้ว ปากกาเคมี กล่องพลาสติก ปากคีบ ถาดอลูมิเนียม
4. จานเพาะเลี้ยง กระดาษสำหรับเพาะเมล็ด ทราย บิกเกอร์ น้ำกลั่น
5. คู่มือจำแนกชนิดเมล็ดวัชพืช เอกสาร หนังสือ และวารสาร

วิธีการ

1. สืบค้นข้อมูลวัชพืชเป้าหมาย

เช่น ชีววิทยา ลักษณะเมล็ดวัชพืช วิธีการตรวจศัตรูพืชในเมล็ดพันธุ์ และวิธีการกำจัดศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์

2. สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์จากด่านตรวจพืช

ตามมาตรฐาน International Seed Testing Association) ISTA, 2020 ปริมาณเมล็ดพันธุ์แครอท ที่ใช้สำหรับตรวจสอบศัตรูพืชในห้องปฏิบัติการ น้ำหนัก 30 กรัม โดยสุ่มตามวิธีการดังนี้

2.1 การสุ่มตัวอย่างที่บรรจุอยู่ในกระสอบ หรือภาชนะอื่นๆ ที่มีขนาดบรรจุของภาชนะแต่ละใบเท่าๆกัน โดยมีน้ำหนักของเมล็ดพันธุ์จำนวน 15 กิโลกรัม ถึง 100 กิโลกรัม

2.1.1 เมล็ดพันธุ์จำนวน – 1ภาชนะบรรจุ 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. ตรวจสอบวัชพืชเบื้องต้น

โดยตรวจสอบเมล็ดพันธุ์แครอทนำเข้าด้วยตาเปล่า (visual inspection) ตรวจสอบหาเมล็ดวัชพืชที่ปนมากับเมล็ดพันธุ์ แล้วนำเมล็ดวัชพืชที่ตรวจพบนำไปตรวจสอบจำแนกชนิดขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

4. การตรวจวัชพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

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

4.2 เปรียบเทียบลักษณะเมล็ดวัชพืชที่ตรวจพบกับตัวอย่างเมล็ดวัชพืชในพิพิธภัณฑ์และใช้คู่มือจำแนกชนิดวัชพืชที่เป็นเอกสารและเวบไซต์ที่เชื่อถือได้

5. การทดสอบความงอกของเมล็ดวัชพืช

5.1 วิธีการเพาะในกระดาษเพาะ ตัดกระดาษเพาะขนาดเท่าจานเพาะเชื้อสองชิ้น 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

โดยทำการติดตามตรวจสอบวัชพืชเป้าหมายในแปลงผลิตแครอทของเกษตรกร

7. รวบรวมและจัดทำข้อมูลวัชพืชที่ตรวจพบและสรุปผล

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. ข้อมูลการตรวจพบและไม่พบวัชพืช ชนิดเมล็ดวัชพืช จำนวนครั้ง ปริมาณ และประเทศผู้ส่งออกเมล็ดพันธุ์แครอท

2. บันทึกภาพลักษณะของเมล็ดวัชพืช และเก็บตัวอย่างเพื่อใช้เป็นหลักฐานทางวิชาการ

ระยะเวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2564 - กันยายน 2566

สถานที่ 1. ห้องปฏิบัติการอาคารศูนย์ตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชกักกัน กลุ่มงานวินิจฉัยศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

2. แปลงปลูกของบริษัทเอกชนหรือเกษตรกรนำเข้าแครอทในจังหวัดนครราชสีมา ราชบุรี กาญจนบุรี และนครปฐม

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสืบค้นข้อมูลวัชพืชเป้าหมาย

จากการสืบค้นข้อมูลวัชพืชที่สามารถติดมากับเมล็ดพันธุ์แครอทนำเข้าจากต่างประเทศได้จำนวน 9 ชนิด ได้แก่ วัชพืช *Amaranthus palmeri*, *Amaranthus retroflexus*, *Ambrosia artemisiifolia*, *Chenopodiastrum murale*, *Cuscuta epithymum, Pathenium hysterophorus, Orobanche crenata*, *Polygonum aviculare*, *Polygonum lapathifolium* (CABI, 2024) โดยมีวัชพืช 4 ชนิด จัดเป็นวัชพืชกักกันตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักกันพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 (*A. artemisiifolia, P. hysterophorus, O. crenata* และ *P. aviculare*) และวัชพืชที่ยังไม่มีรายงานพบในประเทศไทยจำนวน 4 ชนิด (*A. palmeri, A. retroflexus, C. murale* และ *C. epithymum*)

2. การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์แครอทนำเข้าและตรวจสอบวัชพืชเบื้องต้น

ทำการสุ่มตัวอย่างจากด่านตรวจพืช เมล็ดพันธุ์ที่สุ่มมาบรรจุมาในบรรจุภัณฑ์สะอาด เมล็ดมีความสมบูรณ์ มีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์แครอทจำนวน 24 ครั้ง จากประเทศนิวซีแลนด์ 1 ครั้ง อิตาลี 5 ครั้ง ญี่ปุ่น 3 ครั้ง สหรัฐอเมริกา 1 ครั้ง ออสเตรเลีย 3 ครั้ง แอฟริกาใต้ 2 ครั้ง ชิลี 3 ครั้ง อาร์เจนตินา 3 ครั้ง บราซิล 2 ครั้ง และสาธารณรัฐประชาชนจีน 1 ครั้ง ทางด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ ท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ ลาดกระบัง ไปรษณีย์ และท่าอากาศยานเชียงใหม่ ปริมาณทั้งสิ้น 19,785.718 กิโลกรัม ผลการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นพบการปนของเมล็ดวัชพืช 3 ครั้ง โดยตรวจพบการปนจากประเทศนิวซีแลนด์ 1 ครั้ง อิตาลี 1 ครั้ง และสาธารณรัฐประชาชนจีน 1 ครั้ง (Table 1)

3. การตรวจสอบวัชพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

ทำการจัดจำแนกชนิดเมล็ดวัชพืชภายใต้กล้องกำลังขยายต่ำ (stereo microscope) ที่ตรวจพบปนมากับตัวอย่างเมล็ดพันธุ์จากประเทศนิวซีแลนด์ พบเมล็ดวัชพืช 1 ชนิด คือ *Lolium rigidum* ตัวอย่างจากสาธารณรัฐประชาชนจีนพบเมล็ดวัชพืช 4 ชนิด คือ *Amaranthus retroflexus*, *Cuscuta* sp., *Echinochloa* sp. และ *Medicago sativa* ตัวอย่างจากประเทศอิตาลี พบเมล็ดวัชพืช 2 ชนิด คือ *Lolium rigidum* และ *Solanum ptychanthum* (Table 2) (Figure 1)

จากการสืบค้นข้อมูลวัชพืช พบว่าวัชพืชที่ตรวจพบจำนวน 4 ชนิด ไม่มีรายงานพบในประเทศไทย คือ *L. rigidum*, *A. retroflexus*, *M. sativa* และ *Solanum ptychanthum* (EPPO, 2024)

การทดสอบความงอกของเมล็ดวัชพืช ทำการทดสอบความงอกของเมล็ดวัชพืช *L. rigidum* และ *A. retroflexus* ด้วยวิธีการเพาะในทรายในห้องปฏิบัติการ พบว่าเมล็ดวัชพืชทั้งสองชนิดสามารถงอกได้ ซึ่งแสดงว่าเมล็ดวัชพืชดังกล่าวยังมีชีวิต (Figure 2)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. จากการสืบค้นข้อมูลวัชพืชที่สามารถติดปนมากับเมล็ดพันธุ์แครอทนำเข้าจากต่างประเทศ พบวัชพืชที่มีความสำคัญด้านกักกันพืช 4 ชนิด ได้แก่ วัชพืช *A. artemisiifolia, P. hysterophorus, O. crenata* และ *P. aviculare* ซึ่งรายชื่อวัชพืชดังกล่าวจัดอยู่ในศัตรูพืชกักกันของประเทศไทยตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 และพบว่ายังมีวัชพืชที่ยังไม่มีรายงานพบในประเทศไทยจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ *A. palmeri, A. retroflexus, C. murale* และ *C. epithymum* ที่มีความเสี่ยงที่จะติดปนมากับเมล็ดพันธุ์แครอทนำเข้า

2. การสุ่มตัวอย่างและตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์แครอทนำเข้าจากต่างประเทศทั้งหมด 24 ตัวอย่าง โดยนำเข้าจากประเทศนิวซีแลนด์ 1 ครั้ง อิตาลี 5 ครั้ง ญี่ปุ่น 3 ครั้ง สหรัฐอเมริกา 1 ครั้ง ออสเตรเลีย 3 ครั้ง แอฟริกาใต้ 2 ครั้ง ชิลี 3 ครั้ง อาร์เจนตินา 3 ครั้ง บราซิล 2 ครั้ง และสาธารณรัฐประชาชนจีน 1 ครั้ง พบเมล็ดวัชพืชปนมากับเมล็ดพันธุ์จากประเทศนิวซีแลนด์ 1 ชนิด ได้แก่ *Lolium rigidum* ตัวอย่างจากประเทศอิตาลี 2 ชนิด ได้แก่ *Lolium rigidum* และ *S. ptychanthum* ตัวอย่างจากสาธารณรัฐประชาชนจีนพบเมล็ดวัชพืช 4 ชนิด ได้แก่ *Amaranthus retroflexus*, *Cuscuta* sp., *Echinochloa* sp. และ *Medicago sativa*

3. การทดสอบความงอกของเมล็ดวัชพืชที่ตรวจพบ เมื่อทำการทดสอบความงอกของเมล็ดวัชพืช *L. Rigidum* และ *A. retroflexus* โดยการเพาะในทรายพบว่าเมล็ดวัชพืชทั้งสองชนิดสามารถงอกได้ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเมล็ดวัชพืชดังกล่าวยังมีชีวิตสามารถงอกและเจริญเติบโตต่อไปได้

จากการศึกษาครั้งนี้ พบศัตรูพืชที่มีความสำคัญด้านกักกันพืช 4 ชนิด ที่ไม่มีรายงานการพบในประเทศไทย (CABI, 2024) และเมื่อทำการทดสอบความงอกแล้วเมล็ดยังสามารถงอกได้ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเมล็ดยังมีชีวิตและมีโอกาสที่จะเจริญเติบโตต่อไปได้ เพื่อเป็นการป้องกันมิให้เมล็ดวัชพืชดังกล่าว

แพร่ระบาด ควรทำการคัดแยกเมล็ดวัชพืชกักกันออกจากเมล็ดพันธุ์ก่อนนำมาใช้ในการเพาะปลูกหรือเพื่อการค้า แล้วทำลายเมล็ดวัชพืชดังกล่าว และต้องทำการสำรวจเพื่อเฝ้าระวังป้องกันการแพร่ระบาดในสภาพแปลงปลูกของเกษตรกร เนื่องจากการนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศในแต่ละปีมีความเสี่ยงที่วัชพืชกักกันหรือวัชพืชที่ศักยภาพเป็นศัตรูพืชร้ายแรงติดปนมากับเมล็ดพันธุ์ และข้อมูลรายชื่อวัชพืชที่ตรวจพบต้องทำการศึกษาข้อมูลเพื่อใช้เป็นข้อมูลข้อมูลอ้างอิงทางวิชาการและเป็นข้อมูลประกอบในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช เพื่อกำหนดมาตรการด้านสุขอนามัยพืชในการป้องกันวัชพืชกักกันและวัชพืชชนิดใหม่ที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชร้ายแรงมิให้เข้ามาแพร่ระบาดในประเทศ

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นักวิชาการและเจ้าหน้าที่กลุ่มงานวินิจฉัยศัตรูพืชกักกันทุกท่าน ที่ช่วยให้คำแนะนำและความช่วยเหลือในการทำงานวิจัย รวมทั้งขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเก็บตัวอย่างเมล็ดพันธุ์แครอทนำเข้า

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 และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งกำกัดข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ.2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ.2550 (2550, 1 มิถุนายน). ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 124 ตอนพิเศษ 66 ง.

CABI digital library. 2024. *Daucus carota (carrot).* (Online) Available source: https://www.cabidigitallibrary.org/doi/10.1079/cabicompendium.18018. (April 19, 2024).

EPPO. 2024. *EPPO Global Database: Medicago sativa (MEDSA).* (Online) Available source: https://gd.eppo.int/taxon/MEDSA

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

Table 1 The importation of carrot (*Daucus carota* L.) seeds from foreign countries (October 2022 - September 2023)

Country	Consignment	Quantity (kgs.)	Weed seeds detection (time)
New Zealand	1	9,535.000	1
Italy	5	7,307.000	1
Japan	3	330.300	0
USA	1	1.500	0
Australia	3	1,302.400	0
South Africa	2	103.500	0
Chile	3	72.992	0
Argentina	3	0.021	0
Brazil	2	183.005	0
China	1	950	1
Total	**24**	**19,785.718**	

Table 2 The weed seeds associated in imported carrot (*Daucus carota* L.) seeds (October 2022 - September 2023)

Country	Species of weed	Detection (time)	Status of pest in Thailand
New Zealand	*Lolium rigidum*	1	not present
Italy	*Lolium rigidum*	1	not present
	Solanum ptychanthum	1	not present
China	*Amaranthus retroflexus*	1	not present
	Cuscuta sp.	1	-
	Echinochloa sp.	1	-
	Medicago sativa	1	not present

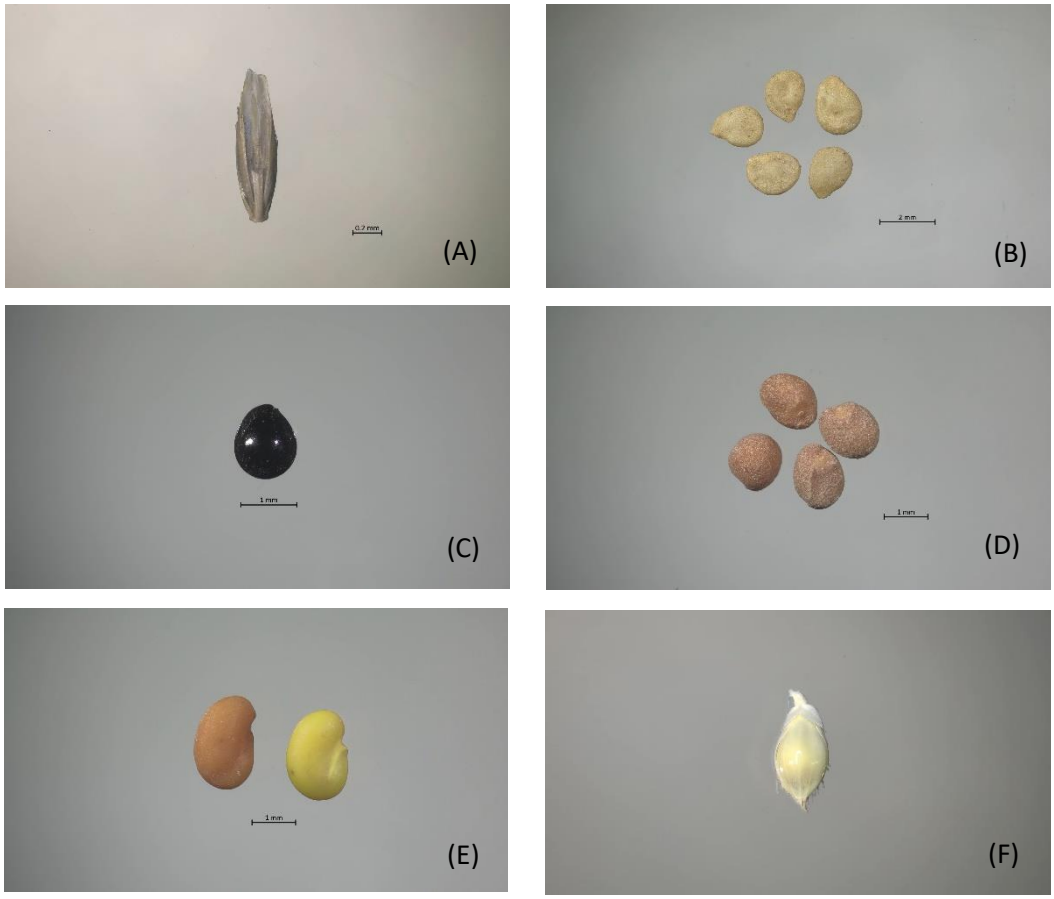


Figure 1 Species of weed seed contaminated with carrot seeds from foreign countries

(A) *Lolium rigidum* from New Zealand

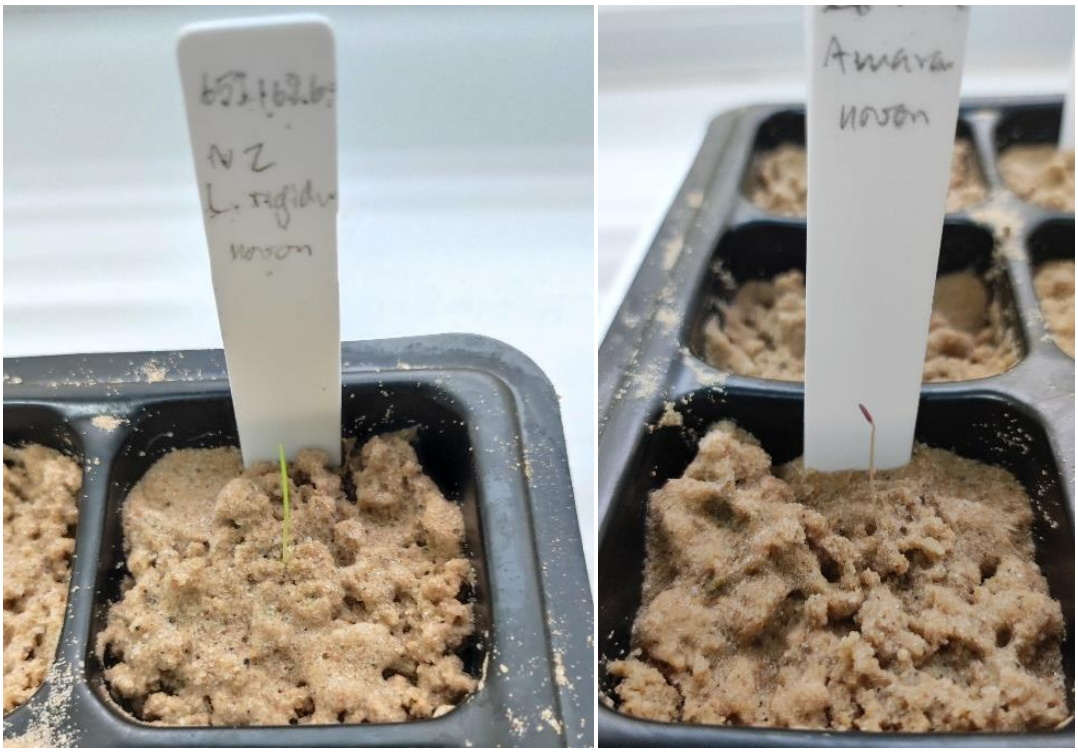
(B) *Solanum ptychanthum* from Italy

(C) *Amaranthus retroflexus* from China

(D) *Cuscuta* sp. from China

(E) *Medicago sativa* from China

(F) *Cchinochloa* sp. from China



(A) (B)

Figure 2 Germination test of weed seeds from foreign countries

(A) Lolium rigidum

(B) Amaranthus retroflexus

การพัฒนาการตรวจสอบแมลงวันทองฝรั่ง *Bactrocera correcta* และ แมลงวันแตง *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* สร้างความเสียหายทางเศรษฐกิจกับพืชผักหลายชนิด และเป็นศัตรูพืชกักกันที่สำคัญในหลายประเทศทั่วโลก มักพบตัวหนอนแมลงวันผลไม้จากการสุ่มตรวจศัตรูพืชในการส่งออกของประเทศไทย ซึ่งก่อให้เกิดการกีดกันทางการค้า และจากลักษณะทางสันฐานของตัวหนอนแมลงวันผลไม้ที่คล้ายคลึงกันมากนั้นทำให้การระบุชนิดนั้นทำได้ยาก ดังนั้นการพัฒนาเทคนิคในการตรวจวินิจฉัยที่มีความถูกต้อง รวดเร็ว แม่นยำ จึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง งานวิจัยนี้จึงได้พัฒนาการเทคนิค multiplex PCR จากไพร์เมอร์ที่มีความเฉพาะเจาะจงเพื่อตรวจสอบชนิดแมลงวันทองฝรั่ง *B. correcta* และแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* จากประชากรทั้ง 6 ภูมิภาคทั่วประเทศไทย การศึกษาครั้งยืนยันได้ว่าเทคนิค multiplex PCR จากไพรเมอร์ทั้งสองคู่นั้นสามารถนำมาตรวจสอบแมลงวันทั้งสองชนิดจากภูมิภาคต่าง ๆ ทั้ง 6 ภูมิภาคของไทยได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้ได้นำคู่ไพรเมอร์ทั้งสองมาทดสอบร่วมกับไพรเมอร์จากงานวิจัยอื่น ๆ พบว่า ไพรเมอร์ที่มีจำเพาะเจาะจงต่อแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* นั้นสามารถประยุกต์การตรวจสอบแมลงวันผลไม้ด้วยเทคนิค multiplex PCR ในการตรวจวินิจฉัยชนิดแมลงวันผลไม้ได้มากถึง 4 ชนิดในครั้งเดียวกัน ได้แก่ *Z. cucurbitae, Z. cilifer, B. dorsalis* และ*B. tuberculata* แต่ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อแมลงวันทองฝรั่ง *B. correcta* นั้นไม่สามารถนำมาพัฒนาร่วมกับงานวิจัยอื่น ๆ เนื่องจากไม่สามารถหาอุณหภูมิที่หมาะสม ดังนั้นผลลัพธ์ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้เป็นการพัฒนาเทคนิค multiplex PCR ในการตรวจสอบชนิดแมลงวันผลไม้ซึ่งใช้เพียงขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอ ทำ PCR และอิเล็กโตรโฟรีซีสเท่านั้น เป็นการลดขั้นตอน และระยะเวลาในการวินิจฉัยชนิดแมลงวันผลไม้ ทำให้การวินิจฉัยแมลงศัตรูพืชมีความสะดวก รวดเร็ว แม่นยำ และเป็นที่ยอมรับในระดับสากล ก่อให้เกิดประโยชน์ต่องานด้านการกักกันพืชและการส่งออกผักผลไม้ของประเทศไทย

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

และในทศวรรษที่ผ่านมานั้นในการตรวจวินิจฉัยแมลงที่มีลักษณะทางสัณฐานใกล้เคียงกันโดยการประยุกต์ใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลมาใช้อย่างกว้างขวางโดยเฉพาะอย่างยิ่ง เช่น ดีเอ็นเอบาร์โค้ด (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

- 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)

- Multiplex PCR Master mix (2X, Biotechrabbit, Germany)

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

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

วิธีการ

1. สกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างแมลงวันผลไม้

แยกขาขวา 3 ขา จากแมลงวันผลไม้ใส่หลอด 1.5 มิลลิลิตร จากนั้นดูด 95% ethanol ทิ้งไป วางหลอดไว้ที่อุณหภูมิห้อง 15 นาที เพื่อให้ ระเหย 95% ethanol ออกไปจากตัวอย่างให้หมด จากนั้นสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างแมลงที่เตรียมไว้ด้วยชุดสกัด ISOLATE II Genomic DNA Kit (Bioline, ออสเตรเลีย) เติม Lysis buffer GL 180 ไมโครลิตร และเติม Proteinase K 25 ไมโครลิตร เขย่าเล็กน้อย บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นานข้ามคืน เขย่าเล็กน้อย จากนั้นเติม Lysis buffer G3 ปริมาตร 200 ไมโครลิตร เขย่าเล็กน้อย จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที แล้วนั้นจึงเติม absolute ethanol 210 ไมโครลิตร เขย่าเล็กน้อย ดูดสารละลายทั้งหมดลงในคอลัมน์ นำคอลัมน์ไปปั่นเหวี่ยงที่ 11,000 g นาน 1 นาที แล้วล้างคอลัมน์ด้วยการเติม Wash buffer GW1 ปริมาตร 500 ไมโครลิตรลงในคอลัมน์ แล้วนำคอลัมน์ไปปั่นเหวี่ยงที่ 11,000 g นาน 1 นาที เทส่วนใสด้านล่างทิ้งไป

จากนั้นล้างคอลัมน์อีกครั้งด้วยการเติม Wash buffer GW2 ปริมาตร 600 ไมโครลิตรลงในคอลัมน์ แล้วนำคอลัมน์ไปปั่นเหวี่ยงที่ 11,000 g นาน 1 นาที เทส่วนใสด้านล่างทิ้งไป จากนั้นนำคอลัมน์ไปปั่นเหวี่ยงที่ 11,000 g นาน 1 นาที เพื่อกำจัด ethanol ที่เหลือออกให้หมด เปลี่ยนคอลัมน์ไปใส่ในหลอด 1.5 มิลลิลิตร จากนั้นชะดีเอ็นเอออกจากคอลัมน์โดยเติม elution buffer G ที่ผ่านการบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ปริมาตร 50 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที จากนั้นนำคอลัมน์ไปปั่นเหวี่ยงที่ 11,000 g นาน 2 นาที ตรวจวัดปริมาณและความเข้มข้นดีเอ็นเอาการดูดกลืนแสงที่ A260/A280 เจือจางดีเอ็นที่ระดับ 10 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร และทดสอบคุณภาพของดีเอ็นเอที่สกัดได้ด้วย universal ไพรเมอร์ LCO และ HCO สำหรับตรวจสอบยีน *cox1* (LCO1490 5'-GGTCAACAAATCATA AAGATATTGG-3' และ HCO2198 5'-TAAACTTCAG GGTG ACCAAAAAATCA-3') (Folmer *et al*., 1994) ขนาดประมาณ 712 คู่เบส ส่งตัวอย่างตรวจสอบวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์เพื่อตรวจสอบยืนยันชนิดแมลงวันผลไม้ก่อนดำเนินการทดสอบด้วยไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อไป

2. ทดสอบ Multiplex PCR ด้วยคู่ไพร์เมอร์ที่เฉพาะเจาะจงต่อแมลงทองฝรั่ง *B. correcta* และแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* จากภูมิภาคต่าง ๆ ของประเทศไทย

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

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

3. ทดสอบ Multiplex PCR จากคู่ไพรเมอร์ species - specific primer โดยใช้คู่ไพร์เมอร์จากแมลงวันทองฝรั่ง *B. correcta* และ แมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ร่วมกลับคู่ไพร์เมอร์อื่น ๆ

3.1 คัดเลือกไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงในการตรวจสอบชนิดแมลงวันผลไม้ จากงานวิจัยอื่นๆ (CAUPQL, 2016) เพื่อพัฒนาการตรวจสอบแมลงวันผลไม้ด้วยวิธี multiplex PCR ร่วมกับคู่ไพรเมอร์ ที่มีความจำเพาะเจาะจงโดยใช้คู่ไพร์เมอร์จากแมลงวันทองฝรั่ง *B. correcta* และแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* (ยุวรินทร์ และคณะ; 2564, 2566)

3.2 เปรียบจากค่า annealing ที่มีความใกล้เคียงกัน ขนาดผลิตภัณฑ์พีซีอาร์มีขนาดแตกต่างกันสามารถแยกออกอย่างชัดเจน นำคู่ไพรเมอร์ที่ออกแบบและงานวิจัยทำการศึกษามาพัฒนาการตรวจสอบชนิดแมลงวันผลไม้ ด้วยวิธี multiplex PCR สำหรับตรวจสอบแมลงวันผลไม้ชนิดต่าง ๆ

3.3 เตรียมปฏิกิริยา PCR ตามวิธีการข้างต้น ใส่คู่ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อแมลงวันผลไม้ลงในปฏิกิริยาเดียวกัน ทดสอบหาช่วงอุณหภูมิของการ annealing ที่เหมาะสม (55-60 °ซ.) โดยทดสอบหาช่วงของอุณหภูมิที่สามารถตรวจพบแมลงวันผลไม้พร้อมกันอย่างชัดเจน ด้วยวิธี multiplex PCR

3.4 จากนั้นตรวจสอบความจำเพาะจงของวิธีการกับตัวอย่างแมลงวันผลไม้ที่มีรายงานในประเทศไทย ตรวจสอบผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ ด้วยวิธีเจลอิเล็คโตรโฟรีซีส (gel electrophoresis) ที่อะกาโรสเจลความความเข้มข้น 2.5% ผสม RedSafe dye (iNtRON Biotechnology, USA) ในสารละลาย 1X TAE buffer แล้วนำมาผ่านสนามไฟฟ้าความต่างศักย์ 100 โวลต์ เป็นเวลา 45 นาที และตรวจสอบแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตบันทึกผลด้วยเครื่องถ่ายภาพเจลพร้อมโปรแกรมวิเคราะห์ภาพ (gel documentation XR) รุ่น Universal Hood II (Biorad, USA)

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1) บันทึกข้อมูล ดีเอ็นเอบาร์โค้ด ในรูปแบบของ FASTA ไฟล์

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม พ.ศ. 2565 - กันยายน พ.ศ. 2566

สถานที่ 1) แหล่งปลูกพืชจังหวัดต่าง ๆ ในภาคกลาง ภาคตะวันตก ภาคเหนือ ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคใต้

2) ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างแมลงวันผลไม้

การสกัดดีเอ็นเอขอแมลงวันผลไม้ตรวจวัดปริมาณและความเข้มข้นดีเอ็นที่ A260/A280 ค่าการดูดกลืนแสงของดีเอ็นเอที่สกัดได้อยู่ในช่วง 1.7-1.9 ถือว่าดีเอ็นเอที่สกัดได้มีความบริสุทธิ์ จากนั้นเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ LCO1490/ HCO2198 จากยีน *cox1* สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอและตรวจสอบขนาดผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ได้ขนาด 650 - 700 คู่เบส เมื่อนำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ไปตรวจวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์เปรียบเทียบ พบว่า มีเปอร์เซ็นต์ความเหมือนที่ 99 - 100 % แสดงว่า วิธีการสกัดดีเอ็นเอมีความเหมาะสมสามารถนำไปใช้สกัดดีเอ็นเอในตัวอย่างแมลงวันผลไม้คุณภาพที่ดีเอ็นเอที่ได้สามารถนำไปใช้เป็นดีเอ็นเอต้นแบบสำหรับพัฒนาการ

2. ทดสอบ Multiplex PCR ด้วยคู่ไพร์เมอร์ที่เฉพาะเจาะจงต่อแมลงทองฝรั่ง *B. correcta* และแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* จากภูมิภาคต่าง ๆ ของประเทศไทย

การทดสอบประสิทธิภาพของไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อแมลงทองฝรั่ง *B. correcta* และแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* จากกลุ่มประชากรต่างภูมิศาสตร์ (geographical populations) จากตัวอย่างแมลงวันทองฝรั่ง *B. correcta* และแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ที่เก็บรวบรวมมาจากภูมิภาคต่าง ๆ ของประเทศไทย จากกาทดสอบ species - specific primer โดยใช้คู่ไพร์เมอร์จากแมลงวันทองฝรั่ง *B. correcta* และ แมลงวันแตง *Z. cucurbitae* (ยุวรินทร์ และคณะ; 2564, 2566) 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’

ได้วิธีการที่เหมาะสมในด้วยวิธีการ multiplex PCR (Table 1 - 2) ตรวจสอบผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่ได้คู่ด้วยวิธีเจลอิเล็คโตรโฟรีซีสบนอะกาโรสเจลความเข้มข้น 2 % ผสม RedSafe dye (iNtRON Biotechnology, USA) 5 ไมโครลิตร ต่ออะกาโรสเจล 100 มิลลิลิตร โหลดผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ตัวอย่าง ละ 7 ไมโครลิตร โหลดดีเอ็นเอขนาดมาตรฐาน HyperLadder 25 bp (Bioline, Australia) 3 ไมโครลิตร รันผ่านสนามไฟฟ้าความต่างศักย์ 100 โวลต์ เป็นเวลา 45 นาที ตรวจสอบแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต (Figure 1 - 2)

3. ทดสอบ Multiplex PCR จากคู่ไพรเมอร์ species - specific primer โดยใช้คู่ไพร์เมอร์จากแมลงวันทองฝรั่ง *B. correcta* และ แมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ร่วมกลับคู่ไพร์เมอร์อื่น ๆ

คัดเลือกไพรเมอร์ที่ใช้ในการตรวจสอบชนิดแมลงวันผลไม้จากงานวิจัยต่าง ๆ (CAUPQL, 2016) เพื่อนำมาพัฒนาเทคนิค multiplex PCR ในการตรวจสอบชนิดแมลงวันผลไม้ชนิดต่าง ๆ พบว่า การใช้คู่ไพรเมอร์ไพรเมอร์ที่ได้ออกแบบ คือ Zcur-F2 และ Zcur-R1 ร่วมกับไพรเมอร์ B. dorsalis-F B. dorsalis-R, B. tuberculata-F B. tuberculata-R, Z. cilifer-F Z. cilifer-R นั้น สามารถใช้ตรวจสอบแมลงผลไม้ได้ 4 ชนิด ได้แก่ *B. dorsalis, B. tuberculata, Z. cilifer* และ *Z. cucurbitae* (Table 3)

สภาวะปฏิกิริยา Multiplex PCR ที่เหมาะสมสำหรับจำแนกแมลงวันผลไม้ด้วยวิธี PCR จากการทดสอบหาช่วงอุณหภูมิในขั้นตอนการ annealing ที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณยีน *cox1* ของแมลงวันผลไม้ทั้ง 4 ชนิด พร้อมกันนั้น พบว่า ที่อุณหภูมิ 60 °ซ. (Table 4) กำหนดขั้นตอนและเวลาในปฏิกิริยา PCR cycle (Table 5)

สภาวะที่เหมาะสมของเทคนิค multiplex PCR (Table 4 - 5) เมื่อนำมาทดสอบกับแมลงวันผลไม้ที่มีรายงานในประเทศไทย 19 ชนิด ได้แก่ *Bactrocera albistrigata, B. carambolae, B. correcta, B. dorsalis, B. latifrons, B. limbifera, B. tuberculata, B. umbrosa, B. zonata, D. longicornis, D. spaeroidalis, Z. apicalis, Z. caudatus, Z. cilifer, Z. cucurbitae, Z. hochii, Z. incisus, Z. isolatus,* และ *Z. platamus* นั้นสามารถตรวจสอบดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะต่อแมลงวันผลไม้ทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ *B. dorsalis, B. tuberculata, Z. cilifer* และ *Z. cucurbitae*

จากนั้นตรวจสอบความจำเพาะจงของวิธีการด้วยการตรวจสอบผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ ด้วยวิธีเจลอิเล็คโตรโฟรีซีส (gel electrophoresis) ที่อะกาโรสเจลความความเข้มข้น 2.5% ผสม RedSafe

dye (iNtRON Biotechnology, USA) ในสารละลาย 1X TAE buffer แล้วนำมาผ่านสนามไฟฟ้าความต่างศักย์ 100 โวลต์ เป็นเวลา 45 นาที และตรวจสอบแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตบันทึกผลด้วยเครื่องถ่ายภาพเจลพร้อมโปรแกรมวิเคราะห์ภาพ (gel documentation XR) รุ่น Universal Hood II (Biorad, USA) พบว่าได้ขนาดผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาดประมาณ 216, 225, 159 และ 113 คู่เบส (Figure 3) ซึ่งเป็นขนาดของแมลงวันผลไม้ ได้แก่ *B. dorsalis, B. tuberculata, Z. cilifer* และ *Z. cucurbitae* ตามลำดับ โดยไม่เกิดปฏิกิริยาข้ามกับแมลงวันผลไม้ชนิดอื่น ๆ ถึงแม้ว่าขนาดผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* และ *B. tuberculata* จะมีขนาดที่ใกล้เคียงกันแต่อย่างไรก็ตามยังสามารถแยกความแตกต่างได้ด้วยสายตาเมื่อเทียบกับตัวเปรียบเทียบบวก (positive control) ผลการตรวจสอบด้วยเทคนิค multiplex PCR และผลที่ได้จากการจำแนกด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยานั้นสอดคล้อง

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเป็นงานวิจัยแรกที่มีการประยุกต์และนำ เทคนิค multiplex PCR มาใช้ในการตรวจจำแนกยีน *cox1* ของแมลงวันผลไม้ทั้ง 4 ชนิด พร้อมกัน ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าเทคนิค multiplex PCR เป็นวิธีการตรวจสอบที่มีประสิทธิภาพ ช่วยลดระยะเวลาและค่าใช้จ่ายในการตรวจสอบได้มาก เมื่อเปรียบเทียบกับการตรวจด้วยเทคนิค conventional PCR เพราะฉะนั้นเทคนิค multiplex PCR เป็นเทคนิคต้นแบบสู่การพัฒนาวิธีการตรวจสอบแมลงวันผลไม้ที่เป็นศัตรูพืชกักกันในพืชผัก และผลไม้ ก่อนการส่งออกไปยังต่างประเทศ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษานี้เป็นการพัฒนาเทคนิค multiplex PCR จากคู่ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อ แมลงวันทองฝรั่ง *B. correcta* และแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ซึ่งเป็นศัตรูพืชที่มีความสำคัญกับพืชเศรษฐกิจ และมักพบปนเปื้อนไปกับสินค้าเกษตร ซึ่งการศึกษาครั้งยืนยันได้ว่าไพรเมอร์ทั้งสองคู่นั้นสามารถนำมาตรวจ สอบแมลงวันทั้งสองชนิดจากภูมิภาคต่าง ๆ ทั้ง 6 ภูมิภาคของไทยได้เป็นอย่างดี

นอกจากนี้เมื่อนำคู่ไพรเมอร์ทั้งสองมาทดสอบร่วมกับไพรเมอร์จากงานวิจัยอื่น ๆ นั้น พบว่าไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงแมลงวันทองฝรั่ง *B. correcta* และแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* นั้น มาประยุกต์ร่วมกับงานวิจัยอื่น ๆ การศึกษาครั้งนี้พบว่าไพรเมอร์ที่มีจำเพาะเจาะจงต่อแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* สามารถพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบแมลงวันผลไม้ด้วยเทคนิค multiplex PCR ในการตรวจวินิจฉัยชนิดแมลงวันผลไม้ได้ 4 ชนิดในคราวเดียวกัน โดยสามารถใช้ตรวจสอบแมลงวันผลไม้จำนวน 4 ชนิด ที่เข้าทำลายพืชผักเศรษฐกิจของไทย ได้แก่ *Z. cucurbitae, Z. cilifer, B. dorsalis* และ *B. tuberculata* แต่ไพรมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อแมลงวันทองฝรั่ง *B. correcta* นั้นไม่สามารถนำมาพัฒนาร่วมกับงานวิจัยอื่น ๆ เนื่องจากไม่สามารถหาอุณหภูมิที่หมาะสม แต่สามารถประยุกต์ไพรเมอร์

ผลลัพธ์ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ได้การพัฒนาการตรวจสอบแมลงวันทองฝรั่ง *B. correcta* และแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* จากไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อซึ่งใช้เพียงขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอทำ PCR และอิเล็กโตรโฟรีซีสเท่านั้น เป็นการลดขั้นตอนในการตรวจสอบแมลงวันผลไม้ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการวินิจฉัยชนิดศัตรูพืช งานด้านการกักกันพืช และการส่งออกผักผลไม้ของประเทศไทย เนื่องจากทำให้การวินิจฉัยแมลงศัตรูพืชมีความสะดวก รวดเร็ว แม่นยำ และเป็นที่ยอมรับในระดับสากล

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นางสาวณฐณน แก้วนุ้ย นักวิชาการโรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ในการช่วยเหลือทำให้งานวิจัยในครั้งนี้สำเร็จ และลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

ยุวรินทร์ บุญทบ ชมัยพร บัวมาศ เกศสุดา สนศิริ จอมสุรางค์ ดวงธิสาร และ สิทธิสิโรดม แก้วสวัสดิ์. 2563.การจำแนกชนิดตัวอ่อนแมลงวันผลไม้เผ่า Dacini (Diptera: Tephritidae) ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทยด้วยภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด. วารสารวิชาการเกษตร. 38(3): 293-306.

ยุวรินทร์ บุญทบ1 ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล ณฐมน แก้วนุ้ย และ นพรัตน์ บัวหอม. 2564. การพัฒนาไพรเมอรที่มีความจา เพาะจากยีน Cytochrome Oxidase I เพื่อตรวจวินิจฉัยแมลงวันแตง *Zeugodacus cucurbitae* (Coquillett) (Diptera: Tephritidae) เพื่อส่งเสริมการส่งออก. วารสารเกษตร. 37(3): 289-303.

ยุวรินทร์ บุญทบ1 ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล ณฐมน แก้วนุ้ย นพรัตน์ บัวหอม และ ชุติกาญจน์ ใจแล. 2566. การพัฒนาเทคนิคการตรวจวินิจฉัยแมลงวันทองฝรั่ง Bactrocera correcta (Bezzi) (Diptera: Tephritidae) ด้วยไพรเมอร์ที่มีความเฉพาะเจาะจง. วารสารวิชาการเกษตร. 41(3): 236-250.

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

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

Boontop, Y. 2016. Natural variation and biogeography of the melon fruit fly, Zeugodacus cucurbitae (Diptera: Tephritidae), in Southeast-Asia and the West-Pacific. Ph.D. Thesis. Queensland University of Technology, Australia.

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

Drew, R.A.I. and 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.

Folmer, O., M. Black, W. Hoeh, R. Lutz and R. Vrijenhoek. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. Molecular marine biology and biotechnology, 3(5), 294-299.

Hall, T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. In Nucleic Acids Symposium Series,41, 95-98.

life technologies. 2022. Real-time PCR handbook. Available at https://www.gene-quantification.de/real-time-pcr-handbook-life-technologies-update-flr.pdf.

Weems, H.W. and Fasulo, T.R. 2011. Guava Fruit Fly, Bactrocera correcta (Bezzi) (Insecta: Diptera: Tephritidae). University of Florida IFAS Extension, EENY 200/IN357.

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

Table 1 Polymerase Chain Reaction (PCR) with two pairs of primers

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

Table 2 Polymerase Chain Reaction (PCR) cycling conditions

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

Table 3 Nucleotide of sequences and properties of broad-spectrum primer set used in *B. dorsalis, B. tuberculata, Z. cilifer* และ *Z. Cucurbitae* screening in this study primer

Primer's name	Nucleotide	% CG	Tm	Size (bp)	References
B. dorsalis-F	GCTATTTTTTCACTTCACTTAACG	33.33	55.34	216	CAUPQL.,
B. dorsalis-R	AGTATTTAAGTTTCGGTCTGTTAG	33.33	54.68		2016
B. tuberculata-F	TTTTCACTCCACTTAGCCAGG	47.62	57.86	225	CAUPQL.,
B. tuberculata-R	GGGGTCAAAAAATGAAGTATTTAAGTTC	32.14	58.10		2016
Z. cilifer-F	GGCTGTAAATTTTATCACTACAGTC	56.27	56.27	159	CAUPQL.,
Z. cilifer-R	CGGTCTGTCAAAAGTATAGTAATG	55.40	55.40		2016
Zcur-F2	CTTCTATCTCTACCTGTGTTAGCCG	48	53	113	Boontop.,
Zcur-R1	AGCCGGGTCGAAGAAAAGAGGTG	59	60		2021

Table 4 Polymerase Chain Reaction (PCR) with four pairs of primers

Reagents	Volume (µl) per reaction
Multiplex PCR Master mix (2X, Biotechrabbit, Germany)	12.5
B. dorsalis-F (10 µM)	0.5
B. dorsalis-R (10 µM)	0.5
B. tuberculata-F (10 µM)	0.5
B. tuberculata-R (10 µM)	0.5
Z. cilifer-F (10 µM)	0.5
Z. cilifer-R (10 µM)	0.5
Zcur-F2 (10 µM)	1.0
Zcur-R1 (10 µM)	1.0
Template DNA	1
Nuclease free water	6.5
Final volume	**25.0 µl**

Table 5 Polymerase Chain Reaction (PCR) cycling conditions

Step	Temperature (°C)	Time	Number of cycles
1. Pre-denaturation	95	3 min	1
2. Denaturation	95	30 sec	
3. Annealing	55-60	45 sec	30
4. Extension	72	45 sec	
5. Final-extension	72	5 min	1

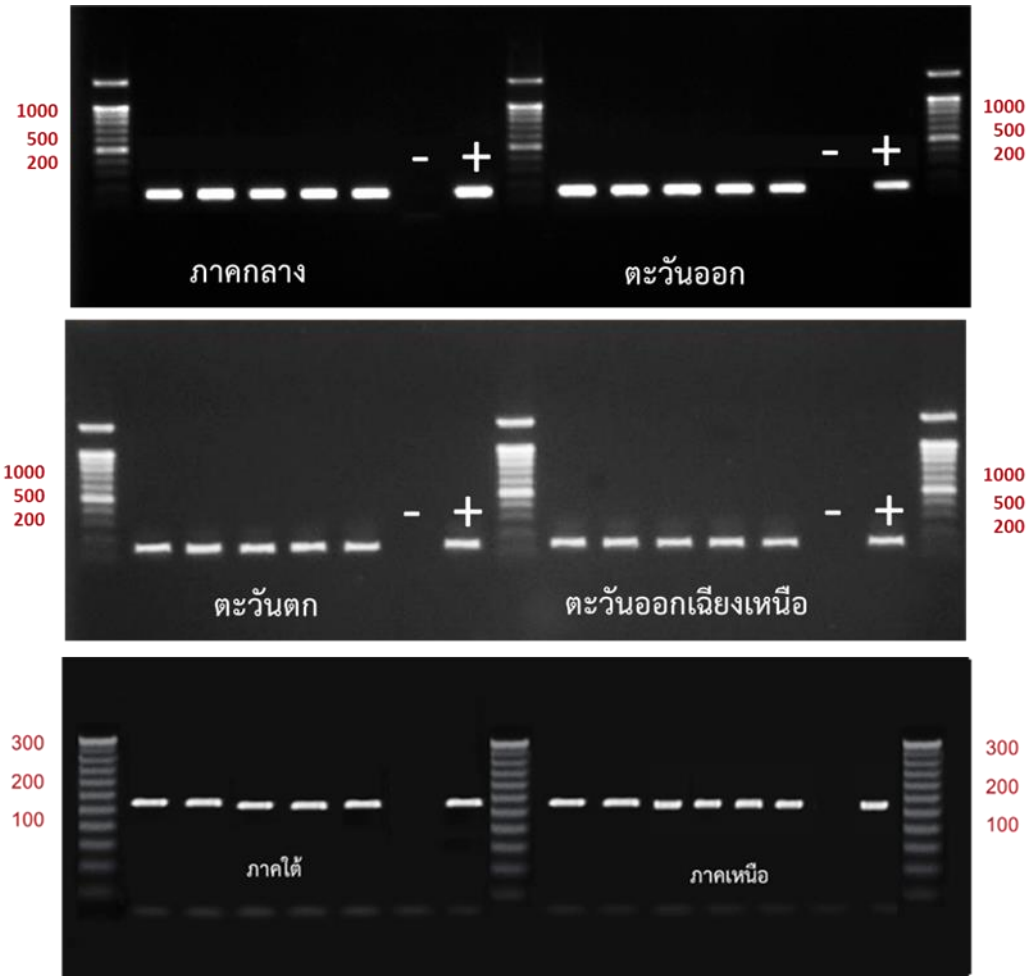


Figure 1 PCR product of *Bactrocera correcta* from six Thai biogeographical regions (Central, East, West, Northeast, South, and North) was amplified using the *B. correcta* - specific primer pair Bco-F1 and Bco-R1. Negative control was ddH2 O. Positive control sample was *B. correcta*. Lane M: D2000 Marker

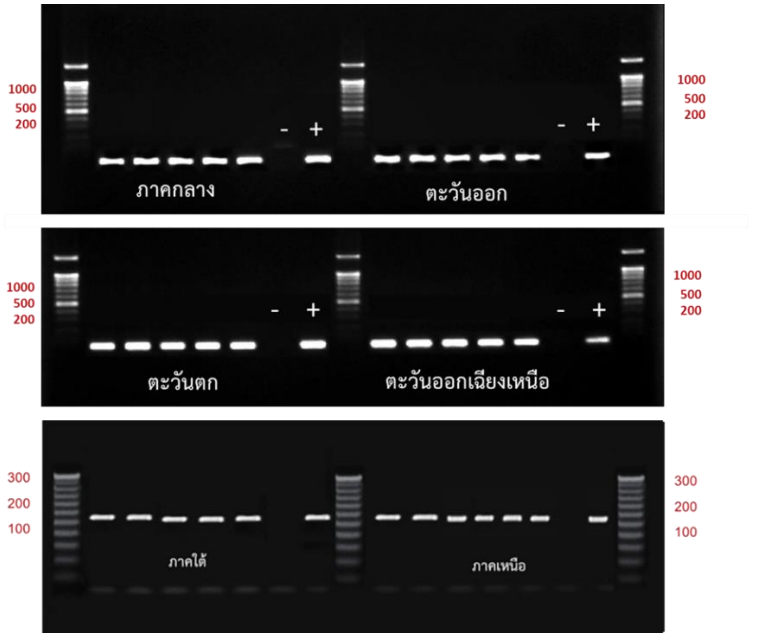


Figure 2 PCR product of *Zeugodacus curcubitae* from six Thai biogeographical regions (Central, East, West, Northeast, South, and North) was amplified using the *Z. curcubitae* - specific primer pair Zcu-F1 and Zcu-R1. Negative control was ddH2 O. Positive control sample was *B. correcta*. Lane M: D2000 Marker

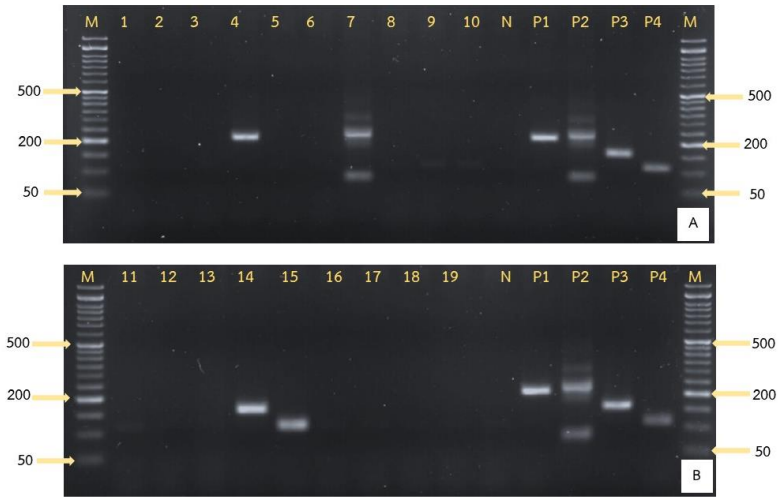


Figure 3 PCR product of 19 species of fruit flies from multiplex PCR method 1 = *B. albistrigata,* 2 = *B. carambolae,* 3 = *B. correcta,* 4 = *B. dorsalis,* 5= *B. latifrons,* 6 = *B. limbifera,* 7 = *B. tuberculata,* 8 = *B. umbrosa,* 9 = *B. zonata,* 10 = *D. longicornis,* 11 = *D. spaeroidalis,* 12 = *Z. apicalis,* 13 = *Z. caudatus,* 14 = *Z. cilifer,* 15 = *Z. cucurbitae,* 16 = *Z. hochii,* 17= *Z. incisus,* 18 = *Z. isolatus,* 19 = *Z. platamus,* N = Nuclease free water, P1 = *B. dorsalis,* P2 = *B. tuberculata,* P3 = *Z. cilifer,* P4 = *Z. cucurbitae*

พัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas perforans* สาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ

Developing Method to Detection of *Xanthomonas perforans* Causing Bacterial Spot of Chili 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 2565 - กันยายน 2566 ได้ดำเนินการทดสอบความจำเพาะและความไวของวิธีการตรวจสอบแบคทีเรีย *X. perforans* ด้วยเทคนิค PCR พบว่าไพรเมอร์ HpaF-f/HpaF-r มีประสิทธิภาพมากกว่าไพรเมอร์ BS-XpF/BS-XpR สามารถตรวจแบคทีเรีย *X. perforans* ได้ถูกต้องทุกไอโซเลตและสามารถตรวจเชื้อแบคทีเรียได้ในปริมาณต่ำกว่า

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 และคัดเลือกเพื่อสั่งสังเคราะห์สำหรับใช้ในการตรวจวินิจฉัยในเบื้องต้นพบรายงานของ Koenraadt *et al*. (2009), Burlakoti *et al*. (2018) และ Ning (2012)

1.2 ทดสอบสภาวะที่เหมาะสมของเทคนิค PCR ในการตรวจเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ

ดำเนินการทดสอบไพรเมอร์ที่ใช้สำหรับการตรวจวินิจฉัยเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศด้วยเทคนิค PCR ตามรายงานของ Koenraadt *et al*. (2009) และ Ning (2012) 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

นำดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบมาวัดความเข้มข้นและคุณภาพของดีเอ็นเอที่ช่วงคลื่น A260/A280 ด้วยเครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (U 2001 UV/Vis, Hitachi Instruments, Inc., USA) และปรับความเข้มข้นดีเอ็นเอเท่ากับ 50 นาโนกรัม/ไมโครลิตร เพื่อนำไปทดสอบความจำเพาะ

ของไพรเมอร์ด้วยเทคนิค PCR และทดสอบความไวในการตรวจสอบโดยใช้แบคทีเรียความเข้มข้น 10^7 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เจือจางแบบ 10 เท่า (10 fold dilution) และความเข้มข้นของดีเอ็นเอแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศที่มีความเข้มข้น 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. ทดสอบวิธีการที่เหมาะสมในการตรวจเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ จากตัวอย่างพืช

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 2565 – กันยายน 2566

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ทดสอบความจำเพาะของไพรเมอร์ต่อเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas perforans* ด้วยเทคนิค PCR พบว่าไพรเมอร์ HpaF-f/HpaF-r ตรวจสอบแบคทีเรีย *X. perforans* ได้ถูกต้องทุกไอโซเลต ไม่เกิดผลบวกกับแบคทีเรียชนิดอื่นที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ แบคทีเรีย *X. euvesicatoria*, *X. campestris* pv. *campestris*, *X. citri* pv. *citri*, *X. oryzae* pv. *oryzae*, *X. oryzae* pv. *oryzicola*, *Acidovorax cattleyae*, *A. citrulli*, *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli*, *Dickeya zeae*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* และ *Ralstonia solanacearum* ส่วนไพรเมอร์ BS-XpF/BS-XpR ไม่สามารถตรวจได้ทุกไอโซเลต ไพรเมอร์มีความไวในการตรวจดีเอ็น

เอความเข้มข้นต่ำสุด 5 เฟมโตกรัมต่อไมโครลิตร และ 50 พิโคกรัมต่อไมโครลิตร (Figure 1) ความเข้มข้นของเซลล์แบคทีเรียที่ $5x10^2$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร และ $5x10^3$ โคโลนีต่อ/มิลลิลิตร ตามลำดับ (Figure 2)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบความจำเพาะและความไวของวิธีการตรวจสอบแบคทีเรีย *X. perforans* ด้วยเทคนิค PCR พบว่าไพรเมอร์ HpaF-f/HpaF-r มีประสิทธิภาพมากกว่าไพรเมอร์ BS-XpF/BS-XpR สามารถตรวจแบคทีเรีย *X. perforans* ได้ถูกต้องทุกไอโซเลต ไม่เกิดผลบวกกับแบคทีเรียชนิดอื่นที่ใช้ในการทดสอบ ส่วนไพรเมอร์ BS-XpF/BS-XpR ไม่สามารถตรวจได้ทุกไอโซเลต การทดสอบความไวของวิธีการตรวจสอบ ไพรเมอร์ HpaF-f/HpaF-r สามารถตรวจดีเอ็นเอและจำนวนเซลล์ของแบคทีเรีย *X. perforans* ได้ในปริมาณต่ำกว่าไพรเมอร์ BS-XpF/BS-XpR

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.

Ning, F. Y. 2012. Identification and detection of *Xanthomonas perforans* by the polymerase chain reaction technique and characterization of *X. perforans* strains in Taiwan by DNA polymorphism. Master's thesis, Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University, Taiwan.

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.

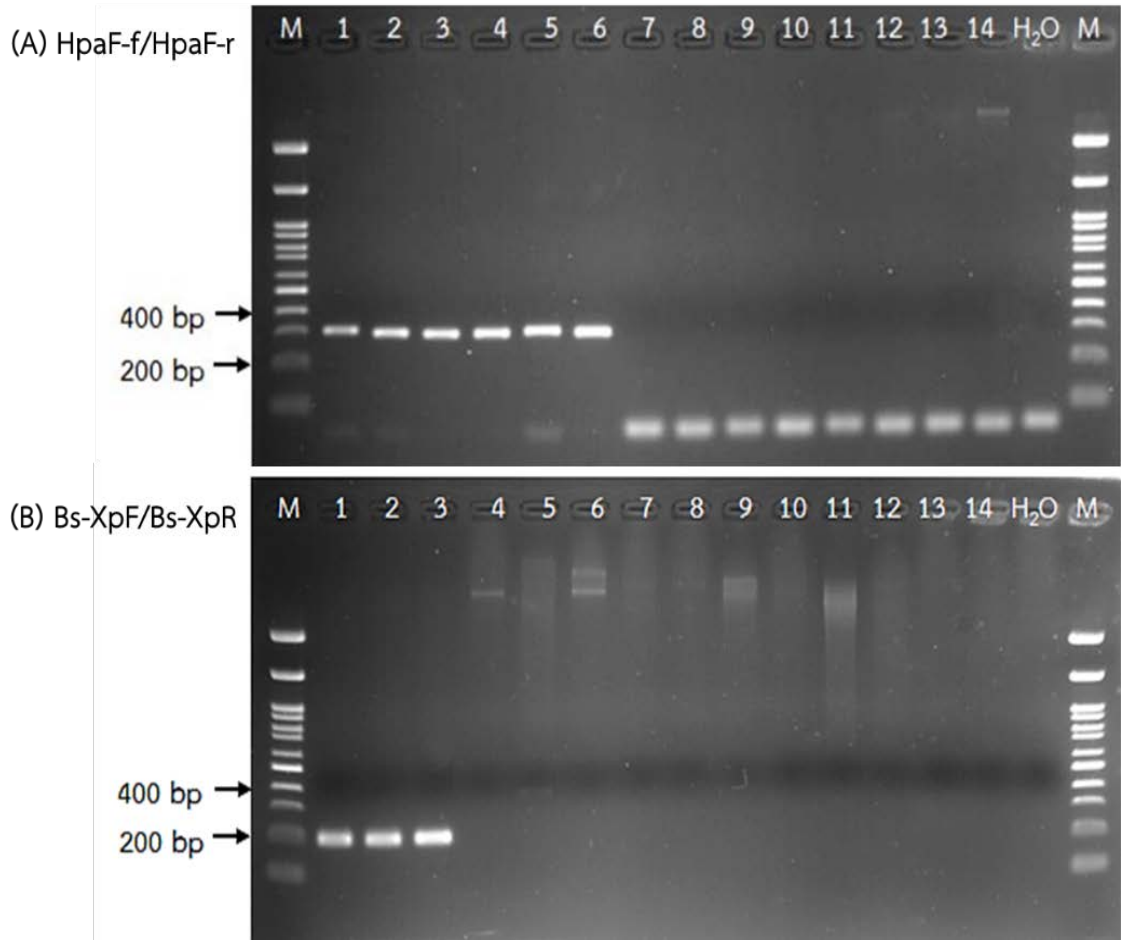


Figure 1 Specificity of primer pairs for *Xanthomonas perforans* diagnosis using PCR technique. (A) HpaF-f/HpaF-r primers (B) Bs-XpF/Bs-XpR primers; M: onemark 100, lane 1-6: *X. perforans*, lane 7: *X. euvesicatoria*, lane 8: *X. axonopodis* pv. *manihotis*, lane 9: *X. campestris* pv. *campestris*, lane 10: *X. citri* pv. *citri*, lane 11: *X. oryzae* pv. *oryzae*, lane 12: *X. oryzae* pv. *oryzicola*, lane 13: *Acidovorax cattleyae*, lane 14: *A. Citrulli*

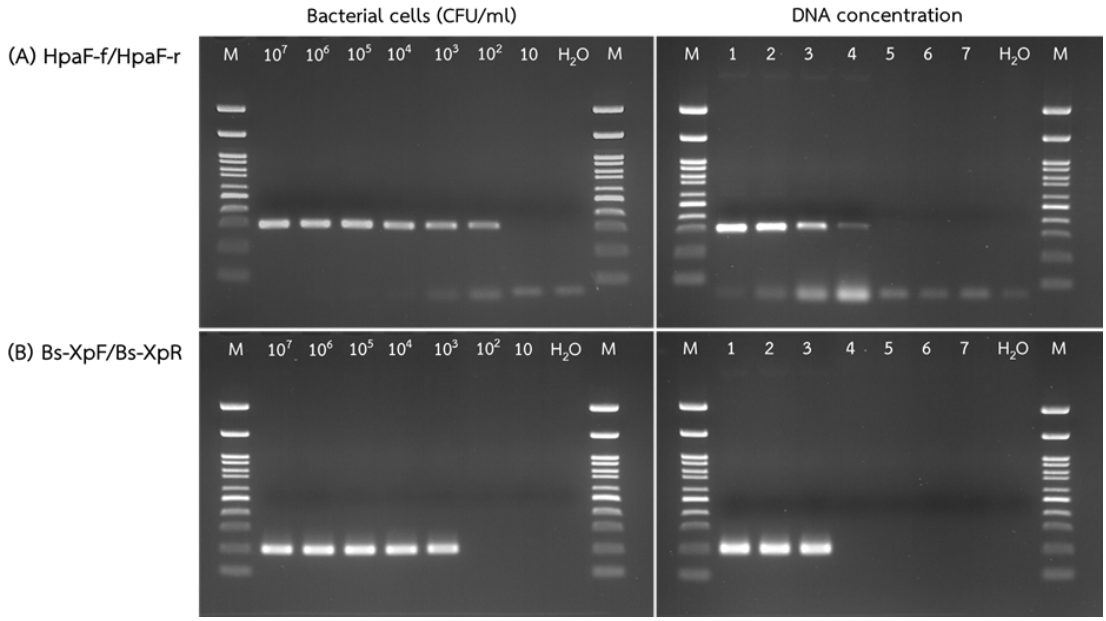


Figure 2 Sensitivity of primer pairs for *Xanthomonas perforans* diagnosis using PCR technique. (A) HpaF-f/HpaF-r primers (B) Bs-XpF/Bs-XpR primers; M: onemark 100, lane 1-7: 10 fold dilution of bacterial DNA (5 ng/µl)

พัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas vesicatoria* สาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ

Developing Method to Detection of *Xanthomonas vesicatoria* Causing Bacterial Spot of Chili 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 2565 - กันยายน 2566 ได้ดำเนินการทดสอบความจำเพาะและความไวของวิธีการตรวจสอบแบคทีเรีย *X. vesicatoria* ด้วยเทคนิค PCR พบว่าไพรเมอร์ Xv-gyrB-F/Xv-gyrB-R และไพรเมอร์ Xv1/Xv2 มีประสิทธิภาพและมีความจำเพาะต่อเชื้อแบคทีเรีย *X. vesicatoria*

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 ดังนั้นเทคนิควิธีการตรวจสอบเชื้อที่รวดเร็วและแม่นยำ 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

นำดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบมาวัดความเข้มข้นและคุณภาพของดีเอ็นเอที่ช่วงคลื่น A260/A280 ด้วยเครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (U 2001 UV/Vis, Hitachi Instruments, Inc., USA) และปรับความเข้มข้นดีเอ็นเอเท่ากับ 50 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร เพื่อนำไปทดสอบความจำเพาะ

ของไพรเมอร์ด้วยเทคนิค PCR และทดสอบความไวในการตรวจสอบโดยใช้ยีนสังเคราะห์ของแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ ที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 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 2565 – กันยายน 2566

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ทดสอบความจำเพาะของไพรเมอร์ต่อเชื้อแบคทีเรีย *X. vesicatoria* พบว่าไพรเมอร์ Xv-gyrB-F/Xv-gyrB-R สามารถตรวจยีนสังเคราะห์ *gyrB* และไพรเมอร์ Xv1/Xv2 ตรวจยีนสังเคราะห์ *atpD* ซึ่งได้จากการสังเคราะห์ยีนของแบคทีเรีย *X. vesicatoria* LMG 911 (type strain) และ *X. vesicatoria* LMG 923 ได้ถูกต้อง ไม่เกิดผลบวกกับแบคทีเรียชนิดอื่นที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ แบคทีเรีย *X. perforans*, *X. euvesicatoria*, *X. campestris* pv. *campestris*, *X. citri* pv. *citri*, *X. oryzae* pv. *oryzae*, *X. oryzae* pv. *oryzicola*, *Acidovorax cattleyae*, *A. citrulli*, *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli*, *Dickeya zeae*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* และ *Ralstonia solanacearum* (Figure 1) ไพรเมอร์ทั้งสองคู่มีความไวในการตรวจยีนสังเคราะห์ที่มีความเข้มข้นดีเอ็นเอ 5 เฟมโตกรัมต่อไมโครลิตร (Figure 2)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบความจำเพาะและความไวของวิธีการตรวจสอบแบคทีเรีย *X. vesicatoria* ด้วยเทคนิค PCR พบว่าไพรเมอร์ Xv-gyrB-F/Xv-gyrB-R สามารถตรวจยีนสังเคราะห์ *gyrB* และไพรเมอร์ Xv1/Xv2 ตรวจยีนสังเคราะห์ *atpD* ซึ่งได้จากการสังเคราะห์ยีนของแบคทีเรีย *X. vesicatoria* LMG 911 และ *X. vesicatoria* LMG 923 ได้ถูกต้อง ไม่เกิดผลบวกกับแบคทีเรียชนิดอื่นที่ใช้ในการทดสอบ ไพรเมอร์ทั้งสองคู่มีความไวของวิธีการตรวจสอบเท่ากันโดยสามารถตรวจสอบยีนสังเคราะห์ได้ที่ความเข้มข้นดีเอ็นเอ 5 เฟมโตกรัมต่อไมโครลิตร

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.

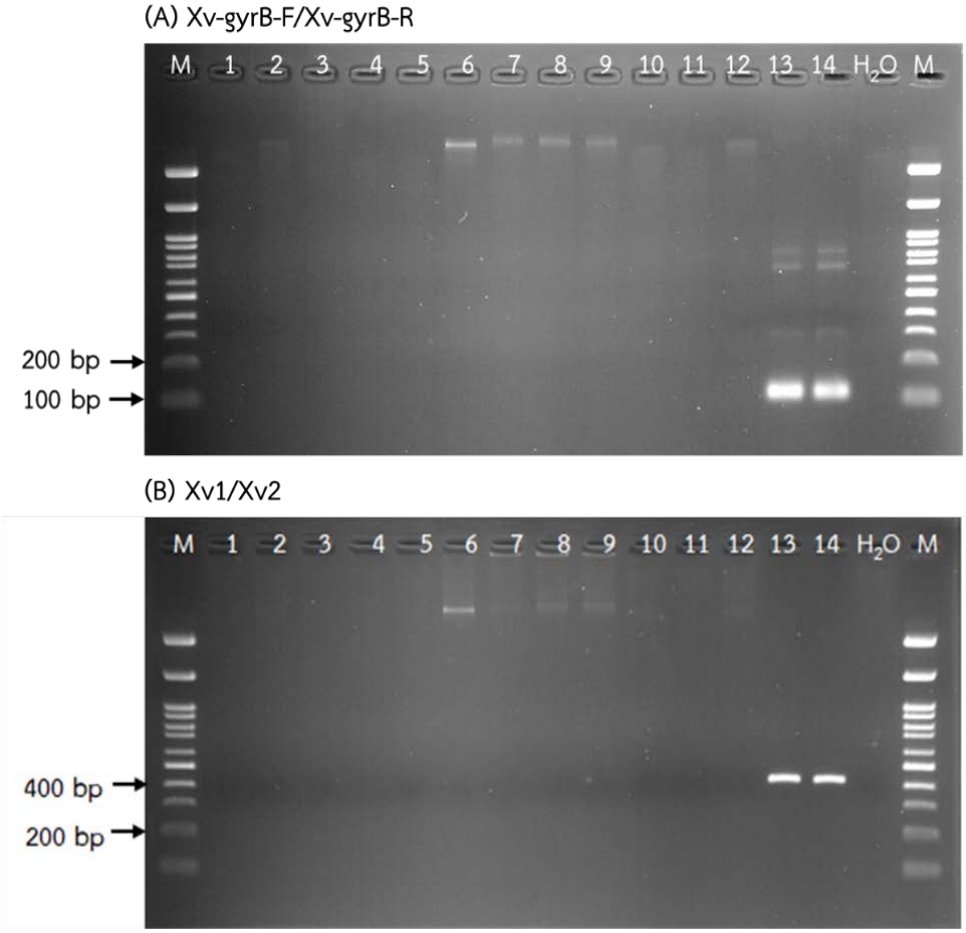


Figure 1 Specificity of primer pairs for *Xanthomonas vesicatoria* diagnosis using PCR technique. (A) Xv-gyrB-F/Xv-gyrB-R primers (B) Xv1/Xv2 primers; M: onemark 100, lane 1: *X. perforans*, lane 2: *X. euvesicatoria*, lane 3: *X. campestris* pv. *campestris*, lane 4: *X. citri* pv. *citri*, lane 5: *X. oryzae* pv. *oryzae*, lane 6: *X. oryzae* pv. *oryzicola*, lane 7: *Acidovorax cattleyae*, lane 8: *A. citrulli*, lane 9: *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli*, lane 10: *Dickeya zeae*, lane 11: *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, lane 12: *Ralstonia solanacearum*, lane 13: *X. vesicatoria* strain LMG 923 (*atpD* gene/ gyrB gene), lane 14: *X. vesicatoria* strain LMG 911 (*atpD* gene/ gyrB gene)

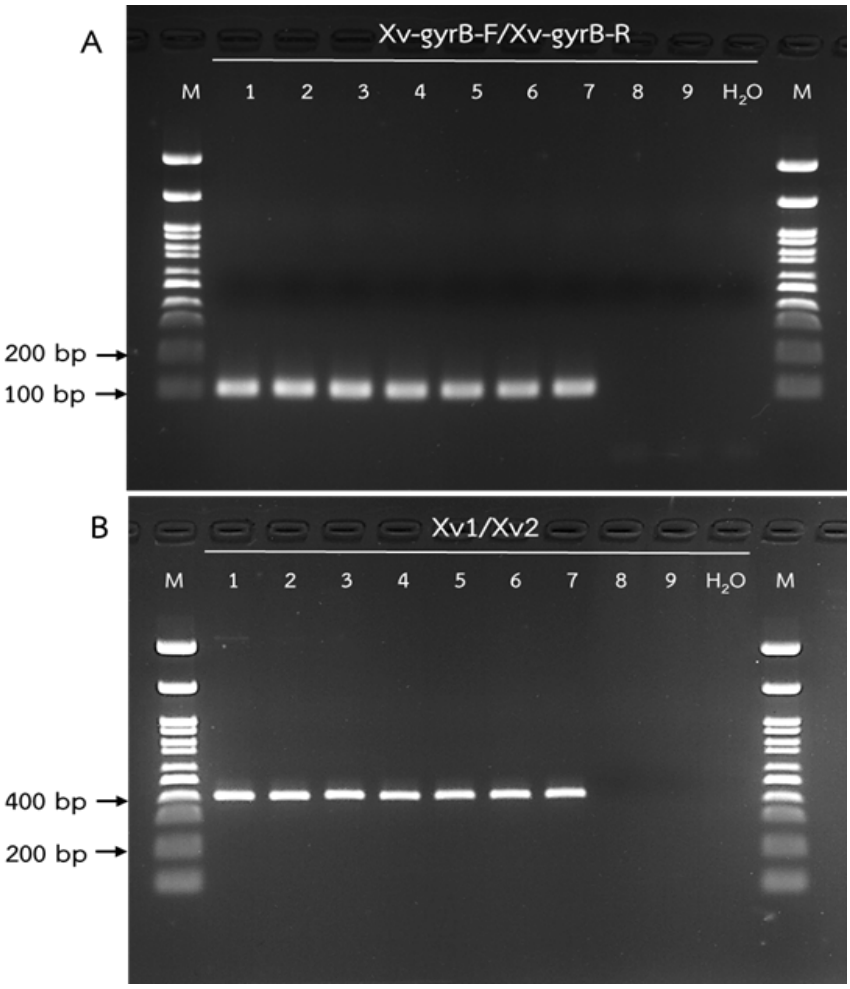


Figure 2 Sensitivity of primer pairs for *Xanthomonas vesicatoria* diagnosis using PCR technique. (A) gyrB-F/Xv-gyrB-R primers (B) Xv1/Xv2 primers; M: onemark 100, lane 1-9: 10 fold dilution of gene synthesis (50 ng/µl)

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 ทองเครั็ง ธิติยา ชยาภัคพัฒนา

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การทำปฏิกิริยา real-time PCR ด้วยคู่ไพรเมอร์ RAD-F และ RAD-R มี melting temperature (tm) เท่ากับ 84 องศาเซลเซียส มีความจำเพาะเจาะจงต่อไส้เดือนฝอย *R. similis* เพียงชนิดเดียว สามารถตรวจไส้เดือนฝอย *R. similis* เชิงปริมาณได้โดยเปรียบเทียบจากกราฟมาตรฐาน โดยตรวจไส้เดือนฝอย *R. similis* ได้ตั้งแต่ 1 ตัวขึ้นไป การทำปฏิกิริยา LAMP PCR สำหรับตรวจไส้เดือนฝอย *R. similis* โดยใช้คู่ไพรเมอร์ที่ออกแบบให้มีความจำเพาะเจาะจงกับส่วน D2-D3 region ของ rDNA gene พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยา LAMP PCR คือ 61 องศาเซลเซียส 45 นาที มีความไวในการตรวจดีเอ็นเอไส้เดือนฝอย *R. similis* ได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 10 พิโคกรัม/ไมโครลิตร และมีความจำเพาะเจาะจงต่อไส้เดือนฝอย *R. similis* เพียงชนิดเดียว

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

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

5. 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

5.1 เปรียบเทียบความจำเพาะเจาะจง (specificity)

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

5.2 เปรียบเทียบความไว (sensitivity)

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

5.3 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

5.4 เปรียบเทียบผลการตรวจตัวอย่างประเภทต่าง ๆ

ทดสอบประสิทธิภาพการตรวจตัวอย่างดีเอ็นเอที่สกัดจากดิน น้ำ หรือรากพืชที่มีไส้เดือนฝอย *R. Similis*

การบันทึกข้อมูล

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

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

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

4. บันทึกเปรียบเทียบผลการตรวจตัวอย่างประเภทต่างๆ ของเทคนิค LAMP PCR และ Real-time PCR ในการตรวจไส้เดือนฝอย *R. Similis*

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2564 – กันยายน 2567

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ได้ผลการตรวจยืนยันชนิดของไส้เดือนฝอย *R. similis* โดยใช้ลักษณะทางสัณฐาน และเทคนิค PCR ด้วยคู่ไพรเมอร์ RsimF/RsimR ที่จำเพาะต่อไส้เดือนฝอย *R. similis* ด้วยเทคนิค PCR ได้สภาวะที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยา real-time PCR โดยใช้คู่ไพรเมอร์ RAD-F: AGACTTGATGAG CGCA GA และ RAD-R: CGTGCCAGAGGAAGTGA (Krisna and Eapen, 2019) ที่จำเพาะเจาะจงกับยีนส่วน ITS ของ *R. similis* ผลการทำปฏิกิริยา real-time PCR พบว่าคู่ไพรเมอร์ RAD-F และ RAD-R มี melting temperature (tm) เท่ากับ 84 องศาเซลเซียส ผลการทดสอบความจำเพาะเจาะจงโดยทดสอบกับดีเอ็นเอของไส้เดือนฝอย *R. similis* ไส้เดือนฝอยศัตรูพืชชนิดอื่น ๆ และไส้เดือนฝอยที่ไม่ใช่ศัตรูพืชที่มักพบในตัวอย่างดิน พบว่าปฏิกิริยา Real-time PCR มีความจำเพาะเจาะจงต่อไส้เดือนฝอย *R. similis* เพียงชนิดเดียว ผลการทดสอบความไวของปฏิกิริยา real-time PCR พบว่าสามารถตรวจดีเอ็นเอได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 10 เฟมโตกรัม/ไมโครลิตร สามารถตรวจไส้เดือนฝอย *R. similis* เชิงปริมาณได้โดยเปรียบเทียบจากกราฟมาตรฐาน โดยตรวจไส้เดือนฝอย *R. similis* ได้ตั้งแต่ 1 ตัวขึ้นไป ได้สภาวะที่เหมาะสมในการทำปฏิกิกริยา LAMP PCR สำหรับตรวจไส้เดือนฝอย *R. similis* โดยใช้คู่ไพรเมอร์ที่ออกแบบให้มีความจำเพาะเจาะจงกับส่วน D2-D3 region ของ rDNA gene พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยา LAMP PCR คือ 61 องศาเซลเซียส 45 นาที มีความไวในการตรวจดีเอ็นเอไส้เดือนฝอย *R. similis* ได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 10 พิโคกรัม/ไมโครลิตร และผลการทดสอบความจำเพาะเจาะจงโดยทดสอบกับดีเอ็นเอของไส้เดือนฝอย *R. similis* ไส้เดือนฝอยศัตรูพืชชนิดอื่น ๆ และไส้เดือนฝอยที่ไม่ใช่ศัตรูพืชที่มักพบในตัวอย่างดิน พบว่าปฏิกิริยา LAMP PCR มีความจำเพาะเจาะจงต่อไส้เดือนฝอย *R. similis* เพียงชนิดเดียว

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากผลการทดลองได้ปฏิกิริยา real-time PCR ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อไส้เดือนฝอย *R. similis* เพียงชนิดเดียว สามารถตรวจไส้เดือนฝอย *R. similis* เชิงปริมาณได้โดยเปรียบเทียบจากกราฟมาตรฐาน โดยตรวจไส้เดือนฝอย *R. similis* ได้ตั้งแต่ 1 ตัวขึ้นไป และได้ปฏิกิริยา LAMP PCR ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อไส้เดือนฝอย *R. similis* เพียงชนิดเดียว

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.

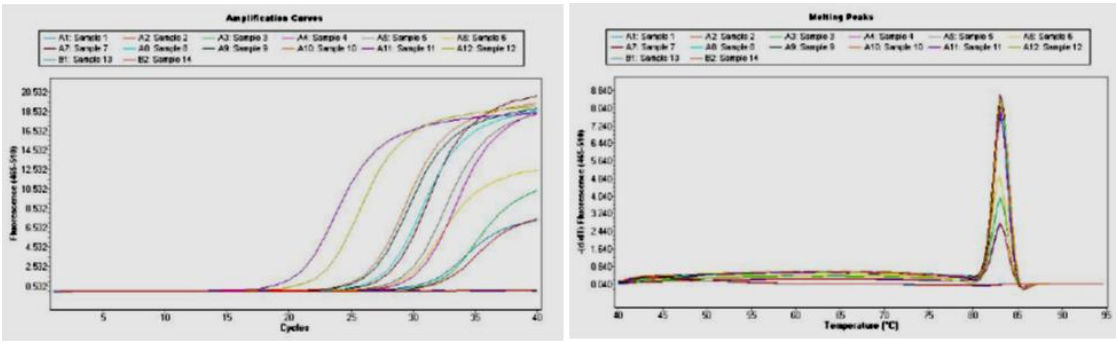
Peng, H., H. Long., W. Huang, J. Liu, J. Cui, L. Kong, X. Hu, J. Gu and D. Peng. 2017. Rapid, simple and direct detection of *Meloidogyne hapla* from infected root galls using loop-mediated isothermal amplification combined with FTA technology. *Scientific Reports* 7: 44853.

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).

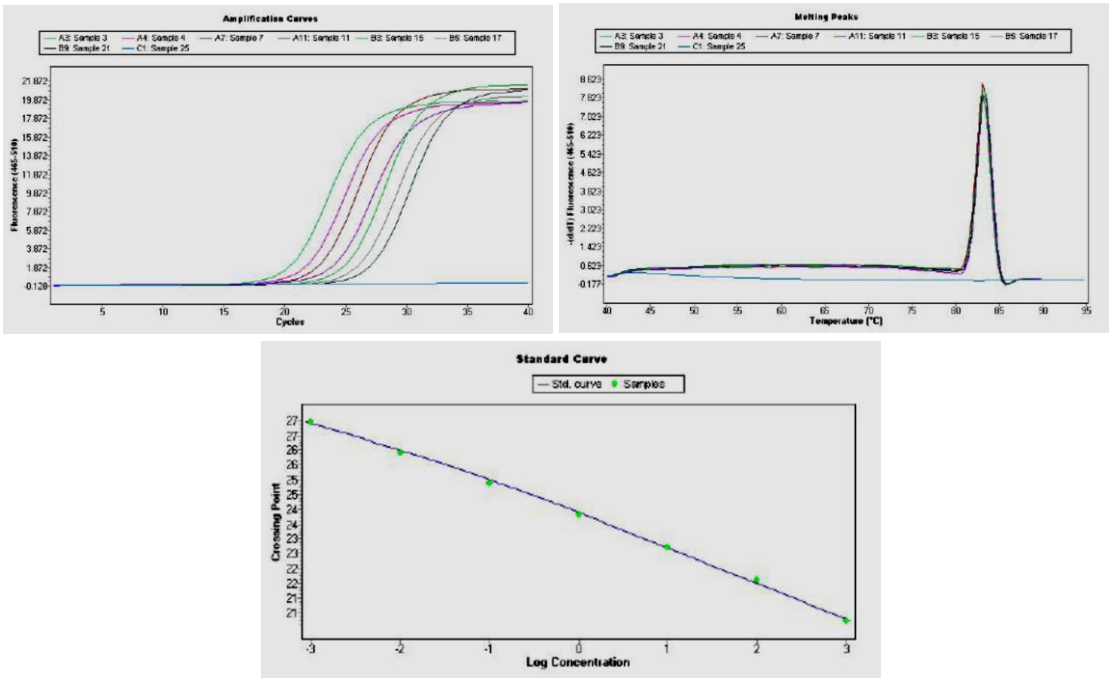
Toyota, K., T. Shirakashi, E. Sato, S. Wada and Y.Y. Min. 2008. Development of a real-time PCR method for the potato-cyst nematode *Globodera rostochiensis* and the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Soil Science and Plant Nutrition* 54: 72-76.

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.

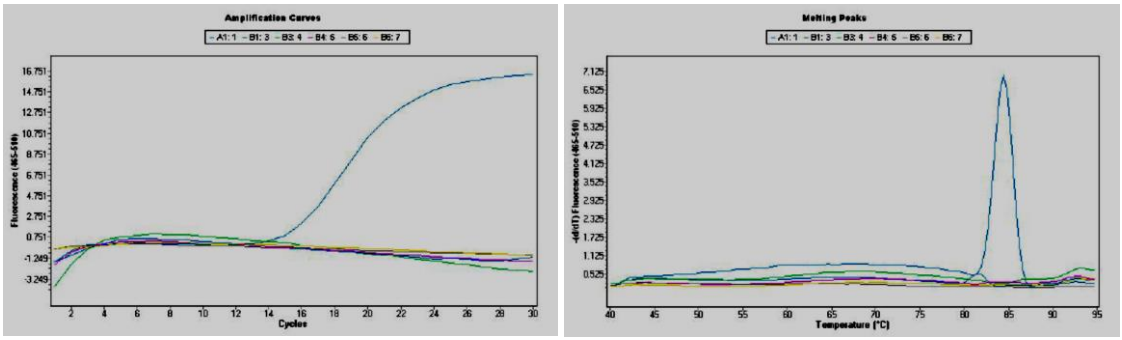
Zijlstra, C. and R. Van Hoof. 2006. A multiplex real-time polymerase chain reaction (TaqMan) assay for the simultaneous detection of *Meloidogyne chitwoodi* and *M. fallax*. *Phytopathology* 96: 1255-1262.



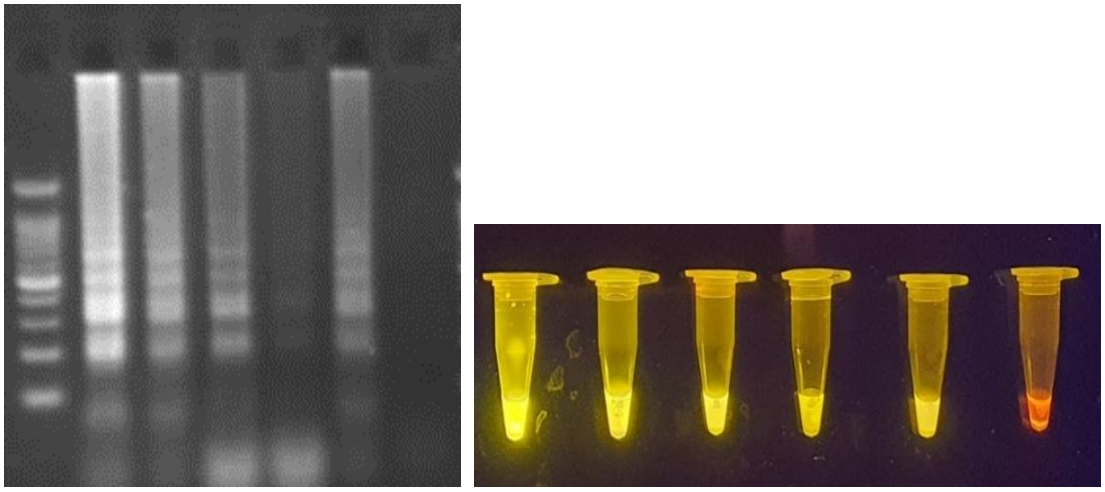
ภาพที่ 1 ค่า melting curve ที่ใช้เป็นเกณฑ์ในการตรวจสอบการมีหรือไม่มีผลผลิต PCR เป้าหมาย พบว่าค่า Tm ของคู่ไพรเมอร์ RAD-F และ RAD-R ที่มีความจำเพาะต่อไส้เดือนฝอย *R. similis* เท่ากับ 84 องศาเซลเซียส



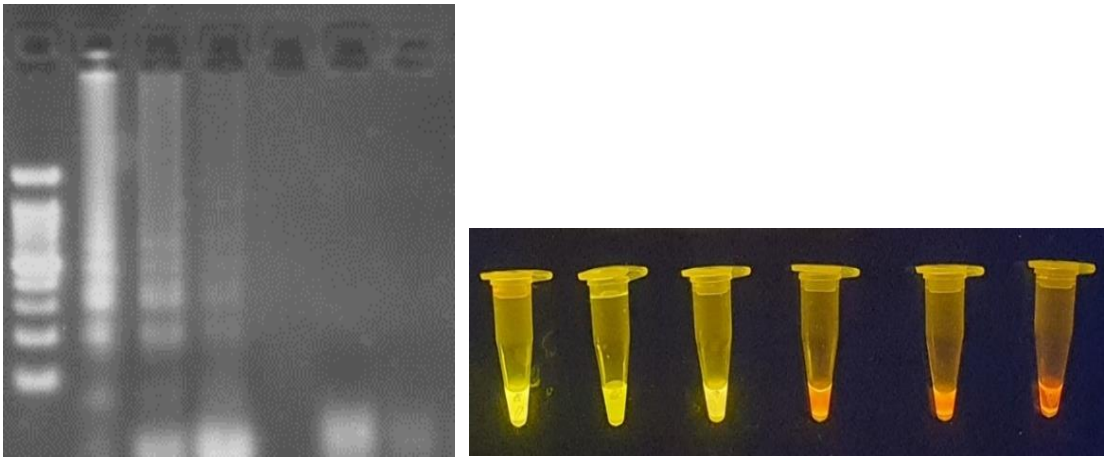
ภาพที่ 2 ทดสอบความไว (sensitivity) ของปฏิกิริยา real-time PCR เจือจาง DNA แบบ 10-fold dilution ให้มีความเข้มข้น 8 ระดับ พบว่าสามารถตรวจดีเอ็นเอได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 10 เฟมโตกรัม/ไมโครลิตร



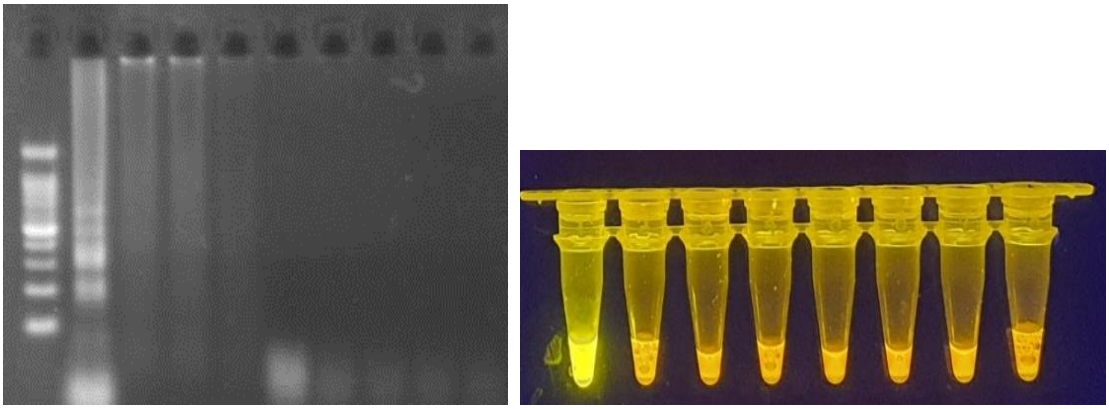
ภาพที่ 3 ทดสอบจำเพาะเจาะจง (specificity) ของปฏิกิริยา real-time PCR โดยทดสอบกับดีเอ็นเอของไส้เดือนฝอย *R. similis* ไส้เดือนฝอยศัตรูพืชชนิดอื่น ๆ และไส้เดือนฝอยที่ไม่ใช่ศัตรูพืชที่มักพบในตัวอย่างดิน พบว่าปฏิกิริยา Real-time PCR มีความจำเพาะเจาะจงต่อไส้เดือนฝอย *R. similis* เพียงชนิดเดียว



ภาพที่ 4 สภาวะที่เหมาะสมในการทำปฏิกิกริยา LAMP PCR สำหรับตรวจไส้เดือนฝอย *R. similis* โดยใช้คู่ไพรเมอร์ที่ออกแบบให้มีความจำเพาะเจาะจงกับส่วน D2-D3 region ของ rDNA gene พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยา LAMP PCR คือ 61 องศาเซลเซียส 45 นาที



ภาพที่ 5 ทดสอบความไว (sensitivity) ของปฏิกิริยา LAMP PCR เจือจาง DNA แบบ 10-fold dilution ให้มีความเข้มข้น 8 ระดับ พบว่าสามารถตรวจดีเอ็นเอได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 10 พิโคกรัม/ไมโครลิตร



ภาพที่ 6 ทดสอบจำเพาะเจาะจง (specificity) ของปฏิกิริยา LAMP PCR โดยทดสอบกับดีเอ็นเอของไส้เดือนฝอย *R. similis* ไส้เดือนฝอยศัตรูพืชชนิดอื่น ๆ และไส้เดือนฝอยที่ไม่ใช่ศัตรูพืชที่มักพบในตัวอย่างดิน พบว่าปฏิกิริยา LAMP PCR มีความจำเพาะเจาะจงต่อไส้เดือนฝอย *R. similis* เพียงชนิดเดียว

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

การพัฒนาเทคนิคที่มีความแม่นยำและรวดเร็วเพื่อตรวจสอบชนิดของ *Trichoderma* โดยใช้เทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR)-based และไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะ โดยการดำเนินงานระหว่าง ตุลาคม 2565-กันยายน 2566 ได้ออกแบบไพร์เมอร์จำเพาะบนยีนตำแหน่ง ITS และ *tef1* เมื่อทำการทดสอบไพร์เมอร์กับฐานข้อมูลของเชื้อรา *Trichoderma* ได้ไพร์เมอร์ที่จำเพาะต่อเชื้อรา *T. asperellum* ระดับของกลุ่ม complex บนยีน ITS จำนวน 2 คู่ และยีน *tef1* จำนวน 1 คู่ โดยไพรเมอร์ทั้ง 3 คู่ มี annealing temperature ที่เหมาะสมที่สุดคือ 60 องศาเซลเซียส ผลการทดสอบไพร์เมอร์ที่ออกแบบบนตำแหน่ง ITS กับดีเอ็นเอของเชื้อราต่างๆที่ผ่านการยืนยันชนิดแล้ว พบว่าไพรเมอร์มีความจำเพาะต่อเชื้อรา *T. asperellum* แต่ระดับความจำเพาะดังกล่าวเป็นความจำเพาะต่อทั้งกลุ่มของ *T. asperellum* complex ซึ่งต้องมีการทดสอบหรือปรับปรุงไพรเมอร์บนตำแหน่ง ITS หรือตำแหน่ง *tef1* เพิ่มเติมเพื่อพัฒนาให้ได้ความจำเพาะในระดับสปีชีส์ต่อไป

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) ดังนั้น เชื้อรา *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 เพื่อพัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อรา *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 (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 และตำแหน่ง 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

บันทึกข้อมูล 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

เวลา ตุลาคม 2565 – กันยายน 2566

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ออกแบบไพรเมอร์จำเพาะต่อเชื้อรา *T. asperellum*

ออกแบบไพร์เมอร์จำเพาะบนยีนตำแหน่ง ITS ได้จำนวน 10 คู่ และตำแหน่ง *tef1* ได้จำนวน 6 คู่

2. ทดสอบไพรเมอร์

ทำการทดสอบไพร์เมอร์กับฐานข้อมูลของเชื้อรา *Trichoderma* ในระดับของ type sequences ได้ไพร์เมอร์ที่จำเพาะต่อเชื้อรา *T. asperellum* ระดับของกลุ่ม complex บนยีน ITS จำนวน 2 คู่ และยีน *tef1* จำนวน 1 คู่ (Figure 1) และมีตำแหน่งจับของไพร์เมอร์ Trias1-F Trias2-R Trias3-F และ Trias4-R บน sequence ยีน ITS ของเชื้อรา *Trichoderma asperellum* (CBS 433.97, type sequence) ดังแสดงในภาพที่ (Figure 2) โดยไพรเมอร์ทั้ง 3 คู่ มี annealing temperature ที่เหมาะสมคือ 56-60 องศาเซลเซียส และมีอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดคือ 60 องศาเซลเซียส รวมถึงได้อุณหภูมิและเวลาในขั้นตอนการทำปฏิกิริยา PCR (Table 1)

ผลการทดสอบไพร์เมอร์ที่ออกแบบบนตำแหน่ง ITS กับ DNA ของเชื้อราต่างๆที่ผ่านการยืนยันชนิดแล้วพบว่า ไพรเมอร์ Trias1-F/ Trias2-R และ Trias3-F/ Trias4-R มีความจำเพาะต่อเชื้อรา *T. asperellum* แต่ความจำเพาะดังกล่าวเป็นความจำเพาะต่อทั้งกลุ่มของ *T. asperellum* complex คือสามารถตรวจจับได้ทั้ง *T. asperellum* และ *T. asperelloides* (Figure 3) ซึ่งต้องมีการทดสอบหรือปรับปรุงไพรเมอร์บนตำแหน่ง ITS หรือตำแหน่ง *tef1* เพิ่มเติมเพื่อพัฒนาให้ได้ความจำเพาะในระดับสปีชีส์ต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลจากการศึกษาเพื่อพัฒนาเทคนิค Polymerase Chain Reaction เพื่อการตรวจวินิจฉัยเชื้อรา *Trichoderma asperellum* ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีความซับซ้อน (complex) ซึ่งมีรายงานเชื้อราเพิ่มเติมในกลุ่มนี้ และมีความสัมพันธ์ที่ใกล้เคียงกับ *T. asperellum* มาก เช่น *T. asperelloides* ซึ่งส่งผลต่อรออกแบบไพร์เมอร์ โดยเบื้องต้นได้โดยไพร์เมอร์ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อรา *T. asperellum* ในระดับ complex อย่างไรก็ตามต้องพิจารณาจากการออกแบบโดยใช้ตำแหน่งอื่นเพิ่มเติมโดยจะทดสอบจากข้อมูลรหัสพันธุกรรมที่ใช้ในการจำแนกชนิดของเชื้อรา *Trichoderma* ต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ดร. ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล ผู้เชี่ยวชาญด้านโรคพืช ที่ให้คำแนะนำในการทดลอง ขอขอบคุณ ดร.พรพิมล อธิปัญญาคม คุณศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช อดีตผู้เชี่ยวชาญด้านโรคพืช สมาชิกเพื่อน 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) T8 a 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. 1 9 9 4 . 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. *In "PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications"* (M. Innis, D. Gelfand, J. Shinsky and T. White, eds.), Academic Press. 315-322 pp.

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.

Table 1 PCR temperature cycling conditions for specific primers to *Trichoderma asperellum* complex

PCR steps	Temperature °C	Time	Cycle
Initial denaturation	95	5 mins	1 cycle
Denaturation	95	1 min	
Annealing	60	1 min	30 cycles
Extension	72	3 mins	
Final extension	72	5 mins	1 cycle

Figure 1 The specificity of designed primers to *Trichoderma asperellum*

Figure 2 Map of primers namely, Trias1-F Trias2-R Trias3-F and Trias4-R on the ITS sequence ITS of *Trichoderma asperellum* (CBS 433.97, type sequence)

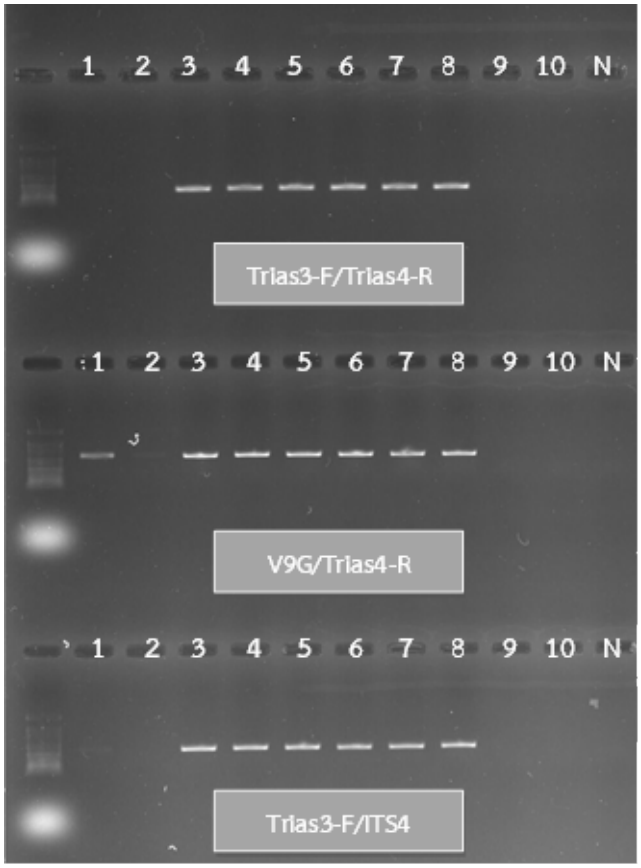


Figure 3 The results of designed primers tested with DNA templates of fungi (1: *Trichoderma harzianum*; 2: *T. lixii*; 3-5: *T. asperelloides*; 6-8: *T. asperellum*; 9-10: *Penicillium* spp.)

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 โดยทำการรวบรวมข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS, 28S rDNA (LSU) และ RPB2 ของเชื้อรา *M. anisopliae* species complex และ *M. majus* จำนวน 30 ไอโซเลท และข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราในสกุล *Metarhizium* จากฐานข้อมูล เพื่อใช้ในการออกแบบไพรเมอร์จำเพาะ ออกแบบไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อรา *M. anisopliae* ด้วยโปรแกรม Primer3 พบว่าตำแหน่งบริเวณ ITS และ 28S rDNA (LSU) ไม่สามารถออกแบบไพรเมอร์จำเพาะได้ เนื่องจากมีความเหมือนกันของลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราในสกุล *Metarhizium* ส่วนตำแหน่ง RPB2 ไพรเมอร์ที่ออกแบบได้ คือ RPB2-META-F1 (5’ AAGTTCCGTGAGCTGCCTG 3’) และ RPB2-META-R1 (5’ TGGTTCCCTTTTGACCGTGA 3’) ซึ่งมีแนวโน้นจำเพาะต่อเชื้อรา *M. anisopliae* เมื่อนำมาทดสอบกับดีเอ็นเอของเชื้อรา *Metarhizium* ที่เก็บรวบรวมโดยห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลง พบว่าตัวอย่างเชื้อรา *M. anisopliae* species complex พบชิ้นส่วนดีเอ็นเอ ขนาด 532 คู่เบส (base pair) และทำการส่งวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

คำหลัก : เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม, ไพรเมอร์จำเพาะ

รหัสการทดลอง FF65-55-04-65-02-02-65

คำนำ

ในปัจจุบันมีการนำข้อมูลทางพันธุกรรม (Genetic data) หรือข้อมูลชีวสารสนเทศน์ (Bioinformatics) มาใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะทางด้านกีฏวิทยา โรคพืช เชื้อราสาเหตุโรคพืช เชื้อราสาเหตุโรคแมลง 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 ดังนั้นส่วนนี้จึงเหมาะสำหรับการศึกษาความสัมพันธ์หรือจำแนกในระดับที่ต่ำกว่าจีนัสหรือสปีชีส์ (Lee *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

วิธีการ

ขั้นตอนที่ 1 รวบรวมข้อมูลรหัสพันธุกรรมของเชื้อราในสกุล *Metarhizium* (ปี 2565)

จากการจำแนกชนิดของเชื้อรา *Metarhizium* จากการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอในตำแหน่ง 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

ขั้นตอนที่ 2 ออกแบบไพรเมอร์จำเพาะต่อเชื้อรา *Metarhizium* (ปี 2566)

ออกแบบไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อรา *M. anisopliae* โดยการพิจารณาชุดข้อมูลของเชื้อราในสกุล *Metarhizium* และใช้โปรแกรม GPRIME หรือ Primer3 ในการออกแบบ โดยออกแบบตำแหน่งจับอยู่ภายในยีนตำแหน่ง ITS (internal transcribed spacer) ribosomal DNA, 28S rDNA (LSU) และ RPB2

<u>ทดสอบไพรเมอร์ (Primers validation)</u>

ทดสอบประสิทธิภาพและความจำเพาะของไพรเมอร์ที่ออกแบบได้กับดีเอ็นเอในฐานข้อมูล เช่น GenBank และทดสอบกับดีเอ็นเอของเชื้อรา *M. anisopliae* ที่เก็บรวบรวมโดยห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช โดยนำดีเอ็นเอของแต่ละตัวอย่างมาตรวจสอบด้วยวิธี Nested Polymerase Chain Reaction นำ PCR product ที่ได้จากการทำ PCR ตำแหน่ง ITS ซึ่งใช้ไพร์เมอร์ ITS5/ITS4 (ITS5: 5′-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG -3′/ITS4: 5′-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3′) (White *et al*.,

1990) ตำแหน่ง 28S rDNA (LSU) ใช้ไพรเมอร์ (NL1: 5′-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG -3′/NL4: 5′-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3′) (Kurtzman *et al*., 1997) และตำแหน่ง RPB2 ซึ่งใช้ไพรเมอร์ RPB2-5F3/ RPB2-7Cr2 (RPB2-5F3: 5′-GACGACCGTGATCACTTTGG-3′/RPB2-7Cr2: 5′-CCCATGGCCTGTTTGCCCAT-3′) (Liu *et al*., 1999 และ O'Donnell *et al*., 2007) มาทำ Nested PCR โดยใช้ไพรเมอร์ที่ทำการออกแบบ ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำ PCR โดยตรวจสอบขนาดของชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่ต้องการด้วย 1% agarose gel electrophoresis จากนั้นทำ PCR product ให้บริสุทธิ์ด้วย Microspin S-400 HR columm และส่งวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

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

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2567 (3 ปี)

สถานที่ 1.ห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร

2.ห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคพืชระดับโมเลกุล ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ขั้นตอนที่ 2 ออกแบบไพรเมอร์จำเพาะต่อเชื้อรา *Metarhizium* (ปี 2566)

รวบรวมข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS, 28S rDNA (LSU) และ RPB2 ของเชื้อรา *M. anisopliae* species complex และ *M. majus* จำนวน 30 ไอโซเลท และข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราในสกุล *Metarhizium* จากฐานข้อมูล เพื่อใช้ในการออกแบบไพรเมอร์จำเพาะ ออกแบบไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อรา *M. anisopliae* ด้วยโปรแกรม Primer3 พบว่าตำแหน่งบริเวณ ITS และ 28S rDNA (LSU) ไม่สามารถออกแบบไพรเมอร์จำเพาะได้ เนื่องจากมีความเหมือนกันของลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราในสกุล *Metarhizium* ส่วนตำแหน่ง RPB2 ไพรเมอร์ที่ออกแบบได้ คือ RPB2-META-F1 (5' AAGTTCCGTGAGCTGCCTG 3') และ RPB2-META-R1 (5' TGGTTCCCTTTTGACCGTGA 3') ซึ่งมีแนวโน้นจำเพาะต่อเชื้อรา *M. anisopliae*

ตรวจสอบไพรเมอร์ที่ออกแบบได้กับตัวอย่างดีเอ็นเอของเชื้อรา *Metarhizium* ที่เก็บรวบรวมโดยห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลง ส่วนผสมในปฏิกิริยา PCR (Master mix) ที่เหมาะสม คือ การเพิ่มปริมาณดีเอ็นด้วยไพรเมอร์ 2 ชนิดที่ออกแบบได้ ได้แก่ RPB2-META-F1 (5' AAGTTCCGTGAGCTGCCTG 3') และ RPB2-META-R1 (5' TGGTTCCCTTTTGACCGTGA 3') อย่างละ 10 µM และเติมด้วย 2.5 mM $MgCl_2$, 0.2 mM dNTPs, 1x PCR buffer และ 1 unit *Taq*

polymerase (Takara) (ตารางที่ 1) ซึ่งทำปฏิกิริยาที่ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที จำนวน 1 รอบ จากนั้นทำปฏิกิริยาแบบวนซ้ำที่ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที ต่อด้วยที่ 54 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที และที่ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที ทั้งหมดจำนวน 35 รอบ และรอบสุดท้ายที่ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที (ตารางที่ 2) และตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำ PCR โดยตรวจสอบขนาดของชิ้นส่วนของดีเอ็นเอ 1% agarose gel electrophoresis พบว่าตัวอย่างเชื้อรา *M. anisopliae* species complex พบชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาด 532 คู่เบส (base pair) (ภาพที่ 1) อยู่ระหว่างการส่งวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

Mayerhofer *et al*. (2019) ได้ออกแบบไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อรา *M. anisopliae*, *M. brunneum*, *M. pingshaense* และ *M. robertsii* โดยใช้ความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ nuclear ribosomal intergenic spacer (rIGS), nuclear intergenic spacer regions MzFG546 และ MzIGS2 ซึ่งไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อเชื้อรา *M. anisopliae* คือ Ma-rIGS-1648-F (ACGGTCGCACACAAATC)/Ma-rIGS-1975-R (CAGCCTACCCGGTAC) ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 328 คู่เบส ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อเชื้อรา *M. brunneum* คือ Mb-FG546-422-F (TAGTCAGTCGTTGACGC)/Mb-FG546-536-R (TCCTGTGTCGACTGTGTCGA) ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 115 คู่เบส ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อเชื้อรา *M. pingshaense* คือ Mp-IGS2-240-F (ACGGCATGGACATGCCC)/Mp-IGS2-774-R (GCCTCTCGTTACCTACGA) ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 535 คู่เบส ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อเชื้อรา *M. robertsii* คือ Mr-rIGS-444-F (ATTACCAAGTCCAAAATACTGG)/Mr-rIGS-1081-R (CATATACCCACCAACTACCC) ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 638 คู่เบส ได้ทำการทดสอบกับเชื้อรา *Metarhizium* จำนวน 68 สายพันธุ์ (12 สปีชีส์) และอีก 19 ตัวอย่างที่ยังไม่มีการระบุชนิด พบว่ามีประสิทธิภาพในการตรวจสอบชนิดของเชื้อรา *Metarhizium* ได้

Schneider *et al*. (2011) ใช้ไพรเมอร์ Ma 1763 (CCAACTCCCAACCCCTGTGAAT)/Ma 2097 (AAAACCAGCCTCGCCGAT) ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อรา *Metarhizium* clade 1 ซึ่งได้แก่ *M. majus*, *M. guizhouense*, *M. pingshaense*, *M. anisopliae*, *M. robertsii* และ *M. brunneum* โดยให้แถบดีเอ็นเอขนาด 334-339 คู่เบส เพื่อตรวจหาเชื้อรา *Metarhizium* ในสภาพธรรมชาติ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

รวบรวมข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS, 28S rDNA (LSU) และ RPB2 ของเชื้อรา *M. anisopliae* species complex และ *M. majus* จำนวน 30 ไอโซเลท และข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราในสกุล *Metarhizium* จากฐานข้อมูล เพื่อใช้ในการออกแบบไพรเมอร์จำเพาะ ออกแบบไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อรา *M. anisopliae* ด้วยโปรแกรม Primer3 พบว่าตำแหน่งบริเวณ ITS และ 28S rDNA (LSU) ไม่สามารถออกแบบไพรเมอร์จำเพาะได้ เนื่องจากมีความเหมือนกันของลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราในสกุล *Metarhizium* ส่วนตำแหน่ง RPB2 ไพรเมอร์ที่ออกแบบได้ คือ RPB2-META-F1 (5’ AAGTTCCGTGAGCTGCCTG 3’) และ RPB2-META-R1 (5’ TGGTTCCCTTTT

GACCGTGA 3') ซึ่งมีแนวโน้นจำเพาะต่อเชื้อรา *M. anisopliae* เมื่อนำมาทดสอบกับดีเอ็นเอของเชื้อรา *Metarhizium* ที่เก็บรวบรวมโดยห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลง พบว่าตัวอย่างเชื้อรา *M. anisopliae* species complex พบชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาด 532 คู่เบส (base pair) อยู่ระหว่างการส่งวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ และอุปกรณ์ในการปฏิบัติงาน ขอขอบคุณคณะทำงานกลุ่มวิจัยโรคพืชและกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักพืช ทุกท่านที่ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

Lee, Y.M., Y.K. Choi and 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.

Mayerhofer, J., A. Lutz, F. Dennert, S.A. Rehner, R.M. Kepler, F. Widmer and J. Enkerli. 2019. A species-specific multiplexed PCR amplicon assay for distinguishing between *Metarhizium anisopliae*, *M. brunneum*, *M. pingshaense* and *M. robertsii*. *Journal of invertebrate pathology*. 161: 23-28.

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.

Schneider, S., S.A. Rehner, F. Widmer and J. Enkerli. 2011. A PCR-based tool for cultivation-independent detection and quantification of *Metarhizium* clade 1. *Journal of invertebrate pathol*ogy. 108(2): 106-114.

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

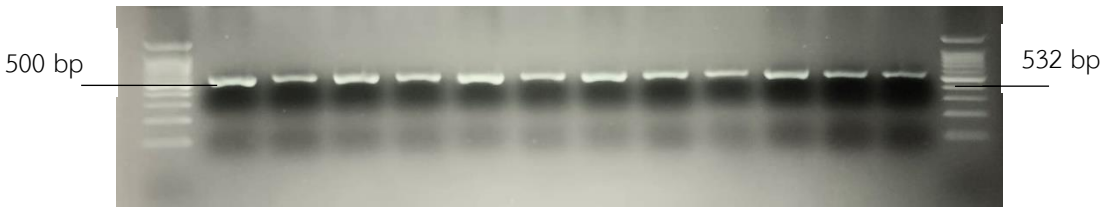
Methods and Applications" (M. Innis, D. Gelfand, J. Shinsky and T. White, eds.), *Academic Press*. 315-322 pp.

ตารางที่ 1 ส่วนผสมในปฏิกิริยา PCR (Master mix) ในการทดสอบไพรเมอร์จำเพาะ

Reagents	Final concentration	Volume (µl)
dH_2O	-	10.3
10xbuffer	1x	2.5
$MgCl_2$	2.5 mM	2.5
dNTPs	0.2 mM	2.5
10 µM RPB2-META-F1	10 µM	1
10 µM RPB2-META-R1	10 µM	1
Taq. DNA	1 u	0.2
DNA template	-	5
Total	-	**25**

ตารางที่ 2 อุณหภูมิและเวลาในขั้นตอนการทำปฏิกิริยา PCR (PCR program) ในการทดสอบไพรเมอร์จำเพาะ

PCR steps	Temperature	Time	Number of cycles
initial denaturation	94°C	3 min	1 cycle
denaturation	94°C	1 min	35 cycles
annealing	54°C	30 sec	
extension	72°C	2 min	
final extension	72°C	10 min	1 cycle



ภาพที่ 1 เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* มีผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาดประมาณ 532 bp

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

Abstract

The goal of this study is to develop modified vapor heat treatment to disinfest of *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in papaya [*Carica papaya* L.] fruits to meet the plant quarantine regulation without damaging fruit quality. Modified vapor heat treatment (MVHT) was tested for its effectiveness to eliminate the oriental fruit fly (OFF), *B. dorsalis* first instar larva as the most heat tolerant stage in papaya of "Khak Dam" cultivar. Mortality of the OFF first instar larva was evaluated at fruit temperature 46.5° C, 47°C, 47°C + 10 min. and 47°C + 20 min. It was found that none of approximately 3,000 individuals of the first instar larva treated survived after subjecting to MVHT of fruit center temperature 47°C for 0 min. Based on this experiment was used to determine treatment schedule for standard quarantine treatment in large-scale confirmatory test of MVHT for papaya "Khak Dam" infested with OFF.

Keywords : modified vapor heat treatment, *Carica papaya*, post-harvest quarantine treatment

รหัสการทดลอง FF65-55-05-65-00-01-65

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในผลมะละกอพันธุ์แขกดำ ได้ตามมาตรฐานวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชระหว่างประเทศ โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของมะละกอหลังอบไอน้ำ การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* เบื้องต้น ในผลมะละกอพันธุ์แขกดำ โดยศึกษาอัตราการตายของแมลงที่อุณหภูมิผล 46.5 °C, 47 °C, 47 °C + 10 นาที และ 47 °C + 20 นาที ผลการทดลองพบว่า ที่อุณหภูมิ 47 °C นาน 0 นาที มีประสิทธิภาพกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัยที่ 1 ซึ่งเป็นวัยที่ทนทานต่อความร้อนมากที่สุด ในมะละกอพันธุ์แขกดำ ให้ตายทั้งหมด จากผลการทดลองนี้ ได้ทราบประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* เบื้องต้น จำนวนไม่น้อยกว่า 3,000 ตัว ในมะละกอพันธุ์แขกดำ ตามมาตรฐานของวิธีกำจัดศัตรูพืชกักกัน เพื่อใช้ศึกษายืนยันประสิทธิภาพกระบวนการอบไอน้ำในการกำจัดแมลงวันผลไม้จำนวนมาก เพื่อใช้เป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชต่อไป

คำหลัก : วิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์, มะละกอ, วิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช

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 ได้อย่างมีประสิทธิภาพตามมาตรฐานของวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกัน

พืช 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* ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในมะละกอพันธุ์แขกดำ ที่มีประสิทธิภาพตรงตามมาตรฐานด้านกักกันพืช โดยไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพของผลไม้ เพื่อใช้ในการเจรจาเปิดตลาดส่งออกผลไม้สดไปยังประเทศที่เข้มงวดด้านกักกันพืชได้มากขึ้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. มะละกอพันธุ์แขกดำ
2. แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis*
3. ตู้อบไอน้ำกำจัดแมลงขนาดเล็กสำหรับงานทดลอง 2 เครื่อง
4. ตู้ลดอุณหภูมิผลไม้
5. ห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้ 2 ห้อง
6. เครื่องอ่างน้ำร้อน
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. การเลี้ยงแมลงวันผลไม้จำนวนมากด้วยอาหารเทียมเพื่อเพิ่มปริมาณและเพื่อใช้ในการทดลอง

แมลงวันผลไม้ที่ใช้ในทดลอง ได้มาจากแมลงวันผลไม้ที่เข้าทำลายผลมะม่วงในพื้นที่อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา โดยทำการรวบรวมและเลี้ยงจนเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัย จากนั้นจะคัดแยกชนิดอย่างละเอียดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ คัดแยกแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis*, *B. carambolae* และ *B. papayae* ออกจากกัน แล้วจึงนำแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยไปเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการและเพิ่มจำนวนให้มากขึ้น ใช้เทคนิคและวิธีการเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์ตามวิธีการของ Watanabe *et al*., (1973) และอุดร (2541) โดยใช้การเลี้ยงด้วยอาหารเทียม (artificial diet) ที่ห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้ ของกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. บันทึกอัตราการฟักของไข่ (hatching rate)
2. บันทึกอัตราการออกเป็นตัวเต็มวัย (emerging rate)
3. น้ำหนักของดักแด้
4. อัตราส่วนของเพศผู้และเพศเมีย (sex ratio)

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2565 - กันยายน 2566

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

2. ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้เบื้องต้นในผลมะละกอพันธุ์แขกดำ

มะละกอทดลองเป็นพันธุ์แขกดำมีผลขนาดกลาง การเตรียมมะละกอทดลองให้มีหนอนวัย 1 ภายในผล ตามวิธีการ มลนิภาและคณะ (2555) โดยใส่หนอนวัย 1 ในผล จำนวน 100 ตัว/ผล จากนั้นนำมะละกอทดลอง ใส่ตู้อบไอน้ำ อบมะละกอด้วยวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (ช่วงแรกของการเพิ่มอุณหภูมิผลก่อนถึง 43 °C อากาศร้อนที่หมุนเวียนผ่านมะละกอจะมีความชื้นสัมพัทธ์ 50-80 เปอร์เซ็นต์เมื่ออุณหภูมิผลถึง 43 °C ความชื้นสัมพัทธ์จะถูกปรับให้มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์) อบมะละกอจนอุณหภูมิภายในสุดผลถึง 46.5 °C, 47 °C, 47 °C + 10 นาที และ 47 °C + 20 นาที การวัดอุณหภูมิภายในสุดผลมะละกอ วัดจากเซ็นเซอร์วัดอุณหภูมิผล จำนวน 3 ผล ซึ่งวางในถาดบรรจุผลไม้ชั้นล่างสุด เมื่อเซ็นเซอร์วัดอุณหภูมิผล จำนวน 2 ผล ถึงอุณหภูมิและเวลาดังกล่าว นำมะละกอออกจากตู้อบไอน้ำ และลดอุณหภูมิผลมะละกอทันที โดยการเป่าด้วยลมนาน 1 ชั่วโมง ในตู้ลดอุณหภูมิผลไม้ (Sanshu shower cooling system: รุ่น SHS-12) บันทึกจำนวนแมลงรอดชีวิต หลัง

อบมะละกอ 5 วัน โดยคำนวณอัตราการตายที่แท้จริง (corrected mortality) ตามสูตรของ Abbott (Abbott, 1925) เพื่อเปรียบเทียบอัตราการตายของหนอนวัยที่ 1

การบันทึกข้อมูล

1. ตรวจสอบค่าอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์จากกระดาษบันทึกอุณหภูมิและความชื้นของตู้อบไอน้ำ
2. บันทึกอัตราการตายของหนอนวัยที่ 1 (corrected mortality)

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2565 - กันยายน 2566

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

Table 1 แสดงเวลาในการอบมะละกอให้อุณหภูมิผลคงอยู่ที่ 46.5 °C, 47 °C, 47 °C + 10 นาที และ 47 °C + 20 นาที ในการทดลองอบมะละกอจำนวน 4 ครั้ง โดยการอบมะละกอให้อุณหภูมิภายในสุดผลเพิ่มขึ้นถึง 46.5 °C ใช้เวลานาน 2:28, 2:23, 2:26, 2:38 ชั่วโมง, ที่อุณหภูมิ 47 °C ใช้เวลานาน 2:51, 2:37, 2:46, 2:47 ชั่วโมง, ที่อุณหภูมิ 47 °C + 10 ใช้เวลานาน 3:01, 2:47, 2:56, 2:57 ชั่วโมง และที่อุณหภูมิ 47 °C + 20 นาที ใช้เวลานาน 3:11, 2:57, 3:06, 3:07 ชั่วโมง ในการทดลองครั้งที่ 1-4 ตามลำดับ โดยในช่วงแรกของการเพิ่มอุณหภูมิผลถึง 43 °C ซึ่งแมลงอยู่ภายใต้สภาพอากาศร้อนความชื้นสัมพัทธ์ 50 เปอร์เซ็นต์ ใช้เวลานานเฉลี่ย 1:50 ชั่วโมง ขณะที่ในช่วงเพิ่มอุณหภูมิจาก 43 °C ถึง 47 °C ความชื้นสัมพัทธ์สูงมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ใช้เวลานานเฉลี่ย 0:78 ชั่วโมง **(Table 2)** ผลการทดลองจำนวน 4 ครั้ง แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิผลมะละกอถึงอุณหภูมิที่กำหนดใช้เวลาใกล้เคียงกันมาก

อัตราการตายของหนอนวัยที่ 1 ในมะละกอที่อุณหภูมิ 46.5 °C, 47 °C, 47 °C + 10 นาที และ 47 °C + 20 นาที เฉลี่ย 98.89, 100, 100 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังแสดงใน **Table 3** ความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศร้อนในช่วงเพิ่มอุณหภูมิผลมะละกอถึง 43 °C มีผลกระทบต่อการตายของแมลงโดยตรง ถ้าความชื้นสัมพัทธ์ในช่วงดังกล่าวนี้เพิ่มสูงขึ้น อัตราการตายของแมลงจะเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของอุดร และคณะ (2549) การอบมะละกอภายใต้ความชื้นสัมพัทธ์ที่ 50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นระดับความชื้นสัมพัทธ์ต่ำสุดที่มีผลกระทบต่อคุณภาพของมะละกอค่อนข้างน้อย แต่เป็นสภาพที่เอื้ออำนวยต่อการรอดชีวิตของแมลง ผลการทดลองพบว่าอุณหภูมิ 47 °C นาน 0 นาที มีประสิทธิภาพกำจัดหนอนวันที่ 1 ในมะละกอพันธุ์แขกดำ จำนวนไม่น้อยกว่า 3,000 ตัว ให้ตายทั้งหมด ตามมาตรฐานของวิธีกำจัดศัตรูพืชกักกัน **(Fig 1-3)**

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากผลการทดลองนี้ ได้ทราบประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* จำนวนไม่น้อยกว่า 3,000 ตัว ในมะละกอพันธุ์แขกดำ ให้ตายทั้งหมด ตามมาตรฐานของวิธีกำจัดศัตรูพืชกักกัน เพื่อใช้การศึกษายืนยันประสิทธิภาพกระบวนการอบไอน้ำในการกำจัดแมลงวันผลไม้จำนวนมากเพื่อใช้เป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชต่อไป

การนำผลงานไปใช้ประโยชน์

1. เพื่อนำผลการศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะละกอพันธุ์แขกดำไปพัฒนาวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ให้ได้มาตรฐาน 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 Time for center of "Khak Dam" papaya to attain target temperature for various holding times during modified vapor heat treatment in preliminary disinfestation test

Rep	Load factor (kg/cum)	Sensor fruit weight (g)			Temperature Time (min.)[1/]			
					46.5 ° C	47.0 ° C	47.0 ° C+10 m.	47.0 ° C+20 m.
1	13	764.50	767.52	778.37	2:28	2:51	3:01	3:11
2	13	755.00	760.12	762.10	2:23	2:37	2:47	2:57
3	13	735.30	748.35	765.20	2:26	2:46	2:56	3:06
4	13	760.12	765.20	770.15	2:38	2:47	2:57	3:07

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

Table 2 Time for center of "Khak Dam" papaya to attain 43.0 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 47.0 °C (h)[1/]	Time form 43.0 to 47.0 °C (h)[1/]
1	1:51	2:51	1:00
2	1:43	2:37	0:57
3	1:50	2:46	1:01
4	1:57	2:47	0:55
Average	**1:50**	**2:45**	**0:78**

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

Table 3 Mortality of first instar larvae of *Bactrocera dorsalis* on "Khak Dam" papaya treated by modified vapor heat treatment with different final temperatures and hold times

Treatment[1]	Number treated	Number dead	Mortality[2] (%)
Control	3,000	590	0.00
46.5 °C	1,500	1,470	98.89
47 °C + 0:0 min	1,500	1,500	100.00
47 °C + 0:10 min.	1,500	1,500	100.00
47 °C + 0:20 min.	1,500	1,500	100.00

[1/]Each VHT replicate consisted of three fruits, each infested with 100 individuals/fruit and each control replicate consisted of three fruits, each infested with 100 individuals/fruit.

[2/]Corrected mortality using Abbott Formula totaling 1,500 individuals in each VHT treatment and total of 3,000 individuals in the controls.

Figure 1 Ripe papaya fruits were artificially infested by using “Beneath the Peel Method” (Srimartpirom *et al*., 2023)

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 preliminary disinfestation of “Khak Dam” papaya at desired target fruit center temperatures (right)

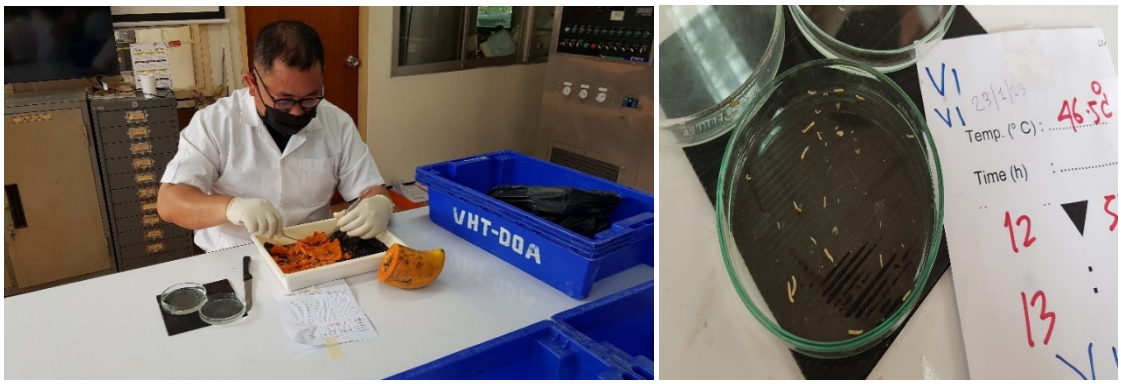


Figure 3 Mortality rate was determined by dissecting test fruits at 5 days post treatment

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

กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

The goal of this study is to develop modified vapor heat treatment to disinfest of *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in papaya [*Carica papaya* L.] fruits to meet the plant quarantine regulation without damaging fruit quality. Modified vapor heat treatment (MVHT) was tested for its effectiveness to eliminate the oriental fruit fly (OFF), *B. dorsalis* first instar larva as the most heat tolerant stage in papaya of "Khak Nuan" cultivar. Mortality of the OFF first instar larva was evaluated at fruit temperature 46.5° C, 47°C, 47°C + 10 min. and 47°C + 20 min. It was found that none of approximately 3,000 individuals of the first instar larva treated survived after subjecting to MVHT of fruit center temperature 47°C for 10 min. Based on this experiment was used to determine treatment schedule for standard quarantine treatment in large-scale confirmatory test of MVHT for papaya "Khak Nuan" infested with OFF.

Keywords : modified vapor heat treatment, *Carica papaya*, post-harvest quarantine treatment

รหัสการทดลอง FF65-55-05-65-00-02-65

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* (Hendel) ในผลมะละกอพันธุ์แขกนวล ได้ตามมาตรฐานวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชระหว่างประเทศ โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของมะละกอหลังอบไอน้ำ การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* เบื้องต้น ในผลมะละกอพันธุ์แขกนวล โดยศึกษาอัตราการตายของแมลงที่อุณหภูมิผล 46.5 °C, 47 °C, 47 °C + 10 นาที และ 47 °C + 20 นาที ผลการทดลองพบว่า ที่อุณหภูมิ 47 °C นาน 10 นาที มีประสิทธิภาพกำจัดหนอนวันที่ 1 ในมะละกอพันธุ์แขกนวล จำนวนไม่น้อยกว่า 3,000 ตัว ให้ตายทั้งหมด จากผลการทดลองนี้ ได้ทราบประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* เบื้องต้น จำนวนไม่น้อยกว่า 3,000 ตัว ในมะละกอพันธุ์แขกนวลให้ตายทั้งหมด ตามมาตรฐานของวิธีกำจัดศัตรูพืชกักกัน เพื่อใช้การศึกษายืนยันประสิทธิภาพกระบวนการอบไอน้ำในการกำจัดแมลงวันผลไม้จำนวนมากเพื่อใช้เป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชต่อไป

คำหลัก : วิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์, มะละกอ, วิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช

คำนำ

มะละกอ *Carica papaya* L. เป็นหนึ่งในผลไม้ที่มีศักยภาพในการส่งออก เนื่องจากประเทศไทยจัดอยู่ในลำดับที่ 9 ของผู้ผลิตมะละกอทั่วโลก (Songpol, 2011) พันธุ์ที่นิยมปลูกเป็นการค้า คือ พันธุ์แขกนวล แขกดำ แขกดำท่าพระ ฮอลแลนด์ เรดเลดี้ และปากช่อง โดยเฉพาะมะละกอฮอลแลนด์ผลสุกเป็นพันธุ์ที่ขายได้ราคาสูง เนื่องจากให้ผลดก ผลคล้ายลูกฟักอ่อน มีเนื้อสีแดงอมส้ม รสชาติหวาน เปลือกหนา จึงทำให้ทนทานต่อโรค และการขนส่งได้ดี (จริงแท้, 2552; Thaipong *et al*., 2011) อย่างไรก็ดี มะละกอเป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ 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. แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis*
3. ตู้อบไอน้ำกำจัดแมลงขนาดเล็กสำหรับงานทดลอง 2 เครื่อง
4. ตู้ลดอุณหภูมิผลไม้
5. ห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้ 2 ห้อง
6. เครื่องอ่างน้ำร้อน
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. การเลี้ยงแมลงวันผลไม้จำนวนมากด้วยอาหารเทียมเพื่อเพิ่มปริมาณและเพื่อใช้ในการทดลอง

แมลงวันผลไม้ที่ใช้ในทดลอง ได้มาจากแมลงวันผลไม้ที่เข้าทำลายผลมะม่วงในพื้นที่อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา โดยทำการรวบรวมและเลี้ยงจนเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัย จากนั้นจะคัดแยกชนิดอย่างละเอียดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ คัดแยกแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis*, *B. carambolae* และ *B. papayae* ออกจากกัน แล้วจึงนำแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยไปเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการและเพิ่มจำนวนให้มากขึ้น ใช้เทคนิคและวิธีการเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์ตามวิธีการของ Watanabe *et al*., (1973) และอุดร (2541) โดยใช้การเลี้ยงด้วยอาหารเทียม (artificial diet) ที่ห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้ ของกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. บันทึกอัตราการฟักของไข่ (hatching rate)
2. บันทึกอัตราการออกเป็นตัวเต็มวัย (emerging rate)
3. น้ำหนักของดักแด้
4. อัตราส่วนของเพศผู้และเพศเมีย (sex ratio)

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2565 - กันยายน 2566

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

2. ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้เบื้องต้นในผลมะละกอพันธุ์แขกนวล

มะละกอทดลองเป็นพันธุ์แขกนวลมีผลขนาดกลาง การเตรียมมะละกอทดลองให้มีหนอนวัย 1 ภายในผล ตามวิธีการ มลนิภาและคณะ (2555) โดยใส่หนอนวัย 1 ในผล จำนวน 100 ตัว/ผล จากนั้นนำมะละกอทดลอง ใส่ตู้อบไอน้ำ อบมะละกอด้วยวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (ช่วงแรกของการเพิ่มอุณหภูมิผลก่อนถึง 43 °C อากาศร้อนที่หมุนเวียนผ่านมะละกอจะมีความชื้นสัมพัทธ์ 50-80 เปอร์เซ็นต์เมื่ออุณหภูมิผลถึง 43 °C ความชื้นสัมพัทธ์จะถูกปรับให้มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์) อบมะละกอจนอุณหภูมิภายในสุดผลถึง 46.5 °C, 47 °C, 47 °C + 10 นาที และ 47 °C + 20 นาที การวัดอุณหภูมิภายในสุดผลมะละกอ วัดจากเซ็นเซอร์วัดอุณหภูมิผล จำนวน 3 ผล ซึ่งวางในถาดบรรจุผลไม้ชั้นล่างสุด เมื่อเซ็นเซอร์วัดอุณหภูมิผล จำนวน 2 ผล ถึงอุณหภูมิและเวลาดังกล่าว นำมะละกอออกจากตู้อบไอน้ำ และลดอุณหภูมิผลมะละกอทันที โดยการเป่าด้วยลมนาน 1 ชั่วโมง ในตู้ลดอุณหภูมิผลไม้ (Sanshu shower cooling system: รุ่น SHS-12) บันทึกจำนวนแมลงรอดชีวิตหลังอบมะละกอ 5 วัน โดยคำนวณอัตราการตายที่แท้จริง (corrected mortality) ตามสูตรของ Abbott (Abbott, 1925) เพื่อเปรียบเทียบอัตราการตายของหนอนวัยที่ 1

การบันทึกข้อมูล

1. ตรวจสอบค่าอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์จากกระดาษบันทึกอุณหภูมิและความชื้นของตู้อบไอน้ำ
2. บันทึกอัตราการตายของหนอนวัยที่ 1 (corrected mortality)

เวลาสถานที่

เวลา ตุลาคม 2565 - กันยายน 2566

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

Table 1 แสดงเวลาในการอบมะละกอให้อุณหภูมิผลคงอยู่ที่ 46.5 ℃, 47 ℃, 47 ℃ + 10 นาที และ 47 ℃ + 20 นาที ในการทดลองอบมะละกอจำนวน 4 ครั้ง โดยการอบมะละกอให้อุณหภูมิภายในสุดผลเพิ่มขึ้นถึง 46.5 ℃ ใช้เวลานาน 2:46, 3:04, 2:46, 2:31 ชั่วโมง, ที่อุณหภูมิ 47 ℃ ใช้เวลานาน 3:01, 3:35, 3:01, 2:42 ชั่วโมง, ที่อุณหภูมิ 47 ℃ + 10 ใช้เวลานาน 3:11, 3:45, 3:11, 2:52 ชั่วโมง และที่อุณหภูมิ 47 ℃ + 20 นาที ใช้เวลานาน 3:21, 3:55, 3:21, 3:02 ชั่วโมง ในการทดลองครั้งที่ 1-4 ตามลำดับ โดยในช่วงแรกของการเพิ่มอุณหภูมิผลถึง 43 °C ซึ่งแมลงอยู่ภายใต้สภาพอากาศร้อนความชื้นสัมพัทธ์ 50 เปอร์เซ็นต์ ใช้เวลานานเฉลี่ย 1:90 ชั่วโมง ขณะที่ในช่วงเพิ่มอุณหภูมิจาก 43 °C ถึง 47 ℃ ความชื้นสัมพัทธ์สูงมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ใช้เวลานานเฉลี่ย 0:98 ชั่วโมง **(Table 2)** ผลการทดลองจำนวน 4 ครั้ง แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิผลมะละกอถึงอุณหภูมิที่กำหนดใช้เวลาใกล้เคียงกันมาก

อัตราการตายของหนอนวัยที่ 1 ในมะละกอที่อุณหภูมิ 46.5 ℃, 47 ℃, 47 ℃ + 10 นาที และ 47 ℃ + 20 นาที เฉลี่ย 92.36, 99.87, 100 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังแสดงใน **Table 3** ความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศร้อนในช่วงเพิ่มอุณหภูมิผลมะละกอถึง 43 °C มีผลกระทบต่อการตายของแมลงโดยตรง ถ้าความชื้นสัมพัทธ์ในช่วงดังกล่าวนี้เพิ่มสูงขึ้น อัตราการตายของแมลงจะเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของอุดร และคณะ (2549) การอบมะละกอภายใต้ความชื้นสัมพัทธ์ที่ 50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นระดับความชื้นสัมพัทธ์ต่ำสุดที่มีผลกระทบต่อคุณภาพของมะละกอค่อนข้างน้อย แต่เป็นสภาพที่เอื้ออำนวยต่อการรอดชีวิตของแมลง ผลการทดลองพบว่าอุณหภูมิ 47 °C นาน 10 นาที มีประสิทธิภาพกำจัดหนอนวันที่ 1 ในมะละกอพันธุ์แขกนวล จำนวนไม่น้อยกว่า 3,000 ตัว ให้ตายทั้งหมด ตามมาตรฐานของวิธีกำจัดศัตรูพืชกักกัน **(Fig 1-3)**

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากผลการทดลองนี้ ได้ทราบประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* จำนวนไม่น้อยกว่า 3,000 ตัว ในมะละกอพันธุ์แขกนวลให้ตาย

ทั้งหมด ตามมาตรฐานของวิธีกำจัดศัตรูพืชกักกัน เพื่อใช้การศึกษายืนยันประสิทธิภาพกระบวนการอบไอน้ำในการกำจัดแมลงวันผลไม้จำนวนมากเพื่อใช้เป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชต่อไป

การนำผลงานไปใช้ประโยชน์

1. เพื่อนำผลการศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะละกอพันธุ์แขกนวลไปพัฒนาวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ให้ได้มาตรฐาน 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 Time for center of "Khak Nuan" papaya to attain target temperature for various holding times during modified vapor heat treatment in preliminary disinfestation test

Rep	Load factor (kg/cum)	Sensor fruit weight(g)			Temperature Time (min.)[1/]			
					46.5 ° C	47.0 ° C	47.0 ° C+10 m.	47.0 ° C+20 m.
1	15	1,068.96	1,073.72	1,079.78	2:46	3:01	3:11	3:21
2	15	1,075.51	1,080.38	1,085.46	3:04	3:35	3:45	2:55
3	15	1,070.20	1,075.15	1,078.83	2:46	3:01	3:11	3:21
4	15	1,063.15	1,068.24	1,072.00	2:31	2:42	2:52	3:02

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

Table 2 Time for center of "Khak Nuan" papaya to attain 43.0 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 47.0 °C (h)[1/]	Time form 43.0 to 47.0 °C (h)[1/]
1	2:01	3:01	1:00
2	2:10	3:35	1:25
3	1:49	2:42	0:53
4	2:03	2:16	1:16
Average	**1:90**	**2:73**	**0:98**

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

Table 3 Mortality of first instar larvae of *Bactrocera dorsalis* on "Khak Nuan" papaya treated by modified vapor heat treatment with different final temperatures and hold times

Treatment[1]	Number treated	Number dead	Mortality[2] (%)
Control	3,000	587	0.00
46.5 °C	1,500	1,450	92.36
47 °C + 0:0 min	1,500	1,499	99.87
47 °C + 0:10 min.	1,500	1,500	100.00
47 °C + 0:20 min.	1,500	1,500	100.00

[1/]Each VHT replicate consisted of three fruits, each infested with 100 individuals/fruit and each control replicate consisted of three fruits, each infested with 100 individuals/fruit.

[2/] Corrected mortality using Abbott Formula totaling 1,500 individuals in each VHT treatment and total of 3,000 individuals in the controls.

Figure 1 First instar larvae of *Bactrocera dorsalis* were counted under the microscope prepare to inoculation in to the ripe papaya fruits before treatment

Figure 2 Monitoring of fruit center temperature inside the VHT chamber was done by inserted sensor probe to the center of papaya fruit and test fruits were subjected to MVHT to determine preliminary disinfestation of "Khak Nuan"papaya at desired target fruit center temperatures

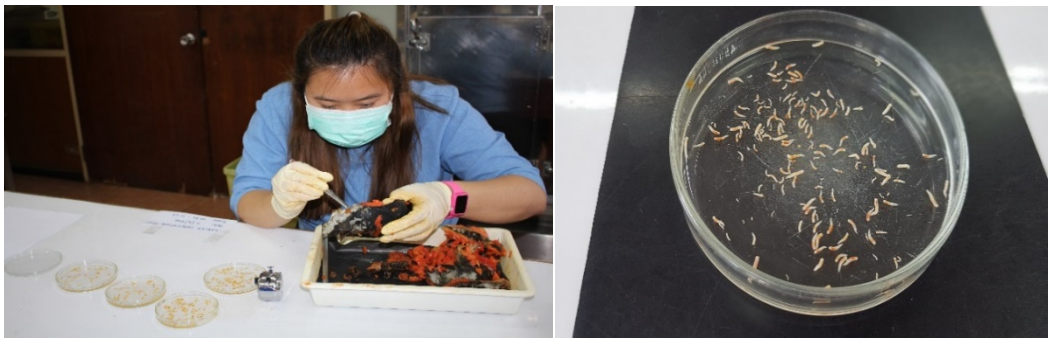


Figure 3 Mortality rate was determined by dissecting test fruits at 5 days post treatment

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 มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์
ปวีณา บูชาเทียน ศิริพร คงทวี
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

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 commercial export simulation test was determined to Modified Vapor Heat Treatment (MVHT) in Man Duen Kaw mango to assess the effect of proposed quarantine treatment schedule on fruit quality of mango under simulated condition of air and sea shipments. Fruits were treated with MVHT until fruit center temperature 47 °C for 20 minutes. The commercial export simulation test kept under air and sea shipment simulation tests showed no difference in fruit quality from untreated fruits.

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

รหัสการทดลอง FF 65-55-05-65-00-03-65

บทคัดย่อ

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

การศึกษาความเสียหายต่อคุณภาพผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้าเพื่อประเมินความเสียหายของกระบวนการอบไอน้ำในสภาพจำลองการส่งออกมะม่วงทางเครื่องบินและทางเรือ โดยทำการอบมะม่วงที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที จากนั้นเก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 15 องศาเซลเซียส นาน 7 และ14 วัน พบว่า การสูญเสียน้ำหนัก ปริมาณน้ำตาล ปริมาณกรด อาการเกิดโรคของผลมะม่วง และอาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที โดยคุณภาพความหวานของมะม่วงไม่เปลี่ยนแปลง

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

คำนำ

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

ซึ่งสอดคล้องกับนโยบายของกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ในการช่วยเหลือเกษตรกรที่ได้รับผลกระทบโดยส่งเสริมและผลักดันให้มีการส่งออกมะม่วงเพิ่มมากขึ้น

สินค้าเกษตรที่สำคัญของประเทศไทยหลายชนิดไม่สามารถส่งออกไปจำหน่ายยังประเทศที่เข้มงวดทางด้านกักกันพืช เนื่องจากประเทศไทยเป็นแหล่งแพร่ระบาดของโรคและศัตรูพืชที่สำคัญทางด้านกักกันพืช ประเทศไทยมีแมลงวันผลไม้หลายชนิดแพร่ระบาด แต่ที่มีความสำคัญทางด้านกักกันพืชมี 2 ชนิด ได้แก่ แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* และแมลงวันแตง *B. cucurbitae* ซึ่งมีความสำคัญทางด้านกักกันพืชระหว่างประเทศ (White and Elson-Harris, 1992; Iwaizumi, 2004) ประเทศไทยปลูกมะม่วงได้หลากหลายพันธุ์ โดยแต่ละพันธุ์มีคุณสมบัติที่แตกต่างกันไปถึงแม้การส่งออกจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นทุกปี การส่งเสริมมะม่วงพันธุ์ใหม่ ๆ 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 ซึ่งการเข้า

ทำลายของแมลงวันผลไม้สามารถเข้าทำลายได้ตั้งแต่อยู่ในแปลงปลูก (กรมวิชาการเกษตร, 2562; Thomas, 2004; Jennifer and Gillett-Kaufman, 2012) การทำลายอาจรุนแรงมากถึง 100 เปอร์เซ็นต์ หากไม่มีการป้องกันกำจัด ตามข้อตกลงของการอนุญาตการนำเข้าพืชผักและผลไม้ของประเทศญี่ปุ่น ประเทศไทยจำเป็นต้องดำเนินการตามมาตรฐานขั้นตอนการยกเลิกห้ามการนำเข้าสิ่งต้องห้ามที่เป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ (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 และ 2559 กระทรวงเกษตรป่าไม้และประมงญี่ปุ่นได้อนุญาตให้มีการนำเข้ามะม่วงเพิ่มเติมอีก 3 พันธุ์ดังกล่าว (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 กระทรวงเกษตรป่าไม้และประมงญี่ปุ่นได้อนุญาตให้มีการนำเข้าส้มโอพันธุ์ทองดีจากประเทศไทยเข้าไปจำหน่ายใน

ประเทศญี่ปุ่นได้อีกหนึ่งชนิด (Unahawutti *et al.*,2006) นอกจากนี้ยังประสบความสำเร็จในการศึกษาวิจัยและพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์มีประสิทธิภาพสูงสามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมังคุด จำนวน 3 ชนิด คือ *B. dorsalis*, *B. carambolae* และ *B. papayae* (ชัยณรัตน์และคณะ 2562; 2563) และได้ส่งรายงานผลการศึกษาวิจัยให้กับทางสำนักงานกักกันและตรวจสอบสุขอนามัยพืชและสัตว์ไต้หวัน (bureau of animal and plant inspection and quarantine, BAPHIQ) พิจารณา โดยเมื่อวันที่ 12 กรกฎาคม 2562 สำนักงานกักกันและตรวจสอบสุขอนามัยพืชและสัตว์ไต้หวันอนุญาตให้นำเข้าผลมังคุดสดจากประเทศไทยเข้าไปจำหน่ายในประเทศไต้หวันได้ 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-1000D 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. สืบค้นฐานข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะประจำพันธุ์ชีววิทยาของมะม่วงมันเดือนเก้าเพื่อใช้ในการทดลอง

โดยการสืบค้นข้อมูลทางเว็บไซต์ของกรมวิชาการเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร และจากแหล่งข้อมูลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องต่าง ๆ ทั้งในประเทศและต่างประเทศ ซึ่งได้จัดหาและคัดเลือกมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า **(Figure 1)** เพื่อนำมาใช้ในการทดลองในขั้นตอนของการกำจัดแมลงด้วยความร้อนและขั้นตอนของการประเมินความเสียหายต่อความร้อน 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 ในระหว่างการทดลองจะต้องมีแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยอายุต่าง ๆ 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 รวบรวมไข่แมลงด้วยวิธีเติมน้ำสะอาดในกระบอกพลาสติกเก็บไข่แล้วเขย่าเบา ๆ เพื่อให้ไข่ที่ติดอยู่ด้านข้างภายในกระบอกหลุด ใช้ผ้ามัสลินขนาด 150 เมช แยกไข่ออกจากน้ำส้ม รวบรวมไข่ทั้งหมดที่ได้ใส่ในน้ำกลั่นเก็บไว้ในถ้วยแก้ว (beaker) ขนาด 200 มิลลิเมตร หลังจากนั้นนำไข่ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารเทียมพร้อมทั้งตรวจหาอัตราการฟักไข่ด้วยวิธีสุ่มไข่จำนวน 100 ฟอง วางไข่

ให้กระจายเป็นแถวยาวบนกระดาษกรองสีดำที่ชุ่มน้ำเก็บไว้ในจานแก้ว (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 เกลี่ยไข่ด้วยพู่กันให้กระจายทั่ว ๆ กันบนกระดาษชำระ ด้วยวิธีการนี้จะช่วยให้หนอนไม่แก่งแย่งอาหารกันเมื่อฟักออกจากไข่ ปิดถาดอาหารเทียมด้วยถาดเปล่าอีกหนึ่งใบ เพื่อให้ภายในมีความชื้น ซึ่งเป็นสิ่งจำเป็นมากสำหรับไข่จะฟักออกเป็นหนอน นำถาดอาหารเก็บไว้ในห้องเลี้ยงแมลงจนกระทั่งหนอนเจริญเติบโตเต็มที่

ระยะดักแด้: หนอนแมลงวันผลไม้เจริญเติบโตเต็มที่พร้อมที่จะเข้าดักแด้ภายใน 6 วัน เปิดฝาครอบถาดอาหารเทียม และย้ายไปวางไว้ในภาชนะสำหรับให้แมลงเข้าดักแด้ ซึ่งเป็นกระบะพลาสติกขนาด 43x74x23 เซนติเมตร ภายในบรรจุขี้เลื่อย ขนาด 20 เมช พรมน้ำให้ชื้นพอประมาณสำหรับให้หนอนเข้าดักแด้ หนอนวัย 3 ที่เจริญเติบโตเต็มที่พร้อมจะเข้าดักแด้จะดีดตัวออกจากอาหารเทียมและเข้าดักแด้ในขี้เลื่อย ก่อนที่ดักแด้จะออกเป็นตัวเต็มวัยประมาณ 2 วัน ใช้ตระแกรงขนาด 20 เมช 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 ซึ่งการเตรียมผลมะม่วงให้สุกนั้นมีวิธีการทำโดยวางมะม่วงในตะกร้าพลาสติก บ่มมะม่วงโดยใช้แคลเซียมคาร์ไบด์ (CaC2) เพื่อเป็นการกระตุ้นการสุกของผลมะม่วง ปิดตะกร้าด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ หลังจากนั้นประมาณ 2-3 วัน มะม่วงที่ใช้ในการทดลองจะสุกเต็มที่ จากนั้นนำ

มะม่วงที่สุกไปเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิประมาณ 10-15 องศาเซลเซียส เพื่อรอการนำไปใช้ในการทดลอง

3.1 การเตรียมแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1

เก็บไข่จากแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยซึ่งเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการตามวิธีการข้างต้น 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

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 ให้รวมกันเป็นกลุ่ม ๆ ละ 100 ตัว ในการทดลองใช้มะม่วงขนาดกลางน้ำหนัก 300-400 กรัม/ผล ใช้มีดผ่าตัด (scapel) เจาะเข้าไปภายในเนื้อมะม่วงให้ลึกประมาณ 2 มิลลิเมตร กรีดเป็นรอยแผลสี่เหลี่ยม 3 ด้าน ขนาด 2x3 เซนติเมตร เจาะรูขนาด 2 มิลลิเมตร ตรงกลางรอยแผลสี่เหลี่ยมจำนวน 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 ให้หนอนชอนไชลึกเข้าไปภายในผลมะม่วงก่อนแล้วจึงนำมะม่วงเข้าเครื่องตู้อบความร้อน

4. รูปแบบของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า

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

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 (เซ็นเซอร์กำหนดอุณหภูมิผลมะม่วง (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 โดยช่วงแรกจะให้ความร้อนด้วยวิธีอบอากาศร้อน 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. การศึกษาความเสียหายต่อคุณภาพผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า

การประเมินความเสียหายของกระบวนการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ต่อมะม่วงในสภาพจำลองการส่งออกมะม่วงทางเครื่องบินและทางเรือ โดยตรวจสภาพความผิดปกติของผลมะม่วงซึ่งมะม่วงทุกผลจะต้องไม่มีร่องรอยการทำลายของแมลงหรือรอยแตก แยกเป็นมะม่วงที่ผ่านความร้อน (treatment) จำนวน 120 ผล และมะม่วงที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อน จำนวน 40 ผล นำมะม่วงทดลองเข้าเครื่องต้อบความร้อนวางมะม่วงที่ผ่านความร้อนไว้ในกระบะชั้นล่างสุดใส่ในภาชนะบรรจุผลไม้แบบกระบะพลาสติกแข็งทนความร้อนขนาด 36x70x15 เซนติเมตร จำนวน 3 กระบะ ในแต่ละกระบะมีมะม่วงทดลอง จำนวน 20 ผล/กระบะ **(Figure 13)** แยกเป็นมะม่วงที่ผ่านความร้อน (treatment) ทางเครื่องบิน จำนวน 30 ผล และทางเรือ จำนวน 30 ผล และใส่มะม่วงที่ไม่ใช้ในการทดลอง (filler fruit) เฉลี่ยจำนวนเท่า ๆ กัน ให้เต็มความจุของกระบะ ใน

กระบะบรรจุผลไม้อีก 9 กระบะ และนำไปวางซ้อนลงบนกระบะซึ่งบรรจุมะม่วงทดลองในสภาพที่ห้องบรรจุผลไม้ของเครื่องตู้อบความร้อนมีปริมาณมะม่วง 100 เปอร์เซ็นต์ ของความจุตู้ **(Figure 14)** เพื่อประเมินความเสียหายของกระบวนการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที อบมะม่วงโดยการเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วงให้เป็นไปตามข้อ 6 และ6.2 โดยช่วงแรกจะให้ความร้อนด้วยวิธีอบอากาศร้อน อากาศร้อนที่หมุนเวียนภายในตู้อบความร้อนมีความชื้นสัมพัทธ์ระหว่าง 50-80 เปอร์เซ็นต์ จนกระทั่งเมื่ออุณหภูมิภายในตู้เพิ่มขึ้นถึงระดับหนึ่งและอุณหภูมิภายในผลมะม่วงมีอุณหภูมิที่ 43 องศาเซลเซียส จึงปรับเปลี่ยนการให้ความร้อนเป็นวิธีอบไอน้ำ อากาศร้อนมีความชื้นสัมพัทธ์เพิ่มขึ้นอยู่ในสภาพที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำ ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ เมื่อสิ้นสุดการให้ความร้อนลดอุณหภูมิมะม่วงภายในตู้อบความร้อน โดยวิธีเป่าด้วยลม นาน 1 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับมะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน นำมะม่วงทดลองทั้งหมดที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อน บรรจุใส่ในกล่องกระดาษขนาด 35x50x12 เซนติเมตร ด้านยาวทั้งสองข้างเจาะรูพร้อมทั้งปิดด้วยผ้าตาข่าย ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางไม่เกิน 1.6 มิลลิเมตร จำนวน 4 รู เก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ ที่ 15 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานาน 7 และ14 วัน เพื่อจำลองสภาพการส่งออกมะม่วงทางเครื่องบินและทางเรือ เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนดนำมะม่วงทั้งหมดที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อนมาประเมินความเสียหายจากความร้อน โดยใช้หลักเกณฑ์พิจารณาและดำเนินการในหัวข้อต่าง ๆ 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 15)**

3. ปริมาณกรด (acidity value) ในการทดลองแต่ละครั้ง คั้นน้ำจากเนื้อมะม่วงที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อน เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณกรด ซึ่งปริมาณกรดในรูปปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (total soluble solid, TSS) มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ การวัดปริมาณกรดจากเนื้อมะม่วงใช้เครื่อง digital acilyzer (รุ่น 5 006P) **(Figure 16)**

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

เวลา ดำเนินงาน 3 ปี (ตุลาคม 2564 ถึง กันยายน 2567)

สถานที่ 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 และ

ความชื้นในการปรับค่าความเที่ยงตรงของแท่งวัดอุณหภูมิที่ 47 องศาเซลเซียส ได้แสดงไว้ใน **(Table 1 and 2)** โดยมีค่าไม่เปลี่ยนแปลงเป็นระยะเวลานานติดต่อกันในช่วงเวลานาน 20 นาที

4. การศึกษาความเสียหายต่อคุณภาพผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า

การประเมินความเสียหายของกระบวนการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ต่อมะม่วงในสภาพจำลองการส่งออกมะม่วงทางเครื่องบินและทางเรือ อบมะม่วงโดยช่วงแรกจะให้ความร้อนด้วยวิธีอบอากาศร้อน อากาศร้อนที่หมุนเวียนภายในตู้อบความร้อนจะมีความชื้นสัมพัทธ์ระหว่าง 50-80 เปอร์เซ็นต์ จนกระทั่งเมื่ออุณหภูมิภายในตู้เพิ่มขึ้นถึงระดับหนึ่งและอุณหภูมิภายในผลมะม่วงมีอุณหภูมิที่ 43 องศาเซลเซียส จึงปรับเปลี่ยนการให้ความร้อนเป็นวิธีอบไอน้ำ อากาศร้อนมีความชื้นสัมพัทธ์เพิ่มขึ้นอยู่ในสภาพที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำ ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ เพื่อประเมินการสูญเสียน้ำหนัก ปริมาณน้ำตาล ค่าความเป็นกรด อาการเกิดโรคของผลมะม่วง และอาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อน เมื่อเก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 15 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานาน 7 และ14 วัน ซึ่งระยะเวลาที่ใช้ในการอบมะม่วงที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที รวมทั้งน้ำหนักมะม่วงกำหนดอุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองแต่ละครั้งได้แสดงไว้ใน **(Table 3)** จากการทดลองพบว่า สูญเสียน้ำหนัก ปริมาณน้ำตาล ค่าความเป็นกรด อาการเกิดโรคของผลมะม่วง และอาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ **(Table 4 and 5)** เมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที โดยคุณภาพความหวานของมะม่วงไม่เปลี่ยนแปลง

ผลไม้เกิดความเสียหายได้ทุก ๆ ขั้นตอนทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับผลไม้ที่ต้องผ่านวิธีการกำจัดศัตรูพืชก่อนการส่งออก เพื่อให้เป็นไปตามเงื่อนไขด้านกักกันพืชวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชนั้นจะต้องมีประสิทธิภาพในการกำจัดศัตรูพืชและไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของผลไม้ ถ้าหากทำให้คุณภาพของผลไม้เสียไปแล้วถือว่าวิธีการนั้นไม่มีประสิทธิภาพอย่างแท้จริง ดังนั้นวิธีการใดก็ตามที่ใช้สำหรับกำจัดแมลงศัตรูพืชในผลไม้หลังการเก็บเกี่ยวควรจะมีผลทำให้ผลไม้เกิดความเสียหายน้อยที่สุด ความเสียหายของผลไม้จากวิธีการกำจัดศัตรูพืชหลังการเก็บเกี่ยวนั้นแสดงออกโดยสูญเสียคุณสมบัติด้านการตลาดหลายรูปแบบ ได้แก่ สีผล อายุการเก็บรักษา รูปลักษณ์ภายนอก การสุก รดชาด กลิ่น และความอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุของโรคพืชหลังการเก็บเกี่ยว (Goodwin and Jamikorn, 1952; McDonald and William, 1994) การที่คุณสมบัติดังกล่าวข้างต้นลดลงหรือผิดไปจากปกติจะมีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค

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 โดยจุ่มแท่งวัดอุณหภูมิทั้งหมดรวมทั้งปรอทวัดความร้อนมาตรฐานลงในเครื่องอ่างน้ำร้อน 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. การศึกษาความเสียหายต่อคุณภาพผลมะม่วงมันเดือนเก้า

การประเมินความเสียหายของกระบวนการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ต่อมะม่วงในสภาพจำลองการส่งออกมะม่วงทางเครื่องบินและทางเรือ อบมะม่วงที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ซึ่งการสูญเสียน้ำหนัก ปริมาณน้ำตาล ค่าความเป็นกรด อาการเกิดโรคของผลมะม่วง และอาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อน เมื่อเก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 15 องศาเซลเซียส นาน 7 และ14 วัน พบว่า การสูญเสียน้ำหนัก ปริมาณน้ำตาล ค่าความเป็นกรด อาการเกิดโรคของผลมะม่วง และอาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที โดยคุณภาพความหวานของมะม่วงไม่เปลี่ยนแปลง

ผลไม้เกิดความเสียหายได้ทุก ๆ ขั้นตอนทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวโดยเฉพาะอย่างยิ่งกับผลไม้ที่ต้องผ่านวิธีการกำจัดศัตรูพืชก่อนการส่งออกเพื่อให้เป็นไปตามเงื่อนไขด้านกักกันพืช วิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชนั้นจะต้องมีประสิทธิภาพในการกำจัดศัตรูพืชและไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของผลไม้ ถ้าหากทำให้คุณภาพของผลไม้เสียไปแล้วถือว่าวิธีการนั้นไม่มีประสิทธิภาพอย่าง

แท้จริง ดังนั้นวิธีการใดก็ตามที่ใช้สำหรับกำจัดแมลงศัตรูพืชในผลไม้หลังการเก็บเกี่ยวควรจะมีผลทำให้ผลไม้เกิดความเสียหายน้อยที่สุด ความเสียหายของผลไม้จากวิธีการกำจัดศัตรูพืชหลังการเก็บเกี่ยวนั้นแสดงออกโดยสูญเสียคุณสมบัติด้านการตลาดหลายรูปแบบ ได้แก่ สีผล อายุการเก็บรักษา รูปลักษณ์ภายนอก การสุก รดชาด กลิ่น และความอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุของโรคพืชหลังการเก็บเกี่ยว การที่คุณสมบัติดังกล่าวข้างต้นลดลงหรือผิดไปจากปกติจะมีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค

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 และ พงษ์ศักดิ์ 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 และ พงษ์ศักดิ์ 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. 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).

Goodwin, T.W. and M. Jamikorn. 1952. Biosynthesis of carotenes in ripening tomatoes Nature. 170: 104-105.

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 DevelopmentOffice, 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 Florida http://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

McDonald, R.E. and W.R. Miller. 1994. Quality and condition maintenance. *In*: J.L. Sharp and G.Y. Hallman (eds.), Quarantine treatment for pests of food plant. Westview Press, Inc., Boulder, Cololado, USA. pp. 249-277.

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., 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 43.0 and 47.0 °C for 0:20 minutes during modified vapor heat treatment in commercial export simulation test

	Rep.	Loading (kg/cum)	Sensor fruit weight (g)	Time for fruit center to reach 43.0 °C (h)[1/]	Time for fruit center to reach 47.0 °C (h)[1/]	Time for fruit center to reach 47.0 °C 0:20 (h)[1/]
Air shipment	1	176.00	360.85	2:15	3:22	3:42
Sea shipment			361.03			
			361.21			
Air shipment	2	176.10	359.55	1:50	2:55	3:15
Sea shipment			360.13			
			361.19			

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

Table 4 Air transportation: Quality of mango fruits treated with proposed heat quarantine treatment at center temperature 47.0 °C for 0:20 minutes and 7 days chamber at 15 °C

Rep.	Item [ns]		Control[1/]	Treatment[1/]
1	Weight loss	%	5.87	6.47
	TSS	[0] Brix	14.63	15.35
	Acidity	%	0.20	0.13
	Disease infection[2/]	Present	0.10	0.10
	Spongy tissue[2/]	Present	0/10	0/30
	Smell[2/]	Unusual	0/10	0/30
	Taste[2/]	Unusual	0/10	0/30
2	Weight loss	%	6.53	6.51
	TSS	[0] Brix	13.04	13.18
	Acidity	%	0.28	0.17
	Disease symptom[2/]	Present	0.10	0.10
	Spongy tissue[2/]	Present	0/10	0/30
	Smell[2/]	Unusual	0/10	0/30
	Taste[2/]	Unusual	0/10	0/30

[1/]Control = mean of 10 fruits, Treatment = mean of 30 fruits.

[2/]Fruits exhibited symptom/Total number of fruits observed.

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

Table 5 Sea transportation: Quality of mango fruits treated with proposed heat quarantine treatment at center temperature 47.0 °C for 0:20 minutes and 14 days chamber at 15 °C.

Rep.	Item [ns]		Control[1/]	Treatment[1/]
1	Weight loss	%	11.18	11.88
	TSS	[0] Brix	14.19	13.63
	Acidity	%	0.13	0.19
	Disease symptom[2/]	Present	0.10	0.10
	Spongy tissue[2/]	Present	0/10	0/30
	Smell[2/]	Unusual	0/10	0/30
	Taste[2/]	Unusual	0/10	0/30
2	Weight loss	%	12.54	12.06
	TSS	[0] Brix	15.73	14.12
	Acidity	%	0.15	0.17
	Disease symptom[2/]	Present	0.30	0.30
	Spongy tissue[2/]	Present	0/10	0/30
	Smell[2/]	Unusual	0/10	0/30
	Taste[2/]	Unusual	0/10	0/30

[1/]Control = mean of 10 fruits, Treatment = mean of 30 fruits.

[2/]Fruits exhibited symptom/Total number of fruits observed.

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

Figure 1 Test mango fruit Man Duen Kaw variety

Figure 2 Fruit fly mass rearing room.

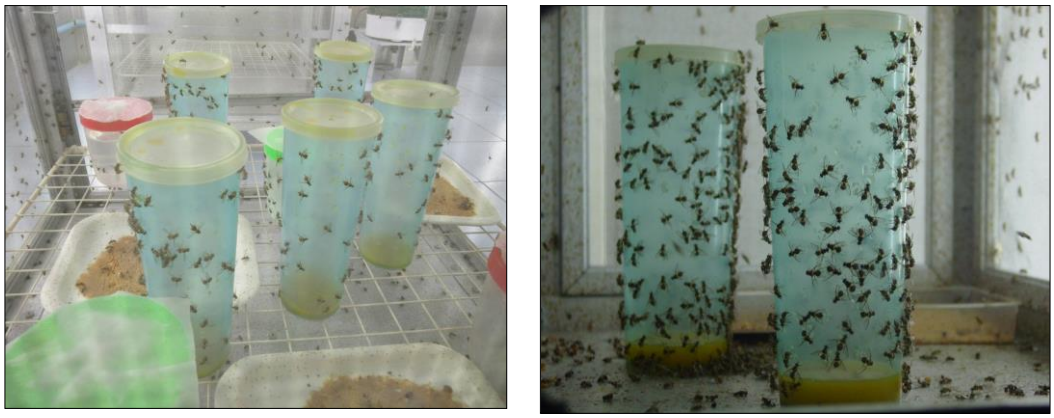


Figure 3 Fruit fly eggs

Figure 4 Count fruit fly first instar larva under stereo microscope

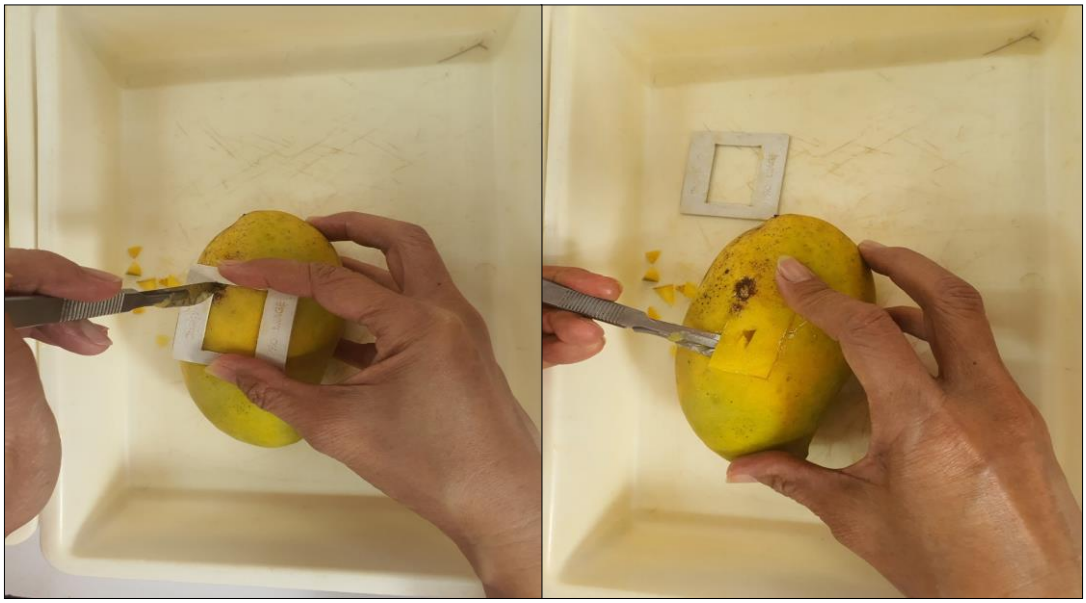


Figure 5 A rectangular flab was made on one size of each fruit and one small hole also was punched on each rectangular cut

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 (fruit sensor)

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 Commercial export simulation test

Figure 14 Filler fruits

Figure 15 The measurement of total soluble solid (TSS) by using 'atago' digital refractometer (model: DBX-30)

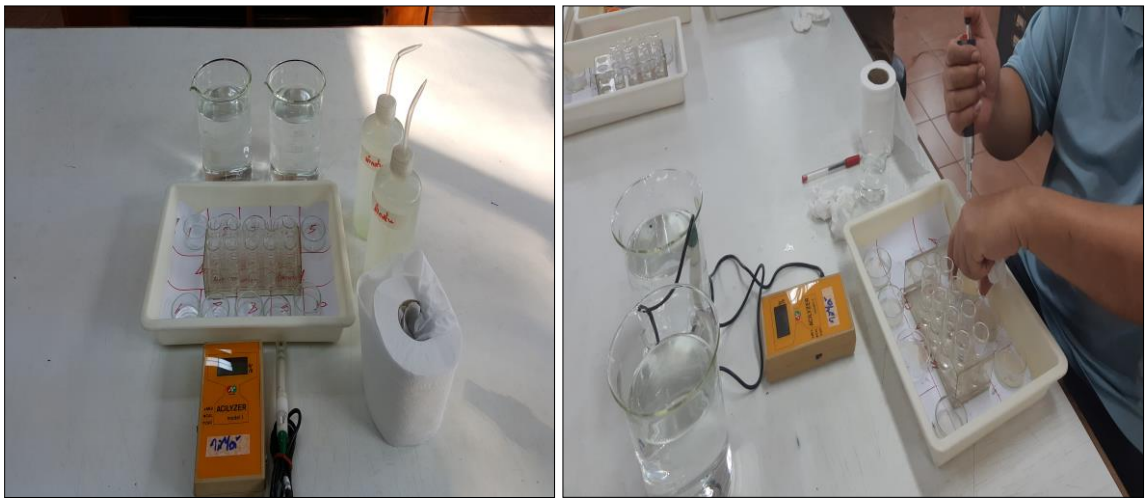


Figure 16 The measurement of acidity by using acilizer (model: 5 006P)

วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนเพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในมะม่วงน้ำดอกไม้มันเพื่อการส่งออก

Research and Development of Heated Air Quarantine Treatment for Mango (Nam Dok Mai Mun) Variety Control Fruit Flies for Export

พงษ์ศักดิ์ จิณฤทธิ์ ชัยณรัตน์ สนศิริ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์
ปวีณา บูชาเทียน ศิริพร คงทวี
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

The experiment was carried out to determine the heat tolerance of the first instar larvae of *Bactrocera dorsalis* (Hendel), the most tolerance stage to Modified Vapor Heat Treatment (MVHT) between Nam Dok Mai Mun 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 Nam Dok Mai Mun 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 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.

The results showed that oriental fruit fly first instar larvae infested in Nam Dok Mai Mun mango was more tolerance to MVHT than infested in Namdokmai mango. MVHT of fruit temperature 47 ° C for 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.

Keywords : *Bactrocera dorsalis*, Nam Dok Mai Mun Mango, Modified vapor heat treatment (MVHT)

รหัสการทดลอง FF 65-55-05-65-00-04-65

บทคัดย่อ

การศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มันและมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ อบมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ที่อุณหภูมิผล 45, 46, 46.5 องศาเซลเซียส นาน 0 นาที และ47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5 และ10 นาที พบว่า แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มันมีความทนทานต่อความร้อนมากกว่าหนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ มีอัตราการตายเฉลี่ย 100 และ100 เปอร์เซ็นต์ โดยหนอนวัย 1 ตายทั้งหมดที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ในผลมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ การศึกษาเบื้องต้นประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มันอบมะม่วงที่อุณหภูมิผล 45, 46, 46.5 องศาเซลเซียส นาน 0 นาที และ47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5, 10, 15 และ20 นาที พบว่าแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 มีอัตราการตายเฉลี่ย 64.20,86.40,89.73,96.10, และ 100 100 ตามลำดับ แสดงว่าที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 5 นาทีขึ้นไป สามารถกำจัดหนอนวัย 1 ในผลมะม่วงตายทั้งหมด การศึกษาประเมินประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มัน อบมะม่วงที่อุณหภูมิผล 47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5, 10, 15 และ20 นาที พบว่าแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 มีอัตราการตาย 97.05, 98.82, และ 100 และ 100 และ100 เฉลี่ย แสดงว่าที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 10 นาทีขึ้นไป สามารถกำจัดหนอนวัย 1 ในผลมะม่วงได้จำนวนประมาณ 7,200 ตัว ตายทั้งหมด

คำหลัก : แมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis*, มะม่วงน้ำดอกไม้มัน, วิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์

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) ประเทศไทยปลูกมะม่วงได้หลากหลายพันธุ์ โดยแต่ละพันธุ์มีคุณสมบัติที่แตกต่างกันไปถึงแม้การส่งออกจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นทุกปี การส่งเสริมมะม่วงพันธุ์ใหม่ ๆ เพื่อการส่งออกจัดเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะสามารถเพิ่มปริมาณและมูลค่าของการส่งออก และสามารถเปิดตลาดส่งออกมะม่วงไปต่างประเทศให้ได้มากยิ่งขึ้น มะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้ามีผลขนาดใหญ่ ผลยาว 5-20 เซนติเมตร และกว้าง 4-8 เซนติเมตร ผลดิบมีรสชาดเปรี้ยว ผลแก่จัดมีรสชาดเปรี้ยวมันอมหวาน ผลสุกมีรสชาดหวานแต่ไม่หวานจัดจะมีรสเปรี้ยวและมันผสมรวมอยู่ด้วยกัน เป็นมะม่วงกลิ่นแรง เนื้อละเอียด น้ำหนักต่อผลประมาณ 250-500 กรัม เป็นมะม่วงอีกพันธุ์หนึ่งที่กำลังได้รับความนิยมเป็นอย่างมากในประเทศไทยและต่างประเทศ สามารถรับประทานได้ทั้งมะม่วงดิบและมะม่วงสุก จึงเหมาะสมที่จะส่งเสริมและผลักดันให้มีการส่งออกมากขึ้น (เทคโนโลยีชาวบ้าน, 2562) มะม่วงเป็นสินค้าเกษตรที่สำคัญชนิดหนึ่ง มะม่วงเป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ที่มีความสำคัญทางด้านกักกันพืชระหว่างประเทศ ได้แก่ แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ด้วยเหตุนี้มะม่วงจากประเทศไทยจึงถูกห้ามนำเข้าประเทศญี่ปุ่นภายใต้เงื่อนไขข้อกำหนดของกฎหมายทางด้านกักกันพืช ซึ่งจะถูกยกเลิกไปหากประเทศไทยสามารถพัฒนาวิธีการกำจัดศัตรูพืชที่ได้มาตรฐานของวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช เพื่อใช้สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงก่อนการส่งออก แต่อย่างไรก็ดีการส่งออกมะม่วงไปจำหน่ายยังตลาดต่างประเทศประเทศไทยจำเป็นต้องยึดหลักการตามข้อตกลงว่าด้วยการบังคับใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (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 และ 2559 กระทรวงเกษตรป่าไม้และประมงญี่ปุ่นได้อนุญาตให้มีการนำเข้ามะม่วงเพิ่มเติมอีก 3 พันธุ์ดังกล่าว (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 สำนักงานกักกันและตรวจสอบสุขอนามัยพืชและสัตว์ไต้หวันอนุญาตให้นำเข้าผลมังคุดสดจากประเทศไทยเข้าไปจำหน่ายในประเทศไต้หวันได้ 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
   - ผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มัน
3. เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง
   - ตู้อบความร้อนกำจัดแมลงวันผลไม้ขนาดเล็ก
     “Sanshu” vapor heat treatment system (differential pressure type)
     รุ่น EHK-1000D 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) ขนาดเส้นผ่าน

ศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร กระบะพลาสติก และอุปกรณ์อื่นๆ เช่น ปิเปต (pipettes) หลอดทดลอง (test tube) บีกเกอร์ (beaker) หลอดหยด (dropper) ปากคีบ (forceps) ผ้ามัสลิน กระดาษกรองสีดำ พู่กัน หนังยาง มีด และผ้าขาวบาง

วิธีการ

1. สืบค้นฐานข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะประจำพันธุ์ชีววิทยาของมะม่วงน้ำดอกไม้มัน เพื่อใช้ในการทดลอง

โดยการสืบค้นข้อมูลทางเว็บไซต์ของกรมวิชาการเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร และจากแหล่งข้อมูลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องต่าง ๆ ทั้งในประเทศและต่างประเทศ ซึ่งได้จัดหาและคัดเลือกมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มัน **(Figure 1)** เพื่อนำมาใช้ในการทดลองในขั้นตอนของการกำจัดแมลงด้วยความร้อน และขั้นตอนของการประเมินความเสียหายต่อความร้อน จากอำเภอบ้านแผ้ว จังหวัดราชบุรี ใช้ผลมะม่วงน้ำหนัก 300-400 กรัม/ผล (มะม่วงขนาดกลาง) นำมาเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิและความชื้น ของกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช เพื่อรักษาคุณภาพของมะม่วงน้ำดอกไม้มัน 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 ในระหว่างการทดลองจะต้องมีแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยอายุต่าง ๆ 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 รวบรวมไข่แมลงด้วยวิธีเติมน้ำสะอาดในกระบอกพลาสติกเก็บไข่แล้วเขย่าเบา ๆ 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 ตัดกระดาษ

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

ระยะดักแด้: หนอนแมลงวันผลไม้เจริญเติบโตเต็มที่พร้อมที่จะเข้าดักแด้ภายใน 6 วัน เปิดฝาครอบถาดอาหารเทียม และย้ายไปวางไว้ในภาชนะสำหรับให้แมลงเข้าดักแด้ ซึ่งเป็นกระบะพลาสติกขนาด 43x74x23 เซนติเมตร ภายในบรรจุขี้เลื่อย ขนาด 20 เมช พรมน้ำให้ชื้นพอประมาณสำหรับให้หนอนเข้าดักแด้ หนอนวัย 3 ที่เจริญเติบโตเต็มที่พร้อมจะเข้าดักแด้จะดีดตัวออกจากอาหารเทียมและเข้าดักแด้ในขี้เลื่อย ก่อนที่ดักแด้จะออกเป็นตัวเต็มวัยประมาณ 2 วัน ใช้ตระแกรงขนาด 20 เมช 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 มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มัน ผลมะม่วงมีขนาดกลางน้ำหนัก 300-400 กรัม/ผล โดยตรวจสภาพความผิดปกติของผลมะม่วง ซึ่งมะม่วงทุกผลจะต้องไม่มีร่องรอยการทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือรอยแตกบนผลมะม่วง การเตรียมผลมะม่วงในขั้นตอนของการกำจัดแมลงด้วยความร้อน จะต้องทำความสะอาดผลมะม่วงและคัดขนาดตามน้ำหนัก โดยมะม่วงที่ใช้ในการทดลองจะต้องสุก ซึ่งการเตรียมผลมะม่วงให้สุกนั้นมีวิธีการทำโดยวางมะม่วงในตะกร้าพลาสติก บ่มมะม่วงโดยใช้แคลเซียมคาร์ไบด์ (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 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

3.2 การเตรียมมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มันให้มีแมลงวันผลไม้ *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 ให้รวมกันเป็นกลุ่ม ๆ ละ 100 ตัว ในการทดลองใช้มะม่วงขนาดกลางน้ำหนัก 300-400 กรัม/ผล ใช้มีดผ่าตัด (scapel) เจาะเข้าไปภายในเนื้อมะม่วงให้ลึกประมาณ 2 มิลลิเมตร กรีดเป็นรอยแผลสี่เหลี่ยม 3 ด้าน ขนาด 2x3 เซนติเมตร เจาะรูขนาด 2 มิลลิเมตร ตรงกลางรอยแผลสี่เหลี่ยมจำนวน 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. รูปแบบของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มัน

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 หลังจากนั้นเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วง

ถึง 47 องศาเซลเซียส และคงไว้ที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 0, 1 และ2 ชั่งโมง (เซ็นเซอร์กำหนดอุณหภูมิผลมะม่วง (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. การจัดการกับมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มันหลังจากการอบไอน้ำ

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. การศึกษาความเสียหายต่อคุณภาพผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มัน

การประเมินความเสียหายของกระบวนการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ต่อมะม่วงในสภาพจำลองการส่งออกมะม่วงทางเครื่องบินและทางเรือ โดยตรวจสภาพความผิดปกติของผลมะม่วงซึ่งมะม่วงทุกผลจะต้องไม่มีร่องรอยการทำลายของแมลงหรือรอยแตก แยกเป็นมะม่วงที่ผ่านความร้อน (treatment) จำนวน 120 ผล และมะม่วงที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อน จำนวน 40 ผล นำมะม่วงทดลองเข้าเครื่องต้อบความร้อนวางมะม่วงที่ผ่านความร้อนไว้ในกระบะชั้นล่างสุดใส่ในภาชนะบรรจุผลไม้แบบกระบะพลาสติกแข็งทนความร้อนขนาด 36x70x15 เซนติเมตร จำนวน 3 กระบะ ในแต่ละกระบะมีมะม่วงทดลอง จำนวน 20 ผล/กระบะ **(Figure 13)** แยกเป็นมะม่วงที่ผ่านความร้อน (treatment) ทางเครื่องบิน จำนวน 30 ผล และทางเรือ จำนวน 30 ผล และใส่มะม่วงที่ไม่ใช้ในการทดลอง (filler fruit) เฉลี่ยจำนวนเท่า ๆ กัน ให้เต็มความจุของกระบะ ในกระบะบรรจุผลไม้อีก 9 กระบะ และนำไปวางซ้อนลงบนกระบะซึ่งบรรจุมะม่วงทดลองในสภาพที่ห้องบรรจุผลไม้ของเครื่องต้อบความร้อนมีปริมาณมะม่วง 100 เปอร์เซ็นต์ ของความจุตู้ **(Figure 14)** เพื่อประเมินความเสียหายของกระบวนการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที อบมะม่วงโดยการเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วงให้เป็นไปตามข้อ 6 และ6.2 โดยช่วงแรกจะให้ความร้อนด้วยวิธีอบอากาศร้อน อากาศร้อนที่หมุนเวียนภายในต้อบความร้อนมีความชื้นสัมพัทธ์ระหว่าง 50-80 เปอร์เซ็นต์ จนกระทั่งเมื่ออุณหภูมิภายในตู้เพิ่มขึ้นถึงระดับหนึ่งและอุณหภูมิภายในผลมะม่วงมีอุณหภูมิที่ 43 องศาเซลเซียส จึงปรับเปลี่ยนการให้ความร้อนเป็นวิธีอบไอน้ำอากาศร้อนมีความชื้นสัมพัทธ์เพิ่มขึ้นอยู่ในสภาพที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำ ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90

เปอร์เซ็นต์ เมื่อสิ้นสุดการให้ความร้อนลดอุณหภูมิมะม่วงภายในตู้อบความร้อน โดยวิธีเป่าด้วยลม นาน 1 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับมะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน นำมะม่วงทดลองทั้งหมดที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อน บรรจุใส่ในกล่องกระดาษขนาด 35x50x12 เซนติเมตร ด้านยาวทั้งสองข้างเจาะรูพร้อมทั้งปิดด้วยผ้าตาข่าย ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางไม่เกิน 1.6 มิลลิเมตร จำนวน 4 รู เก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ ที่ 15 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานาน 7 และ14 วัน เพื่อจำลองสภาพการส่งออกมะม่วงทางเครื่องบินและทางเรือ เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนดนำมะม่วงทั้งหมดที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อนมาประเมินความเสียหายจากความร้อน โดยใช้หลักเกณฑ์พิจารณาและดำเนินการในหัวข้อต่าง ๆ 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 15)**

3. ปริมาณกรด (acidity value) ในการทดลองแต่ละครั้ง คั้นน้ำจากเนื้อมะม่วงที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อน เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณกรด ซึ่งปริมาณกรดในรูปปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (total soluble solid, TSS) มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ การวัดปริมาณกรดจากเนื้อมะม่วงใช้เครื่อง digital acilyzer (รุ่น 5 006P) **(Figure 16)**

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

5. อาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำ (spongy tissue) ทำการผ่าผลมะม่วงที่ผ่านความร้อนทั้งหมดเพื่อดูลักษณะอาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำภายในผลมะม่วง

นำข้อมูลการสูญเสียน้ำหนัก ปริมาณน้ำตาล ปริมาณกรด อาการเกิดโรคของผลมะม่วง และอาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำ วิเคราะห์ผลทางสถิติ และตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธีการตรวจสอบแบบ t-test

เวลาและสถานที่

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

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สืบค้นฐานข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะประจำพันธุ์ชีววิทยาของมะม่วงน้ำดอกไม้มันเพื่อใช้ในการทดลอง

เกิดจากการกลายพันธุ์ จากการปลูกมะม่วงเขียวเสวยด้วยเมล็ด โดย **คุณลุงขาว น้อยรักษา** เกษตรกรชาวบางบอน กรุงเทพฯ พบว่า มีลักษณะพิเศษกว่าต้นอื่น คือสามารถกินได้ทั้งสุกและดิบ ซึ่งผลดิบมีรสชาติมันคล้ายเขียวเสวย ผลสุกมีรสชาติหวานเหมือนมะม่วงเขียวเสวยและยังมีเมล็ดลีบ จึงตั้งชื่อว่า มะม่วงน้ำดอกไม้มันต่อมา ปี 2538 จึงนำมะม่วงน้ำดอกไม้มัน ไปขึ้นทะเบียนเพื่อขอรับรองพันธุ์พืช ณ กองควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ใช้เวลา 5 ปี กรมวิชาการเกษตร จึงรับรองพันธุ์พืช โดยใช้ชื่อใหม่ว่า “ขาวนิยม” ตามชื่อของลุงขาว และนิยม แสดงถึงมะม่วงพันธุ์นี้ได้รับความนิยมของผู้ได้ลิ้มชิมรส และเพื่อเป็นอนุสรณ์แด่ คุณลุงขาว น้อยรักษา ผู้ให้กำเนิดมะม่วงสายพันธุ์นี้

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* ในผลมะม่วงน้ำดอกไม้มันด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์

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. การศึกษาความเสียหายต่อคุณภาพผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มัน

การประเมินความเสียหายของกระบวนการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ต่อมะม่วงในสภาพจำลองการส่งออกมะม่วงทางเครื่องบินและทางเรือ อบมะม่วงโดยช่วงแรกจะให้ความร้อนด้วยวิธี

อบอากาศร้อน อากาศร้อนที่หมุนเวียนภายในตู้อบความร้อนจะมีความชื้นสัมพัทธ์ระหว่าง 50-80 เปอร์เซ็นต์ จนกระทั่งเมื่ออุณหภูมิภายในตู้เพิ่มขึ้นถึงระดับหนึ่งและอุณหภูมิภายในผลมะม่วงมีอุณหภูมิที่ 43 องศาเซลเซียส จึงปรับเปลี่ยนการให้ความร้อนเป็นวิธีอบไอน้ำ อากาศร้อนมีความชื้นสัมพัทธ์เพิ่มขึ้นอยู่ในสภาพที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำ ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ เพื่อประเมินการสูญเสียน้ำหนัก ปริมาณน้ำตาล ค่าความเป็นกรด อาการเกิดโรคของผลมะม่วง และอาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อน เมื่อเก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 15 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานาน 7 และ14 วัน ซึ่งระยะเวลาที่ใช้ในการอบมะม่วงที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที รวมทั้งน้ำหนักมะม่วงกำหนดอุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองแต่ละครั้งได้แสดงไว้ จากการทดลองพบว่า สูญเสียน้ำหนัก ปริมาณน้ำตาล ค่าความเป็นกรด อาการเกิดโรคของผลมะม่วง และอาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที โดยคุณภาพความหวานของมะม่วงไม่เปลี่ยนแปลง

ผลไม้เกิดความเสียหายได้ทุก ๆ ขั้นตอนทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับผลไม้ที่ต้องผ่านวิธีการกำจัดศัตรูพืชก่อนการส่งออก เพื่อให้เป็นไปตามเงื่อนไขด้านกักกันพืชวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชนั้นจะต้องมีประสิทธิภาพในการกำจัดศัตรูพืชและไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของผลไม้ ถ้าหากทำให้คุณภาพของผลไม้เสียไปแล้วถือว่าวิธีการนั้นไม่มีประสิทธิภาพอย่างแท้จริง ดังนั้นวิธีการใดก็ตามที่ใช้สำหรับกำจัดแมลงศัตรูพืชในผลไม้หลังการเก็บเกี่ยวควรจะมีผลทำให้ผลไม้เกิดความเสียหายน้อยที่สุด ความเสียหายของผลไม้จากวิธีการกำจัดศัตรูพืชหลังการเก็บเกี่ยวนั้นแสดงออกโดยสูญเสียคุณสมบัติด้านการตลาดหลายรูปแบบ ได้แก่ สีผล อายุการเก็บรักษา รูปลักษณ์ภายนอก การสุก รดชาด กลิ่น และความอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุของโรคพืชหลังการเก็บเกี่ยว (Goodwin and Jamikorn, 1952; McDonald and William, 1994) การที่คุณสมบัติดังกล่าวข้างต้นลดลงหรือผิดไปจากปกติจะมีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค

<u>1. การศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มันและมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์</u>

การศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ ดำเนินการทดลองด้วยเครื่องตู้อบความร้อนกำจัดแมลงวันผลไม้ขนาดเล็ก จำนวน 2 เครื่อง ใช้มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เป็นตัวเปรียบเทียบพันธุ์กับมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ โดยใช้หนอนวัย 1 เพื่อเป็นตัวแทนของแมลงในการเตรียมมะม่วงให้มีแมลงวันผลไม้อยู่ภายในผล (artificial infestation method) มะม่วงที่ใช้ในการทดลองทั้งหมด จำนวน 270 ผล นำมะม่วงทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อนวางเรียงมะม่วงที่ทำการใส่หนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง ผลละ 100 ตัว ในถาดบรรจุผลไม้ จำนวน 10 ผล/ถาด ซึ่งในถาดเดียวกันนั้นแยกเป็นมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มัน จำนวน 5 ผล และมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ จำนวน 5 ผล อบมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ในเครื่องตู้อบความร้อนเดียวกัน ซึ่งระยะเวลาที่ใช้ในการอบมะม่วงที่อุณหภูมิผล 45, 46, 46.5 องศาเซลเซียส นาน 0 นาที และ47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5 และ10 นาที จากการทดลอง 3 ครั้ง พบว่าแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย

1 ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มันมีความทนทานต่อความร้อนมากกว่าหนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ โดยมีอัตราการตายเฉลี่ย 65.59,90.01,92.51,97.22, และ 100 100 ตามลำดับ เปอร์เซ็นต์ **(Table 1 and 2)** โดยหนอนวัย 1 ตายทั้งหมดที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ในผลมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์

2. การศึกษาเบื้องต้นประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มัน

การศึกษาเบื้องต้นประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วง ใช้มะม่วงทั้งหมดจำนวน 165 ผล นำมะม่วงทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อน วางเรียงมะม่วงที่ทำการใส่หนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง ผลละ 100 ตัว จำนวน 5 ผล/ถาด อบมะม่วงโดยระยะเวลาที่ใช้ในการอบมะม่วงที่อุณหภูมิผล 45, 46, 46.5 องศาเซลเซียส นาน 0 นาที และ47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5, 10, 15 และ20 นาที จากการทดลอง 3 ครั้ง พบว่ามะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน 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 64.20,86.40,89.73,96.10, และ 100 100 ตามลำดับ เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ **(Table 2)** แสดงว่าที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 5 นาทีขึ้นไป สามารถกำจัดหนอนวัย 1 ในผลมะม่วงตายทั้งหมด

3. การศึกษาประเมินประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มัน

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 อบมะม่วงภายในเครื่องตู้อบความร้อนให้อุณหภูมิภายในสุดผลมะม่วงเพิ่มขึ้นจนถึง 47 องศาเซลเซียส และคงความร้อนภายในผลไว้ที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 0, 5, 10, 15 และ 20 นาที 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 97.05, 98.82, และ 100 และ 100 และ100 ตามลำดับ **(Table 3)**

จากการทดลองจึงประมาณการได้ว่ามะม่วงซึ่งผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส แต่ละระยะเวลาที่กำหนดจะมีหนอนที่รอดชีวิตได้จำนวนไม่น้อยกว่าประมาณ 7,200 ตัว ผลการตรวจ

นับจำนวนแมลงในผลมะม่วงจากการทดลองปรากฏว่าหนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงตายทั้งหมดเมื่อคงความร้อนที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส เป็นเวลานานตั้งแต่ 10 นาทีขึ้นไป กระบวนการกำจัดแมลงดังกล่าวนี้มีความเป็นไปได้สูงที่จะมีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงได้ตามข้อกำหนดของวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช ดังนั้นควรจะได้มีการทดสอบการศึกษายืนยันกระบวนการกำจัดแมลงดังกล่าวข้างต้น เพื่อใช้เป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชสำหรับกำจัดระยะไข่ และหนอนวัยต่าง ๆ ของแมลงวันผลไม้ในมะม่วงก่อนการส่งออก

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 สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตรกรมวิชาการเกษตร. 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. 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).

Goodwin, T.W. and M. Jamikorn. 1952. Biosynthesis of carotenes in ripening tomatoes Nature. 170: 104-105.

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 Klangwan

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 Florida http://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

McDonald, R.E. and W.R. Miller. 1994. Quality and condition maintenance. *In*: J.L. Sharp and G.Y. Hallman (eds.), Quarantine treatment for pests of food plant. Westview Press, Inc., Boulder, Cololado, USA. pp. 249-277.

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., 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 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 comparative heat tolerance test

Treatment[2/]	Number of treated (larvae)	Number of alive (larvae)	Number of dead (larvae)	Corrected mortality (%)[3/]
Control	4,500	3,426	1,074	0
45.0 ° C	1,500	372	1,128	65.59
46.0 ° C	1,500	108	1,392	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 + 0:05 min.	1,500	0	1,500	100
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 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 comparative heat tolerance 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 + 0:05 min.	1,500	0	1,500	100
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 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	1,455	95.58
46.5 ° C	1,500	30	1,470	97.05
47.0 ° C	1,500	12	1,488	98.82
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 4 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 ntermediate disinfestation test

Treatment[2/]	Number of treated (larvae)	Number of alive (larvae)	Number of dead (larvae)	Corrected mortality (%)[3/]
Control	4,000	2,800	1,900	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 5 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 6 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.

Figure 1 สภาพสวนมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มัน คุณอำนาจ อำเภอบางแพ ราชบุรี

Figure 2 Count fruit fly first instar larva under stereo microscope

Figure 3 อบไอน้ำเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อน*B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มันกับมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้

Figure 4 ประสิทธิภาพการอบไอน้ำกำจัดหนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis*ในผลมะม่วงพันธ์น้ำดอกไม้มัน

Figure 5 ตรวจเช็คผลการทดลองหลังจากมะม่วงผ่านการวิธีการอบไอน้ำนาน 7 วัน

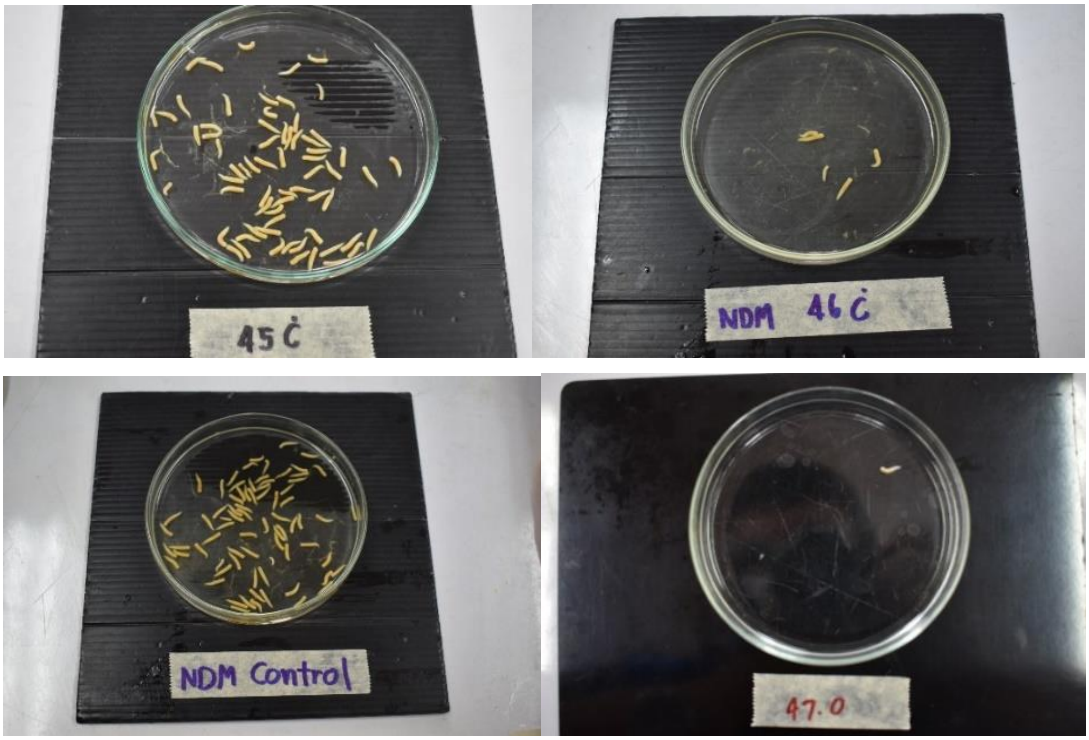


Figure 6 ประสิทธิภาพการกำจัดหนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธ์น้ำดอกไม้มัน ผ่านการวิธีการอบไอน้ำนาน 7 วันที่อุณหภูมิต่าง

วิจัยและพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* ในผลมะม่วงแดงจักรพรรดิเพื่อการส่งออก

Research and Development on Disinfestation with Heated Air Quarantine Treatment to Controlling the Oriental Fruit Fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) on Mango (Dang jakkrapad Variety) for Export

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

Abstract

The heat tolerance of first instar oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* Hendel, infested in 'Namdokmai' and 'Dang jakkrapad' mangoes (*Mangifera indica* Linn.), were determined for their heat tolerance by subjecting a pair of infested mango varieties to vapor heat. Disinfestation treatment temperature at 46, 47, 47 °C for 10, 15 and 20 minutes with modified vapor heat treatment in ‘Namdokmai’ and ‘Dang jakkrapad’ varieties. The results showed that the number survival of first instar larva mango that were not treated was 907 and 936. The percent of first instar larva corrected mortality in mangoes for disinfestation treatment temperature at 46, 47, 47 °C for 10, 15 and 20 minutes were 81.26, 100, 100, 100 and 100 in ‘Namdokmai’ respectively and in ‘Dang jakkrapad’ were 66.03, 100, 100, 100 and 100, respectively.

Keywords : Oriental Fruit Fly, Vapor Heat Tolerance

รหัสการทดลอง FF65-55-05-65-00-05-65

บทคัดย่อ

การศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้ Bactrocera dorsalis Hendel ในผลมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิและมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ โดยอบมะม่วงกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 เพื่อเป็นตัวแทนของแมลงในผลมะม่วงทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่ามะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ และแดงจักรพรรดิที่ไม่ผ่านความร้อน มีหนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้รอดชีวิต เฉลี่ย จำนวน 907 และ936 ตัว สำหรับมะม่วงที่ผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 46, 47 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 10, 15 และ20 นาที พบอัตราการตายของหนอนวัย 1 ในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ เฉลี่ยร้อยละ 81.26, 100, 100, 100 และ100 และแดงจักรพรรดิ เฉลี่ยร้อยละ 66.03, 100, 100, 100 และ100 ตามลำดับ

คำหลัก: แมลงวันผลไม้, ความต้านทานการอบไอน้ำ

คำนำ

มะม่วง (Mangifera Indica) เป็นผลไม้เมืองร้อนที่สามารถปลูกได้ทุกภาคของประเทศไทย ไม้พุ่มยืนต้น สูงประมาณ 10 - 15 ม. ลำต้นตรง ยอดกลม ทึบ ใบเดี่ยว การเกาะติดของใบบนกิ่งแบบเวียน ใบรูปหอกยาวแกมขอบขนาน ปลายเรียวแหลม โคนมนแหลม ออกดอกเดือนธันวาคม ถึง มกราคม ดอกออกเป็นช่อที่ปลายกิ่ง ในช่อดอกหนึ่งๆ จะมีช่อย่อยหลายช่อ ดอกย่อยขนาดเล็กสีเหลืองอ่อน 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 และ

ประสบความสำเร็จในการใช้วิธีการดังกล่าวเจรจาเปิดตลาดเพื่อส่งออกผลไม้สด เช่น มะม่วง ส้มโอ และมังคุด ไปยังประเทศที่มีความเข้มงวดทางด้านกักกันพืชหลายประเทศ นอกจากนี้แล้วยังจำเป็นที่จะต้องศึกษาผลกระทบต่อคุณภาพของผลไม้จากวิธีที่ใช้กำจัดแมลงวันผลไม้นี้ด้วย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเกิดขึ้นโดยมีวัตถุประสงค์

1) ศึกษาความเสียหายจากความร้อนด้วยเทคโนโลยีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ต่อคุณภาพของผลมะละกอพันธุ์แขกดำ และแขกนวล มะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า น้ำดอกไม้มันแดงจักรพรรดิ และอกร่อง

2) ศึกษาประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ด้วยเทคโนโลยีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในผลมะละกอพันธุ์แขกดำ และแขกนวล มะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า น้ำดอกไม้มันแดงจักรพรรดิ 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. ระยะหนอนของแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis*
15. อุปกรณ์สำหรับเช็คผลการทดลอง ได้แก่ พู่กัน ปากคีบ เคาท์เตอร์ จานทดลองขนาดเล็ก ถาดใส่ผลไม้ ถุงผ้าตาข่าย ถุงมือ มีดปอกผลไม้ ถุงขยะดำ และอื่นๆ

วิธีการ

1. การเลี้ยงแมลงวันผลไม้จำนวนมากด้วยอาหารเทียมเพื่อเพิ่มปริมาณและเพื่อใช้ในการทดลอง

แมลงวันผลไม้ที่ใช้ในทดลอง ได้มาจากแมลงวันผลไม้ที่เข้าทำลายผลมะม่วงในพื้นที่อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา โดยทำการรวบรวมและเลี้ยงจนเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัย จากนั้นจะคัดแยกชนิดอย่างละเอียดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ คัดแยกแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis*, *B. carambolae* และ *B. papayae* ออกจากกัน แล้วจึงนำแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยไปเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการและเพิ่มจำนวนให้มากขึ้น ใช้เทคนิคและวิธีการเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์ตามวิธีการของ Watanabe *et al*., (1973) และอุดร (2541) โดยใช้การเลี้ยงด้วยอาหารเทียม (artificial diet) ที่ห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้ ของกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. บันทึกอัตราการฟักของไข่ (hatching rate)
2. บันทึกอัตราการออกเป็นตัวเต็มวัย (emerging rate)
3. น้ำหนักของดักแด้
4. อัตราส่วนของเพศผู้และเพศเมีย (sex ratio)

2. การศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิและมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์

การศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิและมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ โดยอบมะม่วงกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 ในผลมะม่วงทั้ง 2 สายพันธุ์ มีขั้นตอนและวิธีการดำเนินการดังต่อไปนี้ ดำเนินการทดลองด้วยเครื่องตู้อบความร้อนกำจัดแมลงวันผลไม้ขนาดเล็กจำนวน 2 เครื่อง ใช้มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เป็นตัวเปรียบเทียบพันธุ์กับมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิ โดยใช้หนอนวัย 1 เพื่อเป็นตัวแทนของแมลงในการเตรียมมะม่วงให้มีแมลงวันผลไม้อยู่ภายในผล (artificial infestation method) ตามวิธีการของ (Intarakumheng *et al*., 2013)

มะม่วงที่ใช้ในการทดลองมีขนาดกลาง โดยวางเรียงมะม่วงที่ใส่หนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง ผลละ 100 ตัว ในถาดบรรจุผลไม้ ซึ่งในถาดเดียวกันนั้นแยกเป็นมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิและมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ นำมะม่วงทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อน อบความร้อนที่อุณหภูมิผล 47 °C ใช้ระยะเวลาอบนาน 0 10 และ 20 นาที ตรวจนับจำนวนหนอนแมลงวันผลไม้ที่รอดชีวิตในผลมะม่วงแต่ละผล หลังจากผ่านความร้อนเป็นเวลานาน 5 วัน โดยบันทึกจำนวนหนอนที่รอดชีวิตทั้งหมดในมะม่วงทดลองที่อุณหภูมิ และระยะเวลาที่กำหนด นำข้อมูลไปคำนวณหาอัตราการตายที่แท้จริง (corrected mortality) โดยสูตรของ Abbott (Abbott, 1925)

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. ตรวจสอบค่าอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์จากกระดาษบันทึกอุณหภูมิและความชื้นของตู้อบไอน้ำ
2. บันทึกอัตราการตายของหนอนวัยที่ 1 (corrected mortality)

3. ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้เบื้องต้นในผลมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิ

การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิ อบมะม่วงกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 ในผลมะม่วงเพื่อกำหนดกระบวนการอบไอน้ำที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันผลไม้ไม่น้อยกว่า 3,000 ตัว ในผลมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิให้ตายทั้งหมด มีขั้นตอนและวิธีการดำเนินการดังต่อไปนี้

ดำเนินการทดลองด้วยเครื่องตู้อบความร้อนกำจัดแมลงวันผลไม้ขนาดเล็ก จำนวน 2 เครื่อง โดยใช้หนอนวัย 1 เพื่อเป็นตัวแทนของแมลงในการเตรียมมะม่วงให้มีแมลงวันผลไม้อยู่ภายในผล (artificial infestation method) ตามวิธีการของ (Intarakumheng *et al*., 2013) มะม่วงที่ใช้ในการทดลองมีขนาดกลาง นำมะม่วงทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อน วางเรียงมะม่วงที่ทำการใส่หนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง ผลละ 100 ตัว ในถาดบรรจุผลไม้ อบมะม่วงในเครื่องตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิผล 47 ℃ ใช้ระยะเวลาอบนาน 0 10 และ 20 นาที ตรวจนับจำนวนหนอนแมลงวันผลไม้ที่รอดชีวิตในผลมะม่วงแต่ละผล หลังจากผ่านความร้อนเป็นเวลานาน 5 วัน โดยบันทึกจำนวนหนอนที่รอดชีวิตทั้งหมดในมะม่วงทดลองที่อุณหภูมิ และระยะเวลาที่กำหนด นำข้อมูลไปคำนวณหาอัตราการตายที่แท้จริง (corrected mortality) โดยสูตรของ Abbott (Abbott, 1925)

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. ตรวจสอบค่าอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์จากกระดาษบันทึกอุณหภูมิและความชื้นของตู้อบไอน้ำ

2. บันทึกอัตราการตายของหนอนวัยที่ 1 (corrected mortality)

เวลาและสถานที่

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณแมลงวันผลไม้ภายในห้องปฏิบัติการ พบว่า สามารถเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ได้เพียงพอ โดยได้แมลงวันผลไม้จำนวนมากกว่า 50,000 ตัว เริ่มการเพาะเลี้ยงแมลงในช่วงเดือนตุลาคม 2565 ถึงเดือนเมษายน 2566 พบว่าแมลงวันผลไม้มีอัตราการฟักไข่ (hatching rate) เฉลี่ย 76-80 % อัตราการออกเป็นตัวเต็มวัย (emerging rate) เฉลี่ย 87-94 % น้ำหนักของดักแด้ เฉลี่ย 0.013-0.015 กรัม และมีอัตราส่วนของเพศผู้และเพศเมีย (sex ratio) เพศผู้เฉลี่ย 42-45 % และเพศเมียเฉลี่ย 44-49 % (1:1) ซึ่งในช่วงเวลาดังกล่าวนี้ การเพิ่มปริมาณแมลงมีความเพียงพอต่อการปฏิบัติงานก่อนที่ห้องเพาะเลี้ยงแมลง

เสียหายไม่สามารถควบคุมอุณหภูมิภายในห้องเพาะเลี้ยงได้ หลังจากนั้นแมลงวันผลไม้ไม่มีชีวิตรอดทั้งหมด จึงต้องทำการเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์ใหม่

การศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิและมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ โดยอบมะม่วงกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 เพื่อเป็นตัวแทนของแมลง ในผลมะม่วงทั้ง 2 สายพันธุ์ ดำเนินการทดลองด้วยเครื่องตู้อบความร้อนกำจัดแมลงวันผลไม้ขนาดเล็ก จำนวน 2 เครื่อง (Figure1) ซึ่งใช้เวลาในการอบเป็นเวลานานแตกต่างกัน ดังนี้ อุณหภูมิ 46, 47 และ 47 องศาเซลเซียส ใช้ระยะเวลาอบนาน 10, 15 และ20 นาที แต่ละระยะเวลาที่กำหนดมีมะม่วงที่ผ่านความร้อน (treatment) จำนวน 50 ผล และมีมะม่วงที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อน จำนวน 5 ผล ทำการทดลอง 3 ซ้ำ พบว่า มะม่วงน้ำดอกไม้มีน้ำหนักในการอบ 6.73 กิโลกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร โดยน้ำหนักผลที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิผลไม้คือ 472.86, 475.96 และ 476.76 กรัม ตามลำดับ ในขณะที่มะม่วงแดงจักรพรรดิ มีน้ำหนักในการอบ 7.15 กิโลกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร โดยน้ำหนักผลที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิผลไม้คือ 481.18, 482.83, และ487.23 กรัม ตามลำดับ ระยะเวลาที่ใช้ในการอบมะม่วงน้ำดอกไม้และแดงจักรพรรดิที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 2:50 นาที เท่ากันทั้ง 2 สายพันธุ์ ที่อุณหภูมิ 47 และ47 องศาเซลเซียส นาน 10, 15 และ 20 นาที ใช้เวลาในการอบมะม่วงน้ำดอกไม้นาน 3:09, 3:19, 3:24 และ3:29นาที ตามลำดับ มะม่วงแดงจักรพรรดินาน 3:15, 3:25, 3:30 และ3:35 นาที ตามลำดับ ซึ่งมีเวลาในการอบใกล้เคียงกันในมะม่วงทั้ง 2 สายพันธุ์ (Table1) สำหรับการตรวจสอบการรรอดชีวิตของหนอนวัย 1 หลังจากเก็บมะม่วงไว้ 5 วัน แล้วนำมาผ่ามะม่วงเพื่อนับจำนวนหนอนที่รอดชีวิต (Figure2) พบว่า มะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน จำนวน 15 ผล พบหนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้รอดชีวิตในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้และแดงจักรพรรดิ เฉลี่ย จำนวน 907 และ936 ตัว สำหรับมะม่วงที่ผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 46, 47 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 10, 15 และ20 นาที พบอัตราการตายของหนอนวัย 1 ในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ เฉลี่ยร้อยละ 81.26, 100, 100, 100 และ100 และแดงจักรพรรดิเฉลี่ยร้อยละ 66.03, 100, 100, 100 และ100 ตามลำดับ (Table2 และ Table3) ผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ อุดร และคณะ (2536) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันทองวัย 1 ในมะม่วง 4 พันธ์คือ หนังกลางวัน น้ำดอกไม้ แรด และ พิมเสนแดง พบว่าหนอนวัย 1 ในมะม่วงหนังกลางวัน น้ำดอกไม้ และแรด สามารถตายได้ร้อยละ 100 ที่อุณหภูมิ 46.5 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที

เช่นเดียวกับการศึกษาของ รัชฎา และคณะ (2553) จากการศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้วัย 1 ด้วยวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified Vapor Heat Treatment, MVHT) ในมะม่วงพันธ์หนังกลางวันเปรียบเทียบกับพันธ์เขียวเสวย มหาชนก และโชคอนันต์ ผลการทดลอง พบว่าที่อุณหูมิอุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที

สามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ระยะหนอนวัยที่ 1 ใน มะม่วงพันธุ์เขียวเสวย มหาชนก และ หนังกลางวัน ได้ ร้อยละ 100

สำหรับการศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* เบื้องต้นในผลมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิ อบมะม่วงเพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 ในผลมะม่วงเพื่อกำหนดกระบวนการอบไอน้ำที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันผลไม้ ไม่น้อยกว่า 3,000 ตัว ในผลมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิให้ตายทั้งหมด ยังไม่มีการทดลอง เนื่องจากในช่วงระหว่างเดือนพ.ค. ถึงก.ค. ห้องเลี้ยงแมลงเครื่องปรับอากาศไม่สามารถใช้งานได้ ทำให้แมลงวันผลไม้ที่เลี้ยงไว้ตายทั้งหมด ทางนักวิจัยจึงต้องเริ่มทำการเพิ่มปริมาณการเพาะเลี้ยงใหม่ ทำให้ไม่ทันต่อฤดูกาลผลผลิตมะม่วงแดงจักรพรรดิที่ใช้ในการทดลอง จึงจะทำการทดลองนี้ในปี 2567 ต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

สามารถเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ได้ โดยได้แมลงวันผลไม้จำนวนมากกกว่า 50,000 ตัว มีอัตราการฟักไข่ (hatching rate) เฉลี่ย 76-80 % อัตราการออกเป็นตัวเต็มวัย (emerging rate) เฉลี่ย 87-94 % น้ำหนักของดักแด้ เฉลี่ย 0.013-0.015 กรัม และมีอัตราส่วนของเพศผู้และเพศเมีย (sex ratio) เพศผู้เฉลี่ย 42-45 % และเพศเมียเฉลี่ย 44-49% (1:1)

การศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิและมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ โดยอบมะม่วงกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 เพื่อเป็นตัวแทนของแมลง ในผลมะม่วงทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่า มะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน จำนวน 15 ผล พบหนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้รอดชีวิตในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ และแดงจักรพรรดิ เฉลี่ย จำนวน 907 และ936 ตัว สำหรับมะม่วงที่ผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส ที่อุณหภูมิ 47 และ 47 องศาเซลเซียส นาน 0, 10, 15 และ 20 นาที พบอัตราการตายของหนอนวัย 1 ในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ เฉลี่ยร้อยละ 81.26, 100, 100, 100 และ100 และแดงจักรพรรดิ เฉลี่ยร้อยละ 66.03, 100, 100, 100 และ100 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าที่ความร้อนตั้งแต่ 47 องศาเซลเซียส เป็นต้นไป สามารถกำจัดแลงให้ตายได้ร้อยละ 100

เพื่อให้เป็นไปตามมาตรฐานของวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช นักวิจัยจึงต้องมีการการศึกษาหาข้อมูลในเรื่องประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* เบื้องต้นในผลมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิ อบมะม่วงเพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 ในผลมะม่วงเพื่อกำหนดกระบวนการอบไอน้ำที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันผลไม้ ไม่น้อยกว่า 3,000 ตัว ในผลมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิให้ตายทั้งหมด รวมทั้งศึกษายืนยันประสิทธิภาพกระบวนการอบไอน้ำในการกำจัดแมลงวันผลไม้จำนวนมากในผลมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิเพื่อใช้เป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชในปี 2567 ต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ที่สนับสนุนงบประมาณโครงการวิจัย คณะกรรมการที่ปรึกษาด้านวิชาการ คณะกรรมการบริหารงานวิจัย สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่ได้ช่วยกันพิจารณาแก้ไข และให้คำแนะนำในการจัดทำโครงการวิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดศัตรูพืชกักกันของพืชส่งออก ขอบคุณ คุณสุภาพ ปิ่นแก้ว นักวิชาการเกษตรชำนาญการ กลุ่มส่งเสริมการควบคุมศัตรูพืชโดยเทคโนโลยีรังสี กองส่งเสริมการอารักขาพืชและจัดการดินปุ๋ย กรมส่งเสริมการเกษตร และสถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน) ที่ให้ความอนุเคราะห์แมลงวันผลไม้ และเจ้าหน้าที่จากกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่ช่วยให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

รัชฎา อินทรกำแหง สลักจิต พานคำ ชัยณรัตน์ สนศิริ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ ชุติมา อ้อมกิ่ง จารุวรรณ จันทรา และอุดร อุณหวุฒิ. 2553. วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในมะม่วงพันธุ์มหาชนก โชคอนันต์ และเขียวเสวยเพื่อการส่งออก. คลังผลงานวิจัยกรมวิชาการเกษตร รายงานผลงานวิจัยและพัฒนา 2553. 11 หน้า

อุดร อุณหวุฒิ มานะ พุ่มทอง รัชฎา อินทรกำแหง วลัยกร วรวิศิษฎ์ธำรง และประเทือง ศรีสุข. 2535. การศึกษาความต้านทานต่อความร้อนของหนอนแมลงวันทองวัยที่ 1 ในมะม่วงหนังกลางวันน้ำดอกไม้ แรด และพิมเสนแดง. วารสารวิชาการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร. ปีที่11(3). หน้า 133-147.

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

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

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.

Watanabe, N., Ichinohe F. and Sonda M. 1973. *Improvement of corn flour medium for larval culture of oriental fruit fly*. Research Bulletin of the Plant Protection Service Japan. 11. 57–58 pp.

Table 1 Time for center of mango to attain 46 and 47 °C for various holding times during modified vapor heat treatment in preliminary disinfestation test

Mango	Load factor (kg/cum.)	Sensor fruit weight (g)			Time (min.)[1/]				
					46 °C	47 °C			
					0:00	0:00	0:10	0:15	0:20
Namdokmai	6.73	472.86	475.96	476.76	2:50	3:09	3:19	3:24	3:29
Dang Jakkrapad	7.15	481.18	482.83	487.23	2:50	3:15	3:25	3:30	3:35

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

Table 2 Mortality[1/] of first instar of oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in mango (Namdokmai) 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	1,500	907	593	0
46.0 °C + 0 min.	1,500	170	1,330	81.26
47.0 °C + 0 min.	1,500	1,500	0	100
47.0 °C + 10 min.	1,500	1,500	0	100
47.0 °C + 15 min.	1,500	1,500	0	100
47.0 °C + 20 min.	1,500	1,500	0	100

[1/]Combined data of 3 replicates.

[2/]Treatment: 5 fruits infested with 100 individuals/fruit. Control: 2 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 (Dang Jakkrapad) 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	1,500	936	564	0
46.0 °C + 0 min.	1,500	318	1,182	66.03
47.0 °C + 0 min.	1,500	0	0	100
47.0 °C + 10 min.	1,500	0	0	100
47.0 °C + 15 min.	1,500	0	0	100
47.0 °C + 20 min.	1,500	0	0	100

[1/]Combined data of 3 replicates.

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

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

Figure 1 To determine preliminary disinfestation, mangos from the Namdokmai and Dang Jakkrapad varieties were exposed to a modified vapor heat treatment

Figure 2 The mortality rate was determined by dissecting test fruits 5 days after treatment

วิจัยและพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* ในผลมะม่วงอกร่องเพื่อการส่งออก

Research and Development of Modified Vapor Heat Treatment for Ok Rong Mango infested with *Bactrocera dorsalis* for Export

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

Abstract

The goal of this study is to develop a modified vapor heat treatment to disinfest *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in mango (*Mangifera indica* L.) fruits of 'Ok Rong' to meet the plant quarantine regulation without damaging fruit quality. The heat tolerance of *B. dorsalis* first instar between 'Nam Dok Mai' and 'Ok Rong' was determined by Modified vapor heat treatment (MVHT). The results showed that the first instar larva, *B. dorsalis*, that infested in 'Nam Dok Mai' was more tolerant to the heat of MVHT than the larva in 'Ok Rong'. In addition, temperatures and times to complete mortality of the first instar *B. dorsalis* in 'Ok Rong' fruits was 47 °C and greater than 5 minutes. These results will be used to evaluate the treatment schedule for standard quarantine treatment in a confirmatory test of MVHT for 'Ok Rong' mango infested with *B. dorsalis*.

Keywords : Modified Vapor Heat Treatment, mango, quarantine pest, fruit fly

รหัสการทดลอง FF65-55-05-65-00-06-65

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในผลมะม่วงพันธุ์อกร่อง ให้ได้ตามมาตรฐานวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชระหว่างประเทศ โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของมะม่วงหลังอบไอน้ำ โดยศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัยที่ 1 ในผลมะมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้กับมะม่วงพันธุ์อกร่อง ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ พบว่าหนอนแมลงวันผลไม้วัยที่ 1 ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ทนทานมากกว่าในมะม่วงอกร่อง และพบว่าที่อุณหภูมิ 47 ℃ นาน 5 นาที ขึ้นไป สามารถกำจัดหนอนแมลงผลไม้วัยที่ 1 ให้ตายได้ทั้งหมด ซึ่งอุณหภูมิและระยะเวลาที่ได้จากการทดลองนี้จะถูกนำไปใช้ในการศึกษายืนยันประสิทธิภาพกระบวนการอบไอน้ำในการกำจัดแมลงวันผลไม้จำนวนมากเพื่อใช้เป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชต่อไป

คำหลัก : อบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ มะม่วง ศัตรูพืชกักกัน แมลงวันผลไม้

คำนำ

ประเทศไทยเป็นแหล่งแพร่ระบาดของแมลงวันผลไม้ และมักพบปัญหาไข่และหนอนแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ซึ่งเป็นศัตรูพืชกักกันที่สำคัญของต่างประเทศติดไปกับผักผลไม้ส่งออก ดังนั้น ก่อนการส่งออกผักผลไม้ไปยังประเทศที่มีความเข้มงวดด้านกักกันพืช จึงต้องมีการกำจัดแมลงวันผลไม้ตามเงื่อนไขระหว่างประเทศ การกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified Vapor Heat Treatment, MVHT) เป็นวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ที่มีประสิทธิภาพสูง ประเทศไทยได้วิจัยและพัฒนาวิธีการกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยวิธีการดังกล่าว และประสบความสำเร็จในการใช้วิธีการดังกล่าวเจรจาเปิดตลาดเพื่อส่งออกผลไม้สด เช่น มะม่วง ส้มโอ และมังคุด ไปยังประเทศที่มีความเข้มงวดทางด้านกักกันพืชหลายประเทศ 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 ดังนั้น ผู้วิจัยจึงทำการวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในมะม่วงอกร่อง ที่มีประสิทธิภาพตรงตามมาตรฐานด้านกักกันพืช โดยไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพของผลไม้ เพื่อใช้ในการเจรจาเปิดตลาดส่งออกผลไม้สดไปยังประเทศที่เข้มงวดด้านกักกันพืชได้มากขึ้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

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

วิธีการ

1. การเลี้ยงแมลงวันผลไม้จำนวนมากด้วยอาหารเทียมเพื่อเพิ่มปริมาณและเพื่อใช้ในการทดลอง

แมลงวันผลไม้ที่ใช้ในทดลอง ได้มาจากแมลงวันผลไม้ที่เข้าทำลายผลมะม่วงในพื้นที่อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา โดยทำการรวบรวมและเลี้ยงจนเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัย จากนั้นจะคัดแยกชนิดอย่างละเอียดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ คัดแยกแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis*, *B. carambolae* และ *B. papayae* ออกจากกัน แล้วจึงนำแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยไปเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการและเพิ่มจำนวนให้มากขึ้น ใช้เทคนิคและวิธีการเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์ตามวิธีการของ Watanabe et al., (1973) และอุดร (2541) โดยใช้การเลี้ยงด้วยอาหารเทียม (artificial diet) ที่ห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้ ของกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. บันทึกอัตราการฟักของไข่ (hatching rate)
2. บันทึกอัตราการออกเป็นตัวเต็มวัย (emerging rate)
3. น้ำหนักของดักแด้
4. อัตราส่วนของเพศผู้และเพศเมีย (sex ratio)

2. การศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์อกร่องและมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์

การศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์อกร่องและมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ โดยอบมะม่วงกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 ในผลมะม่วงทั้ง 2 สายพันธุ์ มีขั้นตอนและวิธีการดำเนินการดังต่อไปนี้ ดำเนินการทดลองด้วยเครื่องตู้อบความร้อนกำจัดแมลงวันผลไม้ขนาดเล็ก จำนวน 2 เครื่อง ใช้มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เป็นตัวเปรียบเทียบพันธุ์กับมะม่วงพันธุ์อกร่อง โดยใช้หนอนวัย 1 เพื่อเป็นตัวแทนของแมลงในการเตรียมมะม่วงให้มีแมลงวันผลไม้อยู่ภายในผล (artificial infestation method) (Figure 1) ตามวิธีการของ (Intarakumheng *et al*., 2013)

มะม่วงที่ใช้ในการทดลองมีขนาดกลาง โดยวางเรียงมะม่วงที่ใส่หนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง ผลละ 100 ตัว ในถาดบรรจุผลไม้ ซึ่งในถาดเดียวกันนั้นแยกเป็นมะม่วงพันธุ์อกร่องและมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ นำมะม่วงทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อน อบความร้อนที่อุณหภูมิผล 46, 46.5 ℃ ใช้ระยะเวลาอบนาน 0 นาที และ 47 ℃ ใช้เวลาอบนาน 0 5 และ 15 นาที (Figure 2) ตรวจนับจำนวนหนอนแมลงวันผลไม้ที่รอดชีวิตในผลมะม่วงแต่ละผล หลังจากผ่านความร้อนเป็นเวลานาน 5 วัน โดยบันทึกจำนวนหนอนที่รอดชีวิตทั้งหมดในมะม่วงทดลองที่อุณหภูมิ และระยะเวลาที่กำหนด นำข้อมูลไปคำนวณหาอัตราการตายที่แท้จริง (corrected mortality) โดยสูตรของ Abbott (Abbott, 1925)

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. ตรวจสอบค่าอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์จากกระดาษบันทึกอุณหภูมิและความชื้นของตู้อบไอน้ำ

2. บันทึกอัตราการตายของหนอนวัยที่ 1 (corrected mortality)

3. ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้เบื้องต้นในผลมะม่วงพันธุ์อกร่อง

การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์อกร่อง อบมะม่วงกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 ในผลมะม่วงเพื่อกำหนดกระบวนการอบไอน้ำที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันผลไม้ ไม่น้อยกว่า 3,000 ตัว ในผลมะม่วงพันธุ์อกร่องให้ตายทั้งหมด ดำเนินการทดลองด้วยเครื่องตู้อบความร้อนกำจัดแมลงวันผลไม้ขนาดเล็ก จำนวน 2 เครื่อง โดยใช้หนอนวัย 1 เพื่อเป็นตัวแทนของแมลงในการเตรียมมะม่วงให้มีแมลงวันผลไม้อยู่ภายในผล (artificial infestation method) ตามวิธีการของ (Intarakumheng *et al*., 2013) มะม่วงที่ใช้ในการทดลองมีขนาดกลาง นำมะม่วงทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อน วางเรียงมะม่วงที่ทำการใส่หนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง ผลละ 100 ตัว ในถาดบรรจุผลไม้ อบมะม่วงในเครื่องตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาที่ได้จากขั้นตอนที่ 4 ตรวจนับจำนวนหนอนแมลงวันผลไม้ที่รอดชีวิตในผลมะม่วงแต่ละผล หลังจากผ่านความร้อนเป็นเวลานาน 5 วัน โดยบันทึกจำนวนหนอนที่รอดชีวิตทั้งหมดในมะม่วงทดลองที่อุณหภูมิ และระยะเวลา

ที่กำหนด นำข้อมูลไปคำนวณหาอัตราการตายที่แท้จริง (corrected mortality) โดยสูตรของ Abbott (Abbott, 1925)

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. ตรวจสอบค่าอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์จากกระดาษบันทึกอุณหภูมิและความชื้นของตู้อบไอน้ำ

2. บันทึกอัตราการตายของหนอนวัยที่ 1 (corrected mortality)

เวลาและสถานที่

เวลา เดือนตุลาคม 2565 - กันยายน 2566

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาเปรียบเทียบความทนทานของหนอนแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* วัย 1 ในผลมะม่วงน้ำดอกไม้และมะม่วงอกร่องที่มีขนาดใกล้เคียงกันต่อความร้อนจากกระบวนการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ที่อุณหภูมิภายในผล 46, 46.5 และ 47 °C นาน 0 นาที อุณหภูมิ 47 °C นาน 5 นาที และ 10 นาที พบว่าหนอนแมลงวันผลไม้วัย 1 ในมะม่วงน้ำดอกไม้มีความทนทานต่อความร้อนมากกว่าในผลมะม่วงอกร่อง โดยมีอัตราการตายที่แท้จริงของหนอนวัย 1 ในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เท่ากับ 44.4, 75.6, 96.87, 99.87 และ100 เปอร์เซ็นต์ และมะม่วงอกร่อง เท่ากับ 75.33, 81.6, 99.93, 100 และ100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 1) สอดคล้องกับ Intarakumheng et al. (2013) และ รัชฎา และคณะ (2553) ศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้วัย 1 ด้วยวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ในมะม่วงพันธุ์หนังกลางวันเปรียบเทียบกับพันธุ์เขียวเสวย มหาชนก และโชคอนันต์ พบว่าที่อุณหภูมิ 47 °C นาน 10 นาที สามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ระยะหนอนวัยที่ 1 ใน มะม่วงพันธุ์เขียวเสวย มหาชนก และ หนังกลางวันได้ร้อยละ 100 ขณะที่ Unahawutti et al. (1991) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันทองวัย 1 ในมะม่วง 4 พันธุ์คือ หนังกลางวัน น้ำดอกไม้ แรด และ พิมเสนแดง พบว่าสามารถกำจัดแมลงวันผลไม้หนอนวัย 1 ในมะม่วงหนังกลางวัน น้ำดอกไม้ และแรด ได้ร้อยละ 100 ที่อุณหภูมิ 46.5 °C นาน 10 นาที

อย่างไรก็ตามข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้จะถูกนำไปใช้ในการการศึกษายืนยันประสิทธิภาพกระบวนการอบไอน้ำในการกำจัดแมลงวันผลไม้จำนวนมากเพื่อใช้เป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

หนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ที่อยู่ในผลมะม่วงอกร่องมีความทนทานต่อความร้อนน้อยกว่าในผลมะม่วงน้ำดอกไม้ และที่อุณหภูมิในสุดผลมะม่วงอกร่อง 47 °C เป็นเวลานาน 5 นาที ขึ้นไปทำให้หนอนวัย 1 ตายทั้งหมด ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้เป็นข้อมูลเบื้องต้นที่จะถูกนำไปใช้ในการการศึกษายืนยันประสิทธิภาพกระบวนการอบไอน้ำในการกำจัดแมลงวันผลไม้จำนวนมากเพื่อใช้เป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชต่อไป

ข้อเสนอแนะต่อผู้เกี่ยวข้องสำหรับการดำเนินงานในระยะต่อไป

เพื่อให้เป็นไปตามมาตรฐานของวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช นักวิจัยจึงต้องมีการศึกษาหาข้อมูลในเรื่องประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* เบื้องต้นในผลมะม่วงอกร่อง เพื่อกำหนดกระบวนการอบไอน้ำที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันผลไม้ ไม่น้อยกว่า 3,000 ตัว ในผลมะม่วงอกร่องให้ตายทั้งหมด รวมทั้งศึกษายืนยันประสิทธิภาพกระบวนการอบไอน้ำในการกำจัดแมลงวันผลไม้จำนวนมากในผลมะม่วงอกร่อง เพื่อใช้เป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชในปี 2567 ต่อไป

ปัญหาและอุปสรรคในการทำงาน

สำหรับการศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* เบื้องต้นในผลมะม่วงอกร่อง เพื่อกำหนดกระบวนการอบไอน้ำที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันผลไม้ ไม่น้อยกว่า 3,000 ตัว ในผลมะม่วงให้ตายทั้งหมด ยังอยู่ระหว่างดำเนินการ เนื่องจากในระหว่างดำเนินการทดลองปีงบประมาณ 2566 ห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้ชำรุดทำให้แมลงวันผลไม้ที่เพาะเลี้ยงไว้สำหรับการทดลองตายทั้งหมด นักวิจัยจึงต้องเริ่มทำการเพิ่มปริมาณการเพาะเลี้ยงใหม่ ทำให้จำนวนแมลงวันผลไม้ที่ใช้ในการทดลองไม่เพียงพอ และการทดลองในส่วนนี้ไม่สามารถดำเนินการต่อได้ในฤดูกาลผลผลิตของมะม่วงอกร่อง แต่อย่างไรก็ตามการทดลองนี้จะดำเนินการในปีงบประมาณ 2567 ต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ที่สนับสนุนงบประมาณโครงการวิจัย คณะกรรมการที่ปรึกษาด้านวิชาการ คณะกรรมการบริหารงานวิจัย สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่ได้ช่วยกันพิจารณาแก้ไข และให้คำแนะนำในการจัดทำโครงการวิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดศัตรูพืชกักกันของพืชส่งออก และเจ้าหน้าที่จากกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และขอขอบคุณสถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน) และศูนย์รังสีควบคุมศัตรูพืช กรมส่งเสริมการเกษตร ที่ให้ความอนุเคราะห์แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* เพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงเพิ่มจำนวนสำหรับการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

รัชฎา อินทรกำแหง สลักจิต พานคำ ชัยณรัตน์ สนศิริ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ ชุติมา อ้อมกิ่ง จารุวรรณ จันทรา และอุดร อุณหวุฒิ. 2553. วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในมะม่วงพันธุ์มหาชนก โชคอนันต์ และเขียวเสวยเพื่อการส่งออก. คลังผลงานวิจัยกรมวิชาการเกษตร รายงานผลงานวิจัยและพัฒนา 2553. 11 หน้า

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

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

Intarakumheng, R., Phankum, S., Sonsiri, C., Srimartpirom, M., Ormking, C., and Unahawutti, U. 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.

Unahawutti, U., M. Poomthong, R. Intarakumheng, W. Worawisitthumrong, C. Lapasathukool, E. Smitasiri, P. Srisook and C. Ratanawaraha. 1991. Vapour 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.

Watanabe, N., Ichinohe, F. and Sonda, M. 1973. *Improvement of corn flour medium for larval culture of oriental fruit fly.* Research Bulletin of the Plant Protection Service Japan. 11. 57–58 pp.

Table 1. Mortality[1/] of first instars of the Oriental fruit fly (*Bactrocera dorsalis*) in 'Nam Dok Mai' and 'Ok Rong' mangoes treated with modified vapor heat treatment

Treatment[2/]	Number of treated (larvae)	Number of alive (larvae)	Number of dead (larvae)	Corrected mortality (%)[3/]
Nam Dok Mai				
Control	3,000	1,809	1,191	0
46.0 °C	1,500	834	666	44.4
46.5 °C	1,500	366	1,134	75.6
47.0 °C	1,500	47	1,453	96.87
47.0 °C + 5 min.	1,500	2	1,498	99.87
47.0 °C + 10 min.	1,500	0	1,500	100
Ok Rong				
Control	3,000	1,505	1,495	0
46.0 °C	1,500	370	1,130	75.33
46.5 °C	1,500	276	1,224	81.6
47.0 °C	1,500	1	1,499	99.93
47.0 °C + 5 min.	1,500	0	1,500	100
47.0 °C + 10 min.	1,500	0	1,500	100

[1/]Control: 10 fruits infested with 100 larval/fruit

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

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

Figure 1 Preparation of mango fruits for artificial inoculation; left = Ok Rong, right = Nam Dok Mai

Figure 2 Comparison test for heat tolerance of *B. dorsalis* 1st instar in 'Ok Rong' and 'Nam Dok Mai' mangoes treated with MVHT

ภาคผนวก

Table 1 Time for the centers of 'Nam Dok Mai' and 'Ok Rong' mangoes to attain target temperatures by MVHT

Treatment temperature (°C)	Time (min.)*		Sensor fruit weight (g)	
	Nam Dok Mai	Ok Rong	Nam Dok Mai	Ok Rong
46.0	132	132	260.63	243.98
46.5	138	138	261.16	244.50
47.0	147	150	260.39	245.94
47.0 + 5 min.	152	155		
47.0 + 10 min.	157	160		

* time for center of all 2 sensor fruits to attain target temperatures

การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas corrugata* ในประเทศไทย

Survey and Surveillance of *Pseudomonas corrugata* in Thailand

วานิช คำพานิช[1/] ชลธิชา รักใคร่[1/] วันเพ็ญ ศรีชาติ[2/]
พรรณิภา เปชัยศรี[1/] ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล[3/]
[1/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิชาการ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 2
[3/]ผู้เชี่ยวชาญด้านโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas corrugata* ที่ถูกประกาศเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทยเพื่อยืนยันสถานภาพที่เป็นปัจจุบันและแก้ปัญหาการส่งออกเมล็ดพันธุ์พริกและมะเขือเทศไปสหภาพยุโรปซึ่งมีข้อกำหนดว่าต้องมาจากแหล่งผลิตที่ปราศจากเชื้อนี้ โดยการจัดทำคู่มือสำรวจ วางแผนการสำรวจอย่างมีระบบ และดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (เฝ้าระวัง) ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 ถึงเดือนกันยายน 2566 ในแปลงปลูกพริกและมะเขือเทศในพื้นที่ 19 จังหวัด 425 แปลง ทำการตรวจสอบเบื้องต้นและเก็บอาการที่สงสัย 130 ตัวอย่าง นำมาตรวจวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ด้วยวิธีการมาตรฐานสากล ผลปรากฏว่าเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดไม่ใช่เชื้อแบคทีเรีย *P. corrugata* ทำให้สามารถยืนยันสถานภาพได้ว่าเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวยังคงสถานภาพศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย

คำหลัก : การสำรวจ, การเฝ้าระวัง, สถานภาพ, เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas corrugata*

รหัสการทดลอง FF65-55-06-65-00-01-65

คำนำ

เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas corrugata* สาเหตุโรค bacterial pith necrosis ในพริกและมะเขือเทศเป็นเชื้อที่ไม่มีรายงานในประเทศไทยและถูกประกาศให้เป็นศัตรูพืชกักกันตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 ภายใต้พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 ที่แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2551 เชื้อดังกล่าว เป็นเชื้อที่มีรายงานการแพร่ระบาดในแหล่งผลิตพืชวงศ์มะเขือของต่างประเทศ และมีแหล่งแพร่กระจายในหลายประเทศทั่วโลกได้แก่ แอฟริกาใต้ อินเดีย อิสราเอล ญี่ปุ่น ฝรั่งเศส เยอรมนี โปแลนด์ สวีเดน แคนาดา เม็กซิโก สหรัฐอเมริกา เครือรัฐออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ บราซิล และอาร์เจนตินา (CABI, 2019) และในต่างประเทศมีรายงานว่าอาการของโรคจะพัฒนาเมื่อต้นพืช อายุ 3 เดือน โดยเริ่มแรกใบอ่อนมีอาการเหลือง บริเวณลำต้นหรือกิ่งที่ถูกเชื้อเข้าทำลายจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และเนื้อเยื่อจะยุบลงไป เซลล์ของพืชจะแห้งตาย เมื่อผ่าลำต้นตามทางยาว พบว่าไส้ของลำต้นกลวง ท่อน้ำท่ออาหารถูกทำลาย และเป็นแผลเซลล์ตาย และยืนต้นตายในที่สุด (Moura *et al*., 2005) มีรายงานว่าเชื้อแบคทีเรียสามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้ และสามารถเจริญเติบโตได้ในดินที่มีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนสูง

ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศเข้ามาเพื่อปลูก จึงมีความเสี่ยงที่เชื้อแบคทีเรีย *P. corrugata* จะติดมากับเมล็ดพันธุ์พริกและมะเขือเทศที่นำเข้า ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย *P. corrugata* เพื่อยืนยันสถานภาพการปรากฏและไม่ปรากฏของในพื้นที่ปลูกพืชอาศัยของเชื้อแบคทีเรียที่เป็นปัจจุบันและแก้ปัญหาการส่งออกเมล็ดพันธุ์พริกและมะเขือเทศไปประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรปซึ่งมีข้อกำหนดว่าต้องมาจากแหล่งผลิตที่ปราศจากเชื้อนี้ รวมทั้งใช้เป็นข้อมูลในการสนับสนุนการออกมาตรการเฝ้าระวังศัตรูพืช 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. การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas corrugata*

ดำเนินการสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรียตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (Surveillance: ISPM No. 6) (FAO, 2018; McMaugh, 2008) ในแปลงปลูกพริกและมะเขือเทศ โดยดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) เพื่อให้ทราบข้อมูลเชื้อแบคทีเรีย *P. corrugata* ในพื้นที่สำรวจและในเวลาที่กำหนด ตามขั้นตอนต่อไปนี้

- กำหนดพื้นที่ แหล่งปลูกพริกและมะเขือเทศในประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย พะเยา น่าน ตาก เลย กาฬสินธุ์ หนองคาย ขอนแก่น อุดรธานี หนองบัวลำภู มุกดาหาร นครพนม สกลนคร นครราชสีมา นครปฐม เพชรบุรี ระยอง และจันทบุรี

- วางแผนการสำรวจ ดำเนินการสำรวจตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (Surveillance: ISPM No. 6) วางแผนการสำรวจในพื้นที่อย่างน้อย 10 แปลงต่อพื้นที่แต่ละแปลงทำการสุ่มตัวอย่างแบบเป็นระบบ สุ่มตรวจโรค 5 แถวต่อแปลง กำหนดการตรวจแบบแถวเว้นแถว

- วิธีการตรวจเชื้อแบคทีเรีย *P. corrugata* ในแปลง เมื่อออกสำรวจให้สังเกตจากลักษณะอาการของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือการสำรวจที่จัดทำไว้ บันทึกรายละเอียดข้อมูลของแปลง บันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป เก็บตัวอย่างห่อกระดาษและใส่ถุง นำกลับมาตรวจหาเชื้อแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการ

2. การตรวจสอบและจัดจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas corrugata* ในห้องปฏิบัติการ

ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช โดยการนำตัวอย่างที่เก็บมาหรือสุ่มใบ กิ่ง และลำต้นของพริกและมะเขือเทศที่แสดงอาการคล้ายกับรูปภาพนำมาแยกเชื้อตามวิธีการดังต่อไปนี้

2.1 วิธี tissue transplanting

ตัดใบพืชเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 2x2 มิลลิเมตร ฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรอง ภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อแล้ววางพืชลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar (NA) และอาหารเลี้ยงเชื้อ King's B Medium และอาหาร Yeast Peptone Glucose Agar (YPGA) นำจานเลี้ยงเชื้อไปเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน จึงนำมาตรวจสอบหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรีย และนำไปศึกษาคุณลักษณะเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

2.2 วิธี dilution plate

ตัดใบพืชที่เป็นโรคเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมแล้วฆ่าเชื้อที่ผิว ด้วยสารละลายคลอรอกซ์ ความเข้มข้น 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 และอาหาร 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. สรุปผลการศึกษาสถานภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas corrugata*

โดยทำการสรุปผลการศึกษาสถานภาพของเชื้อราเพื่อนำไปใช้ในการจัดทำมาตรการเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกัน

การบันทึกข้อมูล

1) บันทึกรายละเอียดตำแหน่งของแปลงปลูกพริกและมะเขือเทศที่ทำการสำรวจ/เก็บตัวอย่าง

2) บันทึกข้อมูลจำนวนแปลง และจำนวนตัวอย่างที่ทำการสำรวจ/เก็บตัวอย่าง

3) บันทึกข้อมูลชนิดพืช ขนาดพื้นที่ปลูก ระยะการเจริญเติบโตของพืช และสภาพแวดล้อมอื่น ๆ

4) บันทึกลักษณะอาการ การเกิดโรค ส่วนของพืชที่พบอาการของโรค ประเมินความรุนแรงของโรค และการแพร่กระจายในพื้นที่

5) บันทึกข้อมูลชนิดของเชื้อสาเหตุโรคพืช และลักษณะเชื้อสาเหตุที่ตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ

เวลาและสถานที่

เวลา ระยะเวลาเริ่มต้น ตุลาคม 2564 – กันยายน 2567

สถานที่ ห้องปฏิบัติการของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

แปลงผลิตพริกและมะเขือเทศ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย พะเยา น่าน ตาก เลย กาฬสินธุ์ หนองคาย ขอนแก่น อุดรธานี หนองบัวลำภู มุกดาหาร นครพนม สกลนคร นครราชสีมา นครปฐม เพชรบุรี ระยอง และจันทบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas corrugata*

จากการสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย *P. corrugata* ในประเทศไทย โดยจัดทำคู่มือการสำรวจ วางแผนการสำรวจอย่างมีระบบ และดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (การเฝ้าระวัง) ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 - กันยายน 2566 ในพื้นที่ปลูกพริกและมะเขือเทศ จำนวน 19 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย พะเยา น่าน ตาก เลย กาฬสินธุ์ หนองคาย ขอนแก่น อุดรธานี หนองบัวลำภู มุกดาหาร นครพนม สกลนคร นครราชสีมา นครปฐม เพชรบุรี ระยอง และจันทบุรี และสุ่มเก็บตัวอย่างส่วนของพืชที่แสดงอาการคล้ายหรือสงสัย เช่น ใบเหลือง ไส้ของลำต้นกลวง ท่อน้ำท่ออาหารผิดปกติ 130 ตัวอย่าง (Figure 1 และ Figure 2)

2. การตรวจสอบและจัดจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas corrugata* ในห้องปฏิบัติการ

จากการนำตัวอย่างที่สงสัย จำนวนทั้งสิ้น 130 ตัวอย่าง มาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ด้วยวิธี tissue transplanting และเลี้ยงเชื้อบนอาหาร King’s B Medium และอาหาร Yeast Peptone Glucose Agar ตรวจสอบด้วยวิธีการทางชีวเคมี ผลการตรวจสอบพบว่า เชื้อแบคทีเรียทั้งหมดไม่ใช่เชื้อแบคทีเรีย *P. corrugata* ทำให้สามารถยืนยันสถานภาพได้ว่าเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวยังคงสถานภาพเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย

3. สรุปผลการศึกษาสถานภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas corrugata*

การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย *P.corrugata* แบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) ตามมาตรฐาน ISPM ฉบับที่ 6 (เฝ้าระวัง) ในแปลงปลูกพืชวงศ์ส้มของประเทศไทยในพื้นที่ 19 จังหวัด จำนวน 425 แปลง ไม่ปรากฏพบเชื้อแบคทีเรีย *P.corrugata* ทำให้สามารถยืนยันได้ว่าเชื้อราดังกล่าวยังคงสถานภาพในการเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 ถึงเดือนกันยายน 2566 ในแปลงมะเขือเทศในพื้นที่ 19 จังหวัด 425 แปลง ทำการตรวจและเก็บอาการที่สงสัย 130 ตัวอย่าง นำมาตรวจวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการ ผลปรากฏว่าเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดไม่ใช่เชื้อแบคทีเรีย *P. corrugata* ทำให้สามารถยืนยันได้ว่าเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวยังคงมีสถานภาพเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย ทั้งนี้จำเป็นต้องขยายขอบเขตการสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ในปีที่ 3 อีกครั้ง เพื่อให้เป็นไปตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (Surveillance: ISPM No. 6)

คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ที่สนับสนุนงบประมาณในการศึกษาวิจัย คุณอุดร อุณหวุฒิ คุณสุรพล ยินอัศวพรรณ และคุณณัฏฐพร อุทัยมงคล อดีตผู้เชี่ยวด้านกักกันพืช ที่กรุณาให้คำแนะนำในการดำเนินงานวิจัย ขอขอบคุณคณะกรรมการที่ปรึกษาด้านวิชาการ 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)

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.

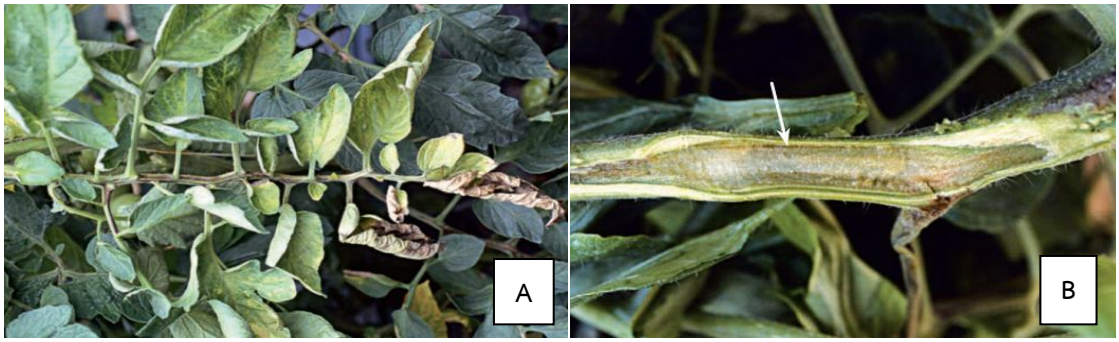


Figure 1 Symptoms of *Pseudomonas corrugata*; A) The leaflets of this leaf are slightly chlorotic and wilted; the tip leaflets are drying out and B) The pith of the stem is glassy and dark to blackish depending on position. **Source:** Blancard, 2012

Figure 2 The specific survey of *Pseudomonas corrugata* in production areas of pepper and 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 2565 - กันยายน 2566 ได้ดำเนินการสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคใบจุดในพริกและมะเขือเทศ ในจังหวัดร้อยเอ็ด ขอนแก่น ชัยภูมิ นครราชสีมา บุรีรัมย์ ศรีสะเกษ อุบลราชธานี ประจวบคีรีขันธ์ เพชรบุรี ราชบุรี นครปฐม กาญจนบุรี และนครสวรรค์ นำมาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ พบเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas* โดยเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ก่อให้เกิดโรคใน มะเขือเทศหรือพริก 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) และรายงานการจำแนกชนิดแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศโดยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์หลายตำแหน่งพบเชื้อ 2 ชนิด ได้แก่ *X. euvesicatoria* และ *X. perforans* (สันติพงษ์และคณะ, 2563)

เชื้อแบคทีเรีย *X. vesicatoria* สาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ เป็นศัตรูพืชกักกันที่มีรายชื่ออยู่ใน EPPO A2 list (EPPO, 2013) สามารถถ่ายทอดทางเมล็ดได้และไม่มีปรากฏในประเทศไทยมาก่อน จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องเฝ้าระวัง เนื่องจากประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศเพื่อการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมในภายประเทศและส่งกลับไปจำหน่ายยังต่างประเทศ ดังนั้น การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของเชื้อแบคทีเรีย *X. vesicatoria* สาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ เพื่อยืนยันสถานภาพการเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย เป็นข้อมูลซึ่งเป็นหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การกำหนดพื้นที่ปลอดศัตรูพืช 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 แปลงต่อ

พื้นที่ 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 70% นาน 5 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง แล้วนำมาบดในน้ำกลั่น และแยกเชื้อบนอาหาร PSA หลังจากนั้นบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 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.D.600 nm เท่ากับ 0.2 ด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ มีความเข้มข้นของเชื้อประมาณ 10^8 CFU/ml 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 50 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 2565 – กันยายน 2566

สถานที่ 1. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2. แหล่งปลูกพริกและมะเขือเทศ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคใบจุดในพริกและมะเขือเทศ ในจังหวัดร้อยเอ็ด ขอนแก่น ชัยภูมิ นครราชสีมา บุรีรัมย์ ศรีสะเกษ อุบลราชธานี ประจวบคีรีขันธ์ เพชรบุรี ราชบุรี นครปฐม กาญจนบุรี และนครสวรรค์ จำนวน 233 แปลง แยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ พบเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas* spp. จำนวน 60 ตัวอย่าง เชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ก่อให้เกิดโรคในมะเขือเทศหรือพริก ตรวจเชื้อด้วยเทคนิค PCR ตามรายงานของ Koenraadt *et al*. (2009) ยังไม่พบเชื้อแบคทีเรีย *X. vesicatoria*

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ข้อมูลการสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas vesicatoria* ในประเทศไทย ปีที่ 2 ในจังหวัดร้อยเอ็ด ขอนแก่น ชัยภูมิ นครราชสีมา บุรีรัมย์ ศรีสะเกษ อุบลราชธานี ประจวบคีรีขันธ์ เพชรบุรี ราชบุรี นครปฐม กาญจนบุรี และนครสวรรค์ 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 2565 - กันยายน 2566 ได้ดำเนินการสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคใบจุดในพริกและมะเขือเทศ ในจังหวัดร้อยเอ็ด ขอนแก่น ชัยภูมิ นครราชสีมา บุรีรัมย์ ศรีสะเกษ อุบลราชธานี ประจวบคีรีขันธ์ เพชรบุรี ราชบุรี นครปฐม กาญจนบุรี และนครสวรรค์ นำมาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ พบเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas* โดยเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ก่อให้เกิดโรคในมะเขือเทศหรือพริก ผลการตรวจเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดด้วยไพรเมอร์จำเพาะ พบเชื้อแบคทีเรีย *X. perforans* จากตัวอย่างมะเขือเทศ จ.เพชรบุรี และประจวบคีรีขันธ์

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 หลังจากนั้นบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 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.D.600 nm เท่ากับ 0.2 ด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ มีความเข้มข้นของเชื้อประมาณ 10^8 CFU/ml 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 50 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 2565 – กันยายน 2566

สถานที่ 1. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2. แหล่งปลูกพริกและมะเขือเทศ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคใบจุดในพริกและมะเขือเทศ ในจังหวัดร้อยเอ็ด ขอนแก่น ชัยภูมิ นครราชสีมา บุรีรัมย์ ศรีสะเกษ อุบลราชธานี ประจวบคีรีขันธ์ เพชรบุรี ราชบุรี นครปฐม กาญจนบุรี และนครสวรรค์ จำนวน 233 แปลง แยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ พบเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas* spp. จำนวน 60 ตัวอย่าง เชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ก่อให้เกิดโรคในมะเขือเทศหรือพริก ผลการตรวจเชื้อด้วยเทคนิค PCR ไม่สอดคล้องกัน ไพรเมอร์ตามรายงานของ Koenraadt *et al*. (2009) ตรวจสอบไม่พบเชื้อแบคทีเรีย *X. perforans* แต่ไพรเมอร์ตามรายงานของ Ning (2012) ตรวจพบเชื้อแบคทีเรีย *X. perforans* จำนวน 2 ตัวอย่าง จากตัวอย่างมะเขือเทศ จ.เพชรบุรี และประจวบคีรีขันธ์ (Figure 1)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ข้อมูลการสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย *X. perforans* ในประเทศไทย ปีที่ 2 ในจังหวัดร้อยเอ็ด ขอนแก่น ชัยภูมิ นครราชสีมา บุรีรัมย์ ศรีสะเกษ อุบลราชธานี ประจวบคีรีขันธ์ เพชรบุรี ราชบุรี นครปฐม กาญจนบุรี และนครสวรรค์ ตรวจพบเชื้อแบคทีเรีย *X. perforans* จากตัวอย่างมะเขือเทศ จ.เพชรบุรี และประจวบคีรีขันธ์

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.

Ning, F. Y. 2012. Identification and detection of *Xanthomonas perforans* by the polymerase chain reaction technique and characterization of *X. perforans* strains in Taiwan by DNA polymorphism. Master' s thesis, Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University, Taiwan.

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.

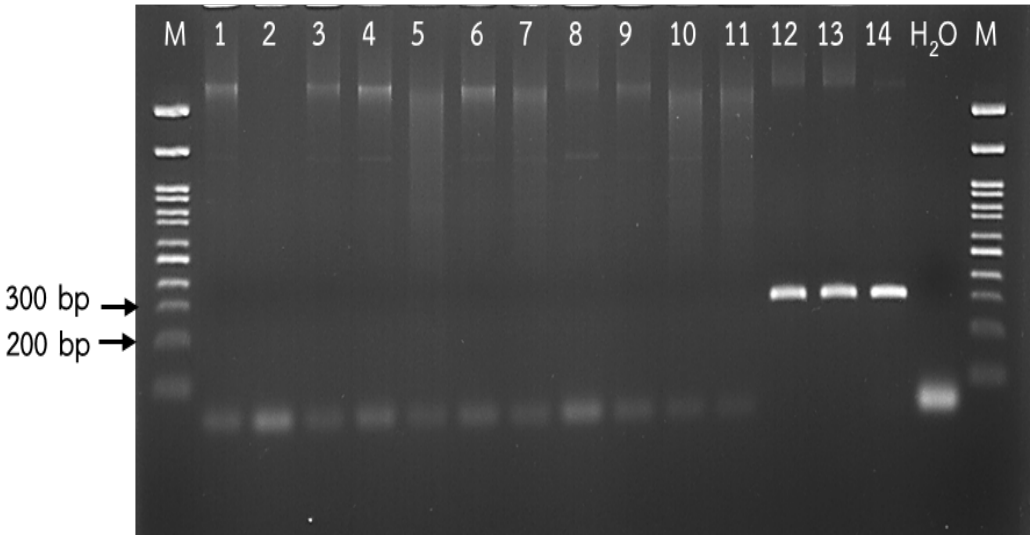


Figure 1 Amplification of *Xanthomonas* isolated from bacterial spot of tomato by PCR with HpaF-f/HpaF-r primers (Ning, 2012), M: onemark 100, lane 1-13: *Xanthomonas* isolated from chili and tomato, lane 14 positive control (reference DNA of *Xanthomonas perforans* NCPPB4321^{T})

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[3/] อภินันท์ เอี่ยมสุวรรณสุข[1/]
[1/]กลุ่มวิจัยการกักกัน สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[3/]ผู้เชี่ยวชาญ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อรา *Pseudocercospora angolensis* ในประเทศไทยโดยจัดทำคู่มือการสำรวจ วางแผนการสำรวจ อย่างมีระบบ และดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (การเฝ้าระวัง) ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 - เดือนกันยายน 2566 ในแปลงปลูกพืชวงศ์ส้มในพื้นที่ 26 จังหวัด 165 แปลง ดำเนินการตรวจสอบเบื้องต้นและสุ่มเก็บตัวอย่างใบและผลที่มีอาการจุด 65 ตัวอย่าง นำมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ด้วยวิธีการตามมาตรฐานสากล ผลการตรวจสอบ พบว่า เชื้อราทั้งหมดไม่ใช่เชื้อรา *P. angolensis* ทำให้สามารถยืนยันสถานภาพได้ว่าเชื้อราดังกล่าวยังคงสถานภาพเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย

คำหลัก : การสำรวจ การเฝ้าระวัง เชื้อรา *Pseudocercospora angolensis*

รหัสการทดลอง FF65-55-06-65-00-05-65

คำนำ

เชื้อรา *Pseudocercospora angolensis* เป็นเชื้อราที่มีชื่อพ้องกับ *Phaeoramularia angolensis* ซึ่งเป็นศัตรูกักกัน ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้าม ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ.2507 (ฉบับที่ 6) และ CABI (2019) รายงานว่า *Pseudocercospora angolensis* เป็นเชื้อราสาเหตุของโรคใบจุด และผลจุดของพืชวงศ์ส้มหลายสกุล ได้แก่ *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) ในปี 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 โดยเฉพาะอย่างยิ่งประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรป (EU) ได้มีข้อกำหนดสำหรับการนำเข้าพืชวงศ์ส้มจากประเทศที่สาม เช่น ประเทศไทย คือ ผลพืชวงศ์ส้มที่ต้องการส่งออกไปประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรปต้องมาจากแหล่งหรือพื้นที่ที่ปราศจากเชื้อรา *P. angolensis* และประกอบกับประเทศไทยนำเข้าผลสดของส้มจากหลายประเทศ ได้แก่ เครือรัฐออสเตรเลีย ญี่ปุ่น แอฟริกาใต้ สาธารณรัฐประชาชนจีน จึงมีความเสี่ยงที่เชื้อรา *P. angolensis* จะติดมากับส่วนใดส่วนหนึ่งของพืชและผลผลิตพืชที่นำเข้าจากต่างประเทศ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อรา *P. angolensis* ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (การเฝ้าระวัง) เพื่อยืนยันสถานภาพการปรากฏและไม่ปรากฏของในพื้นที่ปลูกพืชอาศัยของเชื้อราที่เป็นปัจจุบันและแก้ปัญหาการส่งออกไปสหภาพยุโรปซึ่งมีข้อกำหนดว่าต้องมาจากแหล่งผลิตที่ปราศจากเชื้อรานี้ รวมทั้งใช้เป็นข้อมูลในการสนับสนุนการออกมาตรการเฝ้าระวังศัตรูพืช การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช และการรายงานศัตรูพืชต่อไป

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. การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อรา *Pseudocercospora angolensis*

ทำการสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อรา *P. angolensis* ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (Surveillance: ISPM No. 6) (FAO, 2018; McMaugh, 2008) โดยดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) เพื่อให้ทราบข้อมูลเชื้อรา *P. angolensis* ในพื้นที่สำรวจและในเวลาที่กำหนด ตามขั้นตอนต่อไปนี้

- กำหนดพื้นที่ แหล่งปลูกพืชวงศ์ส้ม เช่น ส้มเขียวหวาน ส้มโอ ส้มจี๊ด และมะนาว ในประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ พะเยา น่าน แพร่ อุตรดิตถ์ สุโขทัย พิษณุโลก พิจิตร ศรีสะเกษ เลย นครราชสีมา กรุงเทพฯ ปทุมธานี ชัยนาท กาญจนบุรี นครปฐม ราชบุรี สมุทรสาคร สมุทรสงคราม ระยอง ฉะเชิงเทรา จันทบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร และนครศรีธรรมราช

- วางแผนการสำรวจ ทำการแบบเฉพาะเจาะจง (Specific survey) ตามมาตรฐาน ISPM No. 6 โดยทำการสำรวจแบบสืบพบ (Detection survey) เพื่อสืบค้นหาศัตรูพืชเป้าหมาย สำรวจในพื้นที่อย่างน้อย 10 แปลงต่อพื้นที่ แต่ละแปลงทำการสุ่มตัวอย่างแบบเป็นระบบ รวมทั้งดำเนินตามคู่มือการสำรวจ จัดทำฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ และบันทึกข้อมูลชื่อเกษตรกร สถานที่ วันที่เก็บ ข้อมูลพิกัดภูมิศาสตร์

2. วิธีการตรวจเชื้อรา *Pseudocercospora angolensis* เบื้องต้น

เมื่อออกสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อราให้สังเกตจากลักษณะอาการเบื้องต้นของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือการสำรวจที่จัดทำไว้ บันทึกรายละเอียดข้อมูลของแปลง บันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป เก็บตัวอย่างห่อกระดาษและใส่ถุง นำกลับมาตรวจหาเชื้อในห้องปฏิบัติการ

3. การตรวจสอบและจำแนกชนิดของเชื้อราที่ได้จากการเก็บตัวอย่าง

3.1 วิธีการตรวจเชื้อรา *P. angolensis*

โดยจัดทำรูปภาพลักษณะอาการของโรคทุกระยะของพืชจัดทำเป็นคู่มือในการสำรวจ เมื่อออกสำรวจให้สังเกตจากลักษณะอาการของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือ และบันทึกลักษณะอาการที่พบถ่ายรูป ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างพืชที่แสดงอาการของโรคบนใบ บนผล ที่แสดงอาการคล้ายคู่มือการสำรวจ รวมทั้งสุ่มเก็บตัวอย่างพืชปกติ มาตรวจสอบเชื้อราและจัดจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ

3.2 การแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืช

- ศึกษาลักษณะอาการของโรคและแยกเชื้อราโดยตรงจากชิ้นส่วนใบและส่วนของผลของพืชวงศ์ส้ม ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo หรือ ทำ moist chamber บ่มที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ นาน 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

3.3 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

4. สรุปผลการศึกษาสถานภาพของเชื้อรา *Pseudocercospora angolensis* โดยทำการสรุปผลการศึกษาสถานภาพของเชื้อราเพื่อนำไปใช้ในการจัดทำมาตรการเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกัน

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. บันทึกรายละเอียดตำแหน่งของแปลงปลูกพืชวงศ์ส้มที่ทำการสำรวจ/เก็บตัวอย่าง
2. บันทึกข้อมูลจำนวนแปลง และจำนวนตัวอย่างที่ทำการสำรวจ/เก็บตัวอย่าง
3. บันทึกข้อมูลชนิดพืช ขนาดพื้นที่ปลูก ระยะการเจริญเติบโตของพืช และสภาพแวดล้อมอื่น ๆ

4. บันทึกลักษณะอาการการเกิดโรค ส่วนของพืชที่พบอาการของโรค ประเมินความรุนแรงของโรค และการแพร่กระจายในพื้นที่

5. บันทึกข้อมูลชนิดของเชื้อสาเหตุโรคพืชและลักษณะเชื้อสาเหตุที่ตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ

เวลาและสถานที่

เวลา ระยะเวลาเริ่มต้น ตุลาคม 2564 – กันยายน 2567

สถานที่ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

แปลงปลูกพืชวงศ์ส้มในพื้นที่จังหวัดได้แก่ เชียงราย เชียงใหม่ พะเยา น่าน แพร่ อุตรดิตถ์ สุโขทัย พิษณุโลก พิจิตร ศรีสะเกษ เลย นครราชสีมา กรุงเทพฯ ปทุมธานี ชัยนาท กาญจนบุรี นครปฐม ราชบุรี สมุทรสาคร สมุทรสงคราม ระยอง ฉะเชิงเทรา จันทบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร และนครศรีธรรมราช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อรา *Pseudocercospora angolensis*

การสำรวจและเฝ้าระวัง *P. angolensis* ในแปลงปลูกของพืชวงศ์ส้ม (ส้มเขียวหวาน ส้มโอ ส้มจี๊ด มะนาว) ในพื้นที่ 26 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ พะเยา น่าน แพร่ อุตรดิตถ์ สุโขทัย พิษณุโลก พิจิตร ศรีสะเกษ เลย นครราชสีมา กรุงเทพฯ ปทุมธานี ชัยนาท กาญจนบุรี นครปฐม ราชบุรี สมุทรสาคร สมุทรสงคราม ระยอง ฉะเชิงเทรา จันทบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร และนครศรีธรรมราช จำนวน 165 แปลง จำนวน 564 ตัวอย่าง นำไปคัดแยก ตรวจสอบและจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการต่อไป

2. วิธีการตรวจเชื้อรา *Pseudocercospora angolensis* เบื้องต้น

จากการตรวจเชื้อรา *P. angolensis* เบื้องต้นจากลักษณะอาการ (Figure 1) ตามคู่มือการสำรวจ พบอาการใบจุด แผลสะเก็ด และผลจุดของพืชวงศ์ส้ม (ส้มเขียวหวาน ส้มโอ ส้มจี๊ด และมะนาว) จำนวน 564 ตัวอย่าง นำมาคัดแยกภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) พบอาการที่สงสัย จำนวน 65 ตัวอย่าง เพื่อใช้ในการตรวจสอบขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการต่อไป

3. การตรวจสอบและจำแนกชนิดของเชื้อราที่ได้จากการเก็บตัวอย่าง

จากนำตัวอย่างพืชวงศ์ส้ม จำนวน 65 ตัวอย่าง ที่มีอาการใบจุดและผลจุด มาทำการแยกเชื้อรา โดยวิธี tissue transplanting วิธี moist chamber การเชื้อราเลี้ยงบนอาหาร Potato Dextrose Agar และจำแนกชนิดของเชื้อรา *P. angolensis* ตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง ผลปรากฏว่า ไม่พบเชื้อรา *P. angolensis*

4. สรุปผลการศึกษาสถานภาพของเชื้อรา *Pseudocercospora angolensis*

การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อรา *P. angolensis* แบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) ตามมาตรฐาน ISPM ฉบับที่ 6 (เฝ้าระวัง) ในแปลงปลูกพืชวงศ์ส้มของประเทศไทยในพื้นที่ 26 จังหวัด จำนวน 165 แปลง ไม่ปรากฏพบเชื้อรา *P. angolensis* ทำให้สามารถยืนยันได้ว่าเชื้อราดังกล่าวยังคงสถานภาพในการเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อรา *P. angolensis* ในประเทศไทยโดยการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) ตามมาตรฐาน ISPM ฉบับที่ 6 ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 ถึงเดือนกันยายน 2566 ในแปลงปลูกของพืชวงศ์ส้มในพื้นที่ 26 จังหวัด จำนวน 165 แปลง ทำการสุ่มตรวจและเก็บตัวอย่างใบและผลที่มีอาการจุด นำมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ ผลการตรวจสอบ พบว่า เชื้อราทั้งหมดไม่ใช่เชื้อรา *P. angolensis* ทำให้สามารถยืนยันได้ว่าเชื้อราดังกล่าวยังคงสถานภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน (quarantine pest) ของประเทศไทย ทั้งนี้จำเป็นต้องขยายขอบเขตการสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ในปีที่ 3 อีกครั้ง เพื่อให้เป็นไปตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (Surveillance: ISPM No. 6)

คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ที่สนับสนุนงบประมาณในการศึกษาวิจัย คุณอุดร อุณหวุฒิ คุณสุรพล ยินอัศวพรรณ คุณณัฏฐพร อุทัยมงคล และคุณชลธิชา รักใคร่ อดีตผู้เชี่ยวด้านกักกันพืช ที่กรุณาให้คำแนะนำในการดำเนินงานวิจัย ขอขอบคุณคณะกรรมการที่ปรึกษาด้านวิชาการ ตลอดจนข้าราชการ พนักงานราชการ และพนักงานจ้างเหมา ของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่ให้คำแนะนำช่วยเหลือในการทำงานวิจัยให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

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. *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.

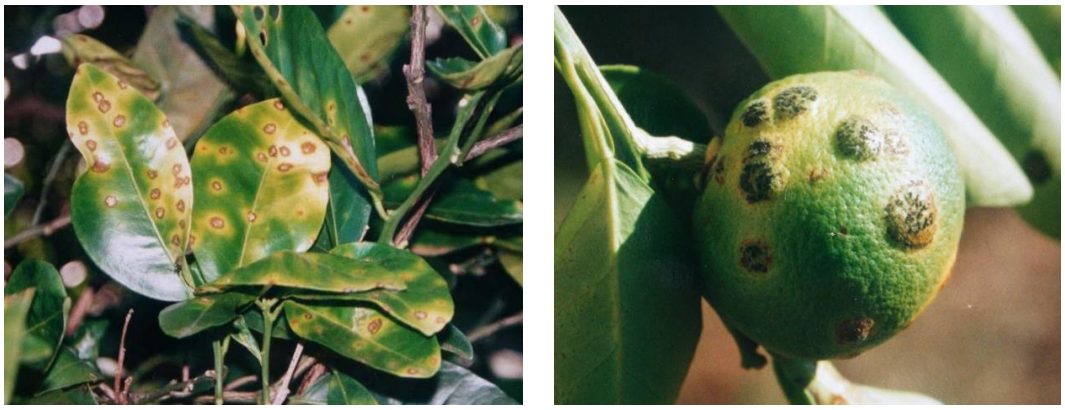


Figure 1 Symptoms of *Pseudocercospora angolensis* of *Citrus* sp.
Source : M.C. Pretorius, 2005

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 ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (surveillance: ISPM No.6) (FAO, 2018) และคำแนะนำในการสำรวจศัตรูพืชในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก (McMaugh, 2008) ในแหล่งปลูกพริกและมะเขือเทศซึ่งเป็นพืชอาศัยหลักของเชื้อ จำนวน 9 จังหวัด 66 แหล่งปลูก ได้แก่ จังหวัดศรีสะเกษ สกลนคร เชียงใหม่ เพชรบูรณ์ พิษณุโลก นครปฐม สุพรรณบุรี ปทุมธานี และกาญจนบุรี เมื่อสุ่มเก็บตัวอย่างมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ ระหว่างการศึกษาตรวจแล้วไม่พบเชื้อรา *Verticillium albo-atrum*

คำหลัก : สำรวจ, สถานภาพ, พริก, มะเขือเทศ, เชื้อรา *Verticillium albo-atrum*

รหัสการทดลอง FF65-55-06-65-00-06-65

คำนำ

ประเทศไทยมีการนำเข้าพริกมะเขือเทศ (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. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ ถุงพลาสติก ถุงกระดาษ กรรไกรตัดแต่งกิ่ง ไม้ทับตัวอย่าง กระดาษ หนังสือพิมพ์ 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 ชุดสำหรับทำความสะอาด ดีเอ็นเอ Stain G loading dye agarose gel (PCR grade) PCR water DNA ladder สีย้อมเส้นใย อาหารเลี้ยงเชื้อ เช่น potato dextrose agar (PDA) และไพร์เมอร์ LROR/LR5 (Vilgalys and Hester, 1990) Ef1/Ef2 (Geiser *et al.,* 2004)

6. Sequence assemble programs เช่น Geneious version 8.1.9

7. คู่มือสำรวจและจัดจำแนกชนิดของเชื้อ

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 และบันทึกลักษณะอาการถ่ายรูป เก็บตัวอย่างโรคทุกต้นที่สุ่มพบแสดงอาการคล้ายกับโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Verticillium albo-atrum* ตามคู่มือการสำรวจ และสำหรับต้นปกติ สุ่มเก็บตัวอย่างห่อกระดาษและใส่ถุงมาตรวจหาเชื้อในห้องปฏิบัติการ

4. การตรวจสอบและจำแนกชนิดของเชื้อราที่ได้จากการเก็บตัวอย่าง

4.1 วิธีการตรวจเชื้อรา *Verticillium albo-atrum*

โดยจัดทำรูปภาพลักษณะอาการของโรคทุกระยะของพืชจัดทำเป็นคู่มือในการสำรวจเมื่อออกสำรวจให้สังเกตจากลักษณะอาการของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือ และบันทึกลักษณะอาการที่พบถ่ายรูป เก็บตัวอย่างโรคทุกต้นที่สุ่มที่พบต้นพริกและมะเขือเทศแสดงอาการคล้ายกับโรคเหี่ยวตามคู่มือการสำรวจ และสำหรับต้นปกติ สุ่มเก็บตัวอย่างมาตรวจหาเชื้อในห้องปฏิบัติการ จำนวน 10% โดยเก็บตัวอย่างใบและลำต้นของพริกและมะเขือเทศมาตรวจ ห่อกระดาษหนังสือพิมพ์ เขียนรายละเอียดกำกับ และนำกลับมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันผล

4.2 การแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืช

4.2.1 ศึกษาลักษณะอาการของโรคและแยกเชื้อราโดยตรงจากเนื้อเยื่อพืช

ศึกษาลักษณะอาการของโรคและแยกเชื้อราโดยตรงจากชิ้นส่วนใบและตัดขวางลำต้นเพื่อดูการเข้าทำลายของเชื้อที่ใบและลำต้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณท่อน้ำและท่ออาหารภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo หรือ ทำ moist chamber บ่มที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ นาน 5-10 วัน เมื่อพบเชื้อราสร้างเส้นใยหรือ conidium ตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และใช้เข็มเขี่ยส่วนของเชื้อรามาวางบนสไลด์ หรือใช้ใบมีดตัดขวางชิ้นส่วนใบและส่วนของท่อน้ำ ท่ออาหารให้บางๆ และตรวจดูลักษณะต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound ถ่ายรูปลักษณะเชื้อและบันทึกลักษณะต่างๆ ของเชื้อ

4.2.2 แยกเชื้อราโดยวิธี Tissue transplanting

นำส่วนของพืชที่เป็นโรคมาตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 0.5x0.5 มิลลิเมตร ให้คาบต่อส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปรคลอไรท์ 10 % 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 รูปร่างวาดภาพ 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 และสภาพแวดล้อมอื่นๆ
- 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 ห้องปฏิบัติการของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

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% ส่งผลทำให้ผลผลิตและคุณภาพของพืชลดลง (Goicoechea, 2006) และเชื้อสามารถเจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อทั่วไป เช่น Potato Dextrose Agar (PDA) และ Potato Dextrose Yeast Peptone (PDYP) broth นอกจากนี้มีรายงานว่าเชื้อราชนิดนี้ทำให้มะเขือเทศแสดงความเสียหายบนใบได้รุนแรงที่อุณหภูมิ 17-30 องศาเซลเซียส (Jahoun-Khiareddine,

2006) ส่วนในการจัดจำแนกชนิดของเชื้อราสามารถจัดจำแนกโดยการใช้ลักษณะรูปร่าง การเจริญบนอาหาร ลักษณะทางสัณฐานวิทยารวมทั้งการใช้วิธีการทางด้านชีวโมเลกุลในการจัดจำแนกและยืนยันชนิดของเชื้อรา *V. albo-atrum* ได้ตามวิธีใน EPPO Standard PM 7/78 (1) (EPPO, 2007)

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างต้องสงสัยว่าคล้ายกับอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อรา *V. albo-atrum* โดยสำรวจตามคู่มือการสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อรา *V. albo-atrum* (Figure 1 และ Figure 2) ที่แหล่งปลูกพริกและมะเขือเทศ (Figure 3) เดือนตุลาคม 2565 - กันยายน 2566 จำนวน 12 จังหวัด ในพื้นที่จังหวัดศรีสะเกษ (12 แหล่งปลูก) สกลนคร (2 แหล่งปลูก) เชียงใหม่ (3 แหล่งปลูก) เพชรบูรณ์ (7 แหล่งปลูก) พิษณุโลก (5 แหล่งปลูก) นครปฐม (5 แหล่งปลูก) สุพรรณบุรี (8 แหล่งปลูก) ปทุมธานี (4 แหล่งปลูก) และกาญจนบุรี (20 แหล่งปลูก) นำตัวอย่างมาตรวจสอบหาเชื้อรา *V. albo-atrum* ในห้องปฏิบัติการ ระหว่างการศึกษาตรวจตัวอย่างแล้วไม่พบเชื้อรา *V. albo-atrum*

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจแหล่งปลูกพริกและมะเขือเทศ เพื่อยืนยันสถานภาพของเชื้อรา *V. albo-atrum* ในประเทศไทย แบบเฉพาะเจาะจง ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (surveillance: ISPM No.6) (FAO, 2018) และคำแนะนำในการสำรวจศัตรูพืชในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก (McMaugh, 2008) ในแหล่งปลูกพริกและมะเขือเทศซึ่งเป็นพืชอาศัยหลักของเชื้อ จำนวน 9 จังหวัด 66 แหล่งปลูก ได้แก่ จังหวัดศรีสะเกษ สกลนคร เชียงใหม่ เพชรบูรณ์ พิษณุโลก นครปฐม สุพรรณบุรี ปทุมธานี และกาญจนบุรี เมื่อสุ่มเก็บตัวอย่างมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ ระหว่างการศึกษาตรวจแล้วไม่พบเชื้อรา *V. albo-atrum* และยังต้องดำเนินการสำรวจในพื้นที่ปลูกพริกและมะเขือเทศเพื่อให้ได้ข้อมูลที่ครบถ้วนต่อไป

จากผลการดำเนินงานในระหว่างเดือนตุลาคม 2565 - กันยายน 2566 ยังไม่พบเชื้อรา *V. albo-atrum* อย่างไรก็ตามยังต้องทำการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างจากแปลงปลูกพริกและมะเขือเทศต่อในปี 2567 และนำตัวอย่างมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ เพื่อเป็นการยืนยันสถานภาพของเชื้อรา *V. albo-atrum* ในประเทศไทยต่อไป

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 Mi	Rasi Salai	Si Sa Ket	1	Absent
2	Khon Kam	Yang Chum Noi	Si Sa Ket	2	Absent
3	Kut Mueang Ham	Yang Chum Noi	Si Sa Ket	4	Absent
4	Yang Chum Yai	Yang Chum Noi	Si Sa Ket	2	Absent
5	Yang Chum Noi	Yang Chum Noi	Si Sa Ket	3	Absent
6	Rai	Phanna Nikhom	Sakon Nakhon	1	Absent
7	Phon Ngam	Akat Amnuai	Sakon Nakhon	1	Absent
8	Bo Luang	Hot	Chiang Mai	1	Absent
9	Mae Suek	Mae Chaem	Chiang Mai	2	Absent
10	Nong Mae Na	Khao Kho	Phetchabun	1	Absent
11	Thung Samo	Khao Kho	Phetchabun	1	Absent
12	Nam Ko	Lom Sak	Phetchabun	5	Absent
13	Bueng Phra	Mueang Phitsanulok	Phitsanulok	5	Absent
14	Huai Khwang	Kamphaeng Saen	Nakhon Pathom	1	Absent
15	Nong Krathum	Kamphaeng Saen	Nakhon Pathom	1	Absent
16	Thung Bua	Kamphaeng Saen	Nakhon Pathom	1	Absent
17	Ta Kong	Mueang Nakhon Pathom	Nakhon Pathom	1	Absent
18	Thung Noi	Mueang Nakhon Pathom	Nakhon Pathom	1	Absent
19	Bang Ta Then	Song Phi Nong	Suphan Buri	4	Absent
20	Phai Chong Lom	Song Phi Nong	Suphan Buri	1	Absent
21	Noen Phra Prang	Song Phi Nong	Suphan Buri	1	Absent
22	Thap Luang	Nong Ya Sai	Suphan Buri	1	Absent
23	Thung Khok	Song Phi Nong	Suphan Buri	1	Absent
24	Ko Khaem	Nong Suea	Pathum Thani	2	Absent
25	Khu Bang Luang	Lat Lum Kaeo	Pathum Thani	1	Absent
26	Khlong Phra Udom	Lat Lum Kaeo	Pathum Thani	1	Absent
27	Nong Krang	Bo Phloi	Kanchanaburi	1	Absent
28	Lum Rang	Bo Phloi	Kanchanaburi	1	Absent
29	Wang Khanai	Tha Muang	Kanchanaburi	2	Absent
30	Tha Muang	Tha Muang	Kanchanaburi	6	Absent
31	Khao Noi	Tha Muang	Kanchanaburi	2	Absent
32	Rang Sali	Tha Muang	Kanchanaburi	1	Absent

Table 1 Detective survey of *Verticillium albo-atrum* in Thailand (Continue)

No	Production area of grapevine			Source	Survey result
	Sub district	District	Province		
33	Phang Tru	Tha Muang	Kanchanaburi	1	Absent
34	Dan Makham Tia	Dan Makham Tia	Kanchanaburi	2	Absent
35	Lat Ya	Mueang Kanchanaburi	Kanchanaburi	1	Absent
36	Tha Sao	Sai Yok	Kanchanaburi	1	Absent
37	Sai Yok	Sai Yok	Kanchanaburi	1	Absent
38	Sahakon Nikhom	Thong Pha Phum	Kanchanaburi	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 Guide Survey and Surveillance of *Verticillium albo-atrum*

Figure 3 Survey pattern and collecting sample

การสำรวจและเฝ้าระวังไส้เดือนฝอย *Ditylenchus destructor* ในประเทศไทย

Surveillance of plant parasitic nematode *Ditylenchus destructor* in Thailand

นภลภัส บุษบงก์ ไตรเดช ข่ายทอง ธิติยา ชยาภัคพัฒนา
วานิช คำพานิช สุรศักดิ์ แสนโคตร
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ในปี 2565 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. ในปี 2566 เก็บตัวอย่างดินจากพื้นที่ อ. พบพระ อ. แม่สอด และ อ. แม่ระมาด จ. ตาก จำนวน 128 แปลง จากผลการตรวจตัวอย่างดิน**ไม่พบไส้เดือนฝอยสกุล *Ditylenchus* ในทุกตัวอย่าง** ตรวจพบไส้เดือนฝอยศัตรูพืช 7 สกุล คือ *Pratylenchus* spp. *Helicotylenchus* spp. *Rotylenchulus* spp. *Criconemoides* spp. *Meloidogyne* spp. *Heterodera* spp. และ *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 ล้างตัวอย่างดินที่ค้างอยู่บนตะแกรงอันล่างและนำตัวอย่างใส่ลงบนกระดาษกรอง ที่วางอยู่บนตะแกรงไนลอน วางลงในจานรองที่มีน้ำสะอาด (Decanting and Sieving with Baermann's Tray Technique) ตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงชนิดหัวกลับ

- การบันทึกข้อมูล
- บันทึกรายละเอียดตำแหน่งของแปลงปลูกที่ทำการสำรวจ/เก็บตัวอย่าง
- บันทึกข้อมูลชนิดพืช ขนาดพื้นที่ปลูก ระยะการเจริญเติบโตของพืช และสภาพแวดล้อม
- บันทึกข้อมูลชนิดของไส้เดือนฝอย และลักษณะของไส้เดือนฝอยที่ตรวจพบ

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2564 – กันยายน 2567

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

เก็บตัวอย่างดินจากพื้นที่ อ. พบพระ อ. แม่สอด และ อ. แม่ระมาด จ. ตาก จำนวน 128 แปลง จากผลการตรวจตัวอย่างดิน**ไม่พบไส้เดือนฝอยสกุล *Ditylenchus* ในทุกตัวอย่าง** ตรวจพบไส้เดือนฝอยศัตรูพืช 7 สกุล คือ *Pratylenchus* spp. *Helicotylenchus* spp. *Rotylenchulus* spp. *Criconemoides* spp. *Meloidogyne* spp. *Heterodera* spp. และ *Hoplolaimus* spp.

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 ไส้ไป

ทางด้าน 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 ตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมระยะที่สองมีความยาวประมาณ 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 ลักษณะเป็นจุดใกล้ 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

***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

เก็บตัวอย่างดินจากพื้นที่ อ. พบพระ อ. แม่สอด และ อ. แม่ระมาด จ. ตาก จำนวน 128 แปลง จากผลการตรวจตัวอย่างดินไม่พบไส้เดือนฝอยสกุล *Ditylenchus* ในทุกตัวอย่าง ตรวจพบไส้เดือนฝอยศัตรูพืช 7 สกุล คือ *Pratylenchus* spp. *Helicotylenchus* spp. *Rotylenchulus* spp. *Criconemoides* spp. *Meloidogyne* spp. *Heterodera* spp. และ *Hoplolaimus* spp. จากผลการดำเนินการที่ผ่านมาสรุปได้ว่ายังไม่พบไส้เดือนฝอย *Ditylenchus destructor* ในประเทศไทย

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็น .2550 .
ฉบับที่) 2507 .ศ.สิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ62550 .ศ.พ (ประกาศ ณ วันที่
2550 เมษายน 26 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.

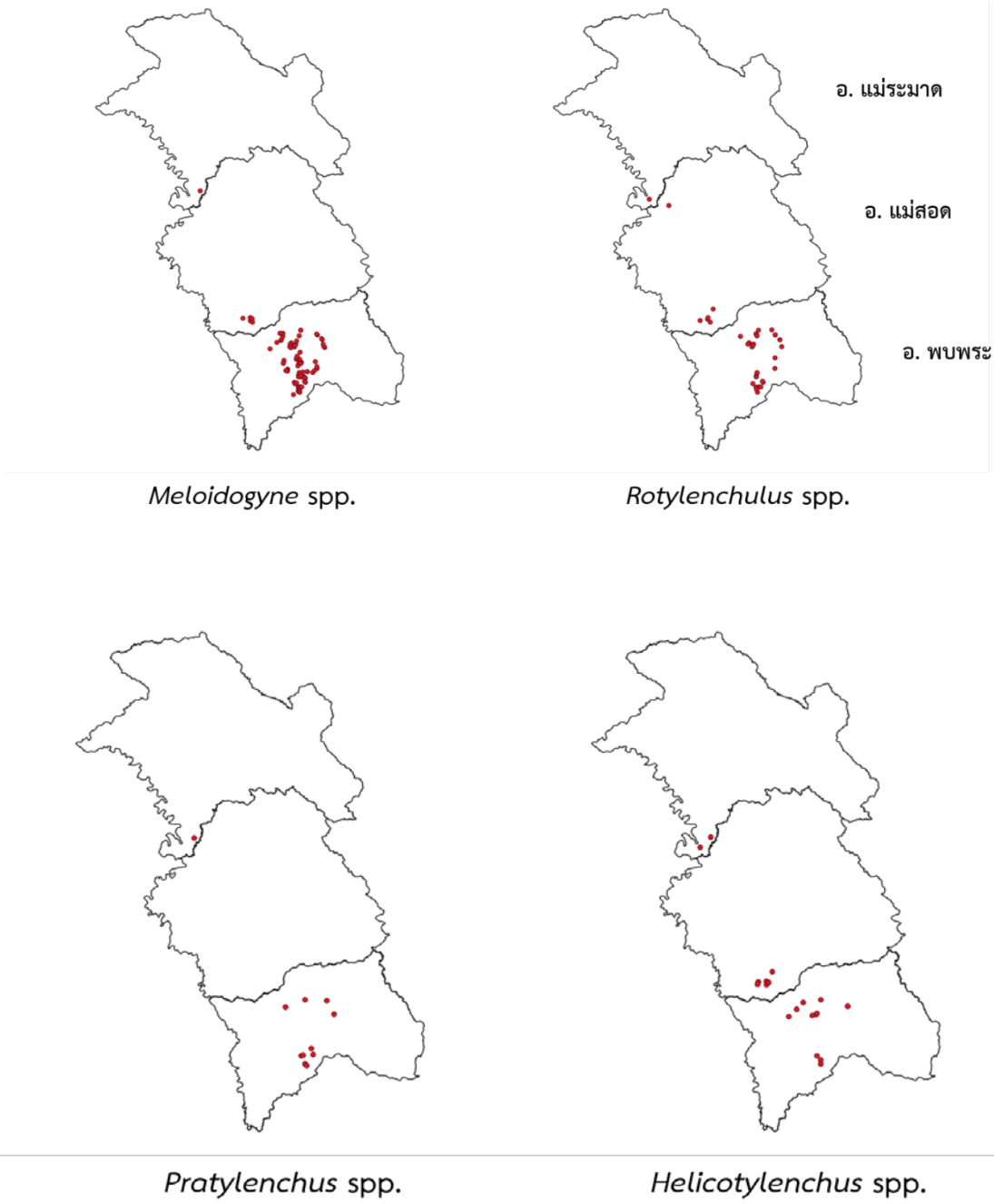
McMaugh, T. 2008. Guidelines for Plant Pest Surveillance in Asia and the Pacific. ACIAR Monograph No. 119c.

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.

ตารางที่ 1 ไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ตรวจพบในตัวอย่างดินในปี 2566 จากพื้นที่ อ. พบพระ อ. แม่สอด และ อ. แม่ระมาด จ. ตาก จำนวน 128 แปลง จากการสำรวจเพื่อเฝ้าระวังไส้เดือนฝอย *Ditylenchus destructor*

ชนิดไส้เดือนฝอยศัตรูพืช (สกุล)	จำนวนตัวอย่างที่พบ	ความถี่ (%)
Pratylenchus spp.	11	8.6
Helicotylenchus spp.	23	18
Rotylenchulus spp.	42	32.8
Criconemoides spp.	4	3.1
Meloidogyne spp.	103	80.5
Heterodera spp.	8	6.2
Hoplolaimus spp.	4	3.1



ภาพที่ 1 ผลการสำรวจเพื่อเฝ้าระวังไส้เดือนฝอย *Ditylenchus destructor* ในปี 2566 พื้นที่ อ. พบพระ อ. แม่สอด และ อ. แม่ระมาด จ. ตาก จำนวน 128 แปลง **ไม่พบไส้เดือนฝอย *Ditylenchus destructor*** พบไส้เดือนฝอยสกุลอื่น ๆ ที่มีการแพร่กระจายดังแสดงในภาพ

Heterodera spp.

Hoplolaimus spp.

Criconemoides spp.

ภาพที่ 1 ผลการสำรวจเพื่อเฝ้าระวังไส้เดือนฝอย *Ditylenchus destructor* ในปี 2566 พื้นที่ อ. พบพระ อ. แม่สอด และ อ. แม่ระมาด จ. ตาก จำนวน 128 แปลง **ไม่พบไส้เดือนฝอย *Ditylenchus destructor*** พบไส้เดือนฝอยสกุลอื่น ๆ ที่มีการแพร่กระจายดังแสดงในภาพ (ต่อ)

การสำรวจและเฝ้าระวังไส้เดือนฝอยศัตรูพืช *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

Abstract

Survey and monitoring of the plant-parasitic nematode *Ditylenchus dipsaci* in Thailand between October 2022 - September 2023 in areas where garlic and onions are grown in the area of Ban Tham, Dok Khamtai Subdistrict, Phayao Province 90 samples were collected and Ban Nong Khaem, Pa Daeng Subdistrict, Mueang District, Phrae Province the number of samples of only planting soil was 74, and the number of samples of garlic bulbs was 74, and Ban Huai Bong, Pa Sao Subdistrict, Mueang District, Uttaradit Province, had a total of 200 samples of native onion growing soil were collected. Including samples collected during the operation, October 2022 - September 2023, the total number of samples was 438, with the majority of plant-parasitic nematode detected being *Aphelenchoides* spp. *Aphelenchus* spp. *Helicotylenchus* spp. *Tylenchorhychus* spp. *Hirschmanniella* spp. *Meloidogyne* spp. and *Radopholus* spp. were found in small amounts.

Therefore, the results can be concluded that in the survey and surveillance of the plant-parasitic nematode *Ditylenchus dipsaci* in Thailand between October 2022 - September 2023 from the diagnosis of plant-parasitic nematode of the 438 plant and potting soil samples, all samples did not contain the plant-parasitic nematode *Ditylenchus dipsaci.*

Keywords : Surveys, Surveillance, Ditylenchus dipsaci, garlic, onion

รหัสการทดลอง FF65-55-06-65-00-08-65

บทคัดย่อ

การสำรวจและเฝ้าระวังไส้เดือนฝอยศัตรูพืช *Ditylenchus dipsaci* ในประเทศไทยระหว่างตุลาคม 2565 – กันยายน 2566 ในพื้นที่มีการปลูกกระเทียมและหอม ในพื้นที่ ต.บ้านถ้ำ อ.ดอกคำใต้ จังหวัดพะเยา ได้เก็บตัวอย่างจำนวน 90 ตัวอย่าง บ้านหนองแขม ต.ป่าแดง อ.เมือง จ.แพร่ จำนวนตัวอย่างเฉพาะดินปลูก 74 ตัวอย่าง และ จำนวนตัวอย่างหัวกระเทียมจำนวนตัวอย่าง74 ตัวอย่าง และบ้านห้วยบง ต.ป่าเซ่า อ.เมือง จ.อุตรดิตถ์ ได้เก็บดินปลูกหอมพื้นเมืองจำนวนตัวอย่าง 200 ตัวอย่าง รวมตัวอย่างที่เก็บในระหว่างการดำเนินงาน ตุลาคม 2565 – กันยายน 2566 เป็น จำนวนตัวอย่างตัวอย่างทั้งหมด 438 ตัวอย่าง โดยไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ตรวจพบส่วนใหญ่คือ *Aphelenchoides* spp. *Aphelenchus* spp. *Helicotylenchus* spp. *Tylenchorhychus* spp. *Hirschmanniella* spp. *Meloidogyne* spp. และพบ *Radopholus* spp.ในปริมาณเล็กน้อย

ดังนั้นสรุปได้ว่าในการสำรวจการสำรวจและเฝ้าระวังไส้เดือนฝอยศัตรูพืช *Ditylenchus dipsaci* ในประเทศไทยระหว่าง ตุลาคม 2565 – กันยายน 2566 จากการตรวจวินิจฉัยไส้เดือนฝอยศัตรูพืช จากตัวอย่างพืชและดินปลูก 438 ตัวอย่าง ทุกตัวอย่างไม่พบไส้เดือนฝอยศัตรูพืช *Ditylenchus dipsaci*

คำหลัก : การสำรวจ, เฝ้าระวังไส้เดือนฝอยศัตรูพืช, *Ditylenchus dipsaci*, กระเทียม, หอม

คำนำ

ไส้เดือนฝอยศัตรูพืช *Ditylenchus dipsaci* (Kühn, 1857) Filip'ev (1936) ชื่อสามัญ stem and bulb nematode เป็นศัตรูกักกัน ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์เรื่องกำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้าม ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ.2507 (ฉบับที่ 6) (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2550) ไส้เดือนฝอยชนิดนี้มีถิ่นกำเนิด และการแพร่กระจายในบริเวณเขตอบอุ่นของโลก (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 โดยเชื้อควบคุมการสูญเสียของน้ำและขดตัวอย่างแน่นหนา เรียกว่า “eelworm wool” ซึ่งสามารถอยู่ได้นานหลายปี และเมื่อได้รับความชื้นก็จะกลับเข้าทำลายพืชอีกครั้ง จากการทดลองในห้องปฏิบัติการพบว่าสามารถเก็บ eelworm wool ได้นาน 10 ปี และมีหลักฐานการพบเชื้อ *D. dipsaci* ในตัวอย่างแห้งของพืช *Dipsacus fullonum* (wild teasel) ในพิพิธภัณฑ์ที่เก็บไว้กว่า 23 ปี อีกทั้งเชื้อยังมีความทนทาน

อุณหภูมิที่ต่ำกว่าจุดเยื่อแข็ง 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 ส่วนใหญ่มีอาการเหลืองและแห้งตาย สำหรับกระเทียมหอมหัวใหญ่ หอมแดง ใบจะบวมพองและเป็นแผลปริแตก ส่วนหัวของพืชในวงนี้เป็นหัวที่เกิดจากกาบใบ เมื่อถูกเข้าทำลายกาบใบจะแตกออกใกล้ฐานของหัวหรือใกล้กับราก และกาบใบด้านในมักจะถูกทำลายมากกว่ากาบใบด้านนอก เมื่อเนื้อเยื่อภายในจะถูกทำลายก็จะทำให้ไม่สามารถเก็บรักษาหัวไว้ได้นาน (Perry and Moens, 2006)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ ถุงพลาสติก ถุงกระดาษ กรรไกรตัดแต่งกิ่ง ไม้ทับตัวอย่าง กระดาษ หนังสือพิมพ์ ซองกระดาษสำหรับเก็บและรักษาตัวอย่าง เป็นต้น

2. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ อุปกรณ์แยกไส้เดือนฝอยศัตรูพืช 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. อุปกรณ์ทำสไลด์ไส้เดือนฝอยศัตรูพืช 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 (Spectrophotometer) ตู้ปลอดเชื้อ เครื่องปั่นตกตะกอน เครื่องดูดสารละลายปริมาตรต่ำ (micropipettes) ตู้แช่ 4 องศาเซลเซียส ตู้แช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส เป็นต้น สารเคมี ได้แก่ 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

การสำรวจและเฝ้าระวังไส้เดือนฝอยศัตรูพืช *Ditylenchus dipsaci* ดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (surveillance: ISPM No. 6)

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

1. การรวบรวมข้อมูลไส้เดือนฝอยศัตรูพืช *Ditylenchus dipsaci*

สืบค้นข้อมูลลักษณะของไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ได้แก่ รายละเอียดของไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพ้อง รูปร่างลักษณะ การเข้าทำลาย พืชอาศัย การแพร่ระบาด จากทั้งในและต่างประเทศ ฐานข้อมูล เอกสารวิชาการ วารสาร รายงานการประชุม สัมมนาทางวิชาการและหน่วยงานอื่นที่เกี่ยวข้อง

2. การสำรวจและเฝ้าระวังไส้เดือนฝอยศัตรูพืช *Ditylenchus dipsaci*

2.1 จัดทำคู่มือศัตรูพืชและจัดทำฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ (2565)

โดยรวบรวมข้อมูลอ้างอิง ข้อมูลลักษณะไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ชื่อสามัญ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชนิดของพืชอาศัย สภาพแวดล้อมที่เหมาะสม แหล่งที่พบ ลักษณะอาการที่เกิดจากไส้เดือนฝอยศัตรูพืช *D. dipsaci* พร้อมรูปภาพสีเพื่อใช้ในการ ตรวจสอบอาการที่พบในแปลง ตลอดจนรายละเอียดของอาการที่มีลักษณะคล้ายกับอาการของพืชเป้าหมาย และรูปภาพ ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไส้เดือนฝอยศัตรูพืช และจัดทำแบบฟอร์มการสำรวจ เพื่อบันทึกข้อมูลชื่อเกษตรกร สถานที่ วันที่เก็บข้อมูลพิกัดภูมิศาสตร์

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 วิธีการตรวจไส้เดือนฝอยศัตรูพืช *D. dipsaci* ในแปลงปลูกกระเทียมและหอมหัวใหญ่

เมื่อออกสำรวจให้สังเกตจากลักษณะอาการเปรียบเทียบกับคู่มือการสำรวจที่จัดทำไว้ บันทึกรายละเอียดข้อมูลของแปลง บันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป สุ่มเก็บตัวอย่าง อย่างน้อย 30 จุด ต่อแปลง หรือ 10 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่แปลง รวมทั้งเก็บตัวอย่างหัวกระเทียมและหอมหัวใหญ่ 50-100 หัวต่อแปลง ห่อกระดาษหนังสือพิมพ์ เขียนรายละเอียดกำกับ นำกลับมาแยก ตรวจสอบและจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ

3. การตรวจสอบและจำแนกไส้เดือนฝอยศัตรูพืช *D. disaci* ในห้องปฏิบัติการ

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 ใส่ในภาชนะพลาสติกเทน้ำลงไปขยี้ดินให้แตก เพื่อให้ไส้เดือนฝอยแยกตัวหลุดออกมาจากดินมากที่สุด ทิ้งไว้ประมาณ 30 วินาที เทน้ำลงในตะแกรง (sieve) ขนาด 18 - 60 mesh (ความยาว 1 นิ้วมี 18 - 60 ช่อง) โดยมีภาชนะรองรับเศษพืช 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 โดยการนำตัวอย่างกระเทียมหรือหอมหัวใหญ่ ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ แล้ววางลงตะแกรงที่มีกระดาษกรองวางอยู่ด้านบนโดยวิธี Baermann funnel หรือ Oostenbrink dish วางไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 24 - 48 ชั่วโมง ไส้เดือนฝอยจะว่ายน้ำไชผ่านกระดาษกรองมาอยู่ในน้ำ จากนั้นเก็บน้ำไปตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ และกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง

4. การวินิจฉัยไส้เดือนฝอยศัตรูพืชโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

การตรวจวินิจฉัยไส้เดือนฝอยที่พบภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ และกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง โดยเปรียบเทียบกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไส้เดือนฝอยที่พบกับคู่มือการจำแนกสกุลของไส้เดือนฝอยศัตรูพืช Plant-parasitic nematodes ; A pictorial key to genera (Mai et al., 1996) และ Manual of agricultural nematology (Nickle (ed), 1991 และหากสงสัยว่าเป็นไส้เดือนฝอยศัตรูพืช *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 เขี่ยไส้เดือนฝอยศัตรูพืช 1 ตัว ใส่ลงบนหยด PCR Buffer II (500 mM KCl, 100 mM Tris-HCl, pH 8.3) 20 ไมโครลิตร บนสไลด์แก้ว ตัดตัวไส้เดือนฝอยออกเป็น 2-3 ท่อน โดย

ใช่ส่วนปลายของ 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 ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (PCR)

การเพิ่มปริมาณ DNA ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส 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') แล้วนำเพิ่มปริมาณ DNA บริเวณ (Kaplan *et al*., 2000; Subbotin *et al*., 2006) โดยสารที่ใช้ในปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส 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

เมื่อได้ PCR product ที่ดีสามารถนำมาทดสอบกับ SCAR primers ด้วยการเพิ่มปริมาณ

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	

DNA ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส 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 เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์กับฐานข้อมูลเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้กับฐานข้อมูลของไส้เดือนฝอยศัตรูพืช *D. dipsaci* จาก Genbank

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1.บันทึกวัน เดือน ปี รายละเอียดตำแหน่งของแปลงปลูกกระเทียมและหอมหัวใหญ่ที่ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่าง

2.บันทึกข้อมูลจำนวนแปลง และจำนวนตัวอย่างที่ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่าง

3.บันทึกข้อมูลชนิดพืช ขนาดพื้นที่ปลูก ระยะการเจริญเติบโตของพืช และสภาพแวดล้อมอื่น ๆ พืชข้างเคียงประวัติการเพาะปลูก (ถ้ามี) เกษตรกรเจ้าของแปลง (ถ้ามี)

4.บันทึกถ่ายภาพลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่สำคัญ เช่น ลำตัวทั้งหมด ส่วนหัว กลางลำตัว หาง stylet ลักษณะและตำแหน่งอวัยวะเพศ ระบบสืบพันธุ์ cuticle เป็นต้น และลักษณะสำคัญอื่นที่ใช้ในการจัดจำแนก และ morphometric ในห้องปฏิบัติการ

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2565 – กันยายน 2566

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การสำรวจและเฝ้าระวังไส้เดือนฝอยศัตรูพืช *Ditylenchus dipsaci* ในประเทศไทยระหว่าง ตุลาคม 2565 – กันยายน 2566 เพิ่มเติม ในพื้นที่ จังหวัด อุตรดิตถ์ แพร่ ได้เก็บตัวอย่างพืชและดินปลูก ดังนี้

<u>กลุ่มตัวอย่างที่ 1</u>

ตัวอย่างกระเทียมพันธุ์พื้นเมืองพร้อมดินปลูก จาก ต.บ้านถ้ำ อ.ดอกคำใต้ จังหวัดพะเยา จำนวน 90 ตัวอย่าง ไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่พบเช่น *Aphelenchus* spp. *Aphelenchoides* spp. *Helicotylenchus* spp. *Hirschmanniella* spp. *Meloidogyne* spp. *Tylenchorhychus* spp.

<u>กลุ่มตัวอย่างที่ 2</u>

ตัวอย่างดินปลูกกระเทียมพันธุ์พื้นเมือง (เฉพาะดิน) จาก 20 แปลงปลูกของบ้านหนองแขม ต.ป่าแดง อ.เมือง จ.แพร่ จำนวนตัวอย่าง74 ตัวอย่าง ไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่พบเช่น *Aphelenchus spp. Aphelenchoides spp. Helicotylenchus spp. Meloidogyne spp. Tylenchorhychus spp.*

<u>กลุ่มตัวอย่างที่ 3</u>

ตัวอย่างกระเทียมพันธุ์พื้นเมือง จาก 20 แปลงปลูกบ้านหนองแขม ต.ป่าแดง อ.เมือง จ.แพร่ จำนวนตัวอย่าง 74 ตัวอย่างจากแปลงปลูกกระเทียมแปลงที่ 1-20 ไม่พบไส้เดือนฝอยศัตรูพืช (เฉพาะหัวกระเทียม)

<u>กลุ่มตัวอย่างที่ 4</u>

ตัวอย่างดินปลูกหอมพื้นเมือง บ้านห้วยบง ต.ป่าเซ่า อ.เมือง จ.อุตรดิตถ์ จำนวนตัวอย่าง 200 ตัวอย่าง ไม่พบไส้เดือนฝอยศัตรูพืชในแปลงที่ 1-10 และ 17-20 และ 26 และ 35 และ 39-40 ส่วนแปลงอื่นๆ ไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่พบ ได้แก่ *Aphelenchoides spp. Hirschmanniella spp. Helicotylenchus spp. Meloidogyne spp. Radopholus spp.* ดังแสดงในตาราง 1-4

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การสำรวจและเฝ้าระวังไส้เดือนฝอยศัตรูพืช *Ditylenchus dipsaci* ในประเทศไทยระหว่าง ตุลาคม 2565 – กันยายน 2566 ในพื้นที่ ต.บ้านถ้ำ อ.ดอกคำใต้ จังหวัดพะเยา จำนวน 90 ตัวอย่าง

บ้านหนองแขม ต.ป่าแดง อ.เมือง จ.แพร่ จำนวนตัวอย่างเฉพาะดินปลูก 74 ตัวอย่าง และ จำนวนตัวอย่าง หัวกระเทียมจำนวนตัวอย่าง74 ตัวอย่าง และบ้านห้วยบง ต.ป่าเซ่า อ.เมือง จ.อุตรดิตถ์ ได้เก็บตัวอย่างดินปลูกหอมพื้นเมืองจำนวนตัวอย่าง 200 ตัวอย่าง รวมตัวอย่างที่เก็บในระหว่างการดำเนินงาน ตุลาคม 2565 – กันยายน 2566 เป็น จำนวนตัวอย่างตัวอย่างทั้งหมด 438 ตัวอย่าง โดยไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ตรวจพบส่วนใหญ่คือ *Aphelenchoides* spp. *Aphelenchus* spp. *Helicotylenchus* spp. *Tylenchorhychus* spp. *Hirschmanniella* spp. *Meloidogyne* spp. และพบ *Radopholus* spp.ในปริมาณเล็กน้อย

ดังนั้นสรุปได้ว่าในการสำรวจการสำรวจและเฝ้าระวังไส้เดือนฝอยศัตรูพืช *Ditylenchus dipsaci* ในประเทศไทยระหว่าง ตุลาคม 2565 – กันยายน 2566 จากการตรวจวินิจฉัยไส้เดือนฝอยศัตรูพืช จากตัวอย่างพืชและดินปลูก 438 ตัวอย่าง ทุกตัวอย่างไม่พบไส้เดือนฝอยศัตรูพืช *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 soils for plant-parasitic nematode examinations

List	Area Sampling	Number of samples	Plant-parasitic nematodes
Thai garlic with growing soil in area 1	Ban Tham Subdistrict, Dok Khamtai District, Phayao Province	30	*Aphelenchus spp.* *Aphelenchoides spp.* *Helicotylenchus spp.* *Hirschmanniella spp.* *Meloidogyne spp.* *Tylenchorhychus spp.*
Thai garlic with growing soil in area 2	Ban Tham Subdistrict, Dok Khamtai District, Phayao Province	20	*Aphelenchus spp.* *Aphelenchoides spp.* *Helicotylenchus spp.* *Hirschmanniella spp.* *Meloidogyne spp.* *Tylenchorhychus spp.*
Thai garlic with growing soil in area 3	Ban Tham Sub-district, Dok Khamtai District, Phayao Province	20	*Helicotylenchus spp.* *Meloidogyne spp.* *Tylenchorhychus spp..*
Thai garlic with growing soil in area 4	Luang Tai Sub-district, Ngao District, LAMPANG PROVINCE	20	*Helicotylenchus spp.* *Hirschmanniella spp.Meloidogyne spp.*
	Total of samples	90	*Aphelenchus spp.* *Aphelenchoides spp.* *Helicotylenchus spp.* *Hirschmanniella spp.* *Meloidogyne spp.* *Tylenchorhychus spp.*

Table 2 Samples of only growing soil of Thai garlic for plant-parasitic nematode examinations

List	Area Sampling	Number of samples	Plant-parasitic nematodes
Growing soil of Thai garlic in area 1	Ban Ngong Khaem, Pa Daeng Sub-district, Mueang Phrae District, PHRAE PROVINCE	5	*Aphelenchus spp.*
Growing soil of Thai garlic in area 2	Ban Ngong Khaem, Pa Daeng Sub-district, Mueang Phrae District, PHRAE PROVINCE	5	*Aphelenchus spp.* *Helicotylenchus spp.* *Meloidogyne spp..*
Growing soil of Thai garlic in area 3	Ban Ngong Khaem, Pa Daeng Sub-district, Mueang Phrae District, PHRAE PROVINCE	5	*Aphelenchus spp.* *Aphelenchoides spp.* *Meloidogyne spp.*
Growing soil of Thai garlic in area 4	Ban Ngong Khaem, Pa Daeng Sub-district, Mueang Phrae District, PHRAE PROVINCE	5	*Aphelenchus spp.* *Aphelenchoides spp.* *Tylenchorhychus spp.*
Growing soil of Thai garlic in area 5	Ban Ngong Khaem, Pa Daeng Sub-district, Mueang Phrae District, PHRAE PROVINCE	5	*Aphelenchus spp.* *Tylenchorhychus spp.*
Growing soil of Thai garlic in area 6	Ban Ngong Khaem, Pa Daeng Sub-district, Mueang Phrae District, PHRAE PROVINCE	35	*Aphelenchus spp.* *Aphelenchoides spp.*
Growing soil of Thai garlic in area 7	Ban Ngong Khaem, Pa Daeng Sub-district, Mueang Phrae District, PHRAE PROVINCE	5	*Aphelenchus spp.* *Aphelenchoides spp.*

Table 2 Samples of only growing soil of Thai garlic for plant-parasitic nematode examinations (Continued)

List	Area Sampling	Number of samples	Plant-parasitic nematodes
Growing soil of Thai garlic in area 8	Ban Ngong Khaem, Pa Daeng Sub-district, Mueang Phrae District, PHRAE PROVINCE	5	*Aphelenchus spp.*
Growing soil of Thai garlic in area 11	Ban Ngong Khaem, Pa Daeng Sub-district, Mueang Phrae District, PHRAE PROVINCE	3	*Tylenchorhychus spp.*
Growing soil of Thai garlic in area 12	Ban Ngong Khaem, Pa Daeng Sub-district, Mueang Phrae District, PHRAE PROVINCE	3	*Aphelenchus spp.* *Aphelenchoides spp.* *Tylenchorhychus spp.*
Growing soil of Thai garlic in area 13	Ban Ngong Khaem, Pa Daeng Sub-district, Mueang Phrae District, PHRAE PROVINCE	3	*Aphelenchus spp.* *Aphelenchoides spp.* *Tylenchorhychus spp.*
Growing soil of Thai garlic in area 14	Ban Ngong Khaem, Pa Daeng Sub-district, Mueang Phrae District, PHRAE PROVINCE	3	*Aphelenchus spp.* *Aphelenchoides spp.* *Tylenchorhychus spp.*
Growing soil of Thai garlic in area 15	Ban Ngong Khaem, Pa Daeng Sub-district, Mueang Phrae District, PHRAE PROVINCE	3	*Aphelenchus spp.* *Aphelenchoides spp.* *Tylenchorhychus spp.*

Table 2 Samples of only growing soil of Thai garlic for plant-parasitic nematode examinations (Continued)

List	Area Sampling	Number of samples	Plant-parasitic nematodes
Growing soil of Thai garlic in area 16	Ban Ngong Khaem, Pa Daeng Sub-district, Mueang Phrae District, PHRAE PROVINCE	3	*Aphelenchus spp.* *Aphelenchoides spp.* *Tylenchorhychus spp.*
Growing soil of Thai garlic in area 17	Ban Ngong Khaem, Pa Daeng Sub-district, Mueang Phrae District, PHRAE PROVINCE	3	*Aphelenchus spp.* *Aphelenchoides spp.* *Tylenchorhychus spp.*
Growing soil of Thai garlic in area 18	Ban Ngong Khaem, Pa Daeng Sub-district, Mueang Phrae District, PHRAE PROVINCE	3	*Aphelenchus spp.* *Aphelenchoides spp.*
Growing soil of Thai garlic in area 19	Ban Ngong Khaem, Pa Daeng Sub-district, Mueang Phrae District, PHRAE PROVINCE	3	*Aphelenchus spp.* *Aphelenchoides spp.*
Growing soil of Thai garlic in area 20	Ban Ngong Khaem, Pa Daeng Sub-district, Mueang Phrae District, PHRAE PROVINCE	3	*Aphelenchus spp.* *Aphelenchoides spp.* *Meloidogyne spp.* *Tylenchorhychus spp.*
	Total of samples	74	*Aphelenchus spp.* *Aphelenchoides spp.* *Helicotylenchus spp.* *Meloidogyne spp.* *Tylenchorhychus spp.*

Table 3 Samples of Thai garlic for plant-parasitic nematode examinations

List	Area Sampling	Number of samples	Plant-parasitic nematodes
Growing soil of Thai garlic in area 1	Ban Ngong Khaem, Pa Daeng Sub-district, Mueang Phrae District, PHRAE PROVINCE	5	Not found
Growing soil of Thai garlic in area 2	Ban Ngong Khaem, Pa Daeng Sub-district, Mueang Phrae District, PHRAE PROVINCE	5	Not found
Growing soil of Thai garlic in area 3	Ban Ngong Khaem, Pa Daeng Sub-district, Mueang Phrae District, PHRAE PROVINCE	5	Not found.
Growing soil of Thai garlic in area 4	Ban Ngong Khaem, Pa Daeng Sub-district, Mueang Phrae District, PHRAE PROVINCE	5	Not found
Growing soil of Thai garlic in area 5	Ban Ngong Khaem, Pa Daeng Sub-district, Mueang Phrae District, PHRAE PROVINCE	5	Not found
Growing soil of Thai garlic in area 6	Ban Ngong Khaem, Pa Daeng Sub-district, Mueang Phrae District, PHRAE PROVINCE	35	Not found
Growing soil of Thai garlic in area 7	Ban Ngong Khaem, Pa Daeng Sub-district, Mueang Phrae District, PHRAE PROVINCE	5	Not found

Table 3 Samples of Thai garlic for plant-parasitic nematode examinations (Continued)

List	Area Sampling	Number of samples	Plant-parasitic nematodes
Growing soil of Thai garlic in area 8	Ban Ngong Khaem, Pa Daeng Sub-district, Mueang Phrae District, PHRAE PROVINCE	5	Not found
Growing soil of Thai garlic in area 9	Ban Ngong Khaem, Pa Daeng Sub-district, Mueang Phrae District, PHRAE PROVINCE	3	Not found
Growing soil of Thai garlic in area 10	Ban Ngong Khaem, Pa Daeng Sub-district, Mueang Phrae District, PHRAE PROVINCE	3	Not found
Growing soil of Thai garlic in area 11	Ban Ngong Khaem, Pa Daeng Sub-district, Mueang Phrae District, PHRAE PROVINCE	3	Not found
Growing soil of Thai garlic in area 12	Ban Ngong Khaem, Pa Daeng Sub-district, Mueang Phrae District, PHRAE PROVINCE	3	Not found
Growing soil of Thai garlic in area 13	Ban Ngong Khaem, Pa Daeng Sub-district, Mueang Phrae District, PHRAE PROVINCE	3	Not found
Growing soil of Thai garlic in area 14	Ban Ngong Khaem, Pa Daeng Sub-district, Mueang Phrae District, PHRAE PROVINCE	3	Not found

Table 3 Samples of Thai garlic for plant-parasitic nematode examinations (Continued)

List	Area Sampling	Number of samples	Plant-parasitic nematodes
Growing soil of Thai garlic in area 15	Ban Ngong Khaem, Pa Daeng Sub-district, Mueang Phrae District, PHRAE PROVINCE	3	Not found
Growing soil of Thai garlic in area 16	Ban Ngong Khaem, Pa Daeng Sub-district, Mueang Phrae District, PHRAE PROVINCE	3	Not found
Growing soil of Thai garlic in area 17	Ban Ngong Khaem, Pa Daeng Sub-district, Mueang Phrae District, PHRAE PROVINCE	3	Not found
Growing soil of Thai garlic in area 18	Ban Ngong Khaem, Pa Daeng Sub-district, Mueang Phrae District, PHRAE PROVINCE	3	Not found
Growing soil of Thai garlic in area 19	Ban Ngong Khaem, Pa Daeng Sub-district, Mueang Phrae District, PHRAE PROVINCE	3	Not found
Growing soil of Thai garlic in area 20	Ban Ngong Khaem, Pa Daeng Sub-district, Mueang Phrae District, PHRAE PROVINCE	3	Not found
	Total of samples	74	*Aphelenchus spp.* *Aphelenchoides spp.* *Helicotylenchus spp.* *Meloidogyne spp.* *Tylenchorhychus spp.*

Table 4 Samples of only growing soil of Thai onions for plant-parasitic nematode examinations

List	Area Sampling	Number of samples	Plant-parasitic nematodes
Growing soil of Thai onions in area 1	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	5	Not found
Growing soil of Thai onions in area 2	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	5	Not found
Growing soil of Thai onions in area 3	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	5	Not found
Growing soil of Thai onions in area 4	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	5	Not found
Growing soil of Thai onions in area 5	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	5	Not found
Growing soil of Thai onions in area 6	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	35	Not found
Growing soil of Thai onions in area 7	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	5	Not found

Table 4 Samples of only growing soil of Thai onions for plant-parasitic nematode examinations (Continued)

List	Area Sampling	Number of samples	Plant-parasitic nematodes
Growing soil of Thai onions in area 8	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	5	Not found
Growing soil of Thai onions in area 9	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	5	Not found
Growing soil of Thai onions in area 10	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	5	Not found
Growing soil of Thai onions in area 11	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	5	*Aphelenchoides spp.* *Radopholus spp.*
Growing soil of Thai onions in area 12	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	5	*Aphelenchoides spp.* *Radopholus spp.*
Growing soil of Thai onions in area 13	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	5	*Aphelenchoides spp.* *Radopholus spp.*

Table 4 Samples of only growing soil of Thai onions for plant-parasitic nematode examinations (Continued)

List	Area Sampling	Number of samples	Plant-parasitic nematodes
Growing soil of Thai onions in area 14	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	5	*Aphelenchoides spp.* *Radopholus spp.*
Growing soil of Thai onions in area 15	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	5	*Helicotylenchus spp.*
Growing soil of Thai onions in area 16	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	5	*Helicotylenchus spp.*
Growing soil of Thai onions in area 17	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	5	Not found
Growing soil of Thai onions in area 18	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	5	Not found
Growing soil of Thai onions in area 19	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	5	Not found

Table 4 Samples of only growing soil of Thai onions for plant-parasitic nematode examinations (Continued)

List	Area Sampling	Number of samples	Plant-parasitic nematodes
Growing soil of Thai onions in area 20	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	5	Not found
Growing soil of Thai onions in area 21	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	5	*Aphelenchoides spp.* *Hirschmanniella spp.* *Meloidogyne spp.*
Growing soil of Thai onions in area 22	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	5	*Meloidogyne spp.*
Growing soil of Thai onions in area 23	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	5	*Aphelenchoides spp.*
Growing soil of Thai onions in area 24	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	5	*Aphelenchoides spp.*
Growing soil of Thai onions in area 25	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	5	*Aphelenchoides spp.*

Table 4 Samples of only growing soil of Thai onions for plant-parasitic nematode examinations (Continued)

List	Area Sampling	Number of samples	Plant-parasitic nematodes
Growing soil of Thai onions in area 26	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	5	Not found
Growing soil of Thai onions in area 27	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	5	*Aphelenchoides spp.*
Growing soil of Thai onions in area 28	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	5	*Aphelenchoides spp.*
Growing soil of Thai onions in area 29	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	5	*Aphelenchoides spp.*
Growing soil of Thai onions in area 30	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	5	*Aphelenchoides spp.*
Growing soil of Thai onions in area 31	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	5	*Aphelenchoides spp.* *Meloidogyne spp.*

Table 4 Samples of only growing soil of Thai onions for plant-parasitic nematode examinations (Continued)

List	Area Sampling	Number of samples	Plant-parasitic nematodes
Growing soil of Thai onions in area 32	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	5	*Aphelenchoides spp.*
Growing soil of Thai onions in area 33	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	5	*Aphelenchoides spp.*
Growing soil of Thai onions in area 34	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	5	*Aphelenchoides spp.*
Growing soil of Thai onions in area 35	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	5	Not found
Growing soil of Thai onions in area 36	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	5	*Aphelenchoides spp.*
Growing soil of Thai onions in area 37	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	5	*Aphelenchoides spp.*

Table 4 Samples of only growing soil of Thai onions for plant-parasitic nematode examinations (Continued)

List	Area Sampling	Number of samples	Plant-parasitic nematodes
Growing soil of Thai onions in area 38	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	5	*Aphelenchoides spp.*
Growing soil of Thai onions in area 39	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	5	Not found
Growing soil of Thai onions in area 40	Ban Huai Bong, Pa Sang Sub-district, Mueang Uttaradit District, UTTARADIT PROVINCE	5	Not found
	Total of samples	200	*Aphelenchoides spp.* *Hirschmanniella spp.* *Helicotylenchus spp.* *Meloidogyne spp.* *Radopholus spp.*

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 *Baxtrocera minax* (Enderlein) (Chinese citrus fly) คือแมลงที่อยู่ในอันดับ Diptera วงศ์ Tephritidae ซึ่งทำความเสียหายให้กับพืชตระกูลส้ม โดยตัวเต็มวัยเพศเมียจะวางไข่ในผลส้ม เมื่อหนอนฟักจะกัดกินและอาศัยอยู่ภายในผลส้ม ทำให้ผลส้มที่ถูกทำลายไม่สามารถจำหน่ายได้ กระทบต่อการส่งออกผลผลิตทางการเกษตร แมลงชนิดนี้ มีการเข้าทำลายเฉพาะพืชตระกูลส้มเท่านั้น และพบการระบาดในประเทศจีน (CABI, 2019) ซึ่งมีการส่งออกส้มมายังประเทศไทยมาอย่างต่อเนื่อง 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 2 ซึ่งเป็นแหล่งปลูกพืชตระกูลส้มที่สำคัญในประเทศไทย จำนวน 196 แปลง 1,882 ไร่ ระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2565 ถึงเดือนกันยายน พ.ศ. 2566 ผลสำรวจ เมื่อตรวจดูลักษณะภายนอกของแมลงวันผลไม้ที่ได้จากการเก็บตัวอย่างและทำการเปรียบเทียบลักษณะสำคัญของแมลงในห้องปฏิบัติการ ด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope พบว่า ยังไม่พบว่ามีแมลงวันผลไม้ ซึ่งมีลักษณะภายนอกที่ใกล้เคียงกับศัตรูพืชเป้าหมาย เข้าทำลายพืชตระกูลส้มที่ทำการสำรวจ แต่พบว่า มีการเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้ชนิดอื่น ๆ จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ *B. dorsalis B. correcta B. cucurbitae* และ *B. papayae* โดยแมลงวันผลไม้ทั้ง 4 ชนิดนี้จัดเป็นศัตรูพืชที่สามารถพบได้ทั่วไปในประเทศไทยและภูมิภาคเอเชียแปซิฟิกอยู่แล้ว ทั้งนี้เพื่อเป็นการยืนยันสถานภาพของแมลงชนิดนี้ในประเทศไทย จำเป็นต้องขยายขอบเขตการสำรวจแมลงชนิดนี้ในปีที่ 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 ที่ได้

จากการสำรวจติดตามศัตรูพืชเพื่อการเฝ้าระวังนี้จะส่งให้ NPPO และสามารถนำไปใช้ในด้านต่าง 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 นำตัวอย่างแมลงวันผลไม้ที่เก็บรวบรวมได้มาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการตรวจดูลักษณะภายนอกด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope ถ่ายภาพ บันทึกรายละเอียด เช่น ขนาด รูปร่างลักษณะและสีของแมลงวันผลไม้ก่อนนำตัวอย่างไปตรวจจำแนกชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope ที่มีกำลังขยายสูง ตรวจดูลักษณะสำคัญที่ใช้ในการจำแนก

- การบันทึกรายละเอียดบนป้ายชื่อตัวอย่าง เขียนรายละเอียดเกี่ยวกับพืชอาหาร วัน เดือน ปี สถานที่ และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง ชื่อวิทยาศาสตร์ เพศ วันเดือนปี ชื่อผู้จำแนก และจัดเก็บตัวอย่างแมลงวันผลไม้ในกล่องนำเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามหลักสากล

4. สรุปผลการศึกษาสถานภาพของแมลงวันผลไม้ (2567)

ทำการสรุปผลการศึกษาสถานภาพของแมลงวันผลไม้ *B. minax* เพื่อนำไปใช้ในการจัดทำมาตรการเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกัน

เวลาและสถานที่

เวลา ระยะเวลาเริ่มต้น ตุลาคม 2564 – กันยายน 2567 (3 ปี)

สถานที่ 1. ห้องปฏิบัติการของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2. แปลงปลูกพืชตระกูลส้ม ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง แพร่ น่าน พิจิตร กำแพงเพชร สุโขทัย ชัยนาท นครปฐม ราชบุรี กาญจนบุรี เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ นครราชสีมา และอุบลราชธานี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สืบค้นข้อมูลสืบค้นข้อมูลลักษณะของแมลงวันผลไม้ *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 ซึ่งมีรูปร่างลักษณะคล้ายกับแมลงในวงศ์ 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 จะผลิตประชากรได้เพียง 1 รุ่น และการแพร่กระจายนั้นจะเกิดมาจากการขนส่ง โดยติดมากับผลส้มที่นำเข้ามาจากแหล่งที่มีรายงานการระบาด โดยแมลงวันผลไม้ชนิดนี้ มีการพัฒนาวงจรชีวิตสอดคล้องกับระยะการเจริญเติบโตของส้ม 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 ตลอดจนวิธีการจำแนกชนิดและความแตกต่างของรอยทำลายที่เกิดขึ้นของแมลง เทียบกับแมลงวันผลไม้ที่เป็นศัตรูพืชเดิมของพืชชนิดนี้

- แบบบันทึกรายงานการสำรวจโดยมีรายละเอียดคือ วันเดือนปีที่สำรวจ สถานที่สำรวจ (หมู่บ้าน ตำบล อำเภอ จังหวัด) พิกัดทางภูมิศาสตร์ ขนาดของพื้นที่ที่ทำการสำรวจ ชื่อผู้สำรวจ จำนวนแปลงที่สำรวจ ชื่อพืชที่พบรอยทำลาย อัตราการทำลาย และพืชอาศัยอื่นที่อยู่ข้างเคียง

- รูปแบบการเดินสำรวจรอยทำลายของพืชแบบทแยงมุม สังเกตรอยทำลายบนผลส้มต้นละ 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 196 แปลง 1,882 ไร่ ระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2565 ถึงเดือนกันยายน พ.ศ. 2566 ผลสำรวจเมื่อตรวจดูลักษณะภายนอกของแมลงวันผลไม้ที่ได้จากการเก็บตัวอย่างและทำการเปรียบเทียบลักษณะสำคัญของแมลงในห้องปฏิบัติการ ด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope พบว่า ยังไม่พบว่ามีแมลงวันผลไม้ซึ่งมีลักษณะภายนอกที่ใกล้เคียงกับแมลงเป้าหมาย เข้าทำลายพืชตระกูลส้มที่ทำการสำรวจ แต่พบว่ามีการเข้าทำลายของแมลงวันชนิดอื่น 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 196 แปลง 1,882 ไร่ ระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2565 ถึงเดือนกันยายน พ.ศ. 2566 ผลสำรวจเมื่อตรวจดูลักษณะภายนอกของแมลงวันผลไม้ที่ได้จากการเก็บตัวอย่างและทำการเปรียบเทียบลักษณะสำคัญของแมลงในห้องปฏิบัติการ ด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope พบว่า ยังไม่พบว่ามีแมลงวันผลไม้ซึ่งมีลักษณะภายนอกที่ใกล้เคียงกับแมลงเป้าหมาย เข้าทำลายพืชตระกูลส้มที่ทำการสำรวจ แต่พบว่ามีการเข้าทำลายของแมลงวันชนิดอื่น จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ *B. dorsalis B. correcta B. cucurbitae* และ *B. papayae* โดยแมลงวันผลไม้ทั้ง 4 ชนิดนี้ จัดเป็นศัตรูพืชที่สามารถพบได้ทั่วไปในประเทศไทย

และภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิกอยู่แล้ว ทั้งนี้เพื่อเป็นการยืนยันสถานภาพของแมลงชนิดนี้ในประเทศไทย จำเป็นต้องขยายขอบเขตการสำรวจแมลงชนิดนี้ในปีที่ 3 อีกครั้ง เพื่อให้ได้ข้อมูลสถานภาพการไม่ปรากฏของแมลงชนิดนี้ในประเทศไทยต่อไป และจะได้นำข้อมูลดังกล่าวยืนยันว่าแมลงชนิดนี้ยังคงสถานภาพเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย

คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณ 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). CAB International. (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.

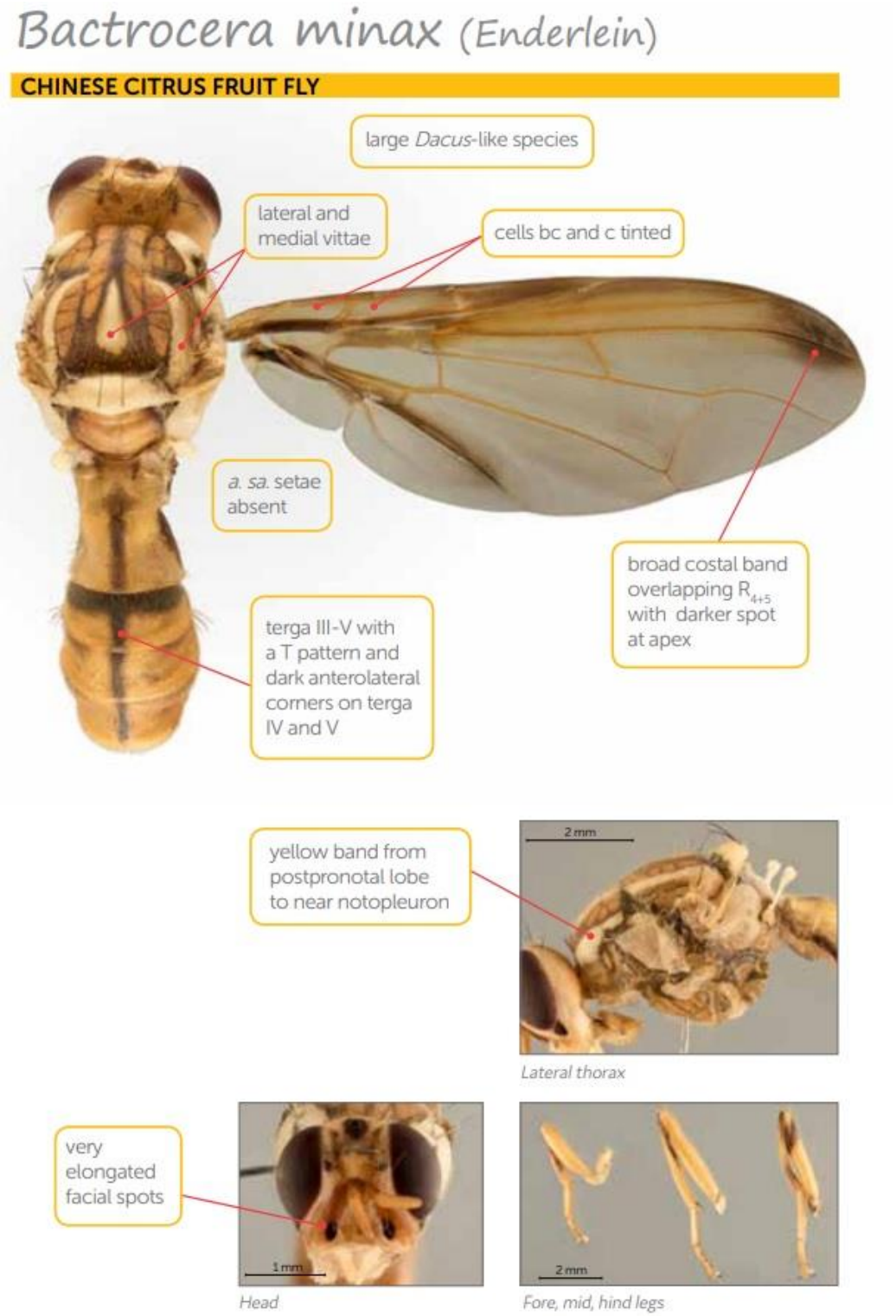


Figure 1 Characteristics of *Bactrocera minax*

Source : THE AUSTRALIAN HANDBOOK FOR THE IDENTIFICATION OF FRUIT FLIES, 2018.

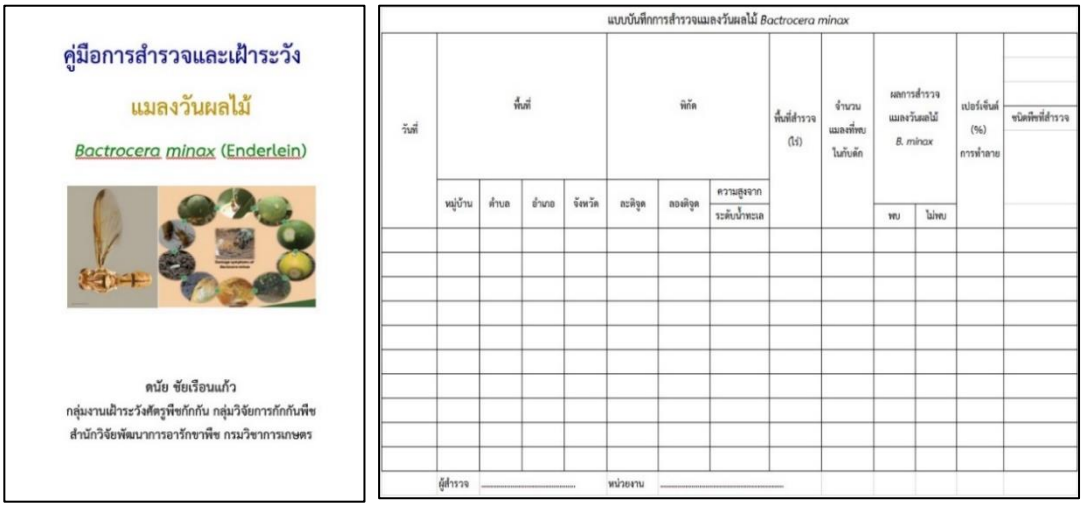


Figure 2 Survey guide and report form

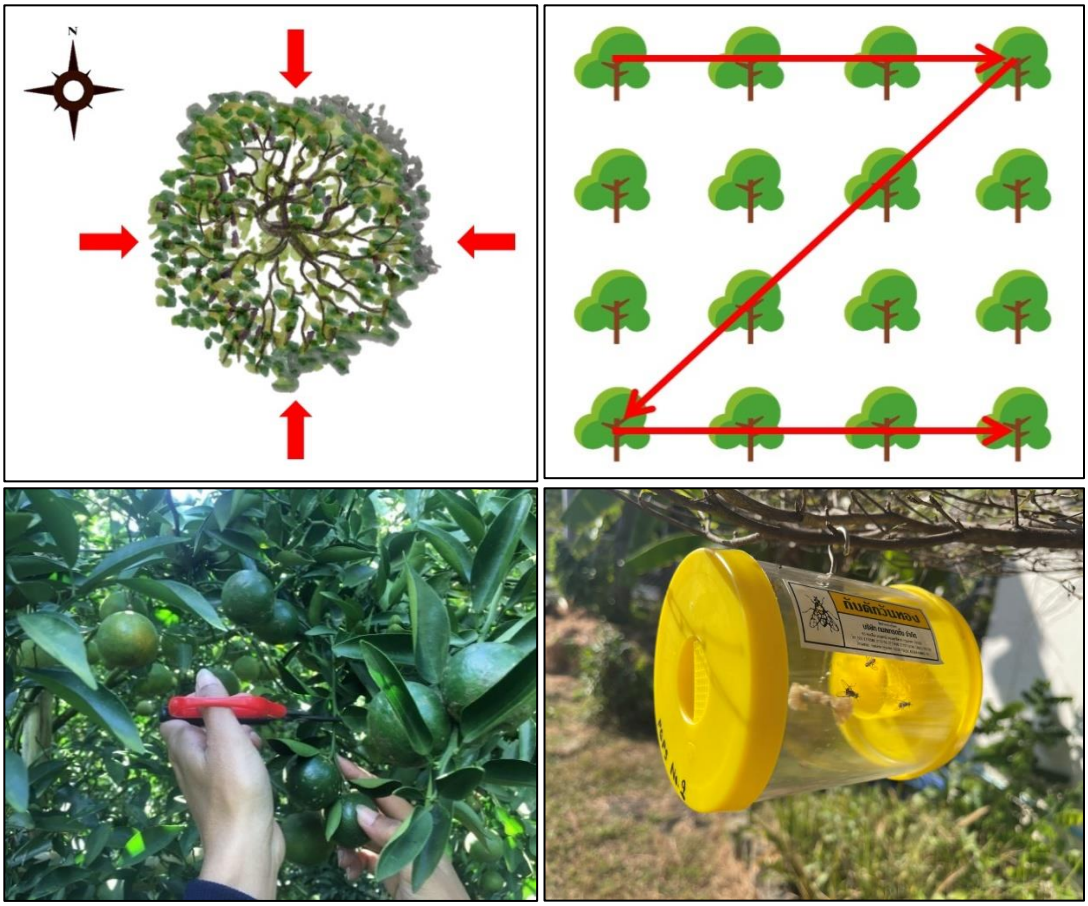


Figure 3 Survey pattern and collecting sample of *Citrus* spp.

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 บรรณาการ เกศสุดา 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 ได้แก่ สำรวจเก็บตัวอย่างในพื้นที่ภาคกลางและภาคตะวันออก ได้แก่ จังหวัดสุพรรณบุรี ชัยนาท อยุธยา ปทุมธานี ฉะเชิงเทรา ปราจีนบุรี และสระแก้ว เป็นต้น ได้ตัวอย่างตั๊กแตนเพิ่มขึ้น 120 ตัวอย่าง วินิจฉัยชนิดของตั๊กแตนได้ 6 ชนิดได้แก่ 1) *Acrida willemsei* 2) *Oxya hyla* 3) *Hieroglyphus banian* 4) *Atractomorpha crenulata* 5) *Phlaeoba antennata* 6) *Locusta migratoria* 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

คำหลัก: ตั๊กแตนไผ่ ตั๊กแตนหนวดสั้น ตั๊กแตนข้าวโพด ตั๊กแตนแถบเหลือง 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 ซึ่งเก็บได้จากไผ่และธัญพืช ที่จังหวัดสุพรรณบุรี (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 ระยะตัวเต็มวัยจะสร้างความเสียหายได้กว้างขวางและรุนแรงที่สุดนอกจากพืชกลุ่มไผ่แล้วแมลงชนิดนี้ยังเป็นศัตรูพืชที่สำคัญของพืชในตระกูลหญ้า (graminivorous) และยังพบว่าสามารถเข้าทำลายพืชตระกูลปาล์มและพืชล้มลุกบางชนิด ถึงแม้ขณะนี้ยังไม่มีรายงานการระบาดสร้างความเสียหายภายในประเทศไทย แต่อย่างไรก็ตามตั๊กแตนชนิดนี้อาจจะมีโอกาสเข้ามาแพร่ระบาดสร้างความ

เสียหายในประเทศไทยได้ 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 การศึกษาครั้งนี้นอกจากตัวอย่างตั๊กแตนที่ได้จากการสำรวจแล้วยังใช้ตัวอย่างที่มีอยู่เดิมในพิพิธภัณฑ์แมลง 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

สำรวจเก็บตัวอย่างในพื้นที่ภาคกลางและภาคตะวันออก ได้แก่ จังหวัดสุพรรณบุรี ชัยนาท อยุธยา ปทุมธานี ฉะเชิงเทรา ปราจีนบุรี และสระแก้ว เป็นต้น ได้ตัวอย่างตั๊กแตนเพิ่มขึ้น 120 ตัวอย่าง วินิจฉัยชนิดของตั๊กแตนได้ 6 ชนิดได้แก่ 1) *Acrida willemsei* 2) *Oxya hyla* 3) *Hieroglyphus banian* 4) *Atractomorpha crenulata* 5) *Phlaeoba antennata* 6) *Locusta migratoria* 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

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

สำรวจเก็บตัวอย่างในพื้นที่ภาคกลางและภาคตะวันออก ได้แก่ จังหวัดสุพรรณบุรี ชัยนาท อยุธยา ปทุมธานี ฉะเชิงเทรา ปราจีนบุรี และสระแก้ว เป็นต้น ได้ตัวอย่างตั๊กแตนเพิ่มขึ้น 120 ตัวอย่าง วินิจฉัยชนิดของตั๊กแตนได้ 6 ชนิดได้แก่ 1) *Acrida willemsei* 2) *Oxya hyla* 3) *Hieroglyphus banian* 4) *Atractomorpha crenulata* 5) *Phlaeoba antennata* 6) *Locusta migratoria* ไม่พบตั๊กแตนไผ่ *Ceracris kiangsu* ได้ชุดข้อมูลรายละเอียดของตั๊กแตนไผ่ วงจรชีวิต การแพร่กระจาย วินิจฉัยลักษณะ ตีพิมพ์ในบทความวิชาการ วารสารกีฏและสัตววิทยา จำนวน 1 บทความ ซึ่งเมื่อเสร็จสิ้นการทดลองผลลัพธ์ที่ได้คือ กลุ่มวิจัยกักกันพืชสามารถนำชุดข้อมูลการวินิจฉัยชนิดของตั๊กแตนไผ่ ใช้ทั้งประกอบการเจรจาการค้าระหว่างประเทศ รวมถึงเป็นข้อมูล ให้หน่วยงานราชการดำเนินการสำรวจ และเฝ้าระวังแมลงศัตรูพืชชนิดนี้ต่อไปในอนาคต ส่งผลกระทบที่สำคัญด้านเศรษฐกิจคือ ได้ฐานข้อมูล การแพร่กระจาย และสถานภาพของตั๊กแตนไผ่ ประกอบการเจรจาการค้าระหว่างประเทศ ทำให้สามารถส่งสินค้าเกษตร หรือต่อรองกับประเทศคู่ค้า สร้างรายได้ทางเศรษฐกิจให้กับประเทศ

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

แนวทางการนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์เมื่อเสร็จสิ้นโครงการสามารถระบุได้ถึง แนวทางวิธีการถ่ายทอดกลุ่มเป้าหมาย ระยะเวลาในการใช้ประโยชน์ และสถานที่ดังนี้

วิธีการถ่ายทอด	กลุ่มเป้าหมาย	ระยะเวลา	สถานที่
1. ความหลากชนิดของตั๊กแตนไผ่ ศัตรูพืชเฝ้าระวังที่สำคัญของประเทศไทย 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. 1 9 8 2 . *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.

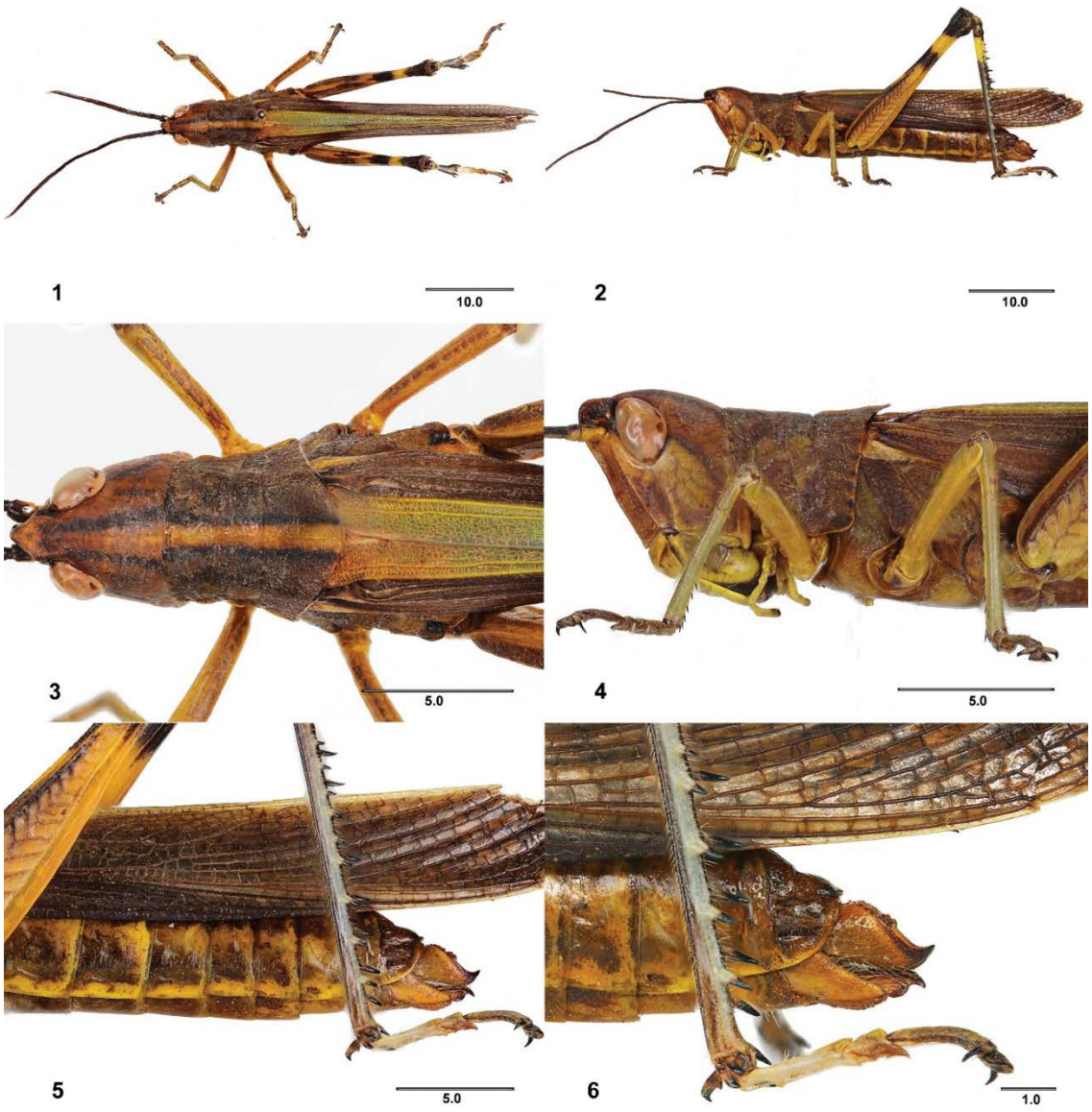


Figure 1–6 *Ceracris kiangsu* Tsai, male (EMBT ENT 0006599). 1, Dorsal habitus; 2, Lateral habitus; 3, Head and thorax, dorsal view; 4, Head and thorax, lateral view; 5, Abdominal segments, lateral view; 6, Cercus and subgenital plate, lateral view. Scale bars in millimeters.

การสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช *Raphanus raphanistrum* ในประเทศไทย

Survey and Surveillance of *Raphanus raphanistrum* in Thailand

ชุติมา อ้อมกิ่ง[1/] วานิช คำพานิช[1/] อัณศยา พรมมา[2/] ดนัย ชัยเรือนแก้ว[1/]
ธิดาวรรณ ชมเดช[1/] พรรณิภา เปชัยศรี[1/]

[1/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสุโขทัย สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2

รายงานความก้าวหน้า

วัชพืช *Raphanus raphanistrum* เป็นศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานในประเทศไทยและเป็นศัตรูพืชกักกัน ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 เพื่อยืนยันสถานภาพของวัชพืช *R. raphanistrum* ในประเทศไทย จึงดำเนินการสำรวจวัชพืช *R. raphanistrum* แบบเฉพาะเจาะจงตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (การเฝ้าระวัง) ในแหล่งปลูกกะหล่ำปลี จำนวน 4 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ แม่ฮ่องสอน พิษณุโลก และเพชรบูรณ์ เมื่อสุ่มเก็บตัวอย่างที่สงสัยจำนวน 87 แปลง มาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ ระหว่างการศึกษาไม่ปรากฏพบวัชพืช *R. raphanistrum*

คำหลัก : การสำรวจ, สถานภาพ, การเฝ้าระวัง, 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; 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 โดยการสำรวจแบบตรวจหาตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (surveillance: ISPM No.6) ดำเนินการเดินสำรวจในพื้นที่ที่สามารถเข้าถึงด้วยรถยนต์ หรืออยู่ในระยะที่เดินเข้าได้ 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

เวลา ระยะเวลาเริ่มต้น ตุลาคม 2564 - กันยายน 2567 (3 ปี)

สถานที่ ห้องปฏิบัติการของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
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 เดอ จาเนโร, ริโอ กรันเด โด ซุล, 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

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างต้องสงสัยว่าคล้ายกับวัชพืช *R. raphanistrum* (Figure 1) ที่แหล่งปลูกกะหล่ำปลี (Figure 2 และ 3) เดือนตุลาคม 2565 - กันยายน 2566 จำนวน 4 จังหวัด ในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ (37 แปลง) แม่ฮ่องสอน (20 แปลง) พิษณุโลก (12 แปลง) และเพชรบรูณ์ (18 แปลง) นำตัวอย่างมาตรวจสอบ*วัชพืช R. raphanistrum* ในห้องปฏิบัติการ ระหว่างการศึกษาตรวจตัวอย่างแล้วไม่พบวัชพืช *R. raphanistrum*

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจแหล่งปลูกกะหล่ำปลี เพื่อยืนยันสถานภาพของวัชพืช *R. raphanistrum* ในประเทศไทย แบบเฉพาะเจาะจง ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (surveillance: ISPM No.6) (FAO, 2018) และคำแนะนำในการสำรวจศัตรูพืชในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก (McMaugh, 2008) ในแหล่งปลูกกะหล่ำปลีซึ่งเป็นพืชอาศัยหลักของวัชพืช จำนวน 4 จังหวัด 87 แปลง ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ แม่ฮ่องสอน พิษณุโลก และเพชรบรูณ์ เมื่อสุ่มเก็บตัวอย่างมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ ระหว่างการศึกษาตรวจแล้วไม่พบวัชพืช *R. raphanistrum* และยังต้องดำเนินการสำรวจในพื้นที่ปลูกกะหล่ำปลีเพื่อให้ได้ข้อมูลที่ครบถ้วนต่อไป ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องทำการสำรวจเพื่อเฝ้าระวังศัตรูพืชชนิดนี้ปีที่ 3 อีกครั้ง เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการสนับสนุนการออกมาตรการเฝ้าระวังศัตรูพืช การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช และการรายงานศัตรูพืชอีกด้วย

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/cabicom pendium.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 cabbage			Source	Survey result
	Sub district	District	Province		
1	Bo Sali	Hot	Chiang Mai	4	Absent
2	Ban Thap	Mae Chaem	Chiang Mai	12	Absent
3	Pang Hin Fon	Mae Chaem	Chiang Mai	5	Absent
4	Chang Keng	Mae Chaem	Chiang Mai	5	Absent
5	Kong Khaek	Mae Chaem	Chiang Mai	8	Absent
6	Mae Suek	Mae Chaem	Chiang Mai	1	Absent
7	Tha Pha	Mae Chaem	Chiang Mai	1	Absent
8	Mae Na Chon	Mae Chaem	Chiang Mai	1	Absent
9	Pa Pae	Mae Sariang	Mae Hong Son	20	Absent
10	Bueng Phra	Muang Phitsanulok	Phitsanulok	12	Absent
11	Thung Samo	Khao Kho	Phetchabun	4	Absent
12	Khao Kho	Khao Kho	Phetchabun	1	Absent
13	Nong Mae Na	Khao Kho	Phetchabun	7	Absent
14	Nam ko	Lom Sak	Phetchabun	2	Absent
15	Nam Chun	Lom Sak	Phetchabun	1	Absent

Figure 1 Character of stem flower and seed of *Raphanus raphanistrum*

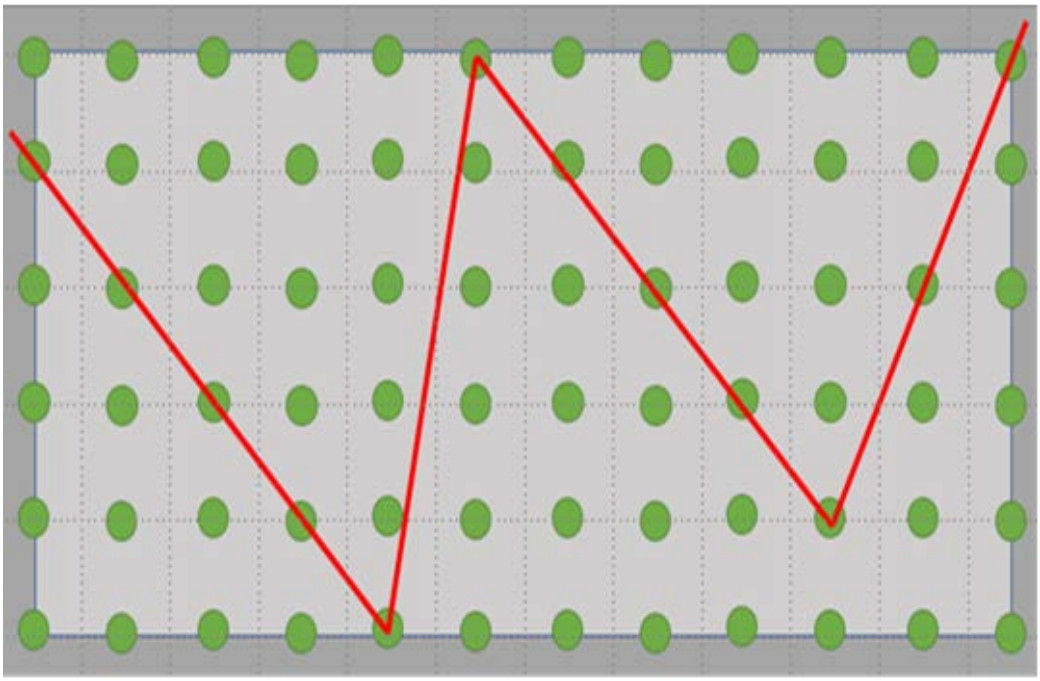


Figure 2 Survey pattern

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

บทคัดย่อ

Galium aparine L. เป็นวัชพืชวงศ์ Rubiaceae ซึ่งเป็นศัตรูพืชกักกันตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 และเป็นวัชพืชร้ายแรง เมล็ดมีขนาดเล็กและมีขนในการยึดเกี่ยวบรรจุภัณฑ์ พืช และผลผลิตพืช อีกทั้งเมล็ดของวัชพืชมีลักษณะคล้ายคลึงกับเมล็ดของพืชวงศ์ผักกาดยากต่อการคัดแยก ทำให้มีความเสี่ยงที่จะมีวัชพืชติดปนเปื้นมาได้ หากไม่มีการตรวจสอบอย่างเข้มงวดวัชพืชกักกันอาจติดเข้ามาในแหล่งปลูกพืชของประเทศไทย รวมทั้งส่งผลกระทบกับการส่งออกสินค้าเกษตรไปยังประเทศที่ต้องรับรองการปลอดวัชพืชกักกันก่อนการส่งออก ดังนั้นจึงทำการสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช *G. aparine* L. ในพืชวงศ์ผักกาดของประเทศไทย เพื่อยืนยันสถานภาพการปรากฏหรือไม่ปรากฏที่เป็นปัจจุบัน ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 - กันยายน 2566 โดยวางแผนการสำรวจตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (Surveillance) สำรวจแบบเฉพาะเจาะจง ผลการสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช *G. aparine* L. แหล่งปลูกพืชวงศ์ผักกาดที่จังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน ลำปาง เชียงราย แม่ฮ่องสอน น่าน แพร่ เพชรบูรณ์ เลย นครปฐม ราชบุรี กาญจนบุรี ตาก ขอนแก่น อุดรธานี สกลนคร หนองคาย บึงกาฬ หนองบัวลำภู เพชรบุรี และ ประจวบคีรีขันธ์ ไม่ปรากฏพบวัชพืช *G. aparine* L. แต่อย่างไรก็ตามการสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืชกักกันชนิดนี้ต้องดำเนินการสำรวจอย่างต่อเนื่อง เพื่อเป็นการยืนยันสถานภาพของศัตรูพืชกักกันในประเทศไทยต่อไป

คำหลัก : สำรวจ, เฝ้าระวัง, วัชพืช *Galium aparine* L.

รหัสการทดลอง FF65-55-06-65-00-12-65

คำนำ

การเฝ้าระวัง (Surveillance) ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 เป็นกระบวนการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชชนิดใดชนิดหนึ่งในพื้นที่ ซึ่งการรวบรวมข้อมูลนั้นสามารถทำได้ 2 แบบ ได้แก่ การเฝ้าระวังทั่วไป และการเฝ้าระวังเฉพาะเจาะจง สามารถดำเนินการโดยการสำรวจเพื่อตรวจหา (detection survey): ดำเนินการในพื้นที่เพื่อระบุว่ามีศัตรูพืชปรากฏอยู่หรือไม่ การสำรวจเพื่อกำหนดขอบเขต (delimiting survey): ดำเนินการเพื่อกำหนดขอบเขตพื้นที่ที่พิจารณาว่ามีการลงทำลายโดยศัตรูพืชหรือปลอดจากศัตรูพืช และการสำรวจแบบติดตามอย่างต่อเนื่อง (monitoring survey): การสำรวจอย่างต่อเนื่องเพื่อพิสูจน์ยืนยันลักษณะของประชากรศัตรูพืช ประโยชน์ของการเฝ้าระวังเฉพาะเจาะจง สามารถบอกถึงสถานการณ์ของศัตรูพืชในพื้นที่ข้อมูลที่ได้เป็นการรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืชในกรณีที่ไม่พบศัตรูพืชในพื้นที่นั้น ๆ เมื่อมีการรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืชแล้ว การที่จะคงสภาพพื้นที่ปลอดศัตรูพืชจะต้องมีการสำรวจเพื่อตรวจหาอย่างเป็นระบบข้อมูลต่าง ๆ ที่ได้จากการสำรวจติดตามศัตรูพืชเพื่อการเฝ้าระวังนี้จะส่งให้องค์กรอารักขาพืชแห่งชาติ และสามารถนำไปใช้ในด้านต่าง ๆ เช่น ใช้ในการสนับสนุนการออกประกาศ เรื่อง พื้นที่ปลอดศัตรูพืชที่ดำเนินการโดยองค์กรอารักขาพืชแห่งชาติ

วัชพืช *Galium aparine* L. อยู่ในวงศ์ Rubiaceae จัดเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทยตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 และเป็นศัตรูพืชร้ายแรงในหลายประเทศทั่วโลก มีถิ่นกำเนิดในอเมริกาเหนือ เกิดขึ้นในเขตอบอุ่นและในพื้นที่สูงในเขตร้อน เป็นวัชพืชใบกว้างที่มีการขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด สามารถเติบโตได้ในดินหลายประเภท แต่ส่วนใหญ่พบในดินที่มีธาตุอาหารอุดมสมบูรณ์ ดินลึก ดินร่วนปนดินเหนียว มีฮิวมัส และแหล่งที่อยู่อาศัยที่ชื้น (Malik and Vanden Born, 1988) เป็นปัญหาในพืชผัก ไม้ผล พืชไร่ และธัญพืช ส่งผลกระทบทำให้ผลผลิตลดลง โดยการเลื้อยขึ้นปกคลุมพืชผล รบกวนการเก็บเกี่ยว รวมทั้งเป็นแหล่งอาศัยของโรคและแมลงศัตรูพืช เมล็ดวัชพืชถูกแพร่กระจายไปโดยลม น้ำ สัตว์ เครื่องจักรกลการเกษตร หรือปนเปื้อนบรรจุภัณฑ์ พืชและผลผลิตพืช ผลของวัชพืชชนิดนี้มีขนที่สามารถยึดเกาะกับสัตว์ เสื้อผ้าและกระเป๋าของมนุษย์ หรืออาจแพร่กระจายไปกับฟางและปุ๋ยคอก เครื่องจักรกลการเกษตร อีกทั้งเมล็ดของวัชพืชมีขนาดเล็กยากต่อการตรวจพบทำให้มีข้อกังวลในการติดปะปนเข้ามากับผลผลิตพืชที่นำเข้า และยังสามารถเจริญเติบโตในสภาพแวดล้อมที่หลากหลายจึงมีโอกาสที่จะสามารถเข้ามา ตั้งรกราก แพร่ระบาด และสร้างความเสียหายกับพืชและผลิตพืชได้ ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศเพื่อผลิตผลสดเพื่อการบริโภคและผลิตเมล็ดพันธุ์เพื่อการส่งออกทำให้มีความเสี่ยงที่จะมีศัตรูพืชกักกันสูง ดังนั้นจึงต้องทำการสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช *G. aparine* L. ในประเทศไทย เพื่อยืนยันสถานภาพการปรากฏหรือไม่ปรากฏที่เป็นปัจจุบัน และเพื่อใช้เป็นข้อมูลในการสนับสนุนการออกมาตรการเฝ้าระวังศัตรูพืช 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 ข้อมูลการนำเข้าพืชประเทศต้นทาง เป็นต้น

2.2 กำหนดพื้นที่แหล่งปลูกพืชวงศ์ผักกาด (กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก ผักกาดเขียว ผักกาดขาว ผักกาดหัว คะน้า กวางตุ้ง บร็อกโคลี่) ในประเทศไทย เช่น จังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน ลำปาง เชียงราย

แม่ฮ่องสอน น่าน แพร่ เพชรบูรณ์ เลย นครปฐม ราชบุรี กาญจนบุรี ตาก ขอนแก่น อุดรธานี สกลนคร หนองคาย บึงกาฬ หนองบัวลำภู เพชรบุรี และ ประจวบคีรีขันธ์ 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) เพื่อใช้เป็นหลักฐาน และเพื่อการตรวจสอบและจำแนกชนิดต่อไปในห้องปฏิบัติการ หากไม่สามารถระบุชนิดได้ เช่น มีลักษณะไม่ชัดเจน พืชยังไม่มีดอก หรือยังอยู่ในระยะต้นอ่อน เก็บตัวอย่าง นำมาปลูกในเรือนทดลอง จนกว่าจะมีดอก 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 ระยะการเจริญเติบโต และสภาพแวดล้อมอื่น ๆ
4. ชนิดวัชพืชที่พบ บันทึกประเภท ลักษณะ ระยะการเจริญ การขยายพันธุ์ในพื้นที่ ปริมาณที่พบการกระจายในพื้นที่

เวลาและสถานที่

เวลา วันที่เริ่มต้น 1 ตุลาคม 2564 วันที่สิ้นสุด 30 กันยายน 2567 (3 ปี)

สถานที่ 1.ห้องปฏิบัติการของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2. โรงเรือนกักกันพืช กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
3. แปลงปลูกพืชวงศ์ผักกาด

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ข้อมูลลักษณะของวัชพืช *Galium aparine* L.

วัชพืช *Galium aparine* L. จัดอยู่ในวงศ์ Rubiaceae เป็นศัตรูพืชกักกันพืชของประเทศไทย ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 เป็นศัตรูพืชร้ายแรงที่เป็นปัญหาในพืชผัก 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 ผลหุ้มเมล็ดมีลักษณะทรงกลม เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2 – 4 มิลลิเมตร ผลอ่อนมีสีเขียวแบ่งเป็นสองแฉก จากนั้นจะกลายเป็นสีแดง สีน้ำตาลอมเทา เมื่อผลเริ่มสุกแก่ และถูกปกคลุมด้วยขนรอบผลที่มีลักษณะคล้ายตะขอที่หนาแน่นซึ่งติดกับเสื้อผ้าและสัตว์ได้ง่าย ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด (Figure 1) 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* สามารถเติบโตได้ในแหล่งที่อยู่อาศัยที่หลากหลายและเจริญเติบโตได้ดีในแหล่งที่ดินชื้น ดินที่อุดมสมบูรณ์ด้วยสารอาหาร เจริญเติบโตได้ในถิ่นที่อยู่ที่ค่อนข้างแห้งและมีแสงแดดส่องถึง และไม่ทนต่อร่มเงา *G. aparine* เป็นวัชพืชที่พบได้ทั่วไปในเขตอบอุ่นของทุกทวีป ในยุโรปพบ *G. aparine* ในประเทศโปรตุเกสทางตะวันตกไปยังรัสเซียทางตะวันออก และจากสหราชอาณาจักรทางตอนเหนือไปยังอิตาลีทางตอนใต้ มันเกิดขึ้นในรัฐอลาสก้าและแพร่กระจายไปยังข้าวสาลีของแคนาดาและทั่วสหรัฐอเมริกา เป็นวัชพืชที่เป็นปัญหาในอาร์เจนตินา ชิลี และอุรุกวัย และในเอเชีย ขยายพันธุ์จากปากีสถานไปยังจีน และจากญี่ปุ่นถึง

นิวซีแลนด์ 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 จนกว่าจะมีดอก

หรือมีลักษณะที่สามารถระบุชนิดได้ ถ่ายภาพและจัดทำตัวอย่างแห้ง เพื่อใช้เป็นหลักฐานและตรวจสอบจำแนกชนิดต่อไปในห้องปฏิบัติการ

สำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช *Galium aparine* L.

การสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช *Galium aparine* L. จากแหล่งปลูกพืชผักวงศ์ผักกาดของประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 - กันยายน 2566 วางแผนการสำรวจตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช 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 เพชรบูรณ์ เลย นครปฐม ราชบุรี กาญจนบุรี ตาก ขอนแก่น อุดรธานี สกลนคร หนองคาย บึงกาฬ หนองบัวลำภู เพชรบุรี และ ประจวบคีรีขันธ์ ในแหล่งปลูกพืชผักวงศ์ผักกาด (กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก ผักกาดเขียว ผักกาดขาว ผักกาดหัว คะน้า กวางตุ้ง บร็อกโคลี่) จำนวน 65 แปลง ไม่ปรากฏพบวัชพืช *Galium aparine* L. แต่พบวัชพืชทั่วไปที่รายงานพบในประเทศไทยแล้ว

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช *Galium aparine* L. จากแหล่งปลูกพืชวงศ์ผักกาดของประเทศไทยในปีที่ 2 ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 - กันยายน 2566 วางแผนการสำรวจตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (Surveillance) สำรวจแบบเฉพาะเจาะจง โดยมีวัชพืช *Galium aparine* L. เป็นพืชเป้าหมาย ผลการสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืชกักกันในแหล่งปลูกพืชผักวงศ์ผักกาดที่จังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน ลำปาง เชียงราย แม่ฮ่องสอน น่าน แพร่ เพชรบูรณ์ เลย นครปฐม ราชบุรี กาญจนบุรี ตาก ขอนแก่น อุดรธานี สกลนคร หนองคาย บึงกาฬ หนองบัวลำภู เพชรบุรี และ ประจวบคีรีขันธ์ ไม่ปรากฏพบพบวัชพืช *Galium aparine* L. แต่อย่างไรก็ตาม การสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช *Galium aparine* L. ต้องดำเนินการสำรวจอย่างต่อเนื่อง เพื่อเป็นเพื่อเป็นการยืนยันสถานภาพของศัตรูพืชกักกันในประเทศไทย และเพื่อใช้เป็นข้อมูลประกอบในการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชและสนับสนุนการออกประกาศพื้นที่ปลอดศัตรูพืช โดยหน่วยงานองค์กรอารักขาพืชแห่งชาติ (NPPO) ต่อไป

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

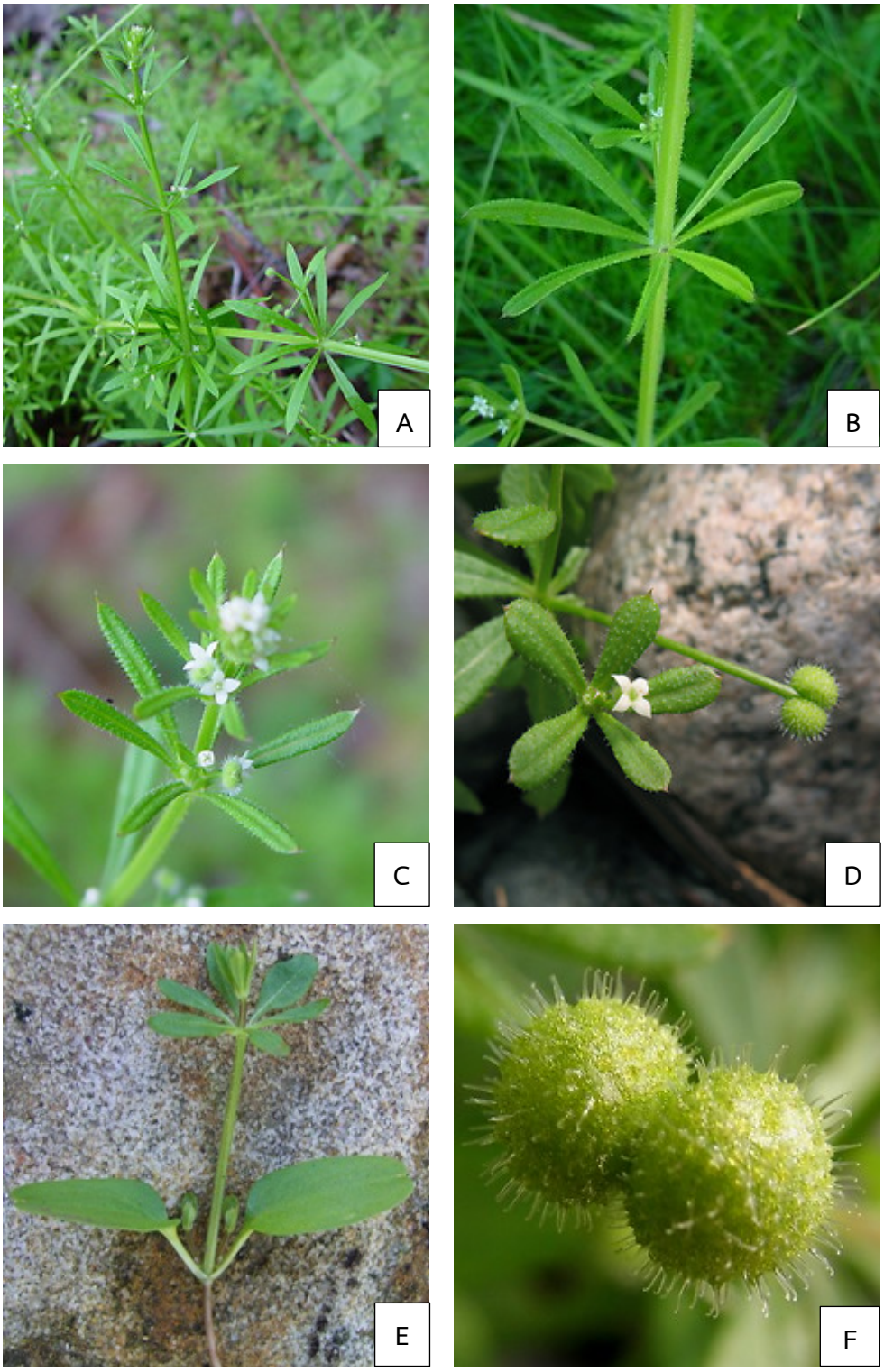


Figure 1 Characteristics of *Galium aparine* L. from searching information abroad.
A. *Galium aparine* L. plant, B. Stem and Whorled leaves, C. Flowers,
D. Leaves in whorls and fruit forming, E. Seedling, F. fruits
Source: https://gobotany.nativeplanttrust.org/species/galium/aparine

การทดสอบประสิทธิภาพสารคลุกเมล็ดและราดสารป้องกันกำจัดแมลงในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด

Efficacy of Seed Treatments and Soil Drenching for Controlling Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith)

วิภาดา ปลอดครบุรี นายศุภกร แต่งสวน นายกรกฎ รัตนมหามณีกร

กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาการทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดแมลงประเภทคลุกเมล็ดพันธุ์และราดต้นในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ในข้าวโพดหวานดำเนินการทดลองจำนวน 2 แปลงทดลอง ที่อำเภอท่าม่วง และท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี ระหว่างเดือนมกราคม – เมษายน 2565 ผลการทดลองพบว่า กรรมวิธีคลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสาร cyantraniliprole 24% + thiamethoxam 24% FS อัตรา 8 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม คลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสาร chlorantraniliprole 62.5% FS อัตรา 9 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม การใช้สาร cyantraniliprole 20%SC อัตรา 10 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ราดต้นข้าวโพด อัตรา 10 มิลลิลิตร/ต้น (ราดสารที่ 3 วันหลังข้าวโพดงอก) และคลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสาร cyantraniliprole 20% SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม (กรรมวิธีเปรียบเทียบ) มีต้นทุนการใช้สารเท่ากับ 72, 162, 297.50 และ 216 บาท/ไร่ ตามลำดับ ส่วนในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ดำเนินการทดลองจำนวน 2 แปลงทดลอง ที่อำแภอพระพุทธบาท จังหวัดสระบุรี และอำเภอเมือง จังหวัดลพบุรี ระหว่างเดือนระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ – พฤษภาคม 2566 ผลการทดลองพบว่า กรรมวิธีคลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสาร chlorantraniliprole 62.5% FS อัตรา 7 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม คลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสาร cyantraniliprole 24%+thiamethoxam 24% FS อัตรา 7 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม การใช้สาร cyantraniliprole 20% SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ราดต้นข้าวโพด อัตรา 10 มิลลิลิตร/ต้น (ราดสารที่ 3 วันหลังข้าวโพดงอก) และคลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสาร cyantraniliprole 20% SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม (กรรมวิธีเปรียบเทียบ) มีต้นทุนการใช้สารเท่ากับ 126, 252, 297.50 และ 432 บาท/ไร่ ตามลำดับ โดยวิธีการคลุกเมล็ดพันธุ์หรือใช้สารราดต้นข้าวโพด สามารถใช้เป็นทางเลือกในการป้องกันกำจัดร่วมกับวิธีการอื่นได้อีกวิธีหนึ่ง

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 ไม่สามารถควบคุมหนอนกระทู้

ข้าวโพดลายจุดได้ 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 ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติในการดูดซึม สามารถดูดซึมจากรากเข้าสู่ลำต้นผ่านท่อลำเลียงน้ำ (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 และข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสม พันธุ์นครสวรรค์ 3
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

ข้าวโพดหวาน

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

ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 cyantraniliprole 24%+thiamethoxam 24%FS อัตรา 7 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม (กลุ่มสาร 28 + 4A)

กรรมวิธีที่ 2 chlorantraniliprole 62.5%FS อัตรา 7 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

วิธีปฏิบัติการทดลอง

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

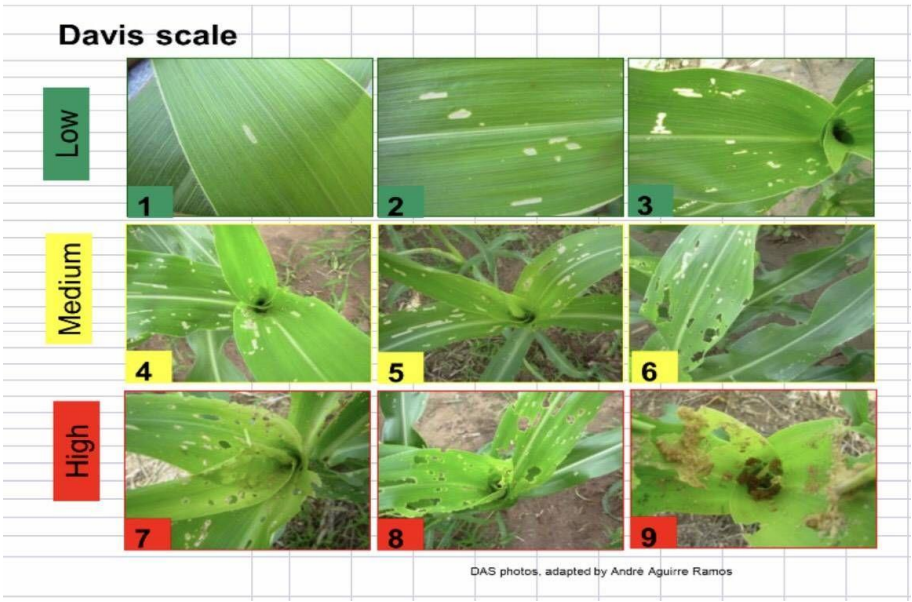
ระดับ 9 ใบถูกทำลายเกือบทั้งหมด

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

เวลา 1.แปลงลดลองที่ 1 ระหว่างเดือนมกราคม - กุมภาพันธ์ 2565
2.แปลงลดลองที่ 2 ระหว่างเดือนมีนาคม - เมษายน 2565
3.แปลงลดลองที่ 3 ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ – มีนาคม 2566
4. แปลงลดลองที่ 4 ระหว่างเดือนเมษายน – พฤษภาคม 2566

สถานที่ 1. แปลงลดลองที่ 1 แปลงข้าวโพดหวาน อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี
2. แปลงลดลองที่ 2 แปลงข้าวโพดหวาน อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี
3. แปลงลดลองที่ 3 แปลงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ อำเภอพระพุทธบาท จังหวัดสระบุรี
4. แปลงลดลองที่ 4 แปลงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ อำเภอเมืองลพบุรี จังหวัดลพบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารคลุกเมล็ดพันธุ์และราดสารป้องกันกำจัดแมลงในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวานและข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ มีรายละเอียดดังนี้

แปลงทดลองที่ 1 ข้าวโพดหวาน (ตารางที่ 1)

พบการทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวานลูกผสม พันธุ์สงขลา 84-1 ตั้งแต่ 7 วัน หลังงอก 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 มีเปอร์เซ็นต์การทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดน้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สารป้องกันกำจัดแมลง แต่เนื่องจากในแปลงทดลองนี้ในกรรมวิธีไม่ใช้สารป้องกันกำจัดแมลงมีการระบาดไม่รุนแรง มีระดับการทำลายของ Devis Scale ระดับ 4 ขึ้นไป (เปอร์เซ็นต์การทำลายมากกว่า 45 %) ซึ่งเป็นเกณฑ์กำหนดในการตัดสินใจพิจารณาป้องกันกำจัดด้วยวิธีการต่าง ๆ ที่ข้าวโพดหวานอายุ 18, 20 และ 25 วันหลังงอก นั้น เป็นระยะที่ข้าวโพดหวานเริ่มชดเชยความเสียหายจากการทำลายได้ จึงทำให้สารป้องกันกำจัดแมลงทุกกรรมวิธีสามารถควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดได้ถึง 25 วัน

ตลอดการทดลองทุกกรรมวิธีที่ใช้สารป้องกันกำจัดแมลง ไม่พบความเป็นพิษของสารป้องกันกำจัดแมลงต่อพืช (phytotoxicity) ต่อต้นข้าวโพดหวาน

แปลงทดลองที่ 2 ข้าวโพดหวาน (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 ซึ่งน้อยกว่าและความแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สารป้องกันกำจัดแมลง 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

เมื่อพิจารณาทั้งสองแปลงทดลองในข้าวโพดหวาน 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

ต้นทุนการใช้สารป้องกันกำจัดแมลง

เมื่อพิจารณาต้นทุนการใช้สาร (ตารางที่ 3) โดยคำนวณจากการใช้เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวาน 1.5 กิโลกรัม/ไร่ (8,500 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, 297.50 และ 216 บาท/ไร่ ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าในกรรมวิธีที่ใช้สารคลุกเมล็ดพันธุ์ที่มีการขึ้นทะเบียนในสูตรคลุกเมล็ดพันธุ์โดยตรงนั้น มีต้นทุนการใช้สารต่ำกว่ากรรมวิธีราดต้นและกรรมวิธีเปรียบเทียบ

แปลงทดลองที่ 3 ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ (ตารางที่ 4)

พบการทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสม พันธุ์นครสวรรค์ 3 ตั้งแต่ 7 วัน หลังงอก เมื่อเปรียบเทียบระหว่างทุกกรรมวิธีที่ใช้สารป้องกันกำจัดแมลงทั้งประเภทใช้คลุกเมล็ดพันธุ์และผสมน้ำราดต้นข้าวโพด ที่ข้าวโพดหวานอายุ 7, 10, 12, 15 และ 18 วันหลังงอก มีเปอร์เซ็นต์การทำลายเท่ากับ 0.28 – 0.69, 0.69 – 0.97, 2.78 – 5.56, 8.33 – 20.97 และ 18.61 – 46.11 ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธีที่ใช้สารป้องกันกำจัดแมลง แต่น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สารป้องกันกำจัดแมลง ที่มีเปอร์เซ็นต์การทำลายเท่ากับ 8.19, 24.17, 36.81, 53.19 และ 75.97 ตามลำดับ ที่ข้าวโพดอายุ 20 วัน กรรมวิธีคลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสาร 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) พบเปอร์เซ็นต์การทำลายระหว่าง 25.00 – 33.47 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่เปอร์เซ็นต์การทำลายน้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สารป้องกันกำจัดแมลง ที่พบเปอร์เซ็นต์การทำลาย 69.17 ที่ข้าวโพดอายุ 25 วัน ทุกกรรมวิธีที่ใช้สารป้องกันกำจัดแมลง พบเปอร์เซ็นต์การทำลายระหว่าง 27.36 – 56.67 น้อยกว่าและแตกต่างกับกรรมวิธีไม่ใช้สารป้องกันกำจัดแมลง แต่ในกรรมวิธีคลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสาร cyantraniliprole 24%+thiamethoxam 24%FS อัตรา 8 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม ในสภาพที่มีการระบาดที่รุนแรงในช่วงข้าวโพดอายุ 15 – 25 วัน หลังงอกนั้น สามารถควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดได้ดีถึง 12 วัน หลังงอก ส่วนกรรมวิธีการใช้สารป้องกันกำจัดแมลงอื่นสามารถควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดได้ถึง 25 วัน หลังงอก

แปลงทดลองที่ 4 ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ (ตารางที่ 5)

พบการทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสม พันธุ์นครสวรรค์ 3 ตั้งแต่ 5 วัน หลังงอก เมื่อเปรียบเทียบระหว่างทุกกรรมวิธีที่ใช้สารป้องกันกำจัดแมลงทั้งประเภทใช้คลุกเมล็ดพันธุ์และผสมน้ำราดต้นข้าวโพด ที่ข้าวโพดหวานอายุ 5, 7, 10, 12, 15, 18, 20 และ 25 วันหลังงอก มีเปอร์เซ็นต์การทำลายเท่ากับ 0.83 – 3.75, 1.67 – 5.00, 1.81 – 8.61, 2.08 – 8.89, 5.56 – 16.81, 8.75 – 17.36, 12.64 - 20.00 และ 11.94 – 18.33 ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธีที่ใช้สาร แต่น้อยกว่าและความแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สารป้องกันกำจัดแมลง ที่มีเปอร์เซ็นต์การทำลายเท่ากับ 7.36, 28.19, 39.72, 42.50, 45.97, 54.72, 56.94 และ 56.94 ตามลำดับ ซึ่งมีการระบาดที่ไม่รุนแรง สามารถควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดได้ถึง 25 วัน หลังงอก

เมื่อพิจารณาทั้งสองแปลงทดลองในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ทุกกรรมวิธีทั้งการคลุกเมล็ดพันธุ์ และผสมน้ำราดต้น สามารถควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดได้ดีที่ข้าวโพดอายุ 12 – 25 วัน หลังงอก

โดยตลอดการทดลองทุกกรรมวิธีที่ใช้สารป้องกันกำจัดแมลง ไม่พบความเป็นพิษของสารป้องกันกำจัดแมลงต่อพืช (phytotoxicity) ต่อต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เช่นเดียวกัน

ต้นทุนการใช้สารป้องกันกำจัดแมลง

เมื่อพิจารณาต้นทุนการใช้สาร (ตารางที่ 6) โดยคำนวณจากการใช้เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 3 กิโลกรัม/ไร่ (8,500 ต้น) พบว่า กรรมวิธีคลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสาร chlorantraniliprole 62.5% FS อัตรา 7 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม คลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสาร cyantraniliprole 24%+thiamethoxam 24% FS อัตรา 7 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม การใช้สาร cyantraniliprole 20% SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ราดต้นข้าวโพด อัตรา 10 มิลลิลิตร/ต้น (ราดสารที่ 3 วันหลังข้าวโพดงอก) และคลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสาร cyantraniliprole 20% SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม (กรรมวิธีเปรียบเทียบ) มีต้นทุนการใช้สารเท่ากับ 126, 252, 297.50 และ 432 บาท/ไร่ ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าในกรรมวิธีที่ใช้สารคลุกเมล็ดพันธุ์ที่มีการขึ้นทะเบียนในสูตรคลุกเมล็ดพันธุ์โดยตรงนั้น มีต้นทุนการใช้สารต่ำกว่ากรรมวิธีราดต้นและกรรมวิธีเปรียบเทียบเช่นเดียวกันกับในข้าวโพดหวาน

ในการทดลองนี้สารป้องกันกำจัดแมลงที่นำมาใช้คลุกเมล็ดพันธุ์ก่อนปลูกหรือใช้ราดต้น จัดอยู่ในกลุ่ม 28 จัดกลุ่มโดย IRAC (Insecticide Resistance Action Committee) ซึ่งเป็นการจัดกลุ่มสารแบ่งตามกลไกการออกฤทธิ์หรือตำแหน่งของการออกฤทธิ์ (Mode of Action หรือ Site of Action) สารในกลุ่มนี้เป็นสารที่มีกลไกการออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทและกล้ามเนื้อ โดยสารจะเข้าไปภายในเซลล์กล้ามเนื้อแมลง แล้วไปที่บริเวณ 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 กล้ามเนื้อ

ส่วนปากไม่สามารถทำงานในการกัดกินใบพืชได้ แมลงไม่สามารถเดินหรือเคลื่อนไหวส่วนต่างๆ ของร่างกาย และเป็นอัมพาต อีกทั้งเป็นสารที่มีคุณสมบัติในการดูดซึม สามารถดูดซึมจากรากเข้าสู่ลำต้นไปสู่ยอดพืชได้ดี และมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดแมลงได้ทั้งประเภทปากดูดและปากกัด รวมถึงหนอนผีเสื้อได้ (สุภราดา, 2555 และสุเทพ, 2556) 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

การศึกษาทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดแมลงประเภทคลุกเมล็ดพันธุ์หรือราดต้น ในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) ในข้าวโพดหวาน กรรมวิธีที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด ได้แก่ การคลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสาร 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, 297.50 และ 216 บาท/ไร่ ตามลำดับ คำนวณจากการใช้เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวาน 1.5 กิโลกรัม/ไร่ (8,500 ต้น) ส่วนในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ได้แก่ คลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสาร chlorantraniliprole 62.5% FS อัตรา 7 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม คลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสาร cyantraniliprole 24%+thiamethoxam 24% FS อัตรา 7 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม การใช้สาร cyantraniliprole 20% SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ราดต้นข้าวโพด อัตรา 10 มิลลิลิตร/ต้น (ราดสารที่ 3 วันหลังข้าวโพดงอก) และคลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสาร cyantraniliprole 20% SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม (กรรมวิธีเปรียบเทียบ) มีต้นทุนการใช้สารเท่ากับ 126, 252, 297.50 และ 432 บาท/ไร่ ตามลำดับ คำนวณจากการใช้เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดลี้ยงสัตว์ 3 กิโลกรัม/ไร่ (8,500 ต้น) โดยกรรมวิธีที่ใช้สารคลุกเมล็ดพันธุ์ที่มีการขึ้นทะเบียนในสูตรคลุกเมล็ดพันธุ์โดยตรงนั้น มีต้นทุนการใช้สารต่ำกว่ากรรมวิธีราดต้นและกรรมวิธีเปรียบเทียบ ในปัจจุบันสารคลุกเมล็ดพันธุ์สามารถเลือกชนิดที่คลุกสำเร็จรูปมากับเมล็ดพันธุ์ได้ แต่หากจำเป็นต้องคลุกเมล็ดพันธุ์เอง ข้อแนะนำในการคลุกเมล็ดพันธุ์ ให้ใส่สารลงในถุงพลาสติกตามอัตราที่แนะนำ ปิดปากถุงให้สนิท รีดกระจายสารให้ทั่วถุง จากนั้นเปิดปากถุงแล้วนำเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดลงไป ทำให้ถุงพองลมแล้วมัดปากถุงให้แน่น เขย่าเมล็ดพันธุ์คลุกกับสารจนทั่ว เปิดปากถุงผึ่งให้เมล็ดแห้งในที่ร่มก่อนนำไปปลูก โดยปลูกในขณะที่ดินมีความชื้น วิธีคลุกเมล็ดพันธุ์ก่อนปลูกหรือผสมน้ำราดต้นข้าวโพดเป็นทางเลือกในการป้องกัน

กำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดอีกวิธีการหนึ่ง โดยเป็นวิธีการที่ช่วยควบคุมตั้งแต่เริ่มปลูก อีกทั้งเป็นการอนุรักษ์ศัตรูธรรมชาติและสนับสนุนให้ศัตรูธรรมชาติในแปลงข้าวโพดช่วยควบคุมแมลงศัตรูพืชได้เพิ่มขึ้นอีกด้วย และจากพฤติกรรมในการวางไข่ของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด พบว่ามีการวางไข่อย่างต่อเนื่อง มักพบกลุ่มไข่จำนวนมากในระยะข้าวโพดยังเล็ก ดังนั้นในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดจึงควรหมั่นสำรวจแปลงอย่างสม่ำเสมอ สังเกตกลุ่มไข่ และรอยทำลาย เพื่อช่วยในการพิจารณาตัดสินใจทำการป้องกันกำจัดด้วยการพ่นสารทางใบเพิ่มเติม ควรเลือกใช้สารป้องกันกำจัดแมลงที่มีกลไกการออกฤทธิ์ในกลุ่มอื่น ๆ ที่ไม่ใช่สารในกลุ่ม 28 (สารคลุกเมล็ดพันธุ์และใช้ผสมน้ำราดต้น) เพื่อช่วยลดการสร้างความต้านทานต่อสารกำจัดแมลง และจากพฤติกรรมที่หนอนมักกัดกินและซ่อนตัวอยู่ในยอด ดังนั้นหากจะพ่นสารทางใบ ควรเน้นการพ่นลงไปในยอดข้าวโพด จะช่วยลดการระบาดของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดลงได้ดียิ่งขึ้น

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณนายนพพล สัทยาสัย นักวิชาการโรคพืชชำนาญการ นางสาวณิชาพร ฉ่ำประวิง นางสาวสุภัสสา ประคองสุข นางสาวนิตยา พรหมวงศ์ นางสาวปุณิกา ศิริวรรณ นายวงษ์สยาม นิสสัย นางสาวนงค์ออน พลชัยมาตย์ นางสาวกัญญาภัค ตาแก้ว นักวิชาการเกษตร เจ้าหน้าที่กลุ่มบริหารศัตรูพืช ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ และศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท 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.

Davis, F.M., W.P. Williams. 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 (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 เปอร์เซ็นต์การทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด 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 เปอร์เซ็นต์การทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด 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 ต้นทุนการใช้สารป้องกันกำจัดแมลงในข้าวโพดหวาน

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	297.50
4. cyantraniliprole 20%SC (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)	20 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม	100	720	216.00

[1/]ราคา ณ มกราคม 2565

[2/]คำนวณจากเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวาน จำนวน 1.50 กิโลกรัม/ไร่ (8,500 ต้น)

ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์การทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด จากการทดสอบประสิทธิภาพสารคลุกเมล็ดและราดสารป้องกันกำจัดแมลงในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ อำเภอพระพุทธบาท จังหวัดสระบุรี ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ – มีนาคม 2566 (แปลงทดลองที่ 3)

กรรมวิธี	อัตราการใช้	การทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด (%)[1/]							
		ตรวจนับหลังข้าวโพดงอก (วัน)							
		5	7	10	12	15	18	20	25
1. cyantraniliprole 24% + thiamethoxam 24%FS	7 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม	0.00	0.42 a	0.69 a	5.14 a	20.97 b	46.11 b	49.44 ab	56.67 b
2. chlorantraniliprole 62.5%FS	7 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม	0.00	0.69 a	0.97 a	5.56 a	12.50 ab	28.89 ab	31.94 a	27.36 a
3. cyantraniliprole 20%SC	10 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ผสมน้ำราดโคนต้น ที่ 3 วันหลังงอก ต้นละ 10 มิลลิลิตร	0.00	0.28 a	0.97 a	4.03 a	16.25 ab	35.14 ab	33.47 a	34.72 ab
4. cyantraniliprole 20%SC (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)	20 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม	0.00	0.42 a	0.69 a	2.78 a	8.33 a	18.61 a	25.00 a	27.36 a
5. ไม่ใช้สารกำจัดแมลง	-	0.00	8.19 b	24.17 b	36.81 b	53.19 c	75.97 c	69.17 b	83.06 c
C.V. (%)		**-**	**74.8**	**55.0**	**49.1**	**29.5**	**30.1**	**39.2**	**36.5**

[1/]ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์การทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด จากการทดสอบประสิทธิภาพสารคลุกเมล็ดและราดสารป้องกันกำจัดแมลงในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ อำเภอเมืองลพบุรี จังหวัดลพบุรี ระหว่างเดือนเมษายน – พฤษภาคม 2566 (แปลงทดลองที่ 4)

กรรมวิธี	อัตราการใช้	การทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด (%)[1/]							
		ตรวจนับหลังข้าวโพดงอก (วัน)							
		5	7	10	12	15	18	20	25
1. cyantraniliprole 24% + thiamethoxam 24%FS	7 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม	1.81 a	4.17 a	6.39 ab	7.22 ab	16.81 a	17.36 b	20.00 a	18.33 a
2. chlorantraniliprole 62.5%FS	7 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม	2.78 a	4.31 a	8.61 b	8.89 b	11.39 a	12.36 ab	14.72 a	12.36 a
3. cyantraniliprole 20%SC	10 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ผสมน้ำราดโคนต้น ที่ 3 วันหลังงอก ต้นละ 10 มิลลิลิตร	3.75 a	5.00 a	4.44 ab	4.58 ab	6.11 a	10.97 ab	14.86 a	12.92 a
4. cyantraniliprole 20%SC (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)	20 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม	0.83 a	1.67 a	1.81 a	2.08 a	5.56 a	8.75 a	12.64 a	11.94 a
5. ไม่ใช้สารกำจัดแมลง	-	7.36	28.19 b	39.72 c	42.50 c	45.97 b	54.72 c	56.94 b	43.06 b
C.V. (%)		**68.1**	**45.6**	**24.9**	**24.8**	**40.6**	**23.9**	**23.0**	**46.8**

[1/]ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 6 ต้นทุนการใช้สารป้องกันกำจัดแมลงในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

สารป้องกันกำจัดแมลง	อัตราการใช้	ขนาดบรรจุ (มิลลิลิตร)	ราคาต่อบรรจุภัณฑ์ (บาท/หน่วย)[1/]	ต้นทุนการใช้สาร (บาท)[2/]
1. cyantraniliprole 24% + thiamethoxam 24%FS	7 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม	100	600	126.00
2. chlorantraniliprole 62.5%FS	7 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม	1,000	12,000	252.00
3. cyantraniliprole 20%SC	10 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ผสมน้ำราดโคนต้น ที่ 3 วันหลังงอก ต้นละ 10 มิลลิลิตร	100	720	297.50
4. cyantraniliprole 20%SC (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)	20 มิลลิลิตร/เมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม	100	720	432.00

[1/]ราคา ณ มกราคม 2565

[2/]คำนวณจากเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวาน จำนวน 3 กิโลกรัม/ไร่ (8,500 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

Abstract

A study was conducted to evaluate the effectiveness of fall armyworm control on corn fields of farmers in Tha Muang District, Kanchanaburi. It was found that SfNPV 10 ml/20 liters of water + chlorantraniliprole 5.17%W/V SC 20 ml/20 liters of water and SfNPV 20 ml/20 liters of water + flubendiamide 20%WG 10 grams/20 liters of water and SfNPV 20 ml/20 liters of water, showed 11.88, 13.63 and 23.74 percent of leaves damage, respectively. And results in marketable sweet corn with a maximum weight of 2.68 or 2.46 kilograms per 20 ears. Farmers can use either method to control fall armyworm at their discretion.

Keywords : fall armyworm, SfNPV, sweet corn

บทคัดย่อ

ทดสอบประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในแปลงปลูกข้าวโพดหวานสภาพไร่ของเกษตรกรใน อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี พบว่า SfNPV อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร + chlorantraniliprole 5.17%W/V SC 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร + flubendiamide 20 %WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และ SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ที่พบใบเกิดความเสียหาย 11.88 13.63 และ 23.74 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทำให้ได้ข้าวโพดหวานที่มีคุณภาพดีที่สามารถนำไปขายได้มีน้ำหนักมากสุดเท่ากับ 2.68 และ 2.46 กิโลกรัมต่อ 20 ฝัก ตามลำดับ โดยเกษตรกรสามารถเลือกใช้วิธีการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวานได้ทั้งสองวิธีข้างต้นตามความสะดวก

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 ความเสียหายเห็นได้ชัดคือในระยะต้นอ่อนทำให้พืชตาย ระยะต้นแก่พืชจะไม่เจริญเติบโต ฝักลีบเล็กไม่สมบูรณ์ (FAO, 2019) หนอนชนิดนี้พืชอาหารมากกว่า 80 ชนิด ซึ่งนอกจากข้าวโพดแล้วยังมีพืชอาศัยอื่นที่เป็นแหล่งอาหาร เช่น ข้าวอ้อย 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 และยังลดการกลับมาระบาดของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในรุ่น

ถัดไปได้ 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

<u>ขั้นตอนที่ 1</u> ศึกษาประสิทธิภาพการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดหลังได้รับไวรัส SfNPV

ใช้หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดวัย 3 ในการทดลอง โดยให้หนอน 280 ตัว กินไวรัส SfNPV อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตรและให้หนอน 280 ตัว กินไวรัส SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ด้วยวิธี diet surface contamination method บนผิวหน้าอาหารเทียมที่บรรจุในถ้วยพลาสติกที่มีฝาปิดขนาด 2 ออนซ์ หยดสารแต่ละกรรมวิธีด้วยเครื่องหยดสารละลาย อัตรา 30 ไมโครลิตรต่อถ้วย จากนั้นใช้แท่งแก้วหมุนวนบนผิวหน้าของอาหารเทียม เพื่อให้สารทดลองเคลือบทั่วผิวหน้าอาหารปล่อยทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 3 นาที ปล่อยให้หนอนกินอาหารเทียมที่ infect ไวรัส SfNPV อัตราต่างๆ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นย้ายหนอนทดลอง มาทำการศึกษาประสิทธิภาพของ

สารฆ่าแมลงชนิดต่างๆ 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 จึงให้กิน abamectin 1.8%W/V EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 infect ไวรัส SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร นาน 72 ชั่วโมง จึงให้กิน abamectin 1.8%W/V EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 infect ไวรัส SfNPV อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร นาน 72 ชั่วโมง จึงให้กิน cypermethrin 35%W/V EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 infect ไวรัส SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร นาน 72 ชั่วโมง จึงให้กิน cypermethrin 35%W/V EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 7 infect ไวรัส SfNPV อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร นาน 72 ชั่วโมง จึงให้กิน 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 จึงให้กิน 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 จึงให้กิน thiodicarb 75%WP อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 10 infect ไวรัส SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร นาน 72 ชั่วโมง จึงให้กิน thiodicarb 75%WP อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 11 infect ไวรัส SfNPV อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร นาน 72 ชั่วโมง จึงให้กิน deltamethrin 3%W/V EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 12 infect ไวรัส SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร นาน 72 ชั่วโมง จึงให้กิน deltamethrin 3%W/V EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 13 infect ไวรัส SfNPV อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร นาน 72 ชั่วโมง จึงให้กิน flubendiamide 20%WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 14 infect ไวรัส SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร นาน 72 ชั่วโมง จึงให้กิน flubendiamide 20%WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 15 กรรมวิธีควบคุม

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

ทำการตรวจนับการตายของหนอนในแต่ละกรรมวิธีทุก 24 ชั่วโมง จนครบ 7 วัน โดยหนอนที่ไม่ตอบสนองต่อการเขี่ยของปลายพู่กันจะถูกพิจารณาว่าตายหากพบหนอนตายในกรรมวิธีควบคุม มากกว่า 5% ให้ปรับค่าเปอร์เซ็นต์การตายด้วย Abbott's formula (Abbott, 1925)

การบันทึกข้อมูล

จำนวนหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดที่ตายในแต่ละกรรมวิธี

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาประสิทธิภาพของไวรัส SfNPV ที่ผสมด้วยสารฆ่าแมลงชนิดต่างๆ

ใช้หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดวัย 3 ในการทดลอง โดยให้หนอนกินอาหารเทียมที่เคลือบสารทดลอง ด้วยวิธี diet surface contamination method บนผิวหน้าอาหารเทียมที่บรรจุในถ้วยพลาสติกที่มีฝาปิดขนาด 2 ออนซ์ หยดสารแต่ละกรรมวิธีด้วยเครื่องหยดสารละลาย อัตรา 30 ไมโครลิตรต่อถ้วย จากนั้นใช้แท่งแก้วหมุนวนบนผิวหน้าของอาหารเทียม เพื่อให้สารทดลองเคลือบทั่วผิวหน้าอาหารปล่อยทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 3 นาที และปล่อยให้หนอนกิน 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

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 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

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 (ผนวก 1) 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 และน้ำหนักของข้าวโพดหวานที่มีคุณภาพในระยะส่งตลาดและน้ำหนักผลผลิตที่มีรอยทำลายในทุกกรรมวิธี มาวิเคราะห์ผลโดยวิธีทางสถิติที่เหมาะสม

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

- จำนวนหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด
- ระดับการทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด
- น้ำหนักผลผลิตที่มีคุณภาพในระยะส่งตลาดและน้ำหนักผลผลิตที่มีรอยทำลาย
- ต้นทุนในการป้องกันกำจัด

เวลาและสถานที่

เวลา 1 ตุลาคม 2564 ถึง 30 กันยายน 2566

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา อาคารวิจัยและพัฒนาศัตรูธรรมชาติ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช แปลงข้าวโพดของเกษตรกร จังหวัดกาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองในห้องปฏิบัติการ

<u>ขั้นตอนที่ 1</u> ศึกษาประสิทธิภาพการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดหลังได้รับไวรัส SfNPV

ผลการทดลอง พบว่ากรรมวิธี SfNPV อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร นาน 72 ชั่วโมง จึงให้กิน cypermethrin 35%W/V EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร นาน 72 ชั่วโมง จึงให้กิน cypermethrin 35%W/V EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร นาน 72 ชั่วโมง จึงให้กิน 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

ผลการทดลองพบว่ากรรมวิธีที่ทำให้หนอนตายมากกว่า 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 ทำให้หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดตาย ได้ 100.0 97.5 และ 90.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ได้ในวันที่ 3 (ตารางที่ 2)

จากผลการทดลองทั้ง 2 ขั้นตอนข้างต้น 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 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

การทดลองในสภาพไร่

ทำการทดลองในสภาพไร่ โดยใช้แปลงปลูกข้าวโพดหวานของเกษตรกรในตำบลเขาน้อย อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี ในขณะที่ต้นข้าวโพดหวานมีอายุ 22 วันหลังปลูก ได้เริ่มทำการพ่นสารทดลองเนื่องจากสำรวจพบใบข้าวโพดหวานถูกหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดทำลาย มีความเสียหายบนใบเฉลี่ยมากกว่าระดับ 4 และมีความเสียหายบนใบข้าวโพดหวาน 42.17-51.96 เปอร์เซ็นต์ สม่ำเสมอทั่วทั้งแปลงทดลอง

หลังพ่นสารทดลองครั้งที่ 1 ทุกกรรมวิธีพบความเสียหายบนใบไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยใบของข้าวโพดหวานมีความเสียหาย 26.72-34.18 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้นกรรมวิธีไม่พ่นสารป้องกันกำจัดแมลง ที่ใบมีความเสียหาย 65.92 เปอร์เซ็นต์

หลังพ่นสารทดลองครั้งที่ 2 ทุกกรรมวิธีพบความเสียหายบนใบไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยใบของข้าวโพดหวานมีความเสียหาย 16.85-33.13 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความเสียหายลดลงจากเมื่อ 7 วันก่อนหน้า ยกเว้นกรรมวิธีไม่พ่นสารป้องกันกำจัดแมลงที่ใบถูกทำลาย 68.94 เปอร์เซ็นต์

หลังพ่นสารทดลองครั้งที่ 3 พบว่าเมื่อข้าวโพดมีอายุ 43 วัน กรรมวิธีที่ควบคุมความเสียหายจากหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดบนใบข้าวโพดหวานได้ดี ได้แก่กรรมวิธี SfNPV อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร + chlorantraniliprole 5.17%W/V SC 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร + flubendiamide 20%WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร, และ SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร + cypermethrin 35%W/V EC 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ที่พบใบเกิดความเสียหาย 16.85 19.76 และ 20.20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยกรรมวิธีไม่พ่นสารป้องกันกำจัดแมลงพบใบถูกทำลาย 71.96 เปอร์เซ็นต์

หลังพ่นสารทดลองครั้งที่ 4 พบว่าเมื่อข้าวโพดมีอายุ 50 วัน กรรมวิธีที่ควบคุมความเสียหายจากหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดบนใบข้าวโพดหวานได้ดี ได้แก่ กรรมวิธี SfNPV อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร + chlorantraniliprole 5.17%W/V SC 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร + flubendiamide 20%WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร, และ SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร ที่พบใบเกิดความเสียหาย 11.88 13.63 และ 23.74 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยกรรมวิธีไม่พ่นสารป้องกันกำจัดแมลง พบใบถูกทำลาย 68.21 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3)

เมื่อข้าวโพดหวานมีอายุ 72 วัน ซึ่งเป็นระยะเก็บเกี่ยว ได้ทำการสุ่มเก็บฝักข้าวโพดหวานจำนวน 20 ฝัก ต่อแปลงย่อย เพื่อทำการชั่งวัดน้ำหนักผลผลิต โดยพบว่า น้ำหนักรวมของข้าวโพดหวานฝักสดในแต่ละกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ มีน้ำหนักเฉลี่ย 6.53-7.04 กิโลกรัม จากนั้นทำการลอกเปลือกของข้าวโพดหวานฝักสดเพื่อทำการชั่งวัดน้ำหนัก พบว่าน้ำหนักรวมของฝักข้าวโพดหวานลอกเปลือกในแต่ละกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ มีน้ำหนักเฉลี่ย 4.26-4.83 กิโลกรัม จากนั้นทำการคัดแยกฝักข้าวโพดที่มีคุณภาพดีที่สามารถนำไปขายได้เพื่อทำการชั่งวัดน้ำหนัก พบว่าข้าวโพดจากกรรมวิธี SfNPV อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร + chlorantraniliprole 5.17%W/V SC 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธี SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร + flubendiamide 20%WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีฝักข้าวโพดที่มีคุณภาพดีที่สามารถนำไปขายได้มีน้ำหนักมากสุดเท่ากับ 2.68 และ 2.46 กิโลกรัม ตามลำดับ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ไวรัส SfNPV อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร + chlorantraniliprole 5.17%W/V SC 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธี SfNPV อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร + flubendiamide 20%WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ใช้ฉีดพ่นเพื่อป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดและลดความเสียหายบนใบข้าวโพดหวาน ดอก และฝักข้าวโพด ซึ่งมีผลต่อคุณภาพของฝักข้าวโพดได้ โดยสามารถเลือกใช้วิธีการป้องกันกำจัดข้างต้นได้ทั้งสองวิธีตามความสะดวกของเกษรกร โดยปัจจุบันการใช้ chlorantraniliprole 5.17%W/V SC จะมีราคาต้นทุนที่ต่ำกว่า

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	After 4th sprayed
SfNPV 10 ml / water 20 l + chlorantraniliprole 5.17%W/V SC 20 ml / water 20 l	45.47 a	26.88 a	19.76 a	12.50 a	11.88 a
SfNPV 20 ml / water 20 l + cypermethrin 35% W/V EC 30 ml / water 20 l	51.81 a	26.72 a	20.20 a	25.78 ab	29.08 b
SfNPV 20 ml / water 20 l + flubendiamide 20 % WG 10 g / water 20 l	42.17 a	29.24 a	16.85 a	15.63 ab	13.63 a
SfNPV 10 ml / water 20 l + deltamethrin 3 % W/V EC 20 ml / water 20 l	51.41 a	27.00 a	24.44 a	52.46 c	46.52 c
SfNPV 20 ml / water 20 l	45.18 a	34.18 a	33.13 a	30.00 b	23.74 ab
untreated	51.96 a	65.92 b	68.94 b	71.96 d	68.21 d
CV%	22.7	32.2	34.4	27.4	27.3

[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	6.69 a	4.44 a	2.68 a
SfNPV 20 ml / water 20 l + cypermethrin 35% W/V EC 30 ml / water 20 l	7.04 a	4.71 a	1.74 c
SfNPV 20 ml / water 20 l + flubendiamide 20 % WG 10 g / water 20 l	6.80 a	4.58 a	2.46 ab
SfNPV 10 ml / water 20 l + deltamethrin 3 % W/V EC 20 ml / water 20 l	6.68 a	4.30 a	1.25 d
SfNPV 20 ml / water 20 l	6.95 a	4.83 a	2.20 b
untreated	6.53 a	4.26 a	1.25 d
CV%	7.1	9.6	14.1

[1/]Means followed by the same letter in the column do not significantly different at 95 % by DMRT

ภาคผนวก

ผนวก 1

Davis and Williams (1992) ได้แบ่งการเข้าทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดโดยใช้เกณฑ์ที่เรียกว่า Davis scale มี 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

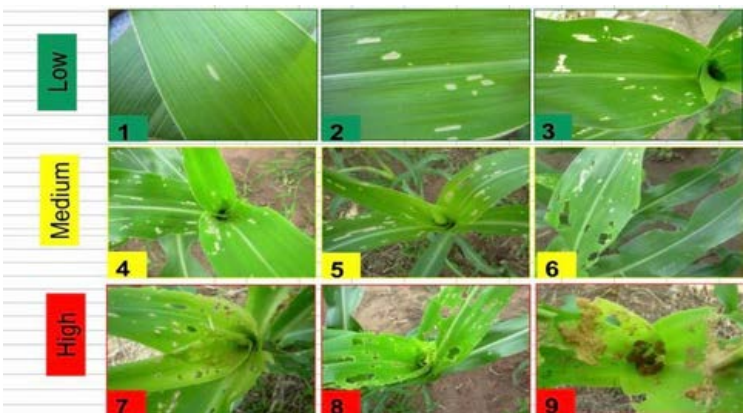
ระดับ 9 ใบถูกทำลายเกือบทั้งหมด

นำระดับการทำลายที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์การทำลาย โดยใช้สูตรของ Townsend-Heuberger

$$\text{การทำลาย (\%)} = \frac{\sum (nv)}{NV} \times 100$$

n = จำนวนต้นในแต่ละระดับการทำลาย v = คะแนนระดับการทำลาย

N = จำนวนต้นทั้งหมดที่สุ่มนับ V = คะแนนระดับการทำลายสูงสุด



ระดับการทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด แบ่งเป็น 9 ระดับ

การใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ร่วมกับสารเคมีกำจัดแมลงในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวาน

Application of *Bacillus thuringiensis* with Insecticides for Controlling Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) on Sweet Corn

อิศเรส เทียนทัด อนุสรณ์ พงษ์มี

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาการใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ร่วมกับสารเคมีกำจัดแมลงในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวานดำเนินการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม 2565-กันยายน 2566 ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาอารักขาพืช โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีการใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ร่วมกับสารเคมีกำจัดแมลงในรูปแบบและวิธีการต่างๆ เพื่อใช้ในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด จากผลการศึกษาพบว่าสารเคมีกำจัดแมลงที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการศึกษาคือ chlorantraniliprole อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และ flubendiamide อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ซึ่งสามารถนำมาใช้ร่วมกับเชื้อแบคทีเรีย Bt ได้ทั้งสองรูปแบบ คือ ให้ตามหลังการใช้เชื้อแบคทีเรีย Bt หรือใช้ผสมกับเชื้อแบคทีเรีย Bt

---

รหัสการทดลอง FF65-55-07-65-01-03-66

คำนำ

หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด; *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) เป็นศัตรูสำคัญของข้าวโพด พบระบาดในพื้นที่เขตร้อนและกึ่งเขตร้อนของทวีปอเมริกา วงจรชีวิตของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดใช้เวลา 30-40 วัน เมื่อผสมพันธุ์แล้ว ผีเสื้อเพศเมียจะวางไข่ในเวลากลางคืน โดยวางไข่เป็นกลุ่มประมาณ 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 จะทิ้งตัวลงดินเพื่อเข้าดักแด้ ระยะดักแด้ 7-13 วัน จึงเป็นตัวเต็มวัย มีชีวิต 10-21 วัน ตัวเต็มวัยบินได้ไกล เฉลี่ย 100 กิโลเมตรต่อคืน (FAO, 2019a)

การจำแนกชนิดหนอนกระทู้ข้าวโพด ในระยะหนอน ส่วนบนของหัวมีแถบสีขาวเป็นรูปตัว Y หัวกลับ หลังและด้านข้างมีแถบสีขาวตามยาวลำตัว ปล้องท้องก่อนปล้องสุดท้ายมีจุดสีดำ 4 จุด (Passoa, 1991) และตัวเต็มวัย มีขนาด 3.2-4.0 เซนติเมตร มีแถบสีขาวที่ขอบปีกคู่หน้า กลางปีกมีแถบลักษณะเป็นวงรีสีน้ำตาล เพศเมียสีและลวดลายจางกว่าเพศผู้ (OEPP/EPPO, 2015)

ผีเสื้อหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด เป็นผีเสื้อกลางคืนในวงศ์ผีเสื้อหนอนกระทู้ (Family Noctuidae) สกุล *Spodoptera* และมีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) ซึ่งสมาชิกในสกุลเดียวกันนี้ที่เป็นชนิดพื้นถิ่นของประเทศไทย และเป็นแมลงศัตรูพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ได้แก่ ผีเสื้อหนอนกระทู้ผัก *Spodoptera litura* (Fabricius) และผีเสื้อหนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigua* (Hübner) (Hill, 2008)

การทำลายพืชเข้าทำลายในระยะที่เป็นตัวหนอน โดยหนอนจะเข้าทำลายข้าวโพดตั้งแต่อายุประมาณ 7 วัน จนกระทั่งออกฝัก โดยกัดกินยอดและใบข้าวโพดเว้าแหว่งหรือกัดกินทั้งแผ่นใบ ทำลายช่อดอกตัวผู้ กัดกินไหม ฝัก เมล็ด และจะพบตัวหนอนหลบซ่อนอยู่ในยอดหรือโคนกาบใบข้าวโพด ความเสียหายเห็นได้ชัดคือ ในระยะต้นอ่อนทำให้พืชตาย ระยะต้นแก่พืชจะไม่เจริญเติบโต ฝักลีบเล็กไม่สมบูรณ์ หากระบาดรุนแรงจะทำให้ผลผลิตเสียหาย 73% ของพื้นที่ (FAO, 2019a)

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)

หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดที่ระบาดข้ามพรมแดนเข้ามาได้ทำความเสียหายต่อข้าวโพดในประเทศไทยได้อย่างรวดเร็วและรุนแรง เนื่องจากแมลงชนิดนี้สามารถขยายพันธุ์อย่างรวดเร็วและบินได้ไกล เกษตรกรไม่สามารถใช้วิธีการป้องกันกำจัดแบบเดิมในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดได้ จำเป็นต้องพ่นสารป้องกันกำจัดแมลงเพิ่มขึ้น และบ่อยครั้ง ทำให้ต้นทุนสูงขึ้น แม้ว่าสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ได้ดำเนินการทดลองอย่างเร่งด่วนเพื่อให้คำแนะนำในการป้องกันกำจัด

ในปี 2562 โดยการใช้สารป้องกันกำจัดแมลง แต่ส่วนใหญ่เป็นชนิดที่มีราคาสูง เกษตรกรจึงนิยมใช้สารที่มีราคาถูกเพียงชนิดเดียว และใช้บ่อยครั้ง อาจก่อให้เกิดปัญหาตามมา เช่น ปัญหาศัตรูพืชต้านทานสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช การตกค้าง (residue) ในผลผลิตและสภาพแวดล้อม จำเป็นต้องศึกษาหาวิธีการป้องกันกำจัดเพื่อใช้เป็นทางเลือกเพิ่มเติม อีกทั้งในการส่งออกข้าวโพดโดยเพาะการส่งออกไปยังกลุ่มสหภาพยุโรป มีข้อกำหนดการปนเปื้อนของสารและสิ่งต้องห้ามไปกับผลผลิตข้าวโพด สินค้าต้องเป็นไปตามเงื่อนไขสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช ซึ่งประเทศคู่ค้าใช้เป็นข้อกีดกันทางการค้า เพื่อลดปัญหาเหล่านี้จึงได้ทำการศึกษาโดยนำเอาแมลงศัตรูธรรมชาติ และชีวภัณฑ์ที่มีศักยภาพ เช่น มวนพิฆาต แมลงหางหนีบ และไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema carpocapsae* มาใช้ร่วมกันตามความเหมาะสมกับระยะการเจริญเติบโตของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด รวมทั้งนำเอาชีวภัณฑ์ที่มีศักยภาพ เช่น แบคทีเรีย *Bacillus* thuringiensis ไวรัส NPV ของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด (SfNPV) มาใช้ร่วมกับการใช้สารป้องกันกำจัดแมลงตามหลักวิชาการ เพื่อเพิ่มทางเลือกในการป้องกันกำจัดที่มีประสิทธิภาพให้กับเกษตรกร ซึ่งองค์ความรู้และเทคโนโลยีการจัดการหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดจากงานวิจัย สามารถใช้เป็นคำแนะนำถ่ายทอดให้แก่ เกษตรกร นักวิชาการ เจ้าหน้าที่ในหน่วยงานภาครัฐที่เกี่ยวข้อง ภาคเอกชน และผู้ส่งออกที่เกี่ยวข้อง จะช่วยลดความเสียหายของผลผลิตข้าวโพด ลดปริมาณศัตรูพืชไม่ให้ปนเปื้อนติดไปกับผลผลิต ผลผลิตมีปริมาณและคุณภาพเป็นไปตามความต้องการบริโภคทั้งภายในประเทศและส่งออก ลดการกีดกันทางการค้า สามารถสร้างมูลค่าและเพิ่มโอกาสทางการตลาดได้ ส่งผลให้เกษตรกรมีชีวิตความเป็นอยู่และมีคุณภาพชีวิตดีขึ้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด
2. เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis*
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 20ml / 20 l
8. flubendiamide 20%WG
9. อาหารเทียมเลี้ยงแมลง
10. micropipette

11. eppendrop tube, ถ้วยพลาสติกขนาด 2 ออนซ์

วิธีการ

1. การทดลองในห้องปฏิบัติการ (ปี 2566)

<u>ขั้นตอนที่ 1</u> ศึกษาประสิทธิภาพใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* และสารเคมีกำจัดแมลงชนิดต่างๆ กับหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด

วางแผนการทดลองแบบ CRD 3 ซ้ำ 9 กรรมวิธี ดังนี้

1. *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* อัตรา 40 ml/20 l
2. *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* อัตรา 80 ml/20 l
3. abamectin 1.8%W/V EC อัตรา 20 ml/20 l
4. cypermethrin 35%W/V EC อัตรา 30 ml/20 l
5. chlorantraniliprole 5.17%W/V SC อัตรา 20 ml/20 l
6. thiodicarb 75%WP อัตรา 10 g/20 l
7. deltamethrin 3%W/V EC อัตรา 20ml/20 l
8. flubendiamide 20%WG อัตรา 30 ml/20 l
9. ไม่ใส่สาร

ทำการทดลองด้วยวิธี diet surface contamination method บนผิวหน้าอาหารเทียมที่บรรจุในถ้วยพลาสติกขนาด 2 ออนซ์ หยดสารแต่ละกรรมวิธีด้วยเครื่องหยดสารละลาย อัตรา 30 ไมโครลิตรต่อถ้วย จากนั้นใช้แท่งแก้วรูปสามเหลี่ยมหมุนวนบนผิวหน้าของอาหารเทียม เพื่อให้สารทดลองเคลือบทั่วผิวหน้าอาหารปล่อยทิ้งไว้ประมาณ 3 นาที เพื่อให้ผิวหน้าของอาหารเทียมแห้ง ใช้พู่กันเขี่ยหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดวัย 3 ใส่ถ้วยละ 1 ตัว ใช้หนอนจำนวน 10 ตัวต่อซ้ำ ตรวจนับและบันทึกผลการตายของหนอนทุก 24 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 7 วัน

<u>ขั้นตอนที่ 2</u> ศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีกำจัดแมลงชนิดต่างๆ กับหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดหลังได้รับเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis*

โดยแบ่งหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดวัย 3 ที่นำมาใช้ในการทดลองออกเป็น 2 ชุด ชุดละ 300 ตัว ทำการ infect เชื้อแบคทีเรีย *B. thuringiensis* ลงในอาหารเทียมเลี้ยงแมลงด้วยอัตราต่างๆ ดังนี้

ชุดที่ 1 infect *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* อัตรา 80 ml/20 l

ชุดที่ 2 infect *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* อัตรา 40 ml/20 l

ปล่อยให้หนอนกินอาหารเทียมที่ infect เชื้อแบคทีเรีย *B. thuringiensis* อัตราต่างๆ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นย้ายหนอนทดลองทั้ง 2 ชุด มายังถ้วยอาหารเทียมที่เคลือบด้วยสารเคมีกำจัดแมลงชนิดต่างๆ โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ 7 กรรมวิธี ใช้หนอน 10 ตัวต่อซ้ำ ดังนี้

1. abamectin 1.8%W/V EC อัตรา 20 ml/20 l
2. cypermethrin 35%W/V EC อัตรา 30 ml/20 l
3. chlorantraniliprole 5.17%W/V SC อัตรา 20 ml/20 l
4. thiodicarb 75%WP อัตรา 10 g/20 l
5. deltamethrin 3%W/V EC อัตรา 20ml/20 l
6. flubendiamide 20%WG อัตรา 30 ml/20 l
7. ไม่ใส่สาร

ทำการทดลองด้วยวิธี diet surface contamination method บนผิวหน้าอาหารเทียมที่บรรจุในถ้วยพลาสติกขนาด 2 ออนซ์ หยดสารแต่ละกรรมวิธีด้วยเครื่องหยดสารละลาย อัตรา 30 ไมโครลิตรต่อถ้วย จากนั้นใช้แท่งแก้วรูปสามเหลี่ยมหมุนวนบนผิวหน้าของอาหารเทียม เพื่อให้สารทดลองเคลือบทั่วผิวหน้าอาหารปล่อยทิ้งไว้ประมาณ 3 นาที เพื่อให้ผิวหน้าของอาหารเทียมแห้ง ใช้พู่กันเขี่ยหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดวัย 3 ใส่ถ้วยละ 1 ตัว ใช้หนอนจำนวน 10 ตัวต่อซ้ำ ตรวจนับและบันทึกผลการตายของหนอนทุก 24 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 7 วัน

ขั้นตอนที่ 3 ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *B. thuringiensis* ที่ผสมด้วยสารเคมีกำจัดแมลงชนิดต่างๆ

วางแผนการทดลองแบบ CRD 3 ซ้ำ 15 กรรมวิธี ดังนี้

1. *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* อัตรา 80 ml/20 l
2. *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* อัตรา 80 ml/20 l ผสมกับ abamectin 1.8%W/V EC อัตรา 20 ml/20 l
3. *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* อัตรา 80 ml/20 l ผสมกับ cypermethrin 35%W/V EC อัตรา 30 ml/20 l
4. *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* อัตรา 80 ml/20 l ผสมกับ chlorantraniliprole 5.17%W/V SC อัตรา 20 ml/20 l
5. *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* อัตรา 80 ml/20 l ผสมกับ thiodicarb 75%WP อัตรา 10 g/20 l
6. *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* อัตรา 80 ml/20 l ผสมกับ deltamethrin 3%W/V EC อัตรา 20ml/20 l
7. *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* อัตรา 80 ml/20 l ผสมกับ flubendiamide 20%WG อัตรา 30 ml/20 l
8. *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* อัตรา 40 ml/20 l
9. *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* อัตรา 40 ml/20 l ผสมกับ abamectin 1.8%W/V EC อัตรา 20 ml/20 l
10. *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* อัตรา 40 ml/20 l ผสมกับ cypermethrin 35%W/V EC อัตรา 30 ml/20 l
11. *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* อัตรา 40 ml/20 l ผสมกับ chlorantraniliprole 5.17%W/V SC อัตรา 20 ml/20 l
12. *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* อัตรา 40 ml/20 l ผสมกับ thiodicarb 75%WP อัตรา 10 g/20 l

13. *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* อัตรา 40 ml/20 l ผสมกับ deltamethrin 3%W/V EC อัตรา 20ml/20 l

14. *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* อัตรา 40 ml/20 l ผสมกับ flubendiamide 20%WG อัตรา 30 ml/20 l

15. ไม่ใส่สาร

ทำการทดลองด้วยวิธี diet surface contamination method บนผิวหน้าอาหารเทียมที่บรรจุในถ้วยพลาสติกขนาด 2 ออนซ์ หยดสารแต่ละกรรมวิธีด้วยเครื่องหยดสารละลาย อัตรา 30 ไมโครลิตรต่อถ้วย จากนั้นใช้แท่งแก้วรูปสามเหลี่ยมหมุนวนบนผิวหน้าของอาหารเทียม เพื่อให้สารทดลองเคลือบทั่วผิวหน้าอาหารปล่อยทิ้งไว้ประมาณ 3 นาที เพื่อให้ผิวหน้าของอาหารเทียมแห้ง ใช้พู่กันเขี่ยหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดวัย 3 ใส่ถ้วยละ 1 ตัว ใช้หนอนจำนวน 10 ตัวต่อซ้ำ ตรวจนับและบันทึกผลการตายของหนอนทุก 24 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 7 วัน

2. การทดลองในสภาพไร่ (ปี 2567)

เมื่อได้ข้อมูลประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงจากทดลองในห้องปฏิบัติการแล้ว นำไปขยายผลในสภาพไร่ ในแปลงปลูกข้าวโพดหวาน

<u>แบบและวิธีการทดลอง</u>

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 สารทดลองที่มีประสิทธิภาพอันดับ 1 จากการทดลองในห้องปฏิบัติการขั้นตอนที่ 1

กรรมวิธีที่ 2 สารทดลองที่มีประสิทธิภาพอันดับ 2 จากการทดลองในห้องปฏิบัติการขั้นตอนที่ 1

กรรมวิธีที่ 3 สารทดลองที่มีประสิทธิภาพอันดับ 1 จากการทดลองในห้องปฏิบัติการขั้นตอนที่ 2

กรรมวิธีที่ 4 สารทดลองที่มีประสิทธิภาพอันดับ 2 จากการทดลองในห้องปฏิบัติการขั้นตอนที่ 2

กรรมวิธีที่ 5 *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* อัตรา 80 มิลลิลิตร/20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

เตรียมแปลงปลูกข้าวโพดหวาน ขนาดแปลงย่อยไม่ต่ำกว่า 30 ตารางเมตร จำนวน 24 แปลงย่อย ทำการพ่นครั้งแรกเมื่อพบระดับการทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดเฉลี่ยที่ระดับ 4 ทำการพ่นสารทดลองทุก 7 วัน ตรวจนับจำนวนหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด และตรวจนับระดับการทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด ก่อนพ่นสารและหลังพ่นสาร 7 วัน โดยสุ่มตรวจนับจากข้าวโพดไม่น้อยกว่า 20 ต้นต่อแปลงย่อยใน 4 แถวกลาง ตรวจนับจำนวน 3 ใบต่อยอด ให้คะแนนโดยอ้างอิงจาก Davis scale (Davis and Williams, 1992) โดยแบ่งเป็น 9 ระดับ นำระดับการทำลายที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์การทำลายโดยใช้สูตรของ Townsend-Heuberger (1943)

$$\text{การทำลาย (\%)} = \frac{\sum(nv)}{NV} \times 100$$

n = จำนวนต้นในแต่ละระดับการทำลาย v = คะแนนระดับการทำลาย

N = จำนวนต้นทั้งหมดที่สุ่มนับ V= คะแนนระดับการทำลายสูงสุด

นำข้อมูลจำนวน ระดับการทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด น้ำหนักผลผลิตของข้าวโพดหวานแบบที่ยังไม่ได้ลอกเปลือก น้ำหนักข้าวโพดหวานที่ลอกเปลือกแล้ว และน้ำหนักของข้าวโพดหวานที่มีคุณภาพในระยะส่งตลาดและน้ำหนักผลผลิตที่มีรอยทำลายในทุกกรรมวิธี มาวิเคราะห์ผลโดยวิธีทางสถิติที่เหมาะสม

เวลาและสถานที่

เวลา: ตุลาคม 2565-กันยายน 2567

สถานที่: ห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และแปลงข้าวโพดของเกษตรกรในพื้นที่ จังหวัดกาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การทดลองในห้องปฏิบัติการ (ปี 2566)

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาประสิทธิภาพใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* และสารเคมีกำจัดแมลงชนิดต่างๆ กับหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด (ตารางที่ 1)

จากผลการทดลองเมื่อให้หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดวัย 2 ได้รับสารทดลองต่างๆ พบว่าในกรรมวิธี cypermetrin 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร chlorantraniliprole 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และ flubendiamide 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทำให้หนอนตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 7 วัน

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีกำจัดแมลงชนิดต่างๆ กับหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดหลังได้รับเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis*

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีกำจัดแมลงชนิดต่างๆ กับหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดหลังได้รับเชื้อแบคทีเรีย Bt อัตรา 40 กรัม/20 ลิตร ไปแล้ว 24 ชั่วโมง พบว่ากรรมวิธี chlorantraniliprole 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และ flubendiamide 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทำให้หนอนตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 7 วัน (ตารางที่ 2)

และจากการศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีกำจัดแมลงชนิดต่างๆ กับหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดหลังได้รับเชื้อแบคทีเรีย Bt อัตรา 80 กรัม/20 ลิตร ไปแล้ว 24 ชั่วโมง พบว่ากรรมวิธี chlorantraniliprole 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพสูงสุดทำให้หนอนตาย 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรรมวิธี flubendiamide 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ที่ทำให้หนอนตาย 97.37 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3)

ขั้นตอนที่ 3 ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *B. thuringiensis* ที่ผสมด้วยสารเคมีกำจัดแมลงชนิดต่างๆ (ตารางที่ 4)

จากการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย Bt ที่ผสมด้วยสารป้องกันกำจัดแมลงชนิดต่างๆ พบว่า กรรมวิธี Btk 80 กรัม/น้ำ 20 ลิตร+ chlorantraniliprole 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธี Btk 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร+ chlorantraniliprole 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพสูงสุดทำให้หนอนตาย 97.50 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรรมวิธี Btk 80 กรัม/น้ำ 20 ลิตร + flubendiamide 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ที่ทำให้หนอนตาย 95 เปอร์เซ็นต์

2. การทดลองในสภาพไร่ (ปี 2567)

จะเริ่มทำการทดลองในปีงบประมาณ 2567

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการศึกษาการใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ร่วมกับสารเคมีกำจัดแมลงในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวาน พบว่าสารเคมีกำจัดแมลงที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการศึกษาคือ chlorantraniliprole อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และ flubendiamide อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ซึ่งสามารถนำมาใช้ร่วมกับเชื้อแบคทีเรีย Bt ได้ทั้งสองรูปแบบ คือ ให้ตามหลังการใช้เชื้อแบคทีเรีย Bt หรือใช้ผสมกับเชื้อแบคทีเรีย Bt

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณมยุรา พงษ์ชวาล คุณปานนภา ภู่ทอง คุณจิราพร เอี่ยมงาม คุณอำไพ หาญมนตรี และผู้ร่วมงานทุกท่าน ที่ให้ความร่วมมือและช่วยปฏิบัติงานทดลองครั้งนี้เป็นอย่างยิ่ง

เอกสารอ้างอิง

CABI (CAB International). 2019. *Spodoptera frugiperda* (fall armyworm). CAB International. (Online). Available: https://www.cabi.org/isc/datasheet/29810. (January 20, 2019).

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).

FAO. 2019(a). Integrated management of the Fall Armyworm on maize. (Online). Available: http://www.fao.org/3/I8665EN/i8665en.pdf. (January 25, 2019).

Hill, D.S. 2008. Pests of Crops in Warmer Climates and Their Control. Springer Science + Business Media, Berlin. 704 pp.

OEPP/EPPO. 2015. PM 7/124 (1) *Spodoptera littoralis, Spodoptera litura, Spodoptera frugiperda, Spodoptera eridania* (Online). Available: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.111/epp.12258. (January 21, 2019).

Passoa, S. 1991. Color identification of economically important *Spodoptera* larvae in Honduras (Lepidoptera: Noctuidae). Insecta. Mundi. 414. (Online). Available: https://digitalcommons.unl.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1413&context=insectamundi. (January 25, 2019)

ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย Bt และสารป้องกันกำจัดแมลงชนิดต่างๆ

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การตาย
1. Btk 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร	10.00
2. Btk 80 กรัม/น้ำ 20 ลิตร	7.50
3. abamectin 20 มล./น้ำ 20 ลิตร	7.50
4. cypermetrin 30 มล./น้ำ 20 ลิตร	100.00
5. chlorantraniliprole 20 มล./น้ำ 20 ลิตร	100.00
6. thiodicarb 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร	37.50
7. deltamethrin 20 มล./น้ำ 20 ลิตร	60.00
8. flubendiamide 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร	100.00
9. ไม่ใช้สาร	0

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดแมลงชนิดต่างๆ กับหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดหลังได้รับเชื้อแบคทีเรีย Bt อัตรา 40 กรัม/20 ลิตร ไปแล้ว 24 ชั่วโมง

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การตาย
1. abamectin 20 มล./น้ำ 20 ลิตร	0
2. cypermetrin 30 มล./น้ำ 20 ลิตร	55.27
3. chlorantraniliprole 20 มล./น้ำ 20 ลิตร	100.00
4. thiodicarb 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร	34.21
5. deltamethrin 20 มล./น้ำ 20 ลิตร	13.16
6. flubendiamide 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร	100.00
7. ไม่ใช้สาร	5.00

ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดแมลงชนิดต่างๆ กับหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดหลังได้รับเชื้อแบคทีเรีย Bt อัตรา 80 กรัม/20 ลิตร ไปแล้ว 24 ชั่วโมง

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การตาย
1. abamectin 20 มล./น้ำ 20 ลิตร	13.16
2. cypermetrin 30 มล./น้ำ 20 ลิตร	68.43
3. chlorantraniliprole 20 มล./น้ำ 20 ลิตร	100.00
4. thiodicarb 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร	47.37
5. deltamethrin 20 มล./น้ำ 20 ลิตร	18.43
6. flubendiamide 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร	97.37
7. ไม่ใช้สาร	5.00

ตารางที่ 4 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย Bt ที่ผสมด้วยสารป้องกันกำจัดแมลงชนิดต่างๆ

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การตาย
1. Btk 80 กรัม/น้ำ 20 ลิตร	2.50
2. Btk 80 กรัม/น้ำ 20 ลิตร+ abamectin 20 มล./น้ำ 20 ลิตร	7.50
3. Btk 80 กรัม/น้ำ 20 ลิตร+ cypermetrin 30 มล./น้ำ 20 ลิตร	72.50
4. Btk 80 กรัม/น้ำ 20 ลิตร+ chlorantraniliprole 20 มล./น้ำ 20 ลิตร	97.50
5. Btk 80 กรัม/น้ำ 20 ลิตร+ thiodicarb 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร	32.50
6. Btk 80 กรัม/น้ำ 20 ลิตร+ deltamethrin 20 มล./น้ำ 20 ลิตร	22.50
7. Btk 80 กรัม/น้ำ 20 ลิตร+ flubendiamide 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร	95.00
8. Btk 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตรกรัม/น้ำ 20 ลิตร/น้ำ 20 ลิตร	2.50
9. Btk 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร+ abamectin 20 มล./น้ำ 20 ลิตร	5.00
10. Btk 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร+ cypermetrin 30 มล./น้ำ 20 ลิตร	75.00
11. Btk 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร+ chlorantraniliprole 20 มล./น้ำ 20 ลิตร	97.50
12. Btk 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร+ thiodicarb 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร	55.00
13.Btk 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร+ deltamethrin 20 มล./น้ำ 20 ลิตร	30.00
14. Btk 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร+ flubendiamide 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร	92.50
15. ไม่ใช้สาร	0

ศึกษารูปแบบการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติร่วมกับชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวาน

Integration of Insect Natural Enemies and Biopesticides to Control the Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) in Sweet Corn

พัชรีวรรณ จงจิตเมตต์ สุพรรณี ภูคะฮาด
ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ นันทนัช พินศรี สาทิพย์ มาลี
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษารูปแบบการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติร่วมกับชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวาน มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบเปรียบเทียบระหว่างรูปแบบการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติและชีวภัณฑ์ที่เหมาะสมสำหรับการควบคุมหนอนแต่ละระยะการเจริญเติบโตกับวิธีปฏิบัติของเกษตรกรในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด ดำเนินการทดสอบที่แปลงปลูกข้าวโพดหวานของเกษตรกร อำเภอสามชุก จังหวัดสุพรรณบุรี ตั้งแต่เดือนเมษายน-เดือนมิถุนายน 2566 ผลการดำเนินงานพบว่าระดับการทำลายใบข้าวโพดของทั้ง 2 วิธีการไม่แตกต่างกันทางสถิติ จำนวนหนอนที่พบในแปลงของทั้ง 2 วิธีการไม่แตกต่างกัน ระดับการทำลายฝักข้าวโพดอยู่ในระดับต่ำทั้ง 2 วิธีการ และผลผลิตข้าวโพดที่ได้จากทั้ง 2 วิธีการไม่แตกต่างกันทางสถิติ ดังนั้นในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวานสามารถเลือกใช้วิธีการที่เหมาะสมกับสภาพปัจจัยต่างๆ ในการปลูก โดยการใช้ชีวภัณฑ์แต่ละชนิดสามารถควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดให้อยู่ในระดับต่ำได้เช่นเดียวกับการใช้สารเคมี แต่เมื่อเปรียบเทียบต้นทุนการผลิตแล้วพบว่าการใช้ชีวภัณฑ์หลายชนิดมีต้นทุนในแต่ละชนิดชีวภัณฑ์แตกต่างกันและยังมีราคาสูงกว่าการใช้สารเคมี ดังนั้นจึงจำเป็นต้องศึกษาหาวิธีการที่สามารถลดต้นทุนในการใช้ชีวภัณฑ์ เช่น ในกรณีที่พบการทำลายใบข้าวโพดน้อยกว่าระดับ 4 จึงยังไม่จำเป็นต้องใช้สารชีวภัณฑ์ในการควบคุม และควรหมั่นสำรวจแปลงข้าวโพดอย่างสม่ำเสมอเพื่อให้สามารถเลือกใช้ชีวภัณฑ์ที่เหมาะสมกับระยะการเจริญเติบโตของหนอนบนต้นข้าวโพดและลดการระบาดได้อย่างทันท่วงที

คำหลัก : แมลงศัตรูธรรมชาติ, ชีวภัณฑ์, หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด, ข้าวโพดหวาน

รหัสการทดลอง FF65-55-07-65-01-04-66

คำนำ

หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดเป็นแมลงศัตรูพืชสำคัญของข้าวโพดในประเทศไทยมาอย่างต่อเนื่องตั้งแต่เดือนธันวาคม ปี พ.ศ. 2561 เป็นแมลงศัตรูพืชต่างถิ่นที่เข้ามาทำลายข้าวโพดและพืชอาหารอื่นๆ ในประเทศไทยอีกหลายชนิด เช่น ข้าวฟ่าง ปอเทือง ขิง ถั่วลิสง และผักชีฝรั่ง (ดนัยและคณะ, 2565) และสามารถทำลายพืชอื่นๆ ทั่วโลกได้กว่า 353 ชนิดพืช (Montezano *et al*., 2018) อย่างไรก็ตามหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดสามารถควบคุมกำจัดได้ด้วยแมลงห้ำ แมลงเบียน รวมถึงจุลินทรีย์และไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงซึ่งพบว่ามีกว่า 290 ชนิด (Chen *et al*., 2019a, b) เพื่อการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดแบบยั่งยืนในระยะยาวและปลอดภัยต่อสภาพแวดล้อม ดังนั้นการนำชีวภัณฑ์ที่มีในประเทศไทยมาทำการเลี้ยงขยายเพิ่มปริมาณและนำไปใช้ควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดจึงสามารถดำเนินการได้ทันทีและทำได้อย่างต่อเนื่อง

ในการเลือกใช้แมลงศัตรูธรรมชาติหรือชีวภัณฑ์ชนิดใดชนิดหนึ่งกำจัดแมลงศัตรูพืชนั้น พบว่าไม่สามารถควบคุมแมลงศัตรูพืชได้ทุกระยะการเจริญเติบโต เนื่องจากกลไกทางธรรมชาติของชีวภัณฑ์แต่ละชนิดเลือกที่จะเข้าทำลายในแต่ละระยะของแมลงศัตรูพืช ดังนั้นในการควบคุมกำจัดแมลงศัตรูพืชให้ได้เบ็ดเสร็จและรวดเร็วทันสถานการณ์ก่อนจะเกิดการระบาดจึงจำเป็นต้องเลือกใช้ชีวภัณฑ์หลายๆ ชนิดที่เหมาะสมในการกำจัดระยะต่างๆ ของแมลงศัตรูพืชไปพร้อมๆ กัน

จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่ามีแมลงศัตรูธรรมชาติและจุลินทรีย์หลายชนิดสามารถเข้าทำลายหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดได้ (พฤทธิชาติและคณะ, 2565) ในการทดลองนี้จึงได้เลือกมวนพิฆาต บีที และไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง ไปใช้ในการควบคุมกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด โดยได้กำหนดช่วงเวลาในการปล่อยแมลงศัตรูธรรมชาติและพ่นชีวภัณฑ์ไว้ในระยะเวลาของพืชที่ถูกหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดลงทำลายและเจริญเติบโตบนต้นข้าวโพด โดยเน้นการวิจัยในข้าวโพดหวาน ซึ่งเป็นข้าวโพดฝักสดที่ใช้บริโภคเป็นอาหาร เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภคและเกษตรกรผู้ปลูก รวมถึงสภาพแวดล้อม

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษารูปแบบการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติร่วมกับชีวภัณฑ์เปรียบเทียบกับวิธีปฏิบัติของเกษตรกรในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในแปลงปลูกข้าวโพดหวาน

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวาน
2. แมลงศัตรูธรรมชาติ ได้แก่ มวนพิฆาต *Eocanthecona furcellata* (Wolff), ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema carpocapsae*, แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* สายพันธุ์ *aizawai*
3. สารเคมีกำจัดแมลง ได้แก่ emamectin benzoate 5%WG, imidacloprid 70%WG และ chlorantranilliprole 5%SE
4. สารจับใบ 1 ชนิด ได้แก่ Tention T-7, สารกำจัดวัชพืช และปุ๋ยเคมี

5. เครื่องพ่นสารสะพายหลังแบบใช้แบตเตอรี่

6. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ สวิงจับแมลง ปากคีบ พู่กัน กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก มีดคัตเตอร์ กรรไกรตัดกิ่ง ซองกระดาษใส่ตัวอย่างแมลง ถังรักษาความเย็น แว่นขยาย ที่นับแมลง

7. อุปกรณ์สำหรับบันทึกข้อมูล ได้แก่ แบบฟอร์มใช้บันทึกในการสำรวจ สมุด ปากกา ดินสอ ยางลบ กล้องถ่ายรูป และปากกาเคมี

8. อุปกรณ์อื่นๆ ได้แก่ เชือกฟาง เทปวัดความยาว และป้ายปักแปลง

วิธีการ

แบบและวิธีการทดลอง

เปรียบเทียบ 2 วิธี ระหว่างวิธีการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติและชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด กับวิธีปฏิบัติของเกษตรกร

วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. ทำการเพาะขยายปริมาณแมลงศัตรูธรรมชาติ ได้แก่ มวนพิฆาต และจัดเตรียม บีที (Bt) สายพันธุ์ *aizawai* และไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง เพื่อใช้ควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด ให้ได้ปริมาณเพียงพอตามแผนการทดลอง

2. ดำเนินการทดสอบในแปลงข้าวโพดหวาน โดยแบ่งออกเป็น 2 แปลงๆ ละ 2 งาน ทั้ง 2 แปลงเว้นระยะพื้นที่แปลงห่างกัน 10 เมตร ปลูกข้าวโพดในแปลงย่อยขนาด 30 ตารางเมตร จำนวน 20 แปลงย่อย ระยะปลูก 0.75x0.25 เมตร ระยะห่างระหว่างแปลงย่อย 4 เมตร

3. เมื่อข้าวโพดอายุ 7 วันหลังงอก ตรวจนับหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด จำนวน 20 ต้นต่อแปลงย่อย (ตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร)

4. เมื่อพบไข่หรือหนอนในแปลงทดสอบชีวภัณฑ์จึงพ่นบีที ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง และปล่อยมวนพิฆาต ดังนี้

   1) พ่นบีที สายพันธุ์ *aizawai* อัตรา 80 กรัม/น้ำ 20 ลิตร จำนวน 3 ครั้ง ที่ 7 14 และ 21 วันหลังข้าวโพดงอก ลงตรงกลางที่กรวยยอด
   2) พ่นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* (รูปแบบผง) อัตรา 50 ล้านตัว/น้ำ 20 ลิตร จำนวน 1 ครั้ง ที่ 28 วันหลังงอก ลงตรงกลางที่กรวยยอด
   3) ปล่อยมวนพิฆาต อัตรา 500 ตัว/ไร่ จำนวน 2 ครั้ง ที่ 35 และ 42 วันหลังงอก

5. ในแปลงเกษตรกร ปฏิบัติตามกรรมวิธีของเกษตรกร ดังนี้

   1) พ่นสาร emamectin benzoate 5%WG อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร/ไร่ จำนวน 4 ครั้ง ที่ 7 14 21 และ 28 วัน หลังข้าวโพดงอก
   2) พ่นสาร imidacloprid 70%WG อัตรา 4 กรัม/น้ำ 20 ลิตร/ไร่ จำนวน 1 ครั้ง ที่ 35 วัน หลังข้าวโพดงอก
   3) พ่นสาร chlorantranilliprole 5%SE อัตรา 15 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร/ไร่ จำนวน 1 ครั้ง ที่ 42 วัน หลังข้าวโพดงอก

6. ประเมินระดับการทำลายใบข้าวโพดของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด ทุก 7 วัน จนถึงอายุเก็บเกี่ยวข้าวโพดหวานที่อายุ 70 วัน โดยให้คะแนน 0-9 ตาม วิธีการของ Davis and Willium (1992) นำระดับการทำลายที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์การทำลายโดยใช้สูตรของ Townsend-Heuberger (1943)

$$\text{การทำลาย (\%)} = \sum \frac{nv}{NV} x100$$

โดยที่ n = จำนวนต้นในแต่ละระดับการทำลาย

v = คะแนนระดับการทำลาย

N = จำนวนต้นทั้งหมดที่สุ่มนับ

V = คะแนนระดับการทำลายสูงสุด

นำข้อมูลระดับการทำลายใบข้าวโพดของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด และหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดที่มีชีวิต น้ำหนักผลผลิตที่มีคุณภาพในระยะส่งตลาด และน้ำหนักผลผลิตที่มีรอยทำลายมาวิเคราะห์ผลเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย T-test ด้วยโปรแกรม IBM SPSS Statistics 26

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. ระดับการทำลายใบข้าวโพดของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด
2. จำนวนหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดก่อนและหลังพ่นบีที ไส้เดือนฝอย และปล่อยมวนพิฆาต
3. ระดับการทำลายฝักข้าวโพด และน้ำหนักผลผลิตก่อนปลอกเปลือกและหลังปลอกเปลือก

เวลาและสถานที่

เวลา เดือนตุลาคม 2565 - เดือนกันยายน 2566

สถานที่ 1. ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

2. แปลงข้าวโพดหวานของเกษตรกร อำเภอสามชุก จังหวัดสุพรรณบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการดำเนินงานทดสอบรูปแบบการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติและชีวภัณฑ์ควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวาน เปรียบเทียบกับวิธีปฏิบัติของเกษตรกร พบว่ารอยทำลายบนใบข้าวโพดที่เกิดจากหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดลงทำลายตั้งแต่หลังข้าวโพดงอก 7 วัน คิดเป็น 30.25 และ 27.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และตรวจนับทุกๆ 7 วัน หลังการทดสอบทั้ง 2 กรรมวิธี จนกระทั่งข้าวโพดอายุ 42 วัน พบรอยทำลายบนใบข้าวโพดคิดเป็น 24.40 30.00 7.87 44.00 51.75 และ 41.16 เปอร์เซ็นต์ และ 22.40 24.67 9.43 42.13 47.33 และ 8.10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติแล้วพบว่าก่อนทดสอบและทุกๆ 7 วัน หลังทดสอบรอยทำลายที่พบบนใบข้าวโพดไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่หลังทดสอบครั้งที่ 5 และ 6 พบรอยทำลายบนใบข้าวโพดในกรรมวิธีการใช้ชีวภัณฑ์สูงกว่ากรรมวิธีปฏิบัติของเกษตรกรแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนจำนวนหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดที่ตรวจพบตั้งแต่หลังข้าวโพดงอก 7 วัน คือ 1.4 และ 1.2 ตัว/20 ต้น และตรวจนับทุกๆ 7 วัน หลังการทดสอบทั้ง 2 กรรมวิธี จนกระทั่งข้าวโพดอายุ 42 วัน คือ 4.0 7.8 1.2 10.2 6.6

1.8 และ 1.2 4.8 2.8 12.2 0.2 1.0 ตัว/20 ต้น ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติระหว่างกรรมวิธีแล้วพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของจำนวนหนอนที่ตรวจนับครั้งที่ 2 และ 3 หลังพ่นบีทีโดยหนอนที่พบส่วนใหญ่เป็นวัย 3-4 ส่วนจำนวนหนอนในการตรวจนับครั้งที่ 3 และ 4 ทั้ง 2 กรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่เมื่อวิเคราะห์จำนวนหนอนแล้วพบว่ามีอัตราการลดลงในครั้งที่ 3 และเพิ่มสูงขึ้นในครั้งที่ 4 ไปแนวทางเดียวกัน โดยครั้งที่ 4 เป็นผลจากการใช้ไส้เดือนฝอยในการควบคุมหนอน ซึ่งระยะนี้หนอนอยู่ในวัย 5-6 จะเข้าไปอยู่ภายในกรวยใบของต้นข้าวโพด การใช้ไส้เดือนฝอยซึ่งมีลักษณะพิเศษสามารถเคลื่อนที่เข้าหาแมลงอาศัยหรือหนอนได้จึงเหมาะกับการใช้ควบคุมหนอนในช่วงเวลานี้ ต่อมาในการตรวจนับหนอนครั้งที่ 5 จำนวนหนอนลดลงอย่างชัดเจนโดยเฉพาะวิธีปฏิบัติของเกษตรกรลดลงเหลือ 0.2 ตัว/20 ต้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีการใช้ชีวภัณฑ์

สำหรับรอยทำลายฝักข้าวโพด พบว่ารอยทำลายของฝักข้าวโพดกรรมวิธีใช้ชีวภัณฑ์อยู่ในระดับ 2 มากกว่ารอยทำลายฝักข้าวโพดกรรมวิธีปฏิบัติของเกษตรกร ส่วนน้ำหนักฝักข้าวโพด 20 ฝักก่อนปอกเปลือกกรรมวิธีปฏิบัติของเกษตรกรเท่ากับ 7,564 กิโลกรัม มากกว่ากรรมวิธีการใช้ชีวภัณฑ์คือ 7,435.2 กิโลกรัม แต่เมื่อปอกเปลือกของข้าวโพดทั้ง 20 ฝักในแต่ละกรรมวิธีพบว่ากรรมวิธีปฏิบัติของเกษตรกรเท่ากับ 5,203.2 กิโลกรัม น้อยกว่ากรรมวิธีการใช้ชีวภัณฑ์คือ 5,246.0 กิโลกรัม ซึ่งทั้ง 3 ส่วนไม่แตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธี

เทคนิคการใช้ชีวภัณฑ์แต่ละชนิดให้เหมาะสมกับหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดและปัจจัยต่างๆ ในสภาพแวดล้อม รวมถึงระยะการเจริญเติบโตของข้าวโพดมีส่วนสำคัญอย่างยิ่งต่อการเลือกใช้ชีวภัณฑ์ในแต่ละช่วงเวลา เช่น พฤติกรรมของมวนพิฆาตชอบกินหนอนวัยใหญ่ (วัย 5-6) มากกว่าหนอนวัยเล็ก (1-3) และสามารถเคลื่อนที่ไปตามต้นข้าวโพดหรือพืชที่มีใบพื้นที่ใบซ้อนทับหรือติดกันเพื่อไปยังต้นอื่นๆ ช่วยให้มวนพิฆาตสามารถเข้าทำลายหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดได้ง่ายและต่อเนื่องเป็นบริเวณกว้าง การใช้ชีวภัณฑ์บีทีและไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง ควรพ่นให้ถูกเป้าหมายตรงจุดที่หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดลงทำลายคือที่กรวยใบของต้นข้าวโพด และควรพ่นในช่วงเย็นเพื่อหลีกเลี่ยงแสงแดดซึ่งมีผลกระทบต่อประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงศัตรูพืช ซึ่งการใช้ชีวภัณฑ์ให้ถูกต้องเหมาะสมในการควบคุมกำจัดแมลงศัตรูพืช นอกจากส่งเสริมประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ในการกำจัดแมลงศัตรูพืชแล้ว ยังเป็นการประหยัดเวลาการทำงาน ไม่เปลืองแรงงาน ที่สำคัญคือช่วยลดต้นทุนการผลิตได้เป็นอย่างมาก

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากผลการทดลอง ระดับการทำลายใบข้าวโพดของทั้ง 2 วิธีการ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ จำนวนหนอนที่พบในแปลงของทั้ง 2 วิธีการไม่แตกต่างกัน ระดับการทำลายฝักข้าวโพดอยู่ในระดับต่ำทั้ง 2 วิธีการ และผลผลิตข้าวโพดที่ได้จากทั้ง 2 วิธีการไม่แตกต่างกันทางสถิติ ดังนั้นในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวานสามารถเลือกใช้วิธีการที่เหมาะสมกับสภาพปัจจัยต่างๆ ในการปลูก โดยการใช้ชีวภัณฑ์แต่ละชนิดสามารถควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดให้อยู่ในระดับต่ำ

ได้เช่นเดียวกับการใช้สารเคมี แต่เมื่อเปรียบเทียบต้นทุนการผลิตแล้วพบว่า การใช้ชีวภัณฑ์หลายชนิดมีต้นทุนในแต่ละชนิดชีวภัณฑ์แตกต่างกันและมีราคาสูงกว่าการใช้สารเคมี ดังนั้นจึงจำเป็นต้องศึกษาหาวิธีการที่สามารถลดต้นทุนในการใช้ชีวภัณฑ์ เช่นในกรณีที่พบการทำลายใบข้าวโพดน้อยกว่าระดับ 4 จึงยังไม่จำเป็นต้องใช้สารชีวภัณฑ์ในการควบคุม และควรหมั่นสำรวจแปลงข้าวโพดอย่างสม่ำเสมอ เพื่อให้สามารถเลือกใช้ชีวภัณฑ์ที่เหมาะสมกับระยะการเจริญเติบโตของหนอนบนต้นข้าวโพดและลดการระบาดได้อย่างทันท่วงที

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นางสาวอุณากุล จันทร์ภู่ นางสาวกุลธิดา ทองสิน นายชัชวาลย์ แย้มสุวรรณ เจ้าหน้าที่กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และเกษตรกรเจ้าของแปลงข้าวโพด ที่ช่วยปฏิบัติงานการทดลองครั้งนี้จนสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

ดนัย ชัยเรือนแก้ว ชลธิชา รักใคร่ สุนัดดา เชาวลิต อาทิตย์ รักกสิกร ธิดาวรรณ ชมเดช พรรณิภา เปชัยศรี และอนุสรณ์ พงษ์มี. 2565. การสำรวจการระบาดของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) และทดสอบพืชอาหารในประเทศไทย. วารสารกรมวิชาการเกษตร. 40 (1): 72-80.

พฤทธิชาติ ปุญวัฒโท ชลธิชา รักใคร่ เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ อุราพร หนูนารถ สุนัดดา เชาวลิต วิภาดา ปลอดครบุรี ประภัสสร เชยคำแหง สาทิพย์ มาลี อิศเรส เทียนทัด ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ นันทนัช พินศรี ภัททิรา ศาตร์วงษ์ อนุสรณ์ พงษ์มี อาทิตย์ รักกสิกร ยุวรินทร์ บุญทบ ดนัย ชัยเรือนแก้ว ธิดาวรรณ ชมเดช นลินา ไชยสิงห์ สุชาดา สุพรศิลป์ วรวิช สุดจริตธรรมจริยางกูร สุภางคนา ถิรวุธ วาเลนไทน์ เจือสกุล วีระสิงห์ แสงวรรณ ชนิตา ทองแซม วิชชุตา ควรหัตร์ เพ็ญลักษณ์ ชูดี ศิวิไล ลาภบรรจบ พยุดา จันทร์เกื้อ วินิภา ชาลีคาร สุวิมล วงศ์พลัง เมธาสิทธิ์ คนการ พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ ศรุต สุทธิอารมณ์ และลมัย ชูเกียรติวัฒนา. 2565. โครงการวิจัยและพัฒนาวิธีการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด. รายงานผลวิจัยเรื่องเต็ม. เงินรายได้จากการดำเนินงานวิจัยด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. 173 หน้า.

Chen W.B., Y.Y. Li, M.Q. Wang, C.X. Liu, J.J. Mao, H.Y. Chen and L.S. Zhang. 2019a. Natural enemy insect resources of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* their application status and existing problems and suggestions. Chin J. Biol. Control. 35: 658-673.

Chen W.B., Y.Y. Li, M.Q. Wang, C.X. Liu, J.J. Mao, H.Y. Chen and L.S. Zhang. 2019b. Entomopathogen resources of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* and their application status. Plant Prot. 45: 1-9.

Davis, F.M. and W.P. Williams. 1992. Visual rating scales for screening whorl-stage corn for resistance to fall armyworm. Mississippi Agricultural and Forestry Experiment Station, Technical Bulletin 186. Mississippi State University, MS39762, USA.

Montezano D.G., A. Specht, D.R. Sosa-Gomez, V.F. Roque-Specht, J.C. Sousa-Silva, S.V. Paula-Moraes, J.A. Peterson and T.E. Hunt. 2018. Host plant of *Spodoptera frugiperda* (Leplidoptera: Noctuidae) in the Americas. Afr. Entomol. 26: 286-300.

Table 1 Percent of leaf damage by fall armyworm and number of fall armyworm in maize plant at Samchuk district Suphanburi province during April - June 2023

Details	Treatment	Percent leaf damage and mean number of fall armyworm [1/ 2/]						
		Before treatment	After treatment every 7 days					
			1st	2nd	3rd	4th	5th	6th
% leaf damage	Biopesticides Practice	30.25	24.40	30.00	7.87	44.00	51.75	41.16
	Farmer Practice	27.75	22.40	24.67	9.43	42.13	47.33	8.10
	T-test	0.504 ns	0.644 ns	0.974 ns	0.107 ns	0.301 ns	3.653 **	7.045 **
No. of fall armyworm /20 plants	Biopesticides Practice	1.4	4.0	7.8	1.2	10.2	6.6	1.8
	Farmer Practice	1.2	1.2	4.8	2.8	12.2	0.2	1.0
	T-test	0.000 ns	2.333 *	2.249 *	-1.890 ns	-1.276 ns	4.524 **	0.000 ns

[1/] mean number of fall armyworm from 5 plots (20 plant/plot)

[2/] statistically significant at 95%

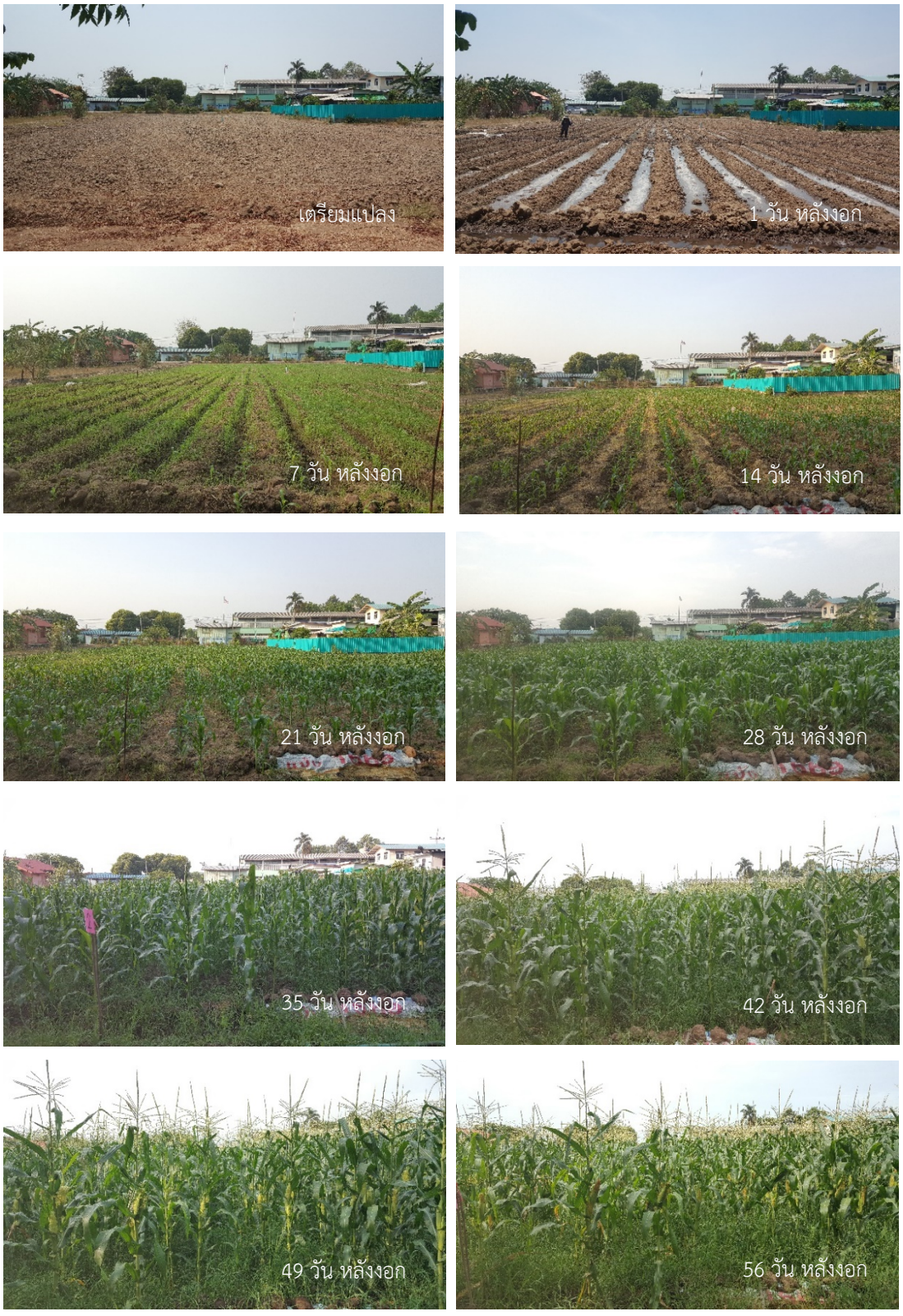
Table 2 Yield of maize from the treated maize field trial at Samchuk district Suphanburi province during April - June 2023

Treatment	Yield of sweet corn		
	Rating ear damage	Weight before remove husk (Kg)	Weight after remove husk (Kg)
Biopesticide practice	2 (Low)	7,435.2 [1/]	5,246.0
Farmer Practice	1 (Low)	7,564.0	5,203.2
T-test	1.699	-0.623	0.298
	ns	ns	ns

[1/] mean weigh of ear corn from 5 plots (20 first ear of each maize 20 plants/plot)

[2/] statistically significant at 95%

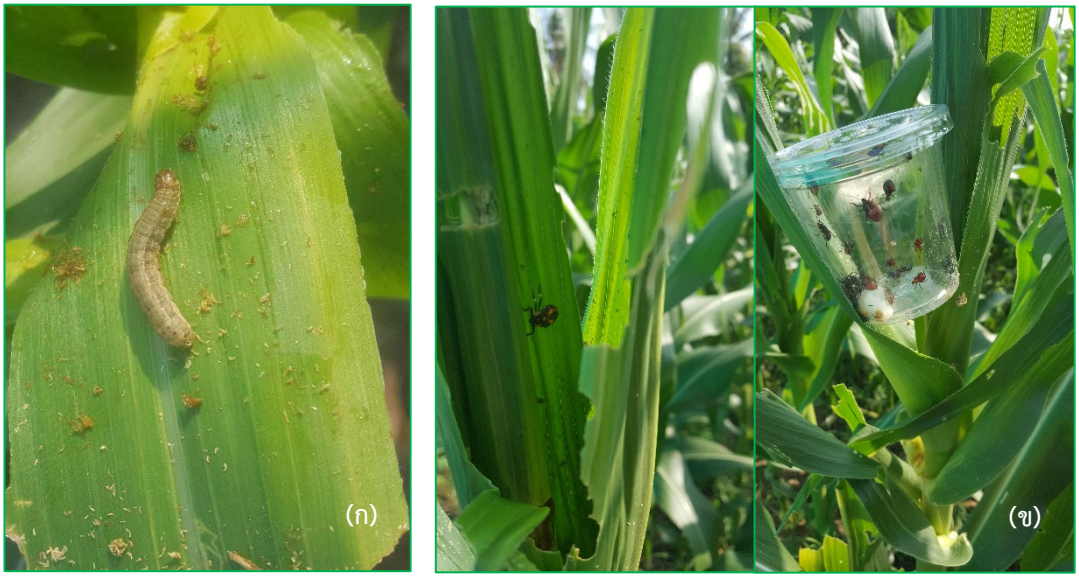
ภาคผนวก



ภาพที่ 1 แปลงทดสอบการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติร่วมกับชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวานที่อำเภอสามชุก จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนเมษายน – เดือนมิถุนายน 2566

ภาพที่ 2 ผลผลิตข้าวโพดหวานจากแปลงทดสอบการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติร่วมกับชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวาน ที่อำเภอสามชุก จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนเมษายน – เดือนมิถุนายน 2566

ภาพที่ 3 รอยทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดที่ต้นข้าวโพดอายุต่างๆ กัน ในแปลงทดสอบการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติร่วมกับชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวาน ที่อำเภอสามชุก จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนเมษายน – เดือนมิถุนายน 2566



ภาพที่ 4 หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด (ก) และปล่อยมวนพิฆาตกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด (ข) ในแปลงทดสอบการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติร่วมกับชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวานที่อำเภอสามชุก จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนเมษายน – เดือนมิถุนายน 2566

ศึกษารูปแบบการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติร่วมกับชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดฝักอ่อน

The Combination of Insect Natural Enemies Biopesticides to Control the Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) in Baby Corn

สุพรรณี ภูคะฮาด พัชรีวรรณ จงจิตเมตต์
ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ นันทนัช พินศรี สาทิพย์ มาลี
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษารูปแบบการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติร่วมกับชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดฝักอ่อน มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบเปรียบเทียบระหว่างรูปแบบการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติและชีวภัณฑ์ที่เหมาะสมสำหรับควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดกับวิธีปฏิบัติของเกษตรกร ดำเนินการทดสอบที่แปลงปลูกข้าวโพดฝักอ่อนศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี อำเภออู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี ตั้งแต่เดือนตุลาคม-ธันวาคม 2566 โดยพ่นบีทีสายพันธุ์ *aizawai* อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ที่ 7 14 และ 21 วันหลังงอก พ่นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema carpocapsae* อัตรา 50 ล้านตัว/น้ำ 20 ลิตร ที่ 28 วันหลังงอก และปล่อยมวนพิฆาต อัตรา 500 ตัว/ไร่ ที่ 35 และ 42 วันหลังงอก ประเมินรอยทำลาย และตรวจนับทุกๆ 7 วันจนกระทั่งข้าวโพดอายุ 49 วันหลังงอก ผลการดำเนินงานพบว่าหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดลงทำลายใบข้าวโพดตั้งแต่ 7 วันหลังงอก ภายหลังการใช้ชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด เปอร์เซ็นต์การลงทำลายใบและจำนวนหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดมีแนวโน้มลดลง ซึ่งเปอร์เซ็นต์การลงทำลายใบไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับวิธีปฏิบัติของเกษตรกรในการประเมินครั้งที่ 5 ส่วนจำนวนหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดของทั้งสองแปลงมีค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติของการตรวจนับในครั้งที่ 3 4 และ 5 เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตข้าวโพดฝักอ่อนจากแปลงที่ใช้ชีวภัณฑ์และแปลงที่ใช้วิธีปฏิบัติของเกษตรกรพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ การใช้ชีวภัณฑ์ควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในแปลงข้าวโพดฝักอ่อนสามารถใช้เป็นทางเลือกได้อีกวิธีหนึ่ง แต่อาจมีต้นทุนที่สูง ทั้งนี้อาจปรับใช้ทั้งชีวภัณฑ์และเคมีหลายๆ วิธีร่วมกันเพื่อประหยัดต้นทุนในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด

คำหลัก : แมลงศัตรูธรรมชาติ, ชีวภัณฑ์, หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด, ข้าวโพดฝักอ่อน

รหัสการทดลอง FF65-55-07-65-01-03-66

คำนำ

หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด (fall armyworm) *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) เป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญของข้าวโพด พบระบาดในพื้นที่เขตร้อนและกึ่งเขตร้อนของทวีปอเมริกา (Prasanna *et al*., 2018) ขยายพันธุ์ได้รวดเร็วมากจำนวน 30-40 วันต่อรุ่น เมื่อผสมพันธุ์แล้วผีเสื้อเพศเมียจะวางไข่ในเวลากลางคืน โดยวางไข่เป็นกลุ่มประมาณ 100-200 ฟอง และมีขนสีน้ำตาลอ่อนปกคลุม ผีเสื้อเพศเมียหนึ่งตัววางไข่ได้ประมาณ 1,500-2,000 ฟอง ระยะไข่ 2-3 วัน หนอนมี 6 วัย ระยะหนอน 14-22 วัน หนอนที่โตเต็มที่มีขนาดลำตัวยาว 3.2-4.0 เซนติเมตร หนอนจะทิ้งตัวลงดินเพื่อเข้าดักแด้ ระยะดักแด้ 7-13 วัน จึงเป็นตัวเต็มวัย ซึ่งมีชีวิต 10-21 วัน พืชอาหารมีมากกว่า 80 ชนิด เช่น ข้าวโพด ข้าว อ้อย ข้าวฟ่าง พืชตระกูลถั่ว มะเขือเทศ มันฝรั่ง ยาสูบ ฝ้าย ทานตะวัน กล้วย กระเทียม ขิง มันเทศ พริก พืชตระกูลกะหล่ำ พืชตระกูลแตง และพืชผักหลายชนิด เป็นต้น (CABI, 2019)

การทำลายพืชเข้าทำลายในระยะที่เป็นตัวหนอน โดยหนอนจะเข้าทำลายข้าวโพดตั้งแต่อายุประมาณ 7 วัน จนกระทั่งออกฝัก โดยกัดกินยอดและใบข้าวโพดเว้าแหว่งหรือกัดกินทั้งแผ่นใบ ทำลายช่อดอกตัวผู้ กัดกินไหม ฝัก เมล็ด และจะพบตัวหนอนหลบซ่อนอยู่ในยอดหรือโคนกาบใบข้าวโพด ความเสียหายเห็นได้ชัดคือ ในระยะต้นอ่อนทำให้พืชตาย ระยะต้นแก่พืชจะไม่เจริญเติบโต ฝักลีบเล็กไม่สมบูรณ์ หากระบาดรุนแรงจะทำให้ผลผลิตเสียหาย 73% ของพื้นที่ (FAO, 2019b) หลังการระบาดอย่างรุนแรงในทวีปอเมริกา มีรายงานพบการระบาดครั้งแรกในภาคกลางและภาคตะวันตกของทวีปแอฟริกา ในช่วงต้นปี 2559 สร้างความเสียหายได้อย่างรวดเร็วและเป็นวงกว้าง โดยหลังการพบการระบาดครั้งแรกเพียง 2 ปี ก็สามารถเข้าระบาดได้ในทุกพื้นที่ที่มีการปลูกข้าวโพดในทวีปแอฟริกา สำหรับในทวีปเอเชียมีรายงานพบการระบาดครั้งแรกในเดือนพฤษภาคม ปี 2561 พบเข้าทำลายข้าวโพดในเขต Chikkaballapur รัฐ Karnataka ของประเทศอินเดีย และหลังจากนั้นเพียง 5 เดือนก็พบการระบาดใน 4 รัฐที่เป็นแหล่งปลูกข้าวโพดสำคัญในอินเดีย ได้แก่ รัฐ Tamil Nadu Telangana Andhra Pradesh และ West Bengal (FAO, 2018) ประเทศไทยได้รับการแจ้งเตือนจาก FAO เรื่องการระบาดของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด ซึ่งเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญที่สามารถระบาดข้ามพรหมแดนได้ กรมวิชาการเกษตรในฐานะ NPPO ได้ดำเนินการเฝ้าระวังหนอนกระทู้ และได้พบการระบาดครั้งแรกเมื่อวันที่ 14 ธันวาคม 2561 ในจังหวัดกาญจนบุรี และตาก (FAO, 2019a) ซึ่งตรงกับช่วงที่ข้าวโพดเป็นพืชนโยบายส่งเสริมให้ปลูกเป็นพืชหลังนา จึงทำให้การระบาดเป็นไปอย่างรวดเร็ว และพบในทุกภาคของประเทศในระยะเวลาเพียงไม่กี่เดือน ซึ่งทำให้วิธีการป้องกันกำจัดแบบเดิมของเกษตรกรไม่ได้ผล

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ได้แก้ปัญหาโดยเร่งดำเนินการทดลองเพื่อให้คำแนะนำในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดดังกล่าว ดังนั้นจึงจำเป็นต้องศึกษาวิธีการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด เพื่อใช้เป็นคำแนะนำอย่างเป็นทางการให้กับเกษตรกร เจ้าหน้าที่ ผู้เกี่ยวข้องทั้งภาครัฐและเอกชน ในการทดลองนี้เป็นการศึกษารูปแบบการใช้แมลงศัตรู

ธรรมชาติร่วมกับชีวภัณฑ์ ได้แก่ มวนพิฆาต แบคทีเรีย Bt และไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดฝักอ่อน เปรียบเทียบกับวิธีของเกษตรกรซึ่งใช้สารเคมีกำจัดแมลง เพื่อแก้ปัญหาการเข้าทำลายข้าวโพดของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดแบบบูรณาการเพื่อความยั่งยืนต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดฝักอ่อน

2. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ ปากคีบ พู่กัน กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก ปากกามาร์คเกอร์ มีดคัดเตอร์ กรรไกรตัดกิ่ง ถังรักษาความเย็น

3. แมลงศัตรูธรรมชาติ ได้แก่ มวนพิฆาต *Eocanthecona furcellata* (Wolff) ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema carpocapsae* แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* สายพันธุ์ *aizawai*

4. เครื่องพ่นสะพายหลังแบบใช้แบตเตอรี

5. อุปกรณ์สำหรับบันทึกข้อมูล ได้แก่ แบบฟอร์มใช้บันทึกในการสำรวจ สมุด ปากกา ดินสอ ยางลบ แว่นขยาย ที่นับแมลง ไม้บรรทัด และกล้องถ่ายรูป

6. อุปกรณ์อื่นๆ ได้แก่ เชือกฟาง เทปวัดความยาว และป้ายปักแปลง

วิธีการ

แบบและวิธีการทดลอง

เปรียบเทียบ 2 วิธี ระหว่างรูปแบบการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติและชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด กับวิธีปฏิบัติของเกษตรกร

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

1. เพาะเลี้ยงขยายแมลงศัตรูธรรมชาติ ได้แก่ มวนพิฆาต และจัดเตรียม บีที (Bt) สายพันธุ์ *aizawai* และไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง เพื่อใช้ควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดให้ได้ปริมาณเพียงพอตามแผนการทดลอง

2. ปลูกข้าวโพดฝักอ่อน จำนวน 2 เมล็ดต่อหลุม ในพื้นที่ 1 งาน จำนวน 2 แปลง เมื่อข้าวโพดอายุ 2 สัปดาห์หลังงอก ทำการถอนให้เหลือ 1 ต้นต่อหลุม ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 สำหรับรองก้นหลุม อัตรา 50 กิโลกรัมต่อไร่ เมื่อข้าวโพดอายุ 25 วัน ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 อัตรา 50 กิโลกรัมต่อไร่ และปุ๋ยเคมีสูตร 46-0-0 อัตรา 25 กิโลกรัมต่อไร่ ให้น้ำข้าวโพดแบบปล่อยตามร่องอาทิตย์ละครั้งจนกระทั่งเก็บเกี่ยว

3. ดำเนินการทดสอบในแปลงข้าวโพดฝักอ่อน โดยแบ่งออกเป็น 2 แปลงๆ ละ 1 งาน ในพื้นที่ห่างกัน 3 เมตร ในแต่ละแปลงแบ่งเป็น 5 แปลงย่อย ขนาด 20 ตารางเมตร ระยะปลูก 0.75x0.25 เมตร ระยะห่างระหว่างแปลงย่อยประมาณ 1 เมตร

4. เมื่อข้าวโพดอายุ 7 วันหลังงอก สุ่มตรวจนับต้นข้าวโพดฝักอ่อนเป็นรูป W 5 จุด (5 แปลงย่อย) จำนวน 20 ต้นต่อจุด รวมเป็น 100 ต้นต่อแปลง

5. เมื่อพบไข่หรือหนอนในแปลงจึงพ่นบีที ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง และปล่อยมวนพิฆาต ดังนี้

1) พ่นบีทีสายพันธุ์ *aizawai* อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (ใช้น้ำฉีดพ่น 40 ลิตร/งาน) จำนวน 3 ครั้ง ที่ 7 14 และ 21 วัน หลังงอก ลงตรงกลางที่กรวยยอด

2) พ่นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* (รูปแบบผง) อัตรา 50 ล้านตัว/น้ำ 20 ลิตร จำนวน 1 ครั้ง ที่ 28 วัน หลังงอก ลงตรงกลางที่กรวยยอด

3) ปล่อยมวนพิฆาต อัตรา 500 ตัว/ไร่ จำนวน 3 ครั้ง ที่ 35 และ 42 วันหลังงอก

6. ประเมินระดับการทำลายใบข้าวโพดของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด ทุก 7 วัน จนถึงอายุเก็บเกี่ยวข้าวโพดฝักอ่อนที่อายุ 49 วัน โดยให้คะแนน 0-9 ตามวิธีการของ Davis and Willium (1992) ดังนี้

ระดับ 0 ไม่พบร่องรอยการทำลาย

ระดับ 1 พบร่องรอยทำลายเป็นรูเล็กๆ

ระดับ 2 พบร่องรอยทำลายเป็นรูเล็กๆ และรูกลมๆ ขนาดใหญ่ขึ้น

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

ระดับ 7 พบรอยแทะบนผิวใบยาวเป็นขีดหลายขนาดเป็นจำนวนมาก และพบรอยกัดกินทะลุเนื้อใบขนาดใหญ่เพิ่มมากขึ้น

ระดับ 8 พบทั้งรอยแทะบนผิวใบเป็นขีดยาวทุกขนาดจำนวนมาก และพบรอยกัดกินทะลุเนื้อใบขนาดกลางและใหญ่เกือบหมดทั้งใบ

ระดับ 9 ใบถูกทำลายเกือบทั้งหมด

นำระดับการทำลายที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์การทำลายโดยใช้สูตรของ Townsend-Heuberger (1943)

$$\text{การทำลาย (\%)} = \frac{\sum (nv)}{NV} \times 100$$

โดยที่

n = จำนวนต้นในแต่ละระดับการทำลาย v = คะแนนระดับการทำลาย

N = จำนวนต้นทั้งหมดที่สุ่มนับ V = คะแนนระดับการทำลายสูงสุด

นำข้อมูลหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดที่มีชีวิต จำนวนแมลงศัตรูธรรมชาติที่พบ น้ำหนักผลผลิตที่มีคุณภาพในระยะส่งตลาด และน้ำหนักผลผลิตที่มีรอยทำลาย มาวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยโปรแกรม IBM SPSS Statistics 26 โดยใช้ T-test เปรียบเทียบกับวิธีปฏิบัติของเกษตรกร

การบันทึกข้อมูล

1. ระดับการทำลายใบข้าวโพดของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด
2. จำนวนหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดก่อนและหลังพ่นบีที ไส้เดือนฝอย และปล่อยมวนพิฆาต
3. จำนวนแมลงศัตรูธรรมชาติอื่นที่พบในแปลงข้าวโพด
4. ระดับการทำลายฝักข้าวโพด และน้ำหนักผลผลิตก่อนปลอกเปลือกและหลังปลอกเปลือก
5. ต้นทุนในการป้องกันกำจัด

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มดำเนินการทดลองตั้งแต่ เดือนตุลาคม 2565 - เดือนธันวาคม 2566

สถานที่ ณ แปลงข้าวโพดฝักอ่อน ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี อำเภออู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการดำเนินงานทดสอบรูปแบบการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติและชีวภัณฑ์ควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดฝักอ่อน (การใช้ชีวภัณฑ์) เปรียบเทียบกับวิธีปฏิบัติของเกษตรกร พบว่า หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดลงทำลายใบข้าวโพดตั้งแต่ 7 วันหลังงอก คิดเป็น 63.00 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติกับวิธีปฏิบัติของเกษตรกรซึ่งการลงทำลาย คิดเป็น 65.57 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นเปอร์เซ็นต์ที่สูงมาก จึงทำการควบคุมหนอนโดยใช้ชีวภัณฑ์ และประเมินรอยทำลาย โดยตรวจนับทุกๆ 7 วันจนกระทั่งข้าวโพดอายุ 49 วันหลังข้าวโพดงอก หากปล่อยไว้ข้าวโพดอาจตายได้จึงใช้บีทีฉีดพ่นเพื่อกำจัดหนอน จากการประเมินครั้งที่ 1 พบว่าเปอร์เซ็นต์การลงทำลายใบของหนอนลดลง คิดเป็น 58.71 เปอร์เซ็นต์ แต่ให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการใช้วิธีปฏิบัติของเกษตรกรซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การลงทำลายใบคิดเป็น 70.83 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากเปอร์เซ็นต์การลงทำลายใบยังคงอยู่ในระดับสูงและต้นข้าวโพดยังมีขนาดเล็กจึงใช้บีทีฉีดพ่นซ้ำ จากการประเมินระดับการทำลายใบครั้งที่ 2 และ 3 พบว่าเปอร์เซ็นต์การลงทำลายใบลดลงจากการประเมินครั้งที่ 1 คิดเป็น 43.63 และ 43.43 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ แต่ยังคงมากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับวิธีปฏิบัติของเกษตรกร ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การทำลายใบคิดเป็น 19.71 และ 31.86 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากการตรวจนับครั้งที่ 3 หนอนที่พบส่วนใหญ่เป็นหนอนโตอยู่ในช่วงวัย 4-6 จึงใช้ไส้เดือนฝอยฉีดพ่นลงตรงกลางที่กรวยยอด จากการประเมินครั้งที่ 4 พบว่าเปอร์เซ็นต์การลงทำลายใบลดลงคิดเป็น 34.14 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใช้วิธีปฏิบัติของเกษตรกร ที่มีเปอร์เซ็นต์การลงทำลายคิดเป็น 47.86 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากต้นข้าวโพดเริ่มโตและใบชนกันระหว่างร่อง ซึ่งเหมาะกับการปล่อยมวนพิฆาต เพราะมวนสามารถเดินไปมาระหว่างต้นได้อย่างรวดเร็ว จึงปล่อยมวนพิฆาตเพื่อควบคุมหนอน จากการประเมินครั้งที่ 5 พบว่าเปอร์เซ็นต์การลงทำลายใบของการใช้ชีวภัณฑ์และการใช้วิธีของเกษตรกรไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยมีเปอร์เซ็นต์การลงทำลายใบ คิดเป็น 35.67 และ 32.17 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และได้ปล่อยมวนพิฆาตอีกครั้งก่อนที่จะเก็บเกี่ยวข้าวโพด (ตารางที่ 1)

สำหรับจำนวนหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดจากการตรวจนับทุกๆ 7 วันหลังข้าวโพดงอก พบว่าก่อนควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในแปลงที่ใช้ชีวภัณฑ์ หนอนมีค่าเฉลี่ยจำนวน 27.00 ตัวต่อ 20 ต้น ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับแปลงที่ใช้วิธีปฏิบัติของเกษตรกร ที่มีค่าเฉลี่ยจำนวน 45.20 ตัวต่อ 20 ต้น หลังจากใช้ชีวภัณฑ์ 1 สัปดาห์ การตรวจนับหนอนในครั้งที่ 1 พบว่าการใช้ชีวภัณฑ์และวิธีปฏิบัติของเกษตรกร จำนวนหนอนมีค่าเฉลี่ย 15.40 และ 11.40 ตัวต่อ 20 ต้น ตามลำดับ ซึ่งให้ผลไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่ให้ผลแตกต่างกันทางสถิติในการตรวจนับครั้งที่ 2 ซึ่งมีค่าเฉลี่ยของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดเท่ากับ 12.60 และ 4.20 ตัวต่อ 20 ต้น ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม การตรวจนับหนอนในครั้งที่ 3 4 และ 5 ซึ่งมีค่าเฉลี่ยหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดเท่ากับ 6.40 8.60 และ 1.20 ตัวต่อ 20 ต้น พบว่าจำนวนหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับวิธีปฏิบัติของเกษตรกรซึ่งมีค่าเฉลี่ยของหนอนเท่ากับ 6.80 6.00 และ 0.60 ตัวต่อ 20 ต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

จากการประเมินระดับการลงทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด แล้วนำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์การทำลาย และการตรวจนับจำนวนหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดจะเห็นว่าเปอร์เซ็นต์การทำลายใบของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดมีแนวโน้มลดลง และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับการใช้วิธีปฏิบัติของเกษตรกรในการประเมินครั้งที่ 5 และจำนวนหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดก็มีแนวโน้มลดลงเช่นเดียวกัน แม้จะมากกว่าวิธีปฏิบัติของเกษตรกรแต่ก็ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในการตรวจนับครั้งที่ 3 4 และ 5

สำหรับแมลงศัตรูธรรมชาติที่ตรวจพบในแปลงข้าวโพดฝักอ่อน ได้แก่ แมลงหางหนีบ ด้วงเต่า (ด้วงเต่าลายจุด ด้วงเต่าสีส้ม และด้วงเต่าลายหยัก) และมวนพิฆาต โดยแปลงชีวภัณฑ์เริ่มตรวจพบแมลงศัตรูธรรมชาติในการตรวจนับครั้งที่ 2 พบด้วงเต่าจำนวน 1.20 ตัวต่อ 20 ต้น ครั้งที่ 3 พบแมลงหางหนีบ และด้วงเต่า จำนวน 0.40 และ 0.20 ตัวต่อ 20 ต้น ตามลำดับ ครั้งที่ 4 พบแมลงหางหนีบ ด้วงเต่า และพบมวนพิฆาตที่นำมาปล่อยควบคุมหนอนกระทู้ลายจุดก่อนตรวจนับ 1 สัปดาห์ จำนวน 0.60 0.20 และ 0.20 ตัวต่อ 20 ต้น ตามลำดับ และครั้งที่ 5 พบแมลงหางหนีบ ด้วงเต่า และมวนพิฆาตจำนวน 5.00 0.40 และ 0.60 ตัวต่อ 20 ต้น ตามลำดับ ในขณะที่แปลงที่ใช้วิธีปฏิบัติของเกษตรกรก็ตรวจพบแมลงศัตรูธรรมชาติ ได้แก่ แมลงหางหนีบ และด้วงเต่า เช่นกัน แต่ไม่พบมวนพิฆาต เนื่องจากไม่มีการนำมาปล่อย (ตารางที่ 2)

จากการเก็บเกี่ยวข้าวโพดฝักอ่อน จำนวน 20 ฝักต่อแปลงย่อย ทั้งหมด 5 แปลงย่อยต่อแปลง (รวม 100 ฝักต่อแปลง) ไม่พบร่องรอยการทำลายฝักของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดของทั้งสองแปลง โดยแปลงที่ใช้ชีวภัณฑ์ให้น้ำหนักข้าวโพดฝักอ่อนก่อนลอกเปลือกเฉลี่ยเท่ากับ 1.058 กิโลกรัมต่อ 20 ฝัก และน้ำหนักข้าวโพดฝักอ่อนหลังลอกเปลือกเฉลี่ยเท่ากับ 0.229 กิโลกรัมต่อ 20 ฝัก ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติกับแปลงข้าวโพดฝักอ่อนที่ใช้วิธีปฏิบัติของเกษตรกร โดยมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักก่อนลอกเปลือกและหลังปอกเปลือกเท่ากับ 1.059 และ 0.214 กิโลกรัมต่อ 20 ฝัก ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

จากการทดสอบการใช้ชีวภัณฑ์ควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดฝักอ่อน เปรียบเทียบกับวิธีปฏิบัติของเกษตรกร จะเห็นว่าการใช้ชีวภัณฑ์ให้ผลผลิตไม่แตกต่างจากวิธีของเกษตรกร จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด โดยก่อให้เกิดผลดีคือตัวเกษตรกรลดความเสี่ยงที่จะได้รับสารพิษจากสารกำจัดแมลง ลดการตกค้างของสารเคมีในสภาพแวดล้อม และเป็นการอนุรักษ์แมลงศัตรูธรรมชาติ หากแต่ต้องแบกรับในส่วนของต้นทุนที่สูงขึ้น เพราะชีวภัณฑ์บางอย่างค่อนข้างมีราคาแพง FAO (2019a) กล่าวว่า ในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดต้องใช้หลายๆ วิธีร่วมกัน ตามหลักการบริหารศัตรูพืช (Integrated Pest Management) เช่น ใช้วิธีเขตกรรม ไถพรวนกำจัดดักแด้ในดิน หมั่นสำรวจแปลง ประเมินการเข้าทำลายด้วยการสุ่มตรวจนับการเข้าทำลาย การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดชนิดต่างๆ โดยการพ่นทางใบ การใช้เชื้อจุลินทรีย์ การใช้ศัตรูธรรมชาติ เช่น ตัวห้ำ ตัวเบียน เป็นต้น

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากผลการทดลอง พบว่าในแปลงปลูกข้าวโพดฝักอ่อนทั้งสองแปลงมีการระบาดของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดตั้งแต่ 7 หลังงอก ภายหลังการใช้ชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด เปอร์เซ็นต์การลงทำลายใบและจำนวนหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดมีแนวโน้มลดลง ซึ่งเปอร์เซ็นต์การลงทำลายใบน้อยกว่าและมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับวิธีปฏิบัติของเกษตรกร ในการตรวจประเมินการลงทำลายครั้งที่ 4 และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับวิธีปฏิบัติของเกษตรกรในการประเมินครั้งที่ 5 ส่วนจำนวนหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดของทั้งสองแปลงมีค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติของการตรวจนับในครั้งที่ 3 4 และ 5 แมลงศัตรูธรรมชาตที่ตรวจพบในแปลงชีวภัณฑ์ ได้แก่ แมลงหางหนีบ ด้วงเต่า และมวนพิฆาต เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตข้าวโพดฝักอ่อนจากแปลงที่ใช้ชีวภัณฑ์และแปลงที่ใช้วิธีปฏิบัติของเกษตรกรพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ สามารถใช้เป็นทางเลือกในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดได้อีกวิธีหนึ่ง ซึ่งเป็นการลดการตกค้างของสารเคมีและเป็นการอนุรักษ์แมลงศัตรูธรรมชาติ ทั้งนี้ การใช้ชีวภัณฑ์เพียงวิธีเดียวอาจมีต้นทุนที่สูง อาจใช้ทั้งชีวภัณฑ์และเคมีหลายๆ วิธีร่วมกันเพื่อประหยัดต้นทุนในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณผู้อำนวยศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์พื้นที่ในการทำแปลงทดลอง ขอขอบคุณนายสุวัฒน์ พูลพาน นางสาวอุณากุล จันทร์ภู่ และนางสาวกุลธิดา ทองสิน ที่ช่วยปฏิบัติงานการทดลองครั้งนี้จนสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

CAB International. 2019. *Spodoptera frugiperda* (fall armyworm). CAB International. (Online). Available: https://www.cabi.org/isc/datasheet/29810. (January 20, 2019).

Davis, F.M. and W.P. Williams. 1992. Visual rating scales for screening whorl-stage corn for resistance to fall armyworm. Mississippi Agricultural and Forestry Experiment Station, Technical Bulletin 186. Mississippi State University, MS39762, USA.

FAO. 2018. Briefing note on fall armyworm (FAW) in Africa. 16 February 2018, 7 pp. (Online). Available: https://www.fao.org/3/a-bt415e.pdf. (January 20, 2019).

FAO. 2019a. 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/. (January 25, 2019).

FAO. 2019b. Integrated management of the Fall Armyworm on maize. [Online]. Available. http://www.fao.org/3/I8665EN/i8665en.pdf. (January 25, 2019).

Prasanna, B.M., J.E. Huesing, R. Eddy and V.M. Peschke. 2018. Fall armyworm in Africa: a guide for integrated pest management. 109 pages. México. CIMMYT. USAID.

Table 1 Percent of leaf damage by fall armyworm and number of fall armyworm in baby corn at Suphanburi field crops research center, Suphanburi province during October - December 2023

Details	Treatment	Percent leaf damage and mean number of fall armyworm					
		Before	After treatment every 7 days[1/ 2/]				
		treatment	1st	2nd	3rd	4th	5th
% leaf damage	Biopesticide Practice	63.00	58.71	43.63	43.43	34.14	35.67
	Famer Practice	65.57	70.83	19.71	31.86	47.86	32.17
	T-test	-0.785	-0.629	5.965	2.319	-2.816	0.653
		ns	ns	**	*	**	ns
No. of fall armyworm/20 plants	Biopesticide Practice	27.00	15.40	12.6	6.4	8.6	1.20
	Famer Practice	45.20	11.40	4.2	6.8	6	0.60
	T-test	-4.527	1.406	5.399	-0.279	1.551	0.919
		**	ns	**	ns	ns	ns

[1/] mean number of fall armyworm 5 plot (20 plants/plot)

[2/] statistical significant at 95%

Table 2 Mean number of natural enemies in baby corn at Suphanburi field crops research center, Suphanburi province during October - December 2023

Treatment	Mean number of natural enemies						Natural enemies
	Before treatment	After treatment every 7 days					
		1st	2nd	3rd	4th	5th	
Biopesticide Practice	0.00	0.00	0.00	0.40	0.60	5.00	earwigs
	0.00	0.00	1.20	0.20	0.20	0.40	ladybird
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.20	0.60	stink bugs
Famer Practice	0.00	0.00	0.40	0.40	2.00	3.40	earwigs
	0.00	0.20	1.40	0.00	0.40	0.60	ladybird
	0.00	0.00	00	0.00	0.00	00	stink bugs

Table 3 Yield of baby corn from the treated field trial at Suphanburi field crops research center, Suphanburi province during October - December 2023

Treatment	Yield of baby corn[1/ 2/]		
	Rating ear damage	Weight before remove husk (Kg)	Weight after remove husk (Kg)
Biopesticide practice	0.00	1.058	0.229
Farmer practice	0.00	1.059	0.214
T-test		-0.029	1.832
		ns	ns

1/ mean weight of ear corn from 5 plot (20 first ear of each maize plant/plot)

2/ statistical significant at 95%

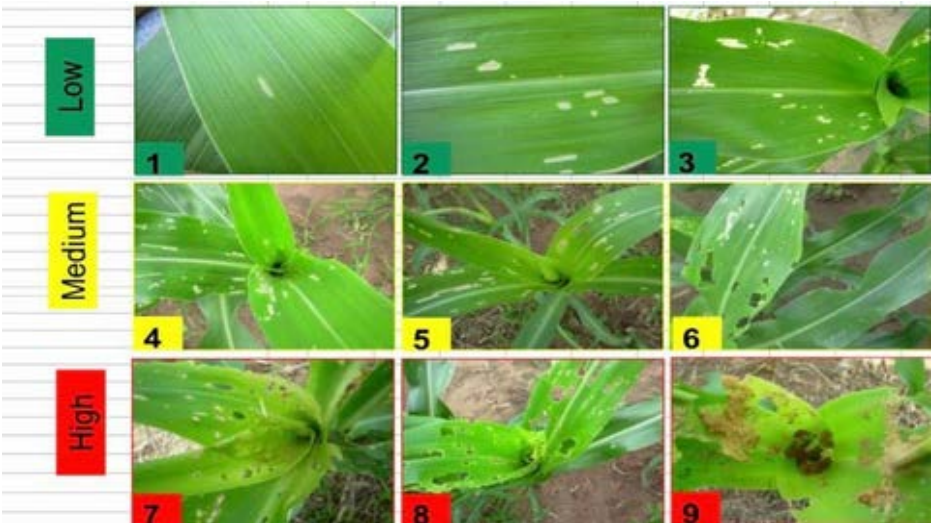


Figure 1 The value of crop damage attacked by *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) on a scale of 1-9

Figure 2 The treated field trial using insect natural enemies and biopesticides for controlling fall armyworm in baby corn at Suphanburi field crops research center, Suphanburi province during October – December 2023

Figure 3 The treated field trial using insecticides for controlling fall armyworm in baby corn at Suphanburi field crops research center, Suphanburi province during October – December 2023

ภาคผนวก

Baby corn yield

1. The treated field trial using insect natural enemies and biopesticides

2. The treated field trial using insecticides

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 2565 - กันยายน 2566 ได้เก็บรวบรวมได้ตัวอย่างของเชื้อรา *Fusarium* เพิ่มเติม ส่วนใหญ่พบว่าเป็นเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense* จากการจำแนกด้วยยีนตำแหน่ง *tef1* ยังพบเชื้อรา *Fusarium* forma specialis *melonis* และ forma specialis *lycopersici* รวมถึงเชื้อรา *Fusarium* spp. อื่น ๆ ที่พบจัดอยู่ในกลุ่มของ *F. sonali* complex *F. incarnatum-equiseti* complex และ *F. fujikuroi* complex จากการตรวจสอบเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense* ไพร์เมอร์จำเพาะต่อ FocTR4 ให้ผลเป็นบวกจำนวน 10 ตัวอย่าง เมื่อจำแนกอย่างละเอียดด้วยวิธี phylogenetic reconstruction พบว่าเชื้อราทั้ง 10 ไอโซเลท จัดอยู่ใน clade เดียวกับเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical race 4 (Foc TR4) 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 ซึ่งเมื่อจำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุแล้วพบว่า เกิดจากเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *cubense* (Foc) สายพันธุ์ใหม่ที่ยังไม่เคยพบมาก่อน คือ เชื้อรา Foc Tropical Race 4 หรือ Foc TR4

<u>สายพันธุ์ของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *cubense* (Foc)</u>

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 พบการปรากฏของเชื้อราชนิดนี้ในแปลงผลิตกล้วยคาเวนดิช ที่อำเภอพญาเม็งราย และอำเภอเชียงของ จังหวัดเชียงราย โดยได้มีการกำหนดมาตรการเพื่อเฝ้าระวังสาเหตุและป้องกันกำจัด และได้ดำเนินการตามมาตรการเพื่อควบคุมการแพร่กระจายไปยังพื้นที่ที่ยังปลอดโรค อย่างไรก็ตามในประเทศไทยยังไม่มีการจำแนกชนิดของ Foc ที่พบเข้าทำลายกล้วยคาเวนดิช

ดังนั้นการทดลองนี้จะจำแนกชนิดของเชื้อรา โรคปานามาสายพันธุ์ tropical race 4 ที่พบกล้วยคาเวนดิชในประเทศไทย เพื่อให้สามารถระบุชนิดหรือจำแนกชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้องและเป็นปัจจุบัน ด้วยวิธีการมาตรฐานและเป็นสากล เพื่อนำไปใช้ในการหาแนวทางป้องกันกำจัดที่ถูกต้องเหมาะสมและมีประสิทธิภาพ และเป็นข้อมูลสำคัญในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับเปิดตลาดสินค้าเกษตร การเจรจาการค้าระหว่างประเทศ ซึ่งข้อมูลดังกล่าวนี้ เกษตรกร เอกชน และหน่วยงานที่

เกี่ยวข้อง 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 นำตัวอย่างส่วนของท่อน้ำท่ออาหารของต้นกล้วยที่มีสีน้ำตาลแซ่ในสารละลายโซเดียมไฮโปรคลอไรท์ 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 จากนั้นนำเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้ เลี้ยงบนอาหาร 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) เก็บรักษาดี

เอ็นเอที่สกัดได้จากแต่ละตัวอย่าง 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 โดยตรวจสอบขนาดของชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่ต้องการ ด้วยวิธี อิเล็กโทรโฟรีซิส (Electrophoresis) ทำการผสมผลิตภัณฑ์ PCR ด้วย loading dye และ stain ในปริมาตร 4 1 และ 1 ไมโครลิตร ตามลำดับ ผสมให้เข้ากันจากนั้นหยอดลงใน agarose gel ที่ความเข้มข้น 1% ให้ผลิตภัณฑ์ PCR เคลื่อนที่ผ่านสารละลาย Lithium Borate buffer (LB buffer) 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) จากนั้น

ใช้โปรแกรม 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 ซ้ำสำหรับ 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)

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกข้อมูล DNA sequence ในรูปแบบของ FASTA ไฟล์

2. บันทึกข้อมูลของดีเอ็นเอต้นแบบ ประกอบด้วยพิกัดทางภูมิศาสตร์ วัน เดือน ปี ที่เก็บตัวชนิดของตัวอย่าง และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง

3. จัดเก็บดีเอ็นเอต้นแบบไว้ที่อุณหภูมิ –40 องศาเซลเซียส ณ พิพิธภัณฑ์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2565 – กันยายน 2566

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การเก็บรวบรวมตัวอย่าง การแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืช และจำแนกชนิดเบื้องต้น

รวมรวมตัวอย่างจากพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช สำรวจและเก็บตัวอย่างเพิ่มเติมโดยเก็บเนื้อเยื่อสีน้ำตาลจากต้นกล้วยที่แสดงอาการโรคตายพราย และดินบริเวณรอบราก ตั้งแต่เริ่มดำเนินการได้จำนวนรวม 180 ตัวอย่าง ทำการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์และตรวจสอบด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่าได้เชื้อรา *Fusarium* จำนวน 145 ไอโซเลท จำแนกชนิดเพิ่มเติมด้วยรูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาของราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo และ compound microscope โดยตรวจดูลักษณะเส้นใย conidiophore conidia ขนาด สี และโครงสร้างอื่นๆ ของเชื้อรา โดยอ้างอิงข้อมูลของ Booth (1971) และ Brayford (1992) พบว่าเป็นเชื้อรา *F. oxysporum* จำนวน 95 ไอโซเลท และเป็น *Fusarium* spp. อื่น ๆ อีก 50 ไอโซเลท เช่น *F. sonali F. incarnatum F. equiseti* และ *F. fujikuroi*

2. การตรวจสอบชนิดเบื้องต้นของเชื้อราสาเหตุโรคปานามาของกล้วยสายพันธุ์ tropical race 4

สกัดดีเอ็นเอของตัวอย่างที่มีลักษณะพ้องกับเชื้อรา *F. oxysporum* จำนวน 95 ตัวอย่าง ตรวจสอบเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense* ทั้ง 70 ไอโซเลทด้วยไพร์เมอร์จำเพาะ FocTR4-F/FocTR4-R2 (Dita *et al*., 2010) เพื่อคัดแยกตัวอย่างไปดำเนินการวิเคราะห์ต่อ ได้ตัวอย่างที่ให้ผลเป็นบวกต่อไพรเมอร์จำเพาะต่อ TR4 จำนวน 10 ตัวอย่าง (Figure 1)

3. จำแนกชนิดของราโดยใช้ข้อมูลพันธุกรรม

สกัดดีเอ็นเอของตัวอย่างที่มีลักษณะพ้องกับเชื้อรา *F. oxysporum* จำนวน 95 ตัวอย่าง จากนั้นดำเนินการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีนตำแหน่ง *tef1* ด้วยเทคนิค PCR และดำเนินการ sequencing นำข้อมูล sequence ที่ได้ทำการตรวจสอบ forma specialis ด้วยวิธี phylogenetic reconstruction เปรียบเทียบกับข้อมูล type sequences เพื่อทวนสอบชนิดเบื้องต้นของ *Fusarium* พบว่าจัดอยู่ใน forma specialis *cubense* จำนวน 70 ไอโซเลท และมีความใกล้เคียงกับ forma specialis *melonis* และ forma specialis *lycopersici* จำนวน 25 ไอโซเลท นอกจากนี้เมื่อนำ *Fusarium* spp. ที่ได้จากการศึกษา นอกเหนือจาก *F. oxysporum* มาทำการวิเคราะห์เพิ่มเติม สามารถยืนยันได้ว่าเชื้อรา *Fusarium* spp. อื่นๆ ที่พบจัดอยู่ในกลุ่มของ *F. sonali* complex *F. incarnatum-equiseti* complex และ *F. fujikuroi* complex (Figure 2)

นำดีเอ็นเอให้ผลเป็นบวกต่อไพรเมอร์จำเพาะต่อ TR4 ทั้ง 10 ตัวอย่างมาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีนตำแหน่ง *rpb1* และ *rpb2* ด้วยเทคนิค PCR จากนั้นดำเนินการทำ sequencing นำข้อมูล sequence ที่ได้มาจัดทำเป็น concatenate dataset รวมกับ type sequence ของ *F. oxysporum* f. sp. *cubense* race ต่าง ๆ (Table 1) เพื่อจำแนก race ด้วยวิธี phylogenetic reconstruction พบว่าเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense* ทั้ง 10 ตัวอย่างจัดอยู่ใน clade เดียวกับเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical race 4 (Foc TR4) (Figure 3) และ

ตัวอย่างเชื้อราทั้ง 10 ไอโซเลท นี้จะดำเนินเพื่อจำแนกชนิด (species) ตามข้อมูลการอนุกรมวิธานที่เป็นปัจจุบันต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคตายพราย TR4 ในกล้วยคาเวนดิชของประเทศไทย ได้ตัวอย่างของเชื้อรา *Fusarium* เพิ่มเติมจากพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืชและเก็บตัวอย่างเพิ่ม ส่วนใหญ่พบว่าเป็นเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense* จากการจำแนกด้วยยีนตำแหน่ง *tef1* ยังพบเชื้อรา *Fusarium* forma specialis *melonis* และ forma specialis *lycopersici* รวมถึงเชื้อรา *Fusarium* spp. อื่น ๆ ที่พบจัดอยู่ในกลุ่มของ *F. sonali* complex *F. incarnatum-equiseti* complex และ *F. fujikuroi* complex จากการตรวจสอบเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense* ไพร์เมอร์จำเพาะต่อ FocTR4 ให้ผลเป็นบวกจำนวน 10 ตัวอย่าง เมื่อจำแนกอย่างละเอียดด้วยวิธี phylogenetic reconstruction พบว่าเชื้อราทั้ง 10 ไอโซเลท จัดอยู่ใน clade เดียวกับเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical race 4 (Foc TR4) ตัวอย่างเชื้อราทั้ง 10 ไอโซเลท นี้จะดำเนินเพื่อจำแนกชนิด (species) ตามข้อมูลการอนุกรมวิธานที่เป็นปัจจุบันต่อไป

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 Pathology* 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.

Table 1 List of taxa for Fusarium oxysporum f. sp. cubense used in this study

Fusarium		Accession number	GenBank number		
			tef1	*rpb2*	*rpb1*
F. oxysporum f.sp. *cubense*	Race 1 (a)	INACC F835	LS479764	LS479315	LS479567
F. oxysporum f.sp. *cubense*	Race 1 (a)	**INACC F916***	LS479688	LS479239	LS479495
F. oxysporum f.sp. *cubense*	Race 1 (a)	INACC F921	LS479694	LS479245	LS479500
F. oxysporum f.sp. *cubense*	Race 1 (a)	INACC F979	LS479749	LS479300	LS479553
F. oxysporum f.sp. *cubense*	Race 1 (b)	**INACC F833**	LS479744	LS479295	LS479548
F. oxysporum f.sp. *cubense*	Race 1 (b)	InaCC F848	LS479786	LS479338	LS479588
F. oxysporum f.sp. *cubense*	Race 1 (b)	InaCC F854	LS479793	LS479345	LS479591
F. oxysporum f.sp. *cubense*	Race 1 (b)	InaCC F884	LS479824	LS479382	LS479616
F. oxysporum f.sp. *cubense*	Race 1 (c)	**INACC F866**	LS479805	LS479359	na
F. oxysporum f.sp. *cubense*	Race 1 (d)	**INACC F971**	LS479741	LS479292	LS479545
F. oxysporum f.sp. *cubense*	Race 1 (d)	INACC F844	LS479783	LS479334	LS479585
F. oxysporum f.sp. *cubense*	Race 1 (e)	**INACC F886**	LS479827	LS479385	na
F. oxysporum f.sp. *cubense*	Race 1 (e)	INACC F966	LS479735	LS479286	LS479539
F. oxysporum f.sp. *cubense*	Race 1 (e)	LC13681	MW580548	MW474494	MW024536
F. oxysporum f.sp. *cubense*	Race 1 (f)	**INACC F958**	LS479729	LS479280	LS479534
F. oxysporum f.sp. *cubense*	Race 1 (g)	**NRRL 36113**	LS479665	LS479217	LS479474
F. oxysporum f.sp. *cubense*	Race 2	**INACC F984**	LS479757	LS479308	LS479560
F. oxysporum f.sp. *cubense*	Race 2	INACC F983	LS479756	LS479307	LS479559
F. oxysporum f.sp. *cubense*	Race 3	CAV1788	FJ664919	na	na
F. oxysporum f.sp. *cubense*	Race 3	Foc807	KY436227	na	na
F. oxysporum f.sp. *cubense*	Race 3	Race 3	KC889021	na	na
F. oxysporum f.sp. *cubense*	Tropical Race 4	**INACC F822**	LS479828	LS479386	LS479618
F. oxysporum f.sp. *cubense*	Tropical Race 4	VCG 01213	MG211817	na	na
F. oxysporum f.sp. *cubense*	Tropical Race 4	INACC F899	LS479842	LS479402	LS479632
F. oxysporum f.sp. *cubense*	Non Race	**INACC F917**	LS479690	LS479241	LS479497
F. oxysporum f.sp. *cubense*	Non Race	INACC F918	LS479691	LS479242	na
F. oxysporum f.sp. *cubense*	Non Race	INACC F922	LS479695	LS479246	na
F. oxysporum f.sp. *cubense*	Non Race	**INACC F960**	LS479732	LS479283	LS479537
F. oxysporum f. sp. *batatas*		NRRL 26360	AY527522	na	na
F. fujikuroi		CBS 221.76	MN534010	KU604255	MW402640
F. sacchari		LC13681	MW580548	MW474494	MW024536

* Type

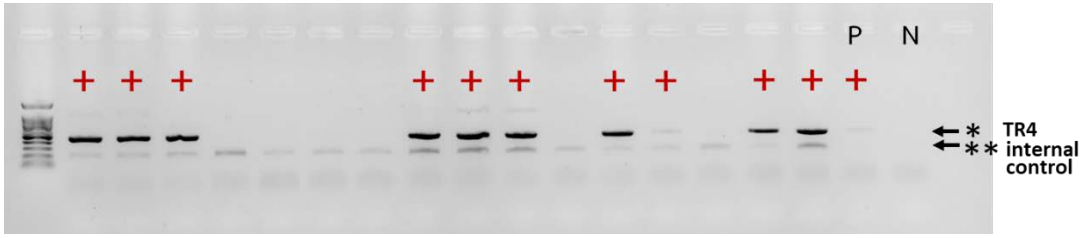


Figure 1 DNA obtained from *Fusarium* isolates had been detected for FocTR4 with specific primers for FocTR4 (the upper bands showed specificity to FocTR4).

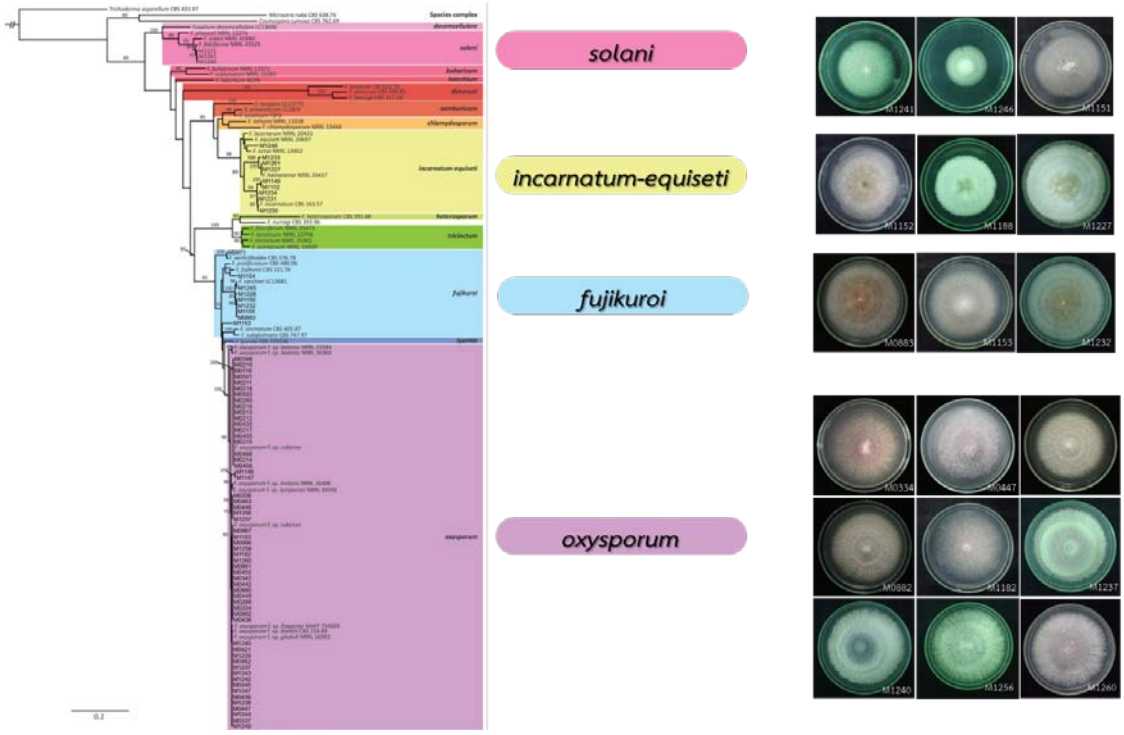


Figure 2 Phylogram of *Fusarium* obtained in a ML search of the dataset of *tef1* locus Bootstrap support (≥70%) values from 1000 replicates above nodes

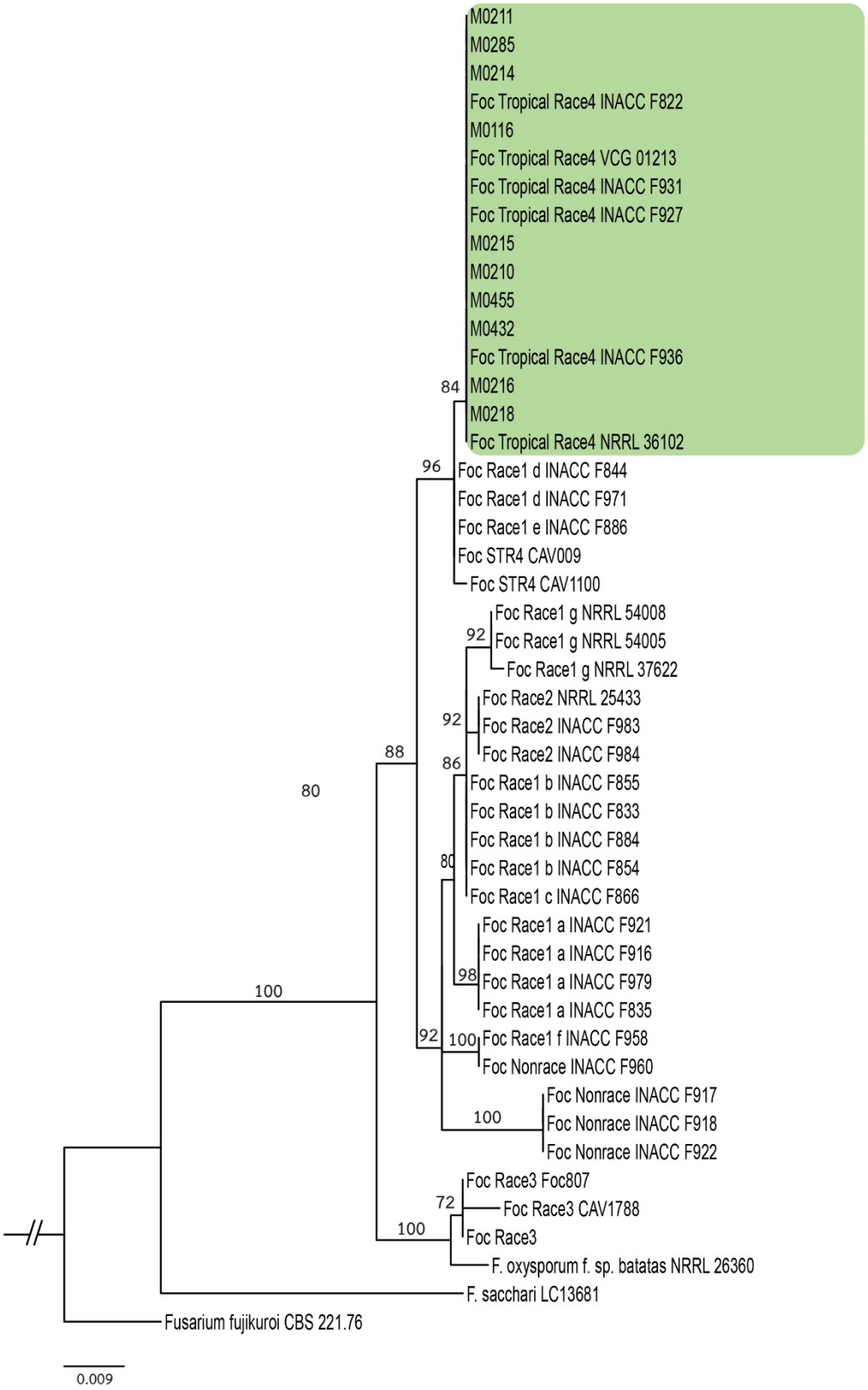


Figure 3 Phylogram of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* at race level obtained in a ML search of the concatenated dataset of *tef1-rpb2* loci. Bootstrap support (≥70%) values from 1000 replicates above nodes

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

จำแนกชนิดในระดับ race ด้วยเทคนิค *SIX* gene โดยตรวจสอบด้วยคู่ไพรเมอร์ *SIX1* พบว่าเชื้อรา *Fusarium* sp. จำนวน 30 ไอโซเลท ปรากฏแถบดีเอ็นเอที่ขนาด ~266 bp เมื่อตัด PCR product ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะพบว่าเป็นเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *cubense* tropical race 4 (*Foc* TR4) จำนวน 30 ไอโซเลท เมื่อนำเชื้อราไอโซเลทที่เหลือมาตรวจสอบด้วยคู่ไพรเมอร์ *SIX6* พบว่าเป็นเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *cubense* race 1 จำนวน 30 ไอโซเลท และเมื่อตรวจสอบเชื้อราทั้ง 65 ไอโซเลทด้วยคู่ไพรเมอร์ *SIX8* พบว่าไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอที่ขนาด ~206 bp แต่ปรากฏแถบดีเอ็นเอที่ขนาด ~343 bp เมื่อตรวจสอบด้วยคู่ไพรเมอร์ *SIX13* ซึ่ง PCR product จะถูกนำไปตรวจสอบโดยการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *EagI* ต่อไป

คำหลัก : กล้วย, *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense SIX* gene Tropical race 4 Race 1

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 โดยกำหนดมีเป้าหมายของการเฝ้าระวังในพื้นที่ปลูกกล้วยคาเวนดิชจากการดำเนินงานพบการปรากฏของเชื้อรา 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 ซึ่งการระบุชนิดหรือจำแนกชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้องและเป็นปัจจุบัน

ด้วยวิธีการมาตรฐานและเป็นสากล สามารถนำไปสู่การหาแนวทางป้องกันกำจัดที่ถูกต้องเหมาะสม และมีประสิทธิภาพ 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)

แยกเชื้อราสาเหตุโรคพืชจากตัวอย่างเนื้อเยื่อลำต้น

แยกเชื้อราโดยวิธี tissue transplanting นำตัวอย่างส่วนของท่อน้ำท่ออาหารของต้นกล้วยที่มีสีน้ำตาลแซในสารละลายโซเดียมไฮโปรคลอไรท์ 10 % เป็นเวลา 3-5 นาที ล้างในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำไปซับบนกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้แห้ง ตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ แยกราให้บริสุทธิ์ และเลี้ยงบนอาหาร PDA

แยกเชื้อราสาเหตุโรคพืชจาก culture collection

เขี่ยเส้นใยของเชื้อรามาวางลงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ

แยกเชื้อให้บริสุทธิ์

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

5. จำแนกชนิดของเชื้อราโดยใช้ข้อมูลพันธุกรรม (2566-2567)

เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมาย

นำดีเอ็นเอที่สกัดได้จากแต่ละตัวอย่างของเชื้อรา Foc TR4 และ Foc race 1 มาทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายของ *Fusarium* spp. ด้วยวิธี Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยใช้ Taq DNA Polymerase ใช้ cycling และ condition ของปฏิกิริยาตามที่ผู้ผลิตแนะนำ โดยใช้ไพร์เมอร์จำนวน 6 คู่ สำหรับ *SIX genes* ดังนี้ SIX9_Foc_F/SIX9_Foc_F (annealing 58 ^{O}C) SIX6b_210_F/ SIX6b_210_R (annealing 55 ^{O}C) SIX1a_266_F/ SIX1a_266_R (annealing 55 ^{O}C) SIX8b_206_F/SIX8b_206_R (annealing 62 ^{O}C) SIX10a_309_F/ SIX10a_309_R (annealing 58 ^{O}C) SIX13c_343_F/ SIX13c_343_R (annealing 57 ^{O}C) (Figure 1) ทุกปฏิกิริยา PCR ยกเว้น

ปฏิกิริยาที่ต้องนำ PCR product ไปทำ restriction digestion ใช้ the translation elongation factor 1-alpha gene (*tef1*) EF-1/EF-2 (O'Donnell *et* al., 1998) เป็น internal control

Restriction digestions

นำ PCR product ที่ได้จากยีนตำแหน่ง *SIX1* มาทำ restriction digestions ด้วย enzymes HpyAV (New England Biolabs) และ ตำแหน่ง *SIX13* ทำ restriction digestions ด้วย enzymes EagI (Eco521) (New England Biolabs) ในอัตรา PCR product ปริมาณ 4 ไมโครลิตร ต่อ enyzyme ชนิดละ 0.4 units (U) และมีปริมาตรรวม 10 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 ^{O}C นาน 1 ชั่วโมง และ ที่อุณหภูมิ 65 ^{O}C นาน 20 นาที เพื่อหยุดปฏิกิริยาของ digestion ตามกรรมวิธีของ Carvalhais *et al.* (2019)

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 1.5% ให้ผลิตภัณฑ์ PCR เคลื่อนที่ผ่านสารละลาย Lithium Borate buffer (LB buffer)

เวลาและสถานที่

เวลา ดำเนินการทดลอง 3 ปี (ตุลาคม 2564 – กันยายน 2567)

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การรวบรวมตัวอย่างและแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืช

รวบรวมตัวอย่างโรคตายพรายทั้งที่เป็น culture collection และตัวอย่างเนื้อเยื่อลำต้นกล้วยของกลุ่มวิจัยโรคพืชมาแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืชและเลี้ยงให้บริสุทธิ์ ได้เชื้อรา จำนวน 65 ไอโซเลท เมื่อนำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่าเป็นเชื้อรา *Fusarium* sp. และนำมาสกัดดีเอ็นเอ

2. ตรวจสอบชนิดเบื้องต้นของเชื้อราสาเหตุโรคตายพราย TR4

ตรวจสอบชนิดของเชื้อรา *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

3. จำแนกชนิดของเชื้อราโดยใช้ข้อมูลพันธุกรรม

จำแนกชนิดในระดับ race ด้วยเทคนิค *SIX* gene โดยตรวจสอบด้วยคู่ไพรเมอร์ *SIX1* พบว่าเชื้อรา *Fusarium* sp. จำนวน 30 ไอโซเลท ปรากฏแถบดีเอ็นเอที่ขนาด ~266 bp (Figure 1) เมื่อตัด

PCR product ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะพบว่าเป็นเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *cubense* tropical race 4 (*Foc* TR4) จำนวน 30 ไอโซเลท เมื่อนำเชื้อราไอโซเลทที่เหลือมาตรวจสอบด้วยคู่ไพรเมอร์ *SIX6* พบว่าเป็นเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *cubense* race 1 จำนวน 30 ไอโซเลท (Figure 2) และเมื่อตรวจสอบเชื้อราทั้ง 65 ไอโซเลทด้วยคู่ไพรเมอร์ *SIX8* พบว่าไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอที่ขนาด ~206 bp แต่ปรากฏแถบดีเอ็นเอที่ขนาด ~343 bp เมื่อตรวจสอบด้วยคู่ไพรเมอร์ *SIX13* ซึ่ง PCR product จะถูกนำไปตรวจสอบโดยการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *EagI* ต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการจำแนกชนิดในระดับ race ด้วยเทคนิค *SIX* gene ของเชื้อรา *Fusarium* sp. จำนวน 65 ไอโซเลท โดยตรวจสอบด้วยคู่ไพรเมอร์ *SIX1* พบว่าเชื้อรา *Fusarium* sp. จำนวน 30 ไอโซเลท ปรากฏแถบดีเอ็นเอที่ขนาด ~266 bp เมื่อตัด PCR product ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะพบว่าเป็นเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *cubense* tropical race 4 (*Foc* TR4) จำนวน 30 ไอโซเลท เมื่อนำเชื้อราไอโซเลทที่เหลือมาตรวจสอบด้วยคู่ไพรเมอร์ *SIX6* พบว่าเป็นเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *cubense* race 1 จำนวน 30 ไอโซเลท และเมื่อตรวจสอบเชื้อราทั้ง 65 ไอโซเลทด้วยคู่ไพรเมอร์ *SIX8* พบว่าไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอที่ขนาด ~206 bp แต่ปรากฏแถบดีเอ็นเอที่ขนาด ~343 bp เมื่อตรวจสอบด้วยคู่ไพรเมอร์ *SIX13* ซึ่ง PCR product จะถูกนำไปตรวจสอบโดยการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *EagI* ต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ดร. พรพิมล อธิปัญญาคม คุณศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช อดีตผู้เชี่ยวชาญด้านโรคพืช ที่ให้คำแนะนำในการทดลอง สมาชิกห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช ที่ให้ความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างและดำเนินการทดลอง

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.

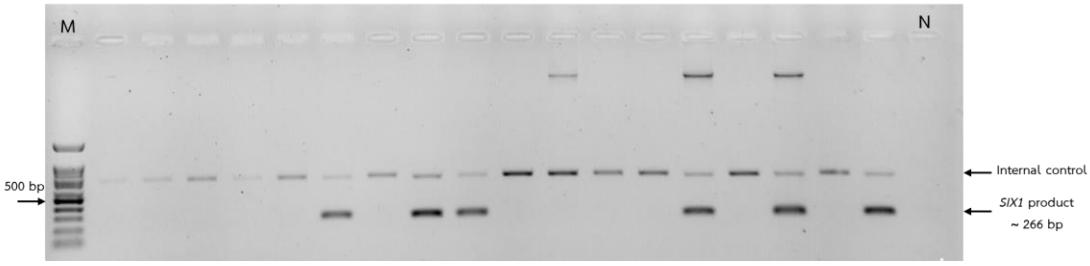


Figure 1 PCR amplification analyses of *Fusarium* isolates using a primer set SIX1a_266 and internal control

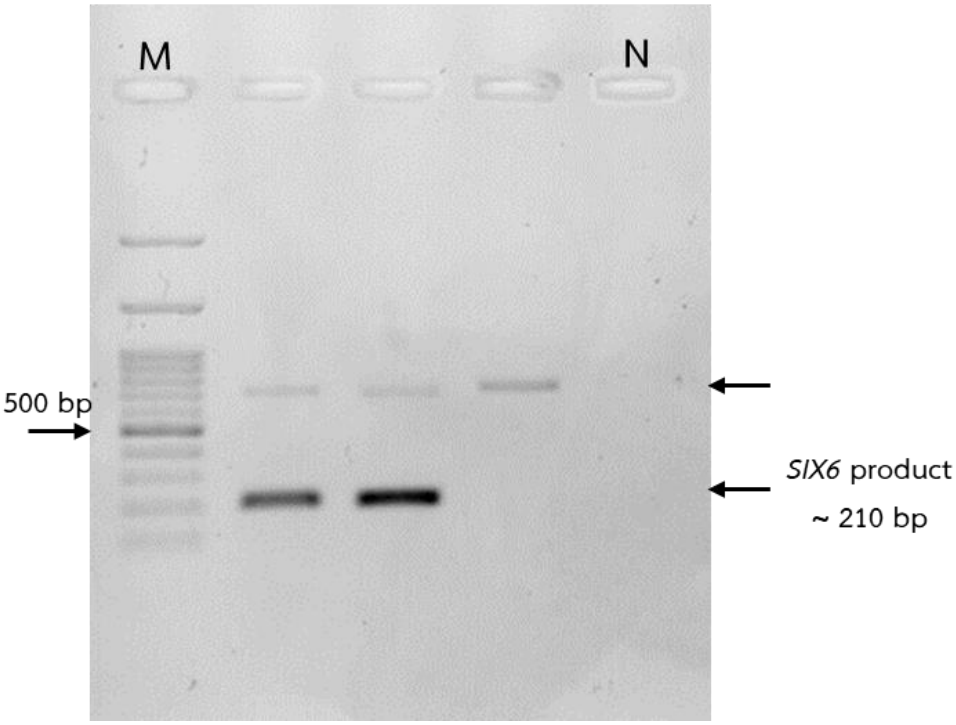


Figure 2 PCR amplification analyses of *Fusarium* isolates using a primer set SIX6b_210 and internal control

การศึกษาปฏิกิริยาของสายพันธุ์/พันธุ์กล้วยต่อการเข้าทำลาย ของเชื้อรา *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

ทดสอบปฏิกิริยาของของสายพันธุ์/พันธุ์กล้วย 20 สายพันธุ์/พันธุ์ ประเมินลักษณะอาการภายในหลังจากปลูกเชื้อ 4 สัปดาห์ และนำมาคำนวณดัชนีความรุนแรงของโรค (Disease severity index; DSI) แล้วจัดระดับความต้านทานจากลักษณะอาการภายใน พบว่ากล้วย จำนวน 19 สายพันธุ์/พันธุ์ (HB022, HB024, HB065, HB073, HB075, HB077, HB090, HB098, HB102, HB106, HB166, HB177, HB199, HB221, HB222, HB233, HB243, HB244 และ HB248) มีความต้านทานต่อเชื้อรา *Foc* TR4 ในระดับ Highly Susceptible (HS) ซึ่งมีดัชนีความรุนแรงของโรค 66.67-100% ส่วนกล้วยพันธุ์ HB061 มีระดับความต้านทาน Susceptible (S) ซึ่งมีดัชนีความรุนแรงของโรค 40.91% (Figure 1) และเมื่อนำเนื้อเยื่อภายในของต้นกล้ากล้วยมาแยกเชื้อกลับเพื่อยืนยันถึงสาเหตุการเกิดโรค พบเชื้อรา *Foc* TR4 ในทุกตัวอย่างเนื้อเยื่อกล้วยที่แสดงอาการของโรค

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 โคนใบ แก่ด้านนอกมีสีซีดเหลือง และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล โดยเริ่มพบจากใบล่างด้านนอกรอบลำต้น จะแสดงลักษณะเหี่ยว เฉา และเริ่มมีสีเหลือง และเป็นเกือบรอบต้น หลังจากแสดงอาการใบเหลือง มักพบอาการขอบใบแห้ง ใบหักพับภายใน 1-2 สัปดาห์ เมื่อเป็นโรคอย่างรุนแรง ใบล่างรอบลำต้นเหี่ยวเฉา ใบไหม้ 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 และพื้นที่จำนวนมาก 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 เพื่อใช้ในการบริหารจัดการศัตรูพืชของกล้วย 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 จากนั้นนำไปเลี้ยงเพิ่มปริมาณบนเมล็ดข้าวฟ่างที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อประมาณ 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

<u>การประเมินโรคด้วยลักษณะภายนอก</u> แบ่งเป็น 5 ระดับ คือ

0 ต้นกล้าไม่แสดงอาการ

1 ใบล่างเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเหลือง

2 ใบล่างเปลี่ยนสีเป็นสีเหลืองทั้งหมด และใบอ่อนเริ่มเปลี่ยนสี

3 ใบทั้งหมดเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้ม

4 ต้นกล้ากล้วยตาย

<u>การประเมินโรคด้วยลักษณะภายใน</u> 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

เวลา ดำเนินการ 3 ปี (ตุลาคม 2564 – กันยายน 2567)

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

เมื่อประเมินลักษณะอาการของสายพันธุ์/พันธุ์กล้วย 20 สายพันธุ์/พันธุ์ เมื่อสังเกตุลักษณะอาการ หลังจากปลูกเชื้อ 4 สัปดาห์ และนำมาคำนวณดัชนีความรุนแรงของโรค (Disease severity index; DSI) แล้วจัดระดับความต้านทานจากลักษณะอาการภายใน พบว่ากล้วย จำนวน 19 สายพันธุ์/พันธุ์ (HB022, HB024, HB065, HB073, HB075, HB077, HB090, HB098, HB102, HB106, HB166, HB177, HB199, HB221, HB222, HB233, HB243, HB244 และ HB248) มีความต้านทานต่อเชื้อรา *Foc* TR4 ในระดับ Highly Susceptible (HS) ซึ่งมีดัชนีความรุนแรงของโรค 66.67-100% ส่วนกล้วยพันธุ์ HB061 มีระดับความต้านทาน Susceptible (S) ซึ่งมีดัชนีความรุนแรงของโรค 40.91% (Figure 1) และเมื่อนำเนื้อเยื่อภายในของต้นกล้ากล้วยมาแยกเชื้อกลับเพื่อยืนยันถึงสาเหตุการเกิดโรค พบเชื้อรา *Foc* TR4 ในทุกตัวอย่างเนื้อเยื่อกล้วยที่แสดงอาการของโรค

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการประเมินลักษณะอาการของสายพันธุ์/พันธุ์กล้วย 20 สายพันธุ์/พันธุ์ เมื่อสังเกตุลักษณะอาการ หลังจากปลูกเชื้อ 4 สัปดาห์ และนำมาคำนวณดัชนีความรุนแรงของโรค (Disease severity index; DSI) แล้วจัดระดับความต้านทานจากลักษณะอาการภายใน พบว่ากล้วย จำนวน 19 สายพันธุ์/พันธุ์ (HB022, HB024, HB065, HB073, HB075, HB077, HB090, HB098, HB102, HB106, HB166, HB177, HB221, HB222, HB233, HB243, HB244 และ HB248) มีความต้านทานต่อเชื้อรา *Foc* TR4 ในระดับ Highly Susceptible (HS) ซึ่งมีดัชนีความรุนแรงของโรค 66.67-100% ส่วนกล้วยพันธุ์ HB061 มีระดับความต้านทาน Susceptible (S) ซึ่งมีดัชนีความรุนแรงของโรค 40.91% และเมื่อนำเนื้อเยื่อภายในของต้นกล้ากล้วยมาแยกเชื้อกลับเพื่อยืนยันถึงสาเหตุการเกิดโรค พบเชื้อรา *Foc* TR4 ในทุกตัวอย่างเนื้อเยื่อกล้วยที่แสดงอาการของโรค

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ดร. พรพิมล อธิปัญญาคม คุณศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช อดีตผู้เชี่ยวชาญด้านโรคพืช ที่ให้คำแนะนำในการทดลอง สมาชิกห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช ที่ให้ความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างและดำเนินการทดลอง

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: HB061 and B: HB073

ศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวยาสูบ (*Bemisia tabaci* (Gennadius)) ในโหระพา/กะเพรา เพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้

Efficacy of selected insecticides against tobacco 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

Abstract

The study of the efficacy of selected insecticides against tobacco 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, from May to June 2022, and in the Bang Ngam sub-district, Si Prachan district, Suphan Buri province, from February to March 2024. The experiments were conducted in RCB with four replications and six treatments. The results revealed that insecticides including flonicamid 50% WG at a rate of 20 g per 20 litres of water (group 29), spirotetramat 15% OD at a rate of 20 ml per 20 litres of water (group 23), spiromesifen 24% SC at a rate of 20 millilitres per 20 liters of water (group 23), and buprofezin 40% SC at a rate of 30 ml per 20 litres of water (group 16), were effective in controlling tobacco whitefly (*B. tabaci*) on holy basil. However, sulfoxaflor 50% WG at a rate of 10 grams per 20 liters of water (group 4C) showed slightly less efficacy. Additionally, it was found that the average number of tobacco whiteflies was statistically significantly lower in treated populations compared to the untreated treatment. Throughout the experiment, no phytotoxic symptoms were observed on holy basil plants treated with flonicamid 50% WG, spirotetramat 15% OD, spiromesifen 24% SC, buprofezin 40% SC and sulfoxaflor 50% WG in both

รหัสการทดลอง FF65-57-01-65-00-01-65

experimental trials. Therefore, to effectively control tobacco whitefly (*B. tabaci*), it is recommended to apply flonicamid 50% WG at a rate of 20 grams per 20 litres of water (group 29) or spirotetramat 15% OD at a rate of 20 millilitres per 20 litres of water (group 23) or spiromesifen 24% SC at a rate of 20 millilitres per 20 litres of water (group 23) or buprofezin 40% SC at a rate of 30 milliliters per 20 liters of water (group 16) or sulfoxaflor 50% WG at a rate of 10 grams per 20 liters of water (group 4C). Insecticide spraying should be applied when the average number of whiteflies exceeds five individuals per plant (comprising both nymph and adult stages), with three applications continuously every seven days.

Keywords : *Bemisia tabaci*, holy basil, insecticides, European Union (EU)

บทคัดย่อ

การศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวยาสูบ (*Bemisia tabaci* (Gennadius)) ในกะเพราเพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้ ดำเนินการที่แปลงปลูกกะเพราของเกษตรกรตำบลห้วยหมอนทอง อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ระหว่างเดือนพฤษภาคม - มิถุนายน 2565 และที่แปลงเกษตร ตำบลบางงาม อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์- มีนาคม 2567 โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) มี 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี พบว่า สาร flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 29) สาร spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23) สาร spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23) และสาร buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 16) มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบได้ดี ส่วนสาร sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 4C) มีประสิทธิภาพรองลงมา ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ตลอดการทดลองไม่พบอาการเป็นพิษต่อพืช (phytotoxicity) ของสาร flonicamid 50% WG สาร spirotetramat 15% OD สาร spiromesifen 24% SC สาร buprofezin 40% SC และสาร sulfoxaflor 50% WG ดังนั้นจึงแนะนำให้ใช้ สาร flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 29) หรือ spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร(กลุ่ม 23) หรือ spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23) หรือ buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 16) หรือ sulfoxaflor 50% WG (กลุ่ม 4C) อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ควรพ่นเมื่อพบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยมากกว่า 5 ตัว/ต้น (ระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัย) โดยพ่นสารติดต่อกัน 3 ครั้งห่างกัน 7 วัน มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบได้

คำหลัก : แมลงหวี่ขาวยาสูบ, กะเพรา, สารป้องกันกำจัดแมลง, สหภาพยุโรป

คำนำ

ประเทศไทยมีการส่งออกผักและผลไม้สดไปยังสหภาพยุโรปเป็นปริมาณมาก และเป็นรายได้ที่สำคัญของประเทศ โดยพืชผักที่ส่งไปกลุ่มสหภาพยุโรป (EU) ได้แก่ กะเพรา โหระพา ผักชีฝรั่ง มะเขือเปราะ มะระ พริก สินค้าเหล่านี้ส่วนใหญ่ถูกนำไปใช้ในกิจการร้านอาหารไทยในต่างประเทศ และพบว่ามีแมลงศัตรูพืชกักกันติดไปกับสินค้าผักและผลไม้ของไทยอย่างต่อเนื่อง ได้แก่ เพลี้ยไฟฝ้าย หนอนแมลงวันชอนใบ แมลงหวี่ขาวยาสูบ และหนอนแมลงวันผลไม้ แมลงศัตรูกะเพราและโหระพาที่มีรายงาน ได้แก่ หนอนม้วนใบ (*Ophanostigma abruptalis* (Walker)) หนอนชอนใบ (*Liriomyza* sp.) หนอนกระทู้ผัก(*Spodoptera litura* (Fabricius)) หนอนเจาะสมอฝ้าย (*Helicoverpa armigera* (Hübner)) เพลี้ยไฟ (*Dorcadothrips* sp.) และมวนปีกแก้ว (*Monanthia globulifera* Walker) นอกจากนี้ยังพบเพลี้ยอ่อนยังไม่ทราบชื่อวิทยาศาสตร์ (เตือนจิตต์และคณะ, 2547) ซึ่งปัจจุบันแมลงหวี่ขาวยาสูบเป็นแมลงศัตรูพืชอีกชนิดหนึ่งที่พบในกะเพรา

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% พบว่าแมลงหวี่ขาวยาสูบอาจมี 44 ชนิด (genetic groups) ที่แตกต่างกันทางพันธุกรรม ในประเทศไทยผลจากการสำรวจพบว่าแมลงหวี่ขาวยาสูบที่พบส่วนใหญ่คือ *Bemisia tabaci* ชนิด Asia1 (Götz and Winter, 2016) นอกจากนี้แมลงหวี่ขาวยาสูบยังจัดเป็นแมลงศัตรูกักกันในกลุ่มสหภาพยุโรป เนื่องจากเป็นพาหะนำเชื้อไวรัสได้หลายชนิด (ดูรายละเอียดรายชื่อศัตรูกักกันได้ใน List of EU Quarantine Pests (https://eurl-insects-mites.anses.fr/en/minisite/insects-and-mites/list-eu-quarantine-pests)) ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของแมลงหวี่ขาวยาสูบดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบ ทำให้ใบหงิกงอและเหี่ยวแห้ง ต้นแคระแกร็น นอกจากนี้ยังเป็นพาหะนำเชื้อไวรัส พบระบาดมากในฤดูแล้ง 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 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 สำหรับการผลิตผักเพื่อการ

ส่งออกสหภาพยุโรป 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 40% SC (กลุ่ม 16) อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร หรือไวท์ออยล์ 67% EC อัตรา 150 มล./น้ำ 20 ลิตร เพื่อป้องกันการสร้างความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงของแมลงหวี่ขาวยาสูบ ไม่ควรใช้สารชนิดใดชนิดหนึ่งติดต่อกันเกิน 2 ครั้ง

จะเห็นได้ว่าคำแนะนำในการป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวมีการแนะนำให้ใช้สารเคมี ทั้งนี้เนื่องจากเป็นวิธีการที่สามารถลดจำนวนประชากรแมลงหวี่ขาวได้อย่างรวดเร็วในระยะเวลาอันสั้น และเพื่อลดปัญหาแมลงศัตรูพืชกักกันติดไปกับสินค้าผักและผลไม้ อย่างไรก็ตามปัจจุบันทางสหภาพยุโรปมีข้อบังคับห้ามใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชกลุ่มนีโอนิโคตินอยด์ (Neonicotinoids) เนื่องจากเป็นสารเคมีที่มีผลกระทบและก่อให้เกิดอันตรายต่อผึ้ง โดยเฉพาะสาร imidacloprid, clothianidin และ thiamethoxam ที่คณะกรรมาธิการยุโรปเสนอให้เห็นควรระงับการจำหน่ายและการใช้ (Askew, 2018) ซึ่งสาร imidacloprid ได้มีการยกเลิกการใช้ตั้งแต่ 1 ธันวาคม 2563 และสาร thiamethoxam ยกเลิกการใช้ตั้งแต่ 30 เมษายน 2562 (ข้อมูลจาก EU Pesticides Database) นอกจากนี้คณะกรรมาธิการยุโรปยังมีแผนเสนอข้อกำหนดการถอดถอนสารเคมีที่ใช้ป้องกันกำจัดศัตรูพืชกลุ่มที่เป็นสารรบกวนการทำงานของต่อมไร้ท่อ (endocrine disruptor) เพื่อความปลอดภัยของประชาชนและสิ่งแวดล้อม (European Commission - Press release, 2017) สารรบกวนการทำงานของต่อมไร้ท่อ หรือ Endocrine disrupting chemicals (EDC) ที่มีผลต่อสุขภาพของมนุษย์และมีความเสี่ยงก่อให้เกิดมะเร็ง ตัวอย่างสารฆ่าแมลงบางชนิดที่เป็นสารรบกวนการทำงานของต่อมไร้ท่อ ได้แก่ aldrin, allethrin, carbaryl, chlordane, cypermethrin, DDT, dieldrin, endosulfan, heptachlor, malathion และ permethrin เป็นต้น (Mnif *et al*., 2011) ซึ่งสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชดังกล่าวยังคงเป็นสารที่ใช้แนะนำให้กับเกษตรกรสำหรับการผลิตผักเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรป โดยเฉพาะสารเคมีที่แนะนำในการป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวส่วนมากอยู่ในกลุ่ม Neonicotinoids เพื่อให้เป็นไปตามข้อบังคับของกลุ่มสหภาพยุโรปจึงจำเป็นต้องตัดสารกลุ่มดังกล่าวออกจากคำแนะนำ ดังนั้นจึงต้องทำการศึกษาวิจัยเพื่อหาสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวยาสูบเพื่อทดแทนสารเคมีที่ไม่อนุญาตให้ใช้ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชสำหรับการผลิตผักเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป และใช้เป็นคำแนะนำสำหรับการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชในแปลงปลูกโหระพา/กะเพราให้กับเกษตรกร เพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพปลอดภัยเป็นไปตามข้อกำหนดการผลิตผักเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรปต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แปลงกะเพราของเกษตรกร
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

การทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงเพื่อการป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวยาสูบในกะเพรา 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 ไม่พ่นสารฆ่าแมลง

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 เมื่อพบแมลงหวี่ขาวยาสูบ (ตัวอ่อนและตัวเต็มวัย) เฉลี่ยมากกว่า 5 ตัว/ต้น พ่นสารทุก 7 วัน อย่างน้อย 2 ครั้ง หรือตามความเหมาะสมโดยเว้นระยะการพ่นตามการระบาดของแมลง นำข้อมูลจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ (โดยใช้โปรแกรม IRRISTAT) วิเคราะห์ความแปรปรวนหลังพ่นสารด้วยวิธี Analysis of Variance กรณีข้อมูลจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบก่อนพ่นสารแตกต่างกันทางสถิติ วิเคราะห์ความแปรปรวนหลังพ่นสารด้วยวิธี Analysis of Covariance จากนั้นเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของแต่ละกรรมวิธีด้วยวิธี DMRT

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

- จำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบ
- ผลกระทบต่อพืช

- ต้นทุนการใช้สารฆ่าแมลง

เวลาและสถานที่

เวลา วันที่เริ่มต้น ตุลาคม 2564 วันที่สิ้นสุด กันยายน 2566

สถานที่ กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร แปลงปลูกกะเพราของเกษตรกร ตำบลห้วยหมอนทอง อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม แปลงปลูกกะเพราของเกษตร ตำบลบางงาม อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวยาสูบ (*Bemisia tabaci* (Gennadius)) ในกะเพรา

แปลงที่ 1 ดำเนินการทดลองที่แปลงกะเพราของเกษตรกร ตำบลห้วยหมอนทอง อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม เดือนพฤษภาคม – มิถุนายน 2566

การศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวยาสูบ (*Bemisia tabaci* (Gennadius)) ในกะเพราเพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้ ก่อนการพ่นสารทดลองครั้งที่ 1 มีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธีระหว่าง 6.98-8.15 ตัวต่อต้น ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 1) ดังนั้นหลังพ่นสารฆ่าแมลงครั้งที่ 1 ที่ 3 5 และ 7 วัน จึงวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี Analysis of variance

หลังการพ่นสารครั้งที่ 1

ที่ 3 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลงมีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยระหว่าง 4.13-5.30 ตัวต่อต้น น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ซึ่งมีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 9.68 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่า กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 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 มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 4.13, 4.33, 4.43, 4.83 และ 5.30 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ (Table 1)

ที่ 5 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลงมีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยระหว่าง 4.30-5.80 ตัวต่อต้น น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ซึ่งพบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 11.78 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่า กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 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 มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 4.30, 4.90, 4.95, 5.30 และ 5.80 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ (Table 1)

ที่ 7 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลงมีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยระหว่าง 3.08-4.55 ตัวต่อต้น น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ที่มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 8.83 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสาร พบว่า กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 3.08 ตัวต่อต้น ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 3 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 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 ที่มีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 3.63 และ 4.03 ตัวต่อต้น ตามลำดับ (Table 1)

หลังการพ่นสารครั้งที่ 2

ก่อนการพ่นสารทดลองครั้งที่ 2 (ใช้ข้อมูลหลังพ่นสารครั้งที่ 1 ที่ 7 วัน เป็นข้อมูลก่อนพ่นสารครั้งที่ 2) จำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบในแต่ละกรรมวิธีระหว่าง 3.08-8.83 ตัวต่อต้น ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 1) ดังนั้นหลังพ่นสารฆ่าแมลงครั้งที่ 2 ที่ 3 5 และ 7 วัน จึงวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี Analysis of covariance

ที่ 3 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลงมีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยระหว่าง 1.85-2.83 ตัวต่อต้น น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ที่มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 9.18 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่ากรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 5 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 3 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 1.85, 1.98, 2.60, 2.80 และ 2.83 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ (Table 1)

ที่ 5 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลงมีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยระหว่าง 2.55-4.00 ตัวต่อต้น น้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ที่มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 11.15 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่า กรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 20 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 กรรมวิธีที่ 5 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 2.55, 2.78, 3.05, 3.13 และ 4.00 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ (Table 1)

ที่ 7 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลงมีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยระหว่าง 0.90-1.53 ตัวต่อต้น น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ที่มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 11.13 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่า 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 กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 0.90, 0.93, 1.05, 1.43 และ 1.53 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ (Table 1)

หลังการพ่นสารครั้งที่ 3

ก่อนการพ่นสารทดลองครั้งที่ 3 (ใช้ข้อมูลหลังพ่นสารครั้งที่ 2 ที่ 7 วัน เป็นข้อมูลก่อนพ่นสารครั้งที่ 3) มีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธีระหว่าง 0.90-11.13 ตัวต่อต้น ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 1) ดังนั้นหลังพ่นสารฆ่าแมลงครั้งที่ 3 ที่ 3 5 7 10 12 และ 14 วัน จึงวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี Analysis of covariance

ที่ 3 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลงมีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยระหว่าง 0.83-2.10 ตัวต่อต้น น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ที่มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 6.55 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่า กรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 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 มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 0.83, 1.00, 1.13, 1.23 และ 2.10 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ (Table 1)

ที่ 5 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลงมีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยระหว่าง 0.43-0.98 ตัวต่อต้น น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ที่มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 5.43 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสาร พบว่า กรรมวิธีที่ 5 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 0.43 ตัวต่อต้น ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 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 ที่มีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 0.53, 0.58 และ 0.65 ตัวต่อต้น ตามลำดับ (Table 1)

ที่ 7 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลงมีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยระหว่าง 0.35-0.98 ตัวต่อต้น น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ที่มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 6.95 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่า กรรมวิธีที่ 3 พ่น

spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 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 มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 0.35, 0.63, 0.63, 0.68 และ 0.98 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ (Table 1)

ที่ 10 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลงมีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยระหว่าง 0.29-0.80 ตัวต่อต้น น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ที่มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 2.93 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสาร พบว่า กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 0.29 ตัวต่อต้น ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 3 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 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 ที่มีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 0.34, 0.56 และ 0.61 ตัวต่อต้น ตามลำดับ (Table 1)

ที่ 12 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลงมีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยระหว่าง 0.40-0.65 ตัวต่อต้น น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ที่มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 4.48 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสาร พบว่า กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 5 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 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 มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 0.40, 0.40, 0.45, 0.58 และ 0.65 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ (Table 1)

ที่ 14 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลงมีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยระหว่าง 0.25-0.50 ตัวต่อต้น น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ที่มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 3.93 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่า กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 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 มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 0.25, 0.40, 0.40, 0.48 และ 0.50 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ (Table 1)

ต้นทุนการใช้สาร พบว่า การใช้สาร flonicamid 50% WG สาร spirotetramat 15% OD สาร spiromesifen 24% SC สาร sulfoxaflor 50% WG และสาร buprofezin 40% SC มีต้นทุนการใช้สารอยู่ที่ 400, 512, 280, 380 และ 105 บาท/ไร่/ครั้ง ตามลำดับ (Table 1)

ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารกำจัดแมลงไม่พบอาการเป็นพิษต่อกะเพรา

แปลงที่ 2 ดำเนินการทดลองที่แปลงกะเพราของเกษตรกร ตำบลบางงาม อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี เดือนกุมภาพันธ์ – มีนาคม 2567

การศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวยาสูบ (*Bemisia tabaci* (Gennadius)) ในกะเพราเพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้ ก่อนการพ่นสารทดลองครั้งที่ 1 มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธีระหว่าง 9.33-12.90 ตัวต่อต้น ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 2) ดังนั้นหลังพ่นสารฆ่าแมลงครั้งที่ 1 ที่ 3 5 และ 7 วัน จึงวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี Analysis of variance

หลังการพ่นสารครั้งที่ 1

ที่ 3 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลงมีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยระหว่าง 2.98-4.88 ตัวต่อต้น น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ซึ่งมีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 10.45 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่า กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 2.98 ตัวต่อต้น ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 5 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 4.88 ตัวต่อต้น แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 3 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 3.63, 4.05 และ 4.50 ตัวต่อต้น ตามลำดับ (Table 2)

ที่ 5 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลงมีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยระหว่าง 2.18-3.98 ตัวต่อต้น น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ซึ่งพบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 10.53 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่า กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 2.18 ตัวต่อต้น ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 5 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 3.98 ตัวต่อต้น แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 3 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ซึ่งมีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 3.13, 3.15 และ 3.40 ตัวต่อต้น ตามลำดับ (Table 2)

ที่ 7 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลงมีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยระหว่าง 3.18-5.40 ตัวต่อต้น น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ซึ่งพบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 14.95 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสาร พบว่า กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 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 มีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 3.18, 3.50, 3.88, 4.50 และ 5.40 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ (Table 2)

หลังการพ่นสารครั้งที่ 2

ก่อนการพ่นสารทดลองครั้งที่ 2 (ใช้ข้อมูลหลังพ่นสารครั้งที่ 1 ที่ 7 วัน เป็นข้อมูลก่อนพ่นสารครั้งที่ 2) มีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธีระหว่าง 3.18-14.95 ตัวต่อต้น ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 2) ดังนั้นหลังพ่นสารฆ่าแมลงครั้งที่ 2 ที่ 3 5 และ 7 วัน จึงวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี Analysis of covariance

ที่ 3 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลงมีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยระหว่าง 2.00-5.85 ตัวต่อต้น น้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ที่มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 10.43 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่า กรรมวิธีที่ 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 มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 2.00, 2.25 และ 2.55 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 5.85 ตัวต่อต้น แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 5 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 3.35 ตัวต่อต้น (Table 2)

ที่ 5 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลงมีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยระหว่าง 1.60-4.85 ตัวต่อต้น น้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ที่มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 8.05 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่า กรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 20 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 5 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 1.60, 1.95, 2.05 และ 2.63 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 4.85 ตัวต่อต้น (Table 2)

ที่ 7 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลงมีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยระหว่าง 3.03-6.45 ตัวต่อต้น น้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ที่มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 10.43 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่า กรรมวิธีที่ 3 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 3.03, 3.05, 3.25 และ 3.95 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติ

กับกรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ซึ่งมีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 6.45 ตัวต่อต้น (Table 2)

หลังการพ่นสารครั้งที่ 3

ก่อนการพ่นสารทดลองครั้งที่ 3 (ใช้ข้อมูลหลังพ่นสารครั้งที่ 2 ที่ 7 วัน เป็นข้อมูลก่อนพ่นสารครั้งที่ 3) มีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบในแต่ละกรรมวิธีระหว่าง 3.03-10.43 ตัวต่อต้น ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 2) ดังนั้นหลังพ่นสารฆ่าแมลงครั้งที่ 3 ที่ 3 5 7 10 12 และ 14 วัน จึงวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี Analysis of covariance

ที่ 3 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลง มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยระหว่าง 1.73-4.88 ตัวต่อต้น น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ที่มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 6.75 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่า กรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 1.73 ตัวต่อต้น ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 5 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ซึ่งมีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 3.20 และ 4.88 ตัวต่อต้น ตามลำดับ แต่กรรมวิธีที่ 2 ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 3 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยจำนวน 2.05 และ 2.18 ตัวต่อต้น ตามลำดับ (Table 2)

ที่ 5 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลง มีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยระหว่าง 1.28-4.55 ตัวต่อต้น น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ที่มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 6.95 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสาร พบว่า กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 3 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 1.28, 1.50 และ 1.70 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 5 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ กรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 3.58 และ 4.55 ตัวต่อต้น ตามลำดับ (Table 2)

ที่ 7 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลง มีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยระหว่าง 0.90-2.95 ตัวต่อต้น น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ที่มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 5.75 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสาร พบว่า กรรมวิธีที่ 3 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 0.90, 0.92, 0.98 และ 1.25 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างกันทาง

สถิติกับกรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 2.95 ตัวต่อต้น (Table 2)

ที่ 10 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลง มีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยระหว่าง 0.90-2.28 ตัวต่อต้น น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ที่มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 6.30 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสาร พบว่า กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 0.90 และ 1.08 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 2.28 ตัวต่อต้น แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 3 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 1.25 และ 1.60 ตัวต่อต้น ตามลำดับ (Table 2)

ที่ 12 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลง มีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยระหว่าง 0.65-2.63 ตัวต่อต้น น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ที่มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 5.95 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสาร พบว่า กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 3 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย0.65, 0.78, 0.95 และ 1.08 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 2.63 ตัวต่อต้น ตามลำดับ (Table 2)

ที่ 14 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลง มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยระหว่าง 1.33-2.18 ตัวต่อต้น น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ที่มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 5.07 ตัวต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่า กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 1.33 และ 1.40 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 2.18 ตัวต่อต้น แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 3 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ย 1.60 และ 1.88 ตัวต่อต้น ตามลำดับ (Table 2)

ต้นทุนการใช้สาร พบว่า การใช้สาร flonicamid 50% WG สาร spirotetramat 15% OD สาร spiromesifen 24% SC สาร sulfoxaflor 50% WG และสาร buprofezin 40% SC มีต้นทุนการใช้สารอยู่ที่ 400, 512, 280, 380 และ 105 บาท/ไร่/ครั้ง ตามลำดับ (Table 2)

ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารกำจัดแมลงไม่พบอาการเป็นพิษต่อกะเพรา

จากผลการทดลองข้างต้น ทั้งสองแปลงทดลองให้ผลที่สอดคล้องกัน คือ สารฆ่าแมลง flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 29) สาร spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23) สาร spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23) สาร buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 16) และสาร sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 4C) สามารถควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบได้ มีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยน้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร อย่างไรก็ตาม หากพ่นสารเคมีเมื่อพบแมลงหวี่ขาวยาสูบสูงกว่าค่าระดับเศรษฐกิจที่ตั้งไว้ (5 ตัว/ต้น) อาจทำให้ประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบลดลง ซึ่งเห็นได้จากแปลงทดลองที่ 2 (แปลงกะเพราของเกษตรกร ตำบลบางงาม อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี) ที่ก่อนพ่นสารครั้งที่ 1 มีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธีระหว่าง 9.33-12.90 ตัวต่อต้น ซึ่งสูงกว่าแปลงทดลองที่ 1 (แปลงกะเพราของเกษตรกร ตำบลห้วยหมอนทอง อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม) ที่มีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธีระหว่าง 6.98-8.15 ตัวต่อต้น ซึ่งอาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้สาร sulfoxaflor 50% WG มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบลดลง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวยาสูบ (*Bemisia tabaci* (Gennadius)) ในกะเพราเพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้ ดำเนินการที่แปลงปลูกกะเพราของเกษตรกรตำบลห้วยหมอนทอง อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ระหว่างเดือนพฤษภาคม - มิถุนายน 2565 และที่แปลงเกษตร ตำบลบางงาม อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์- มีนาคม 2567 โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) มี 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ได้แก่ 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) เปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร พบว่า สาร flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 29) สาร spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23) สาร spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23) และสาร buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 16) มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบได้ดี ส่วนสาร sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัม

ต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 4C) มีประสิทธิภาพรองลงมา ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีจำนวนแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร และไม่พบความเป็นพิษกับกะเพรา ดังนั้นจึงแนะนำให้ใช้ สาร flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 29) หรือ spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร(กลุ่ม 23) หรือ spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23) หรือ buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 16) หรือ sulfoxaflor 50% WG (กลุ่ม 4C) อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ควรพ่นเมื่อพบแมลงหวี่ขาวยาสูบเฉลี่ยมากกว่า 5 ตัว/ต้น (ระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัย) โดยพ่นสารติดต่อกัน 3 ครั้งห่างกัน 7 วัน มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบได้

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนเงินอุดหนุนเพื่อการวิจัยจากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ผ่านทางแผนปฏิบัติงานโครงการวิจัยกรมวิชาการเกษตร คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณที่ได้ให้การสนับสนุนการดำเนินงานโครงการวิจัย ขอขอบพระคุณคณะผู้เชี่ยวชาญ และคณะกรรมการ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และกรมวิชาการเกษตร ที่ให้คำเสนอแนะ และข้อปรับปรุงต่าง ๆ ในการดำเนินการทดลองนี้ ขอขอบคุณเกษตรกรเจ้าของแปลงที่เอื้อเฟื้อแปลงปลูกกะเพราสำหรับดำเนินงานทดลอง ขอขอบคุณพนักงานราชการและเจ้าหน้าที่กลุ่มบริหารศัตรูพืช ที่ให้การช่วยเหลืองานวิจัยทุกท่าน ทำให้การดำเนินงานในโครงการวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2553. *คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืชปี ปี 2553*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 303 หน้า.

กลุ่มบริหารศัตรูพืชและกลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2559. *แมลงศัตรูผัก เห็ด และไม้ดอก*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 106 หน้า.

เตือนจิตต์ สัตยาวิรุทธ์ ไพศาล รัตนเสถียร อัจฉรา หวังอาษา และวรจิต ผาภูมิ. 2547. ชนิดและปริมาณแมลงศัตรูที่สำคัญของพืชผักสวนครัวส่งออก 3 ชนิด (กะเพรา โหระพา และผักชีฝรั่ง). รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มปี 2547 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. หน้า 319-326.

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.

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)	Cost (Bath/Rai/time)[1/]	Mean number of whitefly/1 plant of holy basil (nymph and adult)											
			Before application	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	400	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	512	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	280	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	380	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	105	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
C.V. (%)	**-**		**13.4**	**24.1**	**18.1**	**14.3**	**38.6**	**37.2**	**82.2**	**35.3**	**22.4**	**25.5**	**31.3**	**31.8**	**26.9**
R.E. (%)	**-**		**-**	**-**	**-**	**-**	**26.7**	**26.5**	**28.0**	**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 (average from 4 replications)

R.E. stands for Relative Efficacy

[1/] Spray volume: 100 liters/rai

Table 2 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: Bang Ngam sub-district, Si Prachan district, Suphan Buri pr ovince, between February and March 2024

Treatment	Rate (per 20 liters of water)	Cost (Bath/Rai/ time)[1/]	Mean number of whitefly/1 plant of holy basil (nymph and adult)												
			Before application	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	400	9.90	2.98 a	2.18 a	3.18 a	2.55 a	2.05 a	3.05 a	2.05 ab	1.28 a	0.98 a	0.90 a	0.65 a	1.33 a
2. spirotetramat 15% OD (gr. 23)	20 ml	512	12.90	4.05 ab	3.13 ab	3.50 a	2.25 a	1.60 a	3.25 a	1.73 a	1.50 a	0.92 a	1.08 a	0.95 a	1.88 ab
3. spiromesifen 24% SC (gr. 23)	20 ml	280	10.30	4.50 ab	3.40 ab	3.88 a	2.00 a	1.95 a	3.03 a	2.18 ab	1.70 a	0.90 a	1.25 ab	0.78 a	1.60 ab
4. sulfoxaflor 50% WG (gr. 4C)	10 g	380	9.33	3.63 ab	3.15 ab	5.40 a	5.85 b	4.85 b	6.45 b	4.88 c	4.55 b	2.95 b	2.28 b	2.63 b	2.18 b
5. buprofezin 40% SC (gr. 16)	30 ml	105	10.70	4.88 b	3.98 b	4.50 a	3.35 ab	2.63 a	3.95 a	3.20 b	3.58 b	1.25 a	1.60 ab	1.08 a	1.40 a
6. untreated	-	-	10.35	10.45 c	10.53 c	14.95 b	10.43 c	8.05 c	10.43 c	6.75 d	6.95 c	5.75 c	6.30 c	5.95 c	5.08 c
C.V. (%)	**-**	**-**	**24.3**	**19.8**	**22.0**	**30.2**	**36.8**	**31.7**	**14.8**	**17.8**	**22.0**	**35.7**	**27.7**	**34.8**	**17.2**
R.E. (%)	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**40.2**	**34.5**	**61.4**	**43.8**	**31.9**	**27.1**	**32.3**	**27.0**	**27.2**

Means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT (average from 4 replications)

R.E. stands for Relative Efficacy

[1/] Spray volume: 100 liters/rai

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 เจษฎารมย์

กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

The study on the efficacy of insecticides for controlling cotton aphid (*Aphis gossypii* Glover) on sweet basil, aiming to replace banned insecticides for the European Union (EU), was conducted at two sweet basil plantations in the Nong Ngu Luam sub-district, Muang district, Nakhon Pathom province. The study took place during September-October 2022 and June 2023. The experiments were arranged in a Randomized Complete Block design (RCB) with four replicates, each consisting of six treatments: 3 g of flonicamid 50% WG per 20 litres of water (group 29), 20 ml of buprofezin 40% SC per 20 litres of water (group 16), 40 ml of lambda-cyhalothrin 2.5% CS per 20 litres of water (group 3A), 10 ml of spirotetramat 15% OD per 20 litres of water (group 23), 15 ml of spinetoram 12% SC per 20 litres of water (group 5), and untreated. The results demonstrated the effectiveness of all synthetic insecticides in controlling cotton aphids, with no significant differences observed among the various treatments. These treatments demonstrated a significantly lower average number of cotton aphids compared to the untreated treatment. Additionally, there were no symptoms of phytotoxic damage to the plants. Therefore, it is recommended to use spirotetramat 15% OD at doses of 10 ml per 20 liters of water (Group 23), lambda-cyhalothrin 2.5% CS at doses of 40 ml per 20 liters of water (Group 3A), flonicamid 50% WG at doses of 3 g per 20 liters of water (Group 29), buprofezin 40% SC at doses of 20 ml

รหัสการทดลอง FF65-57-01-65-00-02-65

per 20 liters of water (Group 16), spinetoram 12% SC at doses of 15 ml per 20 liters of water (Group 5). Apply the insecticides when the economic threshold of cotton aphids exceeds two individuals per plant, spraying twice with a 7-day interval for effective control.

Keywords : cotton aphid, basil, insecticides

บทคัดย่อ

การศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนฝ้าย (*Aphis gossypii* Glover) ในโหระพา/กะเพรา เพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้ ดำเนินการทดลองในแปลงปลูกโหระพาของเกษตรกรที่ ตำบลหนองงูเหลือม อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม จำนวน 2 แปลงทดลอง ระหว่างเดือนกันยายน - ตุลาคม 2565 และเดือนมิถุนายน 2566 ตามลำดับ โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) มี 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ได้แก่ กรรมวิธีพ่นสาร flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 29), สาร buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 16), สาร lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 3A), สาร spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23), สาร spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 5) และกรรมวิธีไม่พ่นสาร ผลการทดลองพบว่า ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารสามารถกำจัดเพลี้ยอ่อนฝ้ายในโหระพาได้ดีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และพบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารกำจัดแมลง ตลอดการทดลองไม่พบอาการเป็นพิษต่อพืชกับต้นโหระพาทั้งสองการทดลอง ดังนั้นจึงแนะนำให้ใช้สาร spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23) หรือสาร lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 3A) หรือสาร flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 29) หรือสาร buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 16) หรือสาร spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 5) นำไปพ่นเมื่อพบการระบาดของเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยมากกว่า 2 ตัวต่อต้น โดยพ่นสารติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน มีประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยอ่อนฝ้ายได้

คำหลัก : เพลี้ยอ่อนฝ้าย, โหระพา, สารป้องกันกำจัดแมลง

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 มีประโยชน์

และสรรพคุณทางยา 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) มีคำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชในกะเพรา (Holy Basil) และโหระพา (Sweet Basil) คือ เพลี้ยไฟ (*Bathrips melacornis* และ *Dorcadothrips* sp.) และ หนอนเจาะสมอฝ้าย (*Helicoverpa armigera*) เท่านั้น ส่วนการป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนฝ้ายจะอยู่ในคำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชในฝ้ายและกระเจี๊ยบเขียว ซึ่งจัดเป็นพืชคนละกลุ่มกับโหระพา

เพลี้ยอ่อนฝ้าย (cotton aphid) *Aphis gossypii* Glover จัดอยู่ในอันดับ Hemiptera วงศ์ Aphididae เพลี้ยอ่อนเป็นแมลงปากดูดขนาดเล็ก ขนาด 1-2 มิลลิเมตร ตัวอ่อนมีการลอกคราบเป็น ระยะ 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 มิลลิลิตรต่อน้ำ 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 ส่วนสารอีโทเฟนพรอกซ์

ก็กำลังจะสิ้นสุดการอนุญาตให้ใช้สำหรับการผลิตพืชเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรปในปี พ.ศ. 2566 นี้ (European Commission, 2022) ดังนั้นจึงต้องทำการศึกษาวิจัยเพื่อหาสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชมีประสิทธิภาพและเหมาะสมมาทดแทน เพื่อใช้เป็นคำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชในแปลงปลูกโหระพา/กะเพราให้กับเกษตรกร และได้ผลผลิตที่มีคุณภาพและปลอดภัย ตามข้อกำหนดการผลิตผักเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรปได้ต่อไป

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

ดำเนินการทดลองในแปลงโหระพาของเกษตรกร แปลงปลูกแบบสภาพสวน ขนาดแปลงย่อย 5x7 เมตร ระยะห่างระหว่างต้น 30 เซนติเมตร 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 กรณีข้อมูลจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายก่อนพ่นสารไม่แตกต่าง

กันทางสถิติ วิเคราะห์ความแปรปรวนหลังพ่นสารด้วยวิธี Analysis of Variance กรณีข้อมูลจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายก่อนพ่นสารแตกต่างกันทางสถิติ วิเคราะห์ความแปรปรวนหลังพ่นสารด้วยวิธี Analysis of Covariance จากนั้นเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของแต่ละกรรมวิธีด้วยวิธี DMRT

การบันทึกข้อมูล

- จำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้าย
- ผลกระทบต่อพืช
- ต้นทุนการใช้สารกำจัดแมลง

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2564 - สิ้นสุด กันยายน 2566

สถานที่ กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร แปลงปลูกโหระพาของเกษตรกร ตำบลหนองงูเหลือม อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม จำนวน 2 แปลง

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนฝ้าย (*Aphis gossypii* Glover) ในโหระพา/กะเพรา เพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้ วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ได้แก่ 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) และกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร ดำเนินการทดลองในแปลงโหระพาของเกษตรกร จำนวน 2 แปลงทดลอง ผลการทดลองมีดังนี้

แปลงทดลองที่ 1 ดำเนินการทดลองในแปลงโหระพาของเกษตรกร ที่ ตำบลหนองงูเหลือม อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม ในเดือนกันยายน - ตุลาคม 2565 (Table 1)

ก่อนพ่นสาร พบว่า มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 2.35 - 6.60 ตัวต่อต้น มีความแตกต่างกันทางสถิติ ดังนั้นหลังพ่นสารครั้งที่ 1 ที่ 3, 5 และ 7 วัน จึงวิเคราะห์ผลด้วยวิธี Analysis of Covariance

หลังพ่นสารครั้งที่ 1 แล้ว 3 วัน พบว่า กรรมวิธีที่ 4 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยที่สุด 1.48 ตัวต่อต้น ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ที่พบจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 3.55,

4.05 และ 4.68 ตัวต่อต้น ตามลำดับ แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 5 พ่น spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร ซึ่งมีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 8.50 และ 8.25 ตัวต่อต้น ตามลำดับ โดยกรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร

หลังพ่นสารครั้งที่ 1 แล้ว 5 วัน พบว่า กรรมวิธีที่ 4 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยที่สุด 0.78 ตัวต่อต้น ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ที่พบจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 3.75, 4.35 และ 4.40 ตัวต่อต้น ตามลำดับ แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 5 พ่น spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร ซึ่งมีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 5.05 และ 6.78 ตัวต่อต้น ตามลำดับ โดยกรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร

หลังพ่นสารครั้งที่ 1 แล้ว 7 วัน พบว่า กรรมวิธีที่ 4 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยที่สุด 1.28 ตัวต่อต้น ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 3.53, 4.10 และ 4.75 ตัวต่อต้น ตามลำดับ แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 5 พ่น spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร ซึ่งมีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 11.38 และ 9.95 ตัวต่อต้น ตามลำดับ โดยกรรมวิธีที่ 5 พ่น spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร

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 กรรมวิธีที่ 4 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อย

ที่สุด 0.10 ตัวต่อต้น ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 0.23, 1.05 และ 3.13 ตัวต่อต้น ตามลำดับ แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 5 พ่น spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร ซึ่งพบจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 7.20 และ 8.90 ตัวต่อต้น ตามลำดับ โดยกรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 5 พ่น spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร โดยกรรมวิธีที่ 5 พ่น spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 5 วัน พบว่า กรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 4 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ไม่พบเพลี้ยอ่อนฝ้ายทั้งสองกรรมวิธี ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ที่พบจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 0.73, 4.68 และ 6.30 ตัวต่อต้น ตามลำดับ โดยทุกกรรมวิธีที่พ่นสารพบจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร ซึ่งมีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 21.43 ตัวต่อต้น

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 7 วัน พบว่า กรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยที่สุด 0.05 ตัวต่อต้น ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 4 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 0.08, 0.15, 1.98 และ 4.43 ตัวต่อต้น ตามลำดับ โดยทุกกรรมวิธีที่พ่นสารพบจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร ซึ่งมีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 20.65 ตัวต่อต้น

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 10 วัน พบว่า กรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 4 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยที่สุดจำนวนเท่ากัน 0.03 ตัวต่อต้น ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ที่พบจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 1.03, 1.70 และ 8.20

ตัวต่อต้น ตามลำดับ แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร ซึ่งมีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 22.00 ตัวต่อต้น โดยกรรมวิธีที่ 5 พ่น spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 12 วัน พบว่า กรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยที่สุด 0.03 ตัวต่อต้น ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 4 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 0.08, 0.73, 1.20 และ 9.03 ตัวต่อต้น ตามลำดับ โดยทุกกรรมวิธีที่พ่นสารพบจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร ซึ่งมีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 25.48 ตัวต่อต้น

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 14 วัน พบว่า กรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 4 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ไม่พบเพลี้ยอ่อนฝ้ายทั้งสองกรรมวิธี ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 0.65, 2.00 และ 10.28 ตัวต่อต้น ตามลำดับ โดยทุกกรรมวิธีที่พ่นสารพบจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร ซึ่งมีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 24.75 ตัวต่อต้น

จากการพ่นสารทั้ง 6 กรรมวิธี ได้แก่ กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 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 ไม่พบอาการเป็นพิษต่อพืช (phytotoxicity) กับต้นโหระพาตลอดการทดลอง

เมื่อพิจารณาต้นทุนการพ่นสารกำจัดแมลงที่นำมาทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนฝ้ายในโหระพา/กะเพรา ในแปลงปลูกโหระพาของเกษตรกร โดยใช้อัตราพ่น 100 ลิตร/ไร่ พบว่า สารกำจัดแมลงที่มีต้นทุนการพ่นสารต่ำที่สุด คือ สาร flonicamid 50% WG มีต้นทุนการพ่นสาร 60 บาท/ไร่/ครั้ง รองลงมาคือ สาร buprofezin 40% SC, lambda-cyhalothrin 2.5% CS และ spirotetramat 15% OD มีต้นทุนการพ่นสาร 70, 85 และ 256 บาท/ไร่/ครั้ง ตามลำดับ และสารที่มีต้นทุนการพ่นสารแพงที่สุดคือ spinetoram 12% SC มีต้นทุนการพ่นสาร 375 บาท/ไร่/ครั้ง (Table 1)

แปลงทดลองที่ 2 ดำเนินการทดลองในแปลงโหระพาของเกษตรกร ที่ ตำบลหนองงูเหลือม อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม ในเดือนมิถุนายน 2566 (Table 2)

ก่อนพ่นสาร พบว่า จำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 5.90 - 6.98 ตัวต่อต้น ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ดังนั้นหลังพ่นสารครั้งที่ 1 ที่ 3, 5 และ 7 วัน จึงวิเคราะห์ผลด้วยวิธี Analysis of Variance

หลังพ่นสารครั้งที่ 1 แล้ว 3 วัน พบว่า กรรมวิธีที่ 4 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยที่สุด 3.58 ตัวต่อต้น ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 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 ที่มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 5.10, 5.25, 5.73 และ 6.23 ตัวต่อต้น ตามลำดับ โดยทุกกรรมวิธีที่พ่นสารพบจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร ซึ่งมีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 11.50 ตัวต่อต้น

หลังพ่นสารครั้งที่ 1 แล้ว 5 วัน พบว่า กรรมวิธีที่ 4 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยที่สุด 2.93 ตัวต่อต้น ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 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 ที่มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 3.03, 4.73, 5.78 และ 6.38 ตัวต่อต้น ตามลำดับ โดยทุกกรรมวิธีที่พ่นสารพบจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร ซึ่งมีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 17.08 ตัวต่อต้น

หลังพ่นสารครั้งที่ 1 แล้ว 7 วัน พบว่า กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยที่สุด 2.00 ตัวต่อต้น ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 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 ที่มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 2.13, 3.93, 5.30 และ 7.85 ตัวต่อต้น ตามลำดับ โดยทุกกรรมวิธีที่พ่นสารพบจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร ซึ่งมีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 19.88 ตัวต่อต้น

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 กรรมวิธีที่ 4 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยที่สุด 0.40 ตัวต่อต้น ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่

5 พ่น spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 0.43, 1.53, 2.60 และ 6.10 ตัวต่อต้น ตามลำดับ โดยทุกกรรมวิธีที่พ่นสารพบจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร ซึ่งมีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 19.08 ตัวต่อต้น

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 5 วัน พบว่า กรรมวิธีที่ 4 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยที่สุด 0.30 ตัวต่อต้น ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 0.35, 0.83, 2.38 และ 4.70 ตัวต่อต้น ตามลำดับ โดยทุกกรรมวิธีที่พ่นสารพบจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร ซึ่งมีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 20.58 ตัวต่อต้น

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 7 วัน พบว่า กรรมวิธีที่ 4 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยที่สุด 0.03 ตัวต่อต้น ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 0.13, 0.18, 1.90 และ 2.58 ตัวต่อต้น ตามลำดับ โดยทุกกรรมวิธีที่พ่นสารพบจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร ซึ่งมีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 19.38 ตัวต่อต้น

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 10 วัน พบว่า กรรมวิธีที่ 4 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยที่สุด 0.10 ตัวต่อต้น ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 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 ที่มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 0.18, 0.25, 0.85 และ 2.43 ตัวต่อต้น ตามลำดับ โดยทุกกรรมวิธีที่พ่นสารพบจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ซึ่งมีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 22.40 ตัวต่อต้น

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 12 วัน พบว่า กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยที่สุด 0.20 ตัวต่อต้น ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 4 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 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 ที่มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 0.23, 0.25, 0.63 และ 2.75 ตัวต่อต้น ตามลำดับ โดยทุกกรรมวิธีที่พ่นสารพบจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร ซึ่งมีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 22.60 ตัวต่อต้น

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 14 วัน พบว่า กรรมวิธีที่ 4 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยที่สุด 0.10 ตัวต่อต้น ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 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 ที่มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 0.15, 0.15, 0.23 และ 1.58 ตัวต่อต้น ตามลำดับ โดยทุกกรรมวิธีที่พ่นสารพบจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ซึ่งมีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 22.63 ตัวต่อต้น

จากการพ่นสารทั้ง 6 กรรมวิธี ได้แก่ กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 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 ไม่พบอาการเป็นพิษต่อพืช (phytotoxicity) กับต้นโหระพาตลอดการทดลอง

เมื่อพิจารณาต้นทุนการพ่นสารกำจัดแมลงที่นำมาทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนฝ้ายในโหระพา/กะเพรา ในแปลงปลูกโหระพาของเกษตรกร โดยใช้อัตราพ่น 100 ลิตร/ไร่ พบว่า สารกำจัดแมลงที่มีต้นทุนการพ่นสารต่ำที่สุด คือ สาร flonicamid 50% WG มีต้นทุนการพ่นสาร 60 บาท/ไร่/ครั้ง รองลงมาคือ สาร buprofezin 40% SC, lambda-cyhalothrin 2.5% CS และ spirotetramat 15% OD มีต้นทุนการพ่นสาร 70, 85 และ 256 บาท/ไร่/ครั้ง ตามลำดับ และสารที่มีต้นทุนการพ่นสารแพงที่สุดคือ spinetoram 12% SC มีต้นทุนการพ่นสาร 375 บาท/ไร่/ครั้ง (Table 2)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนฝ้าย (*Aphis gossypii* Glover) ในโหระพา/กะเพรา เพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้ ที่ ตำบลหนองงูเหลือม อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม ในระหว่างเดือนกันยายน - ตุลาคม 2565 และเดือนมิถุนายน 2566 จำนวน 2 แปลงทดลอง พบว่า สาร flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 29), สาร buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 16), สาร lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 3A), สาร spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23) และสาร spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 5) ทั้งสองแปลงทดลองให้ผลการทดลองที่สอดคล้องกัน โดยสารทั้ง 5 ชนิดสามารถกำจัดเพลี้ยอ่อนฝ้ายได้ดีไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารพบจำนวน

เพลี้ยอ่อนฝ้ายน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารกำจัดแมลง และตลอดการทดลองในทั้งสองแปลงทดลองไม่พบอาการเป็นพิษต่อพืช (phytotoxicity) ของสารทั้ง 5 ชนิดกับต้นโหระพา ดังนั้นจึงแนะนำให้ใช้สาร spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23) หรือสาร lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 3A) หรือสาร flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 29) หรือสาร buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 16) หรือสาร spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 5) โดยแนะนำให้พ่นสารเมื่อพบการระบาดของเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยมากกว่า 2 ตัวต่อต้น พ่นสารติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน มีประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยอ่อนฝ้ายได้

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเกษตรกรเจ้าของแปลงที่เอื้อเฟื้อแปลงปลูกสำหรับดำเนินงานทดลอง ขอขอบคุณพนักงานราชการและเจ้าหน้าที่กลุ่มบริหารศัตรูพืช ขอขอบคุณ คุณนันทนัช พินศรี นักกีฏวิทยาชำนาญการ และคุณสุธาธิณี ปานแก้ว ที่ให้การช่วยเหลืองานวิจัย ทำให้การดำเนินงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

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 ฉบับ*

ปรับปรุงแก้ไขเพิ่มเติม. 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: Search Active substances, safeners and synergists* (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.

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)	Cost (Baht/rai/time)[3/]	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	60	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	70	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	85	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	256	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	375	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. (%)[2/]				**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
[3/] Spray volume: 100 liters/rai

Table 2 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, June 2023

Treatment	Rate of application (g, ml/20 l of water)	Cost (Baht/rai/time)[3/]	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	60	6.75	5.73 a	5.78 a	5.30 ab	1.53 a	0.83 a	0.18 a	0.18 a	0.20 a	0.15 a
2. buprofezin 40% SC	20	70	5.90	5.25 a	4.73 a	3.93 ab	2.60 a	2.38 a	1.90 a	0.85 a	0.63 a	0.23 a
3. lambda-cyhalothrin 2.5% CS	40	85	6.33	5.10 a	3.03 a	2.13 a	0.43 a	0.35 a	0.13 a	0.25 a	0.25 a	0.15 a
4. spirotetramat 15% OD	10	256	6.23	3.58 a	2.93 a	2.00 a	0.40 a	0.30 a	0.03 a	0.10 a	0.23 a	0.10 a
5. spinetoram 12% SC	15	375	6.15	6.23 a	6.38 a	7.85 b	6.10 a	4.70 a	2.58 a	2.43 a	2.75 a	1.58 b
6. untreated (control)	-	-	6.98	11.50 b	17.08 b	19.88 c	19.08 b	20.58 b	19.38 b	22.40 b	22.60 b	22.63 c
C.V. (%)			**69.2**	**49.9**	**46.7**	**49.9**	**90.8**	**50.7**	**78.4**	**61.7**	**62.0**	**17.1**
R.E. (%)[2/]							**105.1**	**77.6**	**49.9**	**78.7**	**53.8**	**73.5**

[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
[3/]Spray volume: 100 liters/rai

Figure 1 A. Damage symptoms of cotton aphid on sweet basil
B. - C. Cotton aphids on sweet basil

Figure 2 A. Sweet basil plantation at Nong Ngu Luam sub-district, Muang district, Nakhon Pathom province, September - October 2022
B. Sweet basil plantation at Nong Ngu Luam sub-district, Muang district, Nakhon Pathom province, June 2023

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

Abstract

The study on the efficacy of insecticides against leafminers (*Liriomyza brassicae* (Riley)) on sweet basil, to replace substances prohibited by the European Union, was carried out in a Randomized Complete Block (RCB) design with four replications and six treatments. The treatments included spraying emamectin benzoate 1.92% EC at a rate of 30 millilitres per 20 Liters of water (group 6), spirotetramat 24% SC at a rate of 20 millilitres per 20 litres of water (group 23), cyantraniliprole 10% OD at a rate of 40 millilitres per 20 litres of water (group 28), sulfoxaflor 50% WG at a rate of 10 grams per 20 liters of water (group 4C), spiromesifen 24% SC at a rate of 30 milliliters per 20 liters of water (group 23), and an untreated treatment. The study was conducted in sweet basil fields of farmers in Nong Ngu Leaum sub-district, Mueang district, Nakhon Pathom province, Wang Khanai sub-district, Tha Muang district, Kanchanaburi province, and Bang Ngam sub-district, Sri Prachan district, Suphanburi province, from January 2022 to February 2024. Leafminer infestation in sweet basil fields was monitored from the seedling stage until harvesting, including the post-harvest period. Additionally, an artificial outbreak was induced, and other host plant species of leafminer were cultivated to attract the target insects. However, due to the low leafminer infestation, the experimental procedures could not be carried out as planned.

Keywords : leafminer, basil, insecticides

รหัสการทดลอง FF65-57-01-65-00-03-65

บทคัดย่อ

การศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดหนอนแมลงวันชอนใบ (*Liriomyza brassicae* (Riley)) ในโหระพา/กะเพราเพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้ โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) มี 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ได้แก่ กรรมวิธีพ่นสาร emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 6), สาร spirotetramat 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23), cyantraniliprole 10% OD อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 28), สาร sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 4C), สาร spiromesifen 24% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23) และกรรมวิธีไม่พ่นสาร ได้ดำเนินการศึกษาในแปลงปลูกโหระพาของเกษตรกรในพื้นที่ ตำบลหนองงูเหลือม อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม ตำบลวังขนาย อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี และตำบลบางงาม อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี ในระหว่างเดือนมกราคม 2565 – กุมภาพันธ์ 2567 จากการติดตามการระบาดของหนอนแมลงวันชอนใบในโหระพาในแปลงปลูกตั้งแต่ระยะหลังย้ายกล้าปลูกจนถึงระยะเก็บเกี่ยว และระยะหลังตัดยอดโหระพา พร้อมกับการทำการระบาดเทียม รวมถึงการปลูกพืชอาหารชนิดอื่นของหนอนแมลงวันชอนใบในแปลงข้างเคียงเพื่อล่อแมลงเป้าหมาย แต่พบว่าหนอนชอนใบมีการระบาดต่ำ จึงไม่สามารถดำเนินการทดลองตามกรรมวิธีที่วางแผนไว้ได้

คำหลัก : หนอนแมลงวันชอนใบ, โหระพา, สารป้องกันกำจัดแมลง

คำนำ

โหระพา (sweet basil) *Ocimum basilicum* Linn และกะเพรา (holy basil) *O. tenuiflorum* Linn. หรือ *O. sanctum* Linn (เต็ม, 2523; สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าพืช, 2556) เป็นพืชผักสวนครัวและเป็นพืชผักสมุนไพรที่เป็นที่นิยมปลูกกันทั่วไปในประเทศไทย สามารถใช้ใบเป็นผักสดกินกับอาหาร หรือนำมาประกอบอาหารเมนูต่าง ๆ ได้ และมีกลิ่นหอมเฉพาะตัว รวมถึงการมีสรรพคุณทางยาด้วย 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) เนื่องจากโหระพา/กะเพรา อยู่ในรายชื่อผัก 22 ชนิดภายใต้มาตรการควบคุมพิเศษระบบบัญชีรายชื่อโรงคัดบรรจุ (Establishment List: EL) สำหรับผักผลไม้สดส่งออกไปสหภาพยุโรป นอร์เวย์และสมาพันธรัฐสวิส (สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าพืช, 2556) โดยจากรายงานของหน่วยงานอารักขาพืชของสมาพันธ์ยุโรปและตะวันออกกลาง (European and Mediterranean Plant Protection Organization : EPPO) พบว่า ประเทศไทยมีประวัติการรายงานการพบหนอนแมลงวันชอนใบ

(*Liriomyza* sp.) ติดไปกับโหระพา/กะเพรา ไปยังประเทศปลายทางหลายครั้ง ได้แก่ ประเทศฝรั่งเศส สาธารณรัฐเช็ก และสวีเดน (EPPO Secretariat, 2009) ทำให้การส่งออกผักไปยังต่างประเทศ โดยเฉพาะสหภาพยุโรปนั้น เกษตรกรต้องให้ความสำคัญเกี่ยวกับการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชและควบคุมการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชตามข้อกำหนดของสหภาพยุโรป เพราะหากพบว่าสารพิษต้องห้ามและแมลงศัตรูพืชกักกันเกินปริมาณที่กำหนดก็จะสั่งระงับการนำเข้า ส่งผลกระทบต่อรายได้เกษตรกรและประเทศสูญเสียรายได้จากการส่งออกด้วย โดยแมลงศัตรูพืชที่สำคัญของพืชกลุ่มกะเพรา โหระพา แมงลักและผักชี ที่มีความสำคัญและมีคำแนะนำให้ป้องกันกำจัด ได้แก่ แมลงหวี่ขาว ยาสูบ หนอนชอนใบ เพลี้ยไฟโหระพา เพลี้ยอ่อนฝ้าย และหนอนเจาะสมอฝ้าย (สัญญาณีและคณะ, 2560) ซึ่งจากการสำรวจชนิดและปริมาณแมลงศัตรูกะเพรา 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 และกลุ่มกีฏและสัตววิทยา (2553) ได้มีคำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชในกะเพรา (Holy Basil) และโหระพา (Sweet Basil) คือ เพลี้ยไฟ (*Bathrips melacornis* และ *Dorcadothrips* sp.) และ หนอนเจาะสมอฝ้าย (*Helicoverpa armigera*) เท่านั้น โดยสุเทพและพวงผกา (2556) ได้ทำการศึกษาการคัดเลือกสารป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวและหนอนชอนใบในผักสวนครัว (กะเพรา โหระพา และแมงลัก) ซึ่งได้สำรวจการระบาดของแมลงศัตรูชนิดต่าง ๆ บนกะเพราหลังตัดยอดประมาณ 7 วัน พบการระบาดของเพลี้ยไฟ 2 ชนิด ได้แก่ *Bathrips melanicornis* และ *Dorcadothrips* sp.

สำหรับข้อมูลทั่วไปของหนอนแมลงวันชอนใบ (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 และ

เผาทำลายใบพืชที่ถูกแมลงวันหนอนชอนใบทำลาย 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 ที่มีคำแนะนำการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเมื่อพบการระบาดในโหระพาเพียงสองชนิด 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; สัญญาณีและคณะ, 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

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

การบันทึกข้อมูล

- เปอร์เซ็นต์พื้นที่ใบที่ถูกทำลายจากหนอนแมลงวันชอนใบ
- ผลกระทบต่อพืช
- ต้นทุนการใช้สารกำจัดแมลง

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2564 - สิ้นสุด กันยายน 2566

สถานที่ กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร แปลงปลูกโหระพาของเกษตรกรในพื้นที่ ตำบลหนองงูเหลือม อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม ตำบลวังขนาย อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี และ ตำบลบางงาม อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดหนอนแมลงวันชอนใบ (*Liriomyza brassicae* (Riley)) ในโหระพา/กะเพราเพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้ ได้ดำเนินการศึกษาในแปลงปลูกโหระพาของเกษตรกรในระหว่างเดือนมกราคม 2565 – กุมภาพันธ์ 2567 ในพื้นที่ตำบลหนองงูเหลือม อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม จำนวน 5 แปลงทดลอง ดำเนินการทดลองในแปลงปลูกโหระพาของเกษตรกรที่ตำบลวังขนาย อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี ซึ่งมีประวัติพบการระบาดของหนอนแมลงวันชอนใบ จำนวน 3 แปลงทดลอง ดำเนินการทดลองในแปลงปลูกโหระพาของเกษตรกรในพื้นที่ตำบลบางงาม อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี จำนวน 2 แปลงทดลอง จากการสำรวจศัตรูพืชในโหระพา พบว่าแมลงศัตรูพืชที่เข้าทำลายโหระพาได้แก่ เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน หนอนกระทู้ผัก แมลงหวี่ขาว และหนอนชอนใบ จากนั้นติดตามการระบาดของหนอนแมลงวันชอนใบในโหระพาตั้งแต่ระยะหลังย้ายกล้าปลูกจนถึงระยะเก็บเกี่ยว และระยะหลังตัดยอดโหระพา พร้อมกับการทำการระบาดเทียม รวมถึงการปลูกพืชอาหารชนิดอื่นของหนอนแมลงวันชอนใบในแปลงข้างเคียงเพื่อล่อแมลงเป้าหมาย พบว่าการระบาดของหนอนชอนใบอยู่ในระดับต่ำ พบรอยทำลายหนอนแมลงวันชอนใบน้อยกว่า 10% จึงไม่สามารถดำเนินการทดลองตามกรรมวิธีที่วางแผนไว้ได้ สาเหตุอาจเนื่องมาจากปัญหาเรื่องการให้น้ำในแปลงที่ไม่สม่ำเสมอ การระบาดของโรคราน้ำค้าง เกษตรกรมีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช และสภาพภูมิอากาศที่เปลี่ยนแปลง ทำให้ไม่เอื้ออำนวยต่อการระบาดของหนอนแมลงวันชอนใบ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดหนอนแมลงวันชอนใบ (*Liriomyza brassicae* (Riley)) ในโหระพา/กะเพราเพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้ ได้ดำเนินการศึกษาในแปลงปลูกโหระพาของเกษตรกรในพื้นที่ ตำบลหนองงูเหลือม อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม

ตำบลวังขนาย อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี และตำบลบางงาม อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี ในระหว่างเดือนมกราคม 2565 – กุมภาพันธ์ 2567 ทำการติดตามการระบาดของหนอนแมลงวันชอนใบในโหระพาตั้งแต่ระยะหลังย้ายกล้าปลูกจนถึงระยะเก็บเกี่ยว และระยะหลังตัดยอดโหระพา พร้อมกับการทำการระบาดเทียม รวมถึงการปลูกพืชอาหารชนิดอื่นของหนอนแมลงวันชอนใบในแปลงข้างเคียงเพื่อล่อแมลงเป้าหมาย แต่ไม่พบการระบาดของหนอนแมลงวันชอนใบในโหระพา จึงไม่สามารถดำเนินการทดลองตามกรรมวิธีที่วางแผนไว้ได้ สาเหตุอาจเนื่องมาจากปัญหาเรื่องการให้น้ำในแปลงที่ไม่สม่ำเสมอ การระบาดของโรคราน้ำค้าง เกษตรกรมีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช และการเปลี่ยนแปลงภูมิอากาศที่ทำให้สภาพอากาศแปรปรวน ทำให้ในพื้นที่ที่ทำการทดลองไม่เอื้ออำนวยต่อการระบาดของหนอนแมลงวันชอนใบ

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเกษตรกรเจ้าของแปลงที่เอื้อเฟื้อแปลงปลูกสำหรับดำเนินงานทดลอง ขอขอบคุณพนักงานราชการและเจ้าหน้าที่กลุ่มบริหารศัตรูพืช ที่ให้การช่วยเหลือในการดำเนินงานวิจัย

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.

สุเทพ สหายา และพวงผกา อ่างมณี. 2556. การคัดเลือกสารป้องกันกาจัดแมลงหวี่ขาวและหนอนชอนใบในผักสวนครัว (กะเพรา โหระพา และแมงลัก). หน้า 1517-1526. *ใน : รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2555.* สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

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).

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: Search Active substances, safeners and synergists* (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.

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

Abstract

The study on 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 conducted at a farmer's plantation in the Wang Khanai sub-district, Tha Muang District, Kanchanaburi province in February 2023, and in the Bang Ngam sub-district, Si Prachan district, Suphan Buri province, from March to April 2023. The experiments were carried out in a Randomized Complete Block (RCB) design with four replications and six treatments. The results revealed that all insecticides including flonicamid 50% WG at a rate of 3 g per 20 litres of water (group 29), buprofezin 40% SC at a rate of 20 ml per 20 litres of water (group 16), lambda-cyhalothrin 2.5% CS at a rate of 40 ml per 20 litres of water (group 3A), spirotetramat 15% OD at a rate of 10 ml per 20 litres of water (group 23), and spinetoram 12% SC at a rate of 15 ml per 20 litres of water (group 5), were effective in controlling cotton aphids (*A. gossypii*) on Chinese bitter melon, with statistically significantly lower population than untreated treatment. Throughout the experiment, no phytotoxic symptoms were observed on Chinese bitter melon plants treated with flonicamid 50% WG, buprofezin 40% SC, lambda-cyhalothrin 2.5% CS, spirotetramat 15% OD, and spinetoram 12% SC in both experimental trials. Therefore, to effectively control cotton aphids (*A. gossypii*), it is recommended to apply flonicamid 50% WG at

รหัสการทดลอง FF65-57-01-65-00-04-65

a rate of 3 g per 20 litres of water (group 29) or buprofezin 40% SC at a rate of 20 ml per 20 litres of water (group 16) or lambda-cyhalothrin 2.5% CS at a rate of 40 ml per 20 litres of water (group 3A) or spirotetramat 15% OD at a rate of 10 ml per 20 litres of water (group 23) or spinetoram 12% SC at a rate of 15 ml per 20 litres of water (group 5). Insecticide spraying should be applied when the damage caused by aphids (*A. gossypii*) exceeds 10%, twice every 7 days.

Keywords : cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover, Chinese bitter melon, insecticides, European Union (EU)

บทคัดย่อ

การศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนฝ้าย (*Aphis gossypii* Glover) ในมะระจีนเพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้ ดำเนินการทดลองที่แปลงเกษตรกรตำบลวังขนาย อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี ในเดือนกุมภาพันธ์ 2566 และแปลงเกษตรกรตำบลบางงาม อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนมีนาคม-เมษายน 2566 วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) มี 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี พบว่า สาร flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 29) สาร buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 16) สาร lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 3A) สาร spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23) และสาร spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 5) สามารถควบคุมเพลี้ยอ่อนฝ้ายได้ดี มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ตลอดการทดลองไม่พบอาการเป็นพิษต่อพืช (phytotoxicity) ของสาร flonicamid 50% WG สาร buprofezin 40% SC สาร lambda-cyhalothrin 2.5% CS สาร spirotetramat 15% OD และสาร spinetoram 12% SC กับมะระจีนทั้งสองการทดลอง ดังนั้นจึงแนะนำให้ใช้สาร flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 29) หรือ buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 16) หรือ lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 3A) หรือ spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23) หรือ spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 5) นำไปพ่นเมื่อพบเพลี้ยอ่อนฝ้ายทำลายมากกว่า 10% โดยพ่นสารติดต่อกัน 2 ครั้งห่างกัน 7 วัน ซึ่งมีประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยอ่อนฝ้ายได้

คำหลัก : เพลี้ยอ่อนฝ้าย, *Aphis gossypii* Glover, 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)) เพลี้ยอ่อนฝ้ายเป็นแมลงปากดูดขนาดเล็ก เป็นศัตรูของพืชผัก พืชไร่ และไม้ผลหลายชนิด 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 10% SL (กลุ่ม 4A) อัตรา 20 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) ซึ่งสาร imidacloprid 10% SL อยู่ในกลุ่ม Neonicotinoids โดยกลุ่มสหภาพยุโรป (EU) ได้รับการอนุมัติจากประเทศสมาชิกให้มีข้อบังคับห้ามใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชกลุ่ม Neonicotinoids เนื่องจากเป็นสารเคมีที่มีผลกระทบและก่อให้เกิดอันตรายต่อผึ้ง โดยเฉพาะสาร imidacloprid, clothianidin และ thiamethoxam โดยสาร imidacloprid ได้มีการยกเลิกการใช้ตั้งแต่ 1 ธันวาคม 2563 (ข้อมูลจาก EU Pesticides Database) ดังนั้นจึงต้องทำการศึกษาวิจัยเพื่อหาสารเคมีป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนฝ้ายในมะระจีนที่มีประสิทธิภาพและเหมาะสมมาทดแทน เพื่อใช้เป็นคำแนะนำสำหรับการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชในแปลงปลูกมะระจีนให้กับเกษตรกร และได้ผลผลิตที่มีคุณภาพปลอดภัยเป็นไปตามข้อกำหนดการผลิตผักเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรปต่อไป

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

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

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

- จำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้าย
- ผลกระทบต่อพืช
- ต้นทุนการใช้สารฆ่าแมลง

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2564 วันที่สิ้นสุด กันยายน 2566

สถานที่ กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

แปลงปลูกมะระจีนของเกษตรกร ตำบลวังขนาย อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี และ ตำบลบางงาม อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

แปลงที่ 1 ดำเนินการทดลองที่แปลงมะระจีนของเกษตรกร ตำบลวังขนาย อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี เดือนกุมภาพันธ์ 2566

การศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนฝ้าย (*Aphis gossypii* Glover) ในมะระจีนเพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้ ก่อนการพ่นสารทดลองครั้งที่ 1 พบจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายในแต่ละกรรมวิธีระหว่าง 1.86-3.00 ตัวต่อยอด (Table 1) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ดังนั้นหลังพ่นสารฆ่าแมลงครั้งที่ 1 ที่ 3, 5 และ 7 วัน จึงวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี Analysis of variance

หลังการพ่นสารครั้งที่ 1

ที่ 3 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีที่มีการพ่นสารฆ่าแมลง มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 0.35-0.70 ตัวต่อยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่ากรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 4 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 0.35, 0.42 และ 0.47 ตัวต่อยอด ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ที่มีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 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 มีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 0.56 และ 0.70 ตัวต่อยอด ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลงข้างต้นและกรรมวิธีไม่พ่นสาร (Table 1)

ที่ 5 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีที่มีการพ่นสารฆ่าแมลง มีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 0.41-0.88 ตัวต่อยอด น้อยกว่าแต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ซึ่งมีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 1.03 ตัวต่อยอด โดยกรรมวิธีที่ 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 กรรมวิธีที่ 5 พ่น spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยจำนวน 0.41, 0.47, 0.60, 0.70 และ 0.88 ตัวต่อยอด ตามลำดับ (Table 1)

ที่ 7 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีที่มีการพ่นสารฆ่าแมลงมีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 0.41-0.51 ตัวต่อยอด ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ซึ่งมีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 1.19 ตัวต่อยอด โดยกรรมวิธีที่ 5 พ่น spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 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 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 4 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยจำนวน 0.41, 0.42, 0.43, 0.50 และ 0.51 ตัวต่อยอด ตามลำดับ (Table 1)

หลังการพ่นสารครั้งที่ 2

ก่อนการพ่นสารทดลองครั้งที่ 2 (ใช้ข้อมูลหลังพ่นสารครั้งที่ 1 ที่ 7 วัน เป็นข้อมูลก่อนพ่นสารครั้งที่ 2) มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธีระหว่าง 0.41-1.19 ตัวต่อยอด (Table 1) ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติ ดังนั้นหลังพ่นสารฆ่าแมลงครั้งที่ 2 ที่ 3, 5, 7, 10, 12 และ 14 วัน จึงวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี Analysis of covariance

ที่ 3 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีที่มีการพ่นสารฆ่าแมลงมีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 0.18-0.33 ตัวต่อยอด น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ซึ่งมีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 0.75 ตัวต่อยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่ากรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 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 มีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยจำนวน 0.18, 0.25, 0.25, 0.27 และ 0.33 ตัวต่อยอด ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 1)

ที่ 5 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีที่มีการพ่นสารฆ่าแมลงมีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 0.16-0.78 ตัวต่อยอด น้อยกว่าแต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ซึ่งมีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 0.79 ตัวต่อยอด โดยกรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 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 มีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยจำนวน 0.16, 0.22, 0.28 0.30 และ 0.78 ตัวต่อยอด ตามลำดับ (Table 1)

ที่ 7 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีที่มีการพ่นสารฆ่าแมลงมีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 0.06-0.31 ตัวต่อยอด ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ซึ่งมีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 0.92 ตัวต่อยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่ากรรมวิธีที่ 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 กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยจำนวน 0.06, 0.07, 0.13, 0.14 และ 0.31 ตัวต่อยอด ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 1)

ที่ 10 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีที่มีการพ่นสารฆ่าแมลงมีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 0.11-0.66 ตัวต่อยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่ากรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 0.11 ตัวต่อยอด น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ซึ่งมีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 0.70 ตัวต่อยอด 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 มีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 0.21, 0.22, 0.24 และ 0.66 ตัวต่อยอด ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 1)

ที่ 12 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีที่มีการพ่นสารฆ่าแมลงมีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 0.11-0.49 ตัวต่อยอด ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ซึ่งพบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 1.78 ตัวต่อยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่า 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 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 มีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 0.11, 0.19, 0.24, 0.29 และ 0.49 ตัวต่อยอด ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 1)

ที่ 14 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีที่มีการพ่นสารฆ่าแมลง มีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 0.27-0.69 ตัวต่อยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่ากรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 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 มีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยจำนวน 0.27, 0.31, 0.50 และ 0.56 ตัวต่อยอด ตามลำดับ น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ซึ่งมีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 1.18 ตัวต่อยอด ขณะที่กรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 0.69 ตัวต่อยอด ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลงข้างต้นและกรรมวิธีไม่พ่นสาร (Table 1)

ต้นทุนการใช้สาร พบว่า การใช้สารฆ่าแมลง flonicamid 50% WG สาร buprofezin 40% SC สาร lambda-cyhalothrin 2.5% CS สาร spirotetramat 15% OD และสาร spinetoram 12% SC มีต้นทุนการใช้สารอยู่ที่ 60, 70, 85, 256 และ 375 บาท/ไร่/ครั้ง ตามลำดับ (Table 1)

ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารกำจัดแมลงไม่พบอาการเป็นพิษต่อมะระจีน

แปลงที่ 2 ดำเนินการทดลองที่แปลงมะระจีนของเกษตรกร ตำบลตำบลบางงาม อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี เดือนมีนาคม – เมษายน 2566

การศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนฝ้าย (*Aphis gossypii* Glover) ในมะระจีนเพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้ ก่อนพ่นสารทดลองครั้งที่ 1 มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายในแต่ละกรรมวิธีระหว่าง 2.74-3.39 ตัวต่อยอด (Table 2) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ดังนั้นหลังพ่นสารฆ่าแมลงครั้งที่ 1 ที่ 3, 5 และ 7 วัน จึงวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี Analysis of variance

หลังการพ่นสารครั้งที่ 1

ที่ 3 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีที่มีการพ่นสารฆ่าแมลง มีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 1.02-1.34 ตัวต่อยอด น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ซึ่งมีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 5.38 ตัวต่อยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่ากรรมวิธีที่ 4 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 5 พ่น spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 1.02, 1.03, 1.05, 1.17 และ 1.34 ตัวต่อยอด ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 2)

ที่ 5 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีที่มีการพ่นสารฆ่าแมลง พบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 0.39-1.00 ตัวต่อยอด น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ซึ่งมีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 7.58 ตัวต่อยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่ากรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 4 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 0.39, 0.81, 0.97, 0.98 และ 1.00 ตัวต่อยอด ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 2)

ที่ 7 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีที่มีการพ่นสารฆ่าแมลง มีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 1.47-4.31 ตัวต่อยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่า กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 4 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยจำนวน 1.47, 1.99 และ 2.66 ตัวต่อยอด ตามลำดับ น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ซึ่งมีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 7.39 ตัวต่อยอด ส่วนกรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยจำนวน 4.02 และ 4.31 ตัวต่อยอด ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง (Table 2)

หลังการพ่นสารครั้งที่ 2

ก่อนการพ่นสารทดลองครั้งที่ 2 (ใช้ข้อมูลหลังพ่นสารครั้งที่ 1 ที่ 7 วัน เป็นข้อมูลก่อนพ่นสารครั้งที่ 2) มีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธีจำนวน 1.47-7.39 ตัวต่อยอด (Table 2) ซึ่งมีความ

แตกต่างกันทางสถิติ ดังนั้นหลังพ่นสารฆ่าแมลงครั้งที่ 2 ที่ 3, 5, 7, 10, 12 และ 14 วัน จึงวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี Analysis of covariance

ที่ 3 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีที่มีการพ่นสารฆ่าแมลง มีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 0.91-1.97 ตัวต่อยอด น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ซึ่งมีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 10.31 ตัวต่อยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่ากรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 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 มีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยจำนวน 0.91, 1.19, 1.53, 1.72 และ 1.97 ตัวต่อยอด ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 2)

ที่ 5 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีที่มีการพ่นสารฆ่าแมลง มีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 0.31-0.86 ตัวต่อยอด น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ซึ่งมีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 13.73 ตัวต่อยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่ากรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 4 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 5 พ่น spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 0.31, 0.36, 0.70, 0.72 และ 0.86 ตัวต่อยอด ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 2)

ที่ 7 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลงมีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 0.03-0.95 ตัวต่อยอด ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ซึ่งมีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 26.92 ตัวต่อยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่า กรรมวิธีที่ 4 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 0.03, 0.08, 0.41, 0.91 และ 0.95 ตัวต่อยอด ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 2)

ที่ 10 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลงมีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 0.41-1.94 ตัวต่อยอด น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ซึ่งพบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 34.47 ตัวต่อยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่า กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 4 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 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 มีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 0.41, 0.67, 0.97, 1.78 และ 1.94 ตัวต่อยอด ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 2)

ที่ 12 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลงมีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 0.11-1.66 ตัวต่อยอด น้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ซึ่งมีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 12.63 ตัวต่อยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่า กรรมวิธีที่ 4 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 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 มีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 0.11, 0.16, 0.23, 1.38 และ 1.66 ตัวต่อยอด ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 2)

ที่ 14 วันหลังการพ่นสาร กรรมวิธีที่มีการพ่นสารฆ่าแมลงมีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 0.09-5.95 ตัวต่อยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่า กรรมวิธีที่ 4 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 1 พ่น flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 5 พ่น spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 2 พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 0.09, 0.17, 0.31 และ 2.05 ตัวต่อยอด ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ซึ่งพบเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 16.28 ตัวต่อยอด ขณะที่กรรมวิธีที่ 3 พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีเพลี้ยอ่อนฝ้ายเฉลี่ย 5.95 ตัวต่อยอด ซึ่งไม่แตกต่างอย่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสารข้างต้นและกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง (Table 2)

ต้นทุนการใช้สาร พบว่า การใช้สาร flonicamid 50% WG สาร buprofezin 40% SC สาร lambda-cyhalothrin 2.5% CS สาร spirotetramat 15% OD และสาร spinetoram 12% SC มีต้นทุนการใช้สารอยู่ที่ 60, 70, 85, 256 และ 375 บาท/ไร่/ครั้ง ตามลำดับ (Table 2)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนฝ้าย (*Aphis gossypii* Glover) ในมะระจีนเพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้ ดำเนินการทดลองที่แปลงเกษตรกรตำบลวังขนาย อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี ในเดือนกุมภาพันธ์ 2566 และแปลงเกษตรกรตำบลบางงาม อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนมีนาคม-เมษายน 2566 วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) มี 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ได้แก่ 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 มิลลิลิตรต่อ

น้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23) กรรมวิธีที่ 5 พ่น spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 5) กรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร พบว่าทั้งสองแปลงทดลองมีผลการทดลองที่สอดคล้องกัน คือ สาร flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 29) สาร buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 16) สาร lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 3A) สาร spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23) และสาร spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 5) สามารถควบคุมเพลี้ยอ่อนฝ้ายได้ดี ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีจำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารกำจัดแมลง ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารตลอดการทดลองไม่พบอาการเป็นพิษ (phytotoxicity) กับมะระจีน ดังนั้นสามารถเลือกใช้สารฆ่าแมลงชนิดใดชนิดหนึ่งเพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนฝ้ายในมะระจีน สารฆ่าแมลงที่แนะนำได้แก่ สาร flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 29) หรือ buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 16) หรือ lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 3A) หรือ spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23) หรือ spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 5) พ่นเมื่อพบเพลี้ยอ่อนฝ้ายทำลายมากกว่า 10% โดยพ่นสารติดต่อกัน 2 ครั้งห่างกัน 7 วัน มีประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยอ่อนฝ้ายได้

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนเงินอุดหนุนเพื่อการวิจัยจากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ผ่านทางแผนปฏิบัติงานโครงการวิจัยกรมวิชาการเกษตร คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณที่ได้ให้การสนับสนุนการดำเนินงานโครงการวิจัย ขอขอบพระคุณคณะผู้เชี่ยวชาญ และคณะกรรมการ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และกรมวิชาการเกษตร ที่ให้คำเสนอแนะ และข้อปรับปรุงต่างๆ ในการดำเนินการทดลองนี้ ขอขอบคุณเกษตรกรเจ้าของแปลงที่เอื้อเฟื้อแปลงปลูกมะระจีนสำหรับดำเนินงานทดลอง ขอขอบคุณพนักงานราชการและเจ้าหน้าที่กลุ่มบริหารศัตรูพืช ที่ให้การช่วยเหลืองานวิจัยทุกท่าน ทำให้การดำเนินงานในโครงการวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

สัญญาณี ศรีคชา สุเทพ สหายา สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น และพวงผกา อ่างมณี. 2560. *คู่มือการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช สำหรับการผลิตผักเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรป (ฉบับปรับปรุงแก้ไขเพิ่มเติม)*. กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 53 หน้า.

European Commission. 2024. EU Pesticides Database (online). https://food.ec.europa.eu/plants/pesticides/eu-pesticides-database_en, 11 March 2024.

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 in February 2023

Treatment	Rate (per 20 liters of water)	Cost (Bath/Rai/ time)[1/]	Mean number of cotton aphids /1 plant of Chinese bitter melon								
			Before application	After 1st application (days)			After 2rd application (days)				
				3	5	7	3	5	7	10	12	14
1. flonicamid 50% WG	3 g	60	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	20 ml	70	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	40 ml	85	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	10 ml	256	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	15 ml	375	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**	**44.0**	**75.6**	**36.2**	**66.2**	**144.8**	**76.3**	**96.9**	**119.5**	**67.4**
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 (average from 4 replications)

R.E. stands for Relative Efficacy

[1/] Spray volume: 100 liters/rai

Table 2 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: Bang Ngam sub-district, Si Prachan district, Suphan Buri province, from March to April 2023

Treatment	Rate (per 20 liters of water)	Cost (Bath/Rai/ time)[1/]	Mean number of cotton aphids /1 plant of Chinese bitter melon								
			Before application	After 1st application (days)			After 2rd application (days)				
				3	5	7	3	5	7	10	12	14
1. flonicamid 50% WG	3 g	60	2.74	1.03 a	0.39 a	1.47 a	0.91 a	0.31 a	0.08 a	0.41 a	0.16 a	0.17 a
2. buprofezin 40% SC	20 ml	70	3.19	1.17 a	0.97 a	4.02 ab	1.97 a	0.86 a	0.41 a	0.97 a	1.66 a	2.05 a
3. lambda-cyhalothrin 2.5% CS	40 ml	85	2.78	1.34 a	0.98 a	4.31 ab	1.72 a	0.70 a	0.91 a	1.94 a	1.38 a	5.95 ab
4. spirotetramat 15% OD	10 ml	256	3.33	1.02 a	0.81 a	1.99 a	1.19 a	0.36 a	0.03 a	0.67 a	0.11 a	0.09 a
5. spinetoram 12% SC	15 ml	375	3.39	1.05 a	1.00 a	2.66 a	1.53 a	0.72 a	0.95 a	1.78 a	0.23 a	0.31 a
6. untreated	-	-	2.95	5.38 b	7.58 b	7.39 b	10.31 b	13.73 b	26.92 b	34.47 b	12.63 b	16.28 b
C.V. (%)	**-**	**-**	**17.1**	**22.7**	**54.0**	**66.3**	**89.0**	**89.7**	**75.2**	**163.8**	**199.8**	**173.3**
R.E. (%)	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**79.8**	**94.2**	**97.6**	**99.1**	**105.5**	**103.8**

Means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT (average from 4 replications)

R.E. stands for Relative Efficacy

[1/] Spray volume: 100 liters/rai

ศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟฝ้าย (*Thrips palmi* Karny) ในมะระจีนเพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้

The efficacy of insecticides for controlling cotton thrips (*Thrips palmi* Karny) on Chinese bitter melon

สัญญาณี ศรีคชา กรกต ดำรักษ์ วนาพร วงษ์นิคง หทัยภัทร เจษฎารมย์

กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

The efficacy of insecticides for controlling cotton thrips (*Thrips palmi* Karny) on Chinese bitter melon was carried out at Wangkanai Subdistrict, Tha Muang District, Kanchanaburi Province from February to March 2023 and Sri Prachan Subdistrict, Si Prachan District, Suphan Buri Province from July to August 2023. The experiment was designed in a Randomized Complete Block (RCB) with four replications and six treatments. The result revealed that emamectin benzoate 1.92% EC at a rate of 10 ml./20 l of water (group 6), spirotetramat 15% OD at a rate of 10 ml./20 l of water (group 23), cyantraniliprole 10% OD at a rate 30 ml./20 l of water (group 28), sulfoxaflor 50% WG at a rate 20 g./20 l of water (group 4C) and spiromesifen 24% SC at a rate of 20 ml./20 l of water (group 23) were effective in controlling *Thrips palmi* Karny on Chinese bitter melon. No significant differences were observed among the all treatments, demonstrating a lower number of thrips compared to the untreated treatment. Furthermore, there were no indications of phytotoxic damage to plants at either location. Therefore, it is recommended to use cyantraniliprole 10% OD at doses of 30 ml per 20 liters of water (Group 28), spirotetramat 15% OD at doses of 10 ml per 20 liters of water (Group 23), emamectin benzoate 1.92% EC at doses of 10 ml per 20 liters of water (Group 6), sulfoxaflor 50% WG at doses of 20 g per 20 liters of water (Group 4C), and spiromesifen 24% SC at doses of 20 ml per 20 liters of water (Group 23). Spray when an average of more than 5 individuals/shoot. Spray every 7 days, 2 times. It is effective in controlling thrips.

Keywords : efficacy of insecticides, *Thrips palmi*, chinese bitter melon

รหัสการทดลอง FF65-57-01-65-00-05-65

บทคัดย่อ

การศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟฝ้าย (*Thrips palmi* Karny) ในมะระจีนเพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้ ดำเนินการที่แปลงปลูกมะระจีนของเกษตรกร ตำบลวังขนาย อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี ระหว่างเดือน กุมภาพันธ์ - มีนาคม 2566 และตำบลศรีประจันต์ อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนกรกฎาคม - สิงหาคม 2566 วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี พบว่า สาร emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 6), สาร spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23), สาร cyantraniliprole 10% OD อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 28), สาร sulfoxaflor 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 4C) และสาร spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23) สามารถกำจัดเพลี้ยไฟฝ้ายได้ดีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และพบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารกำจัดแมลง ตลอดการทดลองไม่พบอาการเป็นพิษต่อพืช (phytotoxicity) ของสาร emamectin benzoate 1.92% EC สาร spirotetramat 15% OD สาร cyantraniliprole 10% OD สาร sulfoxaflor 50% WG และสาร spiromesifen 24% SC กับมะระจีนทั้งสองการทดลอง ดังนั้นจึงแนะนำให้ใช้สาร สาร cyantraniliprole 10% OD อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 28) หรือสาร spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23) หรือสาร emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 6) หรือสาร sulfoxaflor 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 4C) หรือสาร spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23) นำไปพ่นเมื่อพบการระบาดของเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ยมากกว่า 5 ตัว/ยอด โดยพ่นสารติดต่อกัน 2 ครั้งห่างกัน 7 วัน มีประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยไฟฝ้ายได้

คำหลัก : ประสิทธิภาพสารฆ่าแมลง, เพลี้ยไฟฝ้าย, มะระจีน

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) ซึ่งสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชในทั้งสองกลุ่ม

ดังกล่าวยังคงเป็นสารที่ใช้แนะนำให้กับเกษตรกรสำหรับการผลิตผักเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรปในปัจจุบัน 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

วิธีปฏิบัติการทดลอง

ดำเนินการทดลองในแปลงมะระจีนของเกษตรกร ขนาดแปลงย่อยไม่น้อยกว่า 30 ตารางเมตร ระยะห่างระหว่างแปลงย่อย 1 เมตร จำนวน 24 แปลงย่อย เริ่มทำการพ่นสารทดลองตามกรรมวิธีต่าง ๆ ด้วยเครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง โดยใช้อัตราพ่น 100 ลิตรต่อไร่ เมื่อพบเพลี้ยไฟฝ้ายที่ยอดมากกว่า 5 ตัว/ยอด พ่นสารทุก 7 วัน อย่างน้อย 2 ครั้ง สุ่มนับจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายที่ยอดโดยดูยอดจากแถวกลางของแปลงย่อย แปลงย่อยละ 10 ยอด สุ่มนับจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายก่อนพ่นสาร 1 วัน หลังพ่นสารครั้งที่ 1 ที่ 3, 5 และ 7 วัน และหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายที่ 3, 5, 7, 10, 12 และ 14 วัน โดยเว้นระยะการพ่นตามการระบาดของแมลง นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

- จำนวนเพลี้ยไฟฝ้าย
- ผลกระทบต่อพืช
- ต้นทุนการใช้สารฆ่าแมลง

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2564 - กันยายน 2566

สถานที่ กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร แปลงปลูกมะระจีนของเกษตรกร ตำบลวังขนาย อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี และตำบลศรีประจันต์ อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟฝ้าย (*Thrips palmi* Karny) ในมะระจีนเพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้

แปลงทดลองที่ 1 ดำเนินการที่ตำบลวังขนาย อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 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 ดำเนินการทดลองระหว่างเดือน กุมภาพันธ์ - มีนาคม 2566 ***ก่อนพ่นสารทดลอง*** พบว่าทุกกรรมวิธีมีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 5.00-5.22 ตัว/ยอด ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติระหว่างกรรมวิธี ดังนั้นจึงวิเคราะห์ข้อมูลหลังพ่นสารครั้งที่ 1 ที่ 3, 5 และ 7 วัน ด้วยวิธี Analysis of Variance พบว่าที่ ***3 วันหลังพ่นสารครั้งที่ 1*** ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย

2.45-3.82 ตัว/ยอด น้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร ที่มีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 7.32 ตัว/ยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารพบว่า กรรมวิธีที่ 1 พ่น emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 3 พ่น cyantraniliprole 10% OD อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 2.62, 2.92, 3.62, 2.45 และ 3.82 ตัว/ยอด ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนที่ ***5 วันหลังพ่นสารครั้งที่ 1*** พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 4.20-4.92 ตัว/ยอด น้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร ที่มีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 8.32 ตัว/ยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารพบว่า กรรมวิธีที่ 1 พ่น emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 3 พ่น cyantraniliprole 10% OD อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 4.20, 4.45, 4.57, 4.50 และ 4.92 ตัว/ยอด ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และที่ ***7 วันหลังพ่นสารครั้งที่ 1*** พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 3.70-4.27 ตัว/ยอด น้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร ที่มีจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 7.72 ตัว/ยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารพบว่า กรรมวิธีที่ 1 พ่น emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 3 พ่น cyantraniliprole 10% OD อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 3.75, 3.82, 3.70, 4.27 และ 4.00 ตัว/ยอด ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 1)

ส่วนการวิเคราะห์ผลที่หลัง***พ่นสารครั้งที่ 2*** ที่ 3, 5, 7, 10, 12 และ 14 วัน ซึ่งใช้ข้อมูลหลังพ่นสารครั้งที่ 1 ที่ 7 วัน เป็นข้อมูลก่อนพ่นสารครั้งที่ 2 พบว่ามีจำนวนเพลี้ยไฟแตกต่างกันดังนั้นจึงวิเคราะห์ข้อมูลหลังพ่นสารด้วยวิธี Analysis of covariance พบว่าที่ ***3 วันหลังพ่นสารครั้งที่ 2*** ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 1.20-2.65 ตัว/ยอด น้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร ที่มีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 6.35 ตัว/ยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารพบว่า กรรมวิธีที่ 3 พ่น cyantraniliprole 10% OD อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ยน้อยที่สุด 1.20 ตัว/ยอด ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 1 พ่น emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 1.95 และ 1.87 ตัว/ยอด ตามลำดับ แต่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 20 กรัม

ต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 2.65 และ 2.37 ตัว/ยอด ตามลำดับ ส่วนที่ ***5 วันหลังพ่นสารครั้งที่ 2*** พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 1.70-2.20 ตัว/ยอด น้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร ที่มีจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 5.75 ตัว/ยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารพบว่า กรรมวิธีที่ 1 พ่น emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 3 พ่น cyantraniliprole 10% OD อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 1.95, 1.97, 1.70, 2.20 และ 1.80 ตัว/ยอด ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนที่ ***7 วันหลังพ่นสารครั้งที่ 2*** พบว่า ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 1.10-1.82 ตัว/ยอด น้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร ที่มีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 6.05 ตัว/ยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารพบว่า กรรมวิธีที่ 1 พ่น emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 3 พ่น cyantraniliprole 10% OD อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 1.37, 1.10, 1.30, 1.82 และ 1.47 ตัว/ยอด ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกัน ส่วนที่ ***10 วันหลังพ่นสารครั้งที่ 2*** พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 0.97-1.95 ตัว/ยอด น้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร ที่มีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 4.82 ตัว/ยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารพบว่า กรรมวิธีที่ 3 พ่น cyantraniliprole 10% OD อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ยน้อยที่สุด 0.97 ตัว/ยอด ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับ กรรมวิธีที่ 1 พ่น emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 1.60, 1.15 และ 1.42 ตัว/ยอด ตามลำดับ แต่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 1.95 ตัว/ยอด ส่วนที่ ***12 วันหลังพ่นสารครั้งที่ 2*** พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 0.40-1.32 ตัว/ยอด น้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร ที่มีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 4.12 ตัว/ยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารพบว่า กรรมวิธีที่ 3 พ่น cyantraniliprole 10% OD อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ยน้อยที่สุด 0.40ตัว/ยอด ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับ กรรมวิธีที่ 1 พ่น emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีจำนวน

เพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 0.65, 0.60 และ 0.60 ตัว/ยอด ตามลำดับ แต่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 1.32 ตัว/ยอด และที่ ***14 วันหลังพ่นสารครั้งที่ 2*** พบว่า ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 0.65-1.30 ตัว/ยอด น้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร ที่มีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 3.80 ตัว/ยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารพบว่า กรรมวิธีที่ 1 พ่น emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 3 พ่น cyantraniliprole 10% OD อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 0.72, 0.65, 0.67, 1.30 และ 0.95 ตัว/ยอด ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 1)

ส่วนต้นทุนการใช้สาร พบว่า การใช้สาร emamectin benzoate 1.92% EC สาร spirotetramat 15% OD สาร cyantraniliprole 10% OD สาร sulfoxaflor 50% WG และสาร spiromesifen 24% SC มีต้นทุนการใช้สารอยู่ที่ 70, 90, 534, 660 และ 332 บาท/ไร่/ครั้ง ตามลำดับ (Table 1)

จากการพ่นสาร emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร สารspirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร สาร cyantraniliprole 10% OD อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร สาร sulfoxaflor 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และสาร spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ตลอดการทดลองไม่พบอาการเป็นพิษกับมะระจีน

แปลงทดลองที่ 2 ดำเนินการที่ตำบลศรีประจันต์ อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 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 ดำเนินการทดลองระหว่างเดือน กรกฎาคม - สิงหาคม 2566 ***ก่อนพ่นสารทดลอง*** พบว่าทุกกรรมวิธีมีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 9.80-10.50 ตัว/ยอด ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติระหว่างกรรมวิธี ดังนั้นจึงวิเคราะห์ข้อมูลหลังพ่นสารครั้งที่ 1 ที่ 3, 5 และ 7 วัน ด้วยวิธี Analysis of Variance พบว่าที่ ***3 วันหลังพ่นสารครั้งที่ 1*** ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 5.05-6.92 ตัว/ยอด น้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร ที่มีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 12.72 ตัว/ยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารพบว่า กรรมวิธีที่ 1 พ่น emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น

spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 3 พ่น cyantraniliprole 10% OD อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 6.62, 6.92, 5.52, 5.05 และ 6.92 ตัว/ยอด ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนที่ ***5 วันหลังพ่นสารครั้งที่ 1*** พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 4.97-6.47 ตัว/ยอด น้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร ที่มีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 10.60 ตัว/ยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารพบว่า กรรมวิธีที่ 1 พ่น emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 3 พ่น cyantraniliprole 10% OD อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 6.47, 6.12, 4.97, 5.50 และ 5.75 ตัว/ยอด ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และที่ ***7 วันหลังพ่นสารครั้งที่ 1*** พบว่า ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 6.32-7.02 ตัว/ยอด น้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร ที่มีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 13.87 ตัว/ยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารพบว่า กรรมวิธีที่ 1 พ่น emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 3 พ่น cyantraniliprole 10% OD อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 6.87, 7.02, 6.42, 6.87 และ 6.32 ตัว/ยอด ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 2)

ส่วนการวิเคราะห์ผลที่หลัง***พ่นสารครั้งที่ 2*** ที่ 3, 5, 7, 10, 12 และ 14 วัน ซึ่งใช้ข้อมูลหลังพ่นสารครั้งที่ 1 ที่ 7 วัน เป็นข้อมูลก่อนพ่นสารครั้งที่ 2 พบว่ามีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายแตกต่างกันดังนั้นจึงวิเคราะห์ข้อมูลหลังพ่นสารด้วยวิธี Analysis of covariance พบว่าที่ ***3 วันหลังพ่นสารครั้งที่ 2*** ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 4.67-5.45 ตัว/ยอด น้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร ที่มีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 13.35 ตัว/ยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารพบว่า กรรมวิธีที่ 1 พ่น emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 3 พ่น cyantraniliprole 10% OD อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 4.82, 5.32, 4.67, 5.07 และ 5.45 ตัว/ยอด ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนที่ ***5 วันหลังพ่นสารครั้งที่ 2*** พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 4.42-5.62 ตัว/ยอด น้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6

ไม่พ่นสาร ที่มีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 12.85 ตัว/ยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสาร พบว่า กรรมวิธีที่ 1 พ่น emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 3 พ่น cyantraniliprole 10% OD อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 4.72, 4.97, 4.42, 5.57 และ 5.62 ตัว/ยอด ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนที่ ***7 วันหลังพ่นสารครั้งที่ 2*** พบว่า ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 3.62-4.82 ตัว/ยอด น้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร ที่มีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 10.40 ตัว/ยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสาร พบว่า กรรมวิธีที่ 3 พ่น cyantraniliprole 10% OD อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ยน้อยที่สุด 3.62 ตัว/ยอด ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับ กรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 4.02 ตัว/ยอด แต่มีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 1 พ่น emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 4.57, 4.72 และ 4.82 ตัว/ยอด ตามลำดับ ส่วนที่ ***10 วันหลังพ่นสารครั้งที่ 2*** พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 3.25-4.57 ตัว/ยอด น้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร ที่มีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 10.12 ตัว/ยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารพบว่า กรรมวิธีที่ 1 พ่น emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 3 พ่น cyantraniliprole 10% OD อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 3.27, 3.45, 3.25, 4.57 และ 3.30 ตัว/ยอด ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนที่ ***12 วันหลังพ่นสารครั้งที่ 2*** พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 3.32-4.32 ตัว/ยอด น้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร ที่มีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 8.70 ตัว/ยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารพบว่า กรรมวิธีที่ 1 พ่น emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 3 พ่น cyantraniliprole 10% OD อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 3.32, 3.87, 3.45, 4.32 และ 3.75 ตัว/ยอด ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทาง และที่ ***14 วันหลังพ่นสารครั้งที่ 2*** พบว่า ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 3.27-4.15 ตัว/ยอด น้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร ที่มีจำนวนเพลี้ย

ไฟฝ้ายเฉลี่ย 8.27 ตัว/ยอด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่พ่นสารพบว่า กรรมวิธีที่ 1 พ่น emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 2 พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 3 พ่น cyantraniliprole 10% OD อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีที่ 4 พ่น sulfoxaflor 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 พ่น spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ย 4.15, 3.27, 4.00, 4.00 และ 3.77 ตัว/ยอด ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 2)

ส่วนต้นทุนการใช้สาร พบว่า การใช้สาร emamectin benzoate 1.92% EC สารspirotetramat 15% OD สาร cyantraniliprole 10% OD สาร sulfoxaflor 50% WG และสาร spiromesifen 24% SC มีต้นทุนการใช้สารอยู่ที่ 70, 90, 534, 660 และ 332 บาท/ไร่/ครั้ง ตามลำดับ (Table 2)

จากการพ่นสาร emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร สารspirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร สาร cyantraniliprole 10% OD อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร สาร sulfoxaflor 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และสาร spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ตลอดการทดลองไม่พบอาการเป็นพิษกับมะระจีน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟฝ้าย (*Thrips palmi* Karny) ในมะระจีนเพื่อทดแทนสารที่กลุ่มสหภาพยุโรปห้ามใช้ ที่ตำบลวังขนาย อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี และตำบลศรีประจันต์ อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี พบว่า สาร emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 6), สาร spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23), สาร cyantraniliprole 10% OD อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 28), สาร sulfoxaflor 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 4C) และสาร spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23) ทั้งสองแปลงทดลองให้ผลที่สอดคล้องกัน คือ สารที่คัดเลือกมาทั้ง 5 ชนิดสามารถกำจัดเพลี้ยไฟฝ้ายได้ดีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และพบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารกำจัดแมลง ตลอดการทดลองไม่พบอาการเป็นพิษ (phytotoxicity) ของสารทั้ง 5 ชนิดกับมะระจีนทั้งสองการทดลอง ดังนั้นจึงแนะนำให้ใช้ สาร cyantraniliprole 10% OD อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 28) หรือสาร spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23) หรือสาร emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 6) หรือสาร sulfoxaflor 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 4C) หรือสาร spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23) พ่นเมื่อพบการระบาด

ของเพลี้ยไฟฝ้ายเฉลี่ยมากกว่า 5 ตัว/ยอด พ่นสารติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน มีประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยไฟฝ้ายได้

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนเงินอุดหนุนเพื่อการวิจัยจากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ผ่านทางแผนปฏิบัติงานโครงการวิจัยกรมวิชาการเกษตร คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณที่ได้ให้การสนับสนุนการดำเนินงานโครงการวิจัย

ขอขอบพระคุณคณะผู้เชี่ยวชาญ และคณะกรรมการ ทั้งจากสำนักวิจัยวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และกรมวิชาการเกษตร ที่ให้คำเสนอแนะ และข้อแก้ไขต่าง ๆ ในการจัดทำโครงการวิจัยนี้

ขอขอบคุณเกษตรกรเจ้าของแปลงที่เอื้อเฟื้อแปลงปลูกสำหรับดำเนินงานทดลอง ขอขอบคุณพนักงานราชการและเจ้าหน้าที่กลุ่มบริหารศัตรูพืช ที่ให้การช่วยเหลืองานวิจัยทุกท่าน ทำให้การทดลองในโครงการวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

สัญญาณี ศรีคชา สุเทพ สหายา สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น และพวงผกา อ่างมณี. 2560. *คู่มือการป้องกันกำจัด แมลงศัตรูพืชสำหรับการผลิตผักเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรป (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.

Table 1 Efficacy of various insecticides for control *Thrips palmi* Karny on Chinese bitter melon at Wangkanai Subdistrict, Tha Muang District, Kanchanaburi Province on February to March 2023

Treatment	Dosage per 20 l of water	Cost (Bath/Rai/ time)	Average number of thrips/shoot (individual)[1/]								
			Before spay	Day after 1st application			Day after 2nd application				
				3	5	7	3	5	7	10	12	14
emametctin benzoate 1.92% EC	10	70.00	5.22	2.62 a	4.20 a	3.75 a	1.95 ab	1.95 a	1.37 a	1.60 ab	0.65 a	0.72 a
spirotetramate 24% SC	10	90.00	5.00	2.92 a	4.45 a	3.82 a	1.87 ab	1.87 a	1.10 a	1.15 a	0.60 a	0.65 a
cyantraniliprole 10% OD	30	534.00	5.17	3.62 a	4.57 a	3.70 a	1.20 a	1.70 a	1.30 a	0.97 a	0.40 a	0.67 a
sulfoxaflor 50% WG	10	660.00	5.05	2.45 a	4.50 a	4.27 a	2.65 b	2.20 a	1.82 a	1.95 b	1.32 b	1.30 a
spiromesifen 24% SC	20	332.00	5.00	3.82 a	4.92 a	4.00 a	2.37 b	1.80 a	1.47 a	1.42 ab	0.60 a	0.95 a
Untreated (control)	-		5.00	7.32 b	8.32 b	7.72 b	6.35 c	5.75 b	6.05 b	4.82 c	4.12 c	3.50 b
CV (%)			**9.7**	**27.4**	**22.4**	**15.7**	**23.8**	**17.2**	**21.6**	**22.8**	**30.3**	**31.5**
RE (%)[2/]			**-**	**-**	**-**	**-**	**58.4**	**54.4**	**51.6**	**56.1**	**58.5**	**51.6**

[1/]In columns, means followed by the common letters are not significantly different at the level of 95% by DMRT average from 4 replications

[2/]Relative efficacy

Table 2 Efficacy of various insecticides for control *Thrips palmi* Karny on Chinese bitter melon at Sri Prachan Subdistrict, Si Prachan District, Suphan Buri Province on July to August 2023

Treatment	Dosage per 20 l of water	Cost (Bath/Rai/ time	Average number of thrips/shoot (individual)[1/]								
			Before spay	Day after 1st application			Day after 2nd application				
				3	5	7	3	5	7	10	12	14
emametctin benzoate 1.92% EC	10	70.00	10.50	6.62 a	6.47 a	6.87 a	4.82 a	4.72 a	4.57 b	3.27 a	3.32 a	4.15 a
spirotetramate 24% SC	10	90.00	9.85	6.92 a	6.12 a	7.02 a	5.32 a	4.97 a	4.02 ab	3.45 a	3.87 a	3.27 a
cyantraniliprole 10% OD	30	534.00	9.80	5.52 a	4.97 a	6.42 a	4.67 a	4.42 a	3.62 a	3.25 a	3.47 a	4.00 a
sulfoxaflor 50% WG	10	660.00	10.07	5.05 a	5.50 a	6.87 a	5.07 a	5.57 a	4.72 b	4.57 a	4.32 a	4.00 a
spiromesifen 24% SC	20	332.00	9.89	6.92 a	5.75 a	6.32 a	5.45 a	5.62 a	4.82 b	3.30 a	3.75 a	3.77 a
Untreated (control)	-		10.12	12.72 b	10.60 b	13.87 b	13.35 b	12.85 b	10.40 c	10.12 b	8.70 b	8.27 b
CV (%)			**14.1**	**23.9**	**19.7**	**11.6**	**11.7**	**22.1**	**9.9**	**19.1**	**15.1**	**13.3**
RE (%)[2/]			-	-	-	-	**27.7**	**25.1**	**25.3**	**26.4**	**25.8**	**25.0**

[1/]In columns, means followed by the common letters are not significantly different at the level of 95% by DMRT average from 4 replications

[2/]Relative efficacy

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/]กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร ทางกองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
[5/]กลุ่มวิจัยและพัฒนา ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครปฐม

Abstract

The study on integrated pest management for chili under greenhouse conditions, intended for export to the EU, revealed good practices or formats for controlling chili pests. The practices of IPM in chili under greenhouse conditions included a pest survey (samples of 100 chili plants) at a seven-day interval, used to record events. The Economic Threshold Level (ETL) was employed to help growers decide when to apply pesticides, and pesticides were applied if the number of pests exceeded the ETL. In the greenhouse, yellow and blue sticky traps were used in four rows (two rows for blue sticky traps and two rows for yellow sticky traps) at a two-meter interval when thrips were found throughout the chili growth stages. The sticky traps were changed every 14 days. The results showed that when using IPM practices, the spraying of insecticide in the field trials was reduced by 32.26% at location 1 and 77.78% at location 2. Additionally, the spraying of fungicide in the field trials was reduced by 74.19% at location 1 and 70.37% at location 2. The chili yield at IPM field location 1 was 497 kilograms, and the value of the product was 54,670 Baht. At location 2, the yield was 570 kilograms, and the value of the product was 62,700 Baht.

รหัสการทดลอง FF65-57-02-65-00-01-65

The production costs were 10,990 and 9,571 Baht for the IPM field locations 1 and 2, respectively. The net profit from IPM field location 1 was 43,680 Baht, and at location 2, it was 53,129 Baht. The benefit-cost ratio (B/C) at IPM field location 1 was 4.97, and IPM location 2 was 6.55, which was greater than the farmer fields (4.03 and 4.36 for locations 1 and 2, respectively).

Keywords : integrated pest management of chili, greenhouse conditions, export to the EU

บทคัดย่อ

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 ดำเนินการทดสอบเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพริกในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป ที่อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม ระหว่างเดือนธันวาคม 2564 - กันยายน 2565 พบว่า แปลง IPM ทั้งสองแปลงมีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช 21 และ 6 ครั้ง ตามลำดับ และมีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช 8 และ 8 ครั้ง ตามลำดับ ส่วนแปลงเกษตรกรทั้งสองแปลงใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช 31 และ 27 ครั้ง ตามลำดับ เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ แมลงหวี่ขาวยาสูบ ไรขาวพริก เพลี้ยอ่อน และเพลี้ยแป้ง และใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช 31 และ 27 ครั้ง ตามลำดับ โดยแปลงเกษตรกรพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชทุกสัปดาห์ แปลง IPM สามารถลดจำนวนการใช้สารกำจัดแมลงได้ 32.26% และ 77.78% ตามลำดับ ลดจำนวนการใช้สารกำจัดโรคพืชได้ 74.19% และ 70.37% ตามลำดับ เก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 497 และ 570 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่า 54,670 และ 62,700 บาท ต้นทุนการผลิต 10,990 และ 9,571 บาท มีกำไรสุทธิ 43,680 และ 53,129 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 4.97 และ 6.55 ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าแปลงวิธีเกษตรกรที่ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 4.03 และ 4.36ตามลำดับ

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 เป็นวิธีการนำเอาวิธีการควบคุมศัตรูพืช

วิธีการต่าง ๆ มาใช้ควบคุมศัตรูพืชเป้าหมายในพื้นที่ที่มีการระบาดในท้องที่เดียวกัน เช่น การใช้พันธุ์ต้านทานร่วมกับการใช้สารเคมี หรือร่วมกับการใช้ศัตรูธรรมชาติมาควบคุมศัตรูพืชซึ่งวิธีการต่าง ๆ เหล่านั้นจะต้องไม่ทำให้เกิดความเสียหายต่อสิ่งมีชีวิตอื่นนอกเป้าหมาย และสภาพแวดล้อม ส่วน IPM เป็นแนวทางในการดำเนินงานที่จะเลือกใช้วิธีการควบคุมใด ๆ ก็ตามมาใช้กำจัดหรือปราบหรือควบคุมศัตรูพืชโดยใช้หลักทางด้านนิเวศวิทยาและเศรษฐศาสตร์ และเกี่ยวข้องกับการตัดสินใจ โดยมีการตรวจสอบประชากรแมลงและคำนึงถึงสภาพแวดล้อม ซึ่งผลการตัดสินใจนั้น อาจจะไม่ต้องมีการควบคุมหรืออาจเลือกใช้วิธีการควบคุมวิธีใดวิธีหนึ่ง หรือหลายวิธีการผสมผสานกัน เพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดทั้งทางด้านเศรษฐกิจ 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 ในการป้องกันกำจัดแบบผสมผสานต้องติดตามการระบาดเพื่อทำการ

ป้องกันกำจัด (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 แมลงชนิดนี้เป็นศัตรูที่สำคัญของพืชผักและพืชเส้นใย 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 หรือไปกับน้ำที่ใช้

ในการเพาะปลูก 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

<u>การป้องกันกำจัด</u>

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

<u>แบบและวิธีการทดลอง</u>

มี 2 วิธี คือ วิธีป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน (IPM) ในระบบโรงเรือน และวิธีของเกษตรกร

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

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

เวลา ตุลาคม 2564 - กันยายน 2566

สถานที่ แปลงพริกเกษตรกรที่มีระบบโรงเรือนในอำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การดำเนินครั้งที่ 1 ทดสอบเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพริกในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป ที่อำเภอสามพราน 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 และไรขาว

พริก 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 9 ครั้ง 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 เมื่อหักต้นทุนการผลิตแล้วพบว่า 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)

การดำเนินครั้งที่ 2 ทดสอบเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพริกในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรปที่ อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม ระหว่างเดือนมกราคม - กันยายน 2565 โดยเปรียบเทียบระหว่างวิธีเกษตรกรและวิธี IPM ผลการดำเนินการพบว่า

วิธี IPM จากการสำรวจประชากรศัตรูพืชในโรงเรือน จำนวน 27 ครั้ง พบเพลี้ยไฟเกินระดับเศรษฐกิจ 4 ครั้ง และแมลงหวี่ขาวยาสูบเกินระดับเศรษฐกิจ 2 ครั้ง (Table 4) ดำเนินการพ่นสารป้องกันกำจัดแมลงรวม 6 ครั้ง โดยพ่นสาร spiromesifen 24% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 6 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ แมลงหวี่ขาวยาสูบ 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 5)

วิธีเกษตรกร พบเพลี้ยไฟเกินระดับเศรษฐกิจ 16 ครั้ง แมลงหวี่ขาวยาสูบเกินระดับเศรษฐกิจ 13 ครั้ง ไรขาวพริกเกินระดับเศรษฐกิจ 7 ครั้ง เพลี้ยอ่อนเกินระดับเศรษฐกิจ 11 ครั้ง เพลี้ยแป้งเกินระดับเศรษฐกิจ 16 ครั้ง และโรคแอนแทรคโนสเกินระดับเศรษฐกิจ 8 ครั้ง (Table 4) พ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชสัปดาห์ละครั้ง พ่นสารป้องกันกำจัดแมลง 27 ครั้ง โดยพ่นสาร abamectin 1.8% EC อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 5 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ และแมลงหวี่ขาวยาสูบ พ่นสาร spinetoram 12% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 5 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ พ่นสาร spiromesifen 24% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 5 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ พ่นสาร cyantraniliprole 10% OD อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 5 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 3 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้ง และพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช 27 ครั้ง โดยพ่นสาร copper hydroxide 77% WP อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 14 ครั้ง เพื่อป้องกันโรคพืช พ่นสาร azoxystrobin 25% SC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 4 ครั้ง เพื่อป้องกันโรคแอนแทรคโนส และพ่นสารชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* 20W33 อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 9 ครั้ง เพื่อป้องกันโรคแอนแทรคโนส (Table 5)

การปนเปื้อนของสารเคมีในผลพริก ผลผลิตพริกวิธี IPC และวิธีเกษตรกร ไม่พบการปนเปื้อนของสารเคมี (Table 6)

ผลตอบแทนเชิงเศรษฐศาสตร์ในการปลูกพริกระบบโรงเรือน วิธี IPM ตลอดการทดลองเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 570 กิโลกรัม/พื้นที่ 306 ตารางเมตร จำหน่ายให้บริษัทส่งออกในราคาประกันกิโลกรัมละ 110 บาท คิดเป็นมูลค่าผลผลิต 62,700 บาท ต้นทุนการผลิต 9,571 บาท เป็นค่าสารเคมีป้องกันกำจัดในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช ปุ๋ย ต้นพันธุ์ เตรียมแปลง และค่าแรงงาน เมื่อหักต้นทุนการผลิตแล้วพบว่า วิธี IPM มีกำไรสุทธิ 53,129 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 6.55 มากกว่าวิธีเกษตรกร ส่วนวิธีเกษตรกร ตลอดการทดลองเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 495 กิโลกรัม/พื้นที่ 306 ตารางเมตร จำหน่ายให้บริษัทส่งออกในราคาประกันกิโลกรัมละ 110 บาท คิดเป็นมูลค่าผลผลิต 54,450 บาท ต้นทุนการผลิต 12,433 บาท วิธีเกษตรกรมีกำไรสุทธิ 42,017 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 4.36 น้อยกว่าวิธี IPM (Table 6)

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 การดำเนินการครั้งที่ 1 ที่อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐมแปลง IPC ใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช 21 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ แมลงหวี่ขาวยาสูบ ไรขาวพริก เพลี้ยอ่อน และเพลี้ยแป้ง และใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช 8 ครั้ง เพื่อป้องกันโรคแอนแทรคโนส ส่วนแปลงเกษตรกรใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช 31 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ แมลงหวี่ขาวยาสูบ ไรขาวพริก เพลี้ยอ่อน และเพลี้ยแป้ง และใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช 31 ครั้ง เพื่อป้องกันโรค แปลง IPM สามารถลดจำนวนการใช้สารกำจัดแมลงได้ 32.26% และลดจำนวนการใช้สารกำจัดโรคพืชได้ 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

การดำเนินการครั้งที่ 2 ที่อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐมแปลง IPC ใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช 6 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ และแมลงหวี่ขาว และใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช 8 ครั้ง เพื่อป้องกันโรคแอนแทรคโนส ส่วนแปลงเกษตรกรใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช 27 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ แมลงหวี่ขาวยาสูบ ไรขาวพริก เพลี้ยอ่อน และเพลี้ยแป้ง และใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช 27 ครั้ง เพื่อป้องกันโรค แปลง IPM สามารถลดจำนวนการใช้สารกำจัดแมลงได้ 77.78% และลดจำนวนการใช้สารกำจัดโรคพืชได้ 70.37% เก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 570 กิโลกรัม/พื้นที่ 306 ตารางเมตร คิดเป็นมูลค่า 62,700 บาท ต้นทุนการผลิต 9,571 บาท มีกำไรสุทธิ 53,129 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 6.55 มากกว่าแปลงเกษตรกรที่ได้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 4.36

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. *คู่มือการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชสำหรับการผลิตผักเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรป (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

Time	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
1	32	13	7	2	0	0	0	0	0	0	0	0
2	14	**57**	1	5	0	4	0	0	0	0	0	0
3	**52**	**53**	0	0	4	1	0	0	0	0	0	1
4	**94**	35	4	2	9	0	4	0	0	0	0	0
5	**71**	34	**14**	5	**21**	1	0	0	0	0	0	**10**
6	**94**	11	7	8	**16**	1	**31**	0	0	0	0	0
7	**62**	**72**	8	9	**12**	4	0	0	0	3	0	**10**
8	42	**95**	**10**	**20**	**18**	**21**	0	1	1	**12**	9	**15**
9	**84**	**100**	8	**13**	4	2	0	0	0	6	3	0
10	**93**	**100**	0	**19**	**17**	**30**	0	**11**	0	**20**	**25**	**67**
11	**77**	**100**	1	6	5	3	0	**20**	0	4	**22**	**35**
12	**97**	**99**	3	1	1	1	0	**56**	0	**10**	0	0
13	28	**100**	0	4	0	0	0	**88**	0	**12**	0	0
14	14	**99**	0	**10**	0	0	0	**89**	0	**46**	0	0
15	**100**	**100**	7	8	0	0	0	**77**	0	**61**	0	0
16	**100**	**99**	1	5	0	0	0	**52**	0	**21**	0	0
17	**100**	**100**	0	2	0	0	0	**27**	0	**56**	0	0
18	**100**	**100**	0	5	0	0	0	5	0	**73**	0	0
19	**100**	**100**	0	0	0	0	0	0	0	**49**	0	0
20	**100**	**95**	1	**11**	0	0	0	0	0	**93**	0	0
21	34	**87**	0	5	0	0	0	2	0	**53**	0	0
22	12	**59**	0	5	0	0	0	0	0	3	0	0
23	44	19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24	13	9	4	**14**	0	0	0	0	1	3	0	0
25	**65**	9	**16**	**12**	0	0	0	6	0	3	0	0
26	**74**	16	**14**	9	0	0	0	2	6	7	0	0
27	40	12	**25**	**27**	0	0	0	0	**12**	0	0	0
28	**50**	13	**53**	**54**	0	0	0	**42**	**10**	6	1	0
29	**61**	15	**85**	**91**	0	0	0	**91**	**19**	**38**	0	0
30	**51**	20	**85**	**97**	0	0	0	**91**	**27**	**11**	0	0
31	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

Table 4 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 January – July 2022

Time	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
1	35	34	5	**14**	0	**29**	0	0	0	0	0	**10**
2	36	11	3	8	0	**52**	1	0	1	0	0	**10**
3	**50**	**72**	**26**	9	4	**38**	0	0	6	3	0	**10**
4	**60**	**95**	0	**20**	2	**21**	1	1	4	**12**	9	**15**
5	40	**100**	5	**13**	2	**45**	0	0	6	**27**	0	**42**
6	**50**	**100**	8	**19**	9	**30**	1	**11**	6	**20**	8	**67**
7	**50**	**100**	2	6	3	**23**	0	**20**	4	**16**	5	**35**
8	49	**100**	1	6	0	1	0	**56**	5	**10**	0	**24**
9	48	**100**	0	4	0	0	0	**88**	3	**12**	0	0
10	46	**99**	0	**10**	0	0	1	**89**	6	**46**	0	0
11	43	**100**	0	8	0	0	0	**77**	6	**61**	0	0
12	30	**99**	1	5	0	0	0	**52**	8	**21**	0	0
13	40	**100**	1	2	0	0	6	**27**	8	**56**	0	0
14	40	**100**	2	5	3	0	1	5	9	**73**	0	0
15	30	**100**	1	0	0	0	1	0	7	**49**	0	0
16	20	**95**	2	**11**	0	0	5	0	9	**93**	0	0
17	16	**87**	0	5	0	0	3	2	9	**53**	0	0
18	0	**59**	0	5	0	0	0	0	0	3	0	0
19	13	19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20	10	9	**13**	**14**	0	0	0	0	0	0	0	0
21	2	9	9	**12**	0	0	6	0	0	3	0	0
22	6	16	7	9	0	0	0	2	0	7	0	0
23	8	12	7	**27**	0	0	0	0	3	0	0	0
24	3	13	7	**54**	0	1	0	**42**	3	6	0	0
25	35	15	6	**91**	0	0	3	**91**	9	**38**	0	0
26	43	20	8	**97**	0	0	0	0	4	**11**	0	0
27	15	29	7	**97**	0	0	0	**80**	0	3	0	0

[1/]Bold numbers mean the exceed of economic threshold level (ETL)

Table 5 Comparison of pesticides application, number of application and costs between IPC field and farmer field at Sampran district Nakhon Pathom province during January – July 2022

Pesticides application	No. of application	Cost
IPC field		
Insecticide		
- spiromesifen 24% SC	6	87 baht/30 ml
Fungicide		
- *Bacillus subtilis*	8	20 baht/40 g
Farmer field		
Insecticide		
- abamectin 1.8% EC	5	22.50 baht/50 ml
- spinetoram 12% SC	5	98 baht /20 ml
- spiromesifen 24% SC	5	58 baht/20 ml
- cyantraniliprole 10% OD	5	158.40 baht/40 ml
- sulfur 80% WP	3	14.41 baht/80 g
- petroleum spray oil 83.9% EC	3	10.80 baht/60 ml
Fungicide		
- copper hydroxide 77% WP	14	21.50 baht/50 g
- azoxystrobin 25% SC	4	45 baht/10 ml
- *Bacillus subtilis*	9	20 baht/40 g

Table 6 Pesticides application, residue and economic return of chili plantation compared between IPC method and farmer method at Sampran district Nakhon Pathom province during January – July 2022

Item	IPC method	Farmer method
1. Pesticides application		
- Insecticides	1	6
- number of application Insecticides	6	27
- IPC reduced the insecticides used (%)	77.78	
- Fungicides	1	3
- number of application Insecticides	8	27
- IPC reduced the Fungicide used (%)	70.37	
2. Residue of pesticide	ND	ND
3. Economic return		
- Product value (baht/306m^3 (B)	62,700.00	54,450.00
- Cost of production (baht/306m^3) (C)	9,571.00	12,433.00
- Net profit (baht/306m^3)	53,129.00	42,017.00
- benefit cost ratio (B/C)	6.55	4.37

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

Abstract

The integrated pests management (IPM) for kale was operated in EL-certified fields of the export companies in Tha-Muang District, Kanchanaburi Province during April - June 2022 and June-August 2023. The integrated pests management (IPM) for kale when pests are found more than the economic threshold Level (ETL) consisted of using yellow sticky traps, biocontrol and chemicals control. The trap was used every row with 3 meters of the interval between traps and changed the trap every 14 days. The IPM field biological pesticides and pesticides were applied for control plant pathogen and insect pests when it more than the economic threshold (ET). For the operation in the IPM field, the result showed that the utilization of insecticide could be reduced by 47.83% and 59.09%. The produce was harvested 2,370 and 5,430 kilograms per rai and the value of the product is 47,400 and 108,600 baht which costed 7,972 and 8,775 baht. Therefore, the net profit was 39,428 and 99,825 baht. The IPM field provided the benefic cost ration (B/C) 5.95 and 12.38 more than farmer field was 3.98 and 10.26

Keywords : Kale, Integrated Pests Management

รหัสการทดลอง FF65-57-02-65-00-02-65

บทคัดย่อ

เทคโนโลยีการจัดการศัตรูคะน้าแบบผสมผสานเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป ดำเนินการทดลองในแปลงคะน้า อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี ระหวางเดือนเมษายน – มิถุนายน 2565 และระหวางเดือนมิถุนายน-สิงหาคม 2566 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 ทั้งสองแปลงสามารถลดการใช้สารกำจัดแมลงลงได้ 47.83% และ 59.09% ตามลำดับ สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตคะน้าได้ 2,370 และ5,430 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ มูลค่าผลผลิต 47,400 และ 108,600 บาท ตามลำดับ ต้นทุนการผลิตในการกำจัดศัตรูพืชเป็น 7,972 และ 8,775 บาท ตามลำดับ มีกำไรสุทธิ 39,428 และ99,825 บาท ตามลำดับ ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 5.95 และ 12.38 ตามลำดับ มากกว่ากรรมวิธีเกษตรกรที่มีผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 3.98 และ 10.26 ตามลำดับ

คำหลัก : คะน้า, การจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน

คำนำ

คะน้า (Kale) 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 ซึ่งหากระบาดในวงกว้างคุณภาพและผลผลิตจะลดลง 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 ซึ่งผลการตัดสินใจนั้นอาจจะไม่ต้องมีการควบคุมหรืออาจเลือกใช้วิธีการควบคุมวิธีใดวิธีหนึ่ง หรือหลายวิธีการผสมผสานกันเพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดทั้งทางด้านเศรษฐกิจ 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. กับดักกาวเหนียว 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

1.4 acetamiprid 20% W/V SP

1.5 chlorantraniliprole 5.17 W/V SC

1.6 lambda-cyhalothrin 2.5% W/V EC

2. สารกำจัดโรคพืช

2.1 dimethomorph 50% WP

2.2 pyraclostrobin 25% W/V EC

2.3 azoxystrobin

3. ชีวภัณฑ์ป้องกันกำจัดศัตรูพืช

3.1 แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai*

3.2 แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*

3.3 *Bacillus subtilis*

3.4 ไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง *Steinernema carpocapsae*

วิธีการ

ดำเนินการทดลอง 2 วิธี คือ วิธีป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน (IPM) และวิธีของเกษตรกรโดยคัดเลือกเกษตรกร 2 ราย แต่ละรายดำเนินการ 2 วิธี ดังนี้

1 วิธีป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน (IPM) 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 100 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กลุ่มหนอนผีเสื้อ ระดับเศรษฐกิจ (ET) > 2 ตัว/10 ต้น ถ้าเกินระดับ ET พ่นชีวภัณฑ์ *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือสารฆ่าแมลง emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 20 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 กรณีที่พบไม่ถึงระดับ

เศรษฐกิจ (ET) เก็บตัวหนอนออกจากแปลง หรือพ่นชีวภัณฑ์ *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* อัตรา 50 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 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นทุก 5-7 วัน

หมายเหตุ การเลือกใช้สารเคมีหรือชีวภัณฑ์ต้องพิจารณาตามอายุพืช ถ้าพืชอยู่ในระยะเจริญเติบโตจะเลือกใช้สารเคมี และถ้าพืชอยู่ในระยะใกล้เก็บเกี่ยวถึงเก็บเกี่ยวจะเลือกใช้ชีวภัณฑ์เป็นหลัก

2 วิธีของเกษตรกร

1. ดำเนินการผลิตคะน้าในแปลงปลูก
2. ใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชตามวิธีเกษตรกร

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

- จำนวนและชนิดของแมลงศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ
- บันทึกการเป็นโรค
- ชนิดและจำนวนครั้งที่ใช้สารในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช
- ชนิดและจำนวนครั้งที่ใช้สารชีวภัณฑ์ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช
- บันทึกปริมาณผลผลิตและราคา
- ต้นทุนการใช้สารในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช/สารชีวภัณฑ์ ข้อมูลค่าใช้จ่ายที่เป็นต้นทุนการผลิตทั้งหมด
- วิเคราะห์ผลตอบแทนเชิงเศรษฐศาสตร์ มูลค่าผลผลิต (บาท/ไร่) ต้นทุนในการผลิต (บาท/ไร่) สัดส่วนผลตอบแทนต่อการลงทุน (B/C) ระหว่างแปลง IPM และ แปลงเกษตรกร
- บันทึกผลการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง ตามวิธีการของ codex

เวลาและสถานที่

เวลา ระยะเวลาดำเนินการ ตุลาคม 2564 – กันยายน 2566

สถานที่ แปลงคะน้าเกษตรกรในตำบลท่าม่วง และตำบลวังขนาย อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการทดลองในแปลงที่ 1

ดำเนินการในแปลงคะน้า ตำบลท่าม่วง อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี 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 พ่นสารกำจัดโรคพืช จำนวน 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 พ่นสารชีวภัณฑ *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

ผลการทดลองในแปลงที่ 2

ดำเนินการในแปลงคะน้า ตำบลวังขนาย อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี ระหว่างเดือนมิถุนายน-สิงหาคม 2566 ทั้งกรรมวิธี IPM และกรรมวิธีเปรียบเทียบของเกษตรกร ทำการป้องกันกำจัดโรคแมลงตามกรรมวิธี IPM และกรรมวิธีเกษตรกร

ศัตรูพืชที่พบในแปลงคะน้า (Table 4)

- ด้วงหมัดผักแถบลาย ในแปลงกรรมวิธี IPM พบด้วงหมัดผักแถบลายเกินระดับเศรษฐกิจ 3 ครั้ง ในแปลงกรรมวิธีเกษตรกร ไม่พบด้วงหมัดผักแถบลายเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) ที่กำหนดไว้
- หนอนใยผัก ในแปลงกรรมวิธี IPM พบหนอนใยผักเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) ที่กำหนดไว้ 5 ครั้ง ส่วนในแปลงกรรมวิธีเกษตรกร พบหนอนใยผักเกินระดับเศรษฐกิจ 5 ครั้ง เช่นเดียวกัน
- หนอนเจาะยอดกะหล่ำ ในแปลงกรรมวิธี IPM พบหนอนเจาะยอดกะหล่ำ เกินระดับเศรษฐกิจ 1 ครั้ง ในแปลงกรรมวิธีเกษตรกร ไม่พบหนอนเจาะยอดกะหล่ำ เกินระดับเศรษฐกิจ (ET) ที่กำหนดไว้
- หนอนกระทู้หอม ในแปลงกรรมวิธี IPM พบเกินระดับเศรษฐกิจ 1 ครั้ง ในแปลงกรรมวิธีเกษตรกร พบหนอนกระทู้หอมเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) ที่กำหนดไว้ 3 ครั้ง

- หนอนชอนใบ ในแปลงกรรมวิธี IPM พบเกินระดับเศรษฐกิจ 1 ครั้ง ในแปลงกรรมวิธีเกษตรกร พบหนอนชอนใบเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) ที่กำหนดไว้ 1 ครั้ง

- โรคขอบใบไหม้ ในแปลงกรรมวิธี IPM พบเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) ที่กำหนดไว้ 7 ครั้ง และกรรมวิธีเกษตรกร พบโรคใบจุดคะน้าเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) ที่กำหนดไว้ 7 ครั้ง เช่นเดียวกัน

การป้องกันกำจัดศัตรูพืช (Table 5)

ในกรรมวิธี IPM ทำการติดกับดักกาวเหนียวสีเหลืองจำนวน 80 กับดักต่อไร่โดยแต่ละกับดักมีระยะห่าง 3 เมตร ร่วมกับชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืช และสารเคมีกำจัดศัตรูพืช เมื่อศัตรูพืชแต่ละชนิดเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) โดยทำการพ่นไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง และสารชีวภัณฑ์กำจัดโรคพืช *Bacillus subtilis* (BS) ลงดินก่อนการหว่านเมล็ด หลังทำการหว่านเมล็ด และระหว่างปลูก

จากการทดลองพบด้วงหมัดผักแถบลาย หนอนใยผัก หนอนเจาะยอดกะหล่ำ หนอนกระทู้หอม หนอนชอนใบ และโรคขอบใบไหม้ เกินระดับเศรษฐกิจ จึงดำเนินการพ่นสารกำจัดศัตรูพืชทั้งหมดจำนวน 23 ครั้ง โดยพ่นสารกำจัดแมลง จำนวน 6 ครั้ง ได้แก่ acetamiprid 20% SP อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 3 ครั้ง , methoxyfenozide 30%+spinetoram 6% W/V SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 1 ครั้ง, chlorantraniliprole 5.17 W/V SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 1 ครั้ง และ lambda-cyhalothrin 2.5% W/V EC อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 1 ครั้ง

พ่นสารชีวภัณฑ์กำจัดแมลง จำนวน 10 ครั้ง ได้แก่ ไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง อัตรา 75 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ก่อนทำการหว่านเมล็ด จำนวน 2 ครั้ง หลังทำการหว่านเมล็ด จำนวน 1 ครั้ง และพ่นลงดินทุก 7 วัน จำนวน 2 ครั้ง, *Bacillus turingenesis* sub. *aizawai* อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 3 ครั้ง และ Bacillus thuringiensis sub. *kurstaki* อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 2 ครั้ง

พ่นสารกำจัดโรคพืชจำนวน 3 ครั้ง ได้แก่ dimethomorph 50% WP อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 1 ครั้ง, azoxystrobin อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 2 ครั้ง พ่นสารชีวภัณฑ *Bacillus subtilis* (BS) เข้มข้น 1x109 cfu/gm อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 4 ครั้ง ก่อนทำการหว่านเมล็ด จำนวน 1 ครั้ง หลังทำการหว่านเมล็ด จำนวน 1 ครั้ง และระหว่างปลูกทุก 7 วัน จำนวน 2 ครั้ง

ในกรรมวิธีเกษตรกรทำการพ่นสารกำจัดศัตรูพืชรวมทั้งหมด 23 ครั้ง โดยพ่นสารกำจัดโรคพืช 6 ครั้ง ได้แก่ dimethomorph 50% WP อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 6 ครั้ง พ่นสารกำจัดแมลง 16 ครั้ง ได้แก่ spinetoram 12% W/V SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 6 ครั้ง, acetamiprid 20% W/V SP อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 6 ครั้ง และ emamectin benzoate 1.92% W/V EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 4 ครั้ง พ่นสารชีวภัณฑ์กำจัดแมลง จำนวน 1 ครั้ง ได้แก่ *Bacillus turingenesis* sub. *aizawai* อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

การดำเนินการป้องกันศัตรูพืชในกรรมวิธี IPM สามารถลดการใช้สารกำจัดแมลงได้ 59.09% (Table 6)

ผลตอบแทนเชิงเศรษฐศาสตร์ (Table 6)

กรรมวิธี IPM เก็บเกี่ยวผลผลิตคะน้าได้ 5,430 กิโลกรัมต่อไร่ คิดเป็นราคากิโลกรัมละ 20 บาท มูลค่าผลผลิต 108,600 บาท ต้นทุนการผลิตในการกำจัดศัตรูพืชเป็น 8,775 บาท เมื่อหักต้นทุนการผลิตแล้วพบว่า แปลงวิธี IPM มีกำไรสุทธิ 99,825 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 12.38

กรรมวิธีเกษตรกร เก็บเกี่ยวผลผลิตคะน้าได้ 5,650 กิโลกรัมต่อไร่ คิดเป็นราคากิโลกรัมละ 20 บาท มูลค่าผลผลิต 113,000 บาท ต้นทุนการผลิตในการกำจัดศัตรูพืชเป็น 11,013 บาท เมื่อหักต้นทุนการผลิตแล้วพบว่าแปลงกรรมวิธีเกษตรกร มีกำไรสุทธิ 101,987 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 10.26

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากผลการทดลองกรรมวิธี IPM ในแปลงคะน้า ตำบลท่าม่วง และ ตำบลวังขนาย อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี ทำการป้องกันกำจัดศัตรูพืชเมื่อพบศัตรูพืชชนิดต่าง ๆ เกินระดับเศรษฐกิจ (ET) ร่วมกันระหว่างวิธีติดกับดักกาวเหนียวสีเหลือง ชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืช และสารเคมีกำจัดศัตรูพืช จากผลการทดลองดำเนินการพ่นสารกำจัดศัตรูพืช และสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืช รวมทั้งหมดจำนวน 24 และ 23 ครั้ง ตามลำดับ เพื่อป้องกันกำจัดด้วงหมัดผักแถบลาย หนอนใยผัก หนอนกระทู้หอม หนอนเจาะยอดกะหล่ำ หนอนชอนใบ โรคใบจุด และโรคขอบใบไหม้ในคะน้า ส่วนกรรมวิธีเกษตรกรทำการพ่นสารกำจัดศัตรูพืชรวมทั้งหมด 46 และ23 ครั้ง เพื่อกำจัดโรคพืช และแมลงศัตรูพืชโดยทำการพ่นเป็นประจำทุก 5 - 7 วัน การดำเนินการป้องกันศัตรูพืชในกรรมวิธี IPM สามารถลดการใช้สารกำจัดแมลงลงได้ 47.83% และ 59.09% ตามลำดับ สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตคะน้าได้ 2,370 และ 5,430 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ คิดเป็นราคากิโลกรัมละ 20 บาท มูลค่าผลผลิต 47,400 และ 108,600 บาท ตามลำดับ ต้นทุนการผลิตในการกำจัดศัตรูพืชเป็น 7,972 และ 8,775 บาท ตามลำดับ เมื่อหักต้นทุนการผลิตแล้วพบว่า แปลงวิธี IPM มีกำไรสุทธิ 39,428 และ 99,825 บาท ตามลำดับ ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 5.95 และ 12.38 มากกว่ากรรมวิธีเกษตรกรที่มีผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 3.98 และ10.26 ตามลำดับ จากการทดลองในแปลงปลูกคะน้า ตำบลท่าม่วง อำเภอท่าม่วง พบด้วงหมัดผักแถบลายมีการระบาดอย่างมากในช่วงที่ทำการปลูก จึงทำให้สูญเสียผลผลิตในช่วงคะน้าต้นเล็กไปจำนวนมาก ทำให้กรรมวิธี IPM มีปริมาณผลผลิตที่เก็บเกี่ยวได้น้อยกว่า ส่วนในแปลงปลูกคะน้าตำบลวังขนาย อำเภอท่าม่วง พบมีช่วงที่ถูกหนอนใยผักเข้าทำลายจำนวนมาก ทำให้สูญเสียผลผลิต และเก็บเกี่ยวได้ปริมาณน้อยกว่า แต่ทั้งสองแปลงมีต้นทุนการผลิตที่ต่ำกว่าวิธีเกษตรกร จึงทำให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุนมากกว่า และสามารถลดการใช้สารกำจัดศัตรูพืชได้ถึง 50-60 %

สามารถนำมาใช้เป็นคำแนะนำในการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสานที่เหมาะสมสำหรับผลิตคะน้า สำหรับส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป (EU) ที่เหมาะสมได้ ดังนี้

1. การใช้ชีวภัณฑ์ป้องกันกำจัดศัตรูพืชในการปลูกคะน้า

ก่อนการหว่านเมล็ด: หลังเตรียมแปลงพร้อมสำหรับปลูก และเพิ่มความชื้นแก่ดินเรียบร้อย ทำการพ่นไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง อัตรา 75 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และพ่นชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* (BS) เข้มข้น 1x109 cfu/gm อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

หลังทำการหว่านเมล็ด: พ่นไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง อัตรา 75 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และพ่นชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* (BS) เข้มข้น 1x109 cfu/gm อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ทันที และพ่นซ้ำทุก 7 วัน

ก่อนเก็บเกี่ยวผลผลิต 2 สัปดาห์: *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร หรือ *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* อัตรา 100 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร

2. ติดกับดักกาวเหนียวสีเหลืองจำนวน 80 กับดัก/ไร่ โดยแต่ละกับดักมีระยะห่าง 3 เมตร

3. สำรวจประชากรของศัตรูพืช โดยทำการสุ่ม 50 ต้น/แปลง ทุก 4 วัน และใช้ระดับเศรษฐกิจ (ET) ในการตัดสินใจ ถ้าพบศัตรูพืชเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) ใช้ชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืชและสารเคมีกำจัดศัตรูพืช ดังนี้

- เมื่อพบด้วงหมัดผักเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) >1 ตัว/ต้น พ่นสาร spinetoram 12% SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร หรือ acetamiprid 20% SP อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร เลือกใช้สารชนิดใดชนิดหนึ่ง พ่นสารติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน

- เมื่อพบหนอนใยผักเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) >1 ตัว/ต้น พ่นชีวภัณฑ์ *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* อัตรา 200 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร หรือสาร methoxyfenozide 30%+spinetoram 6% SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร เลือกใช้สารหรือชีวภัณฑ์ชนิดใดชนิดหนึ่ง พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน กรณีที่พบไม่ถึงระดับเศรษฐกิจ (ET) เก็บหนอนหรือดักแด้ออกจากแปลงปลูกหรือพ่นชีวภัณฑ์ *Bacillus thuringiensis* var. aizawai อัตรา 100 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร

- เมื่อพบกลุ่มหนอนผีเสื้อเกินระดับเศรษฐกิจ (หนอนเจาะยอดกะหล่ำ ระดับเศรษฐกิจ (ET) >0.5 ตัว/ต้น หนอนกระทู้หอม ระดับเศรษฐกิจ (ET) >1 ตัว/ต้น) พ่นชีวภัณฑ์ *Bacillus thuringiensis* var. kurstaki อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร หรือพ่นสาร emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร หรือ methoxyfenozide 30%+spinetoram 6% SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร หรือ chlorantraniliprole 5.17% SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร เลือกใช้สารหรือชีวภัณฑ์ชนิดใดชนิดหนึ่ง พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน กรณีที่พบไม่ถึงระดับเศรษฐกิจ (ET) เก็บหนอนหรือดักแด้ออกจากแปลงปลูกหรือพ่นชีวภัณฑ์ *Bacillus thuringiensis* var. kurstaki อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร

- เมื่อพบหนอนแมลงวันชอนใบเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) >1 ตัว/ต้น พ่นสาร lambda-cyhalothrin 2.5% EC อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน กรณีที่พบไม่ถึงระดับเศรษฐกิจ (ET) เก็บใบที่พบตัวหนอนเข้าทำลายออกจากแปลง

- เมื่อพบโรคใบจุด ถ้าเริ่มพบโรค ให้พ่นชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* 20W1 หรือสารกำจัดโรคพืช azoxystrobin 25% SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร เลือกใช้สารหรือชีวภัณฑ์ชนิดใดชนิดหนึ่ง พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน

- เมื่อพบโรคขอบใบไหม้ ถ้าเริ่มพบโรค ให้พ่นชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* หรือสารกำจัดโรคพืช dimethomorph 50% WP อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร เลือกใช้สารหรือชีวภัณฑ์ชนิดใดชนิดหนึ่ง พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน

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 insectpests 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

Table 4 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 June-August 2022

Date	The number of plants [1/]											
	leaf eating beetle		diamondback moth		cabbage webworm		Cabbage leafminer		beet armyworm		late bright disease	
	IPM	Farmer	IPM	Farmer	IPM	Farmer	IPM	Farmer	IPM	Farmer	IPM	Farmer
19/07/66	6	5	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0
22/07/66	11	10	3	5	0	0	0	0	0	0	0	0
26/07/66	10	3	3	2	**32**	12	1	4	0	1	0	0
30/07/66	18	10	22	13	15	7	17	10	5	4	**23**	**3**
3/08/66	37	19	26	13	9	8	34	20	7	8	**21**	**4**
7/08/66	**132**[2/]	7	**96**	**137**	0	0	**105**	**97**	13	**52**	**36**	**14**
11/08/66	39	0	**135**	**105**	0	0	38	43	**55**	**95**	**29**	**25**
15/08/66	**63**	5	**162**	**136**	0	0	13	24	45	**71**	**30**	**32**
19/08/66	**87**	26	**177**	**217**	0	0	9	23	14	28	**16**	**39**
23/08/66	46	20	**143**	**238**	0	0	6	12	11	28	**11**	**38**

[1/] Survey data from 50 plot.

[2/] Bold characters mean that exceed the economic threshold level (ETL) for each pest.

Table 5 The comparison of types of pesticides, times of use and prices between IPM field and Farmer field at Tha-Moung district Kanchanaburi province between June-August 2023

types of pesticides	times of use	prices
Farmer field		
fungicide		
dimethomorph 50% WP	6	1,080 baht/1,200 g.
Insecticides and biological insecticide		
acetamiprid 20% W/V SP	6	960 baht/600Ml.
emamectin benzoate 1.92% W/V EC	4	1,008 baht/600 Ml.
spinetoram 12% W/V SC	6	7,740 baht/900 Ml.
Bacillus thuringiensis sub. *aizawai*	1	225 baht/500 Ml.
IPM field		
fungicide and biological fungicide		
dimethomorph 50% WP	1	180 baht/100 g.
azoxystrobin	2	700 baht/200 Ml.
Bacillus subtilis	4	750 baht/2,000 g.
Insecticides and biological insecticide		
acetamiprid 20% W/V SP	3	480 baht/300 Ml.
methoxyfenozide 30%+spinetoram 6% W/V SC	1	240 baht/100 Ml.
chlorantraniliprole 5.17 W/V SC	1	240 baht/100 Ml.
lambda-cyhalothrin 2.5% W/V EC	1	120 baht/200 Ml.
Bacillus thuringiensis sub. *aizawai*	3	675 baht/1,500 Ml.
Bacillus thuringiensis sub. *kurstaki*	2	200 baht/500 Ml.
Steinernema carpocapsae	5	3,750 baht/1,875 Ml.
yellow sticky trap	3	1,440 baht/240 pcs.

Table 6 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 June-August 2023.

Details	IPM method	Farmer method
1. The use of pesticides		
a. types of pesticides		
herbicide	0	2
fungicide	2	3
Insecticides	4	5
b. number of times of spraying pesticide	9	22
IPM reduces the insecticides use (%)	59.09%	
2. Residue of pesticides		
spinetoram	<LOQ	<LOQ
chlorantraniliprole	<LOQ[1/]	<LOQ
azoxystrobin	0.03	<LOQ
3. Economic return		
Product value (baht/rai) (B)	108,600	113,000
Cost of production (baht/rai) (C)	8,775	11,013
Net profit (baht/rai)	99,825	101,987
benefic cost ration (B/C)	12.38	10.26

[1/] LOQ ของการวิเคราะห์สารเท่ากับ 0.01 mg/kg

Figure 1 Tha-Moung kale field 1 at pre-planting and post-planting stages at 15, 29, 36 and 44 days of age

Figure 2 Tha-Moung kale field 1 at post-planting stages at 50, 57 and 64 days of age and harvesting

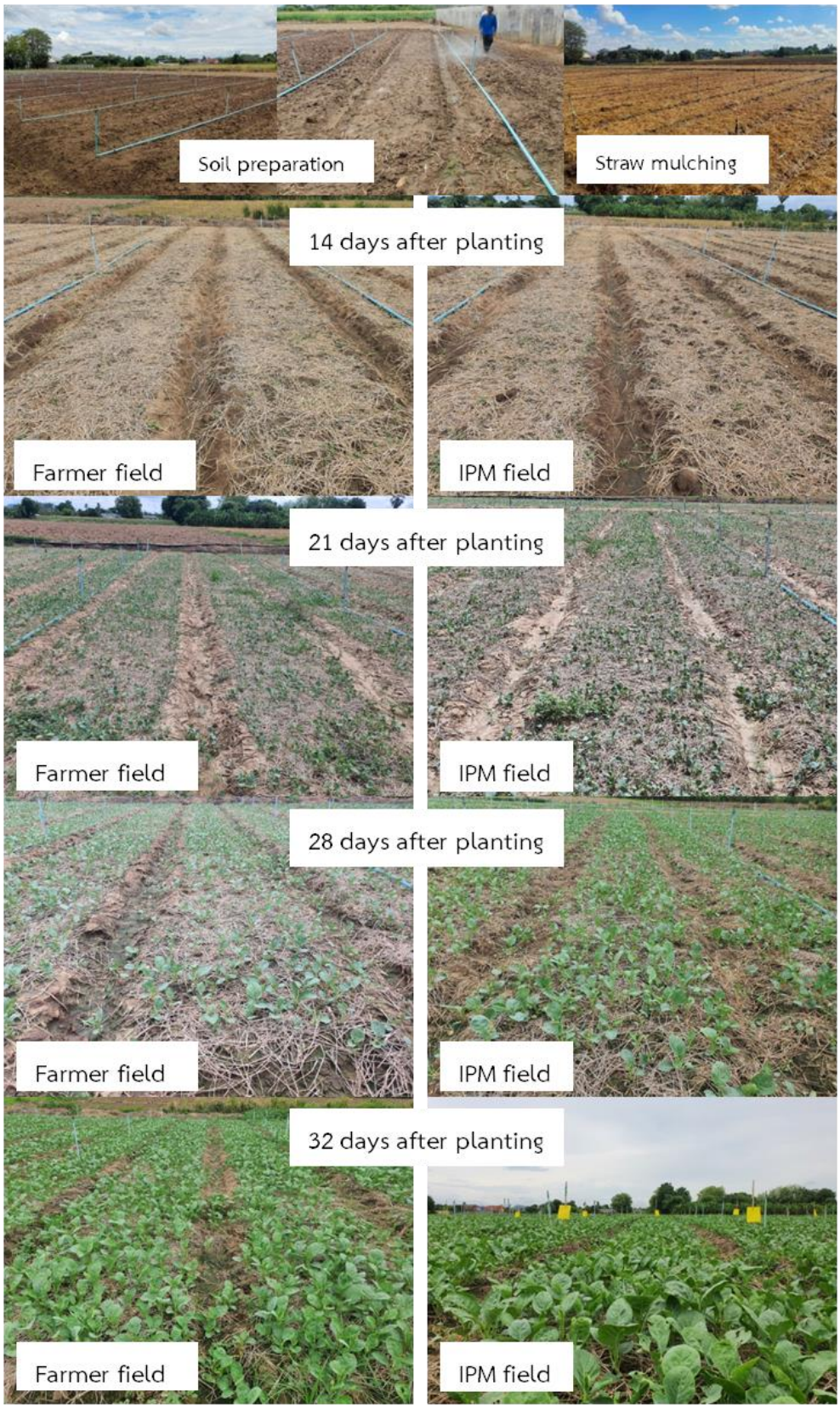


Figure 3 Tha-Moung kale field 2 at pre-planting and post-planting stages at 14, 21, 28 and 32 days of age

Figure 4 Tha-Moung kale field 2 at post-planting stages at 36, 40 and 50 days of age

เทคโนโลยีการจัดการศัตรูข้าวโพดฝักอ่อนแบบผสมผสานเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป

Integrated Pest management on Baby corn for exporting to EU

อุราพร หนูนารถ[1/] สุภางคนา ถิรวุธ[1/] วรวิช สุดจริตธรรมจริยางกูร[1/] พฤทธิชาติ ปุญวัฒโท[1/]
ยุรวรรณ อนันตนมณี[3/] ทัศนาพร ทัศคร[2/] อิศเรส เทียนทัด[1/]
สาทิพย์ มาลี[1/] ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย[4/]
[1/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[3/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[4/]กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

In 2021 and 2022, experiments were conducted in baby corn plots owned by farmers in Tha Muang District, Kanchanaburi Province, comparing Integrated Pest Management (IPM) methods with conventional farming practices. The 2021 experiment revealed the presence of the fall army worm as the predominant pest in baby corn fields, along with various plant diseases such as downy mildew and weed infestations including rubber grass, pig water chestnut, and bird's foot grass. Additionally, a natural enemy, the spider, was identified.To mitigate pest infestation, in the IPM plots, emamectin benzoate 5% WG was applied at a rate of 10 grams per 20 liters of water, three times, while farmers employed chlorfluazuron at a rate of 20 ml per 20 liters of water, twice. Disease management involved the application of dimethomorph 50% WP at a rate of 20 grams per 20 liters of water, twice, targeting downy mildew. Weed control methods included the application of halosulfuron methyl 75% WG in the IPM plots and atrazine in the farmer's plots.

Comparative analysis revealed that the IPM approach resulted in higher yields (2453 kg./rai) and produce valuation (17171 baht per rai) compared to conventional farming practices (2050 kg./rai and 14350 baht per rai, respectively) in 2021. Moreover,

รหัสการทดลอง FF65-57-02-65-00-03-65

the IPM method incurred slightly higher production costs (4255 baht per rai) but yielded greater net profits (12916 baht per rai) and return on investment (4.035) than conventional methods (4031 baht per rai, 10319 baht per rai, and 3.55, respectively).In 2022, the IPM approach continued to demonstrate superior performance, with higher yields (2874 kg./rai) and produce valuation (21118 baht per rai) compared to conventional methods (2570 kg./rai and 18990 baht per rai, respectively). Despite marginally higher production costs for the IPM approach (5685 baht per rai), it resulted in greater net profits (15433 baht per rai) and return on investment (2.71) compared to conventional methods (6235 baht per rai, 12755 baht per rai, and 2.04, respectively).

Keywords : Integrated Pest management on Baby corn for exporting to EU

บทคัดย่อ

ในปี 2564 และ ปี 2565 ได้ดำเนินทดลองในแปลงข้าวโพดฝักอ่อนของเกษตรกร อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี โดยเป็นแปลง IPM 1 แปลง และ แปลงเกษตรกรเปรียบเทียบ 1 แปลง ผลการทดลอง ในปี 2564 จากการตรวจนับชนิดของศัตรูพืชในข้าวโพดฝักอ่อน ทุก 7 วันจำนวน 6 ครั้ง พบแมลงศัตรูพืช 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 ประกอบด้วยวัชพืชใบแคบ คือ หญ้าตีนนก และแห้วหมู วัชพืชใบกว้าง คือ หญ้ายาง ผักโขม และ ตีนตุ๊กแก ในแปลงผสมผสานดำเนินการพ่นสาร halosulfuron methyl 75% WG 1 ครั้งและดำเนินการถอนทิ้ง ส่วนแปลงเกษตรกรดำเนินการพ่นอะทราซีน

เมื่อเปรียบเทียบนำหนักผลผลิตต่อไร่ พบว่าวิธีผสมผสานได้ทั้งหมด 2453 กก./ไร่ ส่วนวิธีเกษตรกรได้2050 กก./ไร่ น้ำหนักฝักมาตราฐาน ได้ 855 กก./ไร่ และ 650 กก./ไร่ ในแปลงผสมผสาน

และแปลงเกษตรกร ตามลำดับ ราคาผลผลิตในวิธีผสมผสานมีมูลค่า 17171 บาท ต่อไร่ ขณะที่แปลงเกษตรกร มีมูลค่า 14350 บาท ต่อไร่

ผลการเปรียบเทียบต้นทุนการผลิตต่อไร่ พบว่า วิธีผสมผสาน เสียค่าใช้จ่ายเป็นต้นทุนในการผลิต4255 บาทต่อไร่ ส่วนวิธีของเกษตรกร มีต้นทุนในการผลิต 4031 บาท/ไร่ เมื่อหักต้นทุนการผลิต พบว่า วิธีผสมผสาน และวิธีเกษตรกรได้กำไรสุทธิ 12916 และ 10319 บาทต่อไร่ ตามลำดับพบว่า วิธีผสมผสานและวิธีเกษตรกรได้ผลตอบแทนการลงทุน 4.035 และ 3.55 ตามลำดับ

ดำเนินการป้องกันกำจัดในปี 2565 ได้ดำเนินทดลองในแปลงข้าวโพดฝักอ่อนของเกษตรกร อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี โดยเป็นแปลง IPM 1 แปลง และ แปลงเกษตรกรเปรียบเทียบ 1 แปลง จากการตรวจนับชนิดของศัตรูพืชในข้าวโพดฝักอ่อน ในแปลงผสมผสาน ทุก 7 วันจำนวน 5 ครั้ง ไม่พบการระบาดของศัตรูข้าวโพด ทุกชนิด นอกจากนั้นพบแมลงศัตรูธรรมชาติ 1 ชนิดคือแมงมุม โดยวิธีผสมผสาน คลุกเมล็ดก่อนปลูกด้วยสารฆ่าแมลง cyantraniliprole 20% SC อัตรา 20 มิลลิลิตร ต่อเมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม และวิธีเกษตรกรเกษตรกรมีการพ่นสาร ลูเฟนนูรอล+ อีมาเม็กติน เบนโซเอต อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 3 ครั้ง

เมื่อเปรียบเทียบนำหนักผลผลิตต่อไร่ พบว่าวิธีผสมผสานได้ทั้งหมด 2874 กก./ไร่ ส่วนวิธีเกษตรกรได้ 2570 กก./ไร่ ราคาผลผลิตในวิธีผสมผสานมีมูลค่า 21118 บาทต่อไร่ ขณะที่แปลงเกษตรกร มีมูลค่า 18990 บาท ต่อ ผลการเปรียบเทียบต้นทุนการผลิตต่อไร่ พบว่า วิธีผสมผสาน เสียค่าใช้จ่ายเป็นต้นทุนในการผลิต 5685 บาทต่อไร่ ส่วนวิธีของเกษตรกร มีต้นทุนในการผลิต 6235 บาท/ไร่ เมื่อหักต้นทุนการผลิตพบว่า วิธีผสมผสาน และวิธีเกษตรกรได้กำไรสุทธิ 15433 และ 12755 บาทต่อไร่ ตามลำดับพบว่า วิธีผสมผสานและวิธีเกษตรกรได้ผลตอบแทนการลงทุน 2.71 และ 2.04 ตามลำดับ

คำหลัก : การจัดการศัตรูข้าวโพดฝักอ่อน ส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป

คำนำ

ไทยเป็นประเทศผู้ผลิตสินค้าเกษตรรายใหญ่ของโลก ผลิตผลที่ได้ใช้เพื่อการบริโภคภายในประเทศและส่งออกไปจำหน่ายยังตลาดต่างประเทศจำนวนมาก เนื่องจากอยู่ในเขตร้อนชื้น สภาพแวดล้อมเหมาะสมทำให้สามารถปลูกพืชได้ตลอดปี ส่งผลให้เกิดการระบาดของศัตรูพืชอย่างต่อเนื่องทำความเสียหายให้กับผลผลิตทั้งปริมาณและคุณภาพ เพื่อไม่ให้ผลผลิตได้รับความเสียหาย เกษตรกรจำเป็นต้องทำการป้องกันกำจัดอย่างมีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตามมีศัตรูพืชบางชนิดมีชีววิทยา หรือนิเวศวิทยาที่มีผลทำให้ไม่อาจทำการป้องกันกำจัดได้ด้วยการใช้วิธีการใดวิธีการหนึ่ง ตัวอย่างเช่น แมลงวันผลไม้ซึ่งเป็นแมลงศัตรูที่เข้าทำลายภายในผลและตัวเต็มวัยอาศัยอยู่ภายนอกแปลงปลูก ด้วงหมัดผักมีลักษณะทางชีววิทยาของตัวอ่อนเข้าทำลายรากและตัวเต็มวัยเข้าทำลายบนใบ หนูศัตรูพืชที่อาศัยอยู่ในที่หลบซ่อนและมีการเพิ่มประชากรได้อย่างรวดเร็ว และแมลงศัตรูพืชชนิดที่มีปัญหาต้านทานต่อสารกำจัดศัตรูพืช เช่น หนอนใยผัก ศัตรูพืชเหล่านี้จำเป็นต้องใช้ “การป้องกันกำจัด

ศัตรูพืชโดยวิธีผสมผสาน (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

<u>ศัตรูข้าวโพดฝักอ่อนที่สำคัญ</u>

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 ความเสียหายที่เกิดจากโรคใบไหม้แผลใหญ่ต่อผลผลิตมีความผันแปรขึ้นอยู่กับพันธุ์ สภาพแวดล้อม และการจัดการ ผลผลิตข้าวโพดฝักอ่อนเสียหายตั้งแต่ 20-90 เปอร์เซ็นต์ประเทศไทยคิดมูลค่าความ เสียหายสูงถึง 800 ล้านบาทต่อปี (ทวีศักดิ์, 2551) นอกจากนี้โรคดังกล่าวยังมีผลต่อคุณภาพของฝัก 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 ดังนั้น แนวทางแก้ไขในการเพิ่มผลผลิตและลดการสูญเสียผลผลิตข้าวโพดจากการทำลายของโรคและแมลงศัตรู คือวิจัยการป้องกันกำจัดโรคและแมลง โดยมุ่งเน้นวิธีการที่มีประสิทธิภาพ ปลอดภัยต่อผู้บริโภคและศัตรูธรรมชาติ เพื่อให้ได้วิธีการป้องกันกำจัดโรคและแมลงศัตรูแมลงศัตรูข้าวโพดแบบผสมผสานเหมาะสมสำหรับข้าวโพดฝักสด โรคและแมลงศัตรูพืช เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลกระทบต่อ การผลิตข้าวโพดข้าวโพดฝักสดเป็นอย่างมาก ซึ่งวัตถุประสงค์ของกิจกรรมเพื่อพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตข้าวโพดฝักสดที่ถูกต้องเหมาะสมตรงตามความต้องการของตลาดทั้งภายในและต่างประเทศ การจัดการผลิต ข้อมูลการจัดการโรคแมลงศัตรู และวัชพืชในข้าวโพดฝักอ่อนที่มีประสิทธิภาพสำหรับแนะนำให้เกษตรกรต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สารฆ่าแมลง deltamethrin 3% EC, chlorfluazuron 5% EC, fipronil 5% SC, carbaryl 85% WP, beta-cyfluthrin 2.5% EC, cyantraniliprole 10% OD, diazinon 60% EC, *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, metalaxyl 35% SD, dimethomorph 50% WP, azoxystrobin+difenoconazole 20%+12.5% SC, difenoconazole 25% EC, alachlor 48% EC, metolachlor 40% EC เป็นต้น

วิธีการ

มี 2 วิธี คือ วิธีป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน (IPM) และวิธีของเกษตรกร

1. เลือกแปลงเกษตรกร ทดสอบการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูข้าวโพดฝักอ่อนโดยวิธีผสมผสาน (IPM) โดยการควบคุมของนักวิชาการ เปรียบเทียบกับวิธีของเกษตรกร (F) โดยเกษตรกรเป็นผู้ดูแลเอง โดยแบ่งพื้นที่ออกเป็น 2 แปลง ๆ ละ 1 ไร่

2. การป้องกันกำจัดศัตรูข้าวโพดฝักอ่อน

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

<u>การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูข้าวโพดฝักอ่อน</u>

<u>หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด</u>

-คลุกเมล็ดก่อนปลูกด้วยสารฆ่าแมลง cyantraniliprole 20% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อเมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม

- พ่นชีวภัณฑ์ *Bacillus thuringiensis* อัตรา 40-80 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ทุก 5 วัน จนถึงเก็บเกี่ยว เน้นพ่นสารที่ยอด

<u>หนอนเจาะลำต้นข้าวโพด</u>

- 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

<u>หนอนเจาะฝักข้าวโพด</u>

ตรวจนับหนอนเจาะฝักข้าวโพด ถ้าพบหนอนเจาะฝักข้าวโพด 1 ตัวต่อต้น ให้พ่นเชื้อไวรัส NPV ของหนอนเจาะสมอฝ้าย อัตรา 20-30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

<u>หนอนกระทู้หอม</u>

ตรวจนับหนอนกระทู้หอม ถ้าพบหนอนกระทู้หอม 2-3 ตัวต่อต้น เชื้อไวรัส NPV ของหนอนกระทู้หอม อัตรา 10-20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

<u>เพลี้ยอ่อนข้าวโพด</u>

- 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

<u>การป้องกันกำจัดโรคข้าวโพดฝักอ่อน</u>

<u>โรคราน้ำค้าง</u> 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

<u>โรคใบไหม้แผลใหญ่</u> 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

<u>โรคราสนิม</u> สาเหตุจากเชื้อรา *Puccinia polysora* Underw

- หมั่นตรวจไร่ ถ้าพบข้าวโพดเริ่มแสดงอาการของโรคในฤดูที่มีการระบาดของโรครุนแรงควรพ่นด้วยสารป้องกันกำจัดโรคพืช

- พ่นสารกำจัดโรคพืช difenoconazole 25% EC อัตรา 20-30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นทุก 7 วัน จำนวน 2-4 ครั้ง

<u>โรคไวรัสใบด่าง</u> สาเหตุจากเชื้อ Sugarcane Mosaic Virus (SCMV) ซึ่งถ่ายทอดโรคโดยเพลี้ยอ่อน *Rhopalosiphum maidis* และ Maize Chlorotic Mottle Virus (MCMV) ซึ่งถ่ายทอดโรคโดยเพลี้ยไฟ *Frankliniella williamsi* และ *Thrips tabaci*

- หมั่นตรวจไร่ ถ้าพบข้าวโพดเริ่มแสดงอาการที่ผิดปกติ ได้แก่ อาการใบด่างลาย ใบด่างประจุดเหลือง 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 กรัม สารออกฤทธิ์ต่อไร่ ขณะดินมีความชื้น

- เมื่อข้าวโพดอายุ 20-30 วันหลังปลูก ถ้าพบว่ามีวัชพืชขึ้นในแปลงให้ใช้แรงงานกำจัด หรือถ้ามีปริมาณมากให้พ่นสารกำจัดวัชพืชตามประเภทหรือชนิดของสารกำจัดวัชพืช เมื่อวัชพืชมีจำนวนใบ 3-5 ใบ ระหว่างแถวต้นข้าวโพด พ่นขณะลมสงบ

วิธีที่ 2 วิธีของเกษตรกร

การบันทึกข้อมูล

- ชนิดและปริมาณของแมลงศัตรูข้าวโพดฝักอ่อน
- ชนิดและปริมาณของศัตรูธรรมชาติ
- เปอร์เซ็นต์การเป็นโรคและความรุนแรงของโรค
- ชนิดและความหนาแน่นของวัชพืช
- ชนิดของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช
- จำนวนครั้งในการพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช
- ค่าสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช
- ค่าใช้จ่ายอื่น ๆ
- ผลผลิตและราคาผลผลิต
- วิเคราะห์ผลตอบแทนเชิงเศรษฐศาสตร์ มูลค่าผลผลิต (บาท/ไร่) ต้นทุนในการผลิต (บาท/ไร่) สัดส่วนผลตอบแทนต่อการลงทุน (B/C) ระหว่างแปลง IPC และแปลงเกษตรกร
- บันทึกผลการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง ตามวิธีการของ codex
- วิเคราะห์ผลความแตกต่างทางสถิติในการควบคุมศัตรูข้าวโพดฝักอ่อน

ระยะเวลาดำเนินการ

2 ปี เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2566

พื้นที่/สถานที่ดำเนินการ

แปลงข้าวโพดฝักอ่อนของเกษตรกรในตำบลวังขนาย อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มต้น กันยายน - ตุลาคม 2565

สถานที่ แปลงข้าวโพดฝักอ่อนของเกษตรกร อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในปี 2564 ได้ดำเนินการทดลองในแปลงข้าวโพดฝักอ่อนของเกษตรกร อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี โดยเป็นแปลง IPM 1 แปลง และแปลงเกษตรกรเปรียบเทียบ 1 แปลง จากการตรวจนับชนิดของศัตรูพืชในข้าวโพดฝักอ่อน ทุก 7 วันจำนวน 6 ครั้ง พบแมลงศัตรูพืช 1 ชนิด ได้แก่ หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด พบในข้าวโพดหลังงอก 10 วัน และพบโรคพืชคือ โรคราน้ำค้าง พบวัชพืช หญ้ายาง แห้วหมู และหญ้าตีนนก นอกจากนั้นพบแมลงศัตรูธรรมชาติ 1 ชนิด คือ แมงมุม ทั้งวิธีผสมผสาน และวิธีเกษตรกร

การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูข้าวโพดฝักอ่อนในแปลงทดสอบแบบผสมผสาน 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

การจัดการด้านโรคพืช จากการสำรวจเมื่อข้าวโพดอายุ 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 ประกอบด้วยวัชพืชใบแคบ คือ หญ้าตีนนก และแห้วหมู วัชพืชใบกว้าง คือ หญ้ายาง ผักโขม และ ตีนตุ๊กแก ในแปลงผสมผสานดำเนินการพ่นสาร halosulfuron methyl 75% WG 1 ครั้งและดำเนินการถอนทิ้ง ส่วนแปลงเกษตรกรดำเนินการพ่นอะทราซีน

เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักผลผลิตต่อไร่ พบว่า วิธีผสมผสานได้ทั้งหมด 2,453 กก./ไร่ ส่วนวิธีเกษตรกรได้ 2,050 กก./ไร่ น้ำหนักฝักมาตรฐาน ได้ 855 กก./ไร่ และ 650 กก./ไร่ ในแปลงผสมผสานและแปลงเกษตรกร ตามลำดับ ราคาผลผลิตในวิธีผสมผสานมีมูลค่า 17,171 บาท ต่อไร่ ขณะที่แปลงเกษตรกร มีมูลค่า 14,350 บาท ต่อไร่

ผลการเปรียบเทียบต้นทุนการผลิตต่อไร่ พบว่า วิธีผสมผสาน เสียค่าใช้จ่ายเป็นต้นทุนในการผลิต 6,255 บาทต่อไร่ ส่วนวิธีของเกษตรกร มีต้นทุนในการผลิต 6,031 บาท/ไร่ เมื่อหักต้นทุนการผลิต พบว่า วิธีผสมผสานและวิธีเกษตรกร ได้กำไรสุทธิ 10,916 และ 8,319 บาทต่อไร่ ตามลำดับ พบว่า วิธีผสมผสานและวิธีเกษตรกรได้ผลตอบแทนการลงทุน 2.745 และ 2.38 ตามลำดับ

ในปี 2565 ได้ดำเนินทดลองในแปลงข้าวโพดฝักอ่อนของเกษตรกร อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี โดยเป็นแปลง IPM 1 แปลง และ แปลงเกษตรกรเปรียบเทียบ 1 แปลง ผลการดำเนินการป้องกันกำจัด จากการตรวจนับชนิดของศัตรูพืชในข้าวโพดฝักอ่อน ในแปลงผสมผสาน ทุก 7 วัน จำนวน 5 ครั้ง ไม่พบการระบาดของศัตรูข้าวโพด ทุกชนิด นอกจากนั้นพบแมลงศัตรูธรรมชาติ 1 ชนิด คือแมงมุม โดยวิธีผสมผสาน คลุกเมล็ดก่อนปลูกด้วยสารฆ่าแมลง cyantraniliprole 20% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อเมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม และวิธีเกษตรกรเกษตรกรมีการพ่นสาร ลูเฟนนูรอล+ อีมาเม็กติน เบนโซเอต อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 3 ครั้ง

เมื่อเปรียบเทียบนำหนักผลผลิตต่อไร่ พบว่าวิธีผสมผสานได้ทั้งหมด 2874 กก./ไร่ ส่วนวิธีเกษตรกรได้ 2570 กก./ไร่ ราคาผลผลิตในวิธีผสมผสานมีมูลค่า 21,118 บาทต่อไร่ ขณะที่แปลงเกษตรกร มีมูลค่า 18990 บาท ต่อ ผลการเปรียบเทียบต้นทุนการผลิตต่อไร่ พบว่า วิธีผสมผสาน เสียค่าใช้จ่ายเป็นต้นทุนในการผลิต 5685 บาทต่อไร่ ส่วนวิธีของเกษตรกร มีต้นทุนในการผลิต 6235 บาท/ไร่ เมื่อหักต้นทุนการผลิตพบว่า วิธีผสมผสาน และวิธีเกษตรกรได้กำไรสุทธิ 15433 และ 12755 บาทต่อไร่ ตามลำดับพบว่า วิธีผสมผสานและวิธีเกษตรกรได้ผลตอบแทนการลงทุน 2.71 และ 2.04 ตามลำดับ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

-

คำขอบคุณ

-

เอกสารอ้างอิง

-

Table 1 The names and number of the pesticides used during the cultivation

Details	IPM method	Farmer method
Insecticide	emamectin benzoate 5% WG/3	chlorfluazuron 5%EC/2
Fungicide	dimethomorph 50% WP /2	dimethomorph 50% WP/2
Herbicide	halosulfuron methyl 75% WG/1	alachlor 48% EC/1
Total	**3 pesticides/6**	**3 pesticides/5**

Table 2 Product yields, number, and price of yield per rai of baby corn between IPM method and Farmer method at Tha Muang district Kanchanaburi province during August – October 2022

Details	IPM method	Farmer method
Weight production (kg/rai)		
Unhusked baby corn	2,453	2,050
Husked baby corn	885	650
Price of yield per rai (Baht)	17,171	14,350
Product price is calculated from the weight of the unhusked ear 7 baht/kg.		

Table 3 Cost of production, net income and economic return of baby corn plantation compared between IPM method and farmer method at Tha Muang district Kanchanaburi province during August – October 2022

Expense item	IPM method	Farmer method
Seed	1,100	1,100
Tillage	800	800
Planting	200	200
Insecticide	240	176
Fungicide	215	215
Herbicide	200	40
Fertilizer	1,500	1,500
Wage of farm maintenance & harvesting	2,000	2,000
Total cost (C) (baht/rai)	6,255	6,031
Product price (R)	17,171	14,350
Net income (baht/rai)	10,916	8,319
Benefit cost ratio (B/C)	**2.745**	**2.38**

Table 4 The names and number of the pesticides used during the cultivation

Details	IPM method	Farmer method
Insecticide	Seed treatment cyantraniliprole 20% SC /1	Lefenuron+emamectin benzoate 40+10 % WG/2
Fungicide	dimethomorph 50% WP /2	dimethomorph 50% WP/2
Total	**2 pesticides/3**	**2 pesticides/4**

Table 5 Product yields, number, and price of yield per rai of baby corn between IPM method and Farmer method at Tha Muang district Kanchanaburi province during August – October 2023

Details	IPM method	Farmer method
Weight production (kg/rai)		
Unhusked baby corn	2,874	2,570
Price of yield per rai (Baht)	21118	18990
Product price is calculated from the weight of the unhusked ear 7 baht/kg.		

Table 6 Cost of production, net income and economic return of baby corn plantation compared between IPM method and farmer method at Tha Muang district Kanchanaburi province during August – October 2023

Expense item	IPM method	Farmer method
Seed	1,000	1,000
Tillage	1200	1200
Planting	500	500
Insecticide	650	1200
Fungicide	215	215
Fertilizer	1,335	1,335
Wage of farm maintenance & harvesting	1,000	1,000
Total cost (C) (baht/rai)	5,685	6,235
Product price (R)	21,118	17150
Net income (baht/rai)	15,433	11,915
Benefit cost ratio (B/C)	**2.71**	**2.04**

Figure 1 Baby Corn plot plantation IPM method in the Tha Muang district Kanchanaburi province at 7-15 days

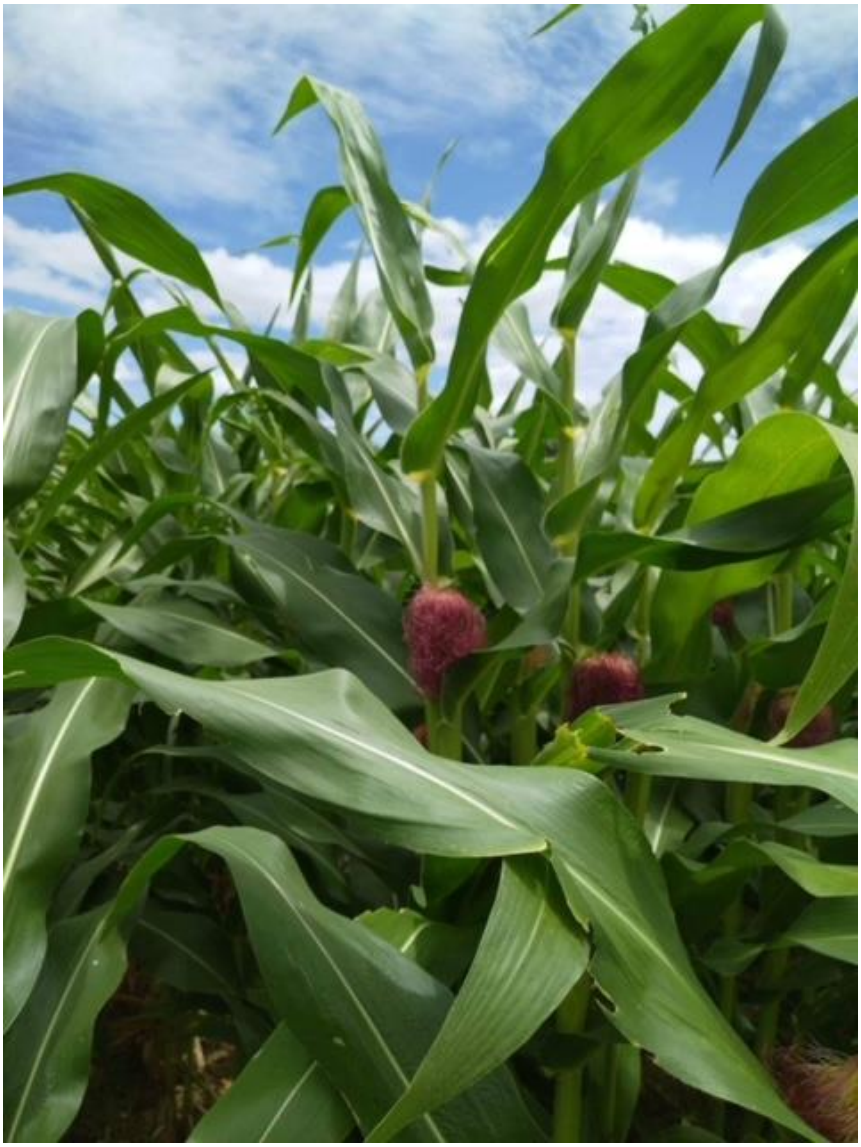


Figure 2 Baby corn plot plantation IPM method in the Tha Muang district Kanchanaburi province at 45 days

Figure 3 Baby corn plot plantation compared between IPM method and farmer method

เทคโนโลยีการจัดการศัตรูคะน้าแบบผสมผสานในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป

Integrated pest management of cabbage in greenhouse systems for export to European Union (EU)

หทัยภัทร เจษฎารมย์[1/] สัญญาณี ศรีคชา[1/] กรกต ดำรักษ์[1/] วนาพร วงษ์นิคง[1/]
ประภัสสร เชยคำแหง[2/] วิไลวรรณ เวชยันต์[2/] ประชาธิปัตย์ พงษ์ภิญโญ[3/]
อดุลย์รัตน์ แคล้วคลาด[4/]
[1/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[3/]กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
[4/]กลุ่มวิจัยและพัฒนา ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครปฐม

รายงานความก้าวหน้า

เทคโนโลยีการจัดการศัตรูคะน้าแบบผสมผสานในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรปมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเทคโนโลยีการผลิตคะน้าในระบบโรงเรือน ให้เป็นไปตามมาตรฐานที่กลุ่มสหภาพยุโรป (EU) ยอมรับ ลดปริมาณหนอนใยผัก หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก หนอนเจาะยอดกะหล่ำ หนอนแมลงวันชอนใบ และด้วงหมัดผักให้มีปริมาณน้อยที่สุด ผลผลิตไม่มีปัญหาสารพิษตกค้างและปลอดภัย ได้มาตรฐานสำหรับส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป (EU) ดำเนินการทดลองที่แปลงปลูกคะน้าระบบโรงเรือนของเกษตรกรที่อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม โดยเปรียบเทียบวิธีป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน (IPM) และวิธีการของเกษตรกร วิธีป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสานในระบบโรงเรือน ประกอบด้วย การสุ่มสำรวจประชากรศัตรูพืชในโรงเรือน และการใช้ระดับเศรษฐกิจเป็นเครื่องมือช่วยตัดสินใจในการพ่นสารเคมี ซึ่งหากพบศัตรูพืชเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) ที่กำหนด จึงดำเนินการป้องกันกำจัด การดำเนินการทดลองนี้ มีความล่าช้าไม่เป็นไปตามแผน เนื่องจากสภาพอากาศแปรปรวน อุณหภูมิสูง ไม่เหมาะสมในการปลูกคะน้า นอกจากนี้ยังพบว่าโรงเรือนชำรุดจากการใช้งานหลายปี จึงมีความจำเป็นต้องปรับปรุงซ่อมแซมโรงเรือน เพื่อให้เหมาะสมต่อการปลูกคะน้า

คำหลัก : หนอนใยผัก, หนอนกระทู้หอม, หนอนกระทู้ผัก, หนอนเจาะยอดกะหล่ำ, หนอนแมลงวันชอนใบ, ด้วงหมัดผัก, การจัดการศัตรูคะน้าแบบผสมผสาน, ระบบโรงเรือน, กลุ่มสหภาพยุโรป

รหัสการทดลอง FF65-57-02-65-00-04-66

คำนำ

การจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน (Integrated Pest Management-IPM) กองกีฏและสัตววิทยา (2544) รายงานว่าการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสานเป็นวิทยาการแขนงหนึ่งสำหรับใช้ควบคุมศัตรูพืช เป็นแนวทางในการดำเนินงานที่จะเลือกใช้วิธีการควบคุมใด ๆ ก็ตามมาใช้กำจัดหรือควบคุมศัตรูพืชโดยใช้หลักทางด้านนิเวศวิทยาและเศรษฐศาสตร์ และเกี่ยวข้องกับการตัดสินใจ โดยมีการตรวจสอบประชากรแมลงและคำนึงถึงสภาพแวดล้อม ซึ่งผลการตัดสินใจนั้น อาจจะไม่ต้องมีการควบคุมหรืออาจเลือกใช้วิธีการควบคุมวิธีใดวิธีหนึ่ง หรือหลายวิธีการผสมผสานกัน เพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดทั้งทางด้านเศรษฐกิจ สังคม และสิ่งแวดล้อม

คะน้า (cabbage) เป็นพืชผักที่สำคัญในประเทศไทย เนื่องจากใช้บริโภคในชีวิตประจำวัน มีการปลูกอยู่ในทั่วทุกภาคของประเทศไทย มีความสำคัญทางด้านเศรษฐกิจ การผลิตพืชตระกูลกะหล่ำเพื่อการค้าในพื้นที่ขนาดใหญ่ ซึ่งปลูกติดต่อกันตลอดปี ทำให้เกิดปัญหาศัตรูพืชเข้าทำลายโดยเฉพาะแมลงศัตรูพืช และโรคพืช โดยศัตรูพืชในคะน้าที่สำคัญในกลุ่มแมลงศัตรูพืช เช่น หนอนใยผัก หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก หนอนเจาะยอดกะหล่ำ หนอนแมลงวันชอนใบ ซึ่งจะเข้าทำลายในส่วนของใบ และส่วนยอด พวกด้วงปีกแข็ง เช่น ด้วงหมัดผัก ซึ่งตัวแก่กัดกินใบ และตัวอ่อนกัดกินส่วนราก ในกลุ่มโรคพืชได้แก่ โรคใบจุดในคะน้า และโรคราน้ำค้าง ซึ่งหากระบาดในวงกว้างคุณภาพและผลผลิตจะลดลง แนวทางในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชเหล่านี้มีความซับซ้อน และหลายพื้นที่ศัตรูพืชมีความต้านทานต่อสารกำจัดแมลง จึงต้องใช้วิธีการในการดูแลร่วมกันหลายวิธี เช่น วิธีการเขตกรรม วิธีกล การใช้ระดับเศรษฐกิจ (ET) ทั้งนี้เพื่อให้ได้ผลผลิตที่ดีทั้งปริมาณและคุณภาพ รวมถึงได้วิธีการที่ปลอดภัยต่อผู้ปลูกและผู้บริโภค และไม่มีผลให้เกิดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม (กลุ่มบริหารศัตรูพืชและกลุ่มกีฏและสัตววิทยา, 2559) สารที่ใช้ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชในคะน้า ได้แก่ 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 ซึ่งการทดลองนี้ทำขึ้นเพื่อศึกษาเทคโนโลยีการผลิต คะน้าในระบบโรงเรือน ให้เป็นไปตามมาตรฐานที่กลุ่มสหภาพยุโรป (EU) ยอมรับ ลดปริมาณศัตรูพืชกักกันให้มีปริมาณน้อยที่สุดก่อนเข้าโรงคัดบรรจุ ผลผลิตไม่มีปัญหาสารพิษตกค้างและปลอดภัย ได้มาตรฐานสำหรับส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป (EU)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สารฆ่าแมลง ได้แก่ spinetoram 12% SC, emamectin benzoate 1.92% EC, methoxyfenozide 24% SC, gamma-cyhalothrin 1.5% CS และ lambda-cyhalothrin 2.5%

CS, สารกำจัดโรคพืช ได้แก่ dimethomorph 50% WP และ azoxystrobin 25% SC, ชีวภัณฑ์ป้องกันกำจัดศัตรูพืช ได้แก่ แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai*, *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, *Bacillus subtilis* 20W1 และไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง *Steinernema carpocapsae*

2. เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง
3. ไม้ปักแปลง ป้ายแสดง ลวด อุปกรณ์สำหรับบันทึกข้อมูล
4. แปลงคะน้าของเกษตรกร
5. โรงเรือนตาข่ายกันแมลงขนาด 32 mesh ขนาด 6x24 เมตร สูง 5 เมตร

วิธีการ

คัดเลือกเกษตรกร 2 ราย โดยเกษตรกรต้องเป็นเครือข่ายของบริษัทส่งออก แต่ละรายดำเนินการ 2 วิธี ดังนี้

<u>วิธีที่ 1 วิธีป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน (IPM) ในระบบโรงเรือน ดำเนินการดังนี้</u>

1. เมล็ดพันธุ์คะน้าที่นำมาใช้ต้องแช่น้ำร้อนที่ 52 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที

2. ทำการสำรวจประชากรของศัตรูพืชในโรงเรือน โดยมีขนาดการสุ่ม 50 ต้น/โรงเรือน ทุก , 4 วัน ถ้าพบศัตรูพืชเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) ที่กำหนด ให้ดำเนินการป้องกันกำจัด ดังนี้

หนอนใยผัก ระดับเศรษฐกิจ (ET) >2 ตัว/ต้น ถ้าเกินระดับ ET พ่นชีวภัณฑ์ *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* อัตรา 200 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือสารฆ่าแมลง 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) เก็บตัวหนอนออกจากแปลง หรือพ่นชีวภัณฑ์ *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

ด้วงหมัดผัก ระดับเศรษฐกิจ (ET) >1 ตัว/ต้น (อายุพืช 1-15 วัน) >2 ตัว/ต้น (อายุพืชมากกว่า 15 วัน) 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 การเลือกใช้สารเคมีหรือชีวภัณฑ์ต้องพิจารณาตามอายุพืชด้วย ถ้าพืชอยู่ในระยะเจริญเติบโตจะเลือกใช้สารเคมี และถ้าพืชอยู่ในระยะใกล้เก็บเกี่ยวถึงเก็บเกี่ยวจะเลือกใช้ชีวภัณฑ์เป็นหลัก

<u>วิธีที่ 2 วิธีของเกษตรกรในระบบโรงเรือน</u>

1. ดำเนินการผลิตคะน้าในโรงเรือนตาข่ายกันแมลงขนาด 32 mesh ขนาด 6x24 เมตร สูง 5 เมตร

2. ใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชตามรายการที่บริษัทส่งออกได้กำหนดไว้

การบันทึกข้อมูล

- จำนวนและชนิดของแมลงศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ
- บันทึกการเป็นโรค
- ชนิดและจำนวนครั้งที่ใช้สารในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช
- ชนิดและจำนวนครั้งที่ใช้สารชีวภัณฑ์ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช
- บันทึกปริมาณผลผลิตและราคา
- ต้นทุนการใช้สารในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช/สารชีวภัณฑ์ ข้อมูลค่าใช้จ่ายที่เป็นต้นทุนการผลิตทั้งหมด
- วิเคราะห์ผลตอบแทนเชิงเศรษฐศาสตร์ มูลค่าผลผลิต (บาท/ไร่) ต้นทุนในการผลิต (บาท/ไร่) สัดส่วนผลตอบแทนต่อการลงทุน (B/C) ระหว่างแปลง IPM และ แปลงเกษตรกร
- บันทึกผลการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง ตามวิธีการของ codex
- วิเคราะห์ผลความแตกต่างทางสถิติในการควบคุมศัตรูคะน้า

เวลาและสถานที่

เวลา ระยะเวลาดำเนินงาน 2 ปี เริ่มต้น ตุลาคม 2565 สิ้นสุด กันยายน 2567

สถานที่ แปลงคะน้าเกษตรกรที่มีระบบโรงเรือนในอำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

เทคโนโลยีการจัดการศัตรูคะน้าแบบผสมผสานในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป ดำเนินการทดลองที่แปลงปลูกคะน้าระบบโรงเรือนของเกษตรกรที่อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม โดยเปรียบเทียบวิธีป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน (IPM) และวิธีการของเกษตรกร วิธี

ป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสานในระบบโรงเรือน ประกอบด้วย การสุ่มสำรวจประชากรศัตรูพืชในโรงเรือน โดยมีขนาดการสุ่ม 50 ต้น/โรงเรือน ทุก 4 วัน และการใช้ระดับเศรษฐกิจเป็นเครื่องมือช่วยตัดสินใจในการพ่นสารเคมี ถ้าพบศัตรูพืชเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) ที่กำหนด ให้ดำเนินการป้องกันกำจัด ศัตรูพืชพืชเป้าหมายได้แก่ หนอนใยผัก กลุ่มหนอนผีเสื้อ ด้วงหมัดผัก โรคใบจุด และโรคราน้ำค้าง อย่างไรก็ตามการดำเนินการทดลองนี้ มีความล่าช้าไม่เป็นไปตามแผน เนื่องจากสภาพอากาศแปรปรวน อุณหภูมิสูง ไม่เหมาะสมในการปลูกคะน้า นอกจากนี้ยังพบว่าโรงเรือนชำรุดจากการใช้งานหลายปี จึงมีความจำเป็นต้องปรับปรุงซ่อมแซมโรงเรือน เพื่อให้เหมาะสมต่อการปลูกคะน้า ซึ่งจะเริ่มดำเนินการทดลองปลูกคะน้าเพื่อทำการทดลองหลังการปรับปรุงโรงเรือนแล้วเสร็จ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เทคโนโลยีการจัดการศัตรูคะน้าแบบผสมผสานในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรปมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเทคโนโลยีการผลิตคะน้าในระบบโรงเรือน ให้เป็นไปตามมาตรฐานที่กลุ่มสหภาพยุโรป (EU) ยอมรับ ลดปริมาณหนอนใยผัก หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก หนอนเจาะยอดกะหล่ำ หนอนแมลงวันชอนใบ และด้วงหมัดผักให้มีปริมาณน้อยที่สุด ผลผลิตไม่มีปัญหาสารพิษตกค้างและปลอดภัย ได้มาตรฐานสำหรับส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป (EU) ดำเนินการทดลองที่แปลงปลูกคะน้าระบบโรงเรือนของเกษตรกรที่อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม โดยเปรียบเทียบวิธีป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน (IPM) และวิธีการของเกษตรกร โดยวิธีป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสานในระบบโรงเรือน ประกอบด้วย การสุ่มสำรวจประชากรศัตรูพืชในโรงเรือน และการใช้ระดับเศรษฐกิจในการช่วยตัดสินใจพ่นสารเคมี หากพบศัตรูพืชเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) ที่กำหนด ให้ดำเนินการป้องกันกำจัด การดำเนินการทดลองมีความล่าช้าไม่เป็นไปตามแผน เนื่องจากสภาพอากาศแปรปรวน อุณหภูมิที่สูง ไม่เหมาะสมในการปลูกคะน้า นอกจากนี้ยังพบว่าโรงเรือนชำรุดจากการใช้อยู่ระหว่างการปรับปรุงซ่อมแซมวัสดุที่เป็นส่วนประกอบโรงเรือนผลิตคะน้า และจะเริ่มดำเนินการทดลองปลูกคะน้าเพื่อทำการทดลองหลังการปรับปรุงโรงเรือนแล้วเสร็จ

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเกษตรกรเจ้าของแปลงที่เอื้อเฟื้อแปลงปลูกสำหรับดำเนินงานทดลอง ขอขอบคุณพนักงานราชการและเจ้าหน้าที่กลุ่มบริหารศัตรูพืช ที่ให้การช่วยเหลืองานวิจัยทุกท่าน

เอกสารอ้างอิง

กองกีฏและสัตววิทยา. 2544. *เทคโนโลยีทางเลือกสำหรับ ไอ พี เอ็ม*. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 309 หน้า.

กลุ่มบริหารศัตรูพืช และกลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2559. ชนิดของพืชผักและแมลงศัตรูที่ทำลายพืชผักตระกูลกะหล่ำ. หน้า 2-3. *ใน*: *แมลงศัตรูผัก เห็ด และไม้ดอก.* สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2553. *คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ปี 2553*. กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 303 หน้า.

Figure 1 Preparing green house for plantation

เทคโนโลยีการจัดการศัตรูผักชีฝรั่งในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป

Integrated Pest Management for *Eryngium foetidum* L. in Greenhouse Systems for Export to the European Union

วนาพร วงษ์นิคง[1/] สัญญาณี ศรีคชา[1/] กรกต ดำรักษ์[1/] หทัยภัทร เจษฎารมย์[1/]
ทัศนาพร ทัศคร[2/] ประชาธิปัตย์ พงษ์ภิญโญ[3/] เพทาย กาญจนเกษร[4/]
[1/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[3/]กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
[4/]กลุ่มวิจัยและพัฒนา ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครปฐม

รายงานความก้าวหน้า

การทดสอบเทคโนโลยีการจัดการศัตรูผักชีฝรั่งในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป ณ อำเภอพุทธมณฑล จังหวัดนครปฐม เริ่มดำเนินการทดลองตั้งแต่เดือนธันวาคม 2566 โดยเปรียบเทียบระหว่างวิธีเกษตรกรและวิธี IPM ผลการดำเนินการพบว่า ศัตรูพืชที่พบในแปลงผักชีฝรั่ง ได้แก่ เพลี้ยไฟ แมลงหวี่ขาวยาสูบ เพลี้ยแป้ง เพลี้ยอ่อน เพลี้ยจักจั่น หนอนกระทู้ผัก ไรแดง ไรขาว และโรคใบจุด วัชพืชที่พบในแปลงผักชีฝรั่งได้แก่ เทียนนา กะเม็ง ตำแยแมว และสาบม่วง โดยวิธี IPM มีการสำรวจประชากรของศัตรูพืช โดยทำการสุ่ม 100 ต้น/โรงเรือน ทุก 7 วัน และใช้ระดับเศรษฐกิจ (ET) ในการตัดสินใจ หากพบศัตรูพืชเกินระดับเศรษฐกิจ ดำเนินการป้องกันกำจัดศัตรูพืช ติดตั้งกับดักกาวสีเหลืองในโรงเรือนทุกระยะ 2 เมตร จำนวน 3 แถว และเปลี่ยนกับดักทุก 14 วัน แปลง IPM มีการดำเนินการพ่นสารป้องกันกำจัดแมลงรวม 13 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ แมลงหวี่ขาว และเพลี้ยจักจั่น กำจัดวัชพืชโดยใช้มือ จำนวน 4 ครั้ง เพื่อทำลายพืชอาศัยของแมลงหวี่ขาว พ่นสารป้องกันกำจัดโรค จำนวน 2 ครั้ง เพื่อป้องกันโรคราน้ำค้าง วิธีเกษตรกร มีการพ่นสารป้องกันกำจัดแมลงจำนวน 12 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดกลุ่มหนอนผีเสื้อ เพลี้ยไฟ และแมลงหวี่ขาว ซึ่งเกษตรกรพ่นสารเคมีโดยการสำรวจแมลงในแปลงปลูก และหากพบว่ามีการระบาดจึงพ่น แต่ไม่ได้อ้างอิงจากระดับเศรษฐกิจ พ่นสารป้องกันกำจัดโรค จำนวน 2 ครั้ง เพื่อป้องกันโรคราน้ำค้าง กำจัดวัชพืชโดยใช้มือ จำนวน 2 ครั้ง เพื่อทำลายพืชอาศัยของแมลงหวี่ขาว ขณะนี้อยู่ระหว่างการดำเนินการทดสอบเทคโนโลยีการจัดการศัตรูผักชีฝรั่ง และเก็บข้อมูล ซึ่งต้องมีการข้อมูลเก็บข้อมูลจนกระทั่งระยะเก็บเกี่ยว เพื่อนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ผลการทดลองต่อไป

คำหลัก : การจัดการศัตรูพืช, ผักชีฝรั่ง, ระบบโรงเรือน, กลุ่มสหภาพยุโรป

รหัสการทดลอง FF65-57-02-65-00-05-66

คำนำ

จากการเลือกใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชอย่างต่อเนื่องหรือเกินความจำเป็น ทำให้เกิดปัญหาแมลงสร้างความต้านทานต่อสารเคมี สารพิษตกค้างเกินค่ามาตรฐาน อีกทั้งสหภาพยุโรปมีข้อบังคับห้ามใช้สารเคมีในกลุ่ม Neonicotinoids และมีแผนถอดถอนสารเคมีกลุ่มที่เป็นสารรบกวนการทำงานของต่อมไร้ท่อ ซึ่งสารเคมีในกลุ่มดังกล่าวยังคงใช้ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช ทำให้ประเทศไทยต้องพัฒนาปรับปรุงระบบการผลิตพืช ซึ่งการเลือกวิธีการควบคุมศัตรูพืชเพียงวิธีเดียว ไม่สามารถควบคุมศัตรูพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นควรนำวิธีการป้องกันกำจัดศัตรูพืชหลายๆ วิธีมารวมเป็นวิธีการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน (Integrated Pest Management-IPM) เพื่อแก้ปัญหาศัตรูพืชกักกันปนเปื้อนในสินค้าเกษตร และลดปัญหาสารพิษตกค้างเกินค่ามาตรฐานได้อย่างยั่งยืน คณะกรรมการองค์การอาหารและการเกษตรแห่งสหประชาชาติ นิยามความหมายของ IPM ว่าเป็นระบบการจัดการ รวบรวมรายละเอียดเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงประชากรของศัตรูพืชกับสภาพแวดล้อมที่เกี่ยวข้องกับการเลือกเทคนิค และวิธีการที่เหมาะสมมาผสมผสาน เพื่อใช้ดำเนินการลดระดับปริมาณศัตรูพืชให้อยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจ (FAO, 1968) การจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน สามารถใช้ข้อมูลต่างๆ ประกอบการตัดสินใจป้องกันกำจัดศัตรูพืช ใช้หลักด้านนิเวศวิทยาและเศรษฐศาสตร์ สำรวจประชากรศัตรูพืชอย่างสม่ำเสมอ และคำนึงถึงสภาพแวดล้อม ผลการตัดสินใจนั้น อาจไม่ต้องมีการควบคุมหรืออาจเลือกใช้วิธีการควบคุมวิธีใดวิธีหนึ่ง หรือหลายวิธีการผสมผสานกัน เพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดทั้งด้านเศรษฐกิจ สังคม และสิ่งแวดล้อม

แมลงหวี่ขาวยาสูบ (tobacco whitefly) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Bemisia tabaci* (Gennadius) จัดอยู่ในวงศ์ Aleyrodidae อันดับ Hemiptera แมลงหวี่ขาวยาสูบเป็นศัตรูที่สำคัญของพืชผักและพืชเส้นใย ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบ ทำให้ใบหงิกงอและเหี่ยวแห้ง ต้นแคระแกร็น นอกจากนี้ยังเป็นพาหะนำเชื้อไวรัสทำให้เกิดโรคด่างเหลือง พบระบาดมากในฤดูแล้ง 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 และถั่วต่างๆ (สัญญาณีและคณะ, 2560) นอกจากนี้แมลงหวี่ขาวยาสูบยังจัดเป็นแมลงศัตรูกักกันในกลุ่มสหภาพยุโรป เนื่องจากเป็นพาหะนำเชื้อไวรัสได้หลายชนิด

เพลี้ยไฟฝ้าย (cotton thrips) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Thrips palmi* Karny จัดอยู่ในวงศ์ Thripidae อันดับ Thysanoptera เพลี้ยไฟฝ้ายเป็นศัตรูสำคัญของพืชผัก พืชไร่และไม้ดอกหลายชนิด ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากพืช ทำให้เกิดรอยด้านหรือรอยแผลสีน้ำตาลใบแห้ง ตาอ่อน ยอด ดอกและผลไม่เจริญเติบโต ระยะที่พืชขาดน้ำอาจทำให้พืชตายได้ เพลี้ยไฟฝ้ายพบทำลายพืชได้

เกือบตลอดปี การระบาดมักพบในช่วงฤดูร้อนหรือช่วงที่มีอากาศแห้งแล้ง ฝนทิ้งช่วงเป็นเวลานาน วงจรชีวิตของเพลี้ยไฟเฉลี่ย 14-23 วัน (สัญญาณีและคณะ, 2560)

เทคโนโลยีการจัดการศัตรูผักชีฝรั่งในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรปมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเทคโนโลยีการผลิตผักชีฝรั่งให้เป็นไปตามข้อกำหนดของสหภาพยุโรป โดยนำคำแนะนำการป้องกันกำจัดศัตรูพืชจากเอกสารวิชาการต่างๆ เช่น คู่มือการป้องกันกำจัด แมลงศัตรูพืชสำหรับการผลิตผักเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรป (ฉบับปรับปรุงแก้ไขเพิ่มเติม) (สัญญาณี และคณะ, 2560) โรคผักและการป้องกันกำจัด (กลุ่มวิจัยโรคพืช, 2554) และผลงานวิจัยจากนักวิจัยกรมวิชาการเกษตร เปรียบเทียบวิธีการระหว่างวิธีการป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน และวิธีการของเกษตรกร ซึ่งคาดว่าวิธีการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสานสำหรับการผลิตผักชีฝรั่งสามารถลดปัญหาศัตรูพืช ได้ผลผลิตที่ปลอดภัย เป็นไปตามข้อกำหนดของสหภาพยุโรป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สารฆ่าแมลงและไรศัตรูพืช ได้แก่ emamectin benzoate 1.92% EC, spirotetramat 15% OD, cyantraniliprole 10% OD, sulfoxaflor 50% WG, buprofezin 40% SC, flonicamid 50% WG, lambda-cyhalothrin 2.5% CS, spinetoram 12% SC, petroleum spray oil 83.9% EC และ fenpyroximate 5% SC, white oil 67% EC และD-limonene 5.7 W/V สารกำจัดโรคพืช ได้แก่ azoxystrobin 25% SC, dimethomorph 50% WP ชีวภัณฑ์ป้องกันกำจัดศัตรูพืช ได้แก่ แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, *Bacillus subtilis* 20W1
2. ฟิวเจอร์บอร์ด กาวเหนียว ถุงพลาสติก
3. เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง
4. ไม้ปักแปลง ป้ายแสดง ลวด อุปกรณ์สำหรับบันทึกข้อมูล
5. แปลงผักชีฝรั่งของเกษตรกร
6. โรงเรือนตาข่ายกันแมลงขนาด 32 mesh ขนาด 6x24 เมตร สูง 5 เมตร

วิธีการ

<u>แบบและวิธีการทดลอง</u>

มี 2 วิธี คือ วิธีป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน (IPM) ในระบบโรงเรือน และวิธีของเกษตรกร

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

คัดเลือกเกษตรกร 2 ราย โดยเกษตรกรต้องเป็นเครือข่ายของบริษัทส่งออก แต่ละรายดำเนินการ 2 วิธี ดังนี้

วิธีที่ 1 วิธีป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน (IPM) ในระบบโรงเรือน ดำเนินการดังนี้

1. ติดกับดักกาวเหนียวสีเหลืองในโรงเรือน โดยมีระยะห่างระหว่างกับดักทุก 2 เมตร และเปลี่ยนกาวใหม่ทุก 14 วัน

2. ทำการสำรวจประชากรของศัตรูพืชในแปลงปลูกผักชีฝรั่ง โดยมีขนาดการสุ่ม 100 ต้น/โรงเรือน ทุกสัปดาห์ ถ้าพบศัตรูพืชเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) ที่กำหนด ให้ดำเนินการป้องกันกำจัด ดังนี้

<u>เพลี้ยไฟ</u> แบ่งระดับเศรษฐกิจ (ET) ตามระยะการเจริญเติบโตของพืช ดังนี้

- ระยะตั้งแต่หลังงอก - อายุ 3 เดือน
    - ระดับเศรษฐกิจ (ET) ≥ 50 ต้น/100 ต้น
- อายุตั้งแต่ 3 เดือน - ก่อนระยะเก็บผลผลิต
    - ระดับเศรษฐกิจ (ET) พบเพลี้ยไฟ 1-3 ตัว/ต้น พบ ≥ 50 ต้น/100 ต้น
    - ระดับเศรษฐกิจ (ET) พบเพลี้ยไฟ > 3 ตัว/ต้น พบ ≥ 20 ต้น/100 ต้น
- ระยะเก็บผลผลิต – ระยะเก็บผลผลิตรุ่นสุดท้าย
    - ระดับเศรษฐกิจ (ET) ≥ 20 ต้น/100 ต้น

ถ้าเพลี้ยไฟเกินระดับ ET พ่นสารฆ่าแมลง emamectin benzoate 1.92% EC (กลุ่ม 6) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ spirotetramat 15% OD (กลุ่ม 23) อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ cyantraniliprole 10% OD (กลุ่ม 28) อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ sulfoxaflor 50% WG (กลุ่ม 4C) อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร โดยเลือกใช้สารชนิดใดชนิดหนึ่ง พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน งดการใช้สารเคมีก่อนการเก็บเกี่ยว 15 วัน

<u>แมลงหวี่ขาวยาสูบ</u> แบ่งระดับเศรษฐกิจ (ET) ตามระยะการเจริญเติบโตของพืช ดังนี้

- ระยะตั้งแต่หลังงอก – ก่อนระยะเก็บผลผลิต
    - ระดับเศรษฐกิจ (ET) พบตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาว ≥ 50 ต้น/100 ต้น
    - ระดับเศรษฐกิจ (ET) พบตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาว ≥ 30 ต้น/100 ต้น และพบแมลงหวี่ขาวที่วัชพืช > 25% ของพื้นที่
    - ระดับเศรษฐกิจ (ET) พบตัวอ่อนแมลงหวี่ขาว ≥ 10 ต้น/100 ต้น
- ระยะเก็บผลผลิต – ระยะเก็บผลผลิตรุ่นสุดท้าย
    - ระดับเศรษฐกิจ (ET) ≥ 20 ต้น/100 ต้น

ถ้าแมลงหวี่ขาวเกินระดับ ET พ่นสารฆ่าแมลง buprofezin 40% SC (กลุ่ม 16) อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ spirotetramat 15% OD (กลุ่ม 23) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ sulfoxaflor 50% WG (กลุ่ม 4C) อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ white oil 67% EC อัตรา 150 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ petroleum spray oil 83.9% EC อัตรา 150 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ D-limonene 5.7 W/V

อัตรา 80 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร เลือกใช้สารชนิดใดชนิดหนึ่ง พ่นติดต่อกัน 2-3 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน งดการใช้สารเคมีก่อนการเก็บเกี่ยว 15 วัน

กรณีที่พบไม่ถึงระดับเศรษฐกิจ (ET) พ่น white oil 67% EC อัตรา 150 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ petroleum spray oil 83.9% EC อัตรา 150 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ D-limonene 5.7 W/V อัตรา 80 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

เพลี้ยอ่อน ระดับเศรษฐกิจ (ET) ≥ 20 ต้น/100 ต้น ถ้าเกินระดับ ET พ่นสารฆ่าแมลง 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) เลือกใช้สารชนิดใดชนิดหนึ่ง พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน งดการใช้สารเคมีก่อนการเก็บเกี่ยว 15 วัน กรณีที่พบไม่ถึงระดับเศรษฐกิจ (ET) ตัดส่วนที่พบเพลี้ยอ่อนออก และเก็บทำลายนอกแปลงปลูก

เพลี้ยแป้ง ระดับเศรษฐกิจ (ET) ≥ 25 ต้น/100 ต้น ถ้าเกินระดับ ET พ่นสารกำจัดแมลงปิโตรเลียมสเปรย์ออยล์ (petroleum spray oil) 83.9% EC อัตรา 60 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน กรณีที่พบไม่ถึงระดับเศรษฐกิจ ตัดส่วนที่พบเพลี้ยแป้งออก และเก็บทำลายนอกแปลงปลูก

เพลี้ยจักจั่น ระดับเศรษฐกิจ (ET) ≥ 20 ต้น/100 ต้น ถ้าเกินระดับ ET พ่นสารฆ่าแมลง buprofezin 40% SC (กลุ่ม 16) อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 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

กลุ่มไร ระดับเศรษฐกิจ (ET) ≥ 40 ต้น/100 ต้น ถ้าเกินระดับ ET พ่นสาร fenpyroximate 5% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 21A) พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน

โรคใบจุด ถ้าพบโรค ≥ 20 ต้น/100 ต้น ให้พ่นชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* 20W1 หรือสารกำจัดโรคพืช azoxystrobin 25% SC อัตรา 5-10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร เลือกใช้สารหรือชีวภัณฑ์ชนิดใดชนิดหนึ่ง พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน

โรคราน้ำค้าง หากพบอากาศเย็น ความชื้นสูง (มีหมอก) พ่น dimethomorph 50% WP อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน พ่นเพื่อป้องกันโรคราน้ำค้างระบาด ถ้าพบโรค ≥ 20 ต้น/100 ต้น ใช้สารกำจัดโรคพืช dimethomorph 50% WP อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นทุก 5-7 วัน

วัชพืช ถ้าพบวัชพืชสูงกว่าผักชีฝรั่ง ≥ 50% ต่อพื้นที่เพาะปลูก ให้กำจัดวัชพืชด้วยการถอน และเก็บไปทำลายนอกแปลงปลูก เนื่องจากวัชพืชเป็นพืชอาศัยของแมลงหวี่ขาว

หมายเหตุ การเลือกใช้สารเคมีหรือชีวภัณฑ์พิจารณาตามอายุพืช หากพืชอยู่ในระยะเจริญเติบโตเลือกใช้สารเคมี หากพืชอยู่ในระยะใกล้เก็บเกี่ยวถึงเก็บเกี่ยวเลือกใช้ชีวภัณฑ์เป็นหลัก

วิธีที่ 2 วิธีของเกษตรกร

1. ดำเนินการผลิตผักชีฝรั่งตามวิธีของเกษตรกร
2. ใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชตามรายการที่บริษัทส่งออกได้กำหนดไว้

การบันทึกข้อมูล

- จำนวนและชนิดของแมลงศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ
- บันทึกการเป็นโรค
- ชนิดและจำนวนครั้งที่ใช้สารในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช
- ชนิดและจำนวนครั้งที่ใช้สารชีวภัณฑ์ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช
- บันทึกปริมาณผลผลิตและราคา
- ต้นทุนการใช้สารในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช/สารชีวภัณฑ์ ข้อมูลค่าใช้จ่ายที่เป็นต้นทุนการผลิตทั้งหมด
- วิเคราะห์ผลตอบแทนเชิงเศรษฐศาสตร์ มูลค่าผลผลิต (บาท/ไร่) ต้นทุนในการผลิต (บาท/ไร่) สัดส่วนผลตอบแทนต่อการลงทุน (B/C) ระหว่างแปลง IPM และ แปลงเกษตรกร
- วิเคราะห์ผลความแตกต่างทางสถิติในการควบคุมศัตรูผักชีฝรั่ง

เวลาและสถานที่

เวลา วันที่เริ่มต้น ตุลาคม 2565 วันที่สิ้นสุด กันยายน 2567

สถานที่ กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร แปลงผักชีฝรั่งเกษตรกรที่มีระบบโรงเรือน ตำบลคลองโยง อำเภอพุทธมณฑล จังหวัดนครปฐม

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การดำเนินครั้งที่ 1 ดำเนินการทดสอบเทคโนโลยีการจัดการศัตรูผักชีฝรั่งในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป ณ อำเภอพุทธมณฑล จังหวัดนครปฐม เริ่มดำเนินการทดลองตั้งแต่เดือนธันวาคม 2566 ขณะนี้อยู่ระหว่างการดำเนินการทดสอบเทคโนโลยีการจัดการศัตรูผักชีฝรั่ง และเก็บข้อมูล โดยเปรียบเทียบระหว่างวิธีเกษตรกรและวิธี IPM ผลการดำเนินการพบว่า

วิธี IPM จากการสำรวจประชากรศัตรูพืชในโรงเรือน จำนวน 17 ครั้ง แมลงและไรศัตรูพืชที่พบในแปลงผักชีฝรั่ง ได้แก่ เพลี้ยไฟ แมลงหวี่ขาวยาสูบ เพลี้ยแป้ง เพลี้ยอ่อน เพลี้ยจักจั่น ไรแดง ไรขาว โรคพืชที่พบได้แก่ โรคใบจุด วัชพืชที่พบในแปลงผักชีฝรั่ง ได้แก่ เทียนนา กะเม็ง ตำแยแมว

และสาบม่วง เพลี้ยไฟเกินระดับเศรษฐกิจ 7 ครั้ง แมลงหวี่ขาวยาสูบเกินระดับเศรษฐกิจ 11 ครั้ง เพลี้ยจักจั่นเกินระดับเศรษฐกิจ 3 ครั้ง และโรคใบจุดเกินระดับเศรษฐกิจ 1 ครั้ง (Table 1) ดำเนินการพ่นสารป้องกันกำจัดแมลงรวม 13 ครั้ง โดยพ่นสาร emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 3 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ พ่นสาร buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 3 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวและเพลี้ยจักจั่น พ่น D-limonene 5.7 W/V อัตรา 80 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 3 ครั้ง และพ่น petroleum spray oil 83.9% EC อัตรา 150 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 2 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาว พ่น spirotetramat 15% OD (กลุ่ม 23) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 2 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวและเพลี้ยไฟ เก็บใบที่พบเพลี้ยแป้งทำลายนอกแปลงปลูก กำจัดวัชพืชโดยใช้มือ จำนวน 4 ครั้ง เพื่อทำลายพืชอาศัยของแมลงหวี่ขาว และพ่นสารป้องกันกำจัดโรค dimethomorph 50% WP อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 2 ครั้ง เพื่อป้องกันโรคราน้ำค้าง

วิธีเกษตรกร จากการสำรวจประชากรศัตรูพืชในแปลงปลูกผักชีฝรั่ง จำนวน 17 ครั้ง แมลงและไรศัตรูพืชที่พบในแปลงผักชีฝรั่ง ได้แก่ เพลี้ยไฟ แมลงหวี่ขาวยาสูบ เพลี้ยแป้ง เพลี้ยอ่อน เพลี้ยจักจั่น หนอนกระทู้ผัก ไรแดง ไรขาว โรคพืชที่พบได้แก่ โรคใบจุด วัชพืชที่พบในแปลง ได้แก่ เทียนนา กะเม็ง ตำแยแมว และสาบม่วง เพลี้ยไฟเกินระดับเศรษฐกิจ 10 ครั้ง แมลงหวี่ขาวยาสูบเกินระดับเศรษฐกิจ 10 ครั้ง เพลี้ยจักจั่นเกินระดับเศรษฐกิจ 6 ครั้ง และโรคใบจุดเกินระดับเศรษฐกิจ 7 ครั้ง (Table 1) พ่นสารป้องกันกำจัดแมลงจำนวน 12 ครั้ง โดยพ่นสารฆ่าแมลง emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 3 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ พ่นสารฆ่าแมลง lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 1 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดกลุ่มหนอนผีเสื้อ พ่นสาร buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 2 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวและเพลี้ยจักจั่น พ่น D-limonene 5.7 W/V อัตรา 80 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 2 ครั้ง และพ่น petroleum spray oil 83.9% EC อัตรา 150 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 2 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาว พ่น spirotetramat 15% OD (กลุ่ม 23) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 2 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวและเพลี้ยไฟ กำจัดวัชพืชโดยใช้มือ จำนวน 2 ครั้ง และพ่นสารป้องกันกำจัดโรค dimethomorph 50% WP อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 2 ครั้ง เพื่อป้องกันโรคราน้ำค้าง ซึ่งเกษตรกรพ่นสารเคมีโดยการสำรวจแมลงในแปลงปลูก และหากพบว่ามีการระบาดจึงพ่น แต่ไม่ได้อ้างอิงจากระดับเศรษฐกิจ

ในแปลง IPM แมลงศัตรูพืชที่พบเกินระดับเศรษฐกิจบ่อยครั้ง ได้แก่ เพลี้ยไฟ และแมลงหวี่ขาว อาจเนื่องมาจากมีพืชอาศัยหลายชนิดโดยเฉพาะวัชพืช ควรมีการกำจัดวัชพืชอย่างสม่ำเสมอ เพื่อทำลายพืชอาศัย หากไม่มีการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชให้ต่ำกว่าระดับเศรษฐกิจ จะพบว่ามีประชากรแมลงศัตรูพืชสูงอยู่เรื่อยๆ นอกจากนี้การป้องกันกำจัดมีข้อจำกัดเนื่องจากแมลงศัตรูพืชมักพบสูงในช่วงใกล้เก็บเกี่ยว ซึ่งไม่สามารถพ่นสารเคมีเพื่อกำจัดแมลงศัตรูพืชได้ เนื่องจากมีความเสี่ยงสารพิษตกค้างในผลผลิต ในกรณีของแมลงหวี่ขาว petroleum spray oil 83.9% EC หรือ D-limonene 5.7

W/V เป็นทางเลือกหนึ่งในการป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวในช่วงใกล้เก็บเกี่ยวผลผลิต แต่บางครั้งยังพบแมลงหวี่ขาวระบาดอยู่เสมอ ซึ่งอาจเป็นปัญหาพบตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวติดไปกับผลผลิตได้ เนื่องจากตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวมีลักษณะแบนราบติดกับผิวใบพืช สังเกตได้ยากหากไม่ใช้แว่นขยาย อย่างไรก็ตาม ควรมีการดำเนินการทดลองซ้ำในปีถัดไป เพื่อเป็นการยืนยันผลการทดลอง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบเทคโนโลยีการจัดการศัตรูผักชีฝรั่งในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป ณ อำเภอพุทธมณฑล จังหวัดนครปฐม เริ่มดำเนินการทดลองตั้งแต่เดือนธันวาคม 2566 โดยเปรียบเทียบระหว่างวิธีเกษตรกรและวิธี IPM ผลการดำเนินการพบว่า ศัตรูพืชที่พบในแปลงผักชีฝรั่งได้แก่ เพลี้ยไฟ แมลงหวี่ขาวยาสูบ เพลี้ยแป้ง เพลี้ยอ่อน เพลี้ยจักจั่น หนอนกระทู้ผัก ไรแดง ไรขาว และโรคใบจุด วัชพืชที่พบในแปลงผักชีฝรั่งได้แก่ เทียนนา กะเม็ง ตำแยแมว และสาบม่วง วิธี IPM มีการสำรวจประชากรของศัตรูพืช โดยทำการสุ่ม 100 ต้น/โรงเรือน ทุก 7 วัน และใช้ระดับเศรษฐกิจ (ET) ในการตัดสินใจ หากพบศัตรูพืชเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) ดำเนินการป้องกันกำจัดศัตรูพืช ติดตั้งกับดักกาวสีเหลืองในโรงเรือนทุกระยะ 2 เมตร และเปลี่ยนกับดักทุก 14 วัน แปลง IPM มีการดำเนินการพ่นสารป้องกันกำจัดแมลงรวม 13 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ แมลงหวี่ขาว และเพลี้ยจักจั่น กำจัดวัชพืชโดยใช้มือ จำนวน 4 ครั้ง เพื่อทำลายพืชอาศัยของแมลงหวี่ขาว พ่นสารป้องกันกำจัดโรค จำนวน 2 ครั้ง เพื่อป้องกันโรคราน้ำค้าง วิธีเกษตรกร มีการพ่นสารป้องกันกำจัดแมลง จำนวน 12 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดกลุ่มหนอนผีเสื้อ เพลี้ยไฟ และแมลงหวี่ขาว พ่นสารป้องกันกำจัดโรค จำนวน 2 ครั้ง เพื่อป้องกันโรคราน้ำค้าง กำจัดวัชพืชโดยใช้มือ จำนวน 2 ครั้ง เกษตรกรมีการพ่นสารเคมีโดยสำรวจแมลงในแปลงปลูก และหากพบว่ามีการระบาดจึงพ่นสาร แต่ไม่ได้อ้างอิงจากระดับเศรษฐกิจ ขณะนี้อยู่ระหว่างการดำเนินการทดสอบเทคโนโลยีการจัดการศัตรูผักชีฝรั่ง และเก็บข้อมูลเพื่อนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ผลการทดลอง คำนวณต้นทุนการใช้สารในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช/สารชีวภัณฑ์ ข้อมูลค่าใช้จ่ายที่เป็นต้นทุนการผลิตทั้งหมด วิเคราะห์ผลตอบแทนเชิงเศรษฐศาสตร์ มูลค่าผลผลิต ต้นทุนในการผลิตระหว่างแปลง IPM และแปลงเกษตรกรต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเกษตรกรเจ้าของแปลงที่เอื้อเฟื้อแปลงปลูกผักชีฝรั่งสำหรับดำเนินงานทดลอง ขอขอบคุณพนักงานราชการและเจ้าหน้าที่กลุ่มบริหารศัตรูพืช ที่ให้การช่วยเหลืองานวิจัยทุกท่าน ทำให้การดำเนินงานทดลองนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มวิจัยโรคพืช. 2554. *โรคผักและการป้องกันกำจัด*. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 153 หน้า.

สัญญาณี ศรีคชา สุเทพ สหายา สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น และพวงผกา อ่างมณี. 2560. *คู่มือการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช สำหรับการผลิตผักเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรป (ฉบับปรับปรุงแก้ไขเพิ่มเติม)*. กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 53 หน้า

FAO. 1968. *Report of the second session of the FAO panel of experts on integrated pest control*. FAO Meeting Report No. PL/1968/M/3. FAO, Rome. 129 p.

Table 1 The number of *Eryngium foetidum* plants with insects and pathogens found in IPM fields and farmer fields in Khlong Yong sub-district, Phutthamonthon district, Nakhon Pathom province, between December 2023 and March 2024

Time	Number of plants in 100 plants																			
	thrips (plants)		whitefly (plants)		mealybug (plants)		aphid (plants)		leafhopper (plants)		common cutworm (plants)		red mite (plants)		broad mite (plants)		leaf spot (plants)		downy mildew	
	IPM	Farmer	IPM	Farmer	IPM	Farmer	IPM	Farmer	IPM	Farmer	IPM	Farmer	IPM	Farmer	IPM	Farmer	IPM	Farmer	IPM	Farmer
1	**50**	**59**	17	26	12	12	7	3	1	2	0	0	4	28	0	0	1	14	0	0
2	36	**87**	11	29	14	10	2	0	4	7	0	1	36	12	0	0	1	0	0	0
3	19	16	45	41	11	9	0	0	6	13	0	0	4	0	0	0	5	**39**	0	0
4	0	8	**40**	35	19	11	0	0	**20**	13	0	0	0	0	0	0	13	**44**	0	0
5	**24**	13	8	18	14	5	0	0	7	7	0	0	7	1	0	0	10	16	0	0
6	40	35	16	24	21	5	0	0	3	2	0	0	2	14	0	0	9	**20**	0	0
7	12	26	37	**57**	11	6	0	0	1	4	0	0	5	1	0	0	7	**29**	0	0
8	12	21	**61**	**74**	7	11	0	1	14	4	0	0	0	3	0	0	4	11	0	0
9	44	**50**	**62**	**54**	11	11	0	0	**26**	**32**	0	0	0	1	0	0	17	**36**	0	0
10	20	32	**82**	**51**	6	4	0	0	11	**35**	0	1	0	0	0	0	9	13	0	0
11	15	**65**	**54**	**36**	3	1	0	0	1	4	0	0	0	0	0	0	2	15	0	0
12	27	**75**	**80**	**72**	4	21	0	0	14	**29**	0	0	0	0	4	1	**23**	**35**	0	0
13	**51**	**73**	**65**	**58**	8	9	0	0	15	**28**	0	0	3	5	15	8	6	9	0	0
14	**65**	**83**	**87**	**64**	6	7	0	0	10	**38**	0	1	0	0	20	27	2	1	0	0
15	**39**	**64**	**41**	**41**	5	14	0	0	**27**	**62**	0	0	4	4	2	6	19	**22**	0	0
16	**46**	**49**	**27**	10	5	1	0	0	9	7	0	0	8	8	13	8	7	6	0	0
17	**55**	**50**	**46**	**20**	2	2	0	0	8	5	0	0	10	7	2	0	1	2	0	0

[1/]Bold numbers mean the exceed of the economic threshold level (ETL)

Figure 1 2-month-old *Eryngium foetidum* plants after seedling

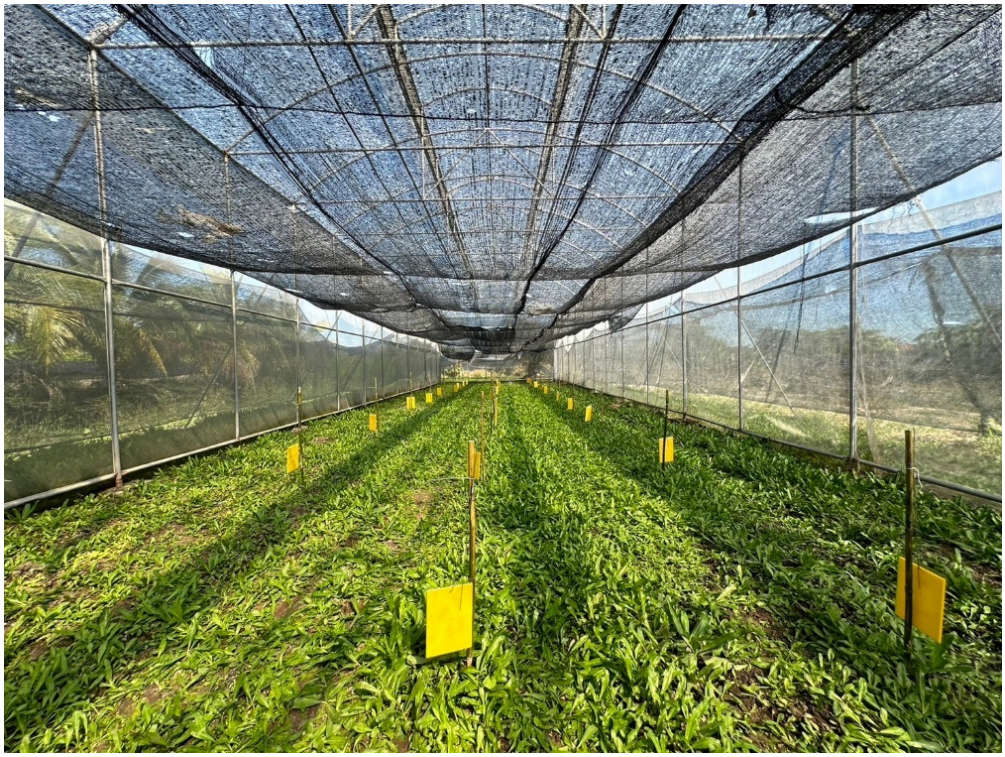


Figure 2 Yellow sticky traps in greenhouses (IPM method)

Figure 3 Pests found on *Eryngium foetidum* including A. whitefly, B. leafhopper, C. mealybug and D. red mite

Figure 4 whitefly on weeds in *Eryngium foetidum* plantations

เทคโนโลยีการจัดการศัตรูกะเพรา/โหระพาในระบบโรงเรือน เพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป

Integrated pest management of basil in greenhouse systems for export to European Union (EU)

กรกต ดำรักษ์[1/] สัญญาณี ศรีคชา[1/] วนาพร วงษ์นิคง[1/]
หทัยภัทร เจษฎารมย์[1/] ทัศนาพร ทัศคร[2/] ประภัสสร เชยคำแหง[3/]
ประชาธิปัตย์ พงษ์ภิญโญ[4/] เพทาย กาญจนเกษร[5/]
[1/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[3/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[4/]กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
[5/]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครปฐม สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5

รายงานความก้าวหน้า

ดำเนินการทดสอบเทคโนโลยีการจัดการศัตรูกะเพรา/โหระพาในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป ในแปลงโหระพาระบบโรงเรือนของเกษตรกร ที่อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม เปรียบเทียบระหว่างวิธี IPM และวิธีเกษตรกร เริ่มดำเนินการทดลองตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน 2566 ผลการดำเนินงานวิจัยได้ข้อมูลเบื้องต้น วิธี IPM ดำเนินการติดกับดักกาวเหนียวสีเหลืองในโรงเรือน ระยะห่างระหว่างกับดักทุก 2 เมตร และเปลี่ยนกาวใหม่ทุก 14 วัน เพื่อดักจับตัวเต็มวัยของแมลงศัตรูพืช และทำการสำรวจประชากรของศัตรูพืชทุก 7 วัน โดยมีขนาดการสุ่ม 100 ต้น/โรงเรือน ถ้าพบศัตรูพืชเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) ที่กำหนด ให้ดำเนินการป้องกันกำจัด จากการสำรวจประชากรศัตรูพืชที่พบในแปลงโหระพาในระบบโรงเรือน จำนวน 7 ครั้ง พบศัตรูพืช ได้แก่ เพลี้ยไฟ แมลงหวี่ขาวยาสูบ กลุ่มหนอนผีเสื้อศัตรูพืช และโรคราน้ำค้าง โดยพบหนอนผีเสื้อศัตรูพืชเกินระดับเศรษฐกิจ 2 ครั้ง ได้ดำเนินการพ่นสารป้องกันกำจัดแมลง 2 ครั้ง และพ่นสารกำจัดโรคพืชจำนวน 3 ครั้ง เนื่องจากพบโรคราน้ำค้างในโหระพา ส่วนวิธีเกษตรกร ศัตรูพืชที่พบ ได้แก่ เพลี้ยไฟ แมลงหวี่ขาวยาสูบ กลุ่มหนอนผีเสื้อศัตรูพืช และโรคราน้ำค้าง โดยจะทำการเก็บข้อมูลอย่างต่อเนื่องจนกว่าจะเสร็จสิ้นการทดลอง และจะนำข้อมูลไปวิเคราะห์และสรุปผลเป็นข้อมูลรูปแบบการป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสานเพื่อการผลิตกะเพรา/โหระพา สำหรับส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป (EU) ที่เหมาะสมต่อไป

คำหลัก : การจัดการศัตรูโหระพา, ระบบโรงเรือน, ส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป

รหัสการทดลอง FF65-57-02-65-00-06-66

คำนำ

ในปัจจุบัน การผลิตพืชผักโดยทั่วไปส่วนใหญ่ก็ยังพบปัญหาต่าง ๆ มากมาย เช่น ปัญหาศัตรูพืชเข้าทำลายผลผลิต ผลผลิตที่ได้มีคุณภาพต่ำ ปัญหาการพบสารเคมีตกค้างเกินค่ามาตรฐานในผลผลิต และการผลิตผักที่ปลอดภัยยังไม่เพียงพอกับความต้องการของผู้บริโภค การผลิตพืชผักในระบบควบคุมหรือการปลูกผักในโรงเรือน จึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกของเกษตรกร ซึ่งแม้ว่าจะมีต้นทุนการผลิตสูง แต่มีข้อดีที่สำคัญคือ สามารถป้องกันแมลงศัตรูพืชได้ดีกว่าการปลูกในสภาพสวนหรือสภาพไร่ ดูแลง่าย เป็นการปลูกที่มีระบบการบริหารจัดการควบคุมการปลูกและดูแลรักษา การให้น้ำและปุ๋ยเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ เพื่อควบคุมเจริญเติบโตของพืชให้ได้ผลผลิตที่มีปริมาณและคุณภาพสูง สามารถผลิตพืชผักให้ได้มาตรฐานความปลอดภัยจากการสารพิษตกค้างตามมาตรฐานที่กำหนด ด้วยการใช้วิธีการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน (Integrated Pest Management: IPM) ซึ่งนำเอาความรู้ทางชีววิทยา นิเวศวิทยา การศึกษาและการประเมินความเสียหายความเสียหายทางเศรษฐกิจ มาใช้ผสมผสานกับวิธีการควบคุมศัตรูพืชด้วยการใช้วิธีการป้องป้องกันกำจัดอย่างน้อย 2 วิธี เช่น การใช้สารเคมี การใช้วิธีเขตกรรม เพื่อควบคุมศัตรูพืชให้อยู่ในระดับต่ำกว่า Economic Threshold (ET) ที่ให้ผลตอบแทนเป็นที่ยอมรับและทำลายสภาพแวดล้อมน้อยที่สุด จึงเป็นแนวทางสำคัญในการผลิตพืชผักที่เหมาะสมในสภาวะปัจจุบันที่ต้องได้ผลผลิตที่มีคุณภาพและปลอดภัยตามข้อกำหนดของตลาดที่รับซื้อผลผลิต และการส่งออกไปยังประเทศคู่ค้า

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) ในประเทศไทยนิยมปลูกกันทั่วไป มีประโยชน์และสรรพคุณทางยา มีกลิ่นหอมเฉพาะตัวและสามารถใช้ใบเป็นผักสดกินกับอาหาร หรือนำมาประกอบอาหารเมนูต่าง ๆ ได้หลากหลาย 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) โดยจากรายงานของหน่วยงานอารักขาพืชของสมาพันธ์ยุโรปและตะวันออกกลาง (European and Mediterranean Plant Protection Organization : EPPO) พบว่า ประเทศไทยเคยได้รับการแจ้งเตือนถึงการตรวจพบแมลงศัตรูพืชปนเปื้อนไปกับโหระพาที่ส่งออกไปยังประเทศปลายทางหลายครั้ง ได้แก่ หนอนแมลงวันชอนใบ เพลี้ยอ่อน แมลงหวี่ขาวยาสูบ เพลี้ยไฟ กลุ่มหนอนผีเสื้อศัตรูพืช (EPPO Secretariat, 2009) สำหรับศัตรูกะเพรา/โหระพาที่สำคัญและการป้องกันกำจัด ได้แก่ เพลี้ยไฟ (cotton thrips, *Thrips palmi* Karny) เป็นศัตรูที่สำคัญมากที่สุดอีกชนิดหนึ่งของพืชผัก พืชไร่ และไม้ดอกหลายชนิด ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใต้ใบ ทำให้เกิดรอยด้านหรือรอยแผลสีน้ำตาล ทำให้ใบแห้ง ยอด ดอก และตาอ่อนไม่เจริญ ในระยะที่พืชขาดน้ำอาจทำให้ต้นตายได้ สำหรับการทำลายของเพลี้ยไฟในกะเพรา/

โหระพา มักพบที่บริเวณยอด ดูดกินน้ำเลี้ยง ทำให้เกิดอาการยอดเหลือง สำหรับการป้องกันกำจัดถ้าพบเพลี้ยไฟที่ยอดมากกว่า 5 ตัว/ยอด (นับทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัย) ใช้ imidacloprid 70% WG อัตรา 5 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ spinosad 12% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ spiromesifen 24% SC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร เลือกใช้สารเคมีชนิดใดชนิดหนึ่ง ควรพ่นสารเคมีติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน (กองกีฏและสัตววิทยา, 2542; กลุ่มกีฏและสัตววิทยา, 2551; สัญญาณีและคณะ, 2560) แมลงหวี่ขาวยาสูบ (tobacco whitefly, *Bemisia tabaci* (Gennadius)) พบระบาดมากในฤดูแล้ง ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบ ทำให้ใบหงิกงอและเหี่ยวแห้ง ต้นแคระแกร็น นอกจากนี้ยังเป็นพาหะนำเชื้อไวรัสของพืชหลายชนิด ในโหระพา/กะเพรา มักพบบริเวณหลังใบ ส่วนกลางของลำต้น คอยดูดกินน้ำเลี้ยง ถ้าการทำลายรุนแรงจะทำให้เกิดโรคด่างเหลืองในโหระพา/กะเพราได้ สำหรับการป้องกันกำจัดถ้าพบตัวอ่อนมากกว่า 2 ตัว/ต้น ให้ใช้ buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ imidacloprid 70% WG อัตรา 12 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ thiamethoxam 25% WP อัตรา 12 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ dinotefuran 10% SL อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ white oil 67% EC อัตรา 150 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร เลือกใช้สารเคมีชนิดใดชนิดหนึ่ง ควรพ่นสารติดต่อกัน 2-3 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน (กองกีฏและสัตววิทยา, 2542; กลุ่มกีฏและสัตววิทยา, 2551; สัญญาณีและคณะ, 2560) หนอนแมลงวันชอนใบ (leafminer, *Liriomyza brassicae* (Riley)) เป็นศัตรูที่สำคัญมากที่สุดอีกชนิดหนึ่งของพืชผัก พืชไร่ และไม้ดอกหลายชนิด ตัวเต็มวัยวางไข่ใต้ผิวใบ ตัวหนอนมีลักษณะหัวแหลมท้ายป้านไม่มีขา หนอนชอนไชภายในใบทำให้เกิดรอยเส้นสีขาวคดเคี้ยวไปมา หากระบาดรุนแรงจะทำให้ใบเสียหายร่วงหล่นและพืชตายได้ สำหรับการทำลายของหนอนชอนใบในโหระพา/กะเพรา มักพบระบาดมากในช่วงย้ายกล้าปลูกจนถึง 2 เดือน พบที่บริเวณใบแก่ด้านล่างของทรงพุ่ม ในการป้องกันกำจัดถ้าพบรอยทำลายของหนอนชอนใบมากกว่า 10% ให้ใช้ imidacloprid 10% SL อัตรา 20-30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ cypermethrin 40% WP อัตรา 15-20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร เลือกใช้สารเคมีชนิดใดชนิดหนึ่ง ควรพ่นสารเคมีติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน (สัญญาณีและคณะ, 2560) โรคราน้ำค้าง ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Peronospora* sp. โดยพืชจะแสดงอาการ ด้านหน้าใบเป็นสีเหลือง เกิดเป็นหย่อม ๆ ส่วนด้านหลังใบพบเส้นใยก้านชูสปอร์ ถ้ามีอาการรุนแรง ส่วนสีเหลืองด้านหน้าใบจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม ใบหงิก และร่วง ทำให้ต้นตายได้ การแพร่กระจายสามารถไปตามลม น้ำ แมลง สัตว์ คน และติดไปกับเครื่องมือได้ โรคนี้จะระบาดมากช่วงฤดูฝน รา สาเหตุสามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้ด้วย ส่วนการป้องกันกำจัดควรใช้เมล็ดพันธุ์ที่ปลอดโรคหรือมีการฆ่าเชื้อโดยแช่น้ำ 50 องซาเซลเซียส นาน 20-25 นาที ก่อนปลูก หรือคลุกเมล็ดด้วยสารเมทาเลกซิล ถ้าพบอาการโรคในแปลงควรพ่นสาร metalaxyl หรือ mancozeb และ metalaxyl+mancozeb (กลุ่มวิจัยโรคพืช, 2554) และเนื่องจาก โหระพา/กะเพรา อยู่ในรายชื่อผัก 22 ชนิดภายใต้มาตรการควบคุมพิเศษระบบบัญชีรายชื่อโรงคัดบรรจุ (Establishment List: EL) สำหรับผักผลไม้สดส่งออกไปสหภาพยุโรป นอร์เวย์และสมาพันธรัฐสวิส (สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าพืช, 2556)

ทำให้การส่งออกผักไปยังต่างประเทศโดยเฉพาะสหภาพยุโรปนั้น เกษตรกรต้องให้ความสำคัญเกี่ยวกับการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชและควบคุมการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชตามข้อกำหนดของสหภาพยุโรป เพราะหากพบว่าสารพิษต้องห้ามและแมลงศัตรูพืชกักกันเกินปริมาณที่กำหนดก็จะสั่งระงับการนำเข้า ส่งผลกระทบต่อรายได้เกษตรกรและประเทศสูญเสียรายได้จากการส่งออกด้วย ดังนั้นการดำเนินงานวิจัยนี้ จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาเทคโนโลยีการผลิตกะเพรา/โหระพา ให้เป็นไปตามมาตรฐานที่กลุ่มสหภาพยุโรป (EU) ยอมรับ ลดปริมาณศัตรูพืชกักกันให้มีปริมาณน้อยที่สุดก่อนเข้าโรงคัดบรรจุ ผลผลิตไม่มีปัญหาสารพิษตกค้างและปลอดภัย ได้มาตรฐานสำหรับส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป (EU)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สารฆ่าแมลง ได้แก่ emamectin benzoate 1.92% EC, flonicamid 50% WG, spirotetramat 15% OD, sulfoxaflor 50% WG, buprofezin 40% SC, methoxyfenozide 24% SC, gamma-cyhalothrin 1.5% CS, lambda-cyhalothrin 2.5% CS, white oil 67% EC และ D-limonene 5.7 W/V สารกำจัดโรคพืช ได้แก่ azoxystrobin 25% SC, dimethomorph 50% WP และ fluopicolide+fosetyl-aluminium 4.4%+66.7% WG ชีวภัณฑ์ป้องกันกำจัดศัตรูพืช ได้แก่ แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki, Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* และเชื้อรา *Beauveria bassiana*
2. ฟิวเจอร์บอร์ด กาวเหนียว ถุงพลาสติก
3. เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง
4. ไม้ปักแปลง ป้ายแสดง ลวด อุปกรณ์สำหรับบันทึกข้อมูล
5. แปลงกะเพรา/โหระพาของเกษตรกร
6. โรงเรือนตาข่ายกันแมลงขนาด 32 mesh ขนาดกว้าง 9 เมตร ยาว 36 เมตร สูง 5.20 เมตร

วิธีการ

<u>แบบและวิธีการทดลอง</u>

มี 2 วิธี คือ วิธีป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน (IPM) ในระบบโรงเรือน และวิธีของเกษตรกร

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

คัดเลือกเกษตรกร 2 ราย โดยเกษตรกรต้องเป็นเครือข่ายของบริษัทส่งออก แต่ละรายดำเนินการ 2 วิธี ดังนี้

<u>วิธีที่ 1</u> วิธีป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน (IPM) ในระบบโรงเรือน ดำเนินการดังนี้

1. ใช้พลาสติกคลุมดินปลูกเพื่อป้องกันวัชพืช

2. ติดกับดักกาวเหนียวสีเหลืองในโรงเรือน โดยมีระยะห่างระหว่างกับดักทุก 2 เมตร และเปลี่ยนกาวใหม่ทุก 14 วัน เพื่อดักจับตัวเต็มวัยของแมลงศัตรูพืช

3. ทำการสำรวจประชากรของศัตรูพืชในโรงเรือน โดยมีขนาดการสุ่ม 100 ต้น/โรงเรือน ทุก 7 วัน ถ้าพบศัตรูพืชเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) ที่กำหนด ให้ดำเนินการป้องกันกำจัด ดังนี้

<u>เพลี้ยไฟ</u> ระดับเศรษฐกิจ (ET) >40 ต้น/ 100 ต้น ถ้าเกินระดับ ET พ่นสารฆ่าแมลง emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน กรณีที่พบไม่ถึงระดับเศรษฐกิจ (ET) พ่นชีวภัณฑ์ *Beauveria bassiana* อัตรา 10 กรัม (1 ช้อนแกง) ผสมน้ำ 1 ลิตร พ่นอย่างสม่ำเสมอทุก 2 สัปดาห์

<u>แมลงหวี่ขาวยาสูบ</u> ระดับเศรษฐกิจ (ET) >10 ต้น/ 100 ต้น ถ้าเกินระดับ ET พ่นสารฆ่าแมลง flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ spirotetramat 15% OD อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ sulfoxaflor 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ white oil 67% EC อัตรา 150 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ D-limonene 5.7 W/V อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร เลือกใช้สารชนิดใดชนิดหนึ่ง พ่นติดต่อกัน 2-3 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน กรณีที่พบไม่ถึงระดับเศรษฐกิจ (ET) พ่นชีวภัณฑ์ *Beauveria bassiana* อัตรา 10 กรัม (1 ช้อนแกง) ผสมน้ำ 1 ลิตร หรือหรือ D-limonene 5.7 W/V อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นอย่างสม่ำเสมอทุก 2 สัปดาห์

<u>กลุ่มหนอนผีเสื้อ</u> ระดับเศรษฐกิจ (ET) >10 ตัว/100 ต้น ถ้าเกินระดับ ET พ่นชีวภัณฑ์ *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* หรือ *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* 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) เก็บตัวหนอนออกจากแปลง หรือพ่นชีวภัณฑ์ *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* หรือ *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

<u>หนอนแมลงวันชอนใบ</u> ระดับเศรษฐกิจ (ET) >30 ต้น/100 ต้น ถ้าเกินระดับ ET และกรณีที่พบไม่ถึงระดับเศรษฐกิจ (ET) เก็บใบที่พบรอยทำลายและเศษใบพืชตามพื้นดินที่ถูกแมลงวันหนอนชอนใบทำลายออกจากแปลง

<u>โรคราน้ำค้าง</u> ถ้าเริ่มพบโรค ให้พ่นสารกำจัดโรคพืช azoxystrobin 25% SC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ dimethomorph 50% WP อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ fluopicolide+fosetyl-aluminium 4.4%+66.7% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นทุก 7-10 วัน

<u>หมายเหตุ</u> การเลือกใช้สารเคมีหรือชีวภัณฑ์ต้องพิจารณาตามอายุพืชด้วย ถ้าพืชอยู่ในระยะเจริญเติบโตจะเลือกใช้สารเคมี และถ้าพืชอยู่ในระยะใกล้เก็บเกี่ยวถึงเก็บเกี่ยวจะเลือกใช้ชีวภัณฑ์เป็นหลัก

วิธีที่ 2 วิธีของเกษตรกรในระบบโรงเรือน

1. ดำเนินการผลิตกะเพรา/โหระพาในโรงเรือนตาข่ายกันแมลงขนาด 32 mesh ขนาดกว้าง 9 เมตร ยาว 36 เมตร สูง 5.20 เมตร

2. ใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชตามรายการที่บริษัทส่งออกได้กำหนดไว้

การบันทึกข้อมูล

- จำนวนและชนิดของแมลงศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ
- บันทึกการเป็นโรค
- ชนิดและจำนวนครั้งที่ใช้สารในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช
- ชนิดและจำนวนครั้งที่ใช้สารชีวภัณฑ์ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช
- บันทึกปริมาณผลผลิตและราคา
- ต้นทุนการใช้สารในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช/สารชีวภัณฑ์ ข้อมูลค่าใช้จ่ายที่เป็นต้นทุนการผลิตทั้งหมด
- วิเคราะห์ผลตอบแทนเชิงเศรษฐศาสตร์ มูลค่าผลผลิต (บาท/ไร่) ต้นทุนในการผลิต (บาท/ไร่) สัดส่วนผลตอบแทนต่อการลงทุน (B/C) ระหว่างแปลง IPC และ แปลงเกษตรกร
- บันทึกผลการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง ตามวิธีการของ codex
- วิเคราะห์ผลความแตกต่างทางสถิติในการควบคุมศัตรูกะเพรา/โหระพา

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2565 - สิ้นสุด กันยายน 2567

สถานที่ กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร แปลงปลูกโหระพาในระบบโรงเรือนของเกษตรกร อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ดำเนินการทดสอบเทคโนโลยีการจัดการศัตรูกะเพรา/โหระพาในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป ในแปลงปลูกโหระพาระบบโรงเรือนของเกษตรกร ที่อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม เริ่มดำเนินการทดลองตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน 2566 ขณะนี้อยู่ระหว่างเก็บข้อมูลผลการทดลอง โดยเปรียบเทียบระหว่าง วิธี IPM และวิธีเกษตรกร (Table 1) ผลการดำเนินงานพบว่า

วิธี IPM ดำเนินการติดกับดักกาวเหนียวสีเหลืองในโรงเรือน โดยมีระยะห่างระหว่างกับดักทุก 2 เมตร และเปลี่ยนกาวใหม่ทุก 14 วัน เพื่อดักจับตัวเต็มวัยของแมลงศัตรูพืช และทำการสำรวจประชากรของศัตรูพืชในโรงเรือน โดยมีขนาดการสุ่ม 100 ต้น/โรงเรือน ทุก 7 วัน ถ้าพบศัตรูพืชเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) ที่กำหนด ให้ดำเนินการป้องกันกำจัด โดยจากการสำรวจประชากรศัตรูพืชที่พบในแปลงโหระพาในระบบโรงเรือน จำนวน 7 ครั้ง ศัตรูพืชที่พบ ได้แก่ เพลี้ยไฟ แมลงหวี่ขาวยาสูบ กลุ่มหนอนผีเสื้อศัตรูพืช และโรคราน้ำค้าง โดยพบหนอนผีเสื้อศัตรูพืชเกินระดับเศรษฐกิจ 2 ครั้ง

ดำเนินการพ่นสารป้องกันกำจัดแมลง 2 ครั้ง ส่วนการพ่นสารกำจัดโรคพืชมีจำนวน 3 ครั้ง เมื่อเริ่มพบโรคราน้ำค้างในโหระพา

<u>วิธีเกษตรกร</u> จากการสำรวจประชากรศัตรูพืชที่พบในแปลงโหระพาในระบบโรงเรือน จำนวน 7 ครั้ง ศัตรูพืชที่พบ ได้แก่ เพลี้ยไฟ แมลงหวี่ขาวยาสูบ กลุ่มหนอนผีเสื้อศัตรูพืช และโรคราน้ำค้าง โดยจะทำการเก็บข้อมูลอย่างต่อเนื่องจนกว่าจะเสร็จสิ้นการทดลอง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบเทคโนโลยีการจัดการศัตรูกะเพรา/โหระพาในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป ดำเนินการในแปลงปลูกโหระพาระบบโรงเรือนของเกษตรกร ที่อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม โดยเปรียบเทียบระหว่างวิธี IPM และวิธีเกษตรกร ตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน 2566 โดยวิธี IPM ได้ดำเนินการติดกับดักกาวเหนียวสีเหลืองในโรงเรือน โดยมีระยะห่างระหว่างกับดักทุก 2 เมตร และเปลี่ยนกาวใหม่ทุก 14 วัน เพื่อดักจับตัวเต็มวัยของแมลงศัตรูพืช และทำการสำรวจประชากรของศัตรูพืชในโรงเรือน โดยมีขนาดการสุ่ม 100 ต้น/โรงเรือน ทุก 7 วัน ถ้าพบศัตรูพืชเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) ที่กำหนด ให้ดำเนินการป้องกันกำจัด ผลการดำเนินงานในเบื้องต้น จากการสำรวจประชากรศัตรูพืชที่พบในแปลงโหระพาในระบบโรงเรือน จำนวน 7 ครั้ง พบว่า วิธี IPM พบศัตรูพืช ได้แก่ เพลี้ยไฟ แมลงหวี่ขาวยาสูบ กลุ่มหนอนผีเสื้อศัตรูพืช และโรคราน้ำค้าง โดยพบหนอนผีเสื้อศัตรูพืชเกินระดับเศรษฐกิจ 2 ครั้ง ได้ดำเนินการพ่นสารป้องกันกำจัดแมลง 2 ครั้ง และพ่นสารกำจัดโรคพืช 3 ครั้ง เนื่องจากพบโรคราน้ำค้างในโหระพา ส่วนวิธีเกษตรกร ศัตรูพืชที่พบ ได้แก่ เพลี้ยไฟ แมลงหวี่ขาวยาสูบ กลุ่มหนอนผีเสื้อศัตรูพืช และโรคราน้ำค้าง โดยจะทำการเก็บข้อมูลอย่างต่อเนื่องจนกว่าจะเสร็จสิ้นการทดลอง และจะนำข้อมูลไปวิเคราะห์และสรุปผลเป็นข้อมูลรูปแบบการป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสานเพื่อการผลิตกะเพรา/โหระพา สำหรับส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป (EU) ที่เหมาะสมต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเกษตรกรเจ้าของแปลงที่เอื้อเฟื้อแปลงปลูกสำหรับดำเนินงานทดลอง ขอขอบคุณพนักงานราชการและเจ้าหน้าที่กลุ่มบริหารศัตรูพืช ที่ให้การช่วยเหลืองานวิจัย ทำให้การดำเนินงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2551. *คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ปี 2551*. กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 295 หน้า.

กลุ่มบริการส่งออกสินค้าเกษตร. 2564. *ข้อมูลการส่งออกสินค้าเกษตร (พืช) ไปต่างประเทศ ปี 2563 ที่มีการขอใบรับรองสุขอนามัยพืช*. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : https://www.doa.go.th/ard/?page_id=7381 (22 มิถุนายน 2564)

กลุ่มวิจัยโรคพืช. 2554. *โรคผักและการป้องกันกำจัด*. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 153 หน้า.

กองกีฏและสัตววิทยา. 2542. *แมลงศัตรูผัก*. กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูผักไม้ดอกและไม้ประดับ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 97 หน้า.

เต็ม สมิตินันทน์. 2523. พิมพ์ครั้งที่ 2. *ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย (ชื่อพฤกษศาสตร์-ชื่อพื้นเมือง)*. หจก. ฟันนี่พับบลิชชิ่ง กรุงเทพฯ. 379 หน้า.

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.

EPPO Secretariat. 2009. *EPPO Reporting Service no. 09 - 2009*. (Online). Available. https://gd.eppo.int/reporting/Rse-2009-09 (May 6, 2018).

Table 1 The number of sweet basil plants with insect pest and plant pathogen found in IPM fields and farmer fields in Sam Phran district, Nakhon Pathom province, between November 2023 and January 2024

Time	Number of plants in 100 plants							
	thrips (plants)		whitefly (plants)		pest caterpillars (plants)		downy mildew (plants)	
	IPM	Farmer	IPM	Farmer	IPM	Farmer	IPM	Farmer
1	1	0	2	6	0	0	0	0
2	3	4	1	2	0	0	0	**2**
3	7	3	0	3	**13**	8	**1**	**2**
4	7	5	3	6	2	0	0	0
5	10	14	0	5	0	0	0	0
6	9	7	0	4	**10**	0	**10**	**4**
7[2/]	24	27	5	6	4	1	**31**	**11**

[1/] Bold numbers mean the exceed of the economic threshold level (ETL)

[2/] Harvesting period

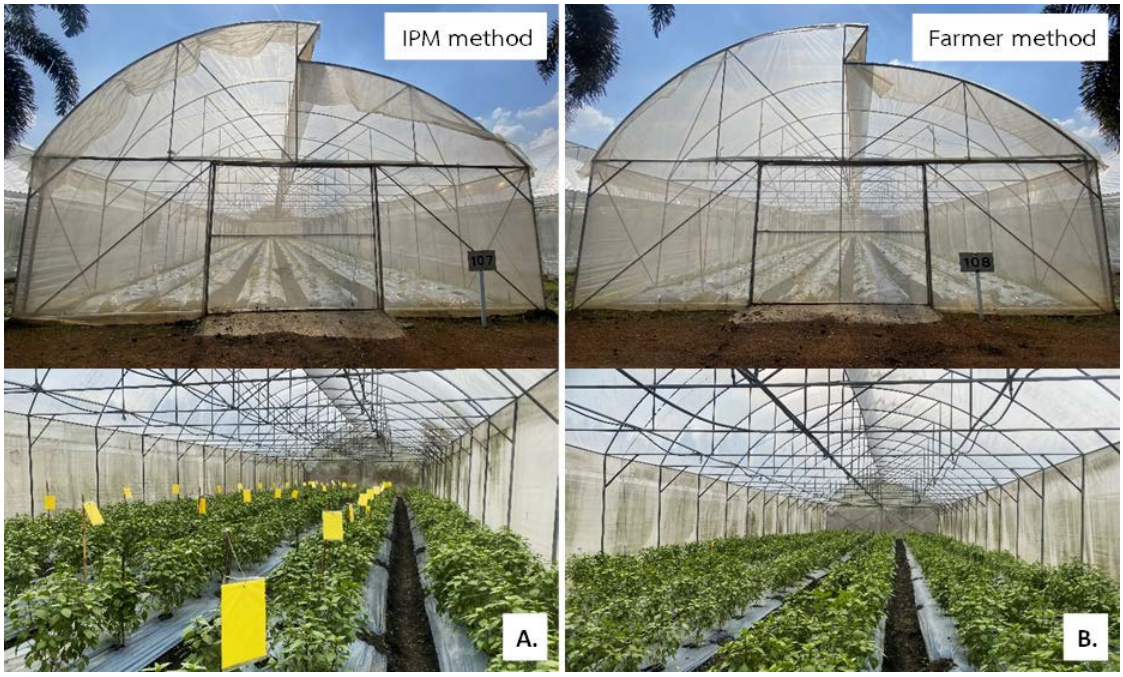


Figure 1 Sweet basil plantation in greenhouses; IPM method (A.) and Farmer method (B.)

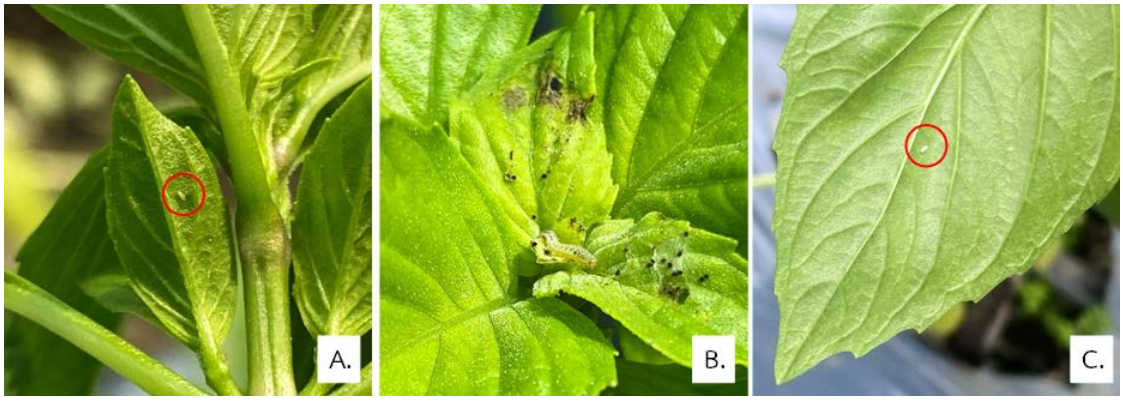


Figure 2 Pests found on sweet basil A. thrip, B. pest caterpillar, C. whitefly

Figure 3 Downy mildew found on sweet basil

เทคโนโลยีการจัดการศัตรูมะระจีนสำหรับการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป

Integrated Pest Management of Chinese bitter gourd 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/]กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
[5/]กลุ่มวิจัยและพัฒนา ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครปฐม

Progress Report

The study of integrated pest management of Chinese bitter gourd for export to the EU has revealed good practices or formats for the control of Chinese bitter gourd pests. The practices of IPM in Chinese bitter gourd conditions included the following: 1) Blue sticky traps were used at an interval of five meters when the Chinese bitter gourd growth stages. The sticky traps were changed every 14 days. 2) Poison Protein bait were used at an interval of five meters around the planting plot when Chinese bitter gourd starts fruiting until the final harvest by changing the trap every 14 days.3) A pest survey checklist at 3 days interval (sampling for 100 shoots) 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. The results showed that when using IPM practices, the spraying of insecticides in the field trials was reduced by 54.54%, while that of fungicides was reduced by 42.86%. The Chinese bitter gourd yield was 563 kilograms/350 meter^2, and the value of the product was 30,975 Thai Baht. The production costs and net profit from the IPC field were 1,270 and 29,705 Thai Baht, respectively. The benefit–cost ratio (B/C) in the IPC field was 24.39, which was greater than that in the farmer fields (11.84).

Keywords : integrated pest management of Chinese bitter gourd, export to the EU

รหัสการทดลอง FF65-57-02-65-00-07-66

รายงานความก้าวหน้า

เทคโนโลยีการจัดการศัตรูมะระจีนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป ได้รูปแบบการจัดการศัตรูมะระจีนที่ประกอบด้วย 1. ติดกับดักกาวเหนียวสีฟ้า ทุกระยะ 5 เมตร บริเวณค้างด้านบนต่ำจากค้าง 15 เซนติเมตร ตั้งแต่มะระจีนเริ่มเลื่อยขึ้นค้าง ถึงเก็บเกี่ยวผลผลิตรุ่นสุดท้าย โดยเปลี่ยนกับดักทุก 14 วัน 2. ติดกับดักเหยื่อพิษโปรตีนรอบแปลงปลูก ทุกระยะ 5 เมตร เมื่อมะระเริ่มติดผล ถึงเก็บเกี่ยวผลผลิตรุ่นสุดท้าย โดยเปลี่ยนกับดักทุก 14 วัน 3. ห่อผลมะระด้วยถุงกระดาษสีน้ำตาล ขนาด 6x12 นิ้ว ที่หัวท้ายปิดสนิท เมื่อดอกหลุดออกจากก้นผลมะระแล้ว และ 4. สำรวจประชากรของศัตรูพืชในแปลงปลูก โดยสุ่ม 100 ยอด/แปลง ทุก 3 วัน และใช้ระดับเศรษฐกิจ (ET) ในการตัดสินใจ ถ้าพบศัตรูพืชเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) ดำเนินการป้องกันกำจัด พบว่า วิธี IPM สามารถลดจำนวนการใช้สารกำจัดแมลงได้ 54.54% และสารป้องกันกำจัดโรคพืชได้ 42.86% เก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 563 กิโลกรัม/พื้นที่ 350 ตารางเมตร คิดเป็นมูลค่า 30,975 บาท ต้นทุนการผลิต 1,270 บาท มีกำไรสุทธิ 29,705 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 24.39 มากกว่าแปลงเกษตรกรที่ได้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 11.84

คำหลัก : การจัดการศัตรูมะระจีน, 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 เหล่านั้นจะต้องไม่ทำให้เกิดความเสียหายต่อสิ่งมีชีวิตอื่นนอกเป้าหมาย และสภาพแวดล้อม ส่วน IPM เป็นแนวทางในการดำเนินงานที่จะเลือกใช้วิธีการควบคุมใด ๆ ก็ตามมาใช้กำจัดหรือปราบหรือควบคุมศัตรูพืชโดยใช้หลักทางด้านนิเวศวิทยาและเศรษฐศาสตร์ และเกี่ยวข้องกับการตัดสินใจ โดยมีการตรวจสอบประชากรแมลงและคำนึงถึงสภาพแวดล้อม ซึ่งผลการตัดสินใจนั้นอาจจะไม่ต้องมีการควบคุมหรืออาจเลือกใช้วิธีการควบคุมวิธีใดวิธีหนึ่ง หรือหลายวิธีการผสมผสานกันเพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดทั้งทางด้านเศรษฐกิจ สังคม และสิ่งแวดล้อม

เพลี้ยไฟฝ้าย (cotton thrips, *Thrips palmi* Karny) เป็นศัตรูที่สำคัญของมะระจีน ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากพืช ทำให้เกิดรอยด้านหรือรอยแผลสีน้ำตาล ใบแห้ง ตาอ่อน ยอด

ดอกและผลไม่เจริญเติบโต ระยะที่พืชขาดน้ำอาจทำให้พืชตายได้ เพลี้ยไฟฝ้ายพบทำลายพืชได้เกือบตลอดปี การระบาดมักพบในช่วงฤดูร้อน หรือช่วงที่มีอากาศแห้งแล้ง ฝนทิ้งช่วงเป็นเวลานาน

การป้องกันกำจัด

1. ถ้าพบเพลี้ยไฟที่ยอดหรือดอก หรือผลอ่อนมากกว่า 5 ตัว/ยอดหรือดอก หรือผลอ่อน ให้ใช้ spinosad 12% SC (กลุ่ม 5) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ imidacloprid 10% SL (กลุ่ม 4A) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ emamectin benzoate 1.92% EC (กลุ่ม 6) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร เลือกใช้สารเคมีชนิดใดชนิดหนึ่ง ควรพ่นสารเคมีติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน หากเพลี้ยไฟระบาดรุนแรงโดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่ออากาศแห้งแล้ง ขณะพ่นสารควรพิจารณาใช้เทคนิคการพ่นสารฆ่าแมลงเข้าร่วมด้วย เช่น ปรับหัวฉีดให้เป็นฝอยที่สุด และพ่นให้ทั่วไปตามส่วนต่าง ๆ ของพืชที่เพลี้ยไฟอาศัยอยู่

2. สำรวจที่ยอดใกล้กับขั้วผลมะระ ถ้าพบเพลี้ยไฟมากกว่า 5 ตัว/ยอด ให้ใช้ผ้าชุบสาร imidacloprid 10% SL (กลุ่ม 4A) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พันรอบขั้วผล หลังจากนั้นทำการห่อผลมะระเพื่อป้องกันการเข้าทำลายของเพลี้ยไฟ (สัญญาณีและคณะ, 2560)

ดังนั้นเพื่อพัฒนาระบบการผลิตมะระจีนสำหรับส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป (EU) ที่เหมาะสมในสภาพพื้นที่ ให้เป็นไปตามมาตรฐานที่กลุ่มสหภาพยุโรป (EU) ยอมรับ และลดปริมาณเพลี้ยไฟฝ้ายและหนอนแมลงวันผลไม้ ให้มีปริมาณน้อยที่สุด ผลผลิตไม่มีปัญหาสารพิษตกค้างและปลอดภัยตั้งแต่ในระดับแปลงปลูกก่อนนำเข้าโรงคัดบรรจุ จึงได้นำเอาวิธีการป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบต่างๆ มาใช้ร่วมกัน เพื่อหาเทคโนโลยีในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสานในการผลิตมะระจีน สำหรับส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป (EU

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สารฆ่าแมลง ได้แก่ spinosad 12% SC, imidacloprid 10% SL, emamectin benzoate 1.92% EC, methoxyfenozide 24% SC, gamma-cyhalothrin 1.5% CS และ lambda-cyhalothrin 2.5% CS, สารกำจัดโรคพืช ได้แก่ dimethomorph 50% WP ชีวภัณฑ์ป้องกันกำจัดศัตรูพืช ได้แก่ แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*

2. ฟิวเจอร์บอร์ด กาวเหนียว ถุงพลาสติก

3. ถุงห่อผลสีน้ำตาล

4. เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง

5. ไม้ปักแปลง ป้ายแสดง ลวด อุปกรณ์สำหรับบันทึกข้อมูล

6. แปลงมะระจีนของเกษตรกร

วิธีการ

- แบบและวิธีการทดลอง

มี 2 วิธี คือ วิธีป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน (IPM) และวิธีของเกษตรกร

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

คัดเลือกเกษตรกร 2 ราย โดยเกษตรกรต้องเป็นเครือข่ายของบริษัทส่งออก แต่ละราย ดำเนินการ 2 วิธีดังนี้

<u>วิธีที่ 1 วิธีป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน (IPM) ดำเนินการดังนี้</u>

1. ติดกับดักกาวเหนียวสีฟ้า ทุกระยะ 5 เมตร บริเวณค้างด้านบนต่ำจากค้าง 15 เซนติเมตร เมื่อมะระจีนเริ่มเลื่อยขึ้นค้าง ถึงเก็บเกี่ยวผลผลิตรุ่นสุดท้าย โดยเปลี่ยนกับดักทุก 14 วัน

2. ติดกับดักเหยื่อพิษโปรตีนรอบแปลงปลูก ทุกระยะ 5 เมตร เมื่อมะระเริ่มติดผล ถึงเก็บเกี่ยวผลผลิตรุ่นสุดท้าย โดยเปลี่ยนกับดักทุก 14 วัน

3. เมื่อมะระติดผลหลังจากดอกหลุดออกจากก้นผล ทำการห่อผลมะระด้วยถุงกระดาษสีน้ำตาล ขนาด 6x12 นิ้ว ที่หัวท้ายปิดสนิท

4. ทำการสำรวจประชากรของศัตรูพืชในแปลงปลูก โดยมีขนาดการสุ่ม 100 ยอด/แปลง ทุก 3 วัน ถ้าพบศัตรูพืชเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) ที่กำหนด ให้ดำเนินการป้องกันกำจัด ดังนี้

เพลี้ยไฟฝ้าย ระดับเศรษฐกิจ (ET) > 2 ตัว/ยอด หรือดอก หรือผลอ่อน ถ้าเกินระดับ ET พ่น spinosad 12% SC (กลุ่ม 5) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ imidacloprid 10% SL (กลุ่ม 4A) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ emamectin benzoate 1.92% EC (กลุ่ม 6) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร เลือกใช้สารเคมีชนิดใดชนิดหนึ่ง ควรพ่นสารเคมีติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน หากเพลี้ยไฟระบาดรุนแรงโดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่ออากาศแห้งแล้ง ขณะพ่นสารควรพิจารณาใช้เทคนิคการพ่นสารฆ่าแมลงเข้าร่วมด้วย เช่น ปรับหัวฉีดให้เป็นฝอยที่สุด และพ่นให้ทั่วไปตามส่วนต่าง ๆ ของพืชที่เพลี้ยไฟอาศัยอยู่

กลุ่มหนอนผีเสื้อ ระดับเศรษฐกิจ (ET) > 2 ตัว/10 ยอด 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) เก็บตัวหนอนออกจากแปลง หรือพ่นชีวภัณฑ์ *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

โรคราน้ำค้าง ถ้าพบระบาดใช้สารกำจัดโรคพืช dimethomorph 50% WP อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นทุก 5-7 วัน

โรคที่มีสาเหตุจากไวรัส ถ้าเริ่มพบโรค ให้กำจัดโดยการถอนทิ้งออกไปทั้งต้น

หมายเหตุ การเลือกใช้สารเคมีหรือชีวภัณฑ์ต้องพิจารณาตามอายุพืชด้วย ถ้าพืชอยู่ในระยะเจริญเติบโตจะเลือกใช้สารเคมี และถ้าพืชอยู่ในระยะใกล้เก็บเกี่ยวถึงเก็บเกี่ยวจะเลือกใช้ชีวภัณฑ์เป็นหลัก

วิธีที่ 2 วิธีของเกษตรกร

1. ดำเนินการผลิตมะระจีนตามที่เกษตรกรปฏิบัติ

2. การใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชตามรายการที่บริษัทส่งออกกำหนดให้ใช้

การบันทึกข้อมูล

- จำนวนและชนิดของแมลงศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ
- บันทึกจำนวนต้นที่เป็นโรคไวรัส
- บันทึกการเป็นโรค
- ชนิดและจำนวนครั้งที่ใช้สารในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช
- ชนิดและจำนวนครั้งที่ใช้สารชีวภัณฑ์ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช
- บันทึกปริมาณผลผลิตและราคา
- ต้นทุนการใช้สารในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช/สารชีวภัณฑ์ ข้อมูลค่าใช้จ่ายที่เป็นต้นทุนการผลิตทั้งหมด
- วิเคราะห์ผลตอบแทนเชิงเศรษฐศาสตร์ มูลค่าผลผลิต (บาท/ไร่) ต้นทุนในการผลิต (บาท/ไร่) สัดส่วนผลตอบแทนต่อการลงทุน (R/C) ระหว่างแปลง IPM และ แปลงเกษตรกร
- บันทึกผลการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง ตามวิธีการของ codex
- วิเคราะห์ผลความแตกต่างทางสถิติในการควบคุมศัตรูมะระจีน

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2565 - กันยายน 2566

แปลงมะระจีนเกษตรกรที่ อำเภอบางเลน จังหวัดนครปฐม

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ดำเนินการทดสอบเทคโนโลยีการจัดการศัตรูมะระจีนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป การดำเนินครั้งที่ 1 อำเภอบางเลน จังหวัดนครปฐม ระหว่างเดือนมีนาคม - กรกฎาคม 2566 โดยเปรียบเทียบระหว่างวิธีเกษตรกรและวิธี IPM ผลการดำเนินการพบว่า

วิธี IPM จากการสำรวจประชากรศัตรูพืชในโรงเรือน จำนวน 14 ครั้ง พบเพลี้ยไฟเกินระดับเศรษฐกิจ 4 ครั้ง และเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเกินระดับเศรษฐกิจ 10 ครั้ง (Table 1) ดำเนินการพ่นสารป้องกันกำจัดแมลงรวม 5 ครั้ง โดยพ่นสาร spiromesifen 24% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 3 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ และเพลี้ยจักจั่นฝ้าย พ่นสาร spinetoram 12% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ และเพลี้ยจักจั่นฝ้าย สำหรับสารกำจัดโรค

พืช พ่นสาร azoxystrobin 25% SC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง และพ่นสาร dimethomorph 50%WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง เพื่อป้องกันโรค (Table 2)

วิธีเกษตรกร พบเพลี้ยไฟเกินระดับเศรษฐกิจ 5 ครั้ง และเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเกินระดับเศรษฐกิจ 13 ครั้ง และแมลงวันแตงเกินระดับเศรษฐกิจ 3 ครั้ง (Table 1) พ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชสัปดาห์ละครั้ง พ่นสารป้องกันกำจัดแมลง 11 ครั้ง โดยพ่นสาร abamectin 1.8% EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 5 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ พ่นสาร acetamiprid 20% SP อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 3 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อน พ่นสาร abamectin 1.8% EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 5 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ พ่นสาร emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 8 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ และเพลี้ยจักจั่นฝ้าย พ่นสาร spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ และเพลี้ยจักจั่นฝ้าย และพ่นสาร petroleum spray oil 83.9% EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้ง และพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช 7 ครั้ง โดยพ่นสาร azoxystrobin 25% SC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 6 ครั้ง และพ่นสาร dimethomorph 50%WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 4 ครั้ง เพื่อป้องกันโรค (Table 2)

การปนเปื้อนของสารเคมีในผลมะระจีน ผลผลิตมะระจีน วิธี IPM และวิธีเกษตรกร ไม่พบการปนเปื้อนของสารเคมี (Table 3)

ผลตอบแทนเชิงเศรษฐศาสตร์ในการปลูกมะระจีน วิธี IPM ตลอดการทดลองเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 563 กิโลกรัม/พื้นที่ 350 ตารางเมตร จำหน่ายให้บริษัทส่งออกในราคาประกันกิโลกรัมละ 55 บาท คิดเป็นมูลค่าผลผลิต 30,975 บาท ต้นทุนการผลิต 1,270 บาท เป็นค่าสารเคมีป้องกันกำจัดในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช ปุ๋ย ต้นพันธุ์ เตรียมแปลง และค่าแรงงาน เมื่อหักต้นทุนการผลิตแล้วพบว่าวิธี IPM มีกำไรสุทธิ 29,705 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 24.39 มากกว่าวิธีเกษตรกร ส่วนวิธีเกษตรกร ตลอดการทดลองเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 365 กิโลกรัม/พื้นที่ 350 ตารางเมตร จำหน่ายให้บริษัทส่งออกในราคาประกันกิโลกรัมละ 55 บาท คิดเป็นมูลค่าผลผลิต 20,075 บาท ต้นทุนการผลิต 1,696 บาท วิธีเกษตรกรมีกำไรสุทธิ 18,379 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 11.84 น้อยกว่าวิธี IPM (Table 3)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เทคโนโลยีการจัดการศัตรูมะระจีนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป ได้รูปแบบการจัดการศัตรูพริกในระบบโรงเรือนที่ประกอบด้วย 1. ติดกับดักกาวเหนียวสีฟ้า ทุกระยะ 5 เมตร บริเวณค้างด้านบนต่ำจากค้าง 15 เซนติเมตร ตั้งแต่มะระจีนเริ่มเลื่อยขึ้นค้าง ถึงเก็บเกี่ยวผลผลิตรุ่นสุดท้าย โดยเปลี่ยนกับดักทุก 14 วัน 2. ติดกับดักเหยื่อพิษโปรตีนรอบแปลงปลูก ทุกระยะ 5 เมตร เมื่อมะระเริ่มติดผล ถึงเก็บเกี่ยวผลผลิตรุ่นสุดท้าย โดยเปลี่ยนกับดักทุก 14 วัน 3. ห่อผลมะระด้วยถุงกระดาษสีน้ำตาล ขนาด 6x12 นิ้ว ที่หัวท้ายปิดสนิท เมื่อดอกหลุดออกจากก้นผลมะระแล้ว และ 4. สำรวจ

ประชากรของศัตรูพืชในแปลงปลูก โดยสุ่ม 100 ยอด/แปลง ทุก 3 วัน และใช้ระดับเศรษฐกิจ (ET) ในการตัดสินใจ ถ้าพบศัตรูพืชเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) ดำเนินการป้องกันกำจัด พบว่า วิธี IPM สามารถลดจำนวนการใช้สารกำจัดแมลงได้ 54.54% และสารป้องกันกำจัดโรคพืชได้ 42.86% เก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 563 กิโลกรัม/พื้นที่ 350 ตารางเมตร คิดเป็นมูลค่า 30,975 บาท ต้นทุนการผลิต 1,270 บาท มีกำไรสุทธิ 29,705 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 24.39 มากกว่าแปลงเกษตรกรที่ได้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 11.84

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนเงินอุดหนุนเพื่อการวิจัยจากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ผ่านทางแผนปฏิบัติงานโครงการวิจัยกรมวิชาการเกษตร คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณที่ได้ให้การสนับสนุนการดำเนินงานโครงการวิจัย ขอขอบคุณเกษตรกรเจ้าของแปลงที่เอื้อเฟื้อแปลงปลูกสำหรับดำเนินงานทดลอง ขอขอบคุณพนักงานราชการและเจ้าหน้าที่กลุ่มบริหารศัตรูพืช ที่ให้การช่วยเหลืองานวิจัยทุกท่าน ทำให้การทดลองในโครงการวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กองกีฏและสัตววิทยา. 2544. *เทคโนโลยีทางเลือกสำหรับ ไอ พี เอ็ม*. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 309 หน้า.

สัญญาณี ศรีคชา สุเทพ สหายา สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น และพวงผกา อ่างมณี. 2560. *คู่มือการป้องกันกำจัด แมลงศัตรูพืชสำหรับการผลิตผักเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรป (ฉบับปรับปรุงแก้ไขเพิ่มเติม)*. กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 53 หน้า

Table 1 Number of pests in IPM fields and farmer fields found thrips, aphid, leafhopper, Lepidoptera, Melon fly and Virus disease at Bang Len district Nakhon Pathom province during May – July 2023

Checking date	Number of pests in 100 shoots											
	Thrips		Aphid		Leafhopper		Lepidoptera		Melon fly (20 fruits)		Virus disease	
	IPM	Farmer	IPM	Farmer	IPM	Farmer	IPM	Farmer	IPM	Farmer	IPM	Farmer
29/5/2566	95	93	0	1	**75**	**70**	12	12	0	0	0	0
1/6/2566	163	162	0	1	**131**	**135**	4	4	0	0	0	0
6/6/2566	118	138	0	3	20	**36**	1	3	0	0	0	0
8/6/2566	105	102	0	0	**22**	**30**	2	3	0	0	0	0
12/6/2566	156	175	3	1	14	19	8	17	0	0	0	0
15/6/2566	130	156	6	0	16	**25**	6	7	0	0	0	0
19/6/2566	**210**	**220**	0	1	20	**21**	3	0	0	0	0	0
22/6/2566	175	**303**	1	1	**31**	**52**	3	4	0	0	0	0
26/6/2566	**292**	**425**	0	0	**56**	**72**	0	0	0	0	0	0
29/6/2566	87	162	2	2	**72**	**75**	0	0	0	0	0	0
3/7/2566	**248**	**328**	0	0	**55**	**54**	1	2	0	0	0	0
6/7/2566	179	186	0	0	**115**	**119**	4	2	0	**3**	3	5
10/7/2566	**255**	**297**	0	0	**128**	**129**	0	0	0	**5**	4	8
13/7/2566	158	185	4	2	**144**	**130**	0	1	0	**5**	4	10

[1/]Bold numbers mean the exceed of economic threshold level (ETL)

Table 2 Comparison of pesticides application, number of application and costs between IPM field and farmer field at Bang Len district Nakhon Pathom province during May – July 2023

Pesticides application	No. of application	Cost
IPC field		
Insecticide		
- spiromesifen 24% SC	3	81 baht/15 ml
- spinetoram 12% SC	2	147 baht/30 ml
Fungicide		
- azoxystrobin 25% SC	2	33.40 baht/10 ml
- dimethomorph 50%WG	2	15.60 baht/20 g
Farmer field		
Insecticide		
- abamectin 1.8% EC	5	13.50 baht/30 ml
- acetamiprid 20% SP	3	15.9 baht/10 g
- emamectin benzoate 1.92% EC	8	28 baht/20 ml
- spinetoram 12% SC	2	81 baht/15 ml
- petroleum spray oil 83.9% EC	2	4.20 baht/30 ml
Fungicide		
- azoxystrobin 25% SC	6	33.40 baht/10 ml
- dimethomorph 50%WG	4	15.60 baht/20 g

Table 3 Pesticides application, residue and economic return of chili plantation compared between IPC method and farmer method at Bang Len district Nakhon Pathom province during May – July 2023

Item	IPC method	Farmer method
1. Pesticides application		
- Insecticides	2	5
- number of application Insecticides	5	11
- IPC reduced the insecticides used (%)	54.54	
- Fungicides	2	2
- number of application Insecticides	4	7
- IPC reduced the Fungicide used (%)	42.86	
2. Residue of pesticide	ND	ND
3. Economic return		
- Product value (baht/350 m^3 (B)	30,975.00	20,075.00
- Cost of production (baht/350 m^3) (C)	1,270.00	1,696.00
- Net profit (baht/350m^3)	29,705.00	18,379.00
- benefit cost ratio (B/C)	24.39	11.84

ND = not detected

ศึกษาผลของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่มีต่อแมลงช้างปีกใส *Chrysoperla carnea*

Effect of insecticids against on Green lacewings *Chrysoperla carnea*

ประภัสสร เชยคำแหง วิไลวรรณ เวชยันต์ สาทิพย์ มาลี

กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

Studies on the toxicity of insecticides on the egg, larva, pupal and adult stage of green lacewings *Chrysoperla carnea* were done using topical and residual contact methods. Direct contact of each insecticides through topical applications revealed 100% mortality, of larvae and adult stage green lacewings *C. carnea* direct contact also caused higher toxic than residual contact. The egg and pupal stages of the green lacewings *C. carnea* were tolerated more than the larvae and the adult stages. The 3-day residual fipronil abamectin and dinotefuran only 10 10 and 9 mortality of the adult stage. *Bacillus thuringiensis* to be the best one lower residual effect against egg, larva, pupal and adult of *C.carnea*.

Keyword : Insecticides, *Chrysoperla carnea,* Residual effect

บทคัดย่อ

จากผลการทดสอบสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชต่อแมลงช้างปีกใส ในระยะไข่ ตัวอ่อน ดักแด้ และตัวเต็มวัย พบว่าสารทุกตัวมีผลกับระยะตัวอ่อน และตัวเต็มวัย เมื่อได้รับพิษทันที ทำให้มีอัตราการตาย 100% แต่ระยะไข่ และดักแด้ มีผลกระทบน้อยกว่าทำให้อัตราการตายของตัวอ่อนที่ฟักออกจากไข่ และตัวเต็มวัยที่ออกจากดักแด้หลังจากได้รับพิษ มีอัตราการตายน้อยกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ เมื่อพ่นสารแล้วทิ้งไว้ 3 วัน ทำให้อัตราการตายของตัวอ่อน และตัวเต็มวัยลดลง และ สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช คือ fipronil abamectin และ dinotefuran ไม่มีพิษต่อตัวเต็มวัย ในระยะเวลาหลังพ่นสารแล้ว 3 วัน มีอัตราการตาย 10 10 และ 9% ตามลำดับ และ *Bacillus thurin-giensis* เป็นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่ไม่มีพิษต่อแมลงช้างปีกใส ในทุกระยะการเจริญเติบโต

คำหลัก : สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช แมลงช้างปีกใส *Chrysoperla carnea* ความเป็นพิษ

รหัสการทดลอง FF 65-10-01-65-02-02-66

คำนำ

คะน้า เป็นพืชผักจัดอยู่ในพืชตระกูลกะหล่ำเป็นผักที่นิยมนำมาทำอาหารบริโภคในชีวิตประจำวันได้หลากหลายเมนู มีคุณค่าทางอาหาร ประกอบด้วยวิตามินและเกลือแร่ที่จำเป็นต่อร่างกาย ในการปลูกคะน้ามีแมลงศัตรูพืชลงทำลายหลายชนิด คือ ศัตรูพืชในตระกูลหนอนผีเสื้อ เช่น หนอนใยผัก (diamondback moth) หนอนกระทู้หอม (beet armyworm) หนอนกระทู้ผัก (common cutworm) เป็นต้น ซึ่งหนอนจะเข้าทำลายโดยการกัดกินใบ หรือเจาะเข้าส่วนยอด ศัตรูพืชในตระกูลเพลี้ย เช่น เพลี้ยอ่อน (aphid) เพลี้ยอ่อนฝ้าย (cotton aphid) เพลี้ยอ่อนกะหล่ำ (cabbage aphid) เพลี้ยอ่อนข้าวโพด (corn leaf aphid) เป็นต้น เพลี้ยอ่อนจะดูดกินน้ำเลี้ยงอยู่ใต้ใบ และพวกด้วงปีกแข็ง เช่น ด้วงหมัดผัก (leaf eating beetle) เป็นต้น (กรมวิชาการเกษตร 2559) แมลงศัตรูพืชเหล่านี้ การขยายพันธุ์รวดเร็ว เมื่อลงทำลายแล้วจะทำให้เกิดความเสียหายรุนแรง ดังนั้น เกษตรกรจำเป็นต้องใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชหลายชนิดเพื่อจะควบคุมการระบาด ก็จะส่งผลกระทบต่อสุขภาพของเกษตรและผู้บริโภคโดยตรง ดังนั้น การใช้แมลงศัตรูธรรมชาติ มาช่วยป้องกันกำจัด จึงเป็นแนวทางที่สำคัญ แมลงช้างปีกใส (green lacewings) *Chrysoperla carnea* จัดอยู่ในอันดับ Neroptera วงศ์ Chrysopidae เป็นแมลงห้ำ ที่ดำรงการเป็นตัวห้ำในช่วงที่เป็นตัวอ่อน สามารถทำลายแมลงศัตรูขนาดเล็กได้หลายชนิด เช่น ไข่ และหนอนศัตรูพืชขนาดเล็ก เพลี้ยอ่อน เพลี้ยแป้ง เพลี้ยหอย, เพลี้ยไก่แจ้, เพลี้ยจักจั่น ไรแดง และไรแมงมุม และเหยื่อศัตรูพืชอีกหลายชนิดที่ลำตัวอ่อนนุ่ม แมลงช้างปีกใส (green lacewings) ยัง ได้รับสมญานามว่า สิงห์นักล่าเพลี้ยอ่อน จึงมีความน่าสนใจ ที่จะนำมาใช้กำจัดเพลี้ยอ่อนในคะน้า เป็นแมลงศัตรูธรรมชาติที่มีประโยชน์มากชนิดหนึ่ง และ พิมลพร นันทะ, 2545. รายงานว่า เหยื่อที่แมลงช้างปีกใสชอบมากที่สุดคือ เพลี้ยอ่อน แมลงช้างปีกใส 1 ตัว สามารถกินเพลี้ยอ่อนได้ 100-600 ตัวถึงแม้ว่าช่วงเวลานั้นจะหาเหยื่อได้ยาก หรือพืชมีขนปกคลุมหรือมีสารเหนียวก็ตาม Nordlund el al., 2001 ได้รายงานว่า แมลงช้างปีกใส ใน สกุล Chrysoperla ได้เคยถูกใช้เพื่อควบคุม เพลี้ยอ่อน ในพริก และ ถั่วลันเตา และยังใช้เพื่อ ควบคุม หนอนผีเสื้อ *Leptinotarsa decemlineata* ใน มะเขือ และ มะเขือเทศ ใช้ควบคุม หนอนผีเสื้อ *Panonychus ulmi* ใน ไร่แอปเปิ้ล และใช้ ควบคุมหนอนเจาะสมอฝ้าย *Heliothis uirescens* ในไร่ฝ้าย อีกด้วย นอกจากนั้นมีรายงานว่า ในแถบทวีปอเมริกาเหนือใช้ C. carnea ควบคุม เพลี้ยแป้ง เพลี้ยจักจั่น และเพลี้ยอ่อน แต่เกษตรกรยังคงใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช หลายชนิดในการควบคุมแมลงศัตรูผัก เช่น profenofos prothiofo carbaryl fipronil abamectin cypermethrin และ *Bacillus thuringiensis* (กรมวิชาการเกษตร,2553) ดังนั้นจึงมีการศึกษาผลของสารป้องกันกำจัดที่มีผลต่อแมลงช้างปีกใส เพื่อเป็นแนวทางเลือกในการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชร่วมกับ แมลงช้างปีกใส เพื่อการเกษตรที่ยั่งยืน

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แมลงช้างปีกใส C. *carnea*
2. สารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ profenofos 50%EC prothiofo 50%EC carbaryl 85%WP tolfenpyrad 16% EC fipronil 5% SC acetamiprid 20% SP abamectin 1.8 W/v EC beta-cyflutrin 2.5%EC dinotefuran 10%WP etofenprox 20%EC flonicamid 50%WG cypermethrin 35% W/V EC flubendiamide 20% WG emamectin benzoate 1.92% EC betacyfluthrin 2.5% EC imidacloprid 10% W/V SL spinetoram 12% SC chlorfenapyr 10%SC lufennuron 5% EC buprofezin 40% SCBacillus thuringiensis FC
3. อุปกรณ์การเลี้ยง และเก็บตัวอย่างแมลง เช่น ชั้นเลี้ยงแมลง กล่องเลี้ยงแมลง ผ้าตาข่าย เนื้อละเอียด ปากคีบ ถ้วยพลาสติก พู่กัน สำลี กระดาษไข
4. วัสดุ และอาหารเลี้ยงแมลง เช่น ฟักทอง เพลี้ยแป้ง น้ำผึ้ง
5. อุปกรณ์ใช้ทดสอบ เช่น ถ้วยพลาสติก หลอดทดลอง ปิเปต บีกเกอร์ พาราฟิลม์
6. เครื่องวัดอุณหภูมิ ความชื้น

วิธีการ

ทดสอบผลของสารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช ที่มีต่อแมลงช้างปีกใส *Chrysoperla carnea* ในห้องปฏิบัติการ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Rondomized Design, CRD) มีทั้งหมด 5 ซ้ำ 22 กรรมวิธี ดังนี้

1. profenofos 50%EC อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
2. prothiofos 50%EC อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
3. carbaryl 85%WP อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
4. tolfenpyrad 16% EC อัตรา 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
5. fipronil 5% SC อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
6. acetamiprid 20% SP อัตรา 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
7. abamectin 1.8 W/v EC อัตรา 3 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
8. beta-cyflutrin 2.5%EC อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
9. dinotefuran 10%WP อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
10. etofenprox 20%EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
11. flonicamid 50%WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
12. cypermethrin 35% W/V EC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร
13. flubendiamide 20% WG อัตรา 6 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

14. emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร
15. betacyfluthrin 2.5% EC อัตรา 30 มล./น้ำ 20 ลิตร
16. imidacloprid 10% W/V SL อัตรา 40 มล./น้ำ 20 ลิตร
17. spinetoram 12% SC อัตรา 20 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร
18. chlorfenapyr 10%SC อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
19. lufennuron 5% EC อัตรา มล. ต่อน้ำ 20 ลิตร
20. buprofezin 40% SC อัตรา มล. ต่อน้ำ 20 ลิตร
21. Bacillus thuringiensis FC อัตรา 60 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
22. Control

วิธีปฏิบัติการทดลอง

1.เตรียมสาร ป้องกันกำจัดแมลงตามอัตราที่กำหนดให้เป็นสารละลาย ทำการทดสอบแบบ dry film method โดยการเทสารป้องกันกำจัดแมลงแต่ละกรรมวิธีที่กำหนดลงในถ้วยพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร ให้เต็มทิ้งไว้ 5 วินาที เพื่อให้สารเคลือบผิวทั้งหมด แล้วเทสารละลายออกจากถ้วย แล้ววางทิ้งไว้ ให้แห้ง

2. การทดสอบความเป็นพิษของสารต่อระยะไข่ และระยะดักแด้ ของแมลงช้างปีกใส เมื่อทิ้งภาชนะที่เคลือบสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชไว้จนแห้งแล้ว (ประมาณ 1 ชั่วโมง) ให้ใส่ไข่ และดักแด้ แมลงช้างปีกใสเข้าไปในภาชนะทันที ไข่ แมลงช้างปีกใสใส่ 5 ฟองต่อถ้วย และ ดักแด้ 5 ดักแด้ ต่อถ้วย ปิดด้วยผ้าขาวบางแล้ววางทิ้งไว้ ระยะไข่ ตรวจอัตราการฟัก ภายใน 3 วัน และระยะดักแด้ ตรวจอัตราการรอดเป็นตัวเต็มวัย ภายใน 5 วัน

3.การทดสอบความเป็นพิษในระยะตัวอ่อน และตัวเต็มวัยใช้ตัวอ่อนระยะที่ 3 ใส่ในภาชนะละ 1 ตัวต่อถ้วยใส่อาหาร ใส่ตัวเต็มวัย 1 คู่ ต่อถ้วย พร้อมอาหาร ในถ้วยที่เคลือบสารละลายและวางไว้ ที่ 0 1 2 และ 3 วัน แล้ว ตามลำดับ และตรวจนับที่ 24 และ 72 ชั่วโมง

การบันทึกข้อมูล

1. ตรวจนับอัตราการฟัก และรอดของตัวอ่อนหลังใส่ไว้ในภาชนะ 3 วัน
2. ตรวจนับอัตราการการออกจากดักแด้ ภายใน 5 วัน
3. ตรวจนับอัตราการตายของตัวอ่อน และตัวเต็มวัย ที่ใส่ในภาชนะทดลอง ที่ 24 และ 72 ชั่วโมง
4. จัดระดับความเป็นพิษของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ตามวิธีการจัดลำดับความเป็นพิษของ IOBC (Hassan, 1994) ดังนี้

ไม่มีพิษ (harmless) มีเปอร์เซ็นต์ตาย <30%

มีพิษน้อย (slightly harmful) มีเปอร์เซ็นต์ตาย 30-79%

มีพิษปานกลาง (moderately harmful) มีเปอร์เซ็นต์ตาย 80-99%

มีพิษร้ายแรง (harmful) มีเปอร์เซ็นต์ตาย >99%

การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลระยะต่างๆของแมลงช้างปีกใสที่ตายมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

เวลาและสถานที่

เวลา ระยะเวลาดำเนินการ เดือน ตุลาคม 2564 ถึง กันยายน 2565

สถานที่ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการทดลองผลของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช จำนวน 21 ชนิด ต่อ ระยะไข่ และระยะดักแด้ของแมลงช้างปีกใส เมื่อได้รับพิษทันที โดยในระยะไข่ ตรวจนับที่ ระยะเวลา 3 วัน พบว่า สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช 20 ชนิดมีพิษน้อยต่อระยะไข่ของแมลงช้างปีกใสคือ สารทั้ง 20 ชนิดไม่ทำให้อัตราการตายของตัวอ่อนที่ฟักออกจากไข่หลังจากได้รับพิษ ตายทันทีในการทดลอง น้อยกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ และมี 1 ชนิด คือ *Bacillus thuringiensis* FC ที่ไม่มีพิษต่อระยะไข่ของแมลงช้างปีกใส เช่นเดียวกับการทดลองในระยะดักแด้ ตรวจนับที่ระยะเวลา 5 วัน พบว่า สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชทั้ง 20 ชนิดจัดว่ามีพิษน้อยต่อระยะดักแด้เช่นกัน ไม่ทำให้อัตราการตายของตัวเต็มวัยที่ออกจากดักแด้ตายมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ และสาร *Bacillus thuringiensis* FC จัดว่าไม่มีพิษต่อระยะดักแด้ของแมลงช้างปีกใส (ตารางที่ 1)

ผลของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่มีต่อระยะตัวอ่อนวัย 3 ของแมลงช้างปีกใส ตรวจนับความเป็นพิษที่เวลา 0 วัน 1 2 3 วัน พบว่า เมื่อตัวอ่อนแมลงช้างปีกใสได้รับพิษทันที (0 วัน) สารทุกชนิดมีพิษร้ายแรงทำให้ตัวอ่อนแมลงช้างปีกใสตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 72 ชั่วโมง ยกเว้น *Bacillus thuringiensis* FC จัดว่าไม่มีพิษทำให้ ตัวอ่อนแมลงช้างปีกใส ตายเพียง 22 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อรับพิษที่ระยะเวลาผ่านไป 1 วัน สารป้องกันกำกัดศัตรูพืชทดลองที่มีพิษร้ายแรง (harmful) มีเปอร์เซ็นต์ตาย >99% มี 10 ชนิด คือ profenofos 50%EC tolfenpyrad 16% EC acetamiprid 20% SP abamectin 1.8 W/v EC beta-cyflutrin 2.5%EC etofenprox 20%EC flonicamid 50%WG flubendiamide 20% WG emamectin benzoate 1.92% EC betacyfluthrin 2.5% EC สารป้องกันกำกัดศัตรูพืชทดลองที่มีพิษปานกลาง (moderately harmful) มีเปอร์เซ็นต์ตาย 80-99% มี 7 ชนิด คือ prothiofos50%EC carbaryl 8 5 % WP fipronil 5 % SC dinotefuran 10%WP cypermethrin 35% W/V EC imidacloprid 10% W/V SL chlorfenapyr 10%SC สารป้องกันกำกัดศัตรูพืชที่มีพิษน้อย (slightly harmful) มีเปอร์เซ็นต์ตาย 30-79% มี 3 ชนิด คือ spinetoram 12% SC lufennuron 5% EC buprofezin 40% SC และ ไม่มีพิษ (harmless) มี

เปอร์เซ็นต์ตาย <30% คือ *Bacillus thuringiensis* FC ค่าความเป็นพิษเมื่อเมื่อปล่อยตัวอ่อนแมลงช้างปีกใส ที่เวลาผ่านไป 2 วัน (2 วัน) พบว่า สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชลดระดับความเป็นพิษลง มีพิษปานกลาง (moderately harmful) มีเปอร์เซ็นต์ตาย 80 - 99% มี 4 ชนิด คือ beta-cyflutrin 2.5%EC flonicamid 50%WG emamectin benzoate 1.92% EC betacyfluthrin 2.5% EC อีก 16 ชนิดมีพิษน้อย(slightly harmful) มีเปอร์เซ็นต์ตาย 30-79% และไม่มีพิษ คือ *Bacillus thuringiensis* FC และเมื่อทดสอบความเป็นพิษที่เวลา ผ่านไป 3 วัน (3วัน) พบว่าสารป้องกันกำจัดแมลงทั้ง 20 ชนิด แสดงความเป็นพิษน้อย (slightly harmful) มีเปอร์เซ็นต์ตาย 30-79% ต่อตัวอ่อนแมลงช้างปีกใส และ *Bacillus thuringiensis* จัดว่าไม่มีพิษต่อตัวอ่อนแมลงช้างปีกใส (ตารางที่ 2)

ผลของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่มีต่อระยะตัวเต็มวัย เมื่อทดลองที่โดนพิษทันที (0 วัน) พบว่าสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชทั้ง 20 ชนิด มีพิษร้ายแรงต่อตัวเต็มวัยแมลงช้างปีกใส ยกเว้น *Bacillus thuringiensis* เมื่อทิ้งสารไว้ (1 วัน) แล้วปล่อยตัวเต็มวัย พบว่าค่าความเป็นพิษของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชทั้ง 12 ชนิด ที่มีพิษร้ายแรง (harmful) ต่อตัวเต็มวัยแมลงช้างปีกใส คือ profenofos50%EC carbaryl 85%WP tolfenpyrad 16% EC acetamiprid 20% SP beta-cyflutrin 2.5%EC etofenprox 20%EC flonicamid 50%WG cypermethrin 35% W/V EC flubendiamide 20% WG emamectin benzoate 1.92% EC betacyfluthrin 2.5% EC spinetoram 12% SC มีพิษปานกลาง 5 ชนิด คือ prothiofos 50%EC fipronil 5% SC dinotefuran10%WP imidacloprid 10% W/V SL chlorfenapyr 10%SC มีพิษน้อย คือ abamectin 1.8 W/v EC lufennuron 5% EC buprofezin 40% SC และ ไม่มีพิษ คือ *Bacillus thuringiensis* เมื่อทดลองที่ค่าความเป็นพิษที่ 2 วัน (2 วัน) พบว่ามีพิษบานกลาง อยู่ 5 ชนิด คือ carbaryl 85%WP beta-cyflutrin 2.5%EC flonicamid 50%WG emamectin benzoate 1.92% EC betacyfluthrin 2.5% EC มีพิษน้อย 14 ชนิด คือ profenofos 50%EC prothiofos 50%EC tolfenpyrad 16% EC fipronil 5% SC acetamiprid 20% SP dinotefuran10%WP etofenprox 20%EC cypermethrin 35% W/V EC flubendiamide 20% WG imidacloprid 10% W/V SL. spinetoram 12% SC chlorfenapyr 10%SC lufennuron 5% EC. buprofezin 40% SC และ พบว่า ที่ไม่มีพิษต่อตัวเต็มวัย มี 2 ชนิด คือ abamectin 1.8 W/v EC และ *Bacillus thuringiensis* ผลการทดลองที่ค่าความเป็นพิษที่ 3 วัน (3วัน) พบว่าค่าความเป็นพิษของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชลดลงเป็นมีพิษน้อยต่อตัวเต็มวัยแมลงช้างปีกใส มี 17 ชนิด คือ profenofos 50%EC prothiofos 50%EC carbaryl 85%WP tolfenpyrad 16% EC acetamiprid 20% SP beta-cyflutrin 2.5%EC etofenprox 20%EC flonicamid 50%WG cypermethrin 35% W/V EC flubendiamide 20% WG emamectin benzoate 1.92% EC betacyfluthrin 2.5% EC spinetoram 12% SC chlorfenapyr 10%SC lufennuron 5% EC buprofezin 40% SC และที่จัดว่าไม่มีพิษต่อตัวเต็มวัย เมื่อทิ้งระยะการปล่อยตัวเต็มวัยที่ 3 วัน มี 4 ชนิด คือ fipronil 5% SC abamectin 1.8 W/v EC dinotefuran10%WP และ *Bacillus*

thuringiensis (ตารางที่ 3) จากผลการทดลอง เป็นไปในทางเดียวกับ Walsh (n.d) รายงานว่า *Bacillus thuringiensis* และ fipronil มีพิษต่ำมากต่อ แมลงช้างปีกใส

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากผลการทดสอบสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชต่อแมลงช้างปีกใส ในระยะไข่ และระยะดักแด้ พบว่า สารทุกตัวมีผลกับระยะไข่ และดักแด้ แต่ไม่ทำให้อัตราการตายของตัวอ่อนที่ฟักออกจากไข่และตัวเต็มวัยที่ออกจากดักแด้หลังจากได้รับพิษ น้อยกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ และในระยะตัวอ่อนวัย 3 สารทุกชนิดมีผลร้ายแรงต่อตัวอ่อน และตัวเต็มวัยหลังพ่นสารคือทำให้ตัวอ่อนตายทันที 100 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อพ่นสารแล้วทิ้งไว้ 3 วัน ทำให้อัตราการตายของตัวอ่อนและตัวเต็มวัยลดลง และสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช คือ fipronil 5% SC abamectin 1.8 W/v EC และ dinotefuran10%WP ไม่มีพิษต่อตัวเต็มวัย ในระยะเวลาหลังพ่นสารแล้ว 3 วัน และ *Bacillus thuringiensis* เป็นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่ไม่มีพิษต่อแมลงช้างปีกใส ในทุกระยะการเจริญเติบโต

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2553 การป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ปี 2553 เอกสารวิชาการเกษตร. กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.ISBN 978-974-436-672-6

กรมวิชาการเกษตร. 2559. แมลงศัตรูผัก เห็ด และไม้ดอก กลุ่มบริหารศัตรูพืช/กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ISBN : 978-974-436-768-6

พิมลพร นันทะ. 2554 ศัตรูธรรมชาติ หัวใจของ IPM กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร ISBN974-436-065-8

Nordlund, D.A., A.C. Cohen and R.A. Smith, 2001. Mass-Rearing, Release Techniques and Augmentation. In: Lacewings in the Crop Environment, McEwen P.K., T.R., New and A.E. Whittington (Eds.). Cambridge University Press, Cam bridge, pp: 303-319.

Walsh,B. n.d Impact of insecticides on natural enemies found in brassica vegetables. Available from: sardi.sa.gov.au/_data/assets/pdf_file/0011/../toxchart.pdf.

ตารางที่ 1 แสดงค่าเฉลี่ยอัตราการตาย (mean±S.D) ของระยะไข่ และระยะดักแด้แมลงช้างปีกใส *Chrysoperla carnea* หลังพ่นสารฆ่าแมลงที่ 0 วัน

กรรมวิธี	อัตราการตายของไข่ และ ดักแด้ ของแมลงช้างปีกใส			
	อัตราการตายของไข่หลังพ่นสาร 3 วัน		อัตราการตายของดักแด้หลังพ่นสาร 5 วัน	
	อัตราการตาย (mean±S.D)	% การตาย	อัตราการตาย (mean±S.D)	% การตาย
Profenofos 50%EC	5.40 ± 2.97	54.00	3.20 ± 1.30	32.00
Prothiofos 50%EC	3.80 ± 0.45	38.00	3.80 ± 0.45	38.00
Carbaryl 85%WP	4.80 ± 0.84	48.00	3.80 ± 0.84	38.00
Tolfenpyrad 16%EC	4.20 ± 2.28	42.00	3.60 ± 0.55	36.00
Fipronil 5%SC	5.60 ± 0.55	56.00	3..80 ± 0.39	38.00
Acetamiprid 20%SP	5.20 ± 0.84	52.00	3.40 ± 0.84	34.00
Abamectin 1.8W/vEC	5.20 ± 1.64	52.00	5.40 ± 2.97	54.00
beta-cyflutrin 2.5%EC	4.60 ± 0.89	46.00	3.80 ± 0.45	38.00
Dinotefuran 10%WP	4.20 ± 0.84	42.00	4.80 ± 0.84	48.00
Etofenprox 20%EC	4.60 ± 0.55	46.00	4.20 ± 2.28	42.00
Flonicamid 50%WG	4.60 ± 0.55	46.00	5.60 ± 0.55	56.00
Cypermethrin 35%W/VEC	5.60 ± 0.55	56.00	5.20 ± 0.84	52.00
Flubendiamide 20%WG	5.40 ± 0.55	54.00	5.20 ± 1.64	52.00
emamectin benzoate 1.92%EC	5.40 ± 1.14	54.00	4.60 ± 0.89	46.00
Betacyfluthrin 2.5%EC	4.20 ± 0.44	42.00	4.20 ± 0.84	42.00
Imidacloprid10%W/VSL	4.20 ± 0.44	42.00	4.60 ± 0.55	46.00
Spinetoram 12%SC	4.40 ± 0.55	44.00	4.60 ± 0.55	46.00
chlorfenapyr 10%SC	3.80 ± 1.09	38.00	5.20 ± 0.84	52.00
Lufennuron5%EC	3.00 ± 0.00	30.00	3.00 ± 0.00	30.00
Buprofezin40%SC	4.20 ± 0.45	42.00	4.20 ± 0.45	42.00
Bacillus thuringiensis FC	1.80 ± 0.84	18.00	2.00 ± 0.55	20.00
Control	**1.40± 0.89**	**14.00**	**1.20± 0.84**	**12.00**

ตารางที่ 2 แสดงค่าเฉลี่ยอัตราการตาย (mean±S.D) ของระยะตัวอ่อนวัย 3 แมลงช้างปีกใส *C. carnea* ทดสอบความเป็นพิษหลังพ่นสารฆ่าแมลง 0 1 2 และ 3 วัน

กรรมวิธี	ค่าความเป็นพิษ ที่ ๐ วัน		ค่าความเป็นพิษ ที่ ๑ วัน		ค่าความเป็นพิษ ที่ ๒ วัน		ค่าความเป็นพิษ ที่ ๓ วัน	
	ค่าเฉลี่ยอัตราการตาย ± S.D	% อัตราการตาย	ค่าเฉลี่ยอัตราการตาย ± S.D	% อัตราการตาย	ค่าเฉลี่ยอัตราการตาย ± S.D	% อัตราการตาย	ค่าเฉลี่ยอัตราการตาย ± S.D	% อัตราการตาย
Profenofos 50%EC	10.00±0.00	100.00	10.00±0.00	100.00	5.00±1.00	50.00	4.00±2.34	40.00
Prothiofos 50%EC	10.00±0.00	100.00	8.60±0.55	86.00	5.60±0.55	56.00	3.40±2.07	34.00
Carbaryl 85%WP	10.00±0.00	100.00	9.20±0.84	92.00	5.20±0.84	52.00	3.20±1.48	32.00
Tolfenpyrad 16%EC	10.00±0.00	100.00	10.00±0.00	100.00	7.80±1.09	78.00	6.80±1.30	68.00
Fipronil 5%SC	10.00±0.00	100.00	8.40±1.14	84.00	3.80±0.84	38.00	3.60±1.48	36.00
Acetamiprid 20%SP	10.00±0.00	100.00	10.00±0.00	100.00	6.00±0.70	60.00	4.40±1.14	44.00
Abamectin 1.8W/vEC	10.00±0.00	100.00	10.00±0.00	100.00	7.80±1.09	78.00	5.40±0.55	54.00
beta-cyflutrin 2.5%EC	10.00±0.00	100.00	10.00±0.00	100.00	8.00±1.00	80.00	5.20±0.84	52.00
Dinotefuran 10%WP	10.00±0.00	100.00	8.40±1.14	84.00	7.20±1.64	72.00	4.80±0.84	48.00
Etofenprox 20%EC	10.00±0.00	100.00	10.00±0.00	100.00	6.80±1.79	68.00	5.60±0.55	56.00
Flonicamid 50%WG	10.00±0.00	100.00	10.00±0.00	100.00	8.20±0.45	82.00	6.80±1.30	68.00
Cypermethrin 35%W/VEC	10.00±0.00	100.00	8.00±0.89	80.00	5.20±1.92	52.00	3.20±1.48	32.00
Flubendiamide 20%WG	10.00±0.00	100.00	10.00±0.00	100.00	7.06±1.14	76.00	5.20±1.92	52.00
emamectin benzoate 1.92%EC	10.00±0.00	100.00	10.00±0.00	100.00	8.80±0.84	88.00	6.60±0.45	66.00
betacyfluthrin 2.5%EC	10.00±0.00	100.00	10.00±0.00	100.00	8.60±0.89	86.00	6.20±1.09	62.00
Imidacloprid10%W/VSL	10.00±0.00	100.00	9.20±0.84	92.00	5.20±0.84	63.00	5.00±0.00	50.00
Spinetoram 12%SC	10.00±0.00	100.00	7.00±1.41	70.00	6.60±1.82	66.00	4.00±0.70	40.00
chlorfenapyr 10%SC	10.00±0.00	100.00	8.00±0.71	80.00	6.80±1.30	68.00	5.00±1.22	50.00
Lufennuron5%EC	10.00±0.00	100.00	7.60±0.89	76.00	3.80±1.30	38.00	3.6±1.14	36.00
Buprofezin40%SC	10.00±0.00	100.00	5.80±1.30	58.00	3.40±2.28	34.00	2.4±1.52	24.00
Bacillus thuringiensis FC	2.20±2.41	22.00	2.20±1.48	22.00	1.20±0.45	12.00	0.80±0.45	8.00
Control	**0.40±0.70**	**4.00**	**0.50±0.70**	**5.00**	**0.40±0.70**	**4.00**	**0.40±0.70**	**4.00**

ตารางที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยอัตราการตาย (mean±S.D) ของตัวเต็มวัยแมลงช้างปีกใส C. carnea ทดสอบความเป็นพิษหลังพ่นสารฆ่าแมลง 0 1 2 และ 3 วัน

กรรมวิธี	ค่าความเป็นพิษ ที่ ๐ วัน		ค่าความเป็นพิษ ที่ ๑ วัน		ค่าความเป็นพิษ ที่ ๒ วัน		ค่าความเป็นพิษ ที่ ๓ วัน	
	ค่าเฉลี่ยอัตราการตาย ± S.D	% อัตราการตาย	ค่าเฉลี่ยอัตราการตาย ± S.D	% อัตราการตาย	ค่าเฉลี่ยอัตราการตาย ± S.D	% อัตราการตาย	ค่าเฉลี่ยอัตราการตาย ± S.D	% อัตราการตาย
Profenofos 50%EC	10.00±0.00	100.00	10.00±0.00	100.00	5.00±1.00	50.00	4.00±2.34	40.00
Prothiofos 50%EC	10.00±0.00	100.00	9.20±0.84	92.00	5.60±0.55	56.00	3.40±2.07	34.00
Carbaryl 85%WP	10.00±0.00	100.00	10.00±0.00	100.00	9.20±0.84	92.00	3.20±1.48	32.00
Tolfenpyrad 16%EC	10.00±0.00	100.00	10.00±0.00	100.00	7.80±1.09	78.00	6.80±1.30	68.00
Fipronil 5%SC	10.00±0.00	100.00	8.40 ±1.50	84.00	4.80±0.84	48.00	1.00±1.05	10.00
Acetamiprid 20%SP	10.00±0.00	100.00	10.00±0.00	100.00	6.00±0.70	60.00	4.40±1.14	44.00
Abamectin 1.8W/vEC	10.00±0.00	100.00	6.60±1.67	66.00	1.00±1.05	10.00	1.00±1.05	10.00
beta-cyflutrin 2.5%EC	10.00±0.00	100.00	10.00±0.00	100.00	8.00±1.00	80.00	5.20±0.84	52.00
Dinotefuran 10%WP	10.00±0.00	100.00	8.40±1.14	84.00	7.20±1.64	72.00	0.90±0.88	9.00
Etofenprox 20%EC	10.00±0.00	100.00	10.00±0.00	100.00	6.80±1.79	68.00	5.60±0.55	56.00
Flonicamid 50%WG	10.00±0.00	100.00	10.00±0.00	100.00	8.20±0.45	82.00	6.80±1.30	68.00
Cypermethrin 35%W/VEC	10.00±0.00	100.00	10.00±0.00	100.00	5.60±0.89	56.00	3.80±0.84	38.00
Flubendiamide 20%WG	10.00±0.00	100.00	10.00±0.00	100.00	7.06±1.14	76.00	5.20±1.92	52.00
emamectin benzoate 1.92%EC	10.00±0.00	100.00	10.00±0.00	100.00	8.80±0.84	88.00	6.60±0.45	66.00
betacyfluthrin 2.5%EC	10.00±0.00	100.00	10.00±0.00	100.00	8.60±0.89	86.00	6.20±1.09	62.00
Imidacloprid10%W/VSL	10.00±0.00	100.00	8.40±1.14	84.00	7.00±1.25	70.00	5.00±0.00	50.00
Spinetoram 12%SC	10.00±0.00	100.00	10.00±0.00	100.00	6.60±1.82	66.00	4.00±0.70	40.00
chlorfenapyr 10%SC	10.00±0.00	100.00	8.00±0.71	80.00	6.80±1.30	68.00	5.00±1.22	50.00
Lufennuron5%EC	10.00±0.00	100.00	7.60±0.89	76.00	6.80±1.30	68.00	3.6±1.14	36.00
Buprofezin40%SC	10.00±0.00	100.00	6.80±1.30	68.00	3.40±2.28	34.00	3.4±1.52	34.00
Bacillus thuringiensis FC	0.40±2.41	4.00	0.10±0.00	1.00	0.20±0.45	2.00	0.40±0.45	4.00
Control	**0.40±0.70**	**4.00**	**0.40±0.70**	**4.00**	**0.20±0.42**	**2.00**	**0.40±0.70**	**4.00**

การใช้แมลงช้างปีกใส *Chrysoperla carnea* ควบคุมเพลี้ยอ่อน ในการปลูกคะน้าในโรงเรือน

Use of green lacewings *Chrysoperla carnea* for control Aphids on Kale in Greenhouses

ประภัสสร เชยคำแหง วิไลวรรณ เวชยันต์ สาทิพย์ มาลี
กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

เป็นการทดลองต่อเนื่องเป็นปีที่ 2 จากการหาอัตรา และการใช้ในปีแรกเสร็จสิ้นแล้วก็ได้ดำเนินการนำอัตราและวิธีการที่ได้จากการทดลองปีที่ 1 ไปขยายผลในโรงเรือนเกษตร ติดต่อแปลงปลูกคะน้าในโรงเรือนของเกษตร ณ อ. อู่ทอง จ. สุพรรณบุรี จำนวน 2 โรงเรือน ทำการทดลองแบบ t-test โรงเรือนที่ 1 ปล่อยตัวอ่อนแมลงช้างปีกใส โรงเรือนที่ 2 ไม่ปล่อยแมลงช้างปีกใส เปรียบเทียบกัน โรงเรือนที่ปล่อยแมลงช้างปีกใสสามารถควบคุมเพลี้ยอ่อนให้ลดลงได้อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับโรงเรือนที่ไม่มีการปล่อยแมลงช้างปีกใส อัตราที่แนะนำให้ใช้ในสภาพโรงเรือนควรใช้ แมลงช้างปีกใสวัย 2 อัตรา 22 ตัวต่อตารางเมตร ปล่อยทุกๆ 7 วันจำนวน 4 ครั้ง และควรปล่อยในจุดที่มีการระบาดของเพลี้ยอ่อน ควร สำรวจและตรวจแปลงสม่ำเสมอ เมื่อพบการระบาดเกิน 20 เปอร์เซ็นต์ ต่อแปลงและเกิน 20 ตัวต่อต้นควรปล่อยแมลงช้างปีกใสวัย 2 ทันที ในปี 2567 จะมีการพัฒนาการปล่อย และเทคนิกการใช้แมลงช้างปีกใสในการควบคุมเพลี้อ่อนในโรงเรือนเพิ่มเติมเพื่อยืนยันผล

คำหลัก : แมลงช้างปีกใส, *Chrysoperla carnea,* เพลี้ยอ่อน, อัตราการปล่อย, การควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี

รหัสการทดลอง FF 65-10-01-65-02-03-66

คำนำ

คะน้า เป็นพืชผักจัดอยู่ในพืชตระกูลกะหล่ำเป็นผักที่นิยมนำมาทำอาหารบริโภคในชีวิตประจำวันได้หลากหลายเมนู มีคุณค่าทางอาหาร ประกอบด้วยวิตามินและเกลือแร่ที่จำเป็นต่อร่างกาย ในการปลูกคะน้ามีแมลงศัตรูพืชลงทำลายหลายชนิด ชนิดที่มีความสำคัญชนิดหนึ่ง คือ เพลี้ยอ่อน (Aphid) อยู่ในวงศ (Family) Aphididae อันดับ (Order) Hemiptera เพลี้ยอ่อนเป็นแมลงปากดูดขนาดเล็กมีลำตัวอ่อนนุ่ม เคลื่อนไหวช้า ตัวอ่อน และตัวเต็มวัยของเพลี้ยอ่อนทำลายพืชโดยใช้ส่วนปากดูดกินน้ำเลี้ยง จากเซลล์พืชบริเวณใต้ใบ หรือส่วนอ่อนๆของพืช เช่น ยอดอ่อน ตาอ่อน ใบ ดอกและผล เพลี้ยอ่อนใช้ปากที่พัฒนาเป็นท่อยาว (Rostrum) แทงเข้าไปในเนื้อเยื่อพืชระหว่างเซลล์พืช ถ้าพืชถูกทำลายรุนแรงจะทำให้ชะงักการเจริญเติบโต หรือบางครั้งทำให้ต้นตายได้ ทั่วโลกมีเพลี้ยอ่อนอยู่ประมาณ 4,000 ชนิดเพลี้ยอ่อนส่วนใหญ่ที่พบอยู่ในวงศ์ย่อย Aphidinae และประมาณ 250 ชนิด เป็นศัตรูที่สำคัญของพืชหลายชนิด ในประเทศไทยมีรายงานว่าพบเพลี้ยอ่อนทั้งหมด 182 ชนิด ชนิดของเพลี้ยออนที่ลงทำลายคะน้ามีทั้งหมด 4 ชนิด คือ เพลี้ยออนฝาย (cotton aphid) Aphis gossypii Glover เพลี้ยออนผัก (cabbage aphid) Lipaphis erysimi (Kaltenbach) เพลี้ยออนลูกท้อ (aphid) Myzus persicae (Sulzer) และ เพลี้ยออนขาวโพด (corn leaf aphid) Rhopalosiphum maidis (ลักขณา และชฎาภรณ์ 2554) แมลงศัตรูพืชชนิดนี้มีการขยายพันธุ์รวดเร็ว เมื่อลงทำลายแล้วจะทำให้เกิดความเสียหายรุนแรง ดังนั้นเพื่อการผลิต พืชคะน้าที่ปลอดภัย ต่อผู้บริโภค และเกษตรกรผู้ผลิต การใช้แมลงศัตรูธรรมชาติ มาช่วยป้องกันกำจัด จึงเป็นแนวทางที่สำคัญ แมลงช้างปีกใส เป็นแมลงห้ำ ที่ได้รับสมญานามว่า สิงห์นักล่าเพลี้ยอ่อน จึงมีความน่าสนใจ ที่จะนำมาใช้กำจัดเพลี้ยอ่อนในคะน้าได้ แมลงช้างปีกใส (Green Lacewings) เป็นแมลงศัตรูธรรมชาติที่มีประโยชน์มากชนิดหนึ่ง จัดอยู่ในอันดับ Neroptera วงศ์ Chrysopidae. เป็นตัวห้ำที่มีประสิทธิภาพ เนื่องจากสามารถทำลายเหยื่อศัตรูพืชได้หลายชนิด เช่น ไข่และตัวอ่อนของผีเสื้อบางชนิด เพลี้ยอ่อน, ไรแมงมุม, เพลี้ยหอย, เพลี้ยแป้ง, เพลี้ยไก่แจ้, เพลี้ยจักจั่น, ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาว และเหยื่อศัตรูพืชอีกหลายชนิดที่ลำตัวอ่อนนุ่ม จึงทำให้แมลงช้างปีกใสเป็นแมลงห้ำที่ได้รับความสนใจในหลายๆประเทศ และ พิมลพร นันทะ, 2545. รายงานว่า เหยื่อที่แมลงช้างปีกใสชอบมากที่สุดคือ เพลี้ยอ่อน แมลงช้างปีกใส 1 ตัว สามารถกินเพลี้ยอ่อนได้ 100-600 ตัวถึงแม้ว่าช่วงเวลานั้นจะหาเหยื่อได้ยาก หรือพืชมีขนปกคลุมหรือมีสารเหนียวก็ตาม ทั่วโลกพบแมลงช้างปีกใสอยู่หลายสายพันธุ์ เช่นประเทศจีน พบแมลงช้างปีกใส *Chrysoperla sinica* ในสหรัฐอเมริกาพบ แมลงช้างปีกใส *Chrysoperla carnea* และ *Chrysoperla rufilabris* ซึ่งแมลงช้างปีกใสทั้ง 2 ชนิด มีรายงานว่าสามารถควบคุมเพลี้ยอ่อนได้อย่ามีประสิทธิภาพ Tulisalo, 1984 ได้รายงานว่าแมลงช้างปีกใส ใน สกุล Chrysoperla เช่น *Chrysoperla carnea, Chrysopa septempunctata* Wesmael, *Chrysopa formosa* Brauer และ *Chrysoperla perla* สามารถใช้ ควบคุมเพลี้ยอ่อน ได้ดีในพืชที่ปลูกในโรงเรือน เช่น พริก แตงกวา มะเขือ และผักกาดหอม เป็นต้น นอกจากนั้น Nordlund el al., 2001 ได้รายงานว่า แมลงช้างปีกใส ใน สกุล Chrysoperla ได้เคยถูกใช้เพื่อควบคุม เพลี้ยอ่อน ในพริก และ ถั่วลันเตา และยังใช้เพื่อ ควบคุม หนอนผีเสื้อ

Leptinotarsa decemlineata ใน มะเขือ และ มะเขือเทศ ใช้ควบคุม หนอนผีเสื้อ Panonychus ulmi ใน ไร่แอปเปิ้ล และใช้ ควบคุมหนอนเจาะสมอฝ้าย Heliothis uirescens ในไร่ฝ้าย อีกด้วย นอกจากนั้นมีรายงานว่า ในแถบทวีปอเมริกาเหนือใช้ C. carnea ควบคุม เพลี้ยแป้ง เพลี้ยจักจั่น และเพลี้ยอ่อน แมลงช้างปีกใส C. rufilabris ใช้ควบคุม เพลี้ยหอย ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาว เพลี้ยอ่อน และเพลี้ยจักจั่น และ Chrysoperla externa (Hagen) เป็นแมลงช้างปีกใสชนิดที่สามารถควบคุมไข่ของผีเสื้อกลางคืนได้ (Daane and Hagen, 2001) ในออสเตรเลีย New, 2002 รายงานว่า แมลงช้างปีกใสชนิด Mallada signata (Schneider) มีความสำคัญมากที่จะใช้ในโปรแกรมการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี สอดคล้องกับในประเทศจีน รายงานว่า แมลงช้างปีกใส Chrysoperla sinica (Tjeder) ประสบความสำเร็จในการใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืช เช่นกัน

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอ่อนแมลงช้างปีกใส วัย 2
2. โรงเรือนตาข่าย จำนวน 2 โรงเรือน
3. ต้นคะน้า
4. ที่นับแมลง พู่กัน

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ t-test มี 2 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 ปล่อยแมลงช้างปีกใส

กรรมวิธีที่ 2 ไม่ปล่อยแมลงช้างปีกใส

ทำการทดลองในโรงเรือนของเกษตรกร ขนาด 2x7 เมตร จำนวน 2 โรงเรือน ณ อ. อู่ทอง จ.สุพรรณบุรี ระหว่างวันที่ 20 กุมภาพันธ์ 2566 ถึง วันที่ 11 เมษายน 2566 เพลี้ยอ่อน เกิน 20-30 ตัวต่อต้น ปล่อยตัวอ่อนแมลงช้างปีกใส วัย 2 จำนวน 4 ครั้งๆละ 300 ตัว บันทึกจำนวนเพลี้ยอ่อนก่อนปล่อย และหลังจากปล่อยแมลงช้างปีกใส

เวลาและสถานที่

เวลา ทำการทดลองระหว่างวันที่ 20 กุมภาพันธ์ 2566 ถึง วันที่ 11 เมษายน 2566

สถานที่ แปลงเกษตร อ. อู่ทอง จ. สุพรรณบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการใช้แมลงช้างปีกใสควบคุมปริมาณการระบาดของเพลี้ยอ่อนในโรงเรือน โรงเรือนที่ปล่อยแมลงช้างปีกใสสามารถควบคุมการระบาดของเพลี้ยอ่อนให้ลดลงได้อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่1) เมื่อเปรียบเทียบกับโรงเรือนที่ไม่มีการปล่อยแมลงช้างปีกใส อัตราที่แนะนำให้ใช้ในสภาพโรงเรือน ควร

ใช้ แมลงช้างปีกใสวัย 2 อัตรา 22 ตัวต่อตารางเมตร ปล่อยทุกๆ 7 วัน จำนวน 4 ครั้ง หรือขึ้นกับปริมาณการระบาดของเพลี้ยอ่อน และควรปล่อยในจุดที่มีการระบาดของเพลี้ยอ่อน สำรวจและตรวจแปลงสม่ำเสมอ เมื่อพบการระบาดเกิน 20 เปอร์เซ็นต์ต่อแปลง และเกิน 20 ตัวต่อต้น ควรปล่อยแมลงช้างปีกใสทันที โดยจากการทดลอง โรงเรือนที่ปล่อยแมลงช้างปีกใสก่อนปล่อยมีค่าเฉลี่ยจำนวนเพลี้ยอ่อน เป็น 29.50 ตัวต่อต้น และหลังปล่อยแมลงช้างปีกใส ครั้งที่ 1 2 3 4 เป็น 27.30 14.80 7.85 และ 3.75 ตามลำดับ โรงเรือนที่ไม่มีการปล่อยแมลงช้างปีกใสก่อนปล่อยมีค่าเฉลี่ยจำนวนเพลี้ยอ่อน เป็น 25.80 ตัวต่อต้นและหลังไม่ปล่อยมีค่าเฉลี่ยเพลี้ยอ่อน ครั้งที่ 1 2 3 4 เป็น 25.75 36.50 36.60 และ 48.75 ตามลำดับ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

สรุปผลการทดลอง จากผลการใช้แมลงช้างปีกใสควบคุมปริมาณการระบาดของเพลี้ยอ่อนในโรงเรือน โรงเรือนที่ปล่อยแมลงช้างปีกใสสามารถควบคุมเพลี้ยอ่อนให้ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับโรงเรือนที่ไม่มีการปล่อยแมลงช้างปีกใส อัตราที่แนะนำให้ใช้ในสภาพโรงเรือน ควรใช้ แมลงช้างปีกใสวัย 2 อัตรา 22 ตัวต่อตารางเมตร ปล่อยทุกๆ 7 วันจำนวน 4 ครั้ง และควรปล่อยในจุดที่มีการระบาดของเพลี้ยอ่อน สำรวจและตรวจแปลงสม่ำเสมอ เมื่อพบการระบาดเกิน 20เปอร์เซ็นต์ต่อแปลงและเกิน 20 ตัวต่อต้น ควรปล่อยแมลงช้างปีกใสทันที สอดคล้องกับคำแนะนำของ Daane KM, Yokota Gy 1997 กล่าวว่า ระยะเวลาการเข้าทำลายของศัตรูพืชน่าจะมีผลมากกว่าอัตราการใช้ ดังนั้นต้องมีการสำรวจศัตรูพืชในโรงเรือนทุกๆ 3 วันเพื่อให้ทันต่อการปล่อยศัตรูธรรมชาติเข้าไปควบคุมได้ทันท่วงที

คำขอบคุณ

-

เอกสารอ้างอิง

พิมลพร นันทะ. 2554 ศัตรูธรรมชาติ หัวใจของ IPM กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร ISBN 974-436-065-8

ลักขณา บำรุงศรี และชฎาภรณ์ เฉลิมวิเชียรพร. 2554 การเก็บตัวอย่างและการจำแนกเพลี้ยอ่อน. ในเอกสารประกอบการอบรมหลักสูตร "การเก็บและจำแนกตัวอย่างแมลงจำพวกปากดูด ศัตรูสำคัญของพืชนำเข้าและส่งออก" ครั้งที่ 4, 24-26 พฤษภาคม 2554 สำนักวิจัยพัฒนาการกรมวิชาการ เกษตร

Daane KM, Yokota GY (1997) Release strategies affect survival and distribution of green lacewings (Neuroptera: Chrysopidae) in augmentation programs. Environ Entomol 26:455–464

Daan,K.M. and K.S. Hagen, 2001 An Environment of lacewing Releases in North America. In: Lacewings in the Crop Environment, McEwen P.K., T.R., New and A.E. Whitt ington (Eds.). Cambridge University Press, Cambridge, pp: 398-407.

Nordlund, D.A., A.C. Cohen and R.A. Smith, 2001. Mass-Rearing, Release Techniques and Augmentation. In: Lacewings in the Crop Environment, McEwen P.K., T.R., New and A.E. Whittington (Eds.). Cambridge University Press, Cam bridge, pp: 303-319.

Tulisalo, U., 1984. Biological Control in the Greenhouse. In: Biology of Chrysopidae, Canard, M., Y.Semeria and T.R.New (Eds.). Dr.W.Junk, The Hague, pp: 228-233.

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยจำนวนเพลี้ยอ่อนที่พบหลังใช้แมลงช้างปีกใสวัย 2 เปรียบเทียบระหว่างการปล่อยและไม่ปล่อยแมลงช้างปีกใส ระหว่างวันที่ 20 กุมภาพันธ์ 2566 ถึงวันที่ 11 เมษายน 2566 ณ อ. อู่ทอง จ. สุพรรณบุรี

กรรมวิธี	จำนวนเพลี้ยอ่อน (ตัว/ต้น)					
	ก่อนปล่อย	หลังปล่อย ครั้งที่ 1	หลังปล่อย ครั้งที่ 2	หลังปล่อย ครั้งที่ 3	หลังปล่อย ครั้งที่ 4	น้ำหนักผลผลิต (กิโลกรัม)
ปล่อยแมลงช้างปีกใส	29.50	27.30	14.80	7.85	3.75	68.00
ไม่ปล่อยแมลงช้างปีกใส	25.80	25.75	36.50	36.60	48.75	20.50
T-test	**2.017**	**-3.162**	**-6.267**	**-11.557**	**-9.189**	
	ns	**ns**	*****	*****	*****	

การเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์โปรโตซัวสกุล *Eimeria* ที่มีประสิทธิภาพความรุนแรงก่อโรคกับหนูทดลอง

Study for propagation of *Eimeria* in laboratory rats and mice

วิชาญ วรรธนะไกวัล ทัสดาว เกตุเนตร สมเกียรติ กล้าแข็ง
ดาราพร รินทะรักษ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

Study for propagation of *Eimeria* in laboratory rats and mice were conduct during October 2021 - September 2023 at laboratory of Agricultural Zoology Research Group, Entomology and Zoology Group, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture. The result of screening test at 6 dpi (day post infection) showed that 2 isolates of *Eimeria* oocysts, *E. ferrisi* isolate UTN 02 and *E. ferrisi* isolate MJ04 can propagation the highest oocysts as 34 and 29.50 oocysts/ul respectively and found that the laboratory mice strain Jcl:ICR were able to increase the amount of oocysts average 45.33 oocysts/ul. The treatment result of oocysts propagation of *E. ferrisi* isolate UTN 02 and *E. ferrisi* isolate MJ04 in Jcl:ICR mice were found the treatment 3 (2,000 oocysts/ul) can able to the highest increase oocysts follow by treatment 2 (200 oocysts/ul) as 32.60 ± 15.13, 28.94 ± 17.83 and 3.60 ± 2.61, 3.47 ± 1.10 oocysts/ul respectively. While the treatment 1 (20 oocysts/ul) not found oocysts shedding with rat feces after the laboratory mice ingest oocysts suspension by oral feeding.

Keywords : *Eimeria*, oocysts propagation

รหัสการทดลอง FF65-10-05-65-02-01-65

บทคัดย่อ

การเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์โปรโตซัวสกุล *Eimeria* ที่มีประสิทธิภาพความรุนแรงก่อโรคกับหนูทดลอง ดำเนินการทดลองตั้งแต่ เดือนตุลาคม 2564 – กันยายน 2566 ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ผลการทดลองการเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ในเบื้องต้น (screening test) ที่ระยะเวลา 6 วันหลังจากได้รับเชื้อ (dpi; day post infection) พบว่า โอโอซีสต์ของโปรโตซัวสกุล *Eimeria* จำนวน 2 ไอโซเลท ได้แก่ *E. ferrisi* isolate UTN 02 และ *E. ferrisi* isolate MJ04 สามารถเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ได้มากสุด มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 34 และ 29.50 oocysts/ul ตามลำดับ และพบว่าหนูทดลองสายพันธุ์ Jcl:ICR สามารถเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ได้มากที่สุด มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 45.33 oocysts/ul ขณะที่ผลการเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ของโปรโตซัว *E. ferrisi* isolate UTN 02 และ *E. ferrisi* isolate MJ04 ในหนูทดลองสายพันธุ์ Jcl:ICR ตามกรรมวิธีทดลอง พบว่ากรรมวิธีที่ 3 (2,000 oocysts/ul) สามารถเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ได้มากที่สุด รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 2 (200 oocysts/ul) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 32.60 ± 15.13, 28.94 ± 17.83 และ 3.60 ± 2.61, 3.47 ± 1.10 oocysts/ul ตามลำดับ ขณะที่กรรมวิธีที่ 1 (20 oocysts/ul) ไม่พบโอโอซีสต์ถูกขับปะปนออกมาพร้อมกับมูลหนูภายหลังจากที่หนูได้รับสารแขวนลอยโอโอซีสต์โดยตรงทางปาก

คำนำ

สารชีวินทรีย์กำจัดหนู (bio-rodenticide) ของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ผลิตขึ้นจากปรสิตโปรโตซัว *Sarcocystis singsporensis* Zaman & Colley (1976) เป็นค็อคซิเดียโปรโตซัว (coccidia protozoa) ที่อยู่ใน Phylum Apicomplexa มีความจำเพาะต่อสัตว์อาศัย 2 ชนิด ได้แก่ สัตว์อาศัยตัวกลาง (intermediate hosts) คือหนูสกุลท้องขาว (*Rattus*) และสกุลพุก (*Bandicota*) โดยมีงูเหลือม (*Python reticulatus*) เป็นสัตว์อาศัยสุดท้าย (final hosts) (ยุวลักษณ์ และคณะ, 2539; กลุ่มงานสัตว-วิทยาการเกษตร, 2544; Jakel *et al*., 1996) ดังนั้นจึงมีความปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อมเป็นอย่างมาก ด้วยความจำเพาะต่อชนิดของสัตว์อาศัยทำให้ยังเหลือสกุลหนูหริ่ง (*Mus*) อีก 1 สกุล ที่ยังไม่มีสารชีวภัณฑ์กำจัดหนูที่จำเพาะต่อหนูชนิดนี้ ซึ่งหนูหริ่งนั้นเป็นศัตรูสำคัญของข้าวและธัญพืชที่สำคัญในประเทศไทย อีกทั้งการผลิตเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนูจากปรสิตโปรโตซัว *S. singaporensis* ในปัจจุบันนั้น ต้องมีการเลี้ยงงูเหลือมและหนูเพื่อใช้ในการผลิตเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู ซึ่งการเลี้ยงงูเหลือมจัดเป็นงานที่มีภาระต้องรับผิดชอบสูงทั้งในเรื่องค่าใช้จ่าย บุคลากร รวมไปถึงสถานที่เลี้ยง

โปรโตซัวสกุล *Eimeria* Schneider, 1875 เป็นค็อคซิเดียโปรโตซัว อยู่ในวงศ์ (family) Eimeriidae ในไฟลัม (phylum) Apicomplexa เป็นโปรโตซัวที่ตลอดวงจรชีวิตมีการสืบพันธุ์แบบอาศัย

เพศ (sexual reproduction หรือ gamogony) และมีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (asexual reproduction หรือ merogony) ดำรงชีวิตอยู่ในบริเวณทางเดินอาหาร (intestinal parasite) ของสัตว์อาศัยเพียงชนิดเดียว (monoxenous host) (Macova, 2013) ในระยะสุดท้ายของการเจริญเติบโตมีการสร้างโอโอซีสต์ (oocysts) ซึ่งเป็นระยะติดเชื้อมีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ โดยจะถูกขับออกมาพร้อมกับมูลของสัตว์อาศัยสู่สิ่งแวดล้อมภายนอก พร้อมที่จะเข้าสู่ร่างกายของสัตว์อาศัยตัวใหม่โดยการปนเปื้อนในแหล่งน้ำและอาหารตามธรรมชาติ เพื่อเริ่มวงจรชีวิตใหม่ต่อไป (Duszynski and Upton, 2000; Berto *et al*., 2009) สัตว์อาศัยของโปรโตซัวชนิดนี้สามารถพบได้ในสัตว์มีกระดูกสันหลังทั่วไป และมีหลายสปีชีส์ที่มีหนูเป็นสัตว์อาศัย (rodent hosts) อาทิเช่น *E. langebarteli, E. separate, E. nieschulzi, E. papillata, E. falciformis*, *E. sevilletensis, E. reedi, E. arizonensis, E. onychomysis* และ *E. albigulae* (Zhao and Duszynski, 2001) เป็นต้น ซึ่งโปรโตซัวสกุล *Eimeria* นั้นมีความจำเพาะเจาะจงกับชนิดของสัตว์อาศัยสูงมากในระดับสกุล (genus specific) (Long and Joyner, 1984: Zhao and Duszynski. 2001) อีกทั้งโปรโตซัวสกุล *Eimeria* ในแต่ละสปีชีส์นั้นไม่สามารถติดต่อข้ามระหว่างสัตว์อาศัยต่างสกุลกันได้ (Hnida and Duszynski, 1999; Slapeta *et al*., 2001) สัตว์อาศัยที่มีการติดเชื้อโปรโตซัวสกุลนี้มักพบว่าป่วยเป็นโรค coccidiosis ซึ่งมีอาการท้องเสียและเป็นโรคในระบบลำไส้ น้ำหนักลด และตายในที่สุด ด้วยการที่มีสัตว์อาศัยเพียง ชนิดเดียว จึงเป็นการย่นระยะเวลา ขั้นตอนและค่าใช้จ่ายในการผลิตเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู ทำให้สามารถผลิตเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนูได้ในระยะเวลาที่สั้นลง และมีค่าใช้จ่ายที่ลดลงจากเดิมด้วยเช่นกัน อีกทั้งอาจสามารถพัฒนาเป็นสารชีวภัณฑ์กำจัดหนูหริ่งศัตรูพืชได้ในอนาคต จากรายงานของ วิชาญ และคณะ (2562ก) ทำการทดลองคัดแยกโอโอซีสต์ของ *Eimeria* จากหนูศัตรูพืชตามธรรมชาติ พบว่าโอโอซีสต์ของ *Eimeria* จำนวน 6 ไอโซเลท ซึ่งคัดแยกได้จากมูลหนูท้องขาว จำนวน 4 ไอโซเลท (Rr K11, Rn BKK02, Ran MJ04 และ Ran KW03) และคัดแยกได้จากมูลหนูหริ่ง จำนวน 2 ไอโซเลท (Mce NKW05 และ Mpa MJ01) ที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 5,000 โอโอซีสต์ มีศักยภาพสามารถทำให้หนูทดลองป่วยและตายได้ ร้อยละ 20-40 ภายใน 3-10 วัน หลังจากได้รับเชื้อ (dpi) ผลการจำแนกชนิดทางสัณฐานวิทยาจากลักษณะของโอโอซีสต์สอดคล้องกับผลการจำแนกชนิดทางชีวโมเลกุลบริเวณ 18S rDNA พบว่าเป็นโปรโตซัวในสกุล *Eimeria* ได้แก่ *E. nieschulzi* isolate K11 01, *E. ferrisi* isolate MJ01, *E. ferrisi* isolate MJ04, *E. nafuko* isolate NKW05, *Eimeria* sp. ex *Rattus norvegicus* isolate BKK02 และ *Eimeria* sp. ex *Rattus andamanensis* isolate KW03 ตามลำดับ และจากรายงานของ วิชาญ และคณะ (2562ข) ทำการศึกษาการเพิ่มปริมาณของโอโอซีสต์ในเบื้องต้น โดยการให้โอโอซีสต์ของ *E. nieschulzi* isolate K11 01 สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพทำให้หนูทดลองป่วยและตายได้ จำนวน 2,500 โอโอซีสต์ โดยตรงทาง

ปากกับหนูท้องขาวบ้าน จำนวน 10 ตัว พบโอโอซีสต์ถูกขับออกมาพร้อมกับมูลหนูที่ระยะเวลา 6 - 8 วัน และพบโอโอซีสต์สูงสุด (28±12 oocysts/µl) ที่ระยะเวลา 7 วัน ภายหลังจากได้รับเชื้อ (dpi)

ด้วยเหตุนี้เองจึงควรมีการทดลองเพิ่มเติมในเรื่องการเพิ่มปริมาณและคงประสิทธิภาพการก่อโรคในหนูของโปรโตซัว *Eimeria* สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพทำให้หนูทดลองป่วยและตายได้ และการทดลองความเป็นพิษต่อสัตว์ชนิดอื่น เพื่อที่นำไปขยายผลเป็นสารชีวภัณฑ์กำจัดหนูชนิดใหม่ที่มีความปลอดภัยสิ่งแวดล้อมต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. หนูทดลอง 8 สายพันธุ์ ได้แก่ หนูแรท (*Rattus norvegecus*) สายพันธุ์ Spragus Dawley Rat (Mlac:SD) และ Wistar Rat (Mlac:WR) และหนูไมซ์ (*Mus musculus*) สายพันธุ์ BALB/cAJcl, BALB/cAJcl-nu, Jcl:ICR, C57Bl/6NJcl, C3H/HeNJcl และ CB.17 Scid อายุ 8 สัปดาห์
2. เครื่องปั่น (centrifuge) Hettich รุ่น universal 16A และตู้เย็น (4-10^{o}C)
3. ตะแกรงกรองละเอียด (ขนาดความละเอียด 6-8 ไมครอน)
4. Blood counting chamber
5. หลอดปั่นขนาด 15 และ 50 มิลลิลิตร
6. สารเคมี Potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$)
7. ชุดอุปกรณ์ผ่าตัด
8. Auto pipette และ Tips
9. กรงเลี้ยงเดี่ยวสำหรับหนูทดลองขนาด 23x52x22 เซนติเมตร
10. กรงดักหนูขนาด 14x28x14 เซนติเมตร
11. จานแก้วเพาะเชื้อ (petridish)
12. ที่ให้อาหารโดยตรงจากปากสู่กระเพาะ (feeding tube)
13. สารแขวนลอยโอโอซีสต์ของโปรโตซัว *Eimeria* ไอโซเลทที่มีศักยภาพสามารถทำให้หนูทดลองป่วย และตายได้ จำนวน 6 ไอโซเลท ได้แก่ *E. ferrisi* isolate UTN 02, *E. ferrisi* isolate MJ01, *E. ferrisi* isolate MJ04, *E. nafuko* isolate NKW05, *Eimeria* sp. ex *Rattus norvegicus* isolate BKK02 และ *Eimeria* sp. ex *Rattus andamanensis* isolate KW03 ตามลำดับ

วิธีการ

1. การเตรียมหนูทดลอง

เตรียมหนูสำหรับการทดลอง โดยการสั่งซื้อหนูทดลอง 8 สายพันธุ์ จากบริษัทผู้ขาย ได้แก่ หนูแรท (*Rattus norvegecus*) สายพันธุ์ Sprague Dawley Rat (Mlac:SD) และ Wistar Rat (Mlac:WR) และหนูไมซ์ (*Mus musculus*) สายพันธุ์ BALB/cAJcl, BALB/cAJcl-nu, Jcl:ICR, C57Bl/6NJcl, C3H/HeNJcl และ CB.17 Scid อายุ 8 สัปดาห์ มาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการสำหรับใช้ในการทดลอง

2. การเตรียมสารแขวนลอยโอโอซีสต์

เตรียมสารแขวนลอยโอโอซีสต์ของโปรโตซัว *Eimeria* ไอโซเลทที่มีศักยภาพสามารถ ทำให้หนูทดลองป่วยและตายได้ จำนวน 6 ไอโซเลท ได้แก่ *E. ferrisi* isolate UTN 02, *E. ferrisi* isolate MJ01, *E. ferrisi* isolate MJ04, *E. nafuko* isolate NKW05, *Eimeria* sp. ex *Rattus norvegicus* isolate BKK02 และ *Eimeria* sp. ex *Rattus andamanensis* isolate KW03 ตามลำดับ เก็บสารแขวนลอยโอโอซีสต์ที่อุณหภูมิ 4-10°C

3. การคัดเลือกไอโซเลทของโอโอซีสต์และสายพันธุ์ของหนูทดลองเพื่อเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ในเบื้องต้น (screen test) ของโปรโตซัว *Eimeria* ในหนูทดลอง

นำโอโอซีสต์ของโปรโตซัวสกุล *Eimeria* ความเข้มข้น sublethal dose มาทดสอบการเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ในหนูทดลอง โดยการให้โอโอซีสต์โดยตรงทางปากกับหนูทดลองทดสอบกับหนูทดลอง 8 สายพันธุ์ สายพันธุ์ละ 3 ตัว เก็บมูลหนูทดลอง ภายหลังจากได้รับเชื้อที่ระยะเวลา 2, 4, 6, 8 และ 10 วัน แช่ลงในสารละลาย potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5-10 วัน หลังจากนั้นคัดแยกโอโอซีสต์จากมูลหนูทดลองด้วยวิธี saturate NaCl solution ตามวิธีของ Bhat and Jithendran, 1995 ทำการนับปริมาณโอโอซีสต์ที่คัดแยกได้ บันทึกและวิเคราะห์ผลที่ได้ หลังจากนั้นเก็บสารแขวนลอยโอโอซีสต์ที่คัดแยกได้ ที่อุณหภูมิ 4-10°C

4. ทดสอบการเพิ่มปริมาณโปรโตซัว *Eimeria* ในหนูทดลอง

นำโอโอซีสต์ของเชื้อโปรโตซัวสกุล *Eimeria* ไอโซเลทที่สามารถเพิ่มปริมาณ ได้สูงสุด 2 อันดับแรก ความเข้มข้น sublethal dose กับหนูทดลองสายพันธุ์ที่สามารถเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ได้มากที่สุด มาทำการทดสอบการเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ในหนูทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) จำนวน 4 กรรมวิธี 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ตัว (เพศผู้ 5 ตัว และเพศเมีย 5 ตัว) ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1	ให้โอโอซีสต์โดยตรงทางปากกับหนูจำนวน	20	โอโอซีสต์
กรรมวิธีที่ 2	ให้โอโอซีสต์โดยตรงทางปากกับหนูจำนวน	200	โอโอซีสต์
กรรมวิธีที่ 3	ให้โอโอซีสต์โดยตรงทางปากกับหนูจำนวน	2,000	โอโอซีสต์
กรรมวิธีที่ 4	ให้น้ำกลั่นโดยตรงทางปากกับหนูเป็นตัวเปรียบเทียบ (control)		

วัดขนาดและชั่งน้ำหนักหนูก่อนทำการทดลอง แยกหนูที่ใช้ทดลองใส่กรงทดลองงดอาหารเป็นเวลา 1 คืน ก่อนการทดลอง หลังจากนั้นเพิ่มปริมาณเชื้อกับหนูทดลองตามกรรมวิธี หลังจากทดลองกับเชื้อทดลองแล้วให้อาหารและน้ำตามปกติ เก็บมูลหนูทดลองแช่ลงในสารละลาย potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$) 2.5% ในวันที่ 6 หลังจากหนูทดลองได้รับเชื้อโดยตรงทางปาก (dpi) ของทุกกรรมวิธีทดลอง เมื่อครบ 14 วัน ทำให้หนูทดลองทุกตัวตายอย่างสงบด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ตรวจนับจำนวนโอโอซีสต์ที่พบพร้อมกับบันทึกพยาธิสภาพที่เกิดขึ้นโดยละเอียด และนำไปวิเคราะห์ข้อมูลโดยวิธีทางสถิติที่เหมาะสม

<u>เวลา และสถานที่</u>

ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม 2564 – กันยายน 2566 ภายในกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการคัดเลือกไอโซเลทของโอโอซีสต์และสายพันธุ์ของหนูทดลองเพื่อเพิ่มปริมาณ โอโอซีสต์ในเบื้องต้น (screen test) ของโปรโตซัว *Eimeria* ในหนูทดลอง

ผลการทดลองการเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ในเบื้องต้น (screening test) กับหนูทดลอง 8 สายพันธุ์ ได้แก่ หนูแรทสายพันธุ์ Spragus Dawley Rat (Mlac:SD) และ Wistar Rat (Mlac:WR) และหนูไมซ์ สายพันธุ์ BALB/cAJcl, BALB/cAJcl-nu, Jcl:ICR, C57Bl/6NJcl, C3H/HeNJcl และ CB.17 Scid อายุ 8 สัปดาห์ กับโอโอซีสต์ของโปรโตซัวสกุล *Eimeria* ทดลองจำนวน 6 ไอโซเลท ได้แก่ *E. ferrisi* isolate UTN 02, *E. ferrisi* isolate MJ01, *E. ferrisi* isolate MJ04, *E. nafuko* isolate NKW05, *Eimeria* sp. ex *Rattus norvegicus* isolate BKK02 และ *Eimeria* sp. ex *Rattus andamanensis* isolate KW03 ตามลำดับ โดยตรวจนับจำนวนโอโอซีสต์ที่คัดแยกได้จากมูลหนูทดลองที่ระยะเวลา 2, 4, 6, 8 และ 10 วันหลังจากให้เชื้อโดยตรงทางปากกับหนูทดลอง (dpi) พบว่า ที่ระยะเวลา 6 DPI สามารถเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ได้มากสุด ซึ่งโอโอซีสต์ของโปรโตซัวสกุล *Eimeria* จำนวน 2 ไอโซเลท ได้แก่ *E. ferrisi* isolate UTN 02 และ *E. ferrisi* isolate MJ04 สามารถให้ปริมาณโอโอซีสต์ในปริมาณสูงที่สุดจากตัวอย่างทดลองทั้ง 6 ไอโซเลท โดยพบโอโอซีสต์เฉลี่ยเท่ากับ 34 และ 29.50 oocysts/ul ตามลำดับ (table 1)

เมื่อพิจารณาถึงสายพันธุ์หนูทดลอง จำนวน 6 สายพันธุ์ ที่นำมาทดสอบการเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ที่ระยะเวลา 6 DPI พบว่า หนูทดลองสายพันธุ์ Jcl:ICR สามารถเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ของทุกไอโซเลทที่นำมาทดลองได้มากที่สุด โดยพบโอโอซีสต์เฉลี่ย 45.33 oocysts/ul รองมาคือหนูทดลอง

สายพันธุ์ C57Bl/6NJcl และ BALB/cAJcl ซึ่งพบโอโอซีสต์เฉลี่ย 39.33 และ 33.33 oocysts/ul ตามลำดับ (table 2)

ผลการทดสอบการเพิ่มปริมาณโปรโตซัว *Eimeria* ในหนูทดลอง

จากผลการเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ของโปรโตซัว *Eimeria* ไอโซเลท *E. ferrisi* isolate UTN 02 และ *E. ferrisi* isolate MJ04 ในหนูทดลองสายพันธุ์ Jcl:ICR ตามกรรมวิธีทดลอง หลังจากให้ สารแขวนลอยโอโอซีสต์โดยตรงทางปากกับหนูทดลองเป็นระยะเวลา 6 วัน (6DPI) พบว่ากรรมวิธีที่ 3 (2,000 oocysts/ul) สามารถเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ได้มากที่สุด รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 2 (200 oocysts/ul) ซึ่งในกรรมวิธีที่ 3 สามารถเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ได้มากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 2 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 32.60 ± 15.13, 28.94 ± 17.83 และ 3.60 ± 2.61, 3.47 ± 1.10 oocysts/ul ตามลำดับ ขณะที่กรรมวิธีที่ 1 (20 oocysts/ul) ไม่พบโอโอซีสต์ถูกขับปะปนออกมาพร้อมกับมูลหนูภายหลังจากที่หนูได้รับสารแขวนลอยโอโอซีสต์โดยตรงทางปาก (table 3)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลการทดลองการเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ในเบื้องต้น (screening test) กับหนูทดลอง 8 สายพันธุ์ ได้แก่ หนูแรทสายพันธุ์ Spragus Dawley Rat (Mlac:SD) และ Wistar Rat (Mlac:WR) และหนูไมซ์สายพันธุ์ BALB/cAJcl, BALB/cAJcl-nu, Jcl:ICR, C57Bl/6NJcl, C3H/HeNJcl และ CB.17 Scid อายุ 8 สัปดาห์ กับโอโอซีสต์ของโปรโตซัวสกุล *Eimeria* ทดลองจำนวน 6 ไอโซเลท ได้แก่ *E. ferrisi* isolate UTN 02, *E. ferrisi* isolate MJ01, *E. ferrisi* isolate MJ04, *E. nafuko* isolate NKW05, *Eimeria* sp. ex *Rattus norvegicus* isolate BKK02 และ *Eimeria* sp. ex *Rattus andamanensis* isolate KW03 ตามลำดับ พบว่าที่ระยะเวลา 6 DPI โอโอซีสต์ของโปรโตซัวสกุล *Eimeria* จำนวน 2 ไอโซเลท ได้แก่ *E. ferrisi* isolate UTN 02 และ *E. ferrisi* isolate MJ04 สามารถเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ได้มากสุด มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 34 และ 29.50 oocysts/ul ตามลำดับ และพบว่าหนูทดลองสายพันธุ์ Jcl:ICR สามารถเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ได้มากที่สุด รองมาคือหนูทดลองสายพันธุ์ C57Bl/6NJcl และ BALB/cAJcl โดยพบโอโอซีสต์เฉลี่ยเท่ากับ 45.33, 39.33 และ 33.33 oocysts/ul ตามลำดับ

ผลการเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ของโปรโตซัว *Eimeria* ไอโซเลท *E. ferrisi* isolate UTN 02 และ *E. ferrisi* isolate MJ04 ในหนูทดลองสายพันธุ์ Jcl:ICR ตามกรรมวิธีทดลอง พบว่ากรรมวิธีที่ 3 (2,000 oocysts/ul) สามารถเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ได้มากที่สุด รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 2 (200 oocysts/ul) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 32.60 ± 15.13, 28.94 ± 17.83 และ 3.60 ± 2.61, 3.47 ± 1.10 oocysts/ul ตามลำดับ

ผลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าโอโอซีสต์ของโปรโตซัวสกุล *Eimeria* ที่มีศักยภาพสามารถทำให้หนูทดลองป่วยและตายได้นั้น สามารถเพิ่มปริมาณต่อได้ในหนูทดลอง ดังนั้นจึงมีแนวโน้มที่จะสามารถผลิตขยายได้ อย่างไรก็ดีในการทดลองลำดับถัดไปควรที่จะนำโอโอซีสต์ที่ได้จากการผลิตขยายในหนูทดลองจากการทดลองนี้ไปทดสอบประสิทธิภาพความรุนแรงในการก่อโรคกับหนูทดลองต่อไป เพื่อเป็นการยืนยันว่าหลังจากการผลิตขยายเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์แล้วยังสามารถคงความรุนแรงในการก่อโรคกับหนูได้ ร่วมกับการทดสอบความเป็นพิษกับสัตว์ชนิดอื่น เพื่อศึกษาถึงผลกระทบหรือความเป็นพิษต่อสัตว์ชนิดต่างๆ หากพบว่าสามารถผลิตขยายเพิ่มปริมาณโอโอซีสต์ได้อย่างต่อเนื่องในหนูทดลองโดยที่ยังสามารถคงประสิทธิภาพการกำจัดหนูไว้ได้ อีกทั้งโอโอซีสต์ที่มีประสิทธิภาพสามารถกำจัดหนูได้นั้นไม่มีผลกระทบต่อสัตว์ชนิดอื่นๆตามธรรมชาติ หลังจากนั้นจึงสามารถดำเนินการผลิตขยายควบคู่ไปกับการวิจัยและพัฒนารูปแบบเหยื่อที่เหมาะสมมีประสิทธิภาพสำหรับผลิตเป็นชีวภัณฑ์กำจัดหนูศัตรูพืชต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ที่เกี่ยวข้องทุกท่านที่ช่วยทำให้งานวิจัยลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร. 2544. หนูและการป้องกันกำจัด. กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตรกองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย 136 หน้า

ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ และ T. Jackle. 2539. การแพร่ระบาดของ *Sarcocystis* ในหนูศัตรูพืชในประเทศไทย. หน้า 207 – 214. *ใน*: รายงานการประชุมสัมมนาทางวิชาการแมลงและสัตว์ศัตรูพืช 2539 ภาคแผ่นภาพ ครั้งที่ 10 กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

วิชาญ วรรธนะไกวัล ปราสาททอง พรหมเกิด สมเกียรติ กล้าแข็ง และทรงทัพ แก้วตา. 2562ก. การคัดแยกและศึกษาศักยภาพการก่อโรคในหนูศัตรูพืชของค็อคซิเดียโปรโตซัวในลำไส้ (Apicomplexa: Eimeriidae) จากหนูศัตรูพืชสกุล *Rattus* และ *Mus* ที่พบในประเทศไทย. หน้า 60 – 80. *ใน*: การประชุมวิชาการประจำปีสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 10-12 มิถุนายน 2562 ณ โรงแรมรอยัล ฮิลล์ กอล์ฟ รีสอร์ท แอนด์ สปา จังหวัดนครนายก.

วิชาญ วรรธนะไกวัล ปราสาททอง พรหมเกิด สมเกียรติ กล้าแข็ง และทรงทัพ แก้วตา. 2562ข. การศึกษาศักยภาพการก่อโรคในหนูศัตรูพืชและการเพิ่มปริมาณของค็อคซิเดียโปรโตซัวในลำไส้ (Apicomplexa: Eimeriidae) จากหนูศัตรูพืชสกุล *Rattus* และ *Mus* ที่พบในประเทศไทย.

หน้า 22 – 23. *ใน*: การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 14. 12-14 พฤศจิกายน 2562 ณ โรงแรมดุสิตธานี หัวหิน อำเภอชะอำ จังหวัดเพชรบุรี.

Bhat, T.K. and K.P. Jithendran. 1995. *Eimeria magna*: the effect of varying inoculums size on the course of infection in Angora rabbit. World Rabbit Science. 163-165.

Berto, B.P., H.R. Luz, W. Flausino, I. Ferreira and C.W. Lopes. 2009. New species of Eimeria Schneider, 1875 and Isospora Schneider, 1881 (Apicomplex: Eimeriidae) from the shortcrested flycatcher Myiarchus ferox (Gmelin) (Passeriformes: Tyrannidae) in South America. Systematic of parasitology. 74: 75-80.

Duszynski, D.W. and S.J. Upton. 2000. *Cyclospora*, *Eimeria*, *Isospora*, and *Cryptosporidium* spp. Parasitic Diseases of wild mammals, 2nd edition. Iowa state press, pp. 416-433.

Hnida, J.A. and D.W. Duszynski. 1999. Taxonomy and phylogeny of some Eimeria (Apicomplexa: Eimeriidae) species of rodents as determined by polymerase chain reaction/restriction fragment-length polymorphism analysis of 18S rDNA. Parasitology Research. 85: 887-894.

Jaekel, T., H. Burgstaller and W. Frank. 1996. *Sarcocystis singaporensis*: Studies on host specificity, pathogenicity, and potential use as a biocontrol agent of wild rats. Journal of Parasitology. 82: 280-287.

Long, P. L. and L. P. Joyner. 1984. Problems in the identification of species of *Eimeria*. The Journal of Protozoology. 31: 535-541.

Macova, A. 2013. Systemstics of Apicomplexa parasites and coevolution with definitive and intermediate hosts. Master thesis faculty of science. University of South Bohemia.

Slapeta, J.R., D. Modry, J. Votypka, M. Jirku, M. Obornik, J. Lukes and B. Koudela. 2001. *Eimeria telekii* n.sp. (Apicomplexa: Coccidia) from *Lemniscomys striatus* (Rodentia: Muridae): morphology, pathology and phylogeny. Parasitology. 122: 133-143.

Zhao, X. and D.W. Duszynski. 2001. Phylogenetic relationships among rodent *Eimeria* species determined by plastid ORF470 and nuclear 18S rDNA sequences. International Journal for Parasitology. 31: 715-719.

Table 1 Oocysts propagation in laboratory rats and mice 8 strains (screening test)

Rat/mice strains	Days post infection; DPI (oocysts/ul)														
	E. ferrisi isolate UTN 02					*E. ferrisi isolate MJ04*					*Eimeria* sp. *isolate KW03*				
	2	4	6	8	10	2	4	6	8	10	2	4	6	8	10
Jcl:SD	0	0	0	0	0	0	0	25	0	0	0	0	0	0	0
CB17	0	0	11	25	0	0	0	11	0	0	0	0	25	0	0
C3H	0	0	50	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
BALBc-nu	0	0	11	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
BALBc	0	0	25	0	0	0	0	50	0	0	0	0	25	0	0
Jcl:ICR	0	0	75	0	0	0	0	100	0	0	0	0	11	0	0
C57B	0	0	100	0	0	0	0	25	0	0	0	0	50	0	0
WIST	0	0	0	0	0	0	0	25	0	0	0	0	25	0	0
Mean	0	0	34	9.375	0	0	0	29.50	0	0	0	0	17	0	0

Rat/mice strains	Days post infection; DPI (oocysts/ul)														
	E. nafuko isolate NKW05					*E. ferrisi* isolate MJ01					*Eimeria* sp. isolate BKK02				
	2	4	6	8	10	2	4	6	8	10	2	4	6	8	10
Jcl:SD	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0
CB17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C3H	0	0	25	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
BALBc-nu	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
BALBc	0	0	50	25	0	0	0	25	11	0	0	0	25	0	0
Jcl:ICR	0	0	25	0	0	0	0	11	11	0	0	0	50	0	0
C57B	0	22	25	25	0	0	0	11	11	0	0	0	25	0	0
WIST	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0	0	0	25	0	0
Mean	0	2.75	15.63	9.38	0	0	0	7.25	4.13	0	0	0	17	0	0

Table 2 Mean of oocysts propagation in laboratory rats and mice at 6 DPI (screening test)

No	Isolate	Mean of oocysts in laboratory rat and mice at 6 DPI.						Mean
		A	B	C	D	E	F	
1	Jcl:SD	0	25	0	0	0	11	6
2	CB17	11	11	25	0	0	0	7.83
3	C3H	50	0	0	25	0	0	4.17
4	BALBc-nu	11	0	0	0	0	0	1.83
5	BALBc	25	50	25	50	25	25	33.33
6	Jcl:ICR	75	100	11	25	11	50	45.33
7	C57B	100	25	50	25	11	25	39.33
8	WIST	0	25	25	0	11	25	14.33
Mean		34	29.5	17	15.63	7.25	17	

* A = *E. ferrisi* isolate UTN 02, B = *E. ferrisi* isolate MJ04, C = *Eimeria* sp. isolate KW03,
D = *E. nafuko* isolate NKW05, E = *E. ferrisi* isolate MJ01, F = *Eimeria* sp. isolate BKK02

Table 3 Oocysts propagation of *E. ferrisi* isolate UTN 02 and *E. ferrisi* isolate MJ04 in labolatory mice; Jcl: ICR at 6 DPI

Treatment	Oocysts in laboratory rat and mice at 6 DPI (oocysts/ul); mean ± S.D.	
	E. ferrisi isolate UTN 02	*E. ferrisi* isolate MJ04
T1	0 b	0 b
T2	3.60 ± 2.61 b	3.47 ± 1.10 b
T3	32.60 ± 15.13 a	28.94 ± 17.83 a
T4	0 b	0 b

* In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

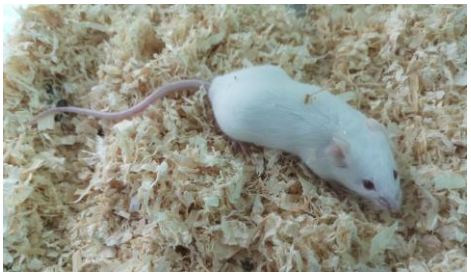


Figure 1 BALB/cAJcl

Figure 2 BALB/cAJcl-nu

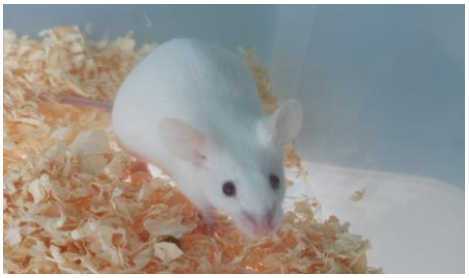


Figure 3 Jcl:ICR

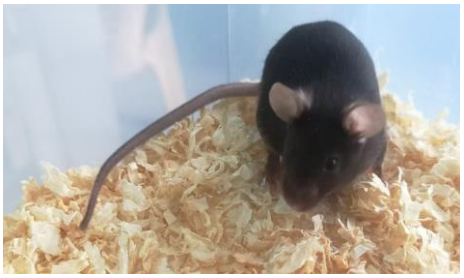


Figure 4 C57Bl/6NJcl

Figure 5 C3H/HeNJcl

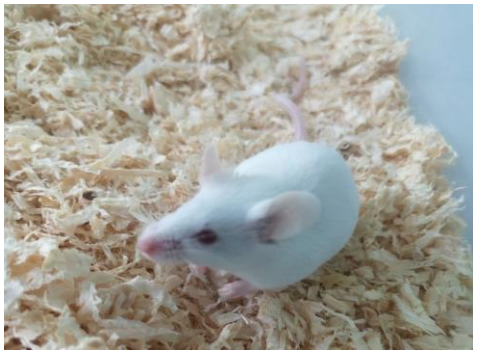


Figure 6 CB.17 Scid

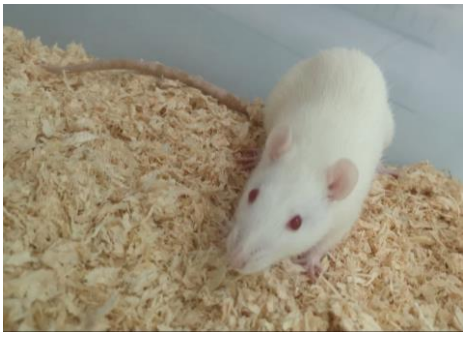


Figure 7 Sprague Dawley Rat (Mlac:SD)

Figure 8 Wistar Rat (Mlac:WR)

ประสิทธิภาพการใช้สารฆ่าหนูร่วมกับการใช้เหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู *Sarcocystis singaporensis* ในการป้องกันกำจัดหนูในไร่ข้าวโพด

Efficacy of rodenticide and bio-rodenticide bait, *Sarcocystis singaporensis* for rodent control in maize filed

วิชาญ วรรธนะไกวัล[1/] สมเกียรติ กล้าแข็ง[1/] วลีรัตน์ วรกาญจนบุญ[2/]
มัตติกา ทองรส[2/]
[1/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิชาการ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4

Abstract

The study of efficacy of rodenticide and *Sarcocystis singaporensis*, bio-rodenticide bait for rodent control in maize filed were conducted from October 2021 to September 2023 at DetUdom district, Ubon Ratchathani (first year) and Muang district, Petchabun (second year). The experiment comparison of rodenticide in 4 treatments such as using flocoumafen 0.005%; poison bait, using *S. singaporensis*; bio-rodenticide bait, using flocoumafen 0.005%; poison bait and *S. singaporensis*; bio-rodenticide bait compare with farmer's practice. The results reveal that the treatment using flocoumafen 0.005%; poison bait and *S. singaporensis*; bio-rodenticide bait was the highest efficacy to reduced rodent population. The percentage decrease of rodent population in experimental plots before and after the experiment from the rodent population index by live trap in year 2022 and 2023 as 71.43% and 60% respectively and bait consumption in year 2022 and 2023 as 75% and 83.33% respectively. While the farmer's practice, showed the increase of rodent population, in year 2022 and 2023 as 140%, 166.67% and 455%, 100% respectively and trends to provide the highest net income. The results obtained from this study could be applied in pest management in maize.

Keywords : maize, rodent control, Integrated Pest Control (IPC)

รหัสการทดลอง FF65-12-02-65-01-03-65

บทคัดย่อ

การศึกษาประสิทธิภาพการใช้สารฆ่าหนูร่วมกับการใช้เหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู *Sarcocystis singaporensis* ในการป้องกันกำจัดหนูในไร่ข้าวโพด ดำเนินการทดลองระหว่าง เดือนตุลาคม 2564 ถึง เดือนกันยายน 2566 ณ แปลงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ของเกษตรกร อำเภอเดชอุดม จังหวัดอุบลราชธานี (ปีที่ 1) และอำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ (ปีที่ 2) ดำเนินการทดลองเปรียบเทียบสารกำจัดหนู 4 กรรมวิธี ได้แก่ การใช้เหยื่อพิษ flucoumafen 0.005% การใช้เหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู *S. singaporensis* และการใช้เหยื่อพิษ flucoumafen 0.005% ร่วมกับเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู *S. singaporensis* เปรียบเทียบกับกรรมวิธีของเกษตรกร ผลการทดลองพบว่า การใช้เหยื่อพิษ flucoumafen 0.005% ร่วมกับเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู *S. singaporensis* มีประสิทธิภาพลดจำนวนประชากรหนูได้ดีที่สุด โดยมีค่าการลดลงของหนูในแปลงทดลองเปรียบเทียบก่อนและหลังการทดลองจากค่าดัชนีประชากรหนูด้วยการใช้กรงดักชนิดจับเป็น ในปี 2565 และ 2566 เท่ากับร้อยละ 71.43 และ 60ตามลำดับ และจากการกินเหยื่อล่อ ในปี 2565 และ 2566 เท่ากับร้อยละ และ 75 และ 83.33 ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีของเกษตรกร พบว่ามีจำนวนประชากรหนูเพิ่มขึ้น จากการเปรียบเทียบค่าการลดลงของหนูก่อนและหลังการทดลองจากค่าดัชนีประชากรหนูด้วยการใช้กรงดักชนิดจับเป็นและการกินเหยื่อล่อ ในปี 2565 และ 2566 เท่ากับร้อยละ 140 และ 166.67 และ 455 และ 100 ตามลำดับ และการใช้เหยื่อพิษ flucoumafen 0.005% ร่วมกับเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู *S. singaporensis* มีแนวโน้มให้ผลกำไรสุทธิสูงที่สุด ผลที่ได้จากการทดลองนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการบริหารศัตรูพืชแบบผสมผสานในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ต่อไป

คำหลัก : ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์, การป้องกันกำจัดหนู, การจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน

คำนำ

ข้าวโพดเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย โดยผลผลิตร้อยละ 95 ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ ซึ่งในปัจจุบันผลผลิตข้าวโพดไร่ยังไม่สามารถผลิตให้เพียงพอต่อความต้องการของตลาดการผลิตอาหารสัตว์ และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกปีเนื่องจากความต้องการด้านอาหารสัตว์มีเพิ่มมากขึ้นตามจำนวนผู้บริโภคเนื้อสัตว์ (เอ็จ และคณะ, 2561)

หนูเป็นสัตว์ศัตรูพืชที่สำคัญและสร้างความเสียหายให้แก่ข้าวโพด ตั้งแต่ระยะหยอดเมล็ดจนถึงระยะเก็บเกี่ยว หนูศัตรูข้าวโพดที่พบได้แก่ หนูท้องขาวบ้าน (*Rattus rattus*) หนูนาใหญ่ (*Rattus argentiventer*) หนูพุกใหญ่ (*Bandicota indica*) หนูพุกเล็ก (*Bandicota savilei*) หนูหริ่งนาหางสั้น (*Mus cervicolor*) และหนูหริ่งนาหางยาว (*Mus caroli*) โดยที่หนูจะเข้ากัดแทะทำลายข้าวโพด 2 ระยะ คือ ระยะแรกจะเกิดขึ้นภายหลังจากการหว่านเมล็ดข้าวโพดแล้วเพียงเล็กน้อย ถ้ามีการระบาดของหนูและ

เมล็ดข้าวโพดถูกทำลายมาก ก็จะต้องปลูกข้าวโพดใหม่อีกครั้ง ส่วนในระยะที่สอง ความเสียหายเกิดขึ้นในระยะข้าวโพดออกฝัก หนูที่มีขนาดใหญ่จะเข้ากัดลำต้นข้าวโพดให้หักล้ม เพื่อที่จะกินฝักข้าวโพด แต่ในหนูที่มีขนาดเล็กมักปีนป่ายขึ้นไปกินที่ฝักข้าวโพดโดยตรง ซึ่งนอกจากการทำลายผลิตผลทางการเกษตรแล้ว หนูยังเป็นแหล่งรังโรคที่สำคัญที่ถ่ายทอดสู่มนุษย์และสัตว์เลี้ยงอีกด้วย เช่น กาฬโรค, โรคไข้ฉี่หนู รวมไปถึงโรคที่เกี่ยวกับระบบทางเดินอาหารต่างๆ ที่มีหนูเป็นพาหะนำโรค เป็นต้น (กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร, 2544)

การป้องกันกำจัดหนูสามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ การใช้วิธีกล การใช้สารเคมี และการใช้สารชีวินทรีย์กำจัดหนู ซึ่งก็คือเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู *Sarcocystis singaporensis* ของ กรมวิชาการเกษตร ซึ่งผลิตขึ้นมาจากปรสิตโปรโตซัว *S. singaporensis* ซึ่งมีวงจรชีวิตอยู่ในงูเหลือม (*Python reticulatus*) และในหนู 2 สกุล ได้แก่ สกุลหนูพุก (*Bandicota*) และสกุลหนูท้องขาว (*Rattus*) เท่านั้น โดยที่ปรสิตโปรโตซัว *S. singaporensis* ระยะสปอร์โรซีสต์ เป็นสารชีวินทรีย์กำจัดหนู (bio-rodenticide) ที่มีประสิทธิภาพสูงในการทำให้หนูสกุลท้องขาว และสกุลหนูพุกป่วยและตายทั้งหมด (100%) ในระดับห้องปฏิบัติการ และ 71% - 92% ในแปลงทดลองในฟาร์มไก่ นาข้าว และสวนปาล์มน้ำมัน และไม่มีผลกระทบที่เป็นอันตรายต่อสัตว์อื่น ๆ ในสภาพแวดล้อม (ยุวลักษณ์ และคณะ, 2539ก; ยุวลักษณ์ และคณะ, 2539ข; ยุวลักษณ์ และคณะ, 2540; ยุวลักษณ์ และคณะ, 2541; Jaekel *et al*., 1999; Jaekel *et al*., 2005)

การใช้สารเคมีกำจัดหนู (rodenticide) เป็นวิธีที่เห็นผลเร็ว ในปัจจุบันมีการใช้สารเคมีกำจัดหนู 2 ประเภท คือประเภทออกฤทธิ์เร็ว (acute rodenticide) เช่น ซิงค์ฟอสไฟด์ (zinc phosphide, Zn_3P_2) 0.8-1% และประเภทออกฤทธิ์ช้า (chronic rodenticide) เช่น โฟลคูมาเฟน (flocoumafen), โบรมาดิโอโลน (bromadiolone) และโบรไดฟาคูม (brodifacoum) เป็นต้น ซึ่งทั้ง 2 ประเภท สามารถลดจำนวนหนูลงได้อย่างรวดเร็ว แต่การใช้สารกำจัดหนูออกฤทธิ์เร็วบ่อยครั้ง จะทำให้หนูเข็ดขยาดต่อสารพิษ นอกจากนี้การใช้สารเคมีกำจัดหนูอย่างไม่ระมัดระวังและเกินพอดีอาจทำให้เกิดอันตรายต่อคน สัตว์ และสิ่งแวดล้อม ซึ่งส่งผลให้ระบบลูกโซ่อาหารในธรรมชาติเสียสมดุลในที่สุด ด้วยเหตุนี้เองในการศึกษาครั้งนี้จึงดำเนินการศึกษาประสิทธิภาพการใช้สารฆ่าหนูร่วมกับการใช้เหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู *S. singaporensis* เพื่อทำให้ได้แนวทาง คำแนะนำในการใช้สารเคมีร่วมกับสารชีวภัณฑ์ในการป้องกันกำจัดหนูศัตรูข้าวโพด เพื่อทำให้การป้องกันกำจัดหนูศัตรูข้าวโพดนั้นมีประสิทธิภาพ ผลผลิตข้าวโพดที่ได้มีคุณภาพและปลอดภัย อันจะนำไปสู่การเกษตรที่ยั่งยืนต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แปลงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

2. เหยื่อพิษโฟลคูมาเฟน (flucoumafen 0.005%)
3. เหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู *S. singaporensis* (bio-rodenticide bait)
4. ข้าวโพดหวาน
5. ไม้ไผ่
6. อุปกรณ์สำหรับการบันทึกข้อมูล เช่น ปากกา ดินสอ เป็นต้น

วิธีการ

เปรียบเทียบการควบคุมหนูศัตรูข้าวโพด ประกอบด้วย 4 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 (แปลงทดลอง 1) ใช้เหยื่อพิษโฟลคูมาเฟน (flucoumafen 0.005%) ชนิดก้อนขี้ผึ้ง ในการป้องกันกำจัดหนูในไร่ข้าวโพด

วางเหยื่อพิษในระยะเตรียมแปลงก่อนการทดลองและทุกครั้งที่พบค่าดัชนีประชากรหนูและดัชนีความเสียหายของข้าวโพดสูงกว่าเกณฑ์ที่กำหนด ทำการวางเหยื่อพิษจุดละ 20 ก้อน ในภาชนะใส่เหยื่อ (bait station) ให้ครอบคลุมทั่วแปลง แต่ละจุดวางห่างกัน 10-20 เมตร ตรวจนับเหยื่อพิษและประเมินความเสียหายของข้าวโพดที่เกิดจากหนูพร้อมกับประเมินความหนาแน่นของหนู จำนวน 5 ครั้ง ตั้งแต่เริ่มหยอดเมล็ดจนถึงระยะเก็บเกี่ยวผลผลิต หากเหยื่อพิษในภาชนะใส่เหยื่อถูกหนูกินไปเป็นจำนวนเท่าใดให้เติมเหยื่อพิษเท่าจำนวนเดิมที่วางครั้งแรก จนเสร็จสิ้นการทดลอง

กรรมวิธีที่ 2 (แปลงทดลอง 2) ใช้เหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู *S. singaporensis* ในการป้องกันกำจัดหนูในไร่ข้าวโพด

วางเหยื่อโปรโตซัวในระยะเตรียมแปลงก่อนการทดลองและทุกครั้งที่พบค่าดัชนีประชากรหนูและดัชนีความเสียหายของข้าวโพดสูงกว่าเกณฑ์ที่กำหนด ทำการวางเหยื่อโปรโตซัวจุดละ 3 ก้อน ในภาชนะใส่เหยื่อให้ครอบคลุมทั่วแปลง แต่ละจุดวางห่างกัน 10-20 เมตร ตรวจนับเหยื่อโปรโตซัวและประเมินความเสียหายของข้าวโพดที่เกิดจากหนูพร้อมกับประเมินความหนาแน่นของหนู จำนวน 5 ครั้ง ตั้งแต่เริ่มหยอดเมล็ดจนถึงระยะเก็บเกี่ยวผลผลิต และเปลี่ยนเหยื่อโปรโตซัวใหม่ทุกครั้งจนเสร็จสิ้นการทดลอง

กรรมวิธีที่ 3 (แปลงทดลอง 3) ใช้เหยื่อพิษโฟลคูมาเฟน (flucoumafen 0.005%) ชนิดก้อนขี้ผึ้งร่วมกับเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู *S. singaporensis* ในการป้องกันกำจัดหนูในไร่ข้าวโพด

วางเหยื่อพิษและเหยื่อโปรโตซัว ในระยะเตรียมแปลงก่อนการทดลองและทุกครั้งที่พบค่าดัชนีประชากรหนูและดัชนีความเสียหายของข้าวโพดสูงกว่าเกณฑ์ที่กำหนด ทำการวางเหยื่อพืษและเหยื่อโปรโตซัวจุดละ 20 ก้อน และ 3 ก้อน ในภาชนะใส่เหยื่อให้ครอบคลุมทั่วแปลง แต่ละจุดวางห่างกัน 10-20 เมตร ตรวจนับจำนวนเหยื่อพิษและเหยื่อโปรโตซัว พร้อมกับประเมินความเสียหายของข้าวโพดที่เกิดจากหนูพร้อมกับประเมินความหนาแน่นของหนู จำนวน 5 ครั้ง ตั้งแต่เริ่มหยอดเมล็ดจนถึงระยะเก็บเกี่ยว

ผลผลิต หากเหยื่อพิษในภาชนะใส่เหยื่อถูกหนูกินไปเป็นจำนวนเท่าใดให้เติมเหยื่อพิษเท่าจำนวนเดิมที่วางครั้งแรก ส่วนเหยื่อ โปรโตซัวให้เปลี่ยนใหม่ทุกครั้งจนเสร็จสิ้นการทดลอง

<u>กรรมวิธีที่ 4 (แปลงทดลอง 4)</u> กรรมวิธีเกษตรกรไม่มีการใช้สารกำจัดหนู มีเพียงการกำจัดวัชพืชในแปลงเท่านั้น

เก็บข้อมูลด้วยการสัมภาษณ์เกษตรกรเจ้าของแปลงข้าวโพด เกี่ยวกับความเสียหาย การจัดการแปลง การป้องกันกำจัด ต้นทุนที่ใช้ และทำการประเมินจำนวนประชากรหนูศัตรูข้าวโพดและประเมินความเสียหายของข้าวโพดที่เกิดจากหนู จำนวน 5 ครั้ง ตั้งแต่เริ่มหยอดเมล็ดจนถึงระยะเก็บเกี่ยวผลผลิต

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

1. การเตรียมแปลง

สำรวจแปลงปลูกข้าวโพดในจังหวัดอุบลราชธานีและจังหวัดเพชรบูรณ์ เลือกแปลงที่พบมีการระบาดของหนูศัตรูข้าวโพด โดยอาศัยการสำรวจจากร่องรอยต่างๆของหนู ได้แก่ รูหนู มูลหนู รอยตีนหนู ทางเดินหนู และข้าวโพดที่ถูกหนูกัดทำลายเพื่อเป็นแปลงทดลอง จำนวน 2 แหล่ง (location) โดยแต่ละแหล่งแบ่งแปลงทดลองเป็น 4 แปลง แปลงละ 2 ไร่

2. การเก็บข้อมูลเกษตรกร

สัมภาษณ์เกษตรกรเจ้าของแปลง เกี่ยวกับสภาพโดยทั่วไปในการปลูกข้าวโพด ปัญหาหนูศัตรูข้าวโพดที่พบในแปลง ประวัติการใช้สารป้องกันกำจัดหนูในเบื้องต้น

3. สำรวจความหนาแน่นประชากร และความเสียหายที่เกิดจากหนูศัตรูข้าวโพด

สำรวจหาความหนาแน่นของประชากรหนู และความเสียหายที่เกิดจากหนูศัตรูข้าวโพดในแปลงทดลอง จำนวน 5 ครั้ง ตั้งแต่เริ่มหยอดเมล็ดจนถึงระยะเก็บเกี่ยวผลผลิต โดยใช้ดัชนีประเมินประชากรหนู (population index) 2 วิธี ได้แก่ การใช้กรงดักชนิดจับเป็น (live trap) และ การกินเหยื่อล่อ (bait consumption)

3.1 วิธีการใช้กรงดักชนิดจับเป็น โดยการวางกรงดักหนูในแปลงทดลอง จำนวน 25 กรง/แปลง วางกระจายให้ทั่ว คลอบคลุมพื้นที่ในแปลง เป็นเวลา 2 คืน ติดต่อกันแล้วประเมินดัชนีประชากรหนูจากจำนวนหนูที่ดักได้ของแต่ละครั้งของการสำรวจ คำนวณตามสูตร (กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร, 2544)

$$\% T = t \times 100 / Nt \times d$$

โดยที่ T = trap success t = ผลรวมจำนวนหนูที่ดักได้ทั้งหมด

Nt = จำนวนกรงดักหนูที่ใช้แต่ละคืน d = จำนวนวันที่ดักหนู

3.2 วิธีการกินเหยื่อล่อ โดยใช้ข้าวโพดหวานหั่นเป็นชิ้นๆ แต่ละชิ้นเสียบกับไม้ไผ่ที่เหลาปลายแหลม นำชิ้นข้าวโพดที่เสียบกับไม้ไผ่เหลาแหลมดังกล่าว ไปปักในแปลงทดลอง จำนวน 100 จุด/แปลง

โดยแต่ละแปลงจะปักเป็น 4 แถว แถวละ 25 จุด แต่ละจุดปักห่างกัน 20 เมตร เป็นเวลา 2 คืน ติดต่อกัน ประเมินดัชนีประชากรหนูจากร้อยละของเหยื่อที่ถูกหนูกิน (เสริมศักดิ์ และคณะ, 2532) คำนวณตามสูตร (กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร, 2544)

$$\% P = B \times 100 / Bt \times d$$

โดยที่ P = ดัชนีประชากรหนู B = ผลรวมข้าวโพดที่ถูกกินทั้งหมด

Bt = จำนวนข้าวโพดที่ใช้แต่ละคืน d = จำนวนวันที่วาง

3.3 การประเมินความเสียหายของข้าวโพดจากหนู ในแปลงทดลองโดยสุ่มนับรอยกัดทำลายใหม่ จำนวน 10 แถว แถวละ 30 ต้น นับให้ครบคลุมทั่วทั้งแปลง คำนวณความเสียหายตามสูตร (กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร, 2544)

$$D (\%) = [\text{จำนวนผลผลิตที่ถูกหนูทำลาย/จำนวนผลผลิตทั้งหมด}] \times 100$$

โดยที่ D = ความเสียหายของผลผลิต

4. การดำเนินการทดลองการป้องกันกำจัดหนูศัตรูข้าวโพด

ทำการหาดัชนีประเมินประชากรของหนู และประเมินความเสียหายของข้าวโพดที่เกิดจากหนูในแปลงทดลอง จำนวน 5 ครั้ง ตั้งแต่เริ่มหยอดเมล็ดจนถึงระยะเก็บเกี่ยวผลผลิต โดยในระหว่างการทดลองหากพบค่าดัชนีประเมินประชากรหนูมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 10 หรือพบร่องรอยการทำลายใหม่เกินร้อยละ 5 ต้องดำเนินการป้องกันกำจัดหนู (กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร, 2544; Buckle and Smith, 1993) ตามกรรมวิธีทดลอง

5. วิเคราะห์และสรุปผลที่ได้จากการทดลอง เปรียบเทียบระหว่าง 4 กรรมวิธีทดลอง จากดัชนีประเมินประชากรของหนูและความเสียหายที่เกิดจากหนูศัตรูข้าวโพด

สูตรคำนวณร้อยละการลดลงของประชากรหนูจากการหาดัชนีประชากรหนูโดยใช้กรงดักชนิดจับเป็น (กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร, 2544)

$$P (\%) = [(A-B)/A] \times 100$$

โดยที่ P = การลดลงของประชากรหนู

A = จำนวนหนูที่ดักได้ก่อนทำการป้องกันและกำจัด

B = จำนวนหนูที่ดักได้หลังทำการป้องกันและกำจัด

สูตรคำนวณร้อยละการลดลงของประชากรหนูจากการหาดัชนีประชากรหนูโดยใช้เหยื่อล่อ (กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร, 2544)

$$P^* (\%) = [(B_1-B_2)/B_1] \times 100$$

โดยที่ P* = การลดลงของประชากรหนู

B_1 = จำนวนเหยื่อที่ถูกหนูกินก่อนทำการป้องกันและกำจัด

B_2 = จำนวนเหยื่อที่ถูกหนูกินหลังทำการป้องกันและกำจัด

เวลาและสถานที่

เวลา ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม 2564 – กันยายน 2566

สถานที่ ณ แปลงข้าวโพดใน อำเภอเดชอุดม จังหวัดอุบลราชธานี และ อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การทดลองปี 2565 (ปีที่ 1) ณ แปลงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ อำเภอเดชอุดม จังหวัดอุบลราชธานี

1.1 ชนิดของหนู

จากการสำรวจชนิดหนูศัตรูข้าวโพดในแปลงทดลอง ทั้ง 4 กรรมวิธี ก่อนดำเนินการทดลองวางสารกำจัดหนูตามกรรมวิธีทดลอง โดยการใช้กรงดักชนิดจับเป็น พบหนู 3 ชนิด ได้แก่ หนูพุกใหญ่ (*B. indica*) หนูท้องขาวบ้าน (*R. rattus*) และหนูหริ่งนาหางสั้น (*M. cervicolor*) โดยพบหนูท้องขาวบ้านเป็นชนิดเด่นคิดเป็นร้อยละ 59.1 รองลงมาคือหนูหริ่งนาหางสั้นและหนูพุกใหญ่ ร้อยละ 36.4 และ 4.5 ตามลำดับ เมื่อนับรวมทั้ง 4 กรรมวิธี

1.2 ค่าดัชนีประชากรหนูและความเสียหายที่เกิดจากหนูศัตรูข้าวโพด (table 1)

สำรวจหาดัชนีประชากรหนูศัตรูข้าวโพด และความเสียหายที่เกิดจากหนูศัตรูข้าวโพดในแปลงทดลอง จำนวน 5 ครั้ง ได้แก่ ครั้งที่ 1 ระยะเตรียมดินถึงเริ่มหยอดเมล็ด ครั้งที่ 2-5 เมื่อข้าวโพดอายุ 45, 70, 90 และ 110 วัน ตามลำดับ โดยใช้ดัชนีประเมินประชากรหนูศัตรูข้าวโพด 2 วิธี ได้แก่ การใช้กรงดักชนิดจับเป็น และวิธีการใช้เหยื่อล่อ

1.2.1 ค่าดัชนีประชากรหนู จากการใช้กรงดักชนิดจับเป็น (table 1 and figure 1)

ในระยะเตรียมดินถึงเริ่มหยอดเมล็ด (วางสารกำจัดหนูครั้งที่ 1 ตามกรรมวิธีทดลอง) กรรมวิธีที่ 1 และ 4 พบจำนวนประชากรหนูร้อยละ 10 (หนูท้องขาวบ้านร้อยละ 6 และ หนูหริ่งนาหางสั้นร้อยละ 4) เท่ากันทั้งสองแปลง ส่วนกรรมวิธีที่ 2 พบจำนวนประชากรหนูร้อยละ 10 (หนูท้องขาวบ้านร้อยละ 6, หนูหริ่งนาหางสั้นร้อยละ 2 และ หนูพุกใหญ่ร้อยละ 2) ขณะที่กรรมวิธีที่ 3 พบประชากรหนูมากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 14 (หนูท้องขาวบ้านเป็นชนิดเด่น ร้อยละ 8 และ หนูหริ่งนาหางสั้นร้อยละ 6)

ระยะข้าวโพดอายุ 45 วัน ในกรรมวิธีที่ 2 และ 4 พบประชากรหนูร้อยละ 8 (หนูหริ่งนาหางสั้น ร้อยละ 6 และหนูท้องขาวบ้านร้อยละ 2) และร้อยละ 6 (หนูหริ่งนาหางสั้นทั้งหมด) ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีที่ 1 และ 3 ไม่พบหนูติดกรงดัก

ระยะข้าวโพดอายุ 70 วัน (วางสารกำจัดหนูครั้งที่ 2 ตามกรรมวิธีทดลอง) ในกรรมวิธีที่ 1 ถึง 4 พบจำนวนประชากรหนูร้อยละ 8, 10, 6 และ 8 ตามลำดับ เป็นหนูหริ่งนาหางสั้นทั้งหมด

ระยะข้าวโพดอายุ 90 วัน (วางสารกำจัดหนูครั้งที่ 3 ตามกรรมวิธีทดลอง) ในกรรมวิธีที่ 1 และ 4 พบจำนวนประชากรหนูร้อยละ 20 และ 24 ตามลำดับ พบเป็นหนูหริ่งนาหางสั้นทั้งหมดในทั้งสองกรรมวิธี ส่วนกรรมวิธีที่ 2 พบจำนวนประชากรสัตว์ฟันแทะร้อยละ 10 (หนูหริ่งนาหางสั้นร้อยละ 8 และกระรอกดินข้างลาย, *Menetes berdmorei* ร้อยละ 2) ขณะที่กรรมวิธีที่ 3 พบประชากรสัตว์ฟันแทะร้อยละ 30 (หนูหริ่งนาหางสั้นร้อยละ 28 และกระรอกดินข้างลายร้อยละ 2)

ระยะข้าวโพดอายุ 110 วัน ในกรรมวิธีที่ 1 ถึง 4 พบจำนวนประชากรหนูร้อยละ 6, 8, 4 และ 24 ตามลำดับ เป็นหนูหริ่งนาหางสั้นทั้งหมด และเมื่อเปรียบเทียบจำนวนประชากรหนูก่อนและหลังการวางสารกำจัดหนูตามกรรมวิธีทดลองพบว่า จำนวนประชากรหนูลดลงในกรรมวิธีที่ 1 ถึง 3 โดยมีค่าลดลงเท่ากับร้อยละ 40, 20 และ 71.43 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ 4 ซึ่งเป็นแปลงเกษตรกร มีค่าการลดลงของประชากรหนูเท่ากับร้อยละ -140 (จำนวนลบหมายถึงการเพิ่มขึ้นของประชากร)

1.2.2 ค่าดัชนีประชากรหนู จากการกินเหยื่อล่อ (table 1 and figure 2)

ในระยะเตรียมดินถึงเริ่มหยอดเมล็ด (วางสารกำจัดหนูครั้งที่ 1 ตามกรรมวิธีทดลอง) กรรมวิธีที่ 1 ถึง 4 พบร้อยละการกินเหยื่อล่อของหนูเท่ากับ 7, 8, 8 และ 9 ตามลำดับ

ระยะข้าวโพดอายุ 45 วัน กรรมวิธีที่ 1 ถึง 4 พบร้อยละการกินเหยื่อล่อของหนูเท่ากับ 0, 2, 2 และ 2 ตามลำดับ ซึ่งทั้ง 4 กรรมวิธีมีค่าการกินเหยื่อล่อลดลงจากระยะเตรียมดิน สอดคล้องกับค่าดัชนีจำนวนประชากรจากการใช้กรงดัก

ระยะข้าวโพดอายุ 70 วัน (วางสารกำจัดหนูครั้งที่ 2 ตามกรรมวิธีทดลอง) กรรมวิธีที่ 1 ถึง 4 พบร้อยละการกินเหยื่อล่อของหนูเท่ากับ 6, 6, 3 และ 14 ตามลำดับ ซึ่งทั้ง 4 กรรมวิธีมีค่าการกินเหยื่อล่อเพิ่มขึ้นจากระยะข้าวโพดอายุ 45 วัน สอดคล้องกับค่าดัชนีจำนวนประชากรจากการใช้กรงดัก

ระยะข้าวโพดอายุ 90 วัน (วางสารกำจัดหนูครั้งที่ 3 ตามกรรมวิธีทดลอง) ในกรรมวิธีที่ 1 ถึง 4 พบร้อยละการกินเหยื่อล่อของหนูเท่ากับ 18, 11, 44 และ 60 ตามลำดับ ซึ่งทั้ง 4 กรรมวิธีมีแนวโน้มการกินเหยื่อล่อเพิ่มขึ้นจากระยะข้าวโพดอายุ 70 วัน สอดคล้องกับค่าดัชนีจำนวนประชากรจากการใช้กรงดัก

ระยะข้าวโพดอายุ 110 วัน ในกรรมวิธีที่ 1 ถึง 4 พบร้อยละการกินเหยื่อล่อของหนูเท่ากับ 4, 7, 2 และ 50 ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบจำนวนประชากรหนูก่อนและหลังการวางสารกำจัดหนูตามกรรมวิธีทดลองพบว่า ค่าการกินเหยื่อล่อของประชากรหนูลดลง ในกรรมวิธีที่ 1 ถึง 3 โดยมีค่าลดลงเท่ากับร้อยละ 42.86, 12.50 และ 75 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ 4 ซึ่งเป็นแปลงเกษตรกร มีค่าการกินเหยื่อล่อเท่ากับร้อยละ -455 แสดงให้เห็นถึงการเพิ่มขึ้นของประชากรหนูในแปลง สอดคล้องกับค่าดัชนีจำนวนประชากรจากการใช้กรงดัก

1.2.3 ความเสียหายของข้าวโพดที่เกิดจากการทำลายของหนู (table 1 and figure 5)

ในระยะเตรียมดินถึงเริ่มหยอดเมล็ด (วางสารกำจัดหนูครั้งที่ 1 ตามกรรมวิธีทดลอง) กรรมวิธีที่ 1 ถึง 4 ไม่พบการขุดเมล็ดข้าวโพดที่เกษตรกรผู้ปลูกได้หยอดไว้ในแปลงทดลอง

ระยะข้าวโพดอายุ 45 วัน กรรมวิธีที่ 2 และ 4 พบร้อยละการกัดทำลายข้าวโพดเท่ากับ ร้อยละ 1.67 เท่ากัน ขณะที่กรรมวิธีที่ 1 และ 3 ไม่พบการกัดทำลายข้าวโพด

ระยะข้าวโพดอายุ 70 วัน (วางสารกำจัดหนูครั้งที่ 2 ตามกรรมวิธีทดลอง) กรรมวิธีที่ 1 ถึง 4 พบร้อยละการกัดทำลายข้าวโพดเท่ากับ ร้อยละ 0.83, 3.33, 1.67 และ 3.33 ตามลำดับ ซึ่งพบว่ามีการกัดทำลายเพิ่มขึ้นจากระยะข้าวโพดอายุ 45 วัน แสดงให้เห็นว่าประชากรหนูมีจำนวนเพิ่มขึ้นสอดคล้องกับค่าดัชนีประชากรหนูทั้ง 2 วิธี

ระยะข้าวโพดอายุ 90 วัน (วางสารกำจัดหนูครั้งที่ 3 ตามกรรมวิธีทดลอง) ในกรรมวิธีที่ 2 และ 4 พบร้อยละการกัดทำลายข้าวโพดเท่ากับ 3.33 และ 5 ตามลำดับ ขณะที่กรรมวิธีที่ 1 และ 3 ไม่พบการกัดทำลายข้าวโพด

ระยะข้าวโพดอายุ 110 วัน ในกรรมวิธีที่ 2 และ 4 พบร้อยละการกัดทำลายข้าวโพดเท่ากับ 1.67 และ 4.17 ตามลำดับ ขณะที่กรรมวิธีที่ 1 และ 3 ไม่พบการกัดทำลายข้าวโพด และเมื่อเปรียบเทียบจำนวนประชากรหนูที่ระยะข้าวโพดอายุ 45 วัน (ระยะที่เริ่มพบความเสียหายจากหนูครั้งแรก) กับหลังการวางสารกำจัดหนูตามกรรมวิธีทดลองที่ข้าวโพดอายุ 110 วัน พบว่าการกัดทำลายข้าวโพดในกรรมวิธีที่ 2 มีค่าคงเดิมเท่ากับร้อยละ 1.67 ซึ่งรอยกัดที่พบบนฝักข้าวโพดนั้นมีขนาดใหญ่ อีกทั้งมีการพบกระรอกดินข้างลายในแปลงทดลอง ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ว่าเป็นรอยกัดที่เกิดจากกระรอกดินข้างลาย ขณะที่กรรมวิธีที่ 4 ซึ่งเป็นแปลงเกษตรกรมีค่าเพิ่มขึ้นร้อยละ 2.5

1.3 การวางสารกำจัดหนูตามกรรมวิธี (table 1)

ระยะเตรียมดินถึงเริ่มหยอดเมล็ด ดำเนินการวางสารกำจัดหนูครั้งที่ 1 ตามกรรมวิธีทดลอง เพื่อเป็นการกำจัดกลุ่มประชากรหนูเดิมที่มีอยู่ในแปลงให้ลดลง เมื่อนับปริมาณการกินสารกำจัดหนูในกรรมวิธีที่ 1-3 เท่ากับร้อยละ 34.25, 90 และ 28.75/55 (flocoumafen 0.005%/ bio-rodenticide) ตามลำดับ พบว่าหลังจากวางสารกำจัดหนูตามกรรมวิธีในครั้งที่ 1 แล้วจำนวนประชากรหนูในกรรมวิธีที่ 1-3 ที่ระยะข้าวโพดอายุ 45 วัน ลดลงจากค่าดัชนีประชากรหนูทั้งสองชนิด

ระยะข้าวโพดอายุ 70 วัน ดำเนินการวางสารกำจัดหนูครั้งที่ 2 ตามกรรมวิธีทดลอง หลังจากพบจำนวนประชากรหนูในแปลงทดลอง 2 เท่ากับร้อยละ 10 จากการใช้กรงดักและพบว่าจำนวนประชากรหนูเพิ่มขึ้นในทุกกรรมวิธีจากค่าดัชนีประชากรหนูทั้งสองชนิด สอดคล้องกับปริมาณการกิน สารกำจัดหนูตามกรรมวิธีในกรรมวิธีที่ 1-3 ซึ่งเท่ากับร้อยละ 84, 100 และ 80.5/100 (flocoumafen 0.005%/ bio-rodenticide) ตามลำดับ

ระยะข้าวโพดอายุ 90 วัน ดำเนินการวางสารกำจัดหนูครั้งที่ 3 ตามกรรมวิธีทดลอง เนื่องจากพบจำนวนประชากรหนูตั้งแต่ร้อยละ 10 ขึ้นไปในกรรมวิธีที่ 1-3 จากการใช้ดัชนีประชากรทั้งสองชนิด เมื่อนับปริมาณการกินสารกำจัดหนูหลังจากวางสารกำจัดหนูครั้งที่ 3 ตามกรรมวิธี ในกรรมวิธีที่ 1-3 เท่ากับร้อยละ 60.5, 91.67 และ 54.75/88.33 (flocoumafen 0.005%/ bio-rodenticide) ตามลำดับ ซึ่งพบว่าหนูในแปลงมีปริมาณกินสารกำจัดหนูลดลง สอดคล้องกับจำนวนประชากรหนูที่ระยะข้าวโพดอายุ 110 วัน ลดลงด้วยเช่นกัน โดยพบว่ากรรมวิธีที่ 1-3 พบจำนวนประชากรหนูต่ำกว่าร้อยละ 10 ในทั้งสามกรรมวิธี เช่นเดียวกับความเสียหายของข้าวโพดที่เกิดจากการกัดแทะของหนูในแปลงทดลอง ที่ลดลงจนถึงไม่พบความเสียหาย มีเพียงกรรมวิธีที่ 2 ที่พบความเสียหายลดลงเหลือร้อยละ 1.67 จากเดิมที่ระยะข้าวโพดอายุ 90 วัน พบความเสียหายร้อยละ 3.33 ในขณะที่กรรมวิธีที่ 4 ซึ่งเกษตรกรไม่ได้ดำเนินการกำจัดหนูในแปลงมีเพียงการกำจัดวัชพืชในแปลงเท่านั้น พบว่ามีจำนวนประชากรหนูเพิ่มขึ้น และพบความเสียหายของผลผลิตที่เกิดจากการกัดแทะของหนูร้อยละ 5 ซึ่งมากกว่ากรรมวิธีที่ 1-3 ที่ดำเนินการวางสารกำจัดหนูตามกรรมวิธี

1.4 ผลผลิตและรายได้สุทธิจากการทดลอง (table 3)

เมื่อเปรียบเทียบจำนวนผลผลิตที่ได้จากทั้งสี่กรรมวิธีทดลอง และรายได้สุทธิหลังจากหักลบกับค่าใช้จ่ายในการป้องกันกำจัดหนูศัตรูพืชแล้ว พบว่าแปลงทดลอง 3 ให้ผลผลิตต่อไร่ และรายได้สุทธิสูงสุด เท่ากับ 2,140 กิโลกรัม/ไร่ และ 15,884 บาท/ไร่ ตามลำดับ รองลงมาคือ แปลงทดลอง 1, 2 และ 4 โดยให้ผลผลิตเท่ากับ 2,020; 1,800 และ 1,100 กิโลกรัม/ไร่ และมีรายได้สุทธิเท่ากับ 15,044; 13,830 และ 8,350 บาท/ไร่ ตามลำดับ

2. การทดลองปี 2566 (ปีที่ 2) ณ แปลงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์

2.1 ชนิดของหนู

จากการสำรวจชนิดหนูศัตรูข้าวโพดในแปลงทดลอง ทั้ง 4 กรรมวิธี ก่อนดำเนินการทดลองวางสารกำจัดหนูตามกรรมวิธีทดลอง โดยการใช้กรงดักชนิดจับเป็น พบหนู 4 ชนิด ได้แก่ หนูพุกเล็ก (*B. savilae*) หนูนาใหญ่ (*R. argentiventer*) หนูหริ่งนาหางยาว (*M. caroli*) และหนูหริ่งนาหางสั้น (*M. cervicolor*) โดยพบหนูหริ่งนาหางสั้นเป็นชนิดเด่นคิดเป็นร้อยละ 68.75 รองลงมาคือ หนูพุกเล็กและหนูหริ่งนาหางยาวพบร้อยละ 12.5 เท่ากัน และหนูนาใหญ่ ร้อยละ 6.25 ตามลำดับ เมื่อนับรวมทั้ง 4 กรรมวิธีทดลอง

2.2 ค่าดัชนีประชากรหนูและความเสียหายที่เกิดจากหนูศัตรูข้าวโพด (table 2)

สำรวจหาดัชนีประชากรหนูศัตรูข้าวโพด และความเสียหายที่เกิดจากหนูศัตรูข้าวโพดในแปลงทดลอง จำนวน 5 ครั้ง ได้แก่ ครั้งที่ 1 ระยะเตรียมดินถึงเริ่มหยอดเมล็ด ครั้งที่ 2-5 เมื่อข้าวโพด

อายุ 45, 70, 90 และ 110 วัน ตามลำดับ โดยใช้ดัชนีประเมินประชากรหนูศัตรูข้าวโพด 2 วิธี ได้แก่ การใช้กรงดักชนิดจับเป็น และวิธีการใช้เหยื่อล่อ

2.2.1 ค่าดัชนีประชากรหนู จากการใช้กรงดักชนิดจับเป็น (table 2 and figure 3)

ในระยะเตรียมดินถึงเริ่มหยอดเมล็ด (วางสารกำจัดหนูครั้งที่ 1 ตามกรรมวิธีทดลอง) กรรมวิธีที่ 1 และ 2 พบจำนวนประชากรหนูร้อยละ 8 เท่ากันทั้งสองกรรมวิธีและเป็นหนูหริ่งนาหางสั้นทั้งหมด ส่วนกรรมวิธีที่ 3 พบจำนวนประชากรหนูร้อยละ 10 (หนูพุกเล็กร้อยละ 4 และหนูหริ่งนาหางสั้นร้อยละ 6) ขณะที่กรรมวิธีที่ 4 พบจำนวนประชากรหนูร้อยละ 6 (หนูนาใหญ่ร้อยละ 2 และ หนูหริ่งนาหางยาวร้อยละ 4) ตามลำดับ

ระยะข้าวโพดอายุ 45 วัน พบประชากรหนูร้อยละ 2 เท่ากันในทั้ง 4 กรรมวิธีทดลอง โดยในกรรมวิธีที่ 1-3 พบหนูหริ่งนาหางสั้นทั้งหมด ในขณะที่กรรมวิธีที่ 4 พบหนูพุกใหญ่

ระยะข้าวโพดอายุ 70 วัน (วางสารกำจัดหนูครั้งที่ 2 ตามกรรมวิธีทดลอง) ในกรรมวิธีที่ 1-4 พบจำนวนประชากรหนูร้อยละ 16 (เป็นหนูหริ่งนาหางสั้นร้อยละ 10 และหนูพุกใหญ่ร้อยละ 6), ร้อยละ 8 (เป็นหนูหริ่งนาหางสั้นร้อยละ 4 เป็นหนูนาใหญ่และหนูพุกใหญ่ร้อยละ 2 เท่ากัน), ร้อยละ 12 (เป็นหนูหริ่งนาหางสั้นร้อยละ 8 และหนูพุกเล็กร้อยละ 4) และร้อยละ 10 (เป็นหนูหริ่งนาหางสั้นร้อยละ 4 และหนูพุกใหญ่ร้อยละ 6) ตามลำดับ

ระยะข้าวโพดอายุ 90 วัน (วางสารกำจัดหนูครั้งที่ 3 ตามกรรมวิธีทดลอง) ในกรรมวิธีที่ 1, 3 และ 4 พบจำนวนประชากรหนูร้อยละ 12, 6 และ 12 ตามลำดับ โดยพบเป็นหนูหริ่งนาหางสั้นทั้งหมด ส่วนกรรมวิธีที่ 2 พบจำนวนประชากรสัตว์ฟันแทะร้อยละ 22 (เป็นหนูหริ่งนาหางสั้น ร้อยละ 10 และ หนูหริ่งนาหางยาวร้อยละ 12)

ระยะข้าวโพดอายุ 110 วัน ในกรรมวิธีที่ 1 และ 2 พบจำนวนประชากรหนูร้อยละ 4 และ ร้อยละ 6 ซึ่งเป็นหนูหริ่งนาหางสั้นทั้งหมด ขณะที่กรรมวิธีที่ 3 และ 4 พบจำนวนประชากรหนู ร้อยละ 4 (เป็นหนูหริ่งนาหางสั้นและหนูพุกใหญ่ร้อยละ 2 เท่ากัน) และร้อยละ 16 (เป็นหนูหริ่งนาหางสั้นร้อยละ 12 และหนูหริ่งนาหางยาวร้อยละ 4) และเมื่อเปรียบเทียบจำนวนประชากรหนูก่อนและหลังการวางสารกำจัดหนูตามกรรมวิธีทดลองพบว่า จำนวนประชากรหนูในกรรมวิธีที่ 1 ถึง 3 มีค่าลดลงเท่ากับ ร้อยละ 50, 25 และ 60 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ 4 ซึ่งเป็นแปลงเกษตรกร มีค่าการลดลงของจำนวนประชากรหนูเท่ากับร้อยละ -166.67 (จำนวนลบหมายถึงการเพิ่มขึ้นของประชากร)

2.2.2 ค่าดัชนีประชากรหนู จากการกินเหยื่อล่อ (table 2 and figure 4)

ระยะเตรียมดินถึงเริ่มหยอดเมล็ด (วางสารกำจัดหนูครั้งที่ 1 ตามกรรมวิธีทดลอง) กรรมวิธีที่ 1 ถึง 4 พบการกินเหยื่อล่อของหนูเท่ากับร้อยละ 6 ในทุกกรรมวิธีทดลอง

ระยะข้าวโพดอายุ 45 วัน กรรมวิธีที่ 1 และ 3 พบร้อยละการกินเหยื่อล่อของหนูเท่ากับ 1 ขณะที่กรรมวิธีที่ 2 และ 4 พบร้อยละการกินเหยื่อล่อของหนูเท่ากับ 2 ซึ่งสอดคล้องกับค่าดัชนีจำนวนประชากรจากการใช้กรงดัก

ระยะข้าวโพดอายุ 70 วัน (วางสารกำจัดหนูครั้งที่ 2 ตามกรรมวิธีทดลอง) กรรมวิธีที่ 1 ถึง 4 พบว่ามีหนูเข้ามากินเหยื่อล่อในแปลงเพิ่มขึ้น โดยพบร้อยละการกินเหยื่อล่อของหนูเท่ากับ 14, 10, 10 และ 10 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับค่าดัชนีจำนวนประชากรจากการใช้กรงดัก

ระยะข้าวโพดอายุ 90 วัน (วางสารกำจัดหนูครั้งที่ 3 ตามกรรมวิธีทดลอง) พบร้อยละการกินเหยื่อล่อของหนูในกรรมวิธีที่ 1 ถึง 4 เท่ากับ 9, 11, 4 และ 10 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับค่าดัชนีจำนวนประชากรจากการใช้กรงดัก

ระยะข้าวโพดอายุ 110 วัน ในกรรมวิธีที่ 1-3 พบการกินเหยื่อล่อของหนูลดลง โดยพบร้อยละ การกินเหยื่อล่อเท่ากับ 2, 4 และ 1 ตามลำดับ ขณะที่กรรมวิธีที่ 4 พบร้อยละการกินเหยื่อล่อเท่ากับ ร้อยละ 12 และเมื่อเปรียบเทียบจำนวนประชากรหนูก่อนและหลังการวางสารกำจัดหนูตามกรรมวิธีทดลองพบว่า ค่าการกินเหยื่อล่อของประชากรหนูในกรรมวิธีที่ 1-3 ลดลงเท่ากับร้อยละ 66.67, 33.33 และ 83.33 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ 4 ซึ่งเป็นแปลงเกษตรกร มีค่าการกินเหยื่อล่อลดลงเท่ากับร้อยละ -100 แสดงให้เห็นถึงการเพิ่มขึ้นของประชากรหนูในแปลงสอดคล้องกับค่าดัชนีจำนวนประชากรจากการใช้กรงดัก

2.2.3 ความเสียหายของข้าวโพดที่เกิดจากการทำลายของหนู (table 2 and figure 6)

ในระยะเตรียมดินถึงเริ่มหยอดเมล็ด (วางสารกำจัดหนูครั้งที่ 1 ตามกรรมวิธีทดลอง) จนถึงระยะข้าวโพดอายุ 70 วัน (วางสารกำจัดหนูครั้งที่ 2 ตามกรรมวิธีทดลอง) ไม่พบการขุดทำลายเมล็ดข้าวโพดและการกัดทำลายต้นข้าวโพดของหนูในทุกกรรมวิธีทดลอง

ระยะข้าวโพดอายุ 90 วัน (วางสารกำจัดหนูครั้งที่ 3 ตามกรรมวิธีทดลอง) ในกรรมวิธีที่ 2-4 พบร้อยละการกัดทำลายข้าวโพดเท่ากับ 2, 2 และ 5 ตามลำดับ ขณะที่กรรมวิธีที่ 1 ไม่พบ การกัดทำลายข้าวโพด

ระยะข้าวโพดอายุ 110 วัน ในกรรมวิธีที่ 1-3 ไม่พบการกัดทำลายข้าวโพด และเมื่อเปรียบเทียบจำนวนประชากรหนูที่ระยะข้าวโพดอายุ 90 วัน ซึ่งเป็นระยะที่เริ่มพบความเสียหายจากหนูและวางสารกำจัดหนูตามกรรมวิธีทดลองเป็นครั้งที่ 3 พบการกัดทำลายข้าวโพดในกรรมวิธีที่ 1-3 นั้นลดลงจนไม่พบรอยกัดทำลายใหม่ มีเพียงกรรมวิธีที่ 4 ซึ่งเป็นแปลงเกษตรกร พบความเสียหายของผลผลิตที่เกิดจากการกัดแทะของหนูเท่ากับร้อยละ 5

2.3 การวางสารกำจัดหนูตามกรรมวิธี (table 2)

ระยะเตรียมดินถึงเริ่มหยอดเมล็ด ดำเนินการวางสารกำจัดหนูครั้งที่ 1 ตามกรรมวิธีทดลองเพื่อเป็นการกำจัดกลุ่มประชากรหนูเดิมที่มีอยู่ในแปลงให้ลดลง เมื่อนับปริมาณการกินสารกำจัดหนูตาม

กรรมวิธี พบว่าในกรรมวิธีที่ 1 และ 2 ไม่พบการกินสารกำจัดหนู ขณะที่กรรมวิธีที่ 3 พบการกินสารกำจัดหนูเท่ากับร้อยละ 0.5/5 (flocoumafen 0.005%/ bio-rodenticide)

ระยะข้าวโพดอายุ 70 วัน ดำเนินการวางสารกำจัดหนูครั้งที่ 2 ตามกรรมวิธีทดลอง หลังจากพบประชากรหนูเพิ่มขึ้นในทุกกรรมวิธีทดลอง จากค่าดัชนีประชากรหนูทั้งสองชนิด สอดคล้องกับปริมาณการกินสารกำจัดหนูตามกรรมวิธีที่เพิ่มขึ้นในกรรมวิธีที่ 1-3 เท่ากับร้อยละ 30.75, 98 และ 18.5/45 (flocoumafen 0.005%/ bio-rodenticide) ตามลำดับ

ระยะข้าวโพดอายุ 90 วัน ดำเนินการวางสารกำจัดหนูครั้งที่ 3 ตามกรรมวิธีทดลอง หลังจากวางสารกำจัดหนูครั้งที่ 2 แล้วนั้น โดยเฉพาะในกรรมวิธีที่ 2 พบจำนวนประชากรหนูมากกว่าร้อยละ 10 จากการใช้ดัชนีประชากรทั้งสองชนิด ซึ่งหนูในแปลงมีการกินสารกำจัดหนูครั้งที่ 2 ในปริมาณที่เพิ่มขึ้นจึงต้องดำเนินการวางสารกำจัดหนูครั้งที่ 3 ตามกรรมวิธีทดลอง เมื่อนับปริมาณการกินสารกำจัดหนูในกรรมวิธีที่ 1-3 เท่ากับร้อยละ 61.5, 100 และ 48.64/100 (flocoumafen 0.005%/ bio-rodenticide) ตามลำดับ

2.4 ผลผลิตและรายได้สุทธิจากการทดลอง (table 4)

เมื่อเปรียบเทียบจำนวนผลผลิตที่ได้จากทั้ง 4 กรรมวิธีทดลอง พบว่า กรรมวิธีที่ 1 ให้ผลผลิตต่อไร่สูงสุดเท่ากับ 1,935 กิโลกรัม/ไร่ รองลงมาคือกรรมวิธีที่ 2 ให้ผลผลิตเท่ากับ 1,400 กิโลกรัม/ไร่ ขณะที่กรรมวิธีที่ 3 และ 4 ให้ผลผลิตเท่ากันคือ 1,000 กิโลกรัม/ไร่ ขณะที่รายได้สุทธิหลังจากหักค่าใช้จ่ายในการป้องกันกำจัดหนูศัตรูพืชแล้ว พบว่า กรรมวิธีที่ 1 มีรายได้สุทธิสูงสุด เท่ากับ 15,912 บาท/ไร่ รองมาคือ กรรมวิธีที่ 2, 3 และ 4 มีรายได้สุทธิเท่ากับ 11,554; 6,764 และ 5,050 บาท/ไร่ ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาถึงต้นทุนค่าใช้จ่ายที่เพิ่มขึ้นจากการใช้สารกำจัดหนูตามกรรมวิธีทดลองในครั้งนี้ พบว่า กรรมวิธีที่ 3 มีต้นทุนสูงสุด รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 1, 2 และ 4 ตามลำดับ (table 3, 4) แม้ว่ากรรมวิธีที่ 4 (แปลงเกษตรกร) จะมีต้นทุนค่าใช้จ่ายการป้องกันกำจัดหนูต่ำที่สุด เนื่องจากไม่มีการใช้สารกำจัดหนูมีเพียงการกำจัดวัชพืชในแปลงเท่านั้น ซึ่งเป็นการทำให้หนูไม่มีที่หลบอาศัยในแปลง จึงจัดว่าเป็นการป้องกันหนูด้วยวิธีหนึ่ง จากการที่ไม่มีการกำจัดหนูในแปลงเกษตรกร ดังนั้นจำนวนประชากรหนูจึงไม่ลดลงแต่กลับเพิ่มมากขึ้นในทั้งสองปีที่ดำเนินการทดลอง ซึ่งจะทำให้ประชากรหนูจะมีปริมาณสะสมเพิ่มมากขึ้นในปีต่อๆไป ส่งผลให้ผลผลิตในปีต่อๆไปย่อมมีโอกาสถูกกัดทำลายจากหนูเพิ่มมากขึ้นในทุกๆปี

อย่างไรก็ดีเมื่อพิจารณาผลผลิต รายได้ และกำไรสุทธิที่ได้จากการทดลองในครั้งนี้ ในปีที่ 1 พบว่า กรรมวิธีที่ 3 ให้ผลผลิต รายได้ และกำไรสุทธิสูงสุด รองลงมาคือกรรมวิธีที่ 1, 2 และ 4 ตามลำดับ (table 3) ซึ่งสอดคล้องกับประสิทธิภาพในการกำจัดหนูศัตรูพืชในแปลง (table 1) ขณะที่ในปีที่ 2 นั้น พบว่า กรรมวิธีที่1 ให้ผลผลิต รายได้ และกำไรสุทธิสูงสุด รองลงมาคือกรรมวิธีที่ 2, 3 และ 4 ตามลำดับ (table 4) ซึ่งให้ผลต่างจากผลประสิทธิภาพในการกำจัดหนูศัตรูพืชในแปลง (table 2) เนื่องจากพบการ

เข้าทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด (Fall Armyworm; *Spodoptera frugiperda*) ในทุกกรรมวิธีที่ดำเนินการทดลอง แต่ในกรรมวิธีที่ 3 นั้นขาดการป้องกันกำจัดที่เหมาะสม จึงทำให้ผลผลิตข้าวโพดลดลง แม้ว่าจะสามารถลดจำนวนประชากรหนูในแปลงลงได้มากที่สุดก็ตาม

ซึ่งจากผลการทดลองประสิทธิภาพการใช้สารกำจัดหนูร่วมกับการใช้เหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู *S. singaporensis* ในการป้องกันกำจัดหนูในไร่ข้าวโพดครั้งนี้ในปีที่ 1 (พ.ศ. 2565) ณ อำเภอเดชอุดม จังหวัดอุบลราชธานี และในปีที่ 2 (พ.ศ. 2566) ณ อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ โดยการวางสารกำจัดหนูตามกรรมวิธี จำนวน 3 ครั้ง เริ่มวางครั้งแรกตั้งแต่ในระยะเตรียมดินถึงเริ่มหยอดเมล็ด และในระยะข้าวโพดอายุ 70 และ 90 วัน ตามลำดับ นั้นให้ผลการทดลองที่สอดคล้องกัน โดยพบว่าในกรรมวิธีที่ 3 การใช้เหยื่อพิษโฟลคูมาเฟน 0.005% ชนิดก้อนขี้ผึ้งร่วมกับเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู *S. singaporensis* สามารถลดจำนวนประชากรหนูให้ลดลงได้มากที่สุด รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 1 การใช้เหยื่อพิษโฟลคูมาเฟน 0.005% ชนิดก้อนขี้ผึ้ง และกรรมวิธีที่ 2 การใช้เหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู *S. singaporensis* ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ 4 (แปลงเกษตรกร) ซึ่งไม่ได้ดำเนินการกำจัดหนูศัตรูพืช มีเพียงการกำจัดวัชพืชในแปลงเท่านั้น พบว่ามีจำนวนประชากรหนูเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกันในทั้ง 2 ปี ที่ทำการทดลอง ซึ่งการที่กรรมวิธีที่ 3 สามารถลดจำนวนประชากรหนูลงได้มากที่สุดนั้น มีความเป็นไปได้ว่าการใช้เหยื่อพิษโฟลคูมาเฟน 0.005% ชนิดก้อนขี้ผึ้งและเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู *S. singaporensis* ร่วมกันส่งผลทำให้มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นเนื่องจากเสริมฤทธิ์กัน (synergist) เนื่องจากเมื่อหนูสกุลพุกและสกุลท้องขาวในแปลงทดลองได้กินเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนูลงไปในปริมาณน้อยไม่ถึงระดับที่ทำให้ตายได้ (sub lethal dose) จึงไม่ทำให้หนูตาย แต่ส่งผลกระทบต่อเซลล์บุผิว (epithelial cell) เมื่อหนูได้รับเชื้อโปรโตซัวจากการกินเหยื่อโปรโตซัวลงไป เชื้อในก้อนเหยื่อจะถูกน้ำย่อยในระบบทางเดินอาหารย่อยสลายผนัง sporocysts ปลดปล่อย sporozoites จำนวนมากออกมาและเคลื่อนเข้าสู่เซลล์บุผนังหลอดเลือด (endothelial cells) ในหลอดเลือดแดง (small arteries) เกิดการพัฒนาแบบไม่อาศัยเพศ (asexual generation) เรียกว่า shizogony หรือ merogony และมีการสร้าง merozoites ออกมาเป็นจำนวนมากในการพัฒนาครั้งที่ 1 (first generation meronts) เชื้อจะเคลื่อนเข้าสู่หลอดเลือดแดง (arteries) จากนั้นในการพัฒนาครั้งที่ 2 (second generation meronts) เชื้อจะเข้าสู่กระแสเลือดไปยังหลอดเลือดฝอย (small capillaries) และหลอดเลือด (blood vessels) ตามอวัยวะต่างๆทางกระแสเลือด (Dubey, 1980; Dubey *et al*., 1989; Dubey *et al*., 2023) แพร่กระจายไปทั่วร่างกาย (Fayer, 2004) ซึ่งจะมีการแบ่งนิวเคลียส แบ่งเซลล์อย่างรวดเร็วและเพิ่มปริมาณจำนวนมากที่ผนังหลอดเลือดฝอย (Spickler, 2020) โดยมีหัวใจเป็นอวัยวะเป้าหมายหลักในการติดเชื้อ (most commonly infect organ) (Hornok *et al*., 2015; Gareh *et al*., 2020) โดยที่ในระยะ merozoites นั้นมีผลทำลายเซลล์บุผิวในบริเวณตำแหน่งที่เชื้อเข้าจับ (Warren *et al*., 2008) เป็นสาเหตุทำให้เซลล์บุผิวผนังหลอดเลือดผิดปกติไป ทำให้

ไม่สามารถทำงานได้ตามปกติ สูญเสียคุณสมบัติการดูดซึม การขับสาร การเป็นเยื่อเลือกผ่าน และการซึมผ่านเข้าออกของสารต่างๆ (World Intellectual Property Organization, 2010) นอกจากนี้ยังทำให้เกิดการอักเสบ (Fayer, 2004; Jiang *et al*., 2021) เกิดการตายและการตกเลือดของเซลล์บุผิวผนังหลอดเลือด (Jiang *et al*., 2021; El-Mahdi *et al*., 2023) สอดคล้องกับรายงานของ Gareh *et al*., 2020 ที่พบการอักเสบของเซลล์ (imflammatory cell) ล้อมรอบตำแหน่งที่พบเชื้อในระยะ sarcocyst บริเวณกล้ามเนื้อหลอดอาหาร (esophageal muscle) ของสัตว์ที่ติดเชื้อ ซึ่งพยาธิสภาพที่เกิดขึ้นกับสัตว์อาศัยตัวกลาง (intermediate host) ต่างๆเหล่านี้เกิดจากการที่เชื้อเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณเข้าสู่เซลล์บุผิวของสัตว์อาศัยไม่ได้เกิดจากการสร้างสารพิษ (enterotoxin) แต่อย่างใด (World Intellectual Property Organization, 2010) อีกทั้งการติดเชื้อ *Sarcocystis* ในสัตว์อาศัยตัวกลางสามารถทำให้เกิดการบวมน้ำในเซลล์ปอด การติดเชื้อในกระแสเลือด (sarcocystaemia) ภาวะโลหิตจางจากภาวะเม็ดเลือดแดงแตก (haemolytic anemia) รวมถึงการตกเลือด (haemorrhages) ตามอวัยวะต่างๆ เช่น ไต ปอด และหัวใจ เป็นต้น (Hornok *et al*., 2015) ซึ่งโดยปกติสัตว์อาศัยที่ติดเชื้อ *Sarcocystis* มักจะไม่แสดงอาการของโรค เว้นแต่ในกรณีที่สัตว์อาศัยได้รับเชื้อในปริมาณมากหรือมีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องเท่านั้น จึงจะแสดงอาการของโรคได้ (Connick *et al*., 2020; Jiang *et al*., 2021)

หลังจากนั้นเมื่อหนูตัวเดิมได้กินเหยื่อพิษโฟลคูมาเฟน 0.005% ชนิดก้อนขี้ผึ้ง ซึ่งเป็นสารกำจัดหนู ออกฤทธิ์ช้าอยู่ในกลุ่มต้านการแข็งตัวของเลือด ออกฤทธิ์ยับยั้งทำให้วิตามินเคไม่สามารถเปลี่ยนเป็น active form ได้ นำไปสู่การแข็งตัวของเลือดช้าผิดปกติ (Suchard *et al*., 2005; Chen *et al*., 2015) ซึ่งหลังจากหนูได้รับเหยื่อพิษที่ระยะเวลา 24-36 ชั่วโมง สารพิษจะเริ่มรบกวนระบบการแข็งตัวของเลือดภายในร่างกายหนู แม้จะกินในปริมาณน้อยไม่ถึงระดับที่ทำให้ตายได้ แต่พยาธิสภาพที่เกิดขึ้นในร่างกายหนูจากการได้รับเชื้อโปรโตซัว *S. singaporensis* (sublethal dose) ลงไปก่อน เป็นสาเหตุทำให้เซลล์ภายในอวัยวะต่างๆในหนูเกิดความผิดปกติ และผนังหลอดเลือดของหนูเกิดการความเสียหาย ทำให้สารพิษเกิดการซึมผ่านเข้าสู่หลอดเลือดในร่างกายหนูมากขึ้น (Dpakauskas *et al*., 2005) จึงเป็นการเสริมฤทธิ์กันระหว่างเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู *S. singaporensis* และสารกำจัดหนูกลุ่มออกฤทธิ์ช้าในระดับ sublethal dose ส่งผลทำให้เกิดการตกเลือดได้มากยิ่งขึ้น จึงเป็นสาเหตุการตายของหนู ซึ่งสอดคล้องกับยุวลักษณ์ และคณะ, 2543 ที่ดำเนินการทดสอบประสิทธิภาพเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู *S. singaporensis* ร่วมกับสารกำจัดหนูชนิดออกฤทธิ์ช้า (coumatetralyl) ในการกำจัด หนูศัตรูปาล์มน้ำมัน พบว่าประชากรหนูลดลงร้อยละ 92 ซึ่งสามารถลดประชากรหนูลงได้มากกว่าการใช้เหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู *S. singaporensis* และสารกำจัดหนูชนิดออกฤทธิ์ช้า (coumatetralyl) เพียงอย่างเดียว ซึ่งสามารถลดประชากรหนูลงได้ร้อยละ 89 และร้อยละ 61 ตามลำดับ ดังนั้นการนำเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู *S. singaporensis* ไปใช้กำจัดหนูในแปลง แม้ว่าข้อจำกัดของเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนูนั้นคือการ

ที่หนูควรกินเหยื่อภายใน 1 สัปดาห์หลังจากวางเหยื่อ (กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร, 2544) เนื่องจากเมื่อระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นจะมีผลทำให้ประสิทธิภาพการกำจัดหนูของเชื้อเริ่มลดลง แต่การเสริมฤทธิ์กันระหว่างเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู *S. singaporensis* และสารกำจัดหนูชนิดออกฤทธิ์ช้านั้น ทำให้สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการกำจัดหนูของสารกำจัดหนูทั้งสองชนิดได้

การใช้เหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู *S. singaporensis* อย่างไม่เหมาะสม เพียงอย่างเดียวต่อเนื่องกันเป็นระยะเวลานาน อาจเป็นการส่งเสริมทำให้เกิดความต้านทาน (resistance) ต่อเชื้อในหนูซึ่งเป็นสัตว์อาศัยตัวกลางได้ เนื่องจากเมื่อสัตว์อาศัยได้รับ sporocysts ของเชื้อเข้าไปแล้วจะไปกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์อาศัย โดยการสร้าง cytokine interferon (IFN-y), $CD4^+$ และ $CD8^+$ T cell รวมถึง NK cell ที่เพิ่มปริมาณมากขึ้นหลังจากการติดเชื้อ (McDonald and Shirley, 2009; Abdel-Latif *et al*., 2018) เช่นเดียวกับ Metwally *et al*., 2021 ได้รายงานไว้ว่า *Sarcocystis* spp. กระตุ้นให้เกิดการสร้างภูมิคุ้มกันในสัตว์อาศัยตัวกลางได้ ซึ่งภูมิคุ้มกันที่ถูกกระตุ้นให้สร้างขึ้น ได้แก่ lymphocytes และ macrophages ระหว่างการเกิดโรค Sarcocystosis ในสัตว์อาศัยตัวกลางนั้นเป็นไปในรูปแบบเดียวกันทั้งหมด สอดคล้องกับ Connick *et al*., 2020 ที่พบว่าแอนติเจนจากซีสต์ของ *S. fusiformis* (SFWCA; *S. fusiformis* whole cyst antigen) จะแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์เมื่อมีการติดเชื้อจำนวนมาก ในขณะที่การติดเชื้อในปริมาณน้อยนั้นจะไปกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์อาศัยทำให้เกิดการหลั่งสาร interleukin (IL) ได้แก่ IL-6, IL-10 เพื่อกระตุ้นทำให้เกิดการแสดงออกของ TLR4, CD80, CD86 และ MHC II บริเวณที่ติดเชื้อ ซึ่งเป็นภูมิคุ้มกันที่ถูกสร้างขึ้นเพื่อต้านทานต่อการติดเชื้อ *Sarcocystis*

ขณะเดียวกันการใช้สารกำจัดหนูกลุ่มออกฤทธิ์ช้าอย่างไม่เหมาะสม ต่อเนื่องกันเป็นระยะเวลานานอาจส่งผลให้หนูสร้างความต้านทานต่อสารกำจัดหนูได้ เนื่องจากในปัจจุบันพบว่าประชากรหนูต้านทานต่อสารกำจัดหนูชนิดออกฤทธิ์ช้ากลุ่ม first-generation anticoagulant rodenticide (FGARs) (Boyle, 1960; Lund, 1972; Buckle, 2011; Carromeu-Santos *et al*., 2023) ซึ่งความต้านทานต่อสารกำจัดหนูที่เกิดขึ้นเนื่องจากการกลายพันธุ์ในระดับพันธุกรรม บริเวณยีน Vitamin K oxide reductase complex subunit I (V*korc I*) โดยเกิดการเปลี่ยนแปลงลำดับเบส 1 ตำแหน่ง (SNP; single nucleotide polymorphism) (McGee et al., 2020; Rached *et al*., 2022; Carromeu-Santos *et al*., 2023) อีกทั้งพบว่าความต้านทานต่อสารกำจัดหนูนี้สามารถส่งผ่านจากแม่ไปสู่ลูกได้ (Rached *et al*., 2022) ดังนั้นการใช้เหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู *S. singaporensis* ร่วมกับสารกำจัดหนูชนิดออกฤทธิ์ช้า นอกจาก ทำให้สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการกำจัดหนูสกุลพุกและท้องขาว แล้วยังเป็นการลดโอกาสเกิดความต้านทานของหนูสกุลพุกและสกุลท้องขาวต่อเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู *S. singaporensis* และสารกำจัดหนูชนิดออกฤทธิ์ช้า และสามารถใช้เป็นแนวทางการลดปริมาณการใช้สารกำจัดหนูชนิดออกฤทธิ์ช้าต่อไปในอนาคต

ขณะที่กรรมวิธีที่ 2 ใช้เหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู *S. singaporensis* ซึ่งกำจัดได้เฉพาะหนูสกุลพุกและสกุลท้องขาวเท่านั้น ไม่สามารถทำให้หนูสกุลหริ่งป่วยและตายได้ (ยุวลักษณ์ และคณะ, 2539ก; ยุวลักษณ์ และคณะ, 2539ข; ยุวลักษณ์ และคณะ, 2540; ยุวลักษณ์ และคณะ, 2541; Jaekel *et al*., 1999) ซึ่งสอดคล้องกับผลดัชนีจำนวนประชากรจากการใช้กรงดักในระยะข้าวโพดอายุ 110 วัน ที่พบสกุลหนูหริ่งเป็นชนิดเด่น โดยเฉพาะหนูหริ่งนาหางสั้นที่พบมากที่สุดในการทดลองทั้งสองปีทดลอง โดยพบร้อยละ 100 และ 75 จากหนูที่ดักได้ทั้งหมด ตามลำดับ จึงทำให้กรรมวิธีนี้ลดจำนวนประชากรหนูในแปลงทดลองได้น้อยกว่ากรรมวิธีที่ 1 และ 3

จากการศึกษาจำนวนประชากรหนูจะพบว่า ในระยะเตรียมดินถึงระยะเริ่มหยอดเมล็ดเป็นระยะที่อาหารในธรรมชาติของหนูมีน้อยจึงเหมาะต่อการวางสารกำจัดหนูเพื่อกำจัดกลุ่มประชากรหนูที่มีอยู่เดิมในแปลงให้ลดลง หลังจากนั้นเมื่อข้าวโพดอายุ 70 วันเมล็ดกำลังเป็นน้ำนม จนถึงระยะข้าวโพดอายุ 90 วัน เป็นระยะข้าวโพดติดฝักก่อนเก็บเกี่ยว ซึ่งเป็นอาหารที่หนูชอบพบว่ามีจำนวนประชากรหนูเพิ่มขึ้นอย่างมากในช่วงระยะนี้ ดังนั้นจึงต้องดำเนินการวางสารกำจัดหนูในช่วงระยะเมล็ดกำลังเป็นน้ำนมไปถึงระยะติดฝักก่อนการเก็บเกี่ยว เพื่อลดปริมาณหนูให้ลดลงก่อนที่หนูจะกัดทำลายข้าวโพดจนเกิดความเสียหายทั่วทั้งแปลงจนกระทั่งไม่สามารถเก็บผลผลิตได้ และหลังจากวางสารกำจัดหนูตามกรรมวิธีครั้งที่ 3 ไปแล้วนั้น จะพบกลุ่มประชากรหนูหริ่งนาหางสั้นเป็นชนิดเด่น เนื่องจากมีขนาดตัวที่เล็กดังนั้นโอกาสที่จะกินเหยื่อพิษโฟลคูมาเฟนให้ครบ lethal dose จึงมีน้อยกว่าหนูสกุลพุกและสกุลท้องขาว อีกทั้งเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู *S. singaporensis* ไม่สามารถทำให้หนูสกุลหริ่งตายได้ ดังนั้นจึงมีประชากรหนูหริ่งนาหางสั้นหลงเหลืออยู่ในแปลงทดลองมากกว่าหนูชนิดอื่น และตั้งแต่ระยะเก็บเกี่ยวข้าวโพดเมล็ดแห้งนั้นอยู่ในช่วงแล้ง (เดือนมีนาคมถึงเดือนเมษายน) ซึ่งมีผลกระทบต่อสภาพพื้นที่และอากาศในแปลงทดลองมาก ตามสภาพธรรมชาตินั้นหนูหริ่งนาหางสั้นจะอยู่ในไร่ข้าวโพดตลอดเวลา และสามารถทนแล้งได้ดี มักอาศัยตามระแหงดินหากินจากเมล็ดวัชพืชต่างๆบนพื้นดินได้ (พวงทอง และคณะ, 2529) อีกทั้งมีขนาดตัวที่เล็กจึงต้องการอาหารเพื่ออยู่รอดเพียงเล็กน้อย จึงสามารถมีชีวิตอยู่รอดได้ในสภาพแห้งแล้งนี้ได้ดี ในทางกลับกันหนูสกุลพุกและสกุลท้องขาวเมื่อสภาพแวดล้อมด้านอาหารและที่อยู่อาศัยไม่เหมาะสมมักจะเคลื่อนย้ายไปยังแหล่งอื่นที่มีอาหารอุดมสมบูรณ์และสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมกว่า จึงเป็นสาเหตุทำให้มักพบประชากรหนูหริ่งนาหางสั้นเป็นชนิดเด่นในแปลงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

ส่วนผลการสำรวจชนิดสัตว์อื่นๆในแปลงทดลอง 1-3 ที่ดำเนินการวางสารกำจัดหนูตามกรรมวิธีทดลองก่อนและหลังวางวางสารกำจัดหนูทุกครั้งไม่ปรากฏว่ามีสัตว์อื่นๆ (non-target species) ตายในระหว่างดำเนินการทดลองในทั้งสองปีที่ดำเนินการทดลอง อีกทั้งในระยะเตรียมดินถึงเริ่มหยอดเมล็ดนั้นควรใช้สารกำจัดหนูประเภทออกฤทธิ์เร็ว ได้แก่ ซิงค์ฟอสไฟด์ (zinc phosphide; Zn_3P_2) เพื่อลดจำนวนประชากรหนูในแปลงให้ลดลงอย่างรวดเร็ว อีกทั้งเป็นการลดต้นทุนของเกษตรกรเนื่องจากมีราคา

ถูกกว่าสารกำจัดหนูประเภทออกฤทธิ์ช้าและเพื่อลดโอกาสเกิดความต้านทานของหนูที่มีต่อสารกำจัดหนูประเภทออกฤทธิ์ช้า (เสริมศักดิ์ และคณะ, 2537) แต่ไม่ควรใช้มากกว่า 1 ครั้งต่อฤดูปลูกเนื่องจากหนูที่ได้รับซิงค์ฟอสไฟด์เข้าไปในปริมาณน้อยไม่ถึงระดับ lethal dose จะเกิดการเข็ดขยาดต่อเหยื่อ (bait shyness) (กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร, 2544; Barnett *et al*, 1975) ทำให้สามารถป้องกันกำจัดหนูศัตรูข้าวโพดได้อย่างมีประสิทธิภาพ เพิ่มคุณภาพของผลผลิต ลดปริมาณการใช้สารกำจัดหนูที่มากเกินความจำเป็น และเป็นการส่งเสริมระบบเกษตรดีที่เหมาะสมให้กับเกษตรกร เพื่อทำให้เกษตรกรมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้นได้ต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลการทดลองประสิทธิภาพการใช้สารฆ่าหนูร่วมกับการใช้เหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู *S. singaporensis* ในการป้องกันกำจัดหนูในไร่ข้าวโพด โดยการวางสารกำจัดหนูตามกรรมวิธี จำนวน 3 ครั้ง เริ่มวางครั้งแรกตั้งแต่ในระยะเตรียมดินถึงเริ่มหยอดเมล็ด และในระยะข้าวโพดอายุ 70 และ 90 วัน ตามลำดับ ให้ผลการทดลองที่สอดคล้องกันในทั้งสองปีที่ทดลอง โดยกรรมวิธีการใช้เหยื่อกำจัดหนูโฟลคูมาเฟน ชนิดก้อนขี้ผึ้งร่วมกับเหยื่อ โปรโตซัวกำจัดหนู *S. singaporensis* มีประสิทธิภาพในการกำจัดหนูศัตรูข้าวโพดได้ดีที่สุด สามารถลดประชากรหนูในแปลงทดลองเปรียบเทียบก่อนและหลังการทดลองจากค่าดัชนีประชากรหนูด้วยการใช้กรงดักชนิดจับเป็น ในปี 2565 และ 2566 ร้อยละ 71.43 และ 60 ตามลำดับ และจากการกินเหยื่อล่อร้อยละ 75 และ 83.33 ตามลำดับ และมีแนวโน้มให้ผลกำไรสุทธิสูงสุด รองลงมาคือ กรรมวิธีการใช้เหยื่อกำจัดหนูโฟลคูมาเฟน 0.005% ชนิดก้อนขี้ผึ้งและกรรมวิธีการใช้เหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู *S. singaporensis* มีค่าการลดลงของหนูศัตรูข้าวโพดเมื่อเปรียบเทียบก่อนและหลังการทดลองจากค่าดัชนีประชากรหนูด้วยการใช้กรงดักชนิดจับเป็นในปี 2565 และ 2566 ร้อยละ 40,20 และ 50,25 และจากการกินเหยื่อล่อร้อยละ 42.86,12.5 และ 66.67,33.33 ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีของเกษตรกร พบว่ามีจำนวนประชากรหนูเพิ่มขึ้นในปี 2565 และ 2566 จากค่าดัชนีประชากรหนูด้วยการใช้กรงดักชนิดจับเป็นและจากการกินเหยื่อล่อ เท่ากับร้อยละ 140, 166.67 และ 455, 100 ตามลำดับ อีกทั้งในระยะเตรียมดินถึงเริ่มหยอดเมล็ด ควรใช้สารกำจัดหนูประเภทออกฤทธิ์เร็ว เพื่อลดจำนวนประชากรหนูในแปลงให้ลดลงอย่างรวดเร็ว ผลที่ได้จากการทดลองนี้สามารถนำไปใช้เป็นต้นแบบแนวทาง และคำแนะนำการป้องกันกำจัดหนูในไร่ข้าวโพด เพื่อทำให้สามารถป้องกันกำจัดหนูศัตรูข้าวโพดได้อย่างมีประสิทธิภาพ ลดโอกาสเกิดความต้านทานของหนูที่มีต่อสารกำจัดหนูประเภทออกฤทธิ์ช้าและเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนู *S. singaporensis* และสามารถประยุกต์ใช้ร่วมกับการป้องกันกำจัดศัตรูพืชชนิดอื่น ในรูปแบบการบริหารศัตรูพืชแบบผสมผสานในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณอาคม บัวแก้ว และคุณวิจิตรา กระทู้ เกษตรกรเจ้าของแปลงทดลองที่ให้ความอนุเคราะห์ใช้แปลงข้าวโพดในการดำเนินงานวิจัยครั้งนี้ และขอขอบคุณ คุณนุสรา สุขคะตะ คุณศศินิภา องอาจ คุณบรรจง บุญครอบ คุณสุกฤษฎิ์ ตั้งอิสริยะกุล คุณธนากรณ์ ภักดีสุข คุณเกษมสุข อินสุธา และเจ้าหน้าที่กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ที่เกี่ยวข้องทุกท่านที่ช่วยทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร. 2544. หนูและการป้องกันกำจัด. กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย 136 หน้า

พวงทอง บุญทรง วีรศักดิ์ สุรพัฒน์ เสริมศักดิ์ หงส์นาค และทักษิณ อาชวาคม. 2529. การสำรวจชนิดของหนูศัตรูข้าวโพดและการประเมินความเสียหาย. รายงานผลการวิจัย ปี 2529. กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร หน้า 1-19.

เสริมศักดิ์ หงส์นาค กรแก้ว เสือสะอาด เกษม ทองทวี ชูเกียรติ สุวรรณชัย นพสร สารพันธ์ และดวงดี อัฐวงศ์. 2532. การใช้เหยื่อพิษโบรมาดิโอโลนสำเร็จรูปชนิดปรับปรุงใหม่ในการป้องกันกำจัดหนูในนาข้าว. รายงานผลการวิจัย ปี 2532. กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร หน้า 40-47.

เสริมศักดิ์ หงส์นาค พวงทอง บุญทรง กรแก้ว เสือสะอาด พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ และวิรัตน์ ธรรมบำรุง. 2537. การใช้สารซิงค์ฟอสไฟด์และสารโบรมาดิโอโลนชนิดก้อนขี้ผึ้งกำจัดหนูในสวนปาล์มน้ำมัน. รายงานผลการวิจัย ปี 2537. กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร หน้า 88-97.

ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ วิยะดา สีหะบุตร เสริมศักดิ์ หงส์นาค และกรแก้ว เสือสะอาด .2539ก. ผลของโปรโตซัว *Sarcocystis singaporensis* ต่อหนูพุกใหญ่. รายงานผลการวิจัย ปี 2539. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร หน้า 255-256.

ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ วิยะดา สีหะบุตร เสริมศักดิ์ หงส์นาค และกรแก้ว เสือสะอาด .2539ข. ผลของโปรโตซัว *Sarcocystis singaporensis* ต่อหนูนอร์เวย์. รายงานผลการวิจัย ปี 2539. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร หน้า 257.

ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ ปราสาททอง พรหมเกิด กรแก้ว เสือสะอาด เสริมศักดิ์ หงส์นาค และทรงทัพ แก้วตา. 2540. ผลของโปรโตซัว *Sarcocystis singaporensis* ต่อหนูนาใหญ่. รายงานผลการ

ค้นคว้าและวิจัยปี 2540. กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพมหานคร หน้า 10-16.

ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ ปราสาททอง พรหมเกิด เสริมศักดิ์ หงส์นาค ปิยาณี หนูกาฬ และทรงทัพ แก้วตา. 2541. การศึกษาโปรโตซัวที่เป็นปรสิตในหนูพุกศัตรูพืช. รายงานผลการวิจัยปี 2541. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร หน้า 102-103.

ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ เสริมศักดิ์ หงส์นาค และปราสาททอง พรหมเกิด. 2543. ศึกษาประสิทธิภาพของโปรโตซัว *Sarcocystis singaporensis* ร่วมกับสารกำจัดหนูชนิดออกฤทธิ์ช้าในหนูป่ามาเลย์ ศัตรูปาล์มน้ำมัน. รายงานผลการวิจัยปี 2543. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร หน้า 7-10.

เอ็จ สโรบล สุรพล เช้าฉ้อง สดใส ช่างสลัก ศุภกาญจน์ ล้วนมณี รวีวรรณ เชื้อกิตติศักดิ์ จุฑามาศ ร่มแก้ว สราวุธ รุ่งเมฆารัตน์ สุพจน์ กาเซ้ม และดาวรุ่ง คงเทียน. 2561. ศักยภาพการให้ผลผลิตของพันธุ์ข้าวโพดไร่ลูกผสมภายใต้วิธีการเพาะปลูกแบบปกติและลดการไถพรวนใน ฤดูฝนและฤดูแล้ง. ผลงานวิจัยและพัฒนาปี 2561. ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ กรมวิชาการเกษตร. หน้า 1-19.

Abdel-Latif, M., T. Sakran, H.M. Abdel-Haleem, M.F. Eissa and S.E. El-Sayed. 2018. Immunoprotective response against murine Sarcocystosis by B-irradiated sporocysts. Experimental Parasitology. 109869: 73-81.

Barnett, S.A., P.E. Cowan, G.C. Radford and I. Prakash. 1975. Periperal anomia and the discrimination of poisoned food by *Rattus rattus*. Behavioral Biology. 13: 405-453.

Boyle, C.M. 1960. Case of apparent resistance of *Rattus norvegicus* Berkenhout to anticoagulant poisons. Nature. 188: 517.

Buckle, A.P. and R.H. Smith. 1993. Rodent pests and their control. CAB International Wallingford, Oxon OX10 8DE, UK. 405 pp.

Buckle, A. 2012. Anticoagulant resistance in the United Kingdom and a new guideline for the management of resistant infestions of Norway rats (*Rattus norvegicus* Berk.). Pest Management Science. 69: 334-341.

Carromeu-Santos, A. M.L. Mathias and S.I. Gabriel. 2023. Widespread distribution of rodenticide resistance-conferring mutations in the *Vkorc1* gene among house mouse populations in Portuguese Macronesian islands and Iberian Atlantic areas. Science of the Total Environment. 900: 1-8.

Chen, B.C. and Su. M. 2015. Antithrombotics, pp. 814-835. In: R.S. Hoffman, M.A. Howland, N.A. Lewin, L.S. Nelson and R. Lewis., eds. *Goldfrank's Toxicologic Emergencies*. McGraw-Hill Education.

Connick, K., R. Lalor, A. Murphy, S.M. O'Neill and E.EI. Shanawany. 2020. *Sarcocystis fusiformis* whole cyst antigen activates pro-inflammatory dendritic cells. Journal of Parasitic Disease. 44: 186-193.

Dpakauskas, V., I. Klimiene, M. Rupauskas and V. Bandzaite. 2005. Toxicity and effectiveness of indirect anticoagulants bromadiolone and brodifacoum. Biologija. 4: 77-81.

Dubey, J.P. 1980. Coyote as a final host for Sarcocystis species of goats, sheep, cattle, elk, bison and moose in Montana. American Journal of Veterinary Research. 41. 1227-1229.

Dubey, J.P., C.A. Speer and R. Fayer. 1989. Sarcocystosis of animals and man. Boca Raton, Florida: CRC Press. United States of America.

Dubey, J.P., A. Gupta, L.S. de Araujo, O.C.H. Kwok, A. Khan and B.M. Rosenthal. 2023. *Sarcocystis cruzi* (Hasselmann, 1923) Wenyon, 1926: redescription, molecular characteristization and deposite of life cycle stages specimens in the Smithsonian Museum. Parasitology. 150: 1192-1106.

El-Mahdi, M.B.M., S.A. Rabie, R.M. El-Hassanine, A.A. Hassan, O.F.A. Elhussien, M. Ghoneum and M.S.A. El-Gerbed. 2023. Molecular identification pathogenesis and life cycle of *Sarcocystis cruzi* from cattle (*Bos taurus*) in New Valley Governorate, Egypt. Journal of Parasitology Research. 2023: 1-16.

Fayer, R. 2004. Sarcocystis spp. in human infections. Clinical Microbiology Reviews. 17: 894-902.

Gareh, A., M. Soliman, A.A. Saleh, F.A. El-Gohary, H.M.M. El-sherbiny, R.H. Mohamed and E.K. Elmahallawy. 2020. Epidemiological and histopathological investigation of *Sarcocystis* spp. in Slaughtered Dromedary camels (*Camelus dromedaries*) in Egypt. Molecular Diversity Preservation International. 162: 1-10.

Hornok, S., A. Mester, N. Takacs, F. Baska, G. Majoros, E. Fok, I. Biksi, Z. Nemet, A. Hornyak, S. Janosi and R. Farkas. 2015. *Sarcocystis*-infection of cattle in Hungary. Parasites and Vectors. 8: 151-157.

Jaekel, T., Y. Khorprasert, S. Endepol, K. Suesaard, P. Promkerd, D. Kliemt, P. Boonsong, P. and S. Hongnark. 1999. Biological control of rodents using *Sarcocystis singaporensis*. International Journal for Parasitology. 29: 1321-1330.

Jaekel, T., Y. Khorprasert, P. Promkerd and S. Hongnark. 2005. An experimental field study to

assess the effectiveness of bait containing the parasitic protozoan *Sarcocystis singaporensis* for protecting rice crops against rodent damage. (Online). Available. http://www.elsevier.com/locate/cropro. (December 11, 2022)

Jiang, N., S. Xin, N. Zhu, L. Yang, W. Huang, J. Hu, X. Zhu and Y. Yang. 2012. First report of *Sarcocystis Masoni* in a captive Alpaca (*Vicugna pacos*) from China. Frontiers in Veterinary Science. 8: 1-6.

Lund, M. 1972. Rodent resistance to the anticoagulant rodenticides with particular reference to Denmark Bull. World Health Organ. 47: 611-618.

McDonald, V. and M.W. Shirley. 2009. Past and future: vaccination against *Eimeria*. Parasitology. 136: 1477-1489.

McGee, C.F., D.A. McGilloway and A.P. Buckle. 2020. Anticoagulant rodenticides and resistance development in rodent pest species-A comprehensive review. Journal of Stored Products Research. 88: 1-18.

Metwally, D.M., T.T. Al-Otaibi, A. Semlali and R.A. Alajmi. 2021. *Sarcocystis camelicanis* increase interleukin (IL)-6 expression in one-humped camels (*Camelus dromedaries*) from Riyadh and Al Qassim, Saudi Arabia. Bioscience Reports. 41: 1-9.

Rached, A., G.A. Rizk, A.B. Mahamat, G.E. Khoury, J.E. Hage. E. Harran and V. Lattard. 2022. Investigation of anticoagulant rodenticide resistance induced by *Vkorc1* mutations in rodents in Lebanon. Scientific Reports. 12: 1-10.

Spickler, A.R. 2020. Sarcocystosis. (Online). Available. http://www.cfsph.iastate.edu/Disease. Info/factsheets.php. (August 10, 2023)

Suchard, J.R. and S.C. Curry. 2005. Oral anticoagulant, pp. 695-699. *In*: J. Brent, K.L. Wallace, K.K. Burkhart, S.D. Phillips and J.W. Donovan., eds. *Critical Care Toxicology Diagnosis and Management of the Critically Poisoned Patient*. Elsevier Mosby, Pennsylvania.

Warren, C.A., R.V. Destura, J. Emmanuel, A.D. Sevilleja, L.F. Barroso, H. Carvalho, L.J. Barrelt, A.D. O'Brien and R.L. Guerrant. 2008. Detection of epithelial-cell injury and quantification of infection in the HCT-8 organoid model of Crytosporidiosis. The Journal of Infection Disease. 198: 143-149.

World Intellectual Property Organization. 2010. Treatment of coccidian parasites. (Online). Available. https://patents.google.com/patent/WO2010020276A1/ja (June 10, 2024).

Table 1 The percentage of poisoned baits consumed by rodents and percentage decrease of rodent population in 4 treatments of maize field at DetUdom district, Ubon Ratchathani (1st year) in this study

Treatment	Number of poisoned baits consumed by rodents (%)			Number of rodent traped (%)					Percent decrease of rodent population	Number of bait consumption (%)					Percent decrease of rodent population	Number of corn damage (%)				
	1st baiting (maize 0 days)	2nd baiting (maize 70 days)	3rd baiting (maize 90 days)	Age of maize (days)						Age of maize (days)						Age of maize (days)				
				0	45	70	90	110		0	45	70	90	110		0	45	70	90	110
T1 (flocoumafen 0.005%)	34.25	84	60.5	10	0	8	20	6	40	7	0	6	18	4	42.86	0	0	0.83	0	0
T2 (bio-rodenticide bait)	90	100	91.67	10	8	10	10	8	20	8	2	6	11	7	12.5	0	1.67	3.33	3.33	1.67
T3 (flocoumafen 0.005%/ bio-rodenticide bait)	28.75/55	80.5/100	54.75/88.33	14	0	6	30	4	71.43	8	2	3	44	2	75	0	0	1.67	0	0
T4 (farmer practice)	-	-	-	10	6	8	24	24	-140	9	2	14	60	50	-455	0	1.67	3.33	5	4.17

* The minus number are population increasing.

Table 2 The percentage of poisoned baits consumed by rodents and percentage decrease of rodent population in 4 treatments of maize field at Muang district, Petchabun (2nd years) in this study

Treatment	Number of poisoned baits consumed by rodents (%)			Number of rodent traped (%)					Percent decrease of rodent population	Number of bait consumption (%)					Percent decrease of rodent population	Number of corn damage (%)				
	1st baiting (maize 0 days)	2nd baiting (maize 70 days)	3rd baiting (maize 90 days)	Age of maize (days)						Age of maize (days)						Age of maize (days)				
				0	45	70	90	110		0	45	70	90	110		0	45	70	90	110
T1 (flocoumafen 0.005%)	0	30.75	61.5	8	2	16	12	4	50	6	1	14	9	2	66.67	0	0	0	0	0
T2 (bio-rodenticide bait)	0	98	100	8	2	8	22	6	25	6	2	10	11	4	33.33	0	0	0	2	0
T3 (flocoumafen 0.005%/ bio-rodenticide bait)	0.5/5	18.5 /45	48.64 /100	10	2	12	6	4	60	6	1	10	4	1	83.33	0	0	0	2	0
T4 (farmer practice)	-	-	-	6	2	10	12	16	-166.67	6	2	10	10	12	-100	0	0	0	5	5

* The minus number are population increasing.

Table 3 Yield, income and cost of rodenticides/rodents control comparison between 4 treatments of maize field at at DetUdom district, Ubon Ratchathani (1st year) in this study

Treatment	Yield (kg/rai)	Income (bath/rai)	Cost of rodenticide/rodent control (bath/rai)	Net income (bath/rai)
T1 (flocoumafen 0.005%)	2,020	16,160	1,148	15,012
T2 (bio-rodenticide bait)	1,800	14,400	330	14,070
T3 (flocoumafen 0.005% and bio-rodenticide bait)	2,140	17,120	1,328	15,792
T4 (farmer practice)	1,100	8,800	150	8,650

* Price of product on August 2023.

** The minus number is yield/ income decreasing.

Table 4 Yield, income and cost of rodenticides/rodents control comparison between 4 treatments of maize field at Muang district, Petchabun (2nd years) in this study

Treatment	Yield (kg/rai)	Income (bath/rai)	Cost of rodenticide/ rodent control (bath/rai)	Net income (bath/rai)
T1 (flocoumafen 0.005%)	1,935	17,028	1,128	15,900
T2 (bio-rodenticide bait)	1,400	12,124	310	11,814
T3 (flocoumafen 0.005% and bio-rodenticide bait)	1,000	8,000	1,308	6,692
T4 (farmer practice)	1,000	5,500	130	5,370

* Price of product on August 2023.

** The minus number is yield/ income decreasing.

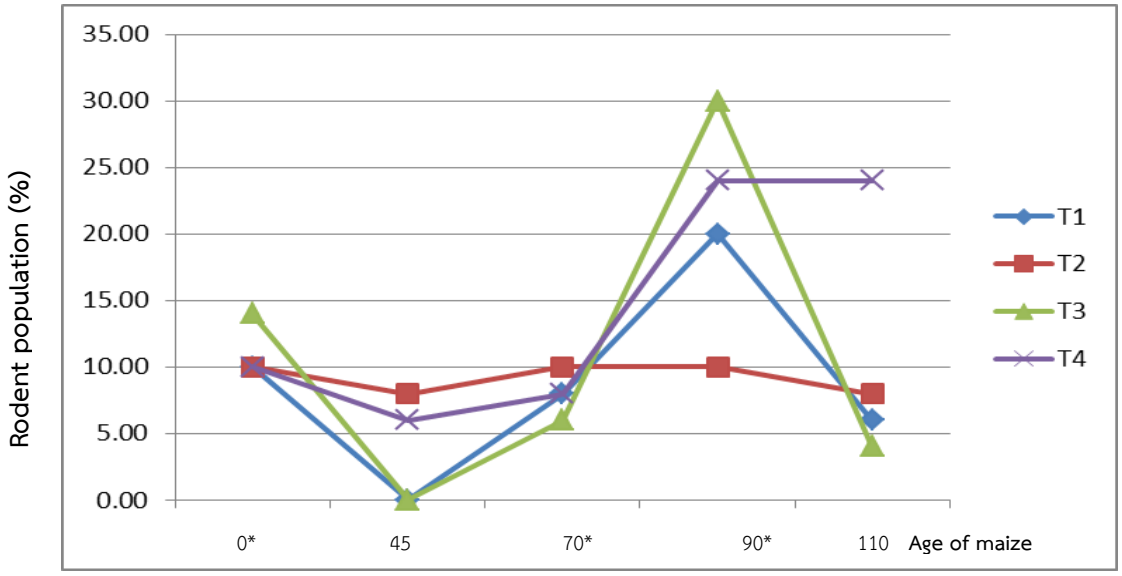


Figure 1 The average percentage of the rodent population by live traps index comparison between 4 treatments of maize field at DetUdom district, Ubon Ratchathani (1st year) in this study. (*rodenticide application in 3 treatment plots; treatment 1-3)

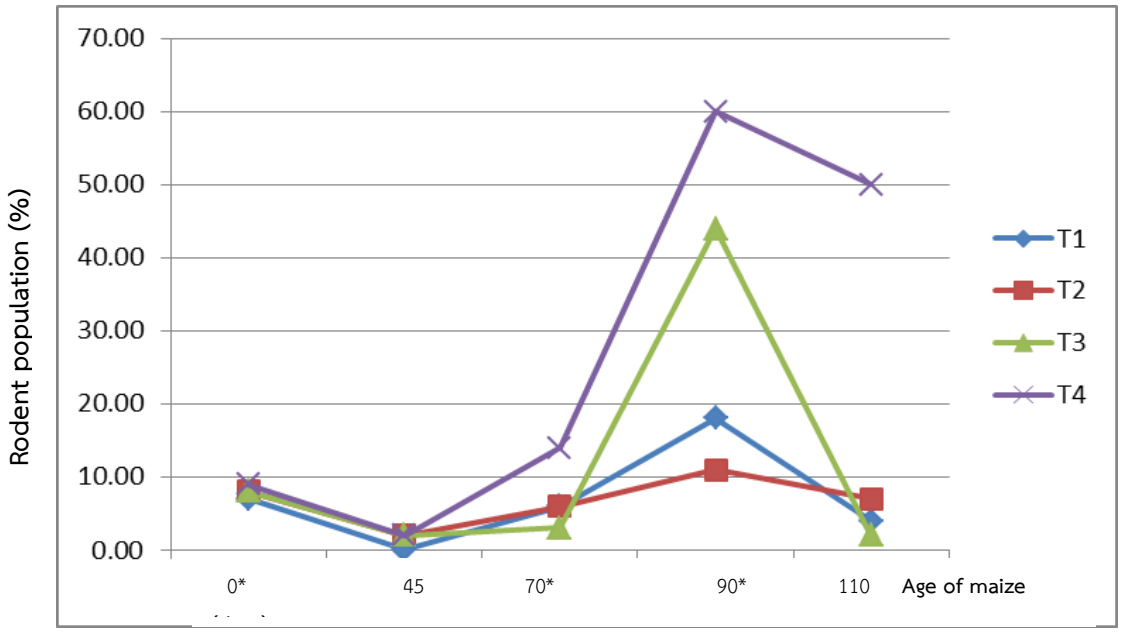


Figure 2 The average percentage of the rodent population by bait consumption index comparison between 4 treatments of maize field at DetUdom district, Ubon Ratchathani (1st year) in this study. (*rodenticide application in 3 treatment plots; treatment 1-3)

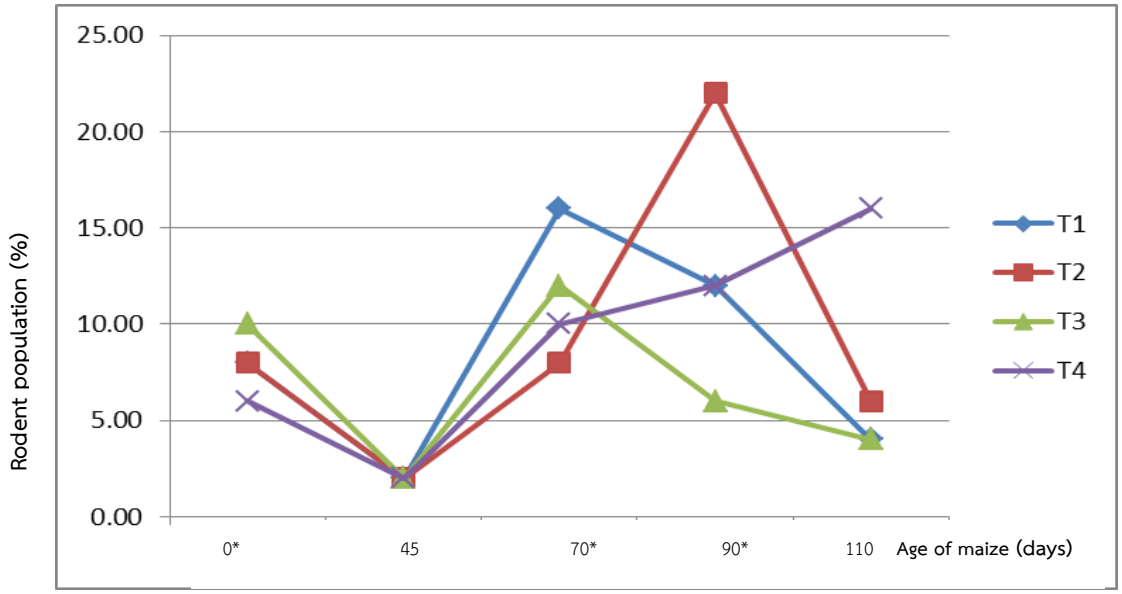


Figure 3 The average percentage of the rodent population by live traps index comparison between 4 treatments of maize field at Muang district, Petchabun (2nd years) in this study. (*rodenticide application in 3 treatment plots; treatment 1-3)

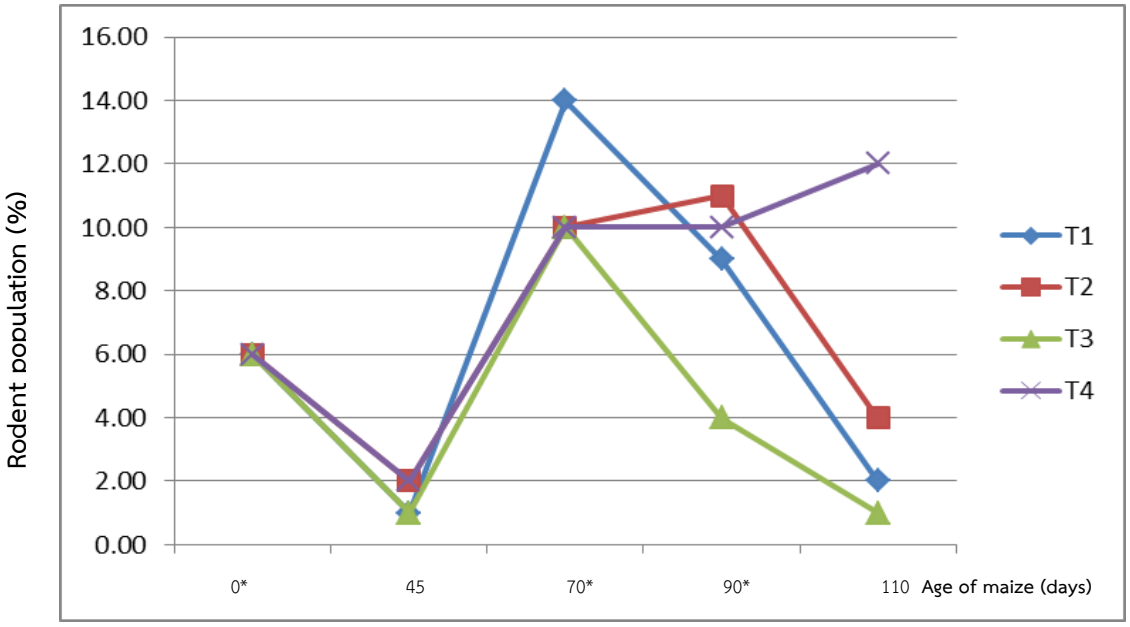


Figure 4 The average percentage of the rodent population by bait consumption index comparison between 4 treatments of maize field at Muang district, Petchabun (2nd years) in this study. (*rodenticide application in 3 treatment plots; treatment 1-3)

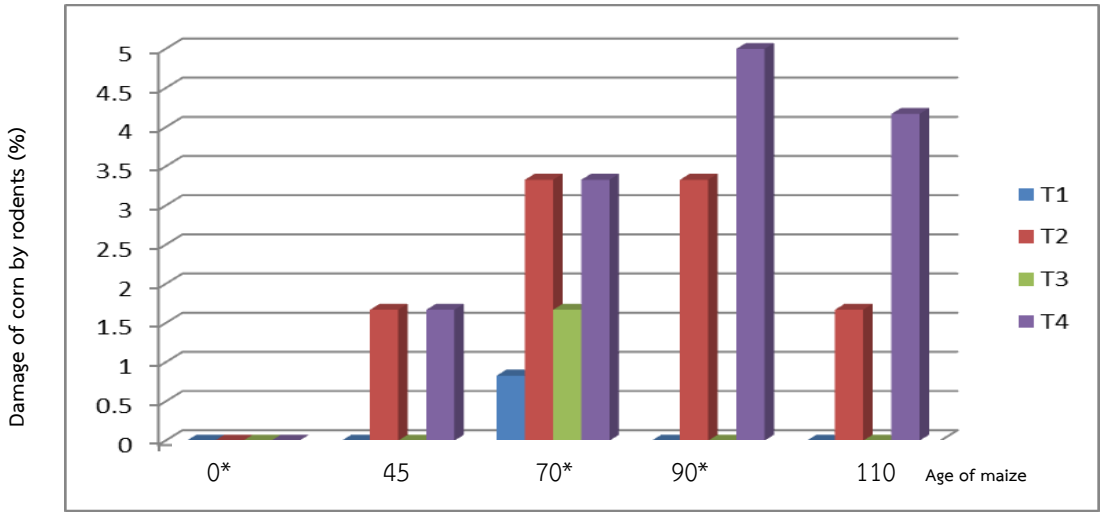


Figure 5 The average of percentage damage of corn by rodents comparison between 4 treatments of maize field at DetUdom district, Ubon Ratchathani (1st year) in this study. (*rodenticide application in 3 treatment plots; treatment 1-3)

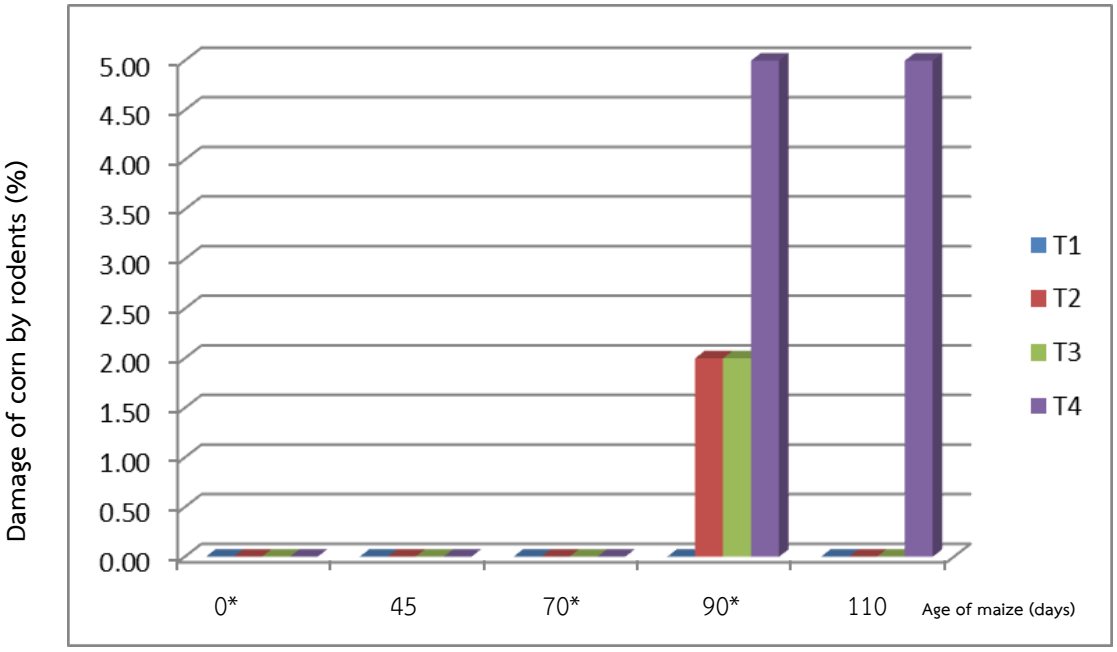


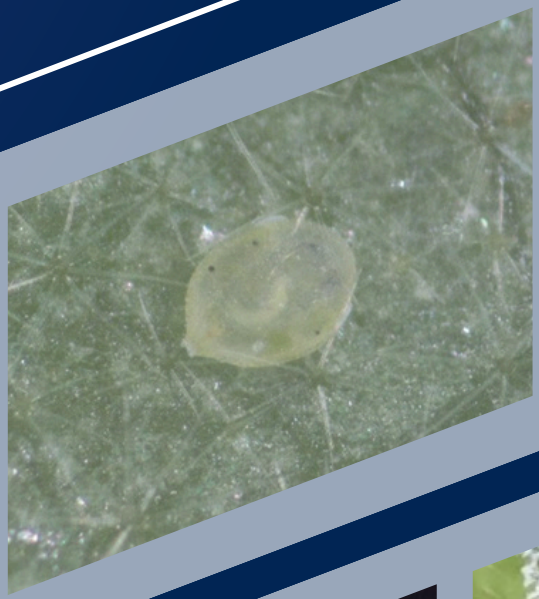
Figure 6 The average of percentage damage of corn by rodents comparison between 4 treatments of maize field at Muang district, Petchabun (2nd years) in this study. (*rodenticide application in 3 treatment plots; treatment 1-3)

ผู้รวบรวมและแก้ไข

นางสาวภัทรพร	สรรพนุเคราะห์
นางสาวดาราพร	รินทะรักษ์
นางสาวรุ่งนภา	ทองเครั่ง
นางสาวศิริพร	บุญพุ่ม
นางสาวนภลภัส	บุษบงก์
นางสาวณฐมน	แก้วนุ้ย
นางสาวอุษณีย์	จินดากุล
นายเอกรัตน์	ธนูทอง
นางสาวพรรณิภา	เปชัยศรี
นางสาวอมรพร	คุณะพันธ์
นางศรีจำนรรจ์	ศรีจันทรา
นางสาวกรกต	ดำรักษ์

ผู้สอบทาน

นางสาวณฐวรรณ	ชนะโชติ
นางสาวจิราภรณ์	สินทร
นางสาวจุฑามาส	อภิเดช



กรมวิชาการเกษตร
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์
ANNUAL REPORT 2024