



รายงานโครงการวิจัย

การศึกษาสถานภาพศัตรูพืชกักกันในประเทศไทย
Study on the Status of Quarantine Pests in Thailand

หัวหน้าโครงการวิจัย

ชลธิชา รักใคร่

Chonticha Rakkrai

ปี พ.ศ. 2564



รายงานโครงการวิจัย

การศึกษาสถานภาพศัตรูพืชกักกันในประเทศไทย
Study on the Status of Quarantine Pests in Thailand

หัวหน้าโครงการวิจัย

ชลธิชา รักใคร่

Chonticha Rakkrai

ปี พ.ศ. 2564

คำปรารภ

รายงานโครงการวิจัย เรื่อง การศึกษาสถานภาพศัตรูพืชกักกันในประเทศไทย อยู่ภายใต้แผนงานการวิจัยและพัฒนามาตรการสุขอนามัยพืชและการเฝ้าระวังศัตรูพืชเพื่อการนำเข้าและส่งออกสินค้าเกษตร เป็นรายงานผลงานวิจัยที่คณะผู้วิจัยดำเนินการวิจัยตั้งแต่ ตุลาคม 2559 ถึง กันยายน 2564 มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการปรากฏ/ไม่ปรากฏของศัตรูพืช และได้ข้อมูลสถานภาพของศัตรูพืชเพื่อใช้สนับสนุนการออกประกาศการปลอดศัตรูพืช โดยหน่วยงานองค์กรอารักขาพืชแห่งชาติ (NPPO) โดยติดตามเฝ้าระวังการระบาดของศัตรูพืช เพื่อยืนยันสถานภาพที่เป็นปัจจุบันของรายชื่อศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย รวมทั้งการจัดทำฐานข้อมูลศัตรูพืชกักกัน เพื่อป้องกันมิให้ศัตรูพืชร้ายแรงจากต่างประเทศเข้ามาแพร่ระบาดทำความเสียหายต่อผลผลิตในประเทศ และสร้างโอกาสในการเพิ่มมูลค่าสินค้าเกษตรเพื่อการส่งออก นับเป็นปัญหาเชิงรุกเพื่อแก้ปัญหาการทั้งการนำเข้าและการส่งออก เพิ่มมูลค่าต่อผลผลิตของสินค้าเกษตรด้านพืช

นางสาวชลธิชา รักใคร่
หัวหน้าโครงการวิจัยฯ

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	1
ผู้วิจัย	2
บทนำ	3
บทคัดย่อ	24
การทดลอง	
การทดลองที่ 1 การศึกษาสถานภาพของรา <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>elaeidis</i> (Foe) ในประเทศไทย	26
การทดลองที่ 2 การศึกษาสถานภาพรา <i>Sporisorium reilianum</i> (J.G.Kühn) angdon & Full สาเหตุโรค Head smut ของข้าวโพดในประเทศไทย	59
การทดลองที่ 3 การศึกษาสถานภาพแบคทีเรีย <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>nebraskensis</i> สาเหตุโรค Goss's Bacterial Wilt and Leaf Blight ของข้าวโพดในประเทศไทย	85
การทดลองที่ 4 การศึกษาสถานภาพเชื้อแบคทีเรีย <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>sepedonicus</i> สาเหตุโรค Potato Ring Rot ของมันฝรั่งในประเทศไทย	103
การทดลองที่ 5 การศึกษาสถานภาพเชื้อไวรัส <i>Tomato black ring virus</i> (TBRV) และ <i>Tomato ringspot virus</i> (TRSV) ของมะเขือเทศในประเทศไทย	110
การทดลองที่ 6 การศึกษาสถานภาพเชื้อไวรอยด์ <i>Mexican papita viroid</i> , <i>Tomato apical stunt viroid</i> , <i>Tomato planta macho viroid</i> , <i>Pepper chat fruit viroid</i> ของพริกและมะเขือเทศในประเทศไทย	120
การทดลองที่ 7 การศึกษาสถานภาพไส้เดือนฝอย <i>Meloidogyne chitwoodi</i> และ <i>Meloidogyne fallax</i> ของมันฝรั่งในประเทศไทย	125
การทดลองที่ 8 การศึกษาสถานภาพของวัชพืช <i>Polygonum aviculare</i> L. และ <i>Polygonum convolvulus</i> L. ในแปลงกะหล่ำปลีและกะหล่ำดอก	133
การทดลองที่ 9 การศึกษาสถานภาพไร <i>Aceria guerreronis</i> Keifer ในประเทศไทย	141
การทดลองที่ 10 การศึกษาสถานภาพแมลงวันทอง <i>Bactrocera carambolae</i> (Drew & Hancock) ในประเทศไทย	169
การทดลองที่ 11 การศึกษาสถานภาพของเชื้อไวรัส <i>Sri Lankan cassava mosaic virus</i> (SLCMV) สาเหตุโรคใบด่างมันสำปะหลังในประเทศไทย	187
การทดลองที่ 12 การศึกษาสถานภาพรา <i>Bipolaris zeicola</i> (G.L.Stout) Shoemaker สาเหตุโรค Northern Corn Leaf Spot ในประเทศไทย	207

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
การทดลองที่ 13 การศึกษาสภาพเชื้อแบคทีเรีย <i>Burkholderia glumae</i> สาเหตุโรค Bacterial Panicle Blight ในประเทศไทย	225
การทดลองที่ 14 การศึกษาสภาพแบคทีเรีย <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i> สาเหตุโรค Bacterial speck ในประเทศไทย	234
การทดลองที่ 15 การศึกษาสภาพเชื้อไวรัส <i>Maize dwarf mosaic virus</i> ในประเทศไทย	244
การทดลองที่ 16 การศึกษาสภาพเชื้อไวรัส <i>Pepper mild mottle virus</i> ในประเทศไทย	253
การทดลองที่ 17 การศึกษาสภาพของเชื้อไวรัส <i>African cassava mosaic virus</i> (ACMV) ในประเทศไทย	259
การทดลองที่ 18 การศึกษาสภาพเชื้อแบคทีเรีย <i>Xylella fastidiosa</i> ของงูใน ประเทศไทย	271
การทดลองที่ 19 การศึกษาสภาพด้วงพู่เรือโรส <i>Pantomorus cervinus</i> (Boheman) ของพืชตระกูลส้มในประเทศไทย	286
การทดลองที่ 20 การศึกษาสภาพเพลี้ยหอย <i>Aspidiotus nerii</i> Bouché ของพืชตระกูล ส้มในประเทศไทย	298
การทดลองที่ 21 การศึกษาสภาพวัชพืช <i>Chenopodium album</i> L. ของพืชผักใน ประเทศไทย	313
การทดลองที่ 22 การศึกษาสภาพไส้เดือนฝอยศัตรูพืช <i>Meloidogyne thailandica</i> ในชิงของประเทศไทย	325
การทดลองที่ 23 การศึกษาสภาพเชื้อแบคทีเรีย <i>Pseudomonas fuscovaginae</i> สาเหตุโรค Brown sheat rot ของข้าวในประเทศไทย	336
การทดลองที่ 24 การศึกษาสภาพของเชื้อไวรัส <i>Lettuce mosaic virus</i> สาเหตุ โรคใบด่างผักกาดหอมในประเทศไทย	343
บทสรุปและข้อเสนอแนะ	365
บรรณานุกรม	366

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช) และสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ที่สนับสนุนงบประมาณโครงการวิจัย คุณอุตร อุณหวุฒิ และคุณสุรพล ยินอัศวพรรณ ที่ปรึกษาโครงการวิจัย คณะกรรมการที่ปรึกษาด้านวิชาการ คณะกรรมการบริหารงานวิจัย สำนักวิจัยพัฒนาการ อารักขาพืช ที่ช่วยพิจารณาแก้ไข ให้คำปรึกษา และให้คำแนะนำในการจัดทำโครงการวิจัยการศึกษาสถานภาพ ศัตรูพืชกักกันในประเทศไทย และบุคลากรที่ช่วยปฏิบัติงานวิจัยทั้งข้าราชการ พนักงานราชการ ลูกจ้างประจำ และพนักงานจ้างเหมา ที่ช่วยให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

กรมวิชาการเกษตร

ผู้วิจัย

ชลธิชา รักใคร่^{1/} พรพิมล อธิปัญญาคม^{2/} ณัฐธิมา โฆษิตเจริญกุล^{3/} ชนินทร ดวงสะอาด^{3/}
 สิทธิศักดิ์ แสนไพศาล^{3/} เยวภา ตันติวานิช^{3/} ภูวนารถ มณีโชติ^{3/} ไตรเดช ข่ายทอง^{3/} อัญญา พรพมา^{4/}
 พลอยชมพู กรวิภาสเรือง^{5/} สัญญาณี ศรีคชา^{6/} กาญจนา วาระวิชนะ^{3/} ธิดาวรรณ ชมเดช^{1/} ดนัย ชัยเรือนแก้ว^{1/}
 ชุติมา อ้อมกิ่ง^{1/} ธิติยา สารพัฒน์^{3/} ปรียพรรณ พงศาพิชณ์^{1/}

Chonticha Rakkrai^{1/} Pornpimon Athipunyakom^{2/} Nuttima Kositcharoenkul^{3/} Chanintorn Doungsa-ard^{3/}
 Sitthisak Saepaisal^{4/} Yaowapa Tantiwanich^{3/} Puwanart Maneechote^{3/} Tridate Khaithong^{3/}
 Ansaya Promma^{5/} Ploychompoo Konvipasruang^{6/} Sanyanee Srikacha^{7/} Kanjana Warawichanee^{3/}
 Tidawan chomdech^{1/} Danai Chaireunkaew^{1/} Chutima Ormking^{1/}
 Thitiya Sarapat^{3/} Preyapan Pongsapich^{1/}

^{1/} กลุ่มวิจัยการกักกันพืช

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/} ผู้เชี่ยวชาญ

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{3/} กลุ่มวิจัยโรคพืช

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{4/} ศูนย์วิจัยและพัฒนากาเกษตรระนอง

สำนักวิจัยวิจัยและพัฒนากาเกษตรเขตที่ 7

^{5/} กลุ่มวิจัยวัชพืช

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{6/} กลุ่มกีฏและสัตววิทยา

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{7/} กลุ่มบริหารศัตรูพืช

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทนำ

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

ประเทศเกือบทุกประเทศที่เป็นสมาชิกขององค์การการค้าโลก (WTO) ได้นำมาตรการสุขอนามัยพืชมาใช้เป็นข้อต่อรองในการส่งออกและนำเข้า โดยที่ประเทศผู้ส่งออกต้องส่งบัญชีรายชื่อศัตรูพืชของพืชส่งออกและข้อมูลของศัตรูพืชแต่ละชนิดตามความต้องการของประเทศผู้นำเข้า เพื่อทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ก่อนที่จะอนุญาตให้สินค้าเกษตรนั้นๆ เข้าประเทศ ขณะเดียวกันประเทศผู้นำเข้าจำเป็นต้องมีข้อมูลบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่นำเข้ามาด้วย การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชโดยการศึกษาและการสำรวจแบบติดตามข้อมูลศัตรูพืชในแหล่งปลูกเพื่อเป็นการเฝ้าระวัง (Surveillance) เป็นกระบวนการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชชนิดใดชนิดหนึ่งในพื้นที่ ซึ่งการรวบรวมข้อมูลนั้นสามารถทำได้ 2 แบบ ได้แก่การเฝ้าระวังโดยทั่วไป (general surveillance) โดยการค้นคว้าข้อมูลจากแหล่งข้อมูล ได้แก่ ข้อมูลข่าวสารศัตรูพืชที่มีรายงานในประเทศ เช่นจาก หน่วยงานภาครัฐ มหาวิทยาลัย ภาคเอกชน ตลอดจนข่าวสารจากแหล่งข้อมูลขององค์กรระหว่างประเทศ เช่น องค์การอาหารและเกษตรแห่งชาติ (Food and Agriculture Organization, FAO) องค์การอารักขาพืชระดับภูมิภาค (Regional Plant Protection Organization, RPPOs) และอื่น ๆ การเฝ้าระวังโดยการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific surveys) สามารถดำเนินการโดยการสำรวจแบบตรวจหา (detection surveys) และการสำรวจแบบมีขอบเขต (delimiting surveys) (McMaugh, 2005) ประโยชน์ของการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจงทั้ง 2 วิธีนี้นอกจากจะสามารถบอกถึงสถานการณ์ของศัตรูพืชในพื้นที่แล้วยังสามารถใช้ข้อมูลที่ได้เป็นการรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืชในกรณีที่ไม่พบศัตรูพืชในพื้นที่นั้นๆ เมื่อมีการรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืชแล้ว การที่จะคงสภาพพื้นที่ปลอดศัตรูพืชจะต้องมีการสำรวจแบบตรวจหาอย่างเป็นระบบข้อมูลต่าง ๆ ที่ได้จากการสำรวจติดตามศัตรูพืชเพื่อการเฝ้าระวังนี้จะส่งให้องค์การอารักขาพืชแห่งชาติ (National Plant Protection Organization, NPPO) นำไปใช้ประโยชน์ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการเฝ้าระวังนี้สามารถนำไปใช้ในด้านต่าง ๆ เช่น ใช้ในการสนับสนุนการออกประกาศเรื่องการปลอดศัตรูพืช ตลอดจนที่ดำเนินการโดย NPPO เป็นกระบวนการช่วยตรวจหาศัตรูพืชชนิดใหม่ได้ทันเวลา การให้การรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืช เป็นต้น การสำรวจ ติดตามและตรวจสอบศัตรูพืชเป็นงานพื้นฐานที่มีความจำเป็นสำหรับใช้ในการดำเนินการด้านอื่นๆ อีก เช่น Pest Risk Analysis, Establishment for pest free area, Pest list, Pest

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

เชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis* (Foe) เป็นสาเหตุโรคเหี่ยวของปาล์มน้ำมันสาเหตุเกิดจากรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis* (Foe) พบระบาดครั้งแรกในเขตตอนกลางและตะวันตกของประเทศแอฟริกา ได้แก่ประเทศไนจีเรีย กานา คาเมรูน และคองโก (Oritsejafor, 1989) ต่อมามีการแพร่ระบาดเข้ามาในประเทศบราซิล และเอกวาดอร์ (Van de Lande, 1984) แต่ไม่พบการระบาดของโรคนี้นี้ในประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ราเข้าทำลายท่อน้ำของพืชซึ่งเป็นโรคที่ทำให้เกิดอาการรุนแรงมาก โดยเฉพาะปาล์มน้ำมันที่จะปลูกใหม่ (Corley and Tinker, 2003) นอกจากราเข้าทำลายปาล์มน้ำมันแล้ว ยังพบว่าราชนิดนี้สามารถทำให้เกิดโรคได้กับ South American palm (*E. oleifera*) โดยวิธีปลูกเชื้อ (Renard *et al.*, 1980) รา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* เป็นราดิน สร้าง macroconidia และ microconidia ตลอดจนสร้าง chlamydospores ที่สามารถมีชีวิตอยู่รอดในดินและเศษซากพืชเป็นเวลานานราชนิดนี้เข้าทำลายรากปาล์ม น้ำมันและเจริญเข้าไปตามท่อน้ำของพืช ทำให้เกิดความไม่สมดุลของน้ำกับฮอร์โมนพืช ถ้ามีอาการรุนแรงมาก จะทำให้ผลผลิตลดลงและต้นตายในที่สุด ซึ่งแตกต่างจากรา *Ganoderma* ที่เข้าทำลายรากในเซลล์ชั้นคอร์เท็กซ์ และรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* จะเข้าไปทำลายท่อน้ำที่อาหารทำให้เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และสามารถแยกเชื้อได้ง่ายจากส่วนของท่อน้ำ และราชนิดนี้จะมีลักษณะเด่นในการย่อยสลายเศษซากพืชต่างๆ ได้สูงมาก ทำให้สามารถที่จะเข้าไปทำลายพืชปลูกได้ง่ายและรวดเร็ว ซึ่งตรงกันข้ามกับรา *Ganoderma* เป็นราที่เจริญช้ามากในสภาพปลอดเชื้อ และจะเข้าทำลายพืชช้ากว่า *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* (Rees *et al.*, 2007) อย่างไรก็ตามเชื้อทั้งสองชนิดนี้ก็เป็โรคที่สำคัญกับปาล์มน้ำมัน สำหรับประเทศไทยเราพบรา *Ganoderma boninense* เป็นสาเหตุโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมัน และยังไม่พบรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* ในประเทศไทย เชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* สามารถปนเปื้อนติดไปกับเมล็ดและละอองเกสร ซึ่งทำให้มีความเสี่ยงสูงมากสำหรับการที่จะติดไปกับส่วนที่ขยายพันธุ์ เพราะฉะนั้นทางหน่วยกักกันพืชของของประเทศแอฟริกาจะต้องทำการคลุกเมล็ดปาล์มน้ำมันด้วยสารป้องกันกำจัดโรคพืชก่อนและมีการพัฒนาการตรวจสอบเชื้อโดยเทคนิค PCR ในการตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อในเมล็ดปาล์มน้ำมัน (Cooper, R.M., 2011)

เชื้อรา *Sporisorium reilianum* (J.G.Kühn) angdon & Full เป็นเชื้อสาเหตุโรคราเขม่าดำที่เข้าทำลายข้าวโพดมี 2 ชนิด ได้แก่ รา *Ustilago maydis* เป็นสาเหตุของโรค common smut อีกชนิดหนึ่งได้แก่ รา *Sporisorium reilianum* เป็นสาเหตุของโรค Head smut สำหรับรา *U. maydis* สามารถเข้าทำลายทุกส่วนของพืชที่อยู่เหนือดิน ได้แก่ ลำต้น ใบ ฝัก และเกสรตัวผู้ ราจะสร้างปมภายในมีสปอร์สีดำอัดกันแน่นอยู่ภายในและมีผนังหุ้มอยู่ โรคเขม่าดำของข้าวโพดพบระบาดทั่วโลกทำความเสียหายทำให้ผลผลิตลดลงถึง 10% ความเสียหายเกิดเมื่อเมล็ดเกิดการโป่งพอง (gall) ในข้าวโพดหวานจะอ่อนแอต่อโรคมกกว่า (Bartczak, 2012) ในการผลิตข้าวโพดหวานอุตสาหกรรมต้นทุนในการผลิตจะเพิ่มขึ้นกล่าวคือจะต้องเพิ่มต้นทุนเป็นค่าใช้จ่ายในการคัดเลือกส่วนที่เป็นโรคทิ้งไป และต้องทำความสะอาดผลผลิตเพื่อกำจัดสปอร์ของราที่ปนเปื้อน และทำความสะอาดเครื่องมือที่ปนเปื้อนเชื้อราสาเหตุ เช่นเดียวกันในแปลงปลูกในระยะเก็บเกี่ยวจะต้องเพิ่มต้นทุนในการคัดแยกฝักที่มีเชื้อสาเหตุออก การใช้สารป้องกันกำจัดโรคไม่ได้ผลในการป้องกันกำจัดโรค (Clough *et al.*, 2001, 2003) ประเทศออสเตรเลียพบโรคเขม่าดำ (maize boil smut) ตั้งแต่ปี 1911 ที่ Bathurst ใน New South Wales เพื่อเป็นการ

ป้องกันกำจัดโรคได้ออกมาตรการให้ทำลายข้าวโพดที่เป็นโรคให้หมดและในพื้นที่ดังกล่าวไม่ให้ปลูกข้าวโพดเป็นเวลานานถึง 10 ปี แต่เชื้อราสาเหตุยังคงอยู่ในพื้นที่ดังกล่าวทำให้เกิดโรคอีกในปี 1935 และ 1940 จึงต้องดำเนินการทำลายพืชที่เป็นโรคและออกมาตรการห้ามปลูกข้าวโพดในพื้นที่นี้เป็นเวลา 25 ปี ส่วนในพื้นที่ไม่เคยปรากฏโรคเขม่าดำจะต้องใช้เมล็ดพันธุ์ที่ปราศจากโรคและคลุกเมล็ดก่อนปลูกด้วยสารป้องกันกำจัดโรคพืช (Pataky and Snetselaar, 2006) Levitin (2009) รายงานถึงความเสียหายเนื่องจากโรคเขม่าดำของข้าวโพดในรัสเซียและประเทศเพื่อนบ้าน พบว่าอาการของโรคจะรุนแรงเมื่อราเข้าทำลายฝักและลำต้นทำให้ผลผลิตลดลง 20-30% ทางใต้และตะวันออกเฉียงใต้ของคาซัคสถานความเสียหายมากถึง 53% ความเสียหายมากหรือน้อยมีสาเหตุจาก ระยะเวลาที่ราเข้าทำลาย ส่วนของพืชที่ราเข้าทำลาย จำนวนและขนาดของปุ่มปมที่เกิด เมื่อราเข้าทำลายฝักผลผลิตลดลงถึง 48.7% และผลผลิตลดลงเพียง 25% เมื่อราเข้าทำลายที่ลำต้น จากการสำรวจพบลักษณะของปมที่ราสร้างขึ้นพบว่า ปมขนาดใหญ่จะทำให้ผลผลิตลดลงถึง 60% ในขณะที่ปมขนาดเล็กผลผลิตลดลงเพียง 10% และยังพบว่าข้าวโพดที่ถูกราเขม่าดำเข้าทำลายจะอ่อนแอต่อโรคลำต้นใหม่ (stem blight) *Sporisorium reilianum* เข้าทำลายข้าวโพดทำให้เกิดอาการของโรคที่เรียกว่า head smut จะพบอาการโรคบนฝักและไหมข้าวโพดเท่านั้น พบราสาเหตุ 2 สายพันธุ์ สายพันธุ์แรกจะเข้าทำลายเฉพาะข้าวโพดเท่านั้น ส่วนสายพันธุ์ที่ 2 จะเข้าทำลายข้าวฟ่าง และหญ้าชูดาน พบระบาดในแหล่งปลูกทั่วไปในอเมริกาโดยเฉพาะทางตะวันตกเฉียงใต้ ในช่วงปี 1960 พบระบาดรุนแรงที่ไดาโฮ (Idaho) ต่อมาเมื่อมีการใช้พันธุ์ต้านทานและการคลุกเมล็ดพันธุ์ก่อนปลูกก็จะพบโรคน้อยลง ในปัจจุบันดูเหมือนว่าจะพบโรคเพิ่มขึ้นในบางพื้นที่ของอเมริกาโดยเฉพาะบนข้าวโพดหวานและ popcorn การเกิดโรค head smut จะมีความสัมพันธ์กับระดับไนโตรเจนที่พืชได้รับเช่นเดียวกับ common smut (Mohan *et al.*, 2013) ด้านการป้องกันกำจัดโรคในขณะนี้คือการเก็บเศษซากพืชที่เป็นโรคออกทำลายปลูกพืชหมุนเวียน คัดเลือกเมล็ดพันธุ์ที่ปลอดโรคและคลุกเมล็ดด้วยสารป้องกันกำจัดโรคก่อนปลูก และใช้พันธุ์ต้านทาน

เชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *nebraskensis* เป็นสาเหตุโรคเหี่ยว (Goss's bacterial wilt) หรือ โรคใบไหม้ (leaf blight) ในข้าวโพด เกิดจากเชื้อ *Clavibacter michiganensis* subsp. *nebraskensis* มีลักษณะอาการของโรคปรากฏอาการแฉะแกร็นและต้นเหี่ยว หรือปรากฏใบไหม้โดยพบใบมีเส้นสีเขียวอมเทาไปจนถึงแถบเหลืองเป็นคลื่นหรือขอบไม่เรียบขนานไปกับเส้นใบ ลักษณะอาการของโรคที่เฉพาะสำหรับโรคนี้คือใบมีจุดแผลฉ่ำน้ำพัฒนาไปตามเส้นใบ จุดแผลมีสีเขียวเข้มถึงดำและเมื่อใบที่เป็นโรคเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล อาจมีหยดแบคทีเรียปรากฏขึ้นบนเนื้อเยื่อที่เป็นโรค ส่วนลำต้นพบอาการเนื้อเยื่อบริเวณท่อน้ำท่ออาหารเปลี่ยนสีและ เน่าและเชื้อสาเหตุโรคสามารถเข้าทำลายต้นข้าวโพดได้ทุกระยะของการเจริญเติบโตถ้าเชื้อเข้าทำลายในระยะต้นกล้าจะเหี่ยวและตาย (CPC, 2007) โรคเหี่ยว Goss's bacterial wilt ถูกค้นพบครั้งแรกในเมืองเนบราสก้า, สหรัฐอเมริกาในปี 1969 และได้แพร่กระจายไปทั่วแหล่งปลูกข้าวโพดในสหรัฐอเมริกา มีรายงานการพบโรคนี้ที่พบในแคนาดาในช่วงฤดูปลูก 1999 แต่จากการสำรวจประจำปีหลังจากนั้นในเมืองออนตาริโอและควิเบกไม่พบโรคนี้แล้ว (Zhu *et al.*, 2005) แบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis* มีพืชอาศัยที่สำคัญได้แก่ข้าวโพด ข้าวฟ่างและ อ้อย (CPC, 2007) มีคุณสมบัติเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างเซลล์สั้นเป็นท่อน แต่อาจพบรูปร่างเป็นวงรี หรือเป็นรูปกล้วยในบางครั้ง ขนาดของเซลล์มีขนาด 0.5 x 2.0 ไมครอน (Schuster, 1975; Vidaver and Mandel, 1974) แบคทีเรียสามารถอยู่ข้ามฤดูได้โดยอยู่ในเศษซากข้าวโพดที่อยู่ในแปลงปลูกเมื่อปลูกข้าวโพดในฤดูถัดไปทำให้เกิดการระบาดได้ (Schuster, 1975) Smidt and Vidaver (1986) ได้ศึกษาประชากรของแบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis* ในแปลงที่มีการระบาดของโรค Goss's wilt ในฤดูการที่ผ่านมาพบว่าสามารถตรวจพบแบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis* จากดินและเศษซากพืชในแปลงปลูกในปี 1982-1983 ที่เมืองเนบราสก้า สหรัฐอเมริกาและประชากรของแบคทีเรียในซากพืชจะสูงในระยะเก็บเกี่ยวในเดือนตุลาคม จะลดลงเมื่อเข้าสู่ฤดูหนาว แบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp.

nebraskensis สามารถถ่ายทอดได้ทางเมล็ด ได้มีการศึกษาการถ่ายทอดโรคพบว่าสามารถตรวจพบแบคทีเรียในเมล็ดทั้งภายนอกและภายในและอาจพบได้ในบริเวณใกล้เคียงของเนื้อเยื่อเอนโดสเปิร์ม คัพภะ และ เนื้อเยื่อที่กั้นระหว่างคัพภะกับเอนโดสเปิร์ม (scutellum) (Biddle *et al.*, 1990; Schuster, 1975) ความเข้มข้นของแบคทีเรียที่มีมากที่สุดอยู่ที่ฐานของเมล็ด (Schuster, 1975) แบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis* เมื่อติดไปกับเมล็ดจะทำให้ลดการงอกของเมล็ดลง (Schuster, 1975) Gross and Vidaver (1979) ได้รายงานการใช้อาหารที่เหมาะสม semi-selective medium CNS ในการแยกแบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *Nebraskensis* จากตัวอย่างพืชและดินโดยจะได้แบคทีเรียโคโลนีสีเหลืองอมส้ม มีเมือก ขอบเรียบ เป็นประกาย โคลนมีผิวคล้ายเนย มีขนาด 4 มม. หลังจาก 6 วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส Pastrik and Rainey (1999) ได้พัฒนาเทคนิค PCR ที่เฉพาะเจาะจงต่อแบคทีเรียในกลุ่ม *C. michiganensis* โดย primer ที่ใช้สามารถแยกความแตกต่างของ 5 ชนิด ได้ด้วยขนาดของชิ้นดีเอ็นเอที่เฉพาะเจาะจง *C. michiganensis* subsp. *sepedonicus* ได้ขนาด 502 bp, *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* ขนาด 210 bp, *C. michiganensis* subsp. *insidiosus* ขนาด 393 bp, *C. michiganensis* subsp. *tessellarius* ขนาด 587 bp และ *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis* ขนาด 393 bp.

เชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* เป็นสาเหตุโรคเน่าวงแหวนของมันฝรั่งเชื้อสามารถเข้าทำลายระบบท่อลำเลียงทั้งในส่วนลำต้นและหัว โดยอาการที่ต้นจะแสดงที่ใบ มีอาการใบเหี่ยวเหลือง ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและแสดงอาการใบไหม้ ขอบใบแห้งม้วนงอขึ้น เนื่องจากท่อลำเลียงน้ำถูกกีดขวาง บางครั้งต้นมันฝรั่งไม่แสดงอาการเหี่ยวแต่ใบมีขนาดเล็กลงและต้นแคระแกรนอาการที่หัวเนื้อเยื่อบริเวณท่อลำเลียงจะมีลักษณะใสหรือซีด เนื้อเยื่อไม่ละเอียดหรือนิ่ม โดยเฉพาะบริเวณส่วนหัวที่ติดกับ rhizome ที่เรียกว่า heel end ซึ่งเนื้อเยื่อของท่อลำเลียงบริเวณนี้จะมีสีเข้มกว่าปกติ ในระยะเริ่มแรกนั้นอาการอาจจะเริ่มที่ส่วนหนึ่งส่วนใดของท่อลำเลียง โดยไม่จำเป็นต้องเกิดใกล้ heel end และอาการก็จะขยายลุกลามออกไปจนจนจรดรอบวงของท่อลำเลียง เมื่อเนื้อเยื่อบริเวณนี้ถูกทำลายทำให้ outer cortex และ inner cortex แยกออกจากกัน เมื่อผ่าหัวมันฝรั่งตามขวางและบีบจะมีของเหลวสีครีมคล้ายเนย ไม่มีกลิ่น ออกมาตามท่อลำเลียงในกรณีมีอาการของโรครุนแรงจะพบรอยแตกที่ผิวนอกของหัวมันฝรั่ง โดยขอบของรอยแผลนั้นมักจะมีสีน้ำตาลอมแดง (EPPO, 2006) เชื้อ *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (*cms*) เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกไม่เคลื่อนที่ไม่สร้างสปอร์ มีขนาดเล็กประมาณ 0.4-0.6 x 0.8-1.2 ไมโครเมตร รูปร่างเซลล์เป็นแท่ง coryneform โค้งพองเล็กน้อยอยู่เดี่ยวๆ หรือเป็นคู่รูปตัว L หรือ V เจริญซำอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญของเชื้อคือ 21 องศาเซลเซียส และเชื้ออาจตายได้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส (EPPO, 2006) เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียทั่วไปยาก แต่สามารถเจริญได้บนอาหารเฉพาะ NCP-88 โดยสามารถมองเห็นโคโลนี (colony) ของเชื้อ *Cms* บนอาหาร NCP-88 ได้ภายใน 5 วัน หลังจากเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยโคโลนีจะมีขนาดประมาณ 0.5-1.5 มิลลิเมตร หลังจากเลี้ยงเชื้อไป 7-10 วัน ลักษณะโคโลนี มีทั้งแบบกลมและรูปร่างไม่แน่นอน ขอบเรียบ สีขาวหรือครีม นูนเป็นเมือกมันวาว สีของโคโลนีเชื้อจะเปลี่ยนเป็นสีค่อนข้างเหลืองเมื่ออายุ 10-12 วัน (de la Cruz *et al.*, 1992) เชื้อ *Cms* สามารถย่อยสลายแป้ง ใช้สารอะซิเตท ซิเตรท และซัคซิเนท สร้างกรดจากน้ำตาลแมนนิทอล และซอร์บิทอล (Antundag *et al.*, 2008) การแยกเชื้อ *Cms* ในต้นและหัวมันฝรั่งทำได้ยากเนื่องจากเชื้อเจริญได้ช้า มีจำนวนน้อยอยู่ในลักษณะแฝง และเมื่อทำการแยกเชื้อจากตัวอย่างพืชบนอาหารเลี้ยงเชื้อมักจะถูกเชื้อชนิดอื่นที่เป็น saprophytes เจริญคลุมหมด (de la Cruze *et al.*, 1992) วิธีตรวจสอบเชื้อ *Cms* ในหัวมันฝรั่ง มีทั้งวิธี immunofluorescence หรือ IF (De Boer and Copeman, 1980) enzyme-linked immunosorbent assay หรือ ELISA (De Boer *et al.*, 1988) และ polymerase chain reaction หรือ PCR (พีซีอาร์) ซึ่งในปัจจุบันได้มีการใช้วิธีพีซีอาร์ที่รวดเร็วและมีประสิทธิภาพมาตรวจสอบเชื้อ *Cms* กันอย่างแพร่หลาย (Firrao and Locci, 1993; Schneider *et al.*, 1993; Li and De Boer, 1995; Lee *et al.*, 1996; Pastrik and Rainey, 1999; Schaad *et*

al., 1999; Pastrik, 2000) แต่วิธีของ Pastrik (2000) นั้นเป็นที่ยอมรับกันมากวิธีหนึ่งและมีการนำวิธีการดังกล่าว มาดัดแปลงเพื่อตรวจสอบและจำแนกเชื้อ *Cms* กันอย่างกว้างขวาง ซึ่งวิธีพีซีอาร์ของ Pastrik นั้นสามารถ ตรวจสอบเชื้อ *Cms* ในปริมาณที่น้อยได้ถึง 2-20CFU ต่อปฏิกิริยาพีซีอาร์ (OEPP/EPPO, 2005)

เชื้อไวรัส *Tomato black ring virus* (ToBRV) และ *Tomato ringspot virus* (ToRSV) เป็นสาเหตุโรค ของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อไวรัสหรือจุลินทรีย์ที่คล้ายมายโคพลาสมาจัดว่าเป็นโรคที่สำคัญ ก่อให้เกิดความเสียหายต่อการปลูกและการผลิตมะเขือเทศมาก หากจะเปรียบเทียบกับโรคที่เกิดจากสาเหตุอื่นๆ ทั้งนี้เนื่องจาก มะเขือเทศเป็นพืชที่ค่อนข้างอ่อนแอต่อการเข้าทำลาย ของเชื้อไวรัสที่เข้าทำลายพืชได้เกือบทุกชนิด ขณะเดียวกันก็จะก่อให้เกิดอาการต่างๆ ขึ้นได้หลายรูปแบบ ไม่ว่าจะเป็นอาการแผลจุด ดวง เป็นเส้นขีดหรือต่าง ลาย เหลืองซีด แคระแกร็น ผิดรูปผิดร่าง ยอดตาเหี่ยวเฉาแห้ง ใบม้วนงอเป็นคลื่นบิดเบี้ยว หรือหย่นไม่ออกดอก ออกผลหรือผลมีลักษณะผิดปกติ (ไทยเกษตร, 2556)

เชื้อไวรัส *Tomato ringspot virus* (ToRSV) มีพืชอาศัยหลักคือ *Fragaria chiloensis* (Chilean strawberry), *Malus domestica* (apple), *Nicotiana tabacum* (tobacco), *Pelargonium* (pelargoniums), *Prunus* (stone fruit), *Prunus armeniaca* (apricot), *Prunus avium* (sweet cherry), *Prunus cerasus* (sour cherry), *Prunus domestica* (plum), *Prunus persica* (peach), *Ribes* (currants), *Rubus* (blackberry, raspberry), *Rubus idaeus* (raspberry), *Vitis* (grape), *Vitis vinifera* (grapevine) มีการ ถ่ายทอดโรคได้ด้วยไส้เดือนฝอย *Xiphinema americanum sensu lato* (Dorylaimidae) และถ่ายทอดได้ด้วยวิธี กล ด้วยการปลูกเชื้อ (inoculation), การ grafting และถ่ายทอดผ่านทางเมล็ด (Oregon.gov, no date) เชื้อ ไวรัส *Tomato black ring virus* (ToBRV) จัดอยู่ใน Family: Comoviridae และ Genus: Nepovirus พบ รายงานครั้งแรกพบในมะเขือเทศ ในประเทศอังกฤษ ปี 1946 ต่อมาพบในพืชหลายชนิด รวมทั้งในวัชพืช พืชอาศัย หลักคือ *Allium cepa* (onion), *Allium porrum* (leek), *Apium graveolens* (celery), *Beta vulgaris* var. *saccharifera* (sugarbeet), *Brassica napus* var. *napobrassica* (swede), *Brassica rapa* subsp. *rapa* (turnip), *Capsicum* (peppers), *Cucumis sativus* (cucumber), *Cynara cardunculus* L. var. *scolymus* (globe artichoke), *Fragaria* (strawberry), *Fragaria ananassa* (strawberry), *Gladiolus hybrids* (sword lily), *Lactuca sativa* (lettuce), *Lycopersicon esculentum* (tomato), *Narcissus* (daffodil), *Phaseolus vulgaris* (common bean), *Prunus persica* (peach), *Ribes* (currants), *Rubus* (blackberry, raspberry), *Solanum melongena* (aubergine), *Solanum tuberosum* (potato), *Vitis vinifera* (grapevine) เชื้อไวรัส ชนิดนี้สามารถถ่ายทอดได้โดยไส้เดือนฝอย *Longidorus* และสามารถถ่ายทอดผ่านทางเมล็ดทำให้พืชได้รับ ผลกระทบตั้งแต่ระยะต้นกล้า ออกดอก และผล (CPC, 2007) ไวรัสพืชมีอนุภาคขนาดเล็กมากไม่สามารถมองเห็นได้ ด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา ต้องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน มีรูปร่างเป็นท่อน ขนาดความยาวอยู่ในช่วง 180-1200 นาโนเมตร ดังนั้นเชื้อไวรัสจึงยากต่อการวินิจฉัยโรคด้วยสายตาจำเป็นต้องใช้เครื่องมือในห้องปฏิบัติการ ตรวจวินิจฉัยหลายขั้นตอนและหลายวัน ดังนั้นการพัฒนาเทคนิคในการตรวจสอบเชื้อไวรัสให้รวดเร็ว และมีความ ถูกต้อง ชัดเจน และแม่นยำ จึงมีความสำคัญต่อการตรวจวินิจฉัยเชื้อไวรัสที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดของ เจ้าหน้าที่ที่ตรวจสอบเพื่อรับรองการปลอดเชื้อไวรัสที่ติดมากับสินค้าเกษตรนำเข้า และส่งออกเป็นอย่างมาก ซึ่งทำ ให้เจ้าหน้าที่สามารถปฏิบัติงานได้อย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพ ซึ่งสอดคล้องกับนโยบายของกรมวิชาการ เกษตรที่มีวัตถุประสงค์ให้ส่งเสริมการส่งออกสินค้าเกษตรให้เพิ่มมากขึ้น ดังนั้นการศึกษาและพัฒนาวิธีการ ตรวจสอบเชื้อไวรัส *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV) strain a ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด ซึ่งเป็นไวรัสที่ พบมากในข้าวโพด อัตราการเกิดโรคนี้น้อยกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ และสูงถึง 65 เปอร์เซ็นต์ ทำให้สูญเสีย ผลผลิตสูงขึ้นไป ถ้าเกิดโรคและรุนแรงมากในสภาพไร่ โดยเฉพาะข้าวโพดหวาน ไวรัสนี้พบอยู่สอง strain คือ

strain a และ strain b (Douglas, 1988) จึงมีประโยชน์ในการพัฒนาต่อไปในเชิงพาณิชย์และมีความสำคัญต่องานทางด้านกักกันพืช และหน่วยงานกักกันพืชระหว่างประเทศเป็นอย่างมาก

เชื้อไวรอยด์ *Mexican papita viroid*, *Tomato apical stunt viroid*, *Tomato planta macho viroid*, *Pepper chat fruit viroid* ปรีเชษฐ์ และคณะ (2548) ได้นำข้อมูล Bioinformatics และข้อมูลจีโนม จาก GenBank มาใช้ในการออกแบบไพรเมอร์ที่จำเพาะสำหรับการตรวจสอบเชื้อไวรอยด์ ในกลุ่ม Pospiviroid จำนวน 6 ชนิด คือ *Cummea latent viroid* (CLVd), *Tomato apical stunt viroid* (TASVd), *Mexican papita viroid* (MPVd), *Tomato planta macho viroid* (TPMVd), *Potato spindle tuber viroid* (PSTVd) and *Tomato chlorotic dwarf viroid* (TCDVd) ด้วยเทคนิค RT-PCR คือ PC2 (cPC2: TGTTTCWRCDGGGATTACT CCTG / hPC2: GGGTTTTACCCCTTCCTTTC) ซึ่งได้ทำการตรวจสอบมะเขือเทศ สายพันธุ์ Rutgers ที่ถูกเข้าทำลายด้วยเชื้อไวรอยด์ และได้ขึ้น cDNA ของ *Cummea latent viroid* (CLVd) ขนาด 368 นิวคลีโอไทด์ ซึ่งไพรเมอร์นี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการตรวจสอบศัตรูพืชกักกันได้

เชื้อไวรอยด์ *Pepper chat fruit viroid* (PCFVd) เป็น Pospiviroid พบครั้งแรกในการเพาะปลูกพริกในประเทศเนเธอร์แลนด์ในปี 2006 และมีรายงานการพบโรคนี้เฉพาะที่ประเทศไทยและแคนาดาเท่านั้น กลไกของการแพร่ระบาดไปในประเทศต่างๆ ยังไม่เป็นที่แน่ชัดนัก คาดว่ามีการระบาดไปกับเมล็ดพันธุ์พริกที่มีการสั่งซื้อไปยังแหล่งปลูกประเทศต่างๆ และอาจจะรวมถึงระบาดไปกับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศด้วย Pospiviroid ชนิดอื่นๆ ก็เป็นสาเหตุการเกิดโรคในพริกและมะเขือเทศ และบางรายงานแสดงให้เห็นว่าสามารถก่อให้เกิดโรคในมันฝรั่งด้วย ซึ่งเชื้อไวรอยด์ในกลุ่มนี้ ก็ถือว่าเป็นภัยต่อการปลูกพืชในระดับนานาชาติเลยทีเดียว (Biosecurity SA October, 2013) มีรายงานการแพร่กระจายของไวรอยด์ในจีนัส Pospiviroid (family Pospiviroidae) ที่พบในไม้ดอกไม้ประดับ และพืชผักในหลายประเทศในยุโรปนั้นมีมากขึ้นและเกิดอย่างรวดเร็ว และการตรวจสอบโรคที่มีประสิทธิภาพดีก็ขึ้นอยู่กับขึ้นอยู่กับ bioinformatics analyses ของเชื้อได้มีการพัฒนา digoxigenin-labeled polyprobe (POSPIprobe) สำหรับเทคนิค dot-blot and Northern-blot hybridization เพื่อใช้ตรวจสอบเชื้อ *Potato spindle tuber viroid*, *Citrus exocortis viroid*, *Cummea latent viroid*, *Mexican papita viroid*, *Tomato planta macho viroid*, *Tomato apical stunt viroid*, *Pepper chat fruit viroid* และ *Chrysanthemum stunt viroid* ข้อจำกัดการตรวจด้วย POSPIprobe นั้นอยู่ที่การเตรียมกรดนิวคลีอิกที่ได้จากการสกัดฟีนอลและ silica-capture ซึ่ง POSPIprobe สามารถตรวจสอบ pospiviroid ได้ 2 ชนิด คือ *Tomato chlorotic dwarf viroid* and *Iresine viroid-1* เทคนิค Dot-blot ด้วย POSPIprobe นั้นมีการทดสอบจากตัวอย่าง มะเขือเทศ เบญจมาศ *argyranthemum* ที่เป็นโรคจำนวน 68 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นการยืนยันประสิทธิภาพของ polyprobe นี้สามารถใช้ในการตรวจสอบเพื่อการรับรองที่เกี่ยวข้องกับการกักกันและการสำรวจโรค (Torchetti et al, 2012)

ไส้เดือนฝอย *Meloidogyne chitwoodi* และ *Meloidogyne fallax* เป็นไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne chitwoodi* Golden, O'Bannon, Santo & Finley (Columbia root-knot nematode) และ *Meloidogyne fallax* Karssen (False Columbia root-knot nematode) เป็นไส้เดือนฝอยศัตรูพืชกักกันประเภท A2 ของ European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO) ซึ่งจัดเป็นศัตรูพืชกักกันที่พบในพื้นที่ สำหรับประเทศไทยไส้เดือนฝอยรากปม *M. chitwoodi* อยู่ในรายชื่อไส้เดือนฝอยศัตรูพืชกักกันเช่นเดียวกัน แต่ยังไม่มียางานการตรวจพบไส้เดือนฝอย *M. chitwoodi* และ *M. fallax* ในประเทศไทย ไส้เดือนฝอยรากปม *M. chitwoodi* และ *M. fallax* เป็นไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่เข้าทำลายพืชทั้งใบเลี้ยงคู่และใบเลี้ยงเดี่ยวหลายชนิด เช่น มันฝรั่ง แครอท มะเขือเทศ (Santo et al., 1980; O'Bannon et al., 1982; Brinkman et al., 1996; Karssen, 2002) มีรายงานการพบ *M. chitwoodi* ครั้งแรกในปี ค.ศ. 1980 ในแถบ Pacific Northwest ของสหรัฐอเมริกา ปัจจุบันมีรายงานการพบไส้เดือนฝอยชนิดนี้ในประเทศ อาเจนตินา เบลเยียม

เยอรมัน เนเธอร์แลนด์ โปรตุเกส สหรัฐอเมริกา เม็กซิโก และแอฟริกาใต้ สำหรับไส้เดือนฝอย *M. fallax* มีรายงานการพบครั้งแรกในปี 1992 ในประเทศเนเธอร์แลนด์ ซึ่งในระยะแรกคิดว่าเป็น race ใหม่ของ *M. chitwoodi* (Karssen, 1994; van Meggelen *et al.*, 1994) ต่อมาพบว่ามีความแตกต่างกันทางสัณฐานและ isozyme patterns จึงได้มีการจัดจำแนกเป็นชนิดใหม่เป็น *M. fallax* (Karssen, 1996) หลังจากการพบครั้งแรกก็มีรายงานการพบ *M. fallax* อีกหลายแห่งในแหล่งปลูกมันฝรั่งแถบตะวันออกเฉียงใต้ของประเทศเนเธอร์แลนด์ (Karssen, 1996) ใกล้กับชายแดนของประเทศเยอรมันและเบลเยียม และมีรายงานการพบในประเทศฝรั่งเศส (Daheret *et al.*, 1996) นอกจากนี้ยังพบในประเทศอื่นๆ เช่น นิวซีแลนด์ ออสเตรเลีย และแอฟริกาใต้ (Marshall *et al.*, 2001; Nobbs *et al.*, 2001; Fourie *et al.*, 2001) ไส้เดือนฝอยรากปม *M. chitwoodi* และ *M. fallax* เข้าทำลายพืชเช่นเดียวกับไส้เดือนฝอยรากปมชนิดอื่นๆ สามารถชักนำเซลล์รากพืชให้สร้าง feeding site และทำให้พืชเกิดปุ่มปม เมื่อระบบรากถูกทำลายพืชจะแสดงอาการอ่อนแอ แคระแกร็น ใบซีด จากการได้รับน้ำและแร่ธาตุไม่เพียงพอ ไส้เดือนฝอยทั้ง 2 ชนิดทำความเสียหายต่อรากและส่วนใต้ดินของพืช เช่น มันฝรั่ง แครอท ทำให้เกิดความเสียหายด้านคุณภาพ ความเสียหายเชิงปริมาณยังไม่ชัดเจน ระดับความเสียหายของหัวมันฝรั่ง (Van Riel, 1993) และแครอท (Wesemael & Moens, 2008) ขึ้นกับชนิดของพันธุ์ ความหนาแน่นของประชากร ไส้เดือนฝอยในดิน อุณหภูมิ ฤดูปลูก และชนิดดิน จำนวนรุ่น (generation) ของไส้เดือนฝอยรากปมต่อฤดูปลูกก็มีส่วนสำคัญต่อระดับความเสียหาย

วัชพืช *Polygonum aviculare* L. และ *Polygonum convolvulus* L. เป็นศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืชของประเทศไทยสืบเนื่องจากหน่วยงานกักกันพืชประเทศนิวซีแลนด์แจ้งให้ประเทศไทยทราบว่าวัชพืชทั้งสองชนิดดังกล่าวเป็นวัชพืชที่แพร่ระบาดทั่วไปในประเทศนิวซีแลนด์ซึ่งเป็นเขตอบอุ่นเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตขึ้นปะปนกับพืชผักและรวมทั้งพืชสำคัญทางเศรษฐกิจอื่นๆ เช่น ข้าวโพดและข้าวฟ่าง (CPC, 2007) ซึ่งยากต่อการคัดเลือกให้บริสุทธิ์ ทางนิวซีแลนด์ขอให้ประเทศไทยยอมรับให้มีระดับการปนเปื้อนเข้ามาได้แต่ประเทศไทยไม่อนุญาต ดังนั้นจึงจำเป็นต้องติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้า เนื่องจากประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกกะหล่ำปลีและกะหล่ำดอกทางภาคเหนือซึ่งมีสภาพภูมิอากาศค่อนข้างเย็นอาจจะมีโอกาสที่วัชพืชดังกล่าวจะเข้ามาตั้งรกรากในประเทศไทยได้

ไร *Aceria guerreronis* Keifer เป็นศัตรูพืชของมะพร้าวเป็นไม้ผลยืนต้นที่มีการปลูกส่วนใหญ่ในภาคกลางและภาคใต้ของประเทศไทย ซึ่งจังหวัดที่มีผลผลิตมากที่สุด 5 อันดับแรก ได้แก่ ประจวบคีรีขันธ์ 30% ชุมพร 17 % สุราษฎร์ธานี 10 % ชลบุรี 9 % และนครศรีธรรมราช 7 % (ประภาพร, ม.ป.ป.) มะพร้าวเป็นพืชที่มีศัตรูทั้งราก ใบ และผล โดยเฉพาะผลของมะพร้าวหากมีการถูกทำลายในระยะผลอ่อนจะมีผลต่อผลผลิตของมะพร้าวได้ ไรศัตรูพืชเป็นศัตรูพืชที่มีขนาดเล็กมากและพบหลายชนิดทั้งบนใบของมะพร้าวและภายในกลีบเลี้ยงของผลมะพร้าว Lowson-Balagbo (2007) ได้รายงานพบไรหลายชนิดภายในกลีบเลี้ยงของผลมะพร้าวที่ประเทศบราซิล ทั้งที่เป็นศัตรูสร้างความเสียหายของผลมะพร้าวและที่เป็นตัวห้ำ ได้แก่ *Sterneotarsonemus furcatus* De Leon, *Tyrophagus putrescentiae*, *Histiostoma* sp., *Aceria guerreronis* Keifer, *Lorryia aff. Formosa* Cooreman, *Neoseiulus baraki* Athias-Henriot, *Neoseiulus paspalivorus* De Leon, *Amblyseius largoensis* Muma, *Proctolaelaps bickleyi* Bram, *Proctolaelaps* sp. nov., *Lasioseius subterraneus* Chant, *Bdella distincta* Baker and Balogh และ *Aceria guerreronis* Keifer ซึ่งไร *Aceria guerreronis* Keifer เป็นไรศัตรูที่สำคัญของมะพร้าว อยู่ในวงศ์ Eriophyidae มีขนาดเล็กมากไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ขนาดลำตัวยาวโดยประมาณ 205-255 μ m (Keifer *et al.*, 1982) เป็นไรสี่ขาที่มีความสำคัญเข้าทำลายในกลีบเลี้ยงของลูกมะพร้าวอ่อน และแพร่ระบาดไปในหลายๆ ประเทศ ทำให้ผลผลิตมะพร้าวสูญเสียไปมากกว่า 60 % (Morre, 2000; Nair, 2002) ไร *A. guerreronis* นี้สามารถเจริญเติบโตได้ดีในพื้นที่มีอุณหภูมิสูง โดยพบว่าไรจะมีวงจรชีวิตสั้นเพียง 6.8 วัน นับจากไข่จนถึงตัวเต็มวัย ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ในขณะที่อุณหภูมิต่ำลง จะมีวงจรชีวิตที่

ยาวขึ้น คือที่อุณหภูมิ 30, 25, 20 และ 15 องศาเซลเซียส มีวงจรชีวิต 8.1, 11.5, 16 และ 30.5 วัน ตามลำดับ (Ansaloni and Perring, 2004)

แมลงวันทอง *Bactrocera carambolae* (Drew & Hancock) แมลงวันผลไม้ จัดเป็นแมลงในอันดับ Diptera วงศ์ Tephritidae เป็นแมลงซึ่งมีเพียง 2 ปีก โดยปีกคู่ที่ 2 จะลดขนาดลงเป็นอวัยวะสำหรับการทรงตัว เหลือเป็นตุ่มเล็กๆ เรียกว่า halteres ปีกมีลักษณะโปร่งใสเห็นเส้นปีกชัดเจน ส่วนอกมีลวดลายสีเหลืองสด เมื่อมองดูเวลามีแสงแดดจะเป็นมันสะท้อนแสงเป็นสีทอง จึงเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า แมลงวันทอง แมลงวันในวงศ์นี้แบ่งเป็น 3 วงศ์ย่อย คือ Dacinae, Trypetinae และ Tephritinae ราว 35% ของแมลงวันผลไม้เป็นแมลงที่ตัวหนอนทำลายพืชผักและผลไม้ที่อยู่ในวงศ์ย่อย Dacinae ซึ่งมากกว่า 80% อยู่ในสกุล *Bactrocera* ส่วนแมลงวันผลไม้ในวงศ์ย่อย Tephritinae ตัวหนอนเจริญเติบโตอยู่ในดอกของพืชตระกูล Compositae บางพวกเป็นแมลงที่ทำให้เกิดปุ่มปม ขอนใบหรือเจาะลำต้น สำหรับแมลงวันผลไม้ในวงศ์ย่อย Trypetinae ส่วนใหญ่เป็นแมลงศัตรูทำลายหน่อไม้ไผ่ ในปี 2544 มนตรี รายงานว่า แมลงวันผลไม้ที่จัดเป็นแมลงศัตรูที่สำคัญระดับโลก ได้แก่ 1. *Anastrepha ludens* Loew (Mexican fruit fly) แมลงชนิดนี้ทำลายผลไม้พวกแพร์ ท้อ แอปเปิ้ล ส้มและมะม่วง มีเขตแพร่ระบาดแถบประเทศเม็กซิโก และสหรัฐอเมริกา 2. *Bactrocera dorsalis* Hendel (Oriental fruit fly) แมลงชนิดนี้พืชอาหารมากกว่า 150 ชนิดทั่วโลก เช่น ส้มชนิดต่างๆ ฝรั่ง มะม่วง มะละกอ อโวคาโด กล้วย มะเขือเทศ ชมพู ท้อ แพร์ มะเดื่อ กาแฟ มะกอก ละครุด ขนุน ลำไย ลิ้นจี่ และสับปะรด (ในต่างประเทศ) มีเขตแพร่ระบาดอยู่ตามประเทศต่างๆ ในทวีปเอเชีย หมู่เกาะมาเรียนา ออสเตรเลียตอนเหนือ และหมู่เกาะฮาวาย เป็นต้น 3. *Bactrocera cucurbitae* Coquillett (Melonfly) แมลงชนิดนี้ทำลายพืชผักจำพวกมะเขือเทศ แตงโม พักทอง น้ำเต้า มะระ แตงไทย ถั่วฝักยาว บวบ มะเขือยาว และพืชตระกูลแตงอื่นๆ นอกจากนี้ยังพบในส้ม มะละกอ มะม่วง ท้อ และมะเดื่อ เขตแพร่ระบาดเริ่มจากทวีปเอเชีย หมู่เกาะฮาวาย ปาปัวนิวกินี และหมู่เกาะมาเรียนา 4. *Bactrocera facialis* แมลงชนิดนี้ทำลายฝรั่ง กล้วย มีเขตแพร่ระบาดในประเทศตองกา 5. *Bactrocera musae* (Banana fruit fly) แมลงชนิดนี้ทำลายกล้วยชนิดต่างๆ มีเขตแพร่ระบาดในรัฐควีนสแลนด์ ประเทศออสเตรเลีย และปาปัวนิวกินี 6. *Bactrocera tryoni* (Queensland fruit fly) แมลงชนิดนี้มีพืชอาหารมากกว่า 100 ชนิด เช่น ส้มต่างๆ มะนาว มะละกอ ฝรั่ง มะม่วง ท้อ แพร์ แอปเปิ้ล มะเขือเทศ แตงกวา เป็นต้น มีเขตแพร่ระบาดอยู่ในประเทศออสเตรเลีย 7. *Ceratitis cappitata* (Mediterranean fruit fly) แมลงชนิดนี้ทำลายผลไม้พวกเชอร์รี่ ส้ม ท้อ พลัม แพร์ ชมพู และฝรั่ง เป็นต้น มีเขตแพร่ระบาดอยู่ในเขตทวีปอเมริกาใต้ ทวีปแอฟริกา หลายประเทศในยุโรป และอเมริกา 8. *Ceratitis rosa* Karsh (Natal fruit fly) แมลงชนิดนี้ทำลายผลไม้พวกท้อ พลัม แอปเปิ้ล แพร์ อโวคาโด ชมพู มะม่วง และละครุด มีเขตการแพร่ระบาดแถบหมู่เกาะมอริเชียส และทวีปแอฟริกา 9. *Rhagoletis pomonella* (Apple fruit fly) แมลงชนิดนี้ทำลายผลไม้พวกแอปเปิ้ล มะเขือเทศ และพืชตระกูล Solanaceae และ Rosaceae จากรายงานของ Hardy (1963) รายงานว่าแมลงวันผลไม้ในแถบประเทศไทย กัมพูชา เวียดนาม ลาว มาเลเซีย และตอนใต้ของประเทศพม่า มีอยู่มากถึง 211 species อยู่ใน 63 genera และ 6 subgenera ซึ่งก่อนหน้านี้ในประเทศไทยเคยมีรายงานไว้เพียง 9 ชนิด เท่านั้น โดย Cantelo (1965) และ Munro (1935) คือ *Dacus cucurbitae* Coq., *D. dorsalis* Hend., *D. ferrugineus* F., *D. hageni* Meij., *D. indica* Hend., *D. nubilis* Hend., *Dacus* sp. *Carpomyia vesuviana* Costa., *Gastrozona fasciventris* Macq. โดยแมลงวันผลไม้ ชนิด *D. cucurbitae* Coq. พบทำลายแตงโม แตงไทย บวบเหลี่ยม บวบหอม มะระ และกระถ่อน ส่วน *D. dorsalis* Hend. พบทำลายชมพูสาแหรก มะม่วง ชมพู ฝรั่ง กระถ่อน และพุทธรักษา ซึ่งในปัจจุบันพบทำลายผลไม้มากถึง 122 ชนิด ส่วน *D. ferrugineus*, F. และ Cantelo (1965) พบทำลายอยู่ในกล้วย ซึ่งก็คือ *D. dorsalis* Hend. นั่นเอง ส่วน *D. hageni* Meij. พบทำลายแตงไทย และบวบเหลี่ยม ซึ่งทั้ง *D. hageni* Meij. และ *D. indica* Hend. เป็นแมลงตัวเดียวกัน ในปัจจุบันแมลงชนิดนี้มีชื่อว่า *Bactrocera* (*Zeugoodacus*) *tau* (Walker) พบทำลายพืช 32 ชนิด ส่วน *Dacus* sp. พบทำลายอยู่ในพริก ซึ่งคาดว่าเป็นชนิด *Bactrocera*

latifrons (Hendel) ซึ่งมีพืชอาหารมากกว่า 21 ชนิด แมลงวันผลไม้ที่สำคัญของประเทศไทยมีอยู่หลายชนิด แส่น (2529) รายงานว่ามีแมลงวันผลไม้ที่สำคัญในเมืองไทยอยู่ จำนวน 6 ชนิด ส่วนมนตรี (2536), มंत्री และโอชา (2541) รายงานที่สำคัญมีจำนวนกว่า 10 ชนิด แต่ที่สำคัญ ได้แก่ *Bactrocera dorsalis* Hendel, *B. correcta* (Bezzi), *B. cucurbitae* (Coquillett), *B. tau* (Walker), *B. umbrosa* (Fabricius), *B. latifrons* (Hendel), *B. zonata* (Saunders), *B. carambolae* (Drew & Hancock), *B. papayae* (Drew & Hancock) และ *B. tuberculata* (Bezzi) มंत्री (2536; 2541) รายงานชนิดแมลงวันทองที่เป็นศัตรูสำคัญในผลไม้และพืชผักในประเทศไทย มีจำนวนกว่า 10 ชนิด ได้แก่ *Bactrocera dorsalis* (Hendel), *B. correcta* (Bezzi), *B. cucurbitae* (Coquillett), *B. tau* (Walker), *B. umbrosa* (Fabricius), *B. latifrons* (Hendel), *B. zonata* (Saunders), *B. carambolae* (Drew & Hancock), *B. papayae* (Drew & Hancock), และ *B. tuberculata* (Bezzi) โดยชนิดที่ทำลายพืชตระกูลแตง ได้แก่ *B. cucurbitae* (Coquillett), *B. tau* (Walker) และ *B. dorsalis* (Hendel) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าแมลงวันทองชนิด *B. carambolae* (Drew & Hancock) มีเขตแพร่กระจายในเขตภาคใต้ และภาคกลางตอนล่าง มีพืชอาศัยไม่น้อยกว่า 30 ชนิด ที่สำคัญคือ ฝรั่ง ขนุน ชมพู่ กะท้อน ส้ม ละมุด มะม่วง มะเฟือง และตะลิงปลิง จากการสำรวจแมลงวันผลไม้ของมนตรี และคณะ ระหว่างปี 2534-2535 พบว่าแมลงวันผลไม้ชนิด *B. dorsalis* (Hendel) ระบาดในภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคเหนือ ในขณะที่แมลงวันผลไม้ชนิด *B. carambolae* (Drew & Hancock) พบระบาดในภาคใต้และภาคกลาง (เล็กน้อย) ไม่พบในภาคเหนือ แมลงวันผลไม้ชนิด *B. papayae* (Drew & Hancock) มีการแพร่กระจายระบาดตั้งแต่จังหวัดสุราษฎร์ธานีลงไปทางใต้ (กองกัญและสัตววิทยา, 2544) ในปี 1912 Howlett ได้ค้นพบเมทิลยูจินอล Beroza and Green (1963); IAEA (2003) รายงานว่าเมทิลยูจินอลเป็นสารที่สังเคราะห์ขึ้นโดยขบวนการทางเคมีมีปฏิกิริยาดึงดูดแมลงวันผลไม้ เฉพาะเพศผู้โดยสามารถดึงดูดแมลงวันผลไม้ได้มากกว่า 250 ชนิด เช่น แมลงวันผลไม้ชนิด *B. dorsalis*, *B. carambolae*, *B. papaya* และ *B. correcta* เมทิลยูจินอลมีประสิทธิภาพในการล่อแมลงวันผลไม้สูงไวต่อการสนองตอบของแมลงวันผลไม้และสามารถล่อแมลงวันผลไม้ได้ในไกล ๆ ระยะทางอาจไกลเป็นกิโลเมตรโดยเฉพาะอย่างยิ่งในที่โล่งแจ้งที่มีลมโชยจะสามารถล่อแมลงวันผลไม้ที่อยู่ไกล ๆ ออกไปหลายกิโลเมตรถึงหลายสิบกิโลเมตรได้ Clarke *at al.* (2001) รายงานว่าจากการติดกับดักแบบสไตรเนอร์โดยใช้สารล่อชนิดเมทิลยูจินอล ในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ (7 กับดัก) เชียงราย (5 กับดัก) และกรุงเทพมหานคร (5 กับดัก) ตลอดทั้งปี ร่วมกับการเก็บผลไม้ที่ถูกแมลงวันผลไม้เข้าทำลาย ส่วนที่จังหวัดสงขลาไม่มีการติดกับดักเก็บเฉพาะผลไม้ที่ถูกแมลงวันผลไม้เข้าทำลาย พบว่า *B. correcta* มีเขตแพร่กระจายเฉพาะที่เชียงใหม่ เชียงราย และพบบ้างใน กรุงเทพมหานคร ส่วนที่สงขลา ไม่พบ สอดคล้องกับมนตรี (2544) ที่รายงานว่าแมลงชนิดนี้มีเขตแพร่กระจายในเขตภาคเหนือภาคกลางและแทบจะไม่พบในภาคใต้มีพืชอาศัยไม่น้อยกว่า 36 ชนิด ได้แก่ มะม่วง ฝรั่ง ชมพู่ ละมุด พุทรา น้อยหน่า ขนุน เงาะ ลำไย ลิ้นจี่ กะท้อน สะตอ กล้วยน้ำว้า มะกอก ฝรั่ง มะเฟือง มะปราง มะละกอ มะยม ชำมะเลียง มะกอกน้ำ มะม่วงหิมพานต์ เซอร์ฮวาน กระโดน สตาร์แอปเปิ้ล หว้า มะเดื่อ หอม พิกุล ตะขบ ฝรั่ง น้ำใจใคร่ หูกวาง หนามหัน (จัวซัง) แฉง และมะแว้งเครือฯ มंत्री (2536; 2541; 2544) รายงานว่า แมลงวันผลไม้ชนิด *B. correcta* มีเขตแพร่กระจายในเขตภาคเหนือภาคกลางและแทบจะไม่พบในภาคใต้ พืชอาศัยไม่น้อยกว่า 36 ชนิด ได้แก่ มะม่วง ฝรั่ง ชมพู่ ละมุด พุทรา น้อยหน่า ขนุน เงาะ ลำไย ลิ้นจี่ กะท้อน สะตอ กล้วยน้ำว้า มะกอก ฝรั่ง มะเฟือง มะปราง มะละกอ มะยม ชำมะเลียง มะกอกน้ำ มะม่วงหิมพานต์ เซอร์ฮวาน กระโดน สตาร์แอปเปิ้ล หว้า มะเดื่อ หอม พิกุล ตะขบ ฝรั่งน้ำใจใคร่ หูกวาง หนามหัน (จัวซัง) แฉง มะแว้งเครือฯ และจากการสำรวจแมลงวันผลไม้ของมนตรี และคณะ ระหว่างปี 2534-2535 พบว่าแมลงวันผลไม้ชนิด *B. dorsalis* ระบาดในภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคเหนือ ในขณะที่แมลงวันผลไม้ชนิด *B. carambolae* พบระบาดในภาคใต้และภาคกลาง (เล็กน้อย) ไม่พบในภาคเหนือ แมลงวันผลไม้ชนิด *B. papaya* มีการแพร่กระจายระบาดตั้งแต่ จ.สุราษฎร์ธานี ลงไปทางใต้ นอกจากนี้ Clarke (2001) รายงานว่าพบ *B. correcta* เฉพาะในเขตภาคเหนือของไทย ไม่พบในเขตภาคใต้

โรคใบด่างมันสำปะหลังที่เกิดจากเชื้อไวรัส *Sri Lankan cassava mosaic virus* (SLCMV) มันสำปะหลังจัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของทวีปแอฟริกา รวมทั้งเขียตะวันออกเฉียงใต้ และจัดเป็นพืชที่เป็นแหล่งของคาร์โบไฮเดรตอันดับที่ 3 ของโลก และได้มีการแปรรูปมันสำปะหลังในรูปของแป้ง อาหารสัตว์ และเชื้อเพลิงชีวภาพ (Thresh, 2006) ปัญหาส่วนใหญ่ในการผลิตมันสำปะหลังพบว่าการระบาดของโรคทั้งเชื้อราแบคทีเรียไส้เดือนฝอย รวมถึงโรคที่มีสาเหตุจากเชื้อไวรัสซึ่งมีการรายงานการเข้าทำลายมันสำปะหลังถึง 20 ชนิด โดยโรคไวรัสที่ก่อให้เกิดความเสียหายมากที่สุด ได้แก่ *Cassava mosaic disease* (CMD) ที่เกิดจากเชื้อ *Cassava mosaic virus* มีรายงานทั้งสิ้น 10 ชนิด โดยมี 8 ชนิดที่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อการผลิตและผลผลิตมันสำปะหลังเป็นอย่างมากในประเทศในทวีปแอฟริกาส่วนในเอเชียมีรายงานอยู่ 2 ชนิดที่พบมีการระบาดและความเสียหายอย่างมากในประเทศอินเดียและศรีลังกา คือ *Indian cassava mosaic virus* (ICMV) และ *Sri Lankan cassava mosaic virus* (SLCMV) (Legg and Fauquet, 2004; Legg et al., 2006) โรค CMD เป็นโรคที่มีความสำคัญและก่อให้เกิดความเสียหายต่อการปลูกมันสำปะหลังมากที่สุดโดยมีเชื้อไวรัส *Cassava mosaic virus* เป็นเชื้อสาเหตุซึ่งจัดอยู่ใน Family Geminiviridae, Genus *Begomovirus* (Bock and Woods, 1983; Legg and Fauquet, 2004) โดยจะทำให้มันสำปะหลังที่ติดเชื้อแสดงอาการใบด่าง เหลือง ใบเสียรูปและลำต้นแคระแกรน ซึ่งความรุนแรงและลักษณะอาการจะมีความผันแปรแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ของเชื้อไวรัส สายพันธุ์มันสำปะหลังและสภาพแวดล้อม (Harrison et al., 1997; Fondong et al., 2000; Legg and Thresh, 2000) ซึ่งเชื้อไวรัสสามารถติดมากับท่อนพันธุ์และสามารถถ่ายทอดโรคได้โดยอาศัยแมลงหวี่ขาวยาสูบ (*Bemisia tabaci*) กาญจนา และคณะ (2555) ได้ทำการสำรวจมันสำปะหลังเพื่อยืนยันว่าไม่มีการปรากฏของเชื้อไวรัส *African cassava mosaic virus* (ACMV) ในพื้นที่ปลูกที่สำคัญของประเทศไทย โดยได้สำรวจใน 10 จังหวัด ได้แก่ นครราชสีมา ชลบุรี ระยอง ปราจีนบุรี ชัยภูมิ ฉะเชิงเทรา บุรีรัมย์ กาฬสินธุ์ ขอนแก่น และมหาสารคาม รวมเป็นจำนวน 120 แปลง ผลจากการสำรวจพบอาการใบคล้ายโรคไวรัส ได้แก่ ใบลดรูปขนาดเล็ก ลำต้นเตี้ยแคระ ใบด่างเหลือง และใบยอดบิดผิดรูป รวมตัวอย่างมันสำปะหลังที่เก็บมาตรวจทั้ง 1,200 ตัวอย่าง เมื่อนำมาตรวจสอบหาเชื้อไวรัส ACMV ด้วยเทคนิค ELISA และ PCR ผลการตรวจสอบปรากฏว่าไม่พบเชื้อไวรัส ACMV ในตัวอย่างมันสำปะหลังที่นำมาตรวจทุกตัวอย่าง Wang และคณะ (2015) ได้รายงานการพบเชื้อไวรัส SLCMV ในแปลงปลูกมันสำปะหลังในจังหวัดรัตนคีรี ประเทศกัมพูชา ต่อมาคณะทำงานของศูนย์เกษตรเขตร้อนนานาชาติ (CIAT) ได้ออกรายงานยืนยันและรายงานการระบาดของเชื้อไวรัส SLCMV เพิ่มเติมอีก 3 จังหวัดของประเทศกัมพูชา ได้แก่ ตะบองมูนโพสธ และพระตะบอง (Sok et al., 2016) ส่วนการควบคุมโรคนั้นต้องอาศัยพันธุ์ต้านทานต่อโรค การใช้ท่อนพันธุ์ที่ปลอดโรค การป้องกันและกำจัดแมลงหวี่ขาวพาหะของเชื้อไวรัส รวมถึงการถอนทิ้งและเผาทำลายต้นมันสำปะหลังที่เป็นโรค (Legg and Fauquet, 2004)

เชื้อรา *Bipolaris zeicola* (G.L.Stout) Shoemaker เป็นสาเหตุโรค Northern Corn Leaf Spot (NCLS) มีการจัดลำดับหมวดหมู่ดังนี้ Synonymy: *Cochliobolus carbonum* R.R. Nelson, *Drechslera carbonum* (Ullstrup) Sivan., *Drechslera zeicola* (G. L. Stout) Subram. & B. L. Jain, *Helminthosporium carbonum* Ullstrup, *Helminthosporium zeicola* G.L. Stout โรค Northern corn leaf spot (NCLS) เป็นโรคทางใบที่พบในข้าวโพด และวัชพืชใบเลี้ยงเดี่ยวในหลายพื้นที่ของโลกในเขตภูมิภาคที่มีสภาพอากาศร้อนชื้น (Schenck and Stelter, 1974; Sumner and Littrell, 1974) NCLS สามารถถ่ายทอดทางเมล็ดพันธุ์ได้ เชื้อราสาเหตุโรคนี้อาศัยได้ดีในอุณหภูมิปานกลาง และความชื้นสูง ซึ่งพบว่าราสามารถสร้างสปอร์แพร่กระจายได้อย่างรวดเร็ว NCLS ส่งผลกระทบต่อการผลิตข้าวโพดโดยส่งผลต่อปริมาณผลผลิตที่ลดลงเนื่องมาจากเข้าทำลายของโรค NCLS เข้าทำลายใบ ผัก ไหมข้าวโพด รวมถึงเปลือกข้าวโพด การเข้าทำลายที่รุนแรงจะส่งผลต่อปริมาณและคุณภาพของผลผลิต การเข้าทำลายเริ่มต้นจะพบจุดลักษณะกลมขนาดเล็กสีน้ำตาลแดง หรือน้ำตาลเข้ม จากนั้นแผลจะขยายขนาดและมีสีที่เข้มขึ้น มีขอบแผลมี

น้ำตาลอ่อนจนถึงเข้ม การเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุ NCLS มีทั้งหมด 5 race (Welz and Leonard, 1993) ดังนี้ race 0 ไม่พบรายงานการเข้าทำลายข้าวโพดแต่พบว่าเป็นเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดบนหญ้าหลายชนิด race 1 สร้างสาร toxin บนพืชอาศัยที่จำเพาะ (host-specific toxin: HC toxin) โดย race นี้มีรายงานว่าเข้าทำลายข้าวโพดได้ทุกระยะของการเจริญเติบโต โดยพบอาการใบจุดบนใบข้าวโพด ลักษณะแผลรูปไข่ถึงรูปร่างกลมสีน้ำตาล เรียงซ้อนกันเป็นวง กว้างประมาณ 1.5 นิ้ว ยาว 1 นิ้ว NCLS race 1 มีความจำเพาะต่อพืชอาศัย โดยเข้าทำลายเฉพาะสายพันธุ์โดยเฉพาะข้าวโพดสายพันธุ์อ่อนแอ ซึ่งเชื้อราสามารถเข้าทำลายและทำให้พืชตายได้ในทุกระยะการเจริญ (Jones and Dunkle, 1993) race ที่ 2 ลักษณะแผลยาว หัวท้ายมน สีน้ำตาลดำถึงสีดำ รูปไข่ถึงรูปร่างกลม สีน้ำตาล เรียงซ้อนกันเป็นวง กว้างประมาณ 1/8 นิ้ว ยาว 1 นิ้ว สำหรับ race 2 นี้ พบได้โดยทั่วไปในพื้นที่ปลูกข้าวโพด และไม่ก่อให้เกิดความเสียหายอย่างรุนแรงต่อการผลิต (Leonard and Leath, 1990) race 3 มีลักษณะแผลแคบยาวน้อยกว่า 1 นิ้ว และกว้าง 1/8 นิ้ว แผลสีเทาถึงสีน้ำตาลบริเวณขอบแผล มีสีเข้ม มีรายงานว่า race 3 เป็นปัญหาและก่อให้เกิดความเสียหายอย่างรุนแรงในการผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด (Hamid et al., 1982; University of Illinois, Department of Crop Sciences, 1997) โดยเฉพาะในพื้นที่ Pennsylvania และ North Carolina (Leath and Leonard, 1984) NCLS race 3 มีรายงานว่าพบในสาธารณรัฐประชาชนจีน ญี่ปุ่น ไนจีเรีย และเยอรมัน (Welz and Leonard, 1995) race 4 พบรายงานทำให้เกิดอาการใบจุดบนข้าวโพด inbred lines ในกลุ่ม B73 (Lui et al., 2015) ในประเทศไทยมีรายงานว่าพบรา *B. zeicola* บนข้าวโพด (ประชุม และคณะ, 2548; พัฒนา และคณะ, 2537; Jutawantana et al., 2001; Panichsukpatana and Boon-long, 2002; Vongkaw et al., 1995) แต่ไม่พบรายงานว่ามีการศึกษาจำแนกชนิดของ race ของ NCLS และมีการรายงานการพบ NCLS ครั้งสุดท้ายเมื่อปี 2548 โดยข้อมูลของราชชนิดนี้ในประเทศยังขาดความสมบูรณ์ และไม่เพียงพอ ทำให้อาจเกิดความเสี่ยงต่อการพิจารณาหรือจัดจำแนกชนิดของเชื้อ หากมีการนำเข้าและปนเปื้อนของรา *B. zeicola* ใน race ที่มีความรุนแรง ดังนั้นจึงความจำเป็นที่ต้องมีการสำรวจสถานะของรา NCLS เพื่อยืนยันสถานการณ์ปรากฏในประเทศไทย และนำไปสู่การบรรจุนิคมของรา *B. zeicola* race ที่มีความรุนแรง และยังไม่ปรากฏในประเทศไทย ในบัญชีศัตรูพืชกักกัน เพื่อการเฝ้าระวังการแพร่ระบาดและอาจก่อให้เกิดความเสียหายที่รุนแรงในประเทศไทย

แบคทีเรีย *Burkholderia glumae* (ชื่อเดิม *Pseudomonas glumae*) เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรครวงไหม้ (bacterial panicle blight) ของข้าว พบรายงานครั้งแรกที่ประเทศญี่ปุ่นและแพร่ระบาดในพื้นที่ปลูกข้าวของหลายประเทศทั่วโลก เช่น จีน เกาหลี เนปาล ใต้หวัน ฟิลิปปินส์ ศรีลังกา เวียดนาม บรูไนกาฟาโซ แอฟริกาใต้ แทนซาเนียสหรัฐอเมริกา คอสตาริกา สาธารณรัฐโดมินิกัน นิการากัว ปานามา เอกวาดอร์ เวเนซุเอลา และโคลอมเบีย (CABI, 2014) โดยเชื้อสร้างความเสียหายทำให้ผลผลิตของข้าวลดลงสูงสุดถึง 75 % (Trung et al., 1993) ชีววิทยาของเชื้อแบคทีเรีย *B. glumae* เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่ไม่สร้างสารเรืองแสง มีรูปร่างเป็นท่อนตรง สามารถเคลื่อนที่ได้โดยใช้หาง (polar flagella) เชื้อสามารถเจริญได้ถึงแม้มีอุณหภูมิสูงถึง 41 องศาเซลเซียส และสามารถติดไปกับเมล็ด (seed-borne) ได้ (Schadd et al., 2001; Ham et al., 2011) เชื้อเข้าทำลายข้าวในระยะที่พืชออกดอก อาการของโรคบนกาบใบเป็นจุดสีเทาหรือสีฟางข้าวขอบสีน้ำตาลแดงเข้ม ดอกเป็นหมัน เมล็ดมีแผลสีเข้มขอบแผลเป็นแถบสีน้ำตาลแดง หากอาการรุนแรงทำให้ไม่มีเนื้อแบ่งในเมล็ดข้าวหรือเมล็ดเน่า ในสหรัฐอเมริกาพบเป็นเชื้อสาเหตุหลักของโรครวงไหม้ของข้าวโดยมีเชื้อแบคทีเรีย *B. gladioli* เป็นสาเหตุในอันดับรองลงมา (Yuan, 2004; Nandakumar et al., 2009) เชื้อสามารถผลิต toxoflavin และ fervenulin ซึ่งมีความสำคัญต่อการทำให้เกิดอาการเหลืองซีด (chlorosis) เมื่อเชื้อเข้าทำลายเมล็ด โดยเชื้อจะผลิต toxoflavin ที่อุณหภูมิไม่เกิน 37 องศาเซลเซียส และไม่ผลิตเมื่ออาศัยอยู่ในบริเวณที่อุณหภูมิต่ำกว่า 28 องศาเซลเซียส (Matsuda and Sato, 1988; Jeong et al., 2003) สำหรับในประเทศไทยยังไม่พบรายงานการเกิดโรคจากเชื้อชนิดนี้ แต่เนื่องจากเชื้อแบคทีเรีย *B. glumae* สามารถติดไปกับเมล็ด (seed-borne) และเชื้อสามารถเจริญได้ถึงแม้มี

อุณหภูมิสูงถึง 41 องศาเซลเซียส จึงทำให้เป็นที่กังวลของหลายประเทศเพราะเริ่มมีรายงานการแพร่ระบาดของโรครวงไหมในประเทศเขตร้อนและกึ่งร้อนมากขึ้น (Ham *et al.*, 2011) แบคทีเรีย *B. glumae* จึงนับเป็นเชื้อสาเหตุโรคพืชที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งทางด้านกักกันพืชที่ต้องมีการเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของเชื้อโดยเฉพาะอย่างยิ่ง การเคลื่อนย้ายหรือนำเข้าเมล็ดพันธุ์ข้าวจากประเทศที่มีการระบาดของโรค การใช้เมล็ดพันธุ์ปลอดโรคเป็นอีกวิธีที่ใช้ป้องกันการแพร่ระบาดของโรครวงไหม ดังนั้นการหาวิธีการตรวจสอบเชื้อสาเหตุโรคที่เฉพาะเจาะจง รวดเร็ว และตรวจสอบเชื้อในปริมาณน้อยได้ จะสามารถลดโอกาสการแพร่ระบาดของเชื้อที่อาจติดมากับเมล็ดได้ จากรายงานของ Nandakumar *et al.* (2009) พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. gladioli* เป็นสาเหตุการรวงไหมในข้าวได้เช่นเดียวกัน ทำให้การตรวจสอบในเบื้องต้นโดยดูจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อและลักษณะอาการของโรคทำได้ยากขึ้น เทคนิค polymerase chain reaction (PCR) เป็นเทคนิคที่มีความเฉพาะเจาะจง ตรวจสอบได้อย่างรวดเร็ว และสามารถตรวจสอบเชื้อในปริมาณน้อยในตัวอย่าง รายงานของ Takeuchi *et al.* (1997) ซึ่งใช้ PCR ในการตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย *B. glumae* โดยใช้ไพรเมอร์ที่ออกแบบจากบริเวณ 16S-23S rDNA intergenic spacer ของเชื้อแบคทีเรีย *B. glumae* พบว่าคู่ไพรเมอร์ GL-13f และ GL-14r สามารถตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย *B. glumae* ได้ถูกต้องทั้ง 20 ไอโซเลท ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 400 bp และไม่เกิดผลบวกกับเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นที่นำมาทดสอบ โดยใช้เวลาในการตรวจตัวอย่างประมาณ 6 ชั่วโมง เนื่องจากการตรวจสอบด้วยเทคนิค PCR จะวิเคราะห์ผลเมื่อสิ้นสุดขบวนการ PCR โดยต้องนำผลผลิต PCR มาตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี agarose gel electrophoresis แล้วย้อมด้วยสาร ethidium bromide และตรวจภายใต้แสง UV ทำให้ใช้เวลานานขึ้น และสาร ethidium bromide ที่ใช้ย้อมเป็นสารก่อมะเร็งที่มีอันตราย เทคนิค real-time PCR เป็นอีกวิธีทางอณูชีววิทยาที่มีประสิทธิภาพเช่นกัน การตรวจสอบผลมีความรวดเร็วยิ่งขึ้นเนื่องจากการวิเคราะห์ผลเกิดขึ้นตามเวลาจริงในระหว่างทำปฏิกิริยา (real-time) ทำให้ใช้เวลาน้อยลงโดยจะใช้เวลาในการตรวจสอบนานประมาณ 1-2 ชั่วโมง และสามารถตรวจสอบเชื้อในปริมาณน้อยในตัวอย่างพืชได้ ดังรายงานของ Saylor *et al.* (2006) ที่ใช้ real-time PCR ในการตรวจเชื้อแบคทีเรีย *B. glumae* จากเมล็ดและต้นข้าวโดยใช้ไพรเมอร์ที่ออกแบบจากลำดับเบสของ 16S-23S ribosomal DNA (rDNA) intergenic transcribed spacer (ITS) พบว่าสามารถตรวจเชื้อได้ที่จำนวน 1-10 เซลล์ ใช้เวลาตรวจประมาณ 2 ชั่วโมง และรายงานของ Kim *et al.* (2012) ซึ่งใช้เทคนิค real-time bio-PCR ในการตรวจเชื้อแบคทีเรีย *B. glumae* จากเมล็ดข้าว โดยใช้ไพรเมอร์ที่ออกแบบจากยีน *rsh* family ของ *B. glumae* BGR1 พบว่าสามารถตรวจเชื้อได้ที่ 1 CFU ต่อปฏิกิริยา

เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* สาเหตุโรค Bacterial speck ในมะเขือเทศเป็นเชื้อที่ไม่มีรายงานในประเทศไทยและประกาศเป็นศัตรูพืชกักกันตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์เรื่องกำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 7) พ.ศ. 2550 ภายใต้พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 ที่แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2551 เชื้อดังกล่าว เป็นเชื้อที่มีรายงานการแพร่ระบาดในแหล่งผลิตมะเขือเทศที่สำคัญทางเศรษฐกิจ (Devash *et al.*, 1979) เช่น สาธารณรัฐประชาชนจีน อินเดีย และสหรัฐอเมริกา เป็นต้น แพร่ระบาด ทำความเสียหาย เชื้อสามารถติดกับเมล็ดและถ่ายทอดผ่านทางเมล็ดได้ วิธีที่กำจัดทำได้ด้วยวิธีแช่ในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 48°C นาน 1 ชม. โดยที่ไม่มีผลกระทบต่อความงอก (CPC, 2007)

เชื้อไวรัส *Maize dwarf mosaic virus* ไวรัสพืชมีอนุภาคขนาดเล็กมากไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา ต้องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน มีรูปร่างเป็นท่อน ขนาดความยาวอยู่ในช่วง 180-1200 นาโนเมตร ดังนั้นเชื้อไวรัสจึงยากต่อการวินิจฉัยโรคด้วยสายตาจำเป็นต้องใช้เครื่องมือในห้องปฏิบัติการตรวจวินิจฉัยหลายขั้นตอนและหลายวัน ดังนั้นการพัฒนาเทคนิคในการตรวจสอบเชื้อไวรัสให้รวดเร็ว และมีความถูกต้องชัดเจน และแม่นยำ จึงมีความสำคัญต่อการตรวจวินิจฉัยเชื้อไวรัสที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดของเจ้าหน้าที่ที่ตรวจสอบเพื่อรับรองการปลอดเชื้อไวรัสที่ติดมากับสินค้าเกษตรนำเข้า และส่งออกเป็นอย่างมาก ซึ่งทำให้

เจ้าหน้าที่สามารถปฏิบัติงานได้อย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพ ซึ่งสอดคล้องกับนโยบายของกรมวิชาการเกษตรที่มีวัตถุประสงค์ให้ส่งเสริมการส่งออกสินค้าเกษตรให้เพิ่มมากขึ้น ดังนั้นการศึกษาและพัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อไวรัส *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV) strain a ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด ซึ่งเป็นไวรัสที่พบมากในข้าวโพด อัตราการเกิดโรคนี้โดยปกติต่ำกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ และสูงถึง 65 เปอร์เซ็นต์ ทำให้สูญเสียผลผลิตสูงขึ้นได้ถ้าเกิดโรคและรุนแรงมากในสภาพไร่ โดยเฉพาะข้าวโพดหวาน ไวรัสนี้พบอยู่สอง strain คือ strain a และ strain b (Douglas, 1988) จึงมีประโยชน์ในการพัฒนาต่อไปในเชิงพาณิชย์และมีความสำคัญต่องานทางด้านกักกันพืชและหน่วยงานกักกันพืชระหว่างประเทศเป็นอย่างมาก ในปี 2546-2547 พบโรคใบต่างทำความเสียหายให้แก่ข้าวโพดหวานพันธุ์การค้าที่ปลูกในจังหวัดนครราชสีมา ความเสียหายต่อผลผลิตขึ้นอยู่กับระยะเวลาการเจริญเติบโตของข้าวโพดที่เชื้อเข้าทำลาย (Mikel *et al.*, 1981) เมื่อเข้าทำลายในระยะแรกของการเจริญเติบโตทำให้ข้าวโพดมีความสูง ขนาดฝัก และน้ำหนักฝักลดลง การแก่ของข้าวโพดช้าลง มีการติดเมล็ดน้อย จำนวนฝักที่ได้มาตรฐานและน้ำหนักฝักลดลง (Gregory and Ayers, 1982) โรคไวรัสใบต่างที่เข้าทำลายข้าวโพดมีการจำแนก เป็นเชื้อไวรัสใบต่างแคระสายพันธุ์ B (MDMV-B) อยู่ในวงศ์ Potyviridae เป็น subgroup ของเชื้อ sugarcane mosaic virus (SCMV-MDB) ถ่ายทอดโรคโดยมีแมลงเป็นพาหะและโดยวิธีกล ระบาดในแหล่งปลูกข้าวโพดในหลายประเทศ ประเทศไทยเริ่มระบาดรุนแรงในแหล่งปลูกข้าวโพดเมื่อปี 2527 (ธีระ, 2532)

เชื้อไวรัส *Pepper mild mottle virus* เป็นสาเหตุโรคของพริกในเกือบทุกสายพันธุ์ เป็นเชื้อไวรัสในจีนัสและแฟมิลี *Tobamovirus* มีจีโนมเป็นอาร์เอ็นเอสายเดี่ยว ลักษณะอาการของโรคขึ้นอยู่กับพันธุ์ของพริกที่เป็นโรค อาการที่พบทั่วไป ได้แก่ อาการใบเหลืองซีด (chlorosis) ใบหงิกม้วนงอ ต้นเตี้ยแคระแกร็น ผลพริกบิดเบี้ยว สีเปลี่ยน มีขนาดเล็กลง เชื้อไวรัสสามารถแพร่ระบาดไปได้โดยวิธีกล และติดไปกับเมล็ด *Pepper mild mottle virus* เป็นเชื้อไวรัสสาเหตุโรคที่สำคัญของพริก (*Capsicum* spp.) แต่ PMMoV ไม่สามารถก่อให้เกิดโรคใน มะเขือเทศ มะเขือยาว หรือยาสูบ ได้ PMMoV สร้างความเสียหายกับการปลูกพริกทั่วโลก มีรายงานพบเชื้อ PMMoV ในออสเตรเลีย ญี่ปุ่น จีน ไต้หวัน ยุโรป และแอฟริกาเหนือ ในปี ค.ศ. 1997 เกิดการระบาดของ PMMoV สร้างความเสียหายอย่างมากในรัฐทางตะวันออกเฉียงใต้ของอเมริกา คือ จอร์เจีย และฟลอริดา PMMoV มีลักษณะอนุภาคเป็น rigid rod shaped สามารถแพร่ระบาดไปได้ด้วยวิธีกล การสัมผัสระหว่างต้นที่เป็นโรคกับต้นปกติ รวมทั้งติดไปกับเครื่องมือ ถุงมือ เสื้อผ้า เชื้อ PMMoV มักจะพบได้บริเวณเปลือกหุ้มเมล็ดด้านนอก ส่วนบริเวณ endosperm พบได้น้อยมาก ซึ่งการแพร่ระบาดไปทางเมล็ดนั้นสามารถติดไปได้ด้วยวิธีกล รอยแผลถลอกของเมล็ด การปนเปื้อนในระหว่างการปลูกพืชรวมทั้งขั้นตอนการดูแลรักษาพืชในแปลงปลูก ขณะนี้ยังไม่ทราบว่า PMMoV มีแมลงพาหะชนิดใดในการถ่ายทอดโรค แต่มนุษย์ก็ถือว่าเป็นพาหะที่สำคัญในการแพร่กระจายเชื้อไวรัสชนิดนี้ พบว่า ในโรงเรือนที่มีสภาพอากาศร้อนชื้นจะเกิดการแพร่กระจายของเชื้อ PMMoV ได้ดี ซึ่งก็คล้ายกับสภาพอากาศในแถบทางตะวันตกเฉียงใต้และ ตะวันออกเฉียงใต้ของรัฐฟลอริดา และแถบแอฟริกาเหนือ รวมทั้งญี่ปุ่น ที่มีสภาพอากาศอุ่น หรือ ร้อน และมีความชื้น ซึ่งทำให้เชื้อไวรัสชนิดนี้แพร่ระบาดได้อย่างรวดเร็ว จนกระทั่งในปี 2005 ในการปลูกพืชแบบอินทรีย์แนวใหม่ในญี่ปุ่นได้มีการทดสอบของดิน กับการทดสอบเชื้อ PMMoV พบว่าการเพิ่มปริมาณปุ๋ยอินทรีย์ลงในดินจะมีผลในการยับยั้งการทดสอบ PMMoV เช่นเดียวกับเชื้อไวรัสชนิดอื่นๆ โดยเฉพาะในจีนัส *Tobamovirus* การหลีกเลี่ยงเป็นวิธีการควบคุมโรคที่ดีที่สุด การปลูกพริกจะต้องมีการดูแลที่ดี ใช้เมล็ดพันธุ์ที่ปราศจากโรค การดูแลแปลงปลูกจะต้องหลีกเลี่ยงการทำให้พืชเกิดแผลเพื่อป้องกันการติดเชื้อ การกำจัดวัสดุปลูกหรือวัชพืชที่จะสามารถเป็นแหล่งสะสมเชื้อไวรัสในแปลงปลูก รวมทั้งการปลูกพืชหมุนเวียนก็สามารถกำจัดหรือลดปริมาณของเชื้อไวรัสในแปลงปลูกได้เช่นกัน การกำจัดแหล่งสะสมโรคสามารถทำได้โดยการเผาทำลาย สำหรับกลไกของการติดเชื้อไวรัส PMMoV ในเมล็ดพริกนั้น เมื่อตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์เรืองแสง ก็ จะพบได้ใน 2 ลักษณะ คือ แบบแรกจะพบเชื้อ PMMoV ที่บริเวณผิวชั้นนอก (epidermis) และบริเวณ

parenchyma แต่จะไม่พบเชื้อบริเวณ endosperm หรือ embryo ส่วนแบบที่สอง เชื้อไวรัสจะถูกจำกัดอยู่ที่บริเวณผิวของ epidermis และ parenchyma เท่านั้น

เชื้อไวรัส *African cassava mosaic virus* (ACMV) จัดอยู่ใน Family Geminiviridae , Genus Begomovirus มีอนุภาคเป็นทรงกลมคู่หลายเหลี่ยมที่ไม่สมบูรณ์ (incomplete icosahedral) อนุภาคมีขนาดประมาณ 18x30 นาโนเมตร จีโนมของไวรัสกลุ่มนี้มี 2 ประเภท คือ แบบโมเลกุลเดี่ยวและแบบโมเลกุลคู่ ดีเอ็นเอทั้ง 2 โมเลกุลมีขนาดใกล้เคียงกันประมาณ 2,500-2,800 นิวคลีโอไทด์ ภายในจีโนมของไวรัสประกอบด้วย ดีเอ็นเอสายเดี่ยว (ssDNA) ขดเป็นวงอยู่ในอนุภาคซึ่งแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ monopartite genome มีสาย พันธุกรรมหนึ่งโมเลกุล และ bipartite genome (Harrison and Robinson, 2002) เชื้อไวรัส ACMV ติดไปได้กับท่อนพันธุ์ปลูกลงและมีแมลงหริ่งขาวยาสูบ (*Bemisia tabaci*) เป็นพาหะช่วยถ่ายทอดโรคแบบ persistent circulative แมลงหริ่งขาวที่ได้รับเชื้อไวรัส ACMV ไปแล้ว และเข้าทำลายใบมันสำปะหลังในระยะการเจริญเติบโต 2-3 สัปดาห์แรกจะมีประสิทธิภาพต่อการเกิดโรคกับพืชสูง (Fargette et al., 1994) ลักษณะอาการมันสำปะหลังเมื่อเชื้อไวรัส ACMV เข้าทำลายใบแสดงอาการจุดด่างเหลือง ใบหดลดรูปบิดเบี้ยว ถ้าอาการรุนแรงต้นพืชจะเตี้ยแคระจนไม่สามารถให้ผลผลิตได้ (Bock and Woods, 1983; Hillocks and Thresh., 2000; Legg and Fauquet, 2004) ระดับความรุนแรงของโรคขึ้นกับหลายปัจจัย ได้แก่ ความต้านทานของมันสำปะหลังแต่สายพันธุ์ ความรุนแรงของสายพันธุ์ของเชื้อไวรัส และสภาพแวดล้อม และที่สำคัญเชื้อไวรัสติดมาได้จากท่อนพันธุ์ปลูกลงและอาศัยแมลงหริ่งขาวยาสูบ (*Bemisia tabaci*) ถ่ายทอดและแพร่ระบาดโรคไปยังพื้นที่ปลูกอื่นๆ ได้ง่าย (Harrison et al., 1997; Fondong et al., 2000; Legg and Thresh, 2000) ในประเทศอินเดียรายงานว่าการระบาดของเชื้อไวรัส ACMV ทำให้ผลผลิตมันสำปะหลังในภาพรวมของประเทศลดลงถึง 20-90 % ซึ่งความรุนแรงของอาการโรคขึ้นกับความต้านทานของแต่สายพันธุ์มันสำปะหลัง (Seif, 1982) เชื้อไวรัส ACMV สามารถติดมาได้จากท่อนพันธุ์ปลูกลงและมีแมลงพาหะช่วยถ่ายทอดโรคที่เป็นสาเหตุใบด่างของมันสำปะหลังในแถบแอฟริกา มีรายงานว่าแมลงหริ่งขาวเพียง 1 ตัว ใช้เวลาถ่ายทอดโรคเพียง 10 นาที ก็มีประสิทธิภาพเพียงพอต่อการก่อให้เกิดโรคได้ (Fauquet and Fargette., 1990) กาญจนา และคณะ (2557) ได้ทำการสำรวจมันสำปะหลังในพื้นที่ปลูกที่สำคัญของประเทศไทย รวม 10 จังหวัด ได้แก่ นครราชสีมา ชลบุรี ระยอง ปราจีนบุรี ชัยภูมิ ฉะเชิงเทรา บุรีรัมย์ กาฬสินธุ์ ขอนแก่น และมหาสารคาม เพื่อยืนยันว่ามีการปรากฏหรือไม่ปรากฏของเชื้อไวรัส ACMV ในขณะนั้น จากการสำรวจจำนวนทั้งหมด 120 แปลง และเก็บตัวอย่างที่แสดงอาการใบคล้ายโรคไวรัส ได้แก่ ใบลดรูปขนาดเล็ก ลำต้นเตี้ยแคระ ใบด่างเหลืองและใบยอดบิดผิดรูปมาตรฐานจำนวน 1,200 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิค ELISA และ PCR ผลสรุปว่า ไม่ปรากฏเชื้อไวรัส ACMV ในทุกตัวอย่างที่ตรวจในมันสำปะหลังประเทศไทย

เชื้อแบคทีเรีย *Xylella fastidiosa* เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคขอบใบแห้งขององุ่น อยู่ในวงศ์ Xanthomonadaceae โดยมีองุ่นเป็นหนึ่งในพืชอาศัยหลัก (CABI, 2017) ต้นองุ่นจะแสดงอาการขาดน้ำ ยอดเหี่ยวเฉาตาย ใบแสดงอาการขอบใบไหม้และมีอาการจุดขีดเหลืองขยายโต ขอบใบแห้งตายอย่างรวดเร็ว แต่บริเวณภายในของใบยังคงมีสีเขียวหรือม่วงเข้ม อาการแห้งตายจะลุกลามไปที่ฐานใบและใบที่แห้งจะร่วงเฉพาะเนื้อใบ ยังคงเหลือก้านใบติดกับกิ่ง ต่อมาก้านใบจะค่อยแห้งจากปลายเข้าไป สภาพที่มีใบไหม้มากจะทำให้ ขอบองุ่นเหี่ยวแห้งลักษณะอาการเหี่ยวแห้งของใบนั้นอาจแตกต่างกันไป ตามสภาพอุณหภูมิและความชื้นและพันธุ์องุ่นอาการดังกล่าวอาจพบเพียงบางใบและบางกิ่งเท่านั้น เชื้อโรคนี้น้ำจืดในท่อน้ำ (xylem) ในระบบราก ลำต้น และใบสามารถแพร่ระบาดและถ่ายทอดโดยแมลงเพลี้ยจักจั่นหลายชนิด เช่น Sharp shooter leaf hopper (Cicadellidae) และ Spittle bugs (Cercopidae) และโดยวิธีติดตามเสียบกิ่ง PCR (Polymerase Chain Reaction) เป็นเทคนิคที่มีประโยชน์มากต่อการตรวจวินิจฉัยโรคพืช แต่ประสิทธิภาพของเทคนิค PCR เพื่อให้ได้มาซึ่งลายพิมพ์พันธุกรรม (genetic fingerprint) เพื่อใช้ตรวจหาเชื้อ ก่อโรคขึ้นอยู่กับจำนวนเซลล์ของเชื้อก่อโรค โดยจำนวนเซลล์ที่เพียงพอส่งผลให้สารพันธุกรรมของเชื้อก่อโรคสามารถเพิ่มจำนวนจนเพียงพอต่อการตรวจหา

นักวิทยาศาสตร์ของกระทรวงเกษตรสหรัฐอเมริกาค้นพบวิธีที่เรียกว่า Bio-PCR ซึ่งสามารถเพิ่มประสิทธิภาพของเทคนิค PCR ในการตรวจหาเชื้อก่อโรค โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่เป็นวุ้น (agar) หรือของเหลว (liquid) ซึ่งช่วยในการเจริญของเชื้อก่อโรคเพิ่มจำนวนเชื้อก่อโรคเป้าหมายในตัวอย่างส่งตรวจก่อนแล้วเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมโดยเทคนิค PCR โดยตรง (direct PCR) โดยวิธีนี้เมื่อผ่านไปไม่เกิน 3 วันขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อก่อโรคจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นถึง 1,000 เท่า ซึ่งเพียงพอต่อการตรวจหาโดยเทคนิค PCR ข้อดีของวิธีนี้เหนือเทคนิค PCR แบบทั่วไป คือเพิ่มประสิทธิภาพของเทคนิค PCR 100 ถึง 1000 เท่าและยับยั้งการทำงานของตัวขัดขวาง (inhibitor) ที่มีต่อเอนไซม์ Taq polymerase ซึ่งมีความสำคัญในการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยเทคนิค PCR วิธี Bio-PCR ใช้ได้ดีที่สุดกับแบคทีเรียที่โตเร็ว เช่น แบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ซึ่งก่อโรคเหี่ยวเฉาในมะเขือเทศและมันฝรั่ง และแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* ซึ่งก่อโรคจุดในแตงโม อย่างไรก็ตามวิธีนี้ยังใช้ได้กับเชื้อโตช้า เช่น *Xylella fastidiosa* ซึ่งก่อโรค Pierce ในองุ่น (Jan Suszkiw, 2013) Minsavage *et al.* (1994) ได้พัฒนาเทคนิค PCR เพื่อใช้ในการตรวจเชื้อแบคทีเรีย *Xylella fastidiosa* โดยใช้ไพรเมอร์ที่มีความเฉพาะเจาะจงกับเชื้อแบคทีเรีย *Xylella fastidiosa* คือ RST31 และ RST33 จะได้ลำดับเบสที่มีขนาด 733 bp

ด้วงฟูเรอโรส *Pantomorus cervinus* (Fuller's rose weevil) จัดเป็นวงศ์ Curculionidae มีชื่อพ้องได้แก่ *Naupactus cervinus* (Boheman) *Pantomorus godmani* (Crotch) *Asynonychus cervinus* (Boheman) *Asynonychus godmani* (Crotch) *Aramigus fulleri* (Horn) และ *Naupactus godmanni* (Crotch) (Chadwick 1965; Alonso-Zarazaga and Lyal, 1999) มีถิ่นกำเนิดในประเทศอาร์เจนตินา แต่มีการแพร่ระบาดในหลายประเทศ ถูกจัดเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศญี่ปุ่น เกาหลี และประเทศในแถบเอเชีย ไข่ของด้วงฟูเรอโรสเคยเป็นสาเหตุที่ใช้ในการกักกันทางการค้า (quarantine barrier) ของส้มจากรัฐแคลิฟอร์เนีย สหรัฐอเมริกาและเครือรัฐออสเตรเลียไปยังตลาดฝั่งเอเชียตะวันออก (Latin and Morse, 1989; Madge *et al.*, 1992; Anon, 2004) พืชอาศัย ได้แก่ กิ่ว ท้อ เนคทารีน พลับ พลัม สตรอเบอร์รี่ ส้ม แอปเปิ้ล อะโวคาโด แอปริคอต และองุ่น พบการแพร่ระบาดของด้วงฟูเรอโรส *P. cervinus* อาทิ เช่น สาธารณรัฐชิลี ประเทศนิวซีแลนด์ สาธารณรัฐฝรั่งเศส เครือรัฐออสเตรเลีย ประเทศญี่ปุ่น ประเทศแคนาดา สาธารณรัฐแอฟริกาใต้ สหพันธ์สาธารณรัฐบราซิล สาธารณรัฐอาร์เจนตินา และสหรัฐอเมริกา (ฟลอริดา แคลิฟอร์เนีย มิสซิสซิปปี ฮาวาย และอีกอย่างน้อย 25 รัฐ) (Alonso and Lyal, 1999; CABI, 2017) จากการรายงานด้วงฟูเรอโรส *P. cervinus* เป็นศัตรูพืชสำคัญของพืชผลไม้ในทั่วโลก มีศักยภาพสูงในการกินพืชอาศัยได้หลากหลายและจัดเป็นศัตรูพืชที่มีศักยภาพในการเพิ่มจำนวนได้สูง ซึ่งก่อให้เกิดความเสี่ยงต่อการเข้ามาโดยติดมากับผลไม้ ทางประเทศไทยได้ประกาศให้ด้วงฟูเรอโรสเป็นศัตรูพืชกักกันตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 และรายชื่อศัตรูพืชกักกันแนบท้ายประกาศ เกี่ยวกับเงื่อนไขการนำเข้าผลไม้จากสาธารณรัฐชิลี ประเทศนิวซีแลนด์ สาธารณรัฐฝรั่งเศส เครือรัฐออสเตรเลีย ประเทศญี่ปุ่น ประเทศแคนาดา และสาธารณรัฐแอฟริกาใต้ ซึ่งการนำเข้าผลไม้จะต้องมีมาตรการควบคุมด้วงฟูเรอโรส ตัวเต็มวัยบินไม่ได้ แมลงวางไข่บนผลครั้งละ 20-30 ฟอง วางเป็นกลุ่มคลุ้มด้วยขี้ผึ้ง ตลอดชีวิตวางไข่ได้ 100-1000 ฟอง ในกีวีแมลงวางไข่ตามรอยแตก เปลือกไม้ ซอกใบอ่อนแตกใหม่ ซอกกลีบท้ายผลกีวี (Maher and Logan, 2004) สำหรับผลส้มพบได้ขั้วผล (calyx) หนอนพีกออกมาจะทิ้งตัวลงดินและกัดกินรากพืชอาศัย ระยะหนอน 6-9 เดือน เข้าตักได้ในดิน ตัวเต็มวัยออกจากดินในฤดูร้อนและต้นฤดูใบไม้ร่วงและกัดกินใบ ตัวเต็มวัยอายุ 3-6 เดือน รวมวงจรชีวิต 1 ปี เพศเมียสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (Parthenogenesis) แพร่กระจายโดยมนุษย์ (Madge *et al.*, 1992) จากวงจรชีวิตของด้วงฟูเรอโรส ในระยะตัวอ่อนนั้นจะมีการเข้าทำลายและอาศัยกัดกินที่ขั้วผลไม่อย่างเฉพาะเจาะจง ดังนั้นจึงมีโอกาสและเป็นไปได้ที่ด้วงฟูเรอโรสจะสามารถตั้งรกรากในประเทศไทยได้ จึงควรมีการสำรวจและทำการเฝ้าระวังการติดตามตลอดจนทำการสำรวจในพื้นที่เสี่ยงต่างๆ ตามแนวทางมาตรการด้านสุขอนามัยและสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 ว่าด้วยคำแนะนำในการเฝ้าระวังศัตรูพืช (FAO, 1997) เช่นด่านนำเข้าสินค้า จุดกระจายสินค้า และแปลงปลูกที่มีความ

เสี่ยงเป็นที่ตั้งรกรากของด้วงฟูเรอโรส ซึ่งในเครือรัฐออสเตรเลียซึ่งถือว่าเป็นประเทศที่มีการระบาดของด้วงฟูเรอโรส ได้มีการสำรวจและทำการติดตั้งกับดักเพื่อใช้ล่อด้วงชนิดนี้ (Biosecurity Australia, 2011) สัมเขี้ยวหวาน เป็นไม้ผลที่ได้รับความนิยมในการบริโภคอย่างมากทั้งภายในประเทศและส่งออกไปยังประเทศเพื่อนบ้าน ตลาดยังมีความต้องการเพิ่มขึ้นทั้งในด้านเพื่อการบริโภคสดและแปรรูป โดยสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2559) ได้รายงานว่ามีพื้นที่ปลูกสัมเขี้ยวหวานทั้งหมด 102,726 ไร่ ให้ผลผลิต 185,804 ตันต่อปี โดยมีแหล่งปลูกที่สำคัญทางภาคเหนือถึง 93% ของพื้นที่ปลูกสัมทั้งประเทศ โดยมีแหล่งปลูกสูงสุด 5 อันดับ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ 33% สุโขทัย 27% แพร่ 11% กำแพงเพชร 9% เชียงราย 6% ตามลำดับ และผลผลิตใช้บริโภคในประเทศไทย 98% ของผลผลิตสดทั้งหมด ผลผลิตจะออกมากในช่วงเดือนมกราคม พฤศจิกายน และธันวาคม แต่ผลผลิตที่ได้ยังไม่เพียงพอต่อการความต้องการบริโภคภายในประเทศ จึงได้อนุญาตให้มีการนำเข้าสัมจากหลายประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย จีน และแอฟริกาใต้ เป็นต้น ซึ่งประเทศเหล่านี้มีรายงานว่ามีการระบาดของด้วงฟูเรอโรส และสัมนำเข้านี้อาจมีด้วงฟูเรอโรส *P. cervinus* ติดเข้ามาได้ เนื่องจากสัมเป็นพืชอาศัยหลักที่สำคัญของด้วงฟูเรอโรส จากวงจรชีวิตและลักษณะการทำลายของด้วงฟูเรอโรสมีความเป็นไปได้ที่จะสามารถเข้ามาตั้งรกรากอยู่ในประเทศไทยได้ และหากสามารถตั้งรกรากได้จริงย่อมจะมีโอกาสที่จะเกิดการระบาดและสร้างความเสียหายต่อสัมและพืชอื่นๆ อาทิเช่น สตรอเบอร์รี่ กุหลาบ และกล้วย ที่เป็นพืชอาศัยของด้วงชนิดนี้เช่นกัน

Aspidiotus nerii Bouché (Oleander scale) คือแมลงที่อยู่ในอันดับ Hemiptera วงศ์ Diaspididae เป็นแมลงปากดูดที่ทำความเสียหายให้กับพืชได้หลายชนิด ทั้งพืชสวนและพืชไร่ โดยดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณส่วนต่างๆของพืช ทำให้ส่วนของพืชที่ถูกทำลายมีอาการผิดปกติและทำให้เนื้อเยื่อของพืชบริเวณนั้นได้รับความเสียหาย กระบวนการเจริญเติบโตของต้นพืชไม่เป็นไปตามปกติ ส่งผลให้ผลผลิตลดลง และหากถูกทำลายในส่วนของผลอาจทำให้ผลด้อยคุณภาพและเสียราคา กระทั่งต่อการส่งออกผลผลิตทางการเกษตร (บุพผา และชลิดา, 2543) แมลงชนิดนี้สามารถเข้าทำลายพืชได้ทั้งในระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัยซึ่งได้รับการบันทึกว่ามีการเข้าทำลายพืชมากกว่า 100 วงศ์ (Beardsley and Gonzalez, 1975) ทั้งไม้ผล ไม้ดอก และไม้ยืนต้นอื่นๆ เช่น กีวี (kiwi) ท้อ (peach) แอปเปิ้ล (European pear) มะกอก (olive) มะม่วง (mango) มะพร้าว (coconut) ส้ม (citrus) สับปะรด (pineapple) หม่อน (mulberry tree) ต้นสน (pines) องุ่น (grape) อินทผลัม (date palm) ดอกกุหลาบ (roses) กล้วยไม้ (orchids) ดอกคาร์เนชั่น (carnation) โจ้โจ้บา (jojoba) และดอกแมกโนเลีย (magnolia) เป็นต้น และพบการระบาดได้ทั่วโลก (Scalenet, 2017) แต่ยังไม่มีการรายงานพบในประเทศไทย (Williams and Watson, 1988) จากวงจรชีวิตของเพลี้ยหอยชนิดนี้ที่สามารถสืบพันธุ์ได้ทั้งสองแบบคือ แบบอาศัยเพศ (Sexual reproductive) และแบบไม่อาศัยเพศ (Non-sexual reproductive) โดยวิธี Parthenogenesis ซึ่งเป็นการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศของแมลงบางชนิด คือการที่เพศเมียผลิตไข่และสามารถฟักออกเป็นตัวได้โดยไม่ต้องมีการปฏิสนธิ ในสภาวะปกติไข่จะฟักออกมาเป็นเพศเมีย และในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมไข่จะฟักออกมาเป็นได้ทั้งเพศเมียและเพศผู้ ถ้าเพศผู้กับเพศเมียได้ผสมกันไข่จะมีความคงทนต่อสภาวะที่ไม่เหมาะสมได้ (Provencher et al., 2005) ตัวเต็มวัยเพศเมีย 1 ตัว จะมีช่วงเวลาการวางไข่ประมาณ 1-2 สัปดาห์ จำนวนไข่ต่อตัวอยู่ที่ 100-150 ฟอง วงจรชีวิตของแมลงชนิดนี้ประมาณ 5 สัปดาห์ ใน 1 ปี สามารถผลิตประชากรได้ 2-3 รุ่น และการแพร่กระจายนั้นจะเกิดมาจากการขนส่ง โดยติดมากับพืชอาศัย หรือการนำเข้ามาสู่แหล่งอาศัยใหม่จากกิจกรรมของมนุษย์ เช่น ติดมากับผลท่อนพันธุ์หรือกิ่งพันธุ์พืชที่นำเข้ามาปลูก เป็นต้น พืชอาศัยของเพลี้ยหอยชนิดนี้แบ่งได้เป็นสองกลุ่มคือ พืชอาศัยหลัก (Main host) และพืชอาศัยรอง (Other host) โดยพืชอาศัยหลักของเพลี้ยหอยชนิดนี้ ได้แก่ มะกอกโอลีฟ และพืชตระกูลส้ม ส่วนพืชอาศัยรองได้แก่ กีวี ท้อ มะม่วง มะพร้าว ลูกแพร์ สับปะรด หม่อน ต้นสน องุ่นทำไวน์ อินทผลัม กุหลาบ กล้วยไม้ ดอกคาร์เนชั่น โจ้โจ้บา และแมกโนเลีย เป็นต้น เพลี้ยหอยชนิดนี้สามารถเข้าทำลายดูดกินน้ำเลี้ยงบนต้นพืชได้ทุกส่วนของพืช ตัวเต็มวัยจะเกาะนิ่งอยู่กับที่และดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณนั้นตลอดชั่วอายุขัย แต่ตัวอ่อนที่ออกจากตัวแม่สามารถเคลื่อนที่เพื่อไปหาแหล่งอาหารใหม่ได้ หากนำชิ้นส่วนของพืชที่มีเพลี้ยหอย

จากแหล่งที่พบว่ามีภาระระบาดติดเข้ามา ก็อาจจะทำให้เกิดความเสียหายขึ้นมาได้ในอนาคต ในส่วนของพืชอาศัยหลักของเพลี้ยหอยชนิดนี้ที่ปลูกมากในประเทศไทย คือ พืชตระกูลส้มจากการรายงานของ กรมส่งเสริมการเกษตร (2559) รายงานว่าพื้นที่ปลูกพืชตระกูลส้มในประเทศไทยทั้งหมด จำนวน 307,131 ไร่ โดยแบ่งเป็น มะนาว 145,755 ไร่ ส้มเขียวหวาน 92,473 ไร่ ส้มโอ 62,835 ไร่ มะกรูด 3,694 ไร่ ส้มเกลี้ยงและส้มตรา 2,354 ไร่ ตามลำดับ ส่วนพืชอาศัยรองที่ปลูกมากในประเทศไทย จำนวน 9 ชนิด จำนวน 3,031,655 ไร่ ได้แก่ ท้อ 4,267 ไร่ มะม่วง 629,396 ไร่ มะพร้าว 1,207,398 ไร่ สับปะรด 1,144,255 ไร่ หม่อน 16,967 ไร่ องุ่นทำไวน์ 500 ไร่ อินทผลัม 235 ไร่ กัลยไม้ 27,960 ไร่ และกุหลาบ 677 ไร่ ซึ่งพืชเหล่านี้มีโอกาสที่จะมีเพลี้ยหอยชนิดนี้เข้าทำลายได้ แต่เนื่องจากพืชอาศัยของเพลี้ยหอยชนิดนี้มีจำนวนมากการสำรวจในทุกพืชนั้นอาจต้องใช้บุคลากร ระยะเวลา และงบประมาณในการสำรวจติดตามจำนวนมาก การสำรวจในครั้งนี้จึงมุ่งเน้นไปเฉพาะพืชอาศัยหลัก ซึ่งหากพบว่ามีเพลี้ยหอยชนิดนี้ในพืชอาศัยหลักแล้วค่อยขยายผลไปยังพืชอาศัยรองอื่นๆ เพื่อยืนยันข้อมูลของสถานภาพของเพลี้ยหอยชนิดนี้ต่อไป ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องทำการสำรวจเพื่อเฝ้าระวังศัตรูพืชชนิดนี้ในพื้นที่ปลูกพืชตระกูลส้ม เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการสนับสนุนการออกมาตรการเฝ้าระวังศัตรูพืช การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช และการรายงานศัตรูพืชอีกด้วย

วัชพืช *Chenopodium album* L. อยู่ในวงศ์ Chenopodiaceae ซึ่งมีกะหล่ำปลีเป็นพืชหนึ่งที่เป็นพืชอาศัยหลัก มีลักษณะแขนงที่หยากกร้านสีเขียวหรือสีน้ำตาลอมเหลือง ใบเลี้ยงลำตัวมีขนอ่อนลาย มีขนดกสีน้ำตาลอมเหลืองหรือสีแดงสดความยาว 6 - 12 มิลลิเมตร และความกว้าง 1.5 - 4 มิลลิเมตร ลักษณะของรากอวบและปลายเรียว มีรากแขนงที่เกิดจากรากหลัก ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด ลำต้นตั้งตรงสูงประมาณ 0.2 - 2 เมตร ขนสีม่วง ลำต้นสีแดงหรือสีเขียวอ่อน ใบสลับกันเป็นรูปไข่ แต่ส่วนใหญ่ใบเป็นรูปใบหอก ซ่อดอกในแหลมไม่สม่ำเสมอ กลีบเลี้ยงมี 5 กลีบ ผลไม้เป็นผลแห้งเมล็ดจะร้อน (เมล็ดที่ปกคลุมด้วยเยื่อกระดาษอัดบางๆ) เมล็ดเกือบกลมเป็นรูปวงรีรูปไข่ รูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส ด้านข้างนูน ครีบริบบนยาวดำ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 1.5 × 1.4 มิลลิเมตร น้ำหนัก 1.2 มิลลิกรัม (CABI, 2015) มีการแพร่กระจายอย่างกว้างขวางทั้งในซีกโลกเหนือและทางใต้ซึ่งเกิดขึ้นในเอเชีย อเมริกาเหนือยุโรป อินเดีย แอฟริกาใต้ ออสเตรเลีย และอเมริกาใต้ มีอยู่ทั่วไปในทวีปอเมริกาเหนือ อาศัยในพื้นที่สูงจากระดับน้ำทะเลความสูง 3,600 เมตร เป็นวัชพืชทั่วไปของพืชสวนและสวนผลไม้ นอกจากนี้ยังพบในพื้นที่รกร้างในทุ่งหญ้า แถบที่ดินที่ไม่มีการเพาะปลูกตามริมฝั่งแม่น้ำ ทนต่อทุกสภาวะสภาพอากาศ เจริญเติบโตในดินที่ความอุดมสมบูรณ์และมีความเป็นกรดได้ Holm *et al.* (1977) กล่าวว่า เป็นวัชพืชที่ร้ายแรงสามารถเจริญได้ในพืช 40 พืช ใน 47 ประเทศ ซึ่งเป็นพืชที่พบมากที่สุดที่มันสำปะหลัง มันฝรั่ง ข้าวโพด และธัญพืช เป็นหนึ่งในวัชพืชที่สำคัญของแคนาดา ยุโรป อินเดีย เม็กซิโก นิวซีแลนด์ ปากีสถาน และแอฟริกาใต้ สร้างความสูญเสียทางเศรษฐกิจ การเกษตรทั่วโลก ประเทศแคนาดาในปี 2534 พบว่า วัชพืชนี้ทำให้เกิดความสูญเสียโดยเฉลี่ยปีละ 984 ล้านดอลลาร์ (Swanton *et al.*, 1993) ในสหรัฐอเมริกาพบว่าการสูญเสียเฉลี่ย 4.1 พันล้านดอลลาร์ต่อปี โดยใช้กลยุทธ์การควบคุมโดยไม่ใช้สารเคมีกำจัดวัชพืชมูลค่า 19.6 พันล้านเหรียญ (Bridges and Anderson, 1992) การกระจายตัวทั่วโลกมีความสามารถตั้งถิ่นฐานในแหล่งที่อยู่อาศัยใหม่ๆ และมีการผลิตเมล็ดพันธุ์ได้จำนวนมากและสามารถดำรงชีวิตเป็นเวลาหลายปี มีความทนทานต่อสารเคมีกำจัดวัชพืช *Chenopodium album* L. เป็นปัญหาวัชพืชที่สำคัญในการเกษตร (Holm *et al.*, 1977; Mitich, 1988; Holt and Lebaron, 1990)

ไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne thailandica* เป็นไส้เดือนฝอยรากปมชนิดใหม่ ซึ่งพบครั้งแรกในซิงที่นำเข้าจากประเทศไทย ณ ท่าเรือซานฟรานซิสโก ประเทศสหรัฐอเมริกา โดยในปี ค.ศ. 2002 หน่วยงาน Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS) ของประเทศสหรัฐอเมริกา ได้สกัดกั้นการนำเข้าซิงจากประเทศไทยที่ท่าเรือซานฟรานซิสโก ซึ่งซิงดังกล่าวได้นำไปตรวจศัตรูพืช โดย U.S. Department of Agriculture (USDA) พบว่าเป็นไส้เดือนฝอยศัตรูพืชชนิดใหม่ *Meloidogyne thailandica* และได้ตีพิมพ์รายงานดังกล่าวในปี ค.ศ. 2005 (Handoo *et al.*, 2005) ในปี ค.ศ. 2016 ประเทศไทยต้องการเปิดตลาดการส่งออกซิงกับประเทศ

ออสเตรเลีย ซึ่งรัฐบาลออสเตรเลีย โดยหน่วยงาน Department of Agriculture and Water Resources ได้กล่าวอ้างรายงานดังกล่าว เพื่อต้องการข้อมูลสถานภาพของ *M. thailandica* และต้องการให้ประเทศไทยมีมาตรการสุขอนามัยพืชที่เหมาะสมกับศัตรูพืชดังกล่าวโดยเฉพาะการประกาศการปลดปล่อยศัตรูพืชชนิดนี้ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องดำเนินการสำรวจสถานภาพของไส้เดือนฝอยรากปม *M. thailandica* ในพืชของประเทศไทย เพื่อเป็นการพิสูจน์ว่ามีหรือไม่มีไส้เดือนฝอยดังกล่าวในประเทศไทย ซึ่งไส้เดือนฝอยรากปม *M. thailandica* เป็นศัตรูพืชชนิดใหม่จึงไม่มีข้อมูลสถานภาพของไส้เดือนฝอยดังกล่าวในประเทศไทย ไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne* spp.) เป็นไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่สำคัญสามารถเข้าทำลายพืชกว่า 2,000 ชนิด ปัจจุบันไส้เดือนฝอยรากปมในสกุลนี้มี 96 ชนิด แม้ว่าจะมีจำนวนชนิดมากแต่ไส้เดือนฝอยรากปมที่เป็นศัตรูพืชสำคัญในสกุลนี้มีเพียงไม่กี่ชนิดสามารถแบ่งคร่าวๆ เป็น 2 กลุ่มหลัก ได้แก่ กลุ่มที่หนึ่ง สร้างความเสียหายแก่พืชปลูกและพบแทบทุกภูมิภาคของโลก เช่น *M. incognita* *M. javanica* *M. arenaria* และ *M. hapla* กลุ่มที่สอง สร้างความเสียหายแก่พืชปลูก แต่พบในบางภูมิภาคจึงเป็นไส้เดือนฝอยศัตรูพืชกักกันในหลายประเทศ เช่น *M. fallax* *M. chitwoodi* และ *M. enterolobii* (Hunt and Handoo, 2009; EPPO, 2013 and 2016) ไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่มีรายงานการพบในประเทศไทย ได้แก่ *M. incognita* *M. javanica* *M. hapla* *M. graminicola* *M. exigua* และ *M. naasi* (Toida et al., 1996) และ *M. microcephala* (Cliff and Hirschmann, 1984) และไส้เดือนฝอยรากปมที่เข้าทำลายพืชในประเทศไทย มีรายงานการพบ *M. incognita* ในแง่งพันธุ์ขิง มนตรี (2538) ส่วนไส้เดือนฝอยรากปมที่รายงานการเข้าทำลายพืชในภูมิภาคของโลก ส่วนใหญ่ก็เป็น *M. incognita* และมีการพบไส้เดือนฝอยรากปมชนิดอื่นที่สามารถเข้าทำลายพืชได้ด้วย เช่น *M. arenaria* และ *M. javanica* (Handoo et al., 2005)

เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas fuscovaginae* เชื้อสาเหตุของโรคกาบใบเน่าสีน้ำตาลของข้าวถูกศึกษาและจัดจำแนกโดยวิธีทางชีวเคมี พืชอาศัย ความสัมพันธ์ทางเซรุ่มวิทยาว่าคือแบคทีเรีย *Pseudomonas fuscovaginae* โดย Tani et al. (1976) อาการของโรคจะปรากฏบริเวณกาบใบ ใบ และเมล็ดข้าวมีสีเปลี่ยนแปลงไป โดยพบในประเทศแม็กซิโก กัวเตมาลา ปานามา สุรินาม โคลัมเบีย เปรู และ บราซิล (Zeigler et al., 1987) แบคทีเรีย *P. fuscovaginae* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อนสั้น ไม่สร้างสปอร์ ขนาด 0.5-0.8 x 2.0-3.5 ไมโครเมตร เซลล์เกิดขึ้นคู่หรือเดี่ยวและ เคลื่อนไหวด้วยหาง (flagella) จำนวน 1-4 เส้นที่อยู่บริเวณส่วนปลาย (polar flagella) (Miyajima et al., 1983) ลักษณะโคโลนิของแบคทีเรีย *P. fuscovaginae* กลมมนูน ผิวเรียบ โปร่งแสง มีสีขาวถึงสีน้ำตาลอ่อนเหลืองแสง มีความเหนียวเหนียวเหลว อาการของโรคเน่าสีน้ำตาลจะปรากฏที่กาบใบเปลือกหุ้มใบข้าวระยะต้นกล้าและระยะเจริญเติบโตในภายหลัง ต้นกล้าที่ติดเชื้อในระยะเริ่มแรกจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเป็นสีน้ำตาลบนกาบใบด้านล่าง (Cottyn et al., 1994) หลังจากนั้นจะเปลี่ยนสีจากสีเทาน้ำตาลเป็นสีน้ำตาลเข้ม ในที่สุดต้นกล้าที่ติดเชื้อจะเน่าและตายในที่สุด ใบต้นกล้าจะเกิดการเปลี่ยนสีของเส้นกลางใบและเส้นใบได้ อาการของโรคกาบใบเน่าสีน้ำตาลในข้าวจะพบบนกาบใบของต้นข้าวโดยเฉพาะกาบใบของใบธงและรวงข้าว มีลักษณะอาการเช่นเดียวกับบนต้นกล้า เกิดแผลบริเวณกาบใบเป็นสีน้ำตาลเข้ม ล้อมรอบด้วยรอยขีดขอบสีน้ำตาลเข้ม บางครั้งกาบใบแสดงอาการฉ่ำน้ำ เน่าเป็นสีน้ำตาลเข้มแต่ไม่มีแผลที่ชัดเจน หากเป็นโรครุนแรงกาบใบจะกลายเป็นเน่าและแห้งตายในที่สุดอาการของโรคกาบใบเน่าสีน้ำตาลในแปลงนาข้าวใกล้เคียงกับอาการของโรคที่เกิดจากแบคทีเรียและเชื้อราอื่นๆ ทำให้สับสนในการวินิจฉัยโรค นอกจากนี้แบคทีเรีย *P. fuscovaginae* ยังสามารถติดไปกับเมล็ดได้ ในประเทศอินโดนีเซีย มีรายงานว่าแปลงนาที่มีการระบาดของโรคกาบใบเน่าสีน้ำตาลถึง 72% ในฤดูร้อนพบว่าเมล็ดข้าวที่เก็บเกี่ยวจากแปลงที่มีการระบาดของโรคมิเปอร์เซ็นต์การงอกลดลง แต่ในฤดูฝนพบว่าเมล็ดข้าวที่เก็บเกี่ยวมีลักษณะไม่ดีมีสีเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ไม่สามารถนำไปใช้ในการขยายพันธุ์ได้ (Cahyaniati and Mortensen, 1995) โรคกาบใบเน่าสีน้ำตาลของข้าวเกิดจากแบคทีเรีย *P. fuscovaginae* โรคนี้มีการกระจายอยู่ในแปลงนาข้าวชลประทานที่มีระดับความสูงระหว่าง 1300 และ 2000 เมตรในประเทศมาดากัสการ์ ความรุนแรงของโรคเพิ่มขึ้นตามระดับความสูงของน้ำทะเลโดยพบการยับยั้งการเกิดรวงข้าวเพิ่มขึ้น

พันธุ์ข้าวพื้นเมืองของมาดากัสการ์มีความทนทานมากกว่าข้าวพันธุ์กึ่งแคระ (semi-dwarf) ของสถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (Duveiller *et al.*, 1990) โรคกาบใบเน่าสีน้ำตาลแพร่ระบาดในพื้นที่ปลูกข้าวของหลายประเทศทั่วโลกในเดือนเมษายน 2554 เกิดการระบาดอย่างรุนแรงในประเทศสาธารณรัฐเกาหลีใต้ สร้างความเสียหายทำให้ผลผลิตของข้าวลดลงถึง 10 -20% พื้นที่ปลูกข้าวทั้งหมด สำหรับในประเทศไทยยังไม่พบรายงานการเกิดโรคจากเชื้อชนิดนี้ และยังเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทยด้วย (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2550) แต่เนื่องจากเชื้อแบคทีเรีย *P. fuscovaginae* สามารถติดไปกับเมล็ด (seed-borne) และเป็นเชื้อสาเหตุโรคพืชที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งทางด้านกักกันพืชที่ต้องมีการเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของเชื้อโดยเฉพาะอย่างยิ่งการเคลื่อนย้ายหรือนำเข้าเมล็ดพันธุ์ข้าวจากประเทศที่มีการระบาดของโรค การใช้เมล็ดพันธุ์ปลอดโรคเป็นอีกวิธีที่ใช้ป้องกันการแพร่ระบาดของโรค

เชื้อ *Lettuce mosaic virus* (LMV) เป็นเชื้อไวรัสพืชสาเหตุโรคใบด่างของผักกาดหอม (*Lactuca sativa*) ซึ่งเป็นโรคที่สำคัญและทำความเสียหายอย่างรุนแรง พบแพร่ระบาดในแหล่งผลิตผักกาดหอมทั่วโลก โดยเฉพาะในทวีปยุโรปและอเมริกา มีรายงานว่าพบการระบาดของโรคใบด่างในผักกาดหอมในรัฐฟลอริดาถึง 100% แต่ยังไม่มียารายงานพบโรคนี้ในประเทศไทย (CPC, 2018) LMV เป็นไวรัสในจีนัส (genus) *Potyvirus* และอยู่ในวงศ์ (family) *Potyviridae* ลักษณะอนุภาคเป็นท่อนยาวคด (flexuous rods) ขนาดประมาณ 750 x 13 นาโนเมตร (Revers *et al.*, 1997b) เชื้อไวรัส LMV สามารถถ่ายทอดโรคในเมล็ดผักกาดหอมและวัชพืช chicken weed (*Senecio vulgaris*) โดยมีอัตราการถ่ายทอดโรคในเมล็ดผักกาดหอม 0.1 – 37 % (Shukla *et al.*, 1994) นอกจากนี้เชื้อไวรัสสามารถแพร่กระจายโดยมีเพลี้ยอ่อน *Myzus persicae* เป็นพาหะแบบ non-persistent (Bos *et al.*, 1994; Nebreda *et al.*, 2004; Moreno *et al.*, 2007) เชื้อไวรัสชนิดนี้สามารถเข้าทำลายพืชในวงศ์ Asteraceae ได้หลายชนิด โดยพืชอาศัยหลักคือ ผักกาดหอม (lettuce) (German-Retana *et al.*, 2008) ลักษณะอาการโรคในผักกาดหอมจะเกิดอาการใบด่าง (mosaic) ใบผิดรูป (leaf distortion) เตี้ยแคระ (dwarf) อาการเหลือง (yellowing) อาการเหี่ยว (wilting) เส้นใบใส (vein clearing) ไม่สร้างหัว (Lim *et al.*, 2014; Candresse *et al.*, 2007) และบางครั้งเกิดอาการไหม้ (necrosis) (Candresse *et al.*, 2007) นอกจากผักกาดหอมที่เป็นพืชอาศัยหลักแล้ว ยังทำให้เกิดอาการใบด่างในถั่วลันเตา อาการใบเหลืองและลดรูปในพวยเล้งด้วย (CABI, 2018) แต่ไม่มียารายงานการสร้างความเสียหายต่อผลผลิต การป้องกันกำจัดโรคที่ดีที่สุดคือการใช้เมล็ดพันธุ์ที่ปลอดโรค ในสหรัฐอเมริกากำหนดระดับการปนเปื้อนเชื้อในเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมที่ยอมรับได้คือ 0 ใน 30,000 เมล็ด ในขณะที่ในเนเธอร์แลนด์กำหนดให้มีเชื้อในเมล็ดไม่เกิน 0 ใน 2,000 เมล็ด การกำจัดเชื้อในเมล็ดโดยใช้ความร้อนมีผลต่อความงอกของเมล็ด แต่การแช่เมล็ดในกรดเกลือ และการใช้ไอโซนสามารถกำจัดเชื้อในเมล็ดโดยไม่กระทบต่อความงอก การตรวจเชื้อที่ติดมากับเมล็ดทำได้หลายวิธี เช่น การปลูกสังเกตอาการ (grow-out test) โดยเพาะเมล็ดจำนวน 30,000 ในโรงเรือนป้องกันแมลง สังเกตอาการในต้นกล้าเป็นเวลา 18-21 วัน หรือการปลูกเชื้อบนพืชทดสอบ *Chenopodium quinoa* การตรวจด้วยเทคนิคทางเซรุ่มวิทยาด้วยวิธี ELISA (ISF, 2017)

โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการปรากฏ/ไม่ปรากฏของศัตรูพืช และได้ข้อมูลสถานภาพของศัตรูพืชเพื่อใช้สนับสนุนการออกประกาศการปลอดศัตรูพืช โดยหน่วยงานองค์การอารักขาพืชแห่งชาติ (NPP0)

วิธีการวิจัย

ติดตาม เฝ้าระวังการระบาดของศัตรูพืช เพื่อยืนยันสถานภาพที่เป็นปัจจุบันของรายชื่อศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย รวมทั้งการจัดทำฐานข้อมูลศัตรูพืชกักกัน เพื่อป้องกันมิให้ศัตรูพืชร้ายแรงจากต่างประเทศเข้ามาแพร่ระบาดทำความเสียหายต่อผลผลิตในประเทศและยังสร้างโอกาส ในการเพิ่มมูลค่าสินค้าเกษตรเพื่อการส่งออก นับเป็นปัญหาเชิงรุกเพื่อแก้ปัญหาการทั้งการนำเข้าและการส่งออก นอกจากนี้ยังมีผลกระทบโดยตรงต่อเกษตรกร ผู้ประกอบการภาคเอกชน

โดยดำเนินการวิจัย จำนวน 24 การทดลอง ประกอบด้วย

- การทดลองที่ 1 การศึกษาสถานภาพของรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaedis* (Foe) ในประเทศไทย
- การทดลองที่ 2 การศึกษาสถานภาพรา *Sporisorium reilianum* (J.G.Kühn) angdon & Full สาเหตุโรค Head smut ของข้าวโพดในประเทศไทย
- การทดลองที่ 3 การศึกษาสถานภาพแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *nebraskensis* สาเหตุโรค Goss's Bacterial Wilt and Leaf Blight ของข้าวโพดในประเทศไทย
- การทดลองที่ 4 การศึกษาสถานภาพเชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* สาเหตุโรค Potota Ring Rot ของมันฝรั่งในประเทศไทย
- การทดลองที่ 5 การศึกษาสถานภาพเชื้อไวรัส *Tomato black ring virus* (TBRV) และ *Tomato ringspot virus* (TRSV) ของมะเขือเทศในประเทศไทย
- การทดลองที่ 6 การศึกษาสถานภาพเชื้อไวรอยด์ *Mexican papita viroid*, *Tomato apical stunt viroid*, *Tomato planta macho viroid*, *Pepper chat fruit viroid* ของพริกและมะเขือเทศในประเทศไทย
- การทดลองที่ 7 การศึกษาสถานภาพไส้เดือนฝอย *Meloidogyne chitwoodi* และ *Meloidogyne fallax* ของมันฝรั่งในประเทศไทย
- การทดลองที่ 8 การทดลองที่ 8 การศึกษาสถานภาพของวัชพืช *Polygonum aviculare* L. และ *Polygonum convolvulus* L. ในแปลงกะหล่ำปลีและกะหล่ำดอกในประเทศไทย
- การทดลองที่ 9 การศึกษาสถานภาพไร *Aceria guerreronis* Keifer ในประเทศไทย
- การทดลองที่ 10 การติดตามการระบาดและเฝ้าระวังแมลงวันทองชนิด *Bactrocera carambolae* (Drew & Hancock) ในเขตภาคใต้ของประเทศไทย
- การทดลองที่ 11 ศึกษาสถานภาพเชื้อไวรัส *Sri Lankan Cassava Mosaic Virus* ในประเทศไทย
- การทดลองที่ 12 การศึกษาสถานภาพรา *Bipolaris zeicola* (G.L.Stout) Shoemaker สาเหตุโรค Northern Corn Leaf Spot ในประเทศไทย
- การทดลองที่ 13 การศึกษาสถานภาพเชื้อแบคทีเรีย *Burkholderia glumae* สาเหตุโรค Bacterial Panicle Blight ในประเทศไทย
- การทดลองที่ 14 การศึกษาสถานภาพแบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* สาเหตุโรค Bacterial speck ในประเทศไทย
- การทดลองที่ 15 การศึกษาสถานภาพเชื้อไวรัส *Maize dwarf mosaic virus* ในประเทศไทย
- การทดลองที่ 16 การศึกษาสถานภาพเชื้อไวรัส *Pepper mild mottle virus* ในประเทศไทย
- การทดลองที่ 17 การศึกษาสถานภาพของเชื้อไวรัส *African cassava mosaic virus* (ACMV) ในประเทศไทย
- การทดลองที่ 18 การศึกษาสถานภาพเชื้อแบคทีเรีย *Xylella fastidiosa* ขององุ่นในประเทศไทย

การทดลองที่ 19 การศึกษาสภาพภาพด้วงฟูเรอโรส *Pantomorus cervinus* (Boheman) ในพืชตระกูลส้ม

การทดลองที่ 20 การศึกษาสภาพภาพเพลี้ยหอย *Aspidiotus nerii* Bouche ของพืชตระกูลส้มในประเทศไทย

การทดลองที่ 21 การศึกษาสภาพภาพวัชพืช *Chenopodium album* L. ของพืชผักในประเทศไทย

การทดลองที่ 22 การศึกษาสภาพภาพไส้เดือนฝอยศัตรูพืช *Meloidogyne thailandica* ในขิงของประเทศไทย

การทดลองที่ 23 การศึกษาสภาพภาพเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas fuscovaginae* สาเหตุโรค Brown sheat rot ของข้าวในประเทศไทย

การทดลองที่ 24 การศึกษาสภาพภาพของเชื้อไวรัส *Lettuce mosaic virus* สาเหตุโรคใบด่างผักกาดหอม ประเทศไทย

กรมวิชาการเกษตร

บทคัดย่อ

ประเทศไทยเป็นสมาชิกขององค์การการค้าโลก (WTO) ที่ต้องปฏิบัติตามเงื่อนไขอนุสัญญาว่าด้วยการอารักขาพืชระหว่างประเทศซึ่งกำหนดมาตรฐานระหว่างประเทศ (IPPC) ว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชเพื่อป้องกันการเข้ามาหรือการแพร่ระบาดของศัตรูพืชกักกันหรือเพื่อป้องกันมิให้เกิดผลกระทบทางเศรษฐกิจที่เกิดจากศัตรูพืช กรมวิชาการเกษตรในฐานะเป็นองค์กรอารักขาพืชแห่งชาติ (National Plant Protection Organization; NPPO) ต้องดำเนินการสำรวจและติดตามข้อมูลศัตรูพืชในแหล่งปลูกเพื่อเป็นการเฝ้าระวัง (Surveillance) ศัตรูพืชตามมาตรฐานของ ISPMs ฉบับที่ 6 เพื่อให้ได้ข้อมูลศัตรูพืชที่ปรากฏหรือไม่ปรากฏพบที่นำไปใช้ในการสนับสนุนการออกประกาศเรื่องศัตรูพืชของประเทศไทย ดังนั้นโครงการศึกษาสถานภาพศัตรูพืชกักกันในประเทศไทยจึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการปรากฏ/ไม่ปรากฏของศัตรูพืช และได้ข้อมูลสถานภาพของศัตรูพืชเพื่อใช้สนับสนุนการออกประกาศการปลอดศัตรูพืช ดำเนินการวิจัยตั้งแต่ ตุลาคม 2559 ถึง กันยายน 2564 โดยดำเนินการสืบค้นข้อมูลของศัตรูพืชเป้าหมาย จัดทำคู่มือการสำรวจและแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ โดยดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง ตามมาตรฐานของ ISPM No.6 (เฝ้าระวัง) ในแปลงปลูกพืชของประเทศไทย และสุ่มเก็บตัวอย่างมาตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ ผลการสำรวจไม่ปรากฏพบรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* รา *Sporisorium reilianum* รา *Bipolaris zeicola* (G.L.Stout) Shoemaker แบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *nebraskensis* แบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* แบคทีเรีย *Burkholderia glumae* แบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* แบคทีเรีย *Xylella fastidiosa* แบคทีเรีย *Pseudomonas fuscovaginae* ไวรัส *Tomato black ring virus* (TBRV) และ *Tomato ringspot virus* (TRSV) ไวรัส *Maize dwarf mosaic virus* ไวรัส *African cassava mosaic virus* (ACMV) ไวรอยด์ *Mexican papaya viroid*, *Tomato apical stunt viroid*, *Tomato planta macho viroid*, *Pepper chat fruit viroid* ไร้นิวคลีโอโปรตีน *Meloidogyne chitwoodi* และ *Meloidogyne fallax* ไร้นิวคลีโอโปรตีน *Meloidogyne thailandica* ตัวงูเห่าโรส *Pantomorus cervinus* (Boheman) เพลี้ยหอย *Aspidiotus nerii* Bouché วัชพืช *Polygonum aviculare* L. และ *Polygonum convolvulus* L. วัชพืช *Chenopodium album* L. และปรากฏพบไวรัส *Sri Lankan Cassava Mosaic Virus* ในเขตภาคตะวันออก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบไวรัส *Pepper mild mottle virus* ในจังหวัดกาญจนบุรี แพร่ ชัยภูมิ พบไร *Aceria guerreronis* Keifer เฉพาะในเขตภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคเหนือตอนล่าง พบแมลงวันทอง *Bactrocera carambolae* (Drew & Hancock) เฉพาะในเขตภาคใต้และจังหวัดเพชรบุรี และพบ *Lettuce mosaic virus* (LMV) ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมนำเข้าจากไต้หวันและพบในแปลงปลูกที่ใช้เมล็ดพันธุ์นำเข้าจากต่างประเทศเฉพาะในจังหวัดนครราชสีมา และน่าน ซึ่งจากการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชประเมินได้ว่า LMV เป็นศัตรูพืชกักกันซึ่งมีความเสี่ยงปานกลางที่จะติดเข้ามาแพร่ระบาดทำความเสียหายในประเทศไทย โดยได้ดำเนินการทำลายศัตรูพืชที่สำรวจพบให้หมดสิ้นแล้ว และได้จัดทำมาตรการเฝ้าระวังและควบคุมการแพร่ระบาดไปยังแหล่งปลูกอื่น ๆ ในประเทศอย่างต่อเนื่อง

คำสำคัญ: เฝ้าระวัง, ศัตรูพืชกักกัน, สถานภาพศัตรูพืช, สำรวจ

Abstract

Thailand is a member of the World Trade Organization (WTO) that is obliged to comply with the terms of the International Plant Protection Convention (IPPC) that establishes international standards on phytosanitary measures to prevent the entry or spread of pests. Quarantine plants or to prevent the economic impact caused by pests. The Department of Agriculture, as the National Plant Protection Organization (NPPO), must conduct surveys and monitor pest data in the planting areas for pest surveillance in accordance with ISPM 6: Surveillance to obtain information on pests that are present or absent that are used to support the issuance of a pest declaration in Thailand. Therefore, the project to study on the status of quarantine pests in Thailand aims to study the presence/absence of pests. The research was conducted from October 2016 to September 2021. by conducting a search for information on the target pest Prepare survey manuals and detailed forms of survey data. by conducting a specific survey according to ISPM No.6: Surveillance in the planting fields of Thailand and randomly collect samples for pest diagnosis in the laboratory. The result showed that absence *Fusarium oxysporum* f. sp. *Elaeidis*, *Sporisorium reilianum*, *Bipolaris zeicola* (G.L.Stout) Shoemaker, *Clavibacter michiganensis* subsp. *nebraskensis*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*, *Burkholderia glumae*, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *Xylella fastidiosa*, *Pseudomonas fuscovaginae*, *Tomato black ring virus* (TBRV), *Tomato ringspot virus* (TRSV), *Maize dwarf mosaic virus*, *African cassava mosaic virus* (ACMV), *Mexican papita viroid*, *Tomato apical stunt viroid*, *Tomato planta macho viroid*, *Pepper chat fruit viroid*, *Meloidogyne chitwoodi*, *Meloidogyne fallax*, *Meloidogyne thailandica*, *Pantomorus cervinus* (Boheman), *Aspidiotus nerii* Bouché, *Polygonum aviculare* L., *Polygonum convolvulus* L., *Chenopodium album* L. and presence *Sri Lankan Cassava Mosaic Virus* in the eastern region and Northeast, *Pepper mild mottle virus* found in Kanchanaburi, Phrae, Chaiyaphum province, *Aceria guerreronis* Keifer found only in the central, eastern and lower northern regions, *Bactrocera carambolae* (Drew & Hancock) is found only in the southern region and Phetchabun province. *Lettuce mosaic virus* (LMV) was found attached to lettuce seeds imported from Taiwan and found in the fields using imported seeds from abroad, only in Nakhon Ratchasima and Nan provinces. The pest risk analysis, it is estimated that LMV is a quarantine pest with medium risk of infecting and causing damage with plants in Thailand. That, LMV is a quarantine pest with a medium risk of infecting and infecting plants in Thailand. Has performed eradicate all the surveyed pests and have set up surveillance measures and continually controlling the spread to other planting sites in the country.

Key words: pest status, plant quarantine, surveillance, survey

การทดลองที่ 1

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

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

ชนินทร์ ดวงสะอาด พรพิมล อธิปัญญาคม อภิรัชต์ สมฤทธิ์ สุณิรัตน์ สีมะเต็อ อมรรักษ์ คัดใจเดียว

บทคัดย่อ

สถานภาพของรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis* ยังไม่มีรายงานการปรากฏในประเทศไทย เพื่อเป็นการยืนยันสถานภาพของรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* (Foe) ในประเทศไทย จึงดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง ในแปลงปลูกปาล์มน้ำมัน ในพื้นที่จังหวัด กระบี่ ชุมพร นครศรีธรรมราช พังงา ประจวบคีรีขันธ์ ตรัง พัทลุง สุราษฎร์ธานี เชียงใหม่ เชียงราย กาญจนบุรี เพชรบุรี นครพนม สุโขทัย และพิษณุโลก ระหว่างเดือนตุลาคม 2558 – เดือนกันยายน 2561 ทำการตรวจสอบต้นปาล์มน้ำมันจำนวน 2,345 ต้น จาก 105 แปลง ไม่พบต้นที่แสดงอาการเหี่ยวที่มีลักษณะป้องกันการเข้าทำลายของรา Foe สุ่มตัวอย่างราก และดินบริเวณรอบราก จำนวน 142 ตัวอย่าง แยกรากจากตัวอย่างรากด้วยวิธี tissue transplanting และแยกรากจากดินด้วยวิธี dilution plate ได้ราที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาป้องกันรา *Fusarium* spp. จำนวน 145 ไอโซเลท จัดจำแนกชนิดของราด้วยข้อมูลข้อมูลพันธุกรรมของรา *Fusarium* spp. ด้วยตำแหน่ง the Internal Transcribed Spacer และ the translation elongation factor 1-alpha ผลจากการจัดจำแนกด้วยชีวโมเลกุล ไม่พบราไอโซเลทใดจัดจำแนกได้เป็นรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* ดังนั้นผลจากการศึกษานี้สามารถสรุปได้ว่า รา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* ไม่ปรากฏในพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันในประเทศไทย

คำสำคัญ: รา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis*, ปาล์มน้ำมัน, สำรวจ, สถานภาพ

Abstracts

The occurrence of *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaedis* (Foe) the causal agent of wilt disease of oil palm had not been reported in Thailand. To confirm the absence of Foe in Thailand, the specific survey was conducted to determine the status of this fungi. The surveys were done on the oil palm plantations located in Krabi, Chumphon, Nakhon Si Thammarat, Phang-nga, Prachuap Khiri Khan, Trang, Phthalung, Surat Thani, Chiangmai, Chiangrai, Petchaburi, Nakhon Phanom and Phitsanulok during December 2015 – September 2018. The symptoms of wilt disease caused by Foe were observed on 2,345 oil palm trees, which randomly selected from 105 sites. None of oil palm trees presented wilt symptom. The soil surrounding root system and roots of oil palm were sampled from observation sites. Soil dilution and tissue transplanting techniques were applied to isolate Fusarium-like from 142 samples of soil and root samples. 145 isolations of Fusarium-like were identified based on molecular data of the Internal Transcribed Spacer and the translation elongation factor 1-alpha. The phylogenetic reconstruction showed that none of Fusarium-like isolations had an identical to *F. oxysporum* f.sp. *elaedis*. The results from this study indicated that *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaedis* is considered to be absent from Thailand.

Key words: *F. oxysporum* f.sp. *elaedis*, oil palm, pest status, survey

บทนำ

ปาล์มน้ำมัน (Oil palm; *Elaeis guineensis* Jacq) เป็นพืชน้ำมันที่มีศักยภาพในการแข่งขันสูงในตลาดโลก เนื่องจากเป็นพืชที่มีผลผลิตต่อหน่วยพื้นที่ปลูกสูงสุดในกลุ่มพืชน้ำมันด้วยกัน อีกทั้งมีต้นทุนโดยรวมค่อนข้างต่ำในการปลูกและการสกัดน้ำมันเพื่อผลิตน้ำมันปาล์ม ปัจจุบันการผลิตน้ำมันปาล์มในประเทศไทยนอกจากผลิตเพื่อการบริโภคภายในประเทศแล้ว ยังสามารถผลิตเพื่อส่งออกไปยังต่างประเทศ และสามารถผลิตปาล์มน้ำมันได้มากเป็นอันดับสามของโลก รองลงมาจากประเทศอินโดนีเซีย และมาเลเซีย (FAO, 2019) ในปี 2561 ประเทศไทยสามารถส่งออกน้ำมันปาล์มไปยังต่างประเทศมากกว่า 74,000 ตัน คิดเป็นมูลค่าประมาณ 1,624 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2562) อย่างไรก็ตามในการผลิตเพื่อการส่งออก ต้องมีการพัฒนาและปรับปรุงระบบการผลิตภายในประเทศให้ดีขึ้น เนื่องจากผลผลิตต่อไร่ที่ได้ ค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกับประเทศมาเลเซีย

ในปี 2561 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันทั้งหมด 4.75 ล้านไร่ มีพื้นที่ให้ผลผลิตจำนวน 3.47 ล้านไร่ และสามารถให้ผลผลิตได้จำนวน 14,420 ล้านบาท (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2562; สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2562) พื้นที่ปลูกมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเมื่อพิจารณาจากข้อมูลพื้นที่ปลูกตั้งแต่ปี 2551 เป็นต้นมา มีพื้นที่ภาคใต้จะเป็นพื้นที่หลักในการปลูกปาล์มน้ำมันเนื่องจากมีสภาพอากาศเหมาะแก่การปลูกปาล์มน้ำมัน จังหวัดที่มีพื้นที่ปลูกมากปาล์มน้ำมันที่สุดได้แก่ สุราษฎร์ธานี รองลงมาได้แก่ กระบี่ ชุมพร นครศรีธรรมราช พังงา และตรัง (Table 1; Figure 1)

Table 1: Data of oil palm plantations in Thailand from 2009-2018 (DOAE, 2019; OAE, 2019)

Province	Oil palm plantation (unit: million rai)									
	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
Surat Thani*	0.12	0.97	0.92	0.92	0.94	1.11	0.98	1.01	1.02	1.04
Krabi	0.21	1.01	1.01	0.98	0.92	0.74	0.96	0.98	0.97	0.97
Chum Phon	0.06	0.79	0.79	0.80	0.78	0.79	0.80	0.79	0.79	0.77
Nakhon Sri Thammarat	0.00	0.32	0.31	0.31	0.35	0.33	0.36	0.41	0.44	0.44
Phang Nga	0.05	0.16	0.15	0.16	0.16	0.19	0.17	0.17	0.17	0.18
Trang	0.03	0.14	0.14	0.14	0.18	0.17	0.16	0.16	0.17	0.21
Total area in Thailand	0.51	4.12	4.01	4.12	4.31	4.54	4.45	4.57	4.75	4.75

* The provinces indicated in Table 1 were the top six of major oil palm plantations

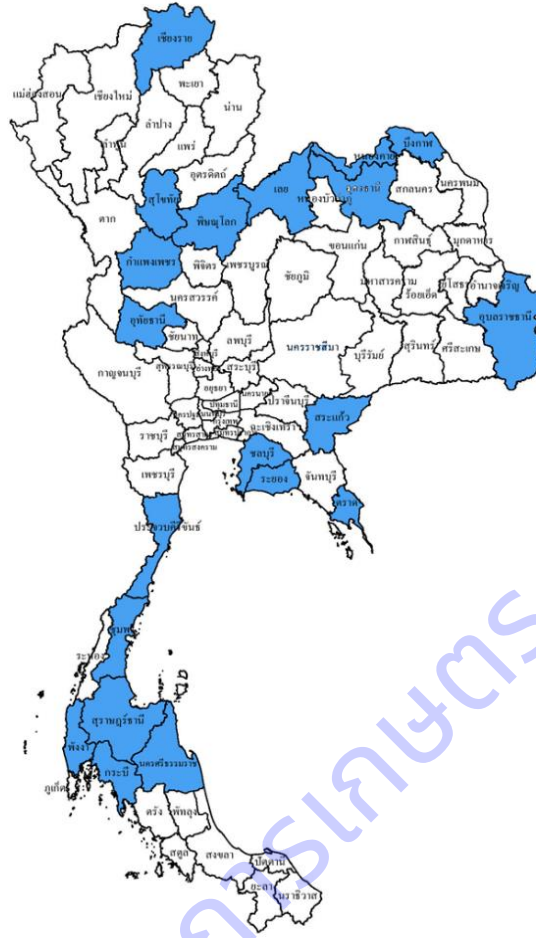


Figure 1: A map of oil palm plantations in Thailand (2017)
(Office of Agricultural Economics, 2019)

ในปี 2556 ประเทศไทย มีการนำเข้าเมล็ดปาล์มน้ำมันและเนื้อในเมล็ดปาล์ม จำนวน 9,616 กิโลกรัม มูลค่า 46.75 ล้านบาท ตั้งแต่ปี 2557 พบว่าปริมาณการนำเข้าเมล็ดปาล์มน้ำมันและเนื้อในเมล็ดปาล์มมีแนวโน้มที่สูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัด โดยในปี 2561 มีการนำเข้าสูงถึง 9,761,632 กิโลกรัม แต่มูลค่าลดลงเมื่อเทียบกับปี 2556 โดยมีมูลค่าของการนำเข้าเหลือเพียง 25.52 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2562) จากการที่ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดปาล์มน้ำมัน และมีแนวโน้มของการนำเข้าที่สูงขึ้น ทำให้มีความเสี่ยงในการติดมาของศัตรูพืชที่กักกันที่สำคัญ ที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์ได้ โดยเฉพาะโรคเหี่ยวของปาล์มน้ำมันสาเหตุเกิดจากรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis*

รา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* Toovey (Foe) จัดอยู่ใน Kingdom Fungi, Division Ascomycota, Class Sordariomycetes, Subclass Hypocreomycetidae, Order Hypocreales, Family Nectriaceae โคลนีสของรา (Figure 2) บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ pH 6.5-7 จะพบว่าราสามารถสร้างเม็ดสี (pigment) ได้หลากหลาย ได้แก่ สีขาว สีส้มอ่อน (peach) จนถึงค่อนข้างเข้ม (salmon) สีม่วงอ่อน ม่วงแดง จนถึงสีม่วงเข้ม เส้นใยมีลักษณะ striate และ felted to floccose มักจะพบว่ามีการสร้าง microconidia ที่มีทั้งแบบเซลล์เดี่ยวหรือสองเซลล์ รูปร่าง ellipsoidal cylindrical straight หรือ curved ขนาด 5-12 x 2.2-3.5 μm microconidia เกิดตรงด้านข้างหรือด้านบนของ phialides และ phialalides สร้างออกมาจากด้านข้างของ conidiophores ที่มีขนาดสั้น

macroconidia มีลักษณะ falcate หรือเป็นแบบ elegans type หรือมีลักษณะค่อนข้างไปทาง martiella type โดยทั่วไปจะพบ macroconidia ที่มี 3-5 spetate ขนาด 27-60 x 3-5 μm สร้างบน lateral phialides จากนั้นจะมีการฟอร์มตัวของ slimmy sporodochia chlamydospores พบว่าสร้างอยู่ระหว่างหรือส่วนปลายของ short lateral branches อาจพบอยู่เดี่ยวๆ หรือเรียงตัวเป็นสาย ลักษณะโปร่งใส ผนังเซลล์มีทั้งแบบเรียบและขรุขระ บางครั้งพบว่ามีการสร้าง stromatic pustules อยู่ร่วมกับ perithecia ของรา *Gibberella* แต่ไม่มีรายงานว่าการสร้าง asci หรือ ascospores

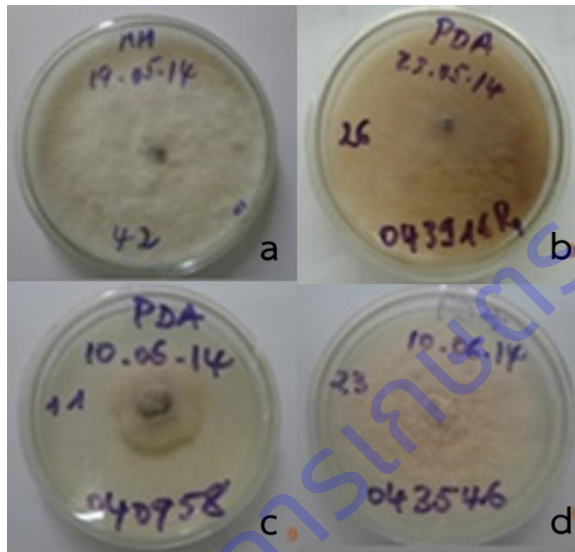


Figure 2: Colonies of *F. oxysporum* f.sp. *elaedis* on PDA (Godswill et

รา Foe เข้าทำลายปาล์มน้ำมันได้ตั้งแต่ระยะกล้าจนถึงต้นโต โดยการพบโรคในต้นโตจะพบอาการได้สองลักษณะ ลักษณะที่หนึ่งคือ ลักษณะอาการที่เรื้อรัง โดยใบแก่จะแห้ง และมักพบการแตกของก้านใบหรือทางใบใกล้ลำต้น หรือส่วนที่ติดลำต้น ทำให้พบลักษณะใบแห้ง ห้อยตกลงรอบลำต้น (Figure 3) การพัฒนาการของโรคจะเป็นไปอย่างต่อเนื่อง โดยจะพบว่าใบอ่อนมีขนาดลดลง และมีสีซีดต่าง รวมถึงยอดของต้นปาล์มมีขนาดเล็กลง อาการในลักษณะนี้ต้นปาล์มจะมีชีวิตอยู่ได้หลายปีหลังจากพบการแสดงอาการ ลักษณะที่สอง จะพบว่ามีการแสดงอาการของโรคที่รุนแรง โดยพบว่าทางใบจะมีอาการแตกทำให้ทางใบทิ้งตัว ลักษณะแห้งรอบต้น การพัฒนาของโรคเป็นไปอย่างรวดเร็ว โดยต้นปาล์มจะตายภายใน 2-3 เดือน (Cooper, 2012) นอกจากนี้มีรายงานว่าสามารถพบการแสดงอาการเหี่ยวได้ระยะหนึ่ง จากนั้นต้นจะสามารถฟื้นตัว ในต้นปาล์มที่อายุน้อย จะพบว่าใบอ่อนหรือใบที่อยู่ด้านในของทรงพุ่มจะแสดงอาการเหลือง หรือสีน้ำตาล จากนั้นใบจะเริ่มแห้งและยืนต้นตายในที่สุด (de Franqueville and Diabate, 1996) ในระยะกล้า ต้นที่เป็นโรคจะพบว่าต้นมีทางใบค่อนข้างสั้น ใบแก่จะแห้งตาย (Prendergast, 1957) โดยลักษณะอาการนี้คาดว่าเกิดจากลักษณะของการขาดน้ำเนื่องจากท่อลำเลียงน้ำ (xylem vessels) ถูกทำลาย (Figure 3) และส่งผลต่อการสร้างสาร gibberellins ซึ่งส่งผลต่อการเจริญของยอด (Mepsted et al., 1995) ลักษณะของท่อน้ำที่ถูกทำลายจะมีสีน้ำตาลเข้ม โดยพบได้บริเวณลำต้น อย่างไรก็ตาม มักไม่พบการแสดงอาการบริเวณราก (Wardlaw, 1950; Prendergast, 1957) และมีพืชอาศัยอื่นนอกเหนือจากปาล์มน้ำมัน ได้แก่ ผักโหมหนาม (*Amaranthus spinosus*) สาบเสือ (*Chromolaena odorata*) หนุ่คา (*Imperata cylindrica*) (Figure 4)

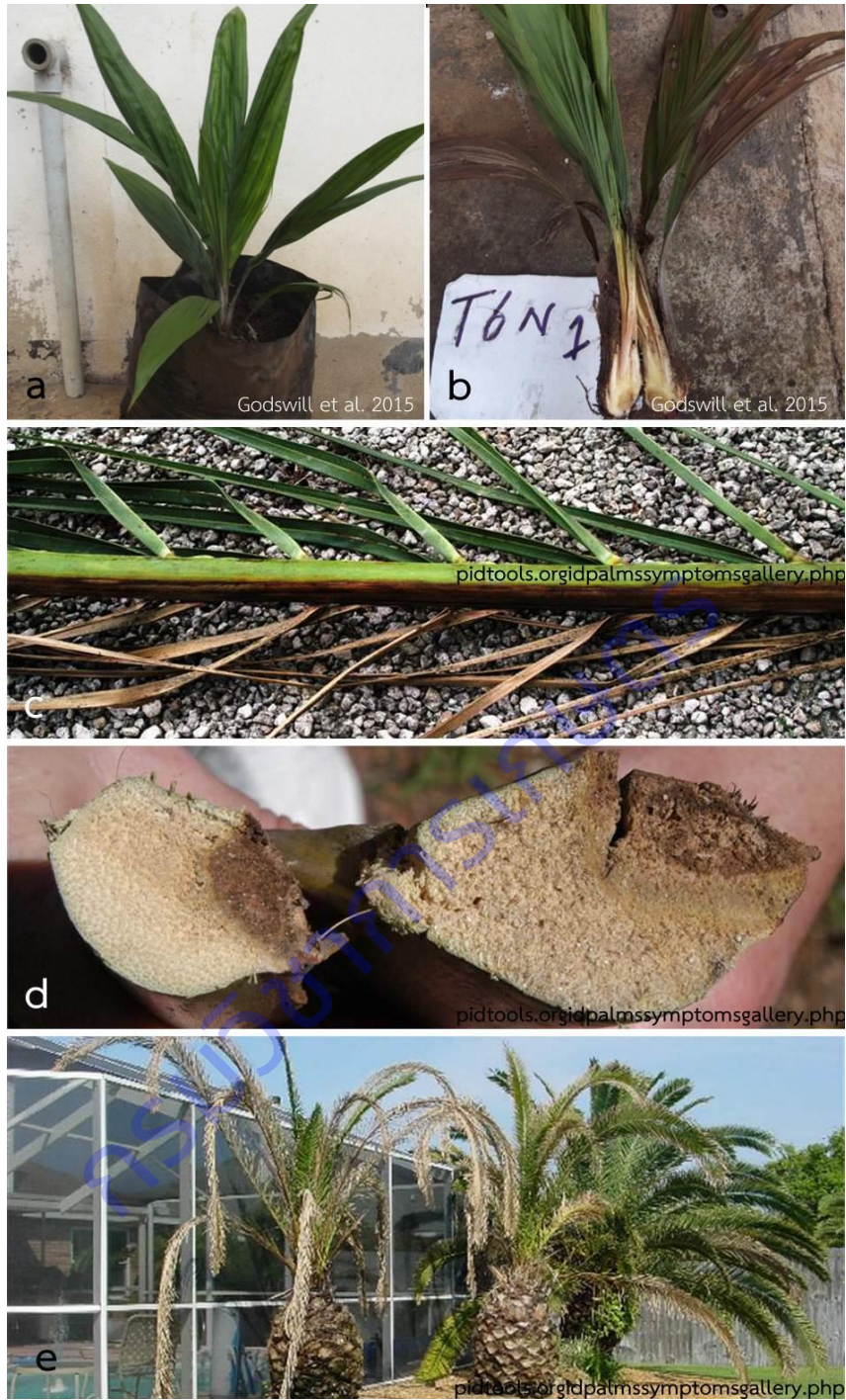


Figure 3: Symptoms of wilt disease caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis*
 a, d. Wilted oil palm b-d. discoloration of xylem



Figure 4: Weed hosts of *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis*

a-b. *Amaranthus spinosus*

c-d. *Chromolaena odorata*

e-f. *Imperata cylindrical*

รา *F. oxysporum* ที่แยกได้จากต้นปาล์มน้ำมันที่แสดงอาการของโรคเหี่ยวในแถบแอฟริกา ได้มีการจัดจำแนกเป็น *F. oxysporum* var. *redolens* (Wollenw.) Gordon โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และราชชนิดนี้เป็น taxonomic synonym ของ *F. oxysporum* (Brayford, 1992) รา Foe เป็น seed borne สามารถถ่ายทอดโรคทางเมล็ดพันธุ์และติดมากับละอองเกสรได้ อย่างไรก็ตามการถ่ายทอดโรคทางเมล็ดพบได้น้อยมาก เนื่องจากประชากรของรา *Fusarium* spp. มักจะลดลงหรือถูกทำลายระหว่างกระบวนการกระตุ้นการงอกของเมล็ด แต่ราไม่ได้ถูกทำลายอย่างสิ้นเชิง มีรายงานว่าราแช่เมล็ดปาล์มน้ำมันในสารป้องกันกำจัดโรคพืช เช่น captafol เป็นระยะเวลา 7 วัน ให้ผลและมีประสิทธิภาพในการกำจัด Foe (Flood et al., 1994) โรคนี้พบครั้งแรกในประเทศ Zaire (Wardlaw, 1946) หรือ สาธารณรัฐประชาธิปไตยคองโกในปัจจุบัน จากนั้นเริ่มมีการพบโรคในส่วนตอนกลางและทางตะวันตกของทวีปแอฟริกา ได้แก่ประเทศโกตดิวัวร์ ไนจีเรีย กานา คาเมรูน และคองโก (Oritsejafor, 1989) ต่อมาเกิดการแพร่ระบาดเข้ามาในประเทศบราซิล (Van de Lande, 1984) และเอกวาดอร์ ซึ่งมีการระบาดที่รุนแรง (Renard and de Franqueville, 1989) (Figure 5)

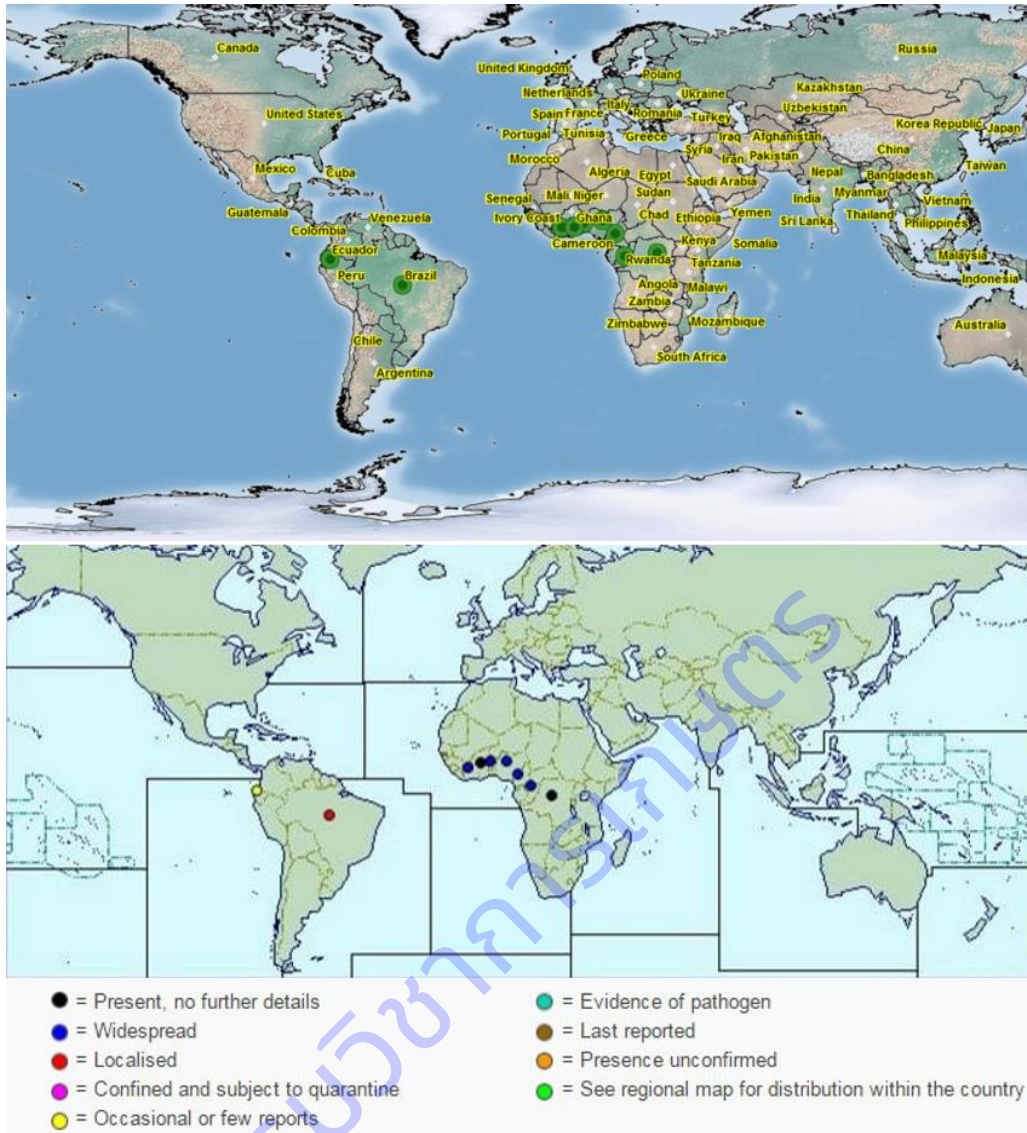


Figure 5: Distribution map of *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaedis*
(UK CAB International, 1996)

ปัจจุบันมีการจำแนกราก *F. oxysporum* ด้วยวิธีการทางชีวโมเลกุล เนื่องจากเพิ่มความแม่นยำและชัดเจนของการจัดจำแนกซึ่งจากเดิมจะอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา เช่น การวินิจฉัยจำแนกชนิดโดยใช้ข้อมูลของยีนตำแหน่ง the translation elongation factor 1 alpha (TEF1) (Geisser *et al.*, 2004; Rusli, 2012) อย่างไรก็ตามการจำแนกโดยข้อมูลทางชีวโมเลกุลนี้ควรมีข้อมูลของ Foe ที่เป็น pathotype เพื่อใช้เปรียบเทียบซึ่งจะส่งผลต่อความน่าเชื่อถือของการจัดจำแนก (Cooper, 2012)

ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดปาล์มน้ำมันมาจาก เบนิน คอสตาริกา ปาปัวนิวกินี คองโก ไโอวีโรโคสต์ บราซิล และอินเดีย ทำให้มีความเสี่ยงที่รา *F. oxysporum* f.sp. *elaedis* จะติดมากับเมล็ดพันธุ์ได้ จึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษาสถานภาพของรา *F. oxysporum* f.sp. *elaedis* ในพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันของประเทศไทยอย่างเป็นระบบ เพื่อให้ได้ข้อมูลในการการสนับสนุนการออกประกาศเรื่องการปลดปล่อยพืช ตลอดจนที่ดำเนินการโดย NPPO เป็นกระบวนการช่วยตรวจหาศัตรูพืชชนิดใหม่ได้ทันเวลา การให้การรับรองพื้นที่ปลอด

ศัตรูพืช เป็นต้น การสำรวจ ติดตามและตรวจสอบศัตรูพืชเป็นงานพื้นฐานที่มีความจำเป็นสำหรับใช้ในการดำเนินการด้านอื่นๆ อีก เช่น การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การกำหนดพื้นที่ปลอดศัตรูพืช การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชและการรายงานศัตรูพืช เป็นต้น ซึ่งแนวทางการดำเนินงานจะสอดคล้องกับ ISPMs (International Standard for Phytosanitary Measures) ฉบับที่ 6 (Guidelines for Surveillance)

เนื่องจากในปัจจุบันการส่งออกและนำเข้าสินค้าเกษตรจะต้องมีความตกลงทั่วไปว่าด้วยภาษีศุลกากรและการค้า (General Agreement on Tariff and Trade: GATT) ซึ่งต่อมาได้เปลี่ยนเป็นองค์การการค้าโลก (World Trade Organization: WTO) ได้กำหนดกฎเกณฑ์และระเบียบเพื่อให้เกิดการค้าเสรีและเป็นธรรม โดยทุกประเทศสมาชิกของ WTO จะต้องปรับลดอัตราอากรขาเข้าลงมาเป็นอันดับแรกสุดของการเปิดการค้าเสรี ในปัจจุบันมาตรการกีดกันด้านภาษีศุลกากรมีแนวโน้มที่จะลดลงเนื่องจากการเปิดเสรีทางการค้าภายใต้เขตการค้าเสรีต่าง ๆ มีเพิ่มขึ้น แต่ในขณะเดียวกันมาตรการกีดกันทางการค้าที่ไม่ใช่ภาษีศุลกากร (non-tariff barrier, NTB) จะเริ่มมีบทบาทและมีรูปแบบใหม่ๆ เพิ่มขึ้น ซึ่ง มาตรการที่สำคัญในด้านการเกษตรได้แก่ มาตรการด้านสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Sanitary and Phytosanitary Measures : SPS) เกือบทุกประเทศที่เป็นสมาชิกขององค์การการค้าโลก (WTO) ได้นำมาตรการสุขอนามัยพืชมาใช้เป็นข้อต่อรองในการส่งออกและนำเข้า โดยที่ประเทศผู้ส่งออกต้องส่งบัญชีรายชื่อศัตรูพืชของพืชส่งออก และข้อมูลของศัตรูพืชแต่ละชนิดตามความต้องการของประเทศผู้นำเข้า เพื่อทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ก่อนที่จะอนุญาตให้สินค้าเกษตรนั้น ๆ เข้าประเทศ ขณะเดียวกันประเทศผู้นำเข้าจำเป็นต้องมีข้อมูลบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่นำเข้ามาด้วย การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชโดยการศึกษาและการสำรวจแบบติดตามข้อมูลศัตรูพืชในแหล่งปลูกเพื่อเป็นการเฝ้าระวัง (Surveillance) เป็นกระบวนการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชชนิดใดชนิดหนึ่งในพื้นที่ (McMaugh, 2005) ข้อมูลต่าง ๆ ที่ได้จากการสำรวจติดตามศัตรูพืชเพื่อการเฝ้าระวังนี้จะส่งให้องค์การอารักขาพืชแห่งชาติ (National Plant Protection Organization, NPPO) นำไปใช้ประโยชน์ ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการเฝ้าระวังนี้สามารถนำไปใช้ในด้านต่าง ๆ เช่น ใช้ในการสนับสนุนการออกประกาศเรื่องการปลอดศัตรูพืช ตลอดจนที่ดำเนินการโดย NPPO เป็นกระบวนการช่วยตรวจหาศัตรูพืชชนิดใหม่ได้ทันเวลา การให้การรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืช เป็นต้น ซึ่งแนวทางการดำเนินงานจะสอดคล้องกับ ISPMs (International Standard for Phytosanitary Measures) ฉบับที่ 6 (Guidelines for Surveillance)

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

ระเบียบวิธีการวิจัย

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ ถุงพลาสติก ถุงกระดาษ กรรไกรตัดแต่งกิ่ง ไม้ทาบตัวอย่าง กระดาษหนังสือพิมพ์ ของกระดาษสำหรับเก็บและรักษาตัวอย่าง
2. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่
 - Microcentrifuge
 - Thermal cyclers
 - Vortex
 - Tissue Lyser
 - Gel electrophoresis

- เครื่องถ่ายภาพเจล
- microwave
- micropipette ขนาด 10 100 200 และ 1000 ไมโครลิตร
- กล้องจุลทรรศน์แบบ compound
- กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo
- Dry heat block

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

4. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ ปิกเกอร์ ขวดดูดแรงน กระบอกลง ตะเกียงแอลกอฮอล์ plate

5. สารเคมี ได้แก่

- Green Hot Start PCR Master Mix (biotechrabbit™)
- High fidelity Phusion® DNA Polymerase (New England Biolabs)
- 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
- ไพร์เมอร์ ได้แก่ LROR/LR5 (Vilgalys and Hester, 1990) ITS1/ITS4 (White *et al.*, 1990)

และ EF1-728F/EF1-986R (Carbone and Kohn, 1999)

- อาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) และ rose bengal agar (RBA)

6. Sequence assemble program ได้แก่ Geneious version 8.1.9 (Kearse *et al.*, 2012)

วิธีการ

1. การสำรวจและเก็บตัวอย่าง

สำรวจโรคเหี่ยวปาล์มน้ำมันที่เกิดจากรา *F. oxysporum f.sp. elaeidis* ในพื้นที่หลักของแปลงปลูกปาล์มน้ำมันในเขตภาคใต้ของประเทศไทย ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (Guidelines for surveillance: ISPM No. 6) สำรวจอย่างน้อย 10 แปลง ต่อพื้นที่ แต่ละแปลงทำการสุ่มตัวอย่างแบบเป็นระบบ โดยเดินตามเส้นทแยงมุม สังเกตลักษณะอาการ และเมื่อพบต้นปาล์มน้ำมันที่แสดงผิดปกติ คล้ายอาการเหี่ยว ทำการเปรียบเทียบลักษณะของต้นปาล์มน้ำมันที่พบกับลักษณะอาการของโรคเหี่ยวปาล์มน้ำมันที่เกิดจากรา Foe บันทึกลักษณะอาการถ่ายภาพ เก็บตัวอย่างรากและดินจากต้นที่พบอาการ และสำหรับต้นปกติ สุ่มเก็บตัวอย่างรากและดินบริเวณรอบราก จากต้นปาล์ม 20 ต้น/แปลง หรือ 10 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ และสุ่มเก็บตัวอย่างหญ้าสาบเสือ ซึ่งมีรายงานว่าเป็นพืชอาศัยของรา Foe มาทดลองแยกรา เก็บดินใส่ถุงพลาสติก และห่อรากด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ เขียนรายละเอียดกำกับ เพื่อนำมาตรวจแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ

2. การแยกราสาเหตุโรคพืช

ศึกษาลักษณะอาการของโรค และแยกราโดยตรงจากเนื้อเยื่อพืช

นำตัวอย่างที่แสดงอาการต้องสงสัย มาศึกษาลักษณะอาการของโรค และแยกราโดยตรงจากชิ้นส่วนพืช และตัดขวางรากพืชเพื่อดูการเข้าทำลายของเชื้อที่ราก ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo ทำ moist chamber

บ่มที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ นาน 5-10 วัน เมื่อพบราสร้างเส้นใยหรือ conidium ตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และใช้เข็มเขี่ยส่วนของเชื้อรามาวางบนสไลด์ หรือใช้ใบมีดตัดขวางชิ้นส่วนพืชให้บาง ๆ และตรวจสอบลักษณะต่าง ๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound ถ่ายภาพและบันทึกลักษณะต่าง ๆ ของเชื้อ

แยกราโดยวิธี Tissue transplanting

นำส่วนของพืชที่แสดงอาการต้องสงสัย รวมถึงพืชปกติที่ทำการสุ่มเก็บตัวอย่าง มาตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาดประมาณ 0.5x0.5 มิลลิเมตร ให้คาบต่อส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 10 % เป็นเวลา 3-5 นาที ล้างในน้ำนิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำไปซึบบนกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้แห้ง แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหาร RBA บ่มที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ นาน 7-21 วัน แยกราให้บริสุทธิ์ และเลี้ยงบนอาหาร PDA

3. ศึกษา และจำแนกชนิดของราโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ศึกษารูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาของราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo และ compound microscope โดยตรวจสอบลักษณะเส้นใย conidiophore conidia ขนาด สี และโครงสร้างอื่น ๆ ของรา โดยอ้างอิงข้อมูลของ Booth (1971) และ Brayford (1992) โดยการ mount slide ด้วยน้ำหรือ shear's solution ถ่ายภาพและบันทึกข้อมูลของเชื้อ

4. จำแนกชนิดของราโดยใช้ข้อมูลพันธุกรรม

สกัดดีเอ็นเอ

ตัดและย้ายเส้นใยของรา *Fusarium* spp. ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA ประมาณ 0.2-0.5 กรัม ลงในหลอดสำหรับสกัดดีเอ็นเอ และทำการสกัดตามวิธีของ Doungsa-ard, et al. (2015) เก็บรักษาดีเอ็นเอที่สกัดได้จากแต่ละตัวอย่าง ไว้ที่อุณหภูมิ -20 หรือ -40 องศาเซลเซียส เพื่อรักษาสภาพและคุณภาพของดีเอ็นเอ

เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมาย

ทำ Polymerase Chain Reaction (PCR) ของตำแหน่ง the Large Subunit (LSU) ด้วย High fidelity Phusion® DNA Polymerase (New England Biolabs) ใช้ cycling และ condition ของปฏิกิริยาตามที่คุณผลิตแนะนำ ใช้ primer LROR/LR5 (Vilgalys and Hester, 1990) กำหนด annealing temperature ที่ 60 องศาเซลเซียส

ทำ PCR ตำแหน่ง the Internal Transcribed Spacer (ITS) และ gene encoding translation elongation factor 1-alpha (TEF1) ด้วย Green Hot Start PCR Master Mix (biotechrabbit™) ใช้ cycling และ condition ของปฏิกิริยาตามที่คุณผลิตแนะนำ ใช้ primer ITS1/ITS4 (White et al., 1990) และ EF1-728F/EF1-986R (Carbone and Kohn, 1999) หรือ Ef1/Ef2 (Geiser et al., 2004) กำหนด annealing temperature ที่ 60 องศาเซลเซียส

การตรวจสอบผลิตภัณฑ์ PCR

ตรวจสอบ pcr product ด้วยวิธี อิเล็กโทรโฟรีซิส (Electrophoresis) เตรียม gel 1% และผสม SERVA HiSens Stain G ในอัตราส่วน 1:50,000 ผสม pcr product 5 ไมโครลิตร ด้วย loading dye 1 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันจากนั้นหยอดลงใน agarose gel ให้ผลิตภัณฑ์ PCR เคลื่อนที่ผ่านสารละลาย Lithium Borate buffer (LB buffer) ส่งผลิตภัณฑ์ pcr product ไปยัง บริษัท MacroGen Korea เพื่อทำให้ผลิตภัณฑ์ PCR บริสุทธิ์ และหาลำดับนิวคลีโอไทด์

การวิเคราะห์ และตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์

วิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ (sequence) โดยนำ forward sequence และ reverse sequence ที่ได้มา เปรียบเทียบกัน (sequence assembly) โดยใช้โปรแกรม Geneious version 8.1.9

(<http://www.geneious.com>, Kearse *et al.*, 2012) บันทึกข้อมูลของลำดับนิวคลีโอไทด์ในรูปแบบไฟล์ชนิด fasta ทำการตรวจสอบความถูกต้องของชนิดของจุลินทรีย์ที่ทำการศึกษากับฐานข้อมูลทางพันธุกรรม เช่น GenBank, Mycobank, Fusarium MLST DATABASE และ Fusarium-ID

การจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์

นำ contig ของลำดับนิวคลีโอไทด์ (consensus sequence ที่บันทึกไว้ในรูปแบบ fasta ไฟล์) แต่ละตำแหน่งมาจัดเรียง (align) เป็นชุดข้อมูล (dataset) ด้วยโปรแกรม MAFFT 6.611 (Kato and Toh, 2008) ตรวจสอบการจัดเรียงของชุดข้อมูล (alignment) ด้วยวิธี MUSCLE ในโปรแกรม MEGA7 (Kumar *et al.*, 2016) ใช้โปรแกรม Gblocks (Talavera and Castresana, 2007) เพื่อกรองส่วนที่เป็น ambiguous sequence

ทำ dataset ของแต่ละตำแหน่ง และ partitioned (combined) dataset ของตำแหน่ง TEF1 และ ITS บันทึก dataset และ partitioned dataset ในรูปแบบไฟล์ .nexus โดยใช้โปรแกรม Mesquite

วิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการเพื่อการจัดจำแนก

จำแนกชนิดของ *Fusarium* โดยวิเคราะห์จากตำแหน่ง TEF1 และพิจารณาความแตกต่างภายในของ *F. oxysporum* complex โดยวิเคราะห์จากตำแหน่ง TEF1 และ ITS

วิเคราะห์ TEF1 dataset (366 bases/taxa) LSU dataset (2,132 bases/taxa) และ combined dataset ของ TEF1 และ ITS (679 bases/taxa; TEF1 = 250, ITS = 429) ด้วย phylogenetic criteria คือ Maximum Likelihood (ML) และ Bayesian Inference (BI) มีรายละเอียดการวิเคราะห์ ดังนี้

Maximum Likelihood (ML) เตรียมไฟล์ phy วิเคราะห์โดยโปรแกรม RAxML v8.1.15 (Stamatakis, 2014) กำหนด model of evolution แบบ GTRGAMMA ซึ่งจำเพาะต่อการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ วิเคราะห์ด้วย rapid bootstrap (command -f a) เริ่มจาก random starting tree และ กำหนด maximum likelihood bootstrap จำนวน 1000 ครั้ง

Bayesian inference (BI) เตรียมไฟล์ nexus วิเคราะห์โดยโปรแกรม MrBayes (Ronquist and Huelsenbeck, 2003) โดยใช้วิธี Markov Chain Monte Carlo (MCMC) กำหนด model of evolution แบบ GTRGAMMA ค่าตั้งต้นที่ใช้ในการวิเคราะห์ครั้งนี้ กำหนด 4 runs แต่ละ run ประกอบด้วย 4 chains วิเคราะห์จำนวน 10 ล้าน generations ตั้งค่า cold chain ที่ temperature 0.25 สุ่มตัวอย่าง substitution model parameters และบันทึก trees ทุก 1,000 generations ตรวจสอบความเชื่อมั่นของ topology ด้วย cumulative and compare functions ด้วย AWTY (Nylander *et al.*, 2008)

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกข้อมูลสถานภาพของรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* ในพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันของประเทศไทย
2. บันทึกข้อมูล เก็บรักษาสายพันธุ์เชื้อรา และเก็บรักษาดีเอ็นเอต้นแบบที่ได้จากการศึกษา

เชื้อราที่แยกได้เก็บรักษาไว้ใน Culture Collection ของกลุ่มวิจัยโรคพืชโดยเลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ข้อมูลของรหัสดีเอ็นเอ (DNA barcode) จะถูกเก็บบันทึก และ รายงานเพื่อใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงสำหรับการจัดทำบัญชีรายชื่อโรคพืช รวมถึงสามารถใช้เป็นข้อมูลประกอบในการศึกษาด้านวิวัฒนาการต่อไป และดีเอ็นเอต้นแบบที่สกัดได้ จะจัดเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส ณ พิพิธภัณฑ์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Table 2: GPS coordinates recorded from surveys on Foe during Dec. 2015 – Sept. 2018.

Province	District	Subdistrict	Village	GPS coordinates
Chiang Mai	Doi Saket	Mae Pong		18.8255556, 99.2177778; 18.8252778, 99.2186111
	Mae On	Ban Sa Ha Khon		18.8252778, 99.2222222; 18.8263889, 99.2191667; 18.8252778, 99.2222222; 18.8263889, 99.2191667
	San Khampang	Huai Sai		18.775517, 99.181292; 18.752131, 99.174985
Kanchanaburi	Phanom Thuan	Nong Sarai	Ban Nong Nae	14.0344, 99.6986; 14.0343, 99.6985; 14.0343, 99.6982; 14.0343, 99.698; 14.0343, 99.6979; 14.0343, 99.6978; 14.0343, 99.6981; 14.0343, 99.6982; 14.0346, 99.6969; 14.0346, 99.697; 14.0346, 99.6972; 14.0346, 99.6974; 14.0345, 99.6976; 14.0346, 99.6978; 14.0346, 99.6979; 14.0346, 99.698; 14.0346, 99.6983; 14.0346, 99.6986; 14.0346, 99.6988; 14.0345, 99.6987; 14.0345, 99.6985; 14.0345, 99.6984; 14.0345, 99.6983; 14.0345, 99.6981; 14.0345, 99.698; 14.0345, 99.6978; 14.0345, 99.6977; 14.0345, 99.6975; 14.0345, 99.6981; 14.0346, 99.6984
Nakhon Phanom	Mueang	Kham Thao		17.281242, 104.768357; 17.27954, 104.770244
Phitsanulok	Phom Phiram	Thap Yai Chiang		17.076006, 100.248275; 17.076134, 100.248133; 17.07627, 100.247966; 17.076551, 100.24775; 17.076731, 100.247575; 17.076819, 100.247437; 17.076949, 100.24732; 17.077102, 100.247147; 17.077284, 100.246974; 17.077571, 100.246679; 17.077788, 100.24651; 17.077745, 100.246384; 17.077679, 100.246534; 17.077512, 100.246683; 17.077363, 100.246828; 17.077188, 100.247039; 17.077024, 100.247197; 17.076859, 100.247402; 17.076556, 100.24765; 17.076482, 100.247746; 17.076149, 100.248098; 17.076237, 100.248084; 17.076175, 100.24846; 17.076254, 100.24849; 17.101731, 100.276006; 17.080581, 100.253447; 17.102847, 100.277206; 17.076182, 100.248257; 17.076267, 100.248194; 17.076334, 100.248145; 17.07636, 100.248115; 17.076484, 100.248021; 17.076485, 100.247975; 17.076573, 100.247908; 17.076596, 100.247836; 17.076677, 100.247815; 17.076722, 100.247713; 17.076795, 100.24768; 17.076795, 100.247588; 17.076916, 100.247563; 17.07693, 100.247503; 17.077007, 100.24745; 17.077059, 100.247361; 17.077164, 100.247332; 17.077162, 100.247286; 17.077277, 100.247196; 17.07735, 100.247093; 17.077451, 100.247007; 17.077492, 100.24694; 17.088637, 100.262679; 17.077598, 100.246846; 17.077798, 100.24666; 17.077882, 100.246543; 17.076005, 100.2481; 17.076225, 100.247893; 17.076207, 100.247918; 17.07658, 100.247594; 17.076578, 100.247595; 17.076884, 100.247202; 17.07705, 100.247044; 17.077215, 100.246879; 17.077396, 100.246667; 17.077585, 100.246538; 17.077725, 100.24633; 17.077698, 100.246332; 17.077342, 100.246486; 17.07734, 100.246479; 17.076977, 100.246803; 17.076967, 100.2468; 17.076663, 100.247102; 17.076662, 100.24715; 17.076353, 100.247503; 17.076332, 100.247533; 17.075942, 100.247841
Sukhothai	Thung Saliam	Khao Kaeo Si Sombun		17.318169, 99.629588; 17.318124, 99.628864; 17.318091, 99.628896; 17.318002, 99.628739; 17.318015, 99.628682; 17.317964, 99.628661; 17.317961, 99.628552; 17.317975, 99.628492; 17.317987, 99.628533; 17.31798, 99.628386; 17.317921, 99.628375; 17.317927, 99.628386; 17.317897, 99.628326; 17.318092, 99.628861; 17.318108, 99.628883; 17.3181, 99.628892; 17.317972, 99.6289; 17.318026, 99.628817; 17.318006, 99.628754; 17.31797, 99.628738; 17.317918, 99.628701; 17.317902, 99.628618; 17.31787, 99.6286; 17.317911, 99.628553; 17.317889, 99.628483; 17.317882, 99.628443; 17.317858, 99.628374; 17.317843, 99.628366; 17.317748, 99.628309; 17.317742, 99.628276; 17.317813, 99.628268; 17.31808, 99.628644; 17.318046, 99.628543; 17.318057, 99.62846; 17.318067, 99.628427; 17.318004, 99.628284; 17.317934, 99.628147
Chumphon/ Mueang	Thung Kha	Ban Thung Kha		10.3805556, 99.1202778; 10.3872222, 99.1130556; 10.3805556, 99.1202778; 10.3872222, 99.1130556
Nakhon Si Thammarat Mueang	Bang Jak			8.386186, 100.059159; 8.386243, 100.059396; 8.386212, 100.059473; 8.38619, 100.059553; 8.386187, 100.059649; 8.386129, 100.059794; 8.386104, 100.059885; 8.38608, 100.059955; 8.386064, 100.060027; 8.38605, 100.060081; 8.386065, 100.060046; 8.386117, 100.059861; 8.386149, 100.059783; 8.386162, 100.059724; 8.386202, 100.059565; 8.386216, 100.059472; 8.386193, 100.059252; 8.386178, 100.059177; 8.386482, 100.059632; 8.386432, 100.059816;

Table 2: Continued

Province	District	Subdistrict	Village	GPS coordinates			
Nakhon Si Thammarat	Mueang	Bang Jak		8.386384, 100.059986; 8.386233, 100.060168; 8.386222, 100.060152; 8.386027, 100.06032; 8.386102, 100.060327; 8.386121, 100.060298; 8.386032, 100.060326; 8.386343, 100.060128; 8.386477, 100.059991; 8.3866, 100.059824; 8.386591, 100.059734; 8.386507, 100.059651; 8.38636, 100.059427			
		Ban Khao Fai		9.0361111, 99.8555556; 9.0322222, 99.8686111; 9.0322222, 99.8686111; 9.0241667, 99.8758333; 9.0202778, 99.8736111; 8.3213889, 99.9636111; 8.1761111, 100.0416667			
	Sichon	Sichon	Kao Fai	9.0361111, 99.8555556; 9.0322222, 99.8686111; 9.0322222, 99.8686111			
		Sichon	Klong Tha Rueda	9.0241667, 99.8758333; 9.0202778, 99.8736111; 8.3213889, 99.9636111			
	Chaloem Phra Kiat	Suan Luang		8.1761111, 100.0416667			
		Thang Phun		8.1808333, 100.0361111; 8.1811111, 100.0363889; 8.1808333, 100.0361111; 8.1811111, 100.0363889; 8.325, 99.935			
	Phra Phrom	Na Phur		8.325, 99.935			
	Thungsong	Khlong Noi	Ban Bang Poh	8.1219444, 99.6661111			
		Thi Wang		8.1219444, 99.6661111			
	Pak Phanang	Khlong Noi	Ban Bang Nian	8.3638889, 100.0883333; 8.3638889, 100.0883333			
Krabi	Mueang	Krabi Noi		8.105153, 98.945568; 8.105104, 98.945557; 8.105015, 98.94569; 8.105042, 98.945822; 8.104974, 98.945813; 8.104914, 98.945829; 8.10478, 98.945793; 8.104708, 98.945848; 8.10465, 98.945796; 8.104626, 98.945926; 8.104621, 98.946024; 8.104621, 98.946125; 8.104582, 98.946183; 8.104632, 98.946334; 8.104799, 98.945964; 8.104848, 98.945552; 8.104655, 98.945485; 8.104485, 98.945481; 8.104346, 98.945497; 8.104174, 98.945479; 8.104048, 98.945504; 8.103982, 98.945595; 8.104555, 98.945581; 8.104755, 98.94563; 8.104768, 98.945692; 8.104827, 98.945765; 8.104982, 98.946044; 8.10482, 98.946049; 8.104692, 98.946046; 8.104708, 98.946183; 8.104876, 98.946183; 8.105036, 98.946169; 8.124533, 98.962912; 8.124257, 98.963062; 8.12439, 98.96306; 8.124651, 98.96303; 8.124891, 98.963025; 8.124865, 98.963428; 8.124684, 98.963465; 8.12442, 98.963482; 8.124221, 98.963498; 8.124131, 98.963761; 8.124271, 98.963792; 8.124532, 98.963799; 8.1246, 98.962883; 8.124875, 98.9629; 8.124463, 98.96292; 8.124257, 98.963196; 8.12444, 98.963185; 8.124634, 98.963177; 8.12491, 98.963173; 8.12495, 98.963296; 8.124712, 98.963377; 8.124493, 98.963359; 8.124278, 98.963388; 8.124178, 98.963644; 8.124332, 98.963647; 8.124589, 98.963634; 8.124848, 98.963585; 8.124916, 98.963751; 8.124768, 98.963774; 8.124813, 98.963864; 8.116767, 98.968491; 8.116646, 98.968582; 8.116483, 98.968784; 8.116355, 98.968962; 8.116337, 98.968892; 8.116451, 98.968691; 8.116554, 98.968499; 8.116448, 98.968524; 8.116306, 98.968653; 8.116164, 98.968779; 8.116028, 98.968836; 8.11601, 98.968615; 8.115942, 98.968393; 8.115799, 98.968474; 8.115788, 98.968573; 8.115714, 98.968658; 8.116841, 98.968536; 8.116708, 98.968748; 8.11658, 98.968916; 8.116434, 98.969112; 8.116317, 98.969555; 8.116479, 98.969294; 8.116614, 98.969097; 8.116751, 98.968919; 8.116966, 98.968728; 8.117137, 98.968544; 8.117045, 98.968761; 8.116926, 98.968917; 8.116791, 98.96914; 8.116634, 98.969362; 8.116442, 98.969572; 8.116566, 98.969709; 8.116689, 98.969503; 8.116849, 98.96933; 8.116942, 98.969144; 8.117088, 98.968948; 8.117163, 98.968617			
			Sai Thai		8.102535, 98.888517; 8.126899, 98.862958; 8.127143, 98.862903; 8.127362, 98.862896; 8.127723, 98.86261; 8.127901, 98.86241; 8.127936, 98.862284; 8.128028, 98.862206; 8.12846, 98.862378; 8.12869, 98.86245; 8.128912, 98.862544; 8.129075, 98.862564; 8.129008, 98.862721; 8.128865, 98.862659; 8.128685, 98.862624; 8.128613, 98.862622; 8.128536, 98.862541; 8.128385, 98.862522; 8.128241, 98.862485; 8.127924, 98.862429; 8.128019, 98.862546; 8.128207, 98.862617; 8.128483, 98.862668; 8.128537, 98.862758; 8.128336, 98.862765; 8.128171, 98.862721; 8.127891, 98.862631; 8.127706, 98.862568; 8.126889, 98.863041; 8.126848, 98.862802; 8.127041, 98.862779; 8.127254, 98.862743; 8.127526, 98.862636; 8.126794, 98.86257; 8.127033, 98.86249; 8.127283, 98.862468; 8.127544, 8.127558, 98.862399; 8.127319, 98.862356; 8.127063, 98.862337; 8.126825, 98.862344; 8.126809, 98.862285; 8.127, 98.862247; 8.127302, 98.862279; 8.127636, 98.862382; 8.127738, 98.862734; 8.128, 98.862855; 8.128225, 98.862851; 98.862636; 8.126794, 98.86257; 8.127033, 98.86249; 8.127283, 98.862468; 8.127544, 8.127558, 98.862399; 8.127319, 98.862356; 8.127063, 98.862337; 8.126825, 98.862344; 8.126809, 98.862285; 8.127, 98.862247; 8.127302, 98.862279; 8.127636, 98.862382; 8.127738, 98.862734; 8.128, 98.862855; 8.128225, 98.862851;		
				Thap Prik			

Table 2: Continued

Province	District	Subdistrict	Village	GPS coordinates
Krabi	Mueang	Thap Prik		8.128374, 98.863003; 8.131568, 98.864345; 8.131452, 98.864388; 8.13128, 98.86449; 8.131091, 98.864093; 8.131157, 98.863991; 8.131242, 98.863925; 8.131343, 98.863764; 8.131118, 98.863736; 8.131045, 98.863789; 8.13095, 98.86339; 8.131029, 98.863239; 8.131168, 98.863173; 8.131346, 98.863073; 8.131367, 98.86301; 8.131307, 98.862937; 8.131189, 98.86297; 8.13107, 98.863041; 8.131014, 98.863008; 8.131629, 98.864169; 8.131356, 98.86432; 8.131113, 98.864195; 8.131363, 98.864079; 8.131539, 98.86399; 8.131477, 98.863385; 8.131289, 98.863494; 8.130973, 98.863639; 8.130839, 98.863562; 8.131019, 98.863431; 8.131176, 98.863327; 8.131587, 98.862613; 8.131132, 98.862792
	Ao Luek	Khlong Hin		8.273971, 98.795915; 8.274081, 98.795989; 8.274763, 98.79594; 8.274581, 98.79581; 8.274434, 98.795718; 8.274533, 98.795483; 8.274784, 98.795635; 8.274934, 98.795733; 8.274866, 98.795381; 8.274961, 98.795404; 8.27514, 98.795592; 8.275348, 98.795757; 8.275527, 98.79567; 8.275352, 98.795517; 8.275687, 98.795249; 8.275853, 98.795408; 8.274518, 98.795971; 8.274401, 98.795883; 8.27449, 98.795605; 8.274708, 98.795727; 8.274806, 98.795441; 8.274944, 98.79555; 8.275357, 98.795252; 8.275541, 98.795506; 8.275686, 98.795677; 8.27596, 98.79576; 8.275884, 98.795612; 8.275649, 98.795327; 8.266739, 98.783005; 8.266717, 98.783085; 8.266542, 98.783224; 8.266356, 98.78339; 8.266175, 98.78357; 8.265964, 98.783702; 8.265999, 98.783853; 8.266189, 98.783753; 8.266418, 98.783551; 8.266549, 98.783461; 8.266763, 98.783306; 8.266916, 98.783348; 8.266714, 98.783461; 8.266519, 98.783614; 8.266316, 98.783743; 8.266114, 98.78389; 8.266118, 98.784048; 8.266168, 98.784293; 8.266218, 98.784532; 8.266272, 98.784752; 8.266306, 98.784921; 8.266441, 98.784931; 8.266391, 98.78468; 8.266382, 98.784512; 8.266321, 98.784229; 8.266317, 98.784094; 8.266287, 98.784039; 8.2666, 98.783835; 8.266878, 98.783705; 8.266927, 98.783492; 8.266369, 98.783591; 8.266773, 98.782945; 8.266586, 98.783082; 8.266337, 98.78324; 8.266153, 98.783393; 8.265965, 98.783531; 8.26581, 98.783559; 8.265924, 98.783393; 8.266117, 98.78323; 8.266303, 98.783088; 8.266492, 98.782911; 8.266561, 98.782736; 8.26637, 98.782903; 8.26618, 98.783034; 8.26597, 98.783168; 8.265798, 98.783284; 8.265014, 98.78368; 8.265075, 98.783604; 8.265339, 98.783458; 8.265566, 98.783345; 8.265769, 98.783178; 8.265923, 98.783041; 8.266157, 98.782883; 8.266338, 98.782757; 8.266396, 98.782526; 8.266198, 98.782639; 8.285635, 98.786854; 8.285543, 98.786935; 8.285373, 98.787001; 8.285227, 98.787119; 8.285226, 98.787242; 8.285337, 98.787209; 8.28547, 98.787137; 8.285609, 98.78705; 8.285782, 98.787079; 8.285633, 98.787185; 8.285491, 98.787286; 8.285358, 98.787325; 8.285227, 98.787421; 8.285306, 98.787544; 8.285345, 98.787516; 8.285513, 98.787415; 8.285666, 98.787337; 8.28582, 98.78726; 8.285748, 98.787372; 8.285813, 98.787186; 8.285822, 98.787118; 8.285732, 98.786936; 8.285633, 98.786889; 8.285499, 98.786919; 8.285593, 98.786944; 8.285647, 98.786758; 8.285549, 98.78682; 8.285369, 98.786906; 8.285148, 98.786993; 8.285108, 98.787094; 8.284946, 98.78694; 8.284814, 98.787102; 8.284556, 98.787174; 8.284287, 98.787325; 8.284202, 98.787477; 8.284376, 98.787484; 8.284531, 98.787494; 8.285072, 98.786889; 8.285216, 98.786792; 8.28551, 98.7867; 8.285431, 98.7867
	Khao Phanom	Khao Phanom		99.038936; 8.241495, 99.039096; 8.241442, 99.039253; 8.24152, 99.039385; 8.241797, 99.038936; 8.241495, 99.039096; 8.241442, 99.039253; 8.24152, 99.039385; 8.241797, 99.038744; 8.241997, 99.038292; 8.242087, 99.038406; 8.242273, 99.038556; 8.242267, 99.038394; 8.24219, 99.038269; 8.242011, 99.0381; 8.241971, 99.037916; 8.242082, 99.038047; 8.242232, 99.038171; 8.242421, 99.038254; 8.242584, 99.038363; 8.24266, 99.038459; 8.24284, 99.038559; 8.242969, 99.038689; 8.243037, 99.038765; 8.241679, 99.038823; 8.241405, 99.03891; 8.241211, 99.039088; 8.241063, 99.039113; 8.241096, 99.039194; 8.240995, 99.039392; 8.241162, 99.039149; 8.241337, 99.039102, 99.051866; 8.229564, 99.052032; 8.229878, 99.052431; 8.229632, 99.052204; 8.229728, 99.053648; 8.230384, 99.053474; 8.230274, 99.053342; 8.230252, 99.053235; 8.230166, 99.053066; 8.230099, 99.052907; 8.230035, 99.05278; 8.229981, 99.052608; 8.241991, 99.038411; 8.242011, 99.038528; 8.242164, 99.038644; 8.242157, 99.038656; 8.242301, 99.038795; 8.242421, 99.038896; 8.242575, 99.039037; 8.24269, 99.039137; 8.242603, 99.03919; 8.242507, 99.039143; 8.24237, 99.038934; 8.242117, 99.038948; 8.242037, 99.038917; 8.24189, 99.038793; 8.241806, 99.038701; 8.241692, 99.038865; 8.241571

Table 2: Continued

Province	District	Subdistrict	Village	GPS coordinates		
Krabi	Nuea Khlung	Huai Yung		8.134773, 99.020735; 8.134546, 99.020661; 8.134364, 99.020637; 8.134196, 99.020616; 8.134075, 99.020577; 8.13408, 99.02047; 8.134241, 99.02043; 8.134306, 99.020423; 8.134394, 99.02055; 8.134443, 99.020643; 8.134521, 99.020581; 8.134444, 99.020442; 8.134397, 99.02029; 8.134417, 99.020376; 8.134529, 99.02044; 8.134424, 99.02034; 8.134927, 99.020813; 8.135267, 99.020876; 8.135013, 99.020975; 8.134873, 99.020821; 8.134832, 99.020954; 8.134863, 99.021161; 8.134875, 99.021248; 8.134949, 99.021393; 8.13503, 99.021506; 8.134774, 99.021271; 8.134826, 99.020956; 8.134798, 99.020812; 8.13471, 99.020908; 8.134598, 99.021023; 8.134498, 99.020917; 8.134601, 99.020813; 8.132503, 99.026557; 8.132325, 99.026282; 8.13233, 99.026115; 8.132231, 99.025936; 8.132309, 99.025833; 8.132146, 99.025608; 8.132068, 99.025446; 8.131886, 99.025418; 8.131848, 99.025463; 8.131763, 99.025615; 8.131681, 99.025759; 8.131595, 99.025905; 8.131551, 99.025931; 8.13144, 99.025731; 8.131352, 99.025624; 8.131213, 99.025638; 8.131217, 99.025716; 8.131233, 99.025803; 8.131302, 99.025896; 8.131289, 99.02584; 8.131402, 99.025486; 8.13143, 99.025394; 8.131437, 99.025252; 8.131867, 99.025366; 8.132093, 99.025374; 8.132156, 99.025628; 8.132164, 99.025613; 8.132451, 99.026675; 8.132474, 99.026614; 8.132659, 99.02638; 8.132609, 99.026198; 8.132494, 99.025948; 8.132444, 99.025704; 8.132406, 99.025505; 8.132334, 99.025233; 8.132219, 99.025033; 8.132353, 99.025001; 8.132414, 99.025218; 8.13263, 99.025021; 8.132745, 99.025208; 8.132797, 99.025477; 8.132909, 99.025702; 8.132994, 99.025885; 8.133143, 99.025829; 8.133081, 99.02567; 8.132954, 99.025377; 8.132841, 99.025228; 8.132779, 99.024938; 8.132912, 99.024908; 8.132948, 99.025175; 8.133129, 99.025315; 8.133217, 99.02554; 8.13326, 99.025748; 8.132973, 99.0261; 8.133098, 99.026044		
			Plai Phraya	Plai Phraya	8.5861111, 98.9188889; 8.6158333, 98.8847222; 8.6141667, 98.8855556; 8.6141667, 98.8855556; 8.6005556, 98.9027778; 8.639432, 98.891571	
				Plai Phraya	Klongpuan	8.6158333, 98.8847222; 8.6141667, 98.8855556; 8.6141667, 98.8855556
				Plai Phraya	Ban Nha Suan	8.6005556, 98.9027778
			Phang-nga	Khura Buri	Mae Ya Nang Kao	9.1537083, 98.4247222; 9.1537083, 98.4247222; 9.16227, 98.408962; 9.163976, 98.405425; 9.164677, 98.397739; 9.173078, 98.405859
			Phatthalung	Srinagarindra	Ban Na	7.561577, 99.918313
			Phatthalung	Srinagarindra	Lam Sin	7.570163, 99.940117.570163, 99.94011
					Chumphon	7.56994, 99.944961; 7.567818, 99.948429; 7.564332, 99.964804; 7.583628, 99.958958
					Ang Thong	7.564332, 99.964804
			Prachuap Khiri Khan	Mueang	Bo Nok	11.9702778, 99.8077778; 11.9702778, 99.8077778
Surat Thani	Mueang	Makham Tia	9.085768, 99.345557; 9.085688, 99.345617; 9.08558, 99.345645; 9.085483, 99.345724; 9.085354, 99.345808; 9.085268, 99.345942; 9.085148, 99.346044; 9.085003, 99.346086; 9.085105, 99.346165; 9.085204, 99.346081; 9.085307, 99.346001; 9.085423, 99.345872; 9.085551, 99.345787; 9.085686, 99.345786; 9.085762, 99.345789; 9.085663, 99.345415; 9.08556, 99.345533; 9.085453, 99.34563; 9.085344, 99.34573; 9.085206, 99.345784; 9.085064, 99.345932; 9.084934, 99.346045; 9.084806, 99.34619; 9.085006, 99.346138; 9.085046, 99.346099; 9.085227, 99.345967; 9.085348, 99.345861; 9.085458, 99.345767; 9.085559, 99.345692; 9.085684, 99.34561			
		Khlung Noi	9.145244, 99.268441; 9.145455, 99.268739; 9.145674, 99.26902; 9.145882, 99.269232; 9.145976, 99.269614; 9.145699, 99.269285; 9.14548, 99.269021; 9.145244, 99.268716; 9.145027, 99.268537; 9.145167, 99.268679; 9.145374, 99.268984; 9.145634, 99.269267; 9.145816, 99.269506; 9.145968, 99.269422; 9.14574, 99.269152; 9.145361, 99.268171; 9.145525, 99.268371; 9.145753, 99.268672; 9.146, 99.268927; 9.146245, 99.269179; 9.146229, 99.269179; 9.145951, 99.268853; 9.145745, 99.268551; 9.145529, 99.268327; 9.145276, 99.268235; 9.145451, 99.268488; 9.145697, 99.268777; 9.145814, 99.268915; 9.14589, 99.26901; 9.146102, 99.269258; 9.146143, 99.269361; 9.145588, 99.268615; 9.139123, 99.269668; 9.139441, 99.269699; 9.139654, 99.269737; 9.139537, 99.269696; 9.13935, 99.269644; 9.13913, 99.269593; 9.139042, 99.269563; 9.138951, 99.2697; 9.139215, 99.269773; 9.139363, 99.269798; 9.139945, 99.269855; 9.139996, 99.269689; 9.139996, 99.269539; 9.142847, 99.253318; 9.142862, 99.253387; 9.142889, 99.253529; 9.142926, 99.25368;			

Table 2: Continued

Province	District	Subdistrict	Village	GPS coordinates
Surat Thani	Mueang	Khlong Noi		9.142955, 99.253846; 9.143079, 99.253867; 9.143032, 99.253665; 9.143014, 99.253537; 9.142962, 99.253344; 9.14295, 99.253215; 9.143056, 99.253142; 9.143114, 99.253313; 9.143181, 99.253421; 9.143185, 99.253553; 9.143203, 99.253707; 9.143307, 99.253716; 9.143273, 99.253499; 9.142911, 99.253198; 9.142946, 99.253428; 9.142948, 99.253541; 9.143009, 99.25371; 9.143033, 99.253855; 9.143159, 99.253774; 9.143101, 99.253596; 9.143071, 99.253432; 9.143055, 99.253244; 9.143165, 99.253203; 9.143205, 99.253375; 9.143229, 99.253493; 9.143278, 99.253656; 9.1455556, 99.2658333; 9.1455556, 99.2658333; 9.1458333, 99.2658333; 9.1458333, 99.2655556; 9.1461111, 99.2658333; 9.1472222, 99.2658333; 9.1472222, 99.2658333; 9.1472222, 99.2658333; 9.1472222, 99.2655556; 9.1452778, 99.2683333; 9.1455556, 99.2658333; 9.1458333, 99.2658333; 9.1458333, 99.2655556; 9.1461111, 99.2658333; 9.1472222, 99.2658333; 9.1472222, 99.2658333; 9.1472222, 99.2658333; 9.1466667, 99.2655556; 9.1452778, 99.2683333; 9.1355556, 99.2788889; 9.1322222, 99.2836111; 9.1455556, 99.2658333
		Khlong Noi	Ban Kho Klang	9.132482, 99.249187; 9.132276, 99.24983; 9.132556, 99.249558; 9.132653, 99.249495; 9.132777, 99.249345; 9.132847, 99.24936; 9.132706, 99.249503; 9.132585, 99.249587; 9.132478, 99.249703; 9.132381, 99.249785; 9.132447, 99.249834; 9.132565, 99.249731; 9.132675, 99.249622; 9.132811, 99.249477; 9.132914, 99.249374; 9.132706, 99.249967; 9.132806, 99.249867; 9.132967, 99.249725; 9.13261, 99.249939; 9.132698, 99.249837; 9.13277, 99.249726; 9.132878, 99.249613; 9.132999, 99.249485; 9.133039, 99.249536; 9.132905, 99.249666; 9.132821, 99.249741; 9.132651, 99.249927; 9.132763, 99.249918; 9.132847, 99.249802; 9.132938, 99.249727; 9.133046, 99.249601 9.145615, 99.265702; 9.145918, 99.265758; 9.146241, 99.265794; 9.146562, 99.265876; 9.146856, 99.26587; 9.14715, 99.265915; 9.147498, 99.265974; 9.147492, 99.265796; 9.147114, 99.265726; 9.146801, 99.265668; 9.146514, 99.26564; 9.146178, 99.265598; 9.145877, 99.265573; 9.145552, 99.265536; 9.145394, 99.265172; 9.145915, 99.265228; 9.145681, 99.265855; 9.145903, 99.265899; 9.146285, 99.265931; 9.146556, 99.265974; 9.146792, 99.265996; 9.147073, 99.266063; 9.147398, 99.266084; 9.147636, 99.265957; 9.147442, 99.265601; 9.147284, 99.265592; 9.146976, 99.265543; 9.146727, 99.265512; 9.146446, 99.265477; 9.146138, 99.265438; 9.145815, 99.2654; 9.145554, 99.265329
Kanchanadit		Takhian Thong		9.16004, 99.43942; 9.15999, 99.439313; 9.159932, 99.43916; 9.159886, 99.439042; 9.159864, 99.438914; 9.159811, 99.43897; 9.159858, 99.439109; 9.159898, 99.439246; 9.159954, 99.439374; 9.160005, 99.439492; 9.15989, 99.439428; 9.159877, 99.439273; 9.159801, 99.43916; 9.159751, 99.438984; 9.159924, 99.438965; 9.15996, 99.439088; 9.160004, 99.439243; 9.160047, 99.439366; 9.159882, 99.439539; 9.159802, 99.43939; 9.159775, 99.439249; 9.159714, 99.439088; 9.159674, 99.439014; 9.159608, 99.439004; 9.159648, 99.439101; 9.159704, 99.439228; 9.15976, 99.439355; 9.159764, 99.439413; 9.159766, 99.43943; 9.160033, 99.439505; 9.159271, 99.437522; 9.159179, 99.437543; 9.159026, 99.437551; 9.158848, 99.437653; 9.158696, 99.437639; 9.158522, 99.437669; 9.158526, 99.437532; 9.15864, 99.437569; 9.158849, 99.437492; 9.158945, 99.437455; 9.159096, 99.437422; 9.159099, 99.437341; 9.158948, 99.437241; 9.158789, 99.437353; 9.15867, 99.437372; 9.159485, 99.437632; 9.159237, 99.4377; 9.159149, 99.437716; 9.158961, 99.43775; ; 9.158749, 99.43782; 9.158588, 99.437852; 9.15844, 99.437866; 9.158476, 99.437868; 9.158639, 99.437843; 9.158771, 99.43782; 9.159518, 99.437408; 9.159104, 99.43777; 9.15924, 99.437702; 9.159377, 99.437677; 9.159457, 99.43774; 9.159381, 99.437786; 9.159309, 99.437779; 9.159219, 99.43782; 9.159136, 99.437846; 9.159737, 99.437552; 9.159716, 99.437547; 9.159699, 99.437541; 9.159629, 99.437707; 9.159693, 99.437838; 9.176054, 99.442286; 9.175897, 99.442303; 9.175697, 99.442297; 9.175521, 99.44227; 9.176036, 99.442203; 9.175904, 99.442167; 9.175767, 99.442158; 9.175607, 99.442153; 9.175998, 99.441767; 9.175839, 99.441688; 9.175628, 99.441707; 9.176024, 99.44158; 9.175844, 99.441557; 9.175725, 9.175577, 99.44154; 9.176074, 99.442071; 9.175947, 99.442016; 9.175772, 99.442011; 9.175619, 99.441993; 9.175559, 99.441967; 9.175705, 99.441973; 9.175848, 99.441996; 9.176009, 99.442007; 9.176083, 99.441912; 9.17593, 99.441871; 9.175778, 99.441871; 9.1756, 99.441844; 9.175575, 99.441814; 9.175757, 99.441832; 9.175934, 99.44186; 9.176047, 99.441862; 9.17607, 99.441978

Table 2: Continued

Province	District	Subdistrict	Village	GPS coordinates
Surat Thani	Kanchanadit	Kadee		9.174527, 99.459029; 9.174531, 99.459028; 9.174627, 99.459103; 9.174631, 99.459082; 9.174652, 99.459088; 9.174676, 99.459079; 9.174929, 99.459019; 9.174907, 99.459031; 9.174893, 99.45901; 9.174834, 99.459037; 9.174795, 99.459011; 9.174703, 99.459015; 9.174623, 99.459029; 9.174604, 99.459075; 9.174501, 99.459071; 9.174484, 99.45903; 9.174618, 99.459033; 9.174656, 99.459062; 9.174531, 99.458927; 9.174629, 99.458973; 9.174694, 99.458945; 9.174751, 99.45895; 9.174759, 99.458952; 9.174779, 99.458958; 9.174861, 99.458965; 9.174853, 99.45897; 9.174923, 99.45896; 9.174985, 99.458948; 9.175088, 99.458955; 9.175065, 99.458975; 9.175022, 99.45902; 9.174819, 99.458976; 9.174748, 99.458965
			Kadee	Na Trok
			Ban Son	9.168774, 99.459217; 9.168761, 99.459378; 9.168663, 99.459562; 9.168717, 99.459615; 9.168805, 99.459554; 9.168593, 99.459592; 9.168608, 99.45947; 9.168668, 99.459333; 9.168718, 99.459178; 9.168721, 99.459093; 9.168657, 99.459229; 9.168609, 99.459422; 9.168511, 99.459607; 9.168498, 99.459537; 9.168543, 99.459418; 9.1686, 99.459197; 9.168372, 99.459287; 9.168291, 99.459369; 9.168345, 99.459422; 9.168363, 99.459455; 9.168415, 99.45949; 9.168436, 99.459453; 9.168488, 99.459462; 9.168485, 99.459432; 9.168445, 99.459401; 9.168437, 99.459311; 9.16847, 99.459243; 9.16848, 99.45924; 9.168515, 99.459329; 9.168579, 99.459299; 9.168581, 99.459168
		Phlai Wat	Ban Nong Plae	9.167882, 99.496478; 9.167818, 99.49651; 9.167628, 99.496557; 9.167445, 99.496592; 9.167372, 99.496671; 9.167187, 99.496639; 9.166971, 99.496676; 9.167092, 99.496582; 9.16721, 99.496536; 9.167347, 99.496511; 9.167512, 99.496482; 9.167672, 99.496456; 9.167836, 99.496422; 9.167922, 99.496385; 9.167802, 99.496378; 9.167572, 99.49643; 9.167421, 99.496477; 9.167255, 99.496476; 9.16703, 99.496525; 9.167955, 99.496529; 9.167802, 99.496562; 9.16764, 99.496573; 9.167497, 99.496612; 9.167348, 99.496651; 9.167193, 99.496663; 9.167039, 99.496683; 9.167021, 99.496689; 9.167196, 99.496607; 9.167116, 99.496453; 9.167156, 99.496462; 9.167295, 99.496415; 9.167457, 99.496393; 9.167643, 99.496379; 9.167862, 99.49634; 9.167789, 99.496535
		Ban Na San	Thung Tao Mai	8.953702, 99.393217; 8.95373, 99.393403; 8.953746, 99.393523; 8.953736, 99.393698; 8.953762, 99.393714; 8.95379, 99.39401; 8.953796, 99.394213; 8.953843, 99.394322; 8.953844, 99.394532; 8.953844, 99.394662; 8.953855, 99.394855; 8.953901, 99.395023; 8.953925, 99.395228; 8.953945, 99.395401; 8.954066, 99.395662; 8.95366, 99.393183; 8.953681, 99.393327; 8.953721, 99.393511; 8.953734, 99.393697; 8.953737, 99.393871; 8.953787, 99.39401; 8.953749, 99.394216; 8.953779, 99.394386; 8.953808, 99.394532; 8.95383, 99.394736; 8.953829, 99.394861; 8.953876, 99.395051; 8.953954, 99.395211; 8.95396, 99.395313; 8.953894, 99.395566
			Khuan Suban	8.884385, 99.413621; 8.884141, 99.413589; 8.883952, 99.413545; 8.883723, 99.41355; 8.883452, 99.413492; 8.88317, 99.41346; 8.883104, 99.413436; 8.883417, 99.41346; 8.883696, 99.413509; 8.883875, 99.413521; 8.884103, 99.413558; 8.884402, 99.413602; 8.884172, 99.41346; 8.8839, 99.413409; 8.883609, 99.413391; 8.883351, 99.413341; 8.883111, 99.413321; 8.882916, 99.413293; 8.882828, 99.413267; 8.88308, 99.413263; 8.883282, 99.413283; 8.883459, 99.4133; 8.883698, 99.413356; 8.883968, 99.413405; 8.884076, 99.413413; 8.884333, 99.413438; 8.884328, 99.413096; 8.884108, 99.413108; 8.883905, 99.413014; 8.883605, 99.412971; 8.883315, 99.412954; 8.883094, 99.412824; 8.883167, 99.412814; 8.883636, 99.412788; 8.883881, 99.412923; 8.884344, 99.413216; 8.883817, 99.413163; 8.883366, 99.413109; 8.883472, 99.41323; 8.875638, 99.381619; 8.875601, 99.381657; 8.87565, 99.381556; 8.875621, 99.381409; 8.875594, 99.381282; 8.875572, 99.381166; 8.875556,

Table 2: Continued

Province	District	Subdistrict	Village	GPS coordinates
Surat Thani	Ban Na San	Khuan Suban		99.381019; 8.875546; 99.380867; 8.875635; 99.380702; 8.875525; 99.38062; 8.875533; 99.380471; 8.875554; 99.38034; 8.875497; 99.380171; 8.875461; 99.38012; 8.875465; 99.379976; 8.875427; 99.379942; 8.875713; 99.381651; 8.875727; 99.381508; 8.875741; 99.381399; 8.875728; 99.381248; 8.875705; 99.381116; 8.875703; 99.380976; 8.875675; 99.380831; 8.875676; 99.380698; 8.875631; 99.380565; 8.875625; 99.380451; 8.875603; 99.380307; 8.875636; 99.380182; 8.875625; 99.380054; 8.875603; 99.379752; 8.875564; 99.379598
	Kanchanadit	Thung Tao Mai	Ban Nong Silpachai	8.94436; 99.39769; 8.944409; 99.397817; 8.944478; 99.397965; 8.94459; 99.398133; 8.944647; 99.398259; 8.944692; 99.398335; 8.944795; 99.398546; 8.944852; 99.398666; 8.944931; 99.398807; 8.945021; 99.398975; 8.945195; 99.399303; 8.945357; 99.399607; 8.945525; 99.399937; 8.945684; 99.400236; 8.945787; 99.400498; 8.945681; 99.400257; 8.945554; 99.400017; 8.945416; 99.399741; 8.945268; 99.399477; 8.945121; 99.399174; 8.944952; 99.398855; 8.944752; 99.398539; 8.944605; 99.398253; 8.944457; 99.397968; 8.944316; 99.397708; 8.944194; 99.397833; 8.944371; 99.398131; 8.944522; 99.398409; 8.944671; 99.398691; 8.944832; 99.399; 8.944961; 99.399287; 8.94512; 99.399572; 8.945267; 99.399844; 8.945413; 99.400139; 8.94409;
	Ban Na San	Thung Tao Mai	Ban Nong Silpachai	99.397931; 8.944179; 99.39813; 8.944291; 99.398357; 8.944415; 99.398578; 8.944547; 99.398792; 8.944671; 99.39899; 8.944783; 99.399196; 8.945029; 99.399629; 8.94525; 99.400037; 8.94547; 99.400461; 8.945541; 99.400831; 8.945205; 99.400458; 8.944994; 99.399974; 8.944763; 99.399593; 8.94454; 99.399148; 8.944258; 99.398696; 8.944082; 99.398251; 8.943916; 99.398088; 8.944084; 99.398472; 8.944316; 99.398911; 8.94458; 99.399417; 8.944799; 99.399816; 8.945057; 99.400253; 8.945342; 99.400676
		Thung Tao Mai	Ban Hua Thanon	8.91058; 99.402501; 8.910315; 99.402404; 8.910051; 99.402333; 8.909837; 99.402299; 8.909887; 99.402351; 8.910102; 99.402482; 8.910353; 99.402559; 8.910507; 99.402624; 8.910445; 99.402653; 8.910242; 99.402591; 8.909968; 99.402508; 8.909818; 99.402496; 8.909999; 99.402607; 8.910235; 99.402637; 8.910489; 99.402782; 8.910326; 99.402807; 8.910073; 99.40272; 8.909844; 99.402643; 8.909793; 99.40266; 8.909981; 99.402774; 8.910077; 99.402899; 8.909804; 99.402793; 8.909765; 99.402872; 8.90981; 99.402981; 8.909972; 99.402938; 8.910705; 99.402557; 8.911077; 99.402314; 8.91082; 99.402204; 8.910599; 99.402105; 8.910392; 99.402022; 8.91011; 99.401978; 8.909936; 99.401882; 8.909934; 99.40206; 8.91019; 99.402163; 8.910399; 99.402225; 8.910632; 99.402306; 8.910862; 99.402355; 8.910561; 99.402391; 8.910338; 99.402351; 8.910117; 99.402312; 8.909865; 99.402197
	Khian Sa	Khian Sa		8.839485; 99.181261; 8.839609; 99.181283; 8.839766; 99.181357; 8.839944; 99.181418; 8.840107; 99.181484; 8.840246; 99.18153; 8.840405; 99.181606; 8.840576; 99.18156; 8.840436; 99.181506; 8.840281; 99.181462; 8.840124; 99.181401; 8.839934; 99.181357; 8.839806; 99.181282; 8.839668; 99.181186; 8.839566; 99.181111; 8.839735; 99.18118; 8.839931; 99.181247; 8.840047; 99.18131; 8.840206; 99.181353; 8.84035; 99.181415; 8.839771; 99.181667; 8.839745; 99.181673; 8.839774; 99.181549; 8.83995; 99.181626; 8.839918; 99.181573; 8.839764; 99.181508; 8.839588; 99.181478; 8.839523; 99.18135; 8.839709; 99.181405; 8.839867; 99.181465; 8.839979; 99.181511; 8.843876; 99.193845; 8.843907; 99.194282; 8.843946; 99.194799; 8.84401; 99.195437; 8.844043; 99.195989; 8.843909; 99.196117; 8.843928; 99.195895; 8.843903; 99.195618; 8.843866; 99.195313; 8.843853; 99.195033; 8.843847; 99.19473; 8.84381; 99.194449; 8.843789; 99.194171; 8.84378; 99.19391; 8.843516; 99.193881; 8.843512; 99.194059; 8.843529; 99.194386; 8.84357; 99.1947; 8.84358; 99.194951; 8.843607; 99.195195; 8.843636; 99.195494; 8.843664; 99.195832; 8.843661; 99.196069; 8.843782; 99.196106; 8.843714; 99.196031; 8.843659; 99.195805; 8.843643; 99.195417; 8.843643; 99.195145; 8.84361; 99.194868; 8.843607; 99.194572; 8.843569; 99.194302; 8.843547; 99.193926; 8.843956; 99.1939; 8.84396; 99.194152; 8.844019; 99.194523; 8.844027; 99.194726; 8.844054; 99.19499; 8.844078; 99.195332; 8.844069; 99.195579; 8.844113; 99.195919; 8.843799; 99.196043; ; 8.84377; 99.195548; 8.843701; 99.195461; 8.843727; 99.195424; 8.84373; 99.195321; 8.843751; 99.19506; 8.843685; 99.194774; 8.843695; 99.194471; 8.843679; 99.194209; 8.843639; 99.193916; 8.843918; 99.196034; 8.785381; 99.18753; 8.785556; 99.187704; 8.785654; 99.187804; 8.785855; 99.18793; 8.786039; 99.187819; 8.785874; 99.187661; 8.785772; 99.187527; 8.785494; 99.187347; 8.785714; 99.187338; 8.785936; 99.187507; 8.786092; 99.187657; 8.786226; 99.187682; 8.786073; 99.187437; 8.785872; 99.187279; 8.786006; 99.187242; 8.786196; 99.18739; 8.786367; 99.187463; 8.786378; 99.187409; 8.786158; 99.187231; 8.786167; 99.187173; 8.786384; 99.187287; 8.786448; 99.1873; 8.786387; 99.187055; 8.785424; 99.187396; 8.785668; 99.187573; 8.785845;

Table 2: Continued

Province	District	Subdistrict	Village	GPS coordinates		
Surat Thani	Khian Sa	Khian Sa		99.187783; 8.785957, 99.187701; 8.785827, 99.187495; 8.785587, 99.18734; 8.785958, 99.187176; 8.785935, 99.187441; 8.78592, 99.187676; 8.786269, 99.187728; 8.84, 99.1819444; 8.7944444, 99.1627778; 8.796517, 99.175103 8.7602778, 99.1627778; 8.7602778, 99.1633333		
		Arankhamwari		8.6755556, 99.1247222		
		Phuang		8.6755556, 99.1247222		
		Phromkhon				
		Ban Khian Sa	Plai Lik	8.84, 99.1819444		
		Ban Khian Sa	Phuang	8.6755556, 99.1247222		
			Phromkhon			
		Khian Sa	Ban Sadet	8.7944444, 99.1627778		
		Khian Sa	Ban Huay Nam Tao	8.7602778, 99.1627778; 8.7602778, 99.1633333		
		Phrasaeng	Bang Sawan			8.638375, 98.986461; 8.638568, 98.986467; 8.638354, 98.986552; 8.638112, 98.986674; 8.637894, 98.986749; 8.637617, 98.986799; 8.63737, 98.986871; 8.637141, 98.986934; 8.637073, 98.986982; 8.63701, 98.987017; 8.636848, 98.987045; 8.636845, 98.987187; 8.636943, 98.986854; 8.637175, 98.986795; 8.6374, 98.986728; 8.637665, 98.986638; 8.637883, 98.986603; 8.638107, 98.986519; 8.638359, 98.986458; 8.638309, 98.986294; 8.638117, 98.986345; 8.637843, 98.986443; 8.637708, 98.986501; 8.637395, 98.98655; 8.637148, 98.986575; 8.637136, 98.986512; 8.637464, 98.986426; 8.63775, 98.986509; 8.637923, 98.986548; 8.637996, 98.986616; 8.638397, 98.986553; 8.638337, 98.986732; 8.638093, 98.986785; 8.637917, 98.986831; 8.637579, 98.986913; 8.637349, 98.986984; 8.637145, 98.98706; 8.637008, 98.987245; 8.637248, 98.987212; 8.637481, 98.987189; 8.637722, 98.987086; 8.637955, 98.98701; 8.638157, 98.986911; 8.638269, 98.987032; 8.63801, 98.987182; 8.637756, 98.987173; 8.637853, 98.98749; 8.637661, 98.98754; 8.637289, 98.98764; 8.63712, 98.987689; 8.637139, 98.987851; 8.637414, 98.987752; 8.637597, 98.987722; 8.637816, 98.987636; 8.638098, 98.98754; 8.6413889, 98.9716667; 8.6425, 98.9677778; 8.5961111, 98.9483333; 8.6066667, 98.9575; 8.6413889, 99.0311111; 8.6411111, 99.0686111; 8.9291667, 99.2586111; 8.9866667, 99.2063889
Bang Sawan	Ban Bang Sawan			8.5861111, 98.9188889; 8.5961111, 98.9483333; 8.6066667, 98.9575; 8.6413889, 99.0311111; 8.6411111, 99.0686111; 8.9291667, 99.2586111; 8.9866667, 99.2063889		
Ipan	Ban Plaiseang			8.602144, 99.234508; 8.601965, 99.234514; 8.601766, 99.234588; 8.601594, 99.234599; 8.601429, 99.234628; 8.601398, 99.234654; 8.601593, 99.234648; 8.601808, 99.234605; 8.602007, 99.234604; 8.602114, 99.234579; 8.602003, 99.234419; 8.602032, 99.234434; 8.601765, 99.234442; 8.601535, 99.234507; 8.601433, 99.234745; 8.601731, 99.234671		
				9.494228, 99.13392; 9.494172, 99.133884; 9.493953, 99.13384; 9.493819, 99.133798; 9.493222, 99.133757; 9.493353, 99.133821; 9.493524, 99.13388; 9.493681, 99.133914; 9.493814, 99.133953; 9.493957, 99.134052; 9.494135, 99.134106; 9.49427, 99.134151; 9.494401, 99.134183; 9.494288, 99.134303; 9.494133, 99.134243; 9.494228, 99.134411; 9.49415, 99.1344; 9.493983, 99.134376; 9.493848, 99.134286; 9.493702, 99.13424; 9.493506, 99.134197; 9.493398, 99.134177; 9.493221, 99.134123; 9.493129, 99.134057; 9.493122, 99.133962; 9.493264, 99.13401; 9.493342, 99.134063; 9.493525, 99.134105; 9.493688, 99.134163; 9.49381, 99.13421; 9.493994, 99.13426; 9.494171, 99.134328; 9.494218, 99.134378		
				9.092592, 99.222569; 9.092648, 99.222508; 9.092669, 99.222369; 9.092711, 99.222382; 9.092843, 99.222351; 9.092918, 99.222296; 9.092977, 99.222232; 9.093031, 99.222177; 9.093061, 99.222159; 9.093028, 99.22209; 9.092958, 99.222032; 9.092882, 99.222038; 9.092856, 99.222105; 9.092802, 99.222158; 9.0927, 99.222219; 9.092633, 99.222277; 9.09257, 99.22232; 9.092502, 99.222389; 9.092434, 99.222433; 9.092491, 99.222505; 9.092507, 99.222471; 9.092639, 99.222413; 9.09264, 99.222389; 9.092721, 99.222333; 9.092795, 99.222273; 9.092851, 99.222217; 9.092919, 99.222161; 9.092954, 99.222114; 9.092215, 99.222553; 9.092052, 99.222643; 9.091894, 99.222786; 9.091717, 99.222942; 9.09166, 99.223047; 9.091478, 99.223141; 9.091403, 99.223199; 9.0913, 99.22328; 9.091146, 99.223403; 9.09102, 99.223485; 9.090845, 99.223649; 9.090808, 99.223669; 9.090665, 99.223787; 9.090647, 99.223796; 9.087641, 99.215456; 9.087547, 99.215469; 9.087547, 99.215469; 9.087499, 99.215496; 9.087424, 99.215561; 9.08736, 99.215597; 9.087265, 99.215642; 9.087219, 99.215682; 9.087159, 99.215746; 9.087094, 99.215796; 9.087056, 99.215828; 9.087,		
Tha Chana	Prasong					
Phunphin	Khao Hua Khwai					

Table 2: Continued

Province	District	Subdistrict	Village	GPS coordinates
Surat Thani	Phunphin	Khao Hua Khwai		99.215874; 9.087048, 99.215927; 9.08691, 99.215937; 9.086835, 99.215983; 9.086819, 99.216006; 9.086819, 99.216006; 9.086658, 99.216136; 9.086586, 99.21619; 9.086519, 99.216254; 9.086387, 99.216326; 9.086368, 99.216349; 9.086252, 99.216434; 9.086249, 99.216453; 9.087696, 99.215566; 9.087628, 99.215559; 9.087559, 99.215628; 9.087541, 99.215632; 9.087461, 99.215694; 9.087433, 99.215722; 9.087491, 99.21582; 9.087317, 99.215955; 9.087243, 99.215992; 9.08718, 99.216061; 9.086841, 99.216324; 9.086781, 99.216336; 9.086794, 99.216269; 9.086888, 99.216193; 9.086965, 99.216142; 9.087022, 99.2162; 9.063043, 99.261794; 9.063249, 99.262003; 9.063363, 99.262183; 9.06353, 99.26237; 9.06374, 99.262429; 9.063585, 99.262246; 9.063462, 99.262023; 9.063297, 99.261863; 9.063132, 99.261643; 9.063284, 99.261543; 9.063389, 99.261737; 9.063551, 99.261958; 9.063706, 99.262147; 9.063847, 99.262322; 9.063967, 99.262266; 9.063825, 99.262085; 9.063669, 99.261848; 9.063532, 99.261707; 9.063354, 99.261471; 9.063462, 99.261414; 9.063616, 99.261539; 9.063756, 99.261762; 9.063918, 99.261952; 9.064066, 99.262145; 9.064187, 99.262083; 9.064004, 99.261869; 9.063877, 99.261662; 9.063707, 99.261485; 9.063578, 99.261316; 9.063634, 99.261172; 9.063135, 99.261723; 9.063312, 99.2619; 9.063387, 99.262048; 9.063532, 99.262248; 9.06368, 99.262397; 9.063819, 99.262416; 9.06371, 99.262212; 9.063588, 99.262004; 9.063447, 99.261856; 9.063308, 99.261663; 9.063376, 99.261525; 9.063498, 99.261667; 9.063672, 99.261911; 9.063814, 99.262082; 9.063987, 99.26229; 9.064057, 99.262242; 9.063964, 99.262038; 9.063837, 99.261847; 9.063652, 99.261634; 9.063485, 99.261453
	Phunphin	Phunphin		9.131066, 99.199174; 9.131248, 99.199238; 9.131456, 99.199309; 9.131651, 99.19937; 9.13186, 99.19944; 9.132094, 99.199517; 9.132287, 99.199573; 9.132501, 99.199638; 9.132729, 99.199704; 9.132912, 99.199773; 9.133143, 99.19981; 9.133325, 99.199868; 9.133453, 99.199889; 9.133271, 99.199835; 9.133074, 99.199784; 9.132851, 99.199706; 9.13266, 99.199651; 9.132466, 99.199581; 9.13225, 99.199494; 9.132035, 99.199456; 9.131809, 99.199397; 9.131631, 99.19934; 9.131387, 99.199268; 9.131178, 99.199148; 9.131063, 99.198943; 9.131187, 99.19897; 9.131354, 99.199032; 9.131488, 99.199064; 9.131604, 99.199127; 9.131768, 99.199148; 9.131919, 99.199203; 9.131988, 99.19924; 9.13216, 99.199255; 9.132316, 99.199337; 9.132569, 99.199393; 9.132721, 99.199403; 9.13292, 99.199484; 9.133072, 99.199496; 9.133194, 99.199567; 9.133332, 99.199613; 9.133483, 99.199645; 9.133618, 99.199701; 9.133592, 99.199703
		Lilet		9.16735, 99.234054; 9.167189, 99.233979; 9.167046, 99.233896; 9.167005, 99.233951; 9.167125, 99.23405; 9.167249, 99.234178; 9.167308, 99.234147; 9.167184, 99.234184; 9.167066, 99.234123; 9.166911, 99.234067; 9.166962, 99.23412; 9.167109, 99.234221; 9.167231, 99.234315; 9.167195, 99.234407; 9.167106, 99.234329; 9.166946, 99.234289; 9.167096, 99.234415; 9.167191, 99.23448; 9.167176, 99.234605; 9.167053, 99.234463; 9.166831, 99.234399; 9.167135, 99.234647; 9.167048, 99.23466; 9.167024, 99.234734; 9.167614, 99.234208; 9.167628, 99.234269; 9.167574, 99.234558; 9.167609, 99.234478; 9.167713, 99.234352; 9.167788, 99.234198; 9.167805, 99.234278; 9.1677, 99.23441; 9.167598, 99.234503; 9.167466, 99.234685; 9.167394, 99.234792; 9.167383, 99.234913; 9.167515, 99.234777; 9.167658, 99.234617; 9.167739, 99.234494; 9.167839, 99.234393; 9.167946, 99.234258; 9.167957, 99.234294; 9.16787, 99.234438; 9.167757, 99.234516; 9.167659, 99.234688; 9.167325, 99.234336; 9.167416, 99.234233; 9.167394, 99.234219; 9.16749, 99.234101; 9.167189, 99.233563; 9.167127, 99.233523; 9.167174, 99.233476; 9.167257, 99.23345; 9.167284, 99.233362; 9.167273, 99.233498; 9.167377, 99.233445; 9.167463, 99.233404; 9.167543, 99.233411; 9.167628, 99.233433; 9.167683, 99.23349; 9.167161, 99.233637; 9.167117, 99.233591; 9.167056, 99.233526; 9.166977, 99.233613; 9.166942, 99.233596; 9.166956, 99.233639; 9.167058, 99.233638; 9.167115, 99.233656; 9.167131, 99.233617; 9.167039, 99.233675; 9.167119, 99.233747; 9.167154, 99.233735; 9.167168, 99.233755; 9.167243, 99.233564; 9.167244, 99.233498; 9.167296, 99.233438; 9.167394, 99.233462; 9.167407, 99.233472; 9.167446, 99.233482; 9.167496, 99.233491; 9.16761, 99.233517; 9.16765, 99.233528
		Si Wichai		9.166138, 99.233264; 9.16619, 99.233466; 9.166211, 99.233599; 9.166177, 99.233698; 9.166103, 99.233529; 9.166019, 99.233383; 9.165981, 99.233246; 9.165937, 99.233145; 9.165863, 99.233012; 9.165813, 99.232861; 9.165744, 99.232698; 9.165758, 99.232633; 9.16559, 99.232597; 9.165653, 99.232774; 9.165705, 99.232915; 9.165748, 99.23304; 9.16581, 99.233206; 9.165874, 99.233389; 9.165932, 99.233563; 9.165966, 99.233699; 9.165845, 99.233724;

Table 2: Continued

Province	District	Subdistrict	Village	GPS coordinates						
Surat Thani	Phunphin	Si Wichai		9.165866, 99.233807; 9.16578, 99.233585; 9.165668, 99.233265; 9.165592, 99.23311; 9.165529, 99.232878; 9.165484, 99.232711; 9.165369, 99.232774; 9.165426, 99.232905; 9.165466, 99.233064; 9.165548, 99.233313; 9.165976, 99.232988; 9.166021, 99.233146; 9.166056, 99.23322; 9.166093, 99.233308; 9.166139, 99.233472; 9.166249, 99.233741; 9.166044, 99.233591; 9.165994, 99.233523; 9.165967, 99.233335; 9.165881, 99.233144; 9.165891, 99.233056; 9.165796, 99.232891; 9.165642, 99.232894; 9.165683, 99.233016; 9.165619, 99.233021; 9.1658, 99.233302; 9.165849, 99.23347; 9.165924, 99.233633; 9.16598, 99.233634; 9.165798, 99.233783; 9.165754, 99.233629; 9.165703, 99.233484; 9.165652, 99.233328; 9.165525, 99.233084; 9.165508, 99.232918; 9.165409, 99.232777; 9.165402, 99.23275; 9.165457, 99.232745; 9.1661111, 99.2336111; 9.1661111, 99.2330556; 9.1661111, 99.2336111; 9.1661111, 99.2330556						
			Tha Chang	Khlung Sai		9.213264, 99.155783; 9.213117, 99.155795; 9.212936, 99.15574; 9.212774, 99.155727; 9.21262, 99.155712; 9.21256, 99.15556; 9.212701, 99.155572; 9.212846, 99.155586; 9.213033, 99.155626; 9.213167, 99.155645; 9.213281, 99.15566; 9.213337, 99.155546; 9.21316, 99.155522; 9.212963, 99.155488; 9.212836, 99.155465; 9.212651, 99.155429; 9.213189, 99.155923; 9.213016, 99.155879; 9.212852, 99.155862; 9.212659, 99.155844; 9.21255, 99.155935; 9.212544, 99.15595; 9.212888, 99.156008; 9.213006, 99.156021; 9.213008, 99.156176; 9.212898, 99.156188; 9.212741, 99.156175; 9.212593, 99.156124; 9.212608, 99.15629; 9.212649, 99.156349; 9.212785, 99.156312; 9.212822, 99.156342; 9.212865, 99.156323; 9.212888, 99.156326; 9.212924, 99.156323; 9.212935, 99.156341; 9.212986, 99.156315; 9.214519, 99.151702; 9.214588, 99.151684; 9.214837, 99.151708; 9.214935, 99.151699; 9.2151, 99.151685; 9.215283, 99.151694; 9.215441, 99.151708; 9.215582, 99.151715; 9.215791, 99.151726; 9.215947, 99.151716; 9.216117, 99.151732;				
					Tha Chang	Khlung Sai		9.216328, 99.151744; 9.216452, 99.151723; 9.214448, 99.151825; 9.214636, 99.151886; 9.214796, 99.151875; 9.214904, 99.151838; 9.215145, 99.151874; 9.215301, 99.151831; 9.215478, 99.151845; 9.21451, 99.151643; 9.214609, 99.151585; 9.214831, 99.15159; 9.214946, 99.151565; 9.21516, 99.151585; 9.215328, 99.151585; 9.215487, 99.151586; 9.215687, 99.151567; 9.215813, 99.15158; 9.216182, 99.151583; 9.214529, 99.151448; 9.214718, 99.151455; 9.214969, 99.151443; 9.21517, 99.151453; 9.21539, 99.151452		
	Tha Khoei							9.230586, 99.145281; 9.230735, 99.145363; 9.230856, 99.145454; 9.230983, 99.145468; 9.231119, 99.145537; 9.231251, 99.145625; 9.231457, 99.145677; 9.231395, 99.14579; 9.231269, 99.145756; 9.231116, 99.145705; 9.231, 99.145646; 9.230862, 99.145602; 9.230852, 99.145711; 9.23099, 99.145755; 9.231141, 99.145796; 9.231235, 99.145847; 9.231146, 99.145949; 9.230973, 99.14589; 9.230833, 99.145852; 9.23072, 99.145787; 9.230574, 99.145725; 9.230435, 99.145681; 9.230643, 99.145241; 9.230799, 99.145281; 9.23088, 99.145343; 9.231042, 99.145373; 9.231196, 99.145435; 9.231346, 99.145495; 9.231456, 99.145524; 9.231549, 99.145473; 9.231474, 99.145405; 9.231308, 99.145346; 9.23116, 99.145298; 9.231014, 99.145258; 9.230906, 99.145213; 9.230805, 99.145022; 9.230911, 99.145077; 9.229415, 99.148435; 9.229376, 99.148348; 9.229362, 99.148306; 9.229057, 99.148353; 9.228972, 99.14829; 9.229054, 99.148461; 9.229175, 99.148444; 9.229321, 99.148447; 9.229483, 99.148456; 9.229453, 99.148575; 9.229316, 99.148611; 9.229237, 99.148562; 9.22918, 99.148602; 9.229036, 99.14858; 9.229094, 99.148674; 9.229142, 99.148699; 9.229251, 99.148662; 9.229321, 99.148652; 9.229532, 99.148109; 9.229388, 99.148108; 9.229217, 99.148129; 9.22912, 99.148069; 9.229114, 99.148072; 9.228937, 99.147967; 9.229086, 99.147941; 9.229277, 99.147979; 9.229393, 99.14795; 9.229565, 99.147873; 9.229441, 99.147909; 9.22928, 99.147841; 9.229164, 99.147884; 9.228964, 99.147816; 9.228887, 99.147761; 9.228967, 99.147685; 9.22914, 99.147741; 9.229272, 99.147729; 9.229551, 99.147728		
							Chaiya	Pa We		9.438974, 99.149604; 9.438961, 99.149879; 9.438952, 99.150066; 9.438933, 99.150261; 9.438876, 99.150465; 9.438862, 99.150597; 9.438845, 99.150714; 9.438803, 99.150894; 9.438799, 99.151; 9.438906, 99.151328; 9.438931, 99.15117; 9.438983, 99.150986; 9.439004, 99.150814; 9.439008, 99.150651; 9.43908, 99.15054; 9.439056, 99.150339; 9.439074, 99.150166; 9.439132, 99.149912; 9.438916, 99.149678; 9.438841, 99.149986; 9.438808, 99.150245; 9.438779, 99.150489; 9.438733, 99.150742; 9.438696, 99.151001; 9.438653, 99.15127; 9.438567, 99.151575; 9.438555, 99.151802; 9.438661, 99.151948; 9.438764, 99.151551; 9.438801, 99.151289; 9.438795, 99.151029; 9.438849, 99.150735; 9.438873, 99.15044; 9.46291, 99.153196; 9.462945, 99.153087; 9.462983, 99.152926; 9.463039, 99.152765; 9.463059, 99.152629; 9.463155, 99.152362; 9.462993, 99.152363; 9.462933, 99.152528; 9.462922, 99.152669; 9.462878,

Table 2: Continued

Province	District	Subdistrict	Village	GPS coordinates
Surat Thani	Chaiya	Pa We		99.152811; 9.462823, 99.153007; 9.462782, 99.153096; 9.462666, 99.153008; 9.462732, 99.15283; 9.462767, 99.152704; 9.463325, 99.152981; 9.463353, 99.152827; 9.463401, 99.1527; 9.463493, 99.152543; 9.46319, 99.153048; 9.463271, 99.152951; 9.463301, 99.152818; 9.463387, 99.15262; 9.463423, 99.152477; 9.463491, 99.152282; 9.463305, 99.152349; 9.463258, 99.152529; 9.463237, 99.152638; 9.463108, 99.152887; 9.463063, 99.15306; 9.463034, 99.1531999.438974, 99.149604; 9.438961, 99.149879; 9.438952, 99.150066; 9.438933, 99.150261; 9.438876, 99.150465; 9.438862, 99.150597; 9.438845, 99.150714; 9.438803, 99.150894; 9.438799, 99.151; 9.438906, 99.151328; 9.438931, 99.15117; 9.438983, 99.150986; 9.439004, 99.150814; 9.439008, 99.150651; 9.43908, 99.15054; 9.439056, 99.150339; 9.439074, 99.150166; 9.439132, 99.149912; 9.438916, 99.149678; 9.438841, 99.149986; 9.438808, 99.150245; 9.438779, 99.150489; 9.438733, 99.150742; 9.438696, 99.151001; 9.438653, 99.15127; 9.438567, 99.151575; 9.438555, 99.151802; 9.438661, 99.151948; 9.438764, 99.151551; 9.438801, 99.151289; 9.438795, 99.151029; 9.438849, 99.150735; 9.438873, 99.15044; 9.46291, 99.153196; 9.462945, 99.153087; 9.462983, 99.152926; 9.463039, 99.152765; 9.463059, 99.152629; 9.463155, 99.152362; 9.462993, 99.152363; 9.462933, 99.152528; 9.462922, 99.152669; 9.462878, 99.152811; 9.462823, 99.153007; 9.462782, 99.153096; 9.462666, 99.153008; 9.462732, 99.15283; 9.462767, 99.152704; 9.463325, 99.152981; 9.463353, 99.152827; 9.463401, 99.1527; 9.463493, 99.152543; 9.46319, 99.153048; 9.463271, 99.152951; 9.463301, 99.152818; 9.463387, 99.15262; 9.463423, 99.152477; 9.463491, 99.152282; 9.463305, 99.152349; 9.463258, 99.152529; 9.463237, 99.152638; 9.463108, 99.152887; 9.463063, 99.15306; 9.463034, 99.153199
	Wiang Sa	Ban Song		8.684598, 99.377788; 8.684521, 99.377786; 8.684393, 99.377786; 8.684317, 99.377791; 8.684062, 99.377782; 8.68394, 99.37777; 8.683813, 99.37782; 8.683684, 99.377713; 8.683512, 99.377742; 8.683155, 99.377746; 8.683248, 99.377903; 8.683412, 99.377966; 8.683554, 99.378112; 8.683743, 99.378065; 8.683935, 99.377957; 8.684124, 99.377994; 8.684221, 99.378006; 8.684359, 99.377961; 8.684488, 99.377983; 8.684553, 99.377923; 8.684591, 99.377613; 8.684425, 99.37748; 8.684227, 99.377482; 8.684094, 99.377462; 8.683942, 99.377474; 8.683798, 99.377466; 8.683573, 99.377451; 8.68348, 99.377451; 8.683196, 99.377573; 8.683452, 99.377606; 8.683583, 99.377593; 8.683716, 99.37758; 8.683684, 99.377539; 8.684021, 99.377633; 8.684219, 99.377619; 8.684482, 99.37772; 8.684578, 99.377673; 8.69039, 99.383461; 8.69028, 99.383395; 8.690584, 99.383222; 8.690783, 99.382978; 8.69097, 99.382948; 8.690784, 99.383102; 8.69055, 99.383319; 8.690532, 99.383603; 8.69059, 99.383464; 8.690655, 99.383468; 8.690738, 99.383353; 8.690898, 99.383246; 8.691023, 99.383143; 8.691031, 99.383038; 8.69102, 99.383006; 8.690944, 99.382902; 8.691199, 99.384003; 8.691261, 99.38379; 8.691111, 99.383743; 8.691092, 99.383866; 8.690946, 99.383914; 8.690963, 99.383763; 8.690989, 99.383601; 8.691027, 99.383422; 8.691087, 99.383263; 8.691023, 99.383272; 8.690978, 99.383497; 8.69094, 99.383667; 8.69084, 99.383732; 8.690822, 99.383589; 8.690882, 99.383421; 8.676017, 99.376046; 8.675907, 99.376038; 8.675766, 99.376018; 8.675601, 99.375998; 8.675548, 99.375842; 8.67571, 99.375991; 8.675884, 99.376031; 8.675987, 99.376002; 8.675872, 99.375982; 8.675729, 99.375939; 8.67571, 99.375868; 8.675827, 99.375869; 8.675899, 99.375818; 8.676005, 99.375737; 8.675946, 99.375648; 8.675917, 99.375643; 8.676006, 99.376144; 8.675816, 99.37611; 8.675572, 99.376084; 8.675431, 99.37608; 8.675311, 99.376163; 8.675424, 99.376161; 8.675588, 99.37617; 8.675734, 99.376219; 8.67587, 99.376232; 8.675801, 99.376281; 8.675632, 99.376293; 8.675479, 99.376294; 8.675419, 99.376248; 8.675332, 99.376306; 8.675484, 99.37632; 8.675626, 99.376323; 8.675797, 99.376349
Trang	Wang Wiset	Wang Maprang		7.7416667, 99.3602778; 7.738401, 99.368399; 7.74187, 99.38361; 7.7416667, 99.3602778
	Huai Yot	Bang Kung		7.778944, 99.4483221; 7.7569444, 99.4587233; 7.7569444, 99.4483333
	Yan Ta Khao	Thung Khai		7.463304, 99.663566; 7.466643, 99.677413
		Ko Pia		7.465242, 99.699455

3. จำแนกชนิดของราโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

จำแนกชนิดของราโดยใช้ลักษณะของ โคลโคนี เส้นใย สี ลักษณะ conidiophore conidiaภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo และ compound microscope คัดเก็บราที่มีลักษณะพ้องกับรา *Fusarium* spp. ได้จำนวน 145 ไอโซเลท (Figure 7) จำแนกชนิดของรา *Fusarium* spp. ได้ออกเป็น 46 กลุ่ม และคัดตัวแทนจากแต่ละกลุ่มเพื่อจำแนกชนิดโดยใช้ข้อมูลพันธุกรรม

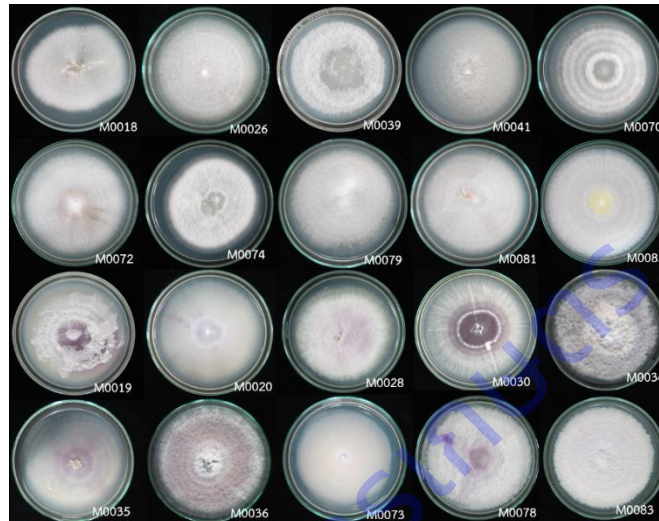


Figure 7: *Fusarium* isolates obtained from this study.

4. จำแนกชนิดของราโดยใช้ข้อมูลพันธุกรรม

การจัดจำแนกรรา *F. oxysporum* f.sp. ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาค่อนข้างยาก เนื่องจากลักษณะของโครงสร้างเพื่อใช้ในการจัดจำแนกใกล้เคียงกันมาก จึงต้องเปรียบเทียบกับข้อมูลทางพันธุกรรม อนึ่ง ข้อมูลพันธุกรรมของรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* มีค่อนข้างจำกัด จึงทำการศึกษาเปรียบเทียบกับข้อมูลทางพันธุกรรมของรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* ที่มีปรากฏใน Fusarium MLST database, FUSARIUM-ID (O'Donnell *et al.*, 2012) และ รายงานการวิจัยต่างๆ ที่มีข้อมูลทางพันธุกรรมของรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* (Cooper, 2011a; O'Donnell *et al.*, 2012; Rusli, 2012; Geiser *et al.*, 2013; Ponukumati, 2017) ข้อมูลพันธุกรรมที่ปรากฏมีความหลากหลายและความพร้อมของข้อมูลน้อย พบเพียงไม่กี่ตำแหน่ง เช่น ITS, TEF1 และ LSU บางตัวอย่างมีข้อมูลของพันธุกรรมเพียง 1 ตำแหน่ง ทำให้เกิดข้อจำกัดในการนำมาเปรียบเทียบ

การจำแนกชนิดของรา *Fusarium* ที่แยกได้จากรากและดินรอบรากปาล์มน้ำมัน จำนวน 42 ไอโซเลท และจากรากหญ้าสาบเสือจำนวน 4 ไอโซเลท รวม 46 ไอโซเลท เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลพันธุกรรมตำแหน่ง TEF1 กับราใน genus *Fusarium* จำนวน 60 taxa *Microdochium musae* เป็น outgroup (Table 3)

Table 3: List of *Fusarium* included in this study

Clades/Complexes	Taxa	Accession	GenBank	References
-	<i>Microdochium musae</i>	CBS 143500	MH108017	Crous <i>et al.</i> (2018)
<i>heterosporum</i>	<i>Fusarium heterosporum</i>	ICMP 11866	MG857465	Unpublished
<i>tricinctum</i>	<i>F. torulosum</i>	NRRL 52772	JF740840	O'Donnell <i>et al.</i> (2012)
	<i>F. acuminatum</i>	NRRL 52789	JF740857	O'Donnell <i>et al.</i> (2012)
	<i>F. tricinctum</i>	NRRL 25481	HM068307	Unpublished
<i>concolor</i>	<i>F. polyphialidicum</i>	XB4-1	KM487210	Unpublished
	<i>F. concolor</i>	NRRL 52927	JF740869	O'Donnell <i>et al.</i> (2012)
<i>chlamydosporum</i>	<i>F. nelsonii</i>	NRRL 28505	GQ505404	O'Donnell <i>et al.</i> (2009b)
	<i>F. chlamydosporum</i>	DEB15	KF918546	Unpublished
<i>sambucinum</i>	<i>F. asiaticum</i>	NRRL 13818	AF212451	O'Donnell <i>et al.</i> (2000)
	<i>F. graminearum</i>	NRRL 52799	JF740867	O'Donnell <i>et al.</i> (2012)
	<i>F. venenatum</i>	ICMP 8997	MG857304	Unpublished
	<i>F. sambucinum</i>	ICMP 10535	MG857393	Unpublished
<i>incarnatum-equiseti</i>	<i>F. lacertarum</i>	NRRL 52753	JF740828	O'Donnell <i>et al.</i> (2012)
	<i>Fusarium</i> sp.	M0024	-	This study
	<i>F. incarnatum</i>	DEB26	KF993974	Unpublished
	<i>F. incarnatum</i>	SPL16038	KY508347	Unpublished
<i>lateritium</i>	<i>F. lateritium</i>	NRRL 25122	JF740747	O'Donnell <i>et al.</i> (2012)
<i>buharicum</i>	<i>F. sublunatum</i>	NRRL 20897	KX302919	Unpublished
	<i>F. buharicum</i>	NRRL 25488	KX302912	Unpublished
<i>merismoides</i>	<i>F. merismoides</i>	M05A-3F-4	KX681521	Unpublished
<i>dimerum</i>	<i>F. delphinoides</i>	ER025	KU738439	Haas <i>et al.</i> (2016)
	<i>F. dimerum</i>	NRRL 37039	EU926344	Schroers <i>et al.</i> (2009)
<i>decemcellulare</i>	<i>F. decemcellulare</i>	DI11	KF918553	Unpublished
<i>ventricosum</i>	<i>F. ventricosum</i>	CBS 748.79	KM231924	Lombard <i>et al.</i> (2015)
<i>solani</i>	<i>F. kurunegalense</i>	FRC S1833	DQ247511	Zhang <i>et al.</i> (2006)
	<i>F. phaseoli</i>	NRRL 22276	AY220186	Aoki <i>et al.</i> (2003)
	<i>F. brasiliense</i>	NRRL 31779	AY320150	Unpublished
	<i>F. illudens</i>	CBS 126406	KM231934	Lombard <i>et al.</i> (2015)
	<i>F. solani</i>	FRC S1980	DQ247501	Zhang <i>et al.</i> (2006)
	<i>F. ambrosium</i>	NRRL 22346	FJ240350	Unpublished
	<i>F. euwallaceae</i>	NRRL 54725	JQ038010	Freeman <i>et al.</i> (2013)
	<i>F. solani</i>	NRRL 52746	JF740822	O'Donnell <i>et al.</i> (2012)
	<i>F. solani</i>	NRRL 52773	JF740841	O'Donnell <i>et al.</i> (2012)
	<i>F. striatum</i>	CBS 101573	KM231927	Lombard <i>et al.</i> (2015)
	<i>F. paranaense</i>	CML 1988	KF597819	Costa <i>et al.</i> (2016)
	<i>Fusarium</i> sp.	M0030	-	This study
	<i>Fusarium</i> sp.	M0079	-	This study
	<i>F. solani</i>	NRRL 52689	JF740774	O'Donnell <i>et al.</i> (2012)
	<i>Fusarium</i> sp.	M0075	-	This study
	<i>Fusarium</i> sp.	M0040	-	This study
	<i>Fusarium</i> sp.	M0038	-	This study
	<i>Fusarium</i> sp.	M0081	-	This study
	<i>Fusarium</i> sp.	M0072	-	This study
	<i>Fusarium</i> sp.	M0084	-	This study
	<i>Fusarium</i> sp.	M0015	-	This study
<i>solani</i>	<i>F. falciforme</i>	NRRL 32928	DQ247176	Zhang <i>et al.</i> (2006)
	<i>Fusarium</i> sp.	M0025	-	This study
	<i>F. keratoplasticum</i>	NRRL 54999	KC808217	Unpublished
	<i>Fusarium</i> sp.	M0074	-	This study
	<i>Fusarium</i> sp.	M0071	-	This study
	<i>Fusarium</i> sp.	M0026	-	This study

Table 3: Continued

Clades/Complexes	Taxa	Accession	GenBank	References
<i>redolens</i>	<i>F. hostae</i>	NRRL 29889	HM057340	Unpublished
	<i>F. redolens</i>	NRRL 52619	GU250581	Balmas <i>et al.</i> (2010)
<i>burgessii</i>	<i>F. algeriense</i>	NRRL 66647	MF120510	Laraba <i>et al.</i> (2017)
	<i>F. burgessii</i>	NRRL 66654	MF120517	Laraba <i>et al.</i> (2017)
<i>nisikadoi</i>	<i>F. commune</i>	NRRL 52764	JF740838	O'Donnell <i>et al.</i> (2012)
	<i>F. miscanthi</i>	X071	HF674999	Unpublished
<i>fujikuroi</i>	<i>F. acutatum</i>	NRRL 25119	JF740745	O'Donnell <i>et al.</i> (2012)
	<i>F. acutatum</i>	NRRL 25119	HM057336	Unpublished
<i>oxysporum</i>	<i>F. fujikuroi</i>	MAFF 235463	JN695737	Suga <i>et al.</i> (2014)
	<i>F. sacchari</i>	NRRL 52795	JF740863	O'Donnell <i>et al.</i> (2012)
	<i>F. mangiferae</i>	RBG5407	KX452381	Unpublished
	<i>F. musae</i>	FVB14	KC599250	Unpublished
	<i>F. foetens</i>	NRRL 52749	JF740825	O'Donnell <i>et al.</i> (2012)
	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>aechmeae</i>	NRRL 22533	AY527622	O'Donnell <i>et al.</i> (2004)
	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> Race 3	-	KC889021	Unpublished
	<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0076	-	This study
	<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0021	-	This study
	<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0034	-	This study
	<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0080	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>passiflorae</i>	NRRL 38273	FJ985362	O'Donnell <i>et al.</i> (2009a)	
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>tracheiphilum</i>	NRRL 36284	FJ985343	O'Donnell <i>et al.</i> (2009a)	
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> Race 2	FOC12	MG773853	Garcia <i>et al.</i> (2018)	
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> Race 4	VCG 01213	MG211817	Unpublished	
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>zingiberi</i>	NRRL26449	FJ985301	O'Donnell <i>et al.</i> (2009a)	
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> Race 1	FOC1	MG773851	Garcia <i>et al.</i> (2018)	
<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0073	-	This study	
<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0036	-	This study	
<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0023	-	This study	
<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0022	-	This study	
<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0020	-	This study	
<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0083	-	This study	
<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0028	-	This study	
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>melonis</i>	NRRL 26178	AF008503	O'Donnell <i>et al.</i> (1998)	
<i>F. inflexum</i>	NRRL 20433	AF008479	O'Donnell <i>et al.</i> (1998)	
<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0027	-	This study	
<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0031	-	This study	
<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0078	-	This study	
<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0017	-	This study	
<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0037	-	This study	
<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0035	-	This study	
<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0016	-	This study	
<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0077	-	This study	
<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0032	-	This study	
<i>oxysporum</i>	<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0030	-	This study
	<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0019	-	This study

เมื่อวิเคราะห์ phylogenetic reconstruction พบว่า topology ที่ได้จาก ML และ BI มีความสอดคล้องกัน และเป็น monophyletic เมื่อพิจารณาจาก lineages หรือ กลุ่ม complex ของ รา genus *Fusarium* (Figure 8) จะเห็นได้ว่า รา *Fusarium* จำนวน 46 ไอโซเลท ถูกจัดอยู่ในกลุ่มของ *F. solani* complex จำนวน 23 ไอโซเลท กลุ่ม *F. incarnatum-equiseti* complex จำนวน 1 ไอโซเลท และอยู่ในกลุ่มของ *F. oxysporum* complex จำนวน 22 ไอโซเลท (Table 3 และ Figure 8)

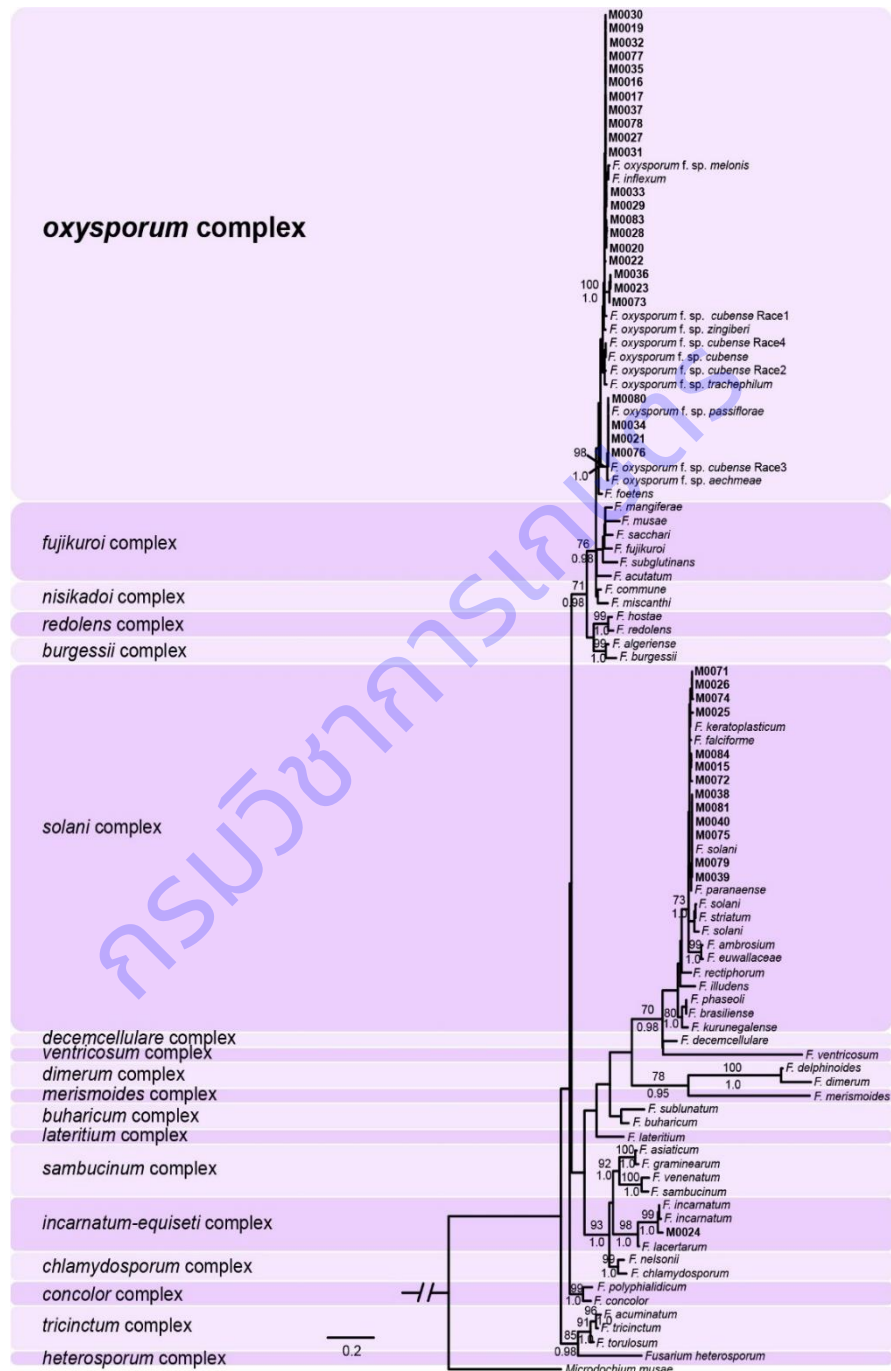


Figure 8: Phylogram obtained in a maximum likelihood search in RAxML of dataset of TEF1 gene region. Bootstrap support values ($\geq 70\%$) from 1,000 replicates above nodes. Posterior probabilities (≥ 0.95) summarized from 30,000 converged trees obtained in a Bayesian search are shown below nodes.

Table 4: List of *Fusarium oxysporum* f. spp. included in this study.

Taxa	Specimens accession	GenBank accession		References
		TEF1	ITS	
<i>Fusarium foetens</i>	NRRL 38302	GU170559	MH862858	Migheli <i>et al.</i> (2010)
<i>F. inflexum</i>	NRRL 20433	AF008479	NR152941	O'Donnell <i>et al.</i> (1998)
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>aechmeae</i>	NRRL 22533	AY527622	N/A	O'Donnell <i>et al.</i> (2004)
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> Race 3	-	KC889021	KC869371	Unpublished
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>tracheiphilum</i>	NRRL 36284	FJ985343	MH855398	O'Donnell <i>et al.</i> (2009a)
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>canariensis</i>	NRRL 26035	AF008485	N/A	O'Donnell <i>et al.</i> (1998)
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i>	NRRL 26445	DQ837686	DQ831900	Mbofung <i>et al.</i> (2007)
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>chrysanthemi</i>	NRRL 22539	FJ985269	N/A	O'Donnell <i>et al.</i> (2009a)
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>perniciosum</i>	NRRL 38586	FJ985413	N/A	O'Donnell <i>et al.</i> (2009a)
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>basilici</i>	NRRL 38318	FJ985381	N/A	O'Donnell <i>et al.</i> (2009a)
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lactucae</i>	EFA 1186	JQ219942	JQ219941	Mbofung <i>et al.</i> (2007)
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>elaeidis</i>	NRRL 22543	MF684772	N/A	O'Donnell <i>et al.</i> (2009a)
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>elaeidis</i>	NRRL 36358	MF684773	N/A	O'Donnell <i>et al.</i> (2009a)
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>voandzeiae</i>	NRRL 26414	FJ985292	N/A	O'Donnell <i>et al.</i> (2009a)
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cyclaminis</i>	NRRL 36266	FJ985339	MH857679	O'Donnell <i>et al.</i> (2009a)
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>dianthi</i>	NRRL 36356	FJ985348	MH856497	O'Donnell <i>et al.</i> (2009a)
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cucurbitacearum</i>	NRRL 26221	FJ985283	MH857020	O'Donnell <i>et al.</i> (2009a)
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>fragariae</i>	MAFF 744009	DQ452425	DQ452448	O'Donnell <i>et al.</i> (2009a)
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>gladioli</i>	NRRL 26993	EF056787	FJ158124	Lievens <i>et al.</i> (2007)
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lilii</i>	NRRL 26955	FJ985296	MH865889	O'Donnell <i>et al.</i> (2009a)
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lini</i>	NRRL 36357	FJ985349	MH856498	O'Donnell <i>et al.</i> (2009a)
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cucumerinum</i>	ATCC 16416	EF056783	DQ452450	Lievens <i>et al.</i> (2007)
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>pisi</i>	CBS 127.73	KF913725	KF913730	Bani <i>et al.</i> (2014)
<i>F. oxysporum</i> f. spp.	M0016	-	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. spp.	M0017	-	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. spp.	M0019	-	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. spp.	M0020	-	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. spp.	M0021	-	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. spp.	M0022	-	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. spp.	M0023	-	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. spp.	M0027	-	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. spp.	M0028	-	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. spp.	M0030	-	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. spp.	M0031	-	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. spp.	M0032	-	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. spp.	M0034	-	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. spp.	M0035	-	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. spp.	M0036	-	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. spp.	M0037	-	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. spp.	M0073	-	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. spp.	M0076	-	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. spp.	M0077	-	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. spp.	M0078	-	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. spp.	M0080	-	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. spp.	M0083	-	-	This study

ทำการวิเคราะห์ความแตกต่างเฉพาะกลุ่มของ *F. oxysporum* complex เปรียบเทียบกับข้อมูลพันธุกรรมตำแหน่ง TEF1 และ ITS ของราที่อยู่ในกลุ่มของ *F. oxysporum* complex จำนวน 22 ไอโซเลท กับราอื่น ๆ ใน *F. oxysporum* complex จำนวน 21 taxa และมี *F. foetens* เป็น outgroup (Table 4) พบว่า ราไอโซเลท M0016 M0017 M0019 M0020 M0022 M0023 M0027 M0028 M0030 M0031 M0032 M0035 M0036 M0037 M0073 M0077 M0078 และ M0083 ถูกจัดอยู่ใน clade เดียวกับ *F. foetens* และความสัมพันธ์เป็นแบบ paraphyletic (Figure 9)

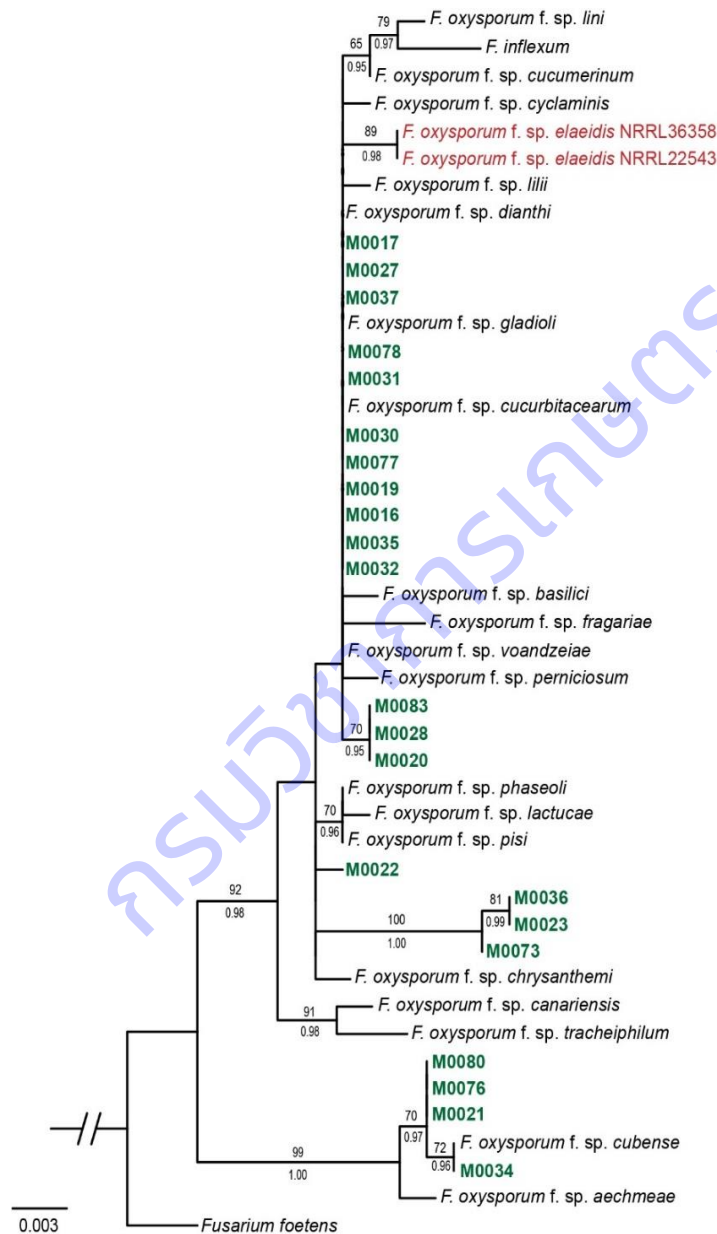


Figure 9: Phylogram obtained in a maximum likelihood search in RAxML of concatenated TEF1 and ITS gene regions. Bootstrap support values (≥70%) from 1,000 replicates above nodes. Posterior probabilities (≥0.95) summarized from 30,000 converged trees obtained in a Bayesian search are shown below nodes.

Table 5: Estimates of evolutionary divergence between *Fusarium* sequences obtained from this study and *F. oxysporum* f.s p. *elaeidis* (Foe) NRRL 36358

Taxa	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1 M0016		0.000*	0.000	0.002	0.002	0.015	0.000	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.015	0.000	0.013	0.000	0.000	0.002	0.004
2 M0017	0.000		0.000	0.002	0.002	0.015	0.000	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.015	0.000	0.013	0.000	0.000	0.002	0.004
3 M0019	0.000	0.000		0.002	0.002	0.015	0.000	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.015	0.000	0.013	0.000	0.000	0.002	0.004
4 M0020	0.468	0.479	0.479		0.004	0.017	0.002	0.000	0.002	0.002	0.002	0.002	0.017	0.002	0.015	0.002	0.002	0.000	0.006
5 M0022	0.468	0.480	0.480	0.963		0.017	0.002	0.004	0.002	0.002	0.002	0.002	0.017	0.002	0.015	0.002	0.002	0.004	0.006
6 M0023	3.510	3.486	3.486	3.999	4.003		0.015	0.017	0.015	0.015	0.015	0.015	0.000	0.015	0.002	0.015	0.015	0.017	0.019
7 M0027	0.000	0.000	0.000	0.479	0.480	3.486		0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.015	0.000	0.013	0.000	0.000	0.002	0.004
8 M0028	0.479	0.479	0.479	0.000	0.963	3.999	0.479		0.002	0.002	0.002	0.002	0.017	0.002	0.015	0.002	0.002	0.000	0.006
9 M0030	0.000	0.000	0.000	0.479	0.480	3.486	0.000	0.479		0.000	0.000	0.000	0.015	0.000	0.013	0.000	0.000	0.002	0.004
10 M0031	0.000	0.000	0.000	0.479	0.480	3.486	0.000	0.479	0.000		0.000	0.000	0.015	0.000	0.013	0.000	0.000	0.002	0.004
11 M0032	0.000	0.000	0.000	0.479	0.480	3.486	0.000	0.479	0.000	0.000		0.000	0.015	0.000	0.013	0.000	0.000	0.002	0.004
12 M0035	0.000	0.000	0.000	0.479	0.480	3.486	0.000	0.479	0.000	0.000	0.000		0.015	0.000	0.013	0.000	0.000	0.002	0.004
13 M0036	3.486	3.486	3.486	3.999	4.003	0.000	3.486	3.999	3.486	3.486	3.486	3.486		0.015	0.002	0.015	0.015	0.017	0.019
14 M0037	0.000	0.000	0.000	0.479	0.480	3.486	0.000	0.479	0.000	0.000	0.000	0.000	3.486		0.013	0.000	0.000	0.002	0.004
15 M0073	2.963	2.963	2.963	3.470	3.473	0.481	2.963	3.470	2.963	2.963	2.963	2.963	0.481	2.963		0.013	0.013	0.015	0.017
16 M0077	0.000	0.000	0.000	0.479	0.480	3.486	0.000	0.479	0.000	0.000	0.000	0.000	3.486	0.000	2.963		0.000	0.002	0.004
17 M0078	0.000	0.000	0.000	0.479	0.480	3.486	0.000	0.479	0.000	0.000	0.000	0.000	3.486	0.000	2.963	0.000		0.002	0.004
18 M0083	0.479	0.479	0.479	0.000	0.963	3.999	0.479	0.000	0.479	0.479	0.479	0.479	3.999	0.479	3.470	0.479	0.479		0.006
19 Foe NRRL36358	0.962	0.962	0.962	1.448	1.449	4.516	0.962	1.448	0.962	0.962	0.962	0.962	4.516	0.962	3.980	0.962	0.962	0.962	1.448

*The genetic distance (above diagonal) and number of nucleotide substitutions (below diagonal) per site from between sequences are shown. Analyses were conducted using the Maximum Composite Likelihood model (Tamura *et al.*, 2004). The analysis involved 19 nucleotide sequences. Codon positions included were 1st+2nd+3rd+Noncoding. All positions containing gaps and missing data were eliminated. There were 234 positions in the final dataset. Evolutionary analyses were conducted in MEGA7 (Kumar *et al.*, 2016).

จากผลการวิเคราะห์ถึงแม้จะพบว่าค่า bootstrap support values และ posterior probabilities จะน้อยกว่าค่ามาตรฐาน และมีความสัมพันธ์เป็นแบบ paraphyletic แต่เมื่อพิจารณาแนวโน้มจาก topology พบว่าราที่แยกได้จากการศึกษาครั้งนี้ ไม่มีความคล้ายหรือเหมือนกับรา *Foe* isolate NRRL22543 และ NRRL36358 (Figure 9) เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของ genetic distance และ number of nucleotide substitutions (Table 5) พบว่า รา *Fusarium* ที่แยกได้จากการศึกษาครั้งนี้มีความแตกต่างกับ *Foe* isolate NRRL36358

การศึกษานี้ ได้ทดลองแยกเชื้อราจากเกสรของปาล์มน้ำมันที่สุ่มเก็บระหว่างการสำรวจ ผลของการทดลองคือ ไม่พบรา *Fusarium* ในเกสรของปาล์มน้ำมัน นอกจากนี้ข้อมูลผลการตรวจเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมันที่มีการนำเข้ามาจากต่างประเทศได้แก่ เบนิน คอสตาริกา และมาเลเซีย ตั้งแต่เดือน มกราคม – กันยายน 2560 ไม่พบรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* (Table 6) (ข้อมูลจากกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร)

Table 6: The results of quarantine pest inspection on imported oil palm seeds between January – September 2017

No	Country of the origin	No of imported seeds	Results
1	Benin	90,000	No pest detected
2	Costa Rica	47,000	No pest detected
3	Costa Rica	16,000	No pest detected
4	Costa Rica	47,167	No pest detected
5	Costa Rica	66,000	No pest detected
6	Costa Rica	18,000	No pest detected
7	Costa Rica	75	No pest detected
8	Malaysia	4,200	No pest detected
9	Malaysia	31,500	No pest detected
10	Malaysia	10,500	No pest detected
11	Malaysia	3,300	No pest detected
12	Malaysia	10,500	No pest detected
Total		344,242	No pest detected

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

ผลการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง ในแปลงปลูกปาล์มน้ำมัน ในพื้นที่จังหวัด กระบี่ ชุมพร นครศรีธรรมราช พังงา ประจวบคีรีขันธ์ ตรัง พัทลุง สุราษฎร์ธานี เชียงใหม่ เชียงราย กาญจนบุรี เพชรบุรี นครพนม สุโขทัย และ พิษณุโลก ระหว่างเดือนตุลาคม 2558 – เดือนกันยายน 2561 ไม่พบต้นที่แสดงอาการเหี่ยวที่มีลักษณะพ้องกับการ เข้าทำลายของรา *F. solani* สุ่มตัวอย่างราก และดินบริเวณรอบราก แยกได้จากตัวอย่างราก ดินบริเวณรอบราก เกสร ปาล์มน้ำมัน รากหญ้าสาบเสือ จำแนกชนิดเบื้องต้นด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเก็บเชื้อราที่มีลักษณะ พ้อง กับรา *Fusarium* เพื่อจำแนกชนิดด้วยข้อมูลพันธุกรรม จากการจำแนกชนิดด้วยข้อมูลพันธุกรรมด้วยตำแหน่ง the Large Subunit (LSU) และเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลรา *Fusarium* พบว่าตำแหน่ง LSU ไม่สามารถจำแนกความ แตกต่างได้ในระดับสปีชีส์ของรา *Fusarium* จึงทำการเปรียบเทียบด้วยตำแหน่ง the translation elongation factor 1-alpha (TEF1) พบว่า รา *Fusarium* spp. ที่ได้จากการศึกษาประกอบด้วยราในกลุ่ม *F. solani* complex กลุ่ม *F. incarnatum-equiseti* complex และ กลุ่ม *F. oxysporum* complex จากนั้นเปรียบเทียบ ความแตกต่างของราในกลุ่ม *F. oxysporum* complex ซึ่งรา *F. oxysporum f.sp. elaeidis* จัดอยู่ในกลุ่มนี้ ผล phylogenetic reconstruction ตำแหน่ง ITS-TEF1 และ genetic distance ของตำแหน่ง TEF1 บ่งชี้ได้ว่า รา *Fusarium* ที่แยกได้จากการศึกษาครั้งนี้ไม่ใช่ *F. oxysporum f.sp. elaeidis* ดังนั้นผลจากการศึกษานี้สามารถ สรุปได้ว่า รา *F. oxysporum f.sp. elaeidis* ไม่ปรากฏในพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันในประเทศไทย

อย่างไรก็ตามความจำกัดของข้อมูลพันธุกรรมของรา *F. oxysporum f.sp. elaeidis* ที่สามารถนำมาใช้ เปรียบเทียบ ทำให้เกิดข้อจำกัดในการจัดจำแนก คล้ายกับกรณีที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาไม่สามารถแยกความ แตกต่างระหว่างสปีชีส์ได้ ปัจจุบันการจำแนกชนิดของรา *Fusarium* ต้องใช้ข้อมูลทางพันธุกรรมที่มากพอ จึงจะ สามารถจำแนกหรือบ่งชี้ความแตกต่าง (O'Donnell *et al.*, 1998; Geiser *et al.*, 2013) แต่หากข้อมูลพันธุกรรม ไม่มากพอจะทำให้ผลการจำแนกเป็นแบบ polyphyletic clade ซึ่งไม่สามารถจำแนกชนิดของรา *Fusarium* ใน ระดับ forma specialis หากเพิ่มตำแหน่งยีนหรือข้อมูลทางพันธุกรรมให้มีข้อมูลเพื่อเปรียบเทียบมากขึ้น จะเพิ่ม โอกาสของความสำเร็จในการจัดจำแนกชนิดของรา *Fusarium* แต่ละ forma specialis และควรแสดงผล ความสัมพันธ์แบบ monophyletic clade (Kistler, 1997) เพื่อเพิ่มความแม่นยำและความถูกต้องตามหลักอนุกรมวิธาน (Turland *et al.*, 2018) ข้อมูลของรา *F. oxysporum f.sp. elaeidis* ควรมีข้อมูลที่ได้อาจมาจากตัวอย่างต้นแบบ (type/pathotype) ของรา *F. oxysporum f.sp. elaeidis* ซึ่งปัจจุบันยังไม่ปรากฏข้อมูลดังกล่าว ทำให้เป็น ข้อจำกัดข้อหนึ่งในของระดับความแม่นยำในการจัดจำแนก (Cooper, 2012; Turland *et al.*, 2018)

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นางสาวศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช อดีตผู้เชี่ยวชาญด้านโรคพืช และ นายสุรพล ยินอัศวพรรณ อดีตผู้เชี่ยวชาญด้านกักกันพืช กรมวิชาการเกษตร สำหรับคำปรึกษา คำแนะนำ และแนวทางที่เป็นประโยชน์ต่อ การปฏิบัติงาน ขอขอบคุณนายวานิช คำพานิช ที่ให้ความอนุเคราะห์ข้อมูลการตรวจเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมันที่มีการ นำเข้ามาจากต่างประเทศ ขอขอบคุณพี่ ๆ และน้อง ๆ กลุ่มงานวิทย์ไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช ที่ให้ความร่วมมือ และ ความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่าง การดำเนินการทดลอง และการเก็บข้อมูล รวมถึงกำลังใจที่มีให้กันเสมอมา

การทดลองที่ 2

การศึกษาสถานภาพของรา *Sporisorium reilianum* (J. Kühn) R.F.N. Langdon & R.A. Fullerton
สาเหตุโรคเขม่าดำ (head smut) ของข้าวโพด

Study on the Status of *Sporisorium reilianum* (J. Kühn) R.F.N. Langdon & R.A. Fullerton,
the Causal Agent of Head Smut Corn in Thailand

พรพิมล อธิปัญญาคม^{1/} ชนินทร ดวงสอาด^{2/} มะโนรัตน์ สุดสงวน^{2/}

^{1/}ผู้เชี่ยวชาญ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/}กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มาจากต่างประเทศเพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์หรือใช้ในระบบอุตสาหกรรมเพื่อจำหน่ายเป็นจำนวนมาก โดยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดมาจากประเทศหลายประเทศ ทำให้มีความเสี่ยงที่รา *Sporisorium reilianum* จะติดมากับเมล็ดพันธุ์ได้ จึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการสำรวจสถานภาพของรา *S. reilianum* ดังนั้นเพื่อเป็นการยืนยันสถานภาพของรา *Sporisorium reilianum* สาเหตุโรค head smut ของข้าวโพดว่าปรากฏ/ไม่ปรากฏในประเทศไทย จึงทำการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจงในพื้นที่ปลูกของข้าวโพด จำนวน 20 จังหวัด ได้แก่ กาญจนบุรี ขอนแก่น ชัยภูมิ เชียงราย เชียงใหม่ นครราชสีมา น่าน พะเยา พิษณุโลก เพชรบุรี เพชรบูรณ์ แพร่ ราชบุรี เลย สระบุรี สุพรรณบุรี สุรินทร์ สุโขทัย อุทัยธานี และอุดรดิตถ์ จำนวน 819 แปลง ในระหว่างเดือนตุลาคม 2558 – เดือนกันยายน 2561 ผลจากการสำรวจครั้งนี้สรุปได้ว่าไม่ปรากฏรา *S. reilianum* สาเหตุโรค head smut ในพื้นที่ปลูกข้าวโพดในประเทศไทย

คำสำคัญ: โรคราเขม่าดำ ข้าวโพด ข้าวฟ่าง สถานภาพ *Sporisorium reilianum* *Sphacelotheca reiliana*

Abstracts

Sporisorium reilianum (syn. *Sphacelotheca reiliana*), the causal agent of head smut of corn, has been listed as quarantine pest for Thailand. Thailand imports corn seeds from overseas for use in breeding and industrial purposes. So, there are risks that this smut fungus could be introduced into Thailand through imported corn seeds. To confirm the absence of *S. reilianum* in Thailand. The specific surveys were done during December 2015 – September 2018 on 819 sites of corn plantations located in 20 provinces namely, Kanchanaburi, Khon Kaen, Chaiyaphum, Chiang Rai, Chiang Mai, Nakhon Ratchasima, Nan, Phayao, Phitsanulok, Phetchaburi, Phetchabun, Phrae, Ratchaburi, Loei, Saraburi, Suphan Buri, Surin, Sukhothai, Uthai Thani and Uttaradit. The results from this study indicated that the status of *S. reilianum* in Thailand is determined as absence.

Key words: Head smut, corn, sorghum status, *Sporisorium reilianum*, *Sphacelotheca reiliana*

บทนำ

ข้าวโพด มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Zea mays* L. อยู่ในวงศ์ Gramineae (เด็ม, 2544) ประเทศไทยเป็นประเทศหนึ่งที่มีศักยภาพในการปลูกข้าวโพดและเป็นแหล่งผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดลูกผสมที่สำคัญในแถบเอเชีย ข้าวโพดที่นิยมปลูกกันมาก เช่น ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ข้าวโพดหวาน ข้าวโพดไร่ ข้าวโพดข้าวเหนียว เป็นต้น จึงจัดให้ข้าวโพดเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจพืชหนึ่ง ในปี พ.ศ. 2559 พื้นที่ปลูกข้าวโพดในประเทศไทยรวม 6,894,443 ไร่ แบ่งเป็นพื้นที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จำนวน 6,489,813 ไร่ พื้นที่ปลูกข้าวโพดหวานจำนวน 234,803 ไร่ พื้นที่ปลูกข้าวโพดอ่อนจำนวน 170,373 ไร่ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2557) ผลผลิตข้าวโพดมีการส่งเข้าโรงงานอาหารสัตว์ 85 เปอร์เซ็นต์ อุตสาหกรรมแปรรูป 15 เปอร์เซ็นต์ และส่งออก 0.12 ล้านตัน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2557) ซึ่งทำรายได้ให้กับประเทศปีละหลายร้อยล้านบาท แหล่งที่ปลูกข้าวโพดที่สำคัญ เช่น เพชรบูรณ์ เลย นครราชสีมา น่าน ตาก เชียงราย เป็นต้น (ศูนย์สารสนเทศ กรมส่งเสริมการเกษตร, 2557ก) นอกจากนี้ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มาจากต่างประเทศเพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์หรือใช้ในระบบอุตสาหกรรมเพื่อจำหน่ายเป็นจำนวนมาก ในปี 2556 การนำเข้าเมล็ดข้าวโพดจากต่างประเทศ 182,000 ตัน คิดเป็นมูลค่า 751 ล้านบาท (ศูนย์สารสนเทศ กรมส่งเสริมการเกษตร, 2557ข และ ค) โดยนำเข้าจากประเทศสหรัฐอเมริกา อินเดีย จีน ฟิลิปปินส์ เม็กซิโก และอาร์เจนตินา (สมาคมการค้าเมล็ดพันธุ์ไทย, 2557) ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดมาจากประเทศหลายประเทศ ทำให้มีความเสี่ยงที่รา *Sporisorium reilianum* จะติดมากับเมล็ดพันธุ์ได้ จึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการสำรวจสถานภาพของรา *S. reilianum* ในพื้นที่ปลูกข้าวโพดและข้าวฟ่างของประเทศไทยอย่างเป็นระบบ เพื่อให้ได้ข้อมูลในการสนับสนุนการออกประกาศเรื่องการปลอดศัตรูพืช ตลอดจนที่ดำเนินการโดย NPPPO เป็นกระบวนการช่วยตรวจหาศัตรูพืชชนิดใหม่ได้ทันเวลา การให้การรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืช เป็นต้น การสำรวจ ติดตามและตรวจสอบศัตรูพืชเป็นงานพื้นฐานที่มีความจำเป็นสำหรับใช้ในการดำเนินการด้านอื่น ๆ อีก เช่น การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การกำหนดพื้นที่ปลอดศัตรูพืช การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชและการรายงานศัตรูพืช เป็นต้น ซึ่งแนวทางการดำเนินงานจะสอดคล้องกับ ISPMs (International Standard for Phytosanitary Measures) ฉบับที่ 6 (Guidelines for Surveillance)

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

ประเทศเกือบทุกประเทศที่เป็นสมาชิกขององค์การการค้าโลก (WTO) ได้นำมาตรการสุขอนามัยพืชมาใช้เป็นข้อต่อรองในการส่งออกและนำเข้า โดยที่ประเทศผู้ส่งออกต้องส่งบัญชีรายชื่อศัตรูพืชของพืชส่งออกและข้อมูลของศัตรูพืชแต่ละชนิดตามความต้องการของประเทศผู้นำเข้า เพื่อทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ก่อนที่จะอนุญาตให้สินค้าเกษตรนั้น ๆ เข้าประเทศ ขณะเดียวกันประเทศผู้นำเข้าจำเป็นต้องมีข้อมูลบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่นำเข้าด้วย การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชโดยการศึกษาและการสำรวจแบบติดตามข้อมูลศัตรูพืชในแหล่งปลูกเพื่อเป็นการเฝ้าระวัง (Surveillance) เป็นกระบวนการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชชนิดใดชนิดหนึ่งในพื้นที่ ซึ่งการรวบรวมข้อมูลนั้นสามารถทำได้ 2 แบบ ได้แก่การเฝ้าระวังโดยทั่วไป (general surveillance) โดยการค้นคว้าข้อมูลจากแหล่งข้อมูล ได้แก่ ข้อมูลข่าวสารศัตรูพืชที่มีรายงานในประเทศ เช่นจาก หน่วยงานภาครัฐ มหาวิทยาลัย ภาคเอกชน ตลอดจนข่าวสารจากแหล่งข้อมูลขององค์กรระหว่างประเทศ เช่น องค์การอาหารและเกษตรแห่งชาติ (Food and Agriculture Organization, FAO) องค์การอารักขาพืชระดับภูมิภาค (Regional Plant Protection Organization, RPPOs) และอื่น ๆ การเฝ้าระวังโดยการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific surveys) สามารถดำเนินการโดยการสำรวจแบบตรวจหา (detection surveys) และการสำรวจแบบมีขอบเขต (delimiting surveys) (McMaugh, 2005) ประโยชน์ของการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจงทั้ง 2 วิธีนี้นอกจากจะสามารถบอกถึงสถานการณ์ของศัตรูพืชในพื้นที่แล้วยังสามารถใช้ข้อมูลที่ได้เป็นการรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืชในกรณีที่ไม่พบศัตรูพืชในพื้นที่นั้น ๆ เมื่อมีการรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืชแล้ว การที่จะคงสภาพพื้นที่ปลอดศัตรูพืชจะต้องมีการสำรวจแบบตรวจหาอย่างเป็นระบบ ข้อมูลต่าง ๆ ที่ได้จากการสำรวจติดตามศัตรูพืชเพื่อการเฝ้าระวังนี้จะส่งให้องค์การอารักขาพืชแห่งชาติ (National Plant Protection Organization, NPPO) นำไปใช้ประโยชน์ ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการเฝ้าระวังนี้สามารถนำไปใช้ในด้านต่าง ๆ เช่น ใช้ในการสนับสนุนการออกประกาศเรื่องการปลอดศัตรูพืช ตลอดจนที่ดำเนินการโดย NPPO เป็นกระบวนการช่วยตรวจหาศัตรูพืชชนิดใหม่ได้ทันเวลา การให้การรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืช เป็นต้น การสำรวจ ติดตามและตรวจสอบศัตรูพืชเป็นงานพื้นฐานที่มีความจำเป็นสำหรับใช้ในการดำเนินการด้านอื่น ๆ อีก เช่น Pest Risk Analysis, Establishment for pest free area, Pest list, Pest report เป็นต้น ซึ่งแนวทางการดำเนินงานจะสอดคล้องกับ ISPMs (International Standard for Phytosanitary Measures) ฉบับที่ 6 (Guidelines for Surveillance)

ระเบียบวิธีการวิจัย

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างได้แก่ ถุงพลาสติก กระดาษบันทึก ปากกาเคมี เครื่องระบุพิกัดภูมิศาสตร์
2. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อ หม้อนึ่งความดัน ตู้บ่มเชื้อ
3. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดทดลอง ขวดดูแรน บีกเกอร์ สไลด์และแผ่นแก้ว ปิดสไลด์ กระจกตวง แท่งแก้ว ตะเกียงแอลกอฮอล์เข็มเขี่ยปลายแหลม ห่วงถ่ายเชื้อ ปากคืบ ใบมีดผ่าตัด
4. กล้องจุลทรรศน์แบบ compound และ stereo พร้อมกล้องถ่ายภาพ และ scanning Electron Microscopoe
5. อาหารแยกและเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ water agar (WA) และ potato dextrose agar (PDA)
6. สารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ ได้แก่ สารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ และ เอธิลแอลกอฮอล์ 75%
7. อุปกรณ์ทำตัวอย่างแห้ง เช่น กระดาษหนังสือพิมพ์ ไม้อัดตัวอย่าง กระดาษฟาง ซองกระดาษสำหรับใส่ตัวอย่าง

วิธีการทดลอง

1. สืบค้นข้อมูลลักษณะของรา *Sporisorium reilianum* ได้แก่ รายละเอียดของเชื้อ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพ้อง และรวบรวมตัวอย่างอ้างอิงและรูปภาพของโรครา *S. reilianum* เพื่อใช้ในการตรวจสอบอ้างอิงขณะทำการสำรวจและจัดทำข้อมูลศัตรูพืช ชื่อสามัญ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพืชอาศัย อาการของโรค รูปภาพสีของโรค แหล่งอาศัยของรา และรายละเอียดของศัตรูพืชชนิดอื่นที่คล้ายคลึงกับศัตรูพืชเป้าหมาย และศึกษาลักษณะอาการที่ใช้ในการวินิจฉัย

2. จัดทำแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ พร้อมบันทึกข้อมูลชื่อพืช สถานที่ วันที่เก็บ และตำแหน่งที่ตั้งพิกัดภูมิศาสตร์ เก็บตัวอย่างโรควิวในกล่องเก็บความเย็น นำตัวอย่างมาศึกษาลักษณะอาการในห้องปฏิบัติการ จัดเก็บโรคพืชที่แสดงอาการที่โอบัดทับเป็นตัวอย่างแห้งและเก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช ที่กลุ่มวิจัยโรคพืช ตึกอภิศรีศรีการ กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ ฯ

3. การสำรวจ กำหนดพื้นที่ แหล่งปลูกข้าวโพดจากเมล็ดพันธุ์นำเข้ามาที่สำคัญของประเทศในภาคเหนือและภาคกลาง จำนวน 10 จังหวัด ได้แก่ เชียงใหม่ เชียงราย พะเยา ตาก ลำปาง น่าน กาญจนบุรี สระบุรี ลพบุรี นครสวรรค์ สุพรรณบุรี ราชบุรี เป็นต้น วางแผนการสำรวจ ดำเนินการสำรวจโดยกำหนดพื้นที่สำรวจแหล่งปลูกข้าวโพดปลูกพื้นที่

160,875 ไร่ หรือ 2.02% ของข้าวโพดที่ปลูกในประเทศไทย ทำการสำรวจตามมาตรฐานระหว่างประเทศ ว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (Guidelines for surveillance: ISPM No. 6) สำรวจพื้นที่ปลูกข้าวโพดจำนวน 5% ของพื้นที่สำรวจ วางแผนการสำรวจอย่างน้อย 10 แปลง ต่อพื้นที่ แต่ละแปลงทำการสุ่มตัวอย่างแบบเป็นระบบ โดยเดินเป็นรูปแบบ W โดยตรวจโรคจุดละ 10-20 ต้น โดยทำการสุ่มตัวอย่างให้กระจายตลอดพื้นที่ปลูก ดังนี้

พื้นที่ปลูก	1-5,000 ไร่	สำรวจจำนวน	10 จุด
พื้นที่ปลูก	>5,000 ไร่ – 10,000 ไร่	สำรวจจำนวน	15 จุด
พื้นที่ปลูก	>10,000 ไร่ – 15,000 ไร่	สำรวจจำนวน	20 จุด
พื้นที่ปลูก	>15,000 ไร่	สำรวจจำนวน	25 จุด

ถ้ามีอาการที่สงสัย ให้เก็บตัวอย่างมาทำการตรวจวินิจฉัยโรคในห้องปฏิบัติการ

4. การศึกษารา *Sporisorium reilianum*

4.1 ศึกษา *Sporisorium reilianum* โดยตรงจากเนื้อเยื่อพืช (Direct observation)

ศึกษาลักษณะของราเขม่าดำบนส่วนต่าง ๆ ของพืช ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo บันทึกลักษณะต่าง ๆ ใช้เข็มปลายแหลมเขี่ยส่วนของรา ได้แก่ สปอร์ หรือส่วนขยายพันธุ์ของรา มาวางบนสไลด์ หรือใช้ใบมีดตัดขวางชิ้นส่วนพืชให้บาง ๆ หยดน้ำหรือสีย้อม และปิดทับด้วย cover slip และตรวจดูลักษณะต่าง ๆ ของรารายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope) (Vánky, 2002)

4.2 การจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อได้แก่ ลักษณะของเส้นใย ขนาด สี ลักษณะของสปอร์ สี ขนาด ชนิดของ fruiting body และถ่ายภาพจากกล้องจุลทรรศน์ (Benson, 1998) ศึกษาลักษณะผิวของสปอร์ จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด นำลักษณะของราดังกล่าวเปรียบเทียบกับคู่มือการจัดจำแนกชนิดราเขม่าดำ ที่ใช้กันทั่วไปได้แก่ Vánky (2002)

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกข้อมูลสถานภาพของรา *Sporisorium reilianum* ในพื้นที่ปลูกข้าวโพดของประเทศไทย
2. บันทึกข้อมูล ชื่อพืช สถานที่ วันที่เก็บ และตำแหน่งที่ตั้งพิกัดภูมิศาสตร์ และเก็บตัวอย่างไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2558 – กันยายน 2561

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

แปลงปลูกข้าวโพดในประเทศไทย

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1. สืบค้นข้อมูลลักษณะของรา *Sporisorium reilianum*

สืบค้นข้อมูลลักษณะของรา *S. reilianum* ได้แก่ รายละเอียดของเชื้อ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพ้อง และลักษณะอาการของโรค พร้อมรูปภาพรูปภาพสีของโรค และรายละเอียดของศัตรูพืชชนิดอื่นที่คล้ายคลึงกับศัตรูพืชเป้าหมาย

- รายละเอียดของรา *S. reilianum* ดังนี้

Kingdom	Fungi
Division	Basidiomycota
Class	Microbotryomycetes
Order	Microbotryales
Family	Microbotryaceae
Genus	<i>Sphacelotheca</i>

- ลักษณะของราสกุล *Sporisorium reilianum*

ชื่อพ้อง	<i>Sphacelotheca reiliana</i>
	<i>Ustilago reiliana</i>
	<i>Sporisorium holci-sorghii</i>

ราสร้าง teliospores กลม สีน้ำตาลดำจนถึงสีดำ มีหนาม โรคเขม่าดำ มี 2 ชนิด **ชนิดแรกเรียกว่า common smut ของข้าวโพด สาเหตุเกิดจากรา *Ustilago maydis*** พบระบาดทั่วโลกทำความเสียหายทำให้ผลผลิตลดลงถึง 10% ความเสียหายเกิดเมื่อเมล็ดเกิดการโป่งพอง (gall) ลักษณะคล้ายเห็ด (Figure 1a) ในข้าวโพดหวานจะอ่อนแอต่อโรคมมากกว่า เราสามารถเข้าทำลายทุกส่วนของต้นพืชที่อยู่เหนือดิน เช่น ตาข้าง (axillary buds) ฝัก (ears) ใบ (Figure 1b) ก้าน (stalks) (Figure 1c) เกสรตัวผู้ และ โหมข้าวโพด (tassels) (Figure 1d) บางครั้งพบการเข้าทำลายของราในส่วนของรากที่อยู่ใต้ดิน (Figure 1e) ส่วนที่อ่อนแอต่อการเข้าทำลายมากที่สุดคือ ฝัก (Figure 1f) และก้าน เมื่อข้าวโพดเป็นโรคมีผลกระทบต่อคุณภาพของข้าวโพด คือฝักข้าวโพดจะสั้นลง ขนาดฝักเล็กลง (เส้นผ่านศูนย์กลางของฝักลดลง) และที่สุคน้ำหนักของฝักลดลง เมล็ดที่มีราเข้าทำลายจะยุบตัวลง **ชนิดที่สองคือ *Sporisorium reilianum* (*Sphacelotheca reiliana*)** เข้าทำลายข้าวโพดและข้าวฟ่าง ทำให้เกิดอาการของโรคที่เรียกว่า **head smut** (Figure 2) จะพบอาการโรคบนฝักและ โหมข้าวโพดเท่านั้น พบราสาเหตุ 2 สายพันธุ์ สายพันธุ์แรกจะเข้าทำลายเฉพาะข้าวโพดเท่านั้น ส่วนสายพันธุ์ที่ 2 จะเข้าทำลายข้าวฟ่าง และหญ้าชูดาน พบระบาดในแหล่งปลูกทั่วไปในอเมริกาโดยเฉพาะทางตะวันตกเฉียงใต้ โรค

ราเขม่าดำชนิดนี้เรียกว่า head smut สามารถเข้าไปในต้นพืชตั้งแต่ระยะต้นกล้ายังไม่แสดงอาการจนกระทั่งพืชอยู่ในระยะขยายพันธุ์ ฝักข้าวโพดบวมปกคลุมด้วยเนื้อเยื่อบางและแตกเป็นเส้น ๆ และปกคลุมด้วยสปอร์สีน้ำตาลดำ teliospore และท่อลำเลียงอาหารและน้ำ

สำหรับโรคราเขม่าดำของข้าวโพดในประเทศไทยได้สำรวจพบเมื่อ ปี พ.ศ. 2506 ที่ศูนย์วิจัยข้าวโพดข้าวฟ่างแห่งชาติ อำเภอบางบาล จังหวัดนครราชสีมา ในปี 2517 สมเกียรติ ฐิตะฐาน และคณะ (2524) พบโรคนี้อาศัยเพียงเล็กน้อยที่อำเภอบางบาล จังหวัดนครราชสีมา อำเภอพัฒนานิคม อำเภอโคกสูง และอำเภอชัยบาดาล จังหวัดลพบุรี อำเภอเมือง อำเภอโกรกพระ และอำเภอพยุหะคีรี จังหวัดนครสวรรค์ เป็น common smut ของข้าวโพด สาเหตุเกิดจากรา *Ustilago maydis*

ข้าวฟ่าง

โรค head smut ของข้าวฟ่าง เกิดจากรา *Sporisorium reilianum* (Kühn) Langdon & Fullerton ซึ่งเป็นราดินพบในแหล่งปลูกข้าวฟ่างทั่วโลก ราเขม่าดำชนิดนี้สามารถอยู่ในดินและเข้าทำลายต้นกล้าของข้าวโพดและข้าวฟ่างได้ พบครั้งแรกในแอฟริกา สามารถเข้าทำลายได้ทั้งข้าวฟ่าง ข้าวโพด และหญ้าชูดาน นอกจากนี้ยังพบได้ทุกสภาพอากาศในยุโรป อเมริกาเหนือและใต้ แม็กซิโก แอฟริกา เอเชีย ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ และอินดีสตะวันตก ราเข้าทำลายระยะต้นกล้าจนถึงดอก *S. Reilianum* เป็นหนึ่งในราเขม่าดำไม่กี่ตัวที่ไม่ใช้วิธีคลุกเมล็ดไม่ได้อผล ในสหรัฐอเมริกาพบปัญหาจาก head smut ของข้าวฟ่างตั้งแต่ปี ค.ศ. 1950 ที่มลรัฐเท็กซัสเป็นต้นมา มีการปรับปรุงพันธุ์ต้านทานต่อโรค แต่โรคก็ยังระบาดทำความเสียหายเนื่องจากราสร้าง race ใหม่ขึ้นมาและรุนแรงกว่าเดิม รายงานถึงสถานการณ์โรคเขม่าดำของข้าวฟ่างในแปลงปลูกในเคนยาตะวันตกพบ 3 อาการคือ พบอาการ head smut เกิดจากรา *S. reilianum* 73-75 เปอร์เซนต์ อาการ covered kernel smut เกิดจากรา *S. sorghi* 42-43 เปอร์เซนต์ และอาการ loose smut เกิดจากรา *S. cruenta* 14-24 เปอร์เซนต์

ในประเทศไทยมีรายงานถึงโรคราเขม่าดำ (Loose Smut Disease) มีสาเหตุจากเชื้อ *Sphacelotheca cruenta* พบการระบาดครั้งแรกเมื่อปี พ.ศ. 2534 ในแปลงทดลองของศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรีซึ่งการระบาดไม่รุนแรงมากนัก แต่ในปีต่อ ๆ มาพบว่าโรคนี้นี้มีความรุนแรงเพิ่มมากขึ้น รา *S. cruenta* สามารถเข้าทำลายที่ดอกโดยตรง หรืออาจเข้าทำลายส่วนเนื้อเยื่อเจริญหลังจากข้าวฟ่างงอก หรืออาจเข้าทำลายต้นกล้า โดยราอาศัยอยู่ในดิน และยังพบว่าข้าวฟ่างต่อที่เป็นโรคนี้อาจผลิตจะเสียหายถึง 100 % หรือไม่ได้รับผลผลิตเลย แต่ ไม่ทำความเสียหายให้กับข้าวฟ่างที่ปลูกก่อนตัดไว้มากนัก

วงจรชีวิตของรา *S. Reilianum* สปอร์ของรา *S. reilianum* อยู่ข้ามฤดูในดินช่วงฤดูหนาว ราเข้าทำลายต้นกล้าในเนื้อเยื่ออ่อน ต่อมาสร้างเส้นใยเข้าไปอยู่ในส่วนของฝักหรือไหมของข้าวโพดและพัฒนาเป็น sorus สร้าง teliospore อยู่ภายใน ทำให้ผลผลิตเสียหาย teliospore จะแพร่กระจายและพักตัวอยู่ในดิน (Figure 3 และ Figure 4)

พืชอาศัย ข้าวโพด (Figure 5) ข้าวฟ่าง (Figure 6) หญ้าชูดาน หญ้าจอร์นสัน และ หญ้าทีโอซินเท (Teosinte)

การแพร่กระจาย Africa, Africa South of Sahara, Argentina, Asia, Australasia, Australia, Austria, Azores, Barbados, Bhutan, Bolivia, Borneo, Brazil, Bulgaria, Burkina Faso, Burundi, Cameroon, Canada, Caribbean, Central America, Central Asia, Chad, Chile, China, Colombia, Congo Democratic Republic, Cyprus, Czechoslovakia, Egypt, Eritrea, Estonia, Ethiopia, Europe, France, German Democratic Republic, German Federal Republic, Germany, Ghana, Greece, Guatemala, Hawaii, Honduras, Hungary, India, Indonesia, Iran, Iraq, Israel, Italy, Jamaica, Japan, Kazakhstan, Kenya, Korea Republic, Malawi, Malaysia, Mauritania, Mauritius, Mexico, Morocco, Mozambique, Myanmar, Nepal, New Britain, New Guinea, New

South Wales, New Zealand, Nigeria, North America, Oceania, Ontario, Pakistan, Panama, Papua New Guinea, Philippines, Queensland, Rio Grande do Sul, Romania, Russia, Russian Far East, Rwanda, Sarawak, Senegal, Siberia, Somalia, South Africa, South America, Spain, Sudan, Taiwan, Tanzania, Togo, Uganda, Ukraine, Uruguay, USA, USSR, Yemen, Yugoslavia, Zambia, Zimbabwe, Ukraine, Yugoslavia, North America, Canada, Ontario, Mexico, USA, Central America & West Indies, Barbados, Guatemala, Honduras, Jamaica, Panama, Salvador, South America, Argentina, Bolivia, Brazil, Rio Grande do Sul, Chile, Colombia, Uruguay (Figure 7)

นิเวศวิทยา สภาพที่เหมาะสมต่อการงอกของสปอร์ ได้แก่ อุณหภูมิระหว่าง 14-36 องศาเซลเซียส อุณหภูมิภายในดินระหว่าง 18-23 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 15-20%

2. จัดทำแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ

จัดทำแบบฟอร์มเพื่อใช้ในการสำรวจ ซึ่งจะต้องมีข้อมูลดังต่อไปนี้ ข้อมูลเกษตรกร ได้แก่ ชื่อ ที่อยู่ ของเกษตรกร ข้อมูลภูมิศาสตร์ ข้อมูลพืชได้แก่ ชนิด และอายุของพืช ข้อมูลโรคที่พบได้แก่ ลักษณะอาการ ส่วนของพืชที่แสดงอาการ การวินิจฉัยโรคเบื้องต้นในแปลง และได้นำข้อมูลเหล่านี้มาจัดทำเป็นแบบฟอร์มในการสำรวจได้ 1 แบบฟอร์ม (Figure 8)

3. การสำรวจ

จากผลการสำรวจสถานภาพของรา *Sporisorium reilianum* โดยการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง ในแปลงปลูกข้าวโพด จำนวน 20 จังหวัด ได้แก่ กาญจนบุรี ขอนแก่น ชัยภูมิ เชียงราย เชียงใหม่ นครราชสีมา น่าน พะเยา พิษณุโลก เพชรบุรี เพชรบูรณ์แพร่ ราชบุรี เลย สระบุรี สุพรรณบุรี สุรินทร์ สุโขทัย อุทัยธานี และอุดรดิตถ์ (Figure 9) ในระหว่างเดือนตุลาคม 2558 – เดือนกันยายน 2561 จำนวน 819 แปลง (Table 1)

4. วิธีการตรวจของรา *Sporisorium reilianum*

ผลการสำรวจและตรวจหารา *S. reilianum* ในพื้นที่ปลูกข้าวโพด จำนวน 819 แปลง 20 จังหวัด ไม่ปรากฏรา *S. reilianum* ในประเทศไทย แต่จากการสำรวจครั้งนี้ได้เก็บตัวอย่างราลักษณะสีดามีลักษณะคล้ายกับเชื้อเป้าหมายมาจากอำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา และตำบลบึงกอก อำเภอบางระกำ จังหวัดพิษณุโลกมาศึกษาในห้องปฏิบัติการ จำนวน 6 ตัวอย่าง จากการตรวจดูลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ compound และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron) พบว่าเป็นรา *Ustilago maydis* สาเหตุโรคราเขม่าดำ (common smut) (Figure 10) ไม่ปรากฏรา *Sporisorium reilianum* สาเหตุโรค Head smut เพราะฉะนั้นจึงสรุปได้ว่าจากการสำรวจศึกษาสถานภาพของรา *Sporisorium reilianum* ในแปลงข้าวโพดและข้าวฟ่างโดยการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจงในพื้นที่ปลูกของข้าวโพด จำนวน 20 จังหวัด ได้แก่ กาญจนบุรี ขอนแก่น ชัยภูมิ เชียงราย เชียงใหม่ นครราชสีมา น่าน พะเยา พิษณุโลก เพชรบุรี เพชรบูรณ์แพร่ ราชบุรี เลย สระบุรี สุพรรณบุรี สุรินทร์ สุโขทัย อุทัยธานี และอุดรดิตถ์ ในระหว่างเดือนตุลาคม 2558 – เดือนกันยายน 2561 จำนวน 819 แปลง จากการสำรวจไม่ปรากฏรา *S. reilianum* สาเหตุโรค head smut ในแต่ละพื้นที่ปลูกข้าวโพดในประเทศไทย

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

จากการสำรวจศึกษาสถานภาพของรา *Sporisorium reilianum* ในแปลงข้าวโพดและข้าวฟ่างโดยการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจงในพื้นที่ปลูกของข้าวโพด จำนวน 20 จังหวัด ได้แก่ กาญจนบุรี ขอนแก่น ชัยภูมิ เชียงราย เชียงใหม่ นครราชสีมา น่าน พะเยา พิษณุโลก เพชรบุรี เพชรบูรณ์ แพร่ ราชบุรี เลย สระบุรี สุพรรณบุรี สุรินทร์ สุโขทัย อุทัยธานี และอุดรดิตถ์ ในระหว่างเดือนตุลาคม 2558 – เดือนกันยายน 2561 จำนวน 819 แปลง จากการสำรวจไม่ปรากฏรา *S. reilianum* สาเหตุโรค head smut ในแต่ละพื้นที่ปลูกข้าวโพดในประเทศไทย

กรมวิชาการเกษตร

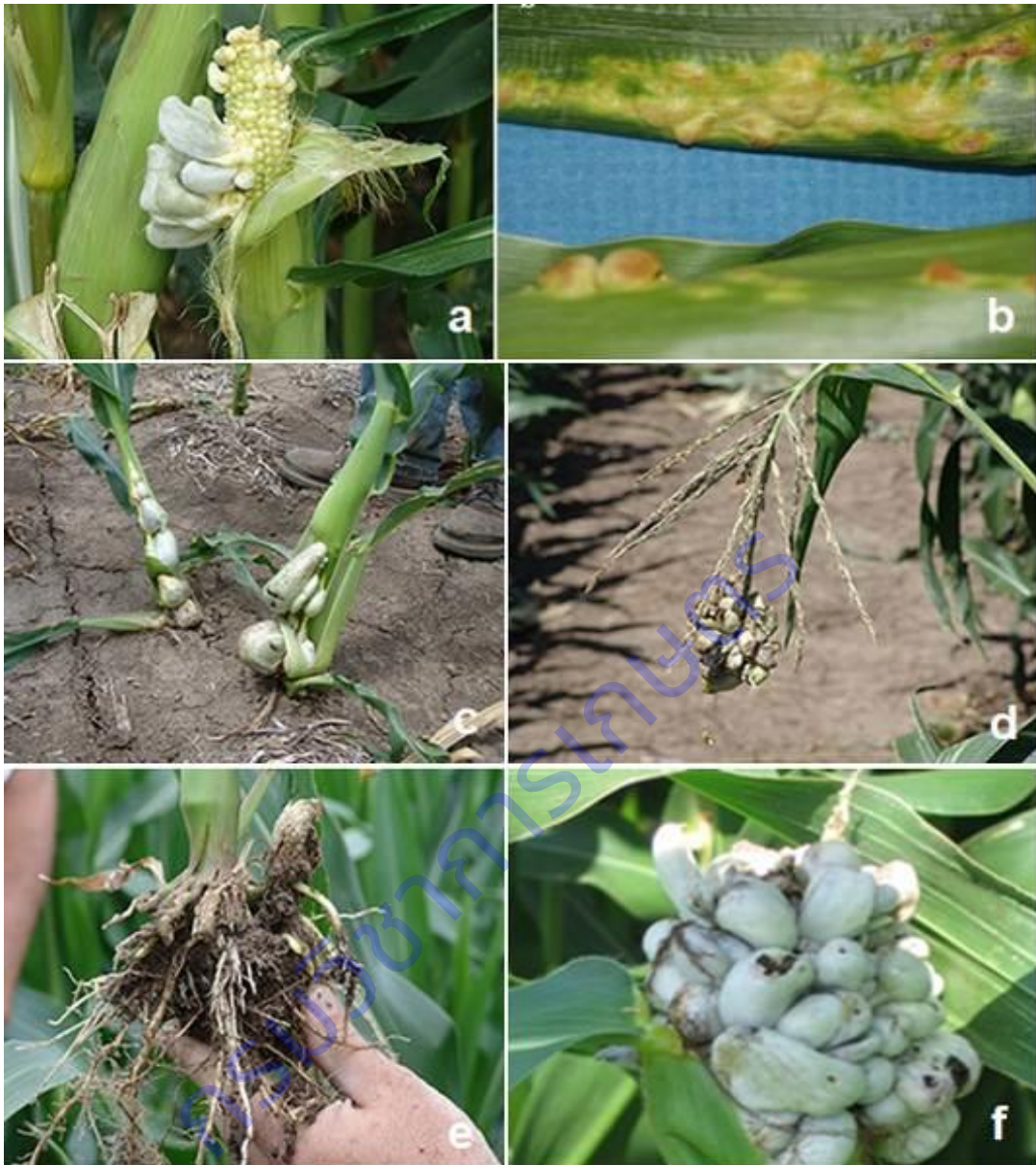


Figure 1 Common smut disease caused by *Ustilago maydis*
(Photo by Tamara A. Jackson-Ziems, 2014)

- a) Common smut galls may look like mushroom or tumor-like growth.
- b) Common smut galls on leaves are often small and look like blisters.
- c) Galls developing on stalks are often larger than those on other plants parts.
- d) Common smut galls may develop on tassels.
- e) Galls also may develop underground on the developing roots
- f) Common smut galls

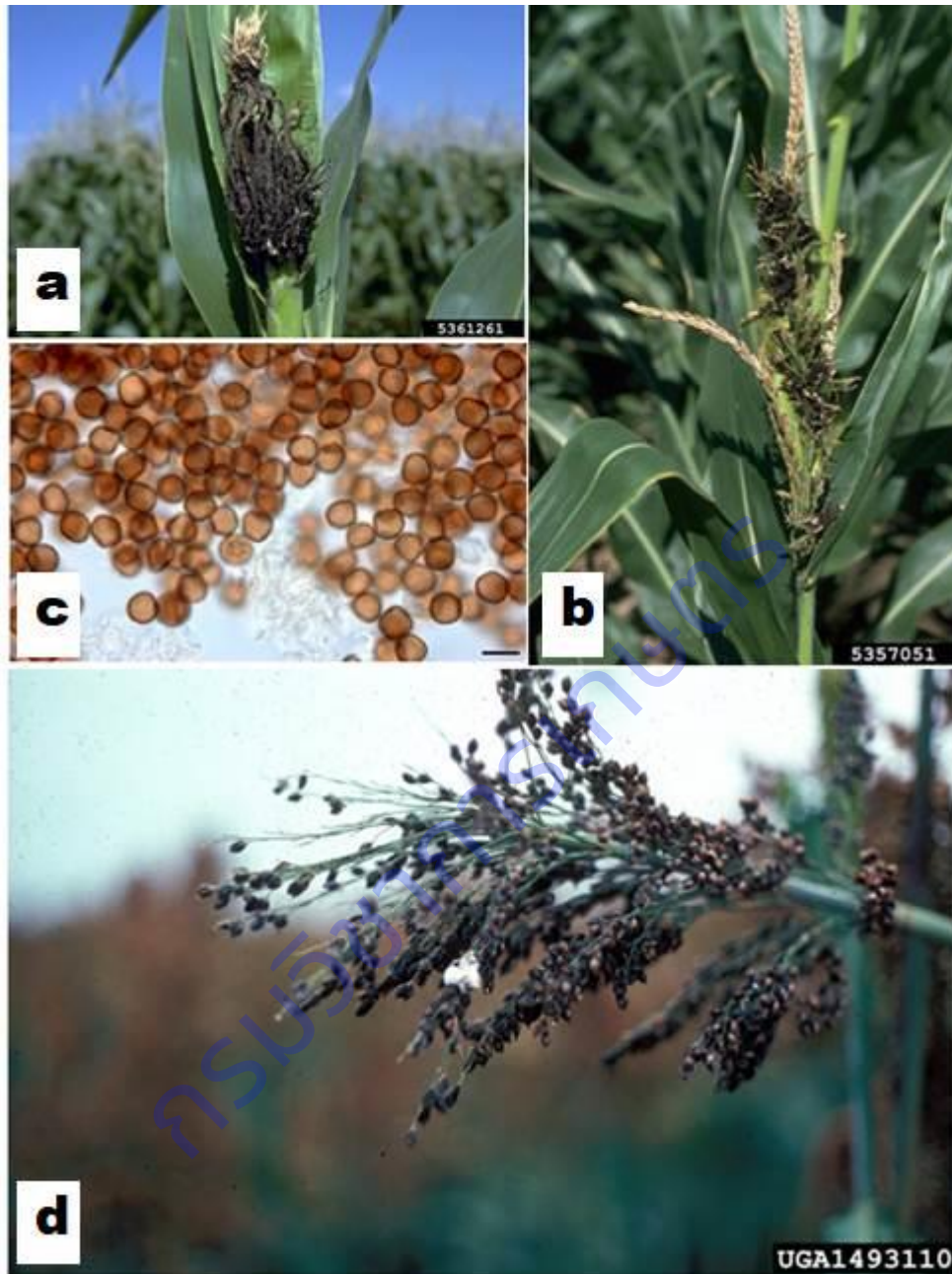


Figure 2: Head smut disease on corn and sorghum caused by *Sporisorium reilianum* (*Sphacelotheca reiliana*)
 (Photo by <https://www.pioneer.com/home/site/us/agronomy/library/head-smut-in-com/>)

- a) Corn ears infected with head smut
- b) Corn tassels infected with head smut
- c) *Sporisorium reilianum*
- d) Head smut on sorghum



Figure 3: Head smut disease of corn caused by *Sporisorium reilianum*
(Photo by: Ronald D and Diana Schultz, 2010)



Figure 4: Head smut disease of sorghum caused by *Sporisorium reilianum*
(Photo by: Silaev A.I., 2009)

Head Smut Disease Cycle (*Sphacelotheca reiliana*)

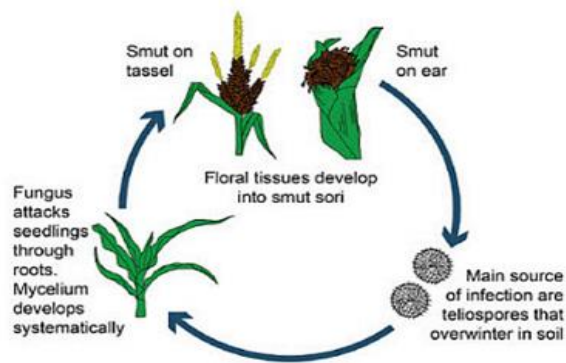


Figure 5: Head smut of corn (*Sporisorium reilianum*) disease

Sorghum head smut (*Sporisorium reilianum*)

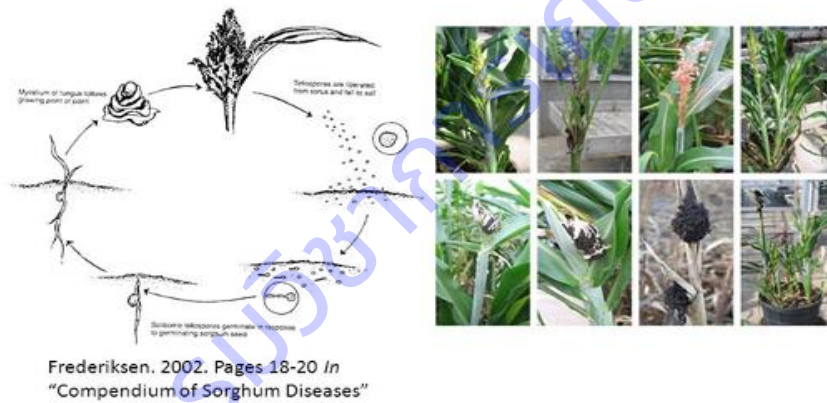


Figure 6: Head smut of sorghum (*Sporisorium reilianum*) disease



Figure 7: Distribution map of *Sporisorium reilianum* (UK CAB)

แบบฟอร์มการสำรวจรา *Sporisorium reilianum*

ตัวอย่างที่.....วันที่.....

ชื่อเกษตรกร.....

ที่อยู่.....

.....

พืช (ชื่อสามัญ).....ชื่อวิทยาศาสตร์.....

อายุพืช.....พันธุ์พืช.....

สถานที่ปลูก.....

พิกัดภูมิศาสตร์

เส้นรุ้ง.....เส้นแวง.....

ความสูงเหนือระดับน้ำทะเล (เมตร).....

ส่วนที่เก็บตัวอย่าง

(....) ต้น	(....) ดอก
(....) ฝัก	(....) เมล็ด
(....) อื่นๆ	

โรคอื่นๆ ที่พบ

1.....

2.....

3.....

4.....

5.....

ผู้เก็บตัวอย่าง.....

Figure 8: Survey form of *Sporisorium reilianum*

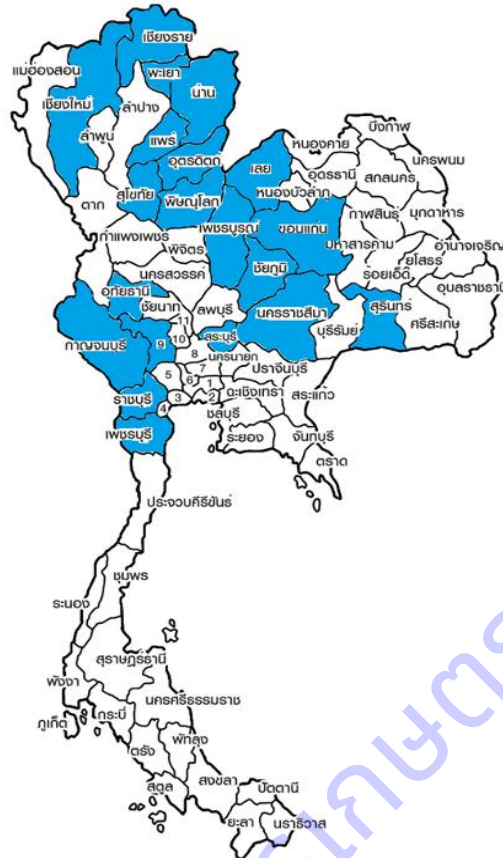


Figure 9: The corn plantations had been surveyed during December 2015 – September 2018.

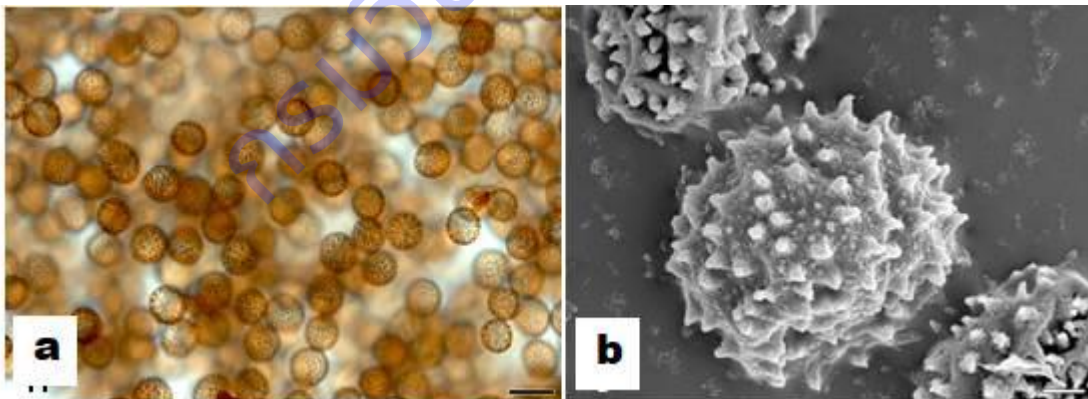


Figure 10: *Ustilago maydis*, the causal agent of common smut collected from corn plantation in Parchong district, Nakhon Ratchasima province.

- a) Spore and Spore ball in Light Microscope (LM).
- b) Spore in Scanning Electron Microscope (SEM).

Table 1 List of corn plantations had been surveyed in this study during October 2015 to September 2018

Province	District	Subdistrict	Village	GPS coordinates
Kanchanaburi	<i>Tha Maka</i>	<i>Nong Lan</i>		14.042265, 99.829920; 14.043129, 99.827474; 14.032039, 99.823970; 14.031409, 99.825070
Kamphaeng Phet	Khanu Woralaksaburi	Saen To	Saen To	16.040071, 99.868433
Chiang Rai	Mae Saluai	Tha ko		19.526500, 99.582180; 19.527032, 99.574415
Chiang Rai	Mae Saluai	Mae Saluai		19.715984, 99.547792
Chiang Rai	Mae Lao	Dong Mada		19.738412, 99.673201; 19.737801, 99.674224; 19.734830, 99.672581
Chiang Rai	Mae Lao	Pong Phrae		19.806060, 99.647827
Chiang Rai	Mae Chan	Pa Ting		20.145973, 99.844904; 20.142395, 99.846446
Chiang Rai	Mae Faluang	Mae Salong Nok		20.166082, 99.635965
Chiang Mai	Mae Ai	Tha Ton		20.061498, 99.460274; 20.058454, 99.420282; 20.064082, 99.428115
Tak	Mae Sot			16.709346, 98.586550; 16.710602, 98.581670; 16.693728, 98.576445; 16.805738, 98.584121; 16.774699, 98.531166
Tak	Phop Phra			16.414724, 98.782497; 16.415900, 98.796796; 16.427154, 98.774440; 16.508873, 98.661192; 16.518333, 98.684954; 16.503986, 98.707434; 16.389436, 98.705507; 16.386446, 98.713240
Nakhon Sawan	<i>Tak Fa</i>	<i>Phu Nok Yung</i>		15.416039, 100.461698; 15.408204, 100.460215; 15.403387, 100.462517; 15.397075, 100.470891; 15.396841, 100.465987
Phitsanulok	Bang Rakam	Bueng Kok		16.695060, 100.018033
Phitsanulok	Nong Phai	Nong Phai	Sap Sombun	15.968336, 101.048480; 15.966491, 101.050360; 15.970230, 101.053020; 15.976999, 101.053459; 15.974656, 101.052938; 15.974411, 101.054462; 15.976530, 101.052223; 15.968271, 101.047772; 15.977830, 101.051011; 15.974381, 101.054047
Phetchabun	<i>Muang Phetchabun</i>	<i>Tha Phon</i>		16.559956, 101.150691; 16.553290, 101.151965; 16.558126, 101.154776; 16.557752, 101.154847; 16.539799, 101.164306; 16.545242, 101.155444
Phetchabun	<i>Nong Phai</i>	<i>Na Chaliang</i>		16.070411, 101.077203
Phetchabun	<i>Nong Phai</i>	<i>Ban Phot</i>		15.917685, 100.985619; 15.919724, 100.985493; 15.919580, 100.970470; 15.933547, 100.930537; 15.913950,

Table 1 Continued

Province	District	Subdistrict	Village	GPS coordinates
Phetchabun	<i>Nong Phai</i>	<i>Ban Phot</i>		101.026780; 15.914628, 101.024488; 15.916011, 101.029511, 15.913658, 101.016542
Phrae	<i>Long</i>			18.077150, 99.831520; 18.068214, 99.844892; 18.163960, 99.950889; 18.005005, 99.776604; 18.002662, 99.768451; 18.000296, 99.768208
Phrae	<i>Denchai</i>			17.983220, 100.052080; 17.996702, 100.031675; 17.995866, 100.030945; 17.997064, 100.031760; 17.995831, 100.034371
Ratchaburi	<i>Photharam</i>	<i>Don Krabueang</i>		13.775390, 99.887830; 13.774574, 99.883393; 13.776415, 99.885961; 13.773120, 99.892822; 13.772292, 99.883638; 13.771293, 99.884052; 13.771161, 99.885691; 13.770298, 99.886612
Lop Buri	Kok Sumrong	Nong Khaem		15.125430, 100.701230; 15.124922, 100.702640; 15.114796, 100.706169
Lop Buri	Nong Muang	Chon Saradet		15.179850, 100.672020
Saraburi	Muak Lek	Sap Sanun		14.887360, 101.282410; 14.885881, 101.280354; 14.885082, 101.284347; 14.882495, 101.280612; 14.878154, 101.268887; 14.868855, 101.251696; 14.867304, 101.247885, 14.865332, 101.246464
Saraburi	<i>Muak Lek</i>	<i>Muak Lek</i>		14.655310, 101.198486; 14.656035, 101.189608; 14.661618, 101.187033; 14.661619, 101.186182; 14.659440, 101.178041; 14.665357, 101.176682; 14.665355, 101.179948
Sukhothai	Thung Saliang			17.320650, 99.561140; 17.326302, 99.573443; 17.327695, 99.506750; 17.335370, 99.485005
Suphan Buri	Song Phi Nong	Bo Suphan		14.137320, 99.894830; 14.136585, 99.894404; 14.135608, 99.893662; 14.134320, 99.892580; 14.140844, 99.900559; 14.117524, 99.813781; 14.119932, 99.817988; 14.142300, 99.909810; 14.133355, 99.890591; 14.140661, 99.900843; 14.135355, 99.893807; 14.135862, 99.893179;
Uttaradit	Nam Pat	Den Lek		17.827076, 100.779407; 17.827577, 100.779296; 17.826890, 100.779249; 17.826733, 100.778858; 17.828163, 100.781220; 17.828552, 100.781595; 17.829410, 100.781527; 17.829932, 100.782033; 17.824541, 100.772388; 17.825901, 100.771414

Table 1 Continued

Province	District	Subdistrict	Village	GPS coordinates
Uttaradit	Thong saengkhan			17.450436, 100.341781; 17.462170, 100.359480
Uttaradit	<i>Tron</i>			17.476150, 100.100535; 17.450168, 100.136511; 17.449944, 100.135826
Uttaradit	<i>Phichai</i>			17.287310, 100.087997; 17.292487, 100.091488; 17.295081, 100.087819
Nakhon Ratchasima	Dan Khun Thot			15.235757, 101.660204; 15.209579, 101.67255; 15.21043, 101.673340; 15.209464, 101.672605; 15.209771, 101.671666; 15.359937, 101.579167; 15.360258, 101.578523; 15.359617, 101.578555; 15.360507, 101.578609; 15.145522, 101.572644; 15.145460, 101.572494; 15.145315, 101.572408; 15.145253, 101.572311; 15.145491, 101.572504; 15.145191, 101.572300; 15.157690, 101.544009; 15.157032, 101.546133; 15.156473, 101.545929
Nakhon Ratchasima	Si Khiu			14.908352, 101.593968; 14.906929, 101.593528; 14.908554, 101.595296; 14.907125, 101.595545; 14.962071, 101.464830; 14.961293, 101.461381; 14.961728, 101.460968; 14.963934, 101.460623; 15.062507, 101.759353; 15.063823, 101.757905; 15.072448, 101.628816; 15.073391, 101.626370; 15.074696, 101.625179
Nakhon Ratchasima	Pak Chong			14.725345, 101.407862; 14.726767, 101.408924; 14.727615, 101.405947; 14.727916, 101.408522; 14.722510, 101.410121; 14.720393, 101.409209; 14.71951, 101.410588; 14.696175, 101.343101; 14.700174, 101.339922; 14.464885, 101.719413; 14.467709, 101.71843; 14.464942, 101.722602; 14.463575, 101.723342; 14.444500, 101.640936; 14.444858, 101.639799; 14.444944, 101.639394; 14.447319, 101.640274; 14.721274, 101.206633; 14.720413, 101.204873
Phrae	Long			18.109385, 99.843696; 18.109182, 99.843556; 18.108518, 99.843117; 18.108333, 99.843097; 17.920462, 99.723396; 17.919651, 99.722875; 17.920149, 99.723733; 17.923876, 99.719399; 18.061062, 99.788579; 18.060922, 99.788420; 18.060713, 99.788235; 18.045769, 99.755656; 18.045466, 99.755059; 18.044772,

Table 1 Continued

Province	District	Subdistrict	Village	GPS coordinates
Phrae	Long			99.755421; 18.055036, 99.750612; 18.076649, 99.856839
Phetchabun	Lhomsak			16.743086, 101.284910; 16.747207, 101.273057; 16.747510, 101.272014; 16.748205, 101.270945; 16.747632, 101.270061; 16.730599, 101.257469; 16.731010, 101.249358; 16.733109, 101.250590
Phetchabun	Lhomkao			16.873420, 101.082057; 16.964397, 101.253935; 16.961611, 101.250094; 16.957214, 101.242865; 16.954156, 101.242361; 101.222924 01.242361; 16.950952, 101.237596; 16.950798, 101.235729; 16.951173, 101.234960; 16.935212, 101.222924; 16.942464, 101.225359; 16.941266, 101.225165; 16.935561, 101.195570; 16.934871, 101.195900
Phetchabun	Wachian Buri			15.664693, 101.077368; 15.664267, 101.075651; 15.662011, 101.073022; 15.661009, 101.069149; 15.660045, 101.067360
Phetchabun	Nong Phai			15.994696, 101.145113; 15.990458, 101.139277; 15.983076, 101.131846;
Phetchabun	Nong Phai			15.993866, 101.129396; 15.992614, 101.126607; 15.985483, 101.120513; 15.987873, 101.114760; 15.991234, 101.110504; 15.985511, 101.110026; 15.989154, 101.111787; 16.040461, 101.082937; 16.044240, 101.083763; 16.050861, 101.081997; 15.906059, 100.898237; 15.907488, 100.899373; 15.908785, 100.904654; 15.911413, 100.912688; 15.914622, 100.916180; 16.115152, 101.217373; 16.114238, 101.217058; 16.111692, 101.217787; 16.097062, 101.216430; 16.089903, 101.196679; 16.062085, 101.177444
Phraputthabath	Saraburi			14.745525, 100.718421; 14.746469, 100.715895; 14.746409, 100.799290; 14.745563, 100.798876; 14.745719, 100.798511; 14.745840, 101.797455; 14.745238, 100.799428; 14.744732, 100.800491; 14.742599, 100.793111; 14.703706, 100.724444; 14.702886, 100.724707; 14.706015, 100.725468; 14.708453, 100.727122; 14.708856, 100.726702

Saraburi	Donput	14.639510, 100.606042; 14.637320, 100.604909; 14.638923, 100.603613; 14.643277, 100.604385; 14.646335, 100.603039
Saraburi	Nong Done	14.687449, 100.747535; 14.691003, 100.748058; 14.694202, 100.747992; 14.690001, 100.746108; 14.688623, 100.748493; 14.686430, 100.755253; 14.689285, 100.720693; 14.688921, 100.718970; 14.702937, 100.716239; 14.689153, 100.720764; 14.691533, 100.721640; 14.690123, 100.719578; 14.689240, 100.718519
Saraburi	Ban Mor	14.632039, 100.758658; 14.611013; 100.730807; 14.611762, 100.730436; 14.611767, 100.730356; 14.590875, 100.752732; 14.589997, 100.751536; 14.590312, 100.751629; 14.590706, 100.754507; 14.602133, 100.728375; 14.635529, 100.763252; 14.634793, 100.762769; 14.631312, 100.767228; 14.630949, 100.767839; 14.629638, 100.767120
Uthai Thani	Nong Chang	15.386976, 99.780428; 15.386659, 99.779378; 15.386771, 99.777592; 15.390966, 99.773317; 15.391278, 99.770122; 15.390816, 99.772769; 15.392319, 99.774489; 15.391808, 99.775388; 15.393184, 99.777302; 15.394612, 99.777688; 15.395109, 99.773308; 15.387372, 99.780647
Uthai Thani	Ban Rai	15.209338, 99.447453; 15.206749, 99.440755; 15.207467, 99.449466; 15.208109, 99.440457; 15.205865, 99.437775; 15.205182, 99.432751; 15.210718, 99.431443; 15.204795, 99.406343
Uthai Thani	Huai Khot	15.283137, 99.562523; 15.284444, 99.562472; 15.287221, 99.562970; 15.284885, 99.557876; 15.284841, 99.558785; 15.288470, 99.551834; 15.289950, 99.554319; 15.290941, 99.553143; 15.289958, 99.554362; 15.290535, 99.553175
Uthai Thani	Lan Sak	15.566319, 99.440222; 15.562781, 99.441595; 15.564234, 99.442136; 15.564953, 99.439612; 15.567676, 99.445414; 15.564995, 99.438898; 15.570099, 99.436220; 15.56884, 99.434930; 15.571314, 99.43697; 15.573758, 99.446207; 15.576901, 99.441588; 15.580253, 99.439411;

Table 1 Continued

Province	District	Subdistrict	Village	GPS coordinates
Uthai Thani	Lan Sak			15.580100, 99.437386; 15.580224, 99.432909; 15.458092, 99.455871; 15.455943, 99.453327
Uthai Thani	Sawang Arom			15.605221, 99.752879; 15.605530, 99.751804; 15.607902, 99.748752; 15.608710, 99.754132; 15.607102, 99.754462
Chiang Rai	Mae Sai			20.359278, 99.923492; 20.359077, 99.922650; 20.359512, 99.924536; 20.359561, 99.923502; 20.362121, 99.920227; 20.364190, 99.919641; 20.364435, 99.92265; 20.364599, 99.926112; 20.367372, 99.923040; 20.367463, 99.918871; 20.372351, 99.908580; 20.373183, 99.902292
Chiang Rai	Mae Lao			19.781663, 99.729579; 19.782930, 99.729949
Chiang Rai	Mae Chan			20.181541, 99.867841; 20.181466, 99.865858; 20.181736, 99.866185; 20.182776, 99.868648
Chiang Mai	Mae Ai			19.953720, 99.337649; 19.953683, 99.333732; 19.953683, 99.333732; 19.962811, 99.30848; 19.962894, 99.309148; 19.963658, 99.304037; 19.959700, 99.297102
Sukhothai	Si Satchanalai			17.585133, 99.715168; 17.586124, 99.717328; 17.592105, 99.723246; 17.593846, 99.713201; 17.590466, 99.713475; 17.596709, 99.711214; 17.592746, 99.713845; 17.592967, 99.714013; 17.585449, 99.711850; 17.590477, 99.715726
Sukhothai	Si Samrong			17.162142, 99.716332; 17.162959; 99.713308; 17.160500, 99.708476; 17.160783; 99.708441; 17.158627, 99.703271; 17.157864; 99.731551; 17.158493, 99.733093; 17.160184; 99.734876
Sukhothai	Sawan Khalok			17.336492, 99.819820; 17.336107; 99.817760; 17.336334; 99.822264; 17.336170, 99.823195
Nakhon Ratchasima	Pak Chong			14.727244, 101.432440; 14.730946, 101.433798; 14.736644, 101.431329; 14.739428, 101.429802; 14.740125, 101.429408; 14.740399, 101.429972; 14.742564, 101.427866; 14.743317, 101.425603; 14.743809, 101.423409; 14.742786, 101.418718; 14.740036,

Table 1 Continued

Province	District	Subdistrict	Village	GPS coordinates
Nakhon Ratchasima	<i>Pak Chong</i>			101.432730; 14.743133, 101.435167; 14.736875, 101.426693; 14.736956, 101.426049; 14.738226, 101.424206; 14.738296,101.423344; 14.739183, 101.421048; 14.739363, 101.420626; 14.721991, 101.429985; 14.730940, 101.450239; 14.731245, 101.450414; 14.731462, 101.450557; 14.711944, 101.415172; 14.713289, 101.412939; 14.736717, 101.431343; 14.748931, 101.430084; 14.748509, 101.430040; 14.758152, 101.430842; 14.765042, 101.427574; 14.675900, 101.431070
Nakhon Ratchasima	<i>Thepharak</i>			15.308678, 101.553133; 15.309116, 101.552876; 15.309311, 101.553290; 15.312754, 101.552311; 15.314620, 101.551651; 15.314628, 101.551649; 15.306800, 101.549828; 15.308234, 101.552890; 15.329791, 101.551321; 15.344570, 101.562426; 15.337093, 101.571569; 15.329266, 101.451465; 15.306269, 101.559283; 15.295772, 101.563738; 15.262782, 101.555401; 15.261794, 101.555816; 15.262118, 101.535835; 15.262041, 101.534297;
Nakhon Ratchasima	Thepharak			15.313349, 101.552021; 15.306592, 101.553667; 15.305044, 101.546422; 15.304721, 101.541312; 15.304073, 101.538268; 15.299897, 101.525897; 15.302215, 101.554104; 15.278776, 101.582134; 15.278087, 101.582849; 15.276255, 101.589169
Nakhon Ratchasima	Meuang			14.940280, 101.996453; 14.940866, 101.996896; 14.937527, 101.989518; 14.933113, 101.978926; 14.919092, 101.946059; 14.913810, 101.936763; 14.922848, 101.945468; 14.928678, 101.946712; 14.921645, 101.947410; 14.916302, 102.027984;
Nakhon Ratchasima	Meuang			14.891392, 102.037859; 14.891540, 102.036927; 14.873394, 102.007575; 14.873679, 102.007316
Nakhon Ratchasima	Sikhio			14.890047, 101.694484; 14.931084, 101.674783; 14.964112, 101.699083; 14.960713, 101.574698
Saraburi	Muak Lek			14.662631, 101.130388; 14.668030, 101.130670; 14.670399, 101.128621; 14.671084, 101.128256; 14.677544,

Table 1 Continued

Province	District	Subdistrict	Village	GPS coordinates
Saraburi	Muak Lek			101.124044; 14.677635, 101.122970; 14.692577, 101.110960; 14.693314, 101.110000; 14.694357, 101.108409; 14.695616, 101.108444; 14.888021, 101.271823; 14.938867, 101.408756; 14.939633, 101.409348; 14.949578, 101.382642; 14.946564, 101.379704; 14.908747, 101.355006; 14.909125, 101.353994; 14.908918, 101.356612; 14.868671, 101.378373; 14.854619, 101.370253; 14.855458, 101.370227
Saraburi	Ban Moh			14.630637, 100.758382; 14.630985, 100.758489; 14.631442, 100.758516; 14.631125, 100.760714; 14.630846, 100.760666; 14.631699, 100.762705; 14.629182, 100.764214; 14.628930, 100.764847
Saraburi	Chaloem Phra Kiat			14.705908, 100.842408; 14.700682, 100.848005; 14.702706, 100.845645; 14.703657, 100.845677; 14.704861, 100.844272; 14.703355, 100.845752
Surin				15.019318, 103.829369; 15.026283, 103.835223; 14.533096, 103.718880; 14.531434, 103.719030; 14.530244, 103.717841; 14.744194, 103.356876; 14.743315, 103.356307
Nan	Phu Phiang			18.819891, 100.856061; 18.818500, 100.852971; 18.818335, 100.852070; 18.782702, 100.830067; 18.770388, 100.775848; 18.734678, 100.808055; 18.731352, 100.816986; 18.726657, 100.824621; 18.726304, 100.825424; 18.724554, 100.834803; 18.716909, 100.848164; 18.718425, 100.849123; 18.725104, 100.851631; 18.715566, 100.852816
Phayao	Dok Kham Tai			19.076606, 100.061556; 19.055786, 100.052476; 19.055537, 100.052374; 19.055539, 100.053036; 19.055075, 100.051611; 19.036765, 100.028694; 19.036521, 100.028855; 19.038230, 100.071795; 19.035268, 100.072438; 19.035268, 100.072439; 19.174697, 100.059307; 19.035268, 100.072441; 19.035268, 100.072442; 19.035268, 100.072443; 19.035268, 100.072444
Phayao	Chiang Kham			19.525466, 100.274926; 19.525729, 100.273885; 19.526053, 100.274636;

Table 1 Continued

Province	District	Subdistrict	Village	GPS coordinates
Phayao	Chiang Kham			19.526026, 100.271015; 19.528193, 100.252964; 19.537166, 100.277106; 19.535251, 100.305815
Ratchaburi	Ban Pong			13.827389, 99.887223; 13.827794, 99.887091; 13.795170, 99.870957; 13.795301, 99.871282; 13.802646, 99.878841; 13.818890, 99.916478; 13.836981, 99.918542; 13.839715, 99.919080; 13.841340, 99.927625
Ratchaburi	Ban Kha			13.366126, 99.421197; 13.350289, 99.466557; 13.350367, 99.466238; 13.348248, 99.466109; 13.358876, 99.495174; 13.384021, 99.431391; 13.382728, 99.429821; 13.391803, 99.428464; 13.472954, 99.445682; 13.487744, 99.451734
Ratchaburi	Chom Bueng			13.643452, 99.626515; 13.659144, 99.649297; 13.654864, 99.669697; 13.619356, 99.674035; 13.649330, 99.578544; 13.648061, 99.570230; 13.648217, 99.570318; 13.548939, 99.584488; 13.582042, 99.529090; 13.579018, 99.534959; 13.577656, 99.537672; 13.640091, 99.573338
Kanchanaburi	Meuang			13.998709, 99.478781; 13.998598, 99.479023; 13.998723, 99.479474; 14.076422, 99.453877; 14.039811, 99.455004; 14.038909, 99.454552
Kanchanaburi	Tha Maka			13.971501, 99.759595; 13.976664, 99.761407; 13.976170, 99.760296; 13.957428, 99.768326; 13.941591, 99.773332; 13.940649, 99.772878; 13.940198, 99.771136; 13.938427, 99.771737; 13.937259, 99.770873; 13.933173, 99.766916
Kanchanaburi	Si Sawat			14.626996, 99.114488; 14.633598, 99.112762; 14.601958, 99.106191; 14.612162, 99.118016; 14.619105, 99.123236; 14.585006, 99.126630
Kanchanaburi	Sai Yok			14.093564, 99.091276; 14.028330, 99.098015; 14.027462, 99.102533; 14.025874, 99.106147; 14.044974, 99.118474; 14.085052, 99.083345
Kanchanaburi	Tha Muang			13.947136, 99.638444; 13.947419, 99.634202; 13.947462, 99.638052; 13.955555, 99.635925; 13.956230, 99.642366; 13.956298, 99.642671; 13.985128, 99.630027; 13.998089,

Table 1 Continued

Province	District	Subdistrict	Village	GPS coordinates
Kanchanaburi	Tha Muang			14.003839, 99.611788; 14.004088, 99.610596; 14.004823, 99.609876
Kanchanaburi	Phanom Thuan			14.270287, 99.615633; 14.086934, 99.734388; 14.087303, 99.734125; 14.085284, 99.737387; 14.080676, 99.745429
Kanchanaburi	Dan Makham Tia			13.843333, 99.348222; 13.844534, 99.340905; 13.840154, 99.351250; 13.842779, 99.349515
Suphan Buri	Song Phi Nong			14.202369, 99.984669; 14.206092, 99.975514; 14.203391, 99.964017; 14.203539, 99.964809; 14.205671, 99.964491; 14.204069, 99.971979; 14.210272, 99.971015
Phetchaburi	Cha Am			12.744231, 99.941122; 12.732942, 99.904614; 12.727758, 99.903912; 12.728595, 99.916178; 12.725888, 99.933387; 12.719901, 99.930365
Chiang Rai	Mae Chan			20.179826, 99.868490; 20.179884, 99.867704; 20.181840, 99.868750; 20.178337, 99.869849; 20.172687, 99.870547; 20.177711, 99.882606; 20.174508, 99.885241; 20.175358, 99.883351; 20.171465, 99.884620
Chiang Rai	Wiang Chai			19.863736, 99.935329; 19.861537, 99.935091; 19.864999, 99.925746; 19.860708, 99.920063
Chiang Rai	Phaya Meng Rai			19.863477, 100.167867; 19.865489, 100.169235; 19.862384, 100.168619; 19.861720, 100.172663; 19.866285, 100.166221; 19.861428, 100.170150; 19.859681, 100.174898
Chiang Rai	Wiang Pa Pao			19.341552, 99.514824; 19.342487, 99.511136; 19.340716, 99.509680; 19.338109, 99.510254; 19.324456, 99.512817; 19.332507, 99.469861; 19.271318, 99.428436; 19.272160, 99.428151; 19.264953, 99.426143; 19.261261, 99.424911; 19.267015, 99.478115
Chiang Rai	Mae Suai			19.660432, 99.547089; 19.668982, 99.551820; 19.671683, 99.560001; 19.650171, 99.503912; 19.703575, 99.584916; 19.646553, 99.476695; 19.637500, 99.479697; 19.621215, 99.470288
Chiang Rai	Mae Lao			19.793916, 99.724222; 19.802530, 99.705120

Table 1 Continued

Province	District	Subdistrict	Village	GPS coordinates
Chiang Rai	Thoeng			19.678859, 100.190349; 19.670289, 100.193363; 19.678899, 100.190308; 19.676775, 100.220897; 19.707906, 100.217939
Chiang Rai	Wiang Kaen			20.120476, 100.523649; 20.121841, 100.524377; 20.107437, 100.498055; 20.096816, 100.500706; 20.083674, 100.511228; 20.082354, 100.510428; 20.075457, 100.508419; 20.064954, 100.507727; 20.063214, 100.502363
Chiang Rai	Chiang Khong			20.254181, 100.399275; 20.256022, 100.396435; 20.243411, 100.394631; 20.248292, 100.388678; 20.269142, 100.395565
Chiang Rai	<i>Chiang Saen</i>			20.264851, 100.079616; 20.267407, 100.074396; 20.289239, 100.084704; 20.267332, 100.074334
Phare	Long			18.047158, 99.808218; 18.045782, 99.808186; 18.031964, 99.793875; 18.117884, 99.883288; 18.120284, 99.882428; 18.125662, 99.886559; 18.131585, 99.894342; 18.102852, 99.874706; 18.111882, 99.884494
Phare	Meuang			18.154514, 100.102596; 18.150153, 100.100532; 18.181119, 100.182419; 18.193704, 100.159569; 18.177614, 100.133584
Phare	Den Chai			17.980043, 100.076753; 17.987312, 100.093270; 17.965927, 100.088052; 17.970826, 100.044660
Uttaradit	Thong Saen Khun			17.462307, 100.359559; 17.472057, 100.373159; 17.466542, 100.344182; 17.431749, 100.340498; 17.432016, 100.336081; 17.451839, 100.361688
Uttaradit	Tron Khun			17.471305, 100.107660; 17.455696, 100.101344; 17.458190, 100.107372; 17.452833, 100.127479; 17.444446, 100.130643; 17.495489, 100.125255; 17.499282, 100.132616; 17.507068, 100.149080; 17.501714, 100.137690; 17.497385, 100.128816; 17.515240, 100.087196
Uttaradit	Pichai			17.318830, 100.071007; 17.326753, 100.070977; 17.327823, 100.070105; 17.333226, 100.069551; 17.333679, 100.076254; 17.336504, 100.099996; 17.292289, 100.089892; 17.262185,

Table 1 Continued

Province	District	Subdistrict	Village	GPS coordinates
Uttaradit	Pichai			100.066936; 17.256885, 100.081927; 17.263606, 100.095319
Uttaradit	Laplae			17.642526, 100.073915; 17.642106, 100.038745; 17.567217, 99.986232; 17.558732, 99.973830; 17.570752, 99.999720; 17.591191, 100.043029; 17.605005, 100.053029; 17.618254, 100.049857; 17.624820, 100.067695; 17.599748, 100.093405; 17.575868, 100.104826; 17.665540, 100.037312; 17.660140, 100.036167
Phitsanulok	Wang Thong			16.774331, 100.381507; 16.849067, 100.449779; 16.838955, 100.454031
Phitsanulok	Noen Maprang			16.569018, 100.663093; 16.562546, 100.624955
Loei	Wang Saphung			17.302436, 101.752857; 17.261300, 101.747133; 17.310537, 101.789456; 17.314930, 101.789324
Chaiyapum	Ban Tan			16.391804, 102.356138
Khon Kaen	Ban Fang			16.473350, 102.635513; 16.482629, 102.625425; 16.504304, 102.643153; 16.521388, 102.670737; 16.532845, 102.656025; 16.528646, 102.655369; 16.493856, 102.656375; 16.490529, 102.655619; 16.477025, 102.650935

การทดลองที่ 3

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

Pest status survey of *Clavibacter michiganensis* subsp. *nebraskensis*
causal agent of Goss's Bacterial Wilt and Leaf Blight disease of Corn in Thailand

ณัฐริมา โฆษิตเจริญกุล^{1/} ชลธิชา รักใคร่^{2/} ทิพวรรณ กันหาญาติ^{1/} รุ่งนภา ทองเครื่อง^{1/}

^{1/}กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/}กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ประเทศไทยเป็นแหล่งผลิตข้าวโพดที่สำคัญของภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มีพื้นที่ปลูกประมาณ 7 ล้านไร่ ประเทศไทยนำเข้าเมล็ดข้าวโพดเพื่อการบริโภคและใช้เป็นพ่อพันธุ์แม่พันธุ์ เพื่อการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมสำหรับใช้ในประเทศและส่งออกไปยังประเทศต่างๆ ทำให้มีความเสี่ยงในการเป็นเส้นทางของศัตรูพืชกักกันที่สำคัญที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์ได้ โรคเหี่ยว (Goss's Bacterial Wilt of corn) หรือ โรคใบไหม้ (Leaf Blight of corn) โรคที่สำคัญของข้าวโพดและเป็นศัตรูกักกันพืชของประเทศไทย เชื้อสาเหตุเกิดจากแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *nebraskensis* เชื้อสามารถถ่ายทอดได้ทางเมล็ดพันธุ์ทำให้มีความเสี่ยงที่แบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis* อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์ได้ จำเป็นต้องมีการตรวจสอบสถานภาพของแบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis* ในพื้นที่ปลูกข้าวโพดในประเทศไทย อย่างเป็นระบบ เพื่อเป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ ในการกำหนดศัตรูพืชกักกัน การจัดทำวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชในการนำเข้าข้าวโพดจากประเทศสหรัฐอเมริกา และเป็นข้อมูลในการเจรจาการค้าเพื่อประโยชน์ต่อการส่งออกและนำเข้าข้าวโพดในอนาคต จากการสำรวจแหล่งปลูกข้าวโพด 27 แหล่งปลูก ตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2558- กันยายน 2561 จำนวน 499 แปลง ได้แก่ ลำพูน จำนวน 6 แปลง เชียงราย จำนวน 18 แปลง เชียงใหม่ จำนวน 13 แปลงแพร่ จำนวน 15 แปลง น่าน จำนวน 5 แปลง พะเยา จำนวน 9 แปลง ลำปาง จำนวน 42 แปลง อุตรดิตถ์ จำนวน 11 แปลง ตาก จำนวน 38 แปลง เพชรบูรณ์ จำนวน 61 แปลง พิษณุโลก จำนวน 12 แปลง กำแพงเพชร จำนวน 23 แปลง นครสวรรค์ จำนวน 10 แปลง อุทัยธานี 5 แปลง สิงห์บุรี จำนวน 3 แปลง กาญจนบุรี จำนวน 40 แปลง นครปฐม จำนวน 3 แปลง ราชบุรี จำนวน 17 แปลง นครราชสีมา จำนวน 77 แปลง สระบุรี จำนวน 25 แปลง ลพบุรี จำนวน 8 แปลง เลย จำนวน 17 แปลง หนองคาย จำนวน 18 แปลง บึงกาฬ จำนวน 6 แปลง สกลนคร จำนวน 2 แปลง นครพนม จำนวน 8 แปลง และ ศรีสะเกษ จำนวน 6 แปลง จากการสำรวจไม่พบลักษณะอาการของโรคเหี่ยว พบแต่ลักษณะอาการใบไหม้ เก็บตัวอย่างต้องสงสัยทั้งหมด 589 ตัวอย่าง นำมาตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ ผลการตรวจพบว่าตัวอย่างทั้งหมดไม่ใช่เชื้อแบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis*

คำสำคัญ: โรคเหี่ยว, โรคใบไหม้, แบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *Nebraskensis*

Abstracts

Clavibacter michiganensis subsp. nebraskensis causes Goss's Bacterial Wilt of corn or Leaf Blight of corn, is an important quarantine pest. The disease could be spread by seed transmission. Thailand is the important corn seed production in Southeast Asia. Every year Thailand import corn seed to use in seed production industry, it makes a high risk of bacterial disease enter through the farming systems in the country. Therefore, it is necessary to survey, monitoring and surveillance to the scientific information in preparing the list of pests, pest risk analysis and the pest-free area. From October 2015 to September 2018, a corn pest survey was conducted in Thailand to determine the establishment of *C. michiganensis subsp. nebraskensis*. Total 499 sites from 27 locations of corn productions (amphun, Chiang Rai, Chiang Mai, Phrae, Nan, Phayao, Lampang, Uttaradit, Tak, Phetchabun, Phitsanulok, Kamphaeng Phet, Nakhon Sawan, Uthai Thani, Sing Buri, Kanchanaburi, Nakhon Pathom, Ratchaburi, Nakhon Ratchasima, Lopburi, Loei, Nong Khai, Bueng Kan, Sakon Nakhon, Nakhon Phanom and Si Sa Ket province) were surveyed throughout the province. 589 samples of Leaf Blight symptoms were collected and detected for *C. michiganensis subsp. nebraskensis* by Isolation and Biochemical test and Real time PCR using specific primer Cmn probe. The result showed all samples were negative for *C. michiganensis subsp. nebraskensis*.

Key words: Goss's Bacterial Wilt, Leaf Blight, *Clavibacter michiganensis subsp. nebraskensis*

บทนำ

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

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

แบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis* มีพืชอาศัยที่สำคัญได้แก่ข้าวโพด ข้าวฟ่าง และ อ้อย (CABI, 2007) มีคุณสมบัติเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างเซลล์สั้นเป็นท่อน แต่อาจพบรูปร่างเป็นวงรี หรือเป็นรูปกล้วยบางในบางครั้ง ขนาดของเซลล์มีขนาด 0.5 x 2.0 ไมครอน (Schuster, 1975; Vidaver and Mandel, 1974). แบคทีเรียสามารถอยู่ข้ามฤดูได้โดยอยู่ในเศษซากข้าวโพดที่อยู่ในแปลงปลูก เมื่อปลูกข้าวโพดในฤดูถัดไปทำให้เกิดการระบาดได้ (Schuster, 1975) Smidt and Vidaver (1986) ได้ศึกษาประชากรของแบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis* ในแปลงที่มีการระบาดของโรค Goss's wilt ในฤดูการที่ผ่านมาพบว่าสามารถตรวจพบแบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis* จากดินและเศษซากพืชในแปลงปลูกในปี 1982-1983 ที่ เมืองเนบราสก้า สหรัฐอเมริกาและประชากรของแบคทีเรียในซากพืชจะสูงในระยะเก็บเกี่ยวในเดือนตุลาคม จะลดลงเมื่อเข้าสู่ฤดูหนาว

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

ระเบียบวิธีการวิจัย

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ได้แก่ ตู้เชื้อเชื้อชนิดปลอดเชื้อ อุปกรณ์การแยกเชื้อแบคทีเรีย
2. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ตู้เย็นสำหรับเก็บตัวอย่าง หม้อนึ่งความดันไอน้ำ เครื่องเขย่าชนิดควบคุมอุณหภูมิ เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ตู้อบ (oven) เครื่อง Real time PCR
3. เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่นๆที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องชั่ง, pH meter เป็นต้น
4. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

วิธีการทดลอง

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

ขั้นตอนและวิธีในการวิจัย ดำเนินการตามขั้นตอนต่อไปนี้

1. ศึกษา รวบรวมข้อมูลลักษณะของแบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis* ได้แก่ รายละเอียดของเชื้อ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพ้อง และลักษณะอาการของโรคเหี่ยว (Goss's Bacterial Wilt of corn) หรือ โรคใบไหม้ (Leaf Blight of corn) พร้อมรูปภาพ และจัดทำคู่มือการสำรวจ โดยการรวบรวมตัวอย่างอ้างอิงและรูปภาพของโรคของข้าวโพดที่เกิดจากแบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis* เพื่อใช้ในการตรวจสอบอ้างอิงขณะทำการสำรวจและจัดทำข้อมูลศัตรูพืช ชื่อสามัญ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพืชอาศัย อาการของโรค รูปภาพสีของโรค และรายละเอียดของศัตรูพืชชนิดอื่นที่คล้ายคลึงกับศัตรูพืชเป้าหมาย

2. การสำรวจ

จัดทำฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจได้แก่ ชื่อที่อยู่ที่ตั้งของแปลง วันและเวลา สภาพดินฟ้าอากาศ ตำแหน่งที่ตั้ง (พิกัด GPS) เป็นต้น

วางแผน การสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (Specific survey) ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (Guidelines for surveillance: ISPM No. 6) โดยทำการสำรวจแบบสืบพบ (Detection survey) เพื่อสืบค้นหาศัตรูพืชเป้าหมายสำรวจอย่างน้อย 10 แปลง ต่อพื้นที่ แต่ละแปลงทำการสุ่มตัวอย่างแบบเป็นระบบ โดยเดินตามเส้นทแยงมุม ทุกๆ 10 ก้าว ตรวจสอบโรคจุดละ 10 ต้น จำนวน 10 จุดต่อแปลง หรือ 10เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่แปลง

การกำหนดพื้นที่สำรวจ โดยเป็นแหล่งผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดที่สำคัญของประเทศ จำนวน 27 แหล่งปลูก ตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2558- กันยายน 2561 จำนวน 499 แปลง ได้แก่ ลำพูน เชียงราย เชียงใหม่ แพร่ น่าน พะเยา ลำปาง อุตรดิตถ์ ตาก เพชรบูรณ์ พิษณุโลก กำแพงเพชร นครสวรรค์ อุทัยธานี สิงห์บุรี กาญจนบุรี นครปฐมราชบุรี สระบุรี ลพบุรี นครราชสีมา เลย หนองคาย บึงกาฬ สกลนคร นครพนม และศรีสะเกษ ดำเนินการสำรวจตาม ISPM No. 6 (Guidelines for surveillance) วางแผนการสำรวจอย่างน้อย 10 แปลง ต่อพื้นที่ แต่ละแปลงทำการสุ่มตัวอย่างแบบเป็นระบบโดยเดินตามเส้นทแยงมุม ทุกๆ 10 ก้าว ตรวจสอบโรคจุดละ 10 ต้น จำนวน 10 จุดต่อแปลง หรือ 10 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่แปลง

การตรวจตรวจวินิจฉัยแบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis* ในแปลงปลูกข้าวโพด สังเกตจากลักษณะอาการของโรคที่พบในแปลงข้าวโพดเปรียบเทียบกับคู่มือการสำรวจที่จัดทำไว้ บันทึก รายละเอียดข้อมูลของแปลง บันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป เก็บตัวอย่างห่อกระดาษและใส่ถุง นำกลับมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ

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

3.1. การจำแนกแบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis* ตามลักษณะทางสรีรวิทยา สัณฐานวิทยา และคุณสมบัติทางชีวเคมี ตามวิธีของ Schaad *et al.* (2001) ได้แก่ Gram staining, Potassium hydroxide solubility, Kovac's, Levan, Sugar fermentation, Catalase และ Arginine dihydrolase test

3.2 การจำแนกแบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis* โดยใช้วิธี real time PCR โดยใช้ specific primer ของ Gudmestad *et al.* (2009)

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกรายละเอียดตำแหน่งของแปลงปลูกข้าวโพดที่ทำการสำรวจ/เก็บตัวอย่าง
- บันทึกข้อมูลจำนวนแปลง และจำนวนตัวอย่างที่ทำการสำรวจ/เก็บตัวอย่าง
- บันทึกลักษณะอาการการเกิดโรค ส่วนของพืชที่พบอาการของโรค ประเมินความรุนแรงของโรค และการแพร่กระจายในพื้นที่
- บันทึกข้อมูลลักษณะเชื้อสาเหตุโรคพืช และการตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ

เวลาและสถานที่

ต.ค.56 – ก.ย.58 ที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1. ศึกษา รวบรวมข้อมูลลักษณะของแบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis* รวบรวมข้อมูล

รายละเอียดของเชื้อแบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis* จาก CAB International, 2015

(<https://www.cabi.org/cpc/datasheet/15339>) ดังนี้

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Clavibacter michiganensis* subsp. *nebraskensis* (Vidaver & Mandel 1974) Davis *et al.* 1984

Domain: Bacteria

Phylum: Actinobacteria [phylum]

Class: Actinobacteria

Subclass: Actinobacteridae

Order: Actinomycetales

Suborder: Micrococciaceae

Family: Microbacteriaceae

Genus: Clavibacter

Species: Clavibacter michiganensis subsp. Nebraskensis

แบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative) ไม่ใช้กรดอย่างรวดเร็วกว่า (non-acid-fast) ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนไหว (non-motile) รูปร่างเป็นท่อนไม่แน่นอนมีขนาดต่างๆกัน (pleomorphic rod-shaped bacterium) อาจสังเกตเห็นรูปร่างของถัวยและบางครั้งก็เป็นรูปวงรีหรือรูปไข่หรือรูปร่างคล้ายเส้นจันท์ มีขนาด $0.5 \times 1-2.0 \mu\text{m}$ ซึ่งมักจะจัดกลุ่มในการจัดเรียงเชิงมุมเป็นแนวตั้ง

แบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis* เป็นแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว (Goss's Bacterial Wilt of corn) หรือ โรคใบไหม้ (Leaf Blight of corn) ถูกค้นพบครั้งแรกที่เมืองเนบราสก้า ประเทศสหรัฐอเมริกา ในปี 1969 และค่อยๆแพร่กระจายไปทั่วแหล่งปลูกข้าวโพดของสหรัฐอเมริกา มีรายงานการพบโรคนี้ในเมืองออนแทรีโอ ประเทศแคนาดาในช่วงฤดูปลูก 1999 แต่ในรายงานการสำรวจโรคของข้าวโพดประจำปี ของเมืองออนแทรีโอ และ เมืองควิเบค ไม่พบแบคทีเรียชนิดนี้ (Zhu et al., 2005)

พืชอาศัย : ข้าวโพด ข้าวฟ่าง อ้อย

การถ่ายทอดโรค : ถ่ายทอดผ่านเมล็ด (Seed Transmitted)

ความเสี่ยงด้านสุขอนามัยพืช : เชื้อพบได้ในสหรัฐอเมริกาเท่านั้นและมีความเสี่ยงที่สำคัญในการกักกันพืช อย่างไรก็ตามความเสี่ยงนี้อยู่ในระดับปานกลางเท่านั้นเนื่องจากมีข้าวโพดและพันธุ์ลูกผสมรุ่นใหม่ที่เป็นพันธุ์ต้านทานต่อโรคนี้ และระดับการถ่ายทอดโรคผ่านทางเมล็ดต่ำเป็นเหตุผลที่ทำให้การแพร่กระจายของโรคนี้ในสหรัฐอเมริกายังคงจำกัดอยู่นับตั้งแต่รายงานครั้งแรกในเมืองเนบราสก้า ในปี 1969 เป็นต้นมา (Biddle et al., 1990)

ลักษณะอาการของโรคสาเหตุโรคเหี่ยว (Goss's Bacterial Wilt of corn) หรือ โรคใบไหม้ (Leaf Blight of corn)

แผลที่ปรากฏบนใบเป็นแผลไม่ต่อเนื่อง ลักษณะของแผลยาวเป็นเส้นฉ่ำน้ำขนานกับเส้นใบ อาจพบหยดแบคทีเรียปรากฏขึ้นบนแผล แผลอาจเกิดขึ้นทั้งในต้นกล้าหรือต้นที่เจริญเติบโตและเชื้ออาจเกิดบนใบโดยตรงหรือเข้าทำลายรากและเหง้าของต้นกล้า ทำให้ต้นกล้าเหี่ยวเฉาและตาย

อาการที่พบในต้นโตจะพบอาการแคระแกรนเหี่ยวเฉาหรือใบไหม้เป็นแผลยาวสีเทาถึงสีเขียวอ่อนถึงสีเหลือง อาจพบสีแดงปนในพันธุ์ลูกผสมบางชนิด ขอบแผลมีรอยหยักหรือแผลไม่สม่ำเสมอตามเส้นใบ แผลจุดกระฉ่ำน้ำไม่ต่อเนื่องยาวไปตามเส้นใบเป็นลักษณะของโรคนี้ จุดเหล่านี้มีสีเขียวเข้มถึงดำและมีลักษณะเป็นจุดกระเมื่อใบที่ที่เป็นโรคเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และในที่สุดจุดกระเหล่านี้รวมกันเป็นแผลไหม้แถบยาวคล้ายผลกระทบบจากภัยแล้ง

พบว่าการเปลี่ยนสีเหลืองหรือสีแดงของจุดที่แผลฉ่ำน้ำโดยทั่วไปที่เกิดจากแบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis* แตกต่างกันไปตามเทคนิคการปลูกเชื้อและยีนสองชนิดที่ควบคุมการแสดงออกของพืช (Schuster et al., 1985)

ต้นข้าวโพดที่เป็นโรคจะพบว่าท่อน้ำท่ออาหารเปลี่ยนสีเนื่องจากถูกแบคทีเรียทำลาย ส่วนรากจะพบอาการแห้งหรือฉ่ำน้ำ ต่อมารากจะเน่าเป็นสีน้ำตาลสลับ อาจพบอาการดังกล่าวบริเวณลำต้นส่วนล่าง แบคทีเรียสาเหตุโรคสามารถเข้าทำลายต้นข้าวโพดได้ทุกระยะของการเจริญเติบโต ทำให้ต้นข้าวโพดเหี่ยวและตายในที่สุด

ชีววิทยาของแบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis*

แบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis* อยู่ข้ามฤดูหนาวโดยอยู่ในเศษซากข้าวโพดที่ผ่านฤดูหนาวและเป็นแหล่งระบาดของโรคในฤดูปลูกต่อมา (Schuster, 1975) แบคทีเรียสาเหตุโรคถูกพบจากต้น

ข้าวโพดที่ปลูกในแปลงและในเศษซากข้าวโพดที่ตกค้างตลอดปี 1982 และ 1983 ในเมืองเนบราสก้า ประเทศสหรัฐอเมริกา ประชากรของเชื้อโรคในเศษซากข้าวโพดจะมีปริมาณสูงที่สุดหลังการเก็บเกี่ยวในเดือน ตุลาคมและลดลง 4-5 เท่าเมื่อเข้าสู่ฤดูหนาวและฤดูร้อน (Smidt และ Vidaver, 1986)

ประชากรของแบคทีเรีย *C. michiganensis subsp. nebraskensis* ที่อยู่ในต้นข้าวโพดจะเพิ่มขึ้น 3-4 เท่าตลอดฤดูเพาะปลูก พบว่าช่วงต้นเดือนมิถุนายนสามารถแยกแบคทีเรียได้จากผิวของต้นข้าวโพดจากแปลง ก่อนที่ต้นข้าวโพดจะแสดงอาการแสดงว่าแบคทีเรียสาเหตุโรครอคอยู่ในระยะ epiphytic phase อาการของโรคจะพบ หลังกลางเดือนกรกฎาคม เมื่อประชากรของแบคทีเรียสาเหตุโรครอคมีปริมาณถึง 107 cfu/1 กรัมของน้ำหนักสดของ ใบ (Smidt and Vidaver, 1986)

ผลของการทดสอบการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *C. michiganensis subsp. nebraskensis* ที่ด้านทานต่อสาร ปฏิชีวนะ rifampicin บนใบข้าวโพดพันธุ์อ่อนแอสายพันธุ์ A632Ht พบว่าประชากรของแบคทีเรีย *C. michiganensis subsp. nebraskensis* เพิ่มขึ้นในเมล็ด รากแขนง และลำต้น (Biddle et al., 1990) นอกจากนี้การเกิดบาดแผลจากลมหรือทราายเป็นช่องทางที่แบคทีเรียสาเหตุโรครอคเข้าทำลายทำให้เกิดโรคได้ (Rocheford et al., 1985)

อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *C. michiganensis subsp. nebraskensis* ใน หลอดทดลองคือ 27 °C อัตราการเจริญเติบโตลดลงเมื่ออยู่ที่อุณหภูมิเย็นจนถึง 12°C ไม่มีการเจริญเติบโต และจะ ตายที่อุณหภูมิ 38°C เมื่อนำต้นพืชที่ถูกปลูกด้วยเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรครอคเปลี่ยนจากอุณหภูมิที่เหมาะสม (32/25°C day/night) ไปไว้ที่อุณหภูมิที่ไม่เหมาะสม (40/20°C) ผลพบว่าอัตราการเจริญเติบโตของแบคทีเรียลดลงอย่าง รวดเร็ว อย่างไรก็ตามพืชที่ถูกปลูกด้วยเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรครอคเมื่อนำจากสภาพที่ไม่เหมาะสมไปอยู่ในสภาพที่ เหมาะสมการเจริญเติบโตของแบคทีเรียเพิ่มขึ้นและถึงอัตราสูงสุดอย่างรวดเร็ว (Smidt และ Vidaver, 1986)

จากการศึกษาการเกิดโรคบนต้นข้าวโพดระหว่างโรค Goss's wilt และ โรค Stewart's bacterial wilt ที่ เกิดจากแบคทีเรีย *Pantoea stewartii* พบว่ามีลักษณะที่ใกล้เคียงกันโดยมีความสัมพันธ์สูงในระดับ 1%ของความ น่าจะเป็นสำหรับ ข้าวโพดหวานในระยะปลายฤดูปลูกในการทดลองเรือนกระจก ลักษณะอาการที่พบความ คล้ายคลึงกันบนข้าวโพดลูกผสมของโรคแบคทีเรียทั้งสองอาจเป็นผลมาจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพืชเช่น ความสูงของพืชหรือความต้านทานทางพันธุกรรม แตกต่างจากอาการของโรคใบไหม้แผลใหญ่ (northern corn leaf blight)ที่เกิดจาก เชื้อรา *Exserohilum turcicum* มีค่า ความน่าจะเป็นที่ระดับ 0.34-0.63 % (Pataky, 1985)

2. การสำรวจ

จากการสำรวจแหล่งปลูกข้าวโพด 27 แหล่งปลูก ตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2558- กันยายน 2561 จำนวน 499 แปลง ได้แก่ ลำพูน เชียงราย เชียงใหม่ แพร่ น่าน พะเยา ลำปาง อุตรดิตถ์ ตาก เพชรบูรณ์ พิษณุโลก กำแพงเพชร นครสวรรค์ อุทัยธานี สิงห์บุรี กาญจนบุรี นครปฐม ราชบุรี สระบุรี ลพบุรี นครราชสีมา เลย หนองคาย บึงกาฬ สกลนคร นครพนม และศรีสะเกษ (ตารางที่ 1) จากการสำรวจไม่พบลักษณะอาการของโรคเหี่ยว (Goss' bacterial wilt) พบแต่ลักษณะอาการใบไหม้ เก็บตัวอย่างต้องสงสัยทั้งหมด 589 ตัวอย่าง เพื่อมาตรวจใน ห้องปฏิบัติการ

3. การตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ

นำตัวอย่าง 589 ตัวอย่างมาตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ โดยการนำตัวอย่างใบข้าวโพดที่เก็บมาจากแปลง มาแยกเชื้อแบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis* โดยตัดใบข้าวโพดเป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาด 4 ตร.มม. ระหว่างรอยต่อของส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แต่ละชิ้นตัวอย่างนำมาล้างด้วยแอลกอฮอล์ 70% 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งแล้ว 3 ครั้ง หลังจาก surface sterilize แล้วนำมาบดในน้ำกลั่น ใช้ loop จุ่มในพีชที่บดนำมา streak บนจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารเฉพาะ CNS medium บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 28 °C นาน 48-72 ชั่วโมง ไม่พบแบคทีเรียที่โคโลนีที่สร้าง apricot orange pigment พบการแยกเชื้อตัวอย่างทั้ง 504 ตัวอย่างไม่ใช่เชื้อแบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis*

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการสำรวจแหล่งปลูกข้าวโพด 27 แหล่งปลูก ตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2558- กันยายน 2561 จำนวน 499 แปลง ได้แก่ ลำพูน เชียงราย เชียงใหม่ แพร่ น่าน พะเยา ลำปาง อุตรดิตถ์ ตาก เพชรบูรณ์ พิษณุโลก กำแพงเพชร นครสวรรค์ อุทัยธานี สิงห์บุรี กาญจนบุรี นครปฐม ราชบุรี สระบุรี ลพบุรี นครราชสีมา เลย หนองคาย บึงกาฬ สกลนคร นครพนม และศรีสะเกษ ไม่พบเชื้อแบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis*

Table 1 List of corn plantations had been surveyed.

No.	Location	Plant	Number of samples	Laboratory results
1	ต.ศรีวิชัย อ.ลิ้ม จ.ลำพูน	ข้าวโพด	2	-
2	ต.ศรีวิชัย อ.ลิ้ม จ.ลำพูน	ข้าวโพด	2	-
3	ต.ศรีวิชัย อ.ลิ้ม จ.ลำพูน	ข้าวโพด	2	-
4	ต.ศรีวิชัย อ.ลิ้ม จ.ลำพูน	ข้าวโพดหวาน	1	-
5	อ.ไชยปราการ จ.เชียงใหม่	ข้าวโพดหวาน	1	-
6	ต.แม่สุ่น อ.ฝาง จ.เชียงใหม่	ข้าวโพด	2	-
7	ต.สันทราย อ.ฝาง จ.เชียงใหม่	ข้าวโพด	2	-
8	ต.สันทราย อ.ฝาง จ.เชียงใหม่	ข้าวโพด	2	-
9	ต.สันทราย อ.ฝาง จ.เชียงใหม่	ข้าวโพด	1	-
10	ต.สันทราย อ.ฝาง จ.เชียงใหม่	ข้าวโพดหวาน	1	-
11	ต.สันทราย อ.ฝาง จ.เชียงใหม่	ข้าวโพดหวาน	1	-
12	ต.สันทราย อ.ฝาง จ.เชียงใหม่	ข้าวโพดหวาน	1	-
13	ต.สันทราย อ.ฝาง จ.เชียงใหม่	ข้าวโพดหวาน	1	-
14	อ.แม่สรวย จ.เชียงใหม่	ข้าวโพดหวาน	2	-
15	อ.แม่สรวย จ.เชียงใหม่	ข้าวโพดหวาน	2	-
16	บ.โฮ้ง ต.แม่เจดีย์ อ.เวียงป่าเป้า จ.เชียงราย	ข้าวโพดหวาน	2	-
17	บ.แม่ยางกาด ต.แม่ยางตาล อ.ร้องกวาง จ.แพร่	ข้าวโพดหวาน	2	-
18	ต.ม่วงตึ๊ด อ.ภูเพียง จ.น่าน	ข้าวโพดหวาน	2	-
19	ม.7 บ.แช่กลาง ต.ท่าข้าว อ.ภูเพียง จ.น่าน	ข้าวโพดหวาน	1	-
20	บ.ร้องตอง ต.ม่วงตึ๊ด อ.ภูเพียง จ.น่าน	ข้าวโพดหวาน	1	-
21	ต.สระ อ.เชียงม่วน จ.พะเยา	ข้าวโพดหวาน	1	-
22	ต.ท่าพุทธา อ.คลองขลุง จ.กำแพงเพชร	ข้าวโพดหวาน	1	-
23	ต.ตะเคียนเลื่อน อ.เมือง จ.นครสวรรค์	ข้าวโพดหวาน	1	-
24	อ.ชาติตระการ จ.พิษณุโลก	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
25	อ.ชาติตระการ จ.พิษณุโลก	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
26	ม.5 บ.พร้าว ต.บ้านพร้าว อ.นครไทย จ.พิษณุโลก	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
27	บ.พร้าว ต.บ้านพร้าว อ.นครไทย จ.พิษณุโลก	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
28	บ.พร้าว ต.บ้านพร้าว อ.นครไทย จ.พิษณุโลก	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
29	บ.พร้าว ต.บ้านพร้าว อ.นครไทย จ.พิษณุโลก	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
30	ม.14 ต.เนินเพิ่ม อ.นครไทย จ.พิษณุโลก	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
31	ม.14 ต.เนินเพิ่ม อ.นครไทย จ.พิษณุโลก	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
32	ต.เนินเพิ่ม อ.นครไทย จ.พิษณุโลก	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
33	ต.บ่อโพธิ์ อ.นครไทย จ.พิษณุโลก	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
34	ต.บ่อโพธิ์ อ.นครไทย จ.พิษณุโลก	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-

Table 1 List of corn plantations had been surveyed. (Continue)

No.	Location	Plant	Number of samples	Laboratory results
35	ต.บ่อโพธิ์ อ.นครไทย จ.พิษณุโลก	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
36	ต.เสี้ยว อ.เมือง จ.เลย	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
37	ต.เสี้ยว อ.เมือง จ.เลย	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
38	ต.ธาตุ อ.เขียงคาน จ.เลย	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
39	ต.นาข้าว อ.เขียงคาน จ.เลย	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
40	ต.บุษม อ.เขียงคาน จ.เลย	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
41	ต.ปากชม อ.ปากชม จ.เลย	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
42	บ.ห้วยผักกูด ต.เขียงกลม อ.ปากชม จ.เลย	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
43	ต.เขียงกลม อ.ปากชม จ.เลย	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
44	ต.เขียงกลม อ.ปากชม จ.เลย	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
45	ต.ธาตุ อ.เขียงคาน จ.เลย	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
46	บ.ป่านาอีเลิศ ต.วังสะพุง อ.วังสะพุง จ.เลย	ข้าวโพดข้าวเหนียว	1	-
47	บ.ถิ่น ต.นาโป่ง อ.เมือง จ.เลย	ข้าวโพด	1	-
48	บ.ฟากนา ต.นาอาน อ.เมือง จ.เลย	ข้าวโพด	2	-
49	ต.นาอาน อ.เมือง จ.เลย	ข้าวโพดข้าวเหนียว	2	-
50	ต.นาอาน อ.เมือง จ.เลย	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
51	ต.โป่ง อ.ด่านซ้าย จ.เลย	ข้าวโพด	2	-
52	บ.น้ำพุ ต.โป่ง อ.ด่านซ้าย จ.เลย	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
53	ต.นาซำ อ.หล่มเก่า จ.เพชรบูรณ์	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
54	บ.น้ำบอน ต.หินฮาว อ.หล่มเก่า จ.เพชรบูรณ์	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
55	ต.หล่มเก่า อ.หล่มเก่า จ.เพชรบูรณ์	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
56	ม.1 ต.หล่มเก่า อ.หล่มเก่า จ.เพชรบูรณ์	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
57	ต.หล่มเก่า อ.หล่มเก่า จ.เพชรบูรณ์	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
58	อ.หล่มสัก จ.เพชรบูรณ์	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
59	ต.ลานป่า อ.หล่มสัก จ.เพชรบูรณ์	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
60	ต.ลานป่า อ.หล่มสัก จ.เพชรบูรณ์	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
61	อ.หล่มสัก จ.เพชรบูรณ์	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
62	ต.บึงคล้า อ.หล่มสัก จ.เพชรบูรณ์	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
63	ต.ซอนไพร อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
64	ต.ซอนไพร อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
65	บ.หัวนา ต.ซอนไพร อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
66	ต.สะเดียง อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
67	ต.สะเดียง อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-

Table 1 List of corn plantations had been surveyed. (Continue)

No.	Location	Plant	Number of samples	Laboratory results
68	ม.7 ต.สะเดียง อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
69	ต.สะเดียง อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
70	ต.ป่าเลา อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
71	ต.ป่าเลา อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์, ข้าวโพดฝักอ่อน	1	-
72	ต.บ้านโตก อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
73	ต.สะเดียง อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
74	ต.สะเดียง อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
75	ต.บ้านโตก อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
76	ต.น้ำซุน อ.หล่มสัก จ.เพชรบูรณ์	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
77	ต.น้ำซุน อ.หล่มสัก จ.เพชรบูรณ์	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
78	ต.บุงน้ำเต้า อ.หล่มสัก จ.เพชรบูรณ์	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
79	ต.บุงคล้า อ.หล่มสัก จ.เพชรบูรณ์	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
80	ต.บุงคล้า อ.หล่มสัก จ.เพชรบูรณ์	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
81	ต.สะเดียง อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
82	ต.สะเดียง อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
83	ต.ดงมูลเหล็ก อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
84	ต.นาป่า อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
85	ต.นาป่า อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
86	ม.16 ต.นาป่า อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
87	ต.วังชมภู อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
88	ต.วิเชตนคร อ.แจ้ห่ม จ.ลำปาง	ข้าวโพดหวาน	2	-
89	บ.ทุ่งทอง ต.วิเชตนคร อ.แจ้ห่ม จ.ลำปาง	ข้าวโพดหวาน	2	-
90	บ.ทุ่งทอง ต.วิเชตนคร อ.แจ้ห่ม จ.ลำปาง	ข้าวโพดหวาน	2	-
91	บ.ทุ่งทอง ต.วิเชตนคร อ.แจ้ห่ม จ.ลำปาง	ข้าวโพดหวาน	2	-
92	บ.แม่สุก ต.แม่สุก อ.แจ้ห่ม จ.ลำปาง	ข้าวโพดหวาน	1	-
93	ม.4 บ.ทุ่งคาก ต.แม่สุก อ.แจ้ห่ม จ.ลำปาง	ข้าวโพดหวาน	1	-
94	ต.แม่สุก อ.แจ้ห่ม จ.ลำปาง	ข้าวโพดหวาน	1	-
95	ต.ร่องเคาะ อ.วังเหนือ จ.ลำปาง	ข้าวโพดหวาน	1	-
96	ต.ร่องเคาะ อ.วังเหนือ จ.ลำปาง	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
97	ต.ร่องเคาะ อ.วังเหนือ จ.ลำปาง	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
98	ต.ร่องเคาะ อ.วังเหนือ จ.ลำปาง	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-

Table 1 List of corn plantations had been surveyed. (Continue)

No.	Location	Plant	Number of samples	Laboratory results
99	บ.ห้วยก้อด ต.ร่องเคาะ อ.วังเหนือ จ.ลำปาง	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
100	ม.6 บ.ทุ่งฝาง ต.บ้านคำ อ.เมือง จ.ลำปาง	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
101	ม.6 บ.ทุ่งฝาง ต.บ้านคำ อ.เมือง จ.ลำปาง	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
102	ม.6 บ.ทุ่งฝาง ต.บ้านคำ อ.เมือง จ.ลำปาง	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
103	ม.8 บ.ใหม่รุ่งเจริญ ต.บ้านคำ อ.เมือง จ.ลำปาง	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
104	ม.8 บ.ใหม่รุ่งเจริญ ต.บ้านคำ อ.เมือง จ.ลำปาง	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
105	ต.รวมไทยพัฒนา อ.พบพระ จ.ตาก	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
106	ต.รวมไทยพัฒนา อ.พบพระ จ.ตาก	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
107	ต.รวมไทยพัฒนา อ.พบพระ จ.ตาก	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
108	ต.รวมไทยพัฒนา อ.พบพระ จ.ตาก	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
109	ต.รวมไทยพัฒนา อ.พบพระ จ.ตาก	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
110	บ.ขุนห้วยช่องแคบ ต.ช่องแคบ อ.พบพระ จ.ตาก	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
111	ต.ช่องแคบ อ.พบพระ จ.ตาก	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
112	ต.แม่ปะ อ.แม่สอด จ.ตาก	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
113	ต.แม่ปะ อ.แม่สอด จ.ตาก	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
114	ม.2 ต.ชนะจื้อ อ.แม่ระมาด จ.ตาก	ข้าวโพดหวาน	2	-
115	ม.6 บ.ป่าไม้ห้า ต.แม่ระมาด อ.แม่ระมาด จ.ตาก	ข้าวโพดหวาน	2	-
116	บ.ใหม่ ต.แม่จะเรา อ.แม่ระมาด จ.ตาก	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
117	ต.แม่จะเรา อ.แม่ระมาด จ.ตาก	ข้าวโพดข้าวเหนียว หวานลูกผสม	1	-
118	บ.แม่กีดหลวง ต.แม่กาษา อ.แม่สอด จ.ตาก	ข้าวโพด	1	-
119	ต.แม่ปะ อ.แม่สอด จ.ตาก	ข้าวเหนียวหวาน ลูกผสม	2	-
120	ต.ท่าขุนราม อ.เมือง จ.กำแพงเพชร	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
121	ต.ท่าขุนราม อ.เมือง จ.กำแพงเพชร	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
122	ต.ท่าขุนราม อ.เมือง จ.กำแพงเพชร	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
123	ม.4 ต.ท่าขุนราม อ.เมือง จ.กำแพงเพชร	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
124	ต.นครชุม อ.เมือง จ.กำแพงเพชร	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
125	ม.4 บ.หนองขาม ต.ท่าพุทธา อ.คลองขลุง จ.กำแพงเพชร	ข้าวโพด	2	-
126	ต.เขากวางทอง อ.หนองฉาง จ.อุทัยธานี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
127	ต.เขากวางทอง อ.หนองฉาง จ.อุทัยธานี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
128	ม.9 บ.ทัพตาบัว ต.เขากวางทอง อ.หนองฉาง จ.อุทัยธานี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-

Table 1 List of corn plantations had been surveyed. (Continue)

No.	Location	Plant	Number of samples	Laboratory results
129	บ.ทัพตาบัว ต.เขากวางทอง อ.หนองฉาง จ.อุทัยธานี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
130	ต.เขากวางทอง อ.หนองฉาง จ.อุทัยธานี	ข้าวโพด (แป้ง)	1	-
131	บ.บางน้ำพร ต.แพรศรีราชา อ.สรรคบุรี จ.ชัยนาท	ข้าวโพดหวาน	1	-
132	ต.พุนกยูง อ.ตากฟ้า จ.นครสวรรค์	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
133	ม.7 บ.พุนกยูง ต.พุนกยูง อ.ตากฟ้า จ.นครสวรรค์	ข้าวโพดหวาน	1	-
134	ต.อินทร์บุรี อ.อินทร์บุรี จ.สิงห์บุรี	ข้าวโพด	1	-
135	ต.ทับยา อ.อินทร์บุรี จ.สิงห์บุรี	ข้าวโพด	2	-
136	ต.ท่างาม อ.อินทร์บุรี จ.สิงห์บุรี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
137	ต.หนองลาน อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพดฝักอ่อน	2	-
138	บ.ดอนรัก ต.พระแท่น อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพดฝักอ่อน	2	-
139	บ.หนองจุก ต.พระแท่น อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพดฝักอ่อน	2	-
140	ต.หนองขาว อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพดฝักอ่อน	2	-
141	ม.3 บ.หนองไผ่ ต.ทุ่งทอง อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพดฝักอ่อน	1	-
142	ม.6 ต.วังขนาย อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพดหวาน	1	-
143	ม.5 ต.วังขนาย อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพดหวาน	1	-
144	ต.วังขนาย อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพดหวาน	1	-
145	ต.ตะคร้ำเอน อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพดฝักอ่อน	1	-
146	ต.ตะคร้ำเอน อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพดฝักอ่อน	1	-
147	บ.ดอนสำราญ ต.ดอนชะเอม อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพดฝักอ่อน	1	-
148	บ.ทุ่งมะกรูด ต.ดอนชะเอม อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพดฝักอ่อน	2	-
149	ต.ทุ่งลูกนก อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม	ข้าวโพดฝักอ่อน	2	-
150	ต.ห้วยหมอนทอง อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม	ข้าวโพด	2	-
151	ต.ทุ่งลูกนก อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม	ข้าวโพดฝักอ่อน	2	-
152	ต.เบิกไพร อ.จอมบึง จ.ราชบุรี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
153	ม.4 ชุมชนหนองบัว ต.จอมบึง อ.จอมบึง จ.ราชบุรี	ข้าวโพด	1	-
154	ต.จอมบึง อ.จอมบึง จ.ราชบุรี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
155	ต.เบิกไพร อ.จอมบึง จ.ราชบุรี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
156	ต.เบิกไพร อ.จอมบึง จ.ราชบุรี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
157	ต.ด่านทับตะโก อ.จอมบึง จ.ราชบุรี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	1	-
158	ต.ด่านทับตะโก อ.จอมบึง จ.ราชบุรี	ข้าวโพดหวาน	1	-
159	ม.11 บ.เกาะมะขาง ต.ด่านทับตะโก อ.จอมบึง จ.ราชบุรี	ข้าวโพด	1	-
160	ต.แก้มอ้น อ.จอมบึง จ.ราชบุรี	ข้าวโพด	1	-

Table 1 List of corn plantations had been surveyed. (Continue)

No.	Location	Plant	Number of samples	Laboratory results
161	ต.แก้มอัน อ.จอมบึง จ.ราชบุรี	ข้าวโพด	1	-
162	ต.แก้มอัน อ.จอมบึง จ.ราชบุรี	ข้าวโพด	1	-
163	ต.หนองไผ่ อ.ด่านมะขามเตี้ย จ.ราชบุรี	ข้าวโพด	1	-
164	ต.หนองไผ่ อ.ด่านมะขามเตี้ย จ.ราชบุรี	ข้าวโพด	2	-
165	ต.แก้มอัน อ.จอมบึง จ.ราชบุรี	ข้าวโพด	2	-
166	ต.หนองโพ อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี	ข้าวโพดฝักอ่อน	2	-
167	ต.หนองอ้อ อ.บ้านโป่ง จ.ราชบุรี	ข้าวโพดฝักอ่อน	2	-
168	ต.หนองอ้อ อ.บ้านโป่ง จ.ราชบุรี	ข้าวโพด	2	-
169	ต.ยางชุมน้อย อ.ยางชุมน้อย จ.ศรีสะเกษ	ข้าวโพด	2	-
170	ม.3 ต.ยางชุมน้อย อ.ยางชุมน้อย จ.ศรีสะเกษ	ข้าวโพดข้าวเหนียว ลูกผสม	2	-
171	ม.8 ต.ละทาย อ.กันทรารมย์ จ.ศรีสะเกษ	ข้าวโพด	2	-
172	ม.10 ต.บึงบอน อ.ยางชุมน้อย จ.ศรีสะเกษ	ข้าวโพดหวาน	2	-
173	ต.บึงบอน อ.ยางชุมน้อย จ.ศรีสะเกษ	ข้าวโพดหวาน	2	-
174	ต.บึงบอน อ.ยางชุมน้อย จ.ศรีสะเกษ	ข้าวโพด	2	-
175	ต.ท่าเยี่ยม อ.โคกชัย จ.นครราชสีมา	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
176	ต.โคกไทย อ.ปรางค์ชัย จ.นครราชสีมา	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
177	ม.9 ต.โคกไทย อ.ปรางค์ชัย จ.นครราชสีมา	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
178	ม.9 ต.โคกไทย อ.ปรางค์ชัย จ.นครราชสีมา	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
179	ม.9 ต.โคกไทย อ.ปรางค์ชัย จ.นครราชสีมา	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
180	ต.ธงชัยเหนือ อ.ปรางค์ชัย จ.นครราชสีมา	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
181	ต.ธงชัยเหนือ อ.ปรางค์ชัย จ.นครราชสีมา	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
182	ต.ตะคุ อ.ปรางค์ชัย จ.นครราชสีมา	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
183	ต.หนองตะไก่อ.สูงเนิน จ.นครราชสีมา	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
184	ม.5 บ.หนองแวง ต.หนองตะไก่อ.สูงเนิน จ.นครราชสีมา	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
185	ม.5 บ.หนองแวง ต.หนองตะไก่อ.สูงเนิน จ.นครราชสีมา	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
186	บ.หนองแวง ต.หนองตะไก่อ.สูงเนิน จ.นครราชสีมา	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
187	บ.หนองแวง ต.หนองตะไก่อ.สูงเนิน จ.นครราชสีมา	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
188	ต.หนองตะไก่อ.สูงเนิน จ.นครราชสีมา	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
189	ต.หนองตะไก่อ.สูงเนิน จ.นครราชสีมา	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
190	ต.สูงเนิน อ.สูงเนิน จ.นครราชสีมา	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
191	บ.หนองม่วง ต.มะเกลือเก่า อ.สูงเนิน จ.นครราชสีมา	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
192	บ.หนองม่วง ต.มะเกลือเก่า อ.สูงเนิน จ.นครราชสีมา	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
193	บ.หนองม่วง ต.มะเกลือเก่า อ.สูงเนิน จ.นครราชสีมา	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-

Table 1 List of corn plantations had been surveyed. (Continue)

No.	Location	Plant	Number of samples	Laboratory results
262	ต.นิคมสร้างตนเอง อ.เมือง จ.ลพบุรี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
263	ต.โคกตูม อ.เมือง จ.ลพบุรี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
264	ต.ธารเกษม อ.พระพุทธบาท จ.สระบุรี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
265	ต.ธารเกษม อ.พระพุทธบาท จ.สระบุรี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
266	ต.พุแค อ.เฉลิมพระเกียรติ จ.สระบุรี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
267	ต.พุแค อ.เฉลิมพระเกียรติ จ.สระบุรี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
268	ต.พุแค อ.เฉลิมพระเกียรติ จ.สระบุรี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
269	ต.พุแค อ.เฉลิมพระเกียรติ จ.สระบุรี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
270	ต.พุแค อ.เฉลิมพระเกียรติ จ.สระบุรี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
271	ต.พุแค อ.เฉลิมพระเกียรติ จ.สระบุรี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
272	ต.พุแค อ.เฉลิมพระเกียรติ จ.สระบุรี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
273	อ.เฉลิมพระเกียรติ จ.สระบุรี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
274	ต.ท่าคล้อ อ.แก่งคอย จ.สระบุรี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
275	ต.ท่าคล้อ อ.แก่งคอย จ.สระบุรี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
276	ม.2 ต.ท่าคล้อ อ.แก่งคอย จ.สระบุรี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
277	ต.ท่าคล้อ อ.แก่งคอย จ.สระบุรี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
278	อ.มวกเหล็ก จ.สระบุรี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
279	อ.มวกเหล็ก จ.สระบุรี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
280	อ.มวกเหล็ก จ.สระบุรี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
281	ต.มวกเหล็ก อ.มวกเหล็ก จ.สระบุรี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
282	ต.มวกเหล็ก อ.มวกเหล็ก จ.สระบุรี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
283	บ.ชัยประดู่ ต.มวกเหล็ก อ.มวกเหล็ก จ.สระบุรี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
284	อ.มวกเหล็ก จ.สระบุรี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
285	ต.ศรีสวัสดิ์ อ.ศรีสวัสดิ์ จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
286	ต.ด่านแม่ฉลบ อ.ศรีสวัสดิ์ จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
287	อ.ศรีสวัสดิ์ จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
288	อ.ศรีสวัสดิ์ จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
289	ต.ด่านแม่ฉลบ อ.ศรีสวัสดิ์ จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
290	ต.หนองเป็ด อ.ศรีสวัสดิ์ จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
291	บ.น้ำพุเปรี้ยว ต.ด่านแม่ฉลบ อ.ศรีสวัสดิ์ จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
292	ต.หนองเป็ด อ.ศรีสวัสดิ์ จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
293	ต.หนองเป็ด อ.ศรีสวัสดิ์ จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	2	-
294	อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพด	2	-
295	อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพด	2	-

Table 1 List of corn plantations had been surveyed. (Continue)

No.	Location	Plant	Number of samples	Laboratory results
296	อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพด	2	-
297	อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพด	2	-
298	อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพด	2	-
299	อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพด	1	-
300	ต.วังขนาย อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพด	1	-
301	ต.ทุ่งทอง อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพด	1	-
302	ต.ทุ่งทอง อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพด	1	-
303	ต.ทุ่งทอง อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพด	1	-
304	ต.ตะคร้ำเอน อ.ท่าเรือ จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพด	1	-
305	ต.ตะคร้ำเอน อ.ท่าเรือ จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพด	1	-
306	ต.ตะคร้ำเอน อ.ท่าเรือ จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพด	1	-
307	ต.ตะคร้ำเอน อ.ท่าเรือ จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพดหวาน	1	-
308	ต.ตะคร้ำเอน อ.ท่าเรือ จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพดฝักอ่อน	1	-
309	ต.ตะคร้ำเอน อ.ท่าเรือ จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพดฝักอ่อน	1	-
310	ต.ตะคร้ำเอน อ.ท่าเรือ จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพดหวาน	1	-
311	ต.ตะคร้ำเอน อ.ท่าเรือ จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพด	1	-
312	ต.ตะคร้ำเอน อ.ท่าเรือ จ.กาญจนบุรี	ข้าวโพด	1	-

การทดลองที่ 4

การศึกษาสถานภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*

สาเหตุโรค Potato Ring Rot ของมันฝรั่งในประเทศไทย

Study on the Status of *Clavibacter michiganensis* subsp. *Sepedonicus* the Causal Agent of
Potato Ring Rot in Thailand

รุ่งนภา คงสุวรรณ^{1/} ชลธิชา รักใคร่^{2/} ปรียพรรณ พงศาพิชณ์^{2/}

^{1/}กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/}กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การสำรวจเชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *Sepedonicus* (Cms) สาเหตุโรค Potato Ring Rot ในพื้นที่ปลูกมันฝรั่ง ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย พะเยา ลำพูน ลำปาง และตาก รวมเป็น 74 แปลง จากการสำรวจ การเก็บตัวอย่างมันฝรั่งมาแยกเชื้อแบคทีเรีย Cms และการตรวจสอบเชื้อ Cms ด้วยวิธีพีซีอาร์ ผลการตรวจสอบไม่ปรากฏพบเชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *Sepedonicus* (Cms) สาเหตุโรค Potato Ring Rot ในพื้นที่ปลูกมันฝรั่งของประเทศไทย

คำสำคัญ: มันฝรั่ง, แบคทีเรีย, Cms, สำรวจ

Abstracts

Survey of bacteria *Clavibacter michiganensis* subsp. *Sepedonicus* (Cms), the causative agent of Potato Ring Rot disease in potato growing areas including Chiang Mai, Chiang Rai, Phayao, Lamphun, Lampang and Tak, totaling 74 plots. Cms by PCR method The results of the investigation revealed no bacteria *Clavibacter michiganensis* subsp. *Sepedonicus* (Cms), the causative agent of Potato Ring Rot disease in potato growing areas in Thailand.

Key words: potato, *Clavibacter michiganensis* subsp. *Sepedonicus* (Cms), Potato Ring Rot, survey

บทนำ

เชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* สาเหตุโรค Potato Ring Rot คือโรคเน่าวงแหวนของมันฝรั่งเชื้อสามารถเข้าทำลายระบบท่อลำเลียงทั้งในส่วนลำต้นและหัว โดยอาการที่ต้นจะแสดงที่ใบ มีอาการใบเหี่ยว เหลือง ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและแสดงอาการใบไหม้ ขอบใบแห้งม้วนงอขึ้นเนื่องจากท่อลำเลียงน้ำถูกกีดขวาง บางครั้งต้นมันฝรั่งไม่แสดงอาการเหี่ยว แต่ใบมีขนาดเล็กงอและต้นแคระแกร็น อาการที่หัว เนื้อเยื่อบริเวณท่อลำเลียงจะมีลักษณะใสหรือซีด เนื้อเยื่อไม่ละเอียดหรือนุ่ม โดยเฉพาะบริเวณส่วนหัวที่ติดกับ rhizome ที่เรียกว่า heel end ซึ่งเนื้อเยื่อของท่อลำเลียงบริเวณนี้จะมีสีเข้มกว่าปกติ ในระยะเริ่มแรกนั้นอาการอาจจะเริ่มที่ส่วนหนึ่งส่วนใดของท่อลำเลียง โดยไม่จำเป็นต้องเกิดใกล้ heel end และอาการก็จะขยายลุกลามออกไปจนจนจรดรอบวงของท่อลำเลียง เมื่อเนื้อเยื่อบริเวณนี้ถูกทำลายทำให้ outer cortex และ inner cortex แยกออกจากกัน เมื่อผ่าหัวมันฝรั่งตามขวางและบีบ จะมีของเหลวสีครีมคล้ายเนย ไม่มีกลิ่น ออกมาตามท่อลำเลียง ในกรณีมีอาการของโรครุนแรงจะพบรอยแตกที่ผิวนอกของหัวมันฝรั่ง โดยขอบของรอยแผลนั้นมักจะมีสีน้ำตาลอมแดง (EPPO, 2006) เชื้อ *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (Cms) เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ มีขนาดเล็กประมาณ 0.4-0.6 x 0.8-1.2 ไมโครเมตร รูปร่างเซลล์เป็นแท่ง coryneform โค้ง พองเล็กน้อย อยู่เดี่ยวๆ หรือเป็นคู่รูปตัว L หรือ V เจริญช้า อุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญของเชื้อคือ 21 องศาเซลเซียส และเชื้ออาจตายได้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส (EPPO, 2006) เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียทั่วไปยาก แต่สามารถเจริญได้บนอาหารเฉพาะ NCP-88 โดยสามารถมองเห็นโคโลนี (colony) ของเชื้อ Cms บนอาหาร NCP-88 ได้ภายใน 5 วัน หลังจากเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยโคโลนีจะมีขนาดประมาณ 0.5-1.5 มิลลิเมตร หลังจากเลี้ยงเชื้อไป 7-10 วัน ลักษณะโคโลนี มีทั้งแบบกลมและรูปร่างไม่แน่นอน ขอบเรียบ สีขาวหรือครีม นูน เป็นเมือกมันวาว สีของโคโลนีเชื้อจะเปลี่ยนเป็นสีค่อนข้างเหลืองเมื่ออายุ 10-12 วัน (de la Cruz *et al.*, 1992) เชื้อ Cms สามารถย่อยสลายแป้ง ใช้สารอะซิเตท ซิเตรท และซัคซิเนท สร้างกรดจากน้ำตาลแมนนิทอลและซอร์บิทอล (Antundag *et al.*, 2008) การแยกเชื้อ Cms ในต้นและหัวมันฝรั่งทำได้ยากเนื่องจากเชื้อเจริญได้ช้า มีจำนวนน้อยอยู่ในลักษณะแฝง และเมื่อทำการแยกเชื้อจากตัวอย่างพืชบนอาหารเลี้ยงเชื้อ มักจะถูกเชื้อชนิดอื่นที่เป็น saprophytes เจริญคลุมหมด (de la Cruze *et al.*, 1992) วิธีตรวจสอบเชื้อ Cms ในหัวมันฝรั่ง มีทั้งวิธี immunofluorescence หรือ IF (De Boer and Copeman, 1980) enzyme-linked immunosorbent assay หรือ ELISA (De Boer *et al.*, 1988) และ polymerase chain reaction หรือ PCR (พีซีอาร์) ซึ่งในปัจจุบันได้มีการใช้วิธีพีซีอาร์ที่รวดเร็วและมีประสิทธิภาพมาตรวจสอบเชื้อ Cms กันอย่างแพร่หลาย (Firrao and Locci, 1993; Schneider *et al.*, 1993; Li and De Boer, 1995; Lee *et al.*, 1996; Pastrik and Rainey, 1999; Schaad *et al.*, 1999; Pastrik, 2000) แต่วิธีของ Pastrik (2000) นั้นเป็นที่ยอมรับกันมากวิธีหนึ่งและมีการนำวิธีการดังกล่าวมาดัดแปลงเพื่อตรวจสอบและจำแนกเชื้อ Cms กันอย่างกว้างขวาง ซึ่งวิธีพีซีอาร์ของ Pastrik นั้นสามารถตรวจสอบเชื้อ Cms ในปริมาณที่น้อยได้ถึง 2-20 CFU ต่อปฏิกิริยาพีซีอาร์ (OEPP/EPPO, 2005)

ระเบียบวิธีการวิจัย

อุปกรณ์

1. เครื่องแก้ว
2. สารเคมี
3. อาหารเลี้ยงเชื้อ
4. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อแรงดันสูง
5. ตู้แช่เชื้อ
6. ตู้ควบคุมการเจริญเติบโตของพืช
7. ตู้บ่มเชื้อ
8. วัสดุสำหรับเก็บตัวอย่างโรค
9. วัสดุสำหรับปลูกพืชทดสอบ
10. เครื่องมือวัดพิกัดภูมิศาสตร์

วิธีการทดลอง

1. การสำรวจและเก็บตัวอย่าง

1.1 กำหนดพื้นที่และวิธีการสำรวจตาม ISPM No.6 ในพื้นที่ปลูกมันฝรั่งที่มีอุณหภูมิในฤดูหนาวต่ำกว่า 25 องศาเซลเซียส ได้แก่พื้นที่ปลูกในจังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ ลำพูน ลำปาง พะเยา ตาก สกลนคร

1.2 ทำการสำรวจทุกเดือนในระหว่างฤดูเพาะปลูก ทำการสำรวจแบบมีระบบ โดยเดินตามแนวแถวปลูก 1 แถว เว้น 5 แถว เก็บตัวอย่างที่สงสัยว่าเป็นโรคในทางที่เดินผ่านทั้งด้านซ้ายและขวา เก็บต้นที่แสดงอาการใบเหี่ยว เนื้อใบระหว่างเส้นใบเป็นสีเหลืองหรือรอยไหม้ ถ้าต้นมันฝรั่งที่แสดงอาการบนใบ อยู่ในช่วงอายุที่มีหัวแล้ว ให้เก็บตัวอย่างทั้งต้นและหัวมันฝรั่ง สำหรับแปลงที่เก็บผลผลิตได้แล้ว สุ่มเก็บหัวมันฝรั่ง 32 หัวต่อพื้นที่ปลูก 1 ไร่

1.3 เก็บตัวอย่างใส่ถุงกระดาษและใส่ในถุงพลาสติกปิดปากถุงอีกชั้นหนึ่ง บันทึกข้อมูลตัวอย่างที่เก็บ เช่น ชื่อพันธุ์ อายุพืช สถานที่ปลูก พิกัดทางภูมิศาสตร์ วันที่เก็บตัวอย่าง

1.4 เก็บตัวอย่างไว้ในกล่องรักษาความเย็นอุณหภูมิไม่เกิน 25 องศาเซลเซียส และนำไปแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ

2. การแยกเชื้อจากต้นและหัวมันฝรั่ง

2.1 เจาะเนื้อเยื่อของท่อน้ำเลี้ยงตรงส่วนหัวที่ติดกับ rhizome (heel end) หรือตรงโคนต้นมันฝรั่ง ประมาณ 10 กรัม

2.2 บดตัวอย่างเนื้อเยื่อในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร

2.3 เตรียม serial dilution เพื่อเจือจางน้ำคั้น ถึงความเข้มข้น 10^{-4}

2.4 หยดน้ำคั้นที่ไม่ได้เจือจาง และที่เจือจางแล้ว ความเข้มข้น 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} และ 10^{-4} ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NCP 88 หรือ NBY และใช้แท่งแก้วโค้งงอเกลี่ยให้ทั่วหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ

2.5 บ่มเชื้อไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิ 21-23 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-2 สัปดาห์ โคลินี (colony) ของเชื้อ *Cms* จะปรากฏบนอาหารเลี้ยงเชื้อภายใน 5 วัน หลังจาก 7-10 วัน จะเห็นโคลินีเป็นสีขาวหรือสีครีม มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.5-1.5 มิลลิเมตร ลักษณะกลมหรือรูปร่างไม่แน่นอน ขอบเรียบ นูน เป็นเมือกมันวาว และหลังจากบ่มเชื้อไว้ 10-12 วัน โคลินีของเชื้อจะมีสีค่อนข้างเหลือง

2.6 แยกเชื้อให้บริสุทธิ์อีกครั้ง โดยใช้ลูปแตะโคลินีที่คาดว่าจะ เป็นเชื้อ *Cms* ไป streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NCP 88 หรือ NBY และเลือกโคลินีเดี่ยวไปเลี้ยงในหลอดอาหารเอียง (slant agar) ต่อไป

2.7 ทดสอบแกรมของเชื้อที่แยกได้ โดยเชื้อ *Cms* เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก

3. การทดสอบเชื้อบนต้นมะเขือ (Eggplant Bioassay)

เพื่อพิสูจน์ว่าเชื้อที่แยกได้จากตัวอย่างพืชเป็นเชื้อ *Cms* หรือพิสูจน์ว่าในน้ำคั้นจากตัวอย่างพืชชนิดมีเชื้อ *Cms* อยู่ การปลูกเชื้อลงต้นมะเขือนั้น นอกจากจะเป็นการพิสูจน์เชื้อแล้ว ยังเป็นการเพิ่มปริมาณเชื้อได้อีกด้วย

3.1 นำ suspension ของเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้จากตัวอย่างพืชหรือน้ำคั้นตัวอย่างพืช ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ใช้เข็มฉีดยาขนาดไม่น้อยกว่า 23G ฉีดเข้าต้นมะเขือเทศขนาดอายุที่มีใบจริงแล้วไม่เกิน 3 ใบ ไอโซเลทหรือตัวอย่างละ 5 ต้น โดยฉีดเข้าลำต้นเหนือใบเลี้ยง ต้นควบคุมฉีดด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ โดยหยุดให้น้ำกับต้นมะเขือก่อนปลูกเชื้อ 1 วัน เพื่อลดแรงดันเต่ง

3.2 วางต้นมะเขือที่ปลูกเชื้อแล้ว ไว้ที่อุณหภูมิไม่เกิน 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ไม่น้อยกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 40 วัน รดน้ำอย่างสม่ำเสมอ

3.3 สังเกตรอยเหี่ยวเข้มหรือรอยต่างชนิดที่อยู่ระหว่างเส้นใบ ซึ่งหลังจากนั้นประมาณ 10 วันจะแสดงอาการเหี่ยวและใบไหม้ โดยเนื้อเยื่อรอบอาการไหม้จะเป็นสีเหลือง หลังจากปลูกเชื้อแล้ว 40 วัน ถ้าต้นมะเขือยังคงเป็นปกติ ไม่แสดงอาการใดๆ แสดงว่าเชื้อที่ฉีดเข้าต้นมะเขือไปไม่ใช่เชื้อ *Cms* หรือ ในน้ำคั้นไม่มีเชื้อ *Cms*

3.4 แยกเชื้อจากต้นมะเขือที่แสดงอาการใบเหี่ยวหรือไหม้ โดยตัดลำต้นเหนือบริเวณที่ปลูกเชื้อขึ้นมา 2 เซนติเมตรและใบที่แสดงอาการเหี่ยว นำไปบดในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ทำให้เจือจางและเกลี่ยบนหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ ตามวิธีการแยกเชื้อจากต้นและหัวมันฝรั่งข้างต้น หลังจากนั้นประมาณ 3-5 วัน ให้สังเกตดูโคโลนีของเชื้อที่คล้ายกับโคโลนีของเชื้อ *Cms* เพื่อนำไปแยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์อีกครั้ง

4. การตรวจสอบเชื้อ *Cms* ด้วยวิธีพีซีอาร์

4.1 การสกัดดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในอาหารเหลว Nutrient broth 48 ชั่วโมง แล้วหมุนเหวี่ยงให้เซลล์แบคทีเรียตกตะกอนนำไปสกัดดีเอ็นเอโดยใช้ชุดสกัดสำเร็จรูป วิธีการตามคำแนะนำของผู้ผลิต ตรวจสอบคุณภาพและวัดปริมาณของดีเอ็นเอ

4.2 การสกัดดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรียจากตัวอย่างพืช

เจาะเนื้อเยื่อบริเวณทอลำเลียงที่ส่วนโคนต้นหรือหัวตรงที่ติด rhizome นำไปบดในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ นำน้ำคั้นที่ได้จากตัวอย่างพืชไปสกัดดีเอ็นเอโดยใช้ชุดสกัดสำเร็จรูป วิธีการตามคำแนะนำของผู้ผลิต

4.3 การทดสอบปฏิกิริยาพีซีอาร์ในการตรวจเชื้อ

4.3.1 ทดสอบปฏิกิริยาพีซีอาร์ ในการสังเคราะห์เพิ่มปริมาณขึ้นดีเอ็นเอ โดยใช้คู่ไพรเมอร์ PSA-1/PSA-R (5'- ctc ctt gtg ggg tgg gaa aa -3' / 5'- tac tga gat gtt tca ctt ccc c -3') สำหรับตรวจสอบดีเอ็นเอเชื้อ *Cms* และใช้คู่ไพรเมอร์ NS-7-F/NS-8-R (5'- gag gca ata aca ggt ctg tga tgc -3' / 5'- tcc gca ggt tca cct acg ga -3') สำหรับตรวจสอบดีเอ็นเอพืช (Patrik, 2000) ใช้ปฏิกิริยารวม 25 ไมโครลิตร ประกอบด้วย

สารประกอบในปฏิกิริยา	ปริมาตร (ไมโครลิตร)	ความเข้มข้นสุดท้าย
10X buffer (15 mM MgCl ₂)	2.5	1X
BSA (10%)	0.25	0.1%
dNTP mix (20mM)	0.125	0.1 mM
Primer PSA-1 (10µM)	0.5	0.2 µM

Primer PSA-R (10µM)	0.5	0.2 µM
Primer NS-7-F (10µM)	0.1	0.04 µM
Primer NS-8-R (10µM)	0.1	0.04 µM
Taq polymerase (5U/µl)	0.2	1U
Sample	5.0	-
Sterile Ultra pure Water	15.725	-

4.3.2 ผสมสารประกอบในปฏิกิริยาดังกล่าวข้างต้นให้เข้ากัน แล้วบ่มหลอดปฏิกิริยาในเครื่อง thermal cycler โดยใช้อุณหภูมิ และเวลาดังนี้

ปฏิกิริยา	อุณหภูมิ (°C)	เวลา
1. แยกสายดีเอ็นเอแม่แบบเริ่มต้น	95	3 นาที
2. แยกสายดีเอ็นเอแม่แบบ	95	1 นาที
3. จับคู่ไพรเมอร์กับดีเอ็นเอต้นแบบ	64	1 นาที
4. สังเคราะห์สายดีเอ็นเอต่อจากดีเอ็นเอแม่แบบ	72	1 นาที
ทำปฏิกิริยาซ้ำในขั้นตอนที่ 2-4 เป็นวงจรลูกโซ่ 10 รอบ		
5. แยกสายดีเอ็นเอแม่แบบ	95	30 วินาที
6. จับคู่ไพรเมอร์กับดีเอ็นเอต้นแบบ	62	30 วินาที
7. สังเคราะห์สายดีเอ็นเอต่อจากดีเอ็นเอแม่แบบ	72	1 นาที
ทำปฏิกิริยาซ้ำในขั้นตอนที่ 5-7 เป็นวงจรลูกโซ่ 25 รอบ		
8. สังเคราะห์ดีเอ็นเอรอบสุดท้าย	72	5 นาที
9. หยุดปฏิกิริยา	4	-

4.3.3 ตรวจวิเคราะห์ขนาดของสายดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้ โดยนำดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยาพีซีอาร์ 10 ไมโครลิตร ผสมกับ loading dye ปริมาตร 5 ไมโครลิตร แยกขนาดของสายดีเอ็นเอ ด้วยอะกาโรส เจลอิเล็กโตรโฟรีซิส ใช้ 1% อะกาโรส ในบัฟเฟอร์ 1X Tris-borate EDTA (TBE) ใช้กระแสไฟฟ้าที่ค่าความต่างศักย์ 100 โวลต์ ย้อมด้วยเอทิลเดียมโบรไมด์ 5 นาที ตรวจสอบขนาดของชิ้นดีเอ็นเอภายใต้แสงยูวี และถ่ายภาพด้วย ultraviolet transilluminator โดยขนาดของชิ้นดีเอ็นเอที่เฉพาะเจาะจงของเชื้อ *Cms* จะมีขนาด 502 bp และขนาดชิ้นดีเอ็นเอพีซีมีขนาด 377 bp

5. รวบรวมและวิเคราะห์ข้อมูล และเขียนรายงาน

- บันทึกรายละเอียดตำแหน่งของแปลงปลูกมันฝรั่งที่ทำการสำรวจ/เก็บตัวอย่าง
- บันทึกข้อมูลจำนวนแปลง และจำนวนตัวอย่างที่ทำการสำรวจ/เก็บตัวอย่าง
- บันทึกข้อมูลชนิดพืช ขนาดพื้นที่ปลูก ระยะการเจริญเติบโตของพืช และสภาพแวดล้อมอื่นๆ
- บันทึกลักษณะอาการการเกิดโรค ส่วนของพืชที่พบอาการของโรค ประเมินความรุนแรงของโรค และการแพร่กระจายในพื้นที่
- บันทึกข้อมูลชนิดของเชื้อสาเหตุโรคพืช และลักษณะเชื้อสาเหตุที่ตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ

สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

- ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
- แปลงปลูกมันฝรั่งจังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ ลำพูน ลำปาง พะเยา ตาก และ สกลนคร

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

เชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* สาเหตุโรค Potato Ring Rot คือโรคเน่าวงแหวนของมันฝรั่งเชื้อสามารถเข้าทำลายระบบท่อลำเลียงทั้งในส่วนลำต้นและหัว โดยอาการที่ต้นจะแสดงที่ใบ มีอาการใบเหี่ยว เหลือง ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและแสดงอาการใบไหม้ ขอบใบแห้งม้วนงอขึ้นเนื่องจากท่อลำเลียงน้ำถูกกีดขวาง บางครั้งต้นมันฝรั่งไม่แสดงอาการเหี่ยว แต่ใบมีขนาดเล็กกลวงและต้นแคระแกร็น อาการที่หัว เนื้อเยื่อบริเวณท่อลำเลียงจะมีลักษณะใสหรือซีด เนื้อเยื่อไม่ละเอียดหรือนิ่ม โดยเฉพาะบริเวณส่วนหัวที่ติดกับ rhizome ที่เรียกว่า heel end ซึ่งเนื้อเยื่อของท่อลำเลียงบริเวณนี้จะมีสีเข้มกว่าปกติ ในระยะเริ่มแรกนั้นอาการอาจจะเริ่มที่ส่วนหนึ่งส่วนใดของท่อลำเลียง โดยไม่จำเป็นต้องเกิดใกล้ heel end และอาการก็จะขยายลุกลามออกไปจนจนจรดรอบวงของท่อลำเลียง เมื่อเนื้อเยื่อบริเวณนี้ถูกทำลายทำให้ outer cortex และ inner cortex แยกออกจากกัน เมื่อผ่าหัวมันฝรั่งตามขวางและบีบ จะมีของเหลวสีครีมคล้ายเนย ไม่มีกลิ่น ออกมาตามท่อลำเลียง ในกรณีมีอาการของโรครุนแรงจะพบรอยแตกที่ผิวนอกของหัวมันฝรั่ง โดยขอบของรอยแผลนั้นมักจะมีสีน้ำตาลอมแดง (EPPO, 2006) เชื้อ *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (Cms) เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ มีขนาดเล็กประมาณ 0.4-0.6 x 0.8-1.2 ไมโครเมตร รูปร่างเซลล์เป็นแท่ง coryneform โค้ง พองเล็กน้อย อยู่เดี่ยวๆ หรือเป็นคู่รูปตัว L หรือ V เจริญช้า อุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญของเชื้อคือ 21 องศาเซลเซียส และเชื้ออาจตายได้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส (EPPO, 2006) เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียทั่วไปยาก แต่สามารถเจริญได้บนอาหารเฉพาะ NCP-88 โดยสามารถมองเห็นโคโลนี (colony) ของเชื้อ Cms บนอาหาร NCP-88 ได้ภายใน 5 วัน หลังจากเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยโคโลนีจะมีขนาดประมาณ 0.5-1.5 มิลลิเมตร หลังจากเลี้ยงเชื้อไป 7-10 วัน ลักษณะโคโลนี มีทั้งแบบกลมและรูปร่างไม่แน่นอน ขอบเรียบ สีขาวหรือครีม นูน เป็นเมือกมันวาว สีของโคโลนีเชื้อจะเปลี่ยนเป็นสีค่อนข้างเหลืองเมื่ออายุ 10-12 วัน (de la Cruz *et al.*, 1992) เชื้อ Cms สามารถย่อยสลายแป้ง ใช้สารอะซิเตท ซิเตรท และซัคซิเนท สร้างกรดจากน้ำตาลแมนนิทอลและซอร์บิทอล (Antundag *et al.*, 2008) การแยกเชื้อ Cms ในต้นและหัวมันฝรั่งทำได้ยากเนื่องจากเชื้อเจริญได้ช้า มีจำนวนน้อยอยู่ในลักษณะแฝง และเมื่อทำการแยกเชื้อจากตัวอย่างพืชบนอาหารเลี้ยงเชื้อ มักจะถูกเชื้อชนิดอื่นที่เป็น saprophytes เจริญคลุมหมด (de la Cruz *et al.*, 1992) เชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* มีพืชอาศัยหลักคือ มันฝรั่ง (*Solanum tuberosum*) มะเขือเทศ (*Solanum lycopersicum*) และ บีท (*Beta vulgaris* var. *saccharifera*)

สำรวจโรคและสุ่มเก็บตัวอย่างหัวมันฝรั่งในพื้นที่ปลูกมันฝรั่งภาคเหนือ 6 จังหวัด รวม 74 แปลง แบ่งเป็น เชียงใหม่ 29 แปลง เชียงราย 13 แปลง พะเยา 10 แปลง ลำพูน 11 แปลง ลำปาง 5 แปลง และตาก 6 แปลง โดยไม่พบอาการของโรคในแปลงปลูก

แยกเชื้อจากตัวอย่างหัวมันฝรั่งที่แสดงอาการเน่าบริเวณท่อลำเลียง โดยบดเนื้อเยื่อของท่อลำเลียงตรงส่วนที่เป็นข้อติดกับ rhizome (heel end) ในน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ แล้วเกลี่ยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NBY บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส นาน 7-10 วัน แล้วตรวจดูเชื้อที่มีลักษณะโคโลนี สีขาวครีม รูปร่างไม่แน่นอน ขอบเรียบ นูน เป็นเมือกมันวาว ไม่พบโคโลนีลักษณะดังกล่าวบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

สกัดดีเอ็นเอจากเนื้อเยื่อบริเวณ heel end นำไปทดสอบปฏิกิริยาพีซีอาร์ โดยใช้คู่ไพรเมอร์ PSA-1/PSA-R ตรวจสอบขนาดของชิ้นดีเอ็นเอที่เฉพาะเจาะจงของเชื้อ Cms ขนาด 502 bp แยกขนาดของสายดีเอ็นเอด้วยอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส จากการย้อมเจลด้วยเอทิลเดียมโบรไมด์และนำไปตรวจดูขนาดของชิ้นดีเอ็นเอภายใต้แสงยูวี ไม่พบแถบดีเอ็นเอขนาด 502 bp

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การสำรวจเชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *Sepedonicus* (Cms) สาเหตุโรค Potato Ring Rot ในพื้นที่ปลูกมันฝรั่ง ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ 29 แปลง เชียงราย 13 แปลง พะเยา 10 แปลง ลำพูน 11 แปลง ลำปาง 5 แปลง และตาก 6 แปลง รวมเป็น 74 แปลง จากการสำรวจ การเก็บตัวอย่างมันฝรั่งมา แยกเชื้อแบคทีเรีย Cms และการตรวจสอบเชื้อ Cms ด้วยวิธีพีซีอาร์ ผลการตรวจสอบไม่ปรากฏพบเชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *Sepedonicus* (Cms) สาเหตุโรค Potato Ring Rot ในพื้นที่ปลูกมันฝรั่ง ของประเทศไทย

กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 5

การศึกษาสถานภาพเชื้อไวรัส *Tomato black ring virus* (TBRV) และ *Tomato ringspot virus* (TRSV) ของมะเขือเทศในประเทศไทย

Study on the Status of *Tomato black ring virus* (TBRV) and *Tomato ringspot virus* (TRSV) of Tomato in Thailand

สิทธิศักดิ์ แสไพศาล^{1/} ชลธิชา รักใคร่^{2/}

^{1/}กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/}กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

สำรวจและเก็บตัวอย่างใบมะเขือเทศพันธุ์สีดา เทพประทาน เซอร์รี่และราชินีและใบพริกแบบเฉพาะเจาะจง ในช่วงเดือนตุลาคม 2559 ถึงเดือนกันยายน 2561 ในพื้นที่แหล่งปลูกที่สำคัญของประเทศไทย ภาคเหนือ จ.เชียงราย เชียงใหม่ ลำพูนและลำปาง ภาคกลาง จ.สระบุรี เพชรบูรณ์ สุพรรณบุรี กาญจนบุรีและราชบุรี ภาคตะวันตก จ.ตาก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จ.ขอนแก่น กาฬสินธุ์ หนองบัวลำภู มุกดาหาร หนองคาย สกลนคร นครพนม นครราชสีมาและอำนาจเจริญ ที่แสดงลักษณะอาการคล้ายโรคไวรัส ใบเป็นจุดและขยายออกเป็นวงสีดำ อาการ (mottle) เป็นดวงขีดและอาการ necrotic spot ทั้งบนใบและผลมะเขือเทศ รวมจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 389 ตัวอย่าง เมื่อตรวจสอบตัวอย่างทั้งหมดเพื่อหาเชื้อไวรัส *Tomato ringspot virus* (ToRSV) และ *Tomato black ring virus* (ToBRV) ด้วยวิธี Indirect ELISA ผลการตรวจสอบไม่พบเชื้อไวรัสจากตัวอย่างใบมะเขือเทศและตัวอย่างใบพริกทั้งหมด แสดงให้เห็นว่าในแหล่งปลูกมะเขือเทศที่สำคัญในประเทศไทยนั้นยังไม่พบการระบาดของเชื้อไวรัส ToRSV และ ToBRV

คำสำคัญ: มะเขือเทศ, โรคไวรัส, ELISA, การตรวจสอบ

Abstracts

Examining and collecting specifically samples of tomato leaves including Sida, Thep Prathan, and Cherry as well as also the samples of pepper leaves during October, 2016 to September, 2018 in the important cultivated plants in northern Thailand including Chiang Rai, Chiang Mai, Lamphun, and Lampang provinces, in the central Thailand including Saraburi, Phetchabun, Suphan Buri, Kanchana Buri, and Ratchaburi provinces, in the western Thailand including Tak, as well as in northeast Thailand including Khon Kaen, Kalasin, Nong Bua Lam Phu, Mukdahan, Nong Khai, Sakon Nakhon, Nakhon Phanom, Nakhon Ratchasima and Amnat Charles provinces. Moreover, the samples used in this survey contain the similar characteristics as the virus disease in which the leaves are dotted and expand to be a black circle; additionally, the leaves contain mottle symptom and necrotic spot symptom on both tomato and its leaves in the number of 389 samples. When examining the whole samples to find the *Tomato ringspot virus* (ToRSV) and *Tomato black ring virus* (ToBRV) with the Indirect ELISA method, the result finds no virus from the samples of tomato leaves and pepper leaves at all which can present that the important cultivated plants in Thailand have no outbreak of the ToRSV and ToBRV.

Key words: Tomato, virus diseases, ELISA, detection

บทนำ

เนื่องจากในปัจจุบันการส่งออกและนำเข้าสินค้าเกษตรจะต้องมีความตกลงทั่วไปว่าด้วยภาษีศุลกากรและการค้า (General Agreement on Tariff and Trade: GATT) ซึ่งต่อมาได้เปลี่ยนเป็นองค์การการค้าโลก (World Trade Organization: WTO) ได้กำหนดกฎเกณฑ์และระเบียบเพื่อให้เกิดการค้าเสรีและเป็นธรรม โดยทุกประเทศสมาชิกของ WTO จะต้องปรับลดอัตราอากรขาเข้าลงมาเป็นอันดับแรกสุดของการเปิดการค้าเสรี ในปัจจุบันมาตรการกีดกันด้านภาษีศุลกากรมีแนวโน้มที่จะลดลงเนื่องจากการเปิดเสรีทางการค้าภายใต้เขตการค้าเสรีต่างๆ มีเพิ่มขึ้น แต่ในขณะเดียวกันมาตรการกีดกันทางการค้าที่ไม่มีภาษีศุลกากร (non-tariff barrier, NTB) จะเริ่มมีบทบาทและมีรูปแบบใหม่ ๆ เพิ่มขึ้น ซึ่งมาตรการที่สำคัญในด้านการเกษตรได้แก่ มาตรการด้านสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Sanitary and Phytosanitary Measures : SPS) มาตรการด้านสุขอนามัยและสุขอนามัยพืชมีวัตถุประสงค์เพื่อปกป้องชีวิต และสุขภาพมนุษย์ สัตว์ และพืช เพื่อสร้างความมั่นใจต่อความปลอดภัยด้านอาหาร แต่ต้องไม่ใช่สิทธินั้นในทางที่เป็นการสร้างข้อจำกัดทางการค้าหรือเลือกปฏิบัติระหว่างประเทศสมาชิกตามอำเภอใจ ซึ่งการนำมาตรการ SPS มาใช้ควรสอดคล้องกับมาตรฐานตามที่องค์การมาตรฐานระหว่างประเทศกำหนดขึ้น และต้องมีเหตุผล และหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่เพียงพอมีการประเมินความเสี่ยง (Risk Assessment) ที่เชื่อถือได้ ซึ่งประเทศคู่ค้ามักนำมาตรการ SPS มาใช้เป็นเครื่องมือในการกีดกันทางการค้ากับสินค้าอาหารประเภทปศุสัตว์ ประมง และพืชผักผลไม้ โดยอ้างการตรวจพบเชื้อโรค โรคแมลง และอื่นๆ ซึ่งส่งผลกระทบต่อภาพลักษณ์ทางการค้าของประเทศ และเป็นการเพิ่มต้นทุนการผลิต ประเทศเกือบทุกประเทศที่เป็นสมาชิกขององค์การการค้าโลก (WTO) ได้นำมาตรการสุขอนามัยพืชมาใช้เป็นข้อต่อรองในการส่งออกและนำเข้า โดยที่ประเทศผู้ส่งออกต้องส่งบัญชีรายชื่อศัตรูพืชของพืชส่งออกและข้อมูลของศัตรูพืชแต่ละชนิดตามความต้องการของประเทศผู้นำเข้า เพื่อทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ก่อนที่จะอนุญาตให้สินค้าเกษตรนั้น ๆ เข้าประเทศ ขณะเดียวกันประเทศผู้นำเข้าจำเป็นต้องมีข้อมูลบัญชีรายชื่อศัตรูของพืชที่นำเข้าด้วย การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูโดยการศึกษาและการ

สำรวจแบบติดตามข้อมูลศัตรูพืชในแหล่งปลูกเพื่อเป็นการเฝ้าระวัง (Surveillance) เป็นกระบวนการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชชนิดใดชนิดหนึ่งในพื้นที่ ซึ่งการรวบรวมข้อมูลนั้นสามารถทำได้ 2 แบบ ได้แก่การเฝ้าระวังโดยทั่วไป (general surveillance) โดยการค้นคว้าข้อมูลจากแหล่งข้อมูล ได้แก่ข้อมูลข่าวสารศัตรูพืชที่มีรายงานในประเทศ เช่นจาก หน่วยงานภาครัฐ มหาวิทยาลัย ภาคเอกชน ตลอดจนข่าวสารจากแหล่งข้อมูลขององค์กรระหว่างประเทศ เช่น องค์การอาหารและเกษตรแห่งชาติ (Food and Agriculture Organization, FAO) องค์การอารักขาพืชระดับภูมิภาค (Regional Plant Protection Organization, RPPOs) และอื่น ๆ การเฝ้าระวังโดยการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific surveys) สามารถดำเนินการโดยการสำรวจแบบตรวจหา (detection surveys) และการสำรวจแบบมีขอบเขต (delimiting surveys) (McMaugh, 2005) ประโยชน์ของการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจงทั้ง 2 วิธีนั้นนอกจากจะสามารถบอกถึงสถานการณ์ของศัตรูพืชในพื้นที่แล้วยังสามารถใช้ข้อมูลที่ได้เป็นการรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืชในกรณีที่ไม่พบศัตรูพืชในพื้นที่นั้น ๆ เมื่อมีการรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืชแล้ว การที่จะคงสภาพพื้นที่ปลอดศัตรูพืชจะต้องมีการสำรวจแบบตรวจหาอย่างเป็นระบบ ข้อมูลต่าง ๆ ที่ได้จากการสำรวจติดตามศัตรูพืชเพื่อการเฝ้าระวังนี้จะส่งให้องค์การอารักขาพืชแห่งชาติ (National Plant Protection Organization, NPPO) นำไปใช้ประโยชน์ ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการเฝ้าระวังนี้สามารถนำไปใช้ในด้านต่างๆ เช่น ใช้ในการสนับสนุนการออกประกาศเรื่องการปลอดศัตรูพืช ตลอดจนที่ดำเนินการโดย NPPO เป็นกระบวนการช่วยตรวจหาศัตรูพืชชนิดใหม่ได้ทันเวลา การให้การรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืช เป็นต้น การสำรวจ ติดตามและตรวจสอบศัตรูพืชเป็นงานพื้นฐานที่มีความจำเป็นสำหรับใช้ในการดำเนินการด้านอื่น ๆ อีก เช่น Pest Risk Analysis, Establishment for pest free area, Pest list, Pest report เป็นต้น ซึ่งแนวทางการดำเนินงานจะสอดคล้องกับ ISPMs (International Standard for Phytosanitary Measures) ฉบับที่ 6 (Guidelines for Surveillance)

เชื้อไวรัส *Tomato black ring virus* (TBRV) และ *Tomato ringspot virus* (TRSV) ของมะเขือเทศเป็นเชื้อไวรัสหรือจุลินทรีย์ที่คล้ายมาโคพลาสมาจัดว่าเป็นโรคที่สำคัญ ก่อให้เกิดความเสียหายต่อการปลูกและการผลิตมะเขือเทศมาก หากจะเปรียบเทียบกับโรคที่เกิดจากสาเหตุอื่นๆ ทั้งนี้เนื่องจากมะเขือเทศเป็นพืชที่ค่อนข้างอ่อนแอต่อการเข้าทำลาย ของเชื้อไวรัสที่เข้าทำลายพืชได้เกือบทุกชนิด ขณะเดียวกันก็จะก่อให้เกิดอาการต่างๆ ขึ้นได้หลายรูปแบบ ไม่ว่าจะเป็นอาการแผลจุด ดวง เป็นเส้นขีดหรือต่างลาย เหลืองซีด แคระแกรน ผิดรูปผิดร่าง ยอดตาเหี่ยวเฉาแห้ง ใบม้วนงอเป็นคลื่นบิดเบี้ยว หรือหย่นไม่ออกดอกออกผลหรือผลมีลักษณะผิดปกติ (ไทยเกษตร, 2556) เชื้อไวรัส *Tomato ringspot virus* (TRSV) มีพืชอาศัยหลักคือ *Fragaria chiloensis* (Chilean strawberry), *Malus domestica* (apple), *Nicotiana tabacum* (tobacco), *Pelargonium* (pelargoniums), *Prunus* (stone fruit), *Prunus armeniaca* (apricot), *Prunus avium* (sweet cherry), *Prunus cerasus* (sour cherry), *Prunus domestica* (plum), *Prunus persica* (peach), *Ribes* (currants), *Rubus* (blackberry, raspberry), *Rubus idaeus* (raspberry), *Vitis* (grape), *Vitis vinifera* (grapevine) มีการถ่ายทอดโรคได้ด้วยไส้เดือนฝอย *Xiphinema americanum sensulato* (Dorylaimidae) และถ่ายทอดได้ด้วยวิธีกลด้วยการปลูกเชื้อ (inoculation), การ grafting และถ่ายทอดผ่านทางเมล็ด (Oregon.gov, ไม่ปรากฏปีที่พิมพ์) เชื้อไวรัส *Tomato black ring virus* (TBRV) จัดอยู่ใน Family: Comoviridae และ Genus: Nepovirus พบรายงานครั้งแรกพบในมะเขือเทศ ในประเทศอังกฤษ ปี 1946 ต่อมาพบในพืชหลายชนิด รวมทั้งในวัชพืช พืชอาศัยหลักคือ *Allium cepa* (onion), *Allium porrum* (leek), *Apium graveolens* (celery), *Beta vulgaris* var. *saccharifera* (sugarbeet), *Brassica napus* var. *napobrassica* (swede), *Brassica rapa* subsp. *rapa* (turnip), *Capsicum* (peppers), *Cucumis sativus* (cucumber), *Cynara cardunculus* L. var. *scolymus* (globe artichoke), *Fragaria* (strawberry), *Fragaria ananassa* (strawberry), *Gladiolus hybrids* (sword lily), *Lactuca sativa* (lettuce), *Lycopersicon esculentum* (tomato), *Narcissus* (daffodil), *Phaseolus vulgaris* (common bean), *Prunus persica* (peach), *Ribes* (currants), *Rubus* (blackberry, raspberry),

Solanum melongena (aubergine), *Solanum tuberosum* (potato), *Vitis vinifera* (grapevine) เชื้อไวรัสชนิดนี้สามารถถ่ายทอดได้โดยไส้เดือนฝอย Longidorus และสามารถถ่ายทอดผ่านทางเมล็ด ทำให้พืชได้รับผลกระทบตั้งแต่ระยะต้นกล้า ออกดอกและผล CAB International (2007) ไวรัสพีชมีอนุภาคขนาดเล็กมากไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา ต้องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน มีรูปร่างเป็นท่อน ขนาดความยาวอยู่ในช่วง 180-1200 นาโนเมตร ดังนั้นเชื้อไวรัสจึงยากต่อการวินิจฉัยโรคด้วยสายตาจำเป็นต้องใช้เครื่องมือในห้องปฏิบัติการตรวจวินิจฉัยหลายขั้นตอนและหลายวัน ดังนั้นการพัฒนาเทคนิคในการตรวจสอบเชื้อไวรัสให้รวดเร็ว และมีความถูกต้อง ชัดเจน และแม่นยำ จึงมีความสำคัญต่อการตรวจวินิจฉัยเชื้อไวรัสที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดของเจ้าหน้าที่ที่ตรวจสอบเพื่อรับรองการปลอดเชื้อไวรัสที่ติดมากับสินค้าเกษตรนำเข้า และส่งออกเป็นอย่างมาก ซึ่งทำให้เจ้าหน้าที่สามารถปฏิบัติงานได้อย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพ ซึ่งสอดคล้องกับนโยบายของกรมวิชาการเกษตรที่มีวัตถุประสงค์ให้ส่งเสริมการส่งออกสินค้าเกษตรให้เพิ่มมากขึ้น ดังนั้นการศึกษาและพัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อไวรัส Maize dwarf mosaic virus (MDMV) strain a ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด ซึ่งเป็นไวรัสที่พบมากในข้าวโพด อัตราการเกิดโรคนี้น้อยกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ และสูงถึง 65 เปอร์เซ็นต์ ทำให้สูญเสียผลผลิตสูงขึ้นได้ ถ้าเกิดโรคและรุนแรงมากในสภาพไร่ โดยเฉพาะข้าวโพดหวาน ไวรัสนี้พบอยู่สอง strain คือ strain a และ strain b (Douglas, 1988) จึงมีประโยชน์ในการพัฒนาต่อไปในเชิงพาณิชย์และมีความสำคัญต่องานทางด้านกักกันพืช และหน่วยงานกักกันพืชระหว่างประเทศเป็นอย่างมาก

ระเบียบวิธีการวิจัย

อุปกรณ์

1. แอนติซีรัมเชื้อไวรัส *Tomato black ring virus* (ToBRV) และ *Tomato ring spot virus* (ToRSV)
2. อุปกรณ์และสารเคมีในการตรวจสอบเชื้อโดยวิธี indirect ELISA

วิธีการทดลอง

1. สืบค้นข้อมูล

- สืบค้นข้อมูลลักษณะของเชื้อไวรัส *Tomato black ring virus* (ToBRV) และ *Tomato ring spot virus* (ToRSV) รายละเอียดของเชื้อ ชื่อวิทยาศาสตร์ ลักษณะอาการโรค การเข้าทำลาย การแพร่ระบาด เป็นต้น
- สืบค้นข้อมูลของพืชอาศัยของเชื้อไวรัส *Tomato black ring virus* (ToBRV) และ *Tomato ring spot virus* (ToRSV) ได้แก่ ชนิดของพืชอาศัย ชื่อวิทยาศาสตร์ เป็นต้น
- สืบค้นข้อมูลแหล่งปลูกมะเขือเทศ ได้แก่ พื้นที่ปลูก พันธุ์ปลูก
- จัดทำแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ โดยรวบรวมข้อมูลลักษณะอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส *Tomato black ring virus* (ToBRV) และ *Tomato ring spot virus* (ToRSV) พร้อมรูปภาพเพื่อใช้ตรวจสอบอาการที่พบในแปลง ตลอดจนรายละเอียดของลักษณะอาการที่คล้ายกับอาการของพืชเป้าหมาย จัดทำแบบฟอร์มสำรวจ เพื่อบันทึกข้อมูล สถานที่ วันที่เก็บ ข้อมูลพิกัดภูมิศาสตร์

2. การสำรวจ

กำหนดพื้นที่ แหล่งปลูกมะเขือเทศในเขตพื้นที่ภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ วางแผนการสำรวจ สำรวจแบบเฉพาะเจาะจง โดยการสำรวจแบบตรวจหา กำหนดพื้นที่ในจังหวัดแต่ละพื้นที่ สำรวจเก็บตัวอย่างใบของต้นมะเขือเทศ รวมทั้งตัวอย่างใบของต้นพริก ที่แสดงอาการคล้ายโรคไวรัสที่เกิดจากเชื้อ *Tomato ringspot virus* (ToRSV) และ *Tomato black ring virus* (ToBRV) ในแหล่งปลูกที่สำคัญในประเทศไทย โดยเก็บในพื้นที่ทั้งภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ทำการสุ่มสำรวจแปลงและคัดเลือกจากพื้นที่ที่มีการปลูกมะเขือ

เทศมากหรือปานกลางในแต่ละจังหวัด ซึ่งวิธีการสุ่มเก็บตัวอย่างในแต่ละพื้นที่จะมีจำนวนตัวอย่างที่ไม่เท่ากัน เนื่องจากขึ้นอยู่กับจำนวนพื้นที่ปลูกและจำนวนแปลงปลูกในพื้นที่นั้น ๆ และการสุ่มเก็บตัวอย่างจะสุ่มเก็บแบบจำเพาะเจาะจง เฉพาะต้นมะเขือเทศและต้นพริกที่แสดงอาการคล้ายไวรัสที่เกิดจากเชื้อ ToRSV และ ToBRV โดยมีรูปแบบการเดินเก็บแบบสุ่มเป็นรูปตัวยูคว่ำและหงายสลับกันไป เป็นหลักการเก็บแบบ grid pattern (Canada/USA PVY-n Management plan) ที่นำมาใช้สุ่มเก็บตัวอย่างในแปลงปลูกมะเขือเทศและปลูกปลูกพริก สำหรับตรวจหาเชื้อไวรัส ToBRV และ ToRSV จะเก็บเฉพาะตัวอย่างที่แสดงอาการที่สงสัยว่าเป็นโรค โดยการเดินสำรวจในแปลงจะหาเฉพาะต้นเป็นโรค เดินแบบ grid pattern จะเดินเป็นรูปตัว U คูแฉกริมตลอดแถวแล้วเดินเว้นไป 10 แถว หรือ 10 เมตร เดินเข้าแถวที่ 10 และ 11 แล้วเดินตลอดแถวมาจนทะลุหัวแถว ขณะเดินสามารถมองสำรวจออกไปในรัศมีของแถวที่ 9, 10, 11 และ 12 ได้เป็น 4 แถว เมื่อมาถึงปลายแถวก็เดินขึ้นไปข้างหน้าของแถวที่ยังไม่ได้เดินผ่าน เดินผ่านหัวแถวเว้นไปอีก 10 แถว เดินเข้าระหว่างแถวที่ 20 และ 21 เดินดูได้อีก 4 แถวคือ 19, 20, 21 และ 22 จึงเดินเป็นรูปตัว U คว่ำหงายชนกันไปตลอดแปลง จากนั้นทำการบันทึกข้อมูลพืชสถานที่เก็บ วันที่เก็บ การเก็บตัวอย่างใบจะห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ก่อนเก็บใส่ถุงซิปล็อค แล้วบรรจุลงในกล่องโฟมที่มีน้ำแข็ง เพื่อรักษาความเย็นก่อนนำกลับมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธี Indirect ELISA โดยทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

3. การตรวจสอบโรคไวรัสในมะเขือเทศและพริกด้วยเทคนิค Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)

วิธี indirect ELISA ดัดแปลงมาจาก โดยตรวจสอบเชื้อไวรัส ToRSV และ ToBRV ด้วยชุด Kit Agdia (Agdia, Inc, Diagnostic center in Elkhart County, Indiana, USA) เตรียม Loading diagram สำหรับการทดสอบ Coat Capture Antibody โดยการเจือจาง Capture Antibody ด้วย Carbonate Coating buffer ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 1 เท่า (1X) ในอัตราส่วนตามที่ระบุข้างหลอด (ตามคำแนะนำของบริษัท) จากนั้นเติม Capture Antibody ที่เจือจางแล้วลงใน plate ELISA ปริมาณ 100 ไมโครลิตร บ่มในกล่องขึ้นที่ 37 °C นาน 4 ชม. จากนั้นล้าง plate ด้วย PBST buffer 4-8 ครั้งอย่างรวดเร็ว บดตัวอย่างใบมะเขือเทศและพริกด้วย General Extract buffer ในอัตราส่วน 1:10 (weight :General Extract buffer) และเติมตัวอย่างพืชที่เป็นโรค (positive control) และตัวอย่างควบคุมน้ำคั้นจากใบมะเขือเทศปกติ (negative control) ปริมาตร 100 ไมโครลิตรลงใน plate ELISA บ่มในกล่องความชื้นที่ 37 °C นาน 2 ชม. จากนั้นล้าง plate ด้วย PBST buffer 4-8 ครั้งอย่างรวดเร็ว เตรียม Enzyme Conjugate โดยการเจือจางแล้วในปริมาตร 100 ไมโครลิตรด้วย ECI buffer ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 1 เท่า (1x) ในอัตราส่วนที่ระบุข้างหลอด โดยเตรียมก่อนใช้งานประมาณ 10 นาที จากนั้นจึงเติม enzyme conjugate ที่เจือจางแล้ว ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงใน plate ELISA บ่มในกล่องขึ้นที่ 37 °C นาน 2 ชม. แล้วล้าง plate ด้วย PBST buffer 4-8 ครั้งอย่างรวดเร็ว ขั้นตอนต่อไปเติม PNP substrate buffer ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงใน หลุม plate ELISA บ่มในกล่องขึ้นที่ 37 °C นาน 30-60 นาที ตรวจสอบผลการทดสอบโดยการดูสีเปรียบเทียบกับ ชุดควบคุม (control) ได้แก่ สารละลายบัฟเฟอร์ negative control และ positive control แล้วหยุดปฏิกิริยาด้วย 3M sodium hydroxide ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ตรวจสอบผลของปฏิกิริยาด้วยการวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Multiskan go (Thermo Fisher Scientific Inc., MA, USA.) ซึ่งจะทำการอ่านค่าการดูดกลืนของแสงที่คลื่น 405 นาโนเมตร โดยค่า O.D.₄₀₅ ที่วัดได้ถือเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณของเชื้อไวรัส

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มต้นเดือนตุลาคม 2559 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2561 (รวม 3 ปี)

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1. สืบค้นข้อมูล

โรคของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อไวรัสหรือจุลินทรีย์ที่คล้ายมาโคพลาสมาจัดว่าเป็นโรคที่สำคัญ ก่อให้เกิดความเสียหายต่อการปลูกและการผลิตมะเขือเทศมาก หากจะเปรียบเทียบกับโรคที่เกิดจากสาเหตุอื่น ๆ ทั้งนี้เนื่องจากมะเขือเทศเป็นพืชที่ค่อนข้างอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสที่เข้าทำลายพืชได้เกือบทุกชนิด ขณะเดียวกันก็จะก่อให้เกิดอาการต่าง ๆ ขึ้นได้หลายรูปแบบ ไม่ว่าจะเป็นอาการแผลจุดดวง เป็นเส้นขีดหรือต่างลาย เหลืองขีด แคระ แกรน ผิดรูปผิดร่าง ยอดตายเหี่ยวเฉาแห้ง ใบม้วนงอเป็นคลื่นบิดเบี้ยว หรือหย่นไม่ออกดอก ออกผลหรือผลมีลักษณะผิดปกติ (ไทยเกษตร, 2556) เชื้อไวรัส *Tomato ringspot virus* (ToRSV) มีพืชอาศัยหลักคือ *Fragaria chiloensis* (Chilean strawberry), *Malus domestica* (apple), *Nicotiana tabacum* (tobacco), *Pelargonium* (pelargoniums), *Prunus* (stone fruit), *Prunus armeniaca* (apricot), *Prunus avium* (sweet cherry), *Prunus cerasus* (sour cherry), *Prunus domestica* (plum), *Prunus persica* (peach), *Ribes* (currants), *Rubus* (blackberry, raspberry), *Rubus idaeus* (raspberry), *Vitis* (grape), *Vitis vinifera* (grapevine) มีการถ่ายทอดโรคได้ด้วยไส้เดือนฝอย *Xiphinema americanum sensulato* (Dorylaimidae) และถ่ายทอดได้ด้วยวิธีกล ด้วยการปลูกเชื้อ (inoculation), การ grafting และถ่ายทอดผ่านทางเมล็ด (Oregon.gov, ไม่ปรากฏปีที่พิมพ์) เชื้อไวรัส *Tomato black ring virus* (ToBRV) จัดอยู่ใน Family: Comoviridae และ Genus: Nepovirus พบรายงานครั้งแรกพบในมะเขือเทศ ในประเทศอังกฤษ ปี 1946 ต่อมาพบในพืชหลายชนิด รวมทั้งในวัชพืช พืชอาศัยหลักคือ *Allium cepa* (onion), *Allium porrum* (leek), *Apium graveolens* (celery), *Beta vulgaris* var. *saccharifera* (sugarbeet), *Brassica napus* var. *napobrassica* (swede), *Brassica rapa* subsp. *rapa* (turnip), *Capsicum* (peppers), *Cucumis sativus* (cucumber), *Cynara cardunculus* L. var. *scolymus* (globe artichoke), *Fragaria* (strawberry), *Fragaria ananassa* (strawberry), *Gladiolus hybrids* (sword lily), *Lactuca sativa* (lettuce), *Lycopersicon esculentum* (tomato), *Narcissus* (daffodil), *Phaseolus vulgaris* (common bean), *Prunus persica* (peach), *Ribes* (currants), *Rubus* (blackberry, raspberry), *Solanum melongena* (aubergine), *Solanum tuberosum* (potato), *Vitis vinifera* (grapevine) เชื้อไวรัสชนิดนี้สามารถถ่ายทอดได้โดยไส้เดือนฝอย Longidorus และสามารถถ่ายทอดผ่านทางเมล็ด ทำให้พืชได้รับผลกระทบตั้งแต่ระยะต้นกล้า ออกดอกและผล CAB International (2007)

2. การสำรวจและเก็บตัวอย่างใบมะเขือเทศ

การสำรวจ เก็บตัวอย่างและตรวจสอบหาเชื้อไวรัส *Tomato ringspot virus* (ToRSV) และ *Tomato black ring virus* (ToBRV) ในมะเขือเทศพันธุ์การค้าที่เกษตรกรปลูก ทั้งปลูกกินสดและส่งโรงงาน เช่น พันธุ์สีดา เทพประทานและราชินี เป็นต้น โดยสุ่มเก็บใบมะเขือเทศแบบเฉพาะเจาะจงที่แสดงอาการคล้ายโรคไวรัส ToRSV และ ToBRV ในแปลงปลูกมะเขือเทศในพื้นที่แต่ละภาค ประกอบด้วย ภาคกลาง ได้แก่ จ.สระบุรี สำรวจใน อ.มวกเหล็ก รวมจำนวน 18 ตัวอย่าง จ.เพชรบูรณ์ สำรวจใน อ.น้ำหนาว รวมจำนวน 16 ตัวอย่าง จ.สุพรรณบุรี สำรวจใน อ.อุทัย รวมจำนวน 6 ตัวอย่าง จ.กาญจนบุรี สำรวจใน อ.ท่าม่วง รวมจำนวน 18 ตัวอย่าง จ.ราชบุรี สำรวจใน อ.จอมบึง รวมจำนวน 7 ตัวอย่าง รวมจำนวนตัวอย่างที่เก็บในภาคกลางทั้งหมด 65 ตัวอย่าง ภาคเหนือ ได้แก่ จ.เชียงใหม่ สำรวจใน อ.ฮอด และ อ.สันทราย รวมจำนวน 99 ตัวอย่าง จ.ลำพูน สำรวจใน อ.ป่าซาง รวมจำนวน 8 ตัวอย่าง จ.เชียงราย สำรวจใน อ.เวียงป่าเป้า รวมจำนวน 11 ตัวอย่าง จ.ลำปาง สำรวจใน อ.แจ้ห่ม รวมจำนวน 12 ตัวอย่าง รวมจำนวนตัวอย่างที่เก็บในภาคเหนือทั้งหมด 130 ตัวอย่าง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่

จ.ขอนแก่น สํารวจใน อ.บ้านฝาง อ.เมือง อ.สีชมพู อ.น้ำพองและ อ.หนองเรือ รวมจำนวน 26 ตัวอย่าง จ.กาฬสินธุ์ สํารวจใน อ.ยางตลาด และ อ.สมเด็จ รวมจำนวน 6 ตัวอย่าง จ.หนองบัวลำภู สํารวจใน อ.นาแก รวมจำนวน 9 ตัวอย่าง จ.มุกดาหาร สํารวจใน อ.หว้านใหญ่ รวมจำนวน 16 ตัวอย่าง จ.หนองคาย สํารวจใน อ.เมือง และ อ.โพนพิสัย รวมจำนวน 27 ตัวอย่าง จ.สกลนคร สํารวจใน อ.พรรณานิคม และ อ.พังโคน รวมจำนวน 26 ตัวอย่าง จ.นครพนม สํารวจใน อ.นาแก และ นาหวัง รวมจำนวน 27 ตัวอย่าง จ.นครราชสีมา สํารวจใน อ.ปากช่อง และ อ.วังน้ำเขียว รวมจำนวน 42 ตัวอย่าง จ.อำนาจเจริญ สํารวจใน อ.ชานุมาน รวมจำนวน 6 ตัวอย่าง รวมจำนวนตัวอย่างที่เก็บในภาคตะวันออกเฉียงเหนือทั้งหมด 185 ตัวอย่าง ภาคตะวันตก ได้แก่ จ.ตาก สํารวจใน อ.พบพระ รวมจำนวน 9 ตัวอย่าง รวมจำนวนตัวอย่างที่เก็บในภาคตะวันตกทั้งหมด 9 ตัวอย่าง รวมจำนวนตัวอย่างที่เก็บทั้งสิ้น 389 ตัวอย่าง (Table 1) และได้สุ่มเก็บใบพริกในพื้นที่ใกล้เคียง ที่มีลักษณะอาการคล้ายเชื้อไวรัสสาเหตุ ซึ่งจากการสํารวจและเก็บตัวอย่าง พบว่าใบของต้นมะเขือเทศรวมทั้งใบต้นพริก มีลักษณะอาการคล้ายเชื้อไวรัสสาเหตุคือ พบใบมีลักษณะเป็นจุด และขยายออกเป็นวงสีดำ เกิดได้ทั้งบนใบละผล ลูกกลมทั่วทั้งใบและมีอาการ (mottle) เป็นดวงขีด อีกทั้งยังพบลักษณะ necrotic spot ทั้งบนใบมะเขือเทศและใบพริก (Figure 1)

3. การตรวจสอบเชื้อไวรัสในมะเขือเทศด้วยเทคนิค ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay)

หลังสุ่มเก็บตัวอย่างใบมะเขือเทศและใบพริก ที่แสดงอาการคล้ายเชื้อไวรัส ToRSV และ ToBRV มาตรวจสอบหาเชื้อไวรัสโดยวิธี Indirect ELISA ในห้องปฏิบัติการ โดยใช้แอนติซีรัมที่มีความจำเพาะต่อเชื้อ ToRSV และ ToBRV พบว่าจากการตรวจสอบตัวอย่างใบมะเขือเทศและตัวอย่างใบพริกทั้งหมด ไม่พบเชื้อไวรัสทั้งสองชนิดในทุกตัวอย่าง โดยการตรวจสอบเชื้อ ToRSV เมื่อนำผลการตรวจสอบของตัวอย่างทั้งหมดเปรียบเทียบกับค่า OD₄₀₅ ของ Negative control (0.097) พบว่าทุกตัวอย่างใบมะเขือเทศในพื้นที่ปลูกที่สำคัญ ทั้งจากภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันตกและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มีค่า OD₄₀₅ อยู่ในช่วง 0.104-0.114 ซึ่งผลการตรวจสอบไม่พบเชื้อไวรัส ToRSV ส่วนการตรวจสอบหาเชื้อ ToBRV พบว่าตัวอย่างใบมะเขือเทศและตัวอย่างใบพริกในทุกตัวอย่างทั้งหมด ที่ทำการสํารวจและเก็บตัวอย่างใบมาตรวจสอบทั้งจากภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันตกและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ในพื้นที่แหล่งปลูกที่สำคัญ เมื่อตรวจสอบหาเชื้อไวรัส ToBRV โดยเปรียบเทียบกับค่า OD₄₀₅ ของ Negative control (0.092) พบว่ามีค่า OD₄₀₅ อยู่ในช่วง 0.095-0.098 ผลการตรวจสอบไม่พบเชื้อไวรัส ToBRV

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการตรวจสอบหาเชื้อไวรัสด้วยวิธี Indirect ELISA ในตัวอย่างใบมะเขือเทศพันธุ์สีดา เทพประทาน เซอร์รี่และราชินี รวมทั้งได้เก็บตัวอย่างใบของต้นพริก ในพื้นที่ปลูกที่สำคัญของประเทศไทย ประกอบด้วยภาคเหนือ จ.เชียงราย เชียงใหม่ ลำพูนและลำปาง ในภาคกลางประกอบด้วย จ.สระบุรี เพชรบูรณ์ สุพรรณบุรี กาญจนบุรีและราชบุรี ภาคตะวันตก จ.ตาก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือประกอบด้วย จ.ขอนแก่น กาฬสินธุ์ หนองบัวลำภู มุกดาหาร หนองคาย สกลนคร นครพนม นครราชสีมาและอำนาจเจริญ รวมจำนวนตัวอย่างที่เก็บที่แสดงอาการคล้ายโรคไวรัส จำนวนทั้งสิ้น 389 ตัวอย่าง ผลการตรวจสอบไม่พบเชื้อไวรัส *Tomato ringspot virus* (ToRSV) และ *Tomato black ring virus* (ToBRV) จากตัวอย่างใบมะเขือเทศและพริกทั้งหมดที่ตรวจสอบ จึงสามารถสรุปได้ว่าในช่วงเดือนตุลาคม 2559 ถึงเดือนกันยายน 2561 ที่ออกสํารวจและสุ่มเก็บตัวอย่างในแต่ละพื้นที่นั้น ไม่มีการระบาดของเชื้อไวรัส ToRSV และ ToBRV ในมะเขือเทศ



Figure 1 characteristics of virus symptoms observed in tomato plots.

Table 1 Detection of *Tomato ringspot virus* (ToRSV) and *Tomato black ring virus* (ToBRV) of tomato in major growing areas by Indirect enzyme-linked immunosorbent assay (Indirect ELISA) technique in 2016-2018.

ภูมิภาค	จังหวัด	อำเภอ	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	เปอร์เซ็นต์ตัวอย่างที่เป็นโรค		ค่า O.D405 ของเชื้อ TRSV		ค่า O.D405 ของเชื้อ TBRV			
				เชื้อ TORSV	เชื้อ TOBRV	Positive	Healthy	ตัวอย่างพืชอยู่ในช่วง	Positive	Healthy	ตัวอย่างพืชอยู่ในช่วง
ภาคกลาง	สระบุรี	มวกเหล็ก	18	0	0	0.691	0.094	0.095	1.762	0.063	0.077
		เพชรบูรณ์	น้ำหนาว	16	0	0	0.107	0.085	0.088	2.652	0.082
	สุพรรณบุรี	อู่ทอง	6	0	0	3.029	0.070	0.072	2.392	0.062	0.061
	กาญจนบุรี	ท่าม่วง	18	0	0	0.055	0.001	0.001	0.341	0.001	0.001
	ราชบุรี	จอมบึง	7	0	0	2.301	0.094	0.106	14.27	2.596	2.617
ภาคเหนือ	เชียงใหม่	ฮอด	94	0	0	0.699	0.089	0.142	3.600	0.102	0.105
		สันทราย	5	0	0	8.077	1.119	1.739	16.36	1.612	1.483
	ลำพูน	ป่าซาง	8	0	0	2.287	0.185	0.148	3.566	0.164	0.170
	เชียงราย	แม่สรวย	11	0	0	2.301	0.094	0.106	0.904	0.096	0.100
	ลำปาง	แจ้ห่ม	12	0	0	0.185	0.001	0.002	0.148	0.001	0.003
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	ขอนแก่น	บ้านฝาง	17	0	0	0.674	0.094	0.104	3.524	0.096	0.100
		เมือง	1	0	0	0.674	0.094	0.124	3.524	0.096	0.115
ภาคตะวันออก	ฉะเชิงเทรา	สีชมพู่	1	0	0	1.293	0.096	0.112	3.639	0.093	0.095
		น้ำพอง	5	0	0	0.547	0.105	0.114	3.556	0.102	0.104
		หนองเรือ	2	0	0	0.830	0.088	0.088	3.717	0.093	0.091

Table 1 (continue)

ภูมิภาค	จังหวัด	อำเภอ	จำนวน ตัวอย่าง ทั้งหมด	เปอร์เซ็นต์ตัวอย่างที่เป็นโรค		ค่า O.D405 ของเชื้อ TRSV		ค่า O.D405 ของเชื้อ TBRV			
				เชื้อ TORSV	เชื้อ TOBRV	Positive	Healthy	ตัวอย่างพืช อยู่ในช่วง	Positive	Healthy	ตัวอย่างพืช อยู่ในช่วง
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	กาฬสินธุ์	ยางตลาด	5	0	0	0.679	0.094	0.117	3.522	0.097	0.098
		สมเด็จ	1	0	0	2.287	0.123	0.140	3.566	0.109	0.110
	หนองบัวลำภู	นากลาง	9	0	0	3.532	0.100	0.101	0.862	0.105	0.109
		มุกดาหาร	หว้านใหญ่	16	0	0	1.105	0.094	0.097	3.596	0.089
	หนองคาย	เมือง	26	0	0	0.509	0.070	0.071	0.466	0.074	0.090
		โพนพิสัย	1	0	0	0.107	0.082	0.088	2.652	0.165	0.089
	สกลนคร	พรรณานิคม	6	0	0	0.699	0.089	0.105	0.046	0.005	0.002
		พังโคน	20	0	0	0.022	0.003	0.002	0.022	0.005	0.004
	นครพนม	นาแก	4	0	0	6.477	0.507	0.306	7.707	4.408	4.259
		นาหวัง	23	0	0	3.875	0.817	0.850	0.923	0.220	2.169
	นครราชสีมา	ปากช่อง	32	0	0	0.862	0.105	0.109	3.532	0.100	0.110
		วังน้ำเขียว	10	0	0	2.298	0.091	0.268	5.602	1.304	1.261
	อำนาจเจริญ	ชานุมาน	6	0	0	0.547	0.105	0.114	3.566	0.102	0.111
ภาคตะวันตก	ตาก	พบพระ	9	0	0	0.352	0.069	0.070	0.511	0.076	0.096
จำนวนตัวอย่างทั้งหมด			389	0	0						

การทดลองที่ 6

การศึกษาสถานภาพเชื้อไวรัส *Mexican papita viroid*, *Tomato apical stunt viroid*, *Tomato planta macho viroid*, *Pepper chat fruit viroid* ของพริกและมะเขือเทศในประเทศไทย

Study on the Status of *Mexican papita viroid*, *Tomato apical stunt viroid*, *Tomato planta macho viroid*, *Pepper chat fruit viroid* of Pepper and Tomato in Thailand

เยาวภา ตันติวานิช ภูวนารถ มณีโชติ

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การสำรวจและเก็บตัวอย่างพริกและมะเขือเทศที่แสดงอาการผิดปกติคล้ายโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส *Mexican papita viroid*, *Tomato apical stunt viroid*, *Tomato planta macho viroid*, *Pepper chat fruit viroid* ได้แก่ อาการเนื้อเยื่อตายบริเวณเส้นใบและก้าน ใบด้านล่างแสดงอาการเหลือง ยอดหย่นและเสีรุปรตรง อาการ necrotic ใบมีขนาดเล็ก ระหว่างเดือนตุลาคม 2558 ถึงเดือนกันยายน 2561 ในพื้นที่ปลูกพริกและมะเขือเทศ 20 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดขอนแก่น หนองคาย นครพนม บึงกาฬ สกลนคร ชัยภูมิ เลย หนองบัวลำภู กาฬสินธุ์ อุดรธานี นครปฐม กาญจนบุรี ราชบุรี เชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง ลำพูน ตาก น่าน เพชรบูรณ์ พิจิตร จำนวนตัวอย่างพริกและมะเขือเทศที่เก็บได้ 135 และ 142 ตัวอย่าง ตามลำดับ และตรวจสอบด้วยวิธี RT-PCR โดยใช้ไพรเมอร์ที่ใช้ตรวจสอบเชื้อไวรัสแล้วไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีขนาดใกล้เคียงกับแถบดีเอ็นเอของเชื้อไวรัสที่ตรวจสอบจากตัวอย่างพริกและมะเขือเทศที่เก็บมาแปลงปลูก

คำสำคัญ: สำรวจ สถานภาพ ไวรัส พริก มะเขือเทศ

Abstracts

Survey and collect samples of peppers and tomatoes showing signs of viroid-like diseases: *Mexican papita viroid*, *Tomato apical stunt viroid*, *Tomato planta macho viroid*, *Pepper chat fruit viroid*, including necrosis of leaf veins and stems. The lower leaves show yellowing. Between October 2015 and September 2018 in pepper and tomato planting areas in 20 provinces, namely Khon Kaen, Nong Khai, Nakhon Phanom, Bueng Kan, Sakon Nakhon, Chaiyaphum, Loei, Nong Bua Lamphu, Kalasin, Udon Thani, Nakhon Pathom, Kanchanaburi, Ratchaburi, Chiang Mai, Chiang Rai, Lampang, Lamphun, and Nan. Phetchabun Phichit The total number of pepper and tomato samples was 135 and 142, respectively, and were examined by RT-PCR using a viroid assay primer. No DNA bands similar in size to viroid DNA bands were found in samples of peppers and tomatoes collected from the field.

Key words: pest status, survey, viroid, pepper, tomato

บทนำ

เชื้อไวรอยด์เป็นเชื้อสาเหตุโรคพืชที่มีขนาดเล็กที่สุดเท่าที่มีรายงาน สามารถทำให้พืชเกิดโรคมามากกว่า 40 ชนิด ไวรอยด์มีองค์ประกอบเป็นเส้นอาร์เอ็นเอสายเดี่ยวที่เป็นวงปิด มีขนาดตั้งแต่ 296 - 463 นิวคลีโอไทด์ และไม่มีโปรตีนห่อหุ้มสารพันธุกรรมเหมือนกับไวรัส และที่สำคัญสายอาร์เอ็นเอของไวรอยด์ไม่สามารถถอดรหัสเป็นโปรตีนได้เหมือนกับสิ่งมีชีวิตอื่นๆ เชื้อไวรอยด์ *Mexican papita viroid*, *Tomato apical stunt viroid*, *Tomato planta macho viroid*, *Pepper chat fruit viroid* จัดจำแนกอยู่ในสกุล Pospiviroid วงศ์ Pospiviroidae เชื้อชนิดนี้เข้าทำลายพืชหลายชนิด เช่น มะเขือเทศ, มันฝรั่ง, แตงกวา, พริก, ต้นลิปstick และพืชอื่นๆ ในสกุล Solanaceae ลักษณะอาการที่เกิดจากเชื้อไวรอยด์ส่วนใหญ่จะคล้ายคลึงกับอาการที่เกิดจากเชื้อไวรัส คือ แคระแกร็น ใบ ก้านใบ และดอก ลดขนาด จนไปถึงไม่แสดงอาการผิดปกติ ขึ้นกับชนิดของเชื้อไวรอยด์ และพืชอาศัย โดยทั่วไปความรุนแรงของอาการจะขึ้นกับสภาพภูมิอากาศ ไวรอยด์จะแสดงอาการของโรคในช่วงอุณหภูมิที่สูงกว่า 20 องศาเซลเซียส และจะแสดงอาการที่รุนแรงและชัดเจนเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น

ความเสียหายทางเศรษฐกิจและผลกระทบที่เกิดจากเชื้อไวรอยด์ขึ้นกับมูลค่าทางเศรษฐกิจของพืชนั้นๆ ทั้งในแง่ปริมาณการผลิต ขนาด คุณภาพ และความสามารถทางการค้าในตลาด ตัวอย่างเช่น เชื้อ PSTVd ทำให้ผลผลิตมันฝรั่งลดลงถึง 64 เปอร์เซ็นต์ และมะเขือเทศลดลง 45 เปอร์เซ็นต์ เชื้อ HSVd ทำให้ผลผลิตมะเขือเทศลดลงถึง 43 เปอร์เซ็นต์ และ hop ลดลงมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ เชื้อ CLVd ทำให้ผลผลิตมะเขือเทศลดลงถึง 50 เปอร์เซ็นต์ และเชื้อ CCCVd ทำให้ผลผลิตมะพร้าวลดลงถึง 22,000 ต้นต่อปี นอกจากนี้เชื้อไวรอยด์ยังมีผลกระทบต่อการกักกันพืชซึ่งอาจทำให้ถูกกีดกันทางการค้าอีกด้วย

ปัจจุบันไวรอยด์ทุกชนิดสามารถถ่ายทอดได้ทางวิธีกล และสามารถแพร่กระจายได้ง่าย ไวรอยด์สามารถอาศัยอยู่ในพืชได้หลายชั่วอายุโดยการถ่ายทอดผ่านการขยายพันธุ์พืช เช่นการติดตา การตัดแต่งกิ่ง การทาบกิ่ง และชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรค รวมถึงการปนเปื้อนของเครื่องมือและเครื่องจักรกลการเกษตร ไวรอยด์หลายชนิดสามารถถ่ายทอดโรคผ่านทางเมล็ดพันธุ์และละอองเกสรได้ เช่น เชื้อ PSTVd CbVd HSVd GYSVd (Grapevine yellow speckle viroid) ASBVd และ CLVd นอกจากนี้ไวรอยด์บางชนิดยังสามารถถ่ายทอดโรคผ่านทางเพลี้ยอ่อนได้ เช่น PSTVd TPMVd (*Tomato planta macho viroid*) และ TASVd (*Tomato apical stunt viroid*)

ระเบียบวิธีการวิจัย

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการไวรอยด์
2. อุปกรณ์ในการสุ่มเก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติก มาร์กเกอร์ มีดคัตเตอร์ กรรไกร กล้องเก็บความเย็น
3. เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่นๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการไวรอยด์
4. สารเคมีที่ใช้ในการตรวจสอบด้วยวิธี PCR

วิธีการทดลอง

การสำรวจเชื้อไวรัส *Mexican papita viroid*, *Tomato apical stunt viroid*, *Tomato planta macho viroid*, *Pepper chat fruit viroid* สาเหตุโรคของพริก และมะเขือเทศ

สำรวจและเก็บตัวอย่างพริกและมะเขือเทศที่มีลักษณะผิดปกติคล้ายเกิดจากโรคเชื้อไวรัส *Mexican papita viroid*, *Tomato apical stunt viroid*, *Tomato planta macho viroid*, *Pepper chat fruit viroid* ได้แก่ อาการเนื้อเยื่อตายบริเวณเส้นใบและก้าน ใบด้านล่างแสดงอาการเหลือง ยอดหย่นและเสีรูปทรง อาการ necrotic ใบมีขนาดเล็ก ในแหล่งปลูกพริกและมะเขือเทศในประเทศไทย แต่แปลงทำการสุ่มตัวอย่างแบบเป็นระบบ โดยเดินตามเส้นทแยงมุม ทุกๆ 10 ก้าว ตรวจโรคจุดละ 10 ต้น จำนวน 10 จุดต่อแปลง หรือ 10 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่แปลง เก็บตัวอย่างในถุงพลาสติกและแช่ในกล่องเก็บความเย็นตลอดเวลา จนกระทั่งนำไปเก็บในตู้เย็นในห้องปฏิบัติการ เพื่อทำการตรวจหาไวรัสในตัวอย่างด้วยวิธี PCR

ตรวจหาเชื้อไวรัส *Mexican papita viroid*, *Tomato apical stunt viroid*, *Tomato planta macho viroid*, *Pepper chat fruit viroid* สาเหตุโรคของพริก และมะเขือเทศด้วยวิธี polymerase chain reaction (PCR)

สกัดอาร์เอ็นเอจากตัวอย่างพริกและมะเขือเทศโดยใช้ชุดสกัด RNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN, Taiwan) และตรวจสอบเชื้อไวรัสด้วยวิธี RT-PCR

ไพรเมอร์ที่ใช้ตรวจสอบเชื้อไวรัส คือ PC2 (cPC2: TGT TTC WRC DGG GAT TAC TCC TG และ hPC2: GGG TTT TCA CCC TTC CTT TC) (ปริเชษฐ์, 2548) ซึ่งเป็นไพรเมอร์ที่จำเพาะกับเชื้อไวรัส 7 ชนิด คือ *Columnea latent viroid* (CLVd) *Tomato apical stunt viroid* (TASVd) *Mexican papita viroid* (MPVd) *Tomato planta macho viroid* (TPMVd) *Potato spindle tuber viroid* (PSTVd) *Tomato chlorotic dwarf viroid* (TCDVd) และ *Pepper chat fruit viroid* (PCFVd)

และตรวจสอบ NAD gene ของพืชซึ่งใช้เป็น internal control ด้วยไพรเมอร์ NAD (Nad2.1a: GGA CTC CTG ACG TAT ACG AAG GAT C และ Nad2.2b: AGC AAT GAG ATT CCC CAA TAT CAT) (Thompson et al, 2003) โดยไพรเมอร์ PC2 จะให้แถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 350-370 เบส และไพรเมอร์ NAD จะให้แถบดีเอ็นเอขนาด 188 เบส

การตรวจสอบอาร์เอ็นเอตัวอย่างพืชเพื่อหาเชื้อไวรัสด้วยปฏิกิริยา Superscript™ III One-Step RT-PCR System with Platinum (Invitrogen, USA)

ปฏิกิริยาสำหรับเพิ่มปริมาณ ซึ่มีดังนี้ Total RNA 2 ไมโครลิตร ไพรเมอร์ PC2 (2mM) ปริมาตรเส้นละ 2 ไมโครลิตร 2x Reaction mix ปริมาตร 10 ไมโครลิตร Superscript™ III RT/Platinum Taq Max ปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร และ Deionized water (dH₂O) 4.5 ไมโครลิตร โดยอุณหภูมิที่ใช้ในขั้นตอน RT-PCR คือ cDNA synthesis 48 องศาเซลเซียส 45 นาที; Initial denaturation 94 องศาเซลเซียส 3 นาที; Denaturation 94 องศาเซลเซียส 45 วินาที; Annealing 56 องศาเซลเซียส 45 วินาที Extension 72 องศาเซลเซียส 1 นาที เริ่มกระบวนการที่ 3-5 ซ้ำอีก 34 รอบ และ Final extension 72 องศาเซลเซียส 7 นาที ลดอุณหภูมิลงมาที่ 16 องศาเซลเซียส ตรวจสอบขนาดของซึ่ดีเอ็นเอโดยใช้ 2.0% agarose gel electrophoresis ใน Tris-borate buffer (TBE) และนำไปย้อมแถบ DNA ด้วย Ethidium bromide ตรวจแถบ DNA ภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตเปรียบ เทียบขนาดของ DNA กับ 100 bp Plus markers (Fermentas, USA)

เวลาและสถานที่

- เริ่มต้น 2558 – สิ้นสุด 2561
- กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

การสำรวจเชื้อไวรัส *Mexican papita viroid*, *Tomato apical stunt viroid*, *Tomato planta macho viroid*, *Pepper chat fruit viroid* สาเหตุโรคของพริก และมะเขือเทศ

การสำรวจและเก็บตัวอย่างพริกและมะเขือเทศที่แสดงอาการผิดปกติคล้ายโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส ระหว่างเดือนตุลาคม 2558 ถึงเดือนกันยายน 2561 ในพื้นที่ปลูกพริกและมะเขือเทศ จังหวัดขอนแก่น หนองคาย นครพนม บึงกาฬ สกลนคร ชัยภูมิ เลย หนองบัวลำภู กาฬสินธุ์ อุดรธานี นครปฐม กาญจนบุรี ราชบุรี เชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง ลำพูน ตาก น่าน เพชรบูรณ์ พิจิตร จำนวนตัวอย่างพริกและมะเขือเทศที่เก็บได้ 135 และ 142 ตัวอย่าง ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ตรวจหาเชื้อไวรัส *Mexican papita viroid*, *Tomato apical stunt viroid*, *Tomato planta macho viroid*, *Pepper chat fruit viroid* สาเหตุโรคของพริก และมะเขือเทศด้วยวิธี polymerase chain reaction (PCR)

จากตัวอย่างพริกและมะเขือเทศทั้งหมด เมื่อสกัดอาร์เอ็นเอ และตรวจสอบด้วยวิธี RT-PCR โดยใช้ไพรเมอร์ที่ใช้ตรวจสอบเชื้อไวรัส แล้วไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีขนาดใกล้เคียงกับแถบดีเอ็นเอของเชื้อไวรัสที่ตรวจสอบจากตัวอย่างพริกและมะเขือเทศที่เก็บมาแปลงปลูก

ตารางที่ 1 สถานที่เก็บตัวอย่างพริกและมะเขือเทศ

สถานที่เก็บตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างพริก	จำนวนตัวอย่างมะเขือเทศ
จังหวัดขอนแก่น	7	6
จังหวัดหนองคาย	8	7
จังหวัดนครพนม	7	6
จังหวัดบึงกาฬ	6	8
จังหวัดสกลนคร	7	9
จังหวัดชัยภูมิ	8	6
จังหวัดเลย	9	8
จังหวัดหนองบัวลำภู	6	7
จังหวัดกาฬสินธุ์	4	6
จังหวัดอุดรธานี	5	7
จังหวัดนครปฐม	8	7
จังหวัดกาญจนบุรี	7	8
จังหวัดเชียงใหม่	9	8
จังหวัดเชียงราย	8	7
จังหวัดลำปาง	6	7
จังหวัดลำพูน	7	8
จังหวัดตาก	6	9
จังหวัดน่าน	8	7
จังหวัดเพชรบูรณ์	4	6
จังหวัดพิจิตร	5	5
รวม	135	142

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

จากการสำรวจโรคในพริกและมะเขือเทศในแปลงปลูก 20 จังหวัด ระหว่างเดือนตุลาคม 2558 ถึงเดือนกันยายน 2561 และตรวจหาเชื้อไวรัส *Mexican papita viroid*, *Tomato apical stunt viroid*, *Tomato planta macho viroid*, *Pepper chat fruit viroid* สาเหตุโรคของพริก และมะเขือเทศด้วยวิธี polymerase chain reaction (PCR) จำนวน 277 ตัวอย่าง นั้นไม่พบเชื้อไวรัสที่ต้องการตรวจสอบจากตัวอย่างพริกและมะเขือเทศ

การทดลองที่ 7

การศึกษาสถานภาพไส้เดือนฝอย *Meloidogyne chitwoodi* และ *Meloidogyne fallax* ของมันฝรั่งในประเทศไทย

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

ไตรเดช ข่ายทอง^{1/} ธิติยา สารพัฒน์^{1/} รุ่งนภา ทองเครื่อง^{1/} วานิช คำพานิช^{2/}

^{1/}กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/}กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การสำรวจไส้เดือนฝอยศัตรูพืชกักกัน *Meloidogyne chitwoodi* และ *M. fallax* ในพื้นที่ปลูกมันฝรั่ง ดำเนินการในปี พ.ศ. 2559 ถึง พ.ศ. 2561 เก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกมันฝรั่ง จ.เชียงราย จ.เชียงใหม่ จ.ลำพูน จ.พะเยา จ.ตาก และ จ.น่าน รวม 135 ตัวอย่าง แยกไส้เดือนฝอยจากตัวอย่างดิน ตรวจไส้เดือนฝอย ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบไส้เดือนฝอยรากปมในตัวอย่างดิน 62 ตัวอย่าง เพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยในตัวอย่างดินที่ ตรวจพบไส้เดือนฝอยรากปม โดยปลูกมะเขือเทศในตัวอย่างดินที่ตรวจพบไส้เดือนฝอยรากปม ตรวจสอบชนิด ไส้เดือนฝอยรากปมด้วยวิธีการทางอนุชีววิทยาไม่พบไส้เดือนฝอยรากปม *M. chitwoodi* และ *M. fallax* โดยการ ตรวจสอบดีเอ็นเอที่สกัดได้จากตัวอย่างระยะที่สองด้วยคูไพรเมอร์ 194/195 ได้ผลผลิตปฏิกิริยาขนาด 720 คู่เบส ซึ่งบ่งชี้ว่าเป็นไส้เดือนฝอยกลุ่ม tropical species เช่น *M. incognita* *M. javanica* หรือ *M. arenaria* เมื่อตรวจ ลักษณะรีร้อยย่นส่วนกัน และคูไพรเมอร์จำเพาะต่อไส้เดือนฝอยรากปม Inc-K14-F/Inc-K-14R ซึ่งจำเพาะต่อ ไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* พบว่าส่วนใหญ่เป็นไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* โดยได้ผลิตภัณฑ์ ปฏิกิริยา PCR ขนาด 400 คู่เบส ตรวจสอบด้วยคูไพรเมอร์ Fjav/Rjav ซึ่งจำเพาะต่อ *M. javanica* พบว่าเป็น ไส้เดือนฝอยรากปม *M. javanica* 2 ตัวอย่าง ได้ผลิตภัณฑ์ปฏิกิริยา PCR ขนาด 720 คู่เบส

คำสำคัญ: การเฝ้าระวังศัตรูพืช ไส้เดือนฝอยรากปม การแพร่กระจาย มาตรการสุขอนามัยพืช

Abstracts

Survey on quarantine plant parasitic nematodes was carried out during 2016-2018. Soil samples were collected from potato fields in Chiang Rai, Chiang Mai, Lamphun, Phayao, Tak and Nan provinces with a total of 135 samples. Nematodes were extracted from the soils and observed under a microscope. Root-knot nematodes were found in 62 samples. Root-knot nematode populations in the soils were multiplied by planting tomato seedlings in the positive soil samples. Identification of root-knot nematode was performed using PCR technique no samples showed positive detection of *M. chitwoodi* or *M. fallax*. The amplification of genomic DNA with the 194/195 primer yielded 720 bp product indicating that the root-knot nematode in all samples were tropical species such as *M. incognita*, *M. javanica* or *M. arenaria*. The nematodes were further identified using perineal patterns and specific primer Inc-K14-F/Inc-K-14R for *M. incognita*, the results showed that most of the samples were *M. incognita* by giving 400 bp PCR products and 2 samples were *M. javanica* which yielded 720 bp PCR product when amplified with Fjav/Rjav primer.

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

บทนำ

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

ระเบียบวิธีการวิจัย

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การเก็บตัวอย่างดิน

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

การตรวจไส้เดือนฝอยจากตัวอย่างดิน

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

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

เมื่อพบตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมในตัวอย่างดิน นำต้นกล้ามะเขือเทศพันธุ์สีดาที่หยั่งปลูกในตัวอย่างดิน เพื่อให้ไส้เดือนฝอยเข้าทำลายรากและเจริญเติบโตพัฒนาเป็นตัวเต็มวัย สุ่มกลุ่มไข่จากรากมะเขือเทศ 10 กลุ่มไปต่อรากลำไปแช่ในน้ำสะอาด เมื่อตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมฟักออกจากไข่ นำไปสกัดดีเอ็นเอ และตรวจสอบด้วยวิธี PCR ตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานเช่นลักษณะรูปร่างส่วนก้นของตัวเต็มวัยเพศเมียเพื่อยืนยันผลร่วมกับวิธี PCR

การตรวจสอบชนิดไส้เดือนฝอยรากปมด้วยวิธี PCR

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

สกัดดีเอ็นเอโดยใช้วิธีการตาม Schizas *et al.*, 1997 ร่วมกับคำแนะนำของ GeneReleaser® (BioVentures) ที่แนบมากับผลิตภัณฑ์ เขี่ยไส้เดือนฝอย 1 ตัว ใส่ลงบนหยด PCR Buffer II (500 mM KCl, 100 mM Tris-HCl, pH 8.3) 20 ไมโครลิตร บนสไลด์แก้ว ตัดตัวไส้เดือนฝอยออกเป็น 2-3 ท่อน โดยใช้ส่วนปลายของ pipette tip ดูดสารละลายทั้งหมดใส่ลงในหลอด microcentrifuge ขนาด 500 ไมโครลิตร นำหลอดแช่ในน้ำที่อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 10 นาที เติม proteinase K ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 2 ไมโครลิตร ลงในหลอดและบ่มที่ 55°C ใน water bath เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นนำหลอดใส่ใน heating block ที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 5 นาทีเพื่อหยุดการทำงานของ proteinase K ใส่ GeneReleaser® 20 ไมโครลิตรลงในหลอด นำหลอดใส่ในเตาไมโครเวฟขนาด 700 วัตต์ นาน 6 นาที ตรวจสอบชนิดไส้เดือนฝอยรากปมโดยใช้ไพรเมอร์ และสภาวะปฏิกิริยา PCR ตาม Adam *et al.* (2007) (ภาคผนวก)

วิธีการตรวจ และจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยรากปม *M. chitwoodi* และ *M. fallax* ปฏิบัติตามวิธีการใน EPPO Standard PM 7/41

ในกรณีที่ตรวจพบไส้เดือนฝอยรากปม *M. chitwoodi* หรือ *M. fallax* จะตรวจยืนยันโดยละเอียด ตามวิธีการใน EPPO Standard PM 7/41 ซึ่งสามารถจำแนกชนิดจากลักษณะทางสัณฐานของตัวเต็มวัยเพศผู้ ตัวเต็มวัยเพศเมีย และตัวอ่อนระยะที่สอง ร่วมกับการจำแนกด้วยวิธี PCR โดยใช้ไพรเมอร์จำเพาะต่อ *M. chitwoodi* หรือ *M. fallax* ซึ่งได้จาก sequence-characterized amplified regions (SCARs)

- การบันทึกข้อมูล

บันทึกที่ตั้งของแปลง วัน และเวลา สภาพดินฟ้าอากาศ พิกัดทางภูมิศาสตร์ บันทึกข้อมูลการตรวจไส้เดือนฝอยสกุลต่าง ๆ จากตัวอย่างดิน จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบไส้เดือนฝอยรากปม บันทึกผลการตรวจสอบชนิดไส้เดือนฝอยรากปมด้วยวิธี PCR

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2558 สิ้นสุด กันยายน 2561

กลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

เก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกมันฝรั่ง จ. เชียงราย 23 ตัวอย่าง ตรวจพบไส้เดือนฝอยรากปม 4 ตัวอย่าง จ. เชียงใหม่ 54 ตัวอย่าง ตรวจพบไส้เดือนฝอยรากปม 33 ตัวอย่าง จ. ลำพูน 18 ตัวอย่าง ตรวจพบไส้เดือนฝอยรากปม 3 ตัวอย่าง จ. พะเยา 9 ตัวอย่าง ตรวจพบไส้เดือนฝอยรากปม 2 ตัวอย่าง จ. ตาก 30 ตัวอย่าง ตรวจพบไส้เดือนฝอยรากปม 20 ตัวอย่าง และ จ. น่าน 1 ตัวอย่าง ไม่พบไส้เดือนฝอยรากปม โดยมีระดับประชากรตัวอ่อนระยะที่สองในดินตั้งแต่ 1-728 ตัวต่อดิน 250 กรัม แต่ส่วนใหญ่จะมีปริมาณน้อยกว่า 50 ตัวต่อดิน 250 กรัม นำต้นกล้ามะเขือเทศพันธุ์สีดาที่พียงปลูกในตัวอย่างดินที่ตรวจพบไส้เดือนฝอยรากปม เมื่อไส้เดือนฝอยรากปมสร้างกลุ่มไข่ สุ่มตัวอย่างกลุ่มไข่ 10 กลุ่มต่อรากมาแช่ในน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ นำตัวอ่อนระยะที่สองที่ฟักออกมาจากกลุ่มไข่มาสกัดดีเอ็นเอและตรวจสอบชนิดด้วยวิธี PCR ด้วยคู่ไพรเมอร์ 194/195 ได้แถบดีเอ็นเอขนาด 720 คู่เบส ซึ่งบ่งชี้ว่าเป็นไส้เดือนฝอยกลุ่ม tropical species ซึ่งอาจเป็นไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* *M. javanica* หรือ *M. arenaria* แต่ไม่ใช่ไส้เดือนฝอยรากปม *M. chitwoodi* และ *M. fallax* ซึ่งจะต้องได้แถบดีเอ็นเอขนาด 1600-1700 คู่เบส เมื่อตรวจสอบด้วยคู่ไพรเมอร์ Inc-K14-F/Inc-K-14R ซึ่งจำเพาะต่อไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* และคู่ไพรเมอร์ Fjav/Rjav ซึ่งจำเพาะต่อไส้เดือนฝอยรากปม *M. javanica* พบว่าส่วนใหญ่เป็นไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ได้ผลิตพันธุ์ปฏิกริยา PCR ขนาด 400 คู่เบส มีเพียง 2 ตัวอย่างที่เป็น *M. javanica* เมื่อตรวจสอบลักษณะของริ้วรอยย่นส่วนกันของตัวเต็มวัยเพศเมีย ให้ผลตรงกับการจำแนกชนิดด้วยวิธี PCR

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

การสำรวจไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ชุกกักกัน *M. chitwoodi* และ *M. fallax* ในพื้นที่ปลูกมันฝรั่ง ดำเนินการในปี พ.ศ. 2559 ถึง พ.ศ. 2561 ไม่พบไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ชุกกักกันทั้ง 2 ชนิดนี้จากการเก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกมันฝรั่ง จ. เชียงราย จ. เชียงใหม่ จ. ลำพูน จ. พะเยา จ. ตาก และ จ. น่าน รวม 135 ตัวอย่าง แยกไส้เดือนฝอยจากตัวอย่างดิน ตรวจไส้เดือนฝอยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบไส้เดือนฝอยรากปมในตัวอย่างดิน 62 ตัวอย่าง จำแนกชนิดด้วยวิธี PCR พบว่าส่วนใหญ่เป็นไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* และพบไส้เดือนฝอยรากปม *M. javanica* 2 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นข้อมูลที่ยืนยันว่าปัจจุบันยังไม่พบไส้เดือนฝอยรากปม *M. chitwoodi* และ *M. fallax* ในพื้นที่ปลูกมันฝรั่งของประเทศไทย

Table 1 Locations and number of soil samples taken from potato fields.

Locations		No. of Samples	No. of RKN-positive samples
Province	District		
Chiang Rai	Wiang Pa Pao	11	0
	Mae Suai	1	0
	Phan	3	2
	Thoeng	8	2
Chiang Mai	Mueang	1	1
	Fang	23	12
	Chai Prakan	8	6
	San Sai	17	12
	Mae Rim	4	0
	Hang Dong	1	2
Lamphun	Thung Hua Chang	11	3
	Li	7	0
Phayao	Chiang Muan	2	0
	Chiang Kham	7	2
Tak	Mae Sot	3	0
	Mae Ramat	2	1
	Phop Phra	25	19
Nan	Pua	1	0
Total		135	62

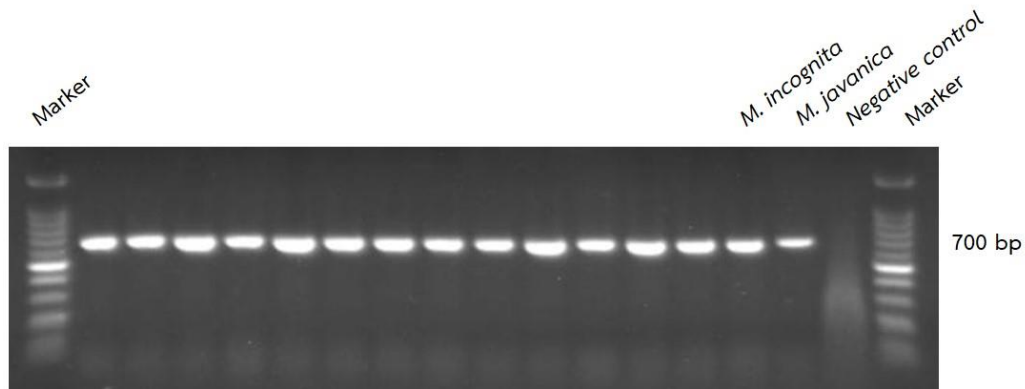


Figure 1 PCR products amplified by 194/195 primers, all samples yielded approximately 720 bp

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

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

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

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

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

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

การทดลองที่ 8

การศึกษาสถานภาพวัชพืช *Polygonum aviculare* L. และ *Polygonum convolvulus* L.
ของแปลงกะหล่ำปลีและกะหล่ำดอกในประเทศไทย

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

อัญศยา พรหมมา^{1/} ศิริพร ชิ่งสนธิพร^{1/} ชลธิชา รักใคร่^{2/} ธีญชนก จงรักไทย^{1/} เอกรัตน์ ธนุทอง^{1/}

^{1/}กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/}กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การสำรวจวัชพืชในแปลงกะหล่ำปลีและกะหล่ำดอก เพื่อศึกษาสถานภาพของศัตรูพืชกักกัน *Polygonum aviculare* L. และ *Polygonum convolvulus* L. ระหว่าง ตุลาคม 2558 - กันยายน 2561 โดยการสำรวจแบบ สืบพบ (Detection survey) และมีวัชพืชทั้งสองเป็นพืชเป้าหมาย ในพื้นที่ภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันตก จำนวน 9 จังหวัด รวม 24 แปลง ไม่พบ *P. aviculare* และ *P. convolvulus* วัชพืชที่พบส่วนใหญ่เป็นวัชพืชที่พบทั่วไป แต่พบวัชพืชที่มีลักษณะใกล้เคียงกับ *P. aviculare* คือ ผักไทรจีน (*Polygonum plebeium* R. Br.) ซึ่งเป็นวัชพืชที่พบทั่วไปในพื้นที่ภาคเหนือ และพบศัตรูพืชกักกัน คือ *Parthenium hysterophorus* L. ในแปลงกะหล่ำปลีในพื้นที่จังหวัดลำพูน

คำสำคัญ: วัชพืชกักกัน *Polygonum aviculare*, *Polygonum convolvulus*

Abstracts

Study pest status of common knotweed (*Polygonum aviculare* L.) and black bindweed (*Polygonum convolvulus* L.) in cabbage and cauliflower, during October 2015 – September 2018. Detection survey was performed in 24 locations (9 provinces) of Cabbage and Cauliflower crop in north, central and western west region in Thailand. The two weeds were not found, but the similar one, another common knotweed, *Polygonum plebeium* R. Br. was found as common weed and found quarantine weed was *Parthenium hysterophorus* L. on cabbage crop in Lamphun province.

Key words: quarantine weed, *Polygonum aviculare*, *Polygonum convolvulus*

บทนำ

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

วัชพืชรากยาวมีรายงานการแพร่ระบาดในนิวซีแลนด์ เมล็ดมีขนาดเล็กมากอาจติดปะปนเข้ามากับเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีได้ จึงมีความจำเป็นต้องทำการสำรวจสถานภาพของวัชพืชสองชนิดดังกล่าวในพื้นที่ผลิตกะหล่ำปลีของประเทศไทยอย่างเป็นระบบ เพื่อให้ได้ข้อมูลในการการสนับสนุนการออกประกาศเรื่องการปลอดศัตรูพืช ตลอดจนที่ดำเนินการโดย NPPO เป็นกระบวนการช่วยตรวจหาศัตรูพืชชนิดใหม่ได้ทันเวลา การให้การรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืช เป็นต้น การสำรวจ ติดตามและตรวจสอบศัตรูพืชเป็นงานพื้นฐานที่มีความจำเป็นสำหรับการดำเนินการด้านอื่นๆ อีก เช่น การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การกำหนดพื้นที่ปลอดศัตรูพืช การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชและการรายงานศัตรูพืช เป็นต้น ซึ่งแนวทางการดำเนินงานจะสอดคล้องกับ ISPMs (International Standard for Phytosanitary Measures) ฉบับที่ 6 (Guidelines for Surveillance) และหากสามารถตรวจพบ (Early detection) และจัดการก่อนที่จะกลายเป็นวัชพืชร้ายแรง จะเป็นการป้องกันการเกิดวัชพืชร้ายแรงจากพืชต่างถิ่นที่นำเข้ามาได้

P. aviculare (Figure 1) มีชื่อสามัญหลายชื่อ เช่น common knotweed, prostrate knotweed, birdweed, pigweed และ lowgrass เป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดในทวีปยุโรป ปัจจุบันพบแพร่กระจายไปเกือบทุกประเทศในเขตอบอุ่น (CAB International, 2015) เป็นวัชพืชประเภทใบกว้าง อายุฤดูเดียว หรืออายุข้ามปี ที่ขยายพันธุ์โดยเมล็ด สามารถสร้างเมล็ดได้ 125-200 เมล็ด/ต้น เมื่ออยู่ในสภาพที่มีการแข่งขันมาก โดยเฉลี่ยสามารถผลิตได้ 4,600 เมล็ด/ต้น (Holm *et al.*, 1997) แต่มีรายงานว่าต้นใหญ่สามารถผลิตเมล็ดได้ถึง 6,380 เมล็ด/ต้น (Stevens, 1932) เมล็ดมีการพักตัว เนื่องจากมีเปลือกหุ้มเมล็ดที่แข็งมาก เมล็ดสามารถงอกได้ในที่อุณหภูมิ 5-25 องศาเซลเซียส เมล็ดงอกได้เล็กน้อยในที่มืด อัตราการงอกสูงขึ้นเมื่อได้รับแสง เมล็ดที่งอกส่วนใหญ่เป็นเมล็ดที่อยู่ในดินชั้นบน หรือหน้าดิน (Chepil, 1946; Baskin and Baskin, 1990) เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำลงเหลือเพียง 10 เปอร์เซ็นต์ เมื่อผ่านไป 2 ปี แต่อย่างไรก็ตามยังพบว่าเมล็ดที่อยู่ในดินลึกที่ไม่ถูกรบกวน นานถึง 60 ปี ยังมีชีวิตอยู่ (Campagna and Rapparini, 1997; Holm *et al.*, 1997) *P. aviculare* สามารถเจริญเติบโตได้ดีในดินแทบทุกชนิด เจริญปกคลุมผิวดิน ทำให้พืชพรรณท้องถิ่นไม่สามารถเจริญเติบโตได้ในพื้นที่นั้น เนื่องจากรากและใบมีสารอัลลิโลเคมีค (Alsaadawi and Rice, 1982; Kloot and Boyce, 1982) สารอัลลิโลเคมีคที่มีใน *P. aviculare* เป็นกลุ่มที่ละลายน้ำได้ รวมถึงกรดไขมันและฟีนอลิกไกลโคไซด์ สามารถยับยั้งการงอกและ

การเจริญเติบโตของพืชปลูก เช่น ผักกาดหอม ข้าว อัลฟาฟ่า และวัชพืชหลายชนิด รวมถึงหญ้าแพรง (*Cynodon dactylon*) และ *Chenopodium album* (CABI, 2015)

P. convolvulus (Figure 2) มีชื่อสามัญหลายชื่อ เช่น black bindweed, climbing bindweed หรือ wild buckwheat เป็นวัชพืชประเภทใบกว้าง เถาเลื้อย อายุฤดูเดียว แตกแขนงได้ดีตั้งแต่โคนต้น เจริญแผ่บนดิน และเลื้อยพันต้นพืชอื่น เป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดในยุโรป เอเชีย เป็นวัชพืชที่สามารถพบได้ทุกที่ที่มีการปลูกพืชในอเมริกา และยุโรป พืชชนิดนี้พบทั่วไปในอเมริกาใต้ ในแอฟริกาพบในโมร็อกโกและตุนิเซีย ส่วนในทวีปเอเชีย พบตั้งแต่ญี่ปุ่นไปจนถึงอิหร่าน และลงมาอินเดีย จนถึงอินโดเนเซีย (Holm *et al.*, 1991) ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดเท่านั้น แต่ละต้นสามารถผลิตได้มากถึง 30,000 เมล็ด (Stevens, 1932; Forsberg and Best, 1964) เมล็ดมีเปลือกแข็ง ทำให้มีการพักตัวหลายปี (Chippendale and Milton, 1934; Roberts and Feast, 1973; Conn and Deck, 1995) เมล็ดงอกจากหน้าดินถึงลึกประมาณ 5 เซนติเมตรจากผิวดิน แต่ Forsberg and Best (1964) รายงานว่า เมล็ดที่อยู่ลึกถึง 19 เซนติเมตร ยังสามารถงอกได้ เมล็ดงอกได้ในช่วงอุณหภูมิ 2-30 องศาเซลเซียส แตงอกได้ดีที่อุณหภูมิ 5-15 องศาเซลเซียส สามารถเจริญเติบโตได้ในดินหลายชนิด (Hume *et al.*, 1983) แต่เจริญเติบโตได้ไม่ดีภายใต้ร่มเงา (Haman and Peeper, 1983) *P. convolvulus* สามารถเจริญเติบโตปกคลุมพื้นที่และแพร่กระจายได้เร็วแล้ว เมล็ดและใบเป็นอาหารของนก (Wilson *et al.*, 1999) เป็นแหล่งอาศัยของเชื้อรา ไวรัส และไส้เดือนฝอย (Townshend and Davidson, 1962; Cooper and Harrison, 1973; Royer and Dickinson, 1999)

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

ระเบียบวิธีการวิจัย

อุปกรณ์

- 1) กล้องถ่ายรูปแบบดิจิทัล
- 2) กรรไกร มีด เสียม หรือพลั่ว สำหรับตัด/ขุด ตัวอย่างพืช
- 3) แผงอัดตัวอย่างพรรณไม้พร้อมกระดาษฟูก ฟองน้ำและหนังสือพิมพ์ พร้อมเชือกใส่ตะเกียงและป้ายชื่อสำหรับผูกตัวอย่างพืช
- 4) กระดาษติดตัวอย่างพืช
- 5) ขวดแก้ว และน้ำยาสำหรับดองตัวอย่างพืช (หากจำเป็น)
- 6) น้ำยาชุบตัวอย่างวัชพืช ประกอบด้วย ฟินอล เมอคิวริคคลอไรด์ เอทิลแอลกอฮอล์
- 7) เครื่องวัดพิกัดภูมิศาสตร์ (GPS)
- 8) สมุดบันทึก

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมการสำรวจ

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

2. การสำรวจและเก็บตัวอย่าง

ปีงบประมาณ 2559 - 2560 กำหนดพื้นที่เป้าหมายในการสำรวจคือแหล่งปลูกกะหล่ำปลี และกะหล่ำดอก เช่น จังหวัดเชียงใหม่ น่าน แม่ฮ่องสอน เชียงราย มหาสารคาม ตาก ลำพูน เพชรบูรณ์ เพชรบุรี เป็นต้น ดำเนินการสำรวจ เก็บตัวอย่าง แบบเฉพาะเจาะจง โดยการสำรวจแบบสืบพบ (Detection survey) โดยเดินสำรวจเป็นแนวเส้นตรง อย่างน้อย 3 แนว ตั้งฉากกับความยาวแปลง โดยสำรวจระหว่างแถวและบริเวณขอบแปลง กะหล่ำปลี/กะหล่ำดอก

ปีงบประมาณ 2561 กำหนดพื้นที่เป้าหมายในการสำรวจคือแหล่งปลูกกะหล่ำปลี และกะหล่ำดอก เช่น จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย น่าน แพร่ พะเยา แม่ฮ่องสอน มหาสารคาม นครราชสีมา หนองคาย ตาก ลำพูน เพชรบูรณ์ และเพชรบุรี เป็นต้น ดำเนินการสำรวจเช่นเดียวกับปีงบประมาณ 2559 - 2560

3. การตรวจสอบวัชพืชเป้าหมาย *P. aviculare* และ *P. convolvulus*

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

การบันทึกข้อมูล ถ่ายภาพสภาพแปลง และชนิดวัชพืชที่พบ บันทึกข้อมูลในรูปของ data sheet เพื่อใช้ในการวิเคราะห์สถานภาพศัตรูพืชทางสถิติ จัดทำรายงานผลการวิจัย

- เวลาและสถานที่

ทำการทดลอง ระหว่าง ตุลาคม 2558 - กันยายน 2561 (ระยะเวลา 3 ปี) โดยสำรวจในแหล่งปลูกกะหล่ำปลีและกะหล่ำดอก ในภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันตก และศึกษาเพิ่มเติมที่กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

จากการสำรวจแปลงกะหล่ำปลีในปีงบประมาณ 2559-2560 ในพื้นที่ภาคเหนือ จังหวัดเชียงใหม่ แม่ฮ่องสอน ตาก ลำพูน และภาคกลาง จังหวัดเพชรบุรี รวม 34 แปลง ไม่พบ *P. aviculare* และ *P. convolvulus* วัชพืชที่พบส่วนใหญ่เป็นวัชพืชที่พบทั่วไป แต่พบวัชพืชที่มีลักษณะใกล้เคียงกับ *P. aviculare* คือ ผักไทรริน (*Polygonum plebeium* R. Br.) (Figure 3) ซึ่งเป็นวัชพืชที่พบทั่วไปในพื้นที่ภาคเหนือ และพบศัตรูพืชกักกัน คือ *Parthenium hysterophorus* L. ในแปลงกะหล่ำปลีในพื้นที่จังหวัดลำพูน (รายละเอียดเพิ่มเติมในรายงานความก้าวหน้าปีงบประมาณ 2559 - 2560)

ปีงบประมาณ 2561 ได้ทำการสำรวจเพิ่มเติมในแปลงกะหล่ำปลี ภาคเหนือ จังหวัดเชียงราย 2 แปลง เชียงใหม่ 5 แปลง แม่ฮ่องสอน 2 แปลง ลำพูน 2 แปลง เพชรบูรณ์ 10 แปลง และน่าน 2 แปลง และภาคตะวันตก จังหวัดตาก 2 แปลง และสำรวจแปลงกะหล่ำดอก ภาคตะวันตก จังหวัดกาญจนบุรี 1 แปลง รวม 24 แปลง ยังไม่พบวัชพืชกักกันทั้งสองชนิด โดยวัชพืชที่พบส่วนใหญ่ในการสำรวจเป็นวัชพืชที่พบทั่วไป (Table 1)

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

จากการสำรวจแปลงกะหล่ำปลีและแปลงกะหล่ำดอก ในปีงบประมาณ 2559-2561 ในพื้นที่ภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันตก จำนวน 9 จังหวัด รวม 24 แปลง ไม่พบ *P. aviculare* และ *P. convolvulus* วัชพืชที่พบส่วนใหญ่เป็นวัชพืชที่พบทั่วไป แต่พบวัชพืชที่มีลักษณะใกล้เคียงกับ *P. aviculare* คือ ผักไทรริน (*Polygonum plebeium* R. Br.) ซึ่งเป็นวัชพืชที่พบทั่วไปในพื้นที่ในภาคเหนือ และพบศัตรูพืชกักกัน คือ *Parthenium hysterophorus* L. ในแปลงกะหล่ำปลีในพื้นที่จังหวัดลำพูน

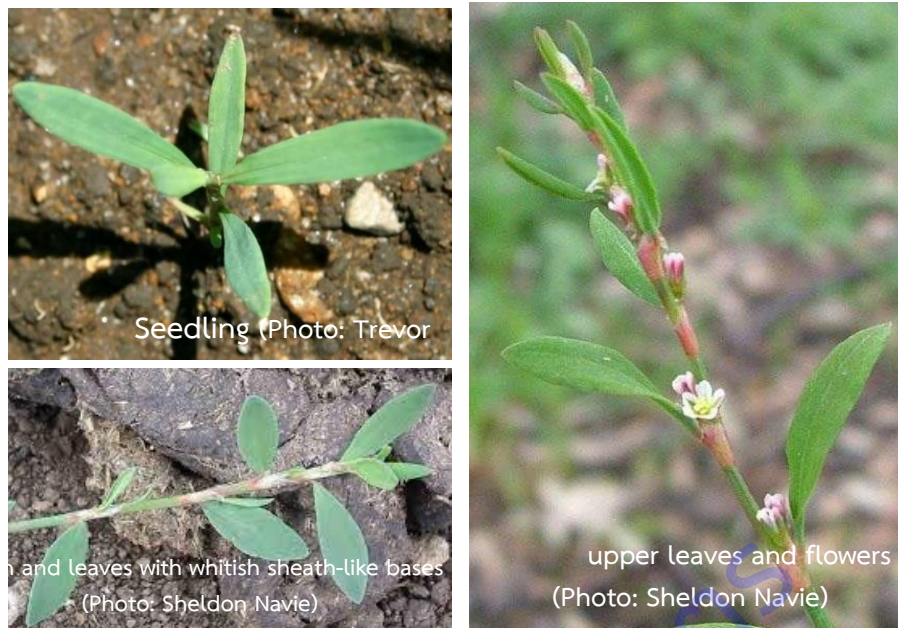
ถึงแม้ว่าการสำรวจครั้งนี้จะไม่พบ *P. aviculare* และ *P. convolvulus* แต่อย่างไรก็ตามควรมีการสำรวจ และปรับปรุงข้อมูลเป็นระยะๆ เพื่อป้องกันวัชพืชทั้งสองชนิดนี้เข้ามาในประเทศไทย และเพื่อประโยชน์ต่อการส่งออกและนำเข้าเมล็ดพันธุ์ผักในอนาคตต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ พนักงานและจ้างเหมา ของกลุ่มวิจัยวัชพืช ที่ช่วยให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

Table 1 List of weeds found in cabbage and cauliflower in 2018.

No.	Family	Scientific name
1	Amaranthaceae	<i>Amaranthus viridis</i> L.
2	Asteraceae	<i>Ageratum conyzoides</i> L.
3	Asteraceae	<i>Bidens biternata</i> (Lour.) Merr. & Scherff.
4	Asteraceae	<i>Bidens pilosa</i> L.
5	Asteraceae	<i>Crassocephalum crepidioides</i> (benth.)S. Moore.
6	Asteraceae	<i>Eclipta prostrata</i> (L.) L.
7	Asteraceae	<i>Galinsoga ciliata</i> (Rafin.) Blake.
8	Asteraceae	<i>Galinsoga parviflora</i> Cav.
9	Asteraceae	<i>Praxelis clematidea</i> (Griseb.) R.M.King & H.Rob.
10	Asteraceae	<i>Spilanthes acmella</i> Wall. ex DC.
11	Asteraceae	<i>Tridax procumbens</i> L.
12	Boraginaceae	<i>Heliotropium indicum</i> L.
13	Capparaceae	<i>Cleome rutidosperma</i> DC.
14	Chenopodiaceae	<i>Chenopodium ficifolium</i> Sm.
15	Cruciferae	<i>Rorippa indica</i> (L.) Hiern
16	Cyperaceae	<i>Cyperus iria</i> L.
17	Cyperaceae	<i>Cyperus rotundus</i> L.
18	Euphorbiaceae	<i>Euphorbia heterophylla</i> L.
19	Euphorbiaceae	<i>Euphorbia hirta</i> L.
20	Malvaceae	<i>Corchorus olitorius</i> L.
21	Oxalidaceae	<i>Oxalis corniculata</i> L.
22	Piperaceae	<i>Peperomia pellucida</i> (L.) Kunth
23	Poaceae	<i>Digitaria ciliaris</i> (Rezt.) Koel.
24	Poaceae	<i>Echinochloa colona</i> (L.) Link
25	Poaceae	<i>Eleusine indica</i> (L.) Gayern.
26	Portulacaceae	<i>Portulaca oleracea</i> L.
27	Solanaceae	<i>Solanum nigrum</i> L.
28	Solanaceae	<i>Physalis minima</i> L.
29	Solanaceae	<i>Solanum nigrum</i> L.

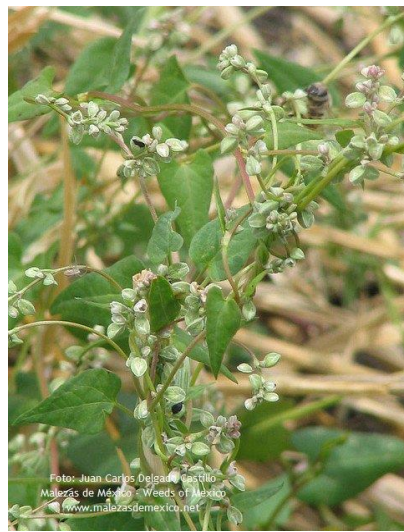


(Source: https://keyserver.lucidcentral.org/weeds/data/media/Html/polygonum_aviculare.htm)

Figure 1 Habit of common knotweed (*Polygonum aviculare* L.).



Figure 3 Habit of common knotweed (*Polygonum plebeium* R. Br.), a common weed in vegetable field in northern Thailand.



(Source: ([http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/polygonaceae/polygonum convolvulus/fichas/pagina1.htm](http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/polygonaceae/polygonum%20convolvulus/fichas/pagina1.htm))

Figure 2 Habit of black bindweed (*Polygonum convolvulus* L.).

การทดลองที่ 9

การศึกษาสถานภาพของไร *Aceria guerreronis* Keifer ในประเทศไทย

Pest Status of *Aceria guerreronis* Keifer in Thailand

พลอยชมพู กรวิภาสเรือง^{1/} ณพชกร ธไภษชัย^{1/} วิมลวรรณ โชติวงศ์^{1/}
 อัจฉราภรณ์ ประเสริฐผล^{1/} อติติยา แก้วประดิษฐ์^{1/} พิเชฐ เขาวนวัฒน์วงศ์^{2/}

^{1/}กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/}รักษาการผู้เชี่ยวชาญด้านศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการสำรวจไรสีขามะพร้าว *Aceria guerreronis* Keifer ซึ่งเป็นไรศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย ในแปลงมะพร้าวรวมทั้งสิ้น 68 จังหวัด ระหว่างเดือนตุลาคม 2559 ถึงเดือนตุลาคม 2562 พบไรสีขามะพร้าว *A. guerreronis* ใน 18 จังหวัด ได้แก่ ปทุมธานี ระยอง กาญจนบุรี ราชบุรี เพชรบูรณ์ ลพบุรี พิจิตร พิษณุโลก นครปฐม สุพรรณบุรี ชัยนาท นครสวรรค์ กำแพงเพชร สิงห์บุรี สระบุรี ชัยภูมิ นครราชสีมา และ อำนาจเจริญ คิดเป็น 4.2 เปอร์เซ็นต์ ของต้นที่แสดงอาการทั้งหมดไม่พบการระบาดของไรสีขามะพร้าว *A. guerreronis* ในพื้นที่ภาคเหนือตอนบน ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนและภาคใต้ของประเทศ ซึ่งเป็นพื้นที่ที่ปลูกมะพร้าวที่สำคัญของประเทศ ได้แก่ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร ระนอง พังงา สุราษฎร์ธานี ภูเก็ต กระบี่ นครศรีธรรมราช ตรัง พัทลุง สตูล สงขลา ปัตตานี สำหรับไรชนิดอื่น ๆ ที่พบในขั้วผลมะพร้าวพบไร พบโรรวมทั้งสิ้น 26 ชนิด 13 วงศ์ เป็นไรศัตรูพืช 6 ชนิด 2 วงศ์ ได้แก่ วงศ์ Eriophyidae 2 ชนิด คือ *Colomerus novaehbridensis* Keifer และ *Aceria* sp. วงศ์ Tarsonemidae 4 ชนิด ได้แก่ *Steneotarsonemus furcatus* De Leon, *Steneotarsonemus* sp., *Nasuitarsonemus onami* Lofego et al., *Nasuitarsonemus* sp.

คำสำคัญ: ไรสีขา ไรสีขามะพร้าว ไรขาว ไรสีขาโคโลโมรัส ไรเข็ชรา

Abstracts

Survey of coconut mite, *Aceria guerreronis* Keifer that is quarantine pest in Thailand from 68 provinces during October 2016-September 2019. The result revealed that found coconut mites *A. guerreronis* in 18 provinces including Pathum Thani, Rayong, Kanchanaburi, Ratchaburi, Phetchabun, Lop Buri, Phichit, Phitsanulok, Nakhon Pathom, Suphanburi, Chainat, Nakhon Sawan, Kamphaeng Phet, Sing Buri, Saraburi, Chaiyaphum, Nakhon, Ratchasima, Amnat Charoen, accounting for 4.2 percent of the total surveyed trees that show damage on fruits. This species wasn't found in the upper north, northeast and the south of Thailand which is the important coconut planting area consists of Prachuap Khiri Khan, Chumphon Ranong Phang-Nga, Surat Thani, Phuket Nakhon Si Thammarat, Trang, Phatthalung, Satun, Songkhla, Pattani. Moreover, 27 species in 13 families of the other mites were found and 7 species in 2 families were coconut pest in this study. The first family is Eriophyidae consists of 2 species including *Colomerus novaehbridensis* Keifer and *Aceria* sp. The second family is Tarsonemidae consists of 4 species including *Steneotarsonemus furcatus* De Leon, *Steneotarsonemus* sp., *Nasuitarsonemus onami* Lofego et al. and *Nasuitarsonemus* sp.

Keywords: Eriophyid mite, coconut mite, tarsonemid mite, coconut pest, mould mite

บทนำ

มะพร้าวเป็นพืชตระกูลปาล์ม มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cocos nucifera* L. เป็นพืชที่มีประโยชน์ ทั้งนำมาบริโภคสด แปรรูปเป็นอาหารในรูปแบบต่าง ๆ ผลิตเครื่องสำอาง หรือนำมาใช้ในอุตสาหกรรม ในปี 2560 มีการเพาะปลูกมะพร้าวทั่วโลกทั้งสิ้น 77.13 ล้านไร่ คิดเป็นผลผลิตทั้งสิ้นประมาณ 61.10 ล้านตันต่อปี ประเทศฟิลิปปินส์ มีพื้นที่เพาะปลูกมะพร้าวมากที่สุดในโลก แต่อินโดนีเซียกลับสามารถผลิตมะพร้าวได้มากที่สุดในโลกประมาณ 18.98 ล้านตัน รองลงมาคือประเทศฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย อินเดีย ศรีลังกา และบราซิล สำหรับประเทศไทยเป็นผู้ผลิตมะพร้าวอันดับที่ 9 ของโลก สามารถผลิตมะพร้าวได้ประมาณ 8.95 แสนตัน (สำนักงานส่งเสริมการค้าในต่างประเทศ, 2562)

ประเทศไทยมีการปลูกมะพร้าวส่วนใหญ่ในภาคกลางและภาคใต้ของประเทศ ซึ่งจังหวัดที่มีผลผลิตมากที่สุด 5 อันดับแรกได้แก่ ประจวบคีรีขันธ์ 32% ชุมพร 15% สุราษฎร์ธานี 15% นครศรีธรรมราช 7% และปัตตานี 6% (เทคโนโลยีชาวบ้าน, 2559) อย่างไรก็ตามผลผลิตมะพร้าวในประเทศไทยปี 2561 มีผลผลิตมะพร้าวประมาณ 860,160 ตัน เพิ่มขึ้นจากปี 2560 ซึ่งมีจำนวน 832,895 ตัน คิดเป็นเพิ่มขึ้น 2.11% (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2561) สำหรับ ปี 2558 มีเนื้อที่ให้ผล 1.268 ล้านไร่ ลดลงจากปี 2557 ร้อยละ 2.08 และผลผลิต 1.012 ล้านตัน (เทคโนโลยีชาวบ้าน, 2559) สาเหตุอันเนื่องมาจากปัญหาภัยแล้งและศัตรูพืชระบาด โดยในช่วง 2-3 ปีที่ผ่านมาเกิดการระบาดของแมลงค้ำหนาม *Brontispa longissima* Gestro อย่างรุนแรง ในพื้นที่ประจวบคีรีขันธ์ ภาคกลางตอนล่าง และภาคตะวันออก นอกจากนี้ยังพบแมลงชนิดอื่น ๆ อีกหลายชนิดเช่น ตัวงวงมะพร้าว หนอนหัวดำมะพร้าว สำหรับไรศัตรูพืชเป็นศัตรูพืชมีขนาดเล็กมาก พบหลายชนิดบนใบของมะพร้าว เช่น *Tetranychus fijiensis* Hirst, *Oligonychus modestus* (Banks) *Oligonychus velascoi* Rimando (พลอยชมพูและคณะ, 2553; กรมวิชาการเกษตร, 2555) นอกจากนี้ยังพบไรเข้าทำลายภายในกลีบเลี้ยงของผลมะพร้าว ในปี 2007 Lawson-Balagbo รายงานพบไรหลายชนิดภายในกลีบเลี้ยงของผลมะพร้าวที่ประเทศบราซิล ทั้งที่เป็นศัตรูสร้างความเสียหายของผลมะพร้าวและที่เป็นตัวห้ำ ได้แก่ *Sterneotarsonemus furcatus* De Leon, *Tyrophagus putrescentiae*, *Histiostoma* sp., *Aceria guerreronis* Keifer, *Lorryia* aff. *Formosa* Cooreman, *Neoseiulus baraki* Athias-Henriot, *Neoseiulus paspalivorus* De Leon, *Amblyseius largoensis* Muma, *Proctolaelaps bickleyi* Bram, *Proctolaelaps* sp. nov., *Lasioseius subterraneus* Chant, *Bdella distincta* Baker and Balogh และ *Aceria guerreronis* Keifer ซึ่งไร *Aceria guerreronis* Keifer เป็นไรศัตรูที่สำคัญของมะพร้าว อยู่ในวงศ์ Eriophyidae มีขนาดเล็กมากไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ขนาดลำตัวยาวโดยประมาณ 205-255 ไมโครเมตร (Keifer et al., 1982) ไร *A. guerreronis* นี้สามารถเจริญเติบโตได้ดีในพื้นที่มีอุณหภูมิสูง โดยพบว่าไรจะมีวงจรชีวิตสั้นเพียง 6.8 วัน นับจากไข่จนถึงตัวเต็มวัย ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ในขณะที่อุณหภูมิต่ำลง จะมีวงจรชีวิตที่ยาวขึ้น คือที่อุณหภูมิ 30, 25, 20 และ 15 องศาเซลเซียส มีวงจรชีวิต 8.1, 11.5, 16, 30.5 วันตามลำดับ (Ansaloni and Perring, 2004)

ในต่างประเทศในหลาย ๆ ประเทศเช่นบราซิล อินเดีย แม็กซิโก คอสตาริกา ศรีลังกา จาไมกา ฟิลิปปิน อินโดนีเซียฯ (Haq, 2011) พบไร *Aceria guerreronis* Keifer และนับเป็นไรที่มีความสำคัญ เข้าทำลายผลมะพร้าวอ่อนข้างในกลีบเลี้ยงของผลมะพร้าวขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.5-3 เซนติเมตร จนถึงเส้นผ่าศูนย์กลาง 25 เซนติเมตร ทำให้ผลชะงักการเจริญเติบโต หลุดร่วง ผลผลิตเสียหายมากกว่า 60% (Morre, 2000; Nair, 2002) สำหรับประเทศไทยจัดให้ 2550 และยังไม่เคยมีรายงานการพบไรชนิดนี้มาก่อนในประเทศไทย เนื่องจากไรชนิดนี้เป็นไรที่มีความสำคัญ สร้างความเสียหายให้กับผลผลิตของมะพร้าวและมีการแพร่ระบาดไปในหลาย ๆ ประเทศ

ดังนั้นในการสำรวจ เพื่อเฝ้าระวังไร *Aceria guerreronis* Keifer บนมะพร้าวในประเทศไทย จึงเป็นการสำรวจเพื่อยืนยันสถานภาพของไร และเพื่อเฝ้าระวังไม่ให้มีไรชนิดนี้เข้ามาระบาดในประเทศไทยได้

ระเบียบวิธีการวิจัย

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างไร: ได้แก่ ถุงพลาสติกใสขนาดต่าง ๆ กล่องพลาสติก ฟูกันเบอร์ 0, ขวดดองตัวอย่างไร ขนาด 1 แดรม บรรจุแอลกอฮอล์ 70% ฟูกัน กล่องพลาสติกรักษาความเย็นขนาด 68 ควอทซ์ แวนชยาย (กำลังขยาย 20x)
2. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการเตรียมตัวอย่างไร เพื่อการศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธาน: ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์ (stereo microscope) ตะเกียงแอลกอฮอล์ โคมไฟ ฟูกันเบอร์ 0 เข็มเขี่ยปลายแหลม และปลายงอสำหรับคีบ คีมตัด คีมตัดปลายแหลม ตั้งอุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียส แป้นหมุนสำหรับผนึกขอบสไลด์ น้ำยาผนึกขอบสไลด์
3. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการตรวจจำแนกชนิดของไร ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscop BX 53 คู่มือการจำแนก (key) สำหรับใช้จำแนกชนิดของไรศัตรูในโรงเก็บ และไรตัวห้ำในวงศ์ต่าง ๆ ได้แก่ คู่มือจำแนกของ Hughes ปี 1976, Lindquist ปี 1986, Amrine *et al.* ปี 2003, Fan and Zhang ปี 2004 และ 2007
4. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการเก็บตัวอย่างไร ได้แก่ ถุงกระดาษ ถุงพลาสติกใสขนาดต่าง ๆ แอลกอฮอล์ 95% และสารเคมีสำหรับดองตัวอย่าง
5. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการเตรียมตัวอย่างไร เพื่อการศึกษาลักษณะชนิดของไรศัตรูพืช ได้แก่ แผ่นสไลด์ coverglass กล่องใส่สไลด์ สารเคมีสำหรับใช้เตรียมน้ำยาเมาท์สไลด์ Hoyer's solution น้ำยา Keifer I และน้ำยา Keifer III สำลี น้ำยาสำหรับผนึกขอบสไลด์ แผ่นพลาสติกเจาะรู งานแก้ว

วิธีการทดลอง

1. แบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจได้แก่ ชื่อที่อยู่ที่ตั้งของแปลง วันและเวลาสภาพดินฟ้าอากาศ ตำแหน่งที่ตั้งพิกัดภูมิศาสตร์
2. เก็บตัวอย่างผลมะพร้าวที่แสดงอาการผิดปกติ จากพื้นที่เป็นแหล่งปลูกมะพร้าวในปริมาณมากของประเทศ โดยทำการสุ่มเก็บ 10% ของพื้นที่ในแต่ละภาค หากพบผลมะพร้าวที่แสดงอาการผิดปกติ เก็บดั่งนี้ภาคใต้ ได้แก่ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พังงา ภาคกลางและภาคตะวันออก ได้แก่ สมุทรสาคร สมุทรสงคราม นครปฐม ชลบุรี สำหรับพื้นที่จังหวัดอื่น เก็บและสำรวจเพิ่มเติม ในจังหวัดอื่น ๆ และจังหวัดรอบ ๆ โดยการเก็บแบบสุ่มหากพบผลมะพร้าวที่แสดงอาการนำกลับมาห้องปฏิบัติการ
3. นำตัวอย่างไรที่ได้ ใส่ถุงพลาสติกแล้วรัดปากถุงให้สนิท นำผลมะพร้าวที่แสดงอาการผิดปกติเกิดแผลบนผล เปิดขั้วผลมะพร้าวออก ส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ หากพบตัวไรสีขานำมาแช่ด้วยน้ำยา Keifer's I เพื่อให้ตัวอย่างไรสีขาน้ำก่อน แล้วนำมาตัวอย่างไรสีขาที่ตัวใสแล้วมาทำสไลด์ถาวรด้วยน้ำยา Keifer's III (Keifer, 1954) สำหรับไรชนิดอื่น ๆ ทำสไลด์ถาวรด้วยน้ำยา Hoyer's solution

4. การทำสไลด์ถาวรด้วยน้ำยา Keifer's III และ น้ำยา Hoyer's solution ด้วยการหยดน้ำยา Keifer's III สำหรับตัวอย่างไรสีขา หรือ Hoyer's solution สำหรับตัวอย่างไรชนิดอื่น ๆ ลงบนสไลด์ใช้ฟู่กันเช็ดตัวไรลงวางลงบนน้ำยา จากนั้นกดตัวไรให้จมลงในน้ำยา

5. จัดตัวไรให้อยู่ในสภาพที่เห็นส่วนต่าง ๆ ได้อย่างชัดเจน ด้วยเข็มเขี่ยขนาดเล็ก ปิดตัวอย่างด้วยแผ่นแก้วปิดสไลด์ (coverglass)

6. เขียนหมายเลขรหัสของตัวอย่างที่ทำเสร็จเรียบร้อยแล้วลงบนสไลด์ บันทึกรายละเอียดที่สำคัญของตัวไรลงบนสมุดบันทึก จากนั้นนำตัวอย่างที่ทำเสร็จแล้วเข้าสู่ตู้บ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 5-7 วัน จนสไลด์แห้ง จากนั้นนำสไลด์ที่ได้มาทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 1 สัปดาห์ จึงผนึกขอบสไลด์ด้วยน้ำยาทาเล็บ

7. นำสไลด์ถาวรที่เสร็จเรียบร้อยแล้วมาจำแนกชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope (Olympus BX53) ปิดป้ายบันทึกรายละเอียดเกี่ยวกับสถานที่ วันที่ที่เก็บตัวอย่าง ชื่อผู้เก็บและชื่อพืชไว้ด้านซ้ายของแผ่นสไลด์ ส่วนชื่อวิทยาศาสตร์ที่จำแนกได้ไว้ด้านขวาของสไลด์

8. บันทึกข้อมูลจากตัวอย่างไรที่เก็บได้ เช่น ชื่อพืช ชื่อผู้เก็บ สถานที่ บันทึกข้อมูลพิกัดทางภูมิศาสตร์ (GPS) วันที่เก็บ นำตัวอย่างที่ได้ทั้งหมดกลับมาทำสไลด์ถาวรที่ห้องปฏิบัติการ

การบันทึกข้อมูล

บันทึกลักษณะอาการเข้าทำลายของไรศัตรูมะพร้าว แต่ละชนิดบนผลมะพร้าว ลักษณะผลบนผล จำนวนผลที่แสดงอาการในแต่ละทะลาย

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาทำการวิจัยรวมทั้งสิ้น 3 ปี ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2559 ถึง 30 กันยายน 2562

สำรวจ และสุ่มเก็บตัวอย่างไรศัตรูที่พบอาการเข้าทำลายบนผลมะพร้าวในพื้นที่ 68 จังหวัดได้แก่ เชียงใหม่ แม่ฮ่องสอน ลำพูน พะเยา ลำปาง แพร่ น่าน อุตรดิตถ์ สุโขทัย ตาก พิษณุโลก กำแพงเพชร พิจิตร เพชรบูรณ์ นครสวรรค์ อุทัยธานี ชัยนาท ลพบุรี สระบุรี นครนายก นนทบุรี ปทุมธานี สมุทรสาคร สมุทรสงคราม อ่างทอง สิงห์บุรี สุพรรณบุรี กาญจนบุรี เพชรบุรี ราชบุรี นครปฐม เลย หนองคาย หนองบัวลำภู อุตรธานี สกลนคร นครพนม ขอนแก่น กาฬสินธุ์ มุกดาหาร ยโสธร อำนาจเจริญ ร้อยเอ็ด อุบลราชธานี ศรีสะเกษ สุรินทร์ บุรีรัมย์ ชัยภูมิ นครราชสีมา สระแก้ว ปราจีนบุรี ฉะเชิงเทรา ชลบุรี ระยอง จันทบุรี ตราด ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร ระนอง สุราษฎร์ธานี พังงา นครศรีธรรมราช ภูเก็ต ตรัง พัทลุง สตูล สงขลา ปัตตานี ส่วนในพื้นที่ที่เป็นแหล่งปลูกมะพร้าวที่สำคัญทำการสุ่มเก็บ 10% ของพื้นที่ในแต่ละภาค ภาคใต้ ได้แก่ จังหวัด ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พังงา ภาคกลางและภาคตะวันออก ได้แก่ สมุทรสาคร สมุทรสงคราม นครปฐม ชลบุรี

นำตัวอย่างที่ได้มาทำการศึกษาที่ กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ 50 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1. ไรในข้าวผลมะพร้าวที่สำรวจพบ

จากการสำรวจแปลงมะพร้าวรวมทั้งสิ้น 68 จังหวัด ทั่วทุกภาคของประเทศ ภาคเหนือ ได้แก่ เชียงใหม่ แม่ฮ่องสอน ลำพูน พะเยา ลำปาง แพร่ น่าน อุตรดิตถ์ ภาคกลางได้แก่ สุโขทัย ตาก พิษณุโลก กำแพงเพชร พิจิตร เพชรบูรณ์ นครสวรรค์ อุทัยธานี ชัยนาท ลพบุรี สระบุรี นครนายก นนทบุรี ปทุมธานี สมุทรสาคร สมุทรสงคราม อ่างทอง สิงห์บุรี สุพรรณบุรี ราชบุรี นครปฐม ภาคตะวันตกได้แก่ กาญจนบุรี เพชรบุรี ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ เลย หนองคาย หนองบัวลำภู อุดรธานี สกลนคร นครพนม ขอนแก่น กาฬสินธุ์ มุกดาหาร ยโสธร อำนาจเจริญ ร้อยเอ็ด อุบลราชธานี ศรีสะเกษ สุรินทร์ บุรีรัมย์ ชัยภูมิ นครราชสีมา ภาคตะวันออก ได้แก่ สระแก้ว ปราจีนบุรี ฉะเชิงเทรา ชลบุรี ระยอง จันทบุรี ตราด ภาคใต้ได้แก่ ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร ระนอง สุราษฎร์ธานี พังงา นครศรีธรรมราช ภูเก็ต ตรัง พัทลุง สตูล สงขลา ปัตตานี พบไรบนมะพร้าวทั้งสิ้น 61 อำเภอ 39 จังหวัด ได้แก่ ปทุมธานี นครนายก สุพรรณบุรี ลพบุรี สิงห์บุรี ชัยนาท นครสวรรค์ ชัยภูมิ พิจิตร พิษณุโลก กำแพงเพชร นครปฐม ราชบุรี กาญจนบุรี เพชรบูรณ์ เชียงใหม่ แม่ฮ่องสอน สมุทรสาคร สมุทรสงคราม ชลบุรี จันทบุรี ระยอง ตราด ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร สุราษฎร์ธานี ระนอง นครศรีธรรมราช พังงา พัทลุง ตรัง สตูล ภูเก็ต สงขลา ปัตตานี สระบุรี สุรินทร์ นครราชสีมา อำนาจเจริญ (Table 1, 2)

นำผลมะพร้าวที่แสดงอาการผิดปกติเกิดผลบนผล เปิดข้าวผลมะพร้าวออก นำมาส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ หากพบไรนำมาทำสไลด์ถาวร เพื่อจำแนกชนิด พบไรรวมทั้งสิ้น 27 ชนิด 13 วงศ์ เป็นไรศัตรูพืช 7 ชนิด 2 วงศ์ ได้แก่ วงศ์ Eriophyidae 3 ชนิด คือ *Colomerus novaehybridensis* Keifer, *Aceria* sp. และ *Aceria guerreronis* Keifer ไรศัตรูพืชที่เข้าทำลายผลมะพร้าววงศ์ Tarsonemidae ได้แก่ *Steneotarsonemus furcatus* De Leon, *Steneotarsonemus* sp., *Nasuitarsonemus onami* Lofego, Hountondji, Al-Shanfari & Moraes, *Nasuitarsonemus* sp. ไรกินเชื้อราที่พบบนผลมะพร้าวพบ 7 ชนิด 2 วงศ์ วงศ์ Acaridae ได้แก่ *Cosmoglyphus* sp., *Reckiacarus* sp., *Tyrophagus communis* Fan&Zhang, *Tyrophagus javensis* Oudemans, *Tyrophagus robertsonae* Lynch, *Tyrophagus* sp. และวงศ์ Tydeidae 1 ชนิด (Table 1) สำหรับไรตัวห้ำพบ 8 วงศ์ ได้แก่ Ameroseiidae, Ascidae, Cheyletidae, Laelapidae, Melicharidae, Phytoseiidae พบ 2 ชนิด ได้แก่ *Amblyseius largoensis* (Muma) และ *Neoseiulus beraki* (Athias-Henriot), Cryptognathidae และวงศ์ Stigmaeidae (Table 3) สำหรับไรขาว *Steneotarsonemus* sp. กำลังอยู่ระหว่างส่งตัวอย่างให้ผู้เชี่ยวชาญเฉพาะด้านจำแนกชนิดต่อไป

2. สถานภาพของไร *Aceria guerreronis* Keifer ศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย

จากการสำรวจสวนมะพร้าวบนพื้นที่ 68 จังหวัด โดยการสุ่มตรวจผลมะพร้าวทั้งหมด 700 ต้นที่แสดงอาการผิดปกติ พบไรสีขามะพร้าว *A. guerreronis* ทั้งสิ้น 30 ต้น คิดเป็น 4.2% ของต้นที่แสดงอาการผิดปกติทั้งหมด รวมทั้งสิ้น 18 จังหวัด ได้แก่ ปทุมธานี ระยอง กาญจนบุรี ราชบุรี เพชรบูรณ์ ลพบุรี พิจิตร พิษณุโลก นครปฐม สุพรรณบุรี ชัยนาท นครสวรรค์ กำแพงเพชร สิงห์บุรี สระบุรี ชัยภูมิ นครราชสีมา และอำนาจเจริญ (Table 2) ลักษณะอาการที่เข้าทำลายระหว่างไรสีขามะพร้าว ไรสีขาโคโลโมรัส และไรขาวมีลักษณะอาการบนผลที่แตกต่างกัน ดังนี้

2.1 มะพร้าวที่ถูกไรสีขามะพร้าว *A. guerreronis* เข้าทำลายจะทำให้ผลมีขนาดเล็กลง บางผลลีบอย่างเห็นได้ชัด ปลายผลจะแหลม ผลเป็นสีน้ำตาลเป็นร่องลึก ลักษณะผลจะเกิดโดยรอบของผล และในหนึ่งทะลายจะพบอาการเข้าทำลายเกือบทุกผลและหากไม่ป้องกันกำจัด จะทำให้ผลมะพร้าวในฤดูถัดไปมีขนาดเล็กลงอย่างเห็นได้ชัด ผลเล็กลีบ จนไม่ได้ผลผลิต หากเข้าทำลายรุนแรงผลมะพร้าวจะเสียหายและร่วงหล่น (Figure 3A, B)

2.2 มะพร้าวที่ถูกโรสี้ชาโคลโมริส *C. novaehybridensis* ทำลายพบว่า ผลหลังจากถูกโรสี้ชาทำลายจะ ตื้นกว่า ไม่เป็นร่องลึก ปลายผลอาจจะแหลม หรือเรียบเป็นเส้นตรง ผลที่เกิดขึ้นไม่เป็นผลโดยรอบผล และใน หนึ่งหลายมักพบอาการเพียงไม่กี่ผล (Figure 5A, B) ซึ่งลักษณะอาการเข้าทำลายสอดคล้องกับการรายงานของ พลอยชมพู (2559)

2.3 ลักษณะผลมะพร้าวที่ถูกรูขาว *S. furcatus* ทำลายพบว่า มีลักษณะปลายผลที่เกิดขึ้นเป็นเส้นตรง หากโรสี้ชาทำลายรุนแรง ผลจะบิดเบี้ยว (Figure 4A, B)

การกระจายตัวของโรสี้ชามะพร้าว *A. guerreronis* พบมีการกระจายตัวอยู่ในพื้นที่ภาคกลาง และภาค ตะวันออกเฉียงเหนือบางจังหวัด ส่วนโรสี้ชาโคลโมริส *C. novaehybridensis* และโรสี้ชามะพร้าว *S. furcatus* มี การกระจายตัวอยู่ในพื้นที่ภาคกลางและภาคใต้ (Figure 1) จากการเปรียบเทียบการกระจายตัวของโรสี้ชาทั้ง 3 ชนิด กับปริมาณน้ำฝนเฉลี่ย 3 ปี ในแต่ละภาคตั้งแต่ปี 2560-2562 ไม่พบโรสี้ชามะพร้าว *A. guerreronis* ในพื้นที่ ภาคใต้ ซึ่งมีปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยตลอดทั้งปีในพื้นที่ภาคใต้ในปริมาณสูงกว่าภาคอื่นประมาณ 3,297.39 มม. ในขณะที่ ภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยอยู่ที่ 1,263 และ 1,441.41 มม. ตามลำดับ (สถาบัน สารสนเทศทรัพยากรน้ำและการเกษตร, 2560; ศูนย์เมขลา 2563) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Aratchige *et al.*, 2012 ที่รายงานว่าปริมาณน้ำฝนมีความหนาแน่นของประชากรโรสี้ชามะพร้าว *A. guerreronis* โดยโรสี้ชามะพร้าวจะมีความหนาแน่นสูงและการระบาดสูงในพื้นที่แห้งแล้ง ปริมาณน้ำฝนน้อย โดยเฉพาะในฤดู แล้ง ส่วนในฤดูฝนประชากรของโรสี้ชาลดลง จึงเป็นเหตุผลที่การสำรวจครั้งที่ไม่พบโรสี้ชามะพร้าวในพื้นที่ภาคใต้ที่มี ปริมาณน้ำฝนสูงเกือบตลอดทั้งปี ได้แก่จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร ระนอง พังงา สุราษฎร์ธานี ภูเก็ต กระบี่ นครศรีธรรมราช ตรัง พัทลุง สตูล สงขลา ปัตตานี (Table 2)

อย่างไรก็ตามการป้องกันกำจัดโรสี้ชามะพร้าวที่ระบาดในพื้นที่ภาคกลาง 18 จังหวัดที่มีรายงานการ ระบาดนั้น ต้องอาศัยความร่วมมือจากเกษตรกรและ ทุกหน่วยงาน จึงจะสามารถจะป้องกันกำจัดให้ได้ผล เนื่องจากพื้นที่ระบาดไม่ใช่พื้นที่ที่มีการปลูกมะพร้าว เป็นจำนวนมาก ส่วนใหญ่การปลูกมะพร้าวเป็นการปลูกไว้ ข้างบ้านเพียงไม่กี่ต้น หรือปลูกตามท้องไร่ปลายนา แต่มีการปลูกกันเกือบทุกบ้าน ต้นมะพร้าวที่ปลูกมีความสูงของ ต้นมาก ไม่มีการตัดผลมะพร้าวเลยในแต่ละฤดู และไม่ได้มีการดูแลป้องกันกำจัดแต่อย่างใด จึงเป็นแหล่งสะสมของ โรสี้ชามะพร้าวได้เป็นอย่างดี แต่หากพื้นที่สวนที่มีการดูแลเอาใจใส่อย่างดี เช่น สวนมะพร้าวที่พบในพื้นที่จังหวัด ปทุมธานี และสวนจังหวัดนครปฐม หลังจากได้แนะนำให้เจ้าของสวน ป้องกันกำจัดโรสี้ชามะพร้าวด้วยการตัดแต่ง ผล พ่นยาและปลูกพืชบังลม ซึ่งหลังจากเจ้าของสวนปฏิบัติตามคำแนะนำ ทำให้การไปสำรวจที่สวนดังกล่าวในครั้ง ต่อไป ไม่พบโรสี้ชามะพร้าวที่สวนนั้นอีก แต่ทางเจ้าของสวนแจ้งให้ทราบว่าบางฤดูกาล พบอาการเข้าทำลายของโร สี้ชามะพร้าว ที่บริเวณขอบ แปลง โดยเฉพาะ แปลงที่เป็นทางผ่านของลม และติดกับสวนอื่น ดังนั้นการดูแล ป้องกันกำจัดโรสี้ชามะพร้าวจึงต้องดูแลเอาใจใส่ และเฝ้าติดตามการระบาดอย่างต่อเนื่อง สำหรับพื้นที่ที่พบโรสี้ชา ทางภาคกลาง ที่เป็นแหล่งปลูกมะพร้าวน้ำหอมที่สำคัญของประเทศ เช่น จังหวัดนครปฐม และราชบุรี พบการเข้า ทำลายของโรสี้ชามะพร้าวไม่มาก (Table 2) และหลังจากแนะนำการป้องกันกำจัด ให้แก่ชาวสวนปฏิบัติตามแล้ว ก็พบว่าอาการเข้าทำลายมีน้อยลงหรือไม่พบอาการเข้าทำลายอีก

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการสำรวจสวนมะพร้าวทั้งหมด 700 ต้นที่พบผลมะพร้าวแสดงอาการผิดปกติ บนพื้นที่ 68 จังหวัด พบโรสี้ขามะพร้าว *A. guerreronis* ที่เป็นศัตรูพืชกักกันรวมทั้งสิ้น 18 จังหวัด ได้แก่ ปทุมธานี ระยอง กาญจนบุรี ราชบุรี เพชรบูรณ์ ลพบุรี พิจิตร พิษณุโลก นครปฐม สุพรรณบุรี ชัยนาท นครสวรรค์ กำแพงเพชร สิงห์บุรี สระบุรี ชัยภูมิ นครราชสีมา และอำนาจเจริญ คิดเป็น 4.2% ของผลที่แสดงอาการทั้งหมด โรสี้ขามะพร้าวมีความหนาแน่นสูงและการระบาดสูงในพื้นที่แห้งแล้ง ปริมาณน้ำฝนน้อย โดยเฉพาะในฤดูแล้ง ส่วนในฤดูฝนประชากรของโรจะลดลง จึงเป็นเหตุผลที่การสำรวจ ในครั้งที่ไม่พบโรสี้ขามะพร้าว *A. guerreronis* ในพื้นที่ภาคใต้ ได้แก่ จังหวัด ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร ระนอง พังงา สุราษฎร์ธานี ภูเก็ต กระบี่ นครศรีธรรมราช ตรัง พัทลุง สตูล สงขลา ปัตตานี ซึ่งมีปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยสูงตลอดทั้งปี ผลมะพร้าวที่ถูกโรสี้ขาเข้าทำลายจะทำให้ผลมีขนาดเล็กลง บางผลลีบอย่างเห็นได้ชัด ปลายผลจะแหลม ผลเป็นสีน้ำตาลเป็นร่องลึก ลักษณะผลจะเกิดโดยรอบของผล และในหนึ่งทะลาย มักพบอาการเข้าทำลายเกือบทุกผลและหากไม่ป้องกันกำจัด จะทำให้ผลมะพร้าวในฤดูถัดไปมีขนาดเล็กลงอย่างเห็นได้ชัด ผลเล็กลีบ จนไม่ได้ผลผลิต หากเข้าทำลายรุนแรงผลมะพร้าวจะร่วงหล่นเสียหาย สำหรับพื้นที่ ที่พบโรสี้ขาทางภาคกลาง ที่เป็นแหล่งปลูกมะพร้าวน้ำหอมที่สำคัญของประเทศ เช่น จังหวัดนครปฐม และราชบุรี พบการเข้าทำลายของโรสี้ขามะพร้าวไม่มาก และหลังจากแนะนำการป้องกันกำจัด และชาวสวนปฏิบัติตาม พบว่ามีการเข้าทำลายน้อยลงหรือไม่พบอาการเข้าทำลายอีก อย่างไรก็ตามพื้นที่ระบาดของโรสี้ขามะพร้าวไม่ใช่พื้นที่ที่เป็นแหล่งปลูกมะพร้าวที่สำคัญของประเทศ การป้องกันกำจัดโรสี้ขามะพร้าว สามารถทำได้ แต่ต้องอาศัยความร่วมมือกับทุกภาคส่วน ดูแลเอาใจใส่ ให้ความรู้และคำแนะนำ ฝ้าติดตามการระบาดอย่างต่อเนื่อง และศึกษาวิจัยหาวิธีการป้องกันกำจัด ที่มีประสิทธิภาพ เพื่อให้โรสี้ขาหมดไปจากประเทศ หรือควบคุมไม่ให้โรสี้ขามะพร้าวระบาดทำความเสียหายให้กับผลผลิตมะพร้าวได้

Table 1 Lists of Mite found in Coconut fruit

Order (Family)	Scientific name of mite	Location	Symptom of injury	GPS	
				Lat (N)	Long (E)
Acaridae	<i>Tyrophagus javensis</i> Oudemans	Khuk Khak Sub-district, Takua Pa District, Phang- Nga Province	Feed on fungus	08°43.761'	098°14.386'
		Ta khian Tia Sub-district, Bang Lamung District, Chon Buri Province		13°00.190'	100°59.575'
		Klong Noi Sub-district, Pak Phanang District, Nakhon Si Thammarat Province		08°22.440'	100°05.540'
Acaridae	<i>Tyrophagus robertsonae</i> Lynch	Nong Maena Sub-district, Khao Kho District, Phetchabun Province	Feed on fungus	16°35.349049'	100°54.09624 '
		<i>Tyrophagus</i> sp.		Klong Noi Sub-district, Pak Phanang District, Nakhon Si Thammarat Province	08°22.384'
Acaridae	-	Nai Mueang Sub-district, Phimai District, Nakhon Ratchasima Province	Feed on fungus	15°15.044'	102°29.003'
		Wi Sai Tai Sub-district, Sawi District, Chumphon Province		10°20.929'	099°04.565'
		Wang Kra Chae Sub-district, Mueang District, Trat Province		12°15.720'	102°32.420'
		Ban Phaeo Sub-district, Ban Phaeo District, Samut Sakhon Province		13°28.20'	100°4.50'
		Ta Khian Tia Sub-district, Bang Lamung District, Chon Buri Province		13°00.190'	100°59.575'
Acaridae	-	Nong Sam Wang Sub-district, Nong Suea District, Pathum Thani Province	Feed on fungus	14°13.800'	100°85.9434'
		Huai Sakae Sub-district, Mueang District, Phetchabun Province		16°10.603'	101°05.831'
		Wang Kwang Sub-district, Nam Nao District, Phetchabun Province		16°11.465'	101°06.735'
		Wang Kwang Sub-district, Nam Nao District, Phetchabun Province		16°966.531'	101°548.429'
		Ta Chan Sub-district, Khong District, Nakhon Ratchasima Province		15°19.363'	102°26.571'

Table 1 Lists of Mite found in Coconut fruit (continue)

Order (Family)	Scientific name of mite	Location	Symptom of injury	GPS	
				Lat (N)	Long (E)
Acaridae	-	Saplee Sub-district, Pathio District, Chumphon Province		10°34.261'	099°16.458'
		Ko Pa-ngan Sub-district, Ko Pa-ngan District, Surat Thani Province		09°43.835'	099°59.120'
		Si Sun Thon Sub-district, Thalang District, Phuket Province		07°58.617'	098°19.982'
		Chum Phon Sub-district, Sathing Phra District, Songkhla Province		07°36.071'	100°22.881'
	<i>Aceria</i> sp.	Ta Chan Sub-district, Khong District, Nakhon Ratchasima Province		15°19.175'	102°26.641'
	<i>Amrineus coconuciferae</i> (Keifer)	Wang Chompu Sub-district, Mueang District, Phetchabun Province	Vagrant	15°59.809218'	100°50.84274'
Eriophyidae	<i>Colomerus novahebridensis</i> Keifer	Ban Phaeo District, Samut Sakhon Province	Scanty triangular brown patches of damaged tissue on the fruit surface	-	-
		Rong Kae Sub-district, Ban Phaeo District, Samut Sakhon Province		13°51.4015'	100°03.8393'
		Ban Phaeo Sub-district, Ban Phaeo District, Samut Sakhon Province		13°62.4772'	100°11.2743'
				13°61.1874'	100°12.2446'
		Jom Pluak Sub-district, Bang Khonthi District, Samut Songkhram Province		13°28.050'	99°58.028'
		Klong Jinda Sub-district, Sam Phran District, Nakhon Pathom Province	Scanty triangular brown patches of damaged tissue on the fruit surface	13°68.6973'	101°18.9868'
		Bang-or Sub-district, Ban Na District, Nakhon Nayok Province		14°12.309'	101°03.991'

Table 1 Lists of Mite found in Coconut fruit (continue)

Order (Family)	Scientific name of mite	Location	Symptom of injury	GPS		
				Lat (N)	Long (E)	
Eriophyidae	<i>Colomerus novahebridensis</i> Keifer	Damnoen Saduak District, Ratchaburi Province	Scanty triangular brown patches	-	-	
		<i>Wat Keaw</i> Sub-district, <i>Bang Phae</i> District, Ratchaburi Province	of damaged tissue on the fruit surface	13°38.589'	099°55.238'	
		<i>Sado Phong</i> Sub-district, Khao Kho District, Phetchabun Province		-	-	
		<i>Nong Maena</i> Sub-district, Khao Kho District, Phetchabun Province		16°35.349049'	100°54.09624'	
		<i>Thung Samo</i> Sub-district, Khao Kho District, Phetchabun Province		-	-	
		<i>Kokmon</i> Sub-district, <i>Nam Nao</i> District, Phetchabun Province		16°72.8378'	101°75.2207'	
		<i>Nam Nao</i> Sub-district, <i>Nam Nao</i> District, Phetchabun Province		16°80.0127'	101°64.5823'	
		<i>Huai Sakae</i> Sub-district, <i>Mueang</i> District, Phetchabun Province		16°10.603'	101°05.831'	
		<i>Nonsung</i> Sub-district, <i>Non Sung</i> District, Nakhon Ratchasima Province		-	-	
		<i>Klangdong</i> Sub-district, Pak Chong District, Nakhon Ratchasima Province		14°38.023'	101°14.527'	
		<i>Tha Som</i> Sub-district, Khao Saming District, Trat Province		12°16.582'	102°18.333'	
		<i>Wang Kra Chae</i> Sub-district, <i>Mueang</i> District, Trat Province		12°15.720'	102°32.420'	
		<i>Ta Khian Tia</i> Sub-district, <i>Bang Lamung</i> District, Chon Buri Province		13°01.096'	100°59.917'	
		<i>Bang Pra</i> Sub-district, Si Racha District, Chon Buri Province		13°00.190'	100°59.575'	
				<i>Bang Pra</i> Sub-district, Si Racha District, Chon Buri Province	13°14.352'	100°52.292'

Table 1 Lists of Mite found in Coconut fruit (continue)

Order (Family)	Scientific name of mite	Location	Symptom of injury	GPS	
				Lat (N)	Long (E)
Eriophyidae	<i>Colomerus novahebridensis</i> Keifer	<i>Chak Don Sub-district,</i> <i>Klaeng District, Rayong</i> Province	Scanty triangular brown patches	12°41.898'	101°38.068'
		<i>Makhamkhu Sub-district,</i> <i>Nikhom Phatthana District,</i> <i>Rayong Province</i>	of damaged tissue on the fruit surface	12°51.193'	101°04.750'
		<i>Klaeng Sub-district, Klaeng</i> <i>District, Rayong Province</i>		12°45.450'	101°44.067'
		<i>Tha Chang Sub-district,</i> <i>Meuang District, Chanthaburi</i> Province		14°00.545'	100°14.387'
		<i>Khao Lan Sub-district, Thap</i> <i>Sakae District, Prachuap</i> <i>Khiri Khan Province</i>		11°30.643'	99°36.476'
		<i>Huai Yang Sub-district, Thap</i> <i>Sakae District, Prachuap Khiri</i> <i>Khan Province</i>		11°36.699'	99°38.955'
		<i>Sakae District, Prachuap Khiri</i> <i>Khan Province</i>		11°37.051'	99°38.335'
		<i>Koh Lak Sub-district,</i> <i>Mueang District, Prachuap</i> <i>Khiri Khan Province</i>		11°47.581'	99°46.468'
		<i>Kamnoet Noppakhun Sub-</i> <i>district, Bang Saphan</i> <i>District, Prachuap Khiri Khan</i> <i>Province</i>		11°218.606'	099°509.236'
		<i>Kamnoet Noppakhun Sub-</i> <i>district, Bang Saphan District,</i> <i>Prachuap Khiri Khan Province</i>		11°13.776'	099°30.041'
		<i>Bo Nok Sub-district, Kui Buri</i> <i>District, Prachuap Khiri Khan</i> <i>Province</i>		12°01.285'	99°50.372'
		<i>Ko Lak Sub-district, Meuang</i> <i>District, Prachuap Khiri Khan</i> <i>Province</i>		11°46.535'	099°46.078'
		<i>Kui Nuea Sub-district, Kui</i> <i>Buri District, Prachuap Khiri</i> <i>Khan Province</i>		12°06.141'	099°50.334'
		<i>Sam Krathai Sub-district, Kui</i> <i>Buri District, Prachuap Khiri</i> <i>Khan Province</i>		12°07.174'	99°51.158'

Table 1 Lists of Mite found in Coconut fruit (continue)

Order (Family)	Scientific name of mite	Location	Symptom of injury	GPS	
				Lat (N)	Long (E)
Eriophyidae	<i>Colomerus novahebridensis</i> Keifer	Thung Kha Sub-district,	Scanty	10°25.651'	099°09.258'
		Mueang District, Chumphon	triangular	10°25.467'	099°09.420'
		Province	brown patches		
		Sawi District, Chumphon	of damaged	10°09.254'	099°05.862'
		Province	tissue on the		
		Bang Son Sub-district, Pathio	fruit surface	10°40.817'	099°18.955'
		District, Chumphon Province			
		Pak Klong Sub-district,		10°56.291'	099°26.998'
		Pathio District, Chumphon			
		Province			
		Thung Kha Sub-district,		10°46.145'	099°24.026'
		Mueang District, Chumphon			
		Province			
		Khan Thuli Sub-district, Tha		09°40.235'	099°05.100'
		Chana District, Surat Thani		09°40.587'	099°05.388'
		Province		09°40.090'	099°05.291'
		Tha Chana District, Surat		09°40.545'	099°05.178'
		Thani Province			
		Klong Noi Sub-district,		09°08.325'	099°16.148'
		Mueang District, Surat Thani		09°08.129'	099°15.549'
Province					
Bang Bai Mai Sub-district,		09°08.332'	099°17.612'		
Mueang District, Surat Thani					
Province					
Li Let Sub-district, Phunphin,		09°11.730'	099°14.860'		
District, Surat Thani Province		09°14.219'	099°10.737'		
Tha Uthen Sub-district,		09°08.864'	099°37.582'		
Kanchanadit District, Surat		09°08.720'	099°37.949'		
Thani Province					
Ko Pa-ngan Sub-district, Ko		09°43.835'	099°59.120'		
Pa-ngan District, Surat Thani		09°47.251'	099°59.303'		
Province		09°43.250'	099°59.291'		
		09°43.166'	099°59.187'		
		09°44.845'	099°58.915'		
		09°43.811'	099°59.119'		
Ko Pa-ngan Sub-district, Ko		09°43.089'	100°00.443'		
Pa-ngan District, Surat Thani		09°45.542'	099°58.114'		
Province		09°44.320'	100°59.095'		
		09°44.390'	100°00.223'		
Klong Noi Sub-district, Pak		08°22.384'	100°06.146'		
Phanang District, Nakhon Si		08°22.384'	100°06.020'		
Thammarat Province					

Table 1 Lists of Mite found in Coconut fruit (continue)

Order (Family)	Scientific name of mite	Location	Symptom of injury	GPS	
				Lat (N)	Long (E)
Eriophyidae	<i>Colomerus novahebridensis</i> Keifer	Bang Bor Sub-district, Takua Pa District, Phang- Nga Province	Scanty triangular brown patches	08°46.611'	098°15.884'
		Takua Pa Sub-district, Takua Pa District, Phang- Nga Province	of damaged tissue on the fruit surface	08°51.722'	099°19.655'
		Khuk Khak, Takua Pa District, Phang-Nga Province		08°43.761'	098°14.386'
		Tanode Don Sub-district, Khuan Khanun District, Phatthalung Province		07°44.083'	100°02.104'
		Lam Pam Sub-district, Mueang District, Phatthalung Province		07°41.739'	100°08.634'
		Khok Lor Sub-district, Mueang District, Trang Province		07°31.048'	099°36.048'
		Khuan Khanun Sub-district, Kantang District, Trang Province		07°31.738'	099°34.242'
		Khok Yang Sub-district, Kantang District, Trang Province		07°31.152'	099°31.515'
		Mai Khao Sub-district, Thalang District, Phuket Province		08°07.783'	098°20.379'
				08°04.303'	098°20.590'
		Rawai Sub-district, Mueang District, Phuket Province		07°46.180'	098°18.95'
		Kammala Sub-district, Krathu District, Phuket Province		07°56.837'	098°16.896'
		Si Sunthon Sub-district, Thalang District, Phuket Province		07°58.617'	098°19.982'
		Karon Sub-district, Mueang District, Phuket Province		07°50.143'	098°17.692'
		Laem Son Sub-district, La- Ngu District, Satun Province		06°54.707'	099°41.706'
		La-ngu Sub-district, La-ngu District, Satun Province		06°54.707'	099°41.708'
				06°48.787'	099°48.344'
		06°46.964'	099°49.661'		
Khon Klan Sub-district, Thung Wa District, Satun Province		07°00.768'	099°41.076'		

Table 1 Lists of Mite found in Coconut fruit (continue)

Order (Family)	Scientific name of mite	Location	Symptom of injury	GPS	
				Lat (N)	Long (E)
Eriophyidae	<i>Colomerus novahebridensis</i> Keifer	Thung Bu Lang Sub-district,	Scanty triangular	07°01.864'	
		Thung Wa District, Satun	brown patches	07°01.805'	
		Province	of damaged		
		Bang Non Sub-district, Mueang	tissue on the	10°00.760'	
		District, Ranong Province	fruit surface		
		Kon Hong Sub-district, Hat Yai		-	
		District, Songkhla Province			
		<i>Chumphon</i> Sub-district,		07°36.159'	
		Sathing Phra District,		07°36.071'	
		Songkhla Province		07°36.007'	100°24.096'
Eriophyidae	<i>Colomerus novahebridensis</i> Keifer	<i>Rattaphum</i> Sub-district,		07°10.645'	100°22.245'
		<i>Khuan Niang</i> District,			
		<i>Songkhla</i> Province			
		<i>Rueso</i> Sub-district, <i>Ma Lan</i>		06°33.249054	100°09.637014
		<i>District, Pattani</i> Province		'	
Tarsonemidae	<i>Steneotarsonemus furcatus</i> De Leon	Ban Phaeo Sub-district, Ban	Scanty squarely	13°61.1874'	100°12.2446'
		Phaeo District, Samut Sakhon	brown patches	13°62.4772'	100°11.2743'
		Province	of damaged		
			tissue on the		
			fruit surface		
				13°28.020'	100°04.050'
				13°37.100'	100°07.452'
		Lak Song Sub-district, Ban		13°38.298'	100°07.138'
		Phaeo District, Samut Sakhon			
		Province			
		Ban Phaeo Sub-district, Ban		13°36.645'	100°05.850'
		Phaeo District, Samut Sakhon			
		Province			
Nong Sam Wang Sub-district,		14°13.800'	100°85.9434'		
Nong Suea District, Pathum					
Thani Province					
Jom Pluak Sub-district, Bang		13°28.050'	99°58.028'		
Khonthi District, Samut					
Songkhram Province					
Klong Khon Sub-district,		13°21.316'	099°56.704'		
Mueang District, Samut					
Songkhram Province					
Wang Nam Khiao Sub-district,		13°50.874'	100°01.328'		
Kamphaeng Saen District,					
Nakhon Pathom Province					

Table 1 Lists of Mite found in Coconut fruit (continue)

Order (Family)	Scientific name of mite	Location	Symptom of injury	GPS	
				Lat (N)	Long (E)
Tarsonemidae	<i>Steneotarsonemus furcatus</i> De Leon	Don Khoi Sub-district, Kamphaeng Saen District, Nakhon Pathom Province	Scanty squarely brown patches of damaged	14°00.259'	100°02.629'
		Wat Keaw Sub-district, Bang Phae District, Ratchaburi Province	tissue on the fruit surface	13°38.621'	099°55.164'
		Khok Mo Sub-district, Mueang District, Ratchaburi Province		13°38.589'	099°55.238'
		Damnoen Saduak District, Ratchaburi Province		13°33.693'	099°50.520'
		<i>Ta Som</i> Sub-district, <i>Khao Saming</i> District, <i>Trat</i> Province		12°16.582'	102°18.333'
		<i>Ta Khian Tia</i> Sub-district, Bang Lamung District, Chon Buri Province		13°00.681'	100°58.512'
		<i>Chak Don</i> Sub-district, <i>Klaeng</i> District, Rayong Province		12°41.898'	101°38.068'
		<i>Bang Luang</i> Sub-district, <i>Saphaya</i> District, <i>Chai Nat</i> Province		15°15.371'	100°18.397'
		<i>Chong Kham</i> Sub-district, Mueang District, Mae Hong Son Province		19°29.7268'	97°97.1424'
		<i>Non Sung</i> Sub-district, <i>Non Sung</i> District, <i>Nakhon Ratchasima</i> Province		15°11.892'	102°715.249'
		<i>Nai Mueang</i> Sub-district, <i>Phi mai</i> District, <i>Nakhon Ratchasima</i> Province		15°15.044'	102°29.003'
		<i>Ta Wang</i> Sub-district, Buachet District, Surin Province		14°38.569'	104°00.741'
		<i>Thung Kha</i> Sub-district, Mueang District, Chumphon Province		10°25.651'	99°09.258'
		<i>Mai Khao</i> Sub-district, Thalang District, Phuket Province		08°04.303'	098°20.590'

Table 1 Lists of Mite found in Coconut fruit (continue)

Order (Family)	Scientific name of mite	Location	Symptom of injury	GPS	
				Lat (N)	Long (E)
Tarsonemidae	<i>Steneotarsonemus furcatus</i> De Leon	Pak Nam Sub-district, Lan- ngu District, Satun Province	Scanty squarely brown patches	06°52.760'	099°41.501'
		Lan Son Sub-district, Lan- ngu District, Satun Province	of damaged tissue on the	06°52.774'	099°41.527'
		<i>La-Ngu</i> Sub-district, <i>La- Ngu District, Satun</i> Province	fruit surface	06°54.705'	099°41.678'
				06°54.707'	099°41.706'
				06°48.858'	099°48.333'
				06°46.964'	099°49.611'
				06°59.548'	099°40.584'
				06°58.892'	099°40.770'
				07°01.831'	099°40.477'
				07°01.864'	099°40.467'
				09°43.250'	099°59.291'
				09°42.966'	099°59.641'
				09°43.811'	099°59.119'
				09°43.089'	100°00.443'
		09°44.390'	100°00.223'		
		15°30.798'	100°59.946'		
		<i>Phu Nam Yod</i> Sub-district, <i>Wichian Buri District,</i> <i>Phetchabun</i> Province			
Tarsonemidae	<i>Steneotarsonemus</i> sp.	Huai Sakae Sub-district Mueang District, Petchabun Province		16°10.603'	101°05.831'
		<i>Thep Nakorn</i> Sub-district, Mueang District, Kampaeng Phet Province		-	-
		<i>Non Sung</i> Sub-district, <i>Nonsung District, Nakhon</i> <i>Ratchasima</i> Province		15°11.836'	102°15.324'
		<i>Klong Noi</i> Sub-district, <i>Pak Phanang District,</i> <i>Nakhon Si thammarat</i> Province		08°22.384'	100°06.146'
		<i>Chum Phon</i> Sub-district, Sathing		07°36.159'	100°23.789'
				07°36.071'	100°22.881'
		Phra District, Songkhla Province		07°36.007'	100°24.096'
		<i>Thung Kha</i> Sub-district, <i>Muang District, Chumphon</i> Province		10°25.165'	099°09.254'

Table 1 Lists of Mite found in Coconut fruit (continue)

Order (Family)	Scientific name of mite	Location	Symptom of injury	GPS	
				Lat (N)	Long (E)
Tarsonemidae	<i>Steneotarsonemus</i> sp.	Khuk Khak Sub-district, Ta Kua Pa, Phang-nga Province	Scanty squarely brown patches of damaged	08°43.761'	098°14.386'
		Huai Yang Sub-district, Thap Sakae District, Prachuap Khiri Khan Province	tissue on the fruit surface	11°37.051'	099°38.335'
Tarsonemidae	-	Jom Pluak Sub-district, Bang Khonthi District, Samut Songkhram Province	Scanty squarely brown patches of damaged tissue on the fruit surface	13°28.050'	99°58.028'
		Jom Pluak Sub-district, Bang Khonthi District, Samut Songkhram Province		13°28.050'	99°58.028'
		Damnoen Saduak District, Ratchaburi Province		-	-
		Pho Pitak Sub-district, Sapphaya District, Chai Nat Province		15°04.451'	100°17.286'
		Mueang District, Phitsanulok Province		16°749.9513'	100°306.4575'
		Huai Sakae Sub-district, Mueang District, Phetchabun Province		16°09.801'	101°05.666'
				16°10.603'	101°05.831'
		Bang Pra Sub-district, Si Racha District, Chon buri Province		13°14.352'	100°52.292'
		Ta Khian Tia Sub-district, Bang Lamung District, Chon buri Province		13°00.190'	100°59.575'
				13°00.681'	100°58.512'
		Nai Mueang Sub-district, Phi mai District, Nakhon Ratchasima Province		15°15.044'	102°29.003'
		Ta Chan Sub-district, Khong District, Nkhon Ratchasima Province		15°19.175'	102°26.641'
		Rueso Sub-district, Mae Lan District, Pattani Province		07°48.709'	073°70.027'
		Wi Sai Tai Sub-district, Sawi District, Chumphon Province		10°20.929'	099°04.565'

Table 1 Lists of Mite found in Coconut fruit (continue)

Order (Family)	Scientific name of mite	Location	Symptom of injury	GPS	
				Lat (N)	Long (E)
Tarsonemidae	-	<i>Thung Kha</i> Sub-district, Mueang District, Chumphon Province	Scanty squarely brown patches of damaged	10°25.651'	99°09.258'
		<i>Chumphon</i> Sub-district, Sathing Phra District, Songkhla Province	tissue on the fruit surface	07°36.007'	100°24.096'
		Khan Thuli Sub-district, Tha Chana District, Surat Thani Province		09°40.235'	099°05.100'
Tarsonemidae	<i>Nasuitarsonemu</i> <i>s onami</i> Lofego, Hountondji, Al- Shanfari & Moraes	Nong Sam Wang Sub- district, Nong Suea District, Pathum Thani Province	Scanty squarely brown patches of damaged tissue on the fruit surface	14°13.800'	100°85.9434'
		Huai Sakae Sub-district, Mueang District, Phetchabun Province		16°09.801'	101°04.666'
				16°10.770'	101°05.519'
	<i>Nasuitarsonemus</i> sp.	Ban Phaeo District, Samut Sakhon Province		13°28.20'	100°04.50'
Tydeidae	-	Ban Phaeo District, Samut Sakhon Province	Feed on fungus	13°62.4772'	100°11.2743'
		Nong Sam Wang Sub- district, Nong Suea District, Pathum Thani Province		14°13.800'	100°85.9434'
		Sap Samo Sub-district , Bung Samphan District, Phetchabun Province		15°50.086'	100°57.955'
		Huai Sakae Sub-district Mueang District, Petchabun Province	Feed on fungus	16°10.603'	101°05.831'
		Mueang Pon Sub-district, Khun Yuam District, Mae Hong Son Province		18°74.9437	97°93.0564'

Table 2 Distribution of *Aceria guerreronis* in Coconut fruit

Order (Family)	Scientific name of mite	Location	Symptom of injury	GPS	
				Lat (N)	Long (E)
Eriophyidae	<i>Aceria guerreronis</i> Keifer	Nong Sam Wang Sub-District, Nong Suea District, Pathum Thani	Scanty triangular brown patches of damaged tissue on the fruit surface	14°13.800'	100°85.9434'
		<i>Klong Jinda</i> Sub- district, <i>Sam Phran</i> District, <i>Nakhon</i> <i>Pathom</i> Province		13°68.6973'	100°18.9868'
		<i>Takram-en</i> Sub- district, <i>Tha Maka</i> District, Kanchanaburi Province		13°57.826'	099°43.634'
		<i>Thapa</i> Sub-district, Ban Pong District, Ratchaburi Province		13°50.837'	099°51.729'
		Mueang District, Suphanburi Province		14°23.361408	99°50.080338
		Huai Sakae Sub- district, Mueang District, Phetchabun Province		16°13.035'	101°03.467'
				16°10.796'	101°04.310'
				16°13.404'	101°05.281'
				16°11.465'	101°06.735'
				16°13.902'	101°05.094'
				16°10.770'	101°05.519'
				16°10.816'	101°04.277'
				16°10.561'	101°05.817'
				16°10.820'	101°05.952'
				16°10.801'	101°04.319'
				16°10.603'	101°05.831'
				16°15.545'	101°06.170'
	<i>Huai Yai</i> Sub-district, <i>Mueang</i> District, Phetchabun Province	Scanty triangular brown patches of damaged tissue on the fruit surface	16°32.191'	101°18.391'	
			16°26.936'	101°15.993'	

Table 2 Distribution of *Aceria guerreronis* in Coconut fruit (continue)

Order (Family)	Scientific name of mite	Location	Symptom of injury	GPS	
				Lat (N)	Long (E)
Eriophyidae	<i>Aceria guerreronis</i> Keifer	<i>Nangua</i> Sub-district, <i>Mueang</i> District, Phetchabun Province	Scanty triangular brown patches of damaged	16°28.341'	101°08.981'
		<i>Rawing</i> Sub-district, <i>Mueang</i> District, Phetchabun Province	tissue on the fruit surface	16°10.318'	101°07.299'
		<i>Nam Chun</i> Sub- district, <i>Lom Sak</i> District, Phetchabun Province		16°10.330'	101°07.272'
		<i>Bung Kla</i> Sub-district, <i>Lom Sak</i> District, Phetchabun Province		16°767.369'	101°106.497'
		<i>Klong Kra Chae</i> Sub- district, Si Thep District, Phetchabun Province		16°38.393'	101°09.614'
		<i>Sub Samo Tod</i> Sub- district, Bueng Sam Phan District, Phetchabun Province		15°23.948'	101°05.936'
		<i>Ban Phot</i> Sub-district, Nong Phai District, Phetchabun Province		15°50.086'	100°57.955'
		Si Thep Sub-district, Si Thep District, Phetchabun Province		15°54.862'	100°58.854'
		<i>Wang Yai</i> Sub-district, Wichian Buri District, Phetchabun Province		-	-
		<i>Phu Toei</i> Sub-district, Wichian Buri District, Phetchabun Province		15°36.668'	100°54.925'
		<i>Lam Narai</i> Sub- district, Chai Badan District, Lop Buri Province		15°34.702'	101°00.077'
		<i>Lam Payon</i> Sub- district, Tak Fa District, Nakhon Sawan Province		15°19.019'	101°08.258'
				15°19.627'	100°33.029'1
				15°19.768'	00°33.633'

Table 2 Distribution of *Aceria guerreronis* in Coconut fruit (continue)

Order (Family)	Scientific name of mite	Location	Symptom of injury	GPS	
				Lat (N)	Long (E)
Eriophyidae	<i>Aceria guerreronis</i> Keifer	<i>Nong Luang</i> Sub-district, Tak Fa District, Nakhon Sawan Province	Scanty triangular brown patches of damaged tissue on the fruit surface	15°25.138'	100°30.922'
		<i>Nong Klub</i> Sub-district, Nong Bua District, Nakhon Sawan Province		15°54.630'	100°36.583'
		<i>Khao Sai</i> Sub-district, Tap Khlo District, Phichit Province		16°13.439'	100°37.759'
		Rong Chang Sub-district, Mueang District, Phichit Province		16°26.117'	100°17.101'
		<i>Nong Pla</i> Sub-district, Wang Sai Phun District, Phichit Province		16°23.805'	100°31.912'
		<i>Wa Tabaek</i> Sub-district, <i>Thep Sathit</i> District, Chaiphum Province		15°24.943'	101°26.360'
		Sap Yai Sub-district, Sap Yai District, Chaiphum Province		15°38.344'	101°37.376'
		Mueang District, Phitsanulok Province		16°749.9513'	100°306.4575'
		Thamuenram Sub-district, Wangthong District, Phitsanulok Province		16°42.777'	100°28.589'
		Nabokham Sub-district, Mueang District, Kamphaeng Phet Province		16°24.320'	099°21.748'
		<i>Thep Nakhon</i> Sub-district, <i>Mueang</i> District, Kamphaeng Phet Province		-	-
		<i>Non Sung</i> Sub-district, <i>Non Sung</i> District, Nakhon Ratchasima Province		15°11.836'	102°15.324'
				15°11.980'	102°15.274'

Table 2 Distribution of *Aceria guerreronis* in Coconut fruit (continue)

Order (Family)	Scientific name of mite	Location	Symptom of injury	GPS			
				Lat (N)	Long (E)		
Eriophyidae	<i>Aceria guerreronis</i> Keifer	Ta Chan Sub-district, Khong District, Nakhon Ratchasima Province	Scanty triangular brown patches of damaged tissue on	15°19.175'	102°26.641'		
		<i>Chaloem Phra Kiat</i> District, Saraburi Province	the fruit surface	14°39.866'	100°53.649'		
		<i>Khao Nam pra</i> Sub- district, <i>Mueang</i> District, Chai Nat Province		14°18.899'	101°01.896'		
		<i>Ta Lok</i> Sub-district, Sapphaya District, Chai Nat Province		15°13.260'	100°08.879'		
		Bang Luang Sub- district, Sapphaya District, Chai Nat Province		15°10.641'	100°09.907'		
		Pho Pitak Sub-district, Sapphaya District, Chai Nat Province		15°15.371'	100°18.397'		
		In Buri District, Sing Buri Province		15°04.451'	100°17.286'		
		Chak Don Sub-district, Klang District, Rayong Province		15°02.643'	100°18.856'		
		Kai Kam Sub-district, Mueang District, Amnat Charoen Province		12°44.734'	101°38.193'		
					15°46.471'	104°38.049'	
		Ameroseiidae		Si Thep Sub- district, Si Thep District, Petchabun Province		-	-

Table 3 Predatory mite associated with coconut mites in Thailand

Family	Scientific name of predatory mite	Associated mite pest	Location	GPS	
				Lat (N)	Long (E)
Ascidae	-	-	Rueso Sub-district, Mae Lan District, Pattani Province	06°33.249054'	101°09.63714'
			Lak Dan Sub-district Nam Nao District, Phetchabun Province	16°98.2479'	101°47.2427'
Bdellidae	-	Acaridae	Nong Sam Wang Sub-district, Nong Suea District, Pathum Thani Province	14°13.800'	100°85.9434'
		<i>Aceria guerreronis</i> Keifer	Chak Don Sub- district, Klang District, Rayong Province	12°44.734'	101°38.193'
		<i>Steneotarsonemus furcatus</i> De Leon <i>Colomerus novaehbridensis</i> Keifer	Thung Kha Sub- district, Mueang District, Chumphon Province	10°25.651'	99°09.258'
		Eriophyidae	Ta Kang Sub-district, Mueang District, Trat Province	12°13.736'	102°38.114'
Cheyletidae	-	<i>Aceria guerreronis</i> Keifer	Wang Chompu Sub-district, Mueang District, Phetchabun Province	15°59.809218'	100°50.84274'
		<i>Aceria guerreronis</i> Keifer <i>Cosmoglyphus</i> sp.	Huai Sakae Sub- district, Mueang District, Petchabun Province	16°06.603'	101°05.831'
		<i>Aceria guerreronis</i> Keifer	Na Ngua Sub- district, Mueang District, Petchabun Province	16°28.341'	101°08.981'
		-	Thung Samo Sub- district, Khao Khlo District, Petchabun Province	-	-

Table 3 Predatory mite associated with coconut mites in Thailand (Continue)

Family	Scientific name of predatory mite	Associated mite pest	Location	GPS	
				Lat (N)	Long (E)
Laelapidae	-	<i>Colomerus novaehbridensis</i> Keifer	Ban Phaeo Sub-district, Ban Phaeo District, Samut Sakhon Province	13°28.20'	100°4.50'
Melicharidae	-	Acaridae	Nong Sam Wang Sub-district, Nong Suea District, Pathum Thani Province	14°13.800'	100°85.9434'
	-	<i>Colomerus novaehbridensis</i> Keifer	Wat Keaw Sub-district, Bang Phae District, Ratchaburi Province	13°38.621'	099°55.164'
Phytoseiidae	-	<i>Aceria guerreronis</i> Keifer	Ta Chan Sub-district, Khong District, Nakhon Ratchasima Province	15°19.363'	102°26.571'
Phytoseiidae	<i>Amblyseius largoensis</i> (Muma)	<i>Steneotarsonemus furcatus</i> De Leon	Damnoen Saduak District, Ratchaburi Province	-	-
	<i>Neoseiulus beraki</i> (Athias-Henriot)	<i>Steneotarsonemus furcatus</i> De Leon	Ta Khian Tia Sub-district, Bang Lamung District, Chon Buri Province	13°00.681'	100°58.512'
			Chak Don, Klaeng District, Rayong Province	12°41.898'	101°38.068'
	<i>Neoseiulus beraki</i> (Athias-Henriot)	<i>Steneotarsonemus furcatus</i> De Leon	Laem Son Sub-district, La-Ngu District, Satun Province	06°54.707'	099°41.706'
		<i>Aceria guerreronis</i> Keifer	Huai Sakae Sub-district, Mueang District, Phetchabun Province	16°10.603'	101°05.831'
		<i>Colomerus novaehbridensis</i> Keifer	Chak Don, Klang District, Rayong Province	12°41.898'	101°38.068'
			Laem Son Sub-district, La-Ngu District, Satun Province	06°54.707'	099°41.706'

Table 3 Predatory mite associated with coconut mites in Thailand (Continue)

Family	Scientific name of predatory mite	Associated mite pest	Location	GPS	
				Lat (N)	Long (E)
Stigmaeidae	-	<i>Steneotarsonemus furcatus</i> De Leon	Mai Khao Sub-district, Thalang District, Phuket Province	08°04.303'	098°20.590'
Cryptognathidae	-	-	Ko Pa-ngan Sub-district, Ko Pa-ngan District, Surat Thani Province	09°43.073'	099°00.107'

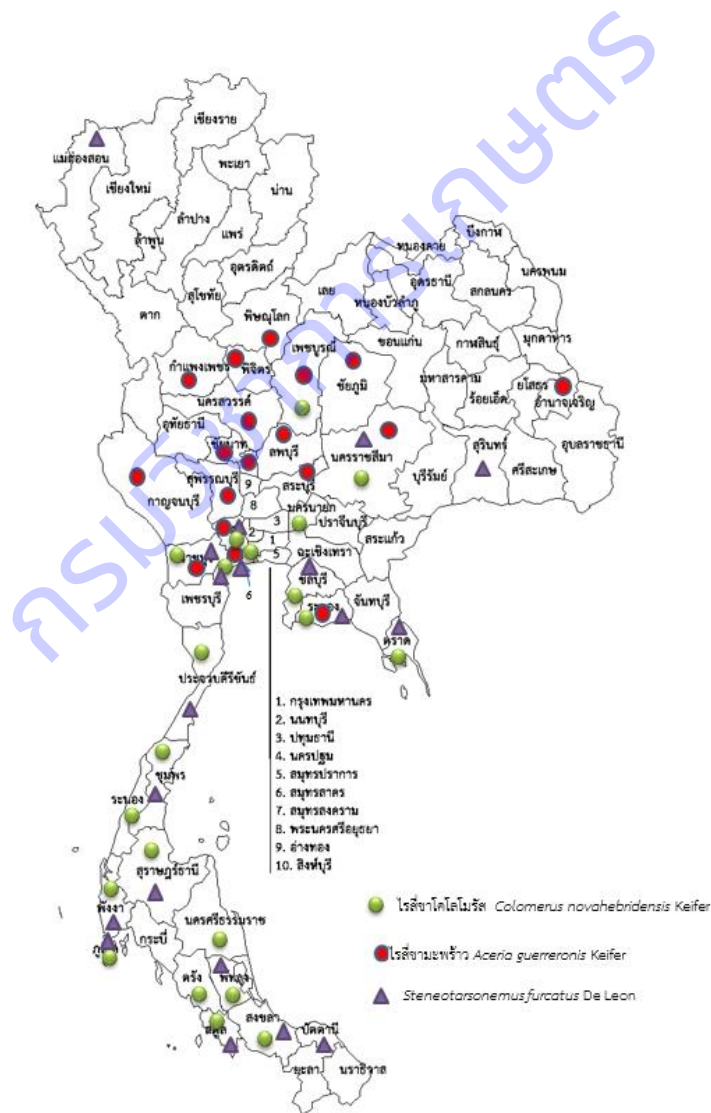


Figure 1 Distribution of coconut fruit importance mite pests

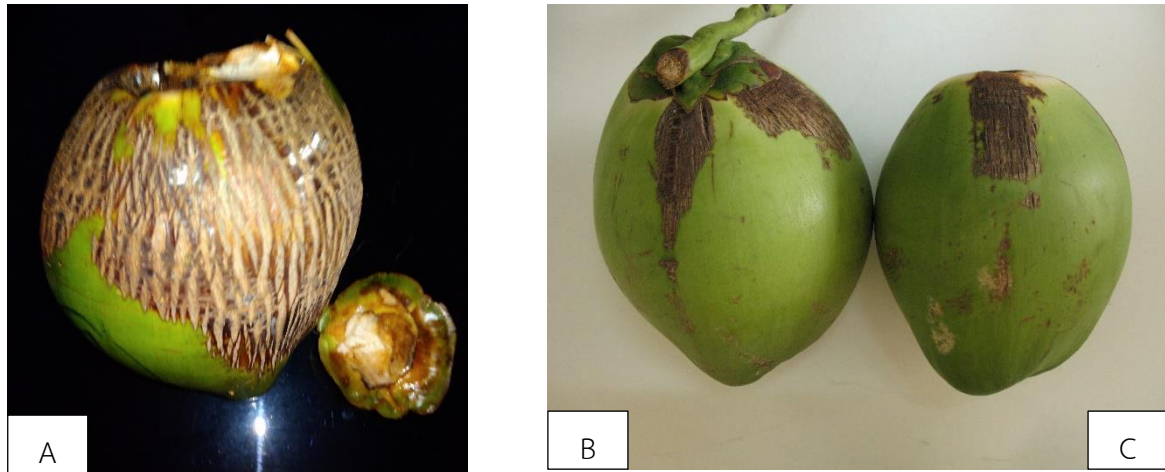


Figure 2 (A), the damage symptom on fruit caused by coconut mite, *Aceria guerreronis* Keifer;
 (B), *Colomerus novahebridensis* Keifer;
 (C), *Steneotarsonemus furcatus* De Leon

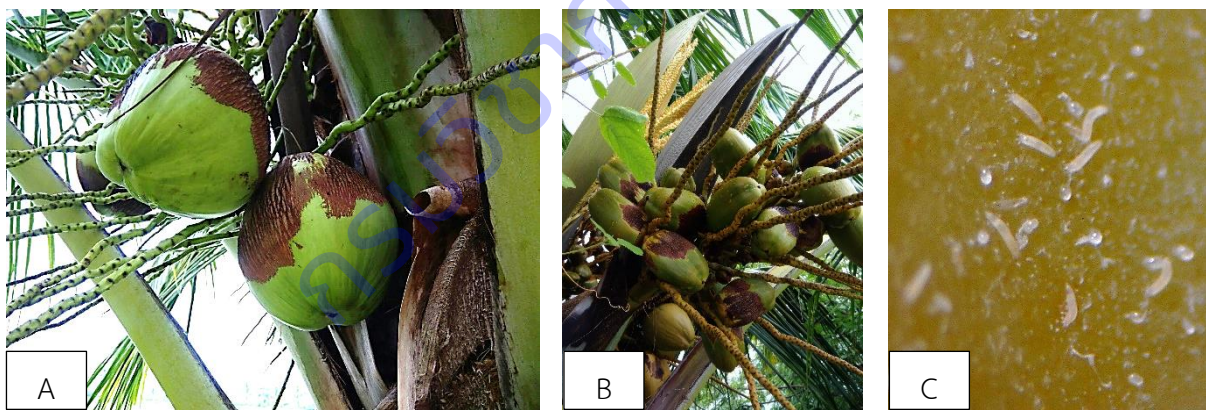


Figure 3 (A), (B) the damage symptom on fruit caused by coconut mite, *Aceria guerreronis* Keifer;
 (C) the Body shape of coconut mite.

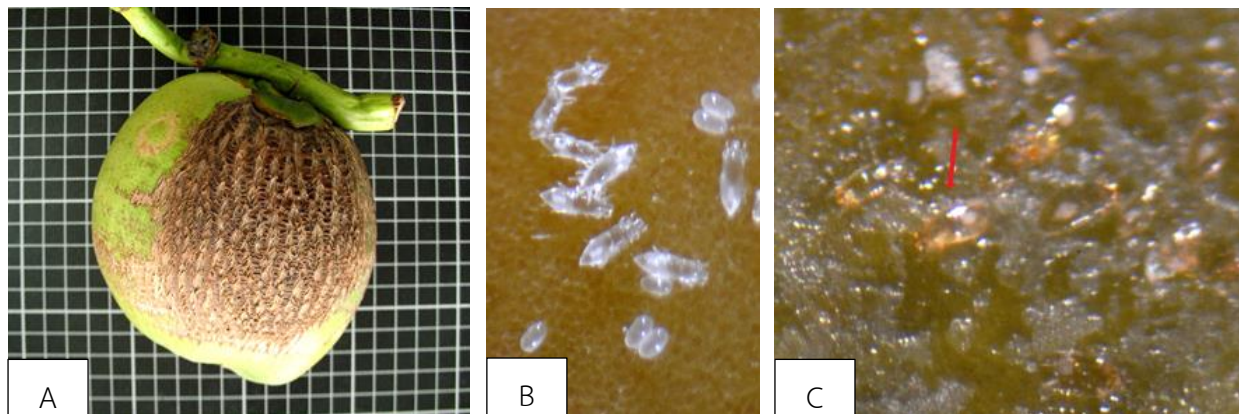


Figure 4 (A) the damage symptom on fruit of tarsonemid mite, *Steneotarsonemus furcatus* De Leon;
 (B) nymph
 (C) adult tarsonemid mite on coconut.

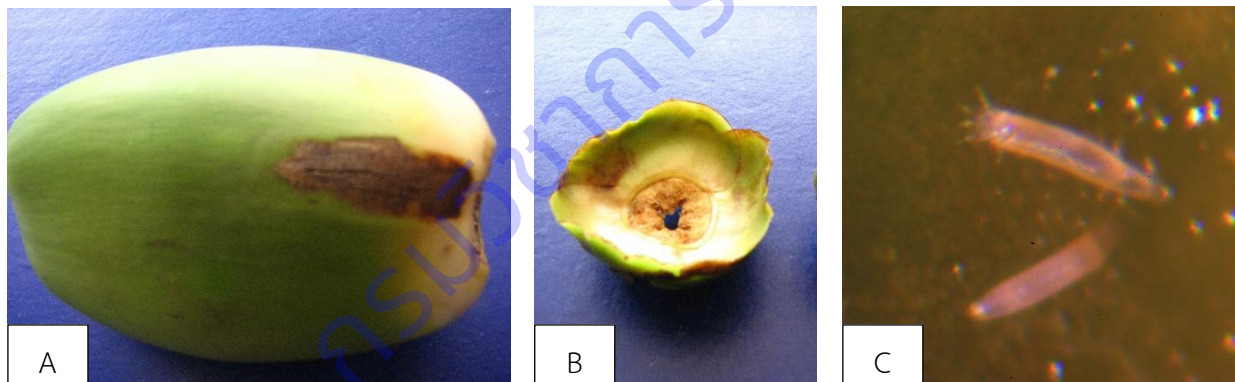


Figure 5 (A) the damage symptom of *Colomerus novahebridensis* Keifer;
 (B) the bract of the coconut fruit
 (C) adult eriophyid mites found in the bract of each fruit.

การทดลองที่ 10

การติดตามการระบาดและเฝ้าระวังแมลงวันทองชนิด

Bactrocera carambolae (Drew & Hancock) ในเขตภาคใต้ของประเทศไทย

Surveillance and Monitoring of carambola fruit fly, *Bactrocera carambolae* (Drew & Hancock) in the southern region, Thailand

สัญญาณี ศรีศุข^{1/} กรกต ดำรักษ์^{1/} ยวรินทร์ บุญทาบ^{2/} ชลธิชา รักใคร่^{3/} วันเพ็ญ ศรีชาติ^{3/}

^{1/}กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/} กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{3/}กลุ่มวิจัยกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การติดตามการระบาดและเฝ้าระวังแมลงวันทองชนิด *Bactrocera carambolae* (Drew & Hancock) ในเขตภาคใต้ ดำเนินการติดกับดักแบบสไตรเนอร์ที่ภายในใส่สารล่อแมลงวันผลไม้ชนิดเมลิลิยูจินอล ผสมกับสารฆ่าแมลงมาลาไรออนในอัตรา 4:1 ทุกระยะ 20 กิโลเมตร ตามแนวถนนหลวงครอบคลุมพื้นที่ 13 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดราชบุรี จังหวัดเพชรบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ จังหวัดชุมพร จังหวัดสุราษฎร์ธานี จังหวัดนครศรีธรรมราช จังหวัดพัทลุง จังหวัดสงขลา จังหวัดระนอง จังหวัดพังงา จังหวัดกระบี่ จังหวัดตรัง และจังหวัดสตูล เพื่อยืนยันการพบแมลงวันทองชนิด *B. carambolae* การติดกับดักดำเนินการระหว่างเดือนมีนาคม 2560 ถึง เมษายน 2562 พบแมลงวันทองชนิด *B. carambolae* ในกับดักจากจังหวัดเพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พัทลุง สงขลา ระนอง พังงา กระบี่ ตรัง และสตูล ไม่พบแมลงวันทองชนิด *B. carambolae* ในกับดักจากจังหวัดราชบุรี นอกจากนี้ในช่วงเดือนกันยายน 2561 ได้ทำการเก็บผลไม้ 12 ชนิด ที่เป็นพืชอาหารของแมลงวันทองชนิด *B. carambolae* ได้แก่ ฝรั่ง พุทรา มะม่วง ตะขบ มะละกอ น้อยหน่า ทับทิม มะเดื่อ มะเฟือง หูกวาง ชมพู่ และกระท้อน จากจังหวัดเพชรบุรี 5 จุด จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ 5 จุด จังหวัดชุมพร 6 จุด จังหวัดสุราษฎร์ธานี 5 จุด และจังหวัดนครศรีธรรมราช 5 จุด พบแมลงวันทองชนิด *B. carambolae* ในตะขบจากจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ มะเฟืองและฝรั่งจากจังหวัดชุมพร และชมพู่ มะเฟือง กระท้อน และตะขบจากจังหวัดนครศรีธรรมราช และในช่วงเดือนมิถุนายน 2562 ทำการเก็บผลไม้ 5 ชนิด ที่เป็นพืชอาหารของแมลงวันทองชนิด *B. carambolae* ได้แก่ มะม่วง ขนุน ชมพู่ ฝรั่งขึ้นก และชมพู่เขียว จากจังหวัดเพชรบุรี 3 จุด จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ 6 จุด จังหวัดชุมพร 1 จุด พบแมลงวันทองชนิด *B. carambolae* ในขนุนจากจังหวัดเพชรบุรี ชมพู่ และมะม่วงจากจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ และมะม่วง จากจังหวัดชุมพร จากข้อมูลการพบแมลงวันทองชนิด *B. carambolae* ในกับดักและจากการสำรวจพืชอาหารและเก็บพืชอาหารที่มีการทำลายจากแมลงวันทองชนิด *B. carambolae* ยืนยันได้ว่าแมลงวันทองชนิด *B. carambolae* มีเขตการแพร่กระจายครอบคลุมพื้นที่จังหวัดภาคใต้ทั้งหมดของประเทศไทย สามารถพบได้ตั้งแต่จังหวัดเพชรบุรีจนถึงสตูล ช่วงที่จะพบแมลงวันทองชนิด *B. carambolae* ได้มาก คือช่วงเดือน เมษายนถึงพฤษภาคม ซึ่งก็เป็นช่วงที่ในพื้นที่เขตภาคใต้มีผลไม้มาก

คำสำคัญ: การเฝ้าระวัง แมลงวันทองชนิด *Bactrocera carambolae* กับดักแบบสไตรเนอร์

Key words: Surveillance, carambola fruit fly; *Bactrocera carambolae*, Striner-trap

บทนำ

ในปัจจุบันการส่งออกและนำเข้าสินค้าเกษตร ได้มีข้อกำหนดให้ทุกประเทศที่เป็นสมาชิกของ WTO (World Trade Organization) จะต้องปรับลดอัตราอากรขาเข้าลงเป็นอันดับแรกของการเปิดการค้าแบบเสรี ซึ่งทำให้มาตรการกีดกันด้านภาษีศุลกากรมีแนวโน้มลดลง แต่ในขณะเดียวกันมาตรการกีดกันทางการค้าที่ไม่ใช่ภาษี (non-tariff barrier, NTB) กลับมีบทบาทและมีรูปแบบใหม่ๆ มากขึ้น มาตรการที่สำคัญในด้านการเกษตรได้แก่ มาตรการด้านสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Sanitary and Phytosanitary Measure : SPS) ซึ่งให้สิทธิพื้นฐานแก่ประเทศต่างๆ ในการกำหนดมาตรการสุขอนามัย เพื่อปกป้องชีวิตและสุขภาพมนุษย์ สัตว์ และพืช เพื่อสร้างความมั่นใจต่อความปลอดภัยด้านอาหารของแต่ละประเทศ แต่ต้องไม่ใช่สิทธินั้นในทางที่เป็นการสร้างข้อจำกัดทางการค้า หรือเลือกปฏิบัติตามอำเภอใจ โดยอาศัยมาตรฐานระหว่างประเทศ (International Standards for Phytosanitary Measures: ISPM) ในอนุสัญญาว่าด้วยการอารักขาพืชระหว่างประเทศ (International Plant Protection Convention: IPPC) ภายใต้องค์การอาหารและเกษตรแห่งชาติ (Food and Agriculture Organization: FAO) ในกรณีที่ไม่มีการกำหนดมาตรฐานระหว่างประเทศที่เกี่ยวข้อง การกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสามารถทำได้โดยใช้การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest risk assessment) จากข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ โดยเฉพาะข้อมูลสถานภาพศัตรูพืชทั้งภายในประเทศและประเทศคู่ค้าที่กำหนดมาตรการ ซึ่งประเทศคู่ค้ามักนำมาตรการ SPS มาใช้เป็นเครื่องมือในการกีดกันทางการค้ากับสินค้าอาหารประเภทปศุสัตว์ ประมง และพืชผักผลไม้ โดยอ้างการตรวจพบเชื้อโรค แมลง และอื่นๆ ซึ่งส่งผลกระทบต่อภาพลักษณ์ทางการค้าของประเทศ และเป็นการเพิ่มต้นทุนการผลิต

ประเทศที่เป็นสมาชิก WTO ส่วนใหญ่นำมาตรการสุขอนามัยพืชมาเป็นข้อต่อรองในการส่งออกและนำเข้า โดยประเทศผู้ส่งออกต้องส่งบัญชีรายชื่อศัตรูพืชของพืชส่งออกและข้อมูลของศัตรูพืชแต่ละชนิดตามความต้องการของประเทศผู้นำเข้า เพื่อทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืชก่อนที่จะอนุญาตให้นำเข้าสินค้านั้นๆ ขณะเดียวกันผู้นำเข้าจำเป็นต้องมีข้อมูลบัญชีรายชื่อศัตรูพืชของพืชนำเข้าด้วย การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช ได้จากการศึกษาและสำรวจแบบติดตามข้อมูลศัตรูพืชในแหล่งปลูกเพื่อเป็นการเฝ้าระวัง (Surveillance) โดยการรวบรวมทำได้ 2 แบบ คือ

1. การเฝ้าระวังโดยทั่วไป (General surveillance) โดยค้นคว้าข้อมูลจากแหล่งข้อมูลต่างๆ ทั้งภายในและภายนอกประเทศ

2. การเฝ้าระวังโดยการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (Specific surveillance) สามารถดำเนินการโดยการสำรวจแบบตรวจหา (Detection surveys) และการสำรวจแบบมีขอบเขต (Delimiting surveys) (MvMaugh, 2005) ประโยชน์ของการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจงทั้ง 2 วิธี ทำให้ทราบถึงสถานการณ์ของศัตรูพืชในพื้นที่ และสามารถใช้อุบัติการณ์พื้นที่ปลอดศัตรูพืชในกรณีที่ไม่มีพบศัตรูพืชในพื้นที่นั้นๆ ข้อมูลต่างๆ ที่ได้จากการสำรวจติดตามศัตรูพืชเพื่อเฝ้าระวังจะส่งให้องค์การอารักขาพืชแห่งชาติ (National Plant Protection Organization: NPPO) นำไปใช้ประโยชน์ เช่น ใช้ในการสนับสนุนการออกประกาศเรื่องเขตปลอดศัตรูพืช เจริญการค้าหรือปลอดศัตรูพืชที่ไม่มีปรากฏในประเทศออกจากบัญชีรายชื่อได้

การปลูกไม้ผลเพื่อส่งออกมักประสบกับปัญหาจากการทำลายของแมลงวันผลไม้ ทำให้ผลผลิตเสียหาย และคุณภาพต่ำ เกษตรกรต้องทำการป้องกันกำจัดทั้งก่อนและหลังเก็บเกี่ยว ซึ่งเป็นการเพิ่มต้นทุนการผลิต และการป้องกันกำจัดแมลงวันทองโดยใช้สารฆ่าแมลงอย่างต่อเนื่องจนเก็บเกี่ยว ก่อให้เกิดปัญหาสารพิษตกค้างในผลผลิตและสภาพแวดล้อม นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดปัญหาด้านกักกันพืช และถูกใช้เป็นเครื่องมือกีดกันทางการค้าของต่างประเทศ เช่น ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา กลุ่มสหภาพยุโรป ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ เกาหลีใต้ ใต้หวัน และจีน โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับการส่งออกผลไม้ไปประเทศมาเลเซีย ไม่ว่าจะเป็นชมพูหรือมะม่วงที่ทางประเทศมาเลเซีย

เซียแจ่งเดือนเกี่ยวกับการพบแมลงวันผลไม้ชนิด *Bactrocera correcta* (Bezzi) ติดไปกับผลผลิตที่ส่งออกจากประเทศไทย เนื่องจากประเทศมาเลเซียแจ่งว่าไม่มีแมลงวันผลไม้ชนิด *B. correcta* ในประเทศมาเลเซีย หรือประเทศจีนมีการแจ่งเดือนแมลงวันทอง *B. dorsalis* ติดไปกับชมพู่มะม่วง น้อยหน่า และจากการสำรวจของแสน (2529) พบว่าแมลงวันทองมีพีชอาศัยถึง 34 ชนิด ส่วนมนตรี (2536) พบว่าแมลงวันทองมีพีชอาศัย 93 ชนิด และ Jirasurat (1994) รายงานเพิ่มเติมว่า แมลงวันทองมีพีชอาศัยมากถึง 129 ชนิด

จากรายงานของ Hardy, 1963 รายงานว่า แมลงวันผลไม้ในแถบประเทศไทย กัมพูชาเวียดนาม ลาว มาเลเซีย และตอนใต้ของประเทศพม่า มีอยู่มากถึง 211 species อยู่ใน 63 genera และ 6 subgenera ซึ่งก่อนหน้านี้ในประเทศไทยเคยมีรายงานไว้เพียง 9 ชนิด เท่านั้น โดย Cantelo 1965 และ Munro 1935 คือ *Dacus cucurbitae* Coq., *D. dorsalis* Hend., *D. ferrugineus* F., *D. hageni* Meij., *D. indica* Hend., *D. nubilis* Hend., *Dacus* sp. *Carpomyia vesuviana* Costa., *Gastrozona fasciventris* Macq. โดยแมลงวันผลไม้ชนิด *D. cucurbitae* พบทำลายแตงโม แตงไทย บวบเหลี่ยม บวบหอม มะระ และกระท้อน ส่วน *D. dorsalis* พบทำลายชมพูสาแหรก มะม่วง ชมพู ฝรั่ง กระท้อน และพุทธรักษา ซึ่งในปัจจุบันพบทำลายผลไม้มากถึง 122 ชนิด ส่วน *D. ferrugineus* F. Cantelo (1965) พบทำลายอยู่ในกล้วย ซึ่งก็คือ *D. dorsalis* นั่นเอง ส่วน *D. hageni* พบทำลายแตงไทยและบวบเหลี่ยม ซึ่งทั้ง *D. hageni* และ *D. indica* เป็นแมลงตัวเดียวกัน ในปัจจุบันแมลงชนิดนี้มีชื่อว่า *Bactrocera* (*Zeugoodacus*) *tau* (Walker) พบทำลายพีช 32 ชนิด ส่วน *Dacus* sp. พบทำลายอยู่ในพริก ซึ่งคาดว่าเป็นชนิด *Bactrocera latifrons* (Hendel) ซึ่งมีพีชอาหารมากกว่า 21 ชนิด

แมลงวันผลไม้ที่สำคัญของประเทศไทยมีอยู่หลายชนิด แสน (2529) รายงานว่า มีแมลงวันผลไม้ที่สำคัญในเมืองไทยอยู่ จำนวน 6 ชนิด ส่วนมนตรี (2536), มนตรีและโอชา (2541) รายงานที่สำคัญมีจำนวนกว่า 10 ชนิด แต่ที่สำคัญ ได้แก่ *Bactrocera dorsalis* Hendel, *B. correcta*, *B. cucurbitae* (Coquillett), *B. tau* (Walker), *B. umbrosa* (Fabricius), *B. latifrons*, *B. zonata* (Saunders), *B. carambolae*, *B. papayae* (Drew & Hancock) และ *B. tuberculata* (Bezzi)

มนตรี (2536, 2541) รายงานชนิดแมลงวันทองที่เป็นศัตรูสำคัญในผลไม้และพืชผักในประเทศไทย มีจำนวนกว่า 10 ชนิด ได้แก่ *B. dorsalis*, *B. correcta*, *B. cucurbitae*, *B. tau*, *B. umbrosa*, *B. latifrons*, *B. zonata*, *B. carambolae*, *B. papayae*, และ *B. tuberculata* โดยชนิดที่ทำลายพืชตระกูลแตง ได้แก่ *B. cucurbitae*, *B. tau* และ *B. dorsalis* นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าแมลงวันทองชนิด *B. carambolae* มีเขตแพร่กระจายในเขตภาคใต้ และภาคกลางตอนล่าง มีพีชอาศัยไม่น้อยกว่า 30 ชนิด ที่สำคัญคือ ฝรั่ง, ขนุน, ชมพู, กระท้อน, ส้ม, ละมุด, มะม่วง, มะเฟือง, ตะลิงปลิง และจากการสำรวจแมลงวันผลไม้ของมนตรี และคณะระหว่างปี 2534-2535 พบว่าแมลงวันผลไม้ชนิด *B. dorsalis* ระบาดในภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคเหนือ ในขณะที่แมลงวันผลไม้ชนิด *B. carambolae* ระบาดในภาคใต้และภาคกลาง (เล็กน้อย) ไม่พบในภาคเหนือ แมลงวันผลไม้ชนิด *B. papayae* มีการแพร่กระจายระบาดตั้งแต่ จ.สุราษฎร์ธานีลงไปทางใต้ (กองกีฏและสัตววิทยา, 2544)

เมทิลยูจินอลค้นพบโดย Howlett ในปี 1912 (Beroza and Green, 1963), IAEA (2003) รายงานว่าเมทิลยูจินอลเป็นสารที่สังเคราะห์ขึ้นโดยขบวนการทางเคมี มีปฏิกิริยาดึงดูดแมลงวันผลไม้เฉพาะเพศผู้ โดยสามารถดึงดูดแมลงวันผลไม้ได้มากกว่า 250 ชนิด เช่นแมลงวันผลไม้ชนิด *B. dorsalis*, *B. carambolae*, *B. papayae* และ *B. correcta* เมทิลยูจินอลมีประสิทธิภาพในการล่อแมลงวันผลไม้สูง วัตถุประสงค์ของการสนองตอบของแมลงวันผลไม้ และสามารถล่อแมลงวันผลไม้ได้ในไกลๆ ระยะทางอาจไกลเป็นกิโลเมตร โดยเฉพาะอย่างยิ่งในที่โล่งแจ้งที่มีลมโชย จะสามารถล่อแมลงวันผลไม้ที่อยู่ไกลๆ ออกไปหลายกิโลเมตรถึงหลายสิบกิโลเมตรได้ Clarke *et al.* (2001) รายงานว่าจากการติดกับดักแบบสไตรเนอร์โดยใช้สารล่อชนิดเมทิลยูจินอล ในพื้นที่จังหวัด

เชียงใหม่ (7 กีบดัก) เชียงราย (5 กีบดัก) และกรุงเทพมหานคร (5 กีบดัก) ตลอดทั้งปี ร่วมกับการเก็บผลไม้ที่ถูกแมลงวันผลไม้เข้าทำลาย ส่วนที่จังหวัดสงขลาไม่มีการติดกับดักเก็บเฉพาะผลไม้ที่ถูกแมลงวันผลไม้เข้าทำลาย พบว่า *B. correcta* มีเขตแพร่กระจายเฉพาะที่เชียงใหม่ เชียงราย และพบบ้างใน กรุงเทพมหานคร ส่วนที่สงขลา ไม่พบ สอดคล้องกับมนตรี (2544) ที่รายงานว่าแมลงชนิดนี้มีเขตแพร่กระจายในเขตภาคเหนือ ภาคกลาง และแทบจะไม่พบในภาคใต้ มีพืชอาศัยไม่น้อยกว่า 36 ชนิด ได้แก่ มะม่วง ฝรั่ง ชมพู ละครุด พุทรา น้อยหน่า ขนุน เงาะ ลำไย ลิ้นจี่ กะท้อน สะตอ กล้วยน้ำว่า มะกอกฝรั่ง มะเฟือง มะปราง มะละกอ มะยม ชำมะเสียง มะกอกน้ำ มะม่วงหิมพานต์ เซอร์ฮวาน กระโดน สตาร์แอปเปิ้ล หว่า มะเดื่อหอม พิกุล ตะขบฝรั่ง น้ำใจใคร่ หูกวาง หนามหัน (งัวซัง)แจง มะแว้งเครือ ฯ มนตรี (2536, 2541, 2544) รายงานว่า แมลงวันผลไม้ชนิด *B. correcta* มีเขตแพร่กระจายในเขตภาคเหนือ ภาคกลาง และแทบจะไม่พบในภาคใต้ พืชอาศัยไม่น้อยกว่า 36 ชนิด ได้แก่ มะม่วง ฝรั่ง ชมพู ละครุด พุทรา น้อยหน่า ขนุน เงาะ ลำไย ลิ้นจี่ กะท้อน สะตอ กล้วยน้ำว่า มะกอกฝรั่ง มะเฟือง มะปราง มะละกอ มะยม ชำมะเสียง มะกอกน้ำ มะม่วงหิมพานต์ เซอร์ฮวาน กระโดน สตาร์แอปเปิ้ล หว่า มะเดื่อหอม พิกุล ตะขบฝรั่ง น้ำใจใคร่ หูกวาง หนามหัน (งัวซัง) แจง มะแว้งเครือ ฯ และจากการสำรวจแมลงวันผลไม้ของมนตรี และคณะระหว่างปี 2534-2535 พบว่าแมลงวันผลไม้ชนิด *B. dorsalis* ระบาดในภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคเหนือ ในขณะที่แมลงวันผลไม้ชนิด *B. carambolae* พบระบาดในภาคใต้และภาคกลาง (เล็กน้อย) ไม่พบในภาคเหนือ แมลงวันผลไม้ชนิด *B. papayae* มีการแพร่กระจายระบาดตั้งแต่ จ.สุราษฎร์ธานีลงไปทางใต้ นอกจากนี้ Clarke, 2001 รายงานว่าพบ *B. correcta* เฉพาะในเขตภาคเหนือของไทย ไม่พบในเขตภาคใต้

แมลงวันทองชนิด *B. carambolae* เป็นศัตรูพืชที่สำคัญของพืชเศรษฐกิจที่สำคัญหลายชนิด มีรูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยา และขนาดเหมือนกับแมลงวันผลไม้ชนิด *B. dorsalis* ทุกประการเมื่อดูด้วยตาเปล่า มีเขตแพร่กระจายในเขตภาคใต้ และภาคกลางตอนล่าง มีพืชอาศัยไม่น้อยกว่า 30 ชนิด ที่สำคัญคือ ฝรั่ง, ขนุน, ชมพู, กะท้อน, ส้ม, ละครุด, มะม่วง, มะเฟือง, ตะลิงปลิง ซึ่งการปลูกพืชเหล่านี้มักประสบกับปัญหาจากการทำลายของแมลงวันทอง ทำให้ผลผลิตเสียหาย และคุณภาพต่ำ เกษตรกรต้องทำการป้องกันกำจัดทั้งก่อนและหลังเก็บเกี่ยว ซึ่งเป็นการเพิ่มต้นทุนการผลิต และการป้องกันกำจัดแมลงวันทองโดยใช้สารฆ่าแมลงอย่างต่อเนื่องจนเก็บเกี่ยวก่อให้เกิดปัญหาสารพิษตกค้างในผลผลิตและสภาพแวดล้อม นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดปัญหาด้านกักกันพืช และถูกใช้เป็นเครื่องมือกีดกันทางการค้าของต่างประเทศ เช่น ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา กลุ่มสหภาพยุโรป ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ เกาหลีใต้ ไต้หวัน และจีน จะเห็นได้ว่าแมลงวันทองเป็นปัญหาในระดับประเทศที่ต้องให้ความสำคัญในการศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับการติดตามการระบาดและการเฝ้าระวังแมลงวันทองชนิด *B. carambolae* เพื่อใช้ข้อมูลการปรากฏ/ไม่ปรากฏ และการแพร่กระจายของศัตรูพืช ยืนยันสถานภาพของชนิดแมลงวันผลไม้ที่พบในประเทศไทย และจัดทำแผนที่เขตการแพร่กระจายของแมลงวันผลไม้ในประเทศไทย เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการวิเคราะห์ความเสี่ยงในการนำเข้าและส่งออกสินค้าเกษตร เมื่อมีข้อมูลที่ต้องการและเป็นปัจจุบัน NPPO ก็สามารถนำข้อมูลไปประกอบการส่งออกสินค้าเกษตรของไทยกับประเทศคู่ค้าได้ ทำให้เพิ่มศักยภาพในการส่งออกสินค้าเกษตรของไทยในการสนับสนุนการส่งออกของสินค้าเกษตรของไทยต่อไป

ระเบียบวิธีการวิจัย

อุปกรณ์

1. สารล่อแมลงวันผลไม้เมลิลิยูจินอล สารล่อแมลงวันผลไม้ควิลัว
2. สารฆ่าแมลงมาลาไธออน
3. กับดีกแบบสไตรเนอร์
4. ถังมือยาง สำลี ลวด กระดาษฟิวเจอบอร์ด
5. กล่องพลาสติกเก็บตัวอย่างแมลง กล่องพลาสติกเก็บตัวอย่างผลไม้
6. ซีลีย ยีสต์ น้ำตาล

วิธีการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1 จัดทำคู่มือการสำรวจ (2560) โดยรวบรวมตัวอย่างอ้างอิง รูปภาพ และใช้การวินิจฉัยของแมลงวันผลไม้ทุกชนิด ที่เคยรายงานพบในประเทศไทย เพื่อใช้ตรวจสอบอ้างอิงขณะดำเนินการสำรวจ และจัดทำข้อมูล

ขั้นตอนที่ 2 จัดทำฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ (2560) จัดทำฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ ได้แก่ ชื่อที่ตั้งของแปลง ของกับดีก ชนิดพืชที่เก็บ วันและเวลา สภาพดินฟ้าอากาศ ตำแหน่งที่ตั้งพิกัดภูมิศาสตร์ เป็นต้น

ขั้นตอนที่ 3 การสำรวจ (2560-2562)

3.1 ทำการสำรวจแบบตรวจหา (Detection surveys) ตามกรรมวิธีของ Clarke *et al.* (2001) โดยกำหนดจุดติดกับดีกและทำการติดกับดีกเพื่อยืนยันการพบแมลงวันผลไม้ ทุกระยะ 20 กิโลเมตร ตามแนวถนนหลวงครอบคลุม 13 จังหวัด ดังนี้

- 1.จังหวัดราชบุรี 1 จุด
- 2.จังหวัดเพชรบุรี 4 จุด
- 3.จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ 11 จุด
- 4.จังหวัดชุมพร 8 จุด
- 5.จังหวัดสุราษฎร์ธานี 7 จุด
- 6.จังหวัดนครศรีธรรมราช 6 จุด
- 7.จังหวัดพัทลุง 4 จุด
- 8.จังหวัดสงขลา 2 จุด
- 9.จังหวัดระนอง 10 จุด
- 10.จังหวัดพังงา 9 จุด
- 11.จังหวัดกระบี่ 7 จุด
- 12.จังหวัดตรัง 5 จุด
- 13.จังหวัดสตูล 5 จุด

โดยใช้ กับดีกแบบสไตรเนอร์ที่ภายในใส่สารล่อแมลงวันผลไม้ชนิดเมลิลิยูจินอล ผสมกับสารฆ่าแมลงมาลาไธออนในอัตรา 4:1 หยดลงบนสำลี แล้วแขวนไว้ในกับดีก จากนั้นนำกับดีกแขวนบนไม้ยืนต้น (เลือกแขวนต้น

ที่เป็นพืชอาหารของแมลงวันผลไม้) โดยแขวนกับดักสูงประมาณ 1.5 เมตร ในแนวทิศตะวันออก/ตะวันตกของทรงพุ่มพีช และใช้จากนั้นทำการบันทึกตำแหน่งของกับดักแต่ละอันด้วยเครื่อง GPS

ทำการเก็บแมลงออกจากกับดักและเปลี่ยนแบบกับดักใหม่ทุก 1 เดือน โดยนำแมลงที่ได้จากในกับดักใส่ในซองกระดาษ แล้วจดบันทึกวันเดือนปีที่เก็บ สถานที่เก็บ หมายเลขของกับดักที่เก็บ จากนั้นนำแมลงเข้าห้องปฏิบัติการ เพื่อตรวจหาแมลงวันผลไม้ และนับจำนวน ในช่วงที่เปลี่ยนกับดักถ้ามีผลผลิตที่ถูกแมลงวันผลไม้ทำลายในแปลงปลูกเก็บผลเข้าห้องปฏิบัติการ มาเลี้ยงต่อจนเป็นตัวเต็มวัย จำแนกชนิดและนับปริมาณ

ขั้นตอนที่ 4 จัดทำแผนที่เขตการแพร่กระจายของแมลงวันผลไม้ เมื่อได้ข้อมูลแมลงวันผลไม้จากกับดักครบตลอดทั้งปี นำข้อมูลมาวิเคราะห์ผล และจัดทำแผนที่เขตการแพร่กระจายของแมลงวันผลไม้ ในประเทศไทย

เวลาและสถานที่

- ตุลาคม 2559 – กันยายน 2562
- ห้องปฏิบัติการกลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช
- ต้นทุนการขนส่ง

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

จากการติดตามการระบาดและเฝ้าระวังแมลงวันทองชนิด *Bactrocera carambolae* (Drew & Hancock) ในเขตภาคใต้ โดยกำหนดจุดติดกับดักและทำการติดกับดักแบบสไตรเนอร์ที่ภายในใส่สารล่อแมลงวันผลไม้ชนิดเมลิลยูจินอล ผสมกับสารฆ่าแมลงมาลาไธออนในอัตรา 4:1 เพื่อยืนยันการพบแมลงวันผลไม้ ทุก ระยะ 20 กิโลเมตร ตามแนวถนนหลวงครอบคลุม 13 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดราชบุรี 1 จุด, จังหวัดเพชรบุรี 4 จุด, จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ 11 จุด, จังหวัดชุมพร 8 จุด, จังหวัดสุราษฎร์ธานี 7 จุด, จังหวัดนครศรีธรรมราช 6 จุด, จังหวัดพัทลุง 4 จุด, จังหวัดสงขลา 2 จุด, จังหวัดระนอง 10 จุด, จังหวัดพังงา 9 จุด, จังหวัดกระบี่ 7 จุด, จังหวัดตรัง 5 จุด และจังหวัดสตูล 5 จุด รวม 79 จุด (ภาพที่ 1) ระหว่างเดือนมีนาคม 2560 ถึง เมษายน 2562 พบแมลงวันทองชนิด *B. carambolae* ในจังหวัด เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พัทลุง สงขลา ระนอง พังงา กระบี่ ตรัง และสตูล ไม่พบแมลงวันทองชนิด *B. carambolae* ในกับดักในจังหวัดราชบุรี (ตารางที่ 1)

นอกจากนี้ในช่วงเดือนกันยายน 2561 ยังได้ทำการเก็บผลไม้ 12 ชนิด ที่เป็นพืชอาหารของแมลงวันทองชนิด *B. carambolae* ได้แก่ ฝรั่ง พุทรา มะม่วง ตะขบ มะละกอ น้อยหน่า ทับทิม มะเดื่อ มะเฟือง หูกวาง ชมพู และกระท้อน จากจังหวัดเพชรบุรี 5 จุด จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ 5 จุด จังหวัดชุมพร 6 จุด จังหวัดสุราษฎร์ธานี 5 จุด และจังหวัดนครศรีธรรมราช 5 จุด พบแมลงวันทองชนิด *B. carambolae* ในตะขบจากจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ มะเฟืองและฝรั่งจากจังหวัดชุมพร และชมพู มะเฟือง กระท้อน และตะขบจากจังหวัดนครศรีธรรมราช (ตารางที่ 2) และในช่วงเดือนมิถุนายน 2562 ทำการเก็บผลไม้ 5 ชนิด ที่เป็นพืชอาหารของแมลงวันทองชนิด *B. carambolae* ได้แก่ มะม่วง ขนุน ชมพู ฝรั่งขี้นก และชมพูเขียว จากจังหวัดเพชรบุรี 3 จุด จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

6 จุด จังหวัดชุมพร 1 จุด พบแมลงวันทองชนิด *B. carambolae* ในขนุนจากจังหวัดเพชรบุรี ชมพู่มะม่วงจากจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ และมะม่วงจากจังหวัดชุมพร (ตารางที่ 3)

จากข้อมูลการพบแมลงวันทองชนิด *B. carambolae* ในกับดักและจากการสำรวจพืชอาหารและเก็บพืชอาหารที่มีการทำลายจากแมลงวันทองชนิด *B. carambolae* ยืนยันได้ว่าแมลงวันทองชนิด *B. carambolae* มีเขตการแพร่กระจายครอบคลุมพื้นที่จังหวัดภาคใต้ทั้งหมดของประเทศไทย สามารถพบได้ตั้งแต่จังหวัดเพชรบุรีจนถึงสตูล ช่วงที่จะพบแมลงวันทองชนิด *B. carambolae* ได้มาก คือช่วงเดือน เมษายนถึงพฤษภาคม ซึ่งก็เป็นช่วงที่พื้นที่ในเขตภาคใต้มีผลไม้มาก

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

จากการสำรวจแมลงวันทองชนิด *B. carambolae* ในเขตภาคใต้ ระหว่างเดือนมีนาคม 2560 ถึง เมษายน 2562 โดยใช้กับดักแบบสไตรเนอร์ พบแมลงวันทองชนิด *B. carambolae* ในจังหวัดเพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พัทลุง สงขลา ระนอง พังงา กระบี่ ตรัง และสตูล ไม่พบแมลงวันทองชนิด *B. carambolae* ในกับดักจังหวัดราชบุรี และจากการสำรวจพืชอาหารในช่วงเดือนกันยายน 2561 พบแมลงวันทองชนิด *B. carambolae* ในตะขบจากจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ มะเฟืองและฝรั่งจากจังหวัดชุมพร และชมพู มะเฟือง กระท้อน และตะขบจากจังหวัดนครศรีธรรมราช ส่วนในช่วงเดือนมิถุนายน 2562 พบแมลงวันทองชนิด *B. carambolae* ในขนุนจากจังหวัดเพชรบุรี ชมพู่มะม่วงจากจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ และมะม่วงจากจังหวัดชุมพร

จากข้อมูลดังกล่าวสามารถยืนยันได้ว่าแมลงวันทองชนิด *B. carambolae* มีเขตการแพร่กระจายครอบคลุมพื้นที่จังหวัดภาคใต้ทั้งหมดของประเทศไทย สามารถพบได้ตั้งแต่จังหวัดเพชรบุรีจนถึงสตูล ช่วงที่จะพบแมลงวันทองชนิด *B. carambolae* ได้มาก คือช่วงเดือน เมษายนถึงพฤษภาคม

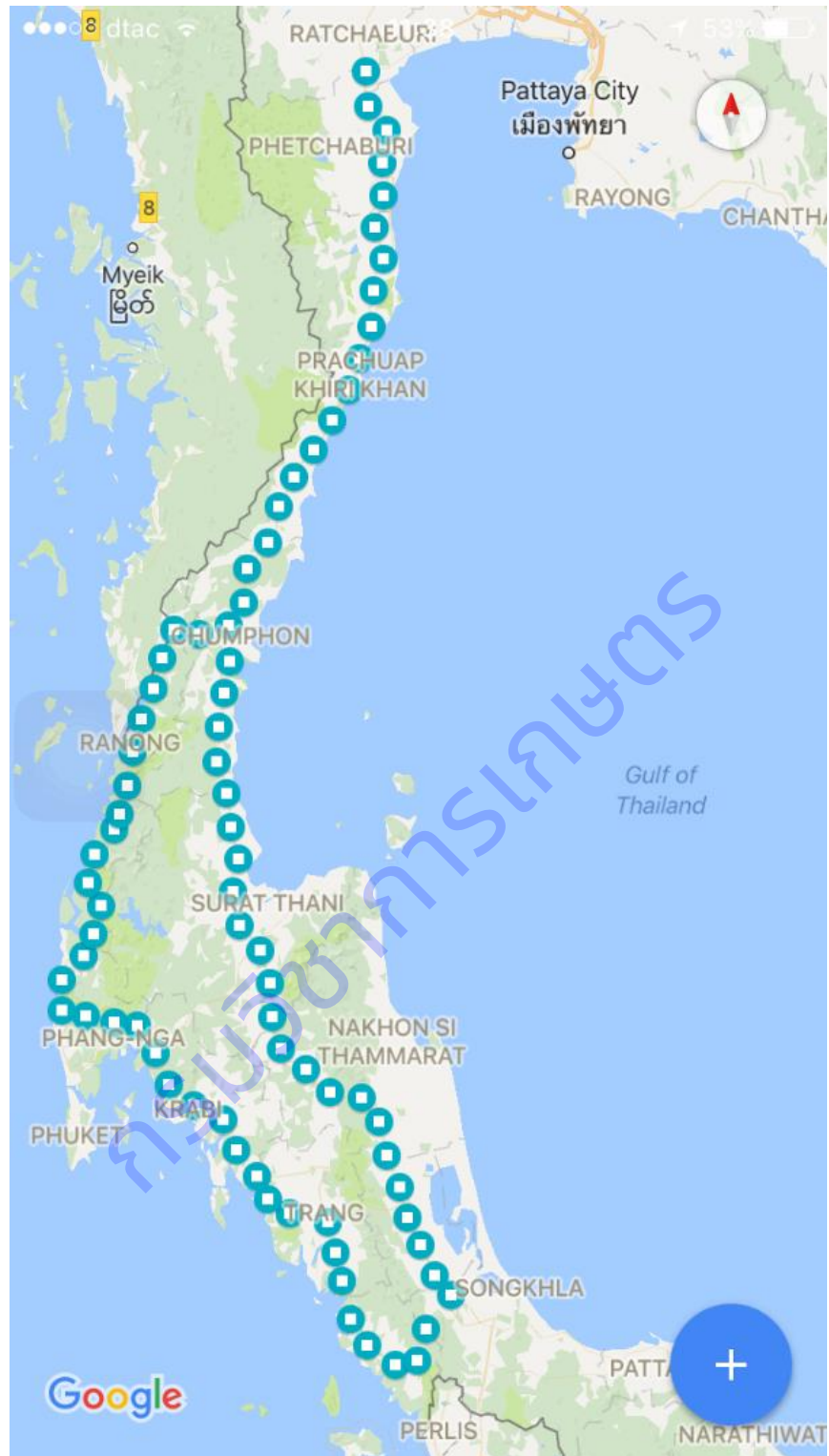


Figure 1 The location of the trap covering the area every 20 kilometers in the southern region

ตารางที่ 1 แสดงพิกัด สถานที่ ที่ติดกับดักแบบสไตรเนอร์ที่ภายในใส่สารล่อแมลงวันผลไม้ชนิดเมลลิธูจุนอล (ME) และปริมาณแมลงวันผลไม้ชนิด *Bactrocera carambolae* (Drew & Hancock) ที่พบในกับดัก

ลำดับ	พิกัด	สถานที่	ปริมาณ <i>B. carambolae</i> ที่พบในกับดัก										
			มี.ค.60	เม.ย.- พ.ค. 60	ก.ค.- ส.ค. 60	ม.ค.- ก.พ. 61	มี.ค.- เม.ย. 61	พ.ค.- มิ.ย. 61	ก.ค.-ส.ค. 61	ธ.ค. 61 – ม.ค. 62	ก.พ.- มี.ค. 62	เม.ย.- พ.ค. 62	
1	13°20.316'N 099°49.873'E UTM 47P 590017E 1474731N	ต.วังมะนาว อ.ปากท่อ จ.ราชบุรี	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	13°09.907'N 099°50.548'E UTM 47P 5913011E 1455598N	ต.หนองปรุง อ.เขาย้อย จ.เพชรบุรี	-	7	-	-	-	-	-	3	-	-	-
3	13°02.807'N 099°56.293'E UTM 47P 601728E 1442497N	ต.ท่าเสนา อ.บ้านลาด จ.เพชรบุรี	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	12°53.139'N 099°54.732'E UTM 47P 598970E 1424667N	ต.ดอนขุนห้วย อ.ชะอำ จ.เพชรบุรี	-	4	-	-	-	-	-	3	-	1	-
5	12°43.244'N 099°55.307'E UTM 47P 600073E 1406431N	ต.สามพระยา อ.ชะอำ จ.เพชรบุรี	-	15	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	12°34.026'N 099°52.120'E UTM 47P 594363E 1389420N	ต.หินเหล็กไฟ อ.หัวหิน จ.ประจวบคีรีขันธ์	-	2	-	-	-	-	-	-	-	1	-
7	12°23.979'N 099°55.363'E UTM 47P 600300E 1370920N	ต.เขาน้อย อ.ปราณบุรี จ.ประจวบคีรีขันธ์	-	70	7	-	1	6	16	-	-	2	4
8	12°14.705'N 099°52.297'E UTM 47P 594800E 1353806N	ต.ศาลาลัย อ.สามร้อย ยอด จ.ประจวบคีรีขันธ์	-	-	8	-	1	2	-	-	-	-	-
9	12°04.608'N 099°51.464'E UTM 47P 593349E 1335193N	ต.กุยบุรี อ.กุยบุรี จ.ประจวบคีรีขันธ์	-	17	-	-	-	-	57	-	-	-	-
10	11°55.187'N 099°48.064'E UTM 47P 587231E 1317809N	ต.อ่าวน้อย อ.เมือง จ.ประจวบคีรีขันธ์	-	3	2	-	-	-	3	-	-	-	-
11	11°44.925'N 099°45.622'E UTM 47P 582851E 1298883N	ต.คลองวาฬ อ.เมือง จ.ประจวบคีรีขันธ์	3	4	1	-	-	-	-	-	-	-	-
12	11°36.047'N 099°39.666'E UTM 47P 572072E 1282494N	ต.ห้วยยาง อ.ทับสะแก จ.ประจวบคีรีขันธ์	-	4	7	-	20	2	-	-	-	-	-
13	11°27.135'N 099°34.139'E UTM 47P 562061E 1266047N	ต.นาหูกวาง อ.ทับสะแก จ.ประจวบคีรีขันธ์	-	4	-	-	2	8	-	-	-	4	-

ตารางที่ 1 แสดงพิกัด สถานที่ ที่ติดกับดักแบบสไลด์รเนอร์ที่ภายในใส่สารล่อแมลงวันผลไม้ชนิดเมลิธยูจอนอล (ME) และปริมาณแมลงวันผลไม้ชนิด *Bactrocera carambolae* (Drew & Hancock) ที่พบในกับดัก (ต่อ)

ลำดับ	พิกัด	สถานที่	ปริมาณ <i>B. carambolae</i> ที่พบในกับดัก										
			มี.ค.60	เม.ย.- พ.ค. 60	ก.ค.- ส.ค. 60	ม.ค.- ก.พ. 61	มี.ค.- เม.ย. 61	พ.ค.- มิ.ย.61	ก.ค.-ส.ค. 61	ธ.ค. 61 – ม.ค. 62	ก.พ.- มี.ค. 62	เม.ย.- พ.ค. 62	
14	11°18.904'N 099°28.119'E UTM 47P 551143E 1250858N	ต.ชัยเกษม อ.บาง สะพาน จ.ประจวบคีรีขันธ์	-	-	4	-	-	-	-	-	3	2	-
15	10°09.910'N 099°23.760'E UTM 47P 543237E 1234270N	ต.ทองมงคล อ.บาง สะพาน จ. ประจวบคีรีขันธ์	-	25	4	-	4	3	-	-	-	-	-
16	10°59.977'N 099°21.975'E UTM 47P 540011E 1215962N	ต.ไทรทอง อ.บาง สะพานน้อย จ.ประจวบคีรีขันธ์	-	127	-	-	-	-	-	4	-	2	-
17	10°52.401'N 099°15.077'E UTM 47P 527463E 1201987N	ต.สลุย อ.ท่าแซะ จ.ชุมพร	-	30	-	-	-	4	-	-	2	1	-
18	10°43.438'N 099°12.355'E UTM 47P 522517E 1185467N	ต.ทรัพย์อนันต์ อ.ท่าแซะ จ.ชุมพร	-	21	12	-	4	-	-	-	2	-	-
19	10°35.727'N 099°07.606'E UTM 47P 513867E 1171251N	ต.ท่าข้าม อ.ท่าแซะ จ.ชุมพร	-	127	-	-	-	-	-	-	2	2	2
20	10°25.704'N 099°07.748'E UTM 47P 514134E 1152782N	ต.ทุ่งคา อ.เมือง จ.ชุมพร	-	-	-	1	-	-	-	2	3	4	-
21	10°16.149'N 099°04.866'E UTM 47P 508880E 1135172N	ต.ครน อ.สวี จ.ชุมพร	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9	4
22	10°05.970'N 099°04.751'E UTM 47P 508676E 1116414N	ต.ช่องไม้แก้ว อ.ทุ่ง ตะโก จ.ชุมพร	-	-	-	-	-	5	-	-	-	2	4
23	09°55.383'N 099°03.576'E UTM 47P 506533E 1096905N	ต.ท่ามะปลา อ.หลัง สวน จ.ชุมพร	-	5	7	-	-	6	-	-	-	-	-

ตารางที่ 1 แสดงพิกัด สถานที่ ที่ติดกับดักแบบสเตรเนอร์ที่ภายในใส่สารล่อแมลงวันผลไม้ชนิดเมลลิยูนอล (ME) และปริมาณแมลงวันผลไม้ชนิด *Bactrocera carambolae* (Drew & Hancock) ที่พบในกับดัก (ต่อ)

ลำดับ	พิกัด	สถานที่	ปริมาณ <i>B. carambolae</i> ที่พบในกับดัก									
			มี.ค. 60	เม.ย.-พ.ค. 60	ก.ค.- ส.ค. 60	ม.ค.- ก.พ. 61	มี.ค.- เม.ย. 61	พ.ค.- มิ.ย. 61	ก.ค.-ส.ค. 61	ธ.ค. 61 - ม.ค. 62	ก.พ.- มี.ค. 62	เม.ย.- พ.ค. 62
24	09°45.319'N 099°05.216'E UTM 47P 509544E 1078359N	ต.ละแม อ.ละแม จ.ชุมพร	-	17	10	1	5	-	-	-	-	-
25	09°35.403'N 099°07.693'E UTM 47P 514068E 1060089N	ต.คลองพา อ.ท่าชนะ จ.สุราษฎร์ธานี	-	34	17	-	-	4	-	-	1	-
26	09°25.115'N 099°09.400'E UTM 47P 517200E 1041134N	ต.ป่าเว อ.ไชยา จ.สุราษฎร์ธานี	-	15	-	-	-	-	-	-	-	-
27	09°15.249'N 099°08.801'E UTM 47P 516112E 1022954N	ต.ท่าฉาง อ.ท่าฉาง จ.สุราษฎร์ธานี	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	09°04.980'N 099°10.325'E UTM 47P 518910E 1004033N	ต.ท่าโรงช้าง อ.พุนพิน จ.สุราษฎร์ธานี	-	13	2	-	2	2	-	3	1	-
29	08°56.607'N 099°15.035'E UTM 47P 527546E 988609N	ต.ท่าเรือ อ.บ้านนาเดิม จ.สุราษฎร์ธานี	-	-	-	-	3	4	-	-	1	-
30	08°47.330'N 099°18.875'E UTM 47P 534598E 971521N	ต.น้ำพุ อ.บ้านนาสาร จ.สุราษฎร์ธานี	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31	08°36.914'N 099°21.371'E UTM 47P 539190E 952333N	ต.บ้านส้อง อ.เวียงสระ จ.สุราษฎร์ธานี	-	22	11	-	-	10	-	-	-	-
32	08°26.696'N 099°21.556'E UTM 47P 539546E 933505N	ต.ตุลิต อ.ถ้าพรณรา จ.นครศรีธรรมราช	-	40	-	-	-	3	1	-	4	4
33	08°19.089'N 099°27.953'E UTM 47P 551301E 919501N	ต.ปริก อ.ทุ่งใหญ่ จ.นครศรีธรรมราช	-	62	-	-	-	-	-	-	-	-
34	08°12.011'N 099°35.350'E UTM 47P 564895E 906477N	ต.นาโพธิ์ อ.ทุ่งสง จ.นครศรีธรรมราช	-	-	7	-	8	7	-	-	1	-
35	08°08.962'N 099°45.001'E UTM 47P 582624E 900886N	ต.ถ้าใหญ่ อ.ทุ่งสง จ.นครศรีธรรมราช	-	-	-	-	13	10	12	-	1	-
36	08°05.154'N 099°53.259'E UTM 47P 597802E 893900N	ต.สามตำบล อ.จุฬาภรณ์ จ. นครศรีธรรมราช	-	4	-	-	8	3	-	-	-	1

ตารางที่ 1 แสดงพิกัด สถานที่ ที่ติดกับดักแบบสเตรเนอร์ที่ภายในใส่สารล่อแมลงวันผลไม้ชนิดเมลลิธูจุนอล (ME) และปริมาณแมลงวันผลไม้ชนิด *Bactrocera carambolae* (Drew & Hancock) ที่พบในกับดัก (ต่อ)

ลำดับ	พิกัด	สถานที่	ปริมาณ <i>B. carambolae</i> ที่พบในกับดัก										
			มี.ค.60	เม.ย.- พ.ค. 60	ก.ค.- ส.ค. 60	ม.ค.- ก.พ. 61	มี.ค.- เม.ย. 61	พ.ค.- มิ.ย.61	ก.ค.-ส.ค. 61	ธ.ค. 61 - ม.ค. 62	ก.พ.- มี.ค. 62	เม.ย.- พ.ค. 62	
37	07°54.622'N 099°55.548'E UTM 47P 602049E 874500N	ต.วังอ่าง อ.ชะอวด จ.นครศรีธรรมราช	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-
38	07°44.434'N 099°58.815'E UTM 47P 608096E 855741N	ต.ชะมวง อ.ควนขนุน จ.พัทลุง	-	1	-	-	12	-	-	-	-	-	-
39	07°34.938'N 100°03.161'E UTM 47P 616126E 838261N	ต.ท่ามิหรำ อ.เมือง จ.พัทลุง	-	108	-	-	-	-	10	-	-	-	4
40	07°25.496'N 100°04.079'E UTM 47P 617857E 820867N	ต.เขาชัยสน อ.เขาชัยสน จ.พัทลุง	-	88	-	-	-	-	-	-	-	-	-
41	07°16.666'N 100°09.946'E UTM 47P 628691E 804621N	ต.วังใหม่ อ.ป่าบอน จ.พัทลุง	-	64	-	-	2	4	4	1	-	2	2
42	07°09.479'N 100°16.712'E UTM 47P 641181E 791410N	ต.คูหาใต้ อ.รัตภูมิ จ.สงขลา	-	-	-	-	2	8	8	-	-	-	-
43	07°03.354'N 100°10.163'E UTM 47P 629150E 780090N	ต.เขาพระ อ.รัตภูมิ จ.สงขลา	-	6	-	-	-	-	2	5	-	6	-
44	06°53.514'N 100°07.521'E UTM 47P 624331E 761945N	ต.ทุ่งนุ้ย อ.ควนกาหลง จ.สตูล	-	22	-	-	-	1	6	10	-	-	-
45	06°44.011'N 100°04.029'E UTM 47P 617939E 744419N	ต.ฉลุง อ.เมือง จ.สตูล	-	-	-	-	-	-	3	-	2	-	-
46	06°49.709'N 099°55.909'E UTM 47P 602961E 754887N	ต.ท่าเรือ อ.ท่าแพ จ.สตูล	-	2	-	-	-	-	-	1	-	-	-
47	06°04.180'N 099°47.319'E UTM 47P 587125E 763099N	ต.กำแพง อ.ละงู จ.สตูล	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-
48	07°04.947'N 099°45.09'E UTM 47P 583002E 782194N	ต.นาทอน อ.ทุ่งหว้า จ.สตูล	-	7	-	-	-	-	6	-	-	1	-
49	07°09.802'N 099°97.738'E UTM 47P 587850E 791885N	ต.ลิพัง อ.ปะเหลียน จ.ตรัง	-	3	-	-	-	-	9	2	-	1	-

ตารางที่ 1 แสดงพิกัด สถานที่ ที่ติดกับดักแบบสเตรเนอร์ที่ภายในใส่สารล่อแมลงวันผลไม้ชนิดเมลิธยูจนอล (ME) และปริมาณแมลงวันผลไม้ชนิด *Bactrocera carambolae* (Drew & Hancock) ที่พบในกับดัก (ต่อ)

ลำดับ	พิกัด	สถานที่	ปริมาณ <i>B. carambolae</i> ที่พบในกับดัก										
			มี.ค.60	เม.ย.- พ.ค. 60	ก.ค.- ส.ค. 60	ม.ค.- ก.พ. 61	มี.ค.- เม.ย. 61	พ.ค.- มิ.ย. 61	ก.ค.-ส.ค. 61	ธ.ค. 61 - ม.ค. 62	ก.พ.- มี.ค. 62	เม.ย.- พ.ค. 62	
50	07°15.457'N 099°40.570'E UTM 47P 574643E 802284N	ต.สุโสะ อ.ปะเหลียน จ.ตรัง	-	4	-	-	1	-	-	-	-	1	-
51	07°25.378'N 099°38.199'E UTM 47P 570255E 820557N	ต.ทุ่งกระปือ อ.ย่านตาขาว จ.ตรัง	1	-	-	-	2	-	-	-	-	-	7
52	07°32.754'N 099°28.638'E UTM 47P 552655E 834125N	ต.นาเมืองเพชร อ.สิเกา จ. ตรัง	-	39	-	-	-	13	-	-	-	1	-
53	07°35.091'N 099°20.520'E UTM 47P 537724E 8384119N	ต.บ่อหิน อ.สิเกา จ.ตรัง	-	65	-	-	-	-	-	-	-	-	7
54	07°44.017'N 099°18.718'E UTM 47P 534400E 854461N	ต.ทรายขาว อ.คลองท่อม จ.กระบี่	-	26	-	-	3	3	29	-	-	-	-
55	07°50.231'N 099°10.390'E UTM 47P 519091E 866302N	ต.ห้วยน้ำขาว อ. คลองท่อม จ.กระบี่	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
56	08°00.116'N 099°07.484'E UTM 47P 513745E 884515N	ต.เพหลา อ.คลองท่อม จ.กระบี่	-	19	7	-	-	-	-	-	-	2	-
57	08°05.327'N 098°46.620'E UTM 47P 498667E 894113N	ต.เหนือคลอง อ.เหนือคลอง จ. กระบี่	-	32	32	-	-	2	-	1	-	-	-
58	08°09.400'N 098°51.127'E UTM 47P 4837111E 901622N	ต.ทับปริก อ.เมือง จ.กระบี่	-	14	5	-	-	7	-	-	-	-	-
59	08°18.495'N 098°46.620'E UTM 47P 475444E 918382N	ต.บ้านกลาง อ. อ่าวลึก จ.กระบี่	-	-	9	-	-	-	-	-	-	-	-
60	08°28.362'N 098°44.102'E UTM 47P 470835E 936565N	ต.เขาใหญ่ อ.อ่าวลึก จ.กระบี่	1	-	21	-	2	3	-	-	-	-	-
61	08°28.578'N 098°36.573'E UTM 47P 457020E 936976N	ต.บ่อแสน อ.ทับปุด จ.พังงา	-	19	4	-	-	-	-	-	-	17	14
62	08°28.519'N 098°31.642'E UTM 47P 447978E 936876N	ต.ถ้ำน้ำผุด อ.เมือง จ.พังงา	57	70	2	-	7	5	-	-	-	-	-

ตารางที่ 1 แสดงพิกัด สถานที่ ที่ติดกับดักแบบสเตรเนอร์ที่ภายในใส่สารล่อแมลงวันผลไม้ชนิดเมลลิยูนอล (ME) และปริมาณแมลงวันผลไม้ชนิด *Bactrocera carambolae* (Drew & Hancock) ที่พบในกับดัก (ต่อ)

ลำดับ	พิกัด	สถานที่	ปริมาณ <i>B. carambolae</i> ที่พบในกับดัก									
			มี.ค.60	เม.ย.- พ.ค. 60	ก.ค.- ส.ค. 60	ม.ค.- ก.พ. 61	มี.ค.- เม.ย. 61	พ.ค.- มิ.ย.61	ก.ค.-ส.ค. 61	ธ.ค. 61 - ม.ค. 62	ก.พ.- มี.ค. 62	เม.ย.- พ.ค. 62
63	08°34.248'N 098°25.226'E UTM 47P 436224E 947450N	ต.ลำไย อ.ท้ายเหมือง จ.พังงา	15	17	-	-	10	-	8	-	-	-
64	08°33.201'N 098°16.242'E UTM 47P 419742E 945548N	ต.ทุ่งมะพร้าว อ.ท้ายเหมือง จ.พังงา	-	70	-	-	1	-	-	-	-	-
65	08°42.689'N 098°15.451'E UTM 47P 4718325E 963034N	ต.คึกคัก อ.ตะกั่วป่า จ.พังงา	16	-	2	-	-	-	-	8	-	-
66	08°52.002'N 098°22.224'E UTM 47P 430772E 980174N	ต.โคกเคียน อ.ตะกั่วป่า จ.พังงา	23	18	12	-	2	5	-	-	-	-
67	08°58.982'N 098°25.341'E UTM 47P 436504E 993026N	ต.บางวัน ต.คุระบุรี จ.พังงา	38	-	-	-	9	4	-	-	-	4
68	09°07.847'N 098°27.520'E UTM 47P 440520E 1009357N	ต.แม่ย่านางขาว อ.คุระบุรี จ.พังงา	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-
69	09°15.070'N 098°23.840'E UTM 47P 433804E 1022677N	ต.คุระ อ.คุระบุรี จ.พังงา	19	13	6	-	-	-	11	-	1	-
70	09°23.569'N 098°25.962'E UTM 47P 437713E 1038332N	ต.นาคา อ.สุขสำราญ จ.ระนอง	-	-	-	-	4	-	-	-	-	-
71	10°31.427'N 098°50.221'E UTM 47P 482167E 1163329N	ต.ปากจั่น อ.กระบุรี จ.ระนอง	-	8	-	-	6	-	-	-	-	-
72	10°22.698'N 099°46.752'E UTM 47P 471044E 1130639N	ต.น้ำจืด อ.กระบุรี จ.ระนอง	-	18	-	-	-	2	-	-	-	-
73	10°13.683'N 098°44.137'E UTM 47P 471044E 1130639N	ต.บางใหญ่ อ.กระบุรี จ.ระนอง	-	8	-	-	-	2	-	-	-	-
74	10°04.146'N 098°40.223'E UTM 47P 463883E 1113070N	ต.ทรายแดง อ.เมือง จ.ระนอง	-	20	-	-	2	2	-	-	3	14
75	09°54.343'N 098°37.686'E UTM 47P 459230E 1095012N	ต.บางรี อ.เมือง จ.ระนอง	-	-	12	-	2	4	-	-	-	-

ตารางที่ 2 แสดงพิกัด สถานที่ ชนิดพืชอาหารที่เก็บ จำนวน น้ำหนัก และปริมาณแมลงวันผลไม้ชนิด *Bactrocera carambolae* (Drew & Hancock) ที่พบในพืชอาหาร ในปี 2561

ลำดับ	พิกัด	สถานที่	ชนิด	จำนวน (ผล)	น้ำหนัก (กก)	<i>B. carambolae</i> เพศผู้	<i>B. carambolae</i> เพศเมีย
1	13°19'39.7"N 99°49'46.7"E 13.327702, 99.829651	ต. ห้วยโรง อ.เขาย้อย จ.เพชรบุรี	ฝรั่ง	5	0.75	-	-
2	13°08'43.0"N 99°51'20.6"E 13.145264, 99.855707	ต.ต้นมะพร้าว อ.เมือง จ.เพชรบุรี	พุทรา	140	1.30	-	-
3	13°08'37.6"N 99°51'24.2"E 13.143780, 99.856730	ต.ต้นมะพร้าว อ.เมือง จ.เพชรบุรี	มะม่วง	6	0.95	-	-
4	12°59'38.0"N 99°44'52.9"E 12.993898, 99.748030	ต.ห้วยลึก อ.บ้านลาด จ.เพชรบุรี	ตะขบ	80	0.20	-	-
5	12°59'12.0"N 99°44'03.4"E 12.986669, 99.734272	ต.พุทธรงค์ อ.แก่งกระจาน จ.เพชรบุรี	มะละกอ	3	1.70	-	-
6	12°19'33.3"N 99°52'47.0"E 12.325903, 99.879715	ต.ศิลาลอย อ.สามร้อยยอด จ.ประจวบคีรีขันธ์	ตะขบ	150	0.40	6	2
7	11°36'20.4"N 99°40'17.7"E 11.605653, 99.671572	ต.ห้วยยาง อ.ทับสะแก จ.ประจวบคีรีขันธ์	น้อยหน่า	4	0.45	-	-
8	11°24'05.4"N 99°35'38.1"E 11.401491, 99.593926	ต.ธงชัย อ.บางสะพาน จ.ประจวบคีรีขันธ์	ทับทิม	2	0.38	-	-
9	11°24'05.4"N 99°35'38.1"E 11.401497, 99.593908	ต.ธงชัย อ.บางสะพาน จ.ประจวบคีรีขันธ์	ฝรั่ง	3	0.70	-	-
10	11°03'26.5"N 99°27'09.5"E 11.057371, 99.452632	ต.ปากแพรก อ.บางสะพานน้อย จ.ประจวบคีรีขันธ์	มะเดื่อ	77	0.80	-	-
11	10°58'15.6"N 99°27'33.7"E 10.970999, 99.459363	ต.ปากคลอง อ.ปะทิว จ.ชุมพร	มะเดื่อ	120	0.90	-	-
12	10°42'45.6"N 99°18'44.6"E 10.712666, 99.312375	ต.ชุมโค อ.ปะทิว จ.ชุมพร	มะเฟือง	11	0.65	12	16

ตารางที่ 2 แสดงพิกัด สถานที่ ชนิดพืชอาหารที่เก็บ จำนวน น้ำหนัก และปริมาณแมลงวันผลไม้ชนิด *Bactrocera carambolae* (Drew & Hancock) ที่พบในพืชอาหาร ในปี 2561 (ต่อ)

ลำดับ	พิกัด	สถานที่	ชนิด	จำนวน (ผล)	น้ำหนัก (กก)	<i>B. carambolae</i> เพศผู้	<i>B. carambolae</i> เพศเมีย
13	10°42'45.1"N 99°18'45.0"E 10.712529, 99.312494	ต.ชุมโค อ.ปะทิว จ.ชุมพร	น้อยหน่า	5	0.62	-	-
14	10°28'30.4"N 99°12'41.1"E 10.475101, 99.211415	ต.ท่ายาง อ.เมือง จ.ชุมพร	ฝรั่ง	2	0.15	-	-
15	10°24'44.1"N 99°12'50.5"E 10.412243, 99.214020	ต.ท่ายาง อ.เมือง จ.ชุมพร	มะละกอ	2	0.40	-	-
16	10°24'44.7"N 99°12'50.6"E 10.412405, 99.214047	ต.ท่ายาง อ.เมือง จ.ชุมพร	ฝรั่ง	8	0.45	2	8
17	9°41'40.7"N 99°08'32.3"E 9.694627, 99.142297	ต.คันธุลี อ.ท่าชนะ จ.สุราษฎร์ธานี	มะเดื่อ	50	1.40	-	-
18	9°36'08.7"N 99°09'54.8"E 9.602423, 99.165208	ต.ท่าชนะ อ.ท่าชนะ จ.สุราษฎร์ธานี	ทุกวาง	63	1.10	-	-
19	9°28'17.8"N 99°12'19.2"E 9.471621, 99.205325	ต.ตะกอบ อ.ไชยา จ.สุราษฎร์ธานี	ฝรั่ง	30	5.00	-	-
20	9°26'24.4"N 99°12'26.5"E 9.440103, 99.207348	ต.ทุ่ง อ.ไชยา จ.สุราษฎร์ธานี	น้อยหน่า	5	0.50	-	-
21	9°23'02.5"N 99°12'32.1"E 9.384035, 99.208922	ต.เลม็ด อ.ไชยา จ.สุราษฎร์ธานี	ตะขบ	100	0.30	-	-
22	9°04'06.1"N 99°50'00.9"E 9.068351, 99.833579	ต.ทุ่งไผ่ อ.สีชล จ.นครศรีธรรมราช	ชมพู่	26	0.90	4	12
23	8°24'52.6"N 99°57'51.0"E 8.414614, 99.964171	ต.ในเมือง อ.เมือง จ.นครศรีธรรมราช	มะเฟือง	16	0.45	2	2
24	8°24'44.3"N 99°57'58.2"E 8.412297, 99.966168	ต.ในเมือง อ.เมือง จ.นครศรีธรรมราช	กระท้อน	14	1.80	-	1
25	8°21'30.6"N 99°46'22.9"E 8.358499, 99.773025	ต.เขาแก้ว อ.ลานสกา จ.นครศรีธรรมราช	ฝรั่ง	12	1.95	-	-
26	8°21'00.0"N 99°40'52.6"E 8.350005, 99.681278	ต.ช้างกลาง อ.ช้างกลาง จ.นครศรีธรรมราช	ตะขบ	70	0.20	1	-

ตารางที่ 3 แสดงพิกัด สถานที่ ชนิดพืชอาหารที่เก็บ จำนวน น้ำหนัก และปริมาณแมลงวันผลไม้ชนิด *Bactrocera carambolae* (Drew & Hancock) ที่พบในพืชอาหาร ในปี 2562

ลำดับ	พิกัด	สถานที่	ชนิด	จำนวน (ผล)	น้ำหนัก (กก)	<i>B. carambolae</i> เพศผู้	<i>B. carambolae</i> เพศเมีย
1	13.159514, 99.842782	ต.หนองปลง อ.เขาย้อย จ.เพชรบุรี	มะม่วง	1	500 g.	-	-
2	13141628, 99.828195	ต.ห้วยท่าช้าง อ.เขาย้อย จ.เพชรบุรี	มะม่วง	8	1.5 Kg.	-	-
3	12.833707, 99.73328	ต.กัลดีหลวง อ.ท่ายาง จ.เพชรบุรี	ขนุน	2	6 Kg.	-	3
4	12.270464, 99.870885	ต.ศาลาลัย อ.สามร้อยยอด จ.ประจวบคีรีขันธ์	มะม่วง	3	600 g.	-	-
5	11.884478, 99.795365	ต.อ่าวน้อย อ.เมือง จ.ประจวบคีรีขันธ์	ขนุน	1	500 g.	-	-
6	11.371091, 99.581421	ต.ธงชัย อ.บางสะพาน จ.ประจวบคีรีขันธ์	ชมพู	160	3.250 Kg.	-	22
7	11.343382, 99.549887	ต.ธงชัย อ.บางสะพาน จ.ประจวบคีรีขันธ์	ฝรั่งขึ้นก	9	400 g.	-	-
8	11.337371, 99.537833	ต.ธงชัย อ.บางสะพาน จ.ประจวบคีรีขันธ์	มะม่วง	3	500 g.	-	13
9	11.082491, 99.487375	ต.ปากแพรก อ.บางสะพานน้อย จ.ประจวบคีรีขันธ์	ชมพูเขียว	50	1.5 Kg.	-	-
10	10.896834, 99.42451	ต.ดอนยาง อ.ประทิว จ.ชุมพร	มะม่วง	2	500 g.	-	3

การทดลองที่ 11

ศึกษาสถานภาพเชื้อไวรัส Sri Lankan Cassava Mosaic Virus ในประเทศไทย

Study on the Status of Sri Lankan Cassava Mosaic Virus in Thailand

ภูวนารถ มณีโชติ^{1/} สุนัดดา เชาวลิต^{2/} วาสนา รุ่งสว่าง^{3/} ภาณุวัฒน์ มูลจันทร์^{4/}
ประภาพร พงศา^{5/} ศิริลักษณ์ ล้านแก้ว^{4/}กาญจนา วาระวิชนี^{1/}

^{1/} กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/} กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{3/} กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{4/} ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง สถาบันวิจัยพืชไร่และทดแทนพลังงาน

^{5/} ศูนย์วิจัยพืชไร่อุบลราชธานี สถาบันวิจัยพืชไร่และทดแทนพลังงาน

บทคัดย่อ

โรคใบด่างมันสำปะหลังเป็นโรคที่มีก่อให้เกิดความเสียหายต่อการผลิตมันสำปะหลังในหลายประเทศในทวีปแอฟริกา คาบสมุทรอินเดีย และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ซึ่งเชื้อ *Cassava mosaic virus* ที่เป็นสาเหตุของโรคนี้มีรายงานทั้งหมด 12 ชนิด ในปี 2559 มีรายงานการพบโรคใบด่างมันสำปะหลังเกิดจากเชื้อ *Sri Lankan cassava mosaic virus* (SLCMV) ในประเทศกัมพูชาและเป็นการพบครั้งแรกในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ การวิจัยนี้ต้องการศึกษาสถานภาพการปรากฏหรือไม่ปรากฏในประเทศ โดยได้เริ่มดำเนินการสำรวจตามหลักการสำรวจ ISPM No.6 ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2560 - กันยายน 2563 จากการสำรวจพบอาการคล้ายโรคใบด่างมันสำปะหลังในจังหวัดศรีสะเกษ สุรินทร์ และปราจีนบุรี จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวอย่างจากศรีสะเกษและปราจีนบุรีด้วยเทคนิค Next generation sequencing (NGS), Illumina Hiseq 150PE platform ปรากฏว่าลำดับนิวคลีโอไทด์เหมือนกับเชื้อ SLCMV ของประเทศกัมพูชา 99.8% จึงได้ทำการสำรวจในแปลงปลูกมันสำปะหลังใน 51 จังหวัด โดยเก็บตัวอย่างที่คล้ายโรคใบด่างมันสำปะหลังรวมทั้งสิ้น 5,143 ตัวอย่าง มาตรวจสอบด้วยด้วยเทคนิค PCR พบตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อ SLCMV ใน 32 จังหวัด รวมจำนวน 3,860 ตัวอย่าง คิดเป็น 75% ของตัวอย่างทั้งหมด ปัจจุบันยังได้ทำลายหมดแล้ว 9 จังหวัด อย่างไรก็ตามการเฝ้าระวังการระบาดของโรคยังคงต้องดำเนินการต่อไป

คำสำคัญ: โรคใบด่างมันสำปะหลัง เชื้อไวรัสใบด่างมันสำปะหลัง การตรวจสอบโรคใบด่างมันสำปะหลัง มันสำปะหลัง

Abstracts

Cassava mosaic disease (CMD), caused by *Cassava mosaic virus*, is the one of most important viral disease in cassava production in the African continent, the Indian subcontinent and Southeast Asia. The twelve distinct cassava mosaic geminiviruses (CMGs) have been documented as the causal agents of CMD. In Southeast Asia, *Sri Lankan cassava mosaic virus* (SLCMV) have been recorded as first reported in Cambodia in 2015. To determine the presence and incidence of SLCMV in Thailand, the official surveys in line with ISPM No.6 were conducted during 2017-2020. In August 2018, the symptomatic plants associated with CMD were observed in the cassava plantation in Srisaket, Surin and Prachinburi provinces. Two samples from Srisaket and Prachinburi provinces were identified by Next generation sequencing (NGS), Illumina Hiseq 150PE platform. By NGS result, viral sequences obtained from the assemble reads were identical to SLCMV in Cambodia at 99.8% and identified to be SLCMV. During August 2018- September 2020, the detection surveys to cover 51 provinces in Thailand, the total of 5,143 cassava samples were collected from plantations to diagnose for SLCMV infection by PCR. By PCR-based diagnostics, out of 3,860 samples were found infected by SLCMV, indicating 75% of the total number of tested samples. By the official surveys, CMD was spread in 32 provinces, nowadays CMD was eliminated from fields in 9 provinces. Nevertheless, the surveillance program for SLCMV in cassava plantation areas will be continued.

Key words: Cassava mosaic disease, *Cassava mosaic virus*, *Sri Lankan cassava mosaic virus*, SLCMV

บทนำ

โรคใบด่างมันสำปะหลัง (Cassava mosaic Disease : CMD) เป็นโรคที่เกิดจากเชื้อ *Cassava mosaic virus* ที่จัดอยู่ในจีนัส *Begomovirus* มีรายงานทั้งหมด 12 ชนิด (ตารางที่ 1) โดย 10 ชนิด ก่อความเสียหาย 20-100% ในหลายประเทศทางแอฟริกา เช่น ยูกันดา ทานซาเนีย และ มาดากัสการ์ เป็นต้น ส่วนทวีปเอเชียพบรายงานอยู่ 2 ชนิด ได้แก่ *Indian cassava mosaic virus* (ICMV) และ *Sri Lankan cassava mosaic virus* (SLCMV) โดยก่อความเสียหายต่อผลผลิตของปลูกรมันสำปะหลังในประเทศอินเดียและศรีลังกามากถึง 88% (Brown *et al.*, 2015; Jose *et al.*, 2008) โรคใบด่างมันสำปะหลังสามารถเข้าทำลายมันสำปะหลังได้ทุกระยะ มันสำปะหลังที่เป็นโรคจะแสดงอาการใบด่าง เหลือง ใบเสียรูปทรง และยอดที่แตกใหม่จะแสดงอาการต่างอย่างรุนแรง ลำต้นแคระแกร็น ทั้งนี้ความรุนแรงของโรคขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของไวรัสและพันธุ์พืช ทั้งนี้เชื้อไวรัสสามารถติดมากับท่อนพันธุ์มันสำปะหลังและมีแมลงหิวข้าวยาสูบ (*Bemisia tabaci* Gennadius) เป็นแมลงพาหะซึ่งทำให้มีการแพร่กระจายและระบาดได้ การถ่ายทอดเชื้อไวรัสโดยอาศัยแมลงพาหะ (vector) จัดว่าเป็นการถ่ายทอดเชื้อระหว่างต้นพืชที่มีความสำคัญมากเพราะสามารถเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็วและควบคุมได้ยาก (Byrne *et al.*, 1990; Dubern *et al.*, 1994; Duraisamy *et al.*, 2013)

ในช่วงปี 2558 - 2563 พบมีรายงานการระบาดของโรคใบด่างมันสำปะหลังในประเทศกัมพูชา (Wang *et al.*, 2016) เวียดนาม (Uke *et al.*, 2018) จีน (Wang *et al.*, 2019) และประเทศไทย จากการวิเคราะห์และตรวจสอบพบว่าโรคใบด่างมันสำปะหลังที่ระบาดเกิดจากเชื้อ SLCMV เพียงชนิดเดียวเท่านั้น

เนื่องจากเชื้อไวรัส SLCMV ซึ่งเป็นเชื้อไวรัสในกลุ่มเดียวกับ ACMV ประเทศไทยกำหนดให้เป็นศัตรูพืชกักกัน ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่องกำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักกัน พ.ศ. 2550 และห้ามนำเข้าท่อนพันธุ์ หรือส่วนขยายพันธุ์ของมันสำปะหลัง ยกเว้นหัวมันสดและมันเส้น ถึงแม้ว่าในประเทศไทยพบโรคใบด่างมันสำปะหลังแล้ว จึงยังมีความจำเป็นต้องเฝ้าระวังการแพร่ระบาดไปยังแหล่งปลูกอื่น ๆ ในประเทศ ดังนั้นการศึกษาวิจัยในครั้งนี้จึงต้องมีการสำรวจและเฝ้าระวังการแพร่ระบาดในประเทศอย่างต่อเนื่องต่อไป

ระเบียบวิธีการวิจัย

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างมันสำปะหลังที่แสดงอาการโรคไวรัสใบด่างมันสำปะหลัง
2. สารเคมี
 - ชุดไพรเมอร์สำหรับสังเคราะห์สารพันธุกรรมเชื้อไวรัส
 - ไนโตรเจนเหลว
 - ชุดสกัด FavorPrep Plant Total RNA Purification Mini Kit (Favorgen, Taiwan)
 - One Step RT-PCR kit (Biotechrabbit, Germany)
 - 100 bp DNA Ladder with 6X Loading Dye (Biotechrabbit, Germany)
 - Agarose gel (SeaKem, USA)
 - RedSafe Nucleic Acid Staining Solution (iNtRON Biotechnology, Korea)
 - 1X TAE Buffer
3. เครื่องมือและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์
 - โกร่งบดตัวอย่างพืช

- เครื่องปั่นตกตะกอน Mini Spin (Eppendorf, USA)
- เครื่องดูดจ่ายสารละลายอัตโนมัติ Pipetman Kit (Gilson, France)
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ
- เครื่องควบคุมอุณหภูมิ Thermo cycler
- เครื่องแยกสารพันธุกรรม Wide Mini-Sub Cell GT Basic System (Biorad, USA)
- เครื่อง ChemiDoc Gel Imaging System (BioRad, USA)
- เครื่องผสมสาร Vortex mixer (Fisher Scientific, USA)
- หลอดพีซีอาร์ขนาด 200 ไมโครลิตร
- หลอดไมโครทิวบ์ขนาด 1.5 มล. และ 2 มล.

วิธีการทดลอง

1. ขั้นตอนการสำรวจโรคใบด่างมันสำปะหลังในพื้นที่ปลูกมันสำปะหลัง

1.1 กำหนดพื้นที่สำรวจ

ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างมันสำปะหลังที่แสดงอาการโรคไวรัสใบด่างมันสำปะหลัง และเก็บแมลงหิวข้าวยาสูบ ที่พบในพื้นที่ปลูกทั้งสิ้น 51 จังหวัด ดังนี้

1. พื้นที่ปลูกมันสำปะหลังที่ติดกับชายแดนประเทศกัมพูชา ได้แก่ จังหวัดอุบลราชธานี สุรินทร์ สระแก้ว ศรีสะเกษ บุรีรัมย์ และจันทบุรี
2. พื้นที่ปลูกมันสำปะหลังที่สำคัญของประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ ลำปาง ลำพูน พะเยา แพร่ น่าน ตาก กำแพงเพชร สุโขทัย อุตรดิตถ์ พิษณุโลก พิจิตร เพชรบูรณ์ สระบุรี ลพบุรี ชัยนาท อุทัยธานี นครสวรรค์ กาญจนบุรี สุพรรณบุรี ราชบุรี เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ปราจีนบุรี ฉะเชิงเทรา ระยอง ตรารด ชลบุรี นครราชสีมา ร้อยเอ็ด มหาสารคาม อำนาจเจริญ ยโสธร มุกดาหาร หนองบัวลำภู นครพนม เลย สกลนคร บึงกาฬ ชัยภูมิ หนองคาย อุดรธานี ขอนแก่น และกาฬสินธุ์ โดยความร่วมมือกับสถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน ศูนย์วิจัยพืชไร่ และศูนย์วิจัยเมล็ดพันธุ์พืช หน่วยงานของกรมวิชาการเกษตรในส่วนภูมิภาค ได้แก่ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร ที่ 1-6 และหน่วยงานกรมส่งเสริมการเกษตร

1.2 วางแผนการสำรวจตามมาตรฐาน ISPMs No. 6 (Guidelines for surveillance)

ในการสำรวจในแต่ละพื้นที่โดยมีขั้นตอนและอัตราการสุ่มตัวอย่างที่เหมาะสมให้กระจายตลอดพื้นที่ปลูกตามมาตรฐาน ISPMs No. 6 ดังนี้

พื้นที่ปลูก 1-25,000 ไร่	สำรวจจำนวน 5 จุด
พื้นที่ปลูก > 25,000 ไร่ - 30,000 ไร่	สำรวจจำนวน 10 จุด
พื้นที่ปลูก > 30,000 ไร่ - 40,000 ไร่	สำรวจจำนวน 15 จุด
พื้นที่ปลูก > 40,000 ไร่	สำรวจจำนวน 20 จุด

1.3 การสำรวจโรคใบด่างมันสำปะหลัง

สุ่มเก็บตัวอย่างมันสำปะหลังที่แสดงลักษณะอาการคล้ายโรคใบด่างมันสำปะหลังให้กระจายตลอดพื้นที่ที่ปลูกในแต่ละจังหวัดไม่น้อยกว่า 10 จุด จุดละ 5 ไร่ โดยเก็บข้อมูล 1 แถวทุกต้น เว้น 3 แถว และสำรวจทุกต้น โดยการเดินสุ่มแบบตัวยู ถ้ามีอาการที่สงสัยให้เก็บตัวอย่างมาตรวจวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการ

1.4 การบันทึกข้อมูล

ลักษณะข้อมูลที่เก็บได้แก่ ลักษณะอาการที่สงสัย แมลงหิวข้าวยาสูบทุกระยะ ปริมาณที่พบ พิกัดภูมิศาสตร์ วันที่เก็บข้อมูล สถานที่พบ และบันทึกสภาพอากาศ

2. การตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างมันสำปะหลังด้วยเทคนิค PCR

2.1 การสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างมันสำปะหลัง

สกัดดีเอ็นเอจากใบมันสำปะหลังที่เก็บมาด้วย Plant Genomic DNA Extraction Mini Kit (FAVORGEN, Taiwan) มีขั้นตอนดังนี้

1. บดใบมันสำปะหลังแต่ละตัวอย่างให้มีปริมาณ 100 มิลลิกรัม ด้วยไนโตรเจนเหลวให้ละเอียด แล้วย้ายมาใส่ในหลอดขนาด 2 มิลลิลิตร แล้วเติมบัฟเฟอร์ FAPG1 ปริมาตร 400 มิลลิลิตรและเติม RNase A ปริมาตร 8 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปบ่มที่ 65 °C นาน 10 นาที

2. เติมบัฟเฟอร์ FAPG1 ปริมาตร 130 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันแล้ววางบนน้ำแข็ง 5 นาที ย้ายส่วนของพืชมาใส่ Filter Column แล้วปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 rpm นาน 3 นาที จากนั้นดูดทิ้งส่วนของเหลวใส่ใน Collection tube ขนาด 2 มิลลิลิตร

3. เติมบัฟเฟอร์ FAPG3 ปริมาตร 1.5 เท่าของทิ้งส่วนของเหลวใส่ที่ได้ ผสมให้เข้ากันแล้วย้ายมาใส่ใน FAPG Column ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 rpm นาน 2 นาที ทิ้งส่วนใส

4. เติมบัฟเฟอร์ W1 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 rpm นาน 1 นาที ทิ้งส่วนของเหลวใสแล้วล้างด้วยบัฟเฟอร์ Wash Buffer ปริมาตร 750 ไมโครลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 rpm นาน 1 นาที ทิ้งส่วนใสแล้วปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 rpm นาน 3 นาที

5. นำ FAPG Column มาวางบนหลอดใหม่ขนาด 1.5 มิลลิลิตร แล้วเติม Elution Buffer ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 rpm นาน 2 นาที เสร็จแล้วเก็บ DNA ที่ได้ไว้ใช้งานในขั้นตอนต่อไป

2.2 การตรวจหาเชื้อ SLCMV ในตัวอย่างมันสำปะหลังที่สงสัยด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR)

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเชื้อ SLCMV จากตัวอย่างที่ได้รับมาด้วยไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อเชื้อ SLCMV โดยใช้ส่วนผสมของ Green PCR Master Mix (Biotechrabbit, Germany) ทำปฏิกิริยาในหลอด PCR ปริมาตรรวม 20 ไมโครลิตร ประกอบด้วย

2x master mix buffer	10 ไมโครลิตร
SLCMV-F (10 pmole)	1 ไมโครลิตร
SLCMV-R (10 pmole)	1 ไมโครลิตร
Nuclease-free water	5 ไมโครลิตร
DNA template	3 ไมโครลิตร

ผสมส่วนผสมให้เข้ากันดี แล้วนำไปเข้าเครื่องควบคุมอุณหภูมิ (Thermo cycler) โดยทำปฏิกิริยาในการสังเคราะห์ โดยดัดแปลงวิธีการของ Makesh Kumar *et al.* (2005) ดังนี้

1) Predenaturation	94 °C	5 นาที
2) Three step-cycling	35 cycles	
Denaturation	94 °C	20 วินาที
Annealing	56 °C	20 วินาที
Extension	72 °C	45 วินาที
3) Final extension	72 °C	5 นาที

เมื่อปฏิกิริยาเสร็จสมบูรณ์แล้ว ตรวจสอบดีเอ็นเอผลผลิตด้วย 1.2% agarose gel electrophoresis ที่เติม RedSafe Nucleic Acid Staining Solution, 2000x (iNtRON Biotechnology, Korea) ใน 1X TAE buffer ใช้

กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ นาน 30 นาที แล้วตรวจดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสง UV ด้วยเครื่อง ChemiDoc Gel Imaging System (Biorad, USA)

3. การเพิ่มปริมาณจีโนมของเชื้อ SLCMV ด้วยเทคนิค Rolling circle amplification (RCA)

นำดีเอ็นเอที่สกัดจากมันสำปะหลังในขั้นตอน 2.1 มาเพิ่มปริมาณจีโนมด้วยเทคนิค RCA โดยใช้ส่วนผสมของชุด TempliPhi Amplification Kit (GE Healthcare, England) ทำปฏิกิริยาในหลอดขนาด 1.5 มล. ปริมาตรรวม 10.7 ไมโครลิตร มีส่วนผสมและขั้นตอน ดังนี้

Sample buffer 5 ไมโครลิตร

DNA template 0.5 ไมโครลิตร

บ่มที่อุณหภูมิ 95 °C นาน 3 นาที แล้วบ่มบนน้ำแข็งทันที นาน 3 นาที

Reaction buffer 5 ไมโครลิตร

Enzyme mix 0.2 ไมโครลิตร

บ่มที่อุณหภูมิ 30 °C นาน 15 ชั่วโมง และยั้งปฏิกิริยาด้วยการบ่มที่ 65 °C นาน 10 นาที

4. การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของจีโนมเชื้อ SLCMV ด้วยเทคนิค Next generation sequencing (NGS) และการวิเคราะห์ข้อมูล

นำดีเอ็นเอที่จากการทำ RCA มาตรวจสอบความบริสุทธิ์และความเข้มข้นด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 230, 260 และ 280 นาโนเมตร ให้ได้ค่าความบริสุทธิ์ (A260/A280) ให้อยู่ระหว่าง 1.8 - 2.2 สำหรับความเข้มข้นต้อง ≥ 2 นาโนกรัม/ไมโครลิตร สำหรับความเข้มข้นสำหรับการวิเคราะห์ต้อง ≥ 300 นาโนกรัม เมื่อเตรียมดีเอ็นเอตามข้อกำหนดแล้ว จึงส่งไปทำการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเครื่อง illumina Hiseq 150 PE และวิเคราะห์ข้อมูลชีวสารสนเทศโดย บริษัท วิซูโอไบโอเมดิคอล (ไทยแลนด์) จำกัด

5. การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และการวิเคราะห์ Phylogenetic tree

เมื่อได้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของจีโนมเชื้อ SLCMV ทั้ง Segment A และ Segment B แล้วจะนำมาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Blastn และ Blastp (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) เพื่อเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อ SLCMV ที่มีรายงานอยู่ในฐานข้อมูล GenBank และวิเคราะห์ข้อมูลทางพันธุกรรมของเชื้อไวรัสจากข้อมูลนิวคลีโอไทด์ด้วยโปรแกรม Clustal Omega จากนั้นทำการวิเคราะห์ความสัมพันธ์และจัดกลุ่มของเชื้อ SLCMV กับไอโซเลตต่าง ๆ จากการสร้าง Phylogenetic tree ด้วยโปรแกรม MEGA 10 (Kumar *et al.*, 2018).

เวลาและสถานที่ ตุลาคม 2560 - กันยายน 2563

1. ห้องปฏิบัติการไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
2. พื้นที่ปลูกมันสำปะหลังใน 6 จังหวัด ที่มีอาณาเขตติดต่อกับประเทศ กัมพูชา ได้แก่ จังหวัดอุบลราชธานี สุรินทร์ สระแก้ว ศรีสะเกษ บุรีรัมย์ และจันทบุรี
3. พื้นที่ปลูกมันสำปะหลังที่สำคัญของประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ ลำปาง ลำพูน พะเยาแพร่ น่าน ตาก กำแพงเพชร สุโขทัย อุตรดิตถ์ พิษณุโลก พิจิตร เพชรบูรณ์ สระบุรี ลพบุรี ชัยนาท อุทัยธานี นครสวรรค์ กาญจนบุรี สุพรรณบุรี ราชบุรี เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ปราจีนบุรี ฉะเชิงเทรา ระยอง ชลบุรี นครราชสีมา ร้อยเอ็ด มหาสารคาม อำนาจเจริญ ยโสธร มุกดาหาร หนองบัวลำภู นครพนม เลย สกลนคร บึงกาฬ ชัยภูมิ หนองคาย อุตรดิตถ์ ขอนแก่น และกาฬสินธุ์

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1. การสำรวจโรคใบด่างมันสำปะหลัง

การสำรวจพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังใน 50 จังหวัด โดยความร่วมมือกับสถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน ศูนย์วิจัยพืชไร่ และศูนย์วิจัยเมล็ดพันธุ์พืช หน่วยงานของกรมวิชาการเกษตรในส่วนภูมิภาค ได้แก่ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร ที่ 1-6 และหน่วยงานกรมส่งเสริมการเกษตร จากการสำรวจพบมันสำปะหลังที่เป็นโรคใบด่างมันสำปะหลังใน 32 จังหวัด ดังนี้

1. พื้นที่ปลูกมันสำปะหลังใน 6 จังหวัด ที่มีอาณาเขตติดต่อกับประเทศกัมพูชา พบโรคใบด่างมันสำปะหลังใน 5 จังหวัดได้แก่ จังหวัดอุบลราชธานี สุรินทร์ สระแก้ว ศรีสะเกษ บุรีรัมย์ และจันทบุรี

2. พื้นที่ปลูกมันสำปะหลังที่สำคัญของประเทศไทย พบโรคใบด่างมันสำปะหลังใน 26 จังหวัดได้แก่ จังหวัดกาญจนบุรี กาฬสินธุ์ กำแพงเพชร ขอนแก่น ฉะเชิงเทรา ชลบุรี ชัยนาท ชัยภูมิ เชียงราย นครราชสีมา นครสวรรค์ ปราจีนบุรี พิษณุโลก เพชรบูรณ์ แพร่ มหาสารคาม มุกดาหาร ยโสธร ร้อยเอ็ด ระยอง ลพบุรี ลำปาง สระบุรี สุพรรณบุรี อำนาจเจริญ และอุทัยธานี

2. ลักษณะอาการโรคใบด่างมันสำปะหลัง

1. **ลักษณะอาการบนยอด** ส่วนของยอดอ่อนหรือยอดที่เกิดขึ้นใหม่จะแสดงอาการต่างเขียวอ่อนหรือเหลืองสลับเขียวเข้ม มีขนาดเล็ก หงิกงอ และเสีรูปทรง (ภาพที่ 1)

2. **ลักษณะอาการบนใบ** ส่วนใบที่ถดถลงมาจากยอดหรือใบแก่จะพบอาการต่างเขียวอ่อนหรือเหลืองสลับเขียวเข้ม หงิกงอ และเสีรูปทรง (ภาพที่ 2)

3. ลักษณะการเกิดโรคที่มีเชื้อไวรัสติดมากับท่อนพันธุ์หรือส่วนของเหง้า

ลักษณะการเกิดโรคที่ติดมากับท่อนพันธุ์จะเกิดขึ้นเป็นแหล่ง ๆ ตามที่ท่อนพันธุ์นั้นปลูกอยู่ในแปลง โดยทั่วไปแล้วถ้าหากเป็นการติดเชื้อที่ติดมากับท่อนพันธุ์จะแสดงอาการใบด่างทั้งต้น ส่วนต้นมันสำปะหลังจะมีลักษณะแคระแกร็นหรือต้นจะเตี้ยกว่ามันสำปะหลังปกติ แต่บริเวณลำต้นจะไม่แสดงอาการของโรคให้เห็น

3.1 **อาการบนยอดหรือส่วนที่งอกใหม่** ยอดและใบที่แตกหรือเกิดมาใหม่จะแสดงอาการใบด่างสีเขียวเข้มสลับเขียวอ่อน หรือสีเขียวสลับสีเหลือง ใบหงิกงอ และเสีรูปทรง (ภาพที่ 3)

3.2. **อาการบนใบแก่และลำต้น** ใบมันสำปะหลังที่ถดถลงมาจากไปยอดจะแสดงอาการอาการต่างหรือเหลืองสลับเขียวเข้ม ซึ่งอาการใบด่างจะเห็นได้ชัดทุกใบทั่วทั้งลำต้น และต้นมันที่เป็นโรคจะแคระแกร็นกว่าต้นมันปกติ (ภาพที่ 4)

4. ลักษณะการเกิดโรคที่มีแมลงหริ้วขาวยาสูบเป็นพาหะ

ลักษณะการแพร่ระบาดที่เกิดจากแมลงหริ้วขาวยาสูบมักจะเป็นการแพร่ลุกลามจากจุดที่มีต้นเป็นโรคออกไปเป็นบริเวณกว้าง หรือถ้าหากแมลงหริ้วขาวยาสูบบินมากจากแปลงข้างเคียงก็มักจะเกิดการแพร่จากขอบแปลงเข้าสู่กลางแปลง หากมันสำปะหลังได้รับเชื้อช่วงอายุน้อย หรือ 1-2 เดือน จะเห็นอาการต่างในใบล่างคล้ายกับกรเกิดโรคจากท่อนพันธุ์ (ภาพที่ 5) แต่ถ้าหากติดในระยะ 5-6 เดือน หรือลงหัวแล้ว อาการมักจะเห็นแค่ส่วนยอดและใบล่างถดถลงมาจากยอด จะไม่พบอาการใบด่างทั่วทั้งต้น (ภาพที่ 6) ส่วนต้นมันสำปะหลังจะมีลักษณะแคระแกร็นหรือต้นจะเตี้ยกว่ามันสำปะหลังปกติ บริเวณลำต้นจะไม่แสดงอาการของโรคให้เห็น

4.1 อาการในต้นมันสำปะหลังที่ยังเล็ก หลังจากที่ดินมันสำปะหลังได้รับเชื้อจากแมลงหริ้วขาวประมาณ 2-3 สัปดาห์ การพัฒนาการของโรคจะเริ่มจากใบยอดแสดงอาการซีด (ลูกศรสีเหลือง) หรืออาการต่าง (ลูกศรสีแดง) จากนั้นใบล่างที่ถัดลงมาจากยอดจึงจะแสดงอาการใบต่าง (ภาพที่ 5)

4.2 อาการในต้นมันสำปะหลังที่ลงหัวแล้วหรืออายุมาก การพัฒนาการของโรคจะคล้ายกับต้นมันสำปะหลังที่ยังเล็กโดยหลังจากที่ดินมันสำปะหลังได้รับเชื้อจากแมลงหริ้วขาว ใบยอดจะเริ่มแสดงอาการซีดหรือต่าง จากนั้นใบล่างที่ถัดลงมาจากยอดจึงจะแสดงอาการใบต่าง (ภาพที่ 6)

5. การตรวจสอบตัวอย่างมันสำปะหลังและการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

การตรวจสอบตัวอย่างมันสำปะหลังที่แสดงอาการโรคใบต่างมันสำปะหลังและอาการต้องสงสัยจากแปลงปลูกมันสำปะหลังใน 32 จังหวัด รวมจำนวนทั้งสิ้น 5,143 ตัวอย่าง ตรวจพบเป็นโรคใบต่างมันสำปะหลัง จำนวน 3,860 ตัวอย่าง และไม่เป็นโรคใบต่างมันสำปะหลัง จำนวน 1,283 ตัวอย่าง

การตรวจวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเทคนิค Next generation sequencing (NGS) ได้ใช้เชื้อไวรัสจำนวน 2 ตัวอย่าง ที่พบในจังหวัดศรีสะเกษ (ไอโซเลต Srisaket) และจังหวัดปราจีนบุรี (ไอโซเลต Prachinburi) ซึ่งได้ผลการตรวจวิเคราะห์ ดังนี้

1. ตัวอย่างมันสำปะหลังศรีสะเกษ (ไอโซเลต Srisaket)

นิวคลีโอไทด์ของ segment A (Accession no. MN026160) มีจำนวนทั้งสิ้น 2,758 นิวคลีโอไทด์ สามารถแปลรหัสเป็นโปรตีนทั้งหมด 6 โปรตีน และนิวคลีโอไทด์ของ segment B (Accession no. MN026162) มีจำนวนทั้งสิ้น 2,737 นิวคลีโอไทด์ สามารถแปลรหัสเป็นโปรตีนทั้งหมด 2 โปรตีน (ภาพที่ 7)

2. ตัวอย่างมันสำปะหลังปราจีนบุรี (ไอโซเลต Prachinburi)

นิวคลีโอไทด์ของ segment A (Accession no. MN026159) มีจำนวนทั้งสิ้น 2,758 นิวคลีโอไทด์ สามารถแปลรหัสเป็นโปรตีนทั้งหมด 6 โปรตีน และนิวคลีโอไทด์ของ segment B (Accession no. MN026161) มีจำนวนทั้งสิ้น 2,737 นิวคลีโอไทด์ สามารถแปลรหัสเป็นโปรตีนทั้งหมด 2 โปรตีน (ภาพที่ 8)

นอกจากนี้ได้ทำการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สมบูรณ์ทั้ง segment A และ segment B ของเชื้อ SLCMV เพิ่มอีก 8 ไอโซเลต ได้แก่ ไอโซเลตสระแก้ว สุรินทร์ ขอนแก่น ฉะเชิงเทรา ชลบุรี นครราชสีมา ระยอง และอุบลราชธานี (ตารางที่ 2)

6. การวิเคราะห์ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์และความสัมพันธ์ของเชื้อ SLCMV ด้วย phylogenetic tree

จากการทำ multiple alignment ของลำดับนิวคลีโอไทด์จีโนมของเชื้อ SLCMV ทั้ง 10 ไอโซเลต พบว่า segment A มีความคล้ายคลึงกันที่ระดับ 99.1% - 100% และ segment B ที่ระดับ 98.1% - 100% (ตารางที่ 3)

จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของเชื้อ SLCMV ด้วย phylogenetic tree ทั้ง 10 ไอโซเลต ด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สมบูรณ์ทั้ง segment A (ภาพที่ 9) และ segment B (ภาพที่ 10) ของเชื้อ SLCMV จำนวน 10 ไอโซเลตของประเทศไทยจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับเชื้อ SLCMV ที่ก่อให้เกิดโรคใบต่างมันสำปะหลังที่พบรายงานในประเทศอินเดีย ศรีลังกา กัมพูชา เวียดนาม และจีน

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาสถานภาพการปรากฏของเชื้อ *Sri Lankan cassava mosaic virus* (SLCMV) ในประเทศไทยตั้งแต่ ตุลาคม 2560 - กันยายน 2563 พบการระบาดของโรคใบด่างมันสำปะหลังในพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังใน 32 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดอุบลราชธานี สุรินทร์ สระแก้ว ศรีสะเกษ บุรีรัมย์ จันทบุรี กาญจนบุรี กาสสินธุ์ กำแพงเพชร ขอนแก่น ฉะเชิงเทรา ชลบุรี ชัยนาท ชัยภูมิ เชียงราย นครราชสีมา นครสวรรค์ ปราจีนบุรี พิษณุโลก เพชรบูรณ์ แพร่ มหาสารคาม มุกดาหาร ยโสธร ร้อยเอ็ด ระยอง ลพบุรี ลำปาง สระบุรี สุพรรณบุรี อ่างทอง และอุทัยธานี

การตรวจสอบตัวอย่างมันสำปะหลังที่แสดงอาการโรคใบด่างมันสำปะหลังและอาการต้องสงสัยจากแปลงปลูกมันสำปะหลังใน 32 จังหวัด รวมจำนวนทั้งสิ้น 4,143 ตัวอย่าง ตรวจพบเป็นโรคใบด่างมันสำปะหลัง จำนวน 2,860 ตัวอย่าง และไม่เป็นโรคใบด่างมันสำปะหลัง จำนวน 1,283 ตัวอย่าง

จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของเชื้อ SLCMV ทั้ง 10 ไอโซเลต ด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สมบูรณ์ทั้ง segment A และ segment B ของเชื้อ SLCMV ทั้ง 10 ไอโซเลตของประเทศไทยจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับเชื้อ SLCMV ที่ก่อให้เกิดโรคใบด่างมันสำปะหลังที่พบรายงานในประเทศอินเดีย ศรีลังกา กัมพูชา เวียดนาม และจีน

แม้ว่าในประเทศไทยพบการระบาดของโรคใบด่างมันสำปะหลังแล้ว แต่ก็ยังมีความจำเป็นต้องเฝ้าระวัง และควบคุมการแพร่ระบาดไปยังแหล่งปลูกอื่น ๆ ในประเทศอย่างต่อเนื่องต่อไป

ตารางที่ 1 รายชื่อเชื้อไวรัสใบด่างมันสำปะหลัง ลักษณะอาการ แผลงพหุขา และ การแพร่กระจาย

เชื้อไวรัส	จีนัส/แฟมิลี	ลักษณะอาการ	พหุขา	การแพร่กระจาย	อ้างอิง
<i>African cassava mosaic virus (ACMV)</i>	<i>Begomovirus/ Geminiviridae</i>	ใบด่าง เสียรูปทรง และลำต้นแคระแกร็น	แมลงหมีขาว ยาสูบ	Africa	Morris <i>et al.</i> , 1990
<i>African cassava mosaic Burkina Faso virus (ACMBFV)</i>	<i>Begomovirus/ Geminiviridae</i>	ใบด่าง เสียรูปทรง และลำต้นแคระแกร็น	แมลงหมีขาว ยาสูบ	Burkina Faso	Tiendre'be'ogo <i>et al.</i> , 2012
<i>Cassava mosaic Madagascar virus (CMMGV)</i>	<i>Begomovirus/ Geminiviridae</i>	ใบด่าง เสียรูปทรง และลำต้นแคระแกร็น	แมลงหมีขาว ยาสูบ	Madagascar	Harimalala <i>et al.</i> , 2012
<i>East African cassava mosaic Cameroon virus (EACMCV)</i>	<i>Begomovirus/ Geminiviridae</i>	ใบด่าง เสียรูปทรง และลำต้นแคระแกร็น	แมลงหมีขาว ยาสูบ	West Africa, Tanzania	Fondong <i>et al.</i> 2000
<i>East African cassava mosaic Kenya virus (EACMKV)</i>	<i>Begomovirus/ Geminiviridae</i>	ใบด่าง เสียรูปทรง และลำต้นแคระแกร็น	แมลงหมีขาว ยาสูบ	East Africa	Bull <i>et al.</i> 2006
<i>East African cassava mosaic Malawi virus (EACMMV)</i>	<i>Begomovirus/ Geminiviridae</i>	ใบด่าง เสียรูปทรง และลำต้นแคระแกร็น	แมลงหมีขาว ยาสูบ	Malawi	Zhou <i>et al.</i> , 1998
<i>East African cassava mosaic virus (EACMV)</i>	<i>Begomovirus/ Geminiviridae</i>	ใบด่าง เสียรูปทรง และลำต้นแคระแกร็น	แมลงหมีขาว ยาสูบ	East Africa	Bull <i>et al.</i> , 2006
<i>East African cassava mosaic virus-Uganda (EACMV-UG)</i>	<i>Begomovirus/ Geminiviridae</i>	ใบด่าง เสียรูปทรง และลำต้นแคระแกร็น	แมลงหมีขาว ยาสูบ	Sub-Saharan Africa	Pita <i>et al.</i> , 2001
<i>East African cassava mosaic Zanzibar virus (EACMZV)</i>	<i>Begomovirus/ Geminiviridae</i>	ใบด่าง เสียรูปทรง และลำต้นแคระแกร็น	แมลงหมีขาว ยาสูบ	Zanzibar, Madagascar	Bull <i>et al.</i> , 2006
<i>Indian cassava mosaic virus (ICMV)</i>	<i>Begomovirus/ Geminiviridae</i>	ใบด่าง เสียรูปทรง และลำต้นแคระแกร็น	แมลงหมีขาว ยาสูบ	Togo, India and Sri Lanka	Malathi <i>et al.</i> , 1985,
<i>East African cassava mosaic Zanzibar virus (EACMZV)</i>	<i>Begomovirus/ Geminiviridae</i>	ใบด่าง เสียรูปทรง และลำต้นแคระแกร็น	แมลงหมีขาว ยาสูบ	Zanzibar, Madagascar	Bull <i>et al.</i> , 2006
<i>South African cassava mosaic virus (SACMV)</i>	<i>Begomovirus/ Geminiviridae</i>	ใบด่าง เสียรูปทรง และลำต้นแคระแกร็น	แมลงหมีขาว ยาสูบ	South Africa, Malawi, Madagascar and Zimbabwe	Berrie <i>et al.</i> , 2001

ตารางที่ 1 รายชื่อเชื้อไวรัสใบด่างมันสำปะหลัง ลักษณะอาการ แผลงพาทะ และการแพร่กระจาย

เชื้อไวรัส	จีนัส/แฟมิลี	ลักษณะอาการ	พาทะ	การแพร่กระจาย	อ้างอิง
<i>Sri Lankan cassava mosaic virus</i> (SLCMV)	<i>Begomovirus/ Geminiviridae</i>	ใบด่าง เสียรูปทรง และลำต้นแคระแกร็น	แมลงหวีขาว ยาสูบ	India, Sri Lanka Cambodia Veitnam and China	Saunders <i>et al.</i> , 2002, Wang <i>et al.</i> , 2016, Uke <i>et al.</i> , 2018, Wang <i>et al.</i> , 2019

ตารางที่ 2 ไอโซเลต, Accession number, ขนาดจีโนมของ Segment A และ Segment B ของเชื้อ *Sri Lankan cassava mosaic virus*

Isolate	Accession number		Genome size (nt)	
	Segment A	Segment B	Segment A	Segment B
Prachinburi	MN026159	MN026161	2760	2537
Srisaket	MN026160	MN026162	2758	2537
Chachoengsao	MT671409	MT671410	2759	2537
Rayong	MT671411	MT671412	2759	2537
Khon Kaen	MT671413	MT671414	2758	2537
Chonburi	MT671415	MT671416	2758	2537
Ubon Ratchathani	MT671417	MT671418	2758	2537
Surin	MT671419	MT671420	2758	2537
Sakaeo	MT671421	MT671422	2759	2537
Nakhon Ratchasima	MT671423	MT671424	2758	2537

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์ความคล้ายคลึงกันของลำดับนิวคลีโอไทด์ Segment A และ Segment B ของเชื้อ *Sri Lankan cassava mosaic virus* ทั้ง 10 ไอโซเลต

Isolate	Segment A									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1 Prachinburi		99.2	99.8	99.7	99.8	99.8	99.3	99.2	99.3	99.2
2 Srisaket	98.4		99.2	99.1	99.1	99.1	99.9	99.8	99.7	99.8
3 Chachoengsao	99.7	98.4		99.7	99.7	99.7	99.3	99.2	99.3	99.2
4 Rayong	99.9	98.3	99.6		99.7	99.8	99.2	99.1	99.2	99.1
5 Khon Kaen	99.7	98.1	99.5	99.6		99.8	99.2	99.1	99.2	99.1
6 Chonburi	99.9	98.3	99.6	99.9	99.6		99.2	99.1	99.2	99.2
7 Ubon Ratchathani	98.4	99.6	98.4	98.3	98.1	98.3		99.9	99.9	99.9
8 Surin	98.4	99.6	98.4	98.3	98.1	98.3	100		99.7	100
9 Sakaeo	99.9	98.4	99.7	99.8	99.7	99.8	98.4	98.4		99.8
10 Nakhon Ratchasima	98.5	99.7	98.6	98.4	98.2	98.4	99.7	99.7	98.5	

Segment B



ภาพที่ 1 ยอดอ่อนหรือยอดที่เกิดใหม่จะแสดงอาการต่างเขียวอ่อนหรือเหลืองสลับเขียวเข้ม มีขนาด
เรียวยาวเล็ก หงิกงอและเสียรูปทรง



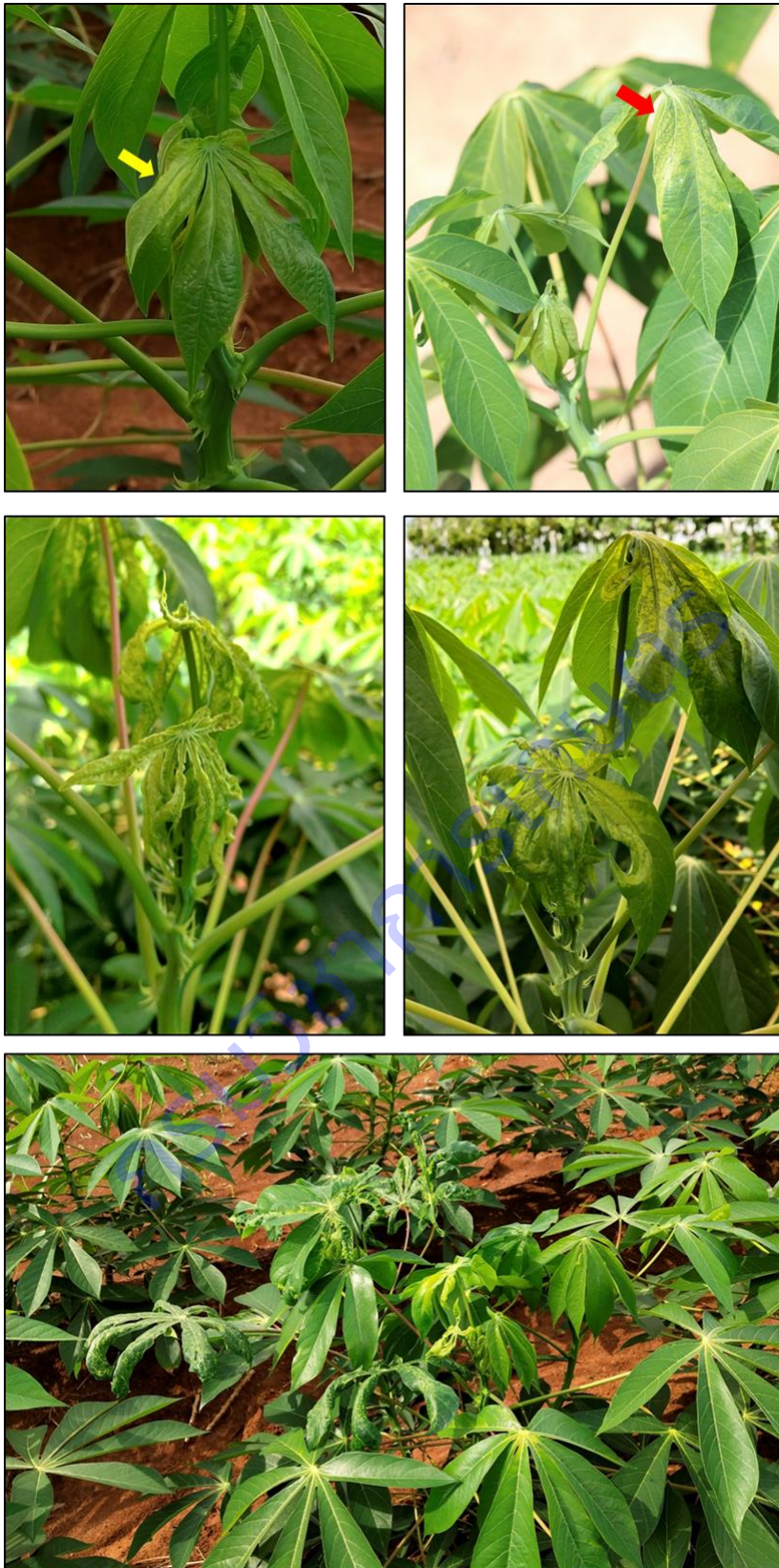
ภาพที่ 2 ใบมันสำปะหลังที่แสดงอาการต่างเขียวอ่อนหรือเหลืองสลับเขียวเข้ม มีขนาดเรียวยาวเล็ก หงิกงอ และเสียรูปทรง



ภาพที่ 3 ยอดและใบที่แตกหรือเกิดมาใหม่จากท่อนพันธุ์หรือเหง้า แสดงอาการใบด่างสีเขียวอ่อนหรือเหลืองสลับ เขียวเข้ม ใบหงิกงอ และเสีรูปร่างตั้งแต่เริ่มงอก



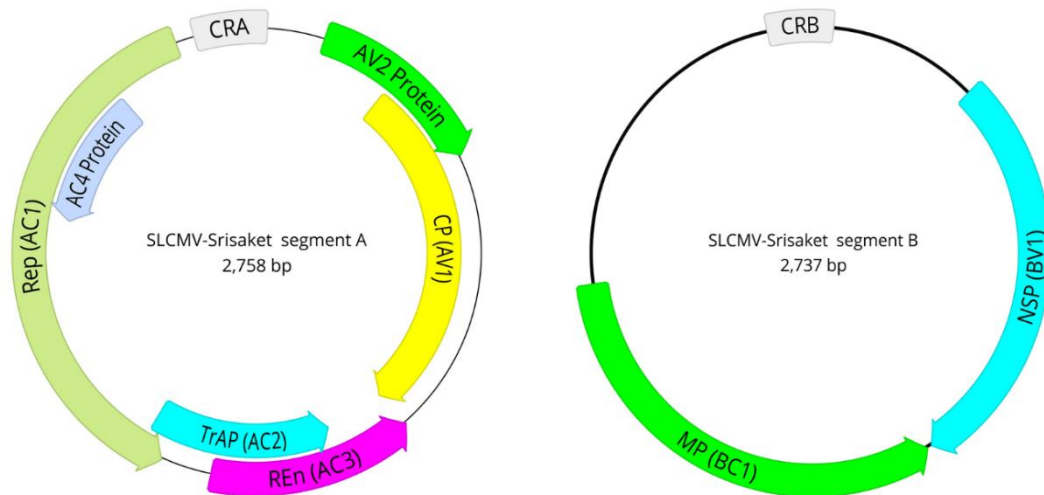
ภาพที่ 4 ใบมันสำปะหลังที่แสดงอาการใบต่างจากท่อนพันธุ์หรือเหง้า แสดงอาการใบต่างสีเขียวอ่อนหรือเหลือง สลับเขียวเข้ม ใบหงิกงอ และเสีรูปทรงทั่วทั้งต้น



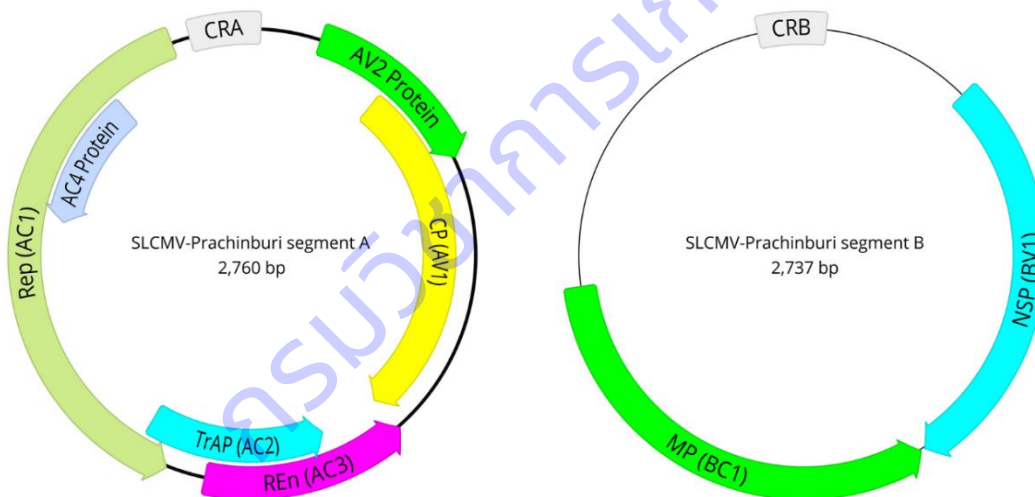
ภาพที่ 5 การพัฒนาการของโรคใบด่างที่ถ่ายทอดโรคด้วยแมลงหรือชาวยาสูบ จะพบใบยอดแสดงอาการใบซีด (ลูกศรสีเหลือง) หรืออาการด่าง (ลูกศรสีแดง) แล้วเกิดอาการด่างและเสียรูปทรงทั้งยอด และใบล่างที่ถัดลงมาจากยอดที่แสดงอาการใบด่าง



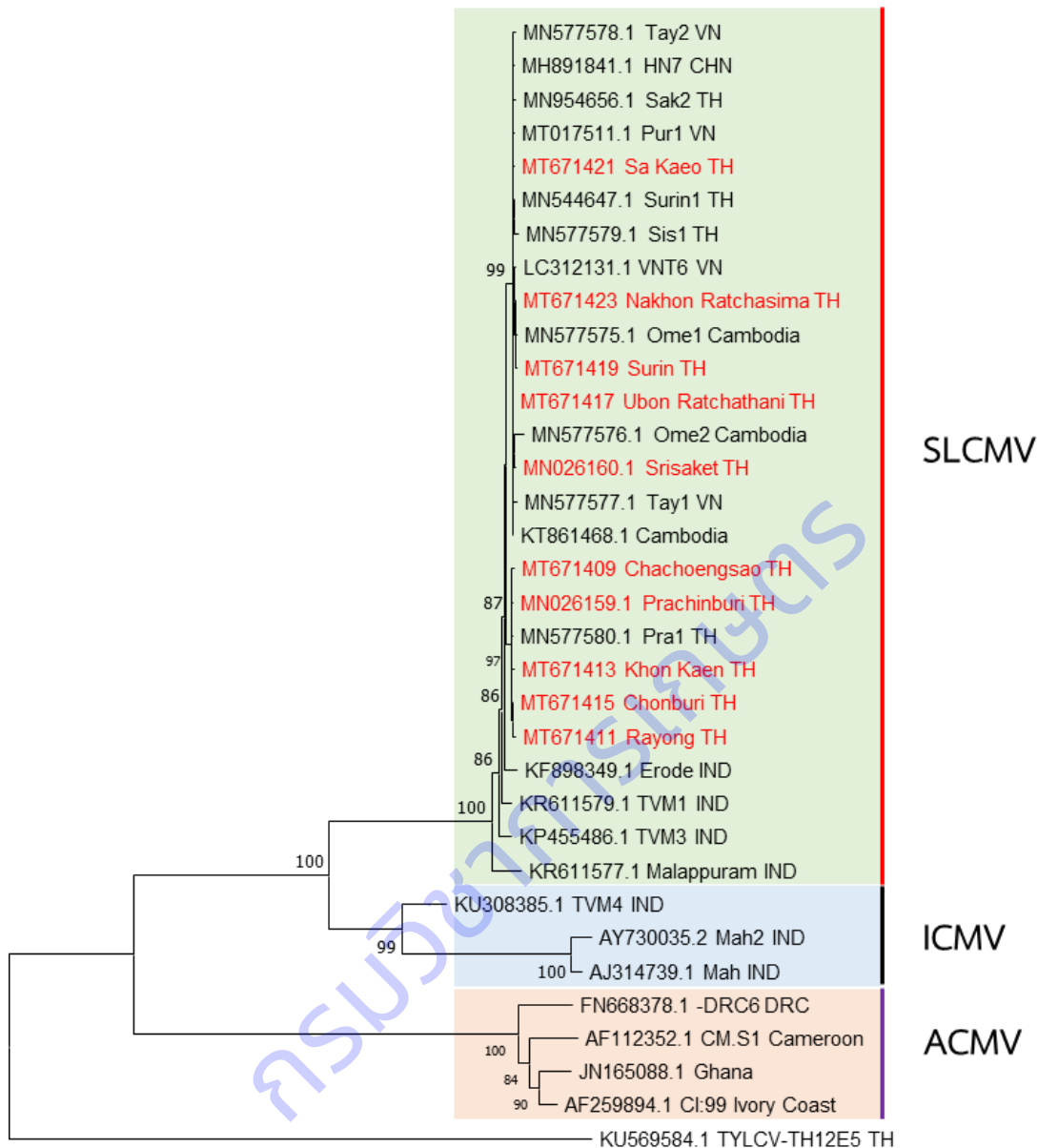
ภาพที่ 6 โรคใบต่างที่ถ่ายทอดโรคด้วยแมลงหริ้วขาวยาสูบ บริเวณใบยอดและใบล่างที่ถัดลงมาจากยอดของต้นมันสำปะหลังที่ลงหัวแล้วหรืออายุมาก



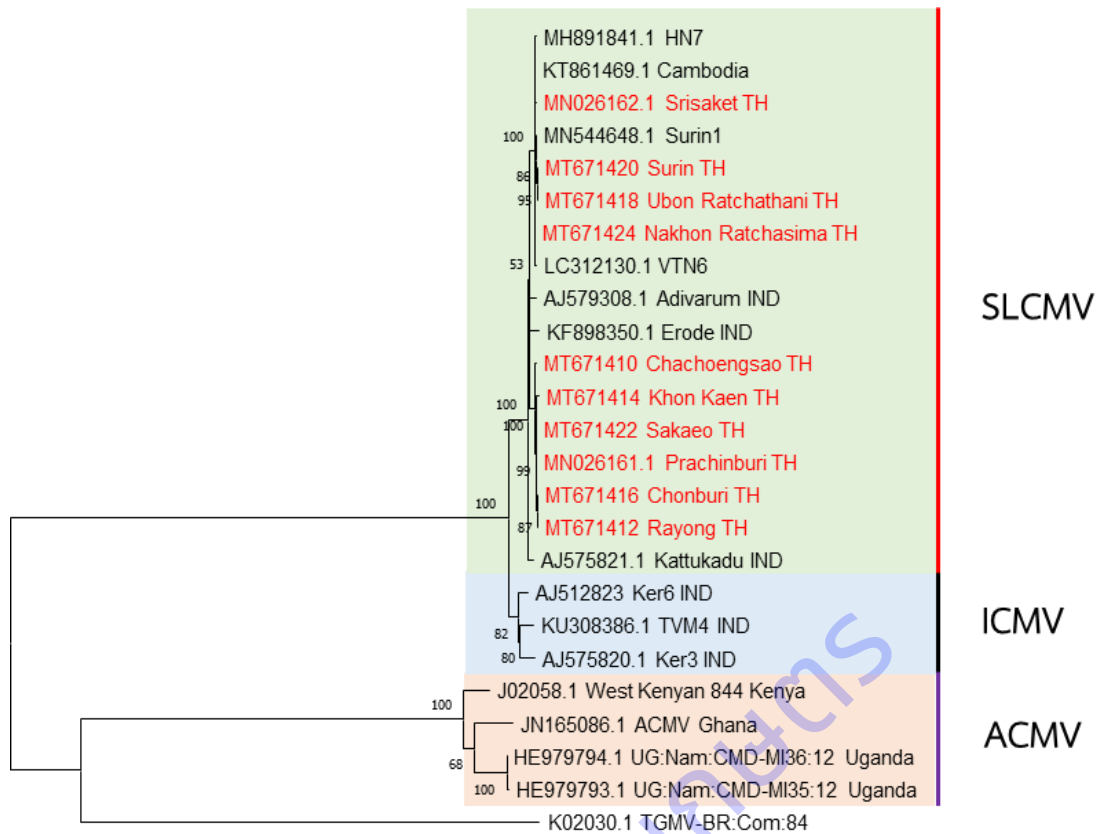
ภาพที่ 7 แสดงโครงสร้างจีโนมของเชื้อไวรัส SLCMV ไอโซเลต Srisaket ทั้ง segment A และ segment B สาเหตุโรคโรคใบด่างมันสำปะหลังที่พบในจังหวัดศรีสะเกษ



ภาพที่ 8 แสดงโครงสร้างจีโนมของเชื้อไวรัส SLCMV ไอโซเลต Prachinburi ทั้ง segment A และ segment B สาเหตุโรคโรคใบด่างมันสำปะหลังที่พบในจังหวัดปราจีนบุรี



ภาพที่ 9 Neighbor-joining phylogenetic tree แสดงความสัมพันธ์ของเชื้อ Sri Lankan cassava mosaic virus (SLCMV) ด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สมบูรณ์ทั้ง segment A ของเชื้อ SLCMV ทั้ง 10 ไอโซเลต (ตัวอักษรสีแดง) ของไทยกับไอโซเลตอื่น ๆ ของเชื้อ SLCMV, Indian cassava mosaic virus (ICMV) และ African cassava mosaic virus (ACMV) ที่มีรายงานในต่างประเทศ วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม MEGA X โดยใช้ค่า bootstrap จาก 1,000 replications โดยแสดงค่า bootstrap ที่มากกว่า 80% และใช้ข้อมูลของเชื้อ Tomato yellow leaf curl Kanchanaburi virus (TYLCV-TH12E5) เป็น outgroup



ภาพที่ 10 Neighbor-joining phylogenetic tree แสดงความสัมพันธ์ของเชื้อ *Sri Lankan cassava mosaic virus* (SLCMV) ด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สมบูรณ์ทั้ง segment B ของเชื้อ SLCMV ทั้ง 10 ไอโซเลต (ตัวอักษรสีแดง) ของไทยกับไอโซเลตอื่น ๆ ของเชื้อ SLCMV, *Indian cassava mosaic virus* (ICMV) และ *African cassava mosaic virus* (ACMV) ที่มีรายงานในต่างประเทศ วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม MEGA X โดยใช้ค่า bootstrap จาก 1,000 replications โดยแสดงค่า bootstrap ที่มากกว่า 80% และใช้ข้อมูลของเชื้อ Tomato golden mosaic virus-Yellow vein (TGMV-BR) เป็น outgroup

การทดลองที่ 12

การศึกษาสถานภาพของรา *Bipolaris zeicola* (G.L.Stout) Shoemaker
สาเหตุโรค Northern Corn Leaf Spot ในประเทศไทย

Study on the status of *Bipolaris zeicola* (G.L.Stout) Shoemaker
the causal agent of Northern Corn Leaf Spot in Thailand

ชนินทร์ ดวงสอดา^{1/} พรพิมล อธิปัญญาคม^{2/} สุณิรัตน์ สีมะเตือ^{1/} อมรรักษ์ คัดใจเดียว^{1/} มะโนรัตน์ สุดสงวน^{1/}

^{2/}กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{1/}ผู้เชี่ยวชาญ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

เชื้อรา *Bipolaris zeicola* เป็นเชื้อที่มีรายงานพบในประเทศไทย แต่ไม่พบรายงานการปรากฏของเชื้อรา *B. zeicola* race 3 เพื่อยืนยันสถานภาพของเชื้อรา *B. zeicola* สาเหตุโรค Northern corn leaf spot ในประเทศไทย จึงดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง สำรวจแบบเฉพาะเจาะจง ในแปลงข้าวโพดที่มีการปลูกในเขตพื้นที่ภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันตก และภาคใต้ จำนวน 1,287 แปลง ในพื้นที่ของ 46 จังหวัด ระหว่างเดือนตุลาคม 2561 – เดือนกันยายน 2564 เก็บตัวอย่างข้าวโพดที่แสดงอาการใบจุดที่ต้องสงสัยเพื่อตรวจสอบจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ จำนวน 305 ตัวอย่าง แยกเชื้อราต้องสงสัยจากใบข้าวโพดที่แสดงอาการคล้ายอาการจุดที่เกิดจากเชื้อรา *B. zeicola* โดยแยกเชื้อราโดยตรงจากชิ้นส่วนพืช และวิธี tissue transplanting ได้เชื้อราที่มีลักษณะทางสัณฐานพ้องกับเชื้อรา *Bipolaris* จำนวน 40 ไอโซเลท จากนั้นสกัดดีเอ็นเอและทำ PCR เพื่อจำแนกชนิดเบื้องต้นด้วยข้อมูลพันธุกรรมตำแหน่ง ITS พบว่า เชื้อราที่แยกได้จากใบข้าวโพด เป็นเชื้อราในกลุ่ม Helminthosporoid ได้แก่ *Bipolaris Curvularia Exserohilum* และ *Setosphaeria* จากนั้นนำเชื้อราที่ยืนยันชนิดด้วยข้อมูลพันธุกรรมตำแหน่ง ITS ว่าคือเชื้อรา *Bipolaris* เมื่อจำแนกชนิดโดยเปรียบเทียบข้อมูลพันธุกรรมตำแหน่ง ITS, GAPDH และ TEF1 กับ type sequences ของเชื้อราใน genus *Bipolaris* เมื่อวิเคราะห์ด้วย phylogenetic reconstruction พบว่าเชื้อรา *Bipolaris* ทุกไอโซเลท คือ เชื้อรา *B. maydis* ดังนั้นจากการศึกษาและสำรวจระหว่างเดือนตุลาคม 2561–เดือนกันยายน 2564 ไม่พบการปรากฏของเชื้อรา *Bipolaris zeicola* ในพื้นที่ปลูกข้าวโพดในประเทศไทย

คำสำคัญ: *Bipolaris zeicola* ศัตรูพืชกักกัน ข้าวโพด

Abstracts

The occurrence of *Bipolaris zeicola* the causal agent of Northern corn leaf spot of maize had been reported in Thailand, but none of reported indicated the occurrence of race 3. To confirm the presence or absence of *B. zeicola* in Thailand, the specific survey was conducted to determine the status of this fungi. The surveys were done on the maize plantations located six regions of Thailand during December 2018 – September 2021. The symptoms of leaf spot on maize which similar to the leaf spot symptoms caused by *B. zeicola* were observed on 1,287 sites located in 46 provinces. The 305 samples of maize leaf spot were collected from the observation sites. The fungi were directly isolated from the suspect specimens and also isolated by tissue transplanting. The DNA templates were obtained from 40 isolates of Bipolaris-like and preliminary identified based on ITS region. It was found that the 40 isolates comprised of Helminthosporoid namely, *Bipolaris*, *Curvularia*, *Exserohilum* and *Setosphaeria*. The isolates which agreed with *Bipolaris* were further identified based on molecular data of ITS, GAPDH and TEF1 regions compared with type sequences of the genus *Bipolaris*. The phylogenetic reconstruction showed that all *Bipolaris* isolates collected from this study were identical to *B. maydis*. The results from this study during December 2018 – September 2021 indicated that *Bipolaris zeicola* is considered to be absent from Thailand.

Key words: *Bipolaris zeicola*, quarantine pest, maize

บทนำ

เชื้อรา *Bipolaris zeicola* (G.L.Stout) Shoemaker เป็นสาเหตุโรค Northern Corn Leaf Spot (NCLS) เป็นโรคทางใบที่พบในข้าวโพด และวัชพืชใบเลี้ยงเดี่ยวในหลายพื้นที่ของโลกในเขตภูมิภาคที่มีสภาพอากาศร้อนชื้น (Schenck and Stelter, 1974; Sumner and Littrell, 1974) NCLS สามารถถ่ายทอดทางเมล็ดพันธุ์ได้ เชื้อราสาเหตุโรคนี้อาศัยได้ดีในอุณหภูมิปานกลาง และความชื้นสูง ซึ่งพบว่าราสามารถสร้างสปอร์แพร่กระจายได้อย่างรวดเร็ว NCLS ส่งผลกระทบต่อการผลิตข้าวโพด โดยส่งผลกระทบต่อปริมาณผลผลิตที่ลดลง เนื่องจากเข้าทำลายของโรค NCLS เข้าทำลายใบ ฝัก ไหมข้าวโพด รวมถึงเปลือกข้าวโพด การเข้าทำลายที่รุนแรงจะส่งผลกระทบต่อปริมาณและคุณภาพของผลผลิต การเข้าทำลายเริ่มต้นจะพบจุดลักษณะกลมขนาดเล็กสีน้ำตาลแดง หรือน้ำตาลเข้มจากนั้นแผลจะขยายขนาดและมีสีที่เข้มขึ้น มีขอบแผลมีน้ำตาลอ่อนจนถึงเข้ม เชื้อรา *B. zeicola* มีชื่อพ้องได้แก่ *Cochliobolus carbonum* R.R. Nelson, *Drechslera carbonum* (Ullstrup) Sivan., *D. zeicola* (G.L. Stout) Subram. & B.L. Jain, *Helminthosporium carbonum* Ullstrup และ *H. zeicola* G.L.Stout

การเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุ NCLS มีทั้งหมด 5 race (Welz and Leonard, 1993) ดังนี้

race 0 ไม่พบรายงานการเข้าทำลายข้าวโพดแต่พบว่าเป็นเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดบนหญ้าหลายชนิด

race 1 สร้างสาร toxin บนพืชอาศัยที่จำเพาะ (host-specific toxin: HC toxin) โดย race นี้มีรายงานว่าเข้าทำลายข้าวโพดได้ทุกระยะของการเจริญเติบโต โดยพบอาการใบจุดบนใบข้าวโพด ลักษณะแผลรูปไข่ถึงรูปร่างกลมสีน้ำตาล เรียงซ้อนกันเป็นวง กว้างประมาณ 1.5 นิ้ว ยาว 1 นิ้ว NCLS race 1 มีความจำเพาะต่อพืชอาศัย โดยเข้าทำลายเฉพาะสายพันธุ์โดยเฉพาะข้าวโพดสายพันธุ์อ่อนแอ ซึ่งเชื้อราสามารถเข้าทำลายและทำให้พืชตายได้ในทุกระยะการเจริญ (Jones and Dunkle, 1993)

race 2 ลักษณะแผลยาว หัวท้ายมน สีน้ำตาลดำถึงสีดำ รูปไข่ถึงรูปร่างกลม สีน้ำตาล เรียงซ้อนกันเป็นวง กว้างประมาณ 1/8 นิ้ว ยาว 1 นิ้ว สำหรับ race 2 นี้ พบได้โดยทั่วไปในพื้นที่ปลูกข้าวโพด และไม่ก่อให้เกิดความเสียหายอย่างรุนแรงต่อการผลิต (Leonard and Leath, 1990)

race 3 มีลักษณะแผลแคบยาวน้อยกว่า 1 นิ้ว และกว้าง 1/8 นิ้ว แผลสีเทาถึงสีน้ำตาลบริเวณขอบแผลมีสีเข้ม มีรายงานว่า race 3 เป็นปัญหาและก่อให้เกิดความเสียหายอย่างรุนแรงในการผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด (Hamid et al., 1982; University of Illinois, Department of Crop Sciences, 1997) โดยเฉพาะในพื้นที่ Pennsylvania และ North Carolina (Leath and Leonard, 1984) NCLS race 3 มีรายงานว่าพบในสาธารณรัฐประชาชนจีน ญี่ปุ่น ไนจีเรีย และเยอรมัน (Welz and Leonard, 1995)

race 4 พบรายงานทำให้เกิดอาการใบจุดบนข้าวโพด inbred lines ในกลุ่ม B73 (Lui et al., 2015)

ในประเทศไทยมีรายงานว่าพบเชื้อรา *B. zeicola* (NCLS) บนข้าวโพด ครั้งสุดท้ายเมื่อปี 2548 โดยรายงานว่าพบรา *B. zeicola* บนข้าวโพด (ประชุม และคณะ, 2548; พัฒนา และคณะ, 2537; Jutawantana et al., 2001; Panichsukpatana and Boon-long, 2002; Vongkaw et al., 1995) แต่ไม่พบรายงานว่ามีการศึกษาจำแนกชนิดของ race ของ NCLS โดยข้อมูลของรายนี้นี้ในประเทศไทยยังขาดความสมบูรณ์ และไม่เพียงพอ ทำให้เกิดความสงสัยต่อการพิจารณาหรือจัดจำแนกชนิดของเชื้อหากมีการนำเข้าและปนเปื้อนของรา *B. zeicola* ใน race ที่มีความรุนแรง

เนื่องจากในปัจจุบันการส่งออกและนำเข้าสินค้าเกษตรจะต้องมีความตกลงทั่วไปว่าด้วยภาษีศุลกากรและการค้า (General Agreement on Tariff and Trade: GATT) ซึ่งต่อมาได้เปลี่ยนเป็นองค์การการค้าโลก (World

Trade Organization: WTO) ได้กำหนดกฎเกณฑ์และระเบียบเพื่อให้เกิดการค้าเสรีและเป็นธรรม โดยทุกประเทศสมาชิกของ WTO จะต้องปรับลดอัตราอากรขาเข้าลงมาเป็นอันดับแรกสุดของการเปิดการค้าเสรี ในปัจจุบันมาตรการกีดกันด้านภาษีศุลกากรมีแนวโน้มที่จะลดลงเนื่องจากการเปิดเสรีทางการค้าภายใต้เขตการค้าเสรีต่าง ๆ มีเพิ่มขึ้น แต่ในขณะเดียวกันมาตรการกีดกันทางการค้าที่มีใช้ภาษีศุลกากร (non-tariff barrier, NTB) จะเริ่มมีบทบาทและมีรูปแบบใหม่ๆ เพิ่มขึ้น ซึ่ง มาตรการที่สำคัญในด้านการเกษตรได้แก่ มาตรการด้านสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Sanitary and Phytosanitary Measures : SPS) เกือบทุกประเทศที่เป็นสมาชิกขององค์การการค้าโลก (WTO) ได้นำมาตรการสุขอนามัยพืชมาใช้เป็นข้อต่อรองในการส่งออกและนำเข้า โดยที่ประเทศผู้ส่งออกต้องส่งบัญชีรายชื่อศัตรูพืชของพืชส่งออก และข้อมูลของศัตรูพืชแต่ละชนิดตามความต้องการของประเทศผู้นำเข้า เพื่อทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ก่อนที่จะอนุญาตให้สินค้าเกษตรนั้น ๆ เข้าประเทศ ขณะเดียวกันประเทศผู้นำเข้าจำเป็นต้องมีข้อมูลบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่นำเข้ามาด้วย การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชโดยการศึกษาและการสำรวจแบบติดตามข้อมูลศัตรูพืชในแหล่งปลูกเพื่อเป็นการเฝ้าระวัง (Surveillance) เป็นกระบวนการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชชนิดใดชนิดหนึ่งในพื้นที่ (McMaugh, 2005) ข้อมูลต่าง ๆ ที่ได้จากการสำรวจติดตามศัตรูพืชเพื่อการเฝ้าระวังนี้จะส่งให้องค์การอารักขาพืชแห่งชาติ (National Plant Protection Organization, NPPO) นำไปใช้ประโยชน์ ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการเฝ้าระวังนี้สามารถนำไปใช้ในด้านต่าง ๆ เช่น ใช้ในการสนับสนุนการออกประกาศเรื่องการปลอดศัตรูพืช ตลอดจนที่ดำเนินการโดย NPPO เป็นกระบวนการช่วยตรวจหาศัตรูพืชชนิดใหม่ได้ทันเวลา การให้การรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืช เป็นต้น ซึ่งแนวทางการดำเนินงานจะสอดคล้องกับ ISPMs (International Standard for Phytosanitary Measures) ฉบับที่ 6 (Guidelines for Surveillance)

จึงความจำเป็นที่ต้องมีการตรวจสอบสถานะของรา NCLS เพื่อยืนยันสถานการณ์ปรากฏในประเทศไทย และนำไปสู่การขึ้นบัญชีรายชื่อของรา *B. zeicola* race 3 ที่มีความรุนแรง และยังไม่ปรากฏในประเทศไทย ในบัญชีศัตรูพืชกักกัน เพื่อการเฝ้าระวังการแพร่ระบาดและอาจก่อให้เกิดความเสียหายที่รุนแรงในประเทศดังนั้นการทดลองนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาการปรากฏ / ไม่ปรากฏ และได้ข้อมูลสถานภาพของรา *Bipolaris zeicola* (G.L.Stout) Shoemaker ในประเทศไทย เพื่อใช้สนับสนุนการออกประกาศการปลอดศัตรูพืช โดยหน่วยงานองค์การอารักขาพืชแห่งชาติ (NPPO)

ระเบียบวิธีการวิจัย

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ ถุงพลาสติก ถุงกระดาษ กรรไกรตัดแต่งกิ่ง ไม้ทาบตัวอย่าง กระดาษหนังสือพิมพ์ ซองกระดาษสำหรับเก็บและรักษาตัวอย่าง
2. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่
 - Microcentrifuge
 - Thermal cyclers
 - Vortex
 - Tissue Lyser
 - Gel electrophoresis
 - เครื่องถ่ายภาพเจล
 - microwave

- micropipette ขนาด 10 100 200 และ 1000 ไมโครลิตร
- กล้องจุลทรรศน์แบบ compound
- กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo
- Dry heat block

3. วัสดุในห้องปฏิบัติการ สไลด์และแผ่นแก้วปิดสไลด์ tips ขนาด 10 100 200 และ 1000 ไมโครลิตร PCR tube ไขมีดผ่าตัด เข็มเย็บปลายแหลม ปากคีบ

4. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ บีกเกอร์ 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
- ไพรเมอร์ ได้แก่

the Internal Transcribed Spacer (ITS)

V9G: TTACGTCCCTGCCCTTTGTA (de Hoog and Gerrits van den Ende, 1998)

ITS4: TCCTCCGCTTATTGATATGC (White et al., 1990)

the translation elongation factor 1-alpha (tef1)

EF1-728F: CATCGAGAAGTTCGAGAAGG (Carbone and Kohn, 1999)

EF-2: GGARGTACCAGTSATCATGTT (O'Donnell et al., 1998)

glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)

gpd1: CAACGGCTTCGGTCGCATTG (Berbee et al., 1999)

gpd2: GCCAAGCAGTTGTTGTGC (Berbee et al., 1999)

6. Sequence assemble programs ได้แก่ Geneious Prime 2020 (<http://www.geneious.com>; Kears et al., 2012)

วิธีการทดลอง

1. ศึกษาข้อมูลลักษณะของรา *B. zeicola* และข้อมูลเพื่อการสำรวจ

รวบรวมข้อมูลลักษณะ รายละเอียดของเชื้อ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพ้อง และลักษณะอาการโรค การเข้าทำลาย การแพร่ระบาด พื้นที่ปลูก พันธุ์ปลูก ชนิดของพืชอาศัย ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อสามัญ ความต้านทานและความอ่อนแอต่อโรค เป็นต้น

2. การสำรวจ

การสำรวจและเก็บตัวอย่าง กำหนดพื้นที่ วางแผนการสำรวจ อย่างมีระบบ สำรวจแบบเฉพาะเจาะจง โดยการสำรวจแบบตรวจหาตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (Guidelines for surveillance: ISPM No. 6)

กำหนดพื้นที่ แหล่งปลูกข้าวโพดในจังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ กาญจนบุรี อุตรดิตถ์ พิษณุโลก สุโขทัย กาญจนบุรี และสุพรรณบุรี เป็นต้น สํารวจจํานวนอย่างน้อย 20 แปลง ในแต่ละจังหวัดที่ทำการสุ่มตรวจโดยเดินเป็นแถว เว้น 5 แถว และแต่ละแถว สุ่มตรวจเก็บตัวอย่างโรคทุก 5 ต้น และ เว้น 5 ต้น จํานวน 50 ต้นต่อแปลง

3. วิธีการตรวจรา *B. zeicola*

โดยจัดทำรูปภาพลักษณะอาการของโรคทุกระยะของพืชจัดทำเป็นคู่มือในการสํารวจ เมื่อออกสํารวจให้สังเกตจากลักษณะอาการของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือ และบันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป เก็บตัวอย่างโรคที่พบใส่ถุงหรือภาชนะที่ใช้เก็บตัวอย่างพร้อมเขียนรายละเอียดกำกับ ให้นำกลับมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันผล

4. การแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืช

ศึกษาลักษณะอาการของโรคและแยกเชื้อราโดยตรงจากเนื้อเยื่อพืช

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

แยกเชื้อราโดยวิธี Tissue transplanting

นำส่วนของพืชที่เป็นโรคมาคัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 0.5x0.5 มิลลิเมตร ให้คาบต่อส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 10 % เป็นเวลา 3-5 นาที ล้างในน้ำนิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำไปซับบนกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้แห้ง แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ ห้องปฏิบัติการ นาน 7-21 วัน แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ และเลี้ยงบนอาหาร PDA

5. การจำแนกชนิดเชื้อราสาเหตุโรคพืช

ศึกษารูปร่างลักษณะของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo และ compound microscope โดยตรวจสอบลักษณะเส้นใย conidiophore และสปอร์ และศึกษาลักษณะของสปอร์และโครงสร้างอื่น ๆ ของเชื้อรา โดยการ mount slide ด้วยน้ำหรือ shear's solution ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อได้แก่ ลักษณะของเส้นใย ขนาด สี ลักษณะของสปอร์ conidiophore สี ขนาด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และ compound บันทึกขนาด รูปร่าง วาดภาพ และบันทึกภาพด้วยกล้องถ่ายภาพ

โดยเปรียบเทียบลักษณะของรา *Bipolaris* ที่ศึกษากับคู่มือของ Shoemaker (1959) Ellis (1971) Manamgoda *et al.* (2012) และ Manamgoda *et al.* (2014)

6. จำแนกชนิดของเชื้อราโดยใช้ข้อมูลพันธุกรรม

สกัดดีเอ็นเอ

ตัดหรือเขี่ยเส้นใยรวมถึง conidia ของเชื้อราที่เลี้ยงบนอาหาร PDA ประมาณ 0.2-0.5 กรัม ลงในหลอดสำหรับสกัดดีเอ็นเอ และทำการสกัดตามวิธีของ Doungsa-ard *et al.* (2015) เก็บรักษาดีเอ็นเอที่สกัดได้จากแต่ละตัวอย่าง ไว้ที่อุณหภูมิ -20 หรือ -40 องศาเซลเซียส เพื่อรักษาสภาพและคุณภาพของดีเอ็นเอ

เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมาย

ไพรเมอร์ที่ใช้ในการศึกษา

the Internal Transcribed Spacer (ITS)

V9G: TTACGTCCCTGCCCTTTGTA (de Hoog and Gerrits van den Ende, 1998)

ITS4: TCCTCCGCTTATTGATATGC (White et al., 1990)

the translation elongation factor 1-alpha (tef1)

EF1-728F: CATCGAGAAGTTTCGAGAAGG (Carbone and Kohn, 1999)

EF-2: GGARGTACCAGTSATCATGTT (O'Donnell et al., 1998)

glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)

gpd1: CAACGGCTTCGGTCGCATTG (Berbee et al., 1999)

gpd2: GCCAAGCAGTTGGTTGTGC (Berbee et al., 1999)

นำดีเอ็นเอที่สกัดได้จากแต่ละตัวอย่าง มาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) ของตำแหน่ง ITS tef1 และ LSU ด้วย Green Hot Start PCR Master Mix (biotechrabbit™) ใช้ cycling และ condition ของปฏิกิริยาตามที่คุณผลิตแนะนำ กำหนด annealing temperature ที่ 56 องศาเซลเซียส

การตรวจสอบผลิตภัณฑ์ PCR

ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ PCR ด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส (Electrophoresis) เตรียม 1% agarose gel และผสม SERVA HiSens Stain G ในอัตราส่วน 1:50,000 ผสมผลิตภัณฑ์ PCR 5 ไมโครลิตร ด้วย loading dye 1 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันจากนั้นหยอดลงใน agarose gel ที่ความเข้มข้น 1% ให้ผลิตภัณฑ์ PCR เคลื่อนที่ผ่านสารละลาย Lithium Borate buffer (LB buffer) ส่งผลิตภัณฑ์ PCR ไปยัง บริษัท Macrogen Korea เพื่อทำ purification และหาลำดับนิวคลีโอไทด์

การวิเคราะห์ และตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์

นำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ (sequence) มาทำการวิเคราะห์ โดยนำ forward sequence และ reverse sequence ที่ได้มาเปรียบเทียบกัน โดยใช้โปรแกรม Geneious Prime 2021.0.3 และบันทึกข้อมูลในรูปแบบไฟล์ fasta ทำการตรวจสอบความถูกต้องของชนิดของจุลินทรีย์ที่ทำการศึกษากับฐานข้อมูลทางพันธุกรรม

การจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์

นำ contig ของลำดับนิวคลีโอไทด์ (consensus sequence ที่บันทึกไว้ในรูปแบบ fasta ไฟล์) มาจัดเรียง (align) ด้วยโปรแกรม MAFFT 6.611 (Kato and Toh, 2008) จากนั้นตรวจสอบการจัดเรียง (alignment) โดยวิธี MUSCLE ในโปรแกรม the MEGA (Kumar et al., 2008) จากนั้นใช้โปรแกรม Gblocks (Talavera and Castresana, 2007) ทำการรวมชุดข้อมูลของดีเอ็นเอตำแหน่ง ITS GAPDH และ EF1 เป็น combined dataset บันทึกชุด alignment ในรูปแบบไฟล์ nexus หรือ nex โดยใช้โปรแกรม Mesquite

วิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการเพื่อการจัดจำแนก

จำแนกชนิดของเชื้อรา โดยวิเคราะห์จาก combined dataset ของ ITS และ tef1 วิเคราะห์ด้วย phylogenetic criteria 2 แบบคือ

1. Maximum Likelihood (ML) โดยเตรียมไฟล์ phy และวิเคราะห์โดยโปรแกรม RAxML v8.1.15 (Stamatakis, 2014) กำหนด model of evolution แบบ GTRGAMMA ซึ่งจำเพาะต่อการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ วิเคราะห์ด้วย rapid bootstrap (command -f a) เริ่มจาก random starting tree และ กำหนด maximum likelihood bootstrap จำนวน 1000 ครั้ง

2. Bayesian inference (BI) เตรียมไฟล์ nexus วิเคราะห์โดยโปรแกรม MrBayes (Ronquist and Huelsenbeck, 2003) โดยใช้วิธี Markov Chain Monte Carlo (MCMC) กำหนด model of evolution แบบ GTRGAMMA ค่าตั้งต้นที่ใช้ในการวิเคราะห์ครั้งนี้ กำหนด 4 runs แต่ละ run ประกอบด้วย 4 chains วิเคราะห์จำนวน 10 ล้าน generations ตั้งค่า cold chain ที่ temperature 0.25 สุ่มตัวอย่าง substitution model parameters และบันทึก trees ทุก 500 generations ตรวจสอบความเชื่อมั่นของ topology ด้วย cumulative and compare functions ด้วย AWTY (Nylander *et al.*, 2008)

การบันทึกข้อมูล

เก็บข้อมูลการสำรวจและการจำแนกในห้องปฏิบัติการที่ได้ในรูปแบบ data sheet ได้แก่ รายละเอียดของตำแหน่ง จำนวน ขนาดพื้นที่ปลูก ระยะของการเจริญเติบโตของต้นข้าวโพด ของแปลงปลูกข้าวโพดที่ทำการสำรวจ/เก็บตัวอย่าง บันทึกลักษณะอาการของโรค ความรุนแรงของการเกิดโรค หรือการแพร่กระจาย และข้อมูลลักษณะของเชื้อสาเหตุในห้องปฏิบัติการ เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล เก็บรักษาสายพันธุ์เชื้อราใน Culture Collection ดีเอ็นเอต้นแบบ (DNA templates) ข้อมูลรหัสดีเอ็นเอ (DNA barcodes หรือ consensus sequences) จะถูกเก็บบันทึกและใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงต่อไป จัดเก็บดีเอ็นเอต้นแบบไว้ที่อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส ณ พิพิธภัณฑ์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2562 – กันยายน 2564

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

แปลงปลูกข้าวโพดในจังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ กาญจนบุรี อุตรดิตถ์ พิษณุโลก สุโขทัย กาญจนบุรี และสุพรรณบุรี เป็นต้น

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1. ศึกษาข้อมูลลักษณะของรา *B. zeicola* และข้อมูลเพื่อการสำรวจ

รวบรวมข้อมูลลักษณะอาการโรคใบจุดข้าวโพดที่เกิดจากเชื้อรา *B. zeicola* แต่ละ race เพื่อใช้อ้างอิงและเปรียบเทียบในการสำรวจและเก็บตัวอย่าง (Figure 1) และลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Bipolaris zeicola* (Figure 2)

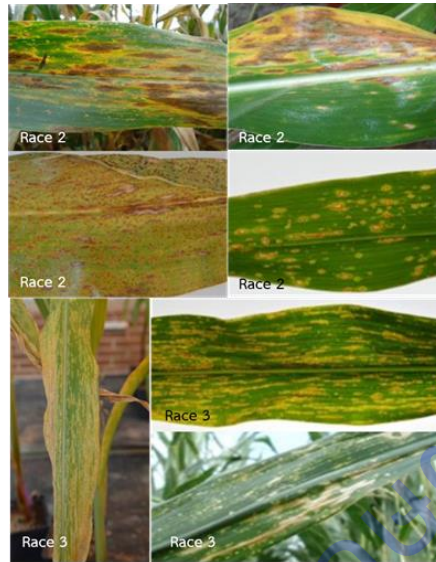


Figure 1: The Northern corn leaf spot symptoms caused by *Bipolaris zeicola* race 2 and race 3 on leaves of maize (Romero, 2016)



Figure 2: The morphological characters of *Bipolaris zeicola* (Manamgoda et al., 2014)

A, B: ascomata;

C-E: asci; F: ascospores; G. conidiophores and conidia บน *Zea mays*;

H-J: conidiophores;

I-M: conidia

2. สํารวจและเก็บตัวอย่าง

สํารวจแบบเฉพาะเจาะจง ในแปลงข้าวโพดที่มีการปลูกในเขตพื้นที่ ภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันตก และภาคใต้ จำนวน 1,278 แปลง ในพื้นที่ของ 46 จังหวัด ระหว่างเดือน ตุลาคม 2561 – เดือนกันยายน 2563 (Figure 3 และ Table 1) เก็บตัวอย่างข้าวโพดที่แสดงอาการใบจุดที่ตํองสงสัย (Figure 4) เพื่อตรวจสอบจําแนกชนิดเชื้อสาเหตุ จำนวน 305 ตัวอย่าง

3. การแยกราสาเหตุโรคพืชและจําแนกชนิดของราโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

แยกเชื้อราตํองสงสัยจากใบข้าวโพดที่แสดงอาการคล้ายอาการจุด Northern corn leaf spot ที่เกิดจากเชื้อรา *B. zeicola* โดยแยกเชื้อราโดยตรงจากชิ้นส่วนพืช และด้วยวิธี tissue transplanting คัดเลือกและจัดกลุ่มลักษณะของเชื้อราที่มีลักษณะคล้ายกัน เพื่อเตรียมจําแนกด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา จากการจําแนกเบื้องต้นได้เชื้อราที่มีลักษณะทางสัณฐานพ้องกับเชื้อรา *Bipolaris* จำนวน 40 ไอโซเลท (Figure 5)

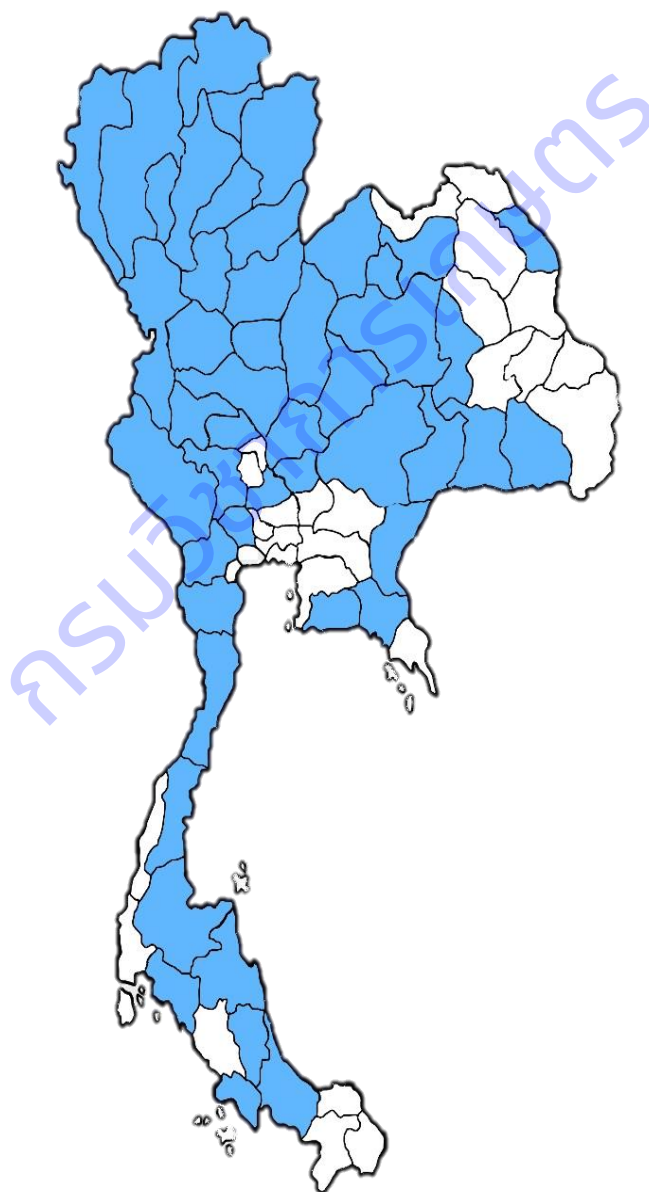


Figure 3: The maize plantations had been surveyed during December

Table 1: The surveyed location during December 2019 – September 2021

Region	Province	District	
Northern	Kamphaeng Phet	Mueang, Bueng Samakkhi, Khanu Woralaksaburi	
	Chiang Rai	Mueang, Mae Chan, Wiang Chai, Phaya Mengrai, Wiang Pa Pao, Mae Suai, Mae Lao, Thoeng, Wiang Kaen, Chiang Khong, Chiang Saen, Mae Fa Luang, Mae Sai	
	Chiang Mai	Mueang, Mae Rim Mae Ai, San Sai, Hang Dong, Chiang Dao, Fang, Chai Prakan, Mae Taeng, Doi Saket, Mae Wang, San Pa Tong	
	Tak	Sam Ngao, Ban Tak, Mae Sot, Phop Phra, Mae Ramat	
	Nakhon Sawan	Mueang, Tak Fha, Phaisali, Takhli, Nong Bua, Mae Wong, Chum Sang, Chum Ta Bong, Lad Yao, Tha Tako, Phayuha Khiri, Krok Phra, Banphot Phisai	
	Nan	Phu Phiang	
	Phayao	Phu Sang, Chiang Kham, Dok Khamtai, Phu Sang	
	Phetchabun	Mueang, Lom Sak, Lom Kao, Wichian Buri, Nong Phai	
	Phrae	Mueang, Long, Song, Den Chai	
	Mae Hong Son	Sop Moei	
	Lampang	Ngao, Mae Tha, Wang Nuea	
	Lamphun	Pa Sang	
	Uttaradit	Mueang, Phichai, Thong Saen Khan, Tron, Laplae, Nam Pat	
	Central	Chai Nat	Manorom
		Phra Nakhon Si Ayutthaya	Bang Ban
Phitsanulok		Mueang, Wang Thong, Bang Rakam, Noen Maprang, Nakhon Thai, Chat Trakan, Phrom Phiram, Wat Bot	
Phichit		Mueang, Wang Sai Phun, Bueng Na Rang, Pho Prathap Chang, Sam Ngam, Sak Lek	
Lop Buri		Chai Badan, Phatthana Nikhom, Khok Samrong	
Saraburi		Chaloem Phra Kiat, Muak Lek, Phra Phutthabat, Don Phut, Nong Don, Ban Mo	
Sukhothai		Mueang, Sawankhalok, Si Satchanalai, Thung Saliam, Khiri Mat, Si Samrong	
Uthai Thani		Mueang, Nong Chang, Ban Rai, Huai Khot, Lan Sak, Sawang Arom	

Table 1: Continued

Region	Province	District	
Eastern	Chanthaburi	Mueang, Tha Mai, Soi Dao, Makhm	
	Rayong	Mueang, Ban Chang	
	Sa Kaeo	Mueang, Wang Nam Yen	
North-Eastern	Khon Kaen	Phu Wiang, Si Chomphu, Ban Fang	
	Chaiyaphum	Mueang, Chatturat, Phu Khiao, Khon San, Ban Khwao, Ban Thaen	
	Nakhon Phanom	Pla Pak	
	Nakhon Ratchasima	Mueang, Dan Khun Thot, Sikhio, Pak Chong, Thepharak, Sung Noen	
	Buri Ram	Mueang, Nong Hong, Satuek, Khu Mueang, Nang Rong	
	Maha Sarakham	Mueang	
	Loei	Mueang, Dan Sai, Wang Saphung, Phu Ruea, Na Duang	
	Si Sa Ket	Mueang, Yang Chum Noi, Wang Hin, Uthumphon Phisai, Khun Han, Kantharalak	
	Surin	Sikhoraphum, Kap Choeng, Prasat	
	Nong Bua Lam Phu	Si Bun Rueang, Na Wang	
	Udon Thani	Ku Kaeo, Kumphawapi, Nong Wua So	
	Western	Kanchanaburi	Mueang, Tha Maka, Srisawad, Sai Yok, Tha Muang, Phanom Thuan, Dan Makhm Tia
		Nakhon Pathom	Kamphaeng Saen
Prachuap Khiri Khan		Mueang, Kui Buri, Bang Saphan, Thap Sakae	
Phetchaburi		Cha-am	
Ratchaburi		Mueang, Ban Pong, Pak Tho, Ban Kha, Chom Bung, Ban Bung	
Suphan Buri		Song Phi Nong	
Southern	Krabi	Khao Phanom	
	Chumphon	Mueang, Lamae, Tha Sae, Sawi	
	Nakhon Si Thammarat	Cha-uat	
	Phatthalung	Mueang	
	Songkhla	Rattaphum, Hat Yai	
	Satun	Manang	
	Surat Thani	Phunphin, Phrasaeng, Tha Chang, Kanchanadit, Tha Chana	

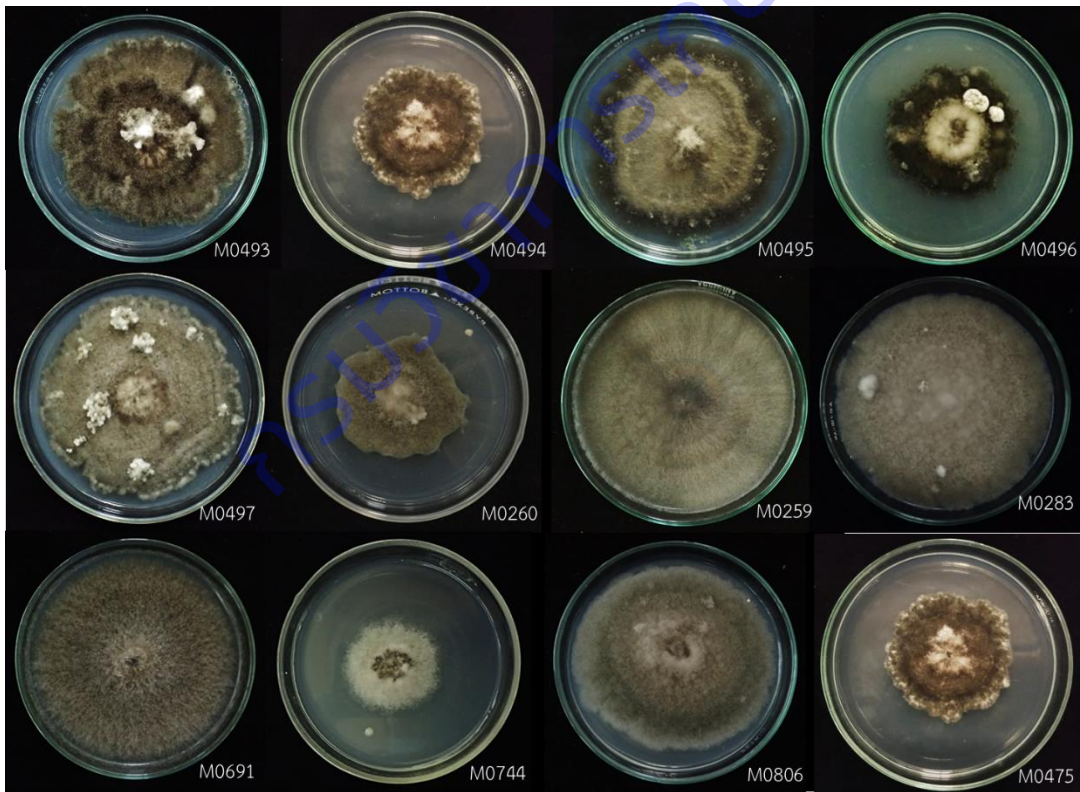


Figure 5: Fungal isolates obtained from this study.

4. จำแนกชนิดของเชื้อราโดยใช้ข้อมูลพันธุกรรม

นำเชื้อราที่แยกได้จากใบข้าวโพดที่แสดงอาการคล้ายอาการจุดที่เกิดจากเชื้อรา *B. zeicola* จำนวน 40 ไอโซเลท มาทำการสกัดดีเอ็นเอ และทำ PCR เพื่อจำแนกชนิดเบื้องต้นด้วยข้อมูลพันธุกรรมตำแหน่ง ITS พบว่า เชื้อราที่แยกได้จากใบข้าวโพด เป็นเชื้อราในกลุ่ม Helminthosporoid ได้แก่ *Bipolaris Curvularia Exserohilum* และ *Setosphaeria*

คัดเลือกตัวแทนเชื้อราจำนวน 12 ไอโซเลท จากจำนวน 17 ไอโซเลท ที่ได้รับการยืนยันชนิดด้วยข้อมูลพันธุกรรมตำแหน่ง ITS ว่าคือเชื้อรา *Bipolaris* มาทำ PCR ตำแหน่ง GAPDH และ TEF1 เพิ่มเติมเพื่อการจำแนกโดยเปรียบเทียบข้อมูลพันธุกรรมตำแหน่ง ITS, GAPDH และ TEF1 ของเชื้อราทั้ง 12 ไอโซเลท กับ type sequences ของเชื้อราใน genus *Bipolaris* จัดทำ concatenated data set ของยีนทั้งสามตำแหน่ง จำนวน 65 taxa โดยมี *Curvularia lunata* และ *C. tuberculata* เป็น outgroup (Table 2)

Table 2: List of *Bipolaris* included in this study

Taxa	Accession No.	Host	Locations	GenBank Accession No.			References
				ITS	GPDH	TEF	
<i>Bipolaris bicolor</i>	CBS 690.96	-	-	KJ909762	KM042893	KM093776	Manamgoda et al., 2014
<i>B. chloridis</i>	CBS 242.77	<i>Chloris gayana</i> <i>Dactyloctenium</i>	Australia	JN192372	JN600961	NA	Manamgoda et al., 2011
<i>B. clavata</i>	BRIP 12530	<i>radulan</i>	Australia	KJ415524	KJ415422	KJ415471	Tan et al., 2014
<i>B. coffeana</i>	BRIP 14845	<i>Coffea arabica</i>	Kenya	KJ415525	KJ415421	KJ415470	Tan et al., 2014
	MFU0090	<i>Poaceae</i>	Thailand	KM230386	KM034840	KM093783	Manamgoda et al., 2014
	ICMP 6128	<i>Chloris dactylon</i>	New Zealand	JX256412	KM034839	JX266581	Manamgoda et al., 2011
<i>B. cookei</i>	AR 5185	<i>Sorghum</i> sp.	Japan	KJ922391	KM034833	KM093777	Manamgoda et al., 2014
	MAFF 51191	<i>Sorghum bicolor</i>	Japan	KJ922392	KM034834	KM093778	Manamgoda et al., 2014
<i>B. crotonis</i>	BRIP 14838	<i>Croton</i> sp.	Samoa	KJ415526	KJ415420	KJ415469	Tan et al., 2014
<i>B. cynodontis</i>	CBS 109894	<i>Chloris dactylon</i> <i>Microstegium</i>	Hungary	KJ909767	KM034838	KM093782	Manamgoda et al., 2014
<i>B. drechsleri</i>	CBS 136207	<i>vimineum</i> <i>Ornamental</i>	USA	KF500530	KF500533	KM093760	Crous et al., 2013
	FIP 373	<i>grass</i>	USA	KF500531	KF500534	KM093759	Crous et al., 2013
<i>B. eleusines</i>	CBS 274.91	<i>Eleusine indica</i> <i>Heliconia</i>	Australia	KJ909768	KM034820	KM093758	Berbee et al., 1999
<i>B. heliconiae</i>	BRIP 17186	<i>psittacorum</i>	Australia	KJ415530	KJ415417	KJ415465	Tan et al., 2014
<i>B. heveae</i>	CBS 241.92	<i>Hevea</i> sp.	Nigeria	KJ909763	KM034843	KM093791	Manamgoda et al., 2014
<i>B. gossypina</i>	BRIP 14840	<i>Gossypium</i> sp. <i>Dactyloctenium</i>	Kenya	KJ415528	KJ415418	KJ415467	Manamgoda et al., 2014
<i>B. luttrellii</i>	BRIP 14643	<i>aegypticum</i>	Australia	AF071350	AF081402	NA	Berbee et al., 1999
<i>B. maydis</i>	CBS 137271	<i>Zea mays</i>	USA	AF071325	KM034846	KM093794	Berbee et al., 1999
	AR 5183	<i>Sorghum bicolor</i>	Japan	KM230390	KM034848	KM093796	Manamgoda et al., 2014
	CBS 136.29	<i>Zea mays</i>	Japan	KJ909769	KM034845	KM093793	Manamgoda et al., 2014
	M 0260	<i>Zea mays</i>	Chai Nat	P	P	P	This Study
	M 0283	<i>Zea mays</i>	Surat Thani	P	P	P	This Study
	M 0423	<i>Zea mays</i> (sweet corn)	Sukhothai	P	P	P	This Study
	M 0426	<i>Zea mays</i> (Maize)	Chiangmai	P	P	P	This Study
	M 0475	<i>Zea mays</i>	Phitsanulok	P	P	P	This Study

Table 2: Continued

Taxa	Accession No.	Host	Locations	GenBank Accession No.			References
				ITS	GPDH	TEF	
<i>B. maydis</i>	M 0493	<i>Zea mays</i> (sweet corn)	Phitsanulok	P	P	P	This Study
	M 0494	<i>Zea mays</i> (Maize)	Saraburi	P	P	P	This Study
	M 0495	<i>Zea mays</i> (Maize)	Phitsanulok	P	P	P	This Study
	M 0496	<i>Zea mays</i>	Suphanburi	P	P	P	This Study
	M 0497	<i>Zea mays</i> (Maize)	Phitsanulok	P	P	P	This Study
	M 0806	<i>Zea mays</i>	Kanchanaburi	P	P	P	This Study
	M 1007	<i>Zea mays</i>	Sukhothai	P	P	P	This Study
<i>B. melinidis</i>	BRIP 12898	<i>Melinis minutiflora</i>	Australia	JN601035	JN600972	KM093771	Manamgoda <i>et al.</i> , 2011
(<i>syn. B. salviniae</i>)	IMI 228224	<i>Salvinia auriculata</i> <i>Microlaena</i>	Brazil	KJ922390	KM034829	KM093772	Manamgoda <i>et al.</i> , 2014
<i>B. microlaenae</i>	BRIP 15613	<i>stipoides</i> <i>Microlaena</i>	Australia	JN601032	JN600974	JN601017	Manamgoda <i>et al.</i> , 2011
<i>B. microstegii</i>	CBS 132550	<i>vimineum</i> <i>Microlaena</i>	USA	JX089579	JX089575	KM093756	Manamgoda <i>et al.</i> , 2014
	AR 5192	<i>vimineum</i>	USA	KM230391	KM034819	KM093757	Manamgoda <i>et al.</i> , 2014
<i>B. multiformis</i> (<i>syn. B. sorokiniana</i>)	CBS 120.24	—	Italy	KJ909776	KM034821	KM093762	Manamgoda <i>et al.</i> , 2014
	CBS 110.14	<i>Hordeum sp.</i>	USA	KJ922381	KM034822	KM093763	Manamgoda <i>et al.</i> , 2014
<i>B. oryzae</i>	MAFF 235501	<i>Zea mays</i> <i>Tribulus</i>	Japan	KJ909791	KM034825	KM093766	Manamgoda <i>et al.</i> , 2014
	CBS 480.74	<i>terrestris</i>	South Africa	KJ909771	KM034827	KM093768	Manamgoda <i>et al.</i> , 2014
	MFLUCC 100715	<i>Oryza sativa</i>	Thailand	JX256416	JX276430	JX266585	Manamgoda <i>et al.</i> , 2012
<i>B. panici-miliacei</i>	MAFF 235499	<i>Oryza sativa</i> <i>Panicum</i>	Japan	KJ922383	KM042897	KM093789	Manamgoda <i>et al.</i> , 2014
	AR 5204	<i>virgatum</i> <i>Panicum</i>	USA	KM230393	KM042895	KM093787	Manamgoda <i>et al.</i> , 2014
	CBS 199.29	<i>miliaceum</i> <i>Chloris</i>	Japan	KJ909773	KM042896	KM093788	Manamgoda <i>et al.</i> , 2014
<i>B. peregrinensis</i>	DAOM 221998	<i>dactylon</i> <i>Chloris</i>	Australia	KJ922393	KM034849	KM093797	Manamgoda <i>et al.</i> , 2014
	BRIP 12790	<i>dactylon</i> <i>Eleusine</i>	Australia	JN601034	JN600977	JN601022	Manamgoda <i>et al.</i> , 2011
<i>B. pluriseptata</i>	BRIP 14839	<i>coracana</i> <i>Oplismenus</i>	Zambia	KJ415532	KJ415414	KJ415461	Tan <i>et al.</i> , 2014
<i>B. sacchari</i>	ICMP 6227	<i>imbecillis</i> <i>Cladium</i>	New Zealand	KJ922386	KM034842	KM093785	Manamgoda <i>et al.</i> , 2014
<i>B. salkadehensis</i>	Bi 4	<i>mariscus</i>	Iran	AB675491	-	-	Ahmadpourl <i>et al.</i> 2012
<i>B. secalis</i>	BRIP 14453	<i>Secale cereale</i>	Argentina	KJ415537	KJ415409	KJ415455	Tan <i>et al.</i> , 2014
<i>B. victoriae</i>	CBS 327.64	<i>Avena sativa</i>	USA	KJ909778	KM034811	KM093748	Manamgoda <i>et al.</i> , 2014
	DAOM 147449	<i>Avena sativa</i> <i>Saccharum</i>	USA	KJ909785	KM034812	KM093749	Manamgoda <i>et al.</i> , 2014
<i>B. yamadae</i>	DAOM 147441	<i>officinarum</i>	Cuba	KJ922388	KM034831	KM093774	Manamgoda <i>et al.</i> , 2014
	MAFF 235507	<i>Zea mays</i>	Japan	KJ922387	KM034832	KM093775	Manamgoda <i>et al.</i> , 2014

Table 2: Continued

Taxa	Accession No.	Host	Locations	GenBank Accession No.			References
				ITS	GPDH	TEF	
	CBS 202.29	<i>Panicum miliaceum</i>	Japan	KJ909779	KM034830	KM093773	Manamgoda <i>et al.</i> , 2014
<i>B. zeae</i>	AR 3795	<i>Panicum virgatum</i>	USA	KJ909786	KM034816	KM093753	Manamgoda <i>et al.</i> , 2014
	AR 5181	<i>Sorghum bicolor</i>	Japan	KM230394	KM034817	KM093754	Manamgoda <i>et al.</i> , 2014
<i>B. zeicola</i>	AR 5166	<i>Sorghum</i> sp.	USA	KJ909788	KM034813	KM093750	Manamgoda <i>et al.</i> , 2014
	AR 5168	<i>Sorghum</i> sp.	USA	KM230397	KM034814	KM093751	Manamgoda <i>et al.</i> , 2014
	FIP 532	<i>Zea mays</i>	USA	KM230398	KM034815	KM093752	Manamgoda <i>et al.</i> , 2014
	NRRL 47497	<i>Zea mays</i> (seed)	USA: Illinois	GQ167205	-	-	Manamgoda <i>et al.</i> , 2014
	CBS 316.64			HF934938	LT715783	-	Manamgoda <i>et al.</i> , 2014
<i>Curvularia tuberculata</i>	CBS 146.63	<i>Zea mays</i>	India	JX256433	JX276445	JX266599	Manamgoda <i>et al.</i> , 2011
<i>Curvularia lunata</i>	CBS 730.96	Human lung biopsy	USA	JX256429	JX276441	JX266596	Manamgoda <i>et al.</i> , 2012

เมื่อวิเคราะห์ phylogenetic reconstruction พบว่า topology ที่ได้จาก ML และ BI มีความสอดคล้องกัน และพบว่าเชื้อราที่แยกได้จากข้าวโพดที่แสดงอาการคล้ายอาการจุดที่เกิดจากเชื้อรา *B. zeicola* นั้นจัดอยู่ใน clade เดียวกับ *B. maydis* โดยไม่มีไอโซเลทใดปรากฏรวมใน clade ของ *B. zeicola* (Figure 6) และเป็น monophyletic ดังนั้นผลการจำแนกชนิดด้วยข้อมูลพันธุกรรมโดยการวิเคราะห์ phylogenetic reconstruction พบว่าเชื้อรา *Bipolaris* ทุกไอโซเลท คือ เชื้อรา *B. maydis* (Figure 6)

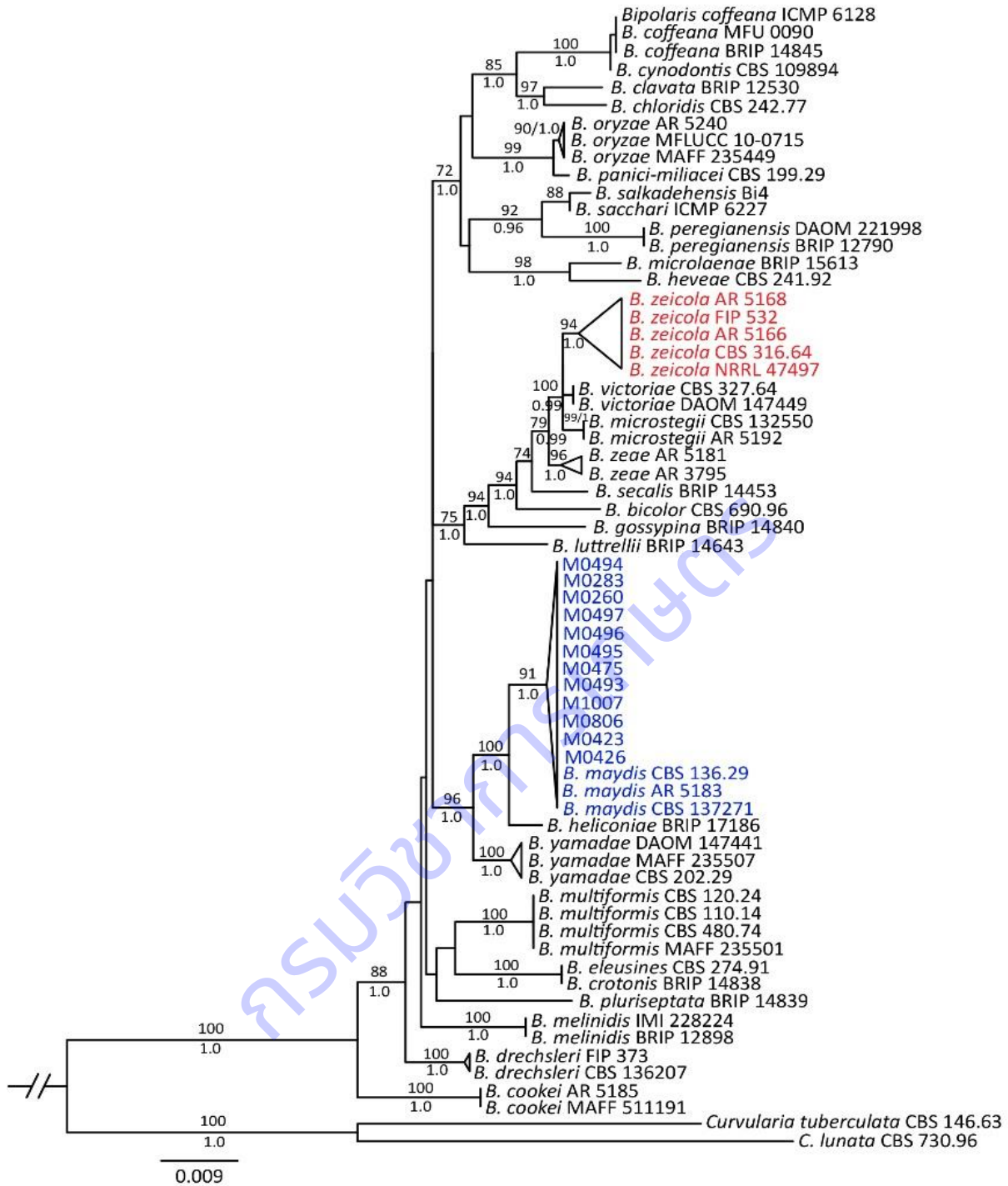


Figure 6: Phylogram obtained in a maximum likelihood search in RAxML of concatenated dataset of ITS, GAPDH and TEF1 gene regions. Bootstrap support values (≥70%) from 1,000 replicates above nodes. Posterior probabilities (≥0.95) summarized from 20,000 converged trees obtained in a Bayesian search are shown below nodes.

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

ผลการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจงในแปลงปลูกข้าวโพดในพื้นที่ 6 ภูมิภาค 46 จังหวัด ระหว่างเดือนตุลาคม 2561 – เดือนกันยายน 2564 พบอาการใบจุดที่มีลักษณะคล้ายอาการจุดที่เกิดจากเชื้อรา *B. zeicola* เมื่อทำการแยกเชื้อราจากตัวอย่างต้องสงสัย และจำแนกชนิดเบื้องต้นด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบเชื้อราที่มีลักษณะพ้องกับเชื้อรา *Bipolaris* เมื่อจำแนกชนิดเบื้องต้นด้วยข้อมูลพันธุกรรมตำแหน่ง ITS พบว่าเป็นเชื้อราในกลุ่ม Helminthosporoid เมื่อจำแนกชนิดโดยเปรียบเทียบข้อมูลพันธุกรรมตำแหน่ง ITS, GAPDH และ TEF1 กับ type sequences ของเชื้อราใน genus *Bipolaris* เมื่อวิเคราะห์ด้วย phylogenetic reconstruction พบว่าเชื้อรา *Bipolaris* ทุกไอโซเลท คือ เชื้อรา *B. maydis* ดังนั้นจากการศึกษาและสำรวจระหว่างเดือนตุลาคม 2561 ถึงเดือนกันยายน 2564 ไม่พบการปรากฏของเชื้อรา *Bipolaris zeicola* ในพื้นที่ปลูกข้าวโพดในประเทศไทย

ถึงแม้ว่า ในประเทศไทยมีรายงานว่าพบเชื้อรา *B. zeicola* สาเหตุโรค Northern corn leaf spot (NCLS) บนข้าวโพด ครั้งสุดท้ายเมื่อปี 2548 และยังไม่พบการปรากฏของเชื้อราดังกล่าวจากการศึกษาครั้งนี้ รวมถึงถึงแม้จะยังไม่ระบุในบัญชีศัตรูพืชก็เช่นกัน ยังคงต้องมีการเฝ้าระวังการแพร่ระบาดและอาจก่อให้เกิดความเสียหายที่รุนแรงในประเทศไทย

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ดร.พรพิมล อธิปัญญาคม คุณศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช อดีตผู้เชี่ยวชาญด้านโรคพืช สมาชิกเพื่อน พี่น้อง ในกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช ที่ให้ความร่วมมือและความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่าง การดำเนินการทดลอง และการเก็บข้อมูล รวมถึงกำลังใจที่มีให้กันเสมอมา

การทดลองที่ 13

การศึกษาสถานภาพเชื้อแบคทีเรีย *Burkholderia glumae* สาเหตุโรค Bacterial Panicle Blight
ของข้าวในประเทศไทย

Surveillance of *Burkholderia glumae* causes Bacterial Panicle Blight Diseases
of Rice in Thailand

ณัฐริมา โฆษิตเจริญกุล^{1/} ชลธิชา รักใคร่^{2/} ทิพวรรณ กันหาญาติ^{1/} รุ่งนภา ทองเครื่อง^{1/}
บุรณี พัวพงษ์แพทย์^{1/} ณัฏฐพร อุทัยมงคล^{2/}

^{1/}กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/}กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ศึกษาสถานภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Burkholderia glumae* สาเหตุโรค Bacterial Panicle Blight ในประเทศไทย ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2561 – กันยายน 2564 เพื่อยืนยันการปรากฏหรือไม่ปรากฏของเชื้อชนิดนี้ในประเทศไทย โดยกำหนดพื้นที่สำรวจเป็นแหล่งปลูกข้าวในจังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ ลำพูน ลำปาง น่าน แพร่ อุดรดิตต์ สุโขทัย พิษณุโลก เพชรบูรณ์ พิจิตร กำแพงเพชร นครสวรรค์ อุทัยธานี ชัยนาท ลพบุรี สระบุรี นครนายก ปราจีนบุรี ฉะเชิงเทรา สิงห์บุรี อ่างทอง สุพรรณบุรี นครปฐม พระนครศรีอยุธยา ปทุมธานี นนทบุรี อำนาจเจริญ อุบลราชธานี ศรีสะเกษ สุรินทร์ บุรีรัมย์ นครราชสีมา ตาก ราชบุรี กาญจนบุรี เพชรบุรี และประจวบคีรีขันธ์ จำนวน 517 แปลง สำรวจแบบเฉพาะเจาะจงและเก็บตัวอย่างรวงข้าวที่แสดงอาการเมล็ดเป็นสีน้ำตาลคล้ายโรครวงใหม่ นำมาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ พบแบคทีเรียสีขาวครีมที่ไม่สร้างสารเรืองแสงจากอาหาร King's medium เมื่อตรวจวินิจฉัยโดยใช้เทคนิค PCR ไม่พบผลผลิตเป้าหมายของแบคทีเรีย *B. glumae* ในตัวอย่างที่ตรวจ ดังนั้นผลจากการสำรวจยืนยันสถานภาพไม่ปรากฏแบคทีเรีย *B. glumae* สาเหตุโรค Bacterial Panicle Blight ในประเทศไทย

คำสำคัญ: เฝาระวัง, สถานภาพ, เชื้อแบคทีเรีย *Burkholderia glumae*, โรค Bacterial Panicle Blight

Abstracts

Surveillance of *Burkholderia glumae* causes bacterial panicle blight diseases of rice in Thailand was carried out during October 2018 – September 2021 to determine whether this bacterium was present or absent. The specific surveying and collecting samples that expect caused by *B. glumae* were conducted in Chiang Rai, Chiang Mai, Lamphun, Lampang, Nan, Phrae, Uttaradit, Sukhothai, Phitsanulok, Phetchabun, Phichit, Kamphaeng Phet, Nakhon Sawan, Uthai Thani, Chai Nat, Lop Buri, Saraburi, Nakhon Nayok, Prachin Buri, Chachoengsao, Sing Buri, Ang Thong, Suphan Buri, Nakhon Pathom, Phra Nakhon Si Ayutthaya, Pathum Thani, Nonthaburi, Amnat Charoen, Ubon Ratchathani, Si Sa Ket, Surin, Buri Ram, Nakhon Ratchasima, Tak, Ratchaburi, Kanchanaburi, Phetchaburi and Prachuap Khiri Khan. The bacteria formed gray–white colonies and produced water–soluble pigment on King’s medium B were confirmed by the species–specific PCR of 16S–23S rDNA internal transcribed spacer region. An target DNA of *B. glumae* not detected from all bacterial isolates. Thus, this result confirms status of *B. glumae* was absent in rice plantation of Thailand.

Key words: pest status, surveillance, *Burkholderia glumae*, Bacterial Panicle Blight Diseases

บทนำ

แบคทีเรีย *Burkholderia glumae* สาเหตุโรครวงไหม้ (bacterial panicle blight) จัดเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทยเป็นสิ่งต้องห้าม ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชและพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 7) พ.ศ. 2550 แบคทีเรีย *B. glumae* พบรายงานครั้งแรกที่ประเทศญี่ปุ่นและแพร่ระบาดในพื้นที่ปลูกข้าวของหลายประเทศทั่วโลก มีรายงานการแพร่ระบาดในประเทศไต้หวัน ญี่ปุ่น ฟิลิปปินส์ ศรีลังกาและเวียดนาม (CPC, 2007) แบคทีเรีย *B. glumae* สาเหตุโรครวงไหม้ (bacterial panicle blight) สร้างความเสียหายทำให้ผลผลิตของข้าวลดลงสูงสุดถึง 75 % (Trung *et al.*, 1993) สำหรับในประเทศไทยยังไม่พบรายงานการเกิดโรคจากแบคทีเรียชนิดนี้ แต่เนื่องจากแบคทีเรีย *B. glumae* สามารถติดไปกับเมล็ด (seed-borne) และแบคทีเรียสามารถเจริญได้ถึงแม้มีอุณหภูมิสูงถึง 41 องศาเซลเซียส จึงทำให้เป็นที่กังวลของหลายประเทศเพราะเริ่มมีรายงานการแพร่ระบาดของโรครวงไหม้ในประเทศเขตร้อนและกึ่งร้อนมากขึ้น (Ham *et al.*, 2011) หากเกิดการแพร่ระบาดของเชื้อแบคทีเรีย *B. glumae* ในไทยย่อมส่งผลกระทบต่อทางเศรษฐกิจเนื่องจากข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจหลักที่สำคัญของประเทศไทยซึ่งมีพื้นที่ปลูกประมาณ 62 ล้านไร่กระจายอยู่ทั่วประเทศ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2559) แบคทีเรีย *B. glumae* จึงนับเป็นเชื้อสาเหตุโรคพืชที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งทางด้านกักกันพืชที่ต้องมีการเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของเชื้อ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเคลื่อนย้ายหรือนำเข้าเมล็ดพันธุ์ข้าวจากประเทศที่มีการระบาดของโรค ดังนั้นจำเป็นต้องมีการสำรวจสถานภาพของแบคทีเรีย *B. glumae* ในพื้นที่ปลูกข้าวในประเทศไทย อย่างเป็นระบบ เพื่อเป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ ในการกำหนดศัตรูพืชกักกัน สนับสนุนการออกประกาศเรื่องการปลอดศัตรูพืชที่ดำเนินการโดย NPPO กระบวนการช่วยตรวจหาศัตรูพืชชนิดใหม่ได้ทันเวลา และใช้ในการจัดเตรียมบัญชีรายชื่อศัตรูพืชในการเปิดตลาดสินค้า

ระเบียบวิธีการวิจัย

อุปกรณ์

1. เครื่องแก้ว และอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ
2. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ
3. หม้อนึ่งความดันไอ
4. เครื่องเขย่าชนิดควบคุมอุณหภูมิ
5. เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง
6. ตู้อบ
7. เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ
8. เครื่องชั่ง
9. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง
10. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ สกัดดีเอ็นเอ และทำปฏิกิริยา PCR
11. ตัวอย่างข้าว

วิธีการทดลอง

1. จัดทำคู่มือการสำรวจ

โดยการรวบรวมตัวอย่างอ้างอิงและรูปภาพของโรคของข้าวที่เกิดจากแบคทีเรีย *B. glumae* เพื่อใช้ในการตรวจสอบอ้างอิงขณะทำการสำรวจและจัดทำข้อมูลศัตรูพืช ชื่อสามัญ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพืชอาศัย อาการของโรค รูปภาพสีของโรค และรายละเอียดของศัตรูพืชชนิดอื่นที่คล้ายคลึงกับศัตรูพืชเป้าหมาย

2. จัดทำฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ

จัดทำฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ ได้แก่ ชื่อที่อยู่ที่ตั้งของแปลง วันและเวลาสภาพดินฟ้าอากาศ ตำแหน่งที่ตั้ง (พิกัด GPS) เป็นต้น

3. วางแผนการสำรวจ

ใช้วิธีการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (Specific survey) ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (Guidelines for surveillance: ISPM No. 6) โดยทำการสำรวจแบบสืบพบ (Detection survey) เพื่อสืบค้นหาศัตรูพืชเป้าหมายสำรวจอย่างน้อย 10 แปลง ต่อพื้นที่ แต่ละแปลงทำการสุ่มตัวอย่างแบบเป็นระบบ โดยเดินตามเส้นทแยงมุม ทุกๆ 10 ก้าว ตรวจโรคจุดละ 10 ต้น จำนวน 10 จุดต่อแปลง หรือ 10 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่แปลง

4. การสำรวจ

กำหนดพื้นที่สำรวจโดยเป็นแหล่งผลิตข้าวที่สำคัญของประเทศ จำนวน 28 แหล่งปลูก ใน 14 จังหวัด ได้แก่ เชียงใหม่ เชียงราย แม่ฮ่องสอน แพร่ สุโขทัย สุพรรณบุรี ปทุมธานี อุทัยธานี นครพนม ชัยภูมิ สงขลา พัทลุง ตรัง และ นครศรีธรรมราช ดำเนินการสำรวจตาม ISPM No. 6 (Guidelines for surveillance) วางแผนการสำรวจอย่างน้อย 10 แปลง ต่อพื้นที่ แต่ละแปลงทำการสุ่มตัวอย่างแบบเป็นระบบ โดยเดินตามเส้นทแยงมุม ทุกๆ 10 ก้าว ตรวจโรคจุดละ 10 ต้น อย่างน้อยจำนวน 10 จุดต่อแปลง หรือ 10 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่แปลง

5. วิธีการตรวจวินิจฉัยแบคทีเรีย *Burkholderia glumae* ในแปลงนาข้าว

จัดทำรูปภาพลักษณะอาการของโรคทุกระยะของพืชจัดทำเป็นคู่มือในการสำรวจ เมื่อออกสำรวจให้สังเกตจากลักษณะอาการของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือการสำรวจที่จัดทำไว้ บันทึกรายละเอียดข้อมูลของแปลง บันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป เก็บตัวอย่างห่อกระดาษและใส่ถุง นำกลับมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ

6. การตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ

การตรวจสอบโดยการนำตัวอย่างที่เก็บมาหรือสุ่มใบข้าวหรือต้นกล้าข้าว หรือเมล็ดข้าวที่แสดงอาการคล้ายกับรูปภาพนำมาแยกเชื้อ *B. glumae* บนอาหาร semi selective medium ได้แก่ King's medium B และ CCNT medium คัดเฉพาะโคโลนีสีขาวครีมที่ไม่สร้างสารเรืองแสงจาก King's medium B และโคโลนีสีเหลืองสร้างสารสีเหลืองบนอาหาร CCNT medium นำมายืนยันโดยใช้ specific primer โดยใช้วิธี Polymerase chain reaction (PCR) ตามวิธีของ Takeuchi *et al.* (1997) และ Saylor *et al.* (2006)

- เวลาและสถานที่

เวลา	ตุลาคม 2561 – กันยายน 2564
สถานที่	ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานבקเทรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1. จัดทำคู่มือการสำรวจ

รวบรวมข้อมูลของแบคทีเรีย *B. glumae* และ โรครวงไหม (bacterial panicle blight) ของข้าว โดยรวบรวมลักษณะอาการของโรครวงไหม (bacterial panicle blight) ของข้าว ที่เกิดจากแบคทีเรีย *B. glumae* ทุกระยะของพืช เพื่อจัดทำเป็นคู่มือการสำรวจ

ข้อมูลของแบคทีเรีย *Burkholderia glumae*

แบคทีเรีย *B. glumae* มีการจัดอนุกรมวิธานดังนี้

Domain: Bacteria

Phylum: Proteobacteria

Class: Betaproteobacteria

Order: Burkholderiales

Family: Burkholderiaceae

Genus: *Burkholderia*

Species: *Burkholderia glumae* (CABI, 2014)

แบคทีเรีย *B. glumae* หรือชื่อเดิม *Pseudomonas glumae* เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อน ขนาดเซลล์ 0.5-0.7x1.5-2.5 ไมโครเมตร สามารถเคลื่อนที่ได้โดยใช้หางแบบ polar flagella ซึ่งมี 2-4 เส้นต่อเซลล์ เชื้อต้องการออกซิเจนในการดำรงชีวิต สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิตั้งแต่ 11-40 องศาเซลเซียส โดยมีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 30-35 องศาเซลเซียส (Brenner *et al.*, 2005; Schaad *et al.*, 2001) เมื่อเลี้ยงบนอาหาร nutrient agar (NA) เป็นเวลา 3 วัน โคโลนีมีสีเทาออกขาว ขอบเรียบ นูนเล็กน้อย ไม่สร้างรงควัตถุที่เป็น green fluorescent บนอาหาร King's B หลังบ่มเชื้อ 48 ชั่วโมง โคโลนีมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.6 มิลลิเมตร (Zhu *et al.*, 2008; Fory *et al.*, 2013) เชื้อแบคทีเรียสามารถผลิตสารพิษ phytotoxin ที่มีชื่อว่า toxoflavin fervenulin และ reumycin ซึ่งมีส่วนสำคัญในการทำให้เกิดโรค โดยเฉพาะสาร toxoflavin ที่มีความสำคัญทำให้การเจริญของใบและรากลดลงในข้าวระยะกล้า รวมถึงลักษณะอาการเหลืองและเมล็ดเน่าของรวงข้าว เชื้อสามารถผลิต toxoflavin ได้มากในช่วงอุณหภูมิ 30-37 องศาเซลเซียส แต่จะไม่ผลิตเมื่อมีอุณหภูมิต่ำลงที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส พืชอาศัยของแบคทีเรีย *B. glumae* นอกจากข้าวแล้วยังพบรายงานเป็นเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยว (bacterial wilt) ของมะเขือ พริก มะเขือเทศ และงา ในประเทศเกาหลีใต้อีกด้วย (Jeong *et al.*, 2003)

โรครวงไหม (bacterial panicle blight) ของข้าวที่เกิดจากแบคทีเรีย *B. glumae* มีลักษณะอาการของต้นกล้าเน่า เมล็ดต่าง เมล็ดเน่า และไม่มีเนื้อแป้งในเมล็ด โดยอาการที่พบบนกาบใบ แผลเป็นแนวยาวลงด้านล่างสีเทาล้อมรอบด้วยสีน้ำตาลแดงเข้ม ส่วนอาการบนรวงข้าวมีสีเหมือนฟางข้าว อาการเริ่มแรกบริเวณฐานของเมล็ดเป็นสีน้ำตาลปลายเมล็ดยังสีเขียวอยู่ จากนั้นจะเปลี่ยนเป็นสีฟางเข้มกว่าปลายเมล็ดและมีเส้นสีน้ำตาลแดงคั่นระหว่างสีเข้มและสีจาง และเมล็ดข้าวลีบ (Ham *et al.*, 2001; Nandakumar *et al.*, 2009) (Figure 1, 2)

2. จัดทำฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ

โดยมีรายละเอียดของที่ตั้งแปลง ข้อมูลพิกัดภูมิศาสตร์ ชนิดพืช ชนิดศัตรูพืช ข้อมูลตัวอย่าง ชื่อผู้เก็บตัวอย่าง วันเดือนปีที่เก็บ (Figure 3)

3. วางแผนการสำรวจ

ใช้วิธีการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (Specific survey) ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (Guidelines for surveillance: ISPM No. 6) โดยทำการสำรวจแบบสืบพบ (Detection

survey) เพื่อสืบค้นหาศัตรูพืชเป้าหมายสำรวจอย่างน้อย 10 แปลง ต่อพื้นที่ แต่ละแปลงทำการสุ่มตัวอย่างแบบเป็นระบบ โดยเดินตามเส้นทแยงมุม ทุกๆ 10 ก้าว ตรวจสอบโรคจุดละ 10 ต้น จำนวน 10 จุดต่อแปลง หรือ 10 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่แปลง

4. การสำรวจ

ดำเนินการสำรวจพื้นที่ปลูกข้าว จำนวน 38 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ ลำพูน ลำปาง น่านแพร่ อุตรดิตถ์ สุโขทัย พิษณุโลก เพชรบูรณ์ พิจิตร กำแพงเพชร นครสวรรค์ อุทัยธานี ชัยนาท ลพบุรี สระบุรี นครนายก ปราจีนบุรี ฉะเชิงเทรา สิงห์บุรี อ่างทอง สุพรรณบุรี นครปฐม พระนครศรีอยุธยา ปทุมธานี นนทบุรี อำนาจเจริญ อุบลราชธานี ศรีสะเกษ สุรินทร์ บุรีรัมย์ นครราชสีมา ตาก ราชบุรี กาญจนบุรี เพชรบุรี และประจวบคีรีขันธ์ จำนวน 517 แปลง เก็บตัวอย่างรวงข้าวที่แสดงอาการเมล็ดเป็นสีน้ำตาลหรือสีฟางข้าว (Figure 4) นำมาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการจำนวน 80 ตัวอย่าง

5. วิธีการตรวจวินิจฉัยแบคทีเรีย *Burkholderia glumae* ในแปลงนาข้าว

ในการสำรวจสังเกตจากลักษณะอาการของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือการสำรวจที่จัดทำไว้ บันทึกรายละเอียดข้อมูลของแปลง บันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป เก็บตัวอย่างห่อกระดาษและใส่ถุง นำกลับมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ

6. การตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ

การตรวจสอบโดยการนำตัวอย่างที่เก็บมาหรือสุ่มใบข้าวหรือต้นกล้าข้าว หรือเมล็ดข้าวที่แสดงอาการคล้ายกับรูปภavnนำมาแยกเชื้อ *B. glumae* บนอาหาร semi selective medium ได้แก่ King's medium B และ CCNT medium คัดเฉพาะโคโลนีสีขาวครีมที่ไม่สร้างสารเรืองแสงจาก King's medium B และโคโลนีสีเหลืองสร้างสารสีเหลืองบนอาหาร CCNT medium พบแบคทีเรียสีขาวครีมที่ไม่เรืองแสงจากอาหาร King's medium จำนวน 5 ตัวอย่าง นำมายืนยันโดยใช้ specific primer โดยใช้เทคนิค Polymerase chain reaction (PCR) ตามวิธีของ Takeuchi *et al.* (1997) และ Saylor *et al.* (2006) ไม่พบแถบดีเอ็นเอเป้าหมายขนาด 400 คู่เบส ของแบคทีเรีย *B. glumae* ในตัวอย่างที่ตรวจ (Figure 5)

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

การสำรวจสถานภาพของแบคทีเรีย *B. glumae* ในพื้นที่ปลูกข้าวในประเทศไทย 38 จังหวัดระหว่างเดือนตุลาคม 2562 – กันยายน 2564 จำนวน 517 แปลง เก็บตัวอย่างรวงข้าวที่แสดงอาการคล้ายโรครวงไหม้ นำมาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการจำนวน 80 ตัวอย่าง พบแบคทีเรียสีขาวครีมที่ไม่สร้างสารเรืองแสงจากอาหาร King's medium จำนวน 5 ตัวอย่าง เมื่อตรวจวินิจฉัยโดยใช้เทคนิค PCR ตามวิธีของ Takeuchi *et al.* (1997) และ Saylor *et al.* (2006) ไม่พบผลผลิตเป้าหมายของแบคทีเรีย *B. glumae* ในตัวอย่างที่ตรวจ ดังนั้น การสำรวจข้าวระหว่างเดือนตุลาคม 2561 – กันยายน 2564 จึงไม่ปรากฏแบคทีเรีย *B. glumae* สาเหตุโรค Bacterial Panicle Blight ในประเทศไทย อย่างไรก็ตาม แบคทีเรียสีขาวครีมที่แยกได้นั้นได้เก็บรักษาไว้ที่กลุ่มวิจัยโรคพืชเพื่อจำแนกชนิดต่อไป



Figure 1 Symptoms of bacterial panicle blight disease on rice.

A, Sheath symptoms: vertical grayish lesion surrounded by dark reddish-brown.

B, Panicle symptoms: straw-colored panicles containing florets with a darker base and a reddish-brown line across the floret between darker straw-colored and straw-colored areas.

C, Typical field symptoms of bacterial panicle blight on a susceptible long-grain rice variety (Trenasse) inoculated with *Burkholderia glumae*. Severely affected panicles remain upright as the grain does not fill. (Nandakumar *et al.*, 2009)

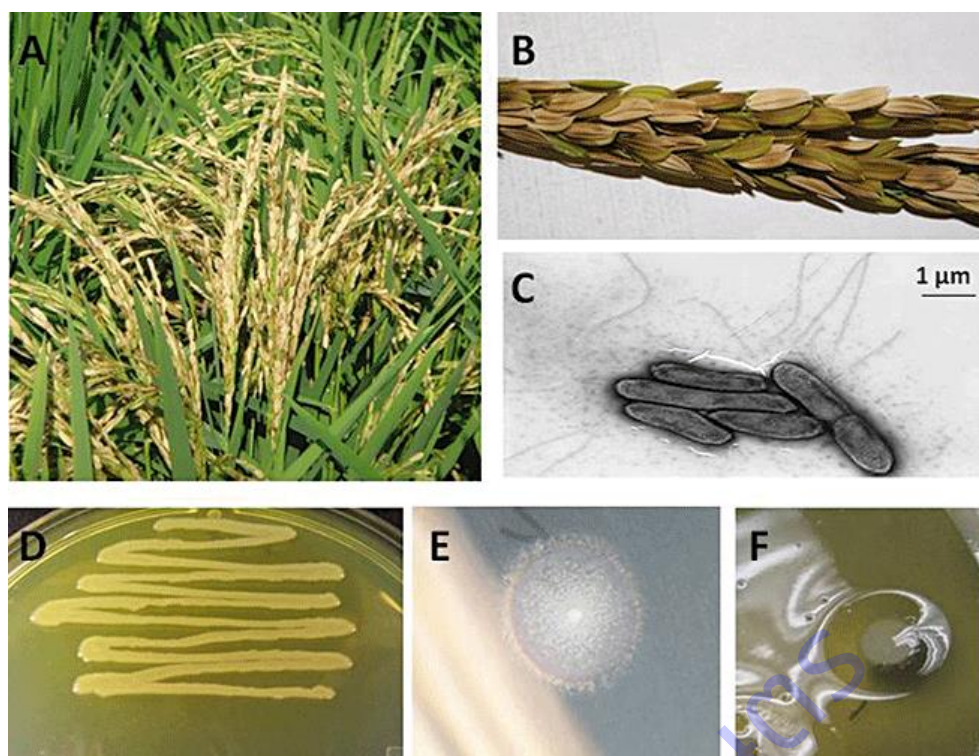


Figure 2 Symptoms produced by *Burkholderia glumae*: (A, B) typical symptoms of bacterial panicle blight on rice panicles; (C) transmission electron micrograph of *B. glumae* cells and flagella; (D) toxin (toxoflavin) production by *B. glumae* indicated by the yellow pigment on a King's B agar plate; (E) lipase activity indicated by the opaque and iridescent halo around a *B. glumae* colony on a Luria–Bertani (LB) agar plate containing 0.2% Tween-20; (F) pectinase activity indicated by the pitting zone around a *B. glumae* colony on a pectate semi-solid agar plate (Ham *et al.*, 2001)

remain upright as the grain does not fill. (Nandakumar *et al.*, 2009)

พิกัดสำรวจโรค panicle blight ของข้าว										
ลำดับ	รหัสพิกัด	พันธุ์ข้าว	ตำบล	อำเภอ	จังหวัด	N	E	altitude	วันที่สำรวจ	ผลตรวจ BG
1	591	หอมปทุม	ชัยนาท	เมือง	ชัยนาท	15.12558	100.15771	18 m	3-มิ.ย.-62	-
2	592	หอมปทุม	ชัยนาท	เมือง	ชัยนาท	15.11922	100.16581	17 m	3-มิ.ย.-62	-
3	593	หอมปทุม	ห้วยกรด	สรรคบุรี	ชัยนาท	15.11990	100.17048	16 m	3-มิ.ย.-62	-
4	594	หอมปทุม	ชัยนาท	เมือง	ชัยนาท	15.12677	100.14631	16 m	3-มิ.ย.-62	-
5	595	หอมปทุม	ท่าชัย	เมือง	ชัยนาท	15.12620	100.11934	15 m	3-มิ.ย.-62	-
6	596	หอมปทุม	ท่าชัย	เมือง	ชัยนาท	15.16257	100.11321	29 m	3-มิ.ย.-62	-
7	597	หอมปทุม	นางสีอ	เมือง	ชัยนาท	15.15356	100.09185	17 m	3-มิ.ย.-62	-
8	598	หอมปทุม	นางสีอ	เมือง	ชัยนาท	15.12457	100.05008	21 m	3-มิ.ย.-62	-
9	599	กข43	ท่าชัย	เมือง	ชัยนาท	15.17792	100.11481	26 m	3-มิ.ย.-62	-

Figure 3 Survey form of *Burkholderia glumae*



Figure 4 Similar symptoms of bacterial panicle blight in the field caused by *Burkholderia glumae* bacteria

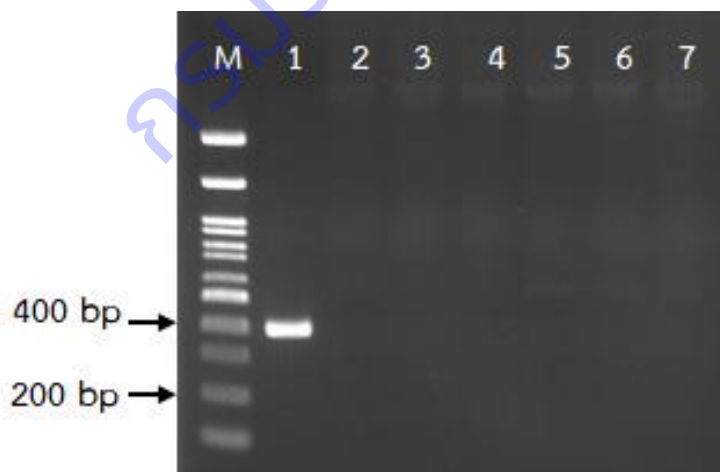


Figure 5 Detection of *Burkholderia glumae* by Polymerase Chain Reaction. Lane M, size marker (onemark 100); lane 1, positive control (*B. glumae*); lane 2, negative control (distilled water); lanes 3–7, bacteria isolated from panicle rice samples.

การทดลองที่ 14

การศึกษาสถานภาพแบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* สาเหตุโรค Bacterial speck ในประเทศไทย

Study on status of *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* caused of Bacterial speck disease in Thailand

ชลธิชา รักใคร่^{1/} ณัฐริมา ไขษิตเจริญกุล^{2/} วันเพ็ญ ศรีชาติ^{1/} วานิช คำพานิช^{1/}
ทิพวรรณ กันหาญาติ^{2/} รุ่งนภา ทองเครื่อง^{2/} พรรณีภา เปชัยศรี^{1/}

^{1/}กลุ่มวิจัยการกักกันพืช

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/}กลุ่มวิจัยโรคพืช

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ (*Tomato; Solanum lycopersicum* L.) จากหลายประเทศทั่วโลกเพื่อใช้ในปลูกขยายพันธุ์ ผลิตรพอ-แม่พันธุ์ และบริโภคผลสดทำให้ความเสี่ยงที่แบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์ได้ จึงจำเป็นต้องมีการสำรวจสถานภาพของแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *tomato* ในพื้นที่ปลูกมะเขือเทศของประเทศไทยเพื่อเป็นการยืนยันสถานภาพจึงดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจงตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (เฟ้่าระวัง) ในพื้นที่ปลูกมะเขือเทศ 27 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง ลำพูน แม่ฮ่องสอน พะเยา ตาก ขอนแก่น เลย นครพนม นครราชสีมา สกลนคร ศรีสะเกษ อุตรธานี หนองคาย สระบุรี ชลบุรี ระยอง สมุทรสาคร กาญจนบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี ราชบุรี เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ พังงา และจังหวัดตรัง ตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2561 – กันยายน 2564 จำนวน 1,010 ตัวอย่าง และเก็บตัวอย่างอาการของโรค Bacterial speck และอาการที่สงสัยนำมาตรวจวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช ตรวจแล้วไม่พบแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *tomato* สาเหตุโรค Bacterial speck ดังนั้น ผลจากการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่า แบคทีเรีย *P. syringae* pv. *tomato* ไม่ปรากฏในพื้นที่ปลูกมะเขือเทศของประเทศไทย

คำสำคัญ: สำรวจ, สถานภาพศัตรูพืช, โรค Bacterial speck, มะเขือเทศ

Abstracts

Thailand has imported tomato seeds (*Solanum lycopersicum* L.) from many countries around the world for use producing parents and consumption of fresh fruit increased the risk that *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* had the potential to infect the seed. A survey of the status of *P. syringae* pv. *tomato* in tomato planting areas of Thailand was therefore required to confirm its status. Specific surveys were carried out in accordance with the International Standard on Phytosanitary Measures No. 6 (Surveillance). In the tomato growing area of 27 provinces, namely Chiang Mai, Chiang Rai, Lampang, Lamphun, Mae Hong Son, Phayao, Tak, Khon Kaen, Loei, Nakhon Phanom, Nakhon Ratchasima, Sakon Nakhon, Si Sa Ket, Udon Thani, Nong Khai, Saraburi, Chonburi, Rayong, Samut Sakhon, Kanchanaburi, Nakhon Pathom, Suphan Buri, Ratchaburi, Phetchaburi, Prachuap Khiri Khan, Phang-nga and Trang from October 2018 to September 2021 total of 1,010 samples were collected for Bacterial speck and suspected symptoms for diagnosis in the Plant Quarantine Research Group laboratory. *P. syringae* pv. *tomato*, the causative agent of Bacterial speck, was not found. Therefore, the results of this study can be concluded that *P. syringae* pv. *tomato* are not present in tomato planting areas of Thailand.

Key words: bacterial speck disease, pest status, survey, tomato

บทนำ

ประเทศเกือบทุกประเทศที่เป็นสมาชิกขององค์การการค้าโลก (WTO) ได้นำมาตรการสุขอนามัยพืชมาใช้เป็นข้อต่อรองในการส่งออกและนำเข้า โดยที่ประเทศผู้ส่งออกต้องส่งบัญชีรายชื่อศัตรูพืชของพืชส่งออกและข้อมูลของศัตรูพืชแต่ละชนิดตามความต้องการของประเทศผู้นำเข้า เพื่อทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ก่อนที่จะอนุญาตให้สินค้าเกษตรนั้นๆ เข้าประเทศ ขณะเดียวกันประเทศผู้นำเข้าจำเป็นต้องมีข้อมูลบัญชีรายชื่อศัตรูของพืชที่นำเข้าด้วย การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูโดยการศึกษาและการสำรวจแบบติดตามข้อมูลศัตรูพืชในแหล่งปลูกเพื่อเป็นการเฝ้าระวัง (Surveillance) เป็นกระบวนการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชชนิดใดชนิดหนึ่งในพื้นที่ ซึ่งการรวบรวมข้อมูลนั้นสามารถทำได้ 2 แบบ ได้แก่ การเฝ้าระวังโดยทั่วไป (general surveillance) โดยการค้นคว้าข้อมูลจากแหล่งข้อมูล และการเฝ้าระวังโดยการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific surveys) สามารถดำเนินการโดยการสำรวจแบบตรวจหา (detection surveys) และการสำรวจแบบมีขอบเขต (delimiting surveys) (McMaugh, 2005) ประโยชน์ของการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจงทั้ง 2 วิธีนี้นอกจากจะสามารถบอกถึงสถานการณ์ของศัตรูพืชในพื้นที่แล้วยังสามารถใช้ข้อมูลที่ได้เป็นการรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืชในกรณีที่ไม่พบศัตรูพืชในพื้นที่นั้นๆ เมื่อมีการรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืชแล้ว การที่จะคงสภาพพื้นที่ปลอดศัตรูพืชจะต้องมีการสำรวจแบบตรวจหาอย่างเป็นระบบข้อมูลต่าง ๆ ที่ได้จากการสำรวจติดตามศัตรูพืชเพื่อการเฝ้าระวังนี้จะส่งให้องค์การอารักขาพืชแห่งชาติ (National Plant Protection Organization, NPPO) นำไปใช้ประโยชน์ ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการเฝ้าระวังนี้สามารถนำไปใช้ในด้านต่าง ๆ เช่น ใช้ในการสนับสนุนการออกประกาศเรื่องการปลอดศัตรูพืช ตลอดจนที่ดำเนินการโดย NPPO เป็นกระบวนการช่วยตรวจหาศัตรูพืชชนิดใหม่ได้ทันเวลา การให้การรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืช เป็นต้น

แบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* สาเหตุโรค Bacterial speck ในมะเขือเทศเป็นเชื้อที่ไม่มีรายงานในประเทศไทยและประกาศเป็นศัตรูพืชกักกันตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 7) พ.ศ. 2550 ภายใต้พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 ที่แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2551 เชื่อดังกล่าว เป็นเชื้อที่มีรายงานการแพร่ระบาดในแหล่งผลิตมะเขือเทศที่สำคัญทางเศรษฐกิจ (Devash *et al.*, 1979) เช่น สาธารณรัฐประชาชนจีน อินเดีย และสหรัฐอเมริกา เป็นต้น แพร่ระบาด ทำความเสียหายเชื้อสามารถติดกับเมล็ดและถ่ายทอดผ่านทางเมล็ดได้ วิธีที่กำจัดทำได้ด้วยวิธีแช่ในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 48 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง โดยที่ไม่มีผลกระทบต่อความงอก (CABI, 2017) และยังคงต้องมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศเข้ามาเพื่อปลูก จึงมีความเสี่ยงที่แบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* จะติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่นำเข้า โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสถานภาพเพื่อเฝ้าระวังศัตรูพืชชนิดนี้ในพื้นที่ปลูกมะเขือเทศ เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการสนับสนุนการออกมาตรการเฝ้าระวังศัตรูพืช การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช และการรายงานศัตรูพืชต่อไป

ระเบียบวิธีการวิจัย

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อชนิดปลอดเชื้อ อุปกรณ์การแยกเชื้อแบคทีเรีย
2. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ตู้เย็นสำหรับเก็บตัวอย่าง หม้อนึ่งความดันไอน้ำ เครื่องเขย่าชนิดควบคุมอุณหภูมิ เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ตู้อบ (oven) เครื่อง Real time PCR
3. เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่น ๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องชั่ง, pH meter เป็นต้น
4. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

วิธีการทดลอง

1. จัดทำคู่มือการสำรวจ โดยการรวบรวมตัวอย่างอ้างอิงและรูปภาพของโรคของมะเขือเทศที่เกิดจาก *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* เพื่อใช้ในการตรวจสอบอ้างอิงขณะทำการสำรวจและจัดทำข้อมูลศัตรูพืช ชื่อสามัญ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพืชาวาศัย อาการของโรค รูปภาพสีของโรคและรายละเอียดของศัตรูพืชชนิดอื่นที่คล้ายคลึงกับศัตรูพืชเป้าหมาย

จัดทำฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจได้แก่ ชื่อที่อยู่ที่ตั้งของแปลง วันและเวลา สภาพดินฟ้าอากาศ ตำแหน่งที่ตั้ง เป็นต้น

2. การสำรวจและเก็บตัวอย่างกำหนดพื้นที่ วางแผนการสำรวจ อย่างมีระบบ สำรวจแบบเฉพาะเจาะจง โดยการสำรวจแบบตรวจหาตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (Surveillance: ISPM No. 6) (FAO, 2018; McMaugh, 2008) กำหนดพื้นที่สำรวจโดยเป็นแหล่งผลิตเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่สำคัญของประเทศ โดยวางแผนการสำรวจในพื้นที่อย่างน้อย 10 แปลงต่อพื้นที่ แต่ละแปลงทำการสุ่มตัวอย่างแบบเป็นระบบ สุ่มตรวจโรค 5 แถวต่อแปลง กำหนดการตรวจแบบแถวเว้นแถว เก็บตัวอย่างที่สงสัยว่าเป็นโรค

วิธีการตรวจเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* ในแปลง เมื่อออกสำรวจให้สังเกตจากลักษณะอาการของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือการสำรวจที่จัดทำไว้ บันทึกรายละเอียดข้อมูลของแปลง บันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป เก็บตัวอย่างห่อกระดาษและใส่ถุง นำกลับมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ การตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ การตรวจสอบโดยการนำตัวอย่างที่เก็บมาหรือสุ่มใบมะเขือเทศที่แสดงอาการคล้ายกับรูปภavnนำมาแยกเชื้อ *P. syringae* pv. *tomato* บนอาหารคัดเฉพาะโคโลนีและยืนยันโดยใช้ specific primer โดยใช้วิธี Polymerase chain reaction (PCR) ตามวิธีของ Jan (2013)

3. การจัดทำรายงานผลการวิจัย โดยการรวบรวมข้อมูลการสำรวจและจำแนกในห้องปฏิบัติการ วิเคราะห์ข้อมูล สรุปผล และจัดทำรายงานผลการวิจัยสถานภาพการปรากฏ/ไม่ปรากฏแบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* สาเหตุโรค Bacterial speck

- บันทึกข้อมูล

- บันทึกรายละเอียดตำแหน่งของแปลงปลูกมะเขือเทศที่ทำการสำรวจ/เก็บตัวอย่าง
- บันทึกข้อมูลจำนวนแปลง และจำนวนตัวอย่างที่ทำการสำรวจ/เก็บตัวอย่าง
- บันทึกข้อมูลชนิดพืช ขนาดพื้นที่ปลูก ระยะการเจริญเติบโตของพืช และสภาพแวดล้อมอื่น ๆ

- บันทึกลักษณะอาการการเกิดโรค ส่วนของพืชที่พบอาการของโรค ประเมินความรุนแรงของโรค และการแพร่กระจายในพื้นที่

- บันทึกข้อมูลชนิดของเชื้อสาเหตุโรคพืช และลักษณะเชื้อสาเหตุที่ตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ
เวลาและสถานที่

ระยะเวลาเริ่มต้น ตุลาคม 2561 – กันยายน 2564

สถานที่

- 1) ห้องปฏิบัติการของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
- 2) แปลงผลิตมะเขือเทศ 27 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง ลำพูน แม่ฮ่องสอน พะเยา ตาก ขอนแก่น เลย นครพนม นครราชสีมา สกลนคร ศรีสะเกษ อุตรธานี หนองคาย สระบุรี ชลบุรี ระยอง สมุทรสาคร กาญจนบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี ราชบุรี เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ พังงา และจังหวัดตรัง

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

การสืบค้นข้อมูล มะเขือเทศ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Solanum lycopersicum* L. จัดอยู่ในวงศ์มะเขือ (Solanaceae) เป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ และอุตสาหกรรมพืชหนึ่งของประเทศไทย แบ่งเป็น 2 ประเภทคือ มะเขือเทศส่งโรงงานอุตสาหกรรม และมะเขือเทศรับประทานผลสด จากข้อมูลการผลิตมะเขือเทศของสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร ในปี 2561 มีพื้นที่ปลูกมะเขือเทศในประเทศไทยประมาณ 36,452 ไร่ มีผลผลิต 123,609 ตัน และปริมาณและมูลค่าการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศเพื่อการค้า ในปี 2562 มีปริมาณ 6.08 ตัน มูลค่า 72.93 ล้านบาท (สำนักควบคุมพืชและวัสดุเกษตร, 2562)

แบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* สาเหตุโรค Bacterial speck ในมะเขือเทศเป็นเชื้อที่ไม่มีรายงานในประเทศไทยและประกาศเป็นศัตรูพืชกักกันตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 7) พ.ศ. 2550 ภายใต้พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 ที่แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2551 เชื้อ *P. syringae* pv. *tomato* เป็นมะเขือเทศเป็นพืชอาศัยหลัก (Yan et al., 2008) ลักษณะอาการเกิดจุดแผลฉ่ำน้ำ ต่อมาเป็นแผลเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเป็นวงรอบแผล มีสีเหลืองรอบแผล แผลลุกลามขยายติดกันกลายเป็นสีน้ำตาล ทั้งใบและร่วง อาการเกิดได้ทั้งบนใบและผล ในผลเป็นจุดสีดำ ตรงกลางนูนคล้ายแผลสะเก็ด (scab) เชื้อแบคทีเรียสามารถเข้าทำลายได้เกือบทุกส่วนของพืช เช่น ใบ ลำต้น ดอก ผล และเมล็ด เชื้อที่มีรายงานการแพร่ระบาดในแหล่งผลิตมะเขือเทศที่สำคัญทางเศรษฐกิจ (Devash et al., 1979) เช่น สาธารณรัฐประชาชนจีน อินเดีย และสหรัฐอเมริกา เป็นต้น แพร่ระบาด ทำความเสียหาย เชื้อสามารถติดกับเมล็ดและถ่ายทอดผ่านทางเมล็ดได้ วิธีที่กำจัดทำได้ด้วยวิธีแช่น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 48 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง โดยที่ไม่มีผลกระทบต่อความงอก (CABI, 2019)

จัดทำคู่มือการสำรวจ โดยรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะอาการของโรค Bacteria speck ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *tomato* (Figure 1- Figure 4) จัดทำฟอร์มรายละเอียดของการบันทึกข้อมูลในการสำรวจ โดยมีรายละเอียดของที่ตั้งแปลง ข้อมูลพิกัดภูมิศาสตร์ ชนิดพืชชนิดศัตรูพืช ข้อมูลตัวอย่างชื่อผู้เก็บตัวอย่าง วันเดือนปีที่เก็บ

การสำรวจ วางแผนการสำรวจแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *tomato* ในแปลงปลูกมะเขือเทศ แบบเฉพาะเจาะจงตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (Surveillance: ISPM No.

6) วางแผนการสำรวจในพื้นที่อย่างน้อย 10 แปลงต่อพื้นที่ แต่ละแปลงทำการสุ่มตัวอย่างอย่างเป็นระบบ สุ่มตรวจโรค 5 แถวต่อแปลง กำหนดการตรวจแบบแถวเว้นแถวแล้วเก็บตัวอย่างที่สงสัยว่าเป็นโรคในแปลงปลูกมะเขือเทศ โดยทำการสำรวจในแปลงปลูกมะเขือเทศ ตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2561 - กันยายน 2564 ในพื้นที่ 27 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง ลำพูน แม่ฮ่องสอน พะเยา ตาก ขอนแก่น เลย นครพนม นครราชสีมา สกลนคร ศรีสะเกษ อุตรธานี หนองคาย สระบุรี ชลบุรี ระยอง สมุทรสาคร กาญจนบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี ราชบุรี เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ พังงา และจังหวัดตรัง จำนวน 1,010 ตัวอย่าง จากการสำรวจ *P. syringae* pv. *tomato* ไม่พบลักษณะอาการของโรค Bacterial speck ในแปลงปลูกมะเขือเทศ แต่พบลักษณะอาการใบจุดและลักษณะอาการคล้ายโรค Bacterial speck ทำการเก็บตัวอย่างต้องสงสัยทั้งหมด เพื่อมาตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการต่อไป

การตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ จากการนำตัวอย่างต้องสงสัยทั้งหมดมาตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ โดยการนำตัวอย่างใบมะเขือเทศที่เก็บมาจากแปลง มาแยกเชื้อแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *tomato* ด้วยวิธี tissue transplanting ทำตัดใบพืชเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมเล็กๆ ขนาดประมาณ 2 x 2 มิลลิเมตร ระหว่างรอยต่อของส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค ฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอโรกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรอง ภายใต้กระแสลมตู้เย็นเชื้อ แล้ววางพืชลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar (NA) และอาหารเลี้ยงเชื้อ King's B Medium หรือบนอาหาร Yeast Peptone Glucose Agar (YPGA) นำจานเลี้ยงเชื้อไปเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน จึงนำมาตรวจสอบหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรีย ไม่พบแบคทีเรียที่โคโลนีที่สร้าง apricot orange pigment ดังนั้น ผลการตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ ไม่พบเชื้อแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *tomato* สาเหตุโรค Bacterial speck (Table 1)

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการตรวจสอบสภาพของแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *tomato* ในพื้นที่ปลูกมะเขือเทศของประเทศไทย เพื่อเป็นการยืนยันสถานภาพจึงดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะจงตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (เผ่าระวัง) ในแปลงปลูกมะเขือเทศในพื้นที่ 27 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง ลำพูน แม่ฮ่องสอน พะเยา ตาก ขอนแก่น เลย นครพนม นครราชสีมา สกลนคร ศรีสะเกษ อุตรธานี หนองคาย สระบุรี ชลบุรี ระยอง สมุทรสาคร กาญจนบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี ราชบุรี เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ พังงา และจังหวัดตรัง ตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2561 - กันยายน 2564 และเก็บตัวอย่างอาการของโรค Bacterial speck และอาการที่สงสัยนำมาตรวจวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช จำนวน 1,010 ตัวอย่าง ตรวจแล้วไม่พบแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *tomato* สาเหตุโรค Bacterial speck ดังนั้นผลจากการศึกษาครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่าแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *tomato* ไม่ปรากฏในพื้นที่ปลูกมะเขือเทศของประเทศไทย

Table 1 Detective survey of *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* in production area of tomato in Thailand (October 2018 to September 2021).

No	Production area of tomato			Samples	Lab. results
	Sub district	District	Province		
1	Mueang	Mueang	Chiang Mai	15	Not found
2	Chang Phueak	Mueang	Chiang Mai	15	Not found
3	Banloung	Chomthong	Chiang Mai	15	Not found
4	Banloung	Chomthong	Chiang Mai	15	Not found
5	Soptai	Chomthong	Chiang Mai	15	Not found
6	Mae Taeng	Mae Taeng	Chiang Mai	15	Not found
7	Mae Win	Maewang	Chiang Mai	15	Not found
8	Mae Soon	Fang	Chiang Mai	5	Not found
9	San Sai	Fang	Chiang Mai	10	Not found
10	Tha Ton	Mae Ai	Chiang Mai	15	Not found
11	Si Dong Yen	Chaiprakarn	Chiang Mai	15	Not found
12	Bo Kaeo	Samoeng	Chiang Mai	15	Not found
13	Sanpapao	San Sai	Chiang Mai	15	Not found
14	Mae Kon	Mueang	Chiang Rai	15	Not found
15	Nam Cho	Mae Tha	Lampang	15	Not found
16	Ban Pan	Mueang	Lamphun	15	Not found
17	Lao Yao	Banhong	Lamphun	15	Not found
18	Tha Khum Ngoen	Mae Tha	Lamphun	15	Not found
19	Pha Bong	Mueang	Mae Hong Son	15	Not found
20	Bantun	Muang Phayao	Phayao	15	Not found
21	Khiritat	Phop Phra	Tak	15	Not found
22	Pa Wai Nang	Ban Fang	Khon Kaen	15	Not found
23	Nong Bua	Ban Fang	Khon Kaen	15	Not found
24	Sawathi	Mueang	Khon Kaen	15	Not found
25	Na Pong	Mueang	Loei	15	Not found
26	Pla Ba	Phu Ruea	Loei	15	Not found
27	Rong Chik	Phu Ruea	Loei	15	Not found
28	Lao Pattana	Na Wa	Nakhon Phanom	15	Not found
29	Na Wa	Na Wa	Nakhon Phanom	15	Not found
30	Tha Ruea	Na Wa	Nakhon Phanom	15	Not found
31	Pak Chong	Pak Chong	Nakhon Ratchasima	15	Not found
32	Phaya Yen	Pak Chong	Nakhon Ratchasima	15	Not found
33	Klang Dong	Pak Chong	Nakhon Ratchasima	15	Not found
34	Ban Duea	Mueang	Nong Khai	15	Not found
35	Pan Phrao	Sri Chiang Mai	Nong Khai	15	Not found
36	Ba Wa	Akat Amnuai	Sakhon Nakhon	15	Not found
37	Nahee	Akat Amnuai	Sakhon Nakhon	15	Not found
38	Phon Ngam	Akat Amnuai	Sakhon Nakhon	15	Not found

Table 1 Continued

No	Production area of tomato			Samples	Lab. results
	Sub district	District	Province		
39	Phon Phang	Akat Amnuai	Sakhon Nakhon	15	Not found
40	Wa Yai	Akat Amnuai	Sakhon Nakhon	15	Not found
41	Huai Yang	Mueang	Sakhon Nakhon	15	Not found
42	Haiyong	Phang Khon	Sakhon Nakhon	15	Not found
43	Rae	Phang Khon	Sakhon Nakhon	15	Not found
44	Ton Phueng	Phang Khon	Sakhon Nakhon	15	Not found
45	Chanphen	Tao Ngoi	Sakhon Nakhon	15	Not found
46	Bahah	Panna Nikhon	Sakhon Nakhon	15	Not found
47	Choeng Chum	Panna Nikhon	Sakhon Nakhon	15	Not found
48	Rai	Panna Nikhon	Sakhon Nakhon	15	Not found
49	Wang Yang	Panna Nikhon	Sakhon Nakhon	15	Not found
50	Khua Khai	Wanon Niwat	Sakhon Nakhon	15	Not found
51	Nakham	Wanon Niwat	Sakhon Nakhon	15	Not found
52	Na Sor	Wanon Niwat	Sakhon Nakhon	15	Not found
53	Wanon Niwat	Wanon Niwat	Sakhon Nakhon	15	Not found
54	Nong Phai	Mueang	Si Saket	10	Not found
55	Mueang Phia	Kut Chap	Udon Thani	15	Not found
56	Wang Dong	Mueang	Kanchana Buri	15	Not found
57	Nong Phlap	Hua Hin	Prachuap Khiri Khan	15	Not found
58	Huai Sai	Mueang	Prachuap Khiri Khan	15	Not found
59	Don Toom	Bang Len	Nakhon Pathom	15	Not found
60	Kamphaengsaen	Kamphaengsaen	Nakhon Pathom	15	Not found
61	Tung Khang	Kamphaengsaen	Nakhon Pathom	15	Not found
62	Suan Phueng	Suan Phueng	Ratchaburi	15	Not found
63	Ban Bueng	Ban Kha	Ratchaburi	15	Not found
64	Ban Rai	Damnoen Saduak	Ratchaburi	5	Not found
65	Ban Sing	Photharam	Ratchaburi	5	Not found
66	Kaeng Krachan	Kaeng Krachan	Phetchaburi	15	Not found
67	Chet Rio	Ban Phaeo	Samut Sakhon	5	Not found
68	Chorakhe Sam Phan	U Thong	Suphan Buri	5	Not found
69	Plai Na	Si Prachan	Suphan Buri	5	Not found
70	Nong Yang Suea	Muak Lek	Saraburi	15	Not found
71	Na Chom Thian	Sattahip	Chon Buri	15	Not found
72	Sam Nak Thon	Ban Chang	Rayong	5	Not found
73	Bang Muang	Takua Pa	Phang-nga	5	Not found
74	Khok Lo	Mueang	Trang	5	Not found



Figure 1 Symptoms of bacterial spot disease caused by *Pseudomonas syingae* pv. *tomato*.
Source: Regents, Univ. California, USA.



Figure 2 Symptoms of bacterial spot disease caused by *Pseudomonas syingae* pv. *tomato*.
Source: Courtesy of Eugene Miyao University of California Division of Agriculture and Natural Resources.



Figure 3 Symptoms of bacterial spot disease caused by *Pseudomonas syingae* pv. *tomato*.
Source: Courtesy of Enrico Biondi, Department of Agricultural Sciences,
University of Bologna.



Figure 4 Symptoms of bacterial spot disease caused by *Pseudomonas syingae* pv. *tomato*.
Source: Courtesy of Enrico Biondi, Department of Agricultural Sciences,
University of Bologna.

การทดลองที่ 15

การศึกษาสถานภาพเชื้อไวรัส *Maize dwarf mosaic virus* ในประเทศไทย

Study situation of *Maize dwarf mosaic virus* disease in Thailand

สิทธิศักดิ์ แสนไพศาล^{1/} ชลธิชา รักใคร่^{2/} ปรียพรรณ พงศาพิชญ์^{2/}

^{1/}ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรระนอง สำนักวิจัยวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 7

^{2/}กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

สำรวจและเก็บตัวอย่างใบข้าวโพดที่แสดงอาการคล้ายโรคไวรัสในแหล่งปลูกที่สำคัญของประเทศไทย เพื่อจำแนกชนิดของเชื้อไวรัส *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV) พื้นที่ภาคกลาง (7 จังหวัด) ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (6 จังหวัด) และภาคเหนือ (6 จังหวัด) ดำเนินการสำรวจในปี 2562-2564 โดยสุ่มเก็บตัวอย่างแบบเจาะจงต้นที่แสดงอาการของโรค รวมจำนวนตัวอย่างใบข้าวโพดที่เก็บทั้งหมด 1,059 ตัวอย่าง พบว่า ใบข้าวโพดในแปลงปลูกแสดงอาการผิดปกติที่แตกต่างกัน เช่น อาการต่าง (mosaic) ต่างเหลือง (yellow mosaic) ต่างจุดประ (chlorotic mottle) ต่างเป็นขีด (streak) อาการแถบเหลือง (yellow stripe) ต่างเป็นวง (ringspot mosaic) และอาการเตี้ยแคระ (dwarf) ซึ่งอาการอาจพบเดี่ยวๆ หรือพบร่วมกัน ผลการตรวจสอบเชื้อไวรัสด้วยวิธี indirect enzyme-linked immunosorbent assay (Indirect ELISA) โดยใช้แอนติซีรั่มที่มีความจำเพาะต่อเชื้อ *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV) ไม่พบเชื้อไวรัส MDMV ในทุกตัวอย่าง แสดงให้เห็นว่าในแหล่งปลูกข้าวโพดที่สำคัญในประเทศไทยนั้นยังไม่พบการระบาดของเชื้อไวรัส MDMV

คำสำคัญ: ข้าวโพด, โรคไวรัส, *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV)

Abstracts

The samples of corn leaves with symptoms similar to that of virus diseases in important farms in Thailand in order to identify *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV) in the central part (seven provinces), the northeastern part (six provinces) and the northern part (six provinces) of Thailand were surveyed and collected. The survey was conducted during 2019- 2021. The purposive sampling method was used. The number of the samples was 1,059. It was found that the corn leaves in the plots had symptoms such as mosaic, yellow mosaic, chlorotic mottle, streak, yellow stripe, ringspot mosaic and dwarf. Only single symptom or multiple symptoms could be found in a sample. The results of the indirect enzyme-linked immunosorbent assay (Indirect ELISA) with the specific antiserum for *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV) did not indicate MDMV in all samples. This showed that the important farms did not have MDMV endemic.

Key words: corn, virus diseases, *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV)

บทนำ

ข้าวโพด (Maize หรือ Corn, *Zea mays* L.) เป็นธัญพืช (cereal crop) เป็นพืชที่จัดอยู่ใน family *Poaceae* (*Gramineae*) (ราเซนเทอร์, 2539) ข้าวโพด (*Zea mays* L.) เป็นหนึ่งในพืชที่มีการเพาะปลูกมากที่สุดในโลก เป็นพืชผลที่ใหญ่เป็นอันดับสามที่ปลูกในประเทศกำลังพัฒนา และได้รับการระบุว่าเป็นอาหารหลักที่สำคัญในแอฟริกา (Maathavi *et al.*, 2018) ที่ใช้ประโยชน์เป็น แหล่งอาหารของมนุษย์และสัตว์ ในบรรดาพืชอาหารที่ใช้เมล็ดด้วยกัน ข้าวโพดจัดว่าเป็นพืชที่มีความสำคัญเป็น อันดับ 3 ของโลก มีการผลิตทั่วไปในเขตอบอุ่น (temperate) เขตอากาศกึ่งร้อนชื้น (subtropic) และ พื้นที่ราบเขตร้อน (lowland tropic) ข้าวโพดสามารถปรับตัวได้ดีในสภาพแวดล้อมที่กว้างขวาง (กฤษณา, 2537) ข้าวโพดเป็นธัญพืชที่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงประมาณ 71 เปอร์เซ็นต์ มีโปรตีนต่ำประมาณ 9.5 เปอร์เซ็นต์ และมีโปรตีนประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ ในเมล็ดและในต้นอ่อนจะมีคุณภาพทางอาหารสูง ขณะเดียวกันการเพาะปลูกข้าวโพดนั้น ต้องประสบปัญหาทั้งโรคและแมลงเข้าทำลายข้าวโพดในแปลงปลูก โดยเฉพาะปัญหาทางด้านโรคซึ่งมีความสำคัญต่อการเพาะปลูกและการผลิตเมล็ดพันธุ์ของข้าวโพด หนึ่งในนั้นคือการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสที่ก่อให้เกิดอาการใบด่างลาย ใบด่างปะจุดเหลือง และใบด่างแคระ ส่งผลต่อลักษณะทางกายภาพของข้าวโพด เมื่อถูกเชื้อไวรัสเข้าทำลายโดยเฉพาะบริเวณใบจะเปลี่ยนรูปร่าง ใบจะเป็นสีเขียวสลับกับเหลือง ใบเป็นจุดด่าง ใบซีด รวมไปถึงลำต้นเตี้ยแคระแกร็นไม่เจริญเติบโต ส่วนฝักข้าวโพดจะเล็กฝ่อไม่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ Makone *et al.*, (2014) และ Nelson *et al.*, (2011) เชื้อไวรัสที่สำคัญในการเข้าทำลายและก่อให้เกิดความเสียหายแก่ข้าวโพดหวานนั้น ได้แก่ เชื้อ *Sugarcane mosaic Virus* (SCMV), *Maize dwarf mosaic Virus* (MDMV) และ *Maize Chlorotic Mottle Virus* (MCMV) อาการและความรุนแรงของโรคไวรัสที่พบยังขึ้นอยู่กับอายุของพืชและพันธุ์ที่เกษตรกรใช้ ซึ่งเชื้อ SCMV และ MDMV จัดอยู่ใน family *Potyviridae* ส่วนเชื้อ MCMV จัดอยู่ใน family *Tombusviridae* (Nault *et al.*, 1978) โดยจะพบ inclusion body แบบ pinwheel ในใบพืชที่เป็นโรค, และจากรายงานการศึกษาวิธีการถ่ายทอดเชื้อ พืชอาศัยและความสัมพันธ์ทางเซรัมวิทยา พบว่าเชื้อไวรัส MDMV เป็น strain หนึ่งของ SCMV (Tosic and Ford, 1974; ธีระ, 2532; Shepherd, 1965) การเข้าทำลายของเชื้อไวรัสดังกล่าวก่อให้เกิดโรคแห้งตายในข้าวโพด (maize lethal necrosis disease, MLND) จากรายงานของ Wangai *et al.*, (2012) พบว่าโรคแห้งตายก่อให้เกิดความเสียหายต่อข้าวโพดได้มากถึง 100% ในประเทศเคนยาและความรุนแรงของโรคจะขึ้นอยู่กับชนิดของพันธุ์ข้าวโพดและสภาพภูมิอากาศในปีนั้นๆ ถ้าพบเชื้อ MCMV เข้าทำลายข้าวโพดร่วมกับเชื้อไวรัสในกลุ่ม *Potyviridae* เช่น การเข้าทำลายของเชื้อ MCMV กับเชื้อ MDMV หรือร่วมกับเชื้อ *Wheat streak mosaic virus* (WSMV) ในลักษณะปฏิสัมพันธ์ร่วมกันของเชื้อ (synergistic reaction) ข้าวโพดจะแสดงอาการของโรคที่รุนแรงมากกว่าการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสเพียงชนิดเดียว ส่งผลให้การติดฝักน้อยลง หากเกิดกับข้าวโพดสายพันธุ์ที่มีความอ่อนแอจะไม่ให้ผลผลิต ลำต้นแคระแกร็นอย่างรุนแรง ลำต้นแห้งตาย เชื้อไวรัสสามารถถ่ายทอดโรคโดยอาศัยแมลงพาหะซึ่งเชื้อ SCMV และ MDMV สามารถถ่ายทอดโดยอาศัยเพลี้ยอ่อน และจากรายงานของ (Maathavi *et al.*, 2018) กล่าวว่าโดยทั่วไปการสูญเสียผลผลิตข้าวโพดที่เกิดจาก MDMV อาจสูงถึง 70% สาเหตุหลักมาจากการลดอัตราการสังเคราะห์แสงและอัตราการหายใจของพืชที่ความสูง โดย Shukla *et al.* (1994) รายงานว่า *Maize dwarf mosaic virus* สายพันธุ์ B (MDMV-B) อยู่ในวงศ์ *Potyviridae* เป็น subgroup ของเชื้อ *Sugarcane mosaic virus* (SCMV-MDB) ถ่ายทอดโรคโดยมีแมลงเป็นพาหะและโดยวิธีกล ซึ่งการสำรวจและจำแนกชนิดของเชื้อไวรัส ทำให้ทราบสถานการณ์ปัจจุบันของการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัสในพื้นที่ปลูกข้าวโพด เพื่อเป็นการเฝ้าระวังและวางแผนป้องกันกำจัดโรคให้ทันทั่วถึง อีกทั้งทราบถึงสถานการณ์การระบาด ตลอดจนชนิดของเชื้อไวรัสที่เข้าทำลายในแหล่งปลูกข้าวโพดที่สำคัญในประเทศไทย จากที่เคยมีรายงานตั้งแต่ ปี 2527 ที่พบการระบาดรุนแรงในแหล่งปลูกข้าวโพด จนถึงปัจจุบันนั้นยังคงมีการระบาดหรือไม่อย่างไร

ระเบียบวิธีการวิจัย

อุปกรณ์

1. เครื่องจับพิกัดที่ตั้งแปลง (GPS)
2. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่าง ได้แก่ กล้องเก็บความเย็น น้ำแข็งแห้ง ถุงพลาสติก กระดาษหนังสือพิมพ์ ปากกา
3. แอนติซีรัมเชื้อไวรัส *Maize dwarf mosaic Virus* (MDMV)
4. โกร่งสำหรับบดตัวอย่างใบข้าวโพดหวาน
5. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนของแสง
6. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการสำหรับตรวจสอบทางเซรุ่มวิทยา ได้แก่ ELISA plate บัฟเฟอร์ polyclonal antibodies, Goat anti-rabbit IgG conjugate with alkaline phosphatase, PBS-Tween 20, NaOH, Micropipette

วิธีการทดลอง

1. สืบค้นข้อมูล

- สืบค้นข้อมูลลักษณะของเชื้อไวรัส *Maize dwarf mosaic Virus* (MDMV) รายละเอียดของเชื้อ ชื่อ วิทยาศาสตร์ ลักษณะอาการโรค การเข้าทำลาย การแพร่ระบาด เป็นต้น
- สืบค้นข้อมูลของพืชอาศัยของเชื้อไวรัส *Maize dwarf mosaic Virus* (MDMV) ได้แก่ ชนิดของพืชอาศัย ชื่อ วิทยาศาสตร์ เป็นต้น
- สืบค้นข้อมูลแหล่งปลูกข้าวโพด ได้แก่ พื้นที่ปลูก พันธุ์ปลูก
- จัดทำแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ

โดยรวบรวมข้อมูลลักษณะอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส *Maize dwarf mosaic Virus* (MDMV) พร้อมรูปภาพเพื่อใช้ตรวจสอบอาการที่พบในแปลง ตลอดจนรายละเอียดของลักษณะอาการที่คล้ายกับอาการของพืชเป้าหมาย จัดทำแบบฟอร์มสำรวจ เพื่อบันทึกข้อมูล สถานที่ วันที่เก็บ ข้อมูลพิกัดภูมิศาสตร์

2. การสำรวจ

กำหนดพื้นที่ แหล่งปลูกข้าวโพดในเขตพื้นที่ภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ วางแผนการสำรวจสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง โดยการสำรวจแบบตรวจหา กำหนดพื้นที่ ในจังหวัดแต่ละพื้นที่สำรวจเก็บตัวอย่างใบของต้นข้าวโพด ที่แสดงอาการคล้ายโรคไวรัสที่เกิดจากเชื้อ *Maize dwarf mosaic Virus* (MDMV) ในแหล่งปลูกที่สำคัญในประเทศไทย แบ่งเป็น เก็บในพื้นที่ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคกลาง การสุ่มสำรวจแปลงและคัดเลือกจากพื้นที่ที่มีการปลูกข้าวโพดมากหรือปานกลางในแต่ละจังหวัด ซึ่งวิธีการสุ่มเก็บตัวอย่างในแต่ละพื้นที่จะมีจำนวนตัวอย่างที่ไม่เท่ากันเนื่องจากขึ้นอยู่กับจำนวนพื้นที่ปลูกและจำนวนแปลงปลูกในพื้นที่นั้นๆ และการสุ่มเก็บตัวอย่างจะสุ่มเก็บแบบจำเพาะเจาะจง เฉพาะต้นข้าวโพดที่แสดงอาการคล้ายไวรัสที่เกิดจากเชื้อ MDMV โดยมีรูปแบบการเดินเก็บแบบสุ่มเป็นรูปตัวยูคว่ำและหงายสลับกันไป เป็นหลักการเก็บแบบ grid pattern (Canada/USA PVY-n Management plan) ที่นำมาใช้สุ่มเก็บตัวอย่างในแปลงปลูกข้าวโพดสำหรับตรวจหาเชื้อไวรัส MDMV จะเก็บเฉพาะตัวอย่างที่แสดงอาการที่สงสัยว่าเป็นโรค โดยการเดินสำรวจในแปลงจะหาเฉพาะต้นเป็นโรค เดินแบบ grid pattern จะเดินเป็นรูปตัว U คู่อ้อมตลอดแถวแล้วเดินเว้นไป 10 แถว หรือ 10 เมตร เดินเข้าแถวที่ 10 และ 11 แล้วเดินตลอดแถวมาจนทะลุหัวแถว ขณะเดินสามารถมองสำรวจดูออกไปในรัศมีของแถวที่

9, 10, 11 และ 12 ได้เป็น 4 แถว เมื่อมาถึงปลายแถวก็เดินขึ้นไปข้างหน้าของแถวที่ยังไม่ได้เดินผ่าน เดินผ่านหัวแถวเว้นไปอีก 10 แถว เดินเข้าระหว่างแถวที่ 20 และ 21 เดินดูได้ อีก 4 แถวคือ 19, 20, 21 และ 22 จึงเดินเป็นรูปตัว U คว่ำหางชนกันไปตลอดแปลง จากนั้นทำการบันทึกข้อมูลพืช สถานที่เก็บ วันที่เก็บ การเก็บตัวอย่างใบจะห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ก่อนเก็บใส่ ถุงซิปล้างแล้วบรรจุลงในกล่องโฟมที่มีน้ำแข็ง เพื่อรักษาความเย็นก่อนนำกลับมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธี Indirect ELISA โดยทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

3. การตรวจสอบโรคไวรัสในข้าวโพดด้วยเทคนิค Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)

วิธี indirect ELISA ดัดแปลงมาจาก โดยตรวจสอบเชื้อไวรัส MDMV ด้วยชุด Kit Agdia (Agdia, Inc, Diagnostic center in Elkhart County, Indiana, USA) เตรียม Loading diagram สำหรับการทดสอบ Coat Capture Antibody โดยการเจือจาง Capture Antibody ด้วย Carbonate Coating buffer ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 1 เท่า (1X) ในอัตราส่วนตามที่ระบุข้างหลอด (ตามคำแนะนำของบริษัท) จากนั้นเติม Capture Antibody ที่เจือจางแล้วลงใน plate ELISA ปริมาณ 100 ไมโครลิตร บ่มในกล่องขึ้นที่ 37°C นาน 4 ชม. จากนั้นล้าง plate ด้วย PBST buffer 4-8 ครั้งอย่างรวดเร็ว บดตัวอย่างใบข้าวโพดด้วย General Extract buffer ในอัตราส่วน 1:10 (weight :General Extract buffer) และเติมตัวอย่างพืชที่เป็นโรค (positive control) และตัวอย่างควบคุมน้ำคั้นจากใบข้าวโพดปกติ (negative control) ปริมาตร 100 ไมโครลิตรลงใน plate ELISA บ่มในกล่องความชื้นที่ 37°C นาน 2 ชม. จากนั้นล้าง plate ด้วย PBST buffer 4-8 ครั้งอย่างรวดเร็ว เตรียม Enzyme Conjugate โดยการเจือจางแล้วในปริมาตร 100 ไมโครลิตรด้วย ECI buffer ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 1 เท่า (1x) ในอัตราส่วนที่ระบุข้างหลอด โดยเตรียมก่อนใช้งานประมาณ 10 นาที จากนั้นจึงเติม enzyme conjugate ที่เจือจางแล้ว ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงใน plate ELISA บ่มในกล่องขึ้นที่ 37°C นาน 2 ชม. แล้วล้าง plate ด้วย PBST buffer 4-8 ครั้งอย่างรวดเร็ว ขั้นตอนต่อไปเติม PNP substrate buffer ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในหลุม plate ELISA บ่มในกล่องขึ้นที่ 37°C นาน 30-60 นาที ตรวจสอบผลการทดสอบโดยการดูสีเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (control) ได้แก่ สารละลายบัฟเฟอร์ negative control และ positive control แล้วหยุดปฏิกิริยาด้วย 3 M sodium hydroxide ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ตรวจสอบผลของปฏิกิริยาด้วยการวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Multiskan go (Thermo Fisher Scientific Inc., MA, USA.) ซึ่งจะทำการอ่านค่าการดูดกลืนของแสงที่คลื่น 405 นาโนเมตร โดยค่า O.D.₄₀₅ ที่วัดได้ถือเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณของเชื้อไวรัส

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มต้นเดือนตุลาคม 2562 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2564

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1. สืบค้นข้อมูลและทำการสำรวจ เก็บตัวอย่างใบข้าวโพด

สำรวจและเก็บตัวอย่างใบข้าวโพดที่แสดงอาการของโรคไวรัสในแหล่งปลูกที่สำคัญของประเทศไทย ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างใบข้าวโพด นำมาตัดแยกตัวอย่างจากแหล่งปลูกในเขตพื้นที่ต่างๆ ซึ่งจากจำนวนตัวอย่างที่ไม่เท่ากันจากจำนวนพื้นที่ปลูกและจำนวนแปลงปลูกข้าวโพดในพื้นที่นั้นๆ การสุ่มเก็บตัวอย่างจะสุ่มเก็บแบบจำเพาะเจาะจง เฉพาะต้นข้าวโพดที่แสดงอาการคล้ายไวรัส รวมทั้งรูปแบบการเดินเป็นแบบสุ่มเป็นการเก็บแบบ grid pattern ผลการเก็บตัวอย่างใบในพื้นที่ภาคเหนือ ได้แก่ อ.เมือง จ.เชียงราย จำนวน 42 ตัวอย่าง, อ.แม่สาย อ.ฝาง อ.ไชยปราการ อ.สันทราย อ.แม่แตง อ.เชียงดาว จ.เชียงใหม่ จำนวน 70 ตัวอย่าง, อ.แจ้ห่ม จ.ลำปาง จำนวน 17 ตัวอย่าง, อ.แม่สอด อ.พบพระ จ.ตาก จำนวน 87 ตัวอย่าง, อ.ปัว อ.ท่าวังผา จ.น่าน จำนวน 30 ตัวอย่าง, อ.ร่องกวาง อ.สอง จ.แพร่ จำนวน 81 ตัวอย่าง ภาคกลาง ได้แก่ อ.ท่าหลวง อ.ลำสนธิ อ.ชัยบาดาล จ.ลพบุรี จำนวน 132 ตัวอย่าง, อ.บ้านหม้อ อ.พระพุทธบาท อ.มวกเหล็ก จ.สระบุรี จำนวน 74 ตัวอย่าง, อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์ จำนวน 123 ตัวอย่าง, อ.จอมบึง จ.ราชบุรี จำนวน 12 ตัวอย่าง, อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม จำนวน 15 ตัวอย่าง, อ.เมือง อ.ศรีประจันต์ อ.สามชุก จ.สุพรรณบุรี จำนวน 33 ตัวอย่าง, และ อ.เมือง อ.ด่านมะขามเตี้ย อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี จำนวน 132 ตัวอย่าง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ อ.เมือง อ.ศรีเชียงใหม่ อ.โพนพิสัย จ.หนองคาย จำนวน 11 ตัวอย่าง, อ.ปากช่อง อ.ครบุรี อ.เสิงสาง จ.นครราชสีมา จำนวน 131 ตัวอย่าง, อ.ด่านซ้าย อ.ท่าลี่ อ.เชียงคาน อ.วังสะพุง จ.เลย จำนวน 42 ตัวอย่าง อ.เดชอุดม อ.นาเยีย อ.เซียงโน อ.ยางชุมน้อย จ.อุบลราชธานี จำนวน 8 ตัวอย่าง, อ.บ้านฝาง อ.น้ำพอง จ.ขอนแก่น จำนวน 15 ตัวอย่าง และ อ.กันทรลักษ์ อ.ขุนหาญ จ.ศรีสะเกษ จำนวน 4 ตัวอย่าง รวมจำนวนตัวอย่างใบข้าวโพดที่เก็บจากแปลงปลูกของเกษตรกรในแหล่งปลูกที่สำคัญ ทั้งหมด 1,059 ตัวอย่าง พบว่า ใบข้าวโพดที่ตรวจพบมีลักษณะอาการคล้ายไวรัส พบเกิดเป็นขีดขีดบริเวณโคนใบ บริเวณกลางใบและจะลุกลามเป็นขีดตามแนวความยาวของใบ ลุกลามทั่วบริเวณใบและยังพบลักษณะอาการมีขีดประสีเหลืองขีดสลับกับเขียวเข้มและอ่อนจุดขีดเหลืองตามแนวใบและมีอาการ (mottle) เป็นดวงขีดขาว ทั้งยังพบลักษณะอาการเป็นขีดขนขีดเหลืองตามโคนใบตลอดจนทั่วทั้งใบ บางครั้งพบว่ามีอาการใบขีดและเป็นจุดขีดเหลืองบริเวณใบและปลายใบมีอาการแห้งแกร็น (ภาพที่ 1) ใบมีขีดเหลืองขีดตามเส้นใบและมีอาการนูนที่ชัดเจนทั่วบริเวณใบ ซึ่งตามรายงานของ ชูติมันและคณะ (2542) ข้าวโพดจะแสดงอาการเป็นจุดสีขีด (chlorotic spot) บริเวณฐานของใบอ่อนที่แตกใหม่ จากนั้นอาการจะขยายออกไปเป็นขีดสั้นๆ (broken streak) ไปตามแนวของเส้นใบ ถ้าเชื้อเข้าทำลายในระยะกล้าข้าวโพดจะชะงักการเจริญเติบโต เมื่อข้าวโพดแก่ใบเปลี่ยนเป็นสีม่วงหรือม่วงแดง ลักษณะอาการของโรคบางครั้งคล้ายกับโรคราน้ำค้าง จากอาการที่พบในหลายลักษณะบนใบข้าวโพดจะมีความแตกต่างกัน คือ ต่าง (mosaic) ต่างเหลือง (yellow mosaic) ต่างจุดประ (chlorotic mottle) ต่างเป็นขีด (streak) อาการแถบเหลือง (yellow stripe) ต่างเป็นวง (ringspot mosaic) และอาการเตี้ยแคระ (dwarf) ซึ่งอาการอาจพบเดี่ยวๆ หรือพบร่วมกัน จากนั้นเก็บตัวอย่างใบสดข้าวโพดห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ใส่ในถุงพลาสติก บรรจุลงในกล่องเก็บความเย็นเพื่อนำกลับไปตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ ซึ่งตัวอย่างทั้งหมดนำมาตรวจสอบโรคไวรัสในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Indirect ELISA โดยทดสอบตัวอย่างละ 2 ซ้ำ

2. การตรวจสอบโรคไวรัสในข้าวโพดหวานด้วยเทคนิค Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)

เมื่อสุ่มเก็บตัวอย่างใบข้าวโพดหวานที่แสดงอาการคล้ายเชื้อไวรัสในแหล่งปลูกที่สำคัญทั้งภาคเหนือ ภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ รวมจำนวนตัวอย่างทั้งสิ้น 1,059 ตัวอย่าง มาตรวจสอบโรคด้วยเทคนิค Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) โดยใช้แอนติซีรัมที่มีความจำเพาะต่อเชื้อ *Maize dwarf*

mosaic virus (MDMV) ทำการตรวจสอบเชื้อ MDMV เปรียบเทียบกับค่า O.D.₄₀₅ ของ Negative control จากการตรวจสอบตัวอย่างใบข้าวโพดทั้งหมด 1,059 ตัวอย่าง ไม่พบเชื้อไวรัส MDMV ในทุกตัวอย่าง (ตารางที่ 1) สอดคล้องกับรายงานวิจัยของ คณิงนิตย์ (2550) ที่ได้ทำการสำรวจและการจำแนกชนิดของเชื้อไวรัสในข้าวโพดในแหล่งปลูกที่สำคัญของประเทศไทย ในจังหวัดนครราชสีมา นครปฐม กาญจนบุรี ราชบุรี สระบุรี ลพบุรี กำแพงเพชร เชียงใหม่ เชียงราย สุโขทัย พิษณุโลก เพชรบูรณ์ สระแก้ว ศรีสะเกษ ขอนแก่น หนองคาย เลย นครสวรรค์ ตาก และสุพรรณบุรี จำนวน 99 แปลงในช่วงเดือนกันยายน 2549 ถึงเดือนสิงหาคม 2550 นำมาตรวจด้วยเทคนิค Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA), Transmission electron microscope (TEM) และ Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) ซึ่งพบข้าวโพดจากแหล่งปลูกต่างๆดังกล่าวแสดงอาการหลายแบบ เช่น อาการต่าง (mosaic) ต่างเหลือง (yellow mosaic) ต่างจุดประ (chlorotic mottle) ต่างเป็นขีด (streak) แถบเหลือง (yellow stripe) แถบขาว (white stripe) เส้นใบนูน (vein enation) ต่างเป็นวง (ringspot mosaic) และอาการเตี้ยแคระ (dwarf) โดยพบว่าข้าวโพดหวาน จะมีความอ่อนแอต่อโรคมามากกว่า ข้าวโพดข้าวเหนียว ข้าวโพดฝักอ่อน และข้าวโพดแป้งหรือข้าวโพดอาหารสัตว์ การสำรวจพบไวรัส 3 ชนิดจากการตรวจด้วยเทคนิค ELISA คือ *Sugarcane mosaic virus strain MDB* (SCMV-MDB), *Maize chlorotic mottle virus* (MCMV) และ *Brome mosaic virus* (BMV) กระจายตัวในแหล่งปลูกต่างๆ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ที่พบเฉลี่ยจากทุกจังหวัดที่ทำการสำรวจเท่ากับ 19.2%, 15.3% และ 2.6% ตามลำดับ แต่สำหรับ *Maize dwarf mosaic virus strain A* (MDMV-A), *Maize mosaic virus* (MMV) และ *Maize streak virus* (MSV) ตรวจไม่พบในทุกตัวอย่างที่สุ่มมาทำการตรวจสอบ การตรวจสอบเชื้อไวรัสสาเหตุโรคใบต่างแคระ นั้นไม่พบการระบาดในทุกกลุ่มตัวอย่างจากทั้งสามภูมิภาคที่ทำการสำรวจ ซึ่งเชื้อ MDMV นั้นจัดอยู่ในจีนัส (genus) Potyvirus และแฟมิลี (family) Potyviridae ที่เป็น subgroup เดียวกัน และรายงานของศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ (2564) โรคใบต่างแคระในข้าวโพด สาเหตุจากเชื้อไวรัส *Maize dwarf mosaic virus* ที่มีการระบาดของโรคในไร่เกษตรกรรมเมื่อดูอย่างผิวเผินอาการจะคล้ายโรคราน้ำค้าง แต่เมื่อตรวจสอบที่ใบในช่วงเช้า จะไม่พบผงสปอร์สีขาวเกิดขึ้นที่ใบเหมือนกับโรคราน้ำค้าง ซึ่งอาการของโรคจะเกิดจุดประสีเหลืองซีดบนใบ หรือฐานของใบอ่อน ต่อมาจุดประขยายออกเป็นขีดสั้นๆ ตามแนวเส้นใบ ถ้าข้าวโพดเกิดโรคตั้งแต่ระยะกล้า ใบจะต่าง เหลืองซีด ต้นแคระแกร็น ติดเมล็ดน้อย การแพร่ระบาดของอาศัยเพลี้ยอ่อนข้าวโพดเป็นพาหะ (Corn leaf aphid: *Rhopalosiphum maidis* Fitch) ปริมาณการแพร่ระบาดของเพลี้ยอ่อนข้าวโพดมีผลต่อการแพร่ระบาดของโรค นอกจากนี้ยังแพร่ระบาดโดยการสัมผัส การติดไปกับเครื่องมือทางการเกษตร และสามารถถ่ายทอดไปกับเมล็ดพันธุ์ คณิงนิตย์ และคณะ (2549) พบว่า ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สังเคราะห์ได้ของยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคของเชื้อไวรัสใบต่างแคระข้าวโพด (MDMV-B) ซึ่งปัจจุบันจัดอยู่ใน subgroup ของ SCMV ไอโซเลท ต่างๆ ที่รวบรวมได้จากจังหวัดสระบุรี นครราชสีมา และตากมีขนาดเท่ากับ 939 นิวคลีโอไทด์ ซึ่งกำหนดการสร้างโพลีเปปไทด์ขนาด 313 กรดอะมิโน โดยในส่วนของ CP ยีนจะพบลำดับกรดอะมิโนที่เป็นส่วนอนุรักษ์ DAG ภายในช่วง 5-12 กรดอะมิโนที่มีหน้าที่เกี่ยวกับการถ่ายทอดโรคด้วยเพลี้ยอ่อน (aphid transmission) (Salomon and Franc, 1995) และจากงานวิจัยที่ได้มีการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และกรดอะมิโนของไวรัสใบต่างแคระข้าวโพดของประเทศไทยทั้ง 3 ไอโซเลท ที่เก็บตัวอย่างจากจังหวัดนครราชสีมา สระบุรี และตาก พบว่าเชื้อไวรัสใบต่างที่เกิดโรคในข้าวโพดของประเทศไทยมีความคล้ายคลึงกับกลุ่มของเชื้อไวรัสใบต่างแคระข้าวโพดสายพันธุ์ GD (SCMV-GD) ของประเทศจีนมากที่สุด (วันวิสา, 2551)

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

จากการตรวจสอบตัวอย่างที่แสดงอาการคล้ายโรคไวรัส 1,059 ตัวอย่าง โดยเก็บจากแหล่งปลูกข้าวโพดหวานที่สำคัญใน 19 จังหวัด ในภาคเหนือ ภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มาตรวจสอบโรคด้วยเทคนิค Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) โดยใช้แอนติซีรัมที่มีความจำเพาะต่อเชื้อ *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV) ทำการตรวจสอบเชื้อ MDMV เปรียบเทียบกับค่า O.D.405 ของ Negative control ซึ่งผลการตรวจสอบตัวอย่างใบข้าวโพดทั้งหมด 1,059 ตัวอย่างนั้น ไม่พบเชื้อไวรัส MDMV ในทุกตัวอย่าง จากข้อมูลดังกล่าวสามารถใช้เป็นแนวทางในการป้องกันโรคที่เกิดจากไวรัสในข้าวโพด รวมถึงการควบคุมการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัสโดยอาศัยแมลงพาหะและการนำเมล็ดพันธุ์ไปขยายพันธุ์ เพื่อลดการแพร่ระบาดของโรคไปยังแหล่งปลูกอื่นของประเทศไทย ทั้งนี้เกษตรกรผู้ปลูกควรตระหนักถึงความรุนแรงของเชื้อไวรัสที่เข้าทำลายเนื่องจากส่งผลเสียหายต่อผลผลิตข้าวโพดที่ปลูกเพื่อการค้าและการส่งออก ควรให้ความสำคัญในเรื่องการควบคุมและป้องกันการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัส ด้วยการกำจัดวัชพืชในแปลงปลูกและพืชอาศัยที่เป็นแหล่งสะสมของเชื้อ เช่น หญ้าจอนห์สัน อ้อย ข้าวฟ่าง ทำการกำจัด เพลี้ยอ่อนซึ่งเป็นแมลงพาหะนำโรค ทำความสะอาดเครื่องมือทางการเกษตรเพื่อไม่ให้มีการติดเชื้อติดไป มีการปลูกพืชหมุนเวียนและปลูกข้าวโพดพันธุ์ที่มีความต้านทาน เช่น สุวรรณ5 นครสวรรค์1 นครสวรรค์72 จะเป็นการลดการแพร่ระบาดและป้องกันโรคไวรัสได้เป็นอย่างดี

ตารางที่ 1 ผลการตรวจสอบเชื้อไวรัส *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV) ด้วยวิธี Indirect enzyme-linked immunosorbent assay (Indirect ELISA) จากตัวอย่างใบข้าวโพดที่เก็บจากแปลงปลูกของเกษตรกรตามแหล่งปลูกที่สำคัญในภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือของประเทศไทย

ภูมิภาค	จังหวัด	อำเภอ	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	ผลการตรวจสอบด้วยเทคนิค ELISA
ภาคกลาง	สระบุรี	พระพุทธบาท	4	0
		บ้านหม้อ	5	0
		มวกเหล็ก	65	0
	ลพบุรี	ท่าหลวง	2	0
		ชัยบาดาล	3	0
		ลำสนธิ	127	0
	ราชบุรี	จอมบึง	12	0
	นครปฐม	กำแพงแสน	15	0
	กาญจนบุรี	เมือง	7	0
		ด่านมะขามเตี้ย	82	0
		ท่าม่วง	43	0
	เพชรบูรณ์	เมือง	123	0
	สุพรรณบุรี	เมือง	2	0
		สามชุก	14	0
		ศรีประจันต์	17	0

ตารางที่ 1 Continued

ภูมิภาค	จังหวัด	อำเภอ	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	ผลการตรวจสอบด้วยเทคนิค ELISA
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ				
	นครราชสีมา	ปากช่อง	115	0
		ครบุรี	10	0
		เสิงสาง	6	0
	หนองคาย	เมือง	6	0
		โพนพิสัย	2	0
		ศรีเชียงใหม่	3	0
	ศรีสะเกษ	กันทรลักษณ์	2	0
		ขุนหาญ	2	0
	อุบลราชธานี	เดชอุดม	2	0
		นาเยีย	2	0
		เขื่องใน	2	0
		ยางชุมน้อย	2	0
	ขอนแก่น	น้ำพอง	10	0
		บ้านฝาง	5	0
	เลย	ด่านซ้าย	26	0
		ท่าลี่	4	0
		เชียงคาน	6	0
		วังสะพุง	6	0
ภาคเหนือ				
	เชียงใหม่	แม่ฮาด	10	0
		ฝาง	8	0
		ไชยปราการ	19	0
		สันทราย	13	0
		แม่แตง	12	0
		เชียงดาว	8	0
	เชียงราย	เมือง	4	0
	ลำปาง	แจ้ห่ม	17	0
	ตาก	แม่สอด	42	0
		พบพระ	45	0
	น่าน	ปัว	16	0
		ท่าวังผา	14	0
	แพร่	ร้องกวาง	18	0
		สอง	63	0
จำนวนตัวอย่างที่เป็นโรค			1,059	0



ภาพที่ 1 ตัวอย่างลักษณะอาการใบขาวโพดที่พบในแปลงปลูกของเกษตรกร และเก็บเข้า
ตรวจในห้องปฏิบัติการ

การทดลองที่ 16

การศึกษาสถานภาพเชื้อไวรัส *Pepper mild mottle virus* ของพริกในประเทศไทย

study of the *Pepper Mild Mottle Virus* status of chili peppers in Thailand

เยาวภา ตันติวานิช ภูวนารถ มณีโชติ

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

Pepper mild mottle virus (PMMoV) เป็นเชื้อไวรัสในจีนัส Tobamovirus มีพริกที่เป็นพืชสำคัญทางเศรษฐกิจเป็นพืชอาศัย สามารถถ่ายทอดโรคด้วยวิธีกลโดยน้ำคั้นพืช และผ่านทางเมล็ด สามารถทำความเสียหายต่อผลผลิตพริกได้มาก PMMV เป็นสาเหตุโรคของพริกในเกือบทุกสายพันธุ์ ลักษณะอาการของโรคขึ้นอยู่กับพันธุ์ของพริกที่เป็นโรค อาการที่พบทั่วไป ได้แก่ อาการใบเหลืองซีด (chlorosis) ใบหงิกม้วนงอ ต้นเตี้ยแคระแกร็น ผลพริกบิดเบี้ยว สีเปลี่ยน มีขนาดเล็กลง การสำรวจโรคในพริกใน 17 จังหวัด ระหว่างเดือนตุลาคม 2561 ถึงเดือนกันยายน 2564 และตรวจหาไวรัส PMMV ในตัวอย่าง จำนวน 262 ตัวอย่าง ด้วยวิธี PCR พบ PMMV จากจังหวัดกาญจนบุรี แพร่ ชัยภูมิ อย่างละ 1 ตัวอย่าง

คำสำคัญ: สำรวจ, สถานภาพ, พริก, *Pepper mild mottle virus*

Abstracts

Pepper mild mottle virus (PMMoV) is a plant virus in the genus Tobamovirus infecting peppers which are economic plants. The virus can be transmitted from plant to plant mechanically and by seed, causing serious yield loss. PMMV infects almost all varieties peppers. The symptoms of disease include chlorosis, curled leaves, stunted plants. The distorted, discolored chilli. A survey of diseases in chili peppers in 17 provinces between October 2018 and September 2021 and PMMV detection in 262 samples found PMMV in Kanchanaburi, Phrae, and Chaiyaphum, each in one sample.

Key words: pest status, survey, chili peppers, *Pepper mild mottle virus*

บทนำ

Pepper mild mottle virus (PMMoV) สร้างความเสียหายกับการปลูกพริกทั่วโลก มีรายงานพบเชื้อ PMMoV ในออสเตรเลีย ญี่ปุ่น จีน ไต้หวัน ยุโรป และแอฟริกาเหนือ ในปี ค.ศ. 1997 เกิดการระบาดของ PMMoV สร้างความเสียหายอย่างมากในรัฐทางตะวันออกเฉียงใต้ของอเมริกา คือ จอร์เจีย และฟลอริดา PMMoV เป็นสาเหตุโรคของพริกในเกือบทุกสายพันธุ์ เป็นเชื้อไวรัสในจีนัสและแฟมิลี Tobamovirus มีจีโนมเป็นอาร์เอ็นเอสายเดี่ยว ลักษณะอาการของโรคขึ้นอยู่กับพันธุ์ของพริกที่เป็นโรค อาการที่พบทั่วไป ทำให้พริกแสดงอาการ ใบต่างใบเหลืองซีด (chlorosis) เนื้อใบมีสีเขียวอ่อนสลับเขียวเข้ม รูปร่าง บิดเบี้ยวเสียรูป และเส้นใบหงิกงอ ส่วนลักษณะอาการ บนผลพริก จะทำให้ผิวขรุขระ ต่าง บิดเบี้ยว สีเปลี่ยน และมีขนาดผลเล็กกว่าปกติ ทำให้คุณภาพและผลผลิตของพืชลดลง และยังส่งผลต่อการผลิตเมล็ดพันธุ์ทางการค้า เชื้อไวรัสสามารถแพร่ระบาดไปได้ง่ายโดยวิธีกล การสัมผัสระหว่างต้นที่เป็นโรคกับต้นปกติ รวมทั้งติดไปกับเครื่องมือ ถุงมือ เสื้อผ้า นอกจากนี้ยังสามารถถ่ายทอดโรคโดยติดไป กับส่วนเปลือกหุ้มเมล็ด (seed coat) ส่วนบริเวณ endosperm พบได้น้อยมาก เชื้อไวรัสชนิดนี้เป็นเชื้อไวรัสที่กักกันในหลายประเทศ ได้แก่ ประเทศในกลุ่ม ยุโรป สเปน อินเดีย อเมริกา เกาหลีใต้ และญี่ปุ่น เป็นต้น (Department of Agriculture, 2016) ที่ห้าม ปนเปื้อนมากับผลผลิตและส่วนขยายพันธุ์ต่างๆ ต้องมีการออกใบรับรองพืชปลอดโรคซึ่งเป็นข้อบังคับในประเทศผู้ค้า

สำหรับในประเทศไทยมีรายงานพบโรคของพริกที่เกิดจากเชื้อไวรัส PMMoV ที่จังหวัดสุโขทัยในการสำรวจโรคไวรัสของพริกในช่วง ปี พ.ศ. 2532- 2534 ซึ่งในปัจจุบัน และยังไม่มีการสำรวจโรคชนิดนี้อีก จึงเห็นว่าควรมีศึกษาสำรวจเชื้อไวรัสดังกล่าวในพริก เพื่อใช้เป็นข้อมูลสถานการณ์การเกิดและการแพร่กระจายของโรคต่อไป

ระเบียบวิธีการวิจัย

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการไวรัส
2. อุปกรณ์ในการสุ่มเก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติก มาร์กเกอร์ มีดคัตเตอร์ กรรไกร กล้องเก็บความเย็น
3. เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่นๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการไวรัส
4. สารเคมีที่ใช้ในการตรวจสอบด้วยวิธี PCR

วิธีการทดลอง

การสำรวจโรคไวรัส *Pepper Mild Mottle Virus*

สำรวจและเก็บตัวอย่างพริกที่มีลักษณะผิดปกติคล้ายเกิดจากโรคไวรัส *Pepper Mild Mottle Virus* ได้แก่ อาการใบต่างเขียวอ่อนสลับเขียวเข้ม รูปร่างบิดเบี้ยวเสียรูป และเส้นใบหงิกงอ ในแหล่งปลูกพริกในประเทศไทย แต่ละแปลงทำการสุ่มตัวอย่างแบบเป็นระบบโดยเดินตามเส้นทแยงมุม ทุกๆ 10 ก้าว ตรวจโรคจุดละ 10 ต้น จำนวน 10 จุดต่อแปลง หรือ 10 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่แปลง เก็บตัวอย่างในถุงพลาสติกและแช่ในกล่องเก็บความเย็นตลอดเวลา จนกระทั่งนำไปเก็บในตู้เย็นในห้องปฏิบัติการ เพื่อทำการตรวจหาไวรัสในตัวอย่างด้วยวิธี PCR

ตรวจหาเชื้อไวรัส *Pepper Mild Mottle Virus* ด้วยวิธี polymerase chain reaction (PCR)

สกัดอาร์เอ็นเอจากตัวอย่างพริกโดยใช้ชุดสกัด RNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN, Taiwan) นำส่วนของ total RNA ที่ได้ไปเตรียม cDNA library ด้วย Superscript™ III One-Step RT-PCR System with Platinum (Invitrogen, USA) และเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอของยีน PMMoV-CP โดยวิธี PCR ใช้ไพรเมอร์ดังนี้

Forward primer คือ 5'-TTT TTG GAT CCA TGG CTT ACA CAG TTT CCA GTG-3' และ

Reverse primer คือ 5'-CCT TTA AGC TTT TAA GGA GTT GTA GCC CAG GTG-3'

ปฏิกิริยาสำหรับเพิ่มปริมาณ ชิ้นยีนมีดังนี้ Total RNA 1 ไมโครลิตร, 2x Reaction mix 25 ไมโครลิตร, Forward primer (10 µM) 1 ไมโครลิตร, Reverse primer (10 µM) 1 ไมโครลิตร, Superscript™ III RT/Platinum Taq Max 2 ไมโครลิตร และ Deionized water (dH₂O) 16 ไมโครลิตร ปริมาตรของปฏิกิริยารวม 50 ไมโครลิตร โดยอุณหภูมิที่ใช้ในขั้นตอน RT-PCR คือ cDNA synthesis 50 องศาเซลเซียส 30 นาที; Initial denaturation 94 องศาเซลเซียส 2 นาที; Denaturation 94 องศาเซลเซียส 30 วินาที; Annealing 59 องศาเซลเซียส 30 วินาที Extension 68 องศาเซลเซียส 40 วินาที เริ่มกระบวนการที่ 3-5 ซ้ำอีก 34 รอบ และ Final extension 68 องศาเซลเซียส 5 นาที ลดยุณหภูมิลงมาที่ 16 องศาเซลเซียส ตรวจสอบขนาดของชิ้นดีเอ็นเอโดยใช้ 1.5% agarose gel electrophoresis ใน Tris-borate buffer (TBE) และนำไปย้อมแถบ DNA ด้วย Ethidium bromide ตรวจแถบ DNA ภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตเปรียบ เทียบขนาดของ DNA กับ 100 bp Plus markers (Fermentas, USA)

เวลาและสถานที่

- เริ่มต้น 2562 – สิ้นสุด 2564

- กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

การสำรวจโรคไวรัส *Pepper Mild Mottle Virus*

การสำรวจและเก็บตัวอย่างพริกที่แสดงอาการผิดปกติคล้ายโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส *Pepper Mild Mottle Virus* ระหว่างเดือนตุลาคม 2561 ถึงเดือนกันยายน 2564 ในพื้นที่ปลูกพริก จังหวัดกาญจนบุรี นครปฐม ราชบุรี แพร่ น่าน สุโขทัย ร้อยเอ็ด นครพนม หนองคาย ชัยภูมิ มหาสารคาม บึงกาฬ กาฬสินธุ์ สกลนคร ศรีสะเกษ อุบลราชธานีและมุกดาหาร จำนวนตัวอย่างพริกที่เก็บได้ 262 ตัวอย่าง

ตรวจหาเชื้อไวรัส *Pepper Mild Mottle Virus* ด้วยวิธี polymerase chain reaction (PCR)

จากตัวอย่างพริกทั้งหมด เมื่อทำการเพิ่มปริมาณยีนส่วน PMMV-CP พบว่ามีตัวอย่างพริกที่เก็บจากแปลงปลูกในจังหวัดกาญจนบุรี แพร่ ชัยภูมิ ให้ผลบวก ที่ได้ชิ้นยีนขนาด ประมาณ 474 นิวคลีโอไทด์ อย่างละ 1 ตัวอย่าง สำหรับในประเทศไทยมีรายงานพบตรวจพบเชื้อไวรัส PMMoV ในพริกที่จังหวัดสุโขทัยด้วยวิธี enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) ในการสำรวจโรคไวรัสของพริกในช่วง ปี พ.ศ. 2532- 2534 (เครือพันธ์ และคณะ, 2536)

จากนั้น Teewasit (2017) ได้สำรวจโรคของพริกใน 15 จังหวัดของประเทศไทย ในช่วง ปี 2557-2559 และนำมาตรวจด้วยวิธี Indirect plate trapping antigen enzyme-linked immunosorbent assay (Indirect PTA-ELISA) และตรวจพบเชื้อ PMMV จากพริกที่เก็บมา จำนวน 7 จังหวัด ได้แก่ เชียงราย 34 ตัวอย่าง แพร่ 1 ตัวอย่าง เชียงใหม่ 10 ตัวอย่าง กาญจนบุรี 23 ตัวอย่าง บุรีรัมย์ 1 ตัวอย่าง สุรินทร์ 2 ตัวอย่าง ชัยภูมิ 2 ตัวอย่าง

ธีรวิศิษฐ์ และคณะ (2560) ได้รายงานการสำรวจและการเก็บตัวอย่างโรคพริกที่มีลักษณะอาการคล้ายโรคไวรัสใบด่างพริกจากจังหวัดนครปฐม กาญจนบุรี เชียงใหม่ และเชียงราย จำนวนทั้งหมด 70 ตัวอย่าง พบเชื้อไวรัส PMMoV จำนวน 3, 1, 2 และ 2 ตัวอย่าง ตามลำดับ ด้วยการตรวจด้วยวิธี PCR

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการสำรวจโรคในพริกในแปลงปลูก 17 จังหวัด ระหว่างเดือนตุลาคม 2561 ถึงเดือนกันยายน 2564 และตรวจหาไวรัส PMMV ในตัวอย่าง จำนวน 262 ตัวอย่าง ด้วยวิธี PCR พบ PMMV จากจังหวัดกาญจนบุรี แพร่ ชัยภูมิ อย่างละ 1 ตัวอย่าง ซึ่งในแปลงที่พบตัวอย่างโรคได้มีการกำจัดต้นเป็นโรคออกจากแปลงเรียบร้อยแล้ว จากนี้การรายงานการสำรวจและพบโรคในช่วงปีตั้งแต่ ปี 2557 เป็นต้นมา แสดงให้เห็นว่ามีการกระจายของเชื้อไวรัส PMMV อยู่ในแปลงปลูกพริกในหลายจังหวัดของประเทศไทย จึงจำเป็นต้องหาแนวทางในการป้องกันกำจัดที่ถูกต้องเหมาะสม เพราะเชื้อไวรัสดังกล่าว สามารถแพร่ระบาดไปได้ง่ายโดยวิธีกล การสัมผัสระหว่างต้นที่เป็นโรคกับต้นปกติ รวมทั้งติดไปกับเครื่องมือ ถุงมือ เสื้อผ้า นอกจากนั้นยังสามารถถ่ายทอดโรคโดยติดไปกับส่วนเปลือกหุ้มเมล็ด (seed coat)

Table 1 สถานที่สำรวจและเก็บตัวอย่าง

สถานที่เก็บตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง
จังหวัดกาญจนบุรี	21
จังหวัดนครปฐม	5
จังหวัดราชบุรี	7
จังหวัดแพร่	15
จังหวัดน่าน	17
จังหวัดสุโขทัย	8
จังหวัดร้อยเอ็ด	19
จังหวัดนครพนม	16
จังหวัดหนองคาย	22
จังหวัดชัยภูมิ	20
จังหวัดอุบลราชธานี	23
จังหวัดบึงกาฬ	17
จังหวัดมหาสารคาม	19
จังหวัดกาฬสินธุ์	14
จังหวัดมุกดาหาร	12
จังหวัดสกลนคร	17
จังหวัดศรีสะเกษ	10



Figure 1 Sample of chili from Kanchanaburi province



Figure 2 Sample of chili from Phrae



Figure 3 Sample of chili from Chaiyaphum province



Figure 4 Sample of chili from Nong Khai province



Figure 5 Sample of chili from Nan province



Figure 6 Sample of chili from Sakon Nakhon province



Figure 7 Sample of chili from Bueng Kan province



Figure 8 Sample of chili from Sukhothai province



Figure 9 Sample of chili from Ubon Ratchathani province



Figure 10 Sample of chili from Maha Sarakham province

การทดลองที่ 17

การศึกษาสถานภาพของเชื้อไวรัส *African cassava mosaic virus* (ACMV) ในประเทศไทย

Study on status of *African cassava mosaic virus* (ACMV) in Thailand

กาญจนา วาระวิชนี^{1/} แสนชัย คำหล้า^{1/} ภาณุวัฒน์ มูลจันทร์^{2/}

^{1/}กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
^{2/}ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง สถาบันวิจัยพืชไร่และทดแทนพลังงาน

บทคัดย่อ

ในปี 2562-2564 ได้สำรวจและเก็บตัวอย่างใบมันสำปะหลังในพื้นที่ปลูกรวม 20 จังหวัด ได้แก่ จันทบุรี สระแก้ว ปราจีนบุรี ฉะเชิงเทรา นครราชสีมา บุรีรัมย์ ศรีสะเกษ สุรินทร์ กาญจนบุรี นครสวรรค์ อุทัยธานี ชัยนาท ลพบุรี ชลบุรี ระยอง ชัยภูมิ อุบลราชธานี ขอนแก่น มหาสารคาม และ กาฬสินธุ์ รวมจำนวน 397 ตัวอย่าง วางแผนการสำรวจและเก็บตัวอย่าง ตามเอกสารแนะนำมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (Guidelines for surveillance: ISPM No. 6) โดยทำการสำรวจแบบสืบพบ (Detection survey) เพื่อศึกษาสถานภาพการปรากฏหรือไม่ปรากฏเชื้อไวรัส ACMV ในประเทศไทย และตรวจวินิจฉัยเพื่อยืนยันผลด้วยเทคนิค PCR ตรวจไม่พบเชื้อไวรัส ACMV ในทุกตัวอย่าง สรุปผลการสำรวจในช่วงดำเนินระหว่างปี 2562-6564 ยืนยันไม่มีการปรากฏเชื้อไวรัส ACMV ในพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังทั้ง 20 จังหวัด ของประเทศไทย

คำสำคัญ: โรคมันสำปะหลัง, Geminiviridae, Begomovirus, *African cassava mosaic virus* (ACMV), PCR

Abstracts

Survey and collection of cassava sample was conducted in 20 provinces; Chanthaburi, Sa Kaeo, Prachin Buri, Chachoengsao, Nakhon Ratchasima, Buri Ram, Si Sa Ket, Surin, Kanchanburi, Nakhon Sawan, Lop Buri, Chon Buri, Rayong, Chaiyaphum, Khon Kaen, Maha Sarakham, Ubon Ratchathani, Uthai Thani and Kalasin from 2562 – 2564. 397 Samples collecting were followed the International Standard for Phytosanitary Measures 6: Surveillance guidelines (ISPM No. 6). Polymerase chain reaction method confirmed there is no appearance of African cassava mosaic virus in all sample collecting from 16 provinces during the survey from 2562 – 2564 in Thailand.

Key words: Cassava disease, cassava mosaic, *African cassava mosaic virus* (ACMV), PCR

บทนำ

ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชและพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 แสดงรายชื่อเชื้อไวรัสที่เป็นสาเหตุโรคใบด่างมันสำปะหลังในประกาศรายชื่อศัตรูพืชกักกันแนบท้าย 3 ชนิด ได้แก่ African cassava mosaic virus (ACMV), East African cassava mosaic virus (EACMV) และ Indian cassava mosaic virus (ICMV) ทั้ง 3 ชนิด อยู่ใน Genus Begomovirus จากรายงานของ Bock and Woods (1983) และ Legg and Fauquet (2004) โรคใบด่างมันสำปะหลังที่เกิดจากเชื้อไวรัส ACMV ถือว่าเป็นเชื้อไวรัสที่สำคัญมากชนิดหนึ่งเพราะก่อให้เกิดความเสียหายต่อการปลูกมันสำปะหลังมากที่สุด (Harrison et al., 1997; Calvert and Thresh, 2002; Fondong et al., 2000; Fauquet and Fargette, 1990; Legg and Thresh, 2000) เมื่อเข้าทำลายใบแสดงอาการจุดด่างเหลือง ลดรูปบิดเบี้ยว ต้นพืชจะเตี้ยแคระจนไม่สามารถให้ผลผลิต ซึ่งความรุนแรงและลักษณะอาการจะมีความผันแปรแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ของเชื้อไวรัส พันธุ์มันสำปะหลังและสภาพแวดล้อม จากข้อมูลการระบาดในประเทศอินเดียเชื้อไวรัส ACMV ทำให้ผลผลิตมันสำปะหลังในภาพรวมของประเทศลดลงถึง 20-90 % (Seif, 1982; Legg and Fauquet, 2004) สามารถถ่ายทอดโรคทางท่อนพันธุ์และแมลงหิวข้าวยาสูบ (*Bemisia tabaci*) ใช้เวลาเพียง 10 นาทีเท่านั้น ก็มีประสิทธิภาพเพียงพอต่อการก่อให้เกิดโรคได้ (Fargette et al., 1994)

สำหรับในประเทศไทย กาญจนา และคณะ (2556, 2557) ทำการสำรวจแปลงปลูกมันสำปะหลังในพื้นที่ปลูกที่สำคัญของประเทศไทยรวม 10 จังหวัด ตรวจสอบด้วยเทคนิค PCR โดย universal primer ที่จำเพาะกับไวรัสใน Genus Begomovirus พบว่าประเทศไทยไม่ปรากฏการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัส ACMV ต่อมา ปัญญาวุฒิ และคณะ (2559) สำรวจตัวอย่างมันสำปะหลังในพื้นที่ปลูกที่สำคัญของประเทศไทย รวม 16 จังหวัด เมื่อตรวจสอบด้วยเทคนิค PCR ยังไม่พบการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัส ACMV ในประเทศไทยเช่นกัน ทั้งนี้ Wang et al (2016) รายงานพบการระบาดของเชื้อไวรัส Sri Lankan cassava mosaic virus (SLCMV) ในประเทศกัมพูชาที่จังหวัดรัตนคีรีเป็นครั้งแรก และปี 2561 ประเทศไทยได้รายงานพบการแพร่ระบาด SLCMV ครั้งแรกที่จังหวัดปราจีนบุรี ซึ่งเป็นเชื้อไวรัสในกลุ่มเดียวกับเชื้อไวรัส ACMV ที่เป็นศัตรูพืชกักกัน รวมทั้งประเทศไทยไม่ได้ศึกษาสถานภาพการปรากฏหรือไม่ปรากฏของเชื้อไวรัส ACMV มานานมากกว่า 5 ปี ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาสถานภาพการปรากฏหรือไม่ปรากฏเชื้อ ACMV ในประเทศไทย เพื่อประโยชน์ในการเฝ้าระวังและควบคุมการระบาดของเชื้อไวรัสสาเหตุโรคที่อาจเกิดขึ้นได้ในอนาคต ทั้งนี้ เป้าหมายการดำเนินงาน ทำการสำรวจพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังที่สำคัญของประเทศไทยครอบคลุมพื้นที่ปลูกอย่างน้อย 20 จังหวัด ภายใน 3 ปี โดยเฉพาะจังหวัดที่เป็นพื้นที่เสี่ยงต่อการระบาดของโรคใบด่างมันสำปะหลังตามแนวพรมแดนที่ติดต่อกับประเทศกัมพูชาเพื่อใช้เป็นข้อมูลการเฝ้าระวังศัตรูพืชตาม พรบ.ศัตรูพืชกักกัน ต่อไป

ระเบียบวิธีการวิจัย

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์สำหรับการสำรวจ ได้แก่ ถุงพลาสติกใสขนาดต่างๆ, ถุงซิปล, หนั่งยาง, กระดาษหนังสือพิมพ์, ปากกาเมจิก
2. ตัวอย่างพืชทดสอบ
3. อุปกรณ์ด้านวิทยาศาสตร์ ได้แก่ โกร่งบดตัวอย่าง (mortars and pestles), อ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath), เครื่องชั่งละเอียด (precision balance) 2 และ 4 ตำแหน่ง, เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge),

- เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (C1000TM Thermal Cycler, BIO-RAD), เครื่อง Gel electrophoresis, เครื่องวิเคราะห์เจลและบันทึกภาพ (ChemiDoc™ Touch Imaging System, BIO-RAD), หลอดไมโครทิวบ์ (Microtube) ขนาด 0.5, 1.5 และ 2 ไมโครลิตร, ไมโครปิเปตต์ทิวบ์ (Micropipette tip) ขนาด 10, 200 และ 1000 ไมโครลิตร, ตู้แช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส (freezer), ตู้ดูดควันและสารพิษ (Hood), เครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท (Thermo Scientific™ Multiskan™ GO Microplate Spectrophotometer), อีไลซ่าเพลท (ELISA Plate) และเพลทเลี้ยงเชื้อ (Petri dish)
4. สารเคมีวิทยาศาสตร์ ได้แก่ ไนโตรเจนเหลว (Liquid Nitrogen), ชุดสกัดสารพันธุกรรม GeneUP™ Plant DNA kit (Biorabbit®), ชุดสกัดเจลและพีซีอาร์สำเร็จรูป FavorPreP GEL/PCR Purification Mini Kit (FAVORGEN), ชุดสกัดพลาสมิดดีเอ็นเอสำเร็จรูป FavorPreP Plasmid Extraction Mini Kit (FAVORGEN), เอนไซม์ DreamTaq Green PCR Master Mix (2X) (Thermo Scientific™), ดีเอ็นเอมาตรฐาน GeneRuler 1 kb /100 bp DNA Ladder (Fermentas®), ชุดไพรเมอร์ (primer set), Agarose gel, พลาสมิดพาหะ pGEM-T easy vector (Promega), T4 DNA Ligase (Promega, USA) และ RedSafe Nucleic Acid Staining Solution (iNtRON Biotechnology, Korea), Agarose gel (SeaKem, USA), competent cell (*E. coli* สายพันธุ์ Top 10) (Invitrogen), Alkaline phosphatase labelled antibody สารประกอบการทดสอบ ELISA และสารควบคุมปฏิกิริยาของชุดทดสอบเชื้อไวรัส ACMV (Agdia) (LPC73600 - ACMV, Positive control) และอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *E. coli*

วิธีการทดลอง

1. สืบค้นข้อมูลประกอบงานวิจัย

สืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับเชื้อไวรัส *African cassava mosaic virus* (ACMV) และเชื้อไวรัสสาเหตุโรคใบด่างมันสำปะหลัง ตามข้อมูลรายงานของ International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV)

2. จัดทำคู่มือการสำรวจ

จัดทำคู่มือการสำรวจ แบบฟอร์ม และฉลาก คู่มือการสำรวจ สำหรับการสำรวจเชื้อไวรัส ACMV ในสภาพแปลง โดยการรวบรวมข้อมูลอ้างอิงและรูปภาพของโรคที่เกิดเชื้อไวรัส ACMV จากเอกสารที่เคยมีรายงานแล้ว และอ้างอิงศัตรูพืชที่คล้ายคลึงกับศัตรูพืชเป้าหมาย ได้แก่ SLCMV เพื่อใช้เป็นข้อมูลประกอบในการสำรวจและเก็บตัวอย่าง

3. การสำรวจและเก็บตัวอย่าง

กำหนดพื้นที่การสำรวจและเก็บตัวอย่าง ระหว่างปี 2562-2564 เลือกพื้นที่ปลูกที่สำคัญและพื้นที่ๆอาจมีโอกาสเสี่ยงต่อการระบาดของโรคใบด่างมันสำปะหลังในประเทศไทยอย่างน้อย 20 จังหวัด วางแผนการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (Specific survey) ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (Guidelines for surveillance: ISPM No. 6) โดยทำการสำรวจแบบสืบพบ (Detection survey) เพื่อสืบค้นหาศัตรูพืชเป้าหมายสำรวจมันสำปะหลังที่แสดงอาการใบด่างคล้ายกับอาการที่เกิดจากเชื้อไวรัส วิธีการเดินสุ่มแบบตัวยู 1 แถว เว้น 5 แถว สำรวจทุกต้น จำนวนอย่างน้อย 1 แปลงๆ 5 ตัวอย่างต่อพื้นที่จังหวัดเป้าหมาย

4. สกัดดีเอ็นเอด้วยชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป GenUP™ Plant DNA kit (Biotechrabbit, German)

ชั่งตัวอย่างพืชประมาณ 0.1 กรัม ใส่ในโถงแล้วเติมไนโตรเจนเหลวบดให้เป็นผงละเอียด เติม Lysis buffer D ปริมาตร 400 มิลลิลิตร เติม Proteinase K ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ย้ายใส่ในหลอด microcentrifuge tube แล้วผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex) บ่มที่ 65 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จากนั้นนำมาเติม

Precipitation buffer ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 5 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที จากนั้นเทสารละลายส่วนใสลงในหลอด (collection tube) ที่มีแผ่นกรองสีม่วง (Pre Filter) บรรจุอยู่ข้างในแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที เก็บสารละลายส่วนใสมาเติม Binding buffer ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วเทสารละลายส่วนใสลงในหลอดสีเขียวที่มีแผ่นกรอง (Mini Filter) ที่บรรจุอยู่ข้างในแล้วปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที นาน 2 นาที แล้วย้ายหลอดสีเขียวที่มีแผ่นกรอง (Mini filter) ใส่ในหลอด Collection tube อันใหม่ เติม WASH C buffer ปริมาตร 650 ไมโครลิตร ปั่นเหวี่ยงความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที (ทำซ้ำอีก 1 ครั้ง) แล้วย้ายหลอดสีเขียวที่มีแผ่นกรอง (Mini filter) ใส่ในหลอด Collection tube อันใหม่ แล้วปั่นเหวี่ยงความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 2 นาที หลังจากนั้นย้ายหลอดสีเขียวที่มีแผ่นกรอง (Mini filter) ใส่ในหลอดขนาด 1.5 ไมโครลิตร (Elution tube) แล้วเติม Elution buffer ปริมาตร 100 ไมโครลิตรปมทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 1 นาที ปั่นเหวี่ยงความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที จะได้สารละลายดีเอ็นเอเพื่อใช้ในการตรวจสอบด้วยเทคนิค polymerase chain reaction (PCR) ต่อไป

5. การตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างมันสำปะหลังด้วยเทคนิค PCR

นำสารละลายดีเอ็นเอมาสังเคราะห์หาเชื้อสาเหตุโรคใบด่างมันสำปะหลังด้วยเทคนิค PCR ด้วยไพรเมอร์จำนวน 2 ชุด สำหรับการตรวจวินิจฉัยเชื้อไวรัส ACMV และเชื้อไวรัส CMVs ภายใต้ Genus *Begamovirus* Family *Germiniviridae* (กาญจนาและคณะ, 2561) ปฏิบัติ PCR ปริมาตรรวม 50 ไมโครลิตร ประกอบด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว (dH₂O) จำนวน 21 ไมโครลิตร DreamTaq Green PCR Master Mix (2X) จำนวน 25 ไมโครลิตร (0.1 unit/ μ l) ไพรเมอร์ forward และ reverse อย่างละ 1 ไมโครลิตร และดีเอ็นเอต้นแบบจำนวน 2 ไมโครลิตร นำปฏิกิริยาที่เตรียมไว้มาเพิ่มปริมาณยีนเป้าหมายด้วยเครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (C1000™ Thermal Cycler, BIO-RAD) ตั้งโปรแกรม ดังนี้ ขั้นที่ 1: Pre-denature 94°C นาน 5 นาที ขั้นที่ 2: denature 94°C นาน 30 วินาที ขั้นที่ 3: annealing 56-60°C นาน 30 วินาที ขั้นที่ 4: Extension 72°C นาน 1 นาที (วนซ้ำขั้นที่ 2 – 4 จำนวน 30 รอบ) ขั้นที่ 5: Post-extension 68°C นาน 10 นาที และขั้นที่ 6: Hold ที่ 15°C และตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอด้วยเทคนิค gel electrophoresis เปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp DNA Ladder แสดงผลและบันทึกภาพด้วยเครื่องวิเคราะห์เจล (ChemiDoc™ Touch Imaging System, BIO-RAD)

6. พิสูจน์สาเหตุเชื้อไวรัสด้วยรหัสพันธุกรรม

เตรียมชิ้นยีนเป้าหมายให้บริสุทธิ์ด้วยชุดสกัดเจลและพีซีอาร์สำเร็จรูป FavorPreP GEL/PCR Purification Mini Kit (ตามคู่มือแนะนำ, FAVORGEN) และการโคลนยีนกับพลาสมิดพาหะ pGEM-T Easy cloning vector (ตามคู่มือแนะนำ, Promega) ส่งอ่านข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์กับบริษัทการค้า

7. เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์กับฐานข้อมูล GenBank

เปรียบเทียบและวิเคราะห์ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์กับฐานข้อมูล GenBank ด้วยโปรแกรมที่ให้บริการทางอินเทอร์เน็ต ได้แก่ Nucleotide blast เพื่อยืนยันระบุเชื้อสาเหตุ

- เวลาและสถานที่

ระยะเวลา ตุลาคม 2562-กันยายน 2564

สถานที่ 1. แปลงมันสำปะหลังของเกษตรกร

2. ห้องปฏิบัติการและโรงเรือนทดลอง กลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืชของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1. ผลการสืบค้นข้อมูลประกอบงานวิจัย

ข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับเชื้อไวรัส ACMV อยู่ใน Family *Geminiviridae*, Genus *Begomovirus* อนุภาคเป็นทรงกลมคู่หลายเหลี่ยมที่ไม่สมบูรณ์ (incomplete icosahedral) อนุภาคมีขนาดประมาณ 18x30 นาโนเมตร ภายในจีโนมของไวรัสประกอบด้วย ดีเอ็นเอสายเดี่ยว (ssDNA) ขดเป็นวงอยู่ในอนุภาคแบบ bipartite genome มีขนาดใกล้เคียงกันประมาณ 2,500-2,800 นิวคลีโอไทด์ เชื้อไวรัส ACMV ติดไปได้กับท่อนพันธุ์ปลูกและมีแมลงห้ำหิวยาสูบ (*Benmisia tabaci*) เป็นพาหะช่วยถ่ายทอดโรคแบบ persistent circulative พบระบาดเฉพาะในทวีปแอฟริกา (Harrison and Robinson, 2002) และจากการสืบค้นข้อมูล Genbank ภายใต้ Genus *Begomovirus* สามารถจำแนกชนิดไวรัสสาเหตุโรคใบต่างเหลืองมันสำปะหลังนอกจากเชื้อไวรัส ACMV ที่อ้างอิงตามข้อกำหนดของ ICTV (*Geminiviridae* Study-Group Taxonomic Proposals, 2002) มีจำนวน 9 ชนิด ได้แก่ *East African cassava mosaic Cameroon virus* (EACMCV), *East African cassava mosaic Kenya virus* (EACMKV), *East African cassava mosaic Malawi virus* (EACMMV), *East African cassava mosaic virus* (EACMV), *East African cassava mosaic Zanzibar virus* (EACMZV), *Indian cassava mosaic virus* (ICMV), *South African cassava mosaic virus* (SACMV), *Sri Lankan cassava mosaic virus* (SLCMV) และ *East African cassava mosaic virus-Uganda* (EACMV-UG) เข้าทำลายมันสำปะหลังในแถบแอฟริกา อเมริกาใต้ อเมริกากลาง รวมทั้งกลุ่มประเทศเอเชียแปซิฟิก

2. ผลการทำแบบฟอร์มและฉลากสำหรับการสำรวจเชื้อไวรัส ACMV ในสภาพแปลง

ได้แบบฟอร์มและฉลากสำหรับบันทึกข้อมูลสำคัญขณะปฏิบัติงานสำรวจและเก็บตัวอย่างในสภาพแปลงปลูก ประกอบด้วยรายละเอียด ดังนี้ วันที่ สถานที่ พิกัดภูมิศาสตร์ พันธุ์พืช ระยะการเจริญของพืช ลักษณะอาการที่สงสัย และบันทึกภาพอาการ (Guideline Appendix)

3. ผลการสำรวจ ตรวจวินิจฉัยด้วยเทคนิค PCR และเปรียบเทียบข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์

ปี 2562-2564 ได้ดำเนินการวางแผนออกสำรวจมันสำปะหลังในพื้นที่ปลูกของเกษตรกรอย่างน้อย 20 จังหวัด เพื่อศึกษาและยืนยันการปรากฏหรือมาปรากฏเชื้อไวรัส ACMV ในประเทศไทย ทั้งนี้ เนื่องจากภาวะการณ์ระบาดของโรคไวรัส Covid-19 ตั้งแต่ปี 2562 เป็นต้นมา ตามนโยบายภาครัฐและกรมวิชาการเกษตร ประกาศบางจังหวัดในพื้นที่สำรวจแปลงมันสำปะหลังและกรุงเทพฯ ระบุเป็นพื้นที่เสี่ยงสีแดง ผู้วิจัยและคณะไม่สามารถออกสำรวจและเก็บตัวอย่างตามแผนที่กำหนดได้จึงได้ประสานขอความร่วมมือกับนักวิจัยหรือผู้เกี่ยวข้องในพื้นที่เป้าหมายช่วยเก็บตัวอย่างใบมันสำปะหลังที่สงสัยและนำส่งด้วยระบบขนส่งมายังห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไวรัสวิทยา ได้ผลการตรวจยืนยันการปรากฏหรือไม่ปรากฏของเชื้อไวรัส ACMV ด้วยเทคนิค PCR ดังนี้

ปี 2562 ได้ตรวจสอบตัวอย่างใบมันสำปะหลังต้องสงสัยจากการสำรวจและได้รับตัวอย่างจากผู้เกี่ยวข้องในพื้นที่ดำเนินงาน รวม 5 จังหวัด ได้แก่ จ.จันทบุรี จ.สระแก้ว จ.ปราจีนบุรี จ.ฉะเชิงเทรา และ จ.นครราชสีมา รวมจำนวนทั้งสิ้น 115 ตัวอย่าง (Table1 Appendix) (Fig1 A) ตรวจไม่พบเชื้อไวรัส ACMV แต่ตรวจพบว่าเป็นเชื้อไวรัส SLCMV ทุกตัวอย่างพืชและตัวอย่างแมลงห้ำหิวยาสูบ เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์กับฐานข้อมูล GenBank ด้วยโปรแกรมที่ Nucleotide blast

ปี 2563 ได้ปรับลดแผนการสำรวจและตรวจสอบตัวอย่างใบมันสำปะหลังต้องสงสัยลงเพื่อให้สอดคล้องกับงบประมาณที่ถูกปรับลดไป 50 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับสถานการณ์ระบาดโรคไวรัส Covid-19 ที่เพิ่มขึ้น และปรับแผนการดำเนินงานเป็นการประสานงานขอความร่วมมือกับนักวิจัยหรือผู้เกี่ยวข้องในพื้นที่เป้าหมายแทน ให้ช่วยสุ่มเก็บตัวอย่างมันสำปะหลังในพื้นที่เป้าหมายและนำส่งด้วยระบบขนส่งมายังห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไวรัสวิทยา รวม 3 จังหวัด ได้แก่ จ.บุรีรัมย์ จ.ศรีสะเกษ และ จ.สุรินทร์ รวมจำนวนทั้งสิ้น 70 ตัวอย่าง (Table1 Appendix) (Fig1 B) ตรวจไม่พบเชื้อไวรัส ACMV แต่ตรวจพบว่าเป็นเชื้อไวรัส SLCMV ทุกตัวอย่างพืช เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์กับฐานข้อมูล GenBank ด้วยโปรแกรมที่ Nucleotide blast

ปี 2564 ได้ตรวจสอบตัวอย่างใบมันสำปะหลังต้องสงสัยจากการสำรวจและได้รับตัวอย่างจากผู้เกี่ยวข้องในพื้นที่ดำเนินงาน รวม 12 จังหวัด ได้แก่ จ.กาญจนบุรี จ.นครสวรรค์ จ.อุทัยธานี จ.ชัยนาท จ.ลพบุรี จ.ชลบุรี จ.ระยอง จ.ชัยภูมิ จ.อุบลราชธานี จ.ขอนแก่น จ.มหาสารคาม และ จ.กาฬสินธุ์ รวมจำนวนทั้งสิ้น 212 ตัวอย่าง (Table1 Appendix) (Fig1 C-D) ตรวจไม่พบเชื้อไวรัส ACMV แต่ตรวจพบว่าเป็นเชื้อไวรัส SLCMV ทุกตัวอย่างพืช เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์กับฐานข้อมูล GenBank ด้วยโปรแกรมที่ Nucleotide blast

ช่วงเวลาที่สำรวจและเก็บตัวอย่างพบแมลงหริ่วขาวระบาดโดยเฉพาะแปลงปลูกมันสำปะหลังจังหวัดสระแก้ว และพบแมลงศัตรูพืชอื่นๆ หลายชนิด ได้แก่ เพลี้ยแป้ง และไรแดง เพลี้ยหอย พบการระบาดเกือบทุกแปลงที่สำรวจส่งผลให้พืชใบไหม้และต้นแห้งตาย (Fig2 A-D) สามารถเทียบเคียงลักษณะอาการของมันสำปะหลังจากการเข้าทำเชื้อไวรัส SLCMV เพื่อประโยชน์ต่อการเก็บตัวอย่างมาตรวจสอบเชื้อสาเหตุหลักที่เข้าทำลายภายในห้องปฏิบัติการได้จาก Figure Appendix 1-5



Fig 1 A-D Cassava plants show symptoms like virus-infected with green mosaic, curl, distorted leaf caused cassava appear contrast with nearby other healthy plants in Sa Kaeo, Buri Ram and Khon Kaen provinces.



Fig2 A-D Insect pests' infestations; whiteflies, scale, red mite and mealybug were prevailing in cassava fields during survey from 2562 – 2564.

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

ได้ข้อมูลเบื้องต้นของเชื้อไวรัส ACMV และชนิดเชื้อไวรัสสาเหตุโรคใบด่างมันสำปะหลังที่เกี่ยวข้องตามข้อมูลรายงานของ ICTV รวมทั้งได้แบบฟอร์ม ฉลาก สำหรับบันทึกข้อมูล และคู่มือสำหรับการสำรวจโรคและเก็บตัวอย่างขณะดำเนินงานสำรวจและเก็บตัวอย่างในสภาพแปลงปลูก ในปี 2562-2564 ได้สำรวจและเก็บตัวอย่างใบมันสำปะหลังในพื้นที่แปลงปลูกของเกษตรกรมาตรวจวินิจฉัยด้วยเทคนิค PCR เพื่อศึกษาสถานภาพการปรากฏหรือไม่ปรากฏเชื้อไวรัส ACMV ในประเทศไทย รวมทั้งสิ้น 20 จังหวัด ได้แก่ จ.จันทบุรี จ.สระแก้ว จ.ปราจีนบุรี จ.ฉะเชิงเทรา จ.นครราชสีมา จ.บุรีรัมย์ จ.ศรีสะเกษ จ.สุรินทร์ จ.กาญจนบุรี จ.นครสวรรค์ จ.อุทัยธานี จ.ชัยนาท จ.ลพบุรี จ.ชลบุรี จ.ระยอง จ.ชัยภูมิ จ.อุบลราชธานีจ.ขอนแก่น จ.มหาสารคาม และ จ.กาฬสินธุ์ รวมจำนวนทั้งสิ้น 397 ตรวจไม่พบเชื้อไวรัส ACMV แต่ตรวจพบว่าเป็นเชื้อไวรัส SLCMV ทุกตัวอย่างพืชและตัวอย่างแมลงหริ่ขาวที่ส่งตรวจ และพบการระบาดของแมลงหริ่ขาวระบาดที่แปลงปลูกมันสำปะหลังจังหวัดสระแก้ว ส่งผลให้พืชแสดงอาการใบด่างชัดเจนทั่วแปลงปลูก สรุป ผลยืนยันการไม่ปรากฏเชื้อไวรัส ACMV ในพื้นที่สำรวจครั้งนี้ทั้ง 20 จังหวัด ข้างต้นของประเทศไทยในช่วงการดำเนินงานระหว่างปี 2562-2564

Figure Appendix 1-5 Symptoms of cassavas infected with ACMV and SLCMA guide for sample collection and diagnosis in laboratory.



Appendices fig. 1 Cassava leaf showed yellow mosaic, distortion and misshaped leaf after infected ACMV. แหล่งที่มา : www.icrc.org



Appendices fig. 2 Cassava leaf showed yellow mosaic, distortion and misshaped leaf after infected SLCMV



Appendices fig. 3 The whole field of cassava infected with SLCMV showed yellow-green mosaic, distortion and clearly misshaped leaves.




Appendices fig. 4 Leaves mosaic symptoms emerged from SLCMV infected stem cutting.



Appendices fig. 5 SCLMV is transmitted by whiteflies (*Bemisia tabaci*)

Guideline for Survey and Status of African cassava mosaic virus of cassava in Thailand

<p>คู่มือการสำรวจและศึกษาสถานภาพของเชื้อไวรัส African cassava mosaic virus ของมันสำปะหลังในประเทศไทย</p>  <p>จัดทำโดย นางสาวกาญจนา วาระวิชฌี^{1/} นายแสนชัย คำห้า^{1/} นายภาณุวัฒน์ มุอชันทะ^{2/} กลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช^{1/} สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน^{2/}</p> <p>(ภายใต้การทดลอง การศึกษาสถานภาพของเชื้อไวรัส ACMV ในประเทศไทย ปี 2562-2564)</p>	<p>สารบัญ</p> <p>ปกหน้า</p> <p>คำนำ</p> <p>สาเหตุ</p> <p>ลักษณะอาการ</p> <p>การสำรวจและเก็บตัวอย่าง</p> <p>การตรวจวินิจฉัยเชื้อไวรัส ACMV ด้วยเทคนิค PCR</p> <p>แบบฟอร์มบันทึกข้อมูลการสำรวจตัวอย่าง</p> <p>ฉลากสำหรับบันทึกรายละเอียดตัวอย่าง</p>
--	--

ลักษณะอาการ

ลักษณะอาการในสำมะโนเมื่อเชื้อไวรัส ACMV เข้าทำลายในแปลงอาการต่างเพียง ใบมีดกเขียวรูปทรง อาการรุนแรงถึงขั้นจะเฉยเฉยหรือตายได้หลายต้น หากนำต้นไปใส่จากพืชในแปลงการดูแลรักษาปลูกซึ่งอยู่ในแปลงและอาการต่างเพียง ใบมีดกเขียวรูปทรงใบมีเส้นการใน 1-2 สัปดาห์ (ภาพที่ 2) และสามารถเขียนคือลักษณะอาการของในสำมะโนหลังจากการเข้าทำลายเชื้อไวรัส SLCMV เมื่อประเมินโดยพิจารณาในต้นอย่างแพร่หลายนั้นจะตามชุดหลักที่ใช้ทำลายภายในห้องปฏิบัติการ (ภาพที่ 3 4 และ 5)



ภาพที่ 2 ใบมีดกเขียวรูปทรงและอาการต่างเพียง ต้นเขียวรูป การทำลายเชื้อไวรัส ACMV แหล่งที่มา : www.ias.ac.in



ภาพที่ 3 สำมะโนแปลงในสำมะโนปลูกเชื้อไวรัส SLCMV เข้าทำลายทั้งแปลงและอาการในแปลงเมื่อเขียนเขียว รูปทรงเพียงต้น

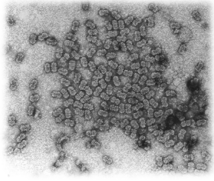
คำนำ

ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชและพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ขยายวันและเดือนโฆษณาพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 แสดงรายชื่อไวรัสที่เป็นสาเหตุโรคในค้ำมันสำปะหลังในประเทศรายชื่อศัตรูพืชกักกันแบบท้าย 3 ชนิด ได้แก่ *African cassava mosaic virus (ACMV)*, *East African cassava mosaic virus (EACMV)* และ *Indian cassava mosaic virus (ICMV)* ทั้ง 3 ชนิด อยู่ในสกุล *Begomovirus* โรคในค้ำมันสำปะหลังที่เกิดจากเชื้อไวรัส ACMV ถือว่าเป็นเชื้อไวรัสร้ายแรงเพราะก่อให้เกิดความเสียหายต่อการปลูกมันสำปะหลังมากที่สุด ถ่ายทอดโรคทางท่อนพันธุ์และแมลงห้ำหิวยาสูบสำหรับประเทศไทยยังไม่มีการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัส ACMV อย่างไรก็ตามในปี 2559 พบการระบาดของเชื้อไวรัส *Sri Lankan cassava mosaic virus (SLCMV)* ในประเทศกัมพูชาที่จังหวัดรัตนคีรี ซึ่งมีพื้นที่ชายแดนติดกับไทยด้านทิศตะวันออก และประเทศไทยได้รายงานตรวจพบ SLCMV ที่ อ. ศรีมหาโพธิ์ จังหวัดปราจีนบุรี ในปี 2561 ดังนั้น การศึกษาเชื้อไวรัส ACMV จึงมีความสำคัญเพื่อประโยชน์ในการเฝ้าระวัง (monitoring) การตรวจสกัดกั้น (interception) และควบคุมการระบาดของเชื้อไวรัสสาเหตุโรคที่อาจเกิดขึ้นได้ในอนาคต

สาเหตุ

African cassava mosaic virus (ACMV) สาเหตุโรคไวรัสในค้ำมันสำปะหลัง จัดอยู่ในวงศ์ *Geminiviridae* สกุล *Begomovirus* ลักษณะอนุภาคไวรัสมีรูปร่างยาวโค้งงอคล้ายรูปคีมหรือรูปหาง เป็นแบบทรงกลมอยู่หลายเหลี่ยม ไม่มีเยื่อหุ้มขนาดประมาณ 30 nm x 18 (รูปที่ 1) สารพันธุกรรมเป็นดีเอ็นเอสายเดี่ยว (ssDNA) 2 โมเลกุล คือ DNA-A และ DNA-B ไวรัสถ่ายทอดทางท่อนพันธุ์ และแมลงห้ำหิวยาสูบ (*Bemisia tabaci*) แบบ persistent พบว่าแมลงห้ำหิวสามารถถ่ายทอดเชื้อไวรัส ACMV จากมันสำปะหลังไปยังต้นสูกั่ว (*Uatropha curcas* L.) ได้ในสภาพไร่ (Appiah et., 2012)

เชื้อไวรัส ACMV สาเหตุโรคในค้ำมันสำปะหลังเป็นศัตรูพืชตามแบบที่ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้าม ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. ๒๕๐๗ (ฉบับที่ ๖) พ.ศ. ๒๕๕๐ ในปัจจุบัน (2564) ยังไม่มีรายงานเชื้อไวรัสชนิดนี้เข้าทำลายมันสำปะหลังในประเทศไทย



ภาพที่ 1 ลักษณะอนุภาคไวรัสในสกุล *Begomovirus* เป็นทรงกลมอยู่หลายเหลี่ยม แหล่งที่มา : www.ncbi.nlm.nih.gov

การตรวจวินิจฉัยเชื้อไวรัส ACMV ด้วยเทคนิค PCR

การตรวจวินิจฉัยเชื้อไวรัส ACMV ด้วยเทคนิค PCR ประกอบด้วยขั้นตอนดังต่อไปนี้จำนวน 3 ขั้นตอน (ตารางที่ 1) สามารถตรวจจำแนกเชื้อไวรัส ACMV และไวรัสที่ใกล้เคียงในลำดับชั้นทางวิวัฒนาการ (Cassava mosaic virus disease, CMVD) ในวงศ์ Geminiviridae สกุล Begomovirus ได้ด้วยเทคนิค PCR

ปฏิกิริยา PCR ประกอบด้วย 10x buffer 2.5 ไมโครลิตร, MgCl₂ (25 mM) 2 ไมโครลิตร, dNTP (10 mM) 2 ไมโครลิตร, โพรบ reverse และ forward (10 00000/ μl) อย่างละ 0.5 ไมโครลิตร, Taq DNA polymerase (0.1 unit/μl) 0.25 ไมโครลิตร น้ำกลั่นอย่างละ 14.25 ไมโครลิตร และดีเอ็นเอต้นแบบ 1 ไมโครลิตร ปริมาตรรวมทั้งหมด 25 ไมโครลิตร นำปฏิกิริยาที่เตรียมไว้มาปั่นรวมกันเป็นปฏิกิริยาในเครื่องควบคุมอุณหภูมิอัตโนมัติ (Thermal cycler) ด้วยโปรแกรมการทำงาน ดังนี้

ขั้นที่ 1:	94°C	นาน 3 นาที	1 รอบ
ขั้นที่ 2:	94°C	นาน 1 นาที	
ขั้นที่ 3:	55-60°C	นาน 2 นาที	
ขั้นที่ 4:	72°C	นาน 3 นาที (ขั้นที่ 2-4) 29 รอบ	
ขั้นที่ 5:	72°C	นาน 10 นาที	1 รอบ
ขั้นที่ 6:	15°C	นาน 15 นาที	1 รอบ

ตารางที่ 1 โพรบและวิธีวินิจฉัยเชื้อไวรัส ACMV late CMVDs

Primer Name	Primer Sequences 5' - 3'	bp	Tm °C	Target	Size (bp)	reference
ACMVF1	TAGAGGATCATGAGACCCA	19	58-60	ACMV	~ 710	กาญจนาพร และคณะ 2563
ACMVR1	ACGGTATGATTTAACTGTAAACCT	20				
SEMA-CP-IF1	TGTGATGAGGCTGTGTAGG	18	55-60	CMV	~ 300	กาญจนาพร และคณะ 2564
SEMA-CP-IF2	GAGGATGATGACGACGAT	20				
Deng A	ATATATTCGCGGAGGCGC	19	50-55	DENV	~ 500	Deng et al. 1994
Deng B	TGACCTTCAAGGAGCCTTACA	20				

แบบฟอร์มบันทึกข้อมูลการสำรวจตัวอย่าง

ภายใต้การขอรับเรื่อง การศึกษาสถานการณ์ของเชื้อไวรัส African cassava mosaic virus (ACMV) ในประเทศไทย

ลำดับที่
วันที่ เดือน ปี

ตัวอย่าง พันธุ์/ชนิด

อายุพืช/แปลงเพาะ

สถานที่เก็บตัวอย่าง

ขนาดพื้นที่ปลูก

พิกัดภูมิศาสตร์

แหล่งที่พบ

วิธีเก็บพืช

ชนิดพืชปลูก/ไม้ปลูกบริเวณสำรวจ

ลักษณะอาการสำคัญของพืช

ภาพถ่าย/ภาพวาด (เฉพาะลักษณะสำคัญ)

ชื่อเกษตรกร

ชื่อผู้เก็บตัวอย่าง

ฉลากสำหรับบันทึกรายละเอียดแต่ละตัวอย่าง

ตัวอย่างที่ : วันที่เก็บตัวอย่าง : ชนิดตัวอย่าง : อาการสำคัญที่พบ: สถานที่เก็บตัวอย่าง : พิกัดภูมิศาสตร์: ชื่อผู้เก็บตัวอย่าง :	ตัวอย่างที่ : วันที่เก็บตัวอย่าง : ชนิดตัวอย่าง : อาการสำคัญที่พบ: สถานที่เก็บตัวอย่าง : พิกัดภูมิศาสตร์: ชื่อผู้เก็บตัวอย่าง : พิกัดภูมิศาสตร์:
ตัวอย่างที่ : วันที่เก็บตัวอย่าง : ชนิดตัวอย่าง : อาการสำคัญที่พบ: สถานที่เก็บตัวอย่าง : พิกัดภูมิศาสตร์: ชื่อผู้เก็บตัวอย่าง : สถานที่เก็บตัวอย่าง :	ตัวอย่างที่ : วันที่เก็บตัวอย่าง : ชนิดตัวอย่าง : อาการสำคัญที่พบ: สถานที่เก็บตัวอย่าง : พิกัดภูมิศาสตร์: ชื่อผู้เก็บตัวอย่าง : สถานที่เก็บตัวอย่าง :

การทดลองที่ 18

การศึกษสถานภาพเชื้อแบคทีเรีย *Xylella fastidiosa* ขององุ่นในประเทศไทย

Study on status of *Xylella fastidiosa* on grapevine in Thailand

ธิดาวรรณ ชมเดช^{1/} ชลธิชา รักใคร่^{1/} ณัฐธิดา โฆษิตเจริญกุล^{2/} รุ่งนภา ทองเครื่อง^{1/} พรรณิภา เป็ชัยศรี^{1/}

^{1/}กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/}กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

สถานภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Xylella fastidiosa* ยังไม่มีรายงานการปรากฏในประเทศไทย และเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย ดังนั้นเพื่อเป็นการยืนยันสถานภาพของเชื้อแบคทีเรีย *X. fastidiosa* ในประเทศไทย จึงดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง ในแปลงปลูกองุ่น ในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน พะเยา ราชบุรี นครราชสีมา สระบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ชลบุรี สมุทรสาคร เพชรบุรี บึงกาฬ นครสวรรค์ ลำปาง สุโขทัย ลพบุรี ชุมพร สุราษฎร์ธานี พังงา สงขลา พิชณุโลก กำแพงเพชร นครปฐม และเพชรบูรณ์ ระหว่างเดือนตุลาคม 2561 – เดือนกันยายน 2564 ทำการตรวจสอบองุ่นจำนวน 87 แหล่งปลูก พื้นที่ 1,740 ไร่ ไม่พบต้นที่แสดงอาการขอบใบไหม้เป็นสีน้ำตาลที่มีลักษณะพ้องกับการเข้าทำลายของเชื้อแบคทีเรีย *X. fastidiosa* สุ่มเก็บตัวอย่างมาตรวจสอบตามวิธีการวินิจฉัยของ EPPO และ ตามมาตรฐาน ISPM No. 27 (*X. fastidiosa*) ในห้องปฏิบัติการ ผลจากการตรวจสอบไม่พบเชื้อแบคทีเรีย *X. fastidiosa* ดังนั้นผลจากการศึกษานี้สามารถสรุปได้ว่าไม่ปรากฏเชื้อแบคทีเรีย *X. fastidiosa* ในพื้นที่ปลูกองุ่นในประเทศไทย

คำสำคัญ: สำรวจ สถานภาพ องุ่น แบคทีเรีย

Abstracts

The status of *Xylella fastidiosa* has not been reported in Thailand and is a quarantine pest of Thailand. Therefore, to confirm the presence of *X. fastidiosa* in Thailand, a specific survey was conducted in the vineyard in the area of Chiang Mai, Chiang Rai, Lamphun, Phayao, Ratchaburi, Nakhon Ratchasima, Saraburi, Prachuap Khiri Khan, Chon Buri, Samut Sakhon, Phetchaburi, Bueng Kan, Nakhon Sawan, Lampang, Sukhothai, Lop Buri, Chumphon, Surat Thani, Phang-Nga, Songkhla, Phitsanulok, Kamphaeng Phet, Nakhon Pathom and Phetchabun survey between in october 2018 to september 2021 from 87 source 1,740 Rai was not found, grapes were planted signs of brown leaf blight that are consistent with the infestation of *X. fastidiosa* were sampled and examined in accordance with EPPO diagnostic methods and in vitro ISPM No. 27 (*X. fastidiosa*). The examination revealed no bacteria *X. fastidiosa*

Keywords: Survey, Surveillance, grapevine, bacteria

บทนำ

ประเทศเกือบทุกประเทศที่เป็นสมาชิกขององค์การการค้าโลก (WTO) ได้นำมาตรการสุขอนามัยพืชมาใช้เป็นข้อต่อรองในการส่งออกและนำเข้า โดยที่ประเทศผู้ส่งออกต้องส่งบัญชีรายชื่อศัตรูพืชของพืชส่งออกและข้อมูลของศัตรูพืชแต่ละชนิดตามความต้องการของประเทศผู้นำเข้า เพื่อทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ก่อนที่จะอนุญาตให้สินค้าเกษตรนั้นๆ เข้าประเทศ ขณะเดียวกันประเทศผู้นำเข้าจำเป็นต้องมีข้อมูลบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่นำเข้าด้วย การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชโดยการศึกษาและการสำรวจแบบติดตามข้อมูลศัตรูพืชในแหล่งปลูกเพื่อเป็นการเฝ้าระวัง (Surveillance) เป็นกระบวนการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชชนิดใดชนิดหนึ่งในพื้นที่ ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการเฝ้าระวังนี้สามารถนำไปใช้ในด้านต่าง ๆ เช่น การสนับสนุนการออกประกาศเรื่องการปลอดศัตรูพืชที่ดำเนินการโดย NPPO กระบวนการช่วยตรวจหาศัตรูพืชชนิดใหม่ได้ทันเวลา การให้การรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืช เป็นต้น

เชื้อแบคทีเรีย *Xylella fastidiosa* เป็นศัตรูพืชกักกัน (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2550) อยู่ใน Order Xanthomonadales วงศ์ Xanthomonadaceae มีแหล่งแพร่กระจายทางภูมิศาสตร์ ได้แก่ ทวีปเอเชีย: อินเดีย อิหร่าน อิสราเอล เลบานอน ไต้หวัน ตุรกี ทวีปยุโรป: ยูโกสลาเวีย ฝรั่งเศส อิตาลี โปรตุเกส เซอร์เบีย เซอร์เบีย และมอนเตเนโกร สเปน ทวีปอเมริกา: แคนาดา คอสตาริกา เม็กซิโก เปอร์โตริโก สหรัฐอเมริกา อาร์เจนตินา บราซิล ปารากวัย เวเนซุเอลา เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้มีพืชอาศัย ถึง 595 ชนิด 275 สกุล 85 วงศ์ ได้แก่ พืชปลูกสกุล เมเปิล สกุลส้ม *Liquidambar styraciflua* (สวีทกัม; Sweet gum), *Medicago sativa* (ลูซิเอร์น; lucerne หรืออัลฟัลฟา; alfalfa), *Morus alba* (หม่อน), *Nerium oleander* (ยี่โถ; oleander), *Platanus occidentalis* (มะเดื่อ; sycamore), พืชสกุล *Prunus* ได้แก่ *Prunus angustifolia* (เชอร์รี่ภูเขา; Mountain cherry tree), *Prunus dulcis* (อัลมอนด์; almond), *Prunus persica* (ท้อ; peach), *Prunus salicina* (พลัมญี่ปุ่น; Japanese plum), *Pyrus* (สาละ; pears), *Ulmus* (เอลม์; elms), พืชสกุล *Vitis* ได้แก่ *Vitis labrusca* (fox grape), *Vitis rupestris* (sand-grape), *Vitis vinifera* (องุ่น; grapevine) มะกอก พืชป่า ได้แก่ *Acer rubrum* (เมเปิ้ลแดง; red maple), *Brachiaria* (หญ้าขน; signalgrass), *Coffea* (กาแฟ; coffee), *Conium maculatum* (เฮมล็อก; Poison hemlock), *Cynodon* (quickgrass), *Cyperus* (กก; flatsedge), *Digitaria* (หญ้าปล้องข่านก; crabgrass), *Echinochloa frumentacea* (มิลเล็ทญี่ปุ่น; Japanese millet), *Fragaria vesca* (สตรอเบอร์รี่ป่า; wild strawberry), *Lolium* (หญ้าไรย์; ryegrasses), *Lolium multiflorum* (หญ้าไรย์อิตาลี; Italian ryegrass), *Medicago* (ถั่ว medic), *Paspalum dilatatum* (หญ้าแดลลิส; dallis grass), *Passiflora foetida* (กะทกรก; red fruit passion flower), พืชวงศ์หญ้า *Poaceae* (หญ้า; grasses), *Quercus rubra* (โอ๊กแดง; northern red oak), *Rubus* (แบล็คเบอร์รี่; blackberry, ราสเบอร์รี่; raspberry), *Sambucus* (เอลเดอร์เบอร์รี่; Elderberry), *Taraxacum officinale* complex (แดนดิไลออน; dandelion), *Trifolium* (โคลเวอร์; clovers), *Ulmus americana* (เอลม์ อเมริกา; American elm), *Vinca minor* (แพงพวย; common periwinkle) ยางพารา ฝรั่ง และพืชสกุล *Brassica* (CABI, 2017; EFSA, 2018; EFSA, 2020) แต่พืชอาศัยหลักที่สำคัญ คือ องุ่น ซึ่งมีลักษณะอาการที่สำคัญ คือ ใบไหม้เกรียมโดยเริ่มจากส่วนหนึ่งส่วนใดของใบ เกิดแห้งอย่างกะทันหันเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เนื้อเยื่อที่อยู่ติดกันเปลี่ยนเป็นสีเหลืองหรือแดง ผลแห้งกระจายต่อไป ทำให้ทั้งใบเหี่ยวเฉาและร่วงหล่นเหลือเพียงก้านใบติดอยู่ ลำต้นที่เป็นโรคมักจะเติบโตไม่ปกติ มีเนื้อเยื่อสีน้ำตาลและสีเขียวสลับเป็นหย่อม บางครั้งเรียก Green's islands ในปีต่อมาต้นที่เป็นโรคเจริญเติบโตช้า ยอดมีอาการสีเขียวซีด แคระแกร็น พืชที่เป็นโรคเรื้อรังอาจมีขนาดใบเล็กบิดเบี้ยว มีสีเขียวซีด ตามเส้นใบ ส่วนยอดมีปล้องสั้นลง พันธุ์ที่มีความอ่อนแอสูงจะมีชีวิตอยู่ได้ไม่เกิน 2-3 ปี แม้ว่าจะฟื้นตัวในช่วงต้นฤดูปลูกที่สองก็ตาม เกาฮุ่นที่อ่อนเกิดโรคเร็วกว่าเถาที่แก่ พันธุ์ที่ทนทานอาจทนอยู่ได้นานกว่า 5 ปี (CABI, 2017) ทำให้เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้มี

ความสำคัญยิ่ง นอกจากนี้หลายประเทศยังให้ความสำคัญเป็นอย่างมาก เช่น ประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรป สหราชอาณาจักร เพื่อยืนยันสถานภาพจากการปรากฏและไม่ปรากฏของเชื้อจึงมีความจำเป็นที่จะต้องมีการสำรวจเพื่อเฝ้าระวังศัตรูพืชชนิดนี้ในพื้นที่ปลูกองุ่นของประเทศอย่างเป็นระบบ เพื่อเป็นข้อมูลในการสนับสนุนการออกประกาศเรื่องการปลอดศัตรูพืช การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชและการรายงานศัตรูพืชอีกด้วย

ระเบียบวิธีการวิจัย

อุปกรณ์

1. คู่มือ เอกสาร หนังสือ วารสาร
2. อุปกรณ์ในการสุ่มเก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติก ปากกามาร์กเกอร์ มีดคัตเตอร์ กรรไกรตัดกิ่ง เครื่องบันทึกพิกัดทางภูมิศาสตร์
3. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องแก้ว อาหารเลี้ยงเชื้อ สารเคมี ชุดตรวจสอบ ตู้แช่แข็ง ตู้ป่นเชื้อ
4. คู่มือการจำแนกศัตรูพืช (คู่มือการจำแนกเชื้อแบคทีเรีย)

วิธีการทดลอง

1. สืบค้นข้อมูล

- สืบค้นข้อมูลลักษณะของเชื้อแบคทีเรีย *Xylella fastidiosa* ได้แก่ รายละเอียดของเชื้อ ชื่อพ้องชื่อวิทยาศาสตร์ และลักษณะอาการโรค การเข้าทำลาย การแพร่ระบาด พร้อมรูปภาพ
- สืบค้นข้อมูลของพืชอาศัยของเชื้อแบคทีเรีย *Xylella fastidiosa* ได้แก่ ชนิดของพืชอาศัย ชื่อสามัญชื่อวิทยาศาสตร์ ความต้านทานและความอ่อนแอต่อโรค เป็นต้น
- สืบค้นข้อมูลองุ่นในประเทศไทย ได้แก่ พื้นที่ปลูก พันธุ์ปลูก

2. จัดทำแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ

โดยรวบรวมข้อมูลลักษณะเชื้อ ลักษณะอาการโรค Pierce's disease ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xylella fastidiosa* พร้อมรูปภาพสีเพื่อใช้ในการตรวจสอบอาการที่พบในแปลง ตลอดจนรายละเอียดของอาการที่มีลักษณะคล้ายกับอาการของพืชเป้าหมาย และจัดทำแบบฟอร์มการสำรวจ เพื่อบันทึกข้อมูลชื่อเกษตรกร สถานที่วันที่เก็บ ข้อมูลพิกัดภูมิศาสตร์

3. การสำรวจ

กำหนดพื้นที่ โดยเป็นแหล่งผลิตองุ่นที่สำคัญของประเทศ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน พะเยา ราชบุรี นครราชสีมา สระบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ชลบุรี สมุทรสาคร เพชรบุรี บึงกาฬ นครสวรรค์ ลำปาง สุโขทัย ลพบุรี ชุมพร สุราษฎร์ธานี พังงา สงขลา พิชณุโลก กำแพงเพชร นครปฐม และเพชรบูรณ์ วางแผนการสำรวจ โดยการสำรวจแบบตรวจหาตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (Surveillance: ISPM No.6) (FAO, 2018) และคำแนะนำในการสำรวจศัตรูพืชในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก (McMaugh, 2008) โดยเลือกพื้นที่ปลูกอย่างน้อย 5 แปลงใน แต่ละจังหวัด รวมทั้งสิ้น 60 แปลง ทำการสำรวจอย่างมีระบบ โดยเดินตามแนวแถวปลูก 1 แถว เว้น 1 แถว เก็บตัวอย่างที่สงสัยว่าเป็นโรค โดยให้สังเกตจากลักษณะอาการของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือ และบันทึกลักษณะอาการ ที่พบ ถ่ายรูป เก็บตัวอย่างโรคทุกต้นที่สุ่มที่พบต้นองุ่นแสดงอาการ

คล้ายกับโรคขอบใบแห้งตามคู่มือการสำรวจ และสำหรับต้นปกติ สุ่มเก็บตัวอย่างห่อกระดาษและใส่ถุง มาตรวจหาเชื้อในห้องปฏิบัติการ

4. การแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรครกพืช

นำตัวอย่างที่เก็บมาหรือสุ่มใบอ่อนที่แสดงอาการคล้ายโรค Pierce's disease ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xylella fastidiosa* นำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์บนอาหาร Peptone water (PW Agar) เพื่อศึกษาและจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ ต่อไป

5. การตรวจเชื้อแบคทีเรีย *Xylella fastidiosa* ด้วยวิธี Polymerase Chain Reaction; PCR

การสกัดดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรีย สกัดดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรียจากพืช โดยใช้ FavorPrep™ Plant Genomic DNA Extraction Mini Kit (FAVORGEN, Taiwan) ตามคำแนะนำของบริษัท มีขั้นตอนดังนี้

1. บดตัวอย่างให้มีปริมาณ 100 มิลลิกรัม ด้วยไนโตรเจนเหลวให้ละเอียด แล้วย้ายมาใส่ในหลอดขนาด 2 มิลลิลิตร
2. เติมบัฟเฟอร์ FAPG1 ปริมาตร 400 มิลลิลิตร และเติม RNase A ปริมาตร 8 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปต้มที่ 65 °C นาน 10 นาที

3. เติมบัฟเฟอร์ FAPG2 ปริมาตร 130 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันแล้ววางบนน้ำแข็ง 5 นาที

4. ย้ายส่วนของพืชมาใส่ Filter Column แล้วปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 rpm นาน 3 นาที จากนั้นดูดทิ้งส่วนของเหลวใส่ใน Collection tube ขนาด 2 มิลลิลิตร

5. เติมบัฟเฟอร์ FAPG3 ปริมาตร 1.5 เท่าของทิ้งส่วนของเหลวใส่ที่ได้ ผสมให้เข้ากันแล้วย้ายมาใส่ใน FAPG Column ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 rpm นาน 2 นาที ทิ้งส่วนใส

6. เติมบัฟเฟอร์ W1 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 rpm นาน 1 นาที ทิ้งส่วนของเหลวใสแล้วล้างด้วยบัฟเฟอร์ Wash Buffer ปริมาตร 750 ไมโครลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 rpm นาน 1 นาที ทิ้งส่วนใสแล้วปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 rpm นาน 3 นาที

7. นำ FAPG Column มาวางบนหลอดใหม่ขนาด 1.5 มิลลิลิตร แล้วเติม Elution Buffer ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 rpm นาน 2 นาที เสร็จแล้วเก็บ DNA ที่ได้ไว้ใช้งานในขั้นตอนต่อไป

5.2 ทดสอบปฏิกิริยาในการตรวจเชื้อทดสอบปฏิกิริยา PCR ในการสังเคราะห์เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้คู่ไพรเมอร์ RST31 (5'-GCGTTAATTTTCGAAGTGATTTCGATTGC-3') และ

RST33 (5'-CACCATTCGTATCCCGGTG-3') (Minsavage *et al.*, 1994)

Reagents	Final concentration
PCR grade water	+
PCR buffer (Invitrogen)	1X
dNTPs	200 µM
MgCl ₂	1.5 mM
Primer RST31 (forward)	0.4 µM
Primer RST33 (reverse)	0.4 µM
Taq DNA polymerase (Invitrogen)	1.0 U
DNA volume	2 µl bacterial suspension or DNA extract

+ For a final reaction volume of 20 µl.

ผสมส่วนผสมให้เข้ากันดี แล้วนำไปเข้าเครื่องควบคุมอุณหภูมิ (Thermo cycler) โดยทำปฏิกิริยาในการสังเคราะห์ ดังนี้

Cycling parameters	Condition
Initial denaturation	94 °C for 1 min
Number of cycles	40
- Denaturation	94 °C for 1 min
- Annealing	67 °C for 1 min
- Elongation	72 °C for 1 min
Final elongation	72 °C for 10 min

DNA band Size: 733 base pairs (bp)

เมื่อปฏิกิริยาเสร็จสมบูรณ์แล้ว ตรวจสอบดีเอ็นเอผลผลิตด้วย 1.5% agarose gel electrophoresis ที่เติม RedSafe Nucleic Acid Staining Solution, 2000x (iNtRON Biotechnology, Korea) ใน 1X TAE buffer ใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ นาน 45 นาที แล้วตรวจสอบแถบดีเอ็นเอภายใต้แสง อัลตราไวโอเล็ต (UV) ด้วยเครื่อง ChemiDoc Gel Imaging System (Biorad, USA)

6. บันทึกข้อมูล

- บันทึกรายละเอียดตำแหน่งของแปลงปลูกก่อนที่ทำการสำรวจ/เก็บตัวอย่าง
- บันทึกข้อมูลจำนวนแปลง และจำนวนตัวอย่างที่ทำการสำรวจ/เก็บตัวอย่าง
- บันทึกข้อมูลชนิดพืช ขนาดพื้นที่ปลูก ระยะการเจริญเติบโตของพืช และสภาพแวดล้อมอื่นๆ
- บันทึกลักษณะอาการการเกิดโรค ส่วนของพืชที่พบอาการของโรค ประเมินความรุนแรงของโรค และการแพร่กระจายในพื้นที่
- บันทึกข้อมูลชนิดของเชื้อสาเหตุโรคพืช และลักษณะเชื้อสาเหตุที่ตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ

7. สรุปผล และจัดทำรายงาน

รวบรวมข้อมูลการสำรวจและการจำแนกในห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช วิเคราะห์สถานภาพศัตรูพืช ผลการวิจัยสถานภาพเชื้อแบคทีเรีย *Xylella fastidiosa* ของแปลง

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาเริ่มต้น ตุลาคม 2561 – กันยายน 2564 (3 ปี)

สถานที่

- 1) ห้องปฏิบัติการของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
- 2) แปลงปลูกอยู่ในพื้นที่จังหวัดจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน พะเยา ราชบุรี นครราชสีมา สระบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ชลบุรี สมุทรสาคร เพชรบุรี บึงกาฬ นครสวรรค์ ลำปาง สุโขทัย ลพบุรี ชุมพร สุราษฎร์ธานี พังงา สงขลา พิชณุโลก กำแพงเพชร นครปฐม และเพชรบูรณ์

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1. สืบค้นข้อมูลสืบค้นข้อมูลลักษณะขององุ่นและเชื้อแบคทีเรีย *Xylella fastidiosa*

จากการสืบค้นข้อมูล พบว่าองุ่น มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Vitis vinifera* L. จัดอยู่ในวงศ์ Vitidaceae (Ampelidaceae) ในปี พ.ศ. 2493 ได้เริ่มมีการปลูกองุ่นอย่างจริงจัง โดยหลวงสมานวนกิจ ได้นำพันธุ์องุ่นมาจากมลรัฐแคลิฟอร์เนีย ประเทศสหรัฐอเมริกา และปี พ.ศ. 2497 ดร.พิศ ปัญญาลักษณ์ ได้นำพันธุ์องุ่นมาจากทวีปยุโรปซึ่งสามารถปลูกได้ผลเป็นที่น่าพอใจ นับแต่นั้นมาการปลูกองุ่นในประเทศไทยจึงแพร่หลายมากขึ้น องุ่น เป็นพืชล้มลุก มีลักษณะเป็นไม้เลื้อย เนื้อแข็ง มีกิ่งก้านเล็ก ต้องเลื้อยเกาะกิ่งไม้ ใบกลม ขอบหยักเว้าลึก 3 - 7 พู โคนใบเว้าหัวใจ ดอกออกเป็นช่อแยกแขนง ดอกย่อยขนาดเล็กสีเขียว โคนเชื่อมติดกัน ปลายแยก 5 กลีบ ผลออกเป็นพวง ผลย่อยรูปกลมรี ฉ่ำน้ำ ผิวมีนวลเกาะ รสหวาน มีสีเขียว ม่วงแดง และม่วงดำ แล้วแต่พันธุ์ มี 1 - 4 เมล็ด สามารถเจริญเติบโตได้ดีทั้งในเขตหนาว เขตกึ่งร้อนกึ่งหนาว และเขตร้อน พันธุ์ที่นิยมปลูก พันธุ์ไวท์มะละกา มี 2 สายพันธุ์ คือ ชนิดผลกลมและผลยาว ลักษณะช่อใหญ่ยาว การติดผลดีผลมีสีเหลืองอมเขียว รสหวานแหลม เปลือกหนาและเหนียว ในผลหนึ่งๆ มี 1 - 2 เมล็ด ช่วงเวลาหลังจากตัดแต่งกิ่งจนเก็บผลได้ประมาณ 4 เดือนครึ่ง พันธุ์คาร์ดินัล มีลักษณะช่อใหญ่ ผลดก ผลกลมค่อนข้างใหญ่ มีสีแดงหรือม่วงดำ รสหวาน กรอบ เปลือกบาง จึงทำให้ผลแตกง่ายเมื่อผลแก่ ในช่วงฝนตกชุกในผลหนึ่งๆ มีเมล็ด 1 - 2 เมล็ด ช่วงเวลาหลังจากตัดแต่งกิ่งจนเก็บผลได้ใช้เวลา 3 - 4 เดือน สามารถปลูกองุ่นได้ในพื้นที่สูงตั้งแต่ระดับน้ำทะเลจนถึงระดับความสูง 6,000 ฟุต แต่แหล่งปลูกองุ่นที่มีคุณภาพดีมักอยู่ในระดับความสูงจากระดับน้ำทะเลประมาณ 1,000 - 4,000 ฟุต

เชื้อแบคทีเรีย *Xylella fastidiosa* เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรค Pierce's disease ขององุ่น อยู่ในวงศ์ Xanthomonadaceae โดยมีองุ่นเป็นหนึ่งในพืชอาศัยหลัก (CABI, 2017) ต้นองุ่นจะแสดงอาการขาดน้ำ ยอดเหี่ยวเฉาตาย ใบแสดงอาการขอบใบไหม้และมีอาการจุดขีดเหลืองขยายโต ขอบใบแห้งตายอย่างรวดเร็ว แต่บริเวณภายในของใบยังคงมีสีเขียวหรือม่วงเข้ม อาการแห้งตายจะลุกลามไปที่ฐานใบและใบที่แห้งจะร่วงเฉพาะเนื้อใบ ยังคงเหลือก้านใบติดกับกิ่ง ต่อมาก้านใบจะค่อยแห้งจากปลายเข้าไป สภาพที่มีใบไหม้มากจะทำให้ ช่อองุ่นเหี่ยวแห้งลักษณะอาการเหี่ยวแห้งของใบนั้นอาจแตกต่างกันไป ตามสภาพอุณหภูมิและความชื้นและพันธุ์องุ่นอาการดังกล่าวอาจพบเพียงบางใบและบางกิ่งเท่านั้น เชื้อโรคนี้อาศัยในท่อน้ำ (xylem) ในระบบราก ลำต้น และใบ สามารถแพร่ระบาดและถ่ายทอดโดยแมลงเพลี้ยจักจั่นหลายชนิด เช่น Sharp shooter leaf hopper (Cicadellidae) และ Spittle bugs (Cercopidae) และโดยวิธีติดตามเสียบกิ่ง โดยมีพื้นที่ที่พบการระบาดแบ่งเป็นทวีป ดังนี้

ทวีปแอฟริกา – โมร็อกโก

ทวีปเอเชีย – อินเดีย อิหร่าน อิสราเอล เลบานอน ใต้หวัน และตุรกี

ทวีปยุโรป – แอลเบเนีย ออสเตรีย เบลเยียม เช็กเกีย เอสโตเนีย ฟินแลนด์ ฝรั่งเศส เยอรมัน อิตาลี ลิทัวเนีย เนเธอร์แลนด์ โปรตุเกส ประเทศเซอร์เบียและมอนเตเนโกร สโลวีเนีย สเปน และสวิตเซอร์แลนด์

ทวีปอเมริกาเหนือ – แคนาดา คอสตาริกา ฮอนดูรัส เม็กซิโก เปอร์โตริโก และสหรัฐอเมริกา

ทวีปอเมริกาใต้ – อาร์เจนตินา บราซิล เอกวาดอร์ ปารากวัย เปรู และเวเนซุเอลา

PCR (Polymerase Chain Reaction) เป็นเทคนิคที่มีประโยชน์มากต่อการตรวจวินิจฉัยโรคพืช แต่ประสิทธิภาพของเทคนิค PCR เพื่อให้ได้มาซึ่งลายพิมพ์พันธุกรรม (genetic fingerprint) เพื่อใช้ตรวจหาเชื้อ ก่อโรคขึ้นอยู่กับจำนวนเซลล์ของเชื้อก่อโรค โดยจำนวนเซลล์ที่เพียงพอส่งผลให้สารพันธุกรรมของเชื้อก่อโรคสามารถเพิ่มจำนวนจนเพียงพอต่อการตรวจหา

นักวิทยาศาสตร์ของกระทรวงเกษตรสหรัฐอเมริกาค้นพบวิธีที่เรียกว่า Bio-PCR ซึ่งสามารถเพิ่มประสิทธิภาพของเทคนิค PCR ในการตรวจหาเชื้อก่อโรค โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่เป็นวุ้น (agar) หรือของเหลว (liquid) ซึ่งช่วยในการเจริญของเชื้อก่อโรคเพิ่มจำนวนเชื้อก่อโรคเป้าหมายในตัวอย่างส่งตรวจก่อนแล้วเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมโดยเทคนิค PCR โดยตรง (direct PCR) โดยวิธีนี้เมื่อผ่านไปไม่เกิน 3 วันขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อก่อโรคจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นถึง 1,000 เท่า ซึ่งเพียงพอต่อการตรวจหาโดยเทคนิค PCR ข้อดีของวิธีนี้เหนือเทคนิค PCR แบบทั่วไป คือ เพิ่มประสิทธิภาพของเทคนิค PCR 100 ถึง 1000 เท่าและยับยั้งการทำงานของตัวขัดขวาง (inhibitor) ที่มีต่อเอนไซม์ Taq polymerase ซึ่งมีความสำคัญในการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยเทคนิค PCR วิธี Bio-PCR ใช้ได้ดีที่สุดกับแบคทีเรียที่โตเร็ว เช่น แบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ซึ่งก่อโรคเหี่ยวเฉาในมะเขือเทศและมันฝรั่ง และแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* ซึ่งก่อโรคจุดในแตงโม อย่างไรก็ตามวิธีนี้ยังใช้ได้กับเชื้อโตช้า เช่น *Xylella fastidiosa* ซึ่งก่อโรค Pierce ในองุ่น (Jan Suszkiw, 2013)

2. จัดทำแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ

จัดทำคู่มือและแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจเชื้อแบคทีเรีย *X. fastidiosa* (Figure 2) โดยคู่มือประกอบด้วย

- ข้อมูลพื้นฐานของเชื้อแบคทีเรีย *X. fastidiosa* ภาพตัวอย่างอาการของใบองุ่นที่เกิดจากเข้าทำลายของเชื้อแบคทีเรีย *X. fastidiosa* (Figure 1) และการถ่ายทอดโรคโดยแมลงพาหะ

- แบบบันทึกรายงานการสำรวจโดยมีรายละเอียดคือ วันเดือนปีที่สำรวจ สถานที่สำรวจ (หมู่บ้าน ตำบล อำเภอ จังหวัด) พิกัดทางภูมิศาสตร์ ขนาดของพื้นที่ทำการสำรวจ ชื่อผู้สำรวจ จำนวนแปลงที่สำรวจ ชื่อพืชที่พบ รอยทำลาย อัตราการทำลาย และพืชอาศัยอื่นที่อยู่ข้างเคียง

- รูปแบบการเดินทางสำรวจโดยเดินทางตามแนวแถวปลูก 1 แถว วัน 1 แถว รูปตัว U (Figure 3)

- การเก็บตัวอย่าง โดยเก็บชิ้นส่วนของพืชห่อกระดาดและใส่ถุง นำมาตรวจวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการทันที หรือนำตัวอย่างมาเก็บได้มาเก็บรักษาตัวอย่างที่อุณหภูมิ 4-15 องศาเซลเซียส ซึ่งจะเก็บตัวอย่างได้แค่ 7 วัน และให้รีบทำการตรวจสอบตัวอย่างทันที แต่ถ้าต้องการเก็บเพื่อตรวจสอบด้วยวิธีชีวโมเลกุล ควรเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส หรือ -80 องศาเซลเซียส

3. การสำรวจ

จากการสำรวจแหล่งปลูกองุ่นทั้งองุ่นบริโภคผลสด ได้แก่ พันธุ์เฟลมซิตีเลส บิวตี้ซิตีเลส แบล็คโอปอล และไวท์มะละกา องุ่นผลิตไวน์ ได้แก่ พันธุ์ซีราส เหมปรานิลโย กาแบร์เน โซวีญง เซอแนง บลอง เวอเดลโอ และคูรีฟ จำนวน 23 จังหวัด 87 แหล่งปลูก ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน พะเยา ราชบุรี นครราชสีมา สระบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ชลบุรี สมุทรสาคร เพชรบุรี บึงกาฬ นครสวรรค์ ลำปาง สุโขทัย ลพบุรี ชุมพร สุราษฎร์ธานี พังงา

สงขลา พิษณุโลก กำแพงเพชร นครปฐม และเพชรบูรณ์ เมื่อสุ่มเก็บตัวอย่างมาตรวจสอบตามวิธีการวินิจฉัยของ EPPO และ ตามมาตรฐาน ISPM No. 27 (*Xylella fastidiosa*) ในห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

4. การแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชและการตรวจเชื้อแบคทีเรีย *Xylella fastidiosa* ด้วยวิธี Polymerase Chain Reaction; PCR

ตรวจสอบตัวอย่างตามวิธีการวินิจฉัยของ EPPO และ ตามมาตรฐาน ISPM No. 27 (*Xylella fastidiosa*) ในห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช โดยใช้ไพรเมอร์ที่มีความเฉพาะเจาะจงกับเชื้อแบคทีเรีย *X. fastidiosa* คือ RST31 และ RST33 เช่นเดียวกับ Minsavage *et al.* (1994) ได้พัฒนาเทคนิค PCR เพื่อใช้ในการตรวจเชื้อแบคทีเรีย *Xylella fastidiosa* โดยใช้ไพรเมอร์ที่มีความเฉพาะเจาะจงกับเชื้อแบคทีเรีย *Xylella fastidiosa* คือ RST31 และ RST33 จะได้ลำดับเบสที่มีขนาด 733 bp ระหว่างการศึกษาตรวจแล้วไม่พบเชื้อแบคทีเรีย *X. fastidiosa* สาเหตุของโรค Pierce's disease (Figure 4 and Table 1) แต่พบลักษณะอาการของโรคที่สำคัญของงุ่นดังนี้

- โรคราน้ำค้าง เกิดจากเชื้อ *Plasmopara viticola* (Figure 5) ลักษณะอาการเริ่มแรกของโรคจะเห็นเพียงจุดเล็กๆ ปรากฏที่ด้านบนของใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายเป็นจุดเหลือง หรือสีเขียวอ่อน ต่อมาเมื่อมีอาการรุนแรงขึ้นแผลจะขยายใหญ่ขึ้น ซึ่งถ้าดูด้านล่างของใบจะพบเชื้อราสีขาวเป็นกลุ่มบริเวณแผล

- โรครานิม เกิดจากเชื้อ *Phakopsora euvtis* (Figure 6) ลักษณะอาการ ทางด้านหลังใบเกิดเป็นจุดขนาดเล็กระบายทั่วทั้งใบ และมีผงสปอร์สีเหลืองกระจายทั่วบริเวณแผล เมื่อเชื้อเจริญมากขึ้นอาการของโรคจะทำให้ใบแห้งไหม้เป็นสีน้ำตาลและร่วง

ซึ่งทั้งสองเชื้อที่พบสามารถพบได้ทั่วไปในประเทศไทย สอดคล้องกับการรายงานของ (CABI, 2022)

5. ผลการศึกษาสถานภาพของเชื้อแบคทีเรีย *X. fastidiosa*

จัดทำมาตรการเฝ้าระวัง และแผนปฏิบัติการฉุกเฉินในกรณีที่เกิดการระบาดของเชื้อแบคทีเรีย *X. fastidiosa* ดังต่อไปนี้

มาตรการระยะสั้น

1. ประชาสัมพันธ์ / สร้างการรับรู้

- โดยใช้โปสเตอร์ ภาพอินโฟกราฟิก และมอบให้แก่ ภาครัฐ ภาคเอกชน ผู้เกี่ยวข้อง เพื่อประชาสัมพันธ์ และสร้างการรับรู้ให้แก่เกษตรกร

- ผ่านระบบไลน์

- เว็บไซต์ และเฟสบุ๊คกรมวิชาการเกษตร เป็นต้น

2. จัดประชุมชี้แจงหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง ประกอบด้วย เจ้าหน้าที่ด้านตรวจพืช กรมส่งเสริมการเกษตร และ กรมวิชาการเกษตร

3. ให้พนักงานเจ้าหน้าที่ด้านตรวจพืชทุกด้านที่มีการนำเข้าส่วนขยายพันธุ์ หรือต้นพืชอาศัย ให้เข้มงวด และรายงานให้กรมวิชาการเกษตรทราบ

มาตรการระยะยาว

ดำเนินการสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย *Xylella fastidiosa* ในกลุ่มพืชอาศัยที่ปลูกในประเทศไทย ได้แก่ ฝรั่ง มะกอก มะเดื่อ ส้ม มะนาว กาแฟ ท้อ พลัม สาลี่ เมเปิ้ล อัลมอนต์ แบล็คเบอร์รี่ ราสเบอร์รี่ ยี่โถ หม่อน

ยางพารา ฝรั่ง พืชวงศ์ผักกาด (Brassicaceae) และพืชเพื่อปลูกอื่น ๆ (Cyperus, Euphorbia, Ficus, Hibiscus, Sambucus, Strelitzia, Vinca) โดยสุ่มตัวอย่างใบหรือส่วนขยายพันธุ์ เช่น กิ่งที่มีชีวิตที่แสดงอาการคล้ายกับภาพของพืชอาศัยของเชื้อ และไม่แสดงอาการ (ปกติ) ตามมาตรฐานของ EFSA โดยให้ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างอย่างน้อย 5-25 ใบ หรือกิ่งต่อตัวอย่าง รวมทั้งเก็บตัวอย่างเปลือกจกั๊กัน (ถ้าพบ) มาตรวจในห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยัน

แผนปฏิบัติงานฉุกเฉินหลังจากตรวจพบการระบาดในประเทศไทย

1. แจ้งผู้เกี่ยวข้องให้ทราบ เมื่อพบอาการคล้ายหรือต้องสงสัยว่าเป็นเชื้อแบคทีเรีย *X. fastidiosa* ในพื้นที่สามารถแจ้งข้อมูลมายัง สายด่วนเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกัน กลุ่มงานเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร โทร. 0-2579-8516 หรือ 061-415-2517 อีเมล ppspq@doa.in.th เพื่อประสานหน่วยงานในพื้นที่เข้าติดตามตรวจสอบ และให้คำแนะนำการป้องกันกำจัด รวมทั้งควบคุมการระบาดไม่ให้แพร่กระจายออกไปยังพื้นที่อื่นๆ ได้

2. ป้องกันและกำจัดแมลงพาหะ

- พ่นสารฆ่าแมลง เพื่อกำจัดเพลี้ยจักจั่นบนพืชอาศัยที่อยู่ในบริเวณพื้นที่พบการระบาด และพื้นที่ในรัศมี 5 กิโลเมตร จากคำแนะนำ การป้องกันกำจัดแมลง-สัตว์ศัตรูพืชอย่างปลอดภัย...จากงานวิจัย 2563 (สุภรดา และคณะ 2563)

- โอเมโทเอต (omethoate) 50% SL อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
- อิมิดาโคลพริด (imidacloprid) 70% WG อัตรา 2 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
- ไทอะมีโทกแซม (thiamethoxam) 25% WG อัตรา 25 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
- ฟลอนิคามิด (flonicamid) 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
- ไดโนทีฟูแรน (dinotefuran) 10% WP อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
- อะซีทามิพริด (acetamiprid) 20% SP อัตรา 4 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
- บูโพรเฟซีน (buprofezin) 25% WP อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

พ่นสารกำจัดแมลงทุก 7 วัน ติดต่อกัน 2-3 ครั้ง โดยใช้กลุ่มสารสลับกันอย่างน้อย 2 กลุ่ม และเว้นระยะไม่ใช้สารกลุ่มเดิมในรอบวงจรชีวิตถัดไป เพื่อลดการสร้างความต้านทานต่อสารกำจัดแมลง

4. มาตรการทางกฎหมาย

- ประกาศเขตควบคุมศัตรูพืช (พ.ร.บ.กักพืช ม.17) (กวก.)
- ประกาศเขตกักยิปิบัติ (มท.)

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

จากการสำรวจแหล่งปลูกองุ่นทั้งองุ่นบริโภคผลสด ได้แก่ พันธุ์เฟลมซิตีเลส บิวตี้ซิตีเลส แบล็คโอปอล และไวท์มะละกา องุ่นผลิตไวน์ ได้แก่ พันธุ์ซีราส เทมปรานิลโย กาแบร์เน โซวีญง เซอแนง บลอง เวอเดลโอ และ คูร์ฟ เพื่อยืนยันสถานภาพของเชื้อแบคทีเรีย *X. fastidiosa* ในประเทศไทย แบบเฉพาะเจาะจง โดยการสำรวจแบบตรวจหาตามมาตรฐาน ISPM No. 6 (การเฝ้าระวัง) ในแหล่งปลูกองุ่นซึ่งเป็นพืชอาศัยหลักของเชื้อ จำนวน 24 จังหวัด 87 แหล่งปลูก เมื่อสุ่มเก็บตัวอย่างมาตรวจสอบตามวิธีการวินิจฉัยของ EPPO และ ตามมาตรฐาน ISPM No. 27 (*Xylella fastidiosa*) ในห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช โดยใช้

ไพรเมอร์ที่มีความเฉพาะเจาะจงกับเชื้อแบคทีเรีย *X. fastidiosa* คือ RST31 และ RST33 ระหว่างการศึกษาตรวจแล้วไม่พบเชื้อแบคทีเรีย *X. fastidiosa* สาเหตุของโรค Pierce's disease

นอกจากนี้ยังต้องศึกษาและสำรวจเชื้อแบคทีเรีย *X. fastidiosa* ในพืชอาศัยชนิดอื่น ๆ ต่อไป เช่น มะกอก มะเดื่อ ส้ม มะนาว กาแฟ ท้อ พลัม สาลี่ เมเปิ้ล อัลมอนต์ แบล็คเบอร์รี่ ราสเบอร์รี่ ยี่ถ่อ หม่อน ฝรั่ง พืชวงศ์ผักกาด (Brassicaceae) และพืชเพื่อปลูกอื่น ๆ (*Cyperus, Euphorbia, Ficus, Hibiscus, Sambucus, Strelitzia, Vinca*) เพื่อลดความเสี่ยงศัตรูพืชและป้องกันผลกระทบทางด้านสุขอนามัยพืชกับการค้าระหว่างประเทศ

คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณ ข้าราชการ พนักงานราชการ และพนักงานจ้างเหมา ของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่ให้คำแนะนำช่วยเหลือในการทำงานวิจัย

กรมวิชาการเกษตร

Table 1 Detective survey of *Xylella fastidiosa* in production area of grapevine in Thailand.

No	Production area of grapevine			Source	Survey result
	Sub district	District	Province		
1	Mae Win	Maewang	Chiang Mai	2	Absent
2	Banloug	Chomthong	Chiang Mai	2	Absent
3	Soptai	Chomthong	Chiang Mai	1	Absent
4	Mae Taeng	Mae Taeng	Chiang Mai	1	Absent
5	Mae Soon	Fang	Chiang Mai	1	Absent
6	Tha Ton	Mae Ai	Chiang Mai	1	Absent
7	Si Dong Yen	Chaiprakarn	Chiang Mai	1	Absent
8	Sanpapao	San Sai	Chiang Mai	1	Absent
9	Thung Khao Phuang	Chiang Dao	Chiang Mai	1	Absent
10	Pong Pha	Mae Sai	Chiang Rai	1	Absent
11	Tap Tao	Thoeng	Chiang Rai	1	Absent
12	Lao Yao	Banhong	Lamphun	1	Absent
13	Tha Khum Ngoen	Mae Tha	Lamphun	2	Absent
14	Bantom	Muang Phayao	Phayao	1	Absent
15	Bantun	Muang Phayao	Phayao	1	Absent
16	Suan Phueng	Suan Phueng	Ratchaburi	1	Absent
17	Pho Hak	Bang Phae	Ratchaburi	1	Absent
18	Ban Sing	Photharam	Ratchaburi	2	Absent
19	Ban Bueng	Ban Kha	Ratchaburi	1	Absent
20	Ban Rai	Damnoen Saduak	Ratchaburi	1	Absent
21	Don Phai	Damnoen Saduak	Ratchaburi	1	Absent
22	Don Klang	Damnoen Saduak	Ratchaburi	1	Absent
23	Don Kruai	Damnoen Saduak	Ratchaburi	3	Absent
24	Rang Bua	Chom Bueng	Ratchaburi	1	Absent
25	Khao Raeng	Mueang Ratchaburi	Ratchaburi	1	Absent
26	Tha Nat	Damnoen Saduak	Ratchaburi	1	Absent
27	Pak Chong	Pak Chong	Nakhon Ratchasima	6	Absent
28	Klang Dong	Pak Chong	Nakhon Ratchasima	1	Absent
29	Phaya Yen	Pak Chong	Nakhon Ratchasima	2	Absent
30	Udom Sap	Wang Nam Khiao	Nakhon Ratchasima	2	Absent
31	Wang Nam Khiao	Wang Nam Khiao	Nakhon Ratchasima	2	Absent
32	Wang Mi	Wang Nam Khiao	Nakhon Ratchasima	1	Absent
33	Na Phralan	Chaloem Phra Kiet	Saraburi	1	Absent
34	Nong Yang Suea	Muak Lek	Saraburi	4	Absent
35	Nong Phlap	Hua Hin	Prachuap Khiri Khan	2	Absent
36	Huai Sai	Mueang Prachuap Khiri Khan	Prachuap Khiri Khan	1	Absent
37	Na Chom Thian	Sattahip	Chon Buri	1	Absent

Table 1 Continued

No	Production area of grapevine			Source	Survey result
	Sub district	District	Province		
38	Chet Rio	Ban Phaeo	Samut Sakhon	1	Absent
39	Nong Bua	Ban Phaeo	Samut Sakhon	1	Absent
40	Nong Song Hong	Ban Phaeo	Samut Sakhon	4	Absent
41	Kaeng Krachan	Kaeng Krachan	Phetchaburi	2	Absent
42	Yang Nam Klat Nuea	Nong Ya Plong	Phetchaburi	1	Absent
43	Si Wilai	Si Wilai	Bueng Kan	1	Absent
44	Hua Thanon	Tha Tako	Nakhon Sawan	1	Absent
45	Lom Raet	Thoen	Lampang	1	Absent
46	Si Nakhon	Si Nakhon	Sukhothai	1	Absent
47	Don Dueng	Ban Mi	Lop Buri	1	Absent
48	Khok Tum	Mueang Lop Buri	Lop Buri	1	Absent
49	Nong Bua	Phatthana Nikhom	Lop Buri	1	Absent
50	Yang Thon	Nong Muang	Lop Buri	2	Absent
51	Ban Mai Samakkhi	Chai Badan	Lop Buri	1	Absent
52	Hong Charoen	Tha Sae	Chumphon	1	Absent
53	Makham Tia	Mueang Surat Thani	Surat Thani	1	Absent
54	Thung	Chaiya	Surat Thani	1	Absent
55	Bang Wan	Khura Buri	Phang-nga	1	Absent
56	Sathing Mo	Singhanakhon	Songkhla	1	Absent
57	Tha Cha Muang	Rattaphum	Songkhla	1	Absent
58	Tha Chang	Bang Klam	Songkhla	1	Absent
59	Bang Riang	Khuan Niang	Songkhla	1	Absent
60	Ban Krang	Mueang Phitsanulok	Phitsanulok	1	Absent
61	Nakhon Chum	Mueang Kamphaeng Phet	Kamphaeng Phet	1	Absent
62	Khlong Chinda	Sam Phran	Nakhon Pathom	1	Absent
63	Khek Noi	Khao Kho	Phetchabun	1	Absent
64	Sado Phong	Khao Kho	Phetchabun	1	Absent

แบบบันทึกรายงานการสำรวจ

คู่มือการสำรวจและเฝ้าระวัง
เชื้อแบคทีเรีย *Xylella fastidiosa*



นางสาวธิดาวรรณ ชมเดช
กลุ่มงานเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร



วันที่	ชื่อ เกษตรกร	ที่ อยู่	พิกัด		เปอร์เซ็นต์ การเป็น โรค	แมลง ที่พบ	วัชพืช	ชนิดพืช แปลง ข้างเคียง
			ละติจูด	ลองจิจูด				

Figure 1 Survey guide and report form

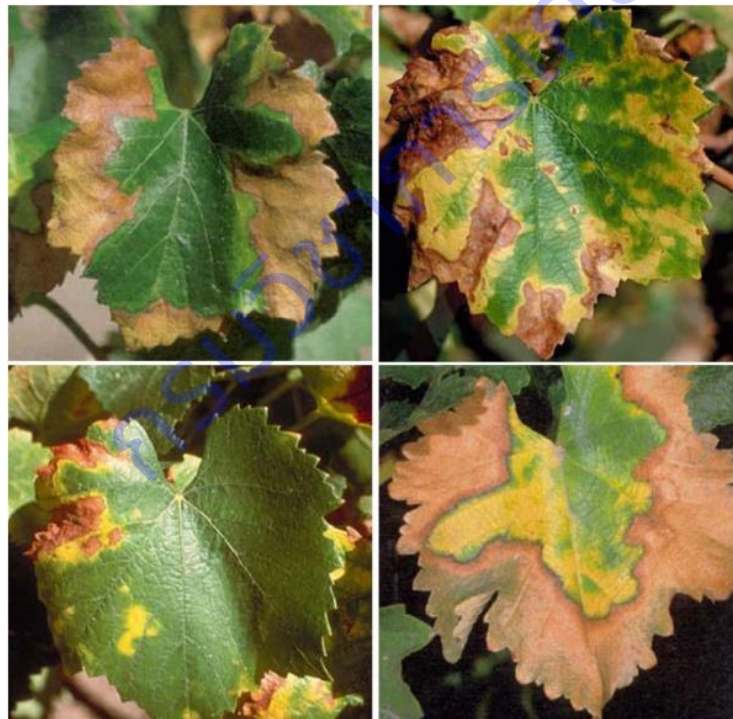


Figure 2 Show the symptoms of pierce's disease caused by *Xylella fastidiosa*

Source: Regents, Univ. California, USA

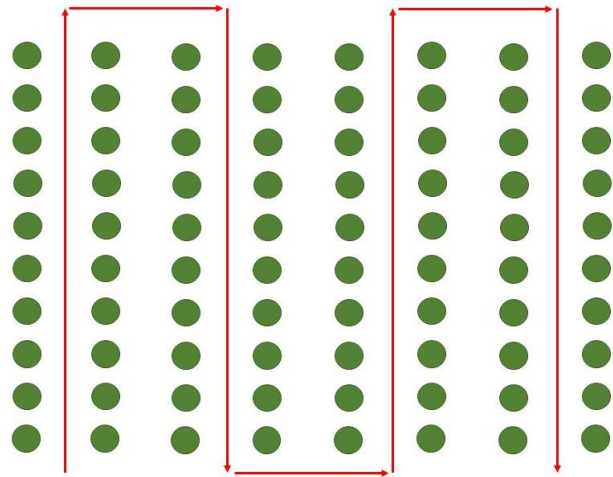


Figure 3 Survey pattern and collecting sample

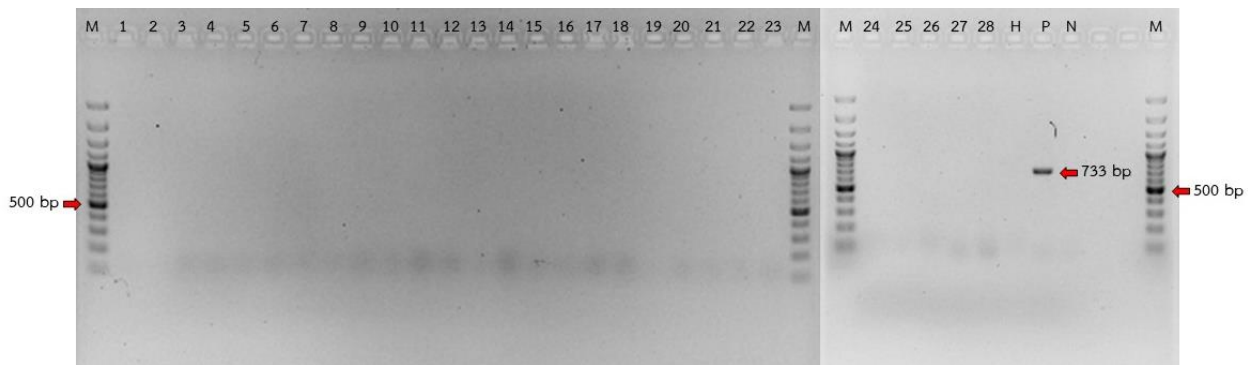


Figure 4 PCR amplification products of grapevine leaves (1-28), Negative control (H), Positive control (P) and 100 bp Ladder (M)



Figure 5 Show the symptoms of downy mildew caused by *Plasmopara viticola*



Figure 6 Show the symptoms of rust caused by *Phakopsora euvitis*

การทดลองที่ 19

การศึกษาสถานภาพด้วงฟูเรอโรส *Pantomorus cervinus* (Boheman) ของพืชตระกูลส้มในประเทศไทย

Study on status of *Pantomorus cervinus* (Boheman) on Citrus in Thailand

दन्य चयरेणनकैव^{1/} णथरा उडडडड^{1/} डठडड डररररर^{2/} डडरररर डडडड^{1/} डडडड डडडड^{3/}

^{1/}กลุ่มวิจัยการกักกันพืช

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/}กลุ่มกีฏและสัตววิทยา

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{3/}ด่านตรวจพืชลาดกระบัง

สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร

บทคัดย่อ

ด้วงฟูเรอโรส *Pantomorus cervinus* (Boheman, 1840) เป็นศัตรูพืชสำคัญของพืชผลไม้ในทั่วโลกมี ศักยภาพสูงในการกินพืชอาศัยได้หลากหลายและจัดเป็นศัตรูพืชที่มีศักยภาพในการเพิ่มจำนวนได้สูง ซึ่งก่อให้เกิด ความเสี่ยงต่อการเข้ามาโดยติดมากับผลไม้ ข้อมูลการสำรวจการแพร่ระบาดของแมลงชนิดนี้สามารถนำไปใช้เป็น ข้อมูลในการยืนยันสถานภาพของแมลงชนิดนี้ในพืชตระกูลส้มของประเทศไทย เพื่อประเมินความเสี่ยงในการ ระบาดของแมลงชนิดนี้ในพืชเศรษฐกิจต่าง ๆ ของไทย ทำการสำรวจแปลงปลูกพืชตระกูลส้มในเดือนตุลาคม 2561 ถึงกันยายน 2564 ทั่วทุกภาคของประเทศไทย 305 แปลง 3,173 ไร่ พบว่า ยังไม่พบด้วงที่มีลักษณะภายนอกที่ ใกล้เคียงกับด้วงชนิดนี้เข้าทำลายพืชตระกูลส้มที่ทำการสำรวจ แต่พบว่ามี การเข้าทำลายของด้วงชนิดอื่นคือ แมลง ค่อมทอง (*hypomeces squamosus*) ซึ่งจัดเป็นศัตรูพืชที่สามารถพบได้ทั่วไปในประเทศไทยและภูมิภาคเอเชีย และแปซิฟิกอยู่แล้ว นอกจากนี้ยังได้จัดทำมาตรการเฝ้าระวังและแผนปฏิบัติการฉุกเฉินในกรณี ที่พบว่ามี การระบาดของ ด้วงชนิดนี้อีกด้วย

คำสำคัญ: สำรวจ เฝ้าระวัง พืชตระกูลส้ม ด้วงฟูเรอโรส

Abstracts

The fuller's rose beetle, *Pantomorus cervinus* (Boheman, 1840) is a major pest of fruit crops worldwide, has a high potential for omnivorous plants and is classified as a pest with high multiplicative potential. which poses a risk of coming in by being attached to the fruit. resulting in reduced yields. and if it is destroyed in the fruit part, it may cause the result to be inferior in quality and cost affect the export of agricultural products. This survey data can be used to confirm the status of this insect in citrus plants of Thailand. Survey result of citrus planting plots in October 2018-September 2021 across all regions of Thailand, amounting to 305 plots, 3,173 rai, It was found that the beetles with similar external characteristics were not found to damage the surveyed citrus plants. However, another beetle damage, *Hypomeces squamosus*, was found to be a common pest in Thailand and the Asia-Pacific region. In addition, surveillance measures and an emergency action plan have also been developed in the event of an outbreak of this beetle.

Keywords: Citrus, The fuller's rose beetle, Survey, Surveillance

กรมวิชาการเกษตร

บทนำ

ประเทศเกือบทุกประเทศที่เป็นสมาชิกขององค์การการค้าโลก (WTO) ได้นำมาตรการสุขอนามัยพืชมาใช้เป็นข้อต่อรองในการส่งออกและนำเข้า โดยที่ประเทศผู้ส่งออกต้องส่งบัญชีรายชื่อศัตรูพืชของพืชส่งออกและข้อมูลของศัตรูพืชแต่ละชนิดตามความต้องการของประเทศผู้นำเข้า เพื่อทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ก่อนที่จะอนุญาตให้สินค้าเกษตรนั้นๆ เข้าประเทศ ขณะเดียวกันประเทศผู้นำเข้าจำเป็นต้องมีข้อมูลบัญชีรายชื่อศัตรูของพืชที่นำเข้าด้วย การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูโดยการศึกษาและการสำรวจแบบติดตามข้อมูลศัตรูพืชในแหล่งปลูกเพื่อเป็นการเฝ้าระวัง (Surveillance) เป็นกระบวนการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชชนิดใดชนิดหนึ่งในพื้นที่ ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการเฝ้าระวังนี้สามารถนำไปใช้ในด้านต่าง ๆ เช่น การสนับสนุนการออกประกาศเรื่องการปลอดศัตรูพืชที่ดำเนินการโดย NPPO กระบวนการช่วยตรวจหาศัตรูพืชชนิดใหม่ได้ทันเวลา การให้การรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืช เป็นต้น

ด้วงฟูเรอโรส *Pantomorus cervinus* (Fuller's rose weevil) จัดเป็นวงศ์ Curculionidae มีถิ่นกำเนิดในประเทศอาร์เจนตินา แต่มีการแพร่ระบาดในหลายประเทศถูกจัดเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศญี่ปุ่น เกาหลี และประเทศในแถบเอเชีย ไช้ของด้วงฟูเรอโรสเคยเป็นสาเหตุที่ใช้ในการกีดกันทางการค้า (quarantine barrier) ของส้มจากรัฐแคลิฟอร์เนีย สหรัฐอเมริกาและเครือรัฐออสเตรเลียไปยังตลาดฝั่งเอเชียตะวันออก (Lakin and Morse, 1989; Madge et.al, 1992; Anon, 2004) พืชอาศัย ได้แก่ กิ่ว ท้อ เนคทารีน พลัม พลัม สตรอเบอร์รี่ ส้ม แอปเปิ้ล อะโวคาโด แอปริคอต และองุ่น (Alonso and Lyal, 1999; CABI, 2017) จากการรายงานด้วงฟูเรอโรส *P. cervinus* เป็นศัตรูพืชสำคัญของพืชผลไม้ในทั่วโลกมีศักยภาพสูงในการกินพืชอาศัยได้หลากหลายและจัดเป็นศัตรูพืชที่มีศักยภาพในการเพิ่มจำนวนได้สูง ซึ่งก่อให้เกิดความเสี่ยงต่อการเข้ามาโดยติดมากับผลไม้ ทางประเทศไทยได้ประกาศให้ด้วงฟูเรอโรสเป็นศัตรูพืชกักกันตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 และรายชื่อศัตรูพืชกักกันแนบท้ายประกาศ เกี่ยวกับเงื่อนไขการนำเข้าผลไม้จากหลายประเทศ ซึ่งการนำเข้าผลไม้จะต้องมีมาตรการควบคุมด้วงฟูเรอโรส ตัวเต็มวัยบินไม่ได้ แมลงวางไข่บนผลครึ่งละ 20-30 ฟอง วางเป็นกลุ่มคลุมด้วยซี่ฝัก ตลอดชีวิตวางไข่ได้ 100 – 1,000 ฟอง ในกิ่ว ด้วงวางไข่ตามรอยแตก เปลือกไม้ ซอกใบอ่อนแตกใหม่ ซอกกลีบท้ายผลกิ่ว (Maher and Logan, 2004) โดยไข่สามารถอยู่รอดได้ในอุณหภูมิ ระหว่าง -5 ถึง 40°C (Tarrant and McCoy, 1989) สำหรับผลส้มพบไข่ขั้วผล (calyx) หนอนที่ออกมาจะทิ้งตัวลงดินและกัดกินรากพืชอาศัย ระยะหนอน 6-9 เดือน เข้าดักแต่ในดิน ตัวเต็มวัยออกจากดินในฤดูร้อนและต้นฤดูใบไม้ร่วงและกัดกินใบ ตัวเต็มวัยอายุ 3-6 เดือน รวมวงจรชีวิต 1 ปี เพศเมียสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (Parthenogenesis) แพร่กระจายโดยมนุษย์ (Madge et. al., 1992) จากวงจรชีวิตของด้วงฟูเรอโรส ในระยะตัวอ่อนนั้นจะมีการเข้าทำลายและอาศัยกักกินที่ขั้วผลไม้อย่างเฉพาะเจาะจง ดังนั้นจึงมีโอกาสและความเป็นไปได้ที่ด้วงฟูเรอโรสจะสามารถตั้งรกรากในประเทศไทยได้ จึงควรมีการสำรวจและทำการเฝ้าระวังการติดตามตลอดจนทำการสำรวจในพื้นที่เสี่ยงต่างๆ ตามแนวทางมาตรการด้านสุขอนามัยและสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 ว่าด้วยคำแนะนำในการเฝ้าระวังศัตรูพืช (FAO, 2018) เช่นด้านนำเข้าสินค้า จุดกระจายสินค้า และแปลงปลูกที่มีความเสี่ยงเป็นที่ตั้งรกรากของด้วงฟูเรอโรส ซึ่งในเครือรัฐออสเตรเลียซึ่งถือว่า

เป็นประเทศที่มีการระบาดของดั่งฟุเรอโรส ได้มีการสำรวจและทำการติดตั้งกับดักเพื่อใช้ล่อดั่งชนิดนี้ (Biosecurity Australia, 2011)

ส้มเขียวหวาน เป็นไม้ผลที่ได้รับความนิยมในการบริโภคอย่างมากทั้งภายในประเทศและส่งออกไปยังประเทศเพื่อนบ้าน ตลาดยังมีความต้องการเพิ่มขึ้นทั้งในด้านเพื่อการบริโภคสดและแปรรูป โดยกรมส่งเสริมการเกษตร (2559) ได้รายงานว่ พื้นที่ปลูกส้มเขียวหวานทั้งหมด 102,726 ไร่ ให้ผลผลิต 185,804 ตันต่อปี โดยมีแหล่งปลูกที่สำคัญทางภาคเหนือถึง 93% ของพื้นที่ปลูกส้มทั่วประเทศ โดยมีแหล่งปลูกสูงสุด 5 อันดับ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ 33% สุโขทัย 27% แพร่ 11% กำแพงเพชร 9 % เชียงราย 6% ตามลำดับ และผลผลิตใช้บริโภคในประเทศไทย 98% ของผลผลิตสดทั้งหมด ผลผลิตจะออกมากในช่วงเดือนมกราคม พฤษภาคม และธันวาคม แต่ผลผลิตที่ได้ยังไม่เพียงพอกับการความต้องการบริโภคภายในประเทศ จึงได้อนุญาตให้มีการนำเข้าส้มจากหลายประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย จีน และแอฟริกาใต้ เป็นต้น ซึ่งประเทศเหล่านี้มีรายงานว่มีการระบาดของดั่งฟุเรอโรส และส้มนำเข้านี้อาจมีดั่งฟุเรอโรส *P. cervinus* ติดเข้ามาได้ เนื่องจากส้มนั้นเป็นพืชอาศัยหลักที่สำคัญของดั่งฟุเรอโรส จากวงจรชีวิตและลักษณะการทำลายของดั่งฟุเรอโรสมีความเป็นไปได้ที่จะสามารถเข้ามาตั้งรกรากอยู่ในประเทศไทยได้ และหากสามารถตั้งรกรากได้จริงย่อมจะมีโอกาสที่จะเกิดการระบาดและสร้างความเสียหายต่อส้มและพืชอื่นๆ อาทิเช่น สตรอเบอร์รี่ กุหลาบ และกล้วย ที่เป็นพืชอาศัยของดั่งชนิดนี้เช่นกัน

ระเบียบวิธีการวิจัย

อุปกรณ์

1. คู่มือ เอกสาร หนังสือ วารสาร
2. อุปกรณ์ในการสุ่มเก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติก ปากกามาร์กเกอร์ มีดคัตเตอร์ กรรไกรตัดกิ่ง กล่องเก็บตัวอย่างแมลง เครื่องบันทึกพิกัดทางภูมิศาสตร์
3. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องแก้ว สารเคมี กล้องจุลทรรศน์ เข็มเขี่ย เข็มปักแมลง ไม้เขี่ยแมลง
4. คู่มือการจำแนกดั่ง

วิธีการทดลอง

1. สืบค้นข้อมูล

สืบค้นข้อมูลลักษณะของดั่งฟุเรอโรส *P. cervinus* ศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืชของประเทศไทย ได้แก่ รายละเอียดของดั่ง ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพ้อง รูปร่างลักษณะ การเข้าทำลาย พืชอาศัย การแพร่ระบาด

2. จัดทำรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ

รวบรวมข้อมูลลักษณะของดั่งฟุเรอโรส *P. cervinus* พร้อมรูปภาพสีเพื่อใช้เป็นคู่มือในการตรวจสอบจัดทำแบบฟอร์มการสำรวจ เพื่อบันทึกข้อมูล เช่น ชื่อพืช ชื่อเกษตรกรเจ้าของแปลง สถานที่ วันที่สำรวจ ข้อมูลพิกัดภูมิศาสตร์ ข้อมูลการนำเข้าพืช ประเทศต้นทาง เป็นต้น

3. สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างด้วงฟูเรอโรส

3.1 กำหนดพื้นที่ วางแผนการสำรวจ โดยการสำรวจแบบกำหนดขอบเขตตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (Surveillance: ISPM No.6) (FAO, 2018) และ คำแนะนำในการสำรวจศัตรูพืชในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก (McMaugh, 2008)

3.2 สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแบบเจาะจง (Purposive sampling)

การสำรวจแบบตรวจหา (Detection surveys) ตามกรรมวิธีของ Biosecurity Australia (2008) โดยกำหนดจุดที่จะติดกับดักและทำการติดกับดัก โดยเก็บตัวอย่างด้วงฟูเรอโรสและแมลงชนิดอื่นที่ติดมาในกับดักจากแปลงปลูกพืชอาศัยในประเทศไทย (อรุณี, 2535) และผลสัมฤทธิ์จากประเทศที่มีการระบาดของด้วงฟูเรอโรส มีรายละเอียดดังนี้

3.2.1 สำรวจแปลงปลูกพืชอาศัยตระกูลส้มในประเทศไทย ได้แก่

- สำรวจจากสวนส้มจากพื้นที่ที่มีการปลูกส้มสูงสุด 5 อันดับแรกของประเทศไทย ได้แก่ เชียงใหม่ (40 แปลง) สุโขทัย (30 แปลง) แพร่ (30 แปลง) กำแพงเพชร (30 แปลง) ตาก (30 แปลง) เชียงราย (20 แปลง) รวมทั้งหมด 180 แปลง โดยเลือกกลุ่มตัวอย่างแบบเจาะจง

- สำรวจจากสวนมะนาวจากพื้นที่ที่มีการปลูกมะนาวสูงสุด 3 อันดับแรกของประเทศไทย ได้แก่ เพชรบุรี (30 แปลง) กำแพงเพชร (15 แปลง) ตาก (15 แปลง) รวมทั้งหมด 60 แปลง โดยเลือกกลุ่มตัวอย่างแบบเจาะจง

- สำรวจจากสวนส้มโอจากพื้นที่ที่มีการปลูกสวนส้มโอสูงสุด 3 อันดับแรกของประเทศไทย ได้แก่ นครปฐม (20 แปลง) สมุทรสงคราม (20 แปลง) สระแก้ว (20 แปลง) รวมทั้งหมด 60 แปลง โดยเลือกกลุ่มตัวอย่างแบบเจาะจง

- เก็บชิ้นส่วนของพืชที่มีด้วงฟูเรอโรสอาศัยอยู่ ใส่ในกล่องเก็บตัวอย่างแมลง จากนั้นนำใส่ขวดฆ่าแมลง จากนั้น บันทึกสถานที่ พิกัดทางภูมิศาสตร์ วัน เดือน ปี ที่เก็บตัวอย่าง ชนิดและส่วนของพืชที่ถูกทำลาย รวมทั้งชื่อผู้เก็บ นำตัวอย่างด้วงฟูเรอโรสที่เก็บรวบรวมได้ มาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการตรวจดูลักษณะสัณฐานวิทยา (morphology) ด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope ถ่ายภาพ บันทึกรายละเอียด เช่น ขนาด รูปร่างลักษณะและสีของด้วงฟูเรอโรสก่อนนำตัวอย่างไปใส่ในแอลกอฮอล์ 80% เพื่อทำตัวอย่างแมลงต่อไป

4. ทำตัวอย่างแมลง

นำตัวอย่างด้วงจากขวดดองตัวอย่างมาทำตัวอย่างแมลงถาวร โดยใช้วิธีการของ Masaki and Kadoi (1997) (อรุณี, 2535) และเก็บตัวอย่างแมลงชนิดอื่นที่ติดเข้ามาในกับดัก

5. ตรวจจำแนกชนิดตัวอย่างแมลงถาวร

ตรวจจำแนกชนิดด้วงตามแนวทางวินิจฉัยชนิดด้วง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope ที่มีกำลังขยายสูง ตรวจดูลักษณะสำคัญที่ใช้ในการจำแนก ได้แก่ ปีกคู่หน้า (forewings) ส่วนท้อง (abdomen) ส่วนหัว (head)

6. การบันทึกรายละเอียด

การบันทึกรายละเอียด เกี่ยวกับส่วนของพืชที่ด้วงเข้าทำลาย วัน เดือน ปี สถานที่ ชื่อผู้เก็บตัวอย่าง ชื่อวิทยาศาสตร์ และเพศ โดยลงรายละเอียด จัดเก็บตัวอย่างด้วงในกล่องเก็บตัวอย่างแมลงและนำไปเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามหลักสากล

7. สรุปผลการศึกษาสถานภาพของด้วง

ทำการสรุปผลการศึกษาสถานภาพของด้วง เพื่อนำไปใช้ในการจัดทำมาตรการเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกัน และเป็นข้อมูลในการรับรองเขตยืนยันสถานภาพการไม่ปรากฏของด้วงฟูเรอโรส

บันทึกข้อมูล

- บันทึกรายละเอียดตำแหน่งของแปลงปลูกพืชตระกูลส้มที่ทำการสำรวจ/เก็บตัวอย่าง
- บันทึกข้อมูลจำนวนแปลงและจำนวนตัวอย่างที่ทำการสำรวจ/เก็บตัวอย่าง
- บันทึกข้อมูลชนิดพืช ขนาดพื้นที่ปลูก ระยะการเจริญเติบโตของพืช และสภาพแวดล้อมอื่นๆ
- บันทึกลักษณะของพืชที่พบการทำลายของเพลี้ยหอย ส่วนที่พบเพลี้ยหอย ประเมินความรุนแรง และการแพร่กระจายในพื้นที่

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาเริ่มต้น ตุลาคม 2561 – กันยายน 2564 (3 ปี)

สถานที่

- 1) ห้องปฏิบัติการของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
- 2) แปลงปลูกส้ม มะนาว ส้มโอ ของเกษตรกรในพื้นที่ 10 จังหวัด ได้แก่ เชียงใหม่ สุโขทัย แพร่ กำแพงเพชร ตาก เชียงราย เพชรบุรี นครปฐม สมุทรสงคราม และสระแก้ว

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1. สืบค้นข้อมูลสืบค้นข้อมูลลักษณะของด้วง *P. cervinus*

สืบค้นข้อมูลสืบค้นข้อมูลลักษณะของด้วง *P. cervinus* ได้แก่ รายละเอียดของแมลง ชื่อวิทยาศาสตร์ และลักษณะการทำลายบนพืช ตลอดจนถึงพืชอาศัยและเขตการแพร่กระจายของแมลงชนิดนี้ โดยมีรายละเอียดดังนี้

รายละเอียดของแมลง (CABI, 2018) ดังนี้

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Pantomorus cervinus* (Boheman), 1840

ชื่อสามัญ: Fuller's rose beetle

อันดับ: Coleoptera

วงศ์: Curculionidae

สกุล: *Pantomorus*

ลักษณะของแมลง

ด้วงฟูเรอโรส *P. cervinus* เป็นศัตรูพืชสำคัญของพืชผลไม้ในทั่วโลกมีศักยภาพสูงในการกินพืชอาศัยได้หลากหลายและจัดเป็นศัตรูพืชที่มีศักยภาพในการเพิ่มจำนวนได้สูง ซึ่งก่อให้เกิดความเสี่ยงต่อการเข้ามาโดยติดมากับผลไม้ ซึ่งการนำเข้าผลไม้ได้จะต้องมีมาตรการควบคุมด้วงฟูเรอโรส ตัวเต็มวัยบินไม่ได้ แมลงวางไข่บนผลครึ่งละ 20-30 ฟอง วางเป็นกลุ่มคลุ้มด้วยขี้ผึ้ง ตลอดชีวิตวางไข่ได้ 100 – 1,000 ฟอง ในกีวี ด้วงวางไข่ตามรอยแตกเปลือกไม้ ซอกใบอ่อนแตกใหม่ ซอกกลีบหุ้มผลกีวี (Maher and Logan, 2004) โดยไข่สามารถอยู่รอดได้ใน

อุณหภูมิ ระหว่าง -5 ถึง 40°C (Tarrant and McCoy, 1989) สำหรับผลสัมพบใต้ซั้วผล (calyx) หนอนฟักออกมา จะทิ้งตัวลงดินและกัดกินรากพืชอาศัย ระยะหนอน 6-9 เดือน เข้าดักแด้ในดิน ตัวเต็มวัยออกจากดินในฤดูร้อนและ ต้นฤดูใบไม้ร่วงและกัดกินใบ ตัวเต็มวัยอายุ 3-6 เดือน รวมวงจรชีวิต 1 ปี เพศเมียสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (Parthenogenesis) แพร่กระจายโดยมนุษย์ (Madge et. al., 1992) จากวงจรชีวิตของด้วงฟูเรอโรส ในระยะตัวอ่อนนั้นจะมีการเข้าทำลายและอาศัยกัดกินที่ซั้วผลไม่อย่างเฉพาะเจาะจง

- ไข่ (Egg) : ไข่รูปร่างทรงกระบอกสี่เหลี่ยม ความยาวประมาณ 1 มิลลิเมตร ไข่จะถูกวางอยู่เป็นกลุ่มปกคลุมด้วยไข่สีขาวตามรอยแยกของเปลือกไม้ ระหว่างใบ และใต้กลีบเลี้ยงของผล
- ตัวหนอน (Larval instars) : ตัวอ่อนสีขาว ไม่มีขา ส่วนหัวมีลักษณะแข็งสี่เหลี่ยม มีขากรรไกรสีดำตรงส่วนล่างของหัว เมื่อโตเต็มที่จะมีขนาดลำตัวประมาณ 10 – 12 มิลลิเมตร
- ตัวเต็มวัย (Adult) : ตัวเต็มวัยมีสีน้ำตาล ความยาวลำตัว 6 – 8.5 มิลลิเมตร ส่วนหัวมีปากยื่นออกไปด้านหน้า ดวงตาจะอยู่ด้านข้างของหัว มีขาเป็นแบบขาเดิน มีปีกแข็งปกคลุมลำตัว และปีกทั้งสองจะถูกเชื่อมติดกันทำให้แมลงไม่สามารถบินได้ ตัวเต็มวัยพบได้เฉพาะเพศเมีย การสืบพันธุ์จะเป็นแบบไม่อาศัยเพศ (Parthenogenesis)

ลักษณะการทำลายบนพืช

ด้วงฟูเรอโรสทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยสามารถสร้างความเสียหายให้กับต้นพืชได้ทั้งสองระยะ โดยตัวอ่อนจะกัดกินส่วนราก และตัวเต็มวัยจะขึ้นมากัดกินใบพืชอยู่บนต้น หากมีการระบาดรุนแรงด้วงเหล่านี้จะกินใบพืชจนเหลือแต่เส้นใบ ทำให้ต้นพืชเจริญเติบโตไม่ดี แคระแกรน รากไม่สามารถดูดน้ำไปเลี้ยงลำต้นได้ ทำให้พืชยืนต้นตายในที่สุด

การแพร่กระจาย

จากวงจรชีวิตของด้วงฟูเรอโรส ในระยะตัวอ่อนนั้นจะมีการเข้าทำลายและอาศัยกัดกินที่ซั้วผลไม่อย่างเฉพาะเจาะจง ดังนั้นจึงมีโอกาสและความเป็นไปได้ที่ด้วงฟูเรอโรสจะสามารถติดเข้ามาที่ซั้วผลของผลไม้หลาย ๆ ชนิดในแหล่งที่มีการแพร่ระบาด

พื้นที่การระบาด

ทวีปแอฟริกา – อียิปต์ เจริญเรีย โมร็อกโก เรอูนียง และเซาท์-แอฟริกา

ทวีปเอเชีย – ญี่ปุ่น และตุรกี

ทวีปยุโรป – ฝรั่งเศส อิตาลี โปรตุเกส รัสเซีย สเปน และสวีเดน

ทวีปอเมริกาเหนือ – แคนาดา เม็กซิโก และสหรัฐอเมริกา

ทวีปอเมริกาใต้ – อาร์เจนตินา บราซิล ชิลี ปารากวัย เปรู และอุรุกวัย

ทวีปโอเชียเนีย – ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ และเกาะนอร์ฟอล์ก

พืชอาศัย

พืชอาศัยของเพลี้ยหอยชนิดนี้มีมากกว่า 20 วงศ์ (Alonso and Lyal, 1999; CABI, 2017) ได้แก่ กิ่ว ท้อ เนคทารีน พลับ พลัม สตรอเบอรี่ ส้ม แอปเปิ้ล อะโวคาโด แอปริคอต และองุ่น เป็นต้น

2. จัดทำแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ

จัดทำแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจด้วงฟุเรอโรส *P. cervinus* และสร้างคู่มือการสำรวจในแปลงปลูกพืชตระกูลส้ม (Figure 1) โดยคู่มือประกอบด้วย

- ข้อมูลพื้นฐานของด้วง และภาพตัวอย่างการทำลาย ตลอดจนวิธีการจำแนกชนิดและความแตกต่างของรอยทำลายที่เกิดขึ้นของแมลงชนิดนี้เทียบกับด้วงที่เป็นศัตรูพืชเดิมของพืชชนิดนี้
- แบบบันทึกรายงานการสำรวจโดยมีรายละเอียดคือ วันเดือนปีที่สำรวจ สถานที่สำรวจ (หมู่บ้าน ตำบล อำเภอ จังหวัด) พิกัดทางภูมิศาสตร์ ขนาดของพื้นที่ทำการสำรวจ ชื่อผู้สำรวจ จำนวนแปลงที่สำรวจ ชื่อพืชที่พบรอยทำลาย อัตราการทำลาย และพืชอาศัยอื่นที่อยู่ข้างเคียง
- รูปแบบการเดินทางสำรวจด้วงแบบทะเลาะมุ่ม สังเกตรอยทำลายบนใบพืช พืชตระกูลส้มต้นละ 4 ทิศรอบทรงพุ่ม จำนวน 10 ต้นต่อแปลง เดินสำรวจในแนวทะเลาะมุ่ม (Figure 2)
- การเก็บตัวอย่าง โดยเก็บชิ้นส่วนของพืชตระกูลส้มที่มีด้วงอาศัยอยู่ (เช่น ใบ กิ่ง ผล) ใส่ในถุงกระดาษหรือห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์แล้วใส่ในถุงพลาสติก เพื่อมาตรวจจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ

3. การสำรวจ

จากการสำรวจด้วงฟุเรอโรส *P. cervinus* แปลงปลูกพืชตระกูลส้มในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง แพร่ น่าน พิจิตร กำแพงเพชร สุโขทัย ชัยนาท นครปฐม ราชบุรี กาญจนบุรี เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พัทลุง ปทุมธานี สมุทรสงคราม ปราจีนบุรี ชัยภูมิ นครราชสีมา และอุบลราชธานี ซึ่งเป็นแหล่งปลูกพืชตระกูลส้มที่สำคัญในประเทศไทย จำนวน 305 แปลง 3,173 ไร่ (มะกรูด จำนวน 39 แปลง 48 ไร่ มะนาว จำนวน 65 แปลง 532 ไร่ ส้มโอ จำนวน 84 แปลง 988 ไร่ ส้มเกลี้ยง จำนวน 13 แปลง 103 ไร่ และ ส้มเขียวหวาน จำนวน 104 แปลง 1,702 ไร่) ระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2561 ถึงเดือนกันยายน พ.ศ. 2564 ผลสำรวจเมื่อตรวจดูลักษณะภายนอกของด้วงที่ได้จากการเก็บตัวอย่าง ทำการเปรียบเทียบลักษณะสำคัญของด้วงในสกุลต่าง ๆ ด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope พบว่า ยังไม่พบด้วงที่มีลักษณะภายนอกที่ใกล้เคียงกับด้วงชนิดนี้เข้าทำลายพืชตระกูลส้มที่ทำการสำรวจ แต่พบว่าการเข้าทำลายของด้วงชนิดอื่นคือ แมลงค่อมทอง (*hypomeces squamosus*) ซึ่งสอดคล้องกับบัญชีรายชื่อพืชอาศัยของแมลงชนิดนี้จากการรายงานของ CABI (2018)

4. การตรวจจำแนกชนิดด้วงฟุเรอโรส

นำตัวอย่างด้วงที่ต้องสงสัยมาจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ โดยตรวจวินิจฉัยด้วงโดยเปรียบเทียบลักษณะสำคัญต่าง ๆ โดยมีรายละเอียดดังนี้

วงศ์ Curculionidae จำนวน 1 ชนิดคือ

- แมลงค่อมทอง (*hypomeces squamosus*) ตัวเต็มวัย ขนาดลำตัวยาว 12.0-14.0 มิลลิเมตร สีเขียวปากยื่นไปด้านหน้า หนวดพับแบบหักข้อศอก สามปล้องสุดท้ายขยายใหญ่ หัว ออก และปีกคู่หน้าลักษณะเป็นร่องหลุม (puncture) ขนาดเล็ก และมีเกล็ดสีเขียวแวววาวคล้ายเพชรฝังอยู่ ทำให้มองเห็นลำตัวเป็นสีเขียวสะท้อนแสง โคนขาทั้งสามคู่ขยายใหญ่ (ชมัยพร และคณะ, 2556)

5. สรุปผลการศึกษสถานภาพของด้วงฟูเรอโรส

จัดทำมาตรการเฝ้าระวัง และแผนปฏิบัติการฉุกเฉินในกรณีที่เกิดการระบาดของด้วงฟูเรอโรส *P. cervinus* ดังต่อไปนี้

มาตรการระยะสั้น

1. สร้างการรับรู้ให้แก่เกษตรกรและผู้มีส่วนเกี่ยวข้องได้รู้จักด้วงชนิดนี้ และวิธีการป้องกันกำจัด
 - โดยใช้โปสเตอร์ แผ่นพับ ภาพอินโฟกราฟิก และมอบให้แก่ ภาครัฐ ภาคเอกชน ผู้เกี่ยวข้องเพื่อประชาสัมพันธ์ และสร้างการรับรู้ให้แก่เกษตรกร
 - จัดประชุมชี้แจงหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง ประกอบด้วย เกษตรกร สมาคม และผู้ประกอบการ เจ้าหน้าที่กรมวิชาการเกษตร เจ้าหน้าที่กรมส่งเสริมการเกษตร เจ้าหน้าที่โครงการหลวง และหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง
2. แจ้งเตือนด้านตรวจพืชเพื่อเฝ้าระวังด้วงชนิดนี้ที่อาจติดมากับสินค้าเกษตรนำเข้าจากประเทศที่มีรายงานการระบาด

มาตรการระยะยาว

1. เฝ้าระวังและเตือนภัยด้วงฟูเรอโรสอย่างต่อเนื่อง
2. ศึกษาและหาวิธีการพัฒนาการควบคุมด้วงฟูเรอโรสให้มีประสิทธิภาพและยั่งยืน

แผนปฏิบัติการฉุกเฉินในกรณีที่เกิดการระบาดของด้วงฟูเรอโรส *P. cervinus*

1. เมื่อพบการระบาดของด้วงในพื้นที่ที่สามารถแจ้งข้อมูลมายัง สายด่วนเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกัน กลุ่มงานเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร โทร. 0-2579-8516 หรือ 061-415-2517 อีเมล ppspq@doa.in.th เพื่อประสานหน่วยงานในพื้นที่เข้าติดตามตรวจสอบ และให้คำแนะนำการป้องกันกำจัด รวมทั้งควบคุมการระบาดไม่ให้แพร่กระจายออกไปยังพื้นที่อื่น ๆ ได้
 2. จัดทำคำแนะนำและเผยแพร่วิธีการป้องกันกำจัดศัตรูพืชชนิดนี้ในเบื้องต้นแก่เกษตรกร โดยเน้นการป้องกันกำจัดโดยวิธีผสมผสาน IPM ดังนี้
 - ตรวจหาการทำลายโดยสำรวจร่องรอยการทำลายบนใบ กิ่งก้าน และผล เป็นประจำ
 - หากตรวจพบการทำลายของด้วงฟูเรอโรส ทำการป้องกันกำจัดโดยใช้สารเคมีพ่นทางใบจากคำแนะนำ การป้องกันกำจัดแมลง-สัตว์ศัตรูพืชอย่างปลอดภัย...จากงานวิจัย 2563 (สุภรดา และคณะ 2563)
 - สารมาลาไทออน 83% EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
 - สารคาร์บาริล 85% WP อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
- พ่นสารกำจัดแมลงทุก 7 วัน ติดต่อกัน 2-3 ครั้ง โดยใช้กลุ่มสารสลับกันอย่างน้อย 2 กลุ่ม ใน 1 รอบวงจรชีวิต (30 วัน) และเว้นระยะไม่ใช้สารกลุ่มเดิมในรอบวงจรชีวิตถัดไป เพื่อลดการสร้างความต้านทานต่อสารกำจัดแมลง
- ทำความสะอาดแปลง เก็บเศษซากพืชหรือผลไม้เน่าที่หล่นใต้ต้นนำไปทำลายโดยการเผา

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการสำรวจด้วงฟุเรอโรส *P. cervinus* ในแหล่งปลูกพืชตระกูลส้มทั่วทั้งประเทศไทย จำนวน 305 แปลง 3,173 ไร่ (มะกรูด จำนวน 39 แปลง 48 ไร่ มะนาว จำนวน 65 แปลง 532 ไร่ ส้มโอ จำนวน 84 แปลง 988 ไร่ ส้มเกลี้ยง จำนวน 13 แปลง 103 ไร่ และส้มเขียวหวาน จำนวน 104 แปลง 1,702 ไร่) ระหว่างเดือน ตุลาคม พ.ศ. 2561 ถึงเดือนกันยายน พ.ศ. 2564 ยังไม่พบด้วงที่มีลักษณะภายนอกที่ใกล้เคียงกับด้วงชนิดนี้เข้าทำลายพืชตระกูลส้มที่ทำการสำรวจ แต่พบว่าการเข้าทำลายของด้วงชนิดอื่นคือ แมลงค่อมทอง (*hypomeces squamosus*) ซึ่งสอดคล้องกับบัญชีรายชื่อพืชอาศัยของแมลงชนิดนี้จากการรายงานของ CABI (2018) โดยแมลงชนิดนี้จัดเป็นศัตรูพืชที่สามารถพบได้ทั่วไปในประเทศไทยและภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิกอยู่แล้ว ทั้งนี้เพื่อเป็นการยืนยันสถานภาพของแมลงชนิดนี้ในประเทศไทย จำเป็นต้องขยายขอบเขตการสำรวจแมลงชนิดนี้ในพืชอาศัยอื่น ๆ ที่อยู่ในบัญชีพืชอาศัยของแมลงชนิดนี้ เพื่อให้ได้ข้อมูลสถานภาพการไม่ปรากฏของแมลงชนิดนี้ในประเทศไทยต่อไป และจะได้นำข้อมูลดังกล่าวยืนยันว่าแมลงชนิดนี้ยังคงสถานภาพเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย

คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณ ข้าราชการ พนักงานราชการ และพนักงานจ้างเหมา ของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่ให้คำแนะนำช่วยเหลือในการทำงานวิจัย

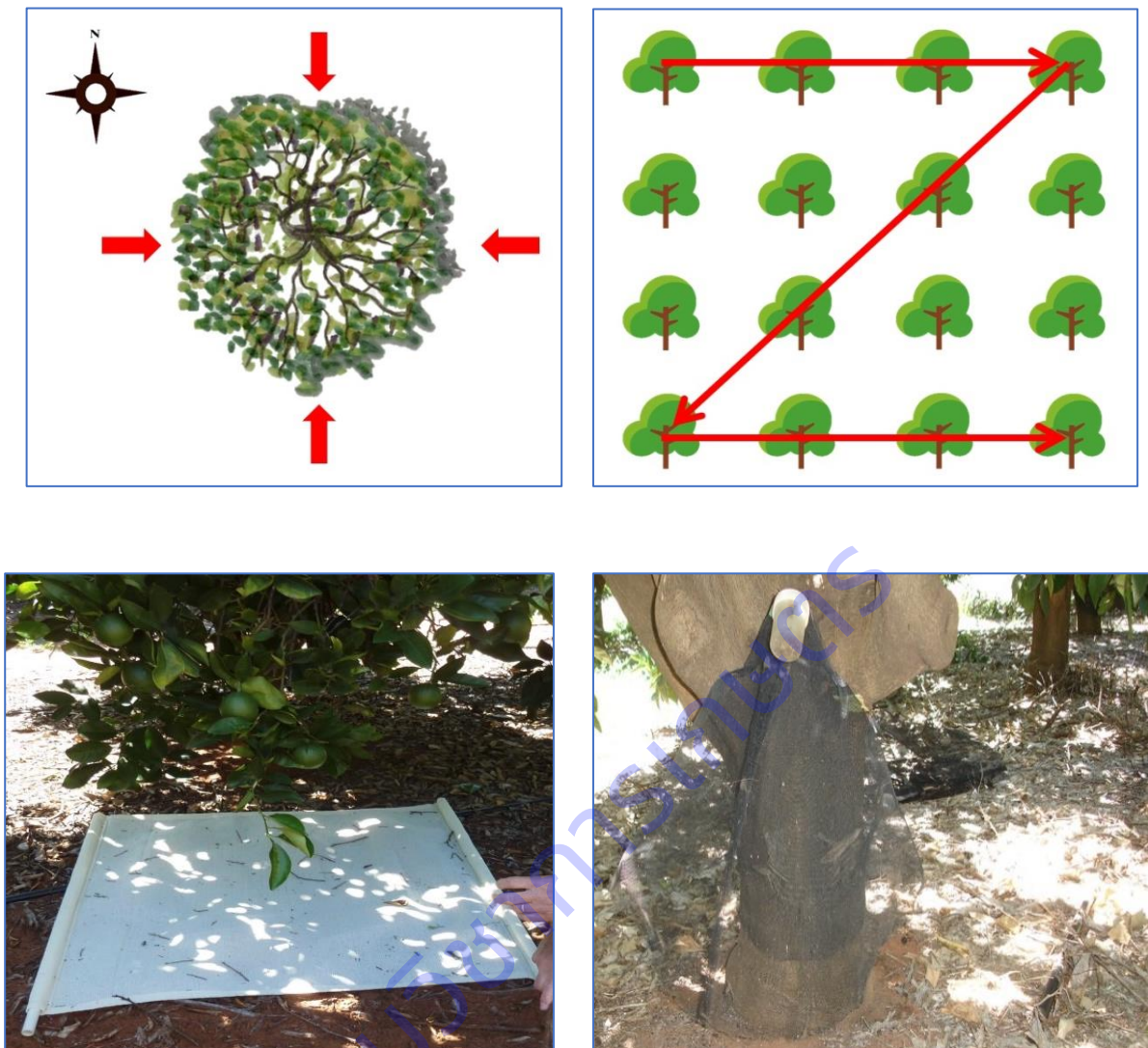


Figure 2 Survey pattern and collecting sample of *Citrus spp.*

การทดลองที่ 20

การศึกษาสถานภาพเพลี้ยหอย *Aspidiotus nerii* Bouché ของพืชตระกูลส้มในประเทศไทย

Study on status of *Aspidiotus nerii* Bouché on Citrus in Thailand

दनय चयरेणकव^{1/} खलररर ररकर^{1/} कडडड डडडड^{2/} डडडड डडडड^{1/} डडडडड डडडड^{1/}

^{1/}กลุ่มวิจัยการกักกันพืช

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/}กลุ่มกีฏและสัตววิทยา

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

เพลี้ยหอย *Aspidiotus nerii* Bouché (Oleander scale) เป็นแมลงปากดูดที่มีความสำคัญ ทำความเสียหายให้กับพืชได้หลายชนิด โดยดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณส่วนต่างๆของพืช ทำให้ส่วนของพืชที่ถูกทำลายมีอาการผิดปกติส่งผลให้ผลผลิตลดลง และหากถูกทำลายในส่วนของผลอาจทำให้ผลด้อยคุณภาพและเสียราคา กระทบต่อการส่งออกผลผลิตทางการเกษตร ข้อมูลการสำรวจการแพร่ระบาดของแมลงชนิดนี้สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลในการยืนยันสถานภาพของแมลงชนิดนี้ในพืชตระกูลส้มของประเทศไทย เพื่อประเมินความเสี่ยงในการระบาดของแมลงชนิดนี้ในพืชเศรษฐกิจต่าง ๆ ของไทย ทำการสำรวจแปลงปลูกพืชตระกูลส้มในเดือนตุลาคม 2561 ถึงกันยายน 2564 ทั่วทุกภาคของประเทศไทย จำนวน 329 แปลง 3,864 ไร่ พบว่า ยังไม่พบเพลี้ยหอยที่มีลักษณะภายนอกที่ใกล้เคียงกับเพลี้ยหอยชนิดนี้ เข้าทำลายพืชตระกูลส้มที่ทำการสำรวจ แต่พบว่าการเข้าทำลายของเพลี้ยหอยชนิดอื่น จำนวน 6 ชนิด แบ่งเป็น แบ่งเป็น 2 วงศ์ ได้แก่ วงศ์ Coccidae จำนวน 3 ชนิดคือ เพลี้ยหอยเกราะอ่อนสีน้ำตาล (*Coccus hesperidum*) และเพลี้ยหอยกาแฟสีเขียว (*Coccus viridis*) และเพลี้ยหอยขี้ผึ้ง (*Ceroplastes sp.*) และวงศ์ Diaspididae จำนวน 3 ชนิดคือ เพลี้ยหอยสีแดงแคลิฟอร์เนีย (*Aonidiella aurantii*) เพลี้ยหอยเกล็ดเมดิเตอร์เรเนียน (*Parlatoria ziziphi*) และเพลี้ยหอยเกล็ดเชอคูลาสเกล (*Chrysomphalus aonidum*) โดยเพลี้ยหอยทั้ง 6 ชนิดนี้ จัดเป็นเพลี้ยหอยที่สามารถพบได้ทั่วไปในประเทศไทย และภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิกอยู่แล้ว นอกจากนี้ยังได้จัดทำมาตรการเฝ้าระวังและแผนปฏิบัติการฉุกเฉินในกรณีพบว่าการระบาดของเพลี้ยหอยชนิดนี้อีกด้วย

คำสำคัญ: สำรวจ เฝ้าระวัง พืชตระกูลส้ม เพลี้ยหอย

Abstracts

Oleander scale, *Aspidiotus nerii* Bouché It is an important sucking insect. Damage many types of plants by sucking in different parts of the plant. This causes the damaged parts of the plant to abnormal symptoms, resulting in reduced yields. and if it is destroyed in the fruit part, it may cause the result to be inferior in quality and cost affect the export of agricultural products. This survey data can be used to confirm the status of this insect in citrus plants of Thailand. Survey result of citrus planting plots in October 2018-September 2021 across all regions of Thailand, amounting to 329 plots, 3,864 rai, found that no amored scale insects were found at this time. Has external characteristics that are similar to this type of amored scale insects destroy the citrus plants surveyed. But found that there was infestation by other types of scale insects of 6 species, divided 2 families, 3 species of family Coccidae, namely brown soft scale (*Coccus hesperidum*), green coffee scale (*Coccus viridis*) and the wax scales (*Ceroplastes sp.*). Family Diaspididae consist of 3 species, namely California red scale (*Aonidiella aurantii*), black parlatoria scale (*Parlatoria ziziphi*) and circular scale (*Chrysomphalus aonidum*). The six types of scales can be found commonly in Thailand and the Asia and Pacific region. In addition, surveillance measures and an emergency action plan have been developed in the event of an outbreak of this scale.

Keywords: Citrus, Oleander scale, Survey, Surveillance

บทนำ

ประเทศเกือบทุกประเทศที่เป็นสมาชิกขององค์การการค้าโลก (WTO) ได้นำมาตรการสุขอนามัยพืชมาใช้เป็นข้อต่อรองในการส่งออกและนำเข้า โดยที่ประเทศผู้ส่งออกต้องส่งบัญชีรายชื่อศัตรูพืชของพืชส่งออกและข้อมูลของศัตรูพืชแต่ละชนิดตามความต้องการของประเทศผู้นำเข้า เพื่อทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ก่อนที่จะอนุญาตให้สินค้าเกษตรนั้นๆ เข้าประเทศ ขณะเดียวกันประเทศผู้นำเข้าจำเป็นต้องมีข้อมูลบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่นำเข้าด้วย การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชโดยการศึกษาและการสำรวจแบบติดตามข้อมูลศัตรูพืชในแหล่งปลูกเพื่อเป็นการเฝ้าระวัง (Surveillance) เป็นกระบวนการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชชนิดใดชนิดหนึ่งในพื้นที่ ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการเฝ้าระวังนี้สามารถนำไปใช้ในด้านต่าง ๆ เช่น การสนับสนุนการออกประกาศเรื่องการปลอดศัตรูพืชที่ดำเนินการโดย NPPO กระบวนการช่วยตรวจหาศัตรูพืชชนิดใหม่ได้ทันเวลา การให้การรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืช เป็นต้น

ประเทศไทยมีการนำเข้าผลไม้จากต่างประเทศเป็นจำนวนมากและหลายชนิดเป็นพืชอาศัยของเพลี้ยหอย การนำเข้าจะต้องผ่านเงื่อนไขที่กรมวิชาการเกษตรได้กำหนดไว้ (กรมวิชาการเกษตร, 2553; กรมวิชาการเกษตร, 2556ก-จ; กรมวิชาการเกษตร, 2558ก-ข; กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2550) แต่เนื่องจากผลไม้ที่นำเข้ามาในปริมาณมาก เพลี้ยหอยอาจหลุดรอดจากการสุ่มตรวจและมีโอกาสติดเข้ามาและเข้าไปสู่แหล่งปลูกพืช หรือเกิดจากการติดเข้ามาพร้อมกับท่อนพันธุ์ของพืชอาศัยของเพลี้ยหอยจากแหล่งที่มีการระบาดเข้ามาในแปลงปลูก ซึ่งเพลี้ยหอย *Aspidiotus nerii* Bouché เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย สามารถพบการระบาดได้ทั่วโลก (CABI, 2017; Scalenet, 2017) มีการเข้าทำลายพืชมากกว่า 100 วงศ์ (Beardsley and Gonzalez, 1975) ส่งผลให้ผลผลิตที่ถูกทำลายลดลงทั้งในด้านคุณภาพและปริมาณ และมีความเป็นไปได้ที่เพลี้ยหอยจะสามารถตั้งรกรากเนื่องจากประเทศไทยมีสภาพภูมิอากาศที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาวงจรชีวิต อีกทั้งเพลี้ยหอยชนิดนี้ยังมีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศได้อีกด้วย ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องทำการสำรวจเพื่อเฝ้าระวังศัตรูพืชชนิดนี้ในพื้นที่เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการสนับสนุนการออกประกาศเรื่องการปลอดศัตรูพืช การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช และการรายงานศัตรูพืชอีกด้วย

พืชอาศัยของเพลี้ยหอยชนิดนี้แบ่งได้เป็นสองกลุ่มคือ พืชอาศัยหลัก (Main host) และพืชอาศัยรอง (Other host) โดยพืชอาศัยหลักของเพลี้ยหอยชนิดนี้ ได้แก่ มะกอกโอลีฟ และพืชตระกูลส้ม ส่วนพืชอาศัยรอง ได้แก่ กิ่ว ท้อมะม่วง มะพร้าว ลูกแพร์ สับปะรด หม่อน ต้นสน องุ่นทำไวน์ อินทผลัม กุหลาบ กล้วยไม้ ดอกคาร์เนชั่น ใจใจบา และแมกโนเลีย เป็นต้น เพลี้ยหอยชนิดนี้สามารถเข้าทำลายดูดกินน้ำเลี้ยงบนต้นพืชได้ทุกส่วนของพืช ตัวเต็มวัยจะเกาะนิ่งอยู่กับที่และดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณนั้นตลอดชั่วอายุขัย แต่ตัวอ่อนที่ออกจากตัวแม่ นั้นสามารถเคลื่อนที่เพื่อไปหาแหล่งอาหารใหม่ได้ หากนำชิ้นส่วนของพืชที่มีเพลี้ยหอยจากแหล่งที่พบว่ามีการระบาดติดเข้ามา ก็อาจจะทำให้เกิดความเสียหายขึ้นมาได้ในอนาคต ในส่วนของพืชอาศัยหลักของเพลี้ยหอยชนิดนี้ที่ปลูกมากในประเทศไทย คือ พืชตระกูลส้มจากการรายงานของ กรมส่งเสริมการเกษตร (2559) รายงานว่าพื้นที่ปลูกพืชตระกูลส้มในประเทศไทยทั้งหมด จำนวน 307,131 ไร่ โดยแบ่งเป็น มะนาว 145,755 ไร่ ส้มเขียวหวาน 92,473 ไร่ ส้มโอ 62,835 ไร่ มะกรูด 3,694 ไร่ ส้มเกลี้ยงและส้มตรา 2,354 ไร่ ตามลำดับ ส่วนพืชอาศัยรองที่ปลูกมากใน

ประเทศไทย จำนวน 9 ชนิด จำนวน 3,031,655 ไร่ ได้แก่ ท้อ 4,267 ไร่ มะม่วง 629,396 ไร่ มะพร้าว 1,207,398 ไร่ สับปะรด 1,144,255 ไร่ หม่อน 16,967 ไร่ องุ่นทำไวน์ 500 ไร่ อินทผลัม 235 ไร่ กล้วยไม้ 27,960 ไร่ และ กุหลาบ 677 ไร่ ซึ่งพืชเหล่านี้มีโอกาสที่จะมีเพลี้ยหอยชนิดนี้เข้าทำลายได้ แต่เนื่องจากพืชอาศัยของเพลี้ยหอยชนิดนี้มีจำนวนมากการสำรวจในทุกพืชนั้นอาจต้องใช้บุคลากร ระยะเวลาและงบประมาณในการสำรวจติดตามจำนวนมาก การสำรวจในครั้งนี้จึงมุ่งเน้นไปเฉพาะพืชอาศัยหลัก ซึ่งหากพบว่ามีเพลี้ยหอยชนิดนี้ในพืชอาศัยหลักแล้วค่อยขยายผลไปยังพืชอาศัยรองอื่นๆ เพื่อยืนยันข้อมูลของสถานภาพของเพลี้ยหอยชนิดนี้ต่อไป ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องทำการสำรวจเพื่อเฝ้าระวังศัตรูพืชชนิดนี้ในพื้นที่ปลูกพืชตระกูลส้ม เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการสนับสนุนการออกมาตรการเฝ้าระวังศัตรูพืช การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช และการรายงานศัตรูพืชอีกด้วย

ระเบียบวิธีการวิจัย

อุปกรณ์

1. คู่มือ เอกสาร หนังสือ วารสาร
2. อุปกรณ์ในการสุ่มเก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติก ปากกามาร์กเกอร์ มีดคัตเตอร์ กรรไกรตัดกิ่ง กล่องเก็บตัวอย่างแมลง เครื่องบันทึกพิกัดทางภูมิศาสตร์
3. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องแก้ว สารเคมี กล้องจุลทรรศน์ เข็มเขี่ย สไลด์ กล่องเก็บสไลด์ ตู้อบสไลด์
4. คู่มือการจำแนกเพลี้ยหอย

วิธีการทดลอง

1. สืบค้นข้อมูล

สืบค้นข้อมูลลักษณะของเพลี้ยหอย *A. nerii* ศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืชของประเทศไทย ได้แก่ รายละเอียดของเพลี้ยหอย ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพ้อง รูปร่างลักษณะ การเข้าทำลาย พืชอาศัย การแพร่ระบาด (Figure 1)

2. จัดทำแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ

รวบรวมข้อมูลลักษณะของเพลี้ยหอย *A. nerii* พร้อมรูปภาพสีเพื่อใช้เป็นคู่มือในการตรวจสอบ จัดทำแบบฟอร์มการสำรวจ เพื่อบันทึกข้อมูล เช่น ชื่อพืช ชื่อเกษตรกรเจ้าของแปลง สถานที่ วันที่สำรวจ ข้อมูลพิกัดภูมิศาสตร์ ข้อมูลการนำเข้าพืช ประเทศต้นทาง เป็นต้น

3. การสำรวจ

กำหนดพื้นที่ วางแผนการสำรวจ โดยการสำรวจแบบกำหนดขอบเขตตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (Surveillance: ISPM No.6) (FAO, 2018) และ คำแนะนำในการสำรวจศัตรูพืชในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก (McMaugh, 2008)

สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยหอยในแปลงปลูกพืชตระกูลส้มทั้งหมดทั่วประเทศ เลือกกลุ่มตัวอย่างแบบเจาะจง (Purposive sampling) แบ่งการสำรวจเพลี้ยหอยตามชนิดของส้มที่ปลูกในประเทศไทย ได้แก่ มะกรูด (*C. hystrix*) มะนาว (*C. aurantifolia*) ส้มโอ (*C. maxima*) ส้มเกลี้ยง (*C. sinensis*) และส้มเขียวหวาน (*C. reticulata*) โดยใช้จำนวนพื้นที่ของแหล่งปลูกพืชแต่ละชนิดมาเป็นเกณฑ์ในการตัดสินใจเลือกแปลงที่จะนำมาใช้ในการทดลอง โดยกำหนดพื้นที่ในการสำรวจดังนี้ แหล่งปลูกภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ (10) เชียงราย (1) ลำปาง (4) น่าน (3) แพร่ (6) กำแพงเพชร (4) พิจิตร(11) สุโขทัย (10) แหล่งปลูกภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดชัยนาท (1) ปทุมธานี (2) นครปฐม (3) สมุทรสงคราม(4) ปราจีนบุรี (3) ราชบุรี (7) กาญจนบุรี (5) แหล่งปลูกภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ ชัยภูมิ (1) นครราชสีมา (1) อุบลราชธานี (1) แหล่งปลูกภาคใต้ได้แก่เพชรบุรี (15) ประจวบคีรีขันธ์ (2) สุราษฎร์ธานี(1) นครศรีธรรมราช (4) พัทลุง (1) ทั้งหมด 100 แปลง ทำการสำรวจ 3 ปี รวมจำนวนแปลงที่สำรวจทั้งสิ้น 300 แปลง

ทำการสำรวจพืชตระกูลส้มต้นละ 4 ทิศรอบทรงพุ่ม จำนวน 10 ต้นต่อแปลง เดินสำรวจในแนวทแยงมุม เก็บชิ้นส่วนของพืชตระกูลส้มที่มีเพลี้ยหอยอาศัยอยู่ เช่น ใบ กิ่ง ผล ใส่ในถุงกระดาษหรือห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์แล้วใส่ในถุงพลาสติก บันทึกสถานที่ พิกัดทางภูมิศาสตร์ วัน เดือน ปี ที่เก็บตัวอย่าง ชนิดและส่วนของพืชที่ถูกทำลาย รวมทั้งชื่อผู้เก็บ นำตัวอย่างเพลี้ยหอยที่เก็บรวบรวมได้ มาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการตรวจดูลักษณะภายนอกด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope ถ่ายภาพ บันทึกรายละเอียด เช่น ขนาด รูปร่าง ลักษณะและสีของเพลี้ยหอยก่อนนำตัวอย่างไปดองในแอลกอฮอล์ 80% เพื่อทำสไลด์ถาวรต่อไป

4. การตรวจจำแนกชนิดเพลี้ยหอย

นำตัวอย่างเพลี้ยหอยจากขวดดองตัวอย่าง มาทำสไลด์ถาวร ตรวจจำแนกชนิดเพลี้ยหอยบนแผ่นสไลด์ถาวรตามแนวทางวินิจฉัยชนิดเพลี้ยหอยสกุล *Aspidiotus* ตามแนวทางของ Williams and Watson (1988) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope ที่มีกำลังขยายสูง ตรวจดูลักษณะสำคัญที่ใช้ในการจำแนก ได้แก่ หนวด (antennae) ขน (setae) รู (pores) ท่อ (tubular ducts) และแผ่นแข็งที่อยู่บริเวณปลายส่วนท้อง (anal plate)

การบันทึกรายละเอียดบนแผ่นสไลด์ที่อบแห้งแล้วโดยวางแผ่นสไลด์หันด้านหัวของเพลี้ยหอยเข้าหาตัวด้านขวาเขียนรายละเอียดเกี่ยวกับพืชอาหาร วัน เดือน ปี สถานที่และชื่อผู้เก็บตัวอย่างด้านซ้ายมือเขียนชื่อวิทยาศาสตร์ เพศ วันเดือนปี ที่ทำสไลด์และชื่อผู้จำแนก และจัดเก็บตัวอย่างเพลี้ยหอยในกล่องใส่สไลด์ถาวร นำเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามหลักสากล

5. สรุปผลการศึกษานานภาพของเพลี้ยหอย

รวบรวมข้อมูลการสำรวจและจำแนกในห้องปฏิบัติการ วิเคราะห์สถานภาพศัตรูพืช สรุปผลและจัดทำรายงานผลการวิจัยสถานภาพของเพลี้ยหอย *A. nerii* เพื่อนำไปใช้ในการจัดทำมาตรการเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกัน และเป็นข้อมูลในยืนยันสถานภาพการปรากฏ/ไม่ปรากฏของเพลี้ยหอย *A. nerii*

บันทึกข้อมูล

- บันทึกรายละเอียดตำแหน่งของแปลงปลูกพืชตระกูลส้มที่ทำการสำรวจ/เก็บตัวอย่าง
- บันทึกข้อมูลจำนวนแปลงและจำนวนตัวอย่างที่ทำการสำรวจ/เก็บตัวอย่าง
- บันทึกข้อมูลชนิดพืช ขนาดพื้นที่ปลูก ระยะการเจริญเติบโตของพืช และสภาพแวดล้อมอื่นๆ
- บันทึกลักษณะของพืชที่พบการทำลายของเพลี้ยหอย ส่วนที่พบเพลี้ยหอย ประเมินความรุนแรง และการแพร่กระจายในพื้นที่

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาเริ่มต้น ตุลาคม 2561 – กันยายน 2564 (3 ปี)

สถานที่

- 1) ห้องปฏิบัติการของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
- 2) แปลงปลูกพืชตระกูลส้มในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง แพร่ น่าน พิจิตร สุโขทัยกำแพงเพชร ชัยนาท นครปฐม ราชบุรี กาญจนบุรี เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ สุราษฎร์ธานี พัทลุงนครศรีธรรมราช ปทุมธานี สมุทรสงคราม ปราจีนบุรี ชัยภูมิ นครราชสีมา และอุบลราชธานี

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1. สืบค้นข้อมูลสืบค้นข้อมูลลักษณะของเพลี้ยหอย *A. nerii*

สืบค้นข้อมูลสืบค้นข้อมูลลักษณะของเพลี้ยหอย *A. nerii* ได้แก่ รายละเอียดของแมลง ชื่อวิทยาศาสตร์ และลักษณะการทำลายบนพืช ตลอดจนถึงพืชอาศัยและเขตการแพร่กระจายของแมลงชนิดนี้ โดยมีรายละเอียดดังนี้

รายละเอียดของแมลง (CABI, 2018; Scalenet, 2018; Gillian, 2002) ดังนี้

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Aspidiotus nerii* Bouché, 1833

ชื่อสามัญ: Oleander scale

อันดับ: Hemiptera

วงศ์: Diaspididae

สกุล: *Aspidiotus*

ลักษณะของแมลง

เป็นแมลงปากดูดที่ทำความเสียหายให้กับพืชได้หลายชนิด โดยดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณส่วนต่างๆของพืช ทำให้ส่วนของพืชที่ถูกทำลายมีอาการผิดปกติและทำให้เนื้อเยื่อของพืชบริเวณนั้นได้รับความเสียหายกระบวนการเจริญเติบโตของต้นพืชไม่เป็นไปตามปกติ ส่งผลให้ผลผลิตลดลง และหากถูกทำลายในส่วนของผลอาจทำให้ผลด้อยคุณภาพและเสียราคา กระบวนการส่งออกผลผลิตทางการเกษตร (บุพผาและชลิตา, 2543) แมลงชนิดนี้สามารถเข้าทำลายพืชได้ทั้งในระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัยซึ่งได้รับการบันทึกว่ามีการเข้าทำลายพืชได้หลายชนิด และพบการระบาดได้ทั่วโลก (Scalenet, 2017) แต่ยังไม่มีการรายงานว่าพบในประเทศไทย (Williams and Watson, 1988) จากวงจรชีวิตของเพลี้ยหอยชนิดนี้ที่สามารถสืบพันธุ์ได้ทั้งสองแบบคือ แบบอาศัยเพศ (Sexual reproductive) และแบบไม่อาศัยเพศ (Non-sexual reproductive) โดยวิธี Parthenogenesis ซึ่งเป็นการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศของแมลงบางชนิด คือการที่เพศเมียผลิตไข่และสามารถฟักออกเป็นตัวได้โดยไม่ต้องมีการปฏิสนธิ ในสภาวะปกติไข่จะฟักออกมาเป็นเพศเมีย และในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมไข่จะฟักออกมาเป็นได้ทั้งเพศเมียและเพศผู้ ถ้าเพศผู้กับเพศเมียได้ผสมกันไข่จะมีความคงทนต่อสภาวะที่ไม่เหมาะสมได้ (Provenchera *et al.*, 2005) ตัวเต็มวัยเพศเมีย 1 ตัว จะมีช่วงเวลากาวางไข่ประมาณ 1 – 2 สัปดาห์ จำนวนไข่ต่อตัวอยู่ที่ 100 –

150 ฟอง วงจรชีวิตของแมลงชนิดนี้ประมาณ 5 สัปดาห์ ใน 1 ปี สามารถผลิตประชากรได้ 2 – 3 รุ่น และการแพร่กระจายนั้นจะเกิดมาจากการขนส่ง โดยติดมากับพืชอาศัย หรือการนำเข้ามาสู่แหล่งอาศัยใหม่จากกิจกรรมของมนุษย์ เช่น ติดมากับผล ท่อนพันธุ์หรือกิ่งพันธุ์พืชที่นำเข้ามาปลูก เป็นต้น

- ไข่ (Egg) : ไข่ของตัวเมียที่โตเต็มวัยจะวางไข่ไว้ในโพรงใต้ช่องระบายอากาศ
- ตัวหนอน (Larval instars) : ไข่ที่วางอยู่ภายใต้ชุดเกราะของตัวเมียที่โตเต็มวัยซึ่งพวกมันฟักเป็นหนอนวัยที่ 1 เรียกระยะนี้ว่า crawlers เป็นระยะที่สามารถเคลื่อนที่ได้ (มีเพียงระยะเดียวเท่านั้นที่มีขา) และจะเคลื่อนที่ไปทั่วทุกส่วนของพืช และทำการลอกคราบซึ่งเป็นขั้นตอนที่จะสูญเสียขาไปและจะติดถาวรกับพืช และสร้างเกาะป้องกันจากไข่ที่สร้างจากตัวอ่อนและการลอกคราบ
- ตัวเมีย: ตัวเมียจะยังคงอยู่ภายใต้เกราะที่ทำให้เป็นเกร็ดๆ ตัวเมียที่โตเต็มวัยมีสีเทาขาววงกลมขนาดเล็กน้อย ยาวประมาณ 2 มม. เมื่อเกล็ดออกแล้วตัวเมียที่โตเต็มวัยจะมีสีเหลืองรูปไข่กว้างหรือเป็นวงกลมและมีเยื่อหุ้มยกเว้นส่วนของส่วนท้ายลำตัว ส่วนท้ายลำตัวมีลักษณะสั้นและกว้างโดยมีพื้นที่ส่วนกลางของ dorsum sclerotized (CABI, 2019)
- ตัวผู้: ตัวอ่อน crawlers จะอยู่ภายใต้เกราะที่ทำให้เป็นเกร็ดๆ ยกเว้นระยะตัวเต็มวัยจะมีปีก เกราะของตัวผู้มีขนาดเล็กกว่าตัวเมียและยึดออกได้มากกว่าพร้อมกับ exuviae subcentral ตัวอ่อนของตัวผู้มีสีเหลือง/น้ำตาล ตัวเต็มวัยมีปีก ยาวประมาณ 1 มม. อายุสั้นและมักออกหากินเวลากลางคืน (CABI, 2019)

ลักษณะการทำลายบนพืช

เพลี้ยหอยชนิดนี้สามารถเข้าทำลายดูดกินน้ำเลี้ยงบนต้นพืชได้ทุกส่วนของพืช ตัวเต็มวัยจะเกาะนิ่งอยู่กับที่และดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณนั้นตลอดชั่วอายุขัย แต่ตัวอ่อนที่ออกจากตัวแม่นั้นสามารถเคลื่อนที่เพื่อไปหาแหล่งอาหารใหม่ได้ โดยอาการมักจะเกี่ยวข้องกับความรุนแรงของการเข้าทำลาย แมลงชนิดนี้จะดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบและลำต้น ทำให้เกิดอาการเหี่ยวแห้ง และลดพื้นที่สังเคราะห์แสงของพืช ส่งผลให้ผลผลิตลดลง (Figure 1)

นอกจากนี้ความเสียหายต่อผลจะเกิดขึ้นหลังจากการแพร่ระบาดอย่างหนัก โดยอาการที่พบเห็นบ่อยครั้งจะทำให้ส่วนของผลมีรูปร่างไม่สามารถจำหน่ายได้ ยกตัวอย่างเช่น ในมะกอกจะเห็นจุดสีเขียบบนผลไม้สีม่วงจนทำให้ราคาตกต่ำลง นอกจากนี้หากเพลี้ยหอยทำความเสียหายต่อใบพืชที่มีความสำคัญโดยเฉพาะอย่างยิ่งในไม้ประดับ เมื่อเกิดการระบาดจะทำให้ใบพืชเสียหาย ใบและยอดเหลืองและผิดปกติ หรือการเหี่ยวเฉาจนถึงขั้นต้นพืชตายได้

การแพร่กระจาย

ส่วนใหญ่จะเกิดจากนำชิ้นส่วนของพืชที่มีเพลี้ยหอยจากแหล่งที่พบว่ามีการระบาดเข้ามาปลูกและขยายพันธุ์ในพื้นที่ นอกจากนี้ยังพบว่าในระยะตัวอ่อนของแมลงชนิดนี้สามารถแพร่กระจายในระยะทางสั้น ๆ ได้ โดยอาศัยลม แมลง และนก เป็นต้น

พื้นที่การระบาด

ทวีปแอฟริกา – แอลจีเรีย คองโก อียิปต์ เจริเทรีย เอธิโอเปีย เคนยา ลิเบีย มาดากัสกา มาลาวี โมร็อกโค ไนจีเรีย เซาท์-แอฟริกา แทนซาเนีย ติมูร์เซีย อูกานดา และซิมบับเว

ทวีปเอเชีย – จีน อิหร่าน อิสราเอล ญี่ปุ่น จอร์แดน เลบานอน ซาอุดีอาระเบีย ซีเรีย และตุรกี

ทวีปยุโรป – เบลเยียม บัลแกเรีย ไชปรัส ยูโกสลาเวีย ฝรั่งเศส เยอรมัน ยิบรอลตาร์ กรีซ ไอร์แลนด์ อิตาลี มอลตา โปแลนด์ โปรตุเกส โรมาเนีย รัสเซีย สโลวาเกีย สเปน และสหราชอาณาจักร

ทวีปอเมริกาเหนือ – เบอร์มิวดา เม็กซิโก และสหรัฐอเมริกา

ทวีปอเมริกาใต้ – อาร์เจนตินา โบลิเวีย บราซิล ชิลี โคลอมเบีย เอกวาดอร์ เปรู และอุรุกวัย

ทวีปเอเชีย – ออสเตรเลีย นิวแคลิโดเนีย นิวซีแลนด์ และเกาะนอร์ฟอล์ก

พืชอาศัย

พืชอาศัยของเพลี้ยหอยชนิดนี้มีมากกว่า 100 วงศ์ (CABI, 2018; Scalenet, 2017; Gillian, 2002) แบ่งได้เป็นสองกลุ่มคือ พืชอาศัยหลัก (Main host) และพืชอาศัยรอง (Other host) โดยพืชอาศัยหลักของเพลี้ยหอยชนิดนี้ ได้แก่ มะกอกโอลีฟ และพืชตระกูลส้ม ส่วนพืชอาศัยรองได้แก่ กิ่ว ท้อ มะม่วง มะพร้าว ลูกแพร์ สับปะรด หม่อน ต้นสน องุ่นทำไวน์ อินทผลัม กุหลาบ กล้ายไม้ ดอกคาร์เนชั่น โจ้โจ้บา แมกโนเลีย เป็นต้น

2. จัดทำแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ

จัดทำแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจเพลี้ยหอยชนิด *A. nerii* และสร้างคู่มือการสำรวจในแปลงปลูกพืชตระกูลส้ม (Figure 2) โดยคู่มือประกอบด้วย

- ข้อมูลพื้นฐานของเพลี้ยหอย และภาพตัวอย่างการทำลาย ตลอดจนวิธีการจำแนกชนิดและความแตกต่างของรอยทำลายที่เกิดขึ้นของแมลงชนิดนี้เทียบกับเพลี้ยหอยที่เป็นศัตรูพืชเดิมของพืชชนิดนี้

- แบบบันทึกรายงานการสำรวจโดยมีรายละเอียดคือ วันเดือนปีที่สำรวจ สถานที่สำรวจ (หมู่บ้าน ตำบล อำเภอ จังหวัด) พิกัดทางภูมิศาสตร์ ขนาดของพื้นที่ทำการสำรวจ ชื่อผู้สำรวจ จำนวนแปลงที่สำรวจ ชื่อพืชที่พบรอยทำลาย อัตราการทำลาย และพืชอาศัยอื่นที่อยู่ข้างเคียง

- รูปแบบการเดินสำรวจเพลี้ยหอยแบบทะแยงมุม สังเกตรอยทำลายบนใบพืช พืชตระกูลส้มต้นละ 4 ทิศ รอบทรงพุ่ม จำนวน 10 ต้นต่อแปลง เดินสำรวจในแนวทแยงมุม (Figure 3)

- การเก็บตัวอย่าง โดยเก็บชิ้นส่วนของพืชตระกูลส้มที่มีเพลี้ยหอยอาศัยอยู่ (เช่น ใบ กิ่ง ผล) ใส่ในถุงกระดาษหรือห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์แล้วใส่ในถุงพลาสติก เพื่อมาตรวจจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ

3. การสำรวจ

จากการสำรวจเพลี้ยหอย *A. nerii* แปลงปลูกพืชตระกูลส้มในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง แพร่ น่าน พิจิตร กำแพงเพชร สุโขทัย ชัยนาท นครปฐม ราชบุรี กาญจนบุรี เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พัทลุง ปทุมธานี สมุทรสงคราม ปราจีนบุรี ชัยภูมิ นครราชสีมา และอุบลราชธานี ซึ่งเป็นแหล่งปลูกพืชตระกูลส้มที่สำคัญในประเทศไทย จำนวน 329 แปลง 3,864 ไร่ (มะกรูด จำนวน 56 แปลง 56 ไร่ มะนาว จำนวน 72 แปลง 641 ไร่ ส้มโอ จำนวน 96 แปลง 1,026 ไร่ ส้มเกลี้ยง จำนวน 13 แปลง 103 ไร่ และ ส้มเขียวหวาน จำนวน 142 แปลง 2,038 ไร่) ระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2561 ถึงเดือนกันยายน พ.ศ. 2564 ผลสำรวจเมื่อตรวจดูลักษณะภายนอกของเพลี้ยหอยที่ได้จากการเก็บตัวอย่าง ทำการเปรียบเทียบลักษณะสำคัญของเพลี้ยหอยในสกุลต่าง ๆ ด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope พบว่า ยังไม่พบเพลี้ยหอยที่มีลักษณะภายนอกที่ใกล้เคียงกับเพลี้ยหอยชนิดนี้ เข้าทำลายพืชตระกูลส้มที่ทำการสำรวจ แต่พบว่าการเข้าทำลายของเพลี้ยหอยชนิดอื่น แบ่งเป็น 2 วงศ์ ได้แก่ วงศ์ Coccidae จำนวน 3 ชนิดคือ เพลี้ยหอยเกาะอ่อนสีน้ำตาล (*Coccus hesperidum*) และเพลี้ยหอยกาแฟสีเขียว (*Coccus viridis*) และเพลี้ยหอยขี้ผึ้ง (*Ceroplastes sp.*)

และวงศ์ Diaspididae จำนวน 3 ชนิดคือ เพลี้ยหอยสีแดงแคลิฟอร์เนีย (*Aonidiella aurantii*) เพลี้ยหอยเกล็ดเมดิเตอร์เรเนียน (*Parlatoria ziziphi*) และเพลี้ยหอยเกล็ดเชอร์คูลาสเกล (*Chrysomphalus aonidum*) โดยเพลี้ยหอยทั้ง 6 ชนิดนี้จัดเป็นเพลี้ยหอยที่สามารถพบได้ทั่วไปในประเทศไทยและภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิกอยู่แล้ว ซึ่งเพลี้ยหอยทั้ง 6 ชนิดนี้ต่างก็มีพืชตระกูลส้มอยู่ในบัญชีพืชอาหารของเพลี้ยหอยทั้ง 6 ชนิดดังกล่าว สอดคล้องกับการรายงานของ (CABI, 2018; Scalenet, 2017)

4. การตรวจจำแนกชนิดเพลี้ยหอย

นำตัวอย่างเพลี้ยหอยที่ต้องสงสัยมาจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ โดยตรวจวินิจฉัยเพลี้ยหอยโดยเปรียบเทียบลักษณะสำคัญต่าง ๆ โดยมีรายละเอียดดังนี้

วงศ์ Coccidae จำนวน 2 ชนิดคือ

- เพลี้ยหอยเกราะอ่อนสีน้ำตาล (*Coccus hesperidum*) เป็นเพลี้ยหอยที่มีลักษณะแบน มักเป็นรูปร่างรี มีสีเหลืองอมเขียว มีจุดหรือรอยปื้นสีน้ำตาลบนลำตัว สีของเกล็ดจะโปร่งแสงและจะเข้มข้นตามวัยของแมลง มีขนาดลำตัวประมาณ 3.00 – 5.20 มิลลิเมตร (Figure 4)

- เพลี้ยหอยกาแพสีเขียว (*Coccus viridis*) เป็นเพลี้ยหอยที่มีลักษณะแบน มักเป็นรูปร่างรี มีสีเขียวซีดและเป็นมันเงา ด้านหลังจะมีจุดสีดำลากเป็นเส้นตามความยาวของลำตัว ตรงส่วนหัวจะพบว่ามีจุดสีดำสองจุดที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า มีขนาดลำตัวประมาณ 2.50 – 3.25 มิลลิเมตร (Figure 5)

- เพลี้ยหอยขี้ผึ้ง (*Ceroplastes sp.*) เป็นเพลี้ยหอยที่ไม่มีสีขาวครีม-ชมพู ลักษณะแบนเป็นรูปกลมรี ด้านหลังและด้านข้างของเกราะจะคล้ายกับเป็นการนำแผ่นไขทรงเหลี่ยมหลายแผ่นมาประกบกันโดยตรงกลางของแผ่นไขจะมีจุดสีดำคล้ายดวงตา โดยเกราะของเพลี้ยหอยชนิดนี้มีขนาดประมาณ 4.50 – 5.25 มิลลิเมตร (Figure 6)

วงศ์ Diaspididae จำนวน 2 ชนิดคือ

- เพลี้ยหอยสีแดงแคลิฟอร์เนีย (*Aonidiella aurantii*) เป็นเพลี้ยหอยที่มีเกล็ดรูปร่างค่อนข้างกลมมนสีน้ำตาลแดงปกคลุมลำตัว มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1.50 – 2.00 มิลลิเมตร บริเวณปลายขอบของเกล็ดจะมีสีขาวขุ่น โดยส่วนของเกล็ดนี้จะเกิดจากไขที่หลั่งออกมาจากส่วนท้ายของลำตัวและคราบเดิมที่รวมอยู่จากการลอกคราบ-เมื่อแกะส่วนของเกล็ดแข็งออกจะพบตัวของแมลงอยู่ด้านใต้ ลำตัวมีลักษณะค่อนข้างกลม ขนาดลำตัวกว้าง 0.80 – 1.00 มิลลิเมตร ยาว 1.00 – 1.50 มิลลิเมตร (Figure 7)

- เพลี้ยหอยเกล็ดเมดิเตอร์เรเนียน (*Parlatoria ziziphi*) เป็นเพลี้ยหอยที่มีเกล็ดปกคลุมลำตัว โดยเกล็ดจะมีสีดำลักษณะยาวรีคล้ายผลของลูกแพร์ และมีไขสีขาวที่ถูกขับออกมาจากส่วนท้ายของลำตัว เพื่อปกคลุมตัวอ่อนเอาไว้ภายใน โดยเพลี้ยหอยชนิดนี้จะมีขนาดความกว้างของเกล็ดสีดำที่ปกคลุมลำตัวประมาณ 0.40 – 0.60 มิลลิเมตร ยาว 0.80 – 1.20 มิลลิเมตร (Figure 8)

- เพลี้ยหอยเกล็ดเชอร์คูลาสเกล (*Chrysomphalus aonidum*) เป็นเพลี้ยหอยที่มีเกล็ดปกคลุมลำตัว โดยเกล็ดจะมีสีดำลักษณะค่อนข้างกลม และส่วนศูนย์กลางของเกล็ดจะยกนูนขึ้นเล็กน้อยและมีสีซีด โดยเพลี้ยหอยชนิดนี้จะมีขนาดความกว้างของเกล็ดสีดำที่ปกคลุมลำตัวประมาณ 1.50 – 2.50 มิลลิเมตร (Figure 9)

5. สรุปผลการศึกษาด้านภาพของเพลี้ยหอย

จัดทำมาตรการเฝ้าระวัง และแผนปฏิบัติการฉุกเฉินในกรณีที่เกิดการระบาดของเพลี้ยหอย *A. nerii* ดังต่อไปนี้

มาตรการระยะสั้น

1. สร้างการรับรู้ให้แก่เกษตรกรและผู้มีส่วนเกี่ยวข้องได้รู้จักเพลี้ยหอยชนิดนี้ และวิธีการป้องกันกำจัด
 - โดยใช้โปสเตอร์ แผ่นพับ ภาพอินโฟกราฟิก และมอบให้แก่ ภาครัฐ ภาคเอกชน ผู้เกี่ยวข้อง เพื่อประชาสัมพันธ์ และสร้างการรับรู้ให้แก่เกษตรกร
 - จัดประชุมชี้แจงหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง ประกอบด้วย เกษตรกร สมาคม และผู้ประกอบการ เจ้าหน้าที่กรมวิชาการเกษตร เจ้าหน้าที่กรมส่งเสริมการเกษตร เจ้าหน้าที่โครงการหลวง และหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง
2. แจ้งเตือนด้านตรวจพืชเพื่อเฝ้าระวังเพลี้ยหอยที่อาจติดมากับสินค้าเกษตรนำเข้าจากประเทศที่มีรายงานการระบาด

มาตรการระยะยาว

1. เฝ้าระวังและเตือนภัยเพลี้ยหอย อย่างต่อเนื่อง
2. ศึกษาและหาวิธีการพัฒนาการควบคุมเพลี้ยหอย ให้มีประสิทธิภาพและยั่งยืน

แผนปฏิบัติการฉุกเฉินในกรณีพบการระบาดของเพลี้ยหอย

1. เมื่อพบการระบาดของเพลี้ยหอยในพื้นที่สามารถแจ้งข้อมูลมายัง สายด่วนเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกัน กลุ่มงานเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร โทร. 0-2579-8516 หรือ 061-415-2517 อีเมล ppspq@doa.in.th เพื่อประสานหน่วยงานในพื้นที่เข้าติดตามตรวจสอบ และให้คำแนะนำการป้องกันกำจัด รวมทั้งควบคุมการระบาดไม่ให้แพร่กระจายออกไปยังพื้นที่อื่น ๆ ได้
2. จัดทำคำแนะนำและเผยแพร่วิธีการป้องกันกำจัดศัตรูพืชชนิดนี้ในเบื้องต้นแก่เกษตรกร โดยเน้น การป้องกันกำจัดโดยวิธีผสมผสาน IPM ดังนี้
 - ใช้ท่อนพันธุ์สะอาดที่ปลอดจากเพลี้ยหอย
 - ตรวจหาการทำลายโดยสำรวจร่องรอยการทำลายบนใบ กิ่งก้าน และผล เป็นประจำ
 - หากตรวจพบการทำลายของเพลี้ยหอย ทำการป้องกันกำจัดโดยการใช้สารเคมีพ่นทางใบจากคำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลง-สัตว์ศัตรูพืชอย่างปลอดภัย...จากงานวิจัย 2563 (สุภรดา และคณะ 2563)
 - สารมาลาไธออน 83% EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
 - สารอิมิดาโคลพริด 10% SL อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
 - สารเฟนิโทไรโทออน 50% EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
 - สารไดโนทีฟูแรน 10% WP อัตรา 15 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
 - สารซัลฟอกซาฟลอส 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
 - สารไวต์ออยล์ 67% EC อัตรา 60 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
 - สารบีโตรเลียมสเปรย์ออยล์ 83.9% EC อัตรา 60 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

พ่นสารกำจัดแมลงทุก 7 วัน ติดต่อกัน 2-3 ครั้ง โดยใช้กลุ่มสารสลับกันอย่างน้อย 2 กลุ่ม ใน 1 รอบวงจรชีวิต (30 วัน) และเว้นระยะไม่ใช้สารกลุ่มเดิมในรอบวงจรชีวิตถัดไป เพื่อลดการสร้างความต้านทานต่อสารกำจัดแมลง

- ทำความสะอาดแปลง เก็บเศษซากพืชที่มีเพลี้ยหอยนำไปทำลายโดยการเผา

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการสำรวจเพลี้ยหอยชนิด *A. nerii* ในแหล่งปลูกพืชตระกูลส้มทั่วทั้งประเทศไทย จำนวน 329 แปลง 3,864 ไร่ (มะกรูด จำนวน 56 แปลง 56 ไร่ มะนาว จำนวน 72 แปลง 641 ไร่ ส้มโอ จำนวน 96 แปลง 1,026 ไร่ ส้มเกลี้ยง จำนวน 13 แปลง 103 ไร่ และส้มเขียวหวาน จำนวน 142 แปลง 2,038 ไร่) ระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2561 ถึงเดือนกันยายน พ.ศ. 2564 ยังไม่พบเพลี้ยหอยที่มีลักษณะภายนอกที่ใกล้เคียงกับเพลี้ยหอยชนิดนี้เข้าทำลายพืชตระกูลส้มที่ทำการสำรวจ แต่พบว่ามี การเข้าทำลายของเพลี้ยหอยชนิดอื่น แบ่งเป็น 2 วงศ์ ได้แก่ วงศ์ Coccidae จำนวน 3 ชนิดคือ เพลี้ยหอยเกราะอ่อนสีน้ำตาล (*Coccus hesperidum*) และเพลี้ยหอยกาแฟสีเขียว (*Coccus viridis*) และเพลี้ยหอยซีผึ้ง (*Ceroplastes sp.*) และวงศ์ Diaspididae จำนวน 3 ชนิดคือ เพลี้ยหอยสีแดงแคลิฟอร์เนีย (*Aonidiella aurantii*) เพลี้ยหอยเกล็ดเมดิเตอร์เรเนียน (*Parlatoria ziziphi*) และเพลี้ยหอยเกล็ดเชอคูลาสเกล (*Chrysomphalus aonidum*) โดยเพลี้ยหอยทั้ง 6 ชนิดนี้จัดเป็นเพลี้ยหอยที่สามารถพบได้ทั่วไปในประเทศไทยและภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิกอยู่แล้ว ซึ่งเพลี้ยหอยทั้ง 6 ชนิดนี้ต่างก็มีพืชตระกูลส้มอยู่ในบัญชีพืชอาหารของเพลี้ยหอยทั้ง 6 ชนิดดังกล่าว ทั้งนี้เพื่อเป็นการการยึดย่นสถานภาพของแมลงชนิดนี้ในประเทศไทย จำเป็นต้องขยายขอบเขตการสำรวจแมลงชนิดนี้ในพืชอาศัยอื่น ๆ ที่อยู่ในบัญชีพืชอาศัยของแมลงชนิดนี้ เพื่อให้ได้ข้อมูลสถานภาพการไม่ปรากฏของแมลงชนิดนี้ในประเทศไทยต่อไป และจะได้นำข้อมูลดังกล่าวยืนยันว่าแมลงชนิดนี้ยังคงสถานภาพเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย

คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณ ข้าราชการ พนักงานราชการ และพนักงานจ้างเหมา ของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่ให้คำแนะนำช่วยเหลือในการทำงานวิจัย

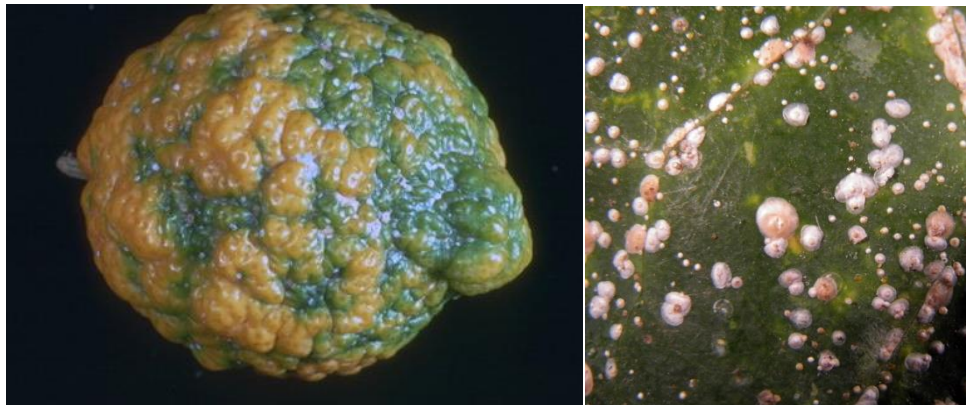



Figure 1 Symptom from *A. nerii* on leaves and fruits of oranges
 Source: Naturdata - Biodiversidade Online, 2018.

**คู่มือการสำรวจและเฝ้าระวัง
เพลี้ยหอย
Aspidiotus nerii Bouché**



ต้นยี่ ชัยเรือนแก้ว
 กลุ่มงานเฝ้าระวังศัตรูพืชผักก้าน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช
 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

แบบบันทึกรายงานการสำรวจเพลี้ยหอย *A. nerii*

วันที่	พื้นที่							พื้นที่สำรวจ (ไร่)	จำนวนแปลง	ผลการสำรวจเพลี้ยหอย <i>A. nerii</i>		เปอร์เซ็นต์ (%) การทำลาย	ชนิดพืชที่สำรวจ
	หมู่บ้าน	ตำบล	อำเภอ	จังหวัด	ละติจูด	ลองจิจูด	ความสูงจากระดับน้ำทะเล			พบ	ไม่พบ		
ผู้สำรวจ						หน่วยงาน					

Figure 2 Survey guide and report form

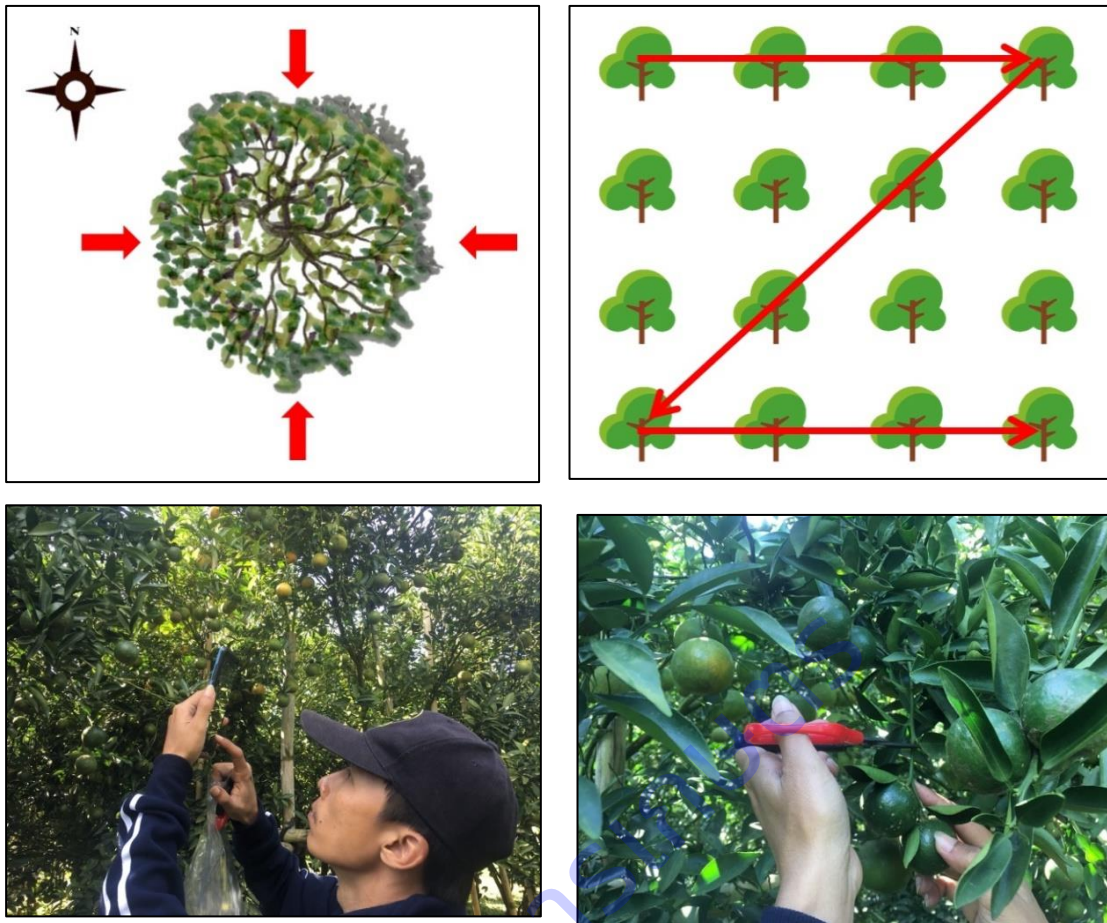


Figure 3 Survey pattern and collecting sample of *Citrus spp.*



Figure 4 *Coccus hesperidum* (brown soft scale)



Figure 5 *Coccus viridis* (soft green scale)



Figure 6 *Ceroplastes sp.* (wax scale)



Figure 7 *Aonidiella aurantii* (red scale)



Figure 8 *Parlatoria ziziphi* (black parlatoria scale)



Figure 9 *Chrysomphalus aonidum* (circular scale)

การทดลองที่ 21

การศึกษาสถานภาพวัชพืช *Chenopodium album* L. ของพืชผักในประเทศไทย

Study on status of *Chenopodium album* L. of Vegetables in Thailand

ชุตินา อ้อมกิ่ง^{1/} ชลธิชา รักใคร่^{1/} อัญศยา พรพมา^{2/} ธิดาวรรณ ชมเดช^{1/} ดนัย ชัยเรือนแก้ว^{1/}

^{1/}กลุ่มวิจัยการกักกันพืช

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/}กลุ่มวิจัยวัชพืช

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

วัชพืช *Chenopodium album* L. เป็นวัชพืชที่สำคัญสามารถทำความเสียหายให้กับพืชได้หลายชนิด ซึ่งอาจติดมากับเมล็ดพันธุ์พืชผักที่นำเข้ามาได้ วัชพืชชนิดนี้เป็นวัชพืชที่สามารถเจริญเติบโตได้ในเขตอบอุ่นถึงร้อนชื้น เมื่อทำการสำรวจวัชพืชตามมาตรฐาน ISPM No.6 ดำเนินการสำรวจแบบสืบพบในแปลงผัก ได้แก่ กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก คะน้า และกวางตุ้ง ข้อมูลการสำรวจการแพร่ระบาดของวัชพืชชนิดนี้สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลในการยืนยันสถานภาพของวัชพืชชนิดนี้ในพืชตระกูลกะหล่ำของประเทศไทย เพื่อประเมินความเสี่ยงในการระบาดของวัชพืชชนิดนี้ในพืชเศรษฐกิจต่างๆ ของไทย ทำการสำรวจแปลงปลูกพืชตระกูลกะหล่ำในเดือนตุลาคม 2561 ถึงกันยายน 2564 จำนวน 245 แปลง ในพื้นที่จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย แม่ฮ่องสอน พะเยา สุโขทัย พิษณุโลก เพชรบูรณ์ นครปฐม ราชบุรี และขอนแก่น ทั้งหมด 10 จังหวัด เพื่อศึกษาสถานภาพของศัตรูพืชกักกัน *C. album* L. นั้น ผลปรากฏว่าไม่พบ วัชพืช *C. album* L.

คำสำคัญ: สำรวจ เฝ้าระวัง พืชตระกูลกะหล่ำ วัชพืช

Abstracts

Chenopodium album L. is an important weed that can damage a variety of plants which may be contaminate to imported vegetable seeds. This weed can grow in temperate and tropical zone. Surveying follow accordance with ISPM No.6, with detection survey in vegetable field including cabbage, cauliflower, kale and cantonese. This survey data can be used to confirm the status of this weed in brassica plants of Thailand. Survey result of brassica planting plots in October 2018 - September 2021 across all regions of Thailand, amounting to 245 plots in the provinces of Chiang Mai, Chiang Rai, Mae Hong Son, Phayao, Sukhothai, Phitsanulok, Phetchabun, Nakhon Pathom, Ratchaburi and Khon Kaen in 10 provinces to study the status of quarantine pests of *C. album* L., the results showed that not found *C. album* L.

Keywords: Survey, Surveillance, Brassica, Weed

บทนำ

ประเทศเกือบทุกประเทศที่เป็นสมาชิกขององค์การการค้าโลก (WTO) ได้นำมาตรการสุขอนามัยพืชมาใช้เป็นข้อต่อรองในการส่งออกและนำเข้า โดยที่ประเทศผู้ส่งออกต้องส่งบัญชีรายชื่อศัตรูพืชของพืชส่งออกและข้อมูลของศัตรูพืชแต่ละชนิดตามความต้องการของประเทศผู้นำเข้า เพื่อทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ก่อนที่จะอนุญาตให้สินค้าเกษตรนั้นๆ เข้าประเทศ ขณะเดียวกันประเทศผู้นำเข้าจำเป็นต้องมีข้อมูลบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่นำเข้าด้วย การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชโดยการศึกษาและการสำรวจแบบติดตามข้อมูลศัตรูพืชในแหล่งปลูกเพื่อเป็นการเฝ้าระวัง (Surveillance) เป็นกระบวนการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชชนิดใดชนิดหนึ่งในพื้นที่ ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการเฝ้าระวังนี้สามารถนำไปใช้ในด้านต่าง ๆ เช่น การสนับสนุนการออกประกาศเรื่องการปลอดศัตรูพืชที่ดำเนินการโดย NPPO กระบวนการช่วยตรวจหาศัตรูพืชชนิดใหม่ได้ทันเวลา การให้การรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืช เป็นต้น

ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ผักจากต่างประเทศเป็นจำนวนมากและมีการปนเปื้อนของวัชพืชติดมากับเมล็ดพันธุ์เข้ามา การนำเข้าจะต้องผ่านเงื่อนไขที่กรมวิชาการเกษตรได้กำหนดไว้ (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2550) แต่เนื่องจากเมล็ดพันธุ์ของพืชผักที่นำเข้ามาในปริมาณมาก เมล็ดวัชพืชอาจเล็ดลอดจากการสุ่มตรวจและมีโอกาสติดเข้ามาและเข้าไปสู่แหล่งปลูกผัก ซึ่งวัชพืช *Chenopodium album* L. เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย สามารถพบการระบาดได้ทั่วโลก (CABI, 2015) ทำให้ผลผลิตมีปริมาณลดลงเพราะไปแย่งแสงและสารอาหารจากพืชหลัก เกิดความเสียหายจากการเข้าทำลายของวัชพืชชนิดนี้ มีการกระจายตัวทั่วโลกมีความสามารถตั้งถิ่นฐานในแหล่งที่อยู่อาศัยใหม่ๆ สามารถผลิตเมล็ดพันธุ์ได้จำนวนมาก และสามารถดำรงชีวิตเป็นเวลาหลายปี และมีความทนทานต่อสารเคมีกำจัดวัชพืช เป็นปัญหาวัชพืชที่สำคัญในการเกษตร (Holm *et. al.*, 1977; Mitich, 1988; Holt and Lebaron, 1990). ซึ่งมีความเป็นไปได้ที่วัชพืชชนิดนี้จะสามารถตั้งรกราก เนื่องจากประเทศไทยมีสภาพภูมิอากาศที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องทำการสำรวจเพื่อเฝ้าระวังศัตรูพืชชนิดนี้ในพื้นที่ เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการสนับสนุนการออกประกาศเรื่องการปลอดศัตรูพืช การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช และการรายงานศัตรูพืชอีกด้วย

วัชพืช *Chenopodium album* L. มีพืชอาศัยหลักในพืชตระกูลกะหล่ำ เช่น กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก บร็อคโคลี่ ผักกาดขาวปลี ผักกาดเขียวปลี กวางตุ้ง และคะน้า เป็นต้น อาจมีให้มีการแพร่กระจายของวัชพืชทำให้เกิดความเสียหายขึ้นมาได้ในอนาคต จากรายงานของกรมส่งเสริมการเกษตร ในปี 2559 พบว่า ประเทศไทยมีพื้นที่การปลูกพืชผักในบริเวณภาคเหนือจำนวนมาก ได้แก่ กะหล่ำปลีมีพื้นที่ปลูก 36,611.75 ไร่ ผักกวางตุ้ง 11,615.1 ไร่ ผักกาดขาวปลี 11,578.5 ไร่ ผักกาดเขียวปลี 7,381 ไร่ กะหล่ำดอก 7,133 ไร่ คะน้า 4,518.5 ไร่ และ บร็อคโคลี่ 847 ไร่ จังหวัดที่ปลูกผักได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย แม่ฮ่องสอน แพร่ น่าน ลำพูน ลำปาง อุตรดิตถ์ พะเยา และ เพชรบูรณ์ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2559) เนื่องจากการผลิตพืชผักในประเทศไทยยังมีไม่เพียงพอต่อความต้องการภายในประเทศ จึงมีความจำเป็นต้องนำเข้าเมล็ดพันธุ์ ในปี 2559 มีปริมาณการนำเข้า 775.06 ตัน คิดเป็นมูลค่า 181.39 ล้านบาท (กรมศุลกากร, 2559)

ซึ่งพืชเหล่านี้มีโอกาสมิ่วชพืชชนิดนี้เข้าทำความเสียหายได้ แต่เนื่องจากพืชอาศัยของวัชพืชชนิดนี้มีจำนวนมากการสำรวจในทุกพืชนั้นอาจต้องใช้บุคลากร ระยะเวลาและงบประมาณในการสำรวจติดตามจำนวนมาก การสำรวจในครั้งนี้จึงมุ่งเน้นไปเฉพาะพืชอาศัยหลัก เพื่อยืนยันข้อมูลของสถานภาพของวัชพืชชนิดนี้ต่อไป ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องทำการสำรวจเพื่อเฝ้าระวังศัตรูพืชชนิดนี้ในพื้นที่ปลูกพืชผักตระกูลกะหล่ำ เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการสนับสนุนการออกมาตรการเฝ้าระวังศัตรูพืช การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช และการรายงานศัตรูพืชอีกด้วย

ระเบียบวิธีการวิจัย

อุปกรณ์

1. คู่มือ เอกสาร หนังสือ วารสาร
2. กล้องถ่ายรูปแบบดิจิทัล
3. กรรไกร มีด เสียม หรือพลั่ว สำหรับตัด/ขุด ตัวอย่างพืช
4. แผงอัดตัวอย่างพรรณไม้พร้อมกระดาษฟูก ฟองน้ำและหนังสือพิมพ์ พร้อมเชือกใส่ตะเกียง และป้ายชื่อสำหรับผูกตัวอย่างพืช
5. กระดาษติดตัวอย่างพืช
6. ขวดแก้ว และน้ำยาสำหรับดองตัวอย่างพืช (หากจำเป็น)
7. น้ำยาชุบตัวอย่างวัชพืช ประกอบด้วย ฟีนอล เมอคิวริกคลอไรด์ เอทิลแอลกอฮอล์
8. เครื่องวัดพิกัดภูมิศาสตร์ (GPS)

วิธีการทดลอง

1. สืบค้นข้อมูล

สืบค้นข้อมูลลักษณะของวัชพืช *Chenopodium album* L. เป็นศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืชของประเทศไทย ได้แก่ รายละเอียดของวัชพืช ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพ้อง และลักษณะทางพฤกษศาสตร์ การแพร่ระบาด สภาพนิเวศน์ที่มักพบวัชพืชเหล่านี้พร้อมรูปภาพ (ภาพที่ 1 2 และ 3)

2. จัดทำแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ

จัดทำเอกสารคู่มือสำหรับผู้ร่วมงานใช้ในการสำรวจภาคสนาม และสอบถามเกษตรกรในพื้นที่สำรวจ ประกอบภาพ ลักษณะต้น ใบ และดอก และสรุปผลกระทบของพืชนี้ ที่สามารถหาได้จากฐานข้อมูลของต่างประเทศที่สามารถเข้าถึงด้วยระบบเครือข่าย เช่น CABI, Plant Database USDA, invasive.org เป็นต้นตลอดจนรายละเอียดของวัชพืชอื่น ๆ ที่มีลักษณะคล้ายกับวัชพืชเป้าหมาย และจัดทำแบบฟอร์มการสำรวจ เพื่อบันทึกข้อมูลชื่อเกษตรกร สถานที่ วันที่เก็บ ข้อมูลพิกัดภูมิศาสตร์

3. การสำรวจ

กำหนดพื้นที่ วางแผนการสำรวจ โดยการสำรวจแบบกำหนดขอบเขตตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่า ด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (Surveillance: ISPM No.6) (FAO, 2018) และ คำแนะนำในการสำรวจ ศัตรูพืชในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก (McMaugh, 2008)

ทำการสำรวจในแหล่งปลูกผักในภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย แม่ฮ่องสอน และจังหวัด พะเยา ภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดสุโขทัย พิษณุโลก และจังหวัดเพชรบูรณ์ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัด ขอนแก่น ภาคตะวันตก ได้แก่ จังหวัดราชบุรี และจังหวัดนครปฐม วางแผนการสำรวจเก็บตัวอย่าง ในพื้นที่พืชผัก สำรวจแบบสืบพบ (Detection survey) โดยการเดินสำรวจในพื้นที่ที่สามารถเข้าถึงด้วยรถยนต์ หรืออยู่ในระยะที่ เดินเข้าได้ โดยมีวัชพืช *Chenopodium album* L. เป็นพืชเป้าหมาย โดยเดินแบบซิกแซก รูป W ในพื้นที่ไม่น้อย กว่า 10% ของแปลงปลูกที่ทำการสำรวจเก็บตัวอย่างพืชที่พบ หากไม่สามารถระบุชนิดได้ เช่น มีลักษณะไม่ชัดเจน พืชยังไม่มีดอก หรือยังอยู่ในระยะต้นอ่อน เก็บตัวอย่าง นำมาปลูกในเรือนทดลอง จนกว่าจะมีดอก หรือมีลักษณะ ที่สามารถระบุชนิดได้ ถ่ายภาพและจัดทำตัวอย่างแห้ง เพื่อใช้เป็นหลักฐานและเพื่อการตรวจสอบต่อไป

4. การตรวจสอบชนิดของวัชพืช

เนื่องจากไม่มีตัวอย่างแห้ง ทำการตรวจสอบตัวอย่างพืชที่รวบรวมได้ในภาคสนาม นำตัวอย่างมาศึกษา ลักษณะโดยละเอียด เปรียบเทียบกับภาพ คำอธิบายลักษณะที่สามารถหาได้จากฐานข้อมูลที่สามารถเข้าถึงได้ด้วย ระบบเครือข่าย เช่น CABI, USDA Plant Database, Oregon State University เป็นต้น

5. สรุปผลการศึกษาสถานภาพของวัชพืช *Chenopodium album* L.

รวบรวมข้อมูลการสำรวจและจำแนกในห้องปฏิบัติการ วิเคราะห์สถานภาพศัตรูพืช สรุปผลและจัดทำ รายงานผลการวิจัยสถานภาพของวัชพืช *Chenopodium album* L. เพื่อนำไปใช้ในการจัดทำมาตรการเฝ้าระวัง ศัตรูพืชกักกัน และเป็นข้อมูลในยืนยันสถานภาพการปรากฏ/ไม่ปรากฏของวัชพืช *Chenopodium album* L.

บันทึกข้อมูล

- บันทึกรายละเอียดตำแหน่งของแปลงปลูกพืชตระกูลกะหล่ำที่ทำการสำรวจ/เก็บตัวอย่าง
- บันทึกข้อมูลจำนวนแปลงและชนิดวัชพืชที่พบ
- บันทึกข้อมูลชนิดพืช ขนาดพื้นที่ปลูก ระยะการเจริญเติบโตของพืช และสภาพแวดล้อมอื่นๆ

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาเริ่มต้น ตุลาคม 2561 – กันยายน 2564 (3 ปี)

สถานที่

- 1) ห้องปฏิบัติการของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
- 2) แปลงปลูกผักตระกูลกะหล่ำในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย แม่ฮ่องสอน พะเยา สุโขทัย พิษณุโลก เพชรบูรณ์ นครปฐม ราชบุรี และขอนแก่น

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1. สืบค้นข้อมูลสืบค้นข้อมูลลักษณะของวัชพืช *Chenopodium album* L.

ชื่อสามัญ	bacon-weed, common lambsquarters, fat hen, frost-blite, mealweed, pigweed, white goosefoot
ชื่อวิทยาศาสตร์	<i>Chenopodium album</i> L.
ชื่อพ้อง	<i>Chenopodium album</i> subsp. <i>reticulatum</i> (Aellen) Beauge ex Greuter & Burdet <i>Chenopodium reticulatum</i> Aellen

ชนิดของพืชอาศัย

ถั่วลิสง (*Arachis hypogaea*), บีทหวาน (*Beta vulgaris* var. *saccharifera*), กะหล่ำปลี (*Brassica oleracea* var. *capitata*), ชา (*Camellia sinensis*), ถั่วหัวช้าง (*Cicer arietinum*), พืชสกุลส้ม (*Citrus* spp.), สตรอเบอรี่ (*Fragaria ananassa*), ถั่วเหลือง (*Glycine max*), ฝ้าย (*Gossypium hirsutum*), ทานตะวัน (*Helianthus annuus*), ข้าวบาร์เลย์ (*Hordeum vulgare*), มะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum*), ยาสูบใบใหญ่ (*Nicotiana tabacum*), ข้าว (*Oryza sativa*), มันฝรั่ง (*Solanum tuberosum*), ข้าวฟ่าง (*Sorghum bicolor*), ข้าวสาลี (*Triticum aestivum*), องุ่น (*Vitis vinifera*), ข้าวโพด (*Zea mays*), สับปะรด (*Ananas comosus*), มันเทศ (*Ipomoea batatas*), กล้วย (*Musa* spp.), พริกไทย (*Piper nigrum*), อ้อย (*Saccharum officinarum*)

สภาพแวดล้อมที่เหมาะสม:

มีการกระจายอยู่ในพื้นที่เพาะปลูกพืชทั่วไปส่วนใหญ่ จัดเป็นวัชพืชลำดับต้นๆที่ระบาดเกือบทั่วโลก เจริญได้ดีบนพื้นที่ดินรกร้างว่างเปล่า พื้นที่ริมถนน หรือริมชายฝั่ง สามารถปรับตัวและเจริญเติบโตได้เกือบทุกสภาพแวดล้อม

แหล่งที่พบ:

เอเชีย: อัฟกานิสถาน บังกลาเทศ ภูฏาน จีน อินเดีย อินโดนีเซีย อิหร่าน อิรัก อิสราเอล ญี่ปุ่น เกาหลี เลบานอน มองโกเลีย เนปาล ปากีสถาน ซาอุดีอาระเบีย ศรีลังกา ไต้หวัน ตุรกี และสหรัฐอเมริกาฮับเอมิเรตส์

แอฟริกา: แอลจีเรีย บอตสวานา อียิปต์ เอธิโอเปีย เคนยา เลโซโท โมร็อกโก โมซัมบิก นัมเบีย แอฟริกาใต้ สวาซิแลนด์ แทนซาเนีย ตูนิเซีย ยูกันดา แซมเบีย และซิมบับเว

อเมริกาเหนือ: แคนาดา เม็กซิโก และสหรัฐอเมริกา

อเมริกาใต้: อาร์เจนตินา บราซิล ชิลี โคลอมเบีย และเปรู

ยุโรป: ออสเตรีย เบลเยียม บัลแกเรีย เชโกสโลวะเกีย เดนมาร์ก เอสโตเนีย ฟินแลนด์ ฝรั่งเศส เยอรมนี ฮังการี อิตาลี เนเธอร์แลนด์ นอร์เวย์ โปแลนด์ โปรตุเกส โรมาเนีย สหพันธรัฐรัสเซีย สเปน สวีเดน สวิตเซอร์แลนด์ สหราชอาณาจักร ยูเครน และยูโกสลาเวีย

โอเชียเนีย: ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์

2. จัดทำแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ

จัดทำเอกสารคู่มือสำหรับผู้ร่วมงานใช้ในการสำรวจภาคสนาม และสอบถามเกษตรกรในพื้นที่สำรวจ ประกอบด้วย ลักษณะต้น ใบ และดอก และสรุปผลกระทบของพืชนี้ ที่สามารถหาได้จากฐานข้อมูลของต่างประเทศที่สามารถเข้าถึงด้วยระบบเครือข่าย เช่น CABI, Plant Database USDA, invasive.org เป็นต้น ตลอดจนรายละเอียดของวัชพืชอื่น ๆ ที่มีลักษณะคล้ายกับวัชพืชเป้าหมาย และจัดทำแบบฟอร์มการสำรวจ เพื่อบันทึกข้อมูลชื่อเกษตรกร สถานที่ วันที่เก็บ ข้อมูลพิกัดภูมิศาสตร์ (ภาพที่ 4)

3. การสำรวจ

ทำการสำรวจในแหล่งปลูกผักในภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย แม่ฮ่องสอน และจังหวัดพะเยา ภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดสุโขทัย พิษณุโลก และจังหวัดเพชรบูรณ์ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดขอนแก่น ภาคตะวันตก ได้แก่ จังหวัดราชบุรี และจังหวัดนครปฐม วางแผนการสำรวจเก็บตัวอย่าง ในพื้นที่ที่พืชผักสำรวจแบบสืบพบ (Detection survey) โดยการเดินสำรวจในพื้นที่ที่สามารถเข้าถึงด้วยรถยนต์ หรืออยู่ในระยะที่เดินเข้าได้ โดยมีวัชพืช *Chenopodium album* L. เป็นพืชเป้าหมาย โดยเดินแบบซิกแซก รูป W ในพื้นที่ไม่น้อยกว่า 10% ของแปลงปลูกที่ทำการสำรวจเก็บตัวอย่างพืชที่พบ หากไม่สามารถระบุชนิดได้ เช่น มีลักษณะไม่ชัดเจน พืชยังไม่มีดอก หรือยังอยู่ในระยะต้นอ่อน เก็บตัวอย่าง นำมาปลูกในเรือนทดลอง จนกว่าจะมีดอก หรือมีลักษณะที่สามารถระบุชนิดได้ ถ่ายภาพและจัดทำตัวอย่างแห้ง เพื่อใช้เป็นหลักฐานและเพื่อการตรวจสอบต่อไป

4. การตรวจจำแนกวัชพืช

เนื่องจากไม่มีตัวอย่างแห้ง ทำการตรวจสอบตัวอย่างพืชที่รวบรวมได้ในภาคสนาม นำตัวอย่างมาศึกษา ลักษณะโดยละเอียด เปรียบเทียบกับภาพ คำอธิบายลักษณะที่สามารถหาได้จากฐานข้อมูลที่สามารถเข้าถึงได้ด้วยระบบเครือข่าย เช่น CABI, USDA Plant Database, Oregon State University เป็นต้น

5. สรุปผลการศึกษาสถานภาพของวัชพืช

การสำรวจในแปลงผักตระกูลกะหล่ำปลีเพื่อศึกษาสถานภาพของศัตรูพืชกักกัน *Chenopodium album* L. โดยการสำรวจแบบสืบพบ และมีวัชพืชชนิดนี้เป็นพืชเป้าหมาย ใน 10 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ (42 แปลง) เชียงราย (25 แปลง) แม่ฮ่องสอน (9) พะเยา (6 แปลง) สุโขทัย (8 แปลง) พิษณุโลก (16 แปลง) เพชรบูรณ์ (50 แปลง) นครปฐม (11 แปลง) ราชบุรี (38 แปลง) และขอนแก่น 16 แปลง รวมจำนวนทั้งหมด 245 แปลง ไม่พบวัชพืชชนิดนี้ (ตารางที่ 1) โดยวัชพืชที่พบส่วนใหญ่เป็นวัชพืชที่พบทั่วไป (ตารางที่ 2)

จัดทำมาตรการเฝ้าระวัง และแผนปฏิบัติการฉุกเฉินในกรณีพบการระบาดของวัชพืช *Chenopodium album* L. ดังต่อไปนี้

มาตรการระยะสั้น

1. สร้างการรับรู้ให้แก่เกษตรกรและผู้มีส่วนเกี่ยวข้องได้รู้จักวัชพืชชนิดนี้ และวิธีการป้องกันกำจัด
 - โดยใช้โปสเตอร์ แผ่นพับ ภาพอินโฟกราฟิก และมอบให้แก่ ภาครัฐ ภาคเอกชน ผู้เกี่ยวข้อง เพื่อประชาสัมพันธ์ และสร้างการรับรู้ให้แก่เกษตรกร
 - จัดประชุมชี้แจงหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง ประกอบด้วย เกษตรกร สมาคม และผู้ประกอบการ เจ้าหน้าที่กรมวิชาการเกษตร เจ้าหน้าที่กรมส่งเสริมการเกษตร เจ้าหน้าที่โครงการหลวง และหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง

2. แจ้งเตือนด้านตรวจพืชเพื่อเฝ้าระวังวัชพืชที่อาจติดมากับสินค้าเกษตรนำเข้าจากประเทศที่มีรายงานการระบาด

มาตรการระยะยาว

1. เฝ้าระวังและเตือนภัยวัชพืชอย่างต่อเนื่อง
2. ศึกษาและหาวิธีการพัฒนาการควบคุมวัชพืชให้มีประสิทธิภาพและยั่งยืน

แผนปฏิบัติการฉุกเฉินในกรณีที่เกิดการระบาดของวัชพืช

1. เมื่อพบการระบาดของวัชพืชในพื้นที่ที่สามารถแจ้งข้อมูลมายัง สายด่วนเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกัน กลุ่มงานเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร โทร. 0-2579-8516 หรือ 061-415-2517 อีเมลล์ ppspq@doa.in.th เพื่อประสานหน่วยงานในพื้นที่เข้าติดตามตรวจสอบ และให้คำแนะนำการป้องกันกำจัด รวมทั้งควบคุมการระบาดไม่ให้แพร่กระจายออกไปยังพื้นที่อื่น ๆ ได้

2. จัดทำคำแนะนำและเผยแพร่วิธีการป้องกันกำจัดศัตรูพืชชนิดนี้ในเบื้องต้นแก่เกษตรกร โดยเน้น การป้องกันกำจัดโดยวิธีผสมผสาน IPM ดังนี้

- ใช้เมล็ดพันธุ์สะอาดที่ปลอดจากวัชพืช
- ตรวจหาการทำลายโดยสำรวจวัชพืชในแปลงปลูกเป็นประจำ
- หากตรวจพบการระบาดของวัชพืช ทำการป้องกันกำจัดโดยใช้สารเคมีพ่นทางใบจากคำแนะนำ การป้องกันกำจัดแมลง-สัตว์ศัตรูพืชอย่างปลอดภัย
- ทำความสะอาดแปลง เก็บเศษซากวัชพืชนำไปทำลายโดยการเผา

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

จากการสำรวจวัชพืช *Chenopodium album* L. ในแหล่งปลูกผักตระกูลกะหล่ำทั่วทั้งประเทศไทยได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ (42 แปลง) เชียงราย (25 แปลง) แม่ฮ่องสอน (9) พะเยา (6 แปลง) สุโขทัย (8 แปลง) พิษณุโลก (16 แปลง) เพชรบูรณ์ (50 แปลง) นครปฐม (11 แปลง) ราชบุรี (38 แปลง) และขอนแก่น 16 แปลง) รวมจำนวนทั้งหมด 245 แปลง ระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2561 ถึงเดือนกันยายน พ.ศ. 2564 ยังไม่พบวัชพืชที่มีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ที่ใกล้เคียงกับวัชพืชชนิดนี้เข้าแพร่ระบาดในพืชผักตระกูลกะหล่ำที่ทำกรสำรวจ แต่พบวัชพืชที่พบส่วนใหญ่เป็นวัชพืชที่พบทั่วไป ทั้งนี้เพื่อเป็นการการยืนยันสถานภาพของวัชพืชชนิดนี้ในประเทศไทย จำเป็นต้องขยายขอบเขตการสำรวจวัชพืชชนิดนี้ในพืชอาศัยอื่น ๆ ที่อยู่ในบัญชีพืชอาศัยของวัชพืชชนิดนี้ เพื่อให้ได้ข้อมูลสถานภาพการไม่ปรากฏของวัชพืชชนิดนี้ในประเทศไทยต่อไป และจะได้นำข้อมูลดังกล่าวยืนยันว่าวัชพืชชนิดนี้ยังคงสถานภาพเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย

คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณ ข้าราชการ พนักงานราชการ และพนักงานจ้างเหมา ของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่ให้คำแนะนำช่วยเหลือในการทำงานวิจัย

ตารางที่ 1 พื้นที่สำรวจวัชพืช *Chenopodium album* L.

สถานที่	พืชปลูก	จำนวนแปลง	<i>Chenopodium album</i> L.
จ.เชียงราย	กะหล่ำปลี	42	ไม่พบ
จ.เชียงใหม่	กะหล่ำปลี	25	ไม่พบ
จ.แม่ฮ่องสอน	กะหล่ำปลี	9	ไม่พบ
จ.พะเยา	กะหล่ำปลี	6	ไม่พบ
จ.เพชรบูรณ์	กะหล่ำปลี	50	ไม่พบ
จ.พิษณุโลก	กะหล่ำปลี กวางตุ้ง คะน้า กะหล่ำดอก	16	ไม่พบ
จ.สุโขทัย	กะหล่ำปลี กวางตุ้ง คะน้า	8	ไม่พบ
จ.ราชบุรี	กะหล่ำปลี	38	ไม่พบ
จ.นครปฐม	กะหล่ำปลี กวางตุ้ง คะน้า	11	ไม่พบ
จ.ขอนแก่น	กะหล่ำปลี กวางตุ้ง คะน้า กะหล่ำดอก	16	ไม่พบ
รวมทั้งหมด		245	

ตารางที่ 2 ชนิดวัชพืชที่พบในการสำรวจวัชพืช *Chenopodium album* L.

ลำดับ	วงศ์	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อสามัญไทย
1	Amaranthaceae	<i>Amaranthus viridis</i> L.	ผักโขม
2	Asteraceae	<i>Ageratum conyzoides</i> L.	สาบแรังสาบกา
3	Asteraceae	<i>Bidens biternata</i> (Lour.) Merr. & Scherff.	ก้นจ้ำ
4	Asteraceae	<i>Crassocephalum crepidioides</i> (Benth.) S.Moore.	ผักค้ออ่อน ผักกาดข้าง หญ้าดอกอ่อน
5	Capparaceae	<i>Cleome rutidosperma</i> DC.	ผักเสี้ยนขน
6	Chenopodiaceae	<i>Chenopodium ficifolium</i> Sm.	ผักโขมเกลือ
7	Cyperaceae	<i>Cyperus rotundus</i> L.	แห้วหมู
8	Euphorbiaceae	<i>Euphorbia heterophylla</i> L.	หญ้ายาง
9	Euphorbiaceae	<i>Euphorbia hirta</i> L.	น้ำนมราชสีห์
10	Portulacaceae	<i>Portulaca oleracea</i> L.	ผักเบี้ยใหญ่



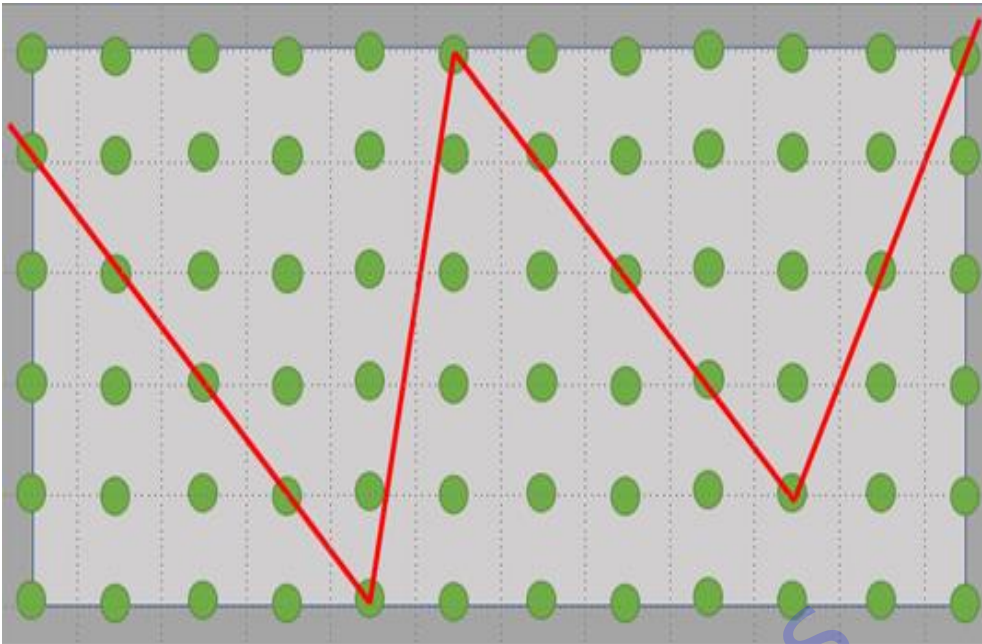
ภาพที่ 1 ลักษณะต้น และใบของ *Chenopodium album* L.

ที่มา: www.inaturalist.org/photos/113965049, www.inaturalist.org/observations/78478968



ภาพที่ 2 ลักษณะดอกของ *Chenopodium album* L.

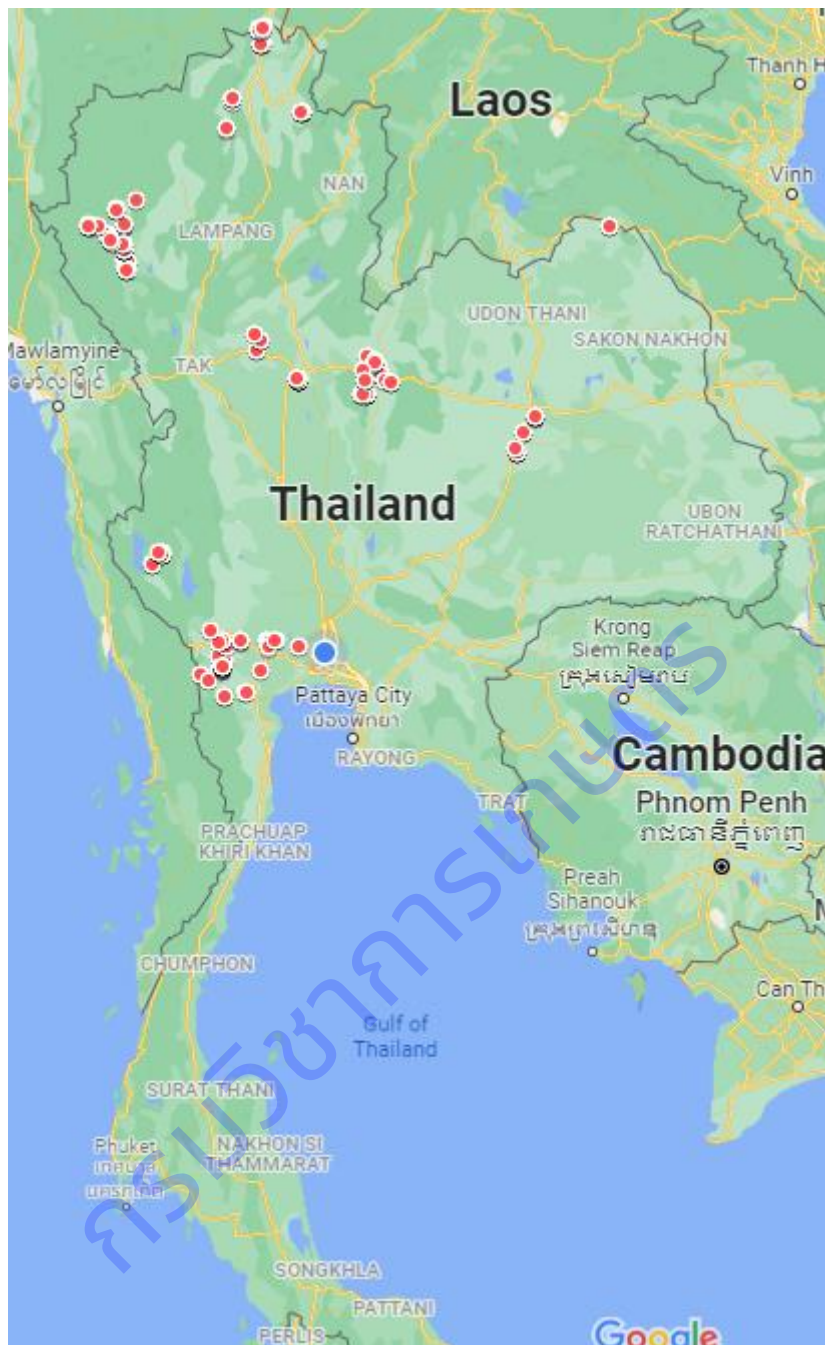
ที่มา: <https://www.inaturalist.org/observations/70721062>, www.inaturalist.org/observations/80250448



ภาพที่ 5 รูปแบบการเดินสำรวจแบบรูปตัว W



ภาพที่ 6 การสำรวจวัชพืช *Chenopodium album* L. ในแปลงกะหล่ำ



ภาพที่ 7 แสดงจุดที่ทำการสำรวจวัชพืช *Chenopodium album* L. ในพื้นที่ปลูกผักตระกูลกะหล่ำ

การทดลองที่ 22

การศึกษาสถานภาพไส้เดือนฝอยศัตรูพืช *Meloidogyne thailandica* ในซิงของประเทศไทย

Surveillance Status of *Meloidogyne thailandica* associate with Gingers in Thailand

ธิติยา ชยาภักพัฒนา^{1/} ไตรเดช ช่ายทอง^{1/} อังคณา พวงเงินมาก^{1/} วาณิช คำพานิช^{2/}

^{1/}กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/}กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาสถานภาพของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne thailandica* ในซิงของประเทศไทย ระหว่าง ตุลาคม 2561 - กันยายน 2564 ได้เก็บตัวอย่างซิงที่ อำเภอหล่มสัก อำเภอหล่มเก่า อำเภอเขาค้อ อำเภอ น้ำหนาว จังหวัดเพชรบูรณ์ อำเภอด่านซ้าย อำเภอภูเรือ จังหวัดเลย บ้านดอยตั่ว อ.ท่าวังผา และ อำเภอท่าวังผา (ในเขตเมือง) จังหวัดน่าน อำเภอแม่จริม จังหวัดน่าน จังหวัดตาก และ จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 760 ตัวอย่าง พบ ไส้เดือนฝอยรากปม จำนวน 241 กลุ่มประชากร ทำการเพิ่มปริมาณ DNA ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสในส่วน 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') ทุกตัวอย่างได้ PCR product ที่ดี การทดสอบชนิดของทุกตัวอย่างโดยการจำแนกชนิดทางเทคนิคโมเลกุลจาก คู่มือ RKN molecular diagnostic key ซึ่งเป็นการใช้ primers เฉพาะของไส้เดือนฝอย *Meloidogyne* โดยใช้ ไพรมเมอร์เฉพาะเจาะจงชนิด (specific SCAR primer) จากการทดสอบพบว่าทั้ง 241 ตัวอย่าง พบ 2 ชนิด คือ 1) *M. incognita* ปริมาณ 86 ตัวอย่าง และ 2) *M. javanica* ปริมาณ 155 ตัวอย่าง และอีก 519 ตัวอย่างไม่พบ ไส้เดือนฝอยรากปม ด้วยเหตุผลนี้ สามารถสรุปได้ถึงสถานภาพของไส้เดือนฝอยรากปม *M. thailandica* ไม่ปรากฏในพื้นที่การปลูกซิงของประเทศไทย

คำสำคัญ: ซิง ฝักระวัง ไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne thailandica*

Abstracts

A surveillance status of Root-knot nematode: *Meloidogyne thailandica* associate with gingers in Thailand between October 2018 – September 2021. The experimental collected ginger 760 samples at Lom Sak, Lom Kao, Khao Kho, Nam Nao District; Phetchabun Province and Dan Sai, Phu Ruea District; Loei Province and Tha Wang Pha, Mae Charim and Ban Doi-tie; Nan Province. Isolates of Root-knot nematodes were found in 241 populations. DNA content was increased by the polymerase chain reaction (PCR) to amplify an expansion region 28s of ribosomal DNA (rDNA) using forward primer D2A (5' - ACA AGT ACC GTG AGG GAA AGT TG -3') and reverse primer D3B (5' - TCG GAA GGA ACC AGC TAC TA -3'). All samples obtained good PCR products. The experiment was to identify the species of *Meloidogyne* by SCAR primers which was molecular technical from the RKN molecular diagnostic key manual. This study SCAR primers were used for *M. incognita* for example, MI-F (5'-GTGAGGATTCAGCTCCCCAG-3') and MI-R (5'-ACGAGGAACATACTTCTCCGTCC-3') or Inc-K14-F (5'- CCCGCTACACCCTCAACTTC-3') and Inc-K14-R (5'- GGGATGTGTAAATGCTCCTG-3'). In addition, SCAR primers for *M. javanica* were F jav (5'- GGTGCGCGATTGAACTGAGC-3') and R jav (5'- CAGGCCCTTCAGTGGA ACTATAC-3'). The test of specific SCAR primer that using identify Root-knot nematodes in 241 samples. The result showed two species of Root-knot nematodes is found only in the ginger planting areas. The first was 86 samples of *M. incognita* and the second were 155 samples of *M. javanica*, and the other 519 samples did not detect Root-knot nematodes. This report concluded that the status of the Root-knot nematode: *M. thailandica* was not found in the ginger planting area of Thailand.

Key words: surveillance, Root-knot nematodes, *Meloidogyne thailandica*, ginger

บทนำ

ไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne thailandica* เป็นไส้เดือนฝอยรากปมชนิดใหม่ ซึ่งพบครั้งแรกในซิงที่นำเข้าจากประเทศไทย ณ ท่าเรือซานฟรานซิสโก ประเทศสหรัฐอเมริกา โดยในปี ค.ศ. 2002 หน่วยงาน Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS) ของประเทศสหรัฐอเมริกา ได้สกัดกั้นการนำเข้าซิงจากประเทศไทยที่ทำเรือซานฟรานซิสโก ซึ่งซิงดังกล่าวได้นำไปตรวจศัตรูพืช โดย U.S. Department of Agriculture (USDA) พบว่าเป็นไส้เดือนฝอยรากปมชนิดใหม่ *Meloidogyne thailandica* และได้ตีพิมพ์รายงานดังกล่าวในปี ค.ศ. 2005 (Handoo et al., 2005) ในปี ค.ศ. 2016 ประเทศไทยต้องการเปิดตลาดการส่งออกซิงกับประเทศออสเตรเลีย ซึ่งรัฐบาลออสเตรเลีย โดยหน่วยงาน Department of Agriculture and Water Resources ได้กล่าวอ้างรายงานดังกล่าว เพื่อต้องการข้อมูลสถานภาพของ *M. thailandica* และต้องการให้ประเทศไทยมีมาตรการสุขอนามัยพืชที่เหมาะสมกับศัตรูพืชดังกล่าวโดยเฉพาะการประกาศการปลอดศัตรูพืชชนิดนี้ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องดำเนินการสำรวจสถานภาพของไส้เดือนฝอยรากปม *M. thailandica* ในซิงของประเทศไทย เพื่อเป็นการพิสูจน์ว่ามีหรือไม่มีไส้เดือนฝอยดังกล่าวในประเทศไทย ซึ่งไส้เดือนฝอยรากปม *M. thailandica* เป็นศัตรูพืชชนิดใหม่จึงไม่มีข้อมูลสถานภาพของไส้เดือนฝอยดังกล่าวในประเทศไทย ไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne* spp.) เป็นไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่สำคัญสามารถเข้าทำลายพืชกว่า 2,000 ชนิด ปัจจุบันไส้เดือนฝอยรากปมในสกุลนี้มี 96 ชนิด แม้ว่าจะมีจำนวนชนิดมากแต่ไส้เดือนฝอยรากปมที่เป็นศัตรูพืชสำคัญในสกุลนี้มีเพียงไม่กี่ชนิดสามารถแบ่งคร่าวๆเป็น 2 กลุ่มหลัก ได้แก่ กลุ่มที่หนึ่ง สร้างความเสียหายแก่พืชปลูก และพบแทบทุกภูมิภาคของโลก เช่น *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* และ *M. hapla* กลุ่มที่สอง สร้างความเสียหายแก่พืชปลูก แต่พบในบางภูมิภาคจึงเป็นไส้เดือนฝอยศัตรูพืชกักกันในหลายประเทศ เช่น *M. fallax*, *M. chitwoodi* และ *M. enterolobii* (Hunt and Handoo, 2009; EPPO, 2013 and 2016) ไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่มีรายงานการพบในประเทศไทย ได้แก่ *M. incognita*, *M. javanica*, *M. hapla*, *M. graminicola*, *M. exigua* และ *M. naasi* (Toida et al., 1996) และ *M. microcephala* (Cliffand Hirschmann, 1984) และไส้เดือนฝอยรากปมที่เข้าทำลายซิงในประเทศไทย มีรายงานการพบ *M. incognita* ในแง่งพันธุ์ซิง มนตรี(2538) ส่วนไส้เดือนฝอยรากปมที่รายงานการเข้าทำลายซิงในภูมิภาคของโลก ส่วนใหญ่ก็เป็น *M. incognita* และมีการพบไส้เดือนฝอยรากปมชนิดอื่นที่สามารถเข้าทำลายซิงได้ด้วย เช่น *M. arenaria* และ *M. Javanica* (Handoo, et al., 2005)

ระเบียบวิธีการวิจัย

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างดินปลูกซิง และตัวอย่างซิง
2. อุปกรณ์การเก็บตัวอย่างในแปลง
3. ไส้เดือนฝอยสกุล *Meloidogyne*
4. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ และกำลังขยายสูง และอุปกรณ์ถ่ายภาพ
5. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการไส้เดือนฝอย อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการชีวโมเลกุล และอาหารเลี้ยงเชื้อ

วิธีการทดลอง

1. จัดทำคู่มือการสำรวจ โดยรวบรวมตัวอย่างอ้างอิง และรูปภาพของโรคซิงที่เกิดจากไส้เดือนฝอยรากปม *M. thailandica* เพื่อใช้ในการตรวจสอบอ้างอิงขณะทำการสำรวจ และจัดทำข้อมูลศัตรูพืช ชื่อสามัญ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพืชอาศัย อาการของโรค รูปภาพสีของโรค และรายละเอียดของศัตรูพืชชนิดอื่นที่คล้ายกัน

2. จัดทำฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ ได้แก่ ชื่อที่อยู่ ที่ตั้งของแปลง วันเวลา ข้อมูลชื่อเกษตรกร สถานที่ วันที่เก็บ ข้อมูลพิกัดภูมิศาสตร์ (พิกัด GPS) พันธุ์พืช ระยะการเจริญของพืช ลักษณะอาการโรค เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค ระดับความรุนแรงของโรค สภาพภูมิประเทศ ภูมิอากาศ เป็นต้น

3. การสำรวจและเก็บตัวอย่าง กำหนดพื้นที่ วางแผนการสำรวจ อย่างมีระบบ สำรวจแบบเฉพาะเจาะจง โดยการสำรวจแบบตรวจหาตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (Guidelines for surveillance: ISPM No. 6) กำหนดพื้นที่การสำรวจซึ่งเป็นแหล่งปลูกซึ่งที่สำคัญของประเทศไทย อาทิ จังหวัดเพชรบูรณ์ เลย พิษณุโลก แพร่ เชียงใหม่ พะเยา ลำพูน และ จังหวัดน่าน เป็นต้น แบบเจาะจง (specific survey) เก็บตัวอย่าง ดำเนินการสำรวจตาม ISPM No. 6 วางแผนการสำรวจอย่างน้อย 5 แปลง ต่อพื้นที่ แต่ละแปลงทำการสุ่มอย่างเป็นระบบ แหล่งรวบรวมซึ่ง ในแต่ละแหล่งปลูกของประเทศไทย โดยเก็บตัวอย่างแห้งจากหลายแหล่งรับซื้อในพื้นที่ อย่างน้อยจุดละ 20 กิโลกรัม ในแต่ละพื้นที่ที่ซื้อตัวอย่างซึ่งทั้งสิ้น 80 กิโลกรัม บรรจุลงในลังกระดาษ พร้อมแนบบันทึกรายละเอียด สถานที่เก็บ ชื่อเกษตรกร วันที่เก็บ ผู้เก็บ นำมาจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยสาเหตุโรคในห้องปฏิบัติการ เนื่องจากการเก็บซึ่งที่แปลงเกษตรกรไม่สามารถทำได้โดยตรงเนื่องจากต้องใช้รถยนต์ขับเคลื่อนที่ล้อที่มีสภาพดีสามารถเข้าสู่แปลงเกษตรกรได้ และต้องอาศัยคนขับรถที่ชำนาญเส้นทางในพื้นที่ เพราะส่วนใหญ่ปลูกบนเขา

4. การตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ

4.1 การแยกเชื้อไส้เดือนฝอย ออกจากตัวอย่างพืชและตัวอย่างดิน ตามวิธีใน EPPO Standard PM 7/119 สำหรับไส้เดือนฝอยรากปม ใช้การแยกไส้เดือนฝอยจากเนื้อเยื่อพืชโดยตรง ตัวอย่างแห้งจากหลายแหล่งรับซื้อในพื้นที่อย่างน้อยจุดละ 20 กิโลกรัม ในแต่ละพื้นที่ที่ซื้อตัวอย่างซึ่งทั้งสิ้น 80 กิโลกรัม นำกองรวมกันแล้ว สุ่ม 1 กิโลกรัม ต่อตัวอย่าง จำนวน 20 ตัวอย่าง จึงทำการแยกไส้เดือนฝอย

4.2 ตรวจหาไส้เดือนฝอยสกุล *Meloidogyne* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ และกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง เมื่อวินิจฉัยว่าเป็นไส้เดือนฝอยสกุล *Meloidogyne* ตามคู่มือจัดจำแนกสกุลไส้เดือนฝอย Mai *et al.*, 1996 จึงนำไส้เดือนฝอยเหล่านั้นมาจำแนกชนิดเพื่อตรวจหาไส้เดือนฝอยรากปม *M. thailandica* โดยเปรียบเทียบกับค่านิยามชนิดของ *M. thailandica* ตามรายงานของ Handoo *et al.*, 2005 และเปรียบเทียบกับเอกสารของไส้เดือนฝอยรากปมชนิดอื่นๆในเอกสารคู่มือการจัดจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยรากปม (Eisenback and Triantaphyllou, 1991; Hunt and Handoo, 2009)

4.3 ตรวจหาชนิดไส้เดือนฝอย *Meloidogyne* ได้ตัวอย่างซึ่งนำมาทำ PCR เพื่อตรวจวินิจฉัยว่าเป็นไส้เดือนฝอยรากปมชนิดใด โดยใช้ DNA ที่สกัดจากตัวอย่างระยะที่สองของไส้เดือนฝอยรากปมของซึ่งที่ได้จำนวน 10 ตัว ด้วยวิธี gene releaser โดยการเพิ่มปริมาณ DNA ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (PCR) 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') เมื่อเตรียม master mix ใส่ หลอด PCR แล้วเติม DNA template ในหลอด PCR นำหลอด ตั้งกล่าวใส่ลงในเครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (Thermocycle) จากนั้นตั้งอุณหภูมิและเวลาของขั้นตอนปฏิกิริยา PCR ดังนี้ ปฏิกิริยา Initial denaturation อุณหภูมิ 95 °C เวลา 5 นาที ปฏิกิริยา Denaturation อุณหภูมิ 94 °C เวลา 1 นาที ปฏิกิริยา Annealing อุณหภูมิ 60 °C เวลา 1 นาที ปฏิกิริยา Extention อุณหภูมิ 72 °C เวลา 1 นาที ปฏิกิริยา Final extention อุณหภูมิ 72 °C เวลา 7 นาที ปฏิกิริยา Final hold อุณหภูมิ 25 °C เวลา ∞ นาที จำนวน 35 รอบ

4.4 การทำอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบอะกาโรส เตรียม 1.5% ของอะกาโรส โดยซังอะกาโรส 1.5 กรัม ผสมกับ สารละลายบัฟเฟอร์ TBE ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปต้มให้สารละลายใส ตั้งไว้ให้เย็น แล้วเทอะกาโรสลงในชุด gel box ที่ปรับสมดุล และวางหิวไว้แล้ว เมื่อเจลแข็งตัว จึงดึงหิวออก แล้วนำเจลที่ได้ไปวางในแชมเบอร์ จากนั้นเทสารละลายบัฟเฟอร์ TBE ให้ท่วมแผ่นเจล นำ DNA ที่ได้ผสมกับสีย้อมดีเอ็นเอ ในอัตราส่วน 5 ต่อ 1 จากนั้นหยอดตัวอย่าง 10 ไมโครลิตร ลงในหลุมของเจลอะกาโรสในแชมเบอร์ เปรียบเทียบกับ positive control (*M.incognita*) เรียบร้อยแล้วจึงต่อขั้วไฟฟ้าเข้ากับเครื่องกำเนิดไฟฟ้า ใช้กระแสไฟ 100 โวลต์ นานประมาณ 40-50 นาที แล้วเจลอะกาโรสไปย้อมสี DNA แล้วนำไปส่องดูภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต ด้วยเครื่อง UV-transilluminator แล้วถ่ายภาพ เมื่อได้ PCR product ที่ดี

4.5 พิสูจน์ว่าเป็นไส้เดือนฝอย *Meloidogyne* ชนิดใด เบื้องต้นทำตามคู่มือการจำแนกชนิดทางเทคนิคโมเลกุล RKN molecular diagnostic key ซึ่งเป็นการใช้ primer เฉพาะของไส้เดือนฝอย *Meloidogyne* โดยใช้ primer เฉพาะเจาะจงชนิด(specific SCAR primer) เช่น *M. incognita* primer เฉพาะเจาะจงชนิดMI-F (5'-GTGAGGATTCAGCTCCCCAG-3') และMI-R (5'-ACGAGGAACATACTTCTCCGTCC-3') หรือ Inc-K14-F (5'-CCCGCTACACCCTCAACTTC-3' และ Inc-K14-R (5'-GGGATGTGTAAATGCTCCTG-3') ในส่วนการตรวจ *M. javanica* ใช้ F jav (5'-GGTGC GCGATTGAACTGAGC-3' R jav (5'-CAGGCCCTTCAGTGGA ACTATA C-3') การตรวจ *M. enterolobii* primer เฉพาะเจาะจงชนิด Me-F (5'-AACTTTTGTGAAAGTGCCGCTG-3') และ Me-R (5'-TCAGTTCAGGCAGGATCAACC-3' หรือ MK7-F (5'-GATCAGAGGCGGGCGCATTGCGA-3') และ MK7-R (5'-CGAACTCGCTCGAACTCGAC-3') ตรวจ *M. arenaria* ใช้ primer เฉพาะเจาะจงชนิด Far (5'-TCGGCGATAGAGGTAATGAC-3' และ Rar (5'-TCGGCGATAGACACTACA ACT-3') เป็นต้น

เวลาและสถานที่

ระหว่าง ตุลาคม 2561 ถึง กันยายน 2564

กลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

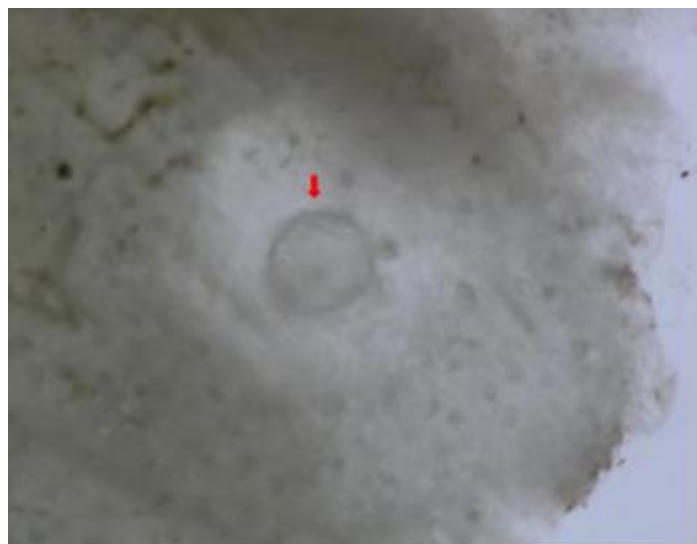
ผลการการศึกษาสภาพของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne thailandica* ในชิงของประเทศไทย ระหว่าง ตุลาคม 2561 - กันยายน 2564 ได้ศึกษาชิง จำนวน 760 ตัวอย่าง พบว่าลักษณะของชิงซึ่งถูกไส้เดือนฝอยรากปมเข้าทำลาย โดยจะเข้าทำลายที่รากก่อนแล้วขยายเซลล์ใหญ่ขึ้นทำให้เป็นปุ่มปม อย่างไรก็ตามปุ่มปมของไส้เดือนฝอยรากปมในรากชิงมักจะมีขนาดเล็กต้องละเอียดในการมองหาปุ่มปมที่ราก เมื่อไส้เดือนฝอยรากปมเข้าที่รากกินรากจนขยายเข้าไปยังเหง้าชิงตั้งแต่ยังเป็นชิงอ่อน พอชิงแก่อาการปุ่มปมมักไม่ค่อยเห็นนอกจากเหง้าที่เป็นมากเพราะไส้เดือนฝอยรากปมฝังตัวลึกในชิงทำให้ดูเหมือนไม่มีปม แต่สำหรับบริษัทที่มีการคัดเกรดเพื่อการส่งออก พนักงานมีความชำนาญในการคัดแยกเหง้าชิงที่มีไส้เดือนฝอยรากปมออกได้ดี โดยใช้มือลูบที่ผิวของชิงในส่วนที่เป็นปมจะนูนออกมาเล็กน้อย หรือมากขึ้นอยู่กับอาการ ชิงเหล่านี้จะถูกทิ้งเป็นชิงตกเกรด



ภาพที่ 1 ภาพเหง้าขิง และรากของขิง : ในภาพรากขิงมีลักษณะปุ่มปมซึ่งเกิดจากไส้เดือนฝอยรากปม



ภาพที่ 2 ภาพ ขยายของรากของขิง จากบางส่วนของภาพที่ 1 จะได้ว่ารากขิงมีลักษณะปุ่มปมซึ่งเกิดจากไส้เดือนฝอยรากปมอย่างชัดเจนขึ้น



ภาพที่ 3 ภาพเหง้าขิงแก่ เมื่อขยายภาพตัดขวางของเนื้อเยื่อขิงพบตัวของไส้เดือนฝอยรากปมฝังอยู่ภายใน

ผลการการศึกษาสถานภาพของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne thailandica* ในตัวอย่างขิงจำนวน 760 ตัวอย่างในการศึกษาในปี ระหว่าง ตุลาคม 2561 – กันยายน 2562 จำนวน ตัวอย่าง 240 ตัวอย่างพบไส้เดือนฝอยรากปมเพียงชนิดเดียว คือ *M. Javanica* ปริมาณ 63 ตัวอย่าง **ตั้งตารางที่ 1**

ตารางที่ 1 ผลการการศึกษาสถานภาพของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne thailandica* ในขิงของประเทศไทย ระหว่าง ตุลาคม 2561 - กันยายน 2562

ปีที่ดำเนินการ	แหล่งรวบรวมขิง	จำนวนตัวอย่าง (ตัวอย่างละ 1 ก.ก.)	ชนิดของ ไส้เดือนฝอยรากปม	ปริมาณ ตัวอย่าง
2562	อำเภอหล่มสัก จ.เพชรบูรณ์	40	<i>M. Javanica</i>	10
	อำเภอหล่มเก่า จ.เพชรบูรณ์	40	<i>M. Javanica</i>	6
	อำเภอด่านซ้าย จ.เลย	40	<i>M. Javanica</i>	14
	อ. ท่าวังผา จ. น่าน	40	<i>M. Javanica</i>	10
	จ. ตาก	40	<i>M. Javanica</i>	10
	จ.เชียงใหม่	40	<i>M. Javanica</i>	13
	รวม	240		63

ผลการการศึกษาสถานภาพของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne thailandica* ในการศึกษา ระหว่าง ตุลาคม 2562 - กันยายน 2563 จำนวน ตัวอย่าง 200 ตัวอย่างพบไส้เดือนฝอยรากปมเพียงชนิดเดียว คือ *M. Javanica* และ *M. Javanica* ปริมาณ 99 ตัวอย่าง และไม่พบไส้เดือนฝอยรากปมในตัวอย่างจาก อำเภอหล่มเก่า จ.เพชรบูรณ์ ปริมาณ 40 ตัวอย่าง **ตั้งตารางที่ 2**

ตารางที่ 2 ผลการการศึกษาสถานภาพของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne thailandica* ในจังหวัด ประเทศไทย ระหว่าง ตุลาคม 2562 - กันยายน 2563

ปีที่ ดำเนินการ	แหล่งรวบรวมขิง	จำนวนตัวอย่าง (ตัวอย่างละ 1 ก.ก.)	ชนิดของไส้เดือนฝอยราก ปม	ปริมาณ ตัวอย่าง
2563	อำเภอหล่มสัก จ.เพชรบูรณ์	40	<i>M. incognita</i>	10
			<i>M. Javanica</i>	14
	อำเภอหล่มเก่า จ.เพชรบูรณ์	40	ไม่พบ	0
	อำเภอเขาค้อ จ.เพชรบูรณ์	40	<i>M. incognita</i>	23
			<i>M. Javanica</i>	11
	อำเภอด่านซ้าย จ.เลย	40	<i>M. incognita</i>	13
			<i>M. Javanica</i>	14
	อำเภอภูเรือ จ.เลย	40	<i>M. Javanica</i>	14
	รวม	200		99

ผลการการศึกษาสถานภาพของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne thailandica* ในการศึกษา ระหว่าง 2563 - กันยายน 2564 จำนวน ตัวอย่าง 320 ตัวอย่างพบไส้เดือนฝอยรากปมเพียงชนิดเดียว คือ *M. Javanica* และ *M. Javanica* จำนวน 79 ตัวอย่าง **ตั้งตารางที่ 3**

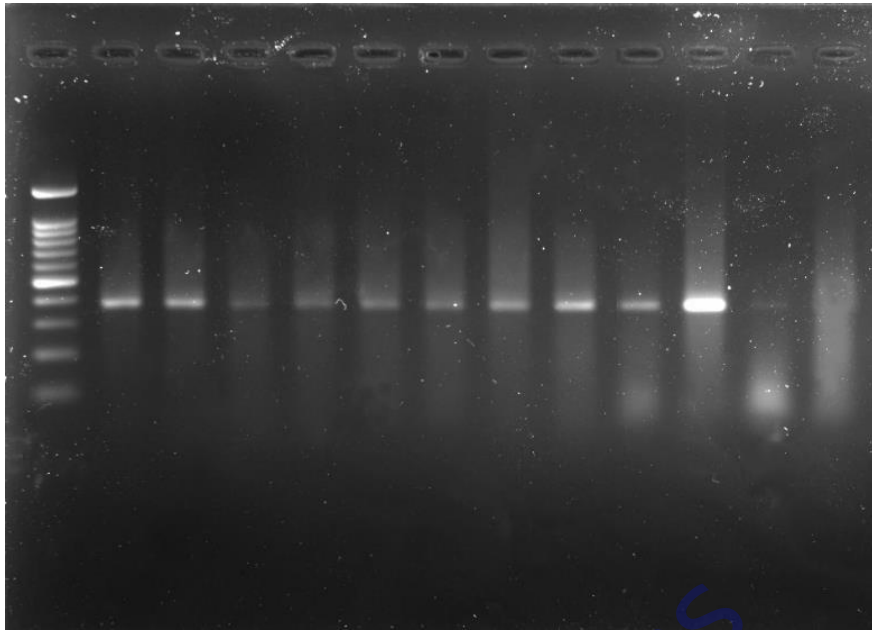
ตารางที่ 3 ผลการการศึกษาสถานภาพของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne thailandica* ในจังหวัด ประเทศไทย ระหว่าง ตุลาคม 2563 - กันยายน 2564

ปีที่ ดำเนินการ	แหล่งรวบรวมขิง	จำนวนตัวอย่าง (ตัวอย่างละ 1 ก.ก.)	ชนิดของ ไส้เดือนฝอยรากปม	ปริมาณ ตัวอย่าง
2564	อ. หล่มสัก จ.เพชรบูรณ์ (ขิงแม่พันธุ์)	40	<i>M. incognita</i>	10
			<i>M. incognita</i>	10
	อ. ท่าวังผา จ. น่าน	40	<i>M. Javanica</i>	9
	ภูทับเบิก อ.หล่มเก่า	40	<i>M. incognita</i>	10
	อ. น้ำหนาว จ.เพชรบูรณ์	40	<i>M. incognita</i>	10
			<i>M. Javanica</i>	10

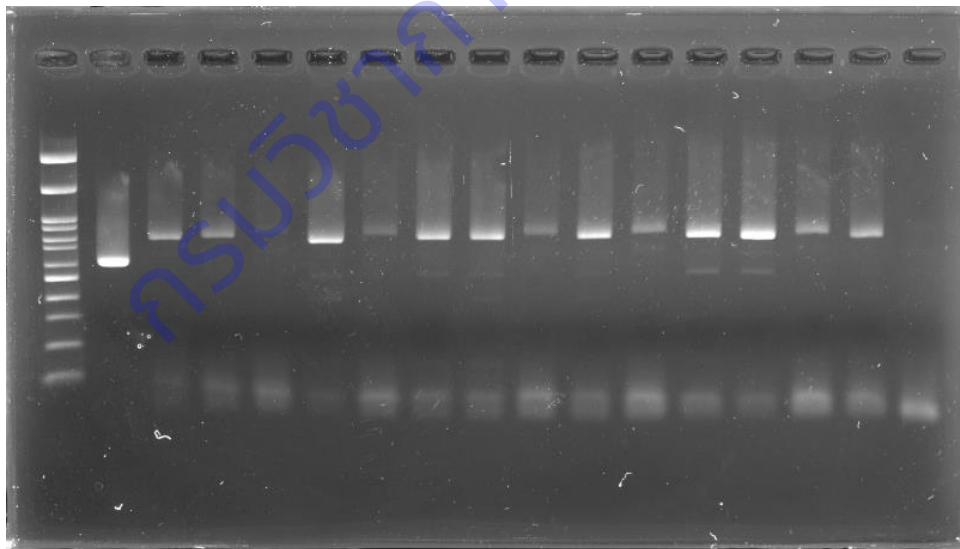
ตารางที่ 3 ผลการการศึกษาสถานภาพของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne thailandica* ในเชิงของประเทศไทย ระหว่าง ตุลาคม 2563 - กันยายน 2564 (ต่อ)

ปีที่ดำเนินการ	แหล่งรวบรวมเชิง	จำนวนตัวอย่าง (ตัวอย่างละ 1 ก.ก.)	ชนิดของ ไส้เดือนฝอยรากปม	ปริมาณ ตัวอย่าง
2564	บ้านดอยตั่ว อ.ท่าวังผา จ. น่าน	40	<i>M. Javanica</i>	4
	อ.แม่จริม จ. น่าน	40	<i>M. Javanica</i>	7
	จ. ตาก	40	<i>M. Javanica</i>	9
	รวม	320		79

การศึกษาสถานภาพของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne thailandica* ในเชิงของประเทศไทย ระหว่าง ตุลาคม 2561 - กันยายน 2564 ได้เก็บตัวอย่างเชิงที่ อำเภอหล่มสัก อำเภอหล่มเก่า อำเภอเขาค้อ อำเภอ น้ำหนาว จังหวัดเพชรบูรณ์ อำเภอด่านซ้าย อำเภอภูเรือ จังหวัดเลย บ้านดอยตั่ว อ.ท่าวังผา และ อำเภอท่าวังผา (ในเขตเมือง) จังหวัดน่าน อำเภอแม่จริม จังหวัดน่าน จังหวัดตาก และ จังหวัดเชียงใหม่ ปริมาณ 760 ตัวอย่าง พบไส้เดือนฝอยรากปม จำนวน 241 กลุ่มประชากร ไม่พบไส้เดือนฝอยรากปม ปริมาณ 519 ตัวอย่าง จากนั้นได้ดำเนินการของทำการเพิ่มปริมาณ DNA ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอไรสใน ส่วน 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') ของไส้เดือนฝอยรากปมปริมาณ 241 กลุ่มประชากร ได้ PCR product ทุกตัวอย่าง ผลที่ได้การวิเคราะห์ผลผลิตดีเอ็นเอจากปฏิกิริยา PCR ด้วยการทำอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบอะกาโรสแล้วนำไปส่องดูภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต ด้วยเครื่อง UV-transilluminator แล้วถ่ายภาพ ซึ่งได้เลือก ตัวอย่างได้ PCR product ที่ดี 241 ตัวอย่างนำไปพิสูจน์ว่าเป็นไส้เดือนฝอย *Meloidogyne* ชนิดใดในเบื้องต้น ตามการจำแนกชนิดทางเทคนิคโมเลกุลจากคู่มือ RKN molecular diagnostic key ซึ่งเป็นการใช้ primers เฉพาะของไส้เดือนฝอย *Meloidogyne* โดยใช้ ไพรมเมอร์เฉพาะเจาะจงชนิด (specific SCAR primer) เช่น *M. incognita* primer เฉพาะเจาะจงชนิด MI-F (5'-GTGAGGATTCAGCTCCCCAG-3') และ MI-R (5'-ACGAGGAACATACTTCTCCGTCC-3') หรือ Inc-K14-F (5'- CCCGCTACACCCTCAACTTC-3') และ Inc-K14-R (5'- GGGATGTGTAAATGCTCCTG-3') ในส่วนการตรวจ *M. javanica* ใช้ไพรมเมอร์เฉพาะเจาะจงชนิด F jav (5'- GGTGCGGATTGAACTGAGC-3') และ R jav (5'- CAGGCCCTTCAGTGGAACTATAC-3') พบว่า จากตัวอย่างได้ PCR product 241 ตัวอย่าง เมื่อใช้ ไพรมเมอร์เฉพาะเจาะจงชนิดพบเพียง 2 ชนิดคือ *M. incognita* ปริมาณ 86 ตัวอย่าง และ *M. javanica* ปริมาณ 155 ตัวอย่าง และจากตัวอย่างเชิงปริมาณ 760 ตัวอย่าง ไม่พบไส้เดือนฝอยปริมาณ 519 ตัวอย่าง ซึ่งสามารถสรุปได้ถึงสถานภาพของไส้เดือนฝอยรากปม *M. thailandica* ไม่พบในเชิงของประเทศไทย ดังภาพที่ 4-5



ภาพที่ 4 ผลการการศึกษาสถานภาพของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* primer เฉพาะเจาะจงชนิด Inc-K14-F (5'- CCCGCTACACCCTCAACTTC-3') และ Inc-K14-R (5'- GGGATGTGTAAATGCTCCTG-3')



ภาพที่ 5 ผลการการศึกษาสถานภาพของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne javanica* primer เฉพาะเจาะจงชนิด F jav (5'- GGTGCGCGATTGAACTGAGC-3') และ R jav (5'- CAGGCCCTTCAGTGGA ACTATAC-3')

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การศึกษาสถานภาพของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne thailandica* ในพืชของประเทศไทย ระหว่าง ตุลาคม 2561 - กันยายน 2564 ได้เก็บตัวอย่างพืชที่ อำเภอหล่มสัก อำเภอหล่มเก่า อำเภอเขาค้อ อำเภอน้ำหนาว จังหวัด เพชรบูรณ์ อำเภอด่านซ้าย อำเภอภูเรือ จังหวัดเลย บ้านดอยเดี่ยว อ.ท่าวังผา และ อำเภอท่าวังผา(ในเขตเมือง) จังหวัดน่าน อำเภอแม่จริม จังหวัดน่าน จังหวัดตาก และ จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 760 ตัวอย่าง พบไส้เดือนฝอย รากปม จำนวน 241 กลุ่มประชากร ทำการเพิ่มปริมาณ DNA ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอไรเซชันในส่วน 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') ได้ PCR product ทุกตัวอย่างดำเนินการจำแนกชนิดทางเทคนิคโมเลกุลจากคู่มือ RKN molecular diagnostic key ซึ่ง เป็นการ ใช้ primers เฉพาะของไส้เดือนฝอย *Meloidogyne* โดยใช้ไพรเมอร์เฉพาะเจาะจงชนิด (specific SCAR primer) พบว่าทั้ง 241 ตัวอย่างพบเพียง *M. incognita* ปริมาณ 86 ตัวอย่าง และ *M. javanica* ปริมาณ 155 ตัวอย่างสามารถสรุปได้ถึงสถานภาพของไส้เดือนฝอยรากปม *M. thailandica* ไม่พบ ไม่ปรากฏในพื้นที่การปลูก พืชของประเทศไทย

การไม่พบ *M. thailandica* ในพื้นที่สามารถใช้ข้อมูลที่ได้เป็นการรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืชในกรณีที่ไม่ พบศัตรูพืชในพื้นที่นี้ ข้อมูลต่าง ๆ ที่ได้จากการสำรวจติดตามศัตรูพืชเพื่อการเฝ้าระวังนี้จะส่งให้องค์การอารักขา พืชแห่งชาติ (National Plant Protection Organization, NPPO) นำไปใช้ประโยชน์ เช่น ใช้ในการสนับสนุนการ ออกประกาศเรื่องการปลอดศัตรูพืช การให้การรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืช เป็นต้น

คำขอบคุณ

คณะวิจัยขอขอบคุณเป็นอย่างยิ่งในความร่วมมือ ความช่วยเหลือในการเข้าพื้นที่ และความมีน้ำใจในการ ถ่ายทอดความรู้ของบริษัท ไทยคอมมอดิตี และ บริษัท เอเชีย เอ็กโซติก คอร์ปอเรชั่น จำกัด

คณะวิจัยขอขอบคุณ นางสาวจุฑามาส ฮวดประสิทธิ์ นายอนุทัต อุห์ริฎ นายอภิชัย อยู่เอี่ยม ที่เป็นผู้ร่วม ทีมที่ทำงานอย่างเต็มที่ และใจเต็มร้อยพร้อมไปทุกที่ทุกเส้นทาง

การทดลองที่ 23

การศึกษาสถานภาพเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas fuscovaginae* สาเหตุโรค Brown sheath rot ของข้าวในประเทศไทย

Surveillance of *Pseudomonas fuscovaginae* causes Brown Sheath Rot Diseases of Rice in Thailand

ณัฐริมา โฆษิตเจริญกุล ทิพวรรณ กันหาญาติ บุรณี พัวพงษ์แพทย์ รุ่งนภา ทองเคิ่ง กาญจนา ศรีไม้

กลุ่มวิจัยโรคพืช

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ศึกษาสถานภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas fuscovaginae* สาเหตุโรค brown sheath rot ของข้าวในประเทศไทย ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2562 – กันยายน 2564 เพื่อยืนยันการปรากฏหรือไม่ปรากฏของเชื้อชนิดนี้ในประเทศไทย โดยกำหนดพื้นที่สำรวจเป็นแหล่งปลูกข้าวในจังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ ลำพูน ลำปาง น่าน แพร่ สุโขทัย กำแพงเพชร นครปฐม นนทบุรี อำนาจเจริญ อุบลราชธานี ศรีสะเกษ สุรินทร์ บุรีรัมย์ นครราชสีมา ตาก ราชบุรี กาญจนบุรี เพชรบุรี และประจวบคีรีขันธ์ จำนวน 204 แปลง สำรวจแบบเฉพาะเจาะจงและเก็บตัวอย่างข้าวที่แสดงอาการคล้ายโรคกาบใบเน่าสีน้ำตาล นำมาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ พบแบคทีเรียสีขาวครีมที่สร้างสารเรืองแสงจากอาหาร King's medium เมื่อตรวจวินิจฉัยโดยใช้เทคนิค LAMP ไม่พบผลผลิตเป้าหมายของแบคทีเรีย *Pseudomonas fuscovaginae* ในตัวอย่างที่ตรวจ ดังนั้น ผลจากการสำรวจยืนยันสถานภาพไม่ปรากฏแบคทีเรีย *P. fuscovaginae* สาเหตุโรค brown sheath rot ของข้าวในประเทศไทย

คำสำคัญ: ฝักระวัง สถานภาพ เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas fuscovaginae* โรค brown sheath rot

Abstracts

Surveillance of *Pseudomonas fuscovaginae* causes brown sheath rot diseases of rice in Thailand was carried out during October 2019 – September 2021 to determine whether this bacterium was present or absent. The specific surveying and collecting samples that expect caused by *P. fuscovaginae* were conducted in Chiang Rai, Chiang Mai, Lamphun, Lampang, Nan, Phrae, Sukhothai, Kamphaeng Phet, Nakhon Pathom, Nonthaburi, Amnat Charoen, Ubon Ratchathani, Si Sa Ket, Surin, Buri Ram, Nakhon Ratchasima, Tak, Ratchaburi, Kanchanaburi, Phetchaburi and Prachuap Khiri Khan. The bacteria formed white-creamy colonies and produced fluorescent pigment on King's medium B were confirmed by LAMP. An target DNA of *P. fuscovaginae* not detected from all bacterial isolates. Thus, this result confirms status of *P. fuscovaginae* was absent in rice plantation of Thailand.

Key words: pest status, survey,

บทนำ

โรคกาบใบเน่าสีน้ำตาลของข้าวเกิดจากแบคทีเรีย *Pseudomonas fuscovaginae* อาการของโรคในแปลงนาข้าว พบอาการเน่าสีน้ำตาลที่กาบใบเปลือกหุ้มใบข้าวระยะต้นกล้าและระยะเจริญเติบโตในภายหลัง ต้นกล้าที่ติดเชื้อในระยะเริ่มแรกจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเป็นสีน้ำตาลบนกาบใบด้านล่าง (Cottyn *et al.*, 1994) หลังจากนั้นจะเปลี่ยนสีจากสีเทาน้ำตาลเป็นสีน้ำตาลเข้ม ในที่สุดต้นกล้าที่ติดเชื้อจะเน่าและตายในที่สุด โรคนี้มีการกระจายอยู่ในแปลงนาข้าวชลประทานที่มีระดับความสูงระหว่าง 1300 และ 2000 เมตร ในประเทศมาดากัสการ์ความรุนแรงของโรคเพิ่มขึ้นตามระดับความสูงของน้ำทะเล โดยพบการแตกรวงข้าวน้อยลงการยับยั้งการเกิดรวงข้าวเพิ่มขึ้น ในพันธุ์ข้าวพื้นเมืองของมาดากัสการ์มีความทนทานมากกว่าข้าวพันธุ์กึ่งแคระ (semi-dwarf) ของสถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (Duveiller *et al.*, 1990) โรคกาบใบเน่าสีน้ำตาลแพร่ระบาดในพื้นที่ปลูกข้าวของหลายประเทศทั่วโลก ในเดือนเมษายน 2554 เกิดการระบาดอย่างรุนแรงในประเทศสาธารณรัฐเกาหลีใต้สร้างความเสียหายทำให้ผลผลิตของข้าวลดลงถึง 10 -20% พื้นที่ปลูกข้าวทั้งหมด ในประเทศอินโดนีเซีย มีรายงานว่าแปลงนาที่มีการระบาดของโรคกาบใบเน่าสีน้ำตาลถึง 72% ในฤดูร้อนพบว่าเมล็ดข้าวที่เก็บเกี่ยวจากแปลงที่มีการระบาดของโรคมิเปอร์เซ็นต์การงอกลดลง แต่ในฤดูฝนพบว่าเมล็ดข้าวเมล็ดข้าวที่เก็บเกี่ยวมีลักษณะไม่ดีมีสีเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ไม่สามารถนำไปใช้ในการขยายพันธุ์ได้ (Cahyaniati and Mortensen, 1995) เชื้อแบคทีเรีย *P. fuscovaginae* สามารถติดไปกับเมล็ด (seed-borne) และเป็นเชื้อสาเหตุโรคพืชที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งทางด้านกักกันพืชโดยเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทยด้วย (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2550) ที่ต้องมีการเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของเชื้อโดยเฉพาะอย่างยิ่งการเคลื่อนย้ายหรือนำเข้าเมล็ดพันธุ์ข้าวจากประเทศที่มีการระบาดของโรค สำหรับในประเทศไทยยังไม่พบรายงานการศึกษาแบคทีเรีย *P. fuscovaginae* ทำให้ไม่ทราบสถานะภาพของแบคทีเรีย *P. fuscovaginae* ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการสำรวจสถานะภาพของแบคทีเรีย *P. fuscovaginae* ในพื้นที่ปลูกข้าวในประเทศไทย อย่างเป็นระบบ เพื่อเป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ ในการกำหนดศัตรูพืชกักกัน การจัดทำวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชในการนำข้าวโพดจากประเทศสหรัฐอเมริกา การกำหนดพื้นที่ปลอดศัตรูพืช และใช้ในการจัดเตรียมบัญชีรายชื่อศัตรูพืช

ระเบียบวิธีการวิจัย

อุปกรณ์

1. เครื่องแก้ว และอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ
2. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ
3. หม้อนึ่งความดันไอ
4. เครื่องเขย่าชนิดควบคุมอุณหภูมิ
5. เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง
6. ตู้อบ
7. เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ
8. เครื่องซัง
9. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง
10. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ สกัดดีเอ็นเอ และทำปฏิกิริยา LAMP
11. เมล็ดข้าว

วิธีการทดลอง

1. จัดทำคู่มือการสำรวจ

โดยการรวบรวมตัวอย่างอ้างอิงและรูปภาพของโรคของข้าวที่เกิดจากแบคทีเรีย *P. fuscovaginae* เพื่อใช้ในการตรวจสอบอ้างอิงขณะทำการสำรวจและจัดทำข้อมูลศัตรูพืช ชื่อสามัญ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพืชอาศัย อาการของโรค รูปภาพสีของโรค และรายละเอียดของศัตรูพืชชนิดอื่นที่คล้ายคลึงกับศัตรูพืชเป้าหมาย

2. จัดทำฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ

จัดทำฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ ได้แก่ ชื่อที่อยู่ที่ตั้งของแปลง วันและเวลาสภาพดินฟ้าอากาศ ตำแหน่งที่ตั้ง (พิกัด GPS) เป็นต้น

3. วางแผนการสำรวจ

ใช้วิธีการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (Specific survey) ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (Guidelines for surveillance: ISPM No. 6) โดยทำการสำรวจแบบสืบพบ (Detection survey) เพื่อสืบค้นหาศัตรูพืชเป้าหมายสำรวจอย่างน้อย 10 แปลง ต่อพื้นที่ แต่ละแปลงทำการสุ่มตัวอย่างแบบเป็นระบบ โดยเดินตามเส้นทแยงมุม ทุกๆ 10 ก้าว ตรวจโรคจุดละ 10 ต้น จำนวน 10 จุดต่อแปลง หรือ 10 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่แปลง

4. การสำรวจ

กำหนดพื้นที่สำรวจโดยเป็นแหล่งผลิตข้าวที่สำคัญของประเทศ จำนวน 28 แหล่งปลูก ใน 14 จังหวัด ได้แก่ เชียงใหม่ เชียงราย แม่ฮ่องสอน แพร่ สุโขทัย สุพรรณบุรี ปทุมธานี อุทัยธานี นครพนม ชัยภูมิ สงขลา พัทลุง ตรัง และ นครศรีธรรมราช ดำเนินการสำรวจตาม ISPM No. 6 (Guidelines for surveillance) วางแผนการสำรวจอย่างน้อย 10 แปลง ต่อพื้นที่ แต่ละแปลงทำการสุ่มตัวอย่างแบบเป็นระบบ โดยเดินตามเส้นทแยงมุม ทุกๆ 10 ก้าว ตรวจโรคจุดละ 10 ต้น อย่างน้อยจำนวน 10 จุดต่อแปลง หรือ 10 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่แปลง

5. วิธีการตรวจวินิจฉัยแบคทีเรีย *Pseudomonas fuscovaginae* ในแปลงนาข้าว

จัดทำรูปภาพลักษณะอาการของโรคทุกระยะของพืชจัดทำเป็นคู่มือในการสำรวจ เมื่อออกสำรวจให้สังเกตจากลักษณะอาการของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือการสำรวจที่จัดทำไว้ บันทึกรายละเอียดข้อมูลของแปลง บันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป เก็บตัวอย่างห่อกระดาษและใส่ถุง นำกลับมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ

6. การตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ

การตรวจสอบโดยการนำตัวอย่างที่เก็บมาหรือสุ่มใบข้าวหรือต้นกล้าข้าว หรือเมล็ดข้าวที่แสดงอาการคล้ายกับรูปภาพนำมาแยกเชื้อ *P. fuscovaginae* บนอาหาร semi selective medium ได้แก่ King's medium B และ Miyajima's medium คัดเฉพาะโคโลนีสีเบจ หรือขาวครีม หรือบางโคโลนีสร้างสารสีเขียวอยู่ตรงกลางโคโลนี นำมายืนยันโดยใช้ specific primer ด้วยวิธี LAMP (loop-mediated isothermal amplification) ตามวิธีการของ Ash *et al.* (2014)

- เวลาและสถานที่

เวลา	ตุลาคม 2562 – กันยายน 2563
สถานที่	1. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานבקเทรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
	2. แปลงนาข้าวของเกษตรกร

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1. จัดทำคู่มือการสำรวจ

รวบรวมข้อมูลของแบคทีเรีย *P. fuscovaginae* และ โรคกาบใบเน่าสีน้ำตาล (brown sheath rot) ของข้าว โดยรวบรวมลักษณะอาการของโรคกาบใบเน่าสีน้ำตาล (brown sheath rot) ของข้าวที่เกิดจากแบคทีเรีย *P. fuscovaginae* ทุกระยะของพืช เพื่อจัดทำเป็นคู่มือการสำรวจ

ข้อมูลของแบคทีเรีย *P. fuscovaginae*

แบคทีเรีย *P. fuscovaginae* มีการจัดอนุกรมวิธานดังนี้

Kingdom Bacteria

Phylum Proteobacteria

Class Gammaproteobacteria

Order Pseudomonadales

Family Pseudomonadaceae

Genus *Pseudomonas*

Species *Pseudomonas fuscovaginae* (ex Tanii,

Miyajima and Akita, 1976) Miyajima, Tanii and Akita (1983) (Rivero-González *et al.*, 2017)

เชื้อ *P. fuscovaginae* สาเหตุโรคกาบใบเน่าสีน้ำตาล พบได้ตั้งแต่ระยะต้นกล้าหากเข้าทำลายจะทำให้ต้นกล้าตาย แต่อย่างไรก็ตามอาการที่พบเห็นได้บ่อยมักจะเกิดในระยะข้าวตั้งท้องหรือออกรวงเนื่องจากเป็นระยะที่ข้าวมีความอ่อนแอ โดยลักษณะอาการของโรคที่สำคัญจะพบมีอาการเริ่มแรกหลังจากเชื้อเข้าทำลายที่กาบใบ จะเป็นแผลจุดฉ่ำน้ำขนาดเล็ก สีน้ำตาลปนเขียว ต่อมาจุดแผลเหล่านี้จะขยายเชื่อมต่อกันเป็นขีดยาวหรือเป็นแถบกว้าง มีสีน้ำตาลเข้มหรือน้ำตาลเทา หากอาการโรครุนแรงปรากฏที่กาบใบของใบธงจะทำให้ก้านชูรวงข้าวแห้งตาย รวงข้าวอ่อนที่อยู่ภายในกาบใบที่เป็นโรคจะถูกเชื้อโรคเข้าทำลายด้วย โดยพบจุดแผลเริ่มต้นที่เมล็ดข้าวลักษณะฉ่ำน้ำสีน้ำตาล และในที่สุดแผลนี้จะเปลี่ยนเป็นสีดำถึงสีน้ำตาลเทาหมดทุกเมล็ดในรวงข้าวทำให้เกิดลักษณะเมล็ดต่าง (Zeigler and Alvarez, 1987) โรคกาบใบเน่าสีน้ำตาลมักพบในพื้นที่สูงตั้งแต่ 1,300-2,000 เมตรจากระดับน้ำทะเล และในสภาพอากาศเย็น (20-22°C) (Duveiller *et al.*, 1990)

แบคทีเรีย *P. fuscovaginae* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีรูปร่างเป็นท่อน หัวท้ายมน มีขนาด 0.5-0.8 x 2.0-3.5 ไมครอน สามารถเคลื่อนที่ได้โดยใช้หางแบบ polar flagella ซึ่งมี 1-4 เส้นต่อเซลล์ไม่สร้างสปอร์ สร้างสารเรืองแสง (fluorescence pigment) บนอาหาร King's medium B (KMB) เมื่อเลี้ยงบนอาหาร nutrient agar (NA) ที่อุณหภูมิตั้งแต่ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4-5 วัน โคโลนีมีสีขาวหรือขาวครีมจนถึงน้ำตาลอ่อน กลมวาว ขอบเรียบ โปร่งแสง ส่วนลักษณะโคโลนีบนอาหาร KMB เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 5 วัน บางสายพันธุ์โคโลนีมีสีขาวครีม กลม นูน ขอบเรียบ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 2 มิลลิเมตร หรืออาจมีลักษณะโคโลนีกลม ค่อนข้างแบน ขอบและเส้นผ่านศูนย์กลางไม่สม่ำเสมอ ขนาดประมาณ 2-5 มิลลิเมตร อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญที่ 28 องศาเซลเซียส และแบคทีเรียจะหยุดการเจริญที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (Miyajima *et al.*, 1983) (Figure 1, 2)

2. จัดทำฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ

โดยมีรายละเอียดของที่ตั้งแปลง ข้อมูลพิกัดภูมิศาสตร์ ชนิดพืช ชนิดศัตรูพืช ข้อมูลตัวอย่าง ชื่อผู้เก็บตัวอย่าง วันเดือนปีที่เก็บ (Figure 3)

3. วางแผนการสำรวจ

ใช้วิธีการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (Specific survey) ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (Guidelines for surveillance: ISPM No. 6) โดยทำการสำรวจแบบสืบพบ (Detection survey) เพื่อสืบค้นหาศัตรูพืชเป้าหมายสำรวจอย่างน้อย 10 แปลง ต่อพื้นที่ แต่ละแปลงทำการสุ่มตัวอย่างแบบเป็นระบบ โดยเดินตามเส้นทแยงมุม ทุกๆ 10 ก้าว ตรวจสอบโรคจุดละ 10 ต้น จำนวน 10 จุดต่อแปลง หรือ 10 เปอร์เซนต์ของพื้นที่แปลง

4. การสำรวจ

ดำเนินการสำรวจพื้นที่ปลูกข้าว จำนวน 21 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ ลำพูน ลำปาง น่านแพร่ สุโขทัย กำแพงเพชร นครปฐม นนทบุรี อำนาจเจริญ อุบลราชธานี ศรีสะเกษ สุรินทร์ บุรีรัมย์ นครราชสีมา ตาก ราชบุรี กาญจนบุรี เพชรบุรี และประจวบคีรีขันธ์ จำนวน 204 แปลง และตัวอย่างจากการสำรวจสถานภาพของแบคทีเรีย *B. glumae* ในพื้นที่ปลูกข้าวในประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2562 – กันยายน 2563 จำนวน 17 จังหวัด ได้แก่ จังหวัด อุตรดิตถ์ พิษณุโลก เพชรบูรณ์ พิจิตร นครสวรรค์ อุทัยธานี ชัยนาท ลพบุรี สระบุรี นครนายก ปราจีนบุรี ฉะเชิงเทรา สิงห์บุรี อ่างทอง สุพรรณบุรี พระนครศรีอยุธยา และปทุมธานี จำนวน 313 แปลง รวมทั้งหมด 517 แปลง จาก 38 จังหวัด เก็บตัวอย่างเมล็ดข้าวที่แสดงอาการกาบใบเน่าสีน้ำตาล และเมล็ดเป็นสีน้ำตาล (Figure 4) นำมาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการจำนวน 80 ตัวอย่าง

5. วิธีการตรวจวินิจฉัยแบคทีเรีย *Pseudomonas fuscovaginae* ในแปลงนาข้าว

ในการสำรวจสังเกตจากลักษณะอาการของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือการสำรวจที่จัดทำไว้ บันทึกรายละเอียดข้อมูลของแปลง บันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป เก็บตัวอย่างห่อกระดาษและใส่ถุง นำกลับมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ

6. การตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ

การตรวจสอบโดยการนำตัวอย่างที่แสดงอาการคล้ายกับรูปภาพมาแยกเชื้อ *P. fuscovaginae* บนอาหาร semi selective medium ได้แก่ King's medium B และ Miyajima's medium คัดเฉพาะโคโลนีสีขาวครีม สร้างสารเรืองแสง (fluorescence pigment) บนอาหาร King's medium B นำมายืนยันโดยใช้ specific primer ด้วยวิธี LAMP (loop-mediated isothermal amplification) ตามวิธีการของ Ash *et al.* (2014) ยังไม่พบแบคทีเรียที่มีลักษณะคล้ายเชื้อแบคทีเรีย *P. fuscovaginae* (Figure 5)

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การสำรวจสถานภาพของแบคทีเรีย *P. fuscovaginae* ในพื้นที่ปลูกข้าวในประเทศไทย 21 จังหวัด ระหว่างเดือนตุลาคม 2562 – กันยายน 2564 จำนวน 204 แปลง และตัวอย่างจากการสำรวจสถานภาพของแบคทีเรีย *B. glumae* ในพื้นที่ปลูกข้าวในประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2562 – กันยายน 2563 จำนวน 17 จังหวัด จำนวน 313 แปลง รวมทั้งหมด 517 แปลง จาก 38 จังหวัด เก็บตัวอย่างข้าวที่แสดงอาการคล้ายโรคกาบใบเน่าสีน้ำตาล นำมาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการจำนวน 80 ตัวอย่าง คัดเฉพาะโคโลนีสีขาวครีม สร้างสารเรืองแสงบนอาหาร King's medium B ตรวจวินิจฉัยโดยใช้เทคนิค LAMP ไม่พบผลผลิตเป้าหมายของแบคทีเรีย *P. fuscovaginae* ในตัวอย่างที่ตรวจ ดังนั้น การสำรวจข้าวระหว่างเดือนตุลาคม 2561 – กันยายน 2564 จึงไม่ปรากฏแบคทีเรีย *P. fuscovaginae* สาเหตุโรค brown sheath rot ในประเทศไทย

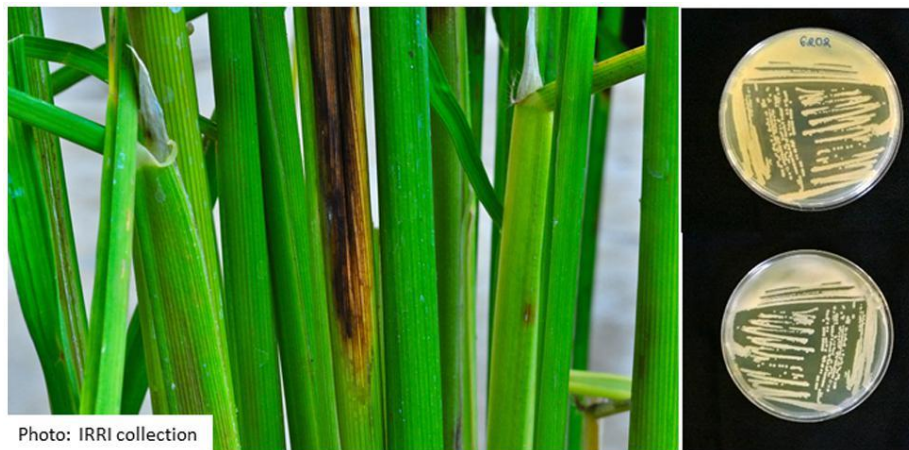


Figure 1 Symptoms caused by *Pseudomonas fuscovaginae* and morphology on King's Medium B plates after 48 h of growth at 28°C (top is reverse side, bottom is front side). (Bigirimana *et al.*, 2015)



Figure 2 Typical symptoms of sheath brown rot observed in rice panicles at Leeton Field Station. (Cother *et al.*, 2009)

Figure 3 Survey form of *Pseudomonas fuscovaginae*

ลำดับ	รหัสพิกัด	พันธุ์ข้าว	ตำบล	อำเภอ	จังหวัด	N	E	altitude	วันที่สำรวจ	ผลตรวจ PF
1	907	จัสมิน	ขุนศรี	ไทรน้อย	นนทบุรี	14.00588	100.27343	-3 m	16-ธ.ค.-62	-
2	908	-	หนองกระทุ่ม	กำแพงแสน	นครปฐม	14.02855	99.85833	11 m	16-ธ.ค.-62	-
3	909	-	หนองกระทุ่ม	กำแพงแสน	นครปฐม	14.00346	99.87608	13 m	16-ธ.ค.-62	-
4	910	-	ลำเหย	ดอนตูม	นครปฐม	13.94922	100.03121	5 m	16-ธ.ค.-62	-
5	911	-	สามควายเผือก	เมือง	นครปฐม	13.84700	100.11111	0 m	16-ธ.ค.-62	-
6	912	-	สามควายเผือก	เมือง	นครปฐม	13.85453	100.11447	-2 m	16-ธ.ค.-62	-
7	913	-	ห้วยพระ	ดอนตูม	นครปฐม	13.94084	100.07034	6 m	17-ธ.ค.-62	-
8	914	-	เตาปูน	โพธาราม	ราชบุรี	13.76300	99.71334	12 m	17-ธ.ค.-62	-
9	915	-	บ้านใหม่	ท่าม่วง	กาญจนบุรี	13.91367	99.63464	29 m	17-ธ.ค.-62	-
10	916	-	หนองขาว	ท่าม่วง	กาญจนบุรี	14.03057	99.62995	18 m	17-ธ.ค.-62	-

Figure 4 Similar symptoms of brown sheath rot in the field caused by *Pseudomonas fuscovaginae* bacteriaFigure 5 Detection of *Pseudomonas fuscovaginae* by LAMP. 1-10, rice samples; 11, *P. fuscovaginae* (positive control); H₂O, negative control (distilled water).

การทดลองที่ 24

การศึกษาสถานภาพของเชื้อไวรัส *Lettuce mosaic virus* สาเหตุโรคใบด่างผักกาดหอมในประเทศไทย Study on status of *Lettuce mosaic virus* on Lettuce in Thailand

^{1/}ปรียพรรณ พงศาพิชณ์ ^{1/}วาสนา รุ่งสว่าง ^{1/}ริตาวรรณ ชมเดช ^{1/}โสภา มีอำนาจ
^{1/}กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

Lettuce mosaic virus (LMV) is an economically significant virus of lettuce crops. As it is transmitted through seed, Therefore, it can spread throughout the world through international seed exchanges. Thailand has imported lettuce seeds from many countries on average 35 tons per year, causing a high risk that LMV will be associated with lettuce seeds to spread and cause damage in the country. In 2020-2021, 54 samples of lettuce seeds imported from France, the Netherlands, the Republic of Peru, Australia, the People's Republic of China, the United States of America and Taiwan were sampled according to International Seed Testing Association (ISTA) guidelines for seed health test and LMV were examined using Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) techniques. LMV was detected in a sample of lettuce seeds imported from Taiwan. Specific surveys to confirm the status of LMV in lettuce growing areas was carried out in accordance with the International Standard on Phytosanitary Measures No. 6 (Surveillance). 80 lettuce growing area in 13 provinces was surveyed from October 2020 to September 2021. LMV was detected limit in specific areas only in 1 lettuce production field in Nakhon Ratchasima province and 3 seed production fields in Nan province, which were planted with imported lettuce seeds. Therefore, the infected plant was removed and subsequent monitoring did not detect LMV in the fields and nearby. Therefore, the status of LMV in Thailand is summarized as found in limited areas and has been eradicated.

Previous detection of LMV in imported lettuce seeds led to the initiation of pest risk analysis. The assessment of the probability of entry, establish, spread and economic consequences demonstrate that LMV is a quarantine pest with medium risk. Therefore, risk management measures should be established including lettuce seeds being imported from countries where seed certification schemes have been conducted and the phytosanitary certificate issued by the National Plant Protection Organization (NPPO) of exporting country was required for certify that the seeds has been tested and found free from LMV.

Keywords: *Lettuce mosaic virus*, Lettuce, pest survey, pest status survey, surveillance

บทคัดย่อ

Lettuce mosaic virus (LMV) เป็นไวรัสที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของผักกาดหอม ไวรัสถ่ายทอดผ่านเมล็ด จึงสามารถแพร่กระจายไปทั่วโลกจากการแลกเปลี่ยนเมล็ดพันธุ์ระหว่างประเทศ ประเทศไทยนำเข้าเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมจากหลายประเทศทั่วโลกเฉลี่ยปีละ 35 ตัน จึงมีความเสี่ยงสูงที่ LMV จะติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมเข้ามาาระบาดทำความเสียหาย ในปี 2563-2564 การตรวจเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมนำเข้าจากฝรั่งเศส เนเธอร์แลนด์ สาธารณรัฐ เปรู ออสเตรเลีย สาธารณรัฐประชาชนจีน สหรัฐอเมริกา และไต้หวัน จำนวน 54 ตัวอย่าง โดยสุ่มตัวอย่างตามหลักเกณฑ์ของ International Seed Testing Association (ISTA) และตรวจ LMV ด้วยเทคนิค Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) และ reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) ผลการตรวจพบ LMV ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมนำเข้าจากไต้หวัน จำนวน 1 ตัวอย่าง การสำรวจแบบเฉพาะเจาะจงเพื่อยืนยันสถานภาพของ LMV ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (เผ่าระวัง) ในแหล่งปลูกผักกาดหอมเพื่อบริโภคในพื้นที่ 12 จังหวัด จำนวน 70 แปลง ได้แก่ จังหวัดนครปฐม นนทบุรี กรุงเทพฯ กาญจนบุรี ราชบุรี ลพบุรี สระบุรี นครราชสีมา ขอนแก่น เพชรบูรณ์ พิษณุโลก และเชียงใหม่ และแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ที่จังหวัดน่าน จำนวน 10 แปลง พบ LMV จำกัดพื้นที่เฉพาะในแปลงผลิตผักกาดหอมเพื่อบริโภคที่จังหวัดนครราชสีมา จำนวน 1 แปลง และในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ที่จังหวัดน่านจำนวน 3 แปลง ซึ่งเกษตรกรใช้เมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมที่นำเข้าจากต่างประเทศ จึงได้ดำเนินการกำจัดต้นเป็นโรคออกจากแปลง การติดตามสำรวจโรคภายหลังไม่พบ LMV ในแปลงที่เคยตรวจพบ และบริเวณใกล้เคียง ดังนั้นจึงสรุปสถานภาพของ LMV ในประเทศไทยว่าพบในพื้นที่จำกัดและดำเนินมาตรการกำจัดหมดสิ้นแล้ว

การตรวจพบ LMV ในเมล็ดผักกาดหอมนำเข้านำไปสู่จุดเริ่มต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การประเมินความน่าจะเป็นของเข้ามา การตั้งรกราก การแพร่กระจาย และผลกระทบทางเศรษฐกิจ แสดงให้เห็นว่า LMV เป็นศัตรูพืชกักกันที่มีความเสี่ยงปานกลาง ดังนั้นควรกำหนดมาตรการจัดการความเสี่ยงที่เหมาะสม ดังนั้นเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมต้องนำเข้าจากประเทศที่มีระบบการรับรองเมล็ดพันธุ์ (seed certification scheme) และต้องมีใบรับรองสุขอนามัยพืชซึ่งออกให้โดยองค์การอารักขาพืชแห่งชาติของประเทศผู้ส่งออกรับรองว่าเมล็ดพันธุ์ได้รับการตรวจและปลอดจาก LMV

คำหลัก: ไวรัส *Lettuce mosaic virus*, ผักกาดหอม, สำรวจศัตรูพืช, สถานภาพศัตรูพืช, เผ่าระวัง

คำนำ

Lettuce mosaic virus (LMV) เป็นสาเหตุโรคใบด่างในผักกาดหอมและ endives (*Cichorium endivia*) ซึ่งเป็นโรคสำคัญและพบระบาดมากในแหล่งปลูกผักกาดหอมทั่วโลกโดยเฉพาะในทวีปยุโรปและสหรัฐอเมริกา มีรายงานการเกิดโรครุนแรงที่รัฐฟลอริดาพบเป็นโรคถึง 100% (Dinant and Lot, 1992) แต่ยังไม่มียางานพบโรคนี้ในประเทศไทย เชื่อไวรัสสามารถติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมโดยมีอัตราการถ่ายทอดโรคสูงถึง 30% ปัจจุบันประเทศไทยสามารถผลิตเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมได้ในปริมาณที่น้อยไม่เพียงพอต่อความต้องการของเกษตรกร เนื่องจากสภาพภูมิอากาศไม่เหมาะสม ส่วนใหญ่จึงต้องนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศ เพื่อจำหน่ายในประเทศและส่งต่อไปยังต่างประเทศ ตั้งแต่ปี 2559-2563 ประเทศไทยนำเข้าเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมเฉลี่ยปีละ 35.27 ตัน มูลค่าเฉลี่ย 32.9 ล้านบาท โดยนำเข้าสูงสุดจากสาธารณรัฐประชาชนจีน เนเธอร์แลนด์ และสหรัฐอเมริกา ตามลำดับ (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2562) ซึ่งทั้งสามประเทศเป็นแหล่งที่มีรายงานพบ LMV โดยเฉพาะอย่างยิ่งสาธารณรัฐประชาชนจีน และสหรัฐอเมริกา ซึ่งพบระบาดทั่วไป ในปี 2560 - 2561 กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ตรวจพบ LMV ในเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมนำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน 3 ครั้ง ปริมาณรวม 3.3 ตัน และจากเนเธอร์แลนด์ 1 ครั้ง ปริมาณ 0.5 กิโลกรัม (กลุ่มวิจัยการกักกันพืช, 2561) เนื่องจากไวรัสนี้ยังไม่เคยมีรายงานพบในประเทศไทย และมีรายงานความเสียหายรุนแรงในต่างประเทศ จึงมีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน แต่เนื่องจากตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่องกำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้าม ไม่ได้กำหนด LMV เป็นสิ่งต้องห้าม (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2550 ก,ข) จึงไม่ได้มีการกำหนดมาตรการทางสุขอนามัยพืชเพื่อจัดการไวรัสนี้ การนำเข้าเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมจากแหล่งที่มีการระบาดของโรคจึงมีความเสี่ยงที่เชื้อจะติดเข้ามาในประเทศไทยได้ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องศึกษาการติดมาของ LMV ในเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้า รวมทั้งสถานภาพการปรากฏในประเทศไทย และประเมินผลกระทบที่อาจเกิดขึ้น หากไวรัสนี้เข้ามาแพร่ระบาดในประเทศไทย

งานวิจัยนี้เป็นการตรวจ LMV ในเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมนำเข้า การปรากฏของศัตรูพืชในประเทศไทย และวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ข้อมูลดังกล่าวสามารถใช้สำหรับอ้างอิงทางวิชาการ เพื่อกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชให้เหมาะสมรัดกุม ลดความเสี่ยงที่ศัตรูพืชกักกันเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศและก่อให้เกิดผลกระทบทางเศรษฐกิจได้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. คู่มือ เอกสาร หนังสือ วารสาร
2. อุปกรณ์ในการสูมเก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติก ปากกามาร์กเกอร์ มีดคัตเตอร์ กรรไกรตัดกิ่ง เครื่องบันทึกพิกัดทางภูมิศาสตร์
3. วัสดุวิทยาศาสตร์และอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น หลอด microcentrifuge หลอด conical ขนาด 50 ml เครื่องแก้ว โกรงบดตัวอย่าง เครื่องบดเมล็ด เครื่องผสมสาร เครื่องปั่น-เหวี่ยงสาร ตู้ดูดควัน (hood) ตู้แช่แข็ง (freezer) ไปเปตและทิป เป็นต้น
4. สารเคมีต่างๆ เช่น ไพรเมอร์ ชุดตรวจสอบเชื้อไวรัสแบบสำเร็จรูป (ELISA kit) ชุดสกัดสารพันธุกรรมแบบสำเร็จรูปสำหรับสารพันธุกรรมชนิดที่เป็นอาร์เอ็นเอ (RNA Extraction kit) ชุดเอนไซม์สำเร็จรูปสำหรับตรวจสอบเชื้อไวรัสชนิดอาร์เอ็นเอแบบวันสเตป (One-step RT-PCR kit)
5. โรงเรือนปลูกพืชทดสอบและวัสดุการเกษตร เช่น ภาชนะกล้า กระถาง ดิน พีทมอส เป็นต้น

วิธีการ

1. การศึกษาเชื้อ LMV ในเมล็ดพันธุ์ฝักกาดหอมนำเข้า

สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ฝักกาดหอมนำเข้า นำมาตรวจสอบเชื้อไวรัส LMV โดยตรงจากเมล็ดพันธุ์ฝักกาดหอมเปรียบเทียบกับระหว่างการตรวจสอบด้วยเทคนิค ELISA และเทคนิค RT-PCR

1.1 การตรวจสอบเชื้อไวรัส LMV ด้วยเทคนิค Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) โดยชุดตรวจสอบสำเร็จรูปของ Agdia (Agdia, Inc.)

สุ่มเมล็ดพันธุ์ฝักกาดหอมตามวิธีการตรวจสอบเชื้อไวรัส LMV ของ ISF (Version 4.3, July 2017) โดยทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์แต่ละรายการจำนวน (sample size) 10,000 เมล็ด และแบ่งเป็นตัวอย่างย่อย (sub-sample size) จำนวน 500 เมล็ด ดังนั้น แต่ละรายการจะประกอบด้วย ตัวอย่างทั้งหมด 20 ตัวอย่าง จากนั้นดำเนินการตามขั้นตอนและวิธีการของชุดตรวจสอบสำเร็จรูป Agdia ตามขั้นตอนดังนี้

1. เตรียม ELISA plate โดยการเติมสารละลาย Capture antibody-Anti-LMV ที่ความเข้มข้น 1:200 (ปริมาตรของแอนติบอดีต่อบัฟเฟอร์ Carbonate coating) ลงไปในแต่ละหลุม ปริมาตร 100 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นานข้ามคืน
2. เตรียมตัวอย่างสำหรับการตรวจสอบ โดยการนำตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ฝักกาดหอมที่เตรียมไว้ไปชั่งน้ำหนัก และนำไปปั่นละเอียดด้วยเครื่องบดเมล็ดพันธุ์ (Tube-mill, IKA) จากนั้นเติมบัฟเฟอร์ Extraction ลงไปในเมล็ดพันธุ์ที่บดละเอียดแล้วด้วยอัตราส่วน 1:10 (น้ำหนักของเมล็ดต่อปริมาตรของบัฟเฟอร์) จะได้สารละลายเมล็ดสำหรับการนำไปตรวจสอบ
3. นำ ELISA plate ในข้อที่ 1 มาทำการล้างด้วยบัฟเฟอร์ PBST wash ปริมาตร 400 ไมโครลิตรต่อหลุม โดยการใส่สารลงไปในแต่ละหลุม บ่มไว้ 3-5 นาที ทิ้งสารโดยการคว่ำเพลทและตบบนกระดาษซับ จากนั้นทำซ้ำอีก 3 ครั้ง ก่อนดำเนินการในขั้นถัดไป
4. นำสารละลายเมล็ดจากข้อที่ 2 ใส่ลงในแต่ละหลุม ปริมาตร 100 ไมโครลิตร จากนั้น นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง
5. นำ ELISA plate ในข้อที่ 4 มาทำการล้างด้วยบัฟเฟอร์ PBST wash ปริมาตร 400 ไมโครลิตรต่อหลุม โดยการใส่สารลงไปในแต่ละหลุม บ่มไว้ 3-5 นาที ทิ้งสารโดยการคว่ำเพลทและตบบนกระดาษซับ จากนั้นทำซ้ำอีก 3 ครั้ง ก่อนดำเนินการในขั้นถัดไป
6. เติมสารละลาย Alkaline phosphatase enzyme conjugate-Anti-LMV ที่ความเข้มข้น 1:200 (ปริมาตรของแอนติบอดีต่อบัฟเฟอร์ ECI) ลงไปในแต่ละหลุม ปริมาตร 100 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง
7. นำ ELISA plate ในข้อที่ 6 มาทำการล้างด้วยบัฟเฟอร์ PBST wash ปริมาตร 400 ไมโครลิตรต่อหลุม โดยการใส่สารลงไปในแต่ละหลุม บ่มไว้ 3-5 นาที ทิ้งสารโดยการคว่ำเพลทและตบบนกระดาษซับ จากนั้นทำซ้ำอีก 3 ครั้ง ก่อนดำเนินการในขั้นถัดไป
8. เติมสารละลายฟอสเฟต ที่ความเข้มข้นของสารซับสเตรท (PNP) 1 มิลลิกรัมต่อบัฟเฟอร์ PNP ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงไปในแต่ละหลุม ปริมาตร 100 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง (ในที่มืด) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
9. ตรวจสอบผลโดยการตรวจดูการเปลี่ยนสีด้วยตาเปล่า และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (O.D.) ที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร ด้วยเครื่องอ่าน ELISA reader โดยหลุมที่สารละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลือง และ/หรือ ให้ค่า O.D. มากกว่าหรือเท่ากับ 2 เท่าของตัวอย่างเมล็ด healthy (เมล็ดพันธุ์ฝักกาดหอมที่ผ่านการตรวจสอบแล้วว่าไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อไวรัส LMV) จะบ่งชี้ถึงการตรวจพบเชื้อไวรัส LMV ในตัวอย่าง

นั้นๆ ในขณะเดียวกัน หากไม่พบการเปลี่ยนสี และ/หรือ ให้ค่า O.D. น้อยกว่า 2 เท่าของตัวอย่างเมล็ด healthy

1.2 การตรวจสอบเชื้อไวรัส LMV ด้วยเทคนิค reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)

1.2.1 ทำการสกัดอาร์เอ็นเอจากเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมในข้อ 1.1 ที่ให้ผลบวกกับเชื้อ LMV โดยใช้ชุดสกัดอาร์เอ็นเอสำเร็จรูป (RNeasy[®] Plant Mini Kit of QIAGEN) ด้วยวิธีการดังนี้

1. นำส่วนของกากเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมจากการตรวจสอบด้วยเทคนิค ELISA มาสกัดอาร์เอ็นเอ โดยแต่ละตัวอย่างเลือกมา 10 ตัวอย่าง (sub sample) จากทั้งหมด 20 ตัวอย่าง โดยทำการบดกากเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมด้วยโกร่งนึ่งฆ่าเชื้อในบัฟเฟอร์ RLT ที่เติมสาร 2-mercaptoethanol อัตราส่วน 10 มิลลิลิตรต่อ 100 ไมโครลิตร (เตรียมก่อนใช้งาน)
2. ใส่น้ำบดเมล็ดลงใน spin column (สีม่วง) ปริมาตร 600 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 11,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที
3. ย้ายของเหลวใต้ spin column ปริมาตร 400 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดใหม่และเติมสารละลาย absolute ethanol ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยการกลับหลอด 4-5 ครั้ง
4. ย้ายของเหลวทั้งหมดใส่ลงใน spin column (สีชมพู) นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 11,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที
5. ทิ้งของเหลวใต้ spin column แล้วเติมบัฟเฟอร์ RW1 ปริมาตร 700 ไมโครลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 11,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที
6. ทิ้งของเหลว เติมบัฟเฟอร์ RPE ปริมาตร 500 ไมโครลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 11,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที (ทำซ้ำอีกครั้ง) หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที
7. ย้าย spin column (เฉพาะชิ้นที่อยู่ด้านใน) ใส่ลงในหลอดใหม่ (หลอด 1.5 มิลลิลิตร) จากนั้นเติม RNase-free water ปริมาตร 100 ไมโครลิตร หยอดลงไปบริเวณกึ่งกลางเมมเบรน (membrane) ตั้งทิ้งไว้ 2 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 11,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที ของเหลวที่ได้ในขั้นตอนนี้คือ สารละลายอาร์เอ็นเอ (Total RNA) ของเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอม ซึ่งจะเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการนำไปใช้งานในขั้นตอนต่อไป

1.2.2 นำสารละลายอาร์เอ็นเอ (Total RNA) ของเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมที่สกัดได้มาตรวจสอบเชื้อไวรัส LMV ด้วยไพรเมอร์ LMV-1196 (5'- AAGGCAGTAAACTGATG -3') และ LMV-1519 (5'- CCTCGTAGCCGTCGTAT -3') (Krause-Sakate *et al.*, 2001) โดยเพิ่มปริมาณชิ้นยีนเป้าหมายด้วยเทคนิค RT-PCR ด้วยการเตรียมสารองค์ประกอบดังต่อไปนี้

เตรียมส่วนผสมของปฏิกิริยา ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ประกอบด้วย

น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ	8.5	ไมโครลิตร
2X Reaction Mix	12.5	ไมโครลิตร
10 μ M LMV-1196	1.0	ไมโครลิตร
10 μ M LMV-1519	1.0	ไมโครลิตร
SuperScript [™] III RT/Platinum [™] Taq Mix	1.0	ไมโครลิตร
Total RNA	1.0	ไมโครลิตร

นำตัวอย่างเข้าเครื่องพีซีอาร์ (thermal cycler) และกำหนดโปรแกรมการทำงาน ดังนี้

ขั้นที่ 1	cDNA synthesis	50 °C	นาน	30 นาที	1 รอบ
ขั้นที่ 2	pre- denaturation	94 °C	นาน	3 นาที	1 รอบ
ขั้นที่ 3	denaturation	94 °C	นาน	30 วินาที	
ขั้นที่ 4	annealing	52 °C	นาน	1 นาที	
ขั้นที่ 5	extension	72 °C	นาน	1 นาที	
ทำซ้ำขั้นที่ 3 ถึง ขั้นที่ 5 จำนวน 40 รอบ					
ขั้นที่ 6	post-extension	72 °C	นาน	10 นาที	1 รอบ
ขั้นที่ 7	hold	20 °C	นาน	10 นาที	1 รอบ

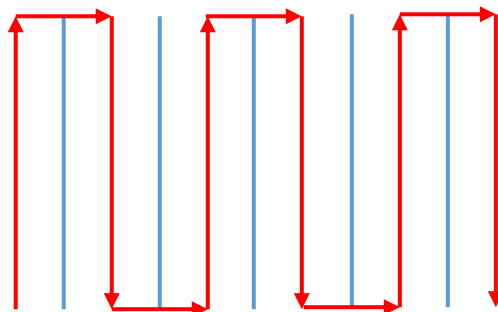
3. ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอ (PCR product) ด้วยวิธีเจลอิเล็กโตโฟเรซิส (Gel electrophoresis) โดยเตรียมสารละลายเจลที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ อะกาโรสเจลในบัฟเฟอร์ 0.5X TBE และเติมสารย้อมสีดีเอ็นเอ RedSafe ลงในเจลที่อัตราส่วน 5 ไมโครลิตรในสารละลายเจล 100 มิลลิตร รันเจลโดยใช้กระแสไฟฟ้าที่ 100 โวลต์ เป็นเวลา 35-40 นาที จากนั้นตรวจสอบแถบดีเอ็นเอในเจลภายใต้แสง UV ด้วยเครื่อง Gel Document และบันทึกภาพ

2. การศึกษาสถานภาพเชื้อ LMV ในประเทศไทย

2.1. จัดทำคู่มือการสำรวจ โดยการรวบรวมตัวอย่างอ้างอิงและรูปภาพของโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส LMV เพื่อใช้ในการตรวจสอบอ้างอิงขณะทำการสำรวจและจัดทำข้อมูลศัตรูพืช ชื่อสามัญ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพืชอาศัย อาการของโรค รูปภาพสีของโรค และรายละเอียดของศัตรูพืชชนิดอื่นที่คล้ายคลึงกับศัตรูพืชเป้าหมาย

2.2. จัดทำฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจได้แก่ ชื่อที่อยู่ที่ตั้งของแปลง วัน และเวลา สภาพดินฟ้าอากาศ ตำแหน่งที่ตั้ง (พิกัด GPS) เป็นต้น

2.3. การสำรวจกำหนดพื้นที่สำรวจแหล่งปลูกผักกาดหอมบริเวณที่สำคัญของประเทศไทย (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2559) จำนวน 12 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดนครปฐม นนทบุรี กรุงเทพฯ กาญจนบุรี ราชบุรี ลพบุรี สระบุรี นครราชสีมา ขอนแก่น เพชรบูรณ์ พิษณุโลก และเชียงใหม่ และแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ ผักกาดหอมที่จังหวัดน่าน วางแผนการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจงตามมาตรฐาน International Standards For Phytosanitary Measures (ISPM) No.6 (Guidelines for surveillance) (McMaugh, 2005) โดยสำรวจผักกาดหอมที่แสดงอาการใบต่างคล้ายกับอาการที่เกิดจากเชื้อไวรัสให้กระจายตลอดพื้นที่ที่ปลูก โดยการเดินสำรวจ 1 ร่อง เว้น 1 ร่อง และสำรวจทุกต้น โดยการเดินสุ่มแบบตัวยู



รูปแบบการเดินสุ่มแบบตัวยู

2.4. วิธีการตรวจเชื้อไวรัส LMV ในแปลง เมื่อออกสำรวจให้สังเกตจากลักษณะอาการของโรค เปรียบเทียบกับคู่มือการสำรวจที่จัดทำไว้ บันทึกรายละเอียดข้อมูลของแปลง บันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป เก็บตัวอย่างใส่ถุง นำกลับมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ

2.5. การตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี ELISA ตามข้อ 1.1

2.6. การบันทึกข้อมูล

- บันทึกรายละเอียดตำแหน่งของแปลงปลูกที่ทำการสำรวจ/เก็บตัวอย่าง
- บันทึกข้อมูลจำนวนแปลง และจำนวนตัวอย่างที่ทำการสำรวจ/เก็บตัวอย่าง
- บันทึกข้อมูลชนิดพืช ขนาดพื้นที่ปลูก ระยะการเจริญเติบโตของพืช และสภาพแวดล้อม

อื่นๆ

- บันทึกลักษณะอาการการเกิดโรค ส่วนของพืชที่พบอาการของโรค ประเมินความรุนแรงของโรค และการแพร่กระจายในพื้นที่

- บันทึกข้อมูลชนิดของเชื้อสาเหตุโรคพืช และลักษณะเชื้อสาเหตุที่ตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ

3. การวิเคราะห์ความเสี่ยงของเชื้อ LMV ที่ติดมากับกับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอม

ดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช (ISPM) ฉบับที่ 2 เรื่อง กรอบสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (FAO, 2019a) และฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกัน (Pest risk analysis for quarantine pests) (FAO, 2019b) ซึ่งประกอบด้วยขั้นตอนดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 การเริ่มต้นขบวนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (stage 1: initiation) เพื่ออธิบายเหตุผลหรือเจตนาว่าทำไมการวิเคราะห์ความเสี่ยงว่ามีที่มาจาก ศัตรูพืช (pest) หรือเส้นทางศัตรูพืช (pathway) หรือการทบทวนนโยบาย (policy)

ขั้นตอนที่ 2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (pest risk assessment)

2.1 การประเมินโอกาสการเข้ามาและแพร่ระบาด (Assessment of the probability of introduction and spread)

2.1.1 ประเมินโอกาสการเข้ามาของศัตรูพืช โดยประเมินโอกาสที่ศัตรูพืชจะปะปนมากับเส้นทางศัตรูพืช ปัจจัยที่นำมาพิจารณา ได้แก่

- การระบาดของศัตรูพืชอย่างรุนแรงในแหล่งผลิต
- การจัดการศัตรูพืชในแหล่งผลิต
- ช่วงวงจรชีวิตของศัตรูพืชซึ่งมีโอกาสปะปนเข้ามากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอม ภาชนะบรรจุหรือพาหนะขนส่ง

- การรอดชีวิตของศัตรูพืชภายใต้สภาวะแวดล้อมขณะขนส่ง
- ปริมาณและความถี่ที่นำเข้า
- ความยากง่ายในการตรวจพบที่จุดนำเข้า

2.1.2 ประเมินโอกาสการตั้งรกรากอย่างถาวร (Probability of establishment)

โดยประเมินโอกาสที่ศัตรูพืชสามารถเจริญและแพร่ขยายพันธุ์ในสภาพแวดล้อมของประเทศไทยได้ โดยพิจารณาข้อมูลด้านชีววิทยาของศัตรูพืช (วงจรชีวิต พืชอาศัย การแพร่ระบาด การอยู่รอด เป็นต้น) จากพื้นที่ซึ่งศัตรูพืชนั้นปรากฏอยู่ในปัจจุบัน ปัจจัยที่นำมาพิจารณา ได้แก่

- การมีพืชอาศัย จำนวนและชนิดพืชอาศัย
 - ความเหมาะสมของสภาพแวดล้อมในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช
 - ศักยภาพความสามารถในการปรับตัวของศัตรูพืช
 - วิธีการมีชีวิตรอดอยู่รอดของศัตรูพืช
 - การปฏิบัติทางการเกษตรและมาตรการป้องกันกำจัด

2.1.3 ประเมินโอกาสการแพร่ระบาดของศัตรูพืชหลังจากเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวร ประเมินโอกาสที่ศัตรูพืชสามารถแพร่กระจายในประเทศไทย โดยพิจารณาจากข้อมูลทางชีววิทยาที่ได้จากพื้นที่ที่ศัตรูพืชนั้นระบาดอยู่ในปัจจุบัน หรือกรณีตัวอย่างที่เคยเกิดมาแล้วกับศัตรูพืชที่คล้ายคลึงกันมาใช้ประโยชน์ในการพิจารณา ปัจจัยที่พิจารณา ได้แก่

- การกระจายของพืชอาศัยในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช
- ความเหมาะสมของสภาพแวดล้อมในสภาพธรรมชาติและ/หรือ สภาพแวดล้อมที่จัดการสำหรับการแพร่ระบาดของศัตรูพืชโดยธรรมชาติ
 - มีสิ่งกีดขวางโดยธรรมชาติ
 - ศักยภาพสำหรับการเคลื่อนย้ายไปกับสินค้าหรือพาหนะขนส่ง
 - ความตั้งใจที่จะนำสินค้าไปใช้ประโยชน์
 - พาหนะที่มีศักยภาพของศัตรูพืชในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช
 - ศัตรูธรรมชาติที่มีศักยภาพของศัตรูพืชในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

2.2 การประเมินผลทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้น (Assessment of potential economic consequence)

2.2.1 ผลที่เกิดจากศัตรูพืชโดยตรง

- ความสูญเสียของผลผลิตในแง่ปริมาณและคุณภาพ
- รูปแบบ จำนวน และความถี่ของความเสียหาย
- ค่าใช้จ่ายในการควบคุม
- ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

2.2.2 ผลกระทบทางอ้อม

- ผลกระทบต่อการส่งออก รวมถึงการบังคับใช้กฎระเบียบด้านสุขอนามัยพืช
- ต้นทุนการผลิตสูงขึ้นทำให้ราคาสินค้าสูงขึ้น
- ผลกระทบต่อความหลากหลายทางชีวภาพอันเนื่องมาจากการป้องกันกำจัด
- ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมที่เกิดจากการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช

2.3 สรุปผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชโดยสรุปผลการประเมินโอกาสการเข้ามา การตั้งรกรากอย่างถาวร และการแพร่กระจาย รวมถึงผลกระทบทางเศรษฐกิจที่เกิดขึ้นตามตาราง Risk Estimate Matrix (Agriculture and Water Resources 2016)

ขั้นตอนที่ 3 การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest risk management)

ความเสี่ยงทั้งหมดจะถูกกำหนดโดยการตรวจสอบผลลัพธ์จากการประเมินโอกาสเข้ามา เจริญและแพร่ขยายพันธุ์ของศัตรูพืชและผลกระทบทางด้านเศรษฐกิจ กรณีที่พบความเสี่ยงอยู่ในระดับที่ไม่สามารถยอมรับได้ ต้องดำเนิน การจำแนกมาตรการสุขอนามัยพืชที่จะลดความเสี่ยงให้ถึงระดับที่ยอมรับได้ หรือต่ำกว่าระดับที่ยอมรับได้

การจำแนกและคัดเลือกวิธีการจัดการความเสี่ยงให้เหมาะสม (Identification and selection of appropriate risk management options) มาตรการที่เหมาะสมควรเลือกโดยอาศัยพื้นฐานจากประสิทธิภาพของมาตรการนั้นในการลดโอกาสการเข้ามาแพร่ขยายพันธุ์ของศัตรูพืช และมีความเป็นไปได้ในทางปฏิบัติ โดยไม่เป็นอุปสรรคขัดขวางการค้าในแง่จำกัดการนำเข้าสินค้าโดยไม่มีเหตุผล มาตรการสุขอนามัยพืชที่มีการนำมาใช้ในปัจจุบัน สามารถแบ่งได้ตามสภาพของศัตรูพืชในเส้นทางศัตรูพืช ประกอบด้วยมาตรการ ดังต่อไปนี้

- มาตรการที่ใช้กับสินค้าโดยตรง เช่น กำหนดมาตรการป้องกันกำจัดศัตรูพืชกับสินค้าด้วยสารเคมี คามเย็นหรือความร้อน
- มาตรการที่ใช้เพื่อป้องกันหรือลดปริมาณการเข้าทำลายของศัตรูพืชในแหล่งผลิต เช่น กำหนดให้ต้องมีการจัดการศัตรูพืชในแปลงผลิต
- มาตรการที่ใช้เพื่อให้เกิดความเชื่อมั่นว่าในพื้นที่ผลิตหรือแหล่งผลิตปราศจากศัตรูพืช เช่น การนำเข้าจากแหล่งผลิตที่ปราศจากศัตรูพืช (pest free area)
- มาตรการห้ามนำเข้าสินค้า เป็นมาตรการขั้นรุนแรงที่ใช้ในกรณีที่ไม่สามารถจัดการความเสี่ยงให้อยู่ในระดับที่ยอมรับได้

เวลาและสถานที่

เดือนตุลาคม 2562 - กันยายน 2564 (2 ปี)

สถานที่

- 1) ห้องปฏิบัติการของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
- 2) แปลงปลูกผักกาดหอมในพื้นที่จังหวัดนครปฐม นนทบุรี กรุงเทพฯ กาญจนบุรี ราชบุรี ลพบุรี สระบุรี นครราชสีมา ขอนแก่น เพชรบูรณ์ พิษณุโลก เชียงใหม่ และน่าน

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การศึกษาเชื้อ LMV ในเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมนำเข้า

1.1 การตรวจสอบเชื้อไวรัส LMV ด้วยเทคนิค ELISA

ในปี 2563 มีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมจากต่างประเทศ จำนวน 48 ครั้ง รวมทั้งสิ้น 84 ตัวอย่าง จากการสุ่มตรวจเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมนำเข้าจำนวน 27 ตัวอย่าง ประกอบด้วยเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมจากฝรั่งเศส 5 ตัวอย่าง เนเธอร์แลนด์ 5 ตัวอย่าง ซิลี 5 ตัวอย่าง เปรู 2 ตัวอย่าง ออสเตรเลีย 2 ตัวอย่าง สาธารณรัฐประชาชนจีน 2 ตัวอย่าง และสหรัฐอเมริกา 6 ตัวอย่าง ผลการตรวจสอบไม่พบเชื้อไวรัส LMV (Table 1) ส่วนในปี 2564 มีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมจำนวน 51 ครั้ง รวมทั้งสิ้น 79 ตัวอย่าง จากการสุ่มตรวจเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมนำเข้าจำนวน 27 ตัวอย่าง ประกอบด้วยเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมจากฝรั่งเศส 2 ตัวอย่าง เนเธอร์แลนด์ 2 ตัวอย่าง ซิลี 5 ตัวอย่าง เปรู 1 ตัวอย่าง ออสเตรเลีย 4 ตัวอย่าง สาธารณรัฐประชาชนจีน 5 ตัวอย่าง สหรัฐอเมริกา 4 ตัวอย่าง และไต้หวัน 4 ตัวอย่าง ผลการตรวจสอบพบ LMV ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมนำเข้าจากไต้หวัน จำนวน 1 ตัวอย่าง (Table 2)

1.2 การตรวจสอบเชื้อไวรัส LMV ด้วยเทคนิค RT-PCR

ผลการตรวจตัวอย่างที่ให้ผลบวกกับชุดตรวจ LMV ในข้อ 1.1 มายืนยันผลด้วยวิธี RT-PCR โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อ LMV พบแถบดีเอ็นเอเป้าหมายขนาด 600 bp (Figure 1)

การตรวจ LMV ในเมล็ดผักกาดหอมทำได้หลายวิธี เช่น การปลูกสังเกตอาการ (grow-out test) โดยเฉพาะเมล็ดจำนวน 30,000 ในโรงเรือนป้องกันแมลง สังเกตอาการในต้นกล้าเป็นเวลา 18-21 วัน หรือการปลูกเชื้อบนพืชทดสอบ *Chenopodium quinoa* (Kimble *et al.*, 1975) แต่วิธีการที่ใช้ในปัจจุบันคือการตรวจด้วยเทคนิคทางเซรุ่มวิทยาด้วยวิธี ELISA (ISF, 2017) ซึ่งมีข้อดีคือใช้ระยะเวลาสั้น และสามารถตรวจตัวอย่างครั้งละจำนวนมาก การตรวจเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมนำเข้าที่ผ่านมาพบ LMV ติดมากับเมล็ดจากหลายประเทศ แสดงให้เห็นว่ามีความเสี่ยงสูงที่ LMV จะติดมากับเมล็ด ดังนั้นการตรวจเมล็ดนำเข้าจึงมีความสำคัญในการป้องกันไม่ให้ศัตรูพืชเข้ามาแพร่ระบาดทำความเสียหายกับการเกษตรในประเทศ

2. การศึกษาสถานภาพเชื้อ LMV ในประเทศไทย

2.1 สืบค้นข้อมูลเชื้อ LMV

LMV เป็นสาเหตุโรคใบด่างซึ่งเป็นโรคที่สำคัญที่ทำให้ความเสียหายรุนแรงสูงสุดในผักกาดหอม พบครั้งแรกในปี 1921 ในรัฐฟลอริดา สหรัฐอเมริกา ปัจจุบันพบในแหล่งปลูกผักกาดหอมทั่วโลก ไวรัสสามารถถ่ายทอดทางเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมได้ เมล็ดจึงเป็นพาหะในการแพร่กระจายไวรัสในระยะไกล

LMV เป็นไวรัสในจีนัส (genus) *Potyvirus* และอยู่ในวงศ์ (family) *Potyviridae* ลักษณะอนุภาคเป็นท่อนยาวคด (flexuous rods) ขนาดประมาณ 750 x 13 นาโนเมตร (Revers *et al.*, 1997) เชื้อไวรัสสามารถถ่ายทอดโรคในเมล็ดผักกาดหอมและวัชพืช chicken weed (*Senecio vulgaris*) โดยมีอัตราการถ่ายทอดในเมล็ดผักกาดหอม 0.1 – 37 % (Shukla *et al.*, 1994; Phatak, 1974) เชื้อไวรัสสามารถแพร่กระจายโดยมีเพลี้ยอ่อนเป็นพาหะแบบ non-persistent นอกจากนี้ไวรัสสามารถถ่ายทอดโดยวิธีกล (David *et al.*, 1997)

พืชอาศัย: LMV มีพืชอาศัยตามธรรมชาติ 26 ชนิดใน 23 สกุล (genera) ซึ่งจัดอยู่ใน 9 วงศ์ (family) ส่วนใหญ่อยู่ในวงศ์ Asteraceae พืชอาศัยที่สำคัญอยู่วงศ์ Fabaceae, Brassicaceae และ Chenopodiaceae (CPC, 2020) ผักกาดหอม (lettuce; *Lactuca sativa*) เป็นพืชอาศัยหลักที่สำคัญที่สุด นอกจากนี้ไวรัสยังเป็นสาเหตุโรคที่สำคัญในเอนดิฟ (endive; *Cichorium endivia*) ในยุโรป และนอกจากนี้ยังมีรายงานว่า LMV เป็นสาเหตุโรคของปวยเล้ง (spinach; *Spinacia oleracea*) ถั่วลันเตา (pea; *Pisum sativum*) ถั่วลูกไก่ (chick pea; *Cicer arietinum*) คำฝอย (safflower; *Carthamus tinctorius*) แต่ไม่พบการระบาดรุนแรงในพืชเหล่านี้ (Dinant and Lot, 1992)

ลักษณะอาการ: ลักษณะอาการที่พบในผักกาดหอมผันแปรไปตามสายพันธุ์ (cultivar) และอายุพืช สภาพแวดล้อม รวมถึงสายพันธุ์ (strain) ของไวรัส ใบของต้นอ่อนที่เพาะจากเมล็ดที่ติดเชื้อจะมีรูปร่างผิดปกติ ต่างสีเขียวอ่อนโดยทั่วไปอาการใบด่าง (mosaic, mottling) จะพบในในผักกาดหอมใบ (leaf lettuce) มากกว่าผักกาดหอมหัว (head lettuce) นอกจากนี้ยังพบอาการใบผิดรูป (leaf distortion) แคระแกรน (stunt) ใบเหลือง (yellowing) บางครั้งอาจพบอาการเส้นใบใส (vein clearing) และจุดเซลล์ตาย (necrotic fleck) ในผักกาดหอมหัว (head lettuce) ที่ถูกไวรัสเข้าทำลายจะมีอาการแคระแกรนไม่สร้างหัวหรือหัวเล็ก ใบด่างเขียวอ่อนถึงเหลือง ใบด้านนอกม้วนลง (Blancard *et al.*, 2006; David *et al.*, 1997; Dinant and Lot, 1992)

ในพืชอาศัยชนิดอื่นเชื้อไวรัสทำให้เกิดอาการใบด่างในถั่วลันเตาและคำฝอย อาการใบเหลืองและลดรูปในปวยเล้ง ใบด่างและแคระแกรนในเอนดิฟ (endive) และใบด่างและยอดเหี่ยวในถั่วลูกไก่ (Dinant and Lot, 1992)

แหล่งแพร่ระบาด: LMV มีพื้นที่ที่พบการระบาดแบ่งเป็นทวีป ดังนี้

ทวีปแอฟริกา – อียิปต์ กาน่า เคนยา มาลาวิ มอริเชียส โมร็อกโก เซียร์ราลีโอน แอฟริกาใต้
แทนซาเนีย ตูนิเซีย แซมเบีย ซิมบับเว

ทวีปเอเชีย – อัฟกานิสถาน สาธารณรัฐประชาชนจีน อินเดีย อิหร่าน อิรัก อิสราเอล ญี่ปุ่น จอร์แดน เลบานอน มาเลเซีย ซาอุดีอาระเบีย ซีเรีย ไต้หวัน ตุรกี และเยเมน

ทวีปยุโรป – ออสเตรีย เบลเยียม โครเอเชีย เดนมาร์ก ฟินแลนด์ ฝรั่งเศส เยอรมัน กรีซ ฮังการี ไอร์แลนด์ อิตาลี เนเธอร์แลนด์ นอร์เวย์ โปแลนด์ โปรตุเกส โรมานี สโลวะเกีย สเปน สวีเดน สวิตเซอร์แลนด์ และสกอตแลนด์

ทวีปอเมริกาเหนือ – แคนาดา จาไมกา เม็กซิโก ตรินิแดดและโตเบโก และสหรัฐอเมริกา

ทวีปโอเชียเนีย – ออสเตรเลีย และนิวซีแลนด์

ทวีปอเมริกาใต้ – อาร์เจนตินา บราซิล ชิลี เอกวาดอร์ และอุรุกวัย (CPC, 2020)

การถ่ายทอดโรคและการแพร่กระจาย: เชื้อไวรัสสามารถถ่ายทอดโรคในเมล็ดผักกาดหอมโดยมีอัตราการถ่ายทอดโรค 0.3 – 30 % (David *et al.*, 1997) นอกจากนี้ยังมีรายงานถ่ายทอดทางเมล็ดใน prickly lettuce; *Lactuca serriola* สามารถแพร่กระจายโดยเพลี้ยอ่อน เช่น *Acyrtosiphon pisum*, *Aphis gossypii*, *Macrosiphum euphorbiae* และ *Myzus persicae* เป็นพาหะแบบ non-persistent *Myzus persicae* เป็นพาหะที่มีประสิทธิภาพในการถ่ายทอดไวรัสสูงสุด (Dinant and Lot, 1992)

การป้องกันกำจัด:

1. การใช้เมล็ดพันธุ์ที่ปลอดโรค(disease - free) หรือเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการรับรอง (certified seed) เป็นวิธีการป้องกันโรคที่ดีที่สุด ในสหรัฐอเมริกาการผลิตเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมจะรับรองการปลอด LMV โดยกำหนดระดับการปนเปื้อนเชื้อในเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมที่ยอมรับได้คือ 0 ใน 30,000 เมล็ด ในขณะที่ในเนเธอร์แลนด์กำหนดให้มีเชื้อในเมล็ดไม่เกิน 0 ใน 2,000 เมล็ด (David *et al.*, 1997) การกำจัดเชื้อในเมล็ดโดยใช้ความร้อนมีผลต่อความงอกของเมล็ด และไม่พบรายงานวิธีการกำจัดเชื้อในเมล็ดที่สามารถปฏิบัติได้ผลจริง

2. การใช้พันธุ์ต้านทาน

ปัจจุบันมีการพัฒนาพันธุ์ต้านทานต่อ LMV ในผักกาดหอมและใช้ได้ผลในยุโรป อเมริกาใต้ และแหล่งปลูกอื่นๆ แต่ในสหรัฐอเมริกายังนิยมใช้เมล็ดที่ผ่านการรับรอง (certified seed) (David *et al.*, 1997)

2.2 จัดทำแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ

จัดทำคู่มือและแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจเชื้อ LMV (Figure 2) โดยคู่มือประกอบด้วย

- ข้อมูลพื้นฐานของเชื้อ LMV ภาพตัวอย่างอาการของผักกาดหอมที่เกิดจากเข้าทำลายของเชื้อ LMV (Figure 3)

- แบบบันทึกรายงานการสำรวจโดยมีรายละเอียดคือ วันเดือนปีที่สำรวจ สถานที่สำรวจ (หมู่บ้าน ตำบล อำเภอ จังหวัด) พิกัดทางภูมิศาสตร์ ขนาดของพื้นที่ที่ทำการสำรวจ ชื่อผู้สำรวจ จำนวนแปลงที่สำรวจ ชื่อพืชที่พบ รอยทำลาย อัตราการทำลาย และพืชอาศัยอื่นที่อยู่ข้างเคียง

- รูปแบบการเดินทางสำรวจโดยเดินตามแนวแถวปลูก 1 แถว วัน 1 แถว รูปตัว U (Figure 4)

- การเก็บตัวอย่าง โดยเก็บชิ้นส่วนของพืชห่อกระดากและใส่ถุง นำมาตรวจวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการทันที หรือนำตัวอย่างมาเก็บได้มาเก็บรักษาตัวอย่างที่อุณหภูมิ 4-15 องศาเซลเซียส ซึ่งจะเก็บตัวอย่างได้แค่ 7 วัน และให้รีบทำการตรวจสอบตัวอย่างทันที แต่ถ้าต้องการเก็บเพื่อตรวจสอบด้วยวิธีชีวโมเลกุล ควรเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส หรือ -80 องศาเซลเซียส

2.3 การสำรวจ เชื้อ LMV ในแปลงปลูกผักกาดหอม

จากการสำรวจแปลงผลิตผักกาดหอมเพื่อบริโภคในพื้นที่ 12 จังหวัด จำนวน 70 แปลง ได้แก่ จังหวัด นครปฐม นนทบุรี กรุงเทพฯ กาญจนบุรี ราชบุรี ลพบุรี สระบุรี นครราชสีมา ขอนแก่น เพชรบูรณ์ พิษณุโลก และ เชียงใหม่ และแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมที่จังหวัดน่าน จำนวน 10 แปลง (Table 3) เมื่อสุ่มเก็บตัวอย่างมา ตรวจวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการ พบไวรัส LMV ในแปลงผลิตผักกาดหอมเพื่อบริโภคที่จังหวัดนครราชสีมา จำนวน 1 แปลง และในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ที่จังหวัดน่านจำนวน 3 แปลง (Table 3) นอกจากนี้ยังพบโรคใบด่างที่เกิดจาก *Turnip mosaic virus* (TuMV) (Figure 5) เชื้อไวรัสนี้มีรายงานพบในประเทศไทยในผักกาดเขียวปลี ผักกาดขาว ปลี และผักกวางตุ้ง (กรมวิชาการเกษตร, 2557) และอาการใบจุดที่เกิดจากเชื้อรา *Cercospora* (Figure 6) ซึ่งในประเทศไทยมีรายงานพบโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อรา *Cercospora longissima* ในผักกาดหอม (กรมวิชาการเกษตร, 2557) การสำรวจโรคใบด่างในแปลงไม่สามารถวินิจฉัยโรคจากลักษณะอาการได้ เนื่องจากลักษณะอาการ ใบด่างที่เกิดจาก LMV มีอาการแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ และยังมีลักษณะอาการคล้ายคลึงกับอาการโรคที่เกิดจากไวรัสชนิดอื่น เช่น TuMV *Cucumber mosaic virus* (CMV) และ *Lettuce infectious yellow virus* (LIYV) ดังนั้นการวินิจฉัยโรคจึงต้องทำในห้องปฏิบัติการโดยใช้เทคนิคทางเซรัมวิทยาหรือเทคนิคทางชีวโมเลกุล (David et al., 1997)

จากผลการสำรวจพบ LMV จำนวน 4 แปลง ซึ่งจำกัดพื้นที่เฉพาะในจังหวัดนครราชสีมา 1 แปลง จังหวัด น่าน 3 แปลง และจากข้อมูลที่สอบถามจากเกษตรกรพบว่าใช้เมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ จึงได้ ดำเนินการกำจัดต้นเป็นโรคออกจากแปลง และติดตามสำรวจโรคในพื้นที่ภายหลังไม่พบ LMV ในแปลงที่เคยตรวจ พบ และบริเวณใกล้เคียง แต่อย่างไรก็ตามการสำรวจโรคในแปลงควรจะมีการเก็บข้อมูลต่อเนื่องอย่างน้อยเป็น ระยะเวลาสามถึงห้าปีติดต่อกัน แต่เนื่องจากงานวิจัยนี้มีงบประมาณระยะเวลาจำกัดประกอบกับสถานการณ์การ ระบาดของ COVID-19 ทำให้การสำรวจในปี 2563 ดำเนินการไม่ครอบคลุมตามแผน ดังนั้นควรสำรวจเพิ่มเติม เพื่อให้ได้ข้อมูลที่สามารถนำไปใช้อ้างอิงได้

3. การวิเคราะห์ความเสี่ยงของเชื้อ LMV ที่ติดมากับกับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอม

ขั้นตอนที่ 1 การเริ่มต้นขบวนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (stage 1: initiation)

ปัจจุบันประเทศไทยผลิตเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมได้ไม่เพียงพอต่อความต้องการของเกษตรกร เนื่องจาก สภาพภูมิอากาศไม่เหมาะสม จึงจำเป็นต้องนำเข้าเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมจากต่างประเทศเพื่อจำหน่ายในประเทศ และส่งต่อไปยังต่างประเทศ ตั้งแต่ปี 2559-2563 ประเทศไทยนำเข้าเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมเฉลี่ยปีละ 35.27 ตัน โดยนำเข้าสูงสุดจากสาธารณรัฐประชาชนจีน เนเธอร์แลนด์ และสหรัฐอเมริกาตามลำดับ (สำนักควบคุมพืชและ วัสดุการเกษตร, 2562) ซึ่งทั้งสามประเทศเป็นแหล่งที่มีรายงานพบ LMV โดยเฉพาะในสาธารณรัฐประชาชนจีน และสหรัฐอเมริกา ซึ่งพบระบาดทั่วไป ในปี 2560 - 2561 กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ตรวจพบ LMV ในเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมนำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน 3 ครั้ง ปริมาณรวม 3.3 ตัน และจาก เนเธอร์แลนด์ 1 ครั้ง ปริมาณ 0.5 กิโลกรัม (กลุ่มวิจัยการกักกันพืช, 2561) เนื่องจากไวรัสนี้ยังไม่เคยมีรายงานพบ ในประเทศไทย และมีรายงานความเสียหายรุนแรงในต่างประเทศ จึงมีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน แต่เนื่องจาก ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่องกำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้าม ไม่ได้กำหนด LMV เป็นสิ่งต้องห้าม (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2550 ก,ข) จึงไม่ได้มีการกำหนดมาตรการทางสุขอนามัยพืชเพื่อจัดการไวรัสนี้ การ นำเข้าเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมจากแหล่งที่มีการระบาดของโรคจึงมีความเสี่ยงที่เชื้อจะติดเข้ามาในประเทศไทยได้ ดังนั้น จึงจำเป็นต้องวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช เพื่อกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชให้เหมาะสมรัดกุม ลดความเสี่ยงที่

เชื้อ LMV จะติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศและก่อให้เกิดผลกระทบทางเศรษฐกิจได้

ขั้นตอนที่ 2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (stage 2: pest risk assessment)

2.1 การประเมินโอกาสการเข้ามาและแพร่ระบาด (Assessment of the probability of introduction and spread)

2.1.1 ประเมินโอกาสการเข้ามาของศัตรูพืช โดยประเมินโอกาสที่ศัตรูพืชจะปะปนมากับเส้นทางการนำเข้าศัตรูพืช

โอกาสการเข้ามาสูง

ปัจจัยที่นำมาพิจารณา ได้แก่

- การระบาดของศัตรูพืชอย่างรุนแรงในแหล่งผลิต
- ช่วงวงจรชีวิตของศัตรูพืชซึ่งมีโอกาสปะปนเข้ามากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอม
- การรอดชีวิตของศัตรูพืชภายใต้สภาวะแวดล้อมขณะขนส่ง
- ปริมาณและความถี่ที่นำเข้า
- ความยากง่ายในการตรวจพบที่จุดนำเข้า

ประเทศไทยนำเข้าเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมเฉลี่ยปีละ 35.27 ตัน จำนวน 50-80 ครั้งต่อปี โดยนำเข้าสูงสุดจากสาธารณรัฐประชาชนจีน เนเธอร์แลนด์ และสหรัฐอเมริกาตามลำดับ (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2562) ซึ่งทั้งสามประเทศเป็นแหล่งที่มีรายงานพบ LMV โดยเฉพาะในสาธารณรัฐประชาชนจีน และสหรัฐอเมริกา ซึ่งพบระบาดทั่วไป รวมทั้งที่ผ่านมาประเทศไทยตรวจพบ LMV ในเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมนำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน 3 ครั้ง เนเธอร์แลนด์ 1 ครั้ง (2560-2561) และไต้หวัน 1 ครั้ง (2564) เชื้อไวรัสสามารถติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมและมีรายงานถ่ายทอดทางเมล็ดสูงถึง 30% (David *et al.*, 1997) และไม่สามารถตรวจพบที่จุดนำเข้า จะต้องสุ่มตัวอย่างเมล็ดมาตรวจในห้องปฏิบัติการด้วยเทคนิคเฉพาะ การตรวจเชื้อที่ติดมากับเมล็ดสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การปลูกสังเกตอาการ (grow-out test) โดยเฉพาะเมล็ดจำนวน 30,000 ในโรงเรือนป้องกันแมลง สังเกตอาการในต้นกล้าเป็นเวลา 18-21 วัน หรือการปลูกเชื้อบนพืชทดสอบ *Chenopodium quinoa* (Kimble *et al.*, 1975) การตรวจด้วยเทคนิคทางเซรัมวิทยาด้วยวิธี ELISA (Falk and Purcifull, 1983; ISF, 2017)

ดังนั้นจากการที่ประเทศไทยนำเข้าเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมในปริมาณมากจากประเทศที่มีการระบาดรุนแรง เชื้อไวรัสสามารถรอดชีวิตระหว่างขนส่งโดยอยู่ในเมล็ดพันธุ์ และมีความยุ่งยากในการตรวจที่จุดนำเข้าสามารถถ่ายทอดทางเมล็ดสูง และไม่มีวิธีการกำจัดเชื้อในเมล็ดที่ได้ผล จึงประเมินโอกาสการติดเข้ามาของ LMV กับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมสูง

2.2.2 ประเมินโอกาสการตั้งรกรากอย่างถาวร (Probability of establishment)

โอกาสการตั้งรกรากอย่างถาวรสูง

ปัจจัยที่นำมาพิจารณา ได้แก่

- การมีพืชอาศัย จำนวนและชนิดพืชอาศัย
 - ความเหมาะสมของสภาพแวดล้อมในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช
 - ศักยภาพความสามารถในการปรับตัวของศัตรูพืช
 - การปฏิบัติทางการเกษตรและมาตรการป้องกันกำจัด

LMV มีพืชอาศัยหลายชนิด แต่พืชอาศัยหลักของ LMV ในประเทศไทยคือผักกาดหอม ถั่วลันเตา และปวยเล้ง ซึ่งมีแหล่งปลูกกระจายทั่วทุกภาคของประเทศ จากข้อมูลแหล่งแพร่ระบาดซึ่งพบในเขตภูมิอากาศที่แตกต่างกัน

กัน แสดงว่าไวรัสมีการปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี ดังนั้นหากไวรัสติดมากับเมล็ดพันธุ์และถ่ายทอดไปยังต้นกล้าจะสามารถเจริญและเป็นแหล่งของเชื้อที่ระบาดในแปลงต่อไป เนื่องจากมีพืชอาศัยและแมลงพาหะของไวรัส *Aphis gossypii*, และ *Myzus persicae* ซึ่งพบแพร่กระจายในพื้นที่ประเทศไทย (Dinant and Lot, 1992) นอกจากนี้ยังมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมกับการเข้าทำลายพืชอาศัยของไวรัสและการเจริญของแมลงพาหะ

2.1.3 ประเมินโอกาสการแพร่ระบาดของศัตรูพืชหลังจากเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวร ประเมินโอกาสที่ศัตรูพืชสามารถแพร่กระจายในประเทศไทย

โอกาสการแพร่ระบาดสูง

ปัจจัยที่พิจารณา ได้แก่

- การกระจายของพืชอาศัยในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช
- ความเหมาะสมของสภาพแวดล้อมในสภาพธรรมชาติและ/หรือสภาพแวดล้อมที่จัดการสำหรับการแพร่ระบาดของศัตรูพืชโดยธรรมชาติ
- ศักยภาพสำหรับการเคลื่อนย้ายไปกับสินค้าหรือพาหนะขนส่ง
- ความตั้งใจที่จะนำสินค้าไปใช้ประโยชน์
- พาหะที่มีศักยภาพของศัตรูพืชในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกผักกาดหอมกระจายอยู่ในภาคกลาง ภาคตะวันออกฉียงเหนือ และภาคเหนือ โดยปลูกมากที่สุดในภาคกลาง ในปี 2561 พื้นที่ปลูกทั่วประเทศ 36 จังหวัด รวม 12,128 ไร่ จังหวัดที่ปลูกมากที่สุดคือราชบุรี นนทบุรี สมุทรสาคร และสุพรรณบุรี และนครสวรรค์ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2561) ประเภทที่นิยมปลูกได้แก่ ผักกาดหอมห่อ (crisp Head) หรือไอซ์เบิร์ก (iceberg) ซึ่งปลูกได้ในระหว่างเดือนตุลาคม-มกราคม แต่ปลูกได้ดีที่สุดในช่วงเดือนพฤศจิกายน-ธันวาคม ช่วงเดือนมิถุนายน-กันยายนพอปลูกได้บ้างในบริเวณที่สูงทางภาคเหนือ ต้องการอุณหภูมิในการเจริญเติบโตระหว่าง 15.5–21 องศาเซลเซียส และอีกประเภทที่นิยมปลูกคือผักกาดหอมใบ (loose leaf) พันธุ์นี้สามารถปลูกได้ตลอดปี และจะปลูกได้ดีที่สุดในช่วงเดือนตุลาคม-เมษายน อุณหภูมิที่เหมาะสมประมาณ 21-26.6 องศาเซลเซียส (วิกิพีเดีย, 2022)

หากมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ที่ติดเชื้อ LMV เชื้อไวรัสสามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์และกระจายไปในแหล่งปลูกทั่วประเทศ ไวรัสสามารถระบาดในแปลงอย่างรวดเร็วโดยมีเพลี้ยอ่อนเป็นพาหะ เพลี้ยอ่อนยาสูบ *Myzus persicae* ซึ่งพบทั่วไปในประเทศไทยเป็นพาหะที่มีประสิทธิภาพในการถ่ายทอดไวรัสสูงสุด (Dinant and Lot, 1992) เนื่องจากเป็นการถ่ายทอดโดยเพลี้ยอ่อนแบบ non-persistent ซึ่งเพลี้ยอ่อนใช้เวลาเพียงไม่กี่วินาทีในการดูดกินพืชเป็นโรคและถ่ายทอดไวรัสสู่พืชปกติ (David *et al.*, 1997) ดังนั้นการกำจัดแมลงพาหะในแปลงไม่สามารถลดการแพร่กระจายของไวรัสได้ นอกจากนี้ยังไม่มีวิธีการกำจัดเชื้อในเมล็ดที่ได้ผล ดังนั้นการป้องกันที่ได้ผลดีที่สุดคือการใช้เมล็ดพันธุ์ที่ปลอดโรค

2.2 การประเมินผลทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้น (Assessment of potential economic consequence)

ผลกระทบทางเศรษฐกิจปานกลาง

ปัจจัยที่พิจารณา ได้แก่

2.2.1 ผลที่เกิดจากศัตรูพืชโดยตรง

- ความสูญเสียของผลผลิตในแง่ปริมาณและคุณภาพ
- ค่าใช้จ่ายในการควบคุม
- ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกฝักกาดหอมรวม 12,128 ไร่ ผลผลิตรวม 8,372 ตัน ราคาเฉลี่ย 21 บาทต่อกิโลกรัม มูลค่าผลผลิตรวม 176.5 ล้านบาท (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2561) การบริโภคฝักกาดหอมส่วนใหญ่บริโภคแบบสดเช่นใส่ในสลัด หรือเป็นผักตกแต่งจาน โรคใบด่างที่เกิดจาก LMV จะทำให้คุณภาพของผลผลิตไม่เป็นที่ต้องการของตลาด การควบคุมโรคนอกจากจะใช้เมล็ดพันธุ์ปลอดโรคแล้ว ยังต้องปลูกในสภาพโรงเรือนปิดที่สามารถป้องกันแมลงพาหะได้ ซึ่งจะเป็นการเพิ่มต้นทุนในการผลิต นอกจากนี้ LMV จะกระทบต่อการผลิตเมล็ดพันธุ์อย่างสูง เนื่องจากเมล็ดพันธุ์ที่ผลิตจะต้องมีการตรวจว่าปลอดจาก LMV ดังนั้นหากในอนาคตประเทศไทยมีศักยภาพในการผลิตเมล็ดพันธุ์ฝักกาดหอมเพื่อการส่งออก จะต้องมีการตรวจและรับรองการปลอด LMV ในเมล็ด เช่นเดียวกับประเทศที่มีการผลิตเมล็ดพันธุ์ฝักกาดหอมเช่น สหรัฐอเมริกา เนเธอร์แลนด์

2.2.2 ผลกระทบทางอ้อม

- ผลกระทบต่อการส่งออก รวมถึงการบังคับใช้กฎระเบียบด้านสุขอนามัยพืช
- ต้นทุนการผลิตสูงขึ้นทำให้ราคาสินค้าสูงขึ้น
- ผลกระทบต่อความหลากหลายทางชีวภาพอันเนื่องมาจากการป้องกันกำจัด
- ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมที่เกิดจากการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช

LMV จะส่งผลกระทบต่อการผลิตและส่งออกเมล็ดพันธุ์ฝักกาดหอม เนื่องจากต้องมีระบบการตรวจและรับรองการปลอด LMV ในเมล็ดพันธุ์ตามเงื่อนไขของประเทศปลายทาง เช่น ศรีลังกา กำหนดเงื่อนไขการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ฝักกาดหอมต้องมาจากประเทศที่ปลอดจาก LMV หรือต้องตรวจและรับรองว่าปลอดจาก LMV โดยระบุข้อความรับรองในใบรับรองสุขอนามัยพืช และบางประเทศกำหนดให้ LMV เป็นศัตรูพืชที่ต้องควบคุม เช่น เม็กซิโก กำหนดให้เป็นศัตรูพืชกักกัน (quarantine pest) อียิปต์ กำหนดให้เป็นศัตรูพืชที่ไม่ใช่ศัตรูพืชกักกันที่ต้องมีการควบคุม (regulated non-quarantine pest) (EPPO, 2020) นอกจากนี้จะต้องเพิ่มต้นทุนในการผลิตและการป้องกันกำจัด เช่น ปลูกในโรงเรือนกันแมลง การใช้เมล็ดพันธุ์ปลอดโรค หรือหากเกิดการระบาดอย่างรุนแรงในประเทศ อาจกระทบต่อผลผลิตจนกระทั่งต้องนำเข้าจากประเทศเพื่อนบ้านทำให้ผลผลิตมีราคาสูงขึ้น

2.3 สรุปผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชโดยสรุปผลการประเมินโอกาสการเข้ามา การตั้งรกรากอย่างถาวรและการแพร่กระจาย ผลกระทบทางเศรษฐกิจที่เกิดขึ้น ดังนี้ (ความเสี่ยงสูง x ความเสี่ยงสูง x ความเสี่ยงสูง) x (ความเสี่ยงปานกลาง) = ความเสี่ยงปานกลาง

ขั้นตอนที่ 3 การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest risk management)

จากผลการวิเคราะห์ความเสี่ยงเพื่อกำหนดมาตรการสำหรับจัดการความเสี่ยง LMV ซึ่งมีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์ฝักกาดหอมเข้ามาแพร่ระบาดและก่อให้เกิดความเสียหายกับพืชอาศัยของไวรัสในประเทศไทย ดังนี้

1. กำหนดมาตรการนำเข้าจากประเทศที่มีระบบการรับรองเมล็ดพันธุ์ (seed certification scheme) มีการตรวจ LMV ในเมล็ดพันธุ์ฝักกาดหอมด้วยวิธีการที่เหมาะสมก่อนส่งออก
2. กำหนดให้การนำเข้าเมล็ดพันธุ์ฝักกาดหอมต้องมีใบรับรองสุขอนามัยพืช หรือใบรับรองสุขอนามัยพืชสำหรับส่งต่อ ซึ่งออกให้โดยองค์การอารักขาพืชแห่งชาติจากประเทศผู้ส่งออกและต้องระบุข้อความเพิ่มเติมว่าเมล็ดพันธุ์ได้ผ่านการตรวจและรับรองว่าปลอดจาก LMV
3. การตรวจนำเข้าจะต้องมีการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ฝักกาดหอมเพื่อตรวจ LMV ในห้องปฏิบัติการ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การตรวจสอบเชื้อ LMV ในเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมนำเข้า ในปี 2563-2564 พบ LMV ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมนำเข้าจากไต้หวัน จำนวน 1 ตัวอย่าง

การสำรวจแปลงผลิตผักกาดหอมเพื่อศึกษาสถานภาพของเชื้อไวรัส LMV ในประเทศไทยในพื้นที่ 12 จังหวัด และแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมที่จังหวัดน่าน พบ LMV จำกัดเฉพาะพื้นที่ในแปลงผลิตผักกาดหอมเพื่อบริโภคที่จังหวัดนครราชสีมา จำนวน 1 แปลง และในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ที่จังหวัดน่านจำนวน 3 แปลง ซึ่งเกษตรกรพบใช้เมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมที่นำเข้าจากต่างประเทศ จึงได้ดำเนินการกำจัดต้นเป็นโรคออกจากแปลง และได้ติดตามสำรวจโรคในพื้นที่ภายหลัง ผลการสำรวจไม่พบ LMV ในพื้นที่ ดังนั้นจึงสรุปสถานภาพของ LMV ในประเทศไทยว่าพบในพื้นที่จำกัดและดำเนินการมาตรการกำจัดหมดสิ้นแล้ว

จากการศึกษาข้อมูลของ LMV เป็นศัตรูพืชสำคัญทางเศรษฐกิจ และไม่พบในประเทศไทย และการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช สรุปผลการประเมิน ได้ว่า LMV เป็นศัตรูพืชกักกันซึ่งมีความเสี่ยงปานกลางที่จะติดเข้ามาพร้อมกับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมแล้วมาแพร่ระบาดทำความเสียหายกับการเกษตรในประเทศไทย จึงควรกำหนดมาตรการจัดการความเสี่ยง โดยกำหนดให้นำเข้าเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมจากประเทศที่มีระบบการรับรองเมล็ดพันธุ์ (seed certification scheme) และกำหนดเงื่อนไขให้มีการตรวจและรับรองว่าปลอดจาก LMV จากประเทศต้นทาง

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์: ข้อมูลต่าง ๆ ที่ได้จากการทดลองนี้ ทำให้ทราบสถานภาพของ LMV ในประเทศไทย และเส้นทางศัตรูพืชของเชื้อ LMV ซึ่งกรมวิชาการเกษตรในฐานะองค์การอารักขาพืชแห่งชาติ (National Plant Protection Organization, NPPO) สามารถนำไปใช้ปรับปรุงกฎระเบียบในการนำเข้า เช่นการแก้ไขประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ในการกำหนดพืชหรือศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. ๒๕๐๗ และนำไปใช้ในการกำหนดเงื่อนไขการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมเพื่อจัดการความเสี่ยงเชื้อ LMV

คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณ ข้าราชการ พนักงานราชการ และพนักงานจ้างเหมา ของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่ให้คำแนะนำช่วยเหลือในการทำงานวิจัย

Table 1 Result of LMV detection on lettuce seeds imported on 2020 by ELISA method.

NO.	ORIGIN	AMOUNT (Samples)	Result of LMV detection	
			Detected	Not detected
1	CHINA	2	0	2
2	NETHERLANDS	5	0	5
3	USA.	6	0	6
4	FRANCE	5	0	5
5	AUSTRALIA	2	0	2
6	CHILI	5	0	5
7	PERU	2	0	2
Total		27 samples	0 sample	27 samples

Table 2 Result of LMV detection on lettuce seeds imported on 2021 by ELISA method.

NO.	ORIGIN	AMOUNT (Samples)	Result of LMV detection	
			Detected	Not detected
1	CHINA	5	0	5
2	NETHERLANDS	2	0	2
3	USA.	4	0	4
4	TAIWAN	4	1	3
5	FRANCE	2	0	2
6	AUSTRALIA	4	0	4
7	CHILI	5	0	5
8	PERU	1	0	1
Total		27 samples	1 sample	26 samples

Table 3 Detective survey of LMV in production area of Lettuce in Thailand.

No	Production area of lettuce			Source	Survey result
	Sub district	District	Province		
1	Lam Hoi	Don Tum	Nakhon Pathom	4	Absent
2	Thung Noi	Mueang Nakhon Pathom	Nakhon Pathom	8	Absent
3	Phra Prathon	Mueang Nakhon Pathom	Nakhon Pathom	2	Absent
4	Thap Luang	Mueang Nakhon Pathom	Nakhon Pathom	1	Absent
5	Phimon Rat	Bang Bua Thong	Nonthaburi	1	Absent
6	Sano Loi	Bang Bua Thong	Nonthaburi	3	Absent
7	Ban Mai	Bang Yai	Nonthaburi	1	Absent
8	Bang Phai	Bang Khae	Bangkok	2	Absent
9	Thawi Watthana	Thawi Watthana	Bangkok	1	Absent
10	Wang Sala	Tha Muang	Kanchanaburi	1	Absent
11	Mae Raem	Mae Rim	Chiang Mai	2	Absent
12	Don Han	Mueang Khon Kaen	Khon Kaen	2	Absent
13	Dan Thap Tako	Chom Bueng	Ratchaburi	1	Absent
14	Khok Mo	Mueang Ratchaburi	Ratchaburi	1	Absent
15	Lat Bua Khao	Ban Pong	Ratchaburi	1	Absent
16	Pak Chong	Chom Bueng	Ratchaburi	1	Absent
17	Huai Phai	Mueang Ratchaburi	Ratchaburi	1	Absent
18	Phong Sawai	Mueang Ratchaburi	Ratchaburi	1	Absent
19	Phaeng Phuai	Damnoen Saduak	Ratchaburi	1	Absent
20	Tha Nat	Damnoen Saduak	Ratchaburi	1	Absent
21	Nong Bua	Phatthana Nikhom	Lopburi	1	Absent
22	Khanong Phra	Pak Chong	Nakhon Ratchasima	1	Absent
23	Don Ta Nin Yai	Dan Khun Thot	Nakhon Ratchasima	1	Absent
24	Sakae Rat	Pak Thong Chai	Nakhon Ratchasima	1	Absent
25	Thai Samakkhi	Wang Nam Khiao	Nakhon Ratchasima	2	Absent
26	Mu Si	Pak Chong	Nakhon Ratchasima	1	Absent
27	Non A Ri	Pak Chong	Nakhon Ratchasima	1	Absent
28*	Thai Samakkhi	Wang Nam Khiao	Nakhon Ratchasima	5	Absent / 4 Present / 1
29*	Nong Sarai	Pak Chong	Nakhon Ratchasima	5	Absent
30	Nong Yang Sua	Muak Lek	Saraburi	1	Absent
31	Thung Samo	Khao Kho	Phetchabun	3	Absent
32	Khek Noi	Khao Kho	Phetchabun	1	Absent
33	Khao Kho	Khao Kho	Phetchabun	5	Absent
34	Sado Phong	Khao Kho	Phetchabun	1	Absent
35	Bueng Phra	Mueang Phitsanulok	Phitsanulok	5	Absent
36*	Puea	Chiang Klang	Nan	5	Absent / 2 Present / 3
37*	Wora Nakhon	Pua	Nan	5	Absent

Remark: *, the areas of seed production sites

Table 4 The risk estimation matrix (Biosecurity Australia, 2016)

Likelihood of pest entry, establishment and spread	Consequences of pest entry, establishment and spread					
	Negligible	Very low	Low	Moderate	High	Extreme
High	Negligible risk	Very low risk	Low risk	Moderate risk	High risk	Extreme risk
Moderate	Negligible risk	Very low risk	Low risk	Moderate risk	High risk	Extreme risk
Low	Negligible risk	Negligible risk	Very low risk	Low risk	Moderate risk	High risk
Very low	Negligible risk	Negligible risk	Negligible risk	Very low risk	Low risk	Moderate risk
Extremely low	Negligible risk	Negligible risk	Negligible risk	Negligible risk	Very low risk	Low risk
Negligible	Negligible risk	Negligible risk	Negligible risk	Negligible risk	Negligible risk	Very low risk



Figure 1 LMV detection by RT-PCR.



Figure 2 Show the symptoms of *Lettuce mosaic virus*
 ที่มา: T.A. Zitter Cornell University, 2019.

คู่มือการสำรวจและเฝ้าระวัง <i>Lettuce mosaic virus</i>		แบบบันทึกรายงานการสำรวจ						
วันที่	ชื่อ เกษตรกร	ที่ อยู่	พิกัด		เปอร์เซ็นต์ การเป็น โรค	แมลง ที่พบ	วัชพืช	ชนิดพืช แปลง ข้างเคียง
			ละติจูด	ลองจิจูด				

สำนักงานวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

Figure 3 Survey guide and report form.

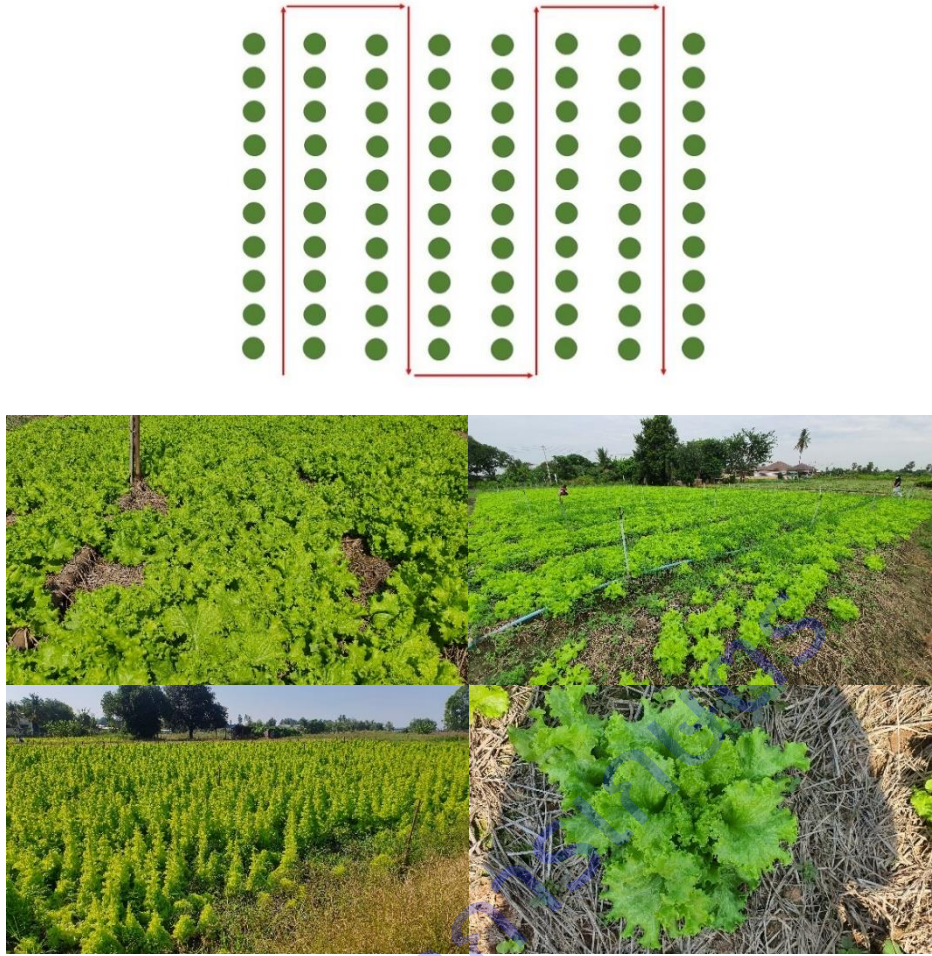


Figure 4 Survey pattern and collecting sample.

KSU 3711



Figure 5 Symptom of mosaic caused by *Turnip mosaic virus* (TuMV)



Figure 6 Symptom of leaf spot caused by *Cercospora* sp.

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

การศึกษาศถานภาพศัตรูพืชที่กักกันในประเทศไทย โดยการสำรวจแบบกำหนดขอบเขตตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (Surveillance: ISPM No.6) ผลการสำรวจไม่ปรากฏพบรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* รา *Sporisorium reilianum* รา *Bipolaris zeicola* (G.L.Stout) Shoemaker แบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *nebraskensis* แบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* แบคทีเรีย *Burkholderia glumae* แบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* แบคทีเรีย *Xylella fastidiosa* แบคทีเรีย *Pseudomonas fuscovaginae* ไวรัส *Tomato black ring virus* (TBRV) และ *Tomato ringspot virus* (TRSV) ไวรัส *Maize dwarf mosaic virus* ไวรัส *African cassava mosaic virus* (ACMV) ไวรอยด์ *Mexican papita viroid*, *Tomato apical stunt viroid*, *Tomato planta macho viroid*, *Pepper chat fruit viroid* ไส้เดือนฝอย *Meloidogyne chitwoodi* และ *Meloidogyne fallax* ไส้เดือนฝอย *Meloidogyne thailandica* ตัวงูเรอโรส *Pantomorus cervinus* (Boheman) เพลี้ยหอย *Aspidiotus nerii* Bouché วัชพืช *Polygonum aviculare* L. และ *Polygonum convolvulus* L. วัชพืช *Chenopodium album* L. และปรากฏพบไวรัส *Sri Lankan Cassava Mosaic Virus* พบในเขตภาคตะวันออก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ไวรัส *Pepper mild mottle virus* พบในจังหวัดกาญจนบุรี แพร่ ชัยภูมิ พบไร *Aceria guerreronis* Keifer พบเฉพาะในเขตภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคเหนือตอนล่าง และแมลงวันทอง *Bactrocera carambolae* (Drew & Hancock) พบเฉพาะในเขตภาคใต้และจังหวัดเพชรบุรี โดยดำเนินการทำลายศัตรูพืชที่สำรวจพบให้หมดสิ้น และจัดทำมาตรการเฝ้าระวังและควบคุมการแพร่ระบาดไปยังแหล่งปลูกอื่น ๆ ในประเทศอย่างต่อเนื่อง

ข้อมูลสถานภาพศัตรูพืชที่ได้จากการสำรวจติดตามศัตรูพืชเพื่อการเฝ้าระวังนี้จะส่งให้องค์การอารักขาพืชแห่งชาตินำไปใช้ในการสนับสนุนการออกประกาศเรื่องการรักษาพื้นที่ปลอดศัตรูพืชของประเทศไทย ตลอดจนเป็นกระบวนการช่วยตรวจหาศัตรูพืชชนิดใหม่ได้ทันเวลาไม่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อพืชผลทางการเกษตร

บรรณานุกรม

- การทดลองที่ 1 การศึกษาสถานภาพของรา *Fusarium oxysporum f. sp. elaeidis* (Foe) ในประเทศไทย กรมส่งเสริมการเกษตร. ระบบสารสนเทศการผลิตทางด้านเกษตร online. 2562. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: <https://production.doae.go.th/service/report-product-statistic/> (19 กุมภาพันธ์ 2562).
- ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2562. *ปาล์มน้ำมัน: เนื้อที่ให้ผล ผลผลิต และผลผลิตต่อไร่ ปี 2551 – 2561*. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: <http://www.oae.go.th/download/prcai/farmcrop/palm.pdf> (19 กุมภาพันธ์ 2561).
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2562. *สถิติการนำเข้า (Import) เมล็ดปาล์มและเนื้อในเมล็ดปาล์ม: ปริมาณและมูลค่าการนำเข้ารายเดือน*. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: http://oldweb.oae.go.th/oae_report/export_import/import_result.php (19 กุมภาพันธ์ 2562).
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2562. *แผนที่แสดงจังหวัดแหล่งผลิตปาล์มน้ำมันรายภาค ปี 2560*. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: http://aginfo.oae.go.th/oae_3/report_product.php?product_name=parm.xls (27 กุมภาพันธ์ 2562).
- Aoki, T., K. O'Donnell, Y. Homma and A.R. Lattanzi. 2003. Sudden-death syndrome of soybean is caused by two morphologically and phylogenetically distinct species within the *Fusarium solani* species complex--*F. virguliforme* in North America and *F. tucumaniae* in South America. *Mycologia* 95: 660-684.
- Balmas, V., Q. Migheli, B. Scherm, P. Garau, K. O'Donnell, G. Ceccherelli, S. Kang and D.M. Geiser. 2010. Multilocus phylogenetics show high levels of endemic fusaria inhabiting Sardinian soils (*Tyrrenian Islands*). *Mycologia* 2010 102: 803-812.
- Bani, M., N. Rispaïl, A. Evidente, D. Rubiales and A. Cimmino. 2014. Identification of the main toxins isolated from *Fusarium oxysporum f. sp. pisi* race 2 and their relation with isolates' pathogenicity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62: 2574-2580. doi: 10.1021/jf405530g.
- 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.
- Carbone, I. and L.M. Kohn. 1999. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. *Mycologia* 91: 553-556.
- Cooper, R.M. 2011a. *Fusarium* Wilt of oil palm: a continuing threat to South East Asian plantations. *The Planter Kuala Lumpur* 87 (1023): 409-418.
- Cooper, R.M. 2012. *Fusarium oxysporum* wilt of oil palm: seed contamination, intercontinental spread and the development of eradication and rapid detection for seed quarantine. 2011. In: *Management of Plant Diseases - Technological Innovations in Seed Health.*, Brazil: Brazilian Society of Plant Pathology. 29-46 pp.
- Corley, R.H.V. and P.B.H. Tinker. 2003. *The Oil Palm*. Blackwell Scientific Press, Oxford. 592 p.

- Crous, P.W., R.K. Schumacher, M.J. Wingfield, A. Akulov, S. Denman, J. Roux, U. Braun, T.I. Burgess, A.J. Carnegie, K.Z. Váczy, E. Guatimosim, P.B. Schwartsburd, R.W. Barreto, M. Hernández-Restrepo, L. Lombard and J.Z. Groenewald. 2018. New and Interesting Fungi. 1. *Fungal Systematics and Evolution* 1: 169-215. doi.org/10.3114/fuse.2018.01.08.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2019. *FAOSTAT Database*. Rome, Italy: FAO. Retrieved on February 2019 from <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>.
- Franqueville, H. and S. Diabaté. 1995. Oil palm vascular wilt in West Africa. *Plantations, Recherche. Développement* 2(4): 5-13.
- Freeman, S., M. Sharon, M. Maymon, Z. Mendel, A. Protasov, T. Aoki, A. Eskalen and K. O'Donnell. 2013. *Fusarium euwallaceae* sp. nov.--a symbiotic fungus of *Euwallacea* sp., an invasive ambrosia beetle in Israel and California. *Mycologia* 105: 1595-1606. doi: 10.3852/13-066.
- García, R.O., L.I. Rivera-Vargas, P. Randy, J.C. Correll and B.M. Irish. 2018. Characterization of *Fusarium* spp. isolates recovered from bananas (*Musa* spp.) affected by *Fusarium* wilt in Puerto Rico. *European Journal of Plant Pathology* 152: 599-611.
- Geiser, D.M., T. Aoki, C.W. Bacon, S.E. Baker, M.K. Bhattacharyya, M.E. Brandt, D.W. Brown, L.W. Burgess, S. Chulze, J.J. Coleman, J.C. Correll, S.F. Covert, P.W. Crous, C.A. Cuomo, G.S. De Hoog, A. Di Pietro, W.H. Elmer, L. Epstein, R.J. Frandsen, S. Freeman, T. Gagkaeva, A.E. Glenn, T.R. Gordon, N.F. Gregory, K.E. Hammond-Kosack, L.E. Hanson, M.M. Jiménez-Gasco, S. Kang, H.C. Kistler, G.A. Kuldau, J.F. Leslie, A. Logrieco, G. Lu, E. Lysøe, L.J. Ma, S.P. McCormick, Q. Migheli, A.A. Moretti, F. Munaut, K. O'Donnell, L. Pfenning, R.C. Ploetz, R.H. Proctor, S.A. Rehner, V.A. Robert, A.P. Rooney, B. Bin Salleh, M.M. Scandiani, J. Scauflaire, D.P. Short, E. Steenkamp, H. Suga, B.A. Summerell, D.A. Sutton, U. Thrane, F. Trail, A. Van Diepeningen, H.D. Vanetten, A. Viljoen, C. Waalwijk, T.J. Ward, M.J. Wingfield, J.R. Xu, X.B. Yang, T. Yli-Mattila and N. Zhang. 2013. One fungus, one name: defining the genus *Fusarium* in a scientifically robust way that preserves longstanding use. *Phytopathology* 103: 400-408. DOI: 10.1094/PHYTO-07-12-0150-LE.
- Geiser, D.M., M. Jimenez-Gasco, S. Kang, I. Makalowski, N. Veeraraghavan, T.J. Ward, N. Zhang, G.A. Kuldau and K. O'Donnell. 2004. *Fusarium*-ID v.10; A DNA sequence data base for identifying *Fusarium*. *European Journal of Plant Pathology* 119: 473-479.
- Haas, D., S. Lesch, W. Buzina, H. Galler, A.M. Gutsch, J. Habib, B. Pfeifer, J. Luxner and F.F. Reinthaler. 2016. Culturable fungi in potting soils and compost. *Medical Mycology* 54: 825-834. doi: 10.1093/mmy/myw047.
- 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.
- Kistler, H.C. 1997. Genetic diversity in the plant-pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology* 87: 474-479.

- 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.
- Laraba, I., A. Keddad, H. Bouregghda, N. Abdallah, M.M. Vaughan, R.H. Proctor, M. Busman and K. O'Donnell. 2017. *Fusarium algeriense*, sp. nov., a novel toxigenic crown rot pathogen of durum wheat from Algeria is nested in the *Fusarium burgessii* species complex. *Mycologia* 109: 935-950. doi: 10.1080/00275514.2018.1425067.
- Lievens, B., L. Claes, D.J. Vakalounakis, A.C. Vanachter and B.P. Thomma. 2007. A robust identification and detection assay to discriminate the cucumber pathogens *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* and f. sp. *radicis-cucumerinum*. *Environmental Microbiology* 9: 2145-2161.
- Lombard, L., N.A. van der Merwe, J.Z. Groenewald and P.W. Crous. 2015. Generic concepts in Nectriaceae. *Study in Mycology* 80: 189-245. doi: 10.1016/j.simyco.2014.12.002.
- Mbofung, G.Y., S.G. Hong and B.M. Pryor. 2007. Phylogeny of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* Inferred from Mitochondrial Small Subunit, Elongation Factor 1-alpha, and Nuclear Ribosomal Intergenic Spacer Sequence Data. *Phytopathology* 97: 87-98. doi: 10.1094/PHYTO-97-0087.
- McMaugh, T. 2005. *Guidelines for Surveillance for Plant Pests in Asia and the Pacific*. ACIAR Monograph No. 119. 192 p.
- Mepsted, R., J. Flood and R.M. Cooper. 1995. *Fusarium* wilt of oil palm II. Stunting as a mechanism to reduce water stress. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 46 (5): 373-387.
- Migheli, Q., V. Balmas, H. Harak, S. Sanna, B. Scherm, T. Aoki and K. O'Donnell. 2010. Molecular phylogenetic diversity of dermatologic and other human pathogenic fusarial isolates from hospitals in northern and central Italy. *Journal of clinical microbiology* 48: 1076-1084.
- O'Donnell, K., C. Gueidan, S. Sink, P.R. Johnston, P.W. Crous, A. Glenn, R. Riley, N.C. Zitomer, P. Colyer, C. Waalwijk, Tv. Lee, A. Moretti, S. Kang, H.S. Kim, D.M. Geiser, J.H. Juba, R.P. Baayen, M.G. Cromey, S. Bithell, D.A. Sutton, K. Skovgaard, R. Ploetz, K.H. Corby, M. Elliott, M. Davis and B.A. Sarver. 2009a. A two-locus DNA sequence database for typing plant and human pathogens within the *Fusarium oxysporum* species complex. *Fungal Genetic Biology* 46: 936-948. doi: 10.1016/j.fgb.2009.08.006.
- 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 mitochondria1 gene genealogies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95: 2044-2049.
- O'Donnell, K., H.C. Kistler, B.K. Tacke and H.H. 2000. Gene genealogies reveal global phylogeographic structure and reproductive isolation among lineages of *Fusarium*

- graminearum*, the fungus causing wheat scab. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97: 7905-7910.
- O'Donnell, K., A.H. Richard, D.M. Geiser, S. Kang, B. Park, V.A.R.G. Robert, P.W. Crous, P.R. Johnston, T. Aoki, A.P. Rooney and S.A. Rehner. 2012 Phylogenetic diversity of insecticolous fusaria inferred from multilocus DNA sequence data and their molecular identification via FUSARIUM-ID and Fusarium MLST. *Mycologia* 104: 2427-2445, DOI: 10.3852/11-179.
- O'Donnell, K., D.A. Sutton, M.G. Rinaldi, C. Gueidan, P.W. Crous and D.M. Geiser. 2009b. Novel multilocus sequence typing scheme reveals high genetic diversity of human pathogenic members of the *Fusarium incarnatum-F. equiseti* and *F. chlamydosporum* species complexes within the United States. *Journal of Clinical Microbiology*. 47: 3851-3861. doi: 10.1128/JCM.01616-09.
- O'Donnell, K., D.A. Sutton, M.G. Rinaldi, K.C. Magnon, P.A. Cox, S.G. Revankar, S. Sanche, D.M. Geiser, J.H. Juba, J.K. van Burik, A. Padhye, E.J. Anaissie, A. Francesconi, T.J. Walsh and J.S. Robinson. 2014. Genetic diversity of human pathogenic members of the *Fusarium oxysporum* complex inferred from multilocus DNA sequence data and amplified fragment length polymorphism analyses: evidence for the recent dispersion of a geographically widespread clonal lineage and nosocomial origin. *Journal of clinical microbiology* 42: 5109-5120.
- Oritsejafor, J.J. 1989. Status of the oil palm vascular wilt disease in Nigeria. In NIFOR, eds. *International Conference on Oil Palm and Palm Products*. Benin City, Nigeria: NIFOR 401-413.
- Prendergast, A.G. 1957. Observations on the epidemiology of vascular wilt disease of the oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Journal of the West African Institute for Oil Palm Research* 2: 148-175.
- Ponukumati, S.V. 2017. *Diagnosics, genomics and population studies on Fusarium oxysporum formae speciales associated with ornamental palms*. Thesis PhD, University of Florid. 163 p.
- Rees, R.W., J. Flood, Y. Hasan and R.M. Cooper. 2007. Effect of inoculum potential, shading and soil temperature on root infection of oil palm seedlings by the basal stem rot pathogen *Ganoderma boninense*. *Plant Pathology* 56: 862-870.
- Renard, J.L. and H. Franqueville. 1989. Oil palm vascular wilt. *Oléagineux (Paris)* 44 (7): 341-349.
- Renard, J.L., J.M. Noiret and J. Meunier. 1980. Sources and ranges of resistance to *Fusarium* wilt in the oil palms *Elaeis guineensis* and *Elaeis melanococca*. *Oleagineux* 35: 387-393.
- Refai, M., A. Hassan and M. Hamed. 2015. *Monograph on the genus Fusarium*. Cairo University, Giza, Egypt. 275 pp.
- Rusli, M. 2012. Detection and resistance expression in oil palm caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaedis*. Bath, UK: University of Bath. 281 p.

- Schroers, H.J., K. O'Donnell, S.C. Lamprecht, P.L. Kammeyer, S. Johnson, D.A. Sutton, M.G. Rinaldi, D.M. Geiser and R.C. Summerbell. 2009. Taxonomy and phylogeny of the *Fusarium dimerum* species group. *Mycologia* 101: 44-70.
- Suga, H., M. Kitajima, R. Nagumo, T. Tsukiboshi, R. Uegaki, T. Nakajima, M. Kushiro, H. Nakagawa, M. Shimizu, K. Kageyama and M. Hyakumachi. 2014. A single nucleotide polymorphism in the translation elongation factor 1 α gene correlates with the ability to produce fumonisin in Japanese *Fusarium fujikuroi*. *Fungal Biology* 118: 402-412. doi: 10.1016/j.funbio.2014.02.005.
- Tamura K., M. Nei and S. Kumar. 2004. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 101: 11030-11035.
- Turland, N.J., J.H. Wiersema, F.R. Barrie, W. Greuter, D.L. Hawksworth, P.S. Herendeen, S. Knapp, W.-H. Kusber, D.-Z. Li, K. Marhold, T.W. May, J. McNeill, A.M. Monro, J. Prado, M.J. Price and G.F. Smith (eds.) 2018. *International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Shenzhen Code) adopted by the Nineteenth International Botanical Congress Shenzhen, China, July 2017*. Regnum Vegetabile 159. Glashütten: Koeltz Botanical Books. DOI <https://doi.org/10.12705/Code.2018>.
- UK CAB International. 1996. *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaedis*. *Distribution Maps of Plant Diseases*, December (Edition 3): Map 471.
- Vilgalys, R. and M. Hester. 1990. Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. *Journal of Bacteriology* 172: 4238-4246.
- Wardlaw, C.W. 1946. *Fusarium oxysporum* on the oil palm. *Nature* 158: 712.
- Wardlaw, C.W. 1950. Vascular wilt disease of the oil palm caused by *Fusarium oxysporum* Schl. *Tropical Agriculture* 27: 42-47.
- 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.
- Zhang, N., K. O'Donnell, D.A. Sutton, F.A. Nalim, R.C. Summerbell, A.A. Padhye and D.M. Geiser. 2006. Members of the *Fusarium solani* species complex that cause infections in both humans and plants are common in the environment. *Journal of Clinical Microbiology* 44: 2186-2190.

การทดลองที่ 2 การศึกษาสภาพของรา *Sporisorium reilianum* (J. Kühn) R.F.N. Langdon & R.A. Fullerton สาเหตุโรคเขม่าดำ (head smut) ของข้าวโพด

- ณัฐพร อุทัยมงคล สุรพล ยินอัศวพรรณ ชลธิชา รักไคร่ อุดร อุณหวุฒิ. 2550. การศึกษา วิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดจากต่างประเทศ. กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.
- ศูนย์สารสนเทศ กรมส่งเสริมการเกษตร. 2557ก. รายงานสภาวะการผลิตพืช (รต.01) แบบรายปี 2556/2557. [ระบบออนไลน์]. แหล่งข้อมูล: <http://production.doae.go.th>. (29 เมษายน 2557).
- ศูนย์สารสนเทศ กรมส่งเสริมการเกษตร. 2557ข. สถิติการส่งออก (Export); ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ (ปริมาณและมูลค่าการส่งออกรายเดือน) แหล่งข้อมูล: http://www.oae.go.th/oae_report/export_import/export_result.php. (7 พฤษภาคม 2557).
- ศูนย์สารสนเทศ กรมส่งเสริมการเกษตร. 2557ค. สถิติการนำเข้า (Import); ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ (ปริมาณและมูลค่าการส่งออกรายเดือน) แหล่งข้อมูล: http://www.oae.go.th/oae_report/export_import/import_result.php. (7 พฤษภาคม 2557).
- สมาคมการค้าเมล็ดพันธุ์ไทย. 2557. สถิติปริมาณและมูลค่าเมล็ดพันธุ์ควบคุมปี 2556. [ระบบออนไลน์]. แหล่งข้อมูล: <http://www.thasta.com/statistics.asp>. (5 พฤษภาคม 2557).
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2557. สถานการณ์สินค้าเกษตรที่สำคัญและแนวโน้ม ปี 2557. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- Benson, H.J. 1998. Fungi: Yeasts and Molds. P. 40-45. *In* Microbiological Applications Laboratory: Complete Version Lab Manual (Manual in General Microbiology) by the McGraw-Hill Companies, USA.
- Martinez, C., C. Roux, A. Jauneau, and R. Dargent. 2002. The biological cycle of *Sporisorium reilianum* f. sp. zeae: an overview using microscopy. *Mycologia* 94 (3). pp. 504-514.
- UK CAB International. 1996. *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaedis*. *Distribution Maps of Plant Diseases*, December (Edition 3): Map 471.
- Ványk, K. 1994. European Smut Fungi. G. Fischer Verlag, Stuttgart, Jena, New York. 570 pp.
- Ványk K. 2002a. Illustrated genera of smut fungi, 2nd ed. APS Press, St. Paul. 238 pp.
- Ványk, K and R.G. Shivas, 2008. Fungi of Australia: The Smut Fungi. Printed in Australia. 267 pp.
- การทดลองที่ 3 การศึกษาสถานภาพแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *nebraskensis* สาเหตุโรค Goss's Bacterial Wilt and Leaf Blight ของข้าวโพดในประเทศไทย**
- Biddle JA, McGee DC, Braun EJ, 1990. Seed transmission of *Clavibacter michiganense* subsp. *nebraskense* in corn. *Plant Disease*, 74(11):908-911.
- CAB International. 2007. Crop Protection Compendium 2007 Edition. (Computer Program). CAB International. Wallingford, UK.
- Gross DC, Vidaver AK, 1979. A selective medium for isolation of *Corynebacterium nebraskense* from soil and plant parts. *Phytopathology*, 69(1):82-87

- Pataky JK, 1985. Relationships among reactions of sweet corn hybrids to Goss' wilt, Stewart's bacterial wilt, and northern corn leaf blight. *Plant Disease*, 69(10):845-848; [2 fig., 3 tab.]; 23 ref.
- Pastrik K-H and Rainey FA. 1999. Identification and differentiation of *Clavibacter michiganensis* subspecies by polymerase chain reaction-based techniques. *Journal of Phytopathology* 147, 687-693.
- Rocheford TR; Vidaver AK; Gardner CO; Armbrust DL, 1985. Effect of wind generated sand abrasion on infection of corn (*Zea mays* L.) by *Corynebacterium michiganense* ssp. *nebraskense*. (Abstr.) *Phytopathology*, 75:1378.
- Schuster ML, 1975. Leaf freckles and wilt of corn incited by *Corynebacterium nebraskense* Schuster, Hoff, Mandel, Lazar, 1972. Research Bulletin Agricultural Experiment Station University of Nebraska. 1972, No. 270.
- Schuster ML; Smith CC; Ziegelbein M, 1985. Inheritance of expression of specific symptoms associated with leaf freckles of maize incited by *Corynebacterium nebraskense*. *Fitopatologia Brasileira*, 10(1):159-162; [1 tab.]; 9 ref.
- Smidt M, Vidaver AK, 1986. Population dynamics of *Clavibacter michiganensis* subsp. *nebraskense* in field-grown dent corn and popcorn. *Plant Disease*, 70(11):1031-1036
- Vidaver AK; Mandel M, 1974. *Corynebacterium nebraskense*, a new, orange-pigmented phytopathogenic species. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 24(4):482-485
- Zhu X, Reid LM, Woldemariam T, Tenuta A, LaChance P, Pouleur S, 2005. Survey of corn diseases and pests in Ontario and Quebec in 2004. *Canadian Plant Disease Survey*, 85:31-34.

การทดลองที่ 4 การศึกษาสภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* สาเหตุโรค Potato Ring Rot ของมันฝรั่งในประเทศไทย

- De Boer S.H., Wieczorek, A. and A. Kummer. 1998. An ELISA test for bacterial ring rot of potato with a new monoclonal antibody. *Plant Disease* 72(10): 874-878.
- De Boer, S.H., and R.J. Copeman. 1980. Bacterial ring rot testing with indirect fluorescent antibody staining procedure. *Am. Potato J.* 57: 457-465.
- de la Cruz, A.R., Wiese, M.V., and N.W. Schaad. 1992. A semiselective agar medium for isolation of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* from potato tissues. *Plant Dis.* 76(8): 830-834.
- Firrao, G., and R. Locci. 1993. Identification of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* using the polymerase chain reaction. *Can. J. Microbiol.* 40: 148-151.

- Lee, I.M., Bartoszyk, I.M., Gundersen, D.E., Mogen, G., and R.E. Davis. 1996. Nested PCR assays for ultrasensitive detection of potato ring rot bacterium, *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 2625-2630.
- Li, X., and S.H. De Boer. 1995. Selection of polymerase chain reaction primers from an RNA intergenic spacer region for specific detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*. *Phytopathology* 85: 837-842.
- OEPP/EPPO. 2005. Diagnostic *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*. EPPO standard PM 7/59 (1).
- Pastrik, K.H., and F.A. Rainey. 1999. Identification and differentiation of *Clavibacter michiganensis* subspecies by polymerase chain reaction-based techniques. *J. Phytopathol.* 147: 687-693.
- Pastrik, K.H.. 2000. Detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* in potato tubers by multiplex PCR with coamplification of host DNA. *European Journal of Plant Pathology* 106: 155-165.
- Schaad, N.W., Berthier-Schaad, Y., Sechler, A. and D. Knorr. 1999. Detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* in potato tubers by BIO-PCR and an automated real-time fluorescence detection system. *Plant Dis.* 83: 1095-1100.
- Schneider, B.J., Zhao, I.L., and C.S. Orser. 1993. Detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* by DNA amplification. *FEMS Microbiol. Lett.* 109: 207-212.

การทดลองที่ 5 การศึกษาสถานภาพเชื้อไวรัส *Tomato black ring virus* (TBRV) และ *Tomato ringspot virus* (TRSV) ของมะเขือเทศในประเทศไทย

ไทยเกษตร (2556). โรคของมะเขือเทศที่เกิดจากไวรัส. สืบค้นเมื่อวันที่ 16 กรกฎาคม 2557 Web site: <http://www.thaikasetsart.com/>

CAB International (2007). *Crop Protection Compendium*. Edition. Wallingford, UK: CAB International. www.cabicompendium.org/cpc

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

Oregon.gov. ODA Commodity Inspection, Plant Health: *Tomato Ringspot Virus* (ToRSV) สืบค้นเมื่อวันที่ 16 กรกฎาคม 2557 Web site: http://www.oregon.gov/ODA/CID/PLANT_HEALTH/pages/tomato_ringspot_virus.aspx

การทดลองที่ 6 การศึกษาสถานภาพเชื้อไวรัส *Mexican papita viroid*, *Tomato apical stunt viroid*, *Tomato planta macho viroid*, *Pepper chat fruit viroid* ของพริกและมะเขือเทศในประเทศไทย

คณิงนิตย์ เทรียญวรากร สุภาพร กลิ่นคง และ จิราภรณ์ ปอสูงเนิน 2554. *First report of natural infection of Pepper chat fruit viroid in tomato plants in Thailand* New Disease Reports, ปีที่ 24, ฉบับที่ 2, กรกฎาคม - ธันวาคม 2011, หน้า 6-6

ปรีเชษฐ์ ตั้งกาญจนภาสัน วิภา เกิดพิพัฒน์ และ คณิงนิตย์ เทรียญวรากร. 2555. *The New Strain of Columnea latent viroid (CLVd) Causes Serious Symptoms on Solanum Plants*. The international conference on tropical and sub-tropical plant diseases, 7 - 12 กุมภาพันธ์ 2012.

การทดลองที่ 7 การศึกษาสถานภาพไส้เดือนฝอย *Meloidogyne chitwoodi* และ *Meloidogyne fallax* ของมันฝรั่งในประเทศไทย

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

การทดลองที่ 8 การศึกษาสถานภาพของวัชพืช *Polygonum aviculare* L. และ *Polygonum convolvulus* L. ในแปลงกะหล่ำปลีและกะหล่ำดอก

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Holm, L.G., J.V. Pancho, J.P. Herberger, D.L. Plucknett. 1991. *A Geographic Atlas of World Weeds*. Malabar, Florida, USA: Krieger Publishing Company.

- Holm, L., J. Doll, E. Holm, J. Pancho, and J. Herberger. 1997. World weeds; natural histories and distribution. John Wiley & Sons, Inc., New York, 1129 p.
- Hume, L., J. Martinez and K. Best. 1983. The biology of Canadian weeds. 60. *Polygonum convolvulus* L. Canadian Journal of Plant Science. 63: 959-971.
- Klott, P.M. and K.G. Boyce. 1982. Allelopathic effects of wireweed (*Polygonum aviculare*). Australian Weeds. 1(3): 11-14.
- Roberts, H.A. and P.M. Feast. 1973. Emergence and longevity of seeds of annual weeds in cultivated and undisturbed soil. The Journal of Applied Ecology. 10(1): 133-143.
- Royer, F., and R. Dickinson. 1999. Weeds of the Northern U.S. and Canada. The University of Alberta press. 434 p. Cited by Helen Klein , 2011. black bindweed *Fallopia convolvulus* (Linnaeus) Á. Löve or *Polygonum convolvulus* L. (Online). Available. http://aknhp.uaa.alaska.edu/wp-content/uploads/2013/01/Fallopia_convolvulus_BIO_FACO.pdf (June 10, 2015).
- Stevens, O.A. 1932. The number and weight of seeds produced by weeds. American Journal of Botany. 19(9):784-794.
- Townshend, J.L. and T.R. Davidson. 1962. Some weed hosts of the northern root-knot nematode, *Meloidogyne hapla* Chitwood, 1949, in Ontario. Canadian Journal of Botany 40: 543-548. Cited by Helen Klein , 2011. black bindweed *Fallopia convolvulus* (Linnaeus) Á. Löve or *Polygonum convolvulus* L. (Online). Available. http://aknhp.uaa.alaska.edu/wp-content/uploads/2013/01/Fallopia_convolvulus_BIO_FACO.pdf (June 10, 2015).
- Wilson, J.D., A.J. Morris, B.E. Arroyo, S.C. Clark and R.B. Bradbury. 1999. A review of the abundance and diversity of invertebrate and plant foods of granivorous birds in northern Europe in relation to agricultural change. Agriculture, Ecosystems and Environment 75: 13-30. Cited by Helen Klein, 2011. black bindweed *Fallopia convolvulus* (Linnaeus) Á. Löve or *Polygonum convolvulus* L. (Online). Available. http://aknhp.uaa.alaska.edu/wp-content/uploads/2013/01/Fallopia_convolvulus_BIO_FACO.pdf (June 10, 2015).

การทดลองที่ 9 การศึกษาสถานะภาพไร *Aceria guerreronis* Keifer ในประเทศไทย

- กรมวิชาการเกษตร. 2555. มะพร้าวนอกมะพร้าวใน. จดหมายข่าวผลิใบก้าวหน้าการวิจัยและพัฒนาการเกษตร ประจำเดือนกรกฎาคม 15(6): 1-7.
- เทคโนโลยีชาวบ้าน. 2559. มะพร้าวไทย ปลูกมากที่ไหนผลผลิตเท่าไร? มีการนำเข้า-ส่งออกอะไรบ้าง. เทคโนโลยีชาวบ้าน. 2559. มะพร้าวไทย ปลูกมากที่ไหนผลผลิตเท่าไร? มีการนำเข้า-ส่งออกอะไรบ้าง. Available. www.technologychaoban.com/news-slide/article_7894 (26 กุมภาพันธ์ 2563).
- พลอยชมพู กรวิภาสเรือง มานิตา คงชื่นสิน และเทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์. 2553. การศึกษาอนุกรมวิธานไรแมงมุมในสกุล *Oligonychus*. หน้า 2085-2104. ใน รายงานผลงานวิจัย ประจำปี 2553 เล่มที่ 3. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

- พลอยชมพู กรวิภาสเรือง. 2559. ไรสีขามะพร้าวภัยเงียบที่น่ากลัว. *วารสารกสิกรรมและสัตววิทยา*. 34 (2):64-66.
- ศูนย์เมขลา. 2563. รายงานสถานการณ์น้ำรายวัน ประจำวันที่ 2 มกราคม 2563. กรมทรัพยากรน้ำ Available. file:///I:/Lek/lek1/job%202562/เรื่องเต็มปี%202563/ปริมาณน้ำฝน/report_20200102-164242.pdf(26 กุมภาพันธ์ 2563).
- สถาบันสารสนเทศทรัพยากรน้ำ และการเกษตร (องค์การมหาชน). สถานการณ์น้ำประเทศไทยปี พุทธศักราช 2560. Available. file:///I:/Lek/lek1/job%202562/เรื่องเต็มปี%202563/ปริมาณน้ำฝน/1-watersituation2017.pdf (26 กุมภาพันธ์ 2563).
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร 2561. เร่งแก้ปัญหามะพร้าวราคาตก วางเกณฑ์เปิดตลาดภายใต้ WTO-AFTA คุ่มเข้มนำเข้าช่วงผลผลิตออกตลาด. Available. www.oae.go.th/รายละเอียดภาวะเศรษฐกิจการเกษตร/28610/TH (26 กุมภาพันธ์ 2563).
- สำนักงานส่งเสริมการค้าในต่างประเทศ. 2562. รายงานสินค้าน้ำมันมะพร้าวในตลาดสหรัฐอเมริกา (HS Code 1513). สำนักงานส่งเสริมการค้าในต่างประเทศ ณ เมืองไมอามี ประเทศสหรัฐอเมริกา. Available. https://www.ditp.go.th/contents_attach/567745/567745.pdf (26 กุมภาพันธ์ 2563).
- Amrine, J. W., T. A. H. Stasny and C. H. W. Flechtmann. 2003. *Revised keys to word genera of eriophyoidea (Acari: Prostigmata)*. Indira publishing house, Michigan, U.S.A.
- Ansaloni T. and T. M. Perring. 2004. *Biology of Aceria guerreronis (Acari: Eriophyidae) on queen palm, Syagrus romanzoffiana (Arecaceae)*. *International Journal of Acarology*. 30(1): 63-70.
- Aratchige, N. S., L. C. P., Fernando, K. P., Waidyarathne and K. A. S., Chandrasiri. 2012. Population dynamics of *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae) and its predatory mite, *Neoseiulus baraka* (Acari: Phytoseiidae) in two coconut growing areas in Sri Lanka. *Experimental and Applied Acarology*. 56:319-325.
- Fan, Q-H. and Z-Q., Zhang. 2004. Revision of *Rhizoglyphus* Claparède (Acari: Acaridae) of Australasia and Oceania. *Systematic & Applied Acarology Society*, London. 374p.
- Fan, Q-H. and Z-Q., Zhang. 2007. *Fauna of New Zealand Ko te Aitanga Pepeke o Aotearoa Nama 56 Tyrophagus (Acari: Astigmata: Acaridae)*. Lincoln, Canterbury, New Zealand, 291p.
- Hughes, A. M. 1976. *The Mites of Stored Food and Housed*. Ministry of Agriculture Fisheries and Food Technical Bulletin no. 9. (Second edition) (Her Majesty's Stationery Office), London. 400 pp.
- Lindquist, E. E. 1986. *The world genera of Tarsonemidae (Acari: Heterostigmata): A morphological, phylogenetic, and systematic revision, with a reclassification of family-group taxa in the heterostigmata*. The entomological society of Canada, 1320 Carling Avenue Ottawa Ontario. 517p.

- Lowson-Balagbo, L. M., M. G. C. Gondim jr., G. J. de Moraes, R. Hanna and P. Schausberger. 2007. Refuge use by the coconut mite *Aceria guerreronis*: Fine scale distribution and association with other mite under the perianth. *Science Direct Biological control* 43:101-110.
- Keifer, H. H. 1954. Eriophyid Studies XXII. *Bulletin of the California Department of Agriculture*, 43:121-131.
- Keifer, H. H., E. W. Baker, T. Kono, M. Delfinado and W. E. Styer. 1982. *An Illustrated Guide to Plant Abnormalities caused by Eriophyid mite in North America*. U. S. Department of Agriculture, Agriculture Handbook No 573.
- Hag, M. A. 2011. Coconut destiny after the invasion of *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae) in India. *Zoosymposia* 6: 160-169.
- Moore, D. 2000. Non-chemical control of *Aceria guerreronis* on coconuts. *Biocontr. Sci. Tech.* 21: 83-88.
- Nair, C. P. R. 2002. Status of coconut eriophyid mite, *Aceria guerreronis* Keifer in India. pp. 9-12. In Fernando, L. C. P., Moraes, G. J. de, Wickramananda, I. R. (Eds.), *Proceedings of the International Workshop on coconut Mite (Aceria guerreronis)*, 6-8 January 2000, Coconut Research Institute, Lunuvila, Sri. Lanka.
- การทดลองที่ 10 การติดตามการระบาดและเฝ้าระวังแมลงวันทองชนิด *Bactrocera carambolae* (Drew & Hancock) ในเขตภาคใต้ของประเทศไทย**
- กองกึ่งและสัตววิทยา. 2544. แมลงวันทองในประเทศไทย. เอกสารวิชาการกองกึ่งและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 244 หน้า.
- มนตรี จิรสุรัตน์ 2536. โครงการวิจัยชีววิทยาและการป้องกันกำจัดแมลงวันทอง. รายงานผลการ ทดลองปี 2535 กองกึ่งและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.
- มนตรี จิรสุรัตน์ และ โอชาประจวบเหมาะ. 2541. แนวทางการป้องกันกำจัดแมลงวันทองในแปลงมะม่วงเพื่อการส่งออก. *กึ่งและสัตววิทยา*. 20(3): 201-204.
- แสน ดิถวิฒนานนท์. 2529. พืชอาหารของแมลงวันทองชนิดต่างๆในประเทศไทย. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า ปีที่ 4 ฉบับที่ 1 มกราคม-เมษายน 2529. หน้า 1-15
- สัญญาณี ศรีคชา วิภาดา ปลอดภัย และเกรียงไกร จำเริญมา. 2554. ชีววิทยาและการระบาดของแมลงวันผลไม้ชนิด *Bactrocera correcta* (Bezzi). *วารสารกึ่งและสัตววิทยา* 26 (1) : 40-50.
- Beroza, M. and N. Green. 1963. Synthetic Chemicals as Insect Attractants. In: *New Approaches to Pest Control and Eradication. Advances in Chemistry Series 41*. American Chemical Society. Washington, D.C. pp.11-30.
- Clarke, A.R., A Allwood, A.Chinajariyawong, R. A. I. Drew, C. Hengsawad, M. Jirasurat, C. Kong Krong, S. Kritsaneepaiboon and S. Vijaysegaran. 2001. Seasonal abundance and host use patterns of seven *Bactrocera* Macquart species (Diptera: Tephritidae) in Thailand and Peninsular Malaysia. *Raffles Bull. Zool.*, 49(2): 207-220.

Hardy, D.E. (1963). The fruit flies (Tephritidae – Dipetra) of Thailand and bordering countries. *Pacific Insects Monograph*, 31 – 353. Pp

IAEA. 2003. Trapping guidelines for area-wide fruit fly programmes. IAEA, Vienna, Austria. 47 pp.

McMaugh, T. 2008. คำแนะนำในการสำรวจศัตรูพืชในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก. ACIAR Monograph No. 119c, 199 หน้า

การทดลองที่ 11 ศึกษาสถานภาพเชื้อไวรัส *Sri Lankan Cassava Mosaic Virus* ในประเทศไทย

Berrie, L.C., Rybicki, E.P., Rey, M.E. 2001. Complete nucleotide sequence and host range of *South African cassava mosaic virus*: further evidence for recombination amongst begomoviruses. *J. Gen. Virol.* 82 (Pt 1): 53-58.

Brown, J.K., Zerbini, F.M., Navas-Castillo, J., Moriones, E., Ramos-Sobrinho, R., Silva, J.C., Fiallo-Olive, E., Briddon, R.W., Hernandez-Zepeda, C., Idris, A., Malathi, V.G., Martin, D.P., Rivera-Bustamante, R., Ueda, S., Varsani, A. 2015. Revision of Begomovirus taxonomy based on pairwise sequence comparisons. *Arch. Virol.* 160(6): 1593-1619.

Bull, S.E., Briddon, R.W., Sserubombwe, W.S., Ngugi, K., Markham, P.G., Stanley, J. 2006. Genetic diversity and phylogeography of cassava mosaic viruses in Kenya. *J. Gen. Virol.* 87(Pt 10): 3053-3065.

Byrne, D.N., Bellows T.B., M.P., P. 1990. Whiteflies in agricultural systems. pp. 227-261 In: Whiteflies: Their Bionomics, Pest Status and Management, D. Gerling (ed.). Intercept, Hants, United Kingdom.

Dubern, J. 1994. Transmission of *African cassava mosaic geminivirus* by the whitefly (*Bemisia tabaci*). *Trop. Science* 34: 82-91.

Duraisamy, R., Natesan, S., Muthurajan, R., Gandhi, K., Lakshmanan, P., Karuppusamy, N., Chokkappan, M. 2013. Molecular Studies on the Transmission of *Indian Cassava Mosaic Virus* (ICMV) and *Sri Lankan Cassava Mosaic Virus* (SLCMV) in Cassava by *Bemisia tabaci* and Cloning of ICMV and SLCMV Replicase Gene from Cassava. *Mol. Biotechnol.* 53: 150-158.

Fondong, V.N., Thresh, J.M., Zok, S. 2002. Spatial and Temporal Spread of *Cassava Mosaic Virus* Disease in Cassava Grown Alone and when Intercropped with Maize and/or Cowpea. *J. Phytopathol.* 150(7): 365-374.

Harimalala, M., Lefeuvre, P., De Bruyn, A., Tiendrebeogo, F., Hoareau, M., Villemot, J., Ranomenjanahary, S., Andrianjaka, A., Reynaud, B., Lett, J.M. 2012. A novel cassava-infecting begomovirus from Madagascar: *cassava mosaic Madagascar virus*. *Arch. Virol.* 157(10): 2027-2030.

Jose, A., Makesh Kumar T. and Edison S. 2008. Host range of *Sri Lankan cassava mosaic virus*. *J. Root Crops* 34: 21-25.

Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., and Tamura, K., 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. *Mol. Biol. Evol.* 35(6): 1547-11549.

- Makeshkumar, T., Sankar, A., Nair, R.R., Edison, S. 2005. Detection of *cassava mosaic virus* in India using polymerase chain reaction and nucleic acid hybridization technique. *J. Root Crops* 31(1), 1-6.
- Malathi, V.G., Nair, N.G. and Shantha, P. 1985. Cassava Mosaic Disease. Technical Bulletin Series No.5, Central Tuber Crops Research Institute, Sreekariyam, Thiruvananthapuram, Kerala, India, 18p.
- Morris, B., Coates, L., Lowe, S., Richardson, K., Eddy, P. 1990. Nucleotide sequence of the infectious cloned DNA components of *African cassava mosaic virus* (Nigerian strain). *Nucleic Acids Res.* 18(1), 197-198.
- Pita, J.S., Fondong, V.N., Sangare, A., Otim-Nape, G.W., Ogwal, S., Fauquet, C.M. 2001. Recombination, pseudorecombination and synergism of geminiviruses are determinant keys to the epidemic of severe cassava mosaic disease in Uganda. *J. Gen. Virol.* 82 (Pt 3): 655-665.
- Uke, A., Hoat, T.X, Quan, M.V., Liem, N.V., Ugaki, M. and Natsuaki, K.T. 2018. First Report of *Sri Lankan Cassava Mosaic Virus* Infecting Cassava in Vietnam. *Plant Dis.* 102(12): 2669.
- Wang, H.-L., Cui, X.-Y., Wang, X.-W., Liu, S.-S., Zhang, Z.-H., Zhou, X. 2016. First Report of *Sri Lankan cassava mosaic virus* Infecting Cassava in Cambodia. *Plant Dis.* 100(5): 1029.
- Wang, D., Yao, X.M., Huang, G.X., Shi, T., Wang, G.F. and Ye, J. 2019. First Report of *Sri Lankan Cassava Mosaic Virus* Infected Cassava in China. *Plant Dis.* 103(6): 1437.
- Zhou, X., Robinson, D.J., Harrison, B.D. 1998. Types of variation in DNA-A among isolates of *East African cassava mosaic virus* from Kenya, Malawi and Tanzania. *J. Gen. Virol.* 79 (Pt 11): 2835-2840.

การทดลองที่ 12 การศึกษาสภาพของรา *Bipolaris zeicola* (G.L.Stout) Shoemaker สาเหตุโรค Northern Corn Leaf Spot ในประเทศไทย

- ประชุม จุฬารวชนะ, สุดฤดี ประเทืองวงศ์ และ จีรนนท์ แหยมสูงเนิน. 2548. การศึกษาโรคใบจุด (northern leaf spot) ของข้าวโพดที่เกิดจากเชื้อรา *Bipolaris zeicola* (Stout). หน้า 57-58. ใน : *บทความวิชาการประชุมวิชาการข้าวโพดข้าวฟ่างแห่งชาติ ครั้งที่ 32*. วันที่ 13-15 กรกฎาคม 2548. ณ โรงแรมไพลิน จ.สุโขทัย.
- พัฒนา สนธิรัตน์, ประไพศรี พิทักษ์ไพรวิน, ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์, วิรัช ชูบำรุง และ อุบล คือประโคน. 2537. *ดรชโรครพืชในประเทศไทย*. กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ. 285 หน้า.
- Berbee, M.L., M. Pirseyedi, and S. Hubbard. 1999. *Cochliobolus* phylogenetics and the origin of known, highly virulent pathogens, inferred from ITS and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gene sequences. *Mycologia* 91: 964-977.
- Carbone, I. and L.M. Kohn. 1999. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. *Mycologia* 91: 553-556.

- Crous, P.W., M.J. Wingfield, J. Guarro, R. Cheewangkoon, M. van der Bank, W.J. Swart, A.M. Stchigel, J.F. Cano-Lira, J. Roux, H. Madrid, U. Damm, A.R. Wood, L.A. Shuttleworth, C.S. Hodges, M. Munster, M. de Jesús Yáñez-Morales, L. Zúñiga-Estrada, E.M. Cruywagen, G.S. de Hoog, C. Silvera, J. Najafzadeh, E.M. Davison, P.J.N. Davison, M.D. Barrett, R.L. Barrett, D. S. Manamgoda, A.M. Minnis, N.M. Kleczewski, S.L. Flory, L.A. Castlebury, K. Clay, K.D. Hyde, S.N.D. Maússe-Sitoe, S. Chen, C. Lechat, M. Hairaud, L. Lesage-Meessen, J. Pawłowska, M. Wilk, A. Sliwińska-Wyrzychowska, M. Mętrak, M. Wrzosek, D. Pavlic-Zupanc, H.M. Maleme, B. Slippers, W.P. Mac Cormack, D.I. Archuby, N.J. Grünwald, M.T. Tellería, M. Dueñas, M.P. Martín, S. Marincowitz, Z.W. de Beer, C.A. Perez, J. Gené, Y. Marin-Felix and J.Z. Groenewald. 2013. Fungal Planet description sheets: 154-213. *Persoonia* 31: 188-296.
- 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.
- Hamid, A., J. Ayers, R. Schein and R. Jr. Hill. 1982. Components of Fitness Attributes in *Cochliobolus carbonum* Race 3. *Phytopathology* 72:1166–1169.
- de Hoog, G.S. and A.H.G. Gerrits van den Ende. 1998. Molecular diagnostics of clinical strains of filamentous basidiomycetes. *Mycosciences* 41: 183-189.
- 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: 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.
- Leonard, K. and S. Leath. 1990. Genetic diversity in field populations of *Cochliobolus carbonum* on corn in North Carolina. *Phytopathology* 80: 1154–1159.
- Lodge, D.J. and K.J. Leonard. 1984. A cline and other patterns of genetic variation in *Cochliobolus carbonum* isolates pathogenic to corn in North Carolina. *Canadian Journal of Botany* 62: 995–1005.
- Liu, M., J. Gao, F. Yin, G. Gong, C. Qin, K. Ye, M. Zhang, X. Sun, Y. Zhou and Y. Zhang. 2015. Transcriptome analysis of maize leaf systemic symptom infected by *Bipolaris zeicola*. *PLoS ONE* 10: e0119858. doi:10.1371/journal.pone.0119858.
- McMaugh, T. 2005. *Guidelines for Surveillance for Plant Pests in Asia and the Pacific*. ACIAR Monograph No. 119. 192 p.
- Manamgoda, D.S., L. Cai, A.H. Bahkali, E. Chukeatirote and K.D. Hyde. 2011. *Cochliobolus*: an overview and current status of species. *Fungal Diversity* 51: 3-42.

- Manamgoda, D.S., L. Cai, E.H.C. McKenzie, P.W. Crous, H. Madrid, E. Chukeatirote, R.G. Shivas, Y.P. Tan and K.D. Hyde. 2012. The phylogenetic and taxonomic re-evaluation of the *Bipolaris* - *Cochliobolus* - *Curvularia* Complex. *Fungal Diversity* 56: 131-144.
- Manamgoda, D.S., A.Y. Rossman, L.A. Castlebury, P.W. Crous, H. Madrid, E. Chukeatirote and K.D. Hyde. 2014. The genus *Bipolaris*. *Studies in Mycology* 79: 221-288.
- 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.
- Jones, M.J. and L.D. Dunkle. 1993. Analysis of *Cochliobolus carbonum* races by PCR amplification with arbitrary and gene-specific primers. *Phytopathology* 83:366-366.
- Jutawantana, P., T. Sommartya and J. Yhamsoomgnern. 2001. Biodiversity of corn disease pathogen in Thai ecology. Pages 192-201. In : *Proceeding of the 30th National Corn and Sorghum Research Conference 2001*. August 19-23, 2001. Ubon Ratchathani.
- Panichsukpatana, C. and T. Boon-long. 2002. *Maize diseases and their controls. Scientific paper*. Plant Pathology and Microbiology Division, Department of Agriculture. 69 pp.
- Romero, L.R. 2016. *Occurrence and importance of foliar disease on maize (Zea mays L.) in Central Europe*. Ph.D. thesis, the Faculty of Agricultural Sciences, Georg-August-University Göttingen, Germany. 225 pp.
- Ronquist, F. and J.P. Huelsenbeck. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572-1574.
- Schenck, N. and T. Stelter. 1974. Southern corn leaf blight development relative to temperature, moisture and fungicide application. *Phytopathology* 4:619-624.
- Shoemaker, R.A. 1959. Nomenclature of *Drechslera* and *Bipolaris*, grass parasites segregated from '*Helminosporium*'. *Canadian Journal of Botany* 37:879-887.
- Stamatakis, A. 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30: 1312-1313.
- Sumner, D. and R. Littrell. 1974. Influence of tillage, planting date, inoculum survival, and mixed populations on epidemiology of southern corn leaf blight. *Phytopathology* 64:168-173.
- Tan, Y.P., H. Madrid, P.W. Crous and R.G. Shivas. 2014. *Johnalcornia* gen. et. comb. nov., and nine new combinations in *Curvularia* based on molecular phylogenetic analysis. *Australasian Plant Pathology* 43: 589-603.
- 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.

- Vongkaw, S., D. Anchalisangas, P. Govittawawong and T. Boon-long. 1995. Causal organism symptom and epidemiology of leaf spot on maize in Thailand. Page 34. *In : Proceeding of the 26th National Corn and Sorghum Research Conference 1995*. August 29 - September 1, 1995. Ammarin Lagoon Hotel, Phitsanulok.
- Welz, H.G. and K.J. Leonard. 1993. Phenotypic variation and parasitic fitness of races of *Cochliobolus carbonum* on corn in North Carolina. *Phytopathology* 83:593-601.
- Welz, H.G. and K.J. Leonard. 1995. Gametic phase disequilibrium in populations of race 2 and race 3 of *Cochliobolus carbonum*. *European Journal of Plant Pathology* 101(3):301-310.
- White, T.J., T. Bruns, S. Lee and J. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Page 315-322. *In: M. Innis, D. Gelfand, J. Shinsky and T. White, eds. PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. Academic Press, San Diego.

การทดลองที่ 13 การศึกษาสถานภาพเชื้อแบคทีเรีย *Burkholderia glumae* สาเหตุโรค Bacterial Panicle Blight ในประเทศไทย

- กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2550. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. ๒๕๐๗ (ฉบับที่ ๕) พ.ศ. 2550 ประกาศ ณ วันที่ 26 เมษายน 2550. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 124 ตอนพิเศษ 66 ง. ลงวันที่ 1 มิถุนายน 2550.
- สำนักเศรษฐกิจการเกษตร. 2559. สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปี 2558. โรงพิมพ์สำนักงานพระพุทธศาสนาแห่งชาติ, กรุงเทพฯ. 215 น.
- Brenner, D.J., N.R. Krieg, J.T. Staley and G.M. Garrity. 2005. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd edn. New York: Springer.
- CAB International. 2014. *Crop Protection Compendium*. Wallingford, UK: CAB International.
- Fory, P.A., L. Triplett, C. Ballen, J.F. Abello, J. Duitama, M.G. Aricapa, G.A. Prado, F. Correa, J. Hamilton, J.E. Leach, J. Tohme, and G.M. Mosquera. 2013. Comparative analysis of two emerging rice seed bacterial pathogens. *Phytopathology* 104 (5): 436-444.
- Ham, J.H., R.A. Melanson and M.C. Rush. 2011. *Burkholderia glumae*: next major pathogen of rice? *Mol. Plant Pathol.* 12:329-339.
- Jeong, Y., J. Kim, S. Kim, Y. Kang, T. Nagamatsu and I. Hwang. 2003. Toxoflavin produced by *Burkholderia glumae* causing rice grain rot is responsible for inducing bacterial wilt in many field crops. *Plant Dis.* 87: 890-895.
- Sayler, R.J., R.D. Cartwright and Y.N. Yang. 2006. Genetic characterization and real-time PCR detection of *Burkholderia glumae*, a newly emerging bacterial pathogen of rice in the United States. *Plant Dis.* 90: 603-610.
- Schaad, N.W., J.B. Jones and W. Chun. 2001. *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*, 3rd edn. St. Paul, MN, USA: The American Phytopathological Society Press.

- Takeuchi, T., H. Sawada, F. Suzuki and I. Matsuda. 1997. Specific detection of *Burkholderia plantarii* and *B. glumae* by PCR using primers selected from the 16S-23S rDNA spacer regions. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 63: 455-462.
- Trung, H.M., N.V. Van, N.V. Vien, D.T. Lam and M. Lien. 1993. Occurrence of rice grain rot disease in Vietnam. *Int Rice Res Notes* 18: 30.
- Zhu, B., M.M. Lou, Y. Huai, G.L. Xie, J.Y. Lou and L.H. Xu. 2008. Isolation and identification of *Burkholderia glumae* from symptomless rice seeds. *Rice Sci.* 16: 145-149.

การทดลองที่ 14 การศึกษาสถานภาพแบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* สาเหตุโรค Bacterial speck ในประเทศไทย

- 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.
- กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2550. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 ประกาศ ณ วันที่ 26 เมษายน 2550. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 124 ตอนพิเศษ 66 ง. ลงวันที่ 1 มิถุนายน 2550.
- สำนักควบคุมพืชและวัสดุเกษตร กรมวิชาการเกษตร. 2562. ปริมาณและมูลค่าการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ควบคุม. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: http://www.doa.go.th/ard/?page_id=1443. (15 มกราคม 2563)
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. 2559. ข้อมูลการนำเข้าและส่งออกสินค้าเกษตร. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล http://www.oae.go.th/oae_report/export_import/export.php. (6 มกราคม 2560).
- CABI (CAB International). 2017. *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (bacterial speck). CAB International. (Online). Available. <https://www.cabi.org/cpc/search/?q=Pseudomonas+syringae+pv.+tomato> (15 January 2019).
- CABI (CAB International). 2019. *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (bacterial speck). CAB International. (Online). Available. <https://www.cabi.org/isc/datasheet/45020> (22 November 2019).
- Devash, Y., Bashan Y, Okon Y, Henis Y, 1979. Survival of *Pseudomonas* tomato in soil and seeds. *Hassadeh*, 60(3):597-601; [4 pl.].
- FAO. 2018. Surveillance. International Standards for Phytosanitary Measures (ISPM) No.6, FAO, Rome.
- Jan, S. 2013. New technique improves sensitivity of PCR pathogen detection. (Online). <http://www.ars.usda.gov/is/pr/2011/110421.htm>.
- McMaugh, T. 2008. คำแนะนำในการสำรวจศัตรูพืชในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก. ACIAR Monograph No. 199p.

Yang ChunQuan, Chen YiXiu, Lin Yu, Cai XueQing, Qiu SiXin, Liu ChunYing, Hu FangPing, 2008. Pathogen identification of bacterial speck of tomato in Fujian. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition). 37 (6), 570-574.

การทดลองที่ 15 การศึกษาสถานภาพเชื้อไวรัส *Maize dwarf mosaic virus* ในประเทศไทย

กฤษฎา สัมพันธ์รักษ์. 2537. พีชไร่. ไทยวัฒนาพานิช จำกัด, กรุงเทพฯ.

คณินนิตย์ เจริญวารการ, กาญจนา วาระวิชนี, สุภาพร กลิ่นคง, และสุพัฒน์ อรรถธรรม. 2549. ยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคไวรัสใบต่างอ้อยที่ก่อให้เกิดโรคในข้าวโพด. วารสารกาแพงแสน. 10-17.

คณินนิตย์ เจริญวารการ และ Kanungnit Reanwarakorn . 2550. การสำรวจโรคไวรัสใบต่างแคะข้าวโพด.

ปทุมธานี : สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ. คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. ม ห้างหุ้นส่วนพันนี้พับบลิชซิง. กรุงเทพฯ.

ชุตินันต์ พานิชศักดิ์พัฒนา โกมินทร์ วิโรจน์วัฒนกุล และ อติศักดิ์ คำนวนศิลป์. 2542 . เอกสารวิชาการ โรค

ข้าวโพดและการป้องกันกำจัด สถาบันวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตรป้องกันกำจัด. ระบบออนไลน์:

แหล่งข้อมูล: https://www.arda.or.th/kasetinfo/north/plant/corn_disease.html

(14 มกราคม 2565.)

ธีระ สุตะบุตร. 2532. โรคไวรัสและโรคคล้ายไวรัสของพืชสำคัญในประเทศไทย. ภาควิชาโรคพืช.

ราเชนทร์ ธิพร. 2539. ข้าวโพด(MAIZE). บริษัท ด่านสุทธาการพิมพ์ จำกัด.

วาสนา รุ่งสว่าง คณินนิตย์ เจริญวารการ สุภาพร กลิ่นคง และสุจินต์ ภัทรภูวดล. 2558. การศึกษาโรคแห้งตายในข้าวโพดหวาน. ว.วิชาการเกษตร. 33(1): 42-58.

วันวิสา ศิริวรรณ. 2551: จีโนมเชื้อไวรัสใบต่างอ้อยสาเหตุโรคใบต่างแคะข้าวโพด. วิทยานิพนธ์ ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์. 2564 . โรคใบต่างข้าวโพด. สืบค้นเมื่อ: 14 มกราคม 2565. จากเว็บไซต์:

<https://www.doa.go.th/fc/nakhonsawan/?p=3281>

Clark, M.F. and A.N., Adams. 1977 Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. J. Gen. Virol. 34:475-83.

Converse, R. and R., Martin. 1990. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 1. Viruses. In: Hamptom R., Ball E., DeBoer S. (eds) Serological method for detection and identification of virus and bacterial plants pathogens. APS Press, St. Paul, MN. pp. 179-196.

Gregory, L.V., J.E. Ayler. 1982. Effect of inoculum with *Maize dwarf mosaic virus* at several growth stages on yield of sweet corn. Plant Disease. 66:801-804.

Maathavi Kannan , Ismanizan Ismail and Hamidun Bunawan. 2018. Maize Dwarf Mosaic Virus: From Genome to Disease Management. Viruses, 10, 492: 1-23

Makone, S.M., Menge, D. and Basweti, E., 2014, Impact of maize lethal necrosis disease on maize yield: a case of Kisii, Kenya, Int. J. Agr. Ext. 2(3):211-218.

Mikel, M.A., C.J. D'Arey, A.M. Rhoades, and R.E. Ford. 1981. Yield loss in sweet corn correlated with time of inoculation of *Maize dwarf mosaic virus*. Plant Disease. 65:902-904.

Nault, L.R., Styer, W.E., Coffey, M.E., Gordon, D.T., Negi, L.S. and Niblett, C.L., 1978, Transmission of maize chlorotic mottle virus by Chrysomelid beetles, Phytopathology. 68: 1071-1074.

- Nelson, S.J., Brewbaker. and Hu, J., 2011, Maize chlorotic mottle virus, *Plant Dis.* 79: 1-6.
- Shepherd, R.J. 1965. Properties of a mosaic virus of corn and Johnson grass and its relation to the *Sugarcane mosaic virus*. *Phytopathology.* 55: 1250-1256.
- Shukla, D.D., C.W. Ward and A.A. Brunt. 1994. The Potyviridae. pp. 516. Wallingford, UK:CAB international.
- Solomon, R. and Franc. O. B. 1995: Inhibition of viral aphid transmission by the N-terminus of the Maize dwarf mosaic virus coat protein. *Virology* 213: 676-679
- Tosic, M. and R. E., Ford. 1974. Physical and Serological Properties of Maize Dwarf Mosaic and *Sugarcane Mosaic Viruses*. *Phytopathology.* 64: 312, 1974.
- Wangai, A.W., Redinbaugh, M.G., Kinyua, Z.M., Miano, D.W., Leley, P.K., Kasina, M., Mahuku, G., Scheets, K. and Jeffers, D., 2012, First report of maize chlorotic mottle virus and maize lethal necrosis disease in Kenya, *Plant Dis.* 96(10): 1582-1583.

การทดลองที่ 16 การศึกษาสถานภาพเชื้อไวรัส *Pepper mild mottle virus* ของพริกในประเทศไทย
 เครือพันธุ์ กิตติปกรณ Noda, Chiyoichi สุวรรณภา กลัดพันธุ์ และ นวลจันทร์ ตีมา. 2536. การศึกษาเกี่ยวกับไวรัสของพริกและการคัดเลือกพันธุ์พริกให้ต้านทานต่อไวรัสบางชนิด. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 31 สาขาพืช 3-6 กุมภาพันธ์ 2536. หน้า 331-340

ธีรวิศิษฐ์ แพทย์สมาน รัชณี ฮงประยูร และ สิริกุล วะสี. 2560. โพลีโคลนอลแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสใบต่างพริก: การผลิตคุณสมบัติและการนำไปใช้ในการตรวจวินิจฉัย. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร ปีที่ 48 ฉบับที่ 3 หน้า 403-414.

Teewasit Phatsaman. 2017. Epidemiology of Pepper Viruses in Thailand and Development of Diagnostic Techniques for Related Tobamoviruses. Thesis, Kasetsart University.

การทดลองที่ 17 การศึกษาสถานภาพของเชื้อไวรัส *African cassava mosaic virus (ACMV)* ในประเทศไทย

กาญจนา วาระวิชนี รัชสี เจริญสถาพร และแสนชัย คำหล้า. 2556. การศึกษาเพื่อยืนยันว่าไม่มีการติดเชื้อไวรัส *African cassava mosaic virus (ACMV)* ในมันสำปะหลัง. สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.). (ออนไลน์). แหล่งข้อมูล : https://oer.learn.in.th/search_detail/result/25820 (6 มิถุนายน 2561).

กาญจนา วาระวิชนี รัชสี เจริญสถาพร และแสนชัย คำหล้า. 2557. การศึกษาเพื่อยืนยันว่าไม่มีการติดเชื้อไวรัส *African cassava mosaic virus (ACMV)* ในมันสำปะหลัง. สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.). (ออนไลน์). แหล่งข้อมูล : <https://waa.inter.nstda.or.th/stks/pub/2015/20150727-cassava-portfolio-enemy-8.pdf> (6 มิถุนายน 2561).

กาญจนา วาระวิชนี แสนชัย คำหล้า และปริญพรรณ พงศาพิชณ์. 2561. การตรวจเชื้อไวรัส *African cassava mosaic virus (ACMV)* ศัตรูพืชกักกันในมันสำปะหลัง ด้วยเทคนิคทางเซรัมวิทยาและอณูชีววิทยา. รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด ปี 2561. กรมวิชาการเกษตร.

ปัญญาวุฒิ อัมพูชินทร , อำไพวรรณ ภราดรนุวัฒน์ และศรีเมฆ ชาวโพพงพาง. 2559. การเฝ้าระวังการระบาดของเชื้อไวรัสใบต่างมันสำปะหลังในประเทศไทย. *Agricultural Sci. J.* 47 (3) : 417 – 428 (2016)

- BOCK, K. R. and R. D. WOODS. 1983. Etiology of African cassava mosaic disease. *Plant Disease* 67: 994-995.
- Calvert, L.A. and J.M. Thresh. (2002). The Viruses and Virus Diseases of Cassava, chapter 12. In CAB International 2002. *Cassava : Biology, Production and Utilization* (eds. K. J. Hilllocks, J.M. Thresh and A.C. Bellotti) pp. 237-260. Kent ME4 4TB, UK.
- Fargette, D., M. Jeger., C. Fauquet. and L.D. Fishpool., (1994). Analysis of Temporal Disease Progress of African Cassava Mosaic Virus. *Phytopathology* 54 ; 1 91-98.
- Fauquet C. and D Fargette. 1990. African Cassava Mosaic Virus: Etiology, Epidemiology, and Control. Laboratoire de Phytovirologie, ORSTOM, Abidjan, Ivory Coast. *Plant Disease*. 74: 404-411.
- Fondong, V.N., Pita, J.S., Rey, M.E.d.K.A., Beachy, R.N., Fauquet, C.M., (2000). Evidence of synergism between African cassava mosaic virus and a new double-recombinant geminivirus infecting cassava in Cameroon. *J. Gen. Virol.* 81(Pt1), 287-297.
- Harrison, B.D., Zhou, X., Otim-Nape, G.W., Liu, Y., and Robinson, D.J. 1997. Role of a novel type of double infection in the geminivirus-induced epidemic of severe cassava mosaic in Uganda. *Annals of Applied Biology* 131: 437-448.
- Geminiviridae Study-Group Taxonomic Proposals 2002. (2002). ICTV – Plant Virus Subcommittee Study Group on Geminiviruses. online: (<http://ictvonline.org/proposals/2002.P108-109.Geminiviridae.pdf>, 6 มิถุนายน 2559)
- Legg, J.P., Thresh, J.M., (2000). Cassava mosaic virus disease in East Africa: a dynamic disease in a changing environment. *Virus Res.* 71(1-2): 135-149.
- Wang, H.-L., Cui X.-Y., Wang X.-W., Liu S.-S., ZhangZ.-H. and ZhouX. 2016. First Report of Sri Lankan cassava mosaic virus Infecting Cassava in Cambodia. *Plant Dis.* 100: 1029.

การทดลองที่ 18 การศึกษาสถานภาพเชื้อแบคทีเรีย *Xylella fastidiosa* ของงุ่นในประเทศไทย

- 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.
- กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2550. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. ๒๕๐๗ (ฉบับที่ ๕) พ.ศ. 2550 ประกาศ ณ วันที่ 26 เมษายน 2550. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 124 ตอนพิเศษ 66 ง. ลงวันที่ 1 มิถุนายน 2550.
- สุภรดา สุนทรนิรมย ณ พัทลุง เสาวนิตย โพธิ์พูนศักดิ์ ศรีจันทรา และพฤทธิชาติ ปุณวัฒน์. 2563. เอกสารวิชาการ คำแนะนำการป้องกันแมลง-สัตว์ศัตรูพืช อย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัยจากงานวิจัย. กลุ่มบริหารศัตรูพืช/กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 230 หน้า.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. 2559. ข้อมูลการนำเข้าและส่งออกสินค้าเกษตร. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล http://www.oae.go.th/oae_report/export_import/export.php. (6 มกราคม 2560).

- CABI (CAB International). 2022. *Xylella fastidiosa* (Pierce's disease of grapevines). CAB International. (Online). Available. <http://www.cabi.org/cpc/datasheet/57195>. (17 January 2022).
- EFSA (European Food Safety Authority), 2018. Update of the *Xylella* spp. host plant database. EFSA Journal 2018;16(9):5408, 87 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5408>
- EFSA (European Food Safety Authority), 2020. Update of the *Xylella* spp. host plant database – systematic. EFSA Journal 2020;18(4):6114, 61 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6114>
- FAO. 2018. Surveillance. International Standards for Phytosanitary Measures (ISPM) No.6, FAO, Rome.
- Jan Suszkiw. 2013. New technique improves sensitivity of PCR pathogen detection. (Online). <http://www.ars.usda.gov/is/pr/2011/110421.htm>. (11 January 2017).
- McMaugh, T. 2008. คำแนะนำในการสำรวจศัตรูพืชในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก. ACIAR Monograph No. 119, 199 p.
- Minsavage G.V., C.M. Thompson, D.L. Hopkins, R.M.V.B. Leite and R.E. stall, 1994. Development of polymerase chain reaction protocol for the detection of *Xylella fastidiosa* in plant tissue. Phytopathology 84, 456-461.

การทดลองที่ 19 การศึกษาสถานภาพด้วงฟุเรอโรส *Pantomorus cervinus* (Boheman) ของพืชตระกูลส้มในประเทศไทย

- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2559. ข้อมูลภาวะการผลิตพืช. ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร กรมส่งเสริมการเกษตร. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : <http://production.doae.go.th/home/index.php> (1 มีนาคม 2560)
- กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2550. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 7) พ.ศ. 2550 ประกาศ ณ วันที่ 27 กรกฎาคม 2550 ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 124 ตอนพิเศษ 109 ง. ลงวันที่ 5 กันยายน 2550.
- ชัยพร บัวมาศ ชลิตา อุณหวุฒิ ลักษณ์า บำรุงศรี สุนัดดา เซาวลิต ประภัสสร เขยคำแหง อธิพิล บรรณาการและสายชล แสงแก้ว. 2556. สำรวจและจำแนกชนิดของเพลี้ยแป้งและแมลงศัตรูพืชน้อยหน้าในพื้นที่จังหวัดนครราชสีมา. หน้า 521. ใน: รายงานผลวิจัยประจำปี 2556.สำนักงานวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.
- ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ.2550 (2550, 1 มิถุนายน). ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 124 ตอนพิเศษ 66 ง. หน้า 4-14.
- สุภรดา สุคนธาภิรมย์ ณ พัทลุง เสาวนิตย โพธิ์พูนศักดิ์ ศรีจันทรจ ศรีจันทรธา และพฤทธิชาติ ปุญวัฒน์. 2563. เอกสารวิชาการ คำแนะนำการป้องกันแมลง-สัตว์ศัตรูพืช อย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัยจากงานวิจัย. กลุ่มบริหารศัตรูพืช/กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักงานวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 230 หน้า.
- Alonso-Zarazaga M.A., Lyal C.H.C. 1999. A World Catalogue of Families and Genera of Curculionoidea (Insecta: Coleoptera): Excepting Scolytidae and Platypodidae. Entomopraxis, Sociedad Civil Particular (S.C.P).
- Anon. Weevil threatens export markets. Australian Citrus News. 2004; 80:22.

- Biosecurity Australia. 2011. Management program for Fuller's rose weevil for export of citrus from Australia to Thailand. Department of Agriculture, Fisheries and Forestry.
- CABI. 2017. Crop Protection Compendium. Wallingford, UK: CAB International. (Online). Available. <http://www.cabi.org/cpc>. (February 27, 2017).
- Chadwick CE. 1965. A checklist of the Brachyderinae (Col., Curculionidae) occurring in Australia. *Journal of the Entomological Society of Australia* 2: 21-34.
- FAO, 2018. Surveillance. International Standards for Phytosanitary Measures (ISPM) No.6, FAO, Rome.
- Lakin KR. and Morse JG. 1989. A degree-day model for Fuller's rose beetle, *Pantomorus cervinus* (Boheman) (Col., Curculionidae) egg hatch. *Journal of Applied Entomology* 107: 102-106.
- Madge DG, Clarke K, Buchanan GA, Wilkins B. 1992. Seasonal abundance and distribution of Fuller's rose weevil, *Asynonychus cervinus* (Boheman) (Coleoptera: Curculionidae) in Sunraysia citrus groves. *Plant Protection Quarterly*; 7(1): 3-6.
- Masaki M. and Kadoi M. 1997. Host plants of *Pantomorus cervinus* (Boheman) and relationship between fecundity or longevity and its host plants. *Research Bulletin of the Plant Protection Service, Japan* 33: 1-6.
- McMaugh, T. 2008. คำแนะนำในการสำรวจศัตรูพืชในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก. ACIAR Monograph No. 119c.

- การทดลองที่ 20 การศึกษาสภาพเพลี้ยหอย *Aspidiotus nerii* Bouche' ของพืชตระกูลส้มในประเทศไทย**
- กรมวิชาการเกษตร. 2553. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าผลลงุ่นสดจากสาธารณรัฐเปรู พ.ศ. 2553 ประกาศ ณ วันที่ 21 ธันวาคม 2553. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 128 ตอนพิเศษ 1 ง. ลงวันที่ 7 มกราคม 2554.
- กรมวิชาการเกษตร. 2555ก. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าผลกีวีสดจากสาธารณรัฐชิลี พ.ศ. 2555 ประกาศ ณ วันที่ 6 มิถุนายน 2555. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 129 ตอนพิเศษ 89 ง. ลงวันที่ 11 พฤษภาคม 2555.
- กรมวิชาการเกษตร. 2555ข. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าผลส้มสดจากสาธารณรัฐแอฟริกาใต้ พ.ศ. 2555 ประกาศ ณ วันที่ 26 เมษายน 2555 ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 129 ตอนพิเศษ 87 ง. ลงวันที่ 30 พฤษภาคม 2555.
- กรมวิชาการเกษตร. 2556ก. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าผลกีวีสดจากสาธารณรัฐฝรั่งเศส พ.ศ. 2556 ประกาศ ณ วันที่ 18 มีนาคม 2556. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 130 ตอนพิเศษ 73 ง. ลงวันที่ 19 เมษายน 2556.
- กรมวิชาการเกษตร. 2556ข. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าผลกีวีสดจากเครือรัฐออสเตรเลีย พ.ศ. 2556 ประกาศ ณ วันที่ 27 พฤษภาคม 2556. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 130 ตอนพิเศษ 73 ง. ลงวันที่ 20 มิถุนายน 2556.
- กรมวิชาการเกษตร. 2556ค. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าผลสาลี่สดจากเครือรัฐออสเตรเลีย พ.ศ. 2556 ประกาศ ณ วันที่ 18 มีนาคม 2556 ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 130 ตอนพิเศษ 48 ง. ลงวันที่ 17 เมษายน 2556.

- กรมวิชาการเกษตร. 2556ง. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าผลส้มสดจากเครือรัฐออสเตรเลีย พ.ศ. 2556 ประกาศ ณ วันที่ 22 มีนาคม 2556 ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 130 ตอนพิเศษ 49 ง. ลงวันที่ 19 เมษายน 2556.
- กรมวิชาการเกษตร. 2556จ. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าผลงุ่นสดจากสาธารณรัฐชิลี พ.ศ. 2556 ประกาศ ณ วันที่ 18 มีนาคม 2556. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 130 ตอนพิเศษ 49 ง. ลงวันที่ 19 เมษายน 2556.
- กรมวิชาการเกษตร. 2558ก. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าผลกีวีสดจากนิวซีแลนด์ พ.ศ. 2558 ประกาศ ณ วันที่ 23 กันยายน 2558. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 132 ตอนพิเศษ 267 ง. ลงวันที่ 27 ตุลาคม 2558.
- กรมวิชาการเกษตร. 2558ข. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าผลพลับสดจากเครือรัฐออสเตรเลีย พ.ศ. 2558 ประกาศ ณ วันที่ 22 กันยายน 2558. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 132 ตอนพิเศษ 260 ง. ลงวันที่ 20 ตุลาคม 2558.
- กรมวิชาการเกษตร. 2558ค. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าผลพลับสดจากนิวซีแลนด์ พ.ศ. 2558 ประกาศ ณ วันที่ 23 กันยายน 2558. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 132 ตอนพิเศษ 267 ง. ลงวันที่ 27 ตุลาคม 2558.
- กรมวิชาการเกษตร. 2558ง. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าผลส้มสดจากญี่ปุ่น พ.ศ. 2558 ประกาศ ณ วันที่ 29 ธันวาคม 2558 ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 133 ตอนพิเศษ 13ง. ลงวันที่ 18 มกราคม 2559.
- กรมวิชาการเกษตร. 2558จ. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าผลงุ่นสดจากเครือรัฐออสเตรเลีย พ.ศ. 2558 ประกาศ ณ วันที่ 22 กันยายน 2558. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 132 ตอนพิเศษ 260 ง. ลงวันที่ 20 ตุลาคม 2558.
- กรมวิชาการเกษตร. 2558ฉ. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าผลงุ่นสดจากสาธารณรัฐแอฟริกาใต้ พ.ศ. 2558 ประกาศ ณ วันที่ 29 ธันวาคม 2558. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 133 ตอนพิเศษ 13 ง. ลงวันที่ 18 มกราคม 2559.
- กรมวิชาการเกษตร. 2558ช. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าผลแอปริคอตสดจากนิวซีแลนด์ พ.ศ. 2558 ประกาศ ณ วันที่ 23 กันยายน 2558 ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 132 ตอนพิเศษ 267 ง. ลงวันที่ 27 ตุลาคม 2558.
- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2559. ข้อมูลภาวะการผลิตพืช. ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร กรมส่งเสริมการเกษตร. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : <http://production.doae.go.th/home/index.php> (1 มีนาคม 2560)
- กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2550. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 7) พ.ศ. 2550 ประกาศ ณ วันที่ 27 กรกฎาคม 2550 ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 124 ตอนพิเศษ 109 ง. ลงวันที่ 5 กันยายน 2550.
- บุปผา เหล่าสินชัย และชลิตา อุณหวุฒิ. 2543. เพลี้ยแป้งและเพลี้ยหอยศัตรูพืชที่สำคัญ. เอกสารวิชาการ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 70 หน้า.
- สุภรดา สุคนธาภิรมย์ ณ พัทลุง เสาวนิตย โพธิ์พูนศักดิ์ ศรีจันทร์จรรยา และพฤทธิชาติ ปุญวัฒน์. 2563. เอกสารวิชาการ คำแนะนำการป้องกันแมลง-สัตว์ศัตรูพืช อย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัยจากงานวิจัย. กลุมบริหารศัตรูพืช/กลุมกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 230 หน้า.

- Beardsley, J. W. Jr. and R. H. Gonzalez. 1975. The biology and ecology of armored scales. Annual Review of Entomology. 20: 47-73.
- CABI (CAB International). 2017. *Aspidiotus nerii* (Oleander scale). CAB International. (Online). Available.<http://www.cabi.org/cpc/datasheet/7418>. (30 January 2017)
- FAO. 2018. Surveillance. International Standards for Phytosanitary Measures(ISPM) No.6, FAO, Rome.
- McMaugh, T. 2008. คำแนะนำในการสำรวจศัตรูพืชในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก. ACIAR Monograph No. 119c.
- Provenchera, L.M., Morseabc, G.E., Weeksde, A.R., and Normark, B.B. 2005. Parthenogenesis in the *Aspidiotus nerii* Complex (Hemiptera: Diaspididae): A Single Origin of a Worldwide, Polyphagous Lineage Associated with Cardinium Bacteria. Annals of the Entomological Society of America 98(5):629-635. (Online). Available.<http://www.researchgate.net/>. (1 February 2017).
- Scalenet.info. 2017. Valid Names Results *Aspidiotus nerii* (Bouche) (Diaspididae: Aspidiotus). (Online). Available.<http://scalenet.info/catalogue/Aspidiotus%20nerii/>. (10 February 2017)
- Williams, D.J. and G.W. Watson. 1988. The Scale Insects of the Tropical South Pacific Region Part 1. Armoured Scales (Diaspididae). CAB International Institute of Entomology, Wallingford. 290 pp.

การทดลองที่ 21 การศึกษาสถานภาพวัชพืช *Chenopodium album* L. ของพืชผักในประเทศไทย

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.

กรมศุลกากร. 2559. รายงานสถิติการนำเข้าสินค้า. (ระบบออนไลน์).

แหล่งข้อมูล : http://www.customs.go.th/statistic_report.php?tab=by_country (14 มีนาคม 2560)

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2559. ระบบสารสนเทศการผลิตทางด้านเกษตร Online.

แหล่งข้อมูล : http://production.doe.go.th/report/report_main2.php?report_type=1 (14 มีนาคม 2560)

CABI (CAB International). 2015. *Chenopodium album* (fat hen). CAB International. (Online).

Available <http://www.cabi.org/cpc/datasheet/12648> (14 March 2017)

FAO. 2018. Surveillance. International Standards for Phytosanitary Measures(ISPM) No.6, FAO, Rome.

Holm LG, Plucknett DL, Pancho JV and Herberger JP, 1977. The World's Worst Weeds. Distribution and Biology. Honolulu, Hawaii, USA: University Press of Hawaii.

Holt JS and LeBaron HM. 1990. Significance and distribution of herbicide resistance. Weed Technology, 4(1):141-149

McMaugh, T. 2008. คำแนะนำในการสำรวจศัตรูพืชในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก. ACIAR Monograph No. 119c.

Mitch LW, 1988. Common lambsquarters. Weed Technology, 2(4):550-552

- การทดลองที่ 22 การศึกษาสถานภาพไส้เดือนฝอยศัตรูพืช *Meloidogyne thailandica* ในขิงของประเทศไทย
มนตรี เอี่ยมวิม้งสา.2538. ผลของสารเคมีและเชื้อรา *Paecilomyces lilacinus* ต่อไส้เดือนฝอยรากปม
Meloidogyne incognita ในแง่งพันธุ์ขิง. วิทยานิพนธ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 94 หน้า.
- Adams, B.J., A.R. Dillman and C. Finlinson. 2009. Molecular taxonomy and phylogeny pp.
119–138. In : R. N. Perry, M. Moens and J. L. Starr,. eds. *Root-knot nematodes*. CABI
publishing,Wallingford, UK
- Cliff, G.M. and H. Hirschmann. 1984. *Meloidogyne microcephala* n. sp. (Meloidogynidae), a
root-knot nematode from Thailand. *Journal of Nematology*.6:183–193.
- Eisenback, J. D. and H. H. Triantaphyllou. 1991. Root-knot nematodes: *Meloidogyne* species
and races. pp. 191-274. In : W. R. Nickle, ed., *Manual of Agricultural Nematology*.
Marcell Dekker, New York.
- European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO).2013. PM 9/17 (1)
Meloidogyne chitwoodi and *Meloidogyne fallax*. *OEPP/EPPO Bulletin* 43 (3), 527–533
<https://archives.eppo.int/EPPOStandards/diagnostics.htm> (June 8, 2014)
- European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO).2013. PM 7/119
Nematode extraction.*Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 43 (3), 471–495
<https://archives.eppo.int/EPPOStandards/diagnostics.htm> (June 8, 2014)
- European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO).2016. PM 7/103
Meloidogyne enterolobii. *OEPP/EPPO Bulletin* 46 (2), 190–201
<https://archives.eppo.int/EPPOStandards/diagnostics.htm> (August 10, 2016)
- Handoo, Z. A., A. M. Skantar, L. K. Carta and E. F. Erbe. 2005a. Morphological and
molecular characterization of a new root-knot nematode, *Meloidogyn*
thailandica n. sp. (Nematoda: Meloidogynidae) parasitizing ginger (*Zingiber* pp.) in
Thailand. *Journal of Nematology* 37:343–353.
- Hunt, D. J. and Z. A. Handoo. 2009. Taxonomy, Identification and Principal Species. pp. 55-97
In R. N. Perry, M. Moens, and J. L. Starr.eds. *Root-knot Nematodes*. CABI publishing,
Wallingford, UK
- FAO. 2006. International Standards for Phytosanitary Measures ISPM No. 6 Guidelines for
surveillance (1997). online available at [http://www.acfs.go.th/sps/downloads/16199_](http://www.acfs.go.th/sps/downloads/16199_ISPM_6_E.pdf)
[ISPM_6_E.pdf](http://www.acfs.go.th/sps/downloads/16199_ISPM_6_E.pdf)(16 August 2015)
- Mai, W.F., P.G. Mullin, H.H. Lyon and K. Loeffler. 1996. *Plant-parasitic nematodes: a pictorial*
key to genera. Cornell University Press, Ithaca, NY.
- Toida, Y., N.Tangchitsomkid, S. Keereewan and T. Mizukubo. 1996. Nematode species
attacking crops in Thailand with measurements of second-stage juveniles of
Meloidogyne spp. *Japan International Research Center for Agricultural Sciences*
Journal 3:59–68

การทดลองที่ 23 การศึกษาสถานภาพเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas fuscovaginae* สาเหตุโรค Brown sheat rot ของข้าวในประเทศไทย

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2550. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้าม ตาม พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 ประกาศ ณ วันที่ 26 เมษายน 2550. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 124 ตอนพิเศษ 66 ง. ลงวันที่ 1 มิถุนายน 2550.

Ash, G.J., J.M. Lang, L.R. Triplett, B.J. Stodart, V. Verdier, C.V. Cruz, P. Rottand and J.E. Leach. 2014. Development of a genomics-based lamp (loop-mediated isothermal amplification) assay for detection of *Pseudomonas fuscovaginae* from rice. *Plant Dis* 98: 909– 915.

Bigirimana, V.P., G.K.H. Hua, O.I. Nyamangyoku and M. Höfte. 2015. Rice Sheath Rot: An Emerging Ubiquitous Destructive Disease Complex. *Front. Plant Sci.* 6: 1066. doi: 10.3389/fpls.2015.01066.

Cahyaniati, A and C.N. Mortensen. 1995. Bacterial sheath brown rot of rice (*Pseudomonas fuscovaginae*) grown in Indonesia. Seed Health Testing Association (ISTA) Pre-Congress Seminar on Seed Pathology, Copenhagen, Denmark, June 6, 1995.

Cother, E., B. Stodart, D. Noble, R. Reinke and R. V. D. Ven. n, 2009. Polyphasic identification of *Pseudomonas fuscovaginae* causing sheath and glume lesions on rice in Australia. *Aust. Plant Pathol.*, 38: 247-261.

Cottyn, B., M.T. Cerez and T.W. Mew, 1994. Bacteria. In: A Manual of Rice Seed Health Testing, Mew, T.W. and J.K. Misra (Eds.). International Rice Research Institute, Philippines, pp: 29-46.

Duveiller, E., Martinez, C., and Maraite, H 1990. Seed detection of *Pseudomonas fuscovaginae* on wheat. *Med. Fac. Landbouw. Rijksuniv. Gent, Belgium* 55(3a): 1047-1053.

Miyajima, K., A. Tanii, and T. Akita. 1983. *Pseudomonas fuscovaginae* sp. nov., nom. rev. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* 33: 656-657.

Zeigler, R. S., and E. Alvarez. 1987. Bacterial sheath brown rot of rice caused by *Pseudomonas fuscovaginae* in Latin America. *Plant Disease.* 71: 592-597.

การทดลองที่ 24 การศึกษาสถานภาพของเชื้อไวรัส *Lettuce mosaic virus* สาเหตุโรคใบต่างผักกาดหอมในประเทศไทย

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2550. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้าม ตาม พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 ประกาศ ณ วันที่ 26 เมษายน 2550. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 124 ตอนพิเศษ 66 ง. ลงวันที่ 1 มิถุนายน 2550.

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2550. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. ๒๕๐๗ (ฉบับที่ ๕) พ.ศ. 2550 ประกาศ ณ วันที่ 26 เมษายน 2550. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 124 ตอนพิเศษ 66 ง. ลงวันที่ 1 มิถุนายน 2550.

กรมวิชาการเกษตร. 2559. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย. โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ 288 หน้า.

- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2561. ระบบสารสนเทศการผลิตทางด้านการเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล <http://production.doae.go.th> (3 พฤษภาคม 2561).
- สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2562. ปริมาณและมูลค่าการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ควบคุมฯ. http://www.doa.go.th/ard/?page_id=1443. สืบค้นเมื่อวันที่ 5 กรกฎาคม 2564.
- Biosecurity Australia. 2016. Biosecurity Import Risk Analysis Guidelines 2016. Agriculture and Water Resources 2016, Biosecurity Import Risk Analysis Guidelines 2016: managing biosecurity risks for imports into Australia, Department of Agriculture and Water Resources, Canberra.
- Blancard, D., Lot, H. and Maisonneuve, B. 2006. A Color Atlas of Diseases of Lettuce and Related Salad Crops Observation, Biology and Control. Academic Press. San Diego. 297-300.
- Centre for Agriculture and Biosciences International (CABI). 2020. Crop Protection Compendium. Available source: <http://www.cabi.org/cpc/> (site date: April 20, 2020).
- Davis, R.M., Subbarao, K.V., Raid, R.N. and Kurtz, E.A. 1997. Compendium of Lettuce Disease. The American Phytopathological Society. St.Paul. 43-44.
- Dinant, S. and Lot, H. 1992. Lettuce mosaic virus. Plant Pathology, 41(5):528-542.
- European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO). 2020. Lettuce mosaic virus in EPPO Global database. <https://gd.eppo.int/taxon/LMV000/categorization>. (site date: April 20, 2020)
- Falk BW, Purcifull DE, 1983. Development and application of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) test to index lettuce seeds for lettuce mosaic virus in Florida. Plant Disease, 67(4):413-416
- Food and Agriculture Organization (FAO). 2018. Surveillance. International Standards for Phytosanitary Measures (ISPM) No.6, FAO, Rome.
- FAO. 2019a. International Standards for Phytosanitary Measures no. 2: Framework for pest risk analysis (2007). (Online). Available. <http://www.ippc.int/publications/framework-pest-risk-analysis>.
- FAO. 2019b. International Standards for Phytosanitary Measures no. 11: Pest Risk Analysis for Quarantine Pests (2013). (Online). Available. <http://www.ippc.int/publications/pest-risk-analysis-quarantine-pests>.
- International Seed Federation (ISF). 2017. Method for the Detection of *Lettuce Mosaic Virus* in *Lettuce* Seed and Seedlings. Version 4.3, 2017.
- Krause-Sakate, R., Mello, R. N., Pavan, M. A., Zambolim, E. M., Carvalho M. G., Le Gall, O. & Zerbini, F. M. 2001. Molecular characterization of two Brazilian isolates of Lettuce mosaic virus with distinct biological properties. Fitopatologia Brasileira 26:153- 157.
- McMaugh, T. 2005. Guidelines for Surveillance for Plant Pests in Asia and the Pacific. ACIAR Monograph No. 119, 192p.
- McMaugh, T. 2008. คำแนะนำในการสำรวจศัตรูพืชในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก. ACIAR Monograph No. 119, 199 p.

- Phatak HC, 1974. Seed-borne plant viruses - Identification and diagnosis in seed health testing. *Seed Science and Technology*, 2:3-155.
- Raid RN, Nagata RT, Brown LG, 1996. A recent outbreak of Lettuce mosaic potyvirus in commercial lettuce production in Florida. *Plant Disease*, 80(3): 343; 1 ref.
- Revers, F., Lot, H., Souche, S., Gall, O. L., Candresse, T. and Dunez, J. 1997b. Biological and molecular variability of lettuce mosaic virus isolates. *Phytopathology* 87:397-403.
- Shukla DD, Ward CW, Brunt AA, 1994. *The Potyviridae*. Wallingford, UK; CAB International, 516 pp.

กรมวิชาการเกษตร

กรมวิชาการเกษตร