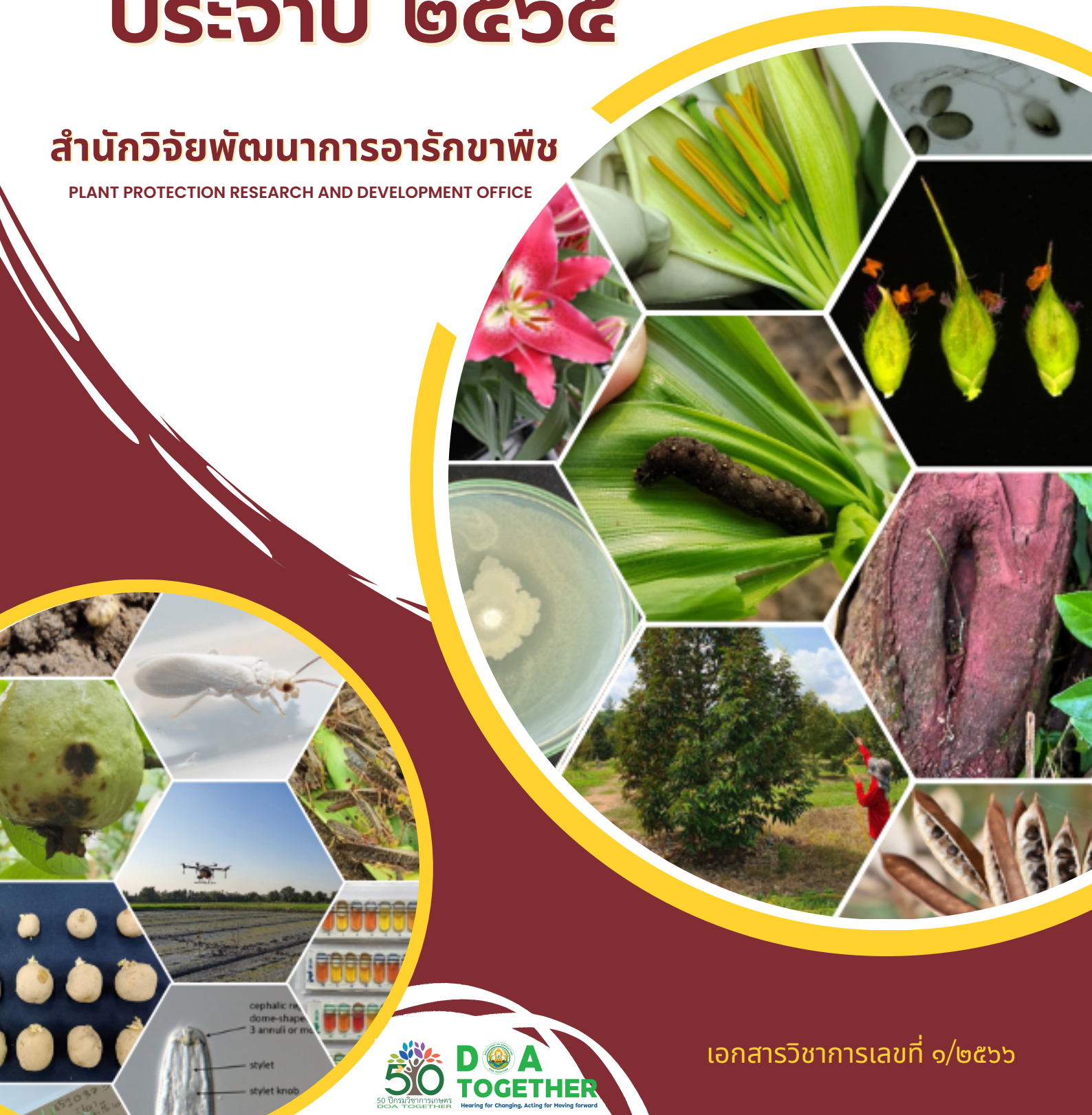
เล่มที่ ๓

ผลงานวิจัย ประจำปี ๒๕๖๕

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

PLANT PROTECTION RESEARCH AND DEVELOPMENT OFFICE



เอกสารวิชาการเลขที่ ๑/๒๕๖๖

รายงาน
ผลงานวิจัยประจำปี ๒๕๖๕
เล่ม ๓

เอกสารวิชาการลำดับที่ ๑/๒๕๖๖

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

วิสัยทัศน์

กรมวิชาการเกษตรเป็นองค์กรที่เป็นเลิศด้านการวิจัยและพัฒนาด้านพืช เครื่องจักรกลการเกษตร และเป็นศูนย์กลางรับรองมาตรฐานสินค้าเกษตรด้านพืชในระดับสากล บนพื้นฐานการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม ภายใต้สมดุลวัฒนธรรมองค์กร ภายในปี พ.ศ. 2570

ค่านิยม

ซื่อสัตย์ โปร่งใส งานวิจัยมีคุณภาพ

วัฒนธรรมองค์กร

รักองค์กร ทำงานอย่างมีเป้าหมาย และมุ่งผลสัมฤทธิ์

พันธกิจ

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

คำนำ

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

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

แผนงานวิจัยที่สนับสนุนเศรษฐกิจชีวภาพ (Bio Economy) ประกอบด้วยการทดลองในโครงการวิจัยเทคโนโลยีการผลิตพืชสกุลกัญชาเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ โครงการวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการอารักขากัญชาในสภาพการปลูกภายในอาคาร อยู่ภายใต้แผนงานวิจัยสังกัดสำนักผู้เชี่ยวชาญ โครงการวิจัยนวัตกรรมแหล่งโปรตีนใหม่จากความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตนเพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มขับเคลื่อนธุรกิจชีวภาพ อยู่ภายใต้แผนงานวิจัยสังกัดสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

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

รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2565 เป็นผลงานวิจัยที่นักวิจัยสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชมีความมุ่งมั่นดำเนินการ สนับสนุนการนำไปใช้ประโยชน์ในกลุ่มเป้าหมาย เพื่อก่อให้เกิดผลกระทบในวงกว้าง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ขอขอบคุณในความตั้งใจ ความมุ่งมั่นของนักวิจัย และขอบคุณที่ได้รับความร่วมมืออย่างดีเสมอมา

(นายปัญญา พุกสุ่น)
ผู้อำนวยการสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
กรกฎาคม 2566

สารบัญ

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

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

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

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

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพืชสกุลกัญชาและพืชกระท่อมเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์

โครงการวิจัยย่อย การวิจัยและพัฒนาพืชสกุลกัญชาและพืชกระท่อมเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์

กิจกรรมที่ 6 การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการอารักขากัญชาในสภาพการปลูกแบบภายในอาคาร

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง

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

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการสร้างมูลค่าเพิ่มจากความหลากหลายทางชีวภาพของพืช เห็ด จุลินทรีย์ และศัตรูธรรมชาติ เพื่อการอนุรักษ์ใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน

โครงการวิจัยย่อย นวัตกรรมแหล่งโปรตีนใหม่จากความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตน (Orthoptera) เพื่อสร้างมูลค่าเพิ่ม ขับเคลื่อนธุรกิจชีวภาพ

กิจกรรมที่ -

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง

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

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

โครงการวิจัย วิจัยนวัตกรรมการผลิตและเทคโนโลยีการใช้ชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืชเพื่อการอารักขาพืชอย่างยั่งยืน

โครงการวิจัยย่อย วิจัยพัฒนาการผลิตและการใช้ตัวห้ำตัวเบียนเพื่อควบคุมศัตรูพืชในการผลิตพืชปลอดภัย

กิจกรรมที่ 1.วิจัยการผลิตขยายแมลงห้ำแมลงเบียนเพื่อพัฒนาศักยภาพเป็นชีวภัณฑ์ใหม่ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช

กิจกรรมย่อยที่ 1.1 พัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายด้วงเต่าและมวนตัวห้ำชนิดใหม่ที่มีศักยภาพควบคุมแมลงศัตรูพืชที่สำคัญ

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

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

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

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

กิจกรรมย่อยที่ 1.2 พัฒนาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงแตนเบียนที่มีศักยภาพควบคุมแมลงศัตรูพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ (มะพร้าว มะเขือ)

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

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

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

กิจกรรมย่อยที่ –

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

กิจกรรมที่ 3. การใช้มวนเพชฌฆาต *Sycanus versicolor* Dohrn ควบคุมหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดในถั่วฝักยาว

กิจกรรมย่อยที่ -

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

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

กิจกรรมย่อยที่ -

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

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

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง ➢ 5.1. ศึกษาอัตราการใช้ไรตัวห้ำ..... 131

Amblyseius longispinosus (Evans) ควบคุมไรแดงในราสป์เบอร์รีที่ปลูกในโรงเรือนทดลอง

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

❖อทิติยา แก้วประดิษฐ์ และคณะ

➢ 5.2. ศึกษาการใช้ไรตัวห้ำ..... 138

Amblyseius longispinosus (Evans) ในการควบคุมไรแดงในราสป์เบอร์รีที่ปลูกในโรงเรือนเกษตรกร

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

❖อทิติยา แก้วประดิษฐ์ และคณะ

โครงการวิจัยย่อย วิจัยพัฒนาการผลิตและการใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช

กิจกรรมที่ 1. เทคโนโลยีการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงและไวรัส NPV ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช

กิจกรรมย่อยที่ –

การทดลอง ➢ 1.1 การศึกษาวิธีการผลิตขยายไส้เดือนฝอย..... 145

ศัตรูแมลง *Steinernema glaseri* ด้วยอาหารเทียม

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

❖ อัจฉรียา นิจจรัลกุล และคณะ

➢ 1.2 การพัฒนาสูตรสำเร็จไวรัส NPV 157

หนอนกระทู้หอมในรูปผงละลายน้ำ

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

❖ อนุสรณ์ พงษ์มี และคณะ

กิจกรรมที่ 2. เทคโนโลยีการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงและไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในการควบคุมแมลงศัตรูผัก

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง

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

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

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

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

โครงการวิจัยย่อย วิจัยพัฒนาการผลิตและใช้ประโยชน์ชีวภัณฑ์ควบคุมโรคพืชเพื่อการผลิตพืชอย่างยั่งยืน

กิจกรรมที่ 1. การพัฒนานวัตกรรมการผลิตและการใช้แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ควบคุมโรคพืชเพื่อเพิ่มผลผลิต

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง

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

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

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

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

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

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

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

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

กิจกรรม 2. วิจัยพัฒนาชีวภัณฑ์ไตรโคเดอร์มาในการควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราใน พริก หอม และมะเขือเทศ เพื่อการผลิตพืชอย่างยั่งยืน

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง

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

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

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

กิจกรรมที่ 3. เทคโนโลยีการใช้เห็ดเรืองแสงสิรินรัศมีในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียน เพื่อการผลิตพืชอย่างยั่งยืน

กิจกรรมย่อยที่ -

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

โครงการวิจัยย่อย เทคโนโลยีการผลิตและใช้ประโยชน์ชีวินทรีย์ควบคุมหอยทากและหนูศัตรูพืช

กิจกรรมที่ 1. เทคโนโลยีการผลิตชีวินทรีย์ควบคุมหอยทากศัตรูพืช

กิจกรรมย่อยที่ -

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

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

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

กิจกรรมที่ 2. เทคโนโลยีการผลิตชีวินทรีย์ควบคุมหนูศัตรูพืช

กิจกรรมย่อยที่ -

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

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตและแก้ปัญหาท้าทายด้านการผลิตพืชปลอดภัย

โครงการวิจัยย่อย วิจัยและพัฒนาประสิทธิภาพสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในพืชไร่ (อ้อย มันสำปะหลัง และข้าวโพด)

กิจกรรมที่ 1.ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในพืชไร่ (อ้อย มันสำปะหลัง และข้าวโพด)

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

โครงการวิจัยย่อย วิจัยและพัฒนาประสิทธิภาพสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในพืชผัก (ผักกาดขาวปลี ผักกาดหอม กะหล่ำปลี คะน้า และพริก)

กิจกรรมที่ 1.ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อใช้ก่อนปลูกในพืชผัก (pre-planting herbicides)

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

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

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

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

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

โครงการวิจัยย่อย วิจัยและพัฒนาประสิทธิภาพสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในไม้ผล (มะม่วง ส้มโอ ทุเรียน)

กิจกรรมที่ 1. ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในไม้ผล (มะม่วง ส้มโอ ทุเรียน)

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

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

โครงการวิจัยย่อย วิจัยและพัฒนาประสิทธิภาพสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในพืชอุตสาหกรรม (ปาล์มน้ำมัน ยางพารา มะพร้าว และกาแฟ)

กิจกรรมที่ 1. วิจัยและพัฒนาประสิทธิภาพสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในพืชอุตสาหกรรม (ปาล์มน้ำมัน ยางพารา มะพร้าว และกาแฟ)

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

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

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีด้านอารักขาพืชเพื่อการเพิ่มขีดความสามารถในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช

โครงการวิจัยย่อย วิจัยและพัฒนาการชักนำภูมิต้านทานของพืชต่อศัตรูพืช เพื่อประยุกต์ใช้ร่วมกับระบบการผลิตพืชปลอดภัย

กิจกรรมที่ 1. การใช้สารประกอบอินทรีย์ในการชักนำภูมิต้านทานของพืช

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

กิจกรรมที่ 2. การใช้จุลินทรีย์ในการชักนำภูมิต้านทานของพืช

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

โครงการวิจัยย่อย การเพิ่มขีดความสามารถการป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยลดการใช้สารเคมีเพื่อเกษตรดีที่เหมาะสมอย่างยั่งยืน

กิจกรรมที่ 1. พัฒนาเทคโนโลยีการใช้สารป้องกันกำจัดแมลง และสัตว์ฟันแทะเพื่อใช้เป็นคำแนะนำการป้องกันกำจัดศัตรูพืชเพื่อเกษตรปลอดภัย

กิจกรรมย่อยที่ 1.1 พัฒนารูปแบบการใช้สารป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ร่วมกับสารชีวภัณฑ์และสารธรรมชาติ เพื่อการผลิตสินค้าพืชปลอดภัย

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

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

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

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

กิจกรรมย่อยที่ 1.2 วิจัยประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดแมลงเพื่อเป็นคำแนะนำรองรับปัญหาศัตรูพืชสร้างความต้านทาน

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

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

กิจกรรมที่ 2. พัฒนาเทคโนโลยีการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช เพื่อเป็นคำแนะนำการป้องกันกำจัดโรคพืชสำหรับเกษตรปลอดภัย

กิจกรรมย่อยที่ 2.1 พัฒนารูปแบบการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืชร่วมกับสารชีวภัณฑ์ และสารธรรมชาติ เพื่อการผลิตสินค้าพืชปลอดภัย

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

กิจกรรมย่อยที่ 2.2 วิจัยสารป้องกันกำจัดโรคพืชที่เพื่อเป็นคำแนะนำสำหรับเกษตรดีที่เหมาะสม

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

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

กิจกรรมที่ 3. วิจัยและพัฒนาการใช้สารกำจัดวัชพืช เพื่อการผลิตพืชปลอดภัยสู่เกษตรกร

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง

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

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

กิจกรรมที่ 4. วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชสู่เกษตรปลอดภัย

กิจกรรมย่อยที่ -

การทดลอง

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

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

โครงการวิจัย เทคโนโลยีการอารักขาพืชเพื่อแก้ปัญหาศัตรูพืชต้านทานและการใช้สารกำจัดศัตรูพืชเกินความจำเป็นในระบบการทำเกษตรแปลงใหญ่

กิจกรรมที่ 1. ประเมินความต้านทานของแมลงศัตรูพืชต่อสารกำจัดศัตรูพืชเพื่อวางแผนการใช้สารแบบหมุนเวียนในระบบการทำเกษตรแปลงใหญ่

กิจกรรมย่อยที่ -

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

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

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

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

กิจกรรมที่ 2. เทคโนโลยีการอารักขาพืชเพื่อแก้ปัญหาแมลงศัตรูพืชต้านทานและการใช้สารกำจัดศัตรูพืชเกินความจำเป็นในพืชไร่ พืชผัก และไม้ผลในระบบการทำเกษตรแปลงใหญ่

กิจกรรมย่อยที่ -

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

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

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

กิจกรรมที่ 3. ประเมินความต้านทานของวัชพืชต่อสารกำจัดวัชพืชที่ใช้ในนาข้าวในระบบการทำเกษตรแปลงใหญ่และเทคโนโลยีในการจัดการปัญหาความต้านทาน

กิจกรรมย่อยที่ –

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

โครงการวิจัย วิจัยอนุกรมวิธานเชิงลึกมุ่งแก้ปัญหาท้าทายด้านศัตรูพืชเพื่อสนับสนุนและเพิ่มศักยภาพการผลิตสินค้าเกษตร

โครงการวิจัยย่อย อนุกรมวิธาน ชีววิทยาแมลง ไร สัตว์ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ

กิจกรรมที่ 1. อนุกรมวิธานแมลง ไร สัตว์ศัตรูพืชเศรษฐกิจโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

การทดลอง

- 1.1 อนุกรมวิธานด้วงที่พบในธัญพืชนำเข้าส่งออก..... 1096

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

❖ อิทธิพล บรรณาการ และคณะ

- 1.2 อนุกรมวิธานและการแพร่กระจายเชิง..... 1111

ภูมิศาสตร์ของทากศัตรูพืช

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

❖ ดาราพร รินทะรักษ์ และคณะ

- 1.3 อนุกรมวิธานเพลี้ยไฟที่พบในไม้ดอก..... 1121

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

❖ อิทธิพล บรรณาการ และคณะ

- 1.4 อนุกรมวิธาน ของผีเสื้อหนอนกระทู้ สกุล..... 1140

Spodoptera Guenée, 1852 (Lepidoptera: Noctuidae)

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

❖ อาทิตย์ รักกสิกร และคณะ

กิจกรรมที่ 2. ชีววิทยาของแมลง ไรศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจและศัตรูธรรมชาติที่มีศักยภาพในการควบคุมศัตรูพืช

การทดลอง

- 2.1 การศึกษาชีววิทยาของไรแดงอัญชัน..... 1151

Tetranychus piercei McGrego

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

❖ วีระชัย สมศรี และคณะ

- 2.2 ชีววิทยา และศักยภาพภาพการกิน..... 1162

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

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

❖ อาทิตย์ รักกสิกร และคณะ

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

โครงการวิจัยย่อย การจำแนกชนิดแมลง สัตว์ศัตรูพืชที่สำคัญด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล

กิจกรรมที่ -

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

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

โครงการวิจัยย่อย การจำแนกชนิดและคุณลักษณะชีวโมเลกุลของจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชที่สำคัญ

กิจกรรมที่ -

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

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

โครงการวิจัยย่อย การจำแนกชนิดของจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชที่มีความซับซ้อน (complex species)

กิจกรรมที่ -

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

โครงการวิจัยย่อย การศึกษาชนิดวัชพืชที่สำคัญเพื่อแก้ปัญหาท้าทายด้านวัชพืชและเพิ่มศักยภาพการผลิตสินค้าเกษตร

กิจกรรมที่ -

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

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

โครงการวิจัย การศึกษาชีววิทยา และนิเวศวิทยาของวัชพืชที่สำคัญเพื่อแก้ปัญหาท้าทายด้านวัชพืชและเพิ่มศักยภาพการผลิตสินค้าเกษตร

กิจกรรมที่ -

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

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพันธุ์มันสำปะหลังเพื่อผลผลิตและคุณภาพสูงสำหรับอุตสาหกรรม

โครงการวิจัยย่อย การวิจัยและพัฒนาพันธุ์มันสำปะหลังเพื่อต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลัง(ระยะที่ 1)

กิจกรรมที่ –

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

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตพืชไร่ตระกูลถั่วและข้าวโพดฝักสดเพื่อความมั่นคงทางอาหาร

โครงการวิจัยย่อย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตข้าวโพดฝักสดเพื่อความมั่นคงทางอาหาร

กิจกรรมที่ 1.วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตข้าวโพดฝักสด

กิจกรรมย่อยที่ 1.2 วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการอารักขาข้าวโพดฝักสด

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

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

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการกักกันพืชเพื่อการค้าสินค้าเกษตรด้านพืชระหว่างประเทศ

โครงการวิจัยย่อย การศึกษาชนิดของศัตรูพืชในประเทศเพื่อการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช

กิจกรรมที่ -

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

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

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

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

โครงการวิจัยย่อย ศึกษาความเสี่ยงศัตรูพืชที่สัมพันธ์กับการนำเข้าสินค้าเกษตรจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก

กิจกรรมที่ -

การทดลอง

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

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

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

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

โครงการวิจัยย่อย การตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักและหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้า

กิจกรรมที่ -

การทดลอง

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

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

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

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

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชและชีวภัณฑ์เพื่อการค้าสินค้าเกษตรด้านพืช

กิจกรรมที่ 1. พัฒนาเทคโนโลยีการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืช

การทดลอง

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

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

กิจกรรมที่ 2. พัฒนาเทคโนโลยีการตรวจวินิจฉัยชีวภัณฑ์นำเข้าภายใต้พระราชบัญญัติวัตถุอันตราย

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

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในผลมะละกอและมะม่วง เพื่อเพิ่มศักยภาพในการส่งออก

กิจกรรมที่ -

การทดลอง

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

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

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

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

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

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

โครงการวิจัย การสำรวจ และเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกันของพืชและผลผลิตพืชในประเทศไทย

กิจกรรมที่ -

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

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

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืชอุบัติใหม่ในข้าวโพดและกล้วยเพื่อการส่งออก

กิจกรรมที่ 1. วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการจัดการหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพด

การทดลอง

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

❖ วิภาดา ปลอดครบุรี และคณะ

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

❖ อนุสรณ์ พงษ์มี และคณะ

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

การทดลอง

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

❖ ชนินทร ดวงสอาด และคณะ

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

❖ วันวิสาข์ เพ็ชรอำไพ และคณะ

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

❖ วันวิสาข์ เพ็ชรอำไพ และคณะ

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

❖ สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยการบริหารศัตรูพืชแบบผสมผสานในพืชผักสำหรับส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป (EU) เพื่อการผลิตที่ยั่งยืน

โครงการวิจัยย่อย ทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชเพื่อทดแทนสารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชที่กลุ่มสหภาพยุโรป (EU) ห้ามใช้

กิจกรรมที่ -

การทดลอง

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

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

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

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

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

โครงการวิจัยย่อย วิจัยการบริหารศัตรูพืชแบบผสมผสานในพืชผักสำหรับส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป (EU) เพื่อการผลิตที่ยั่งยืน

กิจกรรมที่ –

การทดลอง

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

หมายเหตุ

- ชื่อการทดลองที่นักวิจัยแจ้งไม่ตรงกับชื่อการทดลองจากกองแผนงาน

ระดับความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงในหนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigua* (Hübner) ที่ทำลายหอมแดงในพื้นที่ปลูกสำคัญ

สุภางคนา ถิรวุธ[1/] วรวิช สุดจริตธรรมจริยางกูร[1/] สุภราดา สุคนธาภิรมย์ ณ พัทลุง[2/]
ธีราทัย บุญญะประภา[2/]
[1/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

หนอนกระทู้หอม (beet armyworm) *Spodoptera exigua* (Hübner) เป็นแมลงศัตรูที่สำคัญชนิดหนึ่งซึ่งก่อให้เกิดความเสียหายต่อเกษตรกรผู้ปลูกหอมอย่างมาก การป้องกันกำจัดหนอนชนิดนี้ทำได้ยากเนื่องจากพฤติกรรมการหลบซ่อนตัว และการสร้างความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงหลายชนิด การทราบระดับความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงชนิดต่าง ๆ ในหนอนกระทู้หอมจึงเป็นข้อมูลสำคัญที่ต้องทราบก่อนการวางแผนในการป้องกันกำจัดที่มีประสิทธิภาพในแต่ละพื้นที่ การทดสอบระดับความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงในหนอนกระทู้หอม ได้ทำการเก็บตัวอย่างหนอนกระทู้หอมจากแปลงหอมของเกษตรกร อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี และอำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี เพื่อใช้ในการทดลอง ผลการทดลองครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าประชากรหนอนกระทู้หอมสายพันธุ์อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี และอำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี มีค่าอัตราส่วนความต้านทาน (Resistance Ratio; RR) ต่อสาร emamectin benzoate 1.92% EC และสาร chlorantraniliprole 5.17% SC ในระดับที่สูงมากคือ 18,843.00 และ 15,680.57 เท่า และ 188.93 และ 216.49 เท่า ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องไปในทิศทางเดียวกันทั้งสองสายพันธุ์ ดังนั้นจึงควรมีการแนะนำให้เกษตรกรในพื้นที่อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี และอำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี หยุดการใช้สาร emamectin benzoate 1.92% EC และสาร chlorantraniliprole 5.17% SC เป็นการชั่วคราวในช่วงระยะหนึ่งและเปลี่ยนมาใช้สารฆ่าแมลงในกลุ่มอื่นทดแทนจะสามารถช่วยให้ความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงทั้งสองชนิดลดลงได้

นอกจากนี้ผลการทดลองในครั้งนี้ยังแสดงให้เห็นว่าประชากรหนอนกระทู้หอมทั้งสองสายพันธุ์มีระดับความต้านทานต่อสาร spinetoram 12% SC ในระดับน้อยมาก ดังนั้นเกษตรกรจึงสามารถเลือกใช้สาร spinetoram 12% SC ในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอมในทั้งสองพื้นที่นี้ได้ สำหรับสาร indoxacarb 15% EC และสาร chlorfenapyr 10% SC มีระดับความต้านทานในระดับน้อยถึงปานกลาง ดังนั้นจึงควรมีการพิจารณาความต้านทานในแต่ละพื้นที่ก่อนเลือกใช้ ทั้งนี้ในการเลือกใช้สารฆ่าแมลงต้องมีการวางแผนการบริหารจัดการความต้านทานโดยการใช้สารแบบสลับกลุ่มสารตามกลไกการออกฤทธิ์เพื่อเป็นการป้องกันปัญหาความต้านทานอย่างรุนแรงที่จะเกิดขึ้นในอนาคต

รหัสการทดลอง FF65-12-03-65-01-05-65

คำนำ

หอมแบ่ง และหอมแดง เป็นพืชผักอีกชนิดหนึ่งที่มีความนิยมในการบริโภคเป็นจำนวนมาก และมีความต้องการในท้องตลาดค่อนข้างสูง สำหรับสถานการณ์การปลูกหอมแบ่ง (ต้นหอม) รายจังหวัดทั่วประเทศ ในปี 2558 พบว่า มีเนื้อที่ปลูกทั้งสิ้น 62,161 ไร่ โดยมีจำนวนผู้ปลูก 9,754 ราย มีพื้นที่ปลูกทั้งสิ้น 42 จังหวัด ซึ่งได้ผลผลิตรวมจำนวน 87,305 ตัน สำหรับจังหวัดที่มีพื้นที่ปลูกหอมแบ่งมากที่สุด 4 อันดับแรก ได้แก่ จังหวัดราชบุรี เนื้อที่ปลูกทั้งสิ้น 20,557 ไร่ รองลงมาได้แก่ จังหวัดอุตรดิตถ์ นครปฐม และ อุดรธานี ซึ่งมีเนื้อที่ปลูก 8,200 ไร่, 5,405 ไร่ และ 5,309 ไร่ ตามลำดับ ส่วนหอมแดง ในปี 2559 พบว่า มีเนื้อที่ปลูกทั้งสิ้น 49,827 ไร่ โดยมีจำนวนผู้ปลูก 16,515 ราย มีพื้นที่ปลูกทั้งสิ้น 29 จังหวัด ซึ่งได้ผลผลิตรวมจำนวน 122,757 ตัน สำหรับ จังหวัดที่มีพื้นที่ปลูกหอมแดงมากที่สุด 4 อันดับแรก ได้แก่ จังหวัดศรีสะเกษ มีเนื้อที่ปลูกทั้งสิ้นจำนวน 13,248 ไร่ รองลงมาได้แก่ จังหวัดพะเยา เชียงใหม่ และลำพูน ซึ่งมีเนื้อที่ปลูก 10,938 ไร่, 8,950 ไร่ และ 5,627 ไร่ ตามลำดับ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2558,2559) โดยแต่เดิมนั้นพื้นที่ปลูกหอมแหล่งใหญ่และปลูกเป็นการค้าอยู่ที่จังหวัดราชบุรี แต่เนื่องจากประสบปัญหาการระบาดของหนอนกระทู้หอมอย่างรุนแรง เกษตรกรผู้ปลูกมีปัญหาด้านการป้องกันกำจัด เนื่องจากมีการพ่นสารฆ่าแมลงเกือบทุกชนิดที่มีจำหน่ายในขณะนั้น แต่ก็ไม่สามารถควบคุมหนอนกระทู้หอมได้ โดยยังพบการเข้าทำลายทำให้ผลผลิตเสียหายไม่สามารถเก็บผลผลิตได้ ต่อมาจึงมีการขยายแหล่งปลูกไปยังแหล่งใหม่ซึ่งเป็นแหล่งใหญ่ในปัจจุบัน คือ จังหวัดศรีสะเกษ และ อำเภอบ้านโฮ่ง จังหวัดลำพูน

จะเห็นได้ว่าหนอนกระทู้หอมเป็นแมลงศัตรูที่เป็นปัญหาหลักของการปลูกหอม ซึ่งในการจัดการความต้านทานของแมลงศัตรูพืชแต่ละชนิดนั้น การทราบระดับความต้านทานของแมลงศัตรูพืชแต่ละชนิดต่อสารกำจัดแมลงชนิดต่างๆในแต่ละพื้นที่ปลูกมีความจำเป็นอย่างยิ่ง เนื่องจากข้อมูลดังกล่าวเป็นไปตามลักษณะการใช้สารกำจัดแมลง ตามชนิดของสารที่ใช้ ปริมาณของสารที่ใช้ ความถี่ในการใช้ ในแต่ละพื้นที่ นอกจากข้อมูลระดับความต้านทานจะมีความสำคัญในการเลือกใช้สารกำจัดแมลง และนำมาใช้ในรูปแบบการหมุนเวียนสารแล้ว ยังทำให้ทราบถึงแนวโน้มการสร้างความต้านทานทำให้เกิดการเฝ้าระวังในการใช้สารกำจัดแมลงชนิดที่ยังไม่เกิดความต้านทานด้วย

ดังนั้นเพื่อให้การป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอมเป็นไปอย่างได้ผล และช่วยลดการใช้สารกำจัดแมลงอย่างไม่จำเป็น ซึ่งอาจจะส่งผลไปถึงต้นทุนการผลิต การทราบระดับความต้านทานของหนอนกระทู้หอมต่อสารกำจัดแมลงจึงมีความจำเป็นที่จะต้องนำมาใช้ในการวางแผนจัดการความต้านทานสารฆ่าแมลงของหนอนกระทู้หอมและเป็นข้อมูลที่สำคัญที่ต้องทราบก่อนการวางแผนในการป้องกันกำจัดที่มีประสิทธิภาพในแต่ละพื้นที่

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- การเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์แมลง
  1. กล่องเลี้ยงแมลงขนาด 18x27x10 เซนติเมตร
  2. อาหารเทียม
  3. กระปุกขนาด 2 ออนซ์
  4. สำลี
  5. น้ำผึ้ง
- การทดสอบระดับความเป็นพิษของสารฆ่าแมลงชนิดต่าง ๆ
  1. บีกเกอร์ ขนาด 250 มิลลิลิตร
  2. กระบอกตวง ขนาด 250, 500 และ 1,000 มิลลิลิตร
  3. ไมโครปิเปต ขนาด 10, 250 และ 1,000 ไมโครลิตร
  4. เครื่องชั่งน้ำหนักดิจิตอล
  5. น้ำกลั่น
  6. สารฆ่าแมลงชนิดต่าง ๆ ได้แก่
     - spinetoram 12% SC (กลุ่มที่ 5)
     - emamectin benzoate 1.92% EC (กลุ่มที่ 6)
     - chlorantraniliprole 5.17% SC (กลุ่มที่ 28)
     - chlorfenapyr 10% SC (กลุ่มที่ 13)
     - indoxacarb 15% EC (กลุ่มที่ 22A)

วิธีการ

ทำการเก็บตัวอย่างหนอนกระทู้หอมจากแปลงหอมของเกษตรกร อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี และอำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี โดยเก็บกระจายทั่วทั้งแปลงมาทำการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 60-70% ช่วงแสง 12 : 12 ชั่วโมง (สว่าง : มืด) จนเข้าดักแด้ ทำการคัดแยกเพศของดักแด้ภายใต้เลนส์ขยาย และนำดักแด้ที่คัดแยกเพศแล้วใส่ในกล่องเลี้ยงแมลงพลาสติก โดยใส่ดักแด้ ในอัตราส่วน เพศผู้ 1 ตัว: เพศเมีย 1 ตัว กล่องละ 20 คู่ เมื่อดักแด้ออกเป็นผีเสื้อนำสารละลายน้ำผึ้ง 10% ชุบสำลีใส่ในกล่องเลี้ยงแมลงเพื่อเป็นอาหาร ปล่อยให้ผีเสื้อผสมพันธุ์และวางไข่ภายในกล่อง ทำการเก็บไข่ทุกวัน โดยเก็บไว้ในกล่องพลาสติกที่มีรูระบายอากาศ จนกระทั่งหนอนวัยแรกที่ฟักออกมาจึงใส่อาหารเทียมลงในกล่องพลาสติก รอจนหนอนเจริญเติบโตเข้าสู่ระยะวัย 3 จึงนำมาใช้ในการทดลอง

ทำการทดลองด้วยวิธี Diet-overlay assay (Cook *et al*., 2005) วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ โดยในแต่ละซ้ำใช้หนอนกระทู้หอม วัย 3 จำนวน 10 ตัว โดยให้หนอนกินอาหารเทียมที่ทำการหยดสารฆ่าแมลงแต่ละชนิดปริมาตร 200 ไมโครลิตรลงบนผิวหน้าอาหารเทียม สำหรับ

ชุดควบคุม (untreated control) ให้หนอนกินอาหารเทียมที่ทำการหยดน้ำกลั่น ทำการทดลองทั้งหมด 4 ซ้ำ เก็บกระปุกใส่หนอนที่ใช้ทดลองทั้งหมดไว้ที่อุณหภูมิ 25–30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 60-70% ช่วงแสง 12 : 12 ชั่วโมง (สว่าง : มืด) ตรวจและบันทึกการตายของหนอนกระทู้หอมที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง โดยใช้ปลายพู่กันเขี่ยตัวหนอนให้พลิกตัวเพื่อตรวจความมีชีวิต หากหนอนตัวใดไม่สามารถพลิกกลับด้านปกติได้ถือว่าตาย (Avilla and Gonzalez, 2010; Hardke *et al.*, 2011) หากมีการตายของหนอนในชุดควบคุม จะทำการปรับค่าเปอร์เซ็นต์การตายโดยใช้ Abbott's formula (Abbott, 1925) แต่ถ้าหนอนในชุดควบคุมมีการตายเกิน 10% จะทำการทดลองใหม่ทั้งหมด นำข้อมูลการตายของหนอนมาวิเคราะห์หาค่า median lethal concentration (LC_{50}) และ fiducial limits ด้วยวิธี probit analysis (Finney, 1971) โดยใช้โปรแกรม POLO-plus (LeOra Software, 1997)

Abbott's formula :

$$\% \text{ Corrected Mortality} = \frac{\% \text{ test mortality} - \% \text{ control mortality}}{100 - \% \text{ control mortality}} \times 100$$

จากนั้นนำค่า LC_{50} ที่ได้มาหาค่าอัตราความต้านทานหรือ resistance ratio (RR) ของสารกำจัดแมลงแต่ละชนิดในหนอนกระทู้หอมที่เก็บจากแต่ละแหล่งเปรียบเทียบกับหนอนกระทู้หอมสายพันธุ์อ่อนแอ (susceptible strain) ที่ทำการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการโดยไม่ได้สัมผัสสารฆ่าแมลงมากกว่า 50 ชั่วอายุขัย โดยสามารถคำนวณค่า resistance ratio (RR) จากสูตร

$$\text{Resistance Ratio (RR)} = \frac{LC_{50} \text{ ของประชากรแมลงต้านทาน}}{LC_{50} \text{ ของประชากรแมลงอ่อนแอ}}$$

และนำค่า RR ที่ได้มาใช้จำแนกความต้านทานตาม Ahmad and Arif (2009) โดยแบ่งความต้านทานเป็นระดับดังนี้

1) ไม่ต้านทาน (no resistance)	RR ≤1
2) ต้านทานน้อยมาก (very low resistance)	RR >1-10
3) ต้านทานน้อย (low resistance)	RR >10-20
4) ต้านทานปานกลาง (moderate resistance)	RR >20-50
5) ต้านทานสูง (high resistance)	RR >50-100
6) ต้านทานสูงมาก (very high resistance)	RR >100

เวลาและสถานที่

เก็บตัวอย่างหนอนกระทู้หอมจากแปลงหอมของเกษตรกร อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี และอำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี ทำการทดลอง ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการศึกษาระดับต้านทานต่อสารฆ่าแมลงชนิดต่าง ๆ ในหนอนกระทู้หอม โดยทำการเก็บตัวอย่างหนอนกระทู้หอมจากแปลงหอมของเกษตรกร อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี และอำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี มาทำการเลี้ยงขยายพันธุ์ในห้องปฏิบัติการ ทำการทดลองด้วยวิธี Diet overlay bioassays (Cook *et al*., 2005) ซึ่งได้ใช้สารฆ่าแมลงชนิดต่าง ๆ ในการทดสอบ ได้แก่ สาร emamectin benzoate 1.92% EC (กลุ่มที่ 6), สาร spinetoram 12% SC (กลุ่มที่ 5), สาร indoxacarb 15% EC (กลุ่มที่ 22A), สาร chlorfenapyr 10% SC (กลุ่มที่ 13) และสาร chlorantraniliprole 5.17% SC (กลุ่มที่ 28) ผลการทดลองพบว่า (Table 1)

สาร emamectin benzoate 1.92% EC (กลุ่มที่ 6) ประชากรหนอนกระทู้หอมสายพันธุ์อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี และอำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี มีค่าระดับความเป็นพิษ (LC_{50}) เท่ากับ 433.389 และ 360.653 ppm ตามลำดับ ซึ่งไม่พบความแตกต่างทางสถิติระหว่างสายพันธุ์ เมื่อพิจารณาถึงค่าอัตราส่วนความต้านทาน (Resistance Ratio; RR) พบว่าสายพันธุ์อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี และอำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี มีค่าอัตราส่วนความต้านทาน เท่ากับ 18,843.00 และ 15,680.57 เท่า ตามลำดับ ซึ่งเมื่อนำมาจำแนกความรุนแรงของความต้านทานตามวิธีของ Ahmad and Arif, 2009 สามารถสรุปได้ว่าประชากรหนอนกระทู้หอมทั้งสองสายพันธุ์มีระดับความต้านทานต่อสาร emamectin benzoate 1.92% EC ในระดับสูงมากเมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์อ่อนแอ

สาร spinetoram 12% SC (กลุ่มที่ 5) ประชากรหนอนกระทู้หอมสายพันธุ์อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี และอำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี มีค่าระดับความเป็นพิษ (LC_{50}) เท่ากับ 4.545 และ 5.414 ppm ตามลำดับ ซึ่งไม่พบความแตกต่างทางสถิติระหว่างสายพันธุ์ เมื่อพิจารณาถึงค่าอัตราส่วนความต้านทาน (Resistance Ratio; RR) พบว่าสายพันธุ์อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี และอำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี มีค่าอัตราส่วนความต้านทาน เท่ากับ 2.15 และ 2.56 เท่า ตามลำดับ ซึ่งเมื่อนำมาจำแนกความรุนแรงของความต้านทานตามวิธีของ Ahmad and Arif, 2009 สามารถสรุปได้ว่าประชากรหนอนกระทู้หอมทั้งสองสายพันธุ์มีระดับความต้านทานต่อสาร spinetoram 12% SC ในระดับน้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์อ่อนแอ

สาร indoxacarb 15% EC (กลุ่มที่ 22A) ประชากรหนอนกระทู้หอมสายพันธุ์อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี และอำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี มีค่าระดับความเป็นพิษ (LC_{50}) เท่ากับ 39.456 และ 51.408 ppm ตามลำดับ ซึ่งไม่พบความแตกต่างทางสถิติระหว่างสาย

พันธุ์ เมื่อพิจารณาถึงค่าอัตราส่วนความต้านทาน (Resistance Ratio; RR) พบว่าสายพันธุ์อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี และอำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี มีค่าอัตราส่วนความต้านทานเท่ากับ 18.52 และ 24.14 เท่า ตามลำดับ ซึ่งเมื่อนำมาจำแนกความรุนแรงของความต้านทานตามวิธีของ Ahmad and Arif, 2009 สามารถสรุปได้ว่าประชากรหนอนกระทู้หอมสายพันธุ์อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี และอำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี เมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์อ่อนแอแล้วพบว่ามีระดับความต้านทานต่อสาร indoxacarb 15% EC น้อยและปานกลาง ตามลำดับ

สาร chlorfenapyr 10% SC (กลุ่มที่ 13) ประชากรหนอนกระทู้หอมสายพันธุ์อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี และอำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี มีค่าระดับความเป็นพิษ (LC_{50}) เท่ากับ 169.736 และ 204.246 ppm ตามลำดับ ซึ่งไม่พบความแตกต่างทางสถิติระหว่างสายพันธุ์ เมื่อพิจารณาถึงค่าอัตราส่วนความต้านทาน (Resistance Ratio; RR) พบว่าสายพันธุ์อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี และอำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี มีค่าอัตราส่วนความต้านทาน เท่ากับ 40.92 และ 49.24 เท่า ตามลำดับ ซึ่งเมื่อนำมาจำแนกความรุนแรงของความต้านทานตามวิธีของ Ahmad and Arif, 2009 สามารถสรุปได้ว่าประชากรหนอนกระทู้หอมทั้งสองสายพันธุ์มีระดับความต้านทานต่อสาร chlorfenapyr 10% SC ในระดับปานกลางเมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์อ่อนแอ

สาร chlorantraniliprole 5.17% SC (กลุ่มที่ 28) ประชากรหนอนกระทู้หอมสายพันธุ์อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี และอำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี มีค่าระดับความเป็นพิษ (LC_{50}) เท่ากับ 60.270 และ 69.061 ppm ตามลำดับ ซึ่งไม่พบความแตกต่างทางสถิติระหว่างสายพันธุ์ เมื่อพิจารณาถึงค่าอัตราส่วนความต้านทาน (Resistance Ratio; RR) พบว่าสายพันธุ์อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี และอำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี มีค่าอัตราส่วนความต้านทาน เท่ากับ 188.93 และ 216.49 เท่า ตามลำดับ ซึ่งเมื่อนำมาจำแนกความรุนแรงของความต้านทานตามวิธีของ Ahmad and Arif, 2009 สามารถสรุปได้ว่าประชากรหนอนกระทู้หอมทั้งสองสายพันธุ์มีระดับความต้านทานต่อสาร chlorantraniliprole 5.17% SC ในระดับสูงมากเมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์อ่อนแอ

ผลการทดลองครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าประชากรหนอนกระทู้หอมสายพันธุ์อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี และอำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี มีค่าอัตราส่วนความต้านทาน (Resistance Ratio; RR) ต่อสาร emamectin benzoate 1.92% EC และสาร chlorantraniliprole 5.17% SC ในระดับที่สูงมากคือ 18,843.00 และ 15,680.57 เท่า และ 188.93 และ 216.49 เท่า ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องไปในทิศทางเดียวกันทั้งสองสายพันธุ์ ดังนั้นจึงควรมีการแนะนำให้เกษตรกรในพื้นที่อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี และอำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี หยุดการใช้สาร emamectin benzoate 1.92% EC และสาร chlorantraniliprole 5.17% SC เป็นการชั่วคราวในช่วงระยะหนึ่งและเปลี่ยนมาใช้สารฆ่าแมลงในกลุ่มอื่นทดแทนจะสามารถช่วยให้ความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงทั้งสองชนิดลดลงได้

นอกจากนี้ผลการทดลองในครั้งนี้ยังแสดงให้เห็นว่าประชากรหนอนกระทู้หอมทั้งสองสายพันธุ์มีระดับความต้านทานต่อสาร spinetoram 12% SC ในระดับน้อยมาก ดังนั้นเกษตรกรจึงสามารถเลือกใช้สาร spinetoram 12% SC ในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอมในทั้งสองพื้นที่นี้ได้ สำหรับสาร indoxacarb 15% EC และสาร chlorfenapyr 10% SC มีระดับความต้านทานในระดับน้อยถึงปานกลาง ดังนั้นจึงควรมีการพิจารณาความต้านทานในแต่ละพื้นที่ก่อนเลือกใช้ ทั้งนี้ในการเลือกใช้สารฆ่าแมลงต้องมีการวางแผนการบริหารจัดการความต้านทานโดยการใช้สารแบบสลับกลุ่มสารตามกลไกการออกฤทธิ์เพื่อเป็นการป้องกันปัญหาความต้านทานอย่างรุนแรงที่จะเกิดขึ้นในอนาคต

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

-

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นางสาววีณา ทิพย์สุขุม นางสาวสุกัญญา เกตุเหล็ก และ นายพรายงาม คงเปี่ยม ที่ช่วยดำเนินการทดลอง และขอขอบคุณ นางสาววรนาฏ โคกเย็น นักวิชาการเกษตรชำนาญการ กองส่งเสริมการอารักขาพืชและจัดการดินปุ๋ย กรมส่งเสริมการเกษตร ที่ให้ความอนุเคราะห์สูตรอาหารเทียมเพื่อใช้เลี้ยงแมลงในการทดลองครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. (2558). สถานการณ์การปลูกหอมแบ่ง รายจังหวัด ปี 2558. (ออนไลน์). สืบค้นจาก : http://www.agriinfo.doae.go.th/year59/plant/rortor/veget/77.pdf

กรมส่งเสริมการเกษตร. (2559). สถานการณ์การปลูกหอมแดง รายจังหวัด ปี 2559. (ออนไลน์). สืบค้นจาก :http://www.agriinfo.doae.go.th/year60/plant/rortor/veget/76.pdf

Abbott, W.S. 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide. Journal of Economic Entomology. 18: 265– 267.

Ahmad, M. and M.I. Arif. 2009. Resistance of Pakistani field populations of spotted bollworm *Earias vittella* (Lepidoptera:Noctuidae) to pyrethriod, organophos phorus and new chemical insecticides. Pest Manag. Sci. 65: 433-439.

Avilla C. and J. E. Gonzalez-Zamora. 2010. Monitoring resistance of *Helicoverpa armigera* to different insecticide used in cotton in Spain. Crop Protection 29 (2010): 100-103.

Cook, D. R., B. R. Leonard and J. Gore. and J. H. Temple. 2005. Baseline Responses of Bollworm, *Helicoverpa zea* (Boddie), and Tobacco Budworm, *Heliothis virescens* (F.),to Indoxacarb and Pyridalyl. J. Agric. Urban Entomol. 22(2): 99-109.

Finney, D.J. 1971. Probit Analysis. 3rd ed. Cambridge University Press, London.

Hardke, J. T., J.H. Temple, B.R. Leonard and R.E. Jackson. 2011. Laboratory Toxicity and Field Efficacy of Selected Insecticides Against Fall Armyworm (Lepidoptera:Noctuidae) . Florida Entomologist, 94(2): 272-278.

LeOra Software. 1997. POLO-PC: probit and Logit Analysis. LeOra Software, Berkeley,CA.

Table 1 Susceptibility and resistance level of *S. exigua* (Hübner) populations to various insecticides after 72 h exposure

Insecticies	Recommendation dose (ppm)	population	Slope ± SE	LC_{50} (95% CL[1/]) (ppm)	RR[2/]	Resistance level
emamectin benzoate 1.92% EC	19.2	Susceptible strain	2.314±0.244	0.023 (0.013 - 0.041)	1	-
		Tha muang, Kanchanaburi	2.473±0.249	433.389 (358.791 - 525.264)	18,843.00	Very high
		Si Prachan, Suphan Buri	2.405±0.238	360.653 (297.538 - 437.420)	15,680.57	Very high
spinetoram 12%SC	180	Susceptible strain	2.221±0.219	2.115 (1.721 - 2.585)	1	-
		Tha muang, Kanchanaburi	3.276±0.358	4.545 (3.600 - 5.724)	2.15	Very low
		Si Prachan, Suphan Buri	3.061±0.330	5.414 (4.571 - 6.430)	2.56	Very low
indoxacarb 15% EC	225	Susceptible strain	1.873±0.187	2.130 (1.573 - 2.899)	1	-
		Tha muang, Kanchanaburi	2.087±0.193	39.456 (28.563 - 54.616)	18.52	Low
		Si Prachan, Suphan Buri	2.062±0.192	51.408 (41.813 - 63.415)	24.14	Moderate
chlorfenapyr 10% SC	200	Susceptible strain	1.829±0.185	4.148 (2.774 - 6.224)	1	-
		Tha muang, Kanchanaburi	3.103±0.327	169.736 (101.886 - 307.189)	40.92	Moderate
		Si Prachan, Suphan Buri	2.838±0.298	204.246 (138.114 - 318.273)	49.24	Moderate
chlorantraniliprole 5.17% SC	51.7	Susceptible strain	1.887±0.189	0.319 (0.232 - 0.443)	1	-
		Tha muang, Kanchanaburi	2.886±0.292	60.270 (45.493 - 80.034)	188.93	Very high
		Si Prachan, Suphan Buri	2.815±0.284	69.061 (57.870 - 82.581)	216.49	Very high

[1/] 95% fiducial limits

[2/]RR = Resistance ratio [LC_{50} of the field collected population / LC_{50} of the laboratory susceptible strain (ppm)]

ระดับความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงในหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) ที่ทำลายข้าวโพดในพื้นที่ปลูกสำคัญ

สุภางคนา ถิรวุธ[1/] วรวิช สุดจริตธรรมจริยางกูร[1/]
ธีราทัย บุญญะประภา[2/] สิริกัญญา ขุนวิเศษ[1/]
[1/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) เป็นแมลงศัตรูพืชต่างถิ่นที่ปัจจุบันเข้ามาตั้งรกรากและกลายเป็นแมลงศัตรูข้าวโพดที่สำคัญในประเทศไทย การทราบระดับความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงชนิดต่าง ๆ ในหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดจึงเป็นข้อมูลสำคัญที่ต้องทราบก่อนการวางแผนในการป้องกันกำจัดที่มีประสิทธิภาพในแต่ละพื้นที่ การทดสอบหาระดับความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงในหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด ได้ทำการเก็บตัวอย่างหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดจากแปลงข้าวโพดของเกษตรกรในอำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี, อำเภอวังสะพุง จังหวัดเลย, อำเภอท่าหลวง จังหวัดลพบุรี และอำเภอเขาฉกรรจ์ จังหวัดสระแก้ว เพื่อใช้ในการทดลอง ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าประชากรหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดจากหลาย ๆ พื้นที่โดยส่วนใหญ่ยังไม่สร้างความต้านทานต่อสาร emamectin benzoate 1.92% EC (กลุ่มที่ 6), สาร spinetoram 12%SC (กลุ่มที่ 5), สาร chlorantraniliprole 5.17% SC (กลุ่มที่ 28), สาร chlorfenapyr 10% SC (กลุ่มที่ 13), สาร indoxacarb 15% SC (กลุ่มที่ 22A) และ สาร lufenuron 5% EC (กลุ่มที่ 15) ซึ่งสารฆ่าแมลงทั้งหมดที่กล่าวในข้างต้นนี้เป็นสารฆ่าแมลงที่เป็นคำแนะนำเพื่อใช้ในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดของกรมวิชาการเกษตร มีเพียงประชากรหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดสายพันธุ์อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี พื้นที่เดียวเท่านั้นที่เริ่มพบการสร้างความต้านทานต่อสาร lufenuron 5% EC แต่ยังจัดอยู่ในระดับน้อย

ดังนั้นสารฆ่าแมลงชนิดและอัตราต่าง ๆ ตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตรในปัจจุบันจึงยังสามารถนำไปใช้ได้จริงในสภาพแปลงและสามารถใช้เป็นคำแนะนำแก่เกษตรกรได้ อย่างไรก็ตามควรมีการเร่งประชาสัมพันธ์และแนะนำวิธีการสลับกลุ่มสารฆ่าแมลงตามกลไกการออกฤทธิ์เพื่อเป็นการชะลอความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงให้เกษตรกรได้รับทราบ รวมถึงควรมีการเฝ้าระวังและสำรวจความต้านทานต่อสาร emamectin benzoate ของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด เนื่องจากปัจจุบันเกษตรกรโดยส่วนใหญ่ใช้สาร emamectin benzoate ในการกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดเป็นหลักโดยไม่มีการสลับกลุ่มสารฯ ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้สูงมากที่หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดจะสร้างความต้านทานต่อสาร emamectin benzoate และอาจเป็นปัญหาต่อไปในอนาคต

รหัสการทดลอง FF65-12-03-65-01-06-65

คำนำ

ข้าวโพดเป็นธัญพืชที่มีความสำคัญเป็นอันดับสามของโลกรองมาจากข้าวสาลีและข้าว สามารถปลูกได้ทั่วไปในเขตภูมิอากาศอบอุ่นเขตถึงร้อนชื้นและพื้นที่ราบเขตร้อน (คณาจารย์ภาควิชาพืชไร่นา, 2547) โดยแหล่งปลูกมักกระจายอยู่ตามภูมิภาคต่างๆของโลก ได้แก่ ประเทศสหรัฐอเมริกา บราซิล เม็กซิโก จีน รวมทั้งในทวีปแอฟริกา สำหรับประเทศไทยข้าวโพดถือเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ เนื่องจากมีพื้นที่เพาะปลูกครอบคลุมอยู่ทั่วทุกภาค ทำให้สามารถสร้างรายได้เป็นจำนวนมากให้กับประเทศ โดยข้าวโพดที่ปลูกในประเทศไทยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ ได้แก่ ข้าวโพดฝักสด และข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ โดยข้าวโพดฝักสดปลูกเพื่อใช้สำหรับบริโภคเป็นอาหารและส่งออก เนื่องจากผู้บริโภคนิยมรับประทานและมีคุณค่าทางโภชนาการสูง ส่วนข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เป็นพืชที่มีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมอาหารสัตว์ ปลูกเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารสัตว์ซึ่งจังหวัดที่เป็นแหล่งปลูกข้าวโพดที่สำคัญของประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดเพชรบูรณ์ นครราชสีมา เลย ลพบุรี และนครสวรรค์ (โชคชัยและเกตุอร, 2561)

หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด เป็นศัตรูพืชสำคัญของข้าวโพดที่พบระบาดในพื้นที่เขตร้อนและเขตกึ่งร้อนของทวีปอเมริกา เป็นแมลงศัตรูพืชที่สามารถบินได้ไกลเฉลี่ยคืนละ 100 กม. ขยายพันธุ์ได้รวดเร็วใช้เวลารุ่นละประมาณ 30-40 วัน และเป็นแมลงศัตรูพืชที่กินพืชได้มากกว่า 80 ชนิด ในทวีปแอฟริกามีการรายงานการระบาดครั้งแรกในภาคกลางและภาคตะวันตกในช่วงต้นปี 2559 จากนั้นได้แพร่กระจายและเกิดการระบาดในหลายประเทศเกือบทั่วทั้งทวีปแอฟริกา ในทวีปเอเชียมีรายงานพบการระบาดครั้งแรกในปี 2561 โดยเข้าทำลายข้าวโพดในพื้นที่รัฐ Chikkaballapur, Kamataka ประเทศอินเดีย สำหรับในประเทศไทย กรมวิชาการเกษตรได้รับรายงานผ่านสายด่วนเฝ้าระวังหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดว่า พบการระบาดของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในแปลงปลูกข้าวโพดจังหวัดตาก กำแพงเพชร อุทัยธานี พิษณุโลก และนครสวรรค์ เมื่อช่วงปลายเดือนธันวาคม 2561 โดยพบการระบาดของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดหลายระยะการเจริญเติบโตในแปลงเดียวกัน และเริ่มพบตัวเต็มวัยที่เพิ่งออกจากดักแด้ โดยหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดจะเข้าทำลายข้าวโพดตั้งแต่ระยะต้นกล้าไปจนถึงระยะข้าวโพดติดฝัก และหากเข้าทำลายข้าวโพดอายุ 1-15 วัน จะทำให้ต้นข้าวโพดตายทั้งแปลง หากไม่สามารถป้องกันกำจัดได้ทันท่วงทีเมื่อข้าวโพดอายุ 30 วันขึ้นไปหนอนที่เริ่มโตจะเข้าไปหลบอาศัยอยู่ในส่วนยอด หลังจากนั้นหนอนจะย้ายเข้าไปอาศัยในดอกตัวผู้และฝักทำให้ยากต่อการป้องกันกำจัด หากพบระบาดรุนแรงจะทำให้ผลผลิตเสียหาย 73 เปอร์เซ็นต์ จากการเข้าสำรวจในพื้นที่ที่มีการระบาดเกษตรกรมักใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชจำนวนหลายชนิดในการพ่น ซึ่งบางครั้งอาจไม่ได้ผลดีเท่าที่ควรเนื่องจากเกษตรกรมักขาดการเดินสำรวจศัตรูพืชภายในแปลง เมื่อพบร่องรอยการทำลายของหนอนก็ต่อเมื่อหนอนเจริญเติบโตเป็นหนอนตัวโตกัดกินยอดข้าวโพดจนเป็นรูพรุนและเข้าไปอาศัยอยู่ภายในยอดข้าวโพดแล้ว ทำให้การพ่นสารฆ่าแมลงยากและหนอนไม่ค่อยตายเนื่องจากพ่นไม่ถูกตัวเป็นสาเหตุที่ทำให้เกษตรกรต้องพ่นสารบ่อยครั้ง ทำให้ต้นทุนการผลิตเพิ่มสูงขึ้น และนับเป็นปัจจัยหนึ่งที่อาจทำให้หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดสร้างความต้านทานต่อสารป้องกันกำจัดแมลงในอนาคต

จากข้อมูลของ Insecticide Resistance Action Committee (IRAC) รายงานว่าหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดเป็นศัตรูข้าวโพดที่สำคัญมากในหลายพื้นที่ทั่วโลก อีกทั้งยังสามารถสร้างความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงหลายชนิดได้อย่างรวดเร็วอีกด้วย โดยหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดมีแนวโน้มสร้างความต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* (กลุ่ม 11), สารในกลุ่ม Carbamate และ Organophosphate (กลุ่ม 1A และ 1B) และสารในกลุ่ม Pyrethroids (กลุ่ม 3) ซึ่งเป็นสารกลุ่มที่เกษตรกรในประเทศไทยใช้กันอย่างแพร่หลาย อีกทั้งพฤติกรรมการใช้สารฆ่าแมลงแบบซ้ำๆและใช้มากเกินความจำเป็นของเกษตรกรไทยอาจทำให้เป็นปัจจัยหนึ่งในการเร่งการเกิดความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดได้

ดังนั้นข้อมูลระดับความเป็นพิษของสารฆ่าแมลงในหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดจึงมีความจำเป็นต้องนำมาใช้ในการวางแผนจัดการความต้านทานสารฆ่าแมลงของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด และเป็นข้อมูลที่สำคัญที่ต้องทราบก่อนการวางแผนในการป้องกันกำจัดที่มีประสิทธิภาพในแต่ละพื้นที่

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- การเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์แมลง
    1. กล่องเลี้ยงแมลงขนาด 18x27x10 เซนติเมตร
    2. โหลพลาสติกสำหรับวางไข่ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 เซนติเมตร
    3. ต้นกล้าข้าวโพด หรือ ต้นหญ้าขน
    4. อาหารเทียม
    5. กระปุกขนาด 2 ออนซ์
    6. กระดาษเอนกประสงค์
    7. สำลี
    8. น้ำผึ้ง
- การทดสอบประสิทธิภาพและระดับความเป็นพิษของสารฆ่าแมลงชนิดต่าง ๆ
    1. บีกเกอร์ ขนาด 250 มิลลิลิตร
    2. กระบอกตวง ขนาด 250, 500 และ 1,000 มิลลิลิตร
    3. ไมโครปิเปต ขนาด 10, 250 และ 1,000 ไมโครลิตร
    4. เครื่องชั่งน้ำหนักดิจิตอล
    5. น้ำกลั่น
    6. สารฆ่าแมลงชนิดต่าง ๆ ได้แก่
        - spinetoram 12%SC (กลุ่มที่ 5)
        - emamectin benzoate 1.92% EC (กลุ่มที่ 6)

- chlorantraniliprole 5.17% SC (กลุ่มที่ 28)
- chlorfenapyr 10% SC (กลุ่มที่ 13)
- indoxacarb 15% SC (กลุ่มที่ 22A)
- lufenuron 5% EC (กลุ่มที่ 15)

วิธีการ

ทำการเก็บตัวอย่างหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดจากแปลงข้าวโพดของเกษตรกร อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี, อำเภอวังสะพุง จังหวัดเลย, อำเภอท่าหลวง จังหวัดลพบุรี และอำเภอเขาฉกรรจ์ จังหวัดสระแก้ว โดยเก็บกระจายทั่วทั้งแปลงมาทำการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 60-70% ช่วงแสง 12 : 12 ชั่วโมง (สว่าง : มืด) จนเข้าดักแด้ ทำการคัดแยกเพศของดักแด้ภายใต้เลนส์ขยาย และนำดักแด้ที่คัดแยกเพศแล้วใส่ในโหลพลาสติกที่ปิดด้านข้างและด้านบนด้วยกระดาษเอนกประสงค์ ภายในใส่ต้นกล้าข้าวโพดหรือต้นหญ้าขน จำนวน 3 ต้น โดยใส่ดักแด้ ในอัตราส่วน เพศผู้ 1 ตัว: เพศเมีย 1 ตัว โหลละ 20 คู่ เมื่อดักแด้ออกเป็นผีเสื้อ นำสารละลายน้ำผึ้ง 10% ชุบสำลีใส่ในโหลเพื่อเป็นอาหาร ปล่อยให้ผีเสื้อผสมพันธุ์และวางไข่บนต้นกล้าข้าวโพดหรือต้นหญ้าขนภายในโหล หลังจากผสมพันธุ์ ผีเสื้อเพศเมียจะเริ่มวางไข่บนต้นกล้าข้าวโพดหรือต้นหญ้าขนและกระดาษเอนกประสงค์ที่ใช้ปิดโหล ทำการเก็บต้นกล้าข้าวโพดหรือต้นหญ้าขน และกระดาษอเนกประสงค์ที่ผีเสื้อวางไข่แล้วออกจากโหลและเปลี่ยนกระดาษแผ่นใหม่ทุกวัน จนกว่าจะไม่มีการวางไข่อีกและผีเสื้อตายทั้งหมด จากนั้นจึงนำต้นกล้าข้าวโพดหรือต้นหญ้าขนและกระดาษอเนกประสงค์ที่มีไข่เก็บไว้ในกล่องพลาสติกที่มีรูระบายอากาศ จนกระทั่งหนอนวัยแรกที่ฟักออกมาจากไข่กัดกินต้นกล้าข้าวโพดหรือต้นหญ้าขนภายในกล่องจนใบเริ่มพรุน แล้วจึงย้ายหนอนวัย 2 จากต้นกล้าข้าวโพดหรือต้นหญ้าขนไปเลี้ยงในกระปุกใส่อาหารเทียม กระปุกละ 1 ตัว รอจนหนอนเจริญเติบโตเข้าสู่ระยะวัย 3 จึงนำมาใช้ในการทดลอง (Torres-Vila *et al*., 2002; Avilla and Gonzalez, 2010)

ทำการทดลองด้วยวิธี Diet-overlay assay (Cook *et al*., 2005; Muraro *et al*. 2021) วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ โดยในแต่ละซ้ำใช้หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด วัย 3 จำนวน 10 ตัว โดยให้หนอนกินอาหารเทียมที่ทำการหยดสารฆ่าแมลงแต่ละชนิดปริมาตร 200 ไมโครลิตรลงบนผิวหน้าอาหารเทียม สำหรับชุดควบคุม (control) ให้หนอนกินอาหารเทียมที่ทำการหยดน้ำกลั่น ทำการทดลองทั้งหมด 4 ซ้ำ เก็บกระปุกใส่หนอนที่ใช้ทดลองทั้งหมดไว้ที่อุณหภูมิ 25–30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 60-70% ช่วงแสง 12 : 12 ชั่วโมง (สว่าง : มืด) ตรวจและบันทึกการตายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง โดยใช้ปลายพู่กันเขี่ยตัวหนอนให้พลิกตัวเพื่อตรวจความมีชีวิต หากหนอนตัวใดไม่สามารถพลิกกลับด้านปกติได้ถือว่าตาย (Avilla and Gonzalez, 2010; Hardke *et al*., 2011) หากมีการตายของหนอนในชุดควบคุม จะทำการปรับค่าเปอร์เซ็นต์การตายโดยใช้ Abbott's formula (Abbott, 1925) แต่ถ้าหนอนในชุดควบคุมมีการตายเกิน 10% จะทำการทดลองใหม่ทั้งหมด นำข้อมูลการตายของหนอนมาวิเคราะห์หาค่า median

lethal concentration (LC_{50}) และ fiducial limits ด้วยวิธี probit analysis (Finney, 1971) โดยใช้โปรแกรม POLO-plus (LeOra Software, 1997)

Abbott's formula :

$$\% \text{ Corrected Mortality} = \frac{\% \text{ test mortality} - \% \text{ control mortality}}{100 - \% \text{ control mortality}} \times 100$$

นำค่า LC_{95} ของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดแต่ละสายพันธุ์มาคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความต้านทาน (Resistance coefficient; RC) เพื่อวัดความรุนแรงของความต้านทาน ดังสมการด้านล่าง (Roy *et al*., 2009)

$$\text{Resistance coefficient (RC)} = \frac{LC_{95} \text{ ของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดแต่ละสายพันธุ์}}{\text{ความเข้มข้นของสารฆ่าแมลงแต่ละชนิดที่อัตราแนะนำ (ppm)}}$$

ทำการจำแนกความรุนแรงของความต้านทานจากค่าสัมประสิทธิ์ความต้านทาน (Resistance coefficient; RC) ที่คำนวณได้ ตามวิธีของ Wegorek *et al*., 2009 โดยแบ่งความต้านทานเป็นระดับดังนี้

1)	ไม่ต้านทาน (No resistance)	RC ≤ 1
2)	ต้านทานน้อย (Low resistance)	RC = 1.1 - 2
3)	ต้านทานปานกลาง (Moderate resistance)	RC = 2.1 - 5
4)	ต้านทานสูง (High resistance)	RC = 5.1 - 10
5)	ต้านทานสูงมาก (Very high resistance)	RC > 10

เวลาและสถานที่

เก็บตัวอย่างหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดจากแปลงข้าวโพดของเกษตรกร อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี, อำเภอวังสะพุง จังหวัดเลย, อำเภอท่าหลวง จังหวัดลพบุรี และอำเภอเขาฉกรรจ์ จังหวัดสระแก้ว ทำการทดลอง ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการศึกษาระดับต้านทานต่อสารฆ่าแมลงชนิดต่าง ๆ ในหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด (*S. frugiperda* J.E. Smith) โดยทำการเก็บตัวอย่างหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดจากแปลงข้าวโพดของเกษตรกร อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี, อำเภอวังสะพุง จังหวัดเลย, อำเภอท่าหลวง จังหวัดลพบุรี และอำเภอเขาฉกรรจ์ จังหวัดสระแก้ว มาทำการเลี้ยงขยายพันธุ์ในห้องปฏิบัติการ ทำการทดลองด้วยวิธี Diet overlay bioassays (Cook *et al*., 2005) ซึ่งได้ใช้สารฆ่าแมลงชนิดต่าง ๆ ในการทดสอบ ได้แก่ สาร emamectin benzoate 1.92% EC (กลุ่มที่ 6), สาร spinetoram

12%SC (กลุ่มที่ 5), สาร chorantraniliprole 5.17% SC (กลุ่มที่ 28), สาร chlorfenapyr 10% SC (กลุ่มที่ 13), สาร indoxacarb 15% SC (กลุ่มที่ 22A) และ สาร lufenuron 5% EC (กลุ่มที่ 15) ผลการทดลองพบว่า (Table 1)

สาร emamectin benzoate 1.92% EC (กลุ่มที่ 6) ประชากรหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดสายพันธุ์อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี, อำเภอวังสะพุง จังหวัดเลย และ อำเภอท่าหลวง จังหวัดลพบุรี มีค่าระดับความเป็นพิษ (LC_{50}) เท่ากับ 0.017, 0.027 และ 0.029 ppm ตามลำดับ ซึ่งไม่พบความแตกต่างทางสถิติระหว่างสายพันธุ์ เมื่อพิจารณาถึงค่าสัมประสิทธิ์ความต้านทาน (Resistance coefficient; RC) พบว่าหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดสายพันธุ์อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี, อำเภอวังสะพุง จังหวัดเลย และ อำเภอท่าหลวง จังหวัดลพบุรี มีค่าสัมประสิทธิ์ความต้านทาน เท่ากับ 0.002, 0.004 และ 0.005 เท่า ตามลำดับ ซึ่งเมื่อนำมาจำแนกความรุนแรงของความต้านทานตามวิธีของ Wegorek *et al*., 2009 สามารถสรุปได้ว่ายังไม่พบความต้านทานต่อสาร emamectin benzoate 1.92% EC ในหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดทั้ง 3 สายพันธุ์

สาร spinetoram 12%SC (กลุ่มที่ 5) ประชากรหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดสายพันธุ์อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี มีค่าระดับความเป็นพิษ (LC_{50}) เท่ากับ 0.270 ppm เมื่อพิจารณาถึงค่าสัมประสิทธิ์ความต้านทาน (Resistance coefficient; RC) พบว่าหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดสายพันธุ์อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี มีค่าสัมประสิทธิ์ความต้านทาน เท่ากับ 0.002 เท่า ตามลำดับ ซึ่งเมื่อนำมาจำแนกความรุนแรงของความต้านทานตามวิธีของ Wegorek *et al*., 2009 สามารถสรุปได้ว่ายังไม่พบความต้านทานต่อสาร spinetoram 12%SC

สาร chorantraniliprole 5.17% SC (กลุ่มที่ 28) ประชากรหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดสายพันธุ์อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี, อำเภอวังสะพุง จังหวัดเลย, อำเภอท่าหลวง จังหวัดลพบุรี และ อำเภอเขาฉกรรจ์ จังหวัดสระแก้ว มีค่าระดับความเป็นพิษ (LC_{50}) เท่ากับ 0.747, 0.730, 0.442 และ 0.270 ppm ตามลำดับ ซึ่งพบว่าสายพันธุ์อำเภอเขาฉกรรจ์ จังหวัดสระแก้วมีค่าระดับความเป็นพิษ (LC_{50}) น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสายพันธุ์อื่น ๆ เมื่อพิจารณาถึงค่าสัมประสิทธิ์ความต้านทาน (Resistance coefficient; RC) พบว่าหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดสายพันธุ์อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี, อำเภอวังสะพุง จังหวัดเลย, อำเภอท่าหลวง จังหวัดลพบุรี และ อำเภอเขาฉกรรจ์ จังหวัดสระแก้ว มีค่าสัมประสิทธิ์ความต้านทาน เท่ากับ 0.095, 0.088, 0.039 และ 0.024 เท่า ตามลำดับ ซึ่งเมื่อนำมาจำแนกความรุนแรงของความต้านทานตามวิธีของ Wegorek *et al*., 2009 สามารถสรุปได้ว่ายังไม่พบความต้านทานต่อสาร chorantraniliprole 5.17% SC ในหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดทั้ง 4 สายพันธุ์

สาร indoxacarb 15% SC (กลุ่มที่ 22A) ประชากรหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดสายพันธุ์อำเภอวังสะพุง จังหวัดเลย, อำเภอท่าหลวง จังหวัดลพบุรี และ อำเภอเขาฉกรรจ์ จังหวัดสระแก้ว มีค่าระดับความเป็นพิษ (LC_{50}) เท่ากับ 10.466, 7.530 และ 5.259 ppm ตามลำดับ ซึ่งไม่พบความแตกต่างทางสถิติระหว่างสายพันธุ์ เมื่อพิจารณาถึงค่าสัมประสิทธิ์ความต้านทาน (Resistance

coefficient; RC) พบว่าหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดสายพันธุ์ อำเภอวังสะพุง จังหวัดเลย, อำเภอท่าหลวง จังหวัดลพบุรี และ อำเภอเขาฉกรรจ์ จังหวัดสระแก้ว มีค่าสัมประสิทธิ์ความต้านทาน เท่ากับ 0.328, 0.320 และ 0.277 เท่า ตามลำดับ ซึ่งเมื่อนำมาจำแนกความรุนแรงของความต้านทานตามวิธีของ Wegorek *et al*., 2009 สามารถสรุปได้ว่ายังไม่พบความต้านทานต่อสาร indoxacarb 15% SC ในหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดทั้ง 3 สายพันธุ์

สาร chlorfenapyr 10% SC (กลุ่มที่ 13) ประชากรหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดสายพันธุ์ อำเภอวังสะพุง จังหวัดเลย, อำเภอท่าหลวง จังหวัดลพบุรี และ อำเภอเขาฉกรรจ์ จังหวัดสระแก้ว มีค่าระดับความเป็นพิษ (LC_{50}) เท่ากับ 8.874, 7.056 และ 7.733 ppm ตามลำดับ ซึ่งไม่พบความแตกต่างทางสถิติระหว่างสายพันธุ์ เมื่อพิจารณาถึงค่าสัมประสิทธิ์ความต้านทาน (Resistance coefficient; RC) พบว่าหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดสายพันธุ์ อำเภอวังสะพุง จังหวัดเลย, อำเภอท่าหลวง จังหวัดลพบุรี และ อำเภอเขาฉกรรจ์ จังหวัดสระแก้ว มีค่าสัมประสิทธิ์ความต้านทาน เท่ากับ 0.147, 0.109 และ 0.120 เท่า ตามลำดับ ซึ่งเมื่อนำมาจำแนกความรุนแรงของความต้านทานตามวิธีของ Wegorek *et al*., 2009 สามารถสรุปได้ว่ายังไม่พบความต้านทานต่อสาร chlorfenapyr 10% SC ในหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดทั้ง 3 สายพันธุ์

สาร lufenuron 5% EC (กลุ่มที่ 15) ประชากรหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดสายพันธุ์ อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี, อำเภอวังสะพุง จังหวัดเลย, อำเภอท่าหลวง จังหวัดลพบุรี และ อำเภอเขาฉกรรจ์ จังหวัดสระแก้ว มีค่าระดับความเป็นพิษ (LC_{50}) เท่ากับ 4.558, 0.209, 1.034 และ 0.259 ppm ตามลำดับ ซึ่งพบว่าสายพันธุ์อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี มีค่าระดับความเป็นพิษ (LC_{50}) เท่ากับ 4.558 ppm ซึ่งมากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสายพันธุ์อื่น ๆ ส่วนสายพันธุ์ อำเภอท่าหลวง จังหวัดลพบุรี มีค่าระดับความเป็นพิษ (LC_{50}) เท่ากับ 1.034 ppm ซึ่งมากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสายพันธุ์อำเภอวังสะพุง จังหวัดเลย และสายพันธุ์อำเภอเขาฉกรรจ์ จังหวัดสระแก้ว เมื่อพิจารณาถึงค่าสัมประสิทธิ์ความต้านทาน (Resistance coefficient; RC) พบว่าหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดสายพันธุ์อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี, อำเภอวังสะพุง จังหวัดเลย, อำเภอท่าหลวง จังหวัดลพบุรี และ อำเภอเขาฉกรรจ์ จังหวัดสระแก้ว มีค่าสัมประสิทธิ์ความต้านทาน เท่ากับ 1.127, 0.179, 0.816 และ 0.109 เท่า ตามลำดับ ซึ่งเมื่อนำมาจำแนกความรุนแรงของความต้านทานตามวิธีของ Wegorek *et al*., 2009 สามารถสรุปได้ว่าหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดสายพันธุ์อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี พบว่ามีความต้านทานต่อสาร lufenuron 5% EC ในระดับน้อย (ค่า RC = 1.1 - 2) ส่วนหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดสายพันธุ์อำเภอวังสะพุง จังหวัดเลย, อำเภอท่าหลวง จังหวัดลพบุรี และอำเภอเขาฉกรรจ์ จังหวัดสระแก้ว ยังไม่พบความต้านทานต่อสาร lufenuron 5% EC

ผลการทดลองครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าประชากรหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดจากหลาย ๆ พื้นที่โดยส่วนใหญ่ยังไม่สร้างความต้านทานต่อสาร emamectin benzoate 1.92% EC (กลุ่มที่ 6), สาร spinetoram 12% SC (กลุ่มที่ 5), สาร chlorantraniliprole 5.17% SC (กลุ่มที่ 28),

สาร chlorfenapyr 10% SC (กลุ่มที่ 13), สาร indoxacarb 15% SC (กลุ่มที่ 22A) และสาร lufenuron 5% EC (กลุ่มที่ 15) ซึ่งสารฆ่าแมลงทั้งหมดที่กล่าวในข้างต้นนี้เป็นสารฆ่าแมลงที่เป็นคำแนะนำเพื่อใช้ในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดของกรมวิชาการเกษตร มีเพียงประชากรหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดสายพันธุ์อำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี พื้นที่เดียวเท่านั้นที่เริ่มพบการสร้างความต้านทานต่อสาร lufenuron 5% EC แต่ยังจัดอยู่ในระดับน้อย

ดังนั้นสารฆ่าแมลงชนิดและอัตราต่าง ๆ ตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตรในปัจจุบันจึงยังสามารถนำไปใช้ได้จริงในสภาพแปลงและสามารถใช้เป็นคำแนะนำแก่เกษตรกรได้ อย่างไรก็ตามควรมีการเร่งประชาสัมพันธ์และแนะนำวิธีการสลับกลุ่มสารฆ่าแมลงตามกลไกการออกฤทธิ์เพื่อเป็นการชะลอความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงให้เกษตรกรได้รับทราบ รวมถึงควรมีการเฝ้าระวังและสำรวจความต้านทานต่อสาร emamectin benzoate ของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด เนื่องจากปัจจุบันเกษตรกรโดยส่วนใหญ่ใช้สาร emamectin benzoate ในการกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดเป็นหลักโดยไม่มีการสลับกลุ่มสารฯ ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้สูงมากที่หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดจะสร้างความต้านทานต่อสาร emamectin benzoate และอาจเป็นปัญหาต่อไปในอนาคต

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

-

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณสมาคมการค้านวัตกรรมเพื่อการเกษตรไทย (TAITA) เป็นอย่างยิ่งที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดบางส่วนที่ใช้ในการทดลองในครั้งนี้ และขอขอบคุณนางสาววีณา ทิพย์สุขุม นางสาวสุกัญญา เกตุเหล็ก และ นายพรายงาม คงเปี่ยม ที่ช่วยดำเนินการทดลองทำให้การทดลองเสร็จสิ้นด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

คณาจารย์ภาควิชาพืชไร่นา ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตรกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. 2547. พืชเศรษฐกิจ (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. (633 ก 58 2547)

โชคชัย เอกทัศนาวรรณ และ เกตุอร ทองเครือ. 2561, การปลูกข้าวโพด. แหล่งที่มา: http: //www. cto. ku. ac. th / neweto / e-book / plantherb garlicorn2. pdf, 30 สิงหาคม 2563.

Abbott, W.S. 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide. Journal of Economic Entomology. 18: 265– 267.

Argentine, J. A., R. K. Jansson, W. R. Halliday, D. RUGG and C. S. Jany, 2002. Potency, spectrum, and residual activity of four new insecticides under glasshouse conditions. Florida Entomol. 85: 552-562

Avilla C. and J. E. Gonzalez-Zamora. 2010. Monitoring resistance of *Helicoverpa armigera* to different insecticide used in cotton in Spain. Crop Protection 29 (2010): 100-103.

Cook, D. R., B. R. Leonard and J. Gore. and J. H. Temple. 2005. Baseline Responses of Bollworm, *Helicoverpa zea* (Boddie), and Tobacco Budworm, *Heliothis virescens* (F.),to Indoxacarb and Pyridalyl. J. Agric. Urban Entomol. 22(2): 99-109.

Finney, D.J. 1971. Probit Analysis. 3rd ed. Cambridge University Press, London.

Hardke, J. T., J.H. Temple, B.R. Leonard and R.E. Jackson. 2011. Laboratory Toxicity and Field Efficacy of Selected Insecticides Against Fall Armyworm (Lepidoptera:Noctuidae) . Florida Entomologist, 94(2): 272-278.

LeOra Software. 1997. POLO-PC: probit and Logit Analysis. LeOra Software, Berkeley, CA.

Muraro, D. S., D. O. A. Neto, R.H. Kanno, I. S. Kaiser, O. Bernard, and C. Omoto. 2021. Inheritance patterns, cross-resistance and synergism in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) resistant to emamectin benzoate. Pest Management Science. 77(11): 5049-5057.

Roy, S., G. Gurusubramanian and A. Mukhopadhyay. 2009. Variation of resistance to endosulfan in tea mosquito bug, *Helopeltis theivora* waterhouse (heteroptera:miridae) in the tea plantation of the Sub-HimalayanDooars, northern west Bengal, India. Journal of Bacteriology Research, 1(3): 029-035.

Torres-Vila, L. M., M. C. Rodriguex-Molina, A. Lacasa-Plasencia and P. Bielza-Lino. 2002. Insecticide resistance of *Helicoverpa armigera* to Endosulfan, Carbamates and Organophosphates: the Spanish case. Crop protection 21(2002): 1003-1013.

Wegorek, P., M. Mrówczynski and J. Zamojska. 2009. Resistance of pollen beetle (*Meligethes aeneus* F.) to selected active substances of insecticides in Poland. J. Plant Prot. Res. 49 (1): 119-127.

Table 1 Susceptibility and resistance level of *S. frugiperda* (J.E. Smith) populations to various insecticides after 72 h exposure

Insecticides	Recommended dose (ppm)	Population	Slope ± SE	LC_{50} (95% CL[1/]) (ppm)	LC_{95} (95% CL) (ppm)	RC[2/]	Resistance level
emamectin benzoate 1.92% EC	19.20	Si Prachan, Suphan Buri	5.393 ± 0.592	0.017 (0.014 - 0.025)	0.035 (0.025 - 0.092)	0.002	None
		Wang Saphung, Loei	3.806 ± 0.360	0.027 (0.021 - 0.036)	0.073 (0.050 - 0.142)	0.004	None
		Tha Luang, Lop Buri	3.249 ± 0.305	0.029 (0.023 - 0.039)	0.093 (0.062 - 0.192)	0.005	None
spinetoram 12% SC	120.00	Si Prachan, Suphan Buri	1.231 ± 0.149	0.012 (0.006 - 0.020)	0.270 (0.118 - 1.733)	0.002	None
chlorantraniliprole 5.17% SC	77.55	Si Prachan, Suphan Buri	1.654±0.170	0.747 (0.402 - 1.525)	7.379 (2.909 - 82.452)	0.095	None
		Wang Saphung, Loei	1.698±0.172	0.730 (0.376 - 1.569)	6.793 (2.630 - 93.977)	0.088	None
		Tha Luang, Lop Buri Khao	1.962±0.193	0.442 (0.306 - 0.629)	3.046 (1.790 - 7.630)	0.039	None
		Chakan, Sa Kaeo	1.968±0.208	0.270 (0.212 - 0.337)	1.852 (1.307 - 3.042)	0.024	None
indoxacarb 15% EC	225.00	Wang Saphung, Loei	1.938±0.280	10.466 (7.909 - 15.650)	73.854 (39.439 - 219.453)	0.328	None
		Tha Luang, Lop Buri Khao	1.448±0.176	5.259 (3.554 - 9.019)	71.888 (30.257 - 372.490)	0.320	None
		Chakan, Sa Kaeo	1.791±0.227	7.530 (5.772 - 10.645)	62.422 (34.671 - 161.009)	0.277	None
chlorfenapyr 10% SC	150.00	Wang Saphung, Loei	4.174±0.510	8.874 (7.669 - 10.284)	21.987 (17.643 - 30.649)	0.147	None
		Tha Luang, Lop Buri Khao	4.492±0.559	7.056 (6.120 - 8.122)	16.397 (13.357 - 22.358)	0.109	None
		Chakan, Sa Kaeo	4.476±0.558	7.733 (6.714 - 8.915)	18.022 (14.621 - 24.761)	0.120	None
lufenuron 5% EC	75.00	Si Prachan, Suphan Buri	1.179 ± 0.102	4.558 (3.405 - 6.311)	84.518 (43.602 - 236.717)	1.127	Low
		Wang Saphung, Loei	0.910±0.172	0.209 (0.055 - 0.415)	13.403 (6.691 - 52.303)	0.179	None
		Tha Luang, Lop Buri Khao	0.928±0.125	1.034 (0.597 - 1.553)	61.180 (29.292 - 203.736)	0.816	None
		Chakan, Sa Kaeo	1.097±0.191	0.259 (0.095 - 0.451)	8.180 (4.638 - 22.907)	0.109	None

[1/] 95% fiducial limits

[2/]RC = Resistance coefficient [LC_{95} of each population / recommended Dose (ppm)]

การจัดการสารฆ่าแมลงแบบหมุนเวียนกลุ่มกลไกการออกฤทธิ์เพื่อป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอม (*Spodoptera exigua* Hubner) ในหอมแดง

Rotation Spraying for Insecticides with Different Mode of Action Management for Controlling beet armyworm (*Spodoptera exigua* Hubner) in Shallot

สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น ศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา สุภราดา สุคนธาภิรมย์ ณ พัทลุง
กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การจัดการสารฆ่าแมลงแบบหมุนเวียนกลุ่มกลไกการออกฤทธิ์เพื่อป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอม (*Spodoptera exigua* Hubner) ในหอมแดง ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงกลุ่มต่างๆ ในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอมในหอมแดง ดำเนินการทดลองที่แปลงหอมแดงเกษตรกร อำเภอทองแสนขัน จังหวัดอุตรดิตถ์ ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2564 - กุมภาพันธ์ 2565 วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ 8 กรรมวิธี คือ พ่น *Bacillus thuringiensis* subsp *aizawai* พ่นสารฆ่าแมลง spinetoram 12%SC indoxacarb 15%EC emamectin benzoate 1.92%EC tofenpyrad 16%EC cyantraniliprol 10%OD และ chlorfenapyr 10%SC อัตรา 200 มิลลิลิตร, 30 มิลลิลิตร, 30 มิลลิลิตร, 40 มิลลิลิตร, 40 มิลลิลิตร, 40 มิลลิลิตร และ 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20ลิตร ตามลำดับ เปรียบเทียบกับการไม่ใช้สารฆ่าแมลง ผลการทดลองพบว่า สารฆ่าแมลง cyantraniliprol 10%OD chlorfenapyr 10%SC tofenpyrad 16%EC และ indoxacarb 15%EC มีประสิทธิภาพดีในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอมในหอมแดง โดยมีเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพหลังพ่นสารครั้งที่ 2 - 5 เท่ากับ 68 - 95%, 62 - 92%, 60 - 85% และ 53 – 93% ตามลำดับ และสารฆ่าแมลง cyantraniliprol 10%OD ให้น้ำหนักผลผลิตหอมแดงมากสุด 6.28 กิโลกรัมต่อ 2 ตารางเมตร

คำหลัก : สารฆ่าแมลง หนอนกระทู้หอม หอมแดง

รหัสการทดลอง FF65-12-03-65-02-03-65

คำนำ

หอมแดงเป็นพืชผักชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ แมลงศัตรูสำคัญในแหล่งปลูกหอมแดงที่ พบเข้าทำลายอยู่เสมอ คือ หนอนกระทู้หอม (beet armyworm: *Spodoptera exigua* (Hubner)) เป็นหนอนผีเสื้อที่สำคัญที่สุด ก่อให้เกิดความเสียหาย โดยกัดกินส่วนต่างๆทำความเสียหายต่อปริมาณและคุณภาพของผลผลิตหอมแดง ทำให้เกษตรกรต้องพ่นสารฆ่าแมลงอย่างต่อเนื่องเพื่อแก้ไขปัญหาและควบคุมการระบาดเข้าทำลายของแมลงศัตรูดังกล่าว เนื่องจากให้ผลการป้องกันกำจัดที่รวดเร็ว อีกทั้งเกษตรกรมีการเพิ่มอัตราใช้สารฆ่าแมลงจึงเริ่มเกิดปัญหาความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง แต่ผลการป้องกันกำจัดไม่มีประสิทธิภาพเท่าที่ควร ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาพิษตกค้างในผลผลิตตามมา และยังมีผลกระทบต่อเกษตรกรผู้ใช้ และจากการใช้สารฆ่าแมลงอย่างไม่มีแบบแผนของเกษตรกร การขาดคำแนะนำและส่งเสริมการบริหารศัตรูพืช ส่งผลให้หนอนกระทู้หอมมีการพัฒนาสร้างความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงได้หลายชนิด รวมทั้งนักวิชาการขาดแคลนข้อมูลใหม่ๆโดยเฉพาะประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลง (สมศักดิ์, 2548 และ สมศักดิ์, 2554) ซึ่งปัจจุบัน IRAC (Insecticide Resistance Action Committee) (2023) ได้แบ่งกลุ่มสารฆ่าแมลงออกเป็น 34 กลุ่มตามกลไกการออกฤทธิ์ จึงต้องทำการคัดเลือกสลับใช้สารฆ่าแมลงกลุ่มต่างๆในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอมในหอมแดงที่มีกลไกการออกฤทธิ์ที่แตกต่างกันเพิ่มเติม ซึ่งจะเป็นข้อมูลพื้นฐานให้การใช้สารฆ่าแมลงได้อย่างถูกต้องมีประสิทธิภาพตามแนวทางการบริหารจัดการความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง (insecticide resistance management : IRM) โดยการใช้สารฆ่าแมลงแบบหมุนเวียน (insecticide rotation) ซึ่งจะช่วยชะลอความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงและลดปัญหาสารพิษตกค้างในผลผลิตได้ วิธีการนี้จะใช้สารฆ่าแมลงที่มีประสิทธิภาพในต่างกลุ่มกันที่มีกลไกการออกฤทธิ์ต่างกันในแต่ละชั่วอายุขัยของแมลงศัตรู หรือในแต่ละช่วงเวลา ซึ่งสารฆ่าแมลงที่ใช้ต้องไม่มีปัญหาความต้านทานข้าม (cross resistance)กับสารฆ่าแมลงที่ใช้มาก่อน ซึ่งจะทำให้การเลือกใช้สารฆ่าแมลงแบบหมุนเวียนได้อย่างถูกต้องเหมาะสม เมื่อนำไปใช้ปฏิบัติแล้วสามารถให้ผลคุ้มค่าทางเศรษฐกิจ ที่สำคัญไม่ก่อให้เกิดผลเสียหายต่อสภาพแวดล้อมทั้งทางตรงและทางอ้อม อีกทั้งยังได้ผลผลิตที่ดีทั้งด้านปริมาณและคุณภาพตรงตามมาตรฐานตามความต้องการของตลาด จากรายงานของ สมศักดิ์ (2548) การใช้วิธีกลโดยการเก็บไข่และหนอน รวมทั้งส่วนของพืชที่ถูกทำลายสามารถลดความเสียหายต่อผลผลิตได้ และการใช้เชื้อแบคทีเรีย และสารสกัดสะเดาสามารถลดการเข้าทำลายของหนอนกระทู้หอมได้ เช่นเดียวกับ Li *et al.* (2001) พบว่า เชื้อแบคทีเรียมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดหนอนผีเสื้อและหนอนแมลงวันศัตรูพืชบางชนิดได้ และจากรายงานของ Byrnee และ Toscano (2001) พบว่า หนอนกระทู้หอมแสดงความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง กลุ่มไพรีทรอยด์สังเคราะห์ กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและกลุ่มคาร์บาเมท แตกต่างกันโดยจะแสดงความต้านทานกลุ่มไพรีทรอยด์สังเคราะห์มากที่สุด

เช่นเดียวกับ Ahmed และIqbal (2010) รายงานว่าหนอนกระทู้หอมแสดงความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงกลุ่มไพรีทรอยด์สังเคราะห์ กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต และกลุ่มออร์กาโนคลอรีน สมศักดิ์ และคณะ (2554) รายงานว่า chlorantraniliprol 5.17%SL flubendiamide 20%WG chlorfenapyr 10%SC tofenpyrad 16%EC และ indoxacarb15% SC มีประสิทธิภาพดีในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอมในหอมแดง รองลงมาคือ *Bacillus thuringiensis* subsp *kurstaki* ดังนั้นการศึกษาการคัดเลือกใช้สารฆ่าแมลงสลับสารที่มีกลไกการออกฤทธิ์ต่างกันกลุ่มต่างๆ ในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอมในหอมแดง เพื่อให้ได้ชนิด อัตรา และรูปแบบสลับการใช้สารฆ่าแมลงกลุ่มต่างๆ ที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอมในหอมแดงได้อย่างถูกต้อง และใช้เป็นแนวทางการบริหารจัดการหนอนกระทู้หอมในหอมแดง เพื่อชะลอ และป้องกันปัญหาการสร้างความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง และแก้ปัญหาการขยายตัวของศัตรูพืชต้านทานในแหล่งผลิตที่มีความเสี่ยง และลดปัญหาสารพิษตกค้างในผลผลิตซึ่งสามารถสนับสนุนการผลิตแบบเกษตรดีที่เหมาะสม

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แปลงหอมแดง
2. เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* subsp *aizawai*
3. สารฆ่าแมลง chlorfenapyr 10%SC cyantraniliprole 10%OD emamectin benzoate 1.92%EC indoxacarb 15%EC spinetoram 12%SC และ tolfenpyrad 16%EC
4. ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 และ 13-13-21
5. เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง
6. อุปกรณ์ตรวจนับแมลง

วิธีการ

วางแผนแบบ Randomized complete block 4 ซ้ำ 8 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่น *Bacillus thuringiensis* subsp *aizawai*	อัตรา 200มิลลิลิตร /น้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม4A)
กรรมวิธีที่ 2พ่น fipronil 5%SC	อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม2B)
กรรมวิธีที่ 3 พ่น emamectin benzoate 1.92%EC	อัตรา 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม6)
กรรมวิธีที่ 4 พ่น chlorfenapyr 10%SC	อัตรา 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม13)
กรรมวิธีที่ 5 พ่น cyantraniliprole 10%OD	อัตรา 30 มิลลิลิตร/น้ำ20 ลิตร (กลุ่ม28)
กรรมวิธีที่ 6 พ่น tolfenpyrad 16%EC	อัตรา 40 มล./น้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม21)
กรรมวิธีที่ 7 พ่น spinetoram 12%SC	อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม5)
กรรมวิธีที่ 8 ไม่พ่นสารฆ่าแมลง	

วิธีการปฏิบัติ

ดำเนินการทดลองแปลงทดลองหอมแดงเกษตรกรในพื้นที่ 1 ไร่ ขนาดแปลงย่อย 20 ตารางเมตร ระยะปลูกระหว่างแถว 15 เซนติเมตร ระหว่างต้น 15 เซนติเมตร และเริ่มปฏิบัติการทดลองตามกรรมวิธีเมื่อพบการระบาดเข้าทำลายของหนอนกระทู้หอมเฉลี่ย 1 ตัว/0.25 ตารางเมตร พ่นสารทดลองทุก 7 วัน ตรวจนับจำนวนหนอนกระทู้หอมจากการสุ่มตรวจนับโดยใช้ตารางไม้ขนาด 50 x 50 เซนติเมตร สุ่มจำนวน 4 จุดในแต่ละแปลงย่อย พร้อมทั้งตรวจนับแมลงศัตรูธรรมชาติที่พบ และเก็บน้ำหนักผลผลิตที่มีคุณภาพระยะส่งตลาดของหอมแดงจากการสุ่มหอมแดงในพื้นที่ 2.0 ตารางเมตร และนำข้อมูลที่ทำการบันทึกไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ และอาการเป็นพิษต่อหอมแดง จากนั้นนำข้อมูลจำนวนหนอนกระทู้หอมมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพการป้องกันกำจัด โดยใช้สูตรของ Henderson-Tilton (Henderson and Tilton, 1955) ดังนี้

$$\% \text{ ประสิทธิภาพการป้องกันกำจัด} = \left[1 - \frac{\text{จำนวนแมลงก่อนพ่นในวิธีควบคุม} \times \text{จำนวนแมลงหลังพ่นในวิธีพ่นสาร}}{\text{จำนวนแมลงหลังพ่นในวิธีควบคุม} \times \text{จำนวนแมลงก่อนพ่นในวิธีพ่นสาร}} \right] \times 100$$

เวลาและสถานที่

แปลงหอมแดงเกษตรกร อำเภอทองแสนขัน จังหวัดอุตรดิตถ์ เดือนพฤศจิกายน 2564 - กุมภาพันธ์ 2565

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

แปลงทดลองที่1 เดือนพฤศจิกายน 2564 – กุมภาพันธ์ 25565

จำนวนหนอนกระทู้หอม (Table 1.)

ก่อนพ่นสารทดลองครั้งแรกทุกกรรมวิธีพบจำนวนหนอนกระทู้หอมเฉลี่ยระหว่าง 12.3 - 18.0 ตัว/ตารางเมตร ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

หลังพ่นสารทดลองครั้งที่ 1 ทุกกรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลงมีประสิทธิภาพการป้องกันกำจัดระหว่าง 23 - 54 เปอร์เซ็นต์ และพบจำนวนหนอนกระทู้หอมเฉลี่ยระหว่าง 9.3 - 12.5 ตัว/ตารางเมตร ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง พบจำนวนหนอนกระทู้หอมเฉลี่ย 15.8 ตัว/ตารางเมตร

หลังพ่นสารทดลองครั้งที่ 2 ทุกกรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลงมีประสิทธิภาพการป้องกันกำจัดระหว่าง 23 - 68 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้นกรรมวิธีพ่น *Bacillus thuringiensis* subsp *aizawai* อัตรา 200 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร พบจำนวนหนอนกระทู้หอมเฉลี่ยระหว่าง 6.3 - 9.5 ตัว/ตารางเมตร น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง พบจำนวนหนอนกระทู้หอมเฉลี่ย 17.3 ตัว/ตารางเมตร โดยกรรมวิธีพ่น cyantraniliprole 10%OD chlorfenapyr 10%SC tolfenpyrad 16%EC spinetoram 12%SC emamectin benzoate 1.92%EC และ indoxacarb

15%EC อัตรา 40, 40, 40, 30, 40 และ30 มิลลิลิตร/น้ำ 20ลิตร ตามลำดับ มีประสิทธิภาพการป้องกันกำจัด 68, 62, 60, 43, 35 และ 23 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

หลังพ่นสารทดลองครั้งที่ 3 ทุกกรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลงมีประสิทธิภาพการป้องกันกำจัดระหว่าง 40-79 เปอร์เซ็นต์ พบจำนวนหนอนกระทู้หอมเฉลี่ยระหว่าง 5.5-14.3 ตัว/ตารางเมตร น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง พบจำนวนหนอนกระทู้หอมเฉลี่ย 22.8 ตัว/ตารางเมตร โดยกรรมวิธีพ่น cyantraniliprole 10%OD และ tolfenpyrad 16%EC อัตรา 40 และ 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20ลิตร ตามลำดับ มีประสิทธิภาพการป้องกันกำจัด 79 และ 76 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ พบจำนวนหนอนกระทู้หอมเฉลี่ยระหว่าง 5.5 - 6.0 ตัว/ตารางเมตร น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่น *Bacillus thuringiensis* subsp *aizawai* อัตรา 200 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร พบจำนวนหนอนกระทู้หอมเฉลี่ยระหว่าง 14.3 ตัว/ตารางเมตร และมีประสิทธิภาพการป้องกันกำจัด 40 เปอร์เซ็นต์

หลังพ่นสารทดลองครั้งที่ 4 ทุกกรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลงมีประสิทธิภาพการป้องกันกำจัดระหว่าง 31 - 94 เปอร์เซ็นต์ พบจำนวนหนอนกระทู้หอมเฉลี่ยระหว่าง 2.0 - 19.5 ตัว/ตารางเมตร น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง พบจำนวนหนอนกระทู้หอมเฉลี่ย 27.3 ตัว/ตารางเมตร โดยกรรมวิธีพ่น cyantraniliprole 10%OD อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20ลิตร มีประสิทธิภาพการป้องกันกำจัด 94 เปอร์เซ็นต์ พบจำนวนหนอนกระทู้หอมเฉลี่ย 2.0 ตัว/ตารางเมตร น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่น *Bacillus thuringiensis* subsp *aizawai* emamectin benzoate 1.92%EC และspinetoram 12%SC อัตรา 200, 40 และ 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ตามลำดับ พบจำนวนหนอนกระทู้หอมเฉลี่ย 19.5, 12.8 และ 9.8 ตัว/ตารางเมตร ตามลำดับ และมีประสิทธิภาพการป้องกันกำจัดระหว่าง 31, 49 และ 62 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

หลังพ่นสารทดลองครั้งที่ 5 ทุกกรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลงมีประสิทธิภาพการป้องกันกำจัดระหว่าง 48 - 95 เปอร์เซ็นต์ พบจำนวนหนอนกระทู้หอมเฉลี่ยระหว่าง 1.0 - 10.0 ตัว/ตารางเมตร น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง พบจำนวนหนอนกระทู้หอมเฉลี่ย 18.5 ตัว/ตารางเมตร โดยกรรมวิธีพ่น cyantraniliprole 10%OD indoxacarb 15%EC chlorfenapyr 10%SC tolfenpyrad 16%EC และ spinetoram 12%SC อัตรา 40, 30, 40, 40 และ 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20ลิตร ตามลำดับ มีประสิทธิภาพการป้องกันกำจัด 95, 93, 92, 85 และ 80 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ พบจำนวนหนอนกระทู้หอมเฉลี่ย 1.0, 1.3, 2.0 , 3.0 และ 3.5 ตัว/ตารางเมตร ตามลำดับ น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่น *Bacillus thuringiensis* subsp *aizawai* พบจำนวนหนอนกระทู้หอมเฉลี่ยระหว่าง 10.0 ตัว/ตารางเมตร และมีประสิทธิภาพการป้องกันกำจัด 48 เปอร์เซ็นต์

ผลผลิตหอมแดง (Table 1)

เปรียบเทียบน้ำหนักผลผลิตหอมแดงที่มีคุณภาพระยะส่งตลาด พบว่าทุกกรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลง ได้น้ำหนักผลผลิตหอมแดงเฉลี่ยระหว่าง 3.13 – 6.28 กิโลกรัม/2 ตารางเมตร มากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลง ได้น้ำหนักผลผลิตหอมแดงเฉลี่ย 1.80 กิโลกรัม/2 ตารางเมตร โดยกรรมวิธีพ่น cyantraniliprole 10%OD อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ได้น้ำหนักผลผลิตหอมแดงมากสุดเฉลี่ย 6.28 กิโลกรัม/2ตารางเมตร มากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่น spinetoram 12%SC emamectin benzoate 1.92%EC และ *Bacillus thuringiensis* subsp *aizawai* อัตรา 30, 40 และ 200 มิลลิลิตร/น้ำ 20ลิตร ได้น้ำหนักผลผลิตหอมแดงเฉลี่ย 4.85, 3.98 และ 3.13 กิโลกรัม/2 ตารางเมตร ตามลำดับ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การจัดการสารฆ่าแมลงแบบหมุนเวียนกลุ่มกลไกการออกฤทธิ์เพื่อป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอม (*Spodoptera exigua* Hubner) ในหอมแดง ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงกลุ่มต่างๆ ในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอมในหอมแดง ดำเนินการทดลองที่แปลงหอมแดงเกษตรกร อำเภอทองแสนขัน จังหวัดอุตรดิตถ์ ข้อมูลในปีที่ 1 พบว่า สารฆ่าแมลง cyantraniliprol 10%OD chlorfenapyr 10% SC tofenpyrad 16%EC และ indoxacarb 15%EC มีประสิทธิภาพดีในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอมในหอมแดง โดยมีเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพหลังพ่นสารครั้งที่ 2 - 5 เท่ากับ 68 - 95%, 62 - 92%, 60 - 85% และ 53 – 93% ตามลำดับ และสารฆ่าแมลง cyantraniliprol 10%OD ให้น้ำหนักผลผลิตหอมแดงมากสุด 6.28 กิโลกรัมต่อ 2 ตารางเมตร

เอกสารอ้างอิง

สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น. 2548. คู่มือโรคและแมลงศัตรูผัก โครงการเกษตรเชิงพานิชย์ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 8. กรมวิชาการเกษตร. หน้า 32-48.

สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น. 2554. แมลงศัตรูผักและการป้องกันกำจัด. *ใน* เอกสารวิชาการ แมลงศัตรูผัก เห็ด และไม้ดอก. กลุ่มบริหารศัตรูพืช/กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร. 74 หน้า.

Ahmad.M. and M.Iqbal.2010. Resistance of beet armyworm *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) to endosulfan, organophosphorus and pyrethroid insecticides. Crop Protection.29(12):1428-1433.

Byrne,F.J. and N.C. Tascano. 2001. Levels of organolphosphorus and carbarmate insecticide resistance conferred by insensitive acetycholinesterase in the beet armyworm. Review of Agricultural Entomology. 89(2):187-188

IRAC, 2023. IRAC Mode of Action Classification Scheme Version 9.3. Crop life international. Available at URL http://www.irac-online.org Accessed on 22/02/2023.

Li, J.H., Q. Y. Wan, M. Wang, S.K. Kang and Z.N. Yu. 2001. Chracteristics of two new isolates of *Bacillus thuringiensis*. Review of Agricuktural Entomology. 89(6):696.

Roush, R.T. and J.C. Daly. 1990. The role of population genetics research in resistance research and management. pp. 97–152. *In* : Pesticide Resistance in Arthropods, ed. by Roush R.T. and Tabashnik B.E. Chapman and Hall, New York.

Table 1 Efficiency and number of beet armyworm before and after spraying with insecticides and marketable yields at Thong Saen Khan district, Uttaradit province during November 2021 – Febuary 2022

Treatment	Rate (ml/20L)	Number of beet armyworm/sqm[1/]						Marketable yields (kg/2sqm)
		Before spraying	After spraying (ครั้งที่)					
			1st	2nd	3rd	4th	5th	
1. *Bacillus thuringiensis aizawai*	200	13.8	12.5 (24)[2/]	12.0 ab (33)	14.3 b (40)	19.5 d (31)	10.0 b (48)	3.13 d
2. spinetoram 12%SC	30	12.5	10.3 (31)	9.3 a (43)	11.3 ab (42)	9.8 bc (62)	3.5 a (80)	4.85 bc
3. indoxacarb 15%EC	30	13.5	10.8 (33)	8.3 a (23)	8.3 ab (64)	6.8 abc (76)	1.3 a (93)	5.43 ab
4. emamectin benzoate 1.92%EC	40	12.3	11.3 (23)	9.5 a (35)	11.0 ab (48)	12.8 c (49)	5.8 ab (66)	3.98 cd
5. tofenpyrad 16%EC	40	14.3	10.3 (39)	7.5 a (60)	6.0 a (76)	5.8 ab (80)	3.0 a (85)	5.80 ab
6. cyantraniliprol 10%OD	40	15.0	9.3 (48)	6.3 a (68)	5.5 a (79)	2.0 a (94)	1.0 a (95)	6.28 a
7. chlorfenapyr 10%SC	40	18.0	9.8 (54)	9.0 a (62)	7.5 ab (76)	5.3 ab (86)	2.0 a (92)	5.38 ab
8. control	-	13.3	15.8	17.3 b	22.8 c	27.3 e	18.5 c	1.80 e
C.V. (%)	-	36.4	30.2	42.1	25.6	31.7	63.5	18.7
R.E. (%)[3/]	-	-	-	-	57.5	93.5	48.6	-

[1/] Means followed by the same letter in a row are not significantly different at the 5% level DMRT

[2/] %efficiency (Hendrson and Tilton, 1955)

[3/] R.E.=Relative efficiency

การใช้สารแบบหมุนเวียนในการป้องกันกำจัดเพลี้ยจักจั่นฝ้าย *Amrasca biguttula biguttula*(Ishida) ในกระเจี๊ยบเขียว เพื่อลดปัญหาความต้านทานสารฆ่าแมลง

สมรวย รวมชัยอภิกุล อุราพร หนูนารถ
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ศึกษาการใช้สารแบบหมุนเวียนในการป้องกันกำจัดเพลี้ยจักจั่นฝ้าย *Amrasca biguttula biguttula* (Ishida) ในกระเจี๊ยบเขียวเพื่อลดปัญหาการต้านทานสารฆ่าแมลง ดำเนินการทดลองที่แปลงเกษตรกร อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม ระหว่างเดือนมกราคม-เมษายน 2565 โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 7 กรรมวิธี 3 ซ้ำ พ่นสาร flonicamid 50%WG, pymetrozin 50%WG, lambda-cyhalothrin 2.5 %EC, fipronil 5 %SC, fenobucarb 50 %EC และ phenthoate 50 %EC อัตรา 2 กรัม, 10 กรัม, 25, 25, 25 และ 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และไม่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่าสารฆ่าแมลง flonicamid 50%WG และ fipronil 5 %SC อัตรา 2 กรัม และ 25 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ตามลำดับมีประสิทธิภาพดีในการควบคุมประชากรเพลี้ยจักจั่นฝ้าย และสารกำจัดแมลงที่ใช้ไม่มีผลกระทบต่อกระเจี๊ยบเขียว

คำหลัก : เพลี้ยจักจั่นฝ้าย สารฆ่าแมลง

รหัสการทดลอง FF65-12-03-65-02-04-65

คำนำ

กระเจี๊ยบเขียว เป็นพืชผักที่มีความสำคัญในด้านการส่งออกที่นำรายได้เข้าประเทศพืชหนึ่ง ตลาดส่งออก ได้แก่ ญี่ปุ่น กระเจี๊ยบเขียวมีการปลูกอย่างต่อเนื่องกันมานานมากกว่า 10 ปี โดยพื้นที่ปลูกที่สำคัญอยู่บริเวณภาคกลาง และภาคตะวันตก ได้แก่ จังหวัด ราชบุรี, นครปฐม,สุพรรณบุรี, สมุทรสาคร,กาญจนบุรี และนครราชสีมา เป็นต้น มีทั้งแบบยกร่องและแบบไม่ยกร่อง ปัจจุบันพบว่าปัญหาหนึ่งที่สำคัญที่ทำให้ผลผลิตกระเจี๊ยบเขียวไม่ได้มาตรฐานการส่งออก คือ แมลงศัตรูพืช ได้แก่ หนอนกระทู้หอม หนอนเจาะสมอฝ้าย เพลี้ยไฟ เพลี้ยแป้ง และเพลี้ยจักจั่นฝ้าย แต่แมลงที่เป็นปัญหาสำคัญในอันดับแรก ได้แก่ เพลี้ยจักจั่นฝ้ายซึ่งพบทำลายตามแหล่งปลูกทั่ว ๆ ไป การทำลายในช่วงที่ต้นกระเจี๊ยบเขียวยังเล็ก ทำให้พืช ชะงักการเจริญเติบโต หรือตายได้ โดยทั้งตัวอ่อน และตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบพืช มีผลทำให้ใบเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และงอลง ใบจะเหี่ยวและแห้งกรอบในที่สุด จึงทำให้ผลผลิตลดลงและไม่ได้คุณภาพ (กองกีฏและสัตววิทยา, 2542) ทำให้เกษตรกรจึงทำการพ่นสารฆ่าแมลงเป็นประจำ ดังนั้น จึงได้ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดธรรมชาติ และสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดเพลี้ยจักจั่นฝ้ายในกระเจี๊ยบเขียว เพื่อหาสารป้องกันกำจัดแมลงที่มีประสิทธิภาพเหมาะสม และปลอดภัยต่อผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียว
2. สารฆ่าแมลง flonicamid 50%WG, pymetrozin 50%WG, lambda-cyhalothrin 2.5 %EC, fipronil 5 %SC, fenobucarb 50 %EC และ phenthoate 50 %EC
3. เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง
4. ปุ๋ยเคมี 16-16-16, 48-0-0 และปุ๋ยคอก

วิธีการ

โดยวางแผนการทดลอง แบบ Randomized Complete Block Desize มี 3 ซ้ำ 7 กรรมวิธี ดังนี้

1. พ่นสาร flonicamid 50%WG	อัตรา 2 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
2. พ่นสาร pymetrozin 50%WG	อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
3. พ่นสาร lambda-cyhalothrin 2.5 %EC	อัตรา 25 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร
4. พ่นสาร fipronil 5 %SC	อัตรา 25 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร
5. พ่นสาร fenobucarb 50 %EC	อัตรา 25 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร
6. พ่นสาร phenthoate 50 %EC	อัตรา 30 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร
7. ไม่พ่นสารกำจัดแมลง	

วิธีปฏิบัติการทดลอง

ทำการทดลองในแปลงกระเจี๊ยบเขียวของเกษตรกร อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม ระหว่างเดือนมกราคม-เมษายน 2565 ขนาดแปลงย่อย 5X6 เมตร เริ่มพ่นสารทดลองตามกรรมวิธี เมื่อพบการระบาดของตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้าย มากกว่า 1 ตัวต่อใบ ช่วงพ่นสารทดลองทุก 7 วันครั้ง โดยตรวจนับจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้าย ก่อนการพ่นสารครั้งแรกและหลังพ่นสารทดลอง 3, 5 และ 7 วัน และตรวจนับหลังพ่นครั้งสุดท้ายที่ 10 และ 14 วัน สุ่มตรวจนับจากต้นกระเจี๊ยบเขียว 10 ต้น/แปลงย่อย ตรวจนับจำนวน 5 ใบ จากใบยอดลงมา บันทึกผล และนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติต่อไป

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เดือนมกราคม-เมษายน 2565

สถานที่ แปลงเกษตรกร อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 ที่อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม ระหว่างเดือนมกราคม-กุมภาพันธ์ 2565 (ตารางที่ 1)

ก่อนพ่นสารทดลอง พบว่าทุกกรรมวิธีมีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 1.87-2.18 ตัวต่อ ใบ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จึงวิเคราะห์ข้อมูลหลังพ่นสาร ด้วยวิธี Analysis of Variance

หลังพ่นสารครั้งที่ 1 แล้ว 3 วัน พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 0.51-1.85 ตัวต่อใบ มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเพลี้ยจักจั่นฝ้ายดีกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่พ่นสาร ซึ่งพบตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 2.67 ตัวต่อใบ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลง พบว่ากรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง flonicamid 50%WG และ fipronil 5 %SC อัตรา 2 กรัม และ 25 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 0.51 และ 0.57 ตัวต่อ ใบ ตามลำดับ น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง pymetrozin 50%WG, lambda-cyhalothrin 2.5 %EC, fenobucarb 50 %EC และ phenthoate 50 %EC อัตรา 2 กรัม, 10 กรัม, 25, 25 และ 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 1.72, 1.85, 1.59 และ 1.63 ตัวต่อใบ ตามลำดับ

หลังพ่นสารครั้งที่ 1 แล้ว 5 วัน พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 0.80-2.29 ตัวต่อใบ มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเพลี้ยจักจั่นฝ้ายดีกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่พ่นสาร ซึ่งพบตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 3.26 ตัวต่อใบ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลง พบว่ากรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง flonicamid 50%WG อัตรา 2 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 0.80 ตัวต่อใบ น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง fipronil 5 %SC อัตรา 25

มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ซึ่งมีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 1.27 ตัวต่อใบ และกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง pymetrozin 50%WG, lambda-cyhalothrin 2.5 %EC, fenobucarb 50 %EC และ phenthoate 50 %EC อัตรา 10 กรัม, 25, 25 และ 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 1.87, 2.29, 1.96 และ 1.89 ตัวต่อใบ ตามลำดับ มากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง flonicamid 50%WG และ fipronil 5 %SC

หลังพ่นสารครั้งที่ 1 แล้ว 7 วัน พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 1.05-2.34 ตัวต่อใบ มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเพลี้ยจักจั่นฝ้ายดีกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่พ่นสาร ซึ่งพบตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 3.58 ตัวต่อใบ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลง พบว่ากรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง flonicamid 50%WG อัตรา 2 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 1.05 ตัวต่อใบ น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง pymetrozin 50%WG, lambda-cyhalothrin 2.5 %EC, fenobucarb 50 %EC และ phenthoate 50 %EC อัตรา 10 กรัม, 25, 25 และ 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 2.33, 2.34, 2.22 และ 1.91 ตัวต่อใบ ตามลำดับ แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง fipronil 5 %SC อัตรา 25 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ซึ่งมีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 1.53 ตัวต่อใบ

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 3 วัน พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 0.22-1.92 ตัวต่อใบ มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเพลี้ยจักจั่นฝ้ายดีกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่พ่นสาร ซึ่งพบตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 3.97 ตัวต่อใบ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลง พบว่ากรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง flonicamid 50%WG และ fipronil 5 %SC อัตรา 2 กรัม และ 25 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 0.22 และ 0.47 ตัวต่อ ใบ ตามลำดับ น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง pymetrozin 50%WG, lambda-cyhalothrin 2.5 %EC, fenobucarb 50 %EC และ phenthoate 50 %EC อัตรา 2 กรัม, 10 กรัม, 25, 25 และ 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 1.93, 1.92, 1.79 และ 1.71 ตัวต่อใบ ตามลำดับ

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 5 วัน พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 0.25-0.58 ตัวต่อใบ มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเพลี้ยจักจั่นฝ้ายดีกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่พ่นสาร ซึ่งพบตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 4.08 ตัวต่อใบ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลง พบว่ากรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง flonicamid 50%WG และ fipronil 5 %SC อัตรา 2 กรัม และ 25 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 0.25 และ 0.58 ตัวต่อ ใบ ตามลำดับ น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง pymetrozin 50%WG, lambda-cyhalothrin 2.5 %EC, fenobucarb 50 %EC และ phenthoate 50 %EC อัตรา 2 กรัม, 10 กรัม, 25, 25 และ 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 1.85, 2.04, 1.94 และ 1.75 ตัวต่อ ใบ ตามลำดับ

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 7 วัน พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 0.38-0.73 ตัวต่อใบ มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเพลี้ยจักจั่นฝ้ายดีกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่พ่นสาร ซึ่งพบตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 3.81 ตัวต่อใบ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลง พบว่ากรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง flonicamid 50%WG และ fipronil 5 %SC อัตรา 2 กรัม และ 25 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 0.38 และ 0.73 ตัวต่อ ใบ ตามลำดับ น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง pymetrozin 50%WG, lambda-cyhalothrin 2.5 %EC, fenobucarb 50 %EC และ phenthoate 50 %EC อัตรา 2 กรัม, 10 กรัม, 25, 25 และ 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 2.20, 2.40, 2.26 และ 2.12 ตัวต่อใบ ตามลำดับ

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 10 วัน พบว่ากรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง flonicamid 50%WG และ fipronil 5 %SC อัตรา 2 กรัม และ 25 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 0.38 และ 0.73 ตัวต่อ ใบ ตามลำดับ น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง pymetrozin 50%WG, lambda-cyhalothrin 2.5 %EC, fenobucarb 50 %EC และ phenthoate 50 %EC อัตรา 2 กรัม, 10 กรัม, 25, 25 และ 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และ กรรมวิธีที่ไม่พ่นสาร มีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 2.98, 2.93, 2.57, 2.32 และ 3.08 ตัวต่อใบ ตามลำดับ

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 14 วัน พบว่ากรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง flonicamid 50%WG อัตรา 2 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 0.60 ตัวต่อใบ น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง fipronil 5 %SC อัตรา 25 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ซึ่งมีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 1.57 ตัวต่อใบ และกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง pymetrozin 50%WG, lambda-cyhalothrin 2.5 %EC, fenobucarb 50 %EC และ phenthoate 50 %EC อัตรา 10 กรัม, 25, 25 และ 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และ กรรมวิธีที่ไม่พ่นสาร มีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 3.25, 3.02, 2.98, 2.81 และ 3.16 ตัวต่อใบ ตามลำดับ มากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง flonicamid 50%WG และ fipronil 5 %SC

การทดลองที่ 2 ที่อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม ระหว่างเดือนมีนาคม-เมษายน 2565 (ตารางที่ 2)

ก่อนพ่นสารทดลอง พบว่าทุกกรรมวิธีมีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 2.27-2.69 ตัวต่อ ใบ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จึงวิเคราะห์ข้อมูลหลังพ่นสาร ด้วยวิธี Analysis of Variance

หลังพ่นสารครั้งที่ 1 แล้ว 3 วัน พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 0.49-2.08 ตัวต่อใบ มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเพลี้ยจักจั่นฝ้ายดีกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่พ่นสาร ซึ่งพบตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 3.02 ตัวต่อใบ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลง พบว่ากรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง flonicamid

50%WG และ fipronil 5 %SC อัตรา 2 กรัม และ 25 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 0.49 และ 0.65 ตัวต่อ ใบ ตามลำดับ น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง pymetrozin 50%WG, lambda-cyhalothrin 2.5 %EC, fenobucarb 50 %EC และ phenthoate 50 %EC อัตรา 2 กรัม, 10 กรัม, 25, 25 และ 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 2.08, 1.99, 1.42 และ 1.65 ตัวต่อใบ ตามลำดับ

หลังพ่นสารครั้งที่ 1 แล้ว 5 วัน พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 0.70-2.38 ตัวต่อใบ มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเพลี้ยจักจั่นฝ้ายดีกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่พ่นสาร ซึ่งพบตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 3.60 ตัวต่อใบ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลง พบว่ากรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง flonicamid 50%WG และ fipronil 5 %SC อัตรา 2 กรัม และ 25 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 0.70 และ 0.89 ตัวต่อ ใบ ตามลำดับ น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง pymetrozin 50%WG, lambda-cyhalothrin 2.5 %EC, fenobucarb 50 %EC และ phenthoate 50 %EC อัตรา 2 กรัม, 10 กรัม, 25, 25 และ 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 2.38, 2.03, 1.74 และ 1.84 ตัวต่อใบ ตามลำดับ

หลังพ่นสารครั้งที่ 1 แล้ว 7 วัน พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 1.01-2.80 ตัวต่อใบ มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเพลี้ยจักจั่นฝ้ายดีกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่พ่นสาร ซึ่งพบตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 3.79 ตัวต่อใบ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลง พบว่ากรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง flonicamid 50%WG อัตรา 2 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 1.01 ตัวต่อใบ น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง pymetrozin 50%WG, lambda-cyhalothrin 2.5 %EC, fenobucarb 50 %EC และ phenthoate 50 %EC อัตรา 10 กรัม, 25, 25 และ 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 2.80, 2.68, 2.04 และ 2.21 ตัวต่อใบ ตามลำดับ แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง fipronil 5 %SC อัตรา 25 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ซึ่งมีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 1.45 ตัวต่อใบ

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 3 วัน พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 0.07-2.49 ตัวต่อใบ มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเพลี้ยจักจั่นฝ้ายดีกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่พ่นสาร ซึ่งพบตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 3.96 ตัวต่อใบ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลง พบว่ากรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง flonicamid 50%WG อัตรา 2 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 0.07 ตัวต่อใบ น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง pymetrozin 50%WG, lambda-cyhalothrin 2.5 %EC, fenobucarb 50 %EC และ phenthoate 50 %EC อัตรา 10 กรัม, 25, 25 และ 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 2.49, 2.17, 1.73 และ 1.59

ตัวต่อใบ ตามลำดับ แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง fipronil 5 %SC อัตรา 25 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ซึ่งมีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 0.45 ตัวต่อใบ

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 5 วัน พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 0.23-2.75 ตัวต่อใบ มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเพลี้ยจักจั่นฝ้ายดีกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่พ่นสาร ซึ่งพบตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 3.89 ตัวต่อใบ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลง พบว่ากรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง flonicamid 50%WG และ fipronil 5 %SC อัตรา 2 กรัม และ 25 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 0.23 และ 0.58 ตัวต่อ ใบ ตามลำดับ น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง pymetrozin 50%WG, lambda-cyhalothrin 2.5 %EC, fenobucarb 50 %EC และ phenthoate 50 %EC อัตรา 2 กรัม, 10 กรัม, 25, 25 และ 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 2.75, 2.55, 1.86 และ 1.80 ตัวต่อ ใบ ตามลำดับ

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 7 วัน พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ยระหว่าง 0.47-1.02 ตัวต่อใบ มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเพลี้ยจักจั่นฝ้ายดีกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่พ่นสาร ซึ่งพบตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 3.82 ตัวต่อใบ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลง พบว่ากรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง flonicamid 50%WG อัตรา 2 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 0.47 ตัวต่อใบ น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง pymetrozin 50%WG, lambda-cyhalothrin 2.5 %EC, fenobucarb 50 %EC และ phenthoate 50 %EC อัตรา 10 กรัม, 25, 25 และ 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 2.82, 2.97, 2.27 และ 2.51 ตัวต่อใบ ตามลำดับ แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง fipronil 5 %SC อัตรา 25 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ซึ่งมีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 1.02 ตัวต่อใบ

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 10 วัน พบว่ากรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง flonicamid 50%WG อัตรา 2 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 0.60 ตัวต่อใบ น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง pymetrozin 50%WG, lambda-cyhalothrin 2.5 %EC, fenobucarb 50 %EC และ phenthoate 50 %EC อัตรา 10 กรัม, 25, 25 และ 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และ กรรมวิธีที่ไม่พ่นสาร มีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 3.13, 2.91, 2.67,2.60 และ 3.72 ตัวต่อใบ ตามลำดับ แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง fipronil 5 %SC อัตรา 25 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ซึ่งมีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 1.44 ตัวต่อใบ

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 14 วัน พบว่ากรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง flonicamid 50%WG และ fipronil 5 %SC อัตรา 2 กรัม และ 25 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 0.85 และ 1.74 ตัวต่อ ใบ ตามลำดับ น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง pymetrozin 50%WG, lambda-cyhalothrin 2.5 %EC, fenobucarb 50 %EC และ

phenthoate 50 %EC อัตรา 2 กรัม, 10 กรัม, 25, 25 และ 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และ กรรมวิธีที่ไม่พ่นสาร มีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเฉลี่ย 3.25, 3.02, 2.98, 2.81 และ 3.40 ตัวต่อ ใบ ตามลำดับ และกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง flonicamid 50%WG มีจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยจักจั่นฝ้ายน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง fipronil 5 %SC

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การใช้สารแบบหมุนเวียนในการป้องกันกำจัดเพลี้ยจักจั่นฝ้าย *Amrasca biguttula biguttula* (Ishida) ในกระเจี๊ยบเขียวเพื่อลดปัญหาการต้านทานสารฆ่าแมลง ดำเนินการทดลองที่แปลงเกษตรกร อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม ระหว่างเดือนมกราคม-เมษายน 2565 โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 7 กรรมวิธี 3 ซ้ำ พ่นสาร flonicamid 50%WG, pymetrozin 50%WG, lambda-cyhalothrin 2.5 %EC, fipronil 5 %SC, fenobucarb 50 %EC และ phenthoate 50 %EC อัตรา 2 กรัม, 10, 25, 25, 25 และ 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และไม่พ่นสารฆ่าแมลง พบว่าสารฆ่าแมลง flonicamid 50%WG และ fipronil 5 %SC อัตรา 2 กรัม และ 25 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ตามลำดับมีประสิทธิภาพดีในการควบคุมประชากรเพลี้ยจักจั่นฝ้าย และสารกำจัดแมลงที่ใช้ไม่มีผลกระทบต่อกระเจี๊ยบเขียว

เอกสารอ้างอิง

กองกีฏและสัตววิทยา. 2542. เอกสารวิชาการ : แมลงศัตรูผัก. กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูผักไม้ดอกและไม้ประดับ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 97 หน้า.

Table 1 Efficacy some of insecticides for controlling cotton leafhopper, *Amrasca biguttula biguttula* (Ishida) in okra at farmer's field, Meang district, Nakon prathom during January-February 2022

Treatment	Dosage (g,ml/20 l of water	Number of cotton leafhopper (nymph/leaf) [1/]							
		Before application	Day after 1st application			Day after 2nd application			
			3	5	7	3	5	7	10	14
flonicamid 50%WG	2	2.11	0.51a	0.80a	1.05a	0.22 a	0.25a	0.38a	0.43a	0.60a
pymetrozin 50%WG	10	1.88	1.72b	1.87c	2.33c	1.93b	1.85b	2.20b	2.98c	3.25c
lambda-cyhalothrin 2.5 %EC	25	2.18	1.85b	2.29d	2.34c	1.92b	2.04b	2.40b	2.93bc	3.02c
fipronil 5 %SC	25	1.87	0.57a	1.27b	1.53ab	0.47a	0.58a	0.73a	1.01a	1.57b
fenobucarb 50 %EC	25	2.08	1.59b	1.96cd	2.22bc	1.79b	1.94b	2.26b	2.57bc	2.98c
phenthoate 50 %EC	30	2.10	1.63b	1.89c	1.91bc	1.71b	1.75b	2.12b	2.32b	2.81c
Untreated	-	2.01	2.67c	3.26e	3.58d	3.97c	4.08c	3.81c	3.08c	3.16c
C.V.(%)		17.3	15.6	10.7	17.5	17.7	15.2	22.9	15.4	13.7
R.E.(%)[2/]		-	-	-	-	46.1	43.3	44.2	44.2	43.8

[1/] Mean of 4 replication; in a column, means followed by a common letter are not significantly different 5% level by DMRT.

[2/] Relative efficiency of analysis of covariance after the spraying method.

Table 2 Efficacy some of insecticides for controlling cotton leafhopper, *Amrasca biguttula biguttula* (Ishida) in okra at farmer's field, Meang district, Nakon prathom during March-April 2022

Treatment	Dosage (g,ml/20 l of water	Number of cotton leafhopper (nymph/leaf) [1/]								
		Before application	Day after 1st application			Day after 2nd application				
			3	5	7	3	5	7	10	14
flonicamid 50%WG	2	2.27	0.49a	0.70a	1.01a	0.07a	0.23a	0.47a	0.60a	0.85a
pymetrozin 50%WG	10	2.51	2.08b	2.38b	2.80c	2.49c	2.75c	2.82cd	3.13c	3.25c
lambda-cyhalothrin 2.5 %EC	25	2.44	1.99b	2.03b	2.68c	2.17c	2.55c	2.97cd	2.91bc	3.02c
fipronil 5 %SC	25	2.55	0.65a	0.89a	1.45ab	0.45ab	0.58a	1.02ab	1.44ab	1.74b
fenobucarb 50 %EC	25	2.36	1.42b	1.74b	2.04bc	1.73c	1.86b	2.27bc	2.67bc	2.98c
phenthoate 50 %EC	30	2.69	1.65b	1.84b	2.21bc	1.59bc	1.80b	2.51cd	2.60bc	2.81c
Untreated	-	2.58	3.02c	3.60c	3.79d	3.96d	3.89d	3.82d	3.72c	3.40c
C.V.(%)		16.3	22.2	19.7	23.8	36.3	15.7	31.3	33.6	15.0
R.E.(%)[2/]		-	-	-	-	109.1	53.7	161.8	104.5	53.6

[1/] Mean of 4 replication; in a column, means followed by a common letter are not significantly different 5% level by DMRT.

[2/] Relative efficiency of analysis of covariance after the spraying method.

การจัดการความต้านทานต่อสารกำจัดศัตรูพืชในเพลี้ยไฟ (*Thrips palmi* Karny) ที่ทำลายแตงโมโดยการใช้สารกำจัดแมลงแบบหมุนเวียน

Management for Insecticides Resistance of Cotton Thrips, *Thrips palmi* Karny on Watermelon

ธีราทัย บุญญะประภา สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น
วิภาดา ปลอดครบุรี พวงผกา อ่างมณี
กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การจัดการความต้านทานต่อสารกำจัดศัตรูพืชในเพลี้ยไฟ (*Thrips palmi* Karny) ที่ทำลายแตงโมโดยการใช้สารกำจัดแมลงแบบหมุนเวียน ดำเนินการทดสอบในแปลงปลูกแตงโมของเกษตรกร อำเภอดอนเจดีย์ และ อำเภอหนองหญ้าไซ จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนธันวาคม2565-กุมภาพันธ์ 2566 พบว่าในกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดแมลง emamectin benzoate 1.92% W/V EC (กลุ่ม 6 Avermectin), spinetoram 12% W/V SC (กลุ่ม 5 Spinosyn), spiromesifen 24% W/V SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23), chlorfenapyr 10% W/V SC (กลุ่ม 13 Pyrroles), imidacloprid 70% WG (กลุ่ม 4A Neonicotinoids), abamectin 1.8% W/V EC อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, cyantraniliprole 10% W/V OD (กลุ่ม 28 Diamide) และ fipronil 5% W/V SC (กลุ่ม 2B Phenylpyrazoles) มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟฝ้ายในแตงโมได้ดีจากมากไปน้อยตามลำดับ ซึ่งมีแนวโน้มสอดคล้องกันเป็นไปในทิศทางเดียวกันทั้งสองแปลง จากสารกำจัดแมลงที่ประสิทธิภาพทั้งหมด สารกำจัดแมลง cyantraniliprole 10% W/V OD และ spinetoram 12% W/V SC มีราคาต้นทุนต่อไร่ค่อนข้างสูงคือ 600-993 บาทต่อไร่ สารกำจัดแมลงชนิดอื่นมีราคาต้นทุนต่อไร่อยู่ในช่วง 320-470 บาทต่อไร่ และสารกำจัดแมลง fipronil 5% W/V SC และ abamectin 1.8% W/V EC มีราคาต้นทุนต่อไร่ต่ำที่สุดคือ 200-230 บาทต่อไร่

คำหลัก : เพลี้ยไฟฝ้าย การหมุนเวียนสาร การจัดการความต้านทาน แตงโม

รหัสการทดลอง FF65-12-03-65-02-05-65

คำนำ

แตงโม (Watermelon) *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai เป็นพืชตระกูลแตงที่มีการปลูกในทุกฤดูกาล และปลูกได้ทั่วทุกภาคของประเทศ ทำให้เป็นพืชที่มักพบศัตรูพืชเข้าทำลายในทุกช่วงของการเจริญเติบโต การใช้สารเคมีในการกำจัดศัตรูพืชจึงมีความจำเป็น และแมลงศัตรูพืชที่มักพบเข้าทำลายแตงโมทำให้เกิดความเสียหายมากตั้งแต่ช่วงเริ่มปลูกจนถึงเริ่มติดดอก ซึ่งส่งผลกระทบต่อผลผลิต ได้แก่ เพลี้ยไฟฝ้าย (Cotton thrips, *Thrips palmi* Karny) โดยมักพบระบาดในพืชหลายชนิด เช่น แตงโม แตงกวา มะเขือเปราะ มะเขือยาว เป็นต้น ลักษณะทางชีววิทยาของเพลี้ยไฟฝ้ายลำตัวเรียว มีขนาดเล็ก จึงหลบซ่อนตามส่วนต่างๆ ของพืชได้ดี ทำให้ยากแก่การสัมผัสถูกสารกำจัดแมลง ก่อให้เกิดการสร้างความต้านทาน และมีการพัฒนาความต้านทานให้สูงขึ้นโดยง่าย

วิภาดา และคณะ (2561) รายงานถึงสารกำจัดแมลงที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดเพลี้ยไฟฝ้ายในแตงโม ดังนี้ spinetoram 12% W/V SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, cyantraniliprole 10% W/V OD อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, emamectin benzoate 1.92% W/V EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, imidacloprid 70% WG อัตรา 15 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร, fipronil 5% W/V SC อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ carbosulfan 20% W/V EC อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

การใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชเป็นวิธีการหนึ่งในหลายๆ วิธีการ ที่สามารถป้องกันความเสียหายของผลผลิตที่อาจเกิดจากศัตรูพืชได้ แต่การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่ไม่ถูกวิธีโดยใช้ต่อเนื่อง ในอัตราที่เข้มข้นมากเกินไป จะเป็นผลเสียต่อสภาพแวดล้อม และตัวเกษตรกร แต่หากใช้ความเข้มข้นน้อยเกินไป จะส่งผลให้แมลงสร้างความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง ทำให้การป้องกันกำจัดมีความยุ่งยากมากยิ่งขึ้น และในแต่ละพื้นที่ปลูกที่มีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดต่างกัน สภาพแวดล้อมต่างกัน แมลงย่อมมีการสร้างความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงแตกต่างกัน (สุภราดา, 2558)
การจัดการความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงแบบวินโดว์ (window strategy) มีการใช้สารฆ่าแมลงกลุ่มที่ไม่มีปัญหาความต้านทาน หรือมีปัญหาน้อยจำนวนหนึ่ง หรือหลายครั้งในเฉพาะหนึ่งชั่วอายุขัย (generation) ของแมลงหรือในเฉพาะหนึ่งช่วงเวลา (month or seasonal period) ที่เกษตรกรทั้งหมดในท้องที่ทำได้ แต่ช่วงเวลาถัดมาจะต้องไม่มีการใช้สารฆ่าแมลงกลุ่มนั้นๆอีก แต่จะใช้สารฆ่าแมลงกลุ่มอื่น ที่ไม่มีโอกาสเกิดการต้านทานแบบข้ามกับสารฆ่าแมลงกลุ่มที่ใช้ในช่วงเวลาก่อนหน้านี้ เพื่อกำจัดแมลงที่มียีนต้านทานต่อสารฆ่าแมลงกลุ่มที่ใช้ก่อนหน้านี้เหลือรอดอยู่ ทำเช่นนี้หมุนเวียนกันไป (Roush, 1989; Onstad, 2008) และเป็นแบบแผนเดียวกันในพื้นที่ขนาดใหญ่ครอบคลุมระยะที่แมลงมียีนต้านทานต่อสารฆ่าแมลงชนิดนั้นๆสามารถเคลื่อนย้ายไปได้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่องพ่นสารกำจัดแมลงแบบสะพายหลังที่ควบคุมแรงดันได้
2. อุปกรณ์ผสมสารกำจัดแมลง เช่น ถัง ไม้คน
3. อุปกรณ์ป้องกันขณะพ่นสาร เช่น ชุดพ่นสาร หน้ากาก ถุงมือ รองเท้าบูท
4. อุปกรณ์ชั่ง ตวง วัด เช่น เครื่องชั่ง กระบอกตวง บีกเกอร์
5. อุปกรณ์ในการตรวจนับแมลง เช่น สมุดจดบันทึก ปากกา ดินสอ
6. ป้ายแสดงกรรมวิธี

สารที่ใช้ในการทดลอง

1. cyantraniliprole 10% W/V OD (กลุ่ม 28)
2. spinetoram 12 % W/V SC (กลุ่ม 5)
3. emamectin benzoate 1.92 % W/V EC (กลุ่ม 6)
4. imidacloprid 70% WG (กลุ่ม 4A)
5. fipronil 5% W/V SC (กลุ่ม 2B)
6. chlorfenapyr 10% W/V SC (กลุ่ม13)
7. abamectin 1.8% W/V EC (กลุ่ม 6)
8. spiromesifen 24% W/V SC (กลุ่ม 23)

วิธีการ

ขั้นตอนที่ 1 การทดสอบประสิทธิภาพของสารกำจัดแมลง (ทำการทดลองปี 2565)

ดำเนินการทดสอบประสิทธิภาพตามกรรมวิธีในแปลงปลูกแตงโมของเกษตรกร อำเภอดอนเจดีย์ และอำเภอหนองหญ้าไซ จังหวัดสุพรรณบุรี โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ 9 กรรมวิธี ดังนี้

1. พ่นสาร cyantraniliprole 10% W/V OD	อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 28 Diamide)
2. พ่นสาร spinetoram 12 % W/V SC	อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 5 Spinosyns)
3. พ่นสาร emamectin benzoate 1.92 % W/V EC	อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 6 Avermectins)
4. พ่นสาร imidacloprid 70% WG	อัตรา 15 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 4A Neonicotinoids)

5. พ่นสาร fipronil 5% W/V SC	อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 2B Phenylpyrazoles)
6. พ่นสาร chlorfenapyr 10% W/V SC	อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 13 Pyrroles)
7. พ่นสาร abamectin 1.8% W/V EC	อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 6 Avermectins)
8. พ่นสาร spiromesifen 24% W/V SC	อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23 Tetronic and Tetramic acid derivatives)

9. ไม่พ่นสารกำจัดแมลง

วิธีปฏิบัติการทดลอง

ดำเนินการทดลองในแปลงแตงโมของเกษตรกร ขนาดแปลงย่อย 5X8 เมตร จำนวน 36 แปลงย่อย สุ่มตรวจนับจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายในแปลงแตงโมของเกษตรกร ก่อนพ่นสารครั้งแรก 3 วัน และ 5 วัน หลังพ่นสารทุกครั้ง และตรวจนับหลังพ่นสารครั้งสุดท้ายที่ 3, 5, 7 และ 10 วัน โดยพ่นสารจำนวน 3 ครั้ง ทุก 5 วัน

สุ่มตรวจนับจากยอดแตงโมโดยตรง จำนวน 10 ยอดต่อแปลงย่อย โดยนับจากปลายยอดแตงโมลงมาความยาวประมาณ 10 เซนติเมตร เริ่มพ่นสารตามกรรมวิธีเมื่อพบการระบาดของเพลี้ยไฟฝ้ายไม่น้อยกว่า 5 ตัว/ยอด โดยใช้ถังพ่นสารแบบเครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลังแบบใช้แรงดันน้ำที่สามารถควบคุมความดันได้ โดยใช้อัตราน้ำ 120 ลิตรต่อไร่

บันทึกจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายที่พบ อาการเกิดพิษต่อต้นพืช (phytotoxic) และต้นทุนการพ่นสาร นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติ และคำนวณเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพการป้องกันกำจัด โดยใช้สูตรของ Henderson and Tilton (1955)

การบันทึกข้อมูล

บันทึกจำนวนเพลี้ยไฟฝ้าย

บันทึกน้ำหนักของผลผลิต

บันทึกอาการเกิดพิษต่อพืชที่เกิดจากการใช้สารแต่ละชนิด

ขั้นตอนที่ 2 การจัดการความต้านทานสารกำจัดแมลงตามรูปแบบการหมุนเวียนสาร (ทำการทดลองปี 2566-2567)

ศึกษาในแปลงปลูกแตงโมของเกษตรกรจังหวัดสุพรรณบุรี หรือกาญจนบุรี หรือพิษณุโลก (จำนวน 2 แปลง) วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ โดยนำสารกำจัดแมลงที่มีประสิทธิภาพใน

การป้องกันกำจัด (มีเปอร์เซ็นต์การป้องกันกำจัดมากกว่า 50% ขึ้นไปและไม่พบความเป็นพิษต่อพืช) ในขั้นตอนที่ 1 มาพ่นหมุนเวียนตามรูปแบบสลับกลุ่มกลไกการออกฤทธิ์ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นสารของเกษตรกรและกรรมวิธีไม่พ่นสาร

วิธีปฏิบัติการทดลอง

ดำเนินการทดลองในแปลงแตงโมของเกษตรกร ขนาดแปลงย่อย 5X8 เมตร สุ่มตรวจนับจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายในแปลงแตงโมของเกษตรกร ก่อนพ่นสารครั้งแรก 3 วัน และ 5 วัน หลังพ่นสารทุกครั้ง โดยตรวจนับหลังพ่นสารครั้งสุดท้ายที่ 3, 5, 7 และ 10 วัน พ่นสารอย่างน้อย 3 ครั้ง ทุก 5 วัน

สุ่มตรวจนับจากยอดแตงโมโดยตรง จำนวน 10 ยอดต่อแปลงย่อย โดยนับจากปลายยอดแตงโมลงมาความยาวประมาณ 10 เซนติเมตร เริ่มพ่นสารตามกรรมวิธีเมื่อพบการระบาดของเพลี้ยไฟฝ้ายไม่น้อยกว่า 5 ตัว/ยอด โดยใช้ถังพ่นสารแบบเครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลังแบบใช้แรงดันน้ำที่สามารถควบคุมความดันได้ โดยเมื่อแตงโมอายุ 30 วันหลังปลูก ใช้อัตราน้ำ 40 ลิตรต่อไร่ เมื่ออายุเกิน 30 วัน ใช้อัตราน้ำ 80 ลิตรต่อไร่

บันทึกจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายที่พบ อาการเกิดพิษต่อต้นพืช (phytotoxic) และต้นทุนการพ่นสาร นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติ และคำนวณเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพการป้องกันกำจัด โดยใช้สูตรของ Henderson and Tilton (1955)

การบันทึกข้อมูล

บันทึกจำนวนเพลี้ยไฟฝ้าย

บันทึกน้ำหนักของผลผลิต

บันทึกอาการเกิดพิษต่อพืชที่เกิดจากการใช้สารแต่ละชนิด

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาดำเนินการ : ตุลาคม 2564 – กันยายน 2567

สถานที่: แปลงปลูกแตงโมของเกษตรกรในอำเภอดอนเจดีย์ และอำเภอหนองหญ้าไซ จังหวัดสุพรรณบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการทดลองในขั้นตอนที่ 1 การทดสอบประสิทธิภาพของสารกำจัดแมลง (ปี 2565)

แปลงที่ 1 ดำเนินการในแปลงปลูกแตงโม อำเภอดอนเจดีย์ จังหวัดสุพรรณบุรี เริ่มทดสอบตามกรรมวิธี ระหว่างเดือนธันวาคม 2565-เดือนมกราคม 2566 ผลการทดลองพบว่า จำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายก่อนและหลังพ่นสารตามกรรมวิธีต่างๆ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่พ่นสารกำจัดแมลง(Table1) และเปอร์เซ็นประสิทธิภาพการป้องกันกำจัดของสารกำจัดแมลง ในเบื้องต้นสารกำจัดแมลงที่มีประสิทธิภาพดีในการกำจัดเพลี้ยไฟฝ้าย ตามลำดับจากมากไปน้อย ได้แก่ สารกำจัดแมลง

emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, spinetoram12% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, spiromesifen 24% W/V SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, chlorfenapyr 10% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร , imidacloprid 70% WG อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, abamectin 1.8% W/V EC อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, cyantraniliprole 10% W/V OD อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ fipronil 5% W/V SC อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีเปอร์เซ็นประสิทธิภาพการป้องกันกำจัดเป็น 83.78%, 74.95%, 74.92%, 72.25%, 66.66%, 61.08%, 59.99% และ50.73% ตามลำดับ (Table 2)

เปรียบเทียบต้นทุนการใช้สารกำจัดแมลงกับประสิทธิภาพการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟในแต่ละกรรมวิธีที่พ่นสาร พบว่าสารกำจัดแมลงที่มีประสิทธิภาพดีจากมากไปน้อย ได้แก่ สารกำจัดแมลง emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, spinetoram12% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, spiromesifen 24% W/V SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, chlorfenapyr 10% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร , imidacloprid 70% WG อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, abamectin 1.8% W/V EC อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, cyantraniliprole 10% W/V OD อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ fipronil 5% W/V SC อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีต้นทุนเป็น 338.40, 677.73, 470.40, 464.40, 475.20, 215.58, 992.64 และ 230.21 บาทต่อไร่ (Table 2)

ผลการทดลองในแปลงที่ 1 พบว่าในกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดแมลง emamectin benzoate 1.92% W/V EC (กลุ่ม 6 Avermectin), spinetoram 12% W/V SC (กลุ่ม 5 Spinosyn), spiromesifen 24% W/V SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23), chlorfenapyr 10% W/V SC (กลุ่ม 13 Pyrroles), imidacloprid 70% WG (กลุ่ม 4A Neonicotinoids), abamectin 1.8% W/V EC อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, cyantraniliprole 10% W/V OD (กลุ่ม 28 Diamide) และ fipronil 5% W/V SC (กลุ่ม 2B Phenylpyrazoles) มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟในแตงโม มากกว่า 50%

ในช่วงหลังการพ่นสารกำจัดแมลงครั้งที่ 3 แล้ว 7 วัน ต้นแตงโมอายุมากเกิน 60 วัน พบว่าไม่มีการแตกยอดใหม่ และเถาต้นแห้งเกือบหมด จึงไม่สามารถทำการบันทึกข้อมูลต่อในวันที่ 10 วันหลังพ่นสารกำจัดแมลงครั้งที่ 3

แปลงที่ 2 ดำเนินการในแปลงปลูกแตงโม อำเภอหนองหญ้าไซ จังหวัดสุพรรณบุรี เริ่มทดสอบตามกรรมวิธี ระหว่างเดือนมกราคม-กุมภาพันธ์ 2566 ผลการทดลองพบว่า จำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายก่อนและหลังพ่นสารตามกรรมวิธีต่างๆ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่พ่นสารกำจัดแมลง (Table3) และเปอร์เซ็นประสิทธิภาพการป้องกันกำจัดของสารกำจัดแมลง ในเบื้องต้นสารกำจัดแมลงที่มี

ประสิทธิภาพดีในการกำจัดเพลี้ยไฟฝ้าย ตามลำดับจากมากไปน้อย ได้แก่ สารกำจัดแมลง emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, spinetoram12% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, spiromesifen 24% W/V SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, imidacloprid 70% WG อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, chlorfenapyr 10% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ,cyantraniliprole 10% W/V OD อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, fipronil 5% W/V SC อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ abamectin 1.8% W/V EC อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ที่มีเปอร์เซ็นประสิทธิภาพการป้องกันกำจัดเป็น 46.45%, 40.57%, 38.60%, 32.60%, 23.81%, 23.58%, 23.62% และ16.45% ตามลำดับ (Table 4)

เปรียบเทียบต้นทุนการใช้สารกำจัดแมลงกับประสิทธิภาพการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟในแต่ละกรรมวิธีที่พ่นสาร พบว่าสารกำจัดแมลงที่มีประสิทธิภาพดีจากมากไปน้อย ได้แก่ สารกำจัดแมลง emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, spinetoram12% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, spiromesifen 24% W/V SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, imidacloprid 70% WG อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, chlorfenapyr 10% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ,cyantraniliprole 10% W/V OD อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, fipronil 5% W/V SC อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ abamectin 1.8% W/V EC อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีต้นทุนเป็น 324.36, 600.60, 446.52, 434.88, 443.28, 942.48, 199.33 และ 201.50 บาทต่อไร่ (Table 4)

ผลการทดลองในแปลงที่ 2 พบว่าในกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดแมลง emamectin benzoate 1.92% W/V EC (กลุ่ม 6 Avermectin), spinetoram 12% W/V SC (กลุ่ม 5 Spinosyn), spiromesifen 24% W/V SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23), imidacloprid 70% WG (กลุ่ม 4A Neonicotinoids), chlorfenapyr 10% W/V SC (กลุ่ม 13 Pyrroles), cyantraniliprole 10% W/V OD (กลุ่ม 28 Diamide), fipronil 5% W/V SC (กลุ่ม 2B Phenylpyrazoles) และ abamectin 1.8% W/V EC อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟในแตงโม น้อยกว่า 50%

ในระหว่างทำการทดลองเนื่องจากสภาพอากาศร้อนและแห้ง ประกอบกับต้นแตงโมมีจำนวนเถา และใบหนาแน่นปริมาณเพลี้ยไฟจึงเพิ่มขึ้นปริมาณมากอย่างรวดเร็วในทุกกรรมวิธี แต่จากเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพของสารกำจัดแมลงที่ได้ มีแนวโน้มไปทิศทางเดียวกับแปลงที่ 1

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากผลการทดลองในขั้นตอนที่ 1 ทั้งสองแปลง พบว่ามีแนวโน้มของประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟฝ้ายในแตงโมไปในทิศทางเดียวกันคือ ประสิทธิภาพดีจากมากไปน้อยในกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดแมลง emamectin benzoate 1.92% W/V EC (กลุ่ม 6 Avermectin), spinetoram 12% W/V SC (กลุ่ม 5 Spinosyn), spiromesifen 24% W/V SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23), chlorfenapyr 10% W/V SC (กลุ่ม 13 Pyrroles), imidacloprid 70% WG (กลุ่ม 4A Neonicotinoids), abamectin 1.8% W/V EC อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร, cyantraniliprole 10% W/V OD (กลุ่ม 28 Diamide) และ fipronil 5% W/V SC (กลุ่ม 2B Phenylpyrazoles) ตามลำดับ สอดคล้องกับประวัติในการใช้สารกำจัดแมลงในพื้นที่ปลูกแตงโม อำเภอหนองหญ้าไซ จังหวัดสุพรรณบุรี ที่มีการใช้สารทั้งสองชนิดดังกล่าวอย่างต่อเนื่อง และจากสารกำจัดแมลงที่ประสิทธิภาพทั้งหมด สารกำจัดแมลง cyantraniliprole 10% W/V OD และ spinetoram 12% W/V SC มีราคาต้นทุนต่อไร่ค่อนข้างสูงคือ 600-993 บาทต่อไร่ สารกำจัดแมลงชนิดอื่นมีราคาต้นทุนต่อไร่อยู่ในช่วง 320-470 บาทต่อไร่ และสารกำจัดแมลง fipronil 5% W/V SC และ abamectin 1.8% W/V EC มีราคาต้นทุนต่อไร่ต่ำที่สุดคือ 200-230 บาทต่อไร่

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มบริหารศัตรูพืช และกลุ่มกีฏวิทยา. 2559. เพลี้ยไฟฝ้าย. *ใน* : เอกสารวิชาการ แมลงศัตรูผัก เห็ด และไม้ดอก. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

วิภาดา ปลอดครบุรี ศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา บุษบง มนัสมั่นคง. 2562. ทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟฝ้าย Thrips palmi Karny ในแตงโม. หน้า 2270-2282. *ใน* : ผลงานวิจัยประจำปี 2561 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สุภราดา สุคนธาภิรมย์ ณ พัทลุง. 2557. ความรู้พื้นฐานความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง และการบริหารจัดการ. *ใน*: เอกสารวิชาการ การอบรมเชิงปฏิบัติการหลักสูตร การตรวจสอบและการจัดการความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงครั้งที่ 2 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

สุภราดา สุคนธาภิรมย์ ณ พัทลุง. 2558. การบริหารจัดการความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง. หน้า 170-183. *ใน*: เอกสารประกอบการอบรมหลักสูตร แมลง-สัตว์ศัตรูพืช และการป้องกันกำจัด ครั้งที่ 17. กลุ่มกีฏและสัตววิทยาและ กลุ่มบริหารศัตรูพืช. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขา พืช. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

Head G.H. and Savinelli C. 2008. Adapting insecticide Resistance management Programs to Local Needs, pp 89-106. *In*: Insecticide Resistance Management: Biology, Economics and Prediction. Onstad D.W. (ed.), Academic Press.

Henderson, C.F. and E.W. Tilton. 1955. Tests with acaricides against the brown wheat mite. Journal of Economic Entomology 48: 157-161

Insecticide Resistance Action Committee (IRAC), 2019. IRAC Mode of Action Classification Scheme Version 9.3. Crop life international. Available at URL http://www.irac-online.org Accessed on 26/02/2020.

Onstad D.W.2008. Major Issues in Insect Resistance Management, pp 1-16. *In*: Insecticide Resistance Management: Biology, Economics and Prediction. Onstad D.W. (ed.), Academic Press.

Onstad, D.W. 2014. Insect Resistance Management: Biology, Economics and Prediction, 2nd Edition. Academic Press, Amsterdam. 538 p.

Roush, R.T. 1989. Designing resistance management programs: How can you choose? Pestic. Sci. 26: 423-441.

Table 1 The average of Cotton Thrips , Thrips palmi (karny) before and after application treatment compared with non-treatment (untreated) on Don Che Dee , Suphanburi province in December 2022-January 2023

	Treatment	Application rate (ml per 20 l of water)	Cotton Thrip [1/] (per plot)							
			Before App.treatment	After App.treatment						
				1 st		2 nd		3 rd		
				3 Day	5 Day	3 Day	5 Day	3 Day	5 Day	7 Day
1	cyantraniliprole 10% W/V OD	40	7.40	5.14 a	10.12 b	6.20 b	6.95 ab	8.42 ab	6.45 bc	6.10 a
2	spinetoram 12% W/V SC emamectin benzoate 1.92%	20	8.20	4.68 a	5.30 a	5.23 ab	5.65 a	7.42 ab	4.48 ab	2.53 a
3	W/V EC	30	6.58	4.30 a	8.90 ab	2.58 a	6.05 a	5.09 a	2.33 a	1.55 a
4	imidacloprid 70% WG	15	6.85	4.40 a	10.24 b	4.40 ab	6.90 ab	8.30 ab	4.98 abc	3.95 a
5	fipronil 5% W/V SC	50	7.43	4.45 a	8.72 ab	7.28 b	8.28 ab	7.67 ab	7.98 c	6.35 a
6	chlorfenapyr 10% W/V SC	30	6.70	4.50 a	7.22 ab	4.70 ab	5.83 a	5.08 a	4.05 ab	3.70 a
7	abamectin 1.8% W/V EC	50	7.43	4.75 a	6.97 ab	6.28 b	7.25 ab	8.72 ab	6.30 bc	5.28 a
8	spiromesifen 24% W/V SC	30	7.48	4.98 a	8.33 ab	5.58 ab	7.23 ab	5.39 a	3.95 ab	4.38 a
9	Untreated	-	7.23	8.66 b	15.91 c	11.23 c	9.75 b	10.51 b	15.75 d	11.90 b
	C.V.(%)		11.9	18	27	33.9	27.7	35.3	32.1	68.7
	R.E.(%)[2/]		-	-	108.2	79.9	80.1	101.6	99.8	92.4

[1/] In the column followed by same letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

[2/] Relative efficiency

Table 2 Cost of insecticide, yield of watermelon per rai and efficacy of insecticide for control Cotton Thrips on Don Che Dee, Suphanburi province in December 2022-January 2023

	Treatment	Application rate (ml per 20 l of water)	Efficacy of insecticide (%)[1/]	Cost of insecticide (bath per rai)
1	cyantraniliprole 10% W/V OD	40	59.99	992.64
2	spinetoram 12% W/V SC	15	74.95	677.73
3	emamectin benzoate 1.92% W/V EC	30	83.78	338.40
4	imidacloprid 70% WG	15	66.66	475.20
5	fipronil 5% W/V SC	50	50.73	230.21
6	chlorfenapyr 10% W/V SC	30	72.25	464.40
7	abamectin 1.8% W/V EC	50	61.08	215.58
8	spiromesifen 24% W/V SC	30	74.92	470.40
9	Untreated	-	-	-

[1/]Efficacy of insecticide (%) by Henderson and Tilton formula (1955)

Table 3 The average of Cotton Thrips , Thrips palmi (karny) before and after application treatment compared with non-treatment (untreated) on Nong Ya Sai , Suphanburi province in January-Febuary 2023

	Treatment	Application rate (ml per 20 l of water)	Cotton Thrip [1/] (per plot)								
			Before App.treatment	After App.treatment							
				1 st		2 nd		3 rd			
				3 Day	5 Day	3 Day	5 Day	3 Day	5 Day	7 Day	10 Day
1	cyantraniliprole 10% W/V OD	40	8.55	8.03 a	9.78 a	10.78 ab	16.28 ab	17.08 ab	24.53 bc	31.53 b	65.25 c
2	spinetoram 12% W/V SC	20	8.38	9.58 ab	9.90 a	12.70 ab	15.98 ab	19.38 abc	18.45 abc	33.58 b	46.00 abc
3	emamectin benzoate 1.92% W/V EC	30	8.60	6.90 a	9.20 a	9.05 a	12.95 a	11.63 a	15.00 a	19.28 a	24.53 a
4	imidacloprid 70% WG	15	8.98	8.35 a	11.63 ab	12.25 ab	17.13 ab	22.53 bc	23.28 abc	28.50 ab	57.48 bc
5	fipronil 5% W/V SC	50	8.63	10.33 ab	8.68 a	12.00 ab	18.08 bc	26.98 c	25.95 c	37.65 b	36.10 ab
6	chlorfenapyr 10% W/V SC	30	8.43	9.95 ab	9.88 a	13.83 b	16.00 ab	18.63 abc	23.93 bc	38.60 b	43.38 abc
7	abamectin 1.8% W/V EC	50	7.63	9.35 ab	9.95 a	10.75 ab	15.98 ab	20.73 abc	23.73 bc	38.61 b	48.88 abc
8	spiromesifen 24% W/V SC	30	7.75	10.25 ab	10.08 a	12.25 ab	14.85 ab	18.03 abc	16.85 ab	28.80 ab	35.55 ab
9	Untreated	-	8.33	12.23 b	14.43 b	18.88 c	21.98 c	25.75 bc	35.15 d	38.13 b	51.43 bc
	C.V.(%)		24.3	24.8	23.2	21.2	18.5	28.8	32.1	20.6	32.6
	R.E.(%)[2/]		-	-	98.4	99.9	89	93.3	99.8	94.2	92.7

[1/] In the column followed by same letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

[2/] Relative efficiency

Table 4 Cost of insecticide, yield of watermelon per rai and efficacy of insecticide for control Cotton Thrips on Nong Ya Sai, Suphanburi province in January-Febuary 2023

	Treatment	Application rate (ml per 20 l of water)	Efficacy of insecticide (%)[1/]	Cost of insecticide (bath per rai)
1	cyantraniliprole 10% W/V OD	40	23.58	942.48
2	spinetoram 12% W/V SC	15	40.57	600.60
3	emamectin benzoate 1.92% W/V EC	30	46.45	324.36
4	imidacloprid 70% WG	15	32.60	434.88
5	fipronil 5% W/V SC	50	23.62	199.33
6	chlorfenapyr 10% W/V SC	30	23.81	443.28
7	abamectin 1.8% W/V EC	50	16.45	201.50
8	spiromesifen 24% W/V SC	30	38.60	446.52
9	Untreated	-	-	-

[1/] Efficacy of insecticide (%) by Henderson and Tilton formula (1955)

ภาพที่ 1 ดำเนินการทดลองในแปลงแตงโม อ.ดอนเจดีย์ จังหวัดสุพรรณบุรี

ภาพที่ 2 ดำเนินการทดลองในแปลงแตงโม อ.หนองหญ้าไซ จังหวัดสุพรรณบุรี

ศึกษาความต้านทานสารกำจัดวัชพืชกลุ่มยับยั้งการสร้างไขมัน (cyhalofop-butyl และ fenoxaprop-p-ethyl) ในหญ้าดอกขาว (*Leptochloa chinensis*) เพื่อการจัดการวัชพืช

Study of herbicides resistance lipid inhibitor (cyhalofop-butyl and fenoxaprop-p-ethyl) in (Leptochloa chinensis) for weed management

ปรัชญา เอกฐิน[1/] เทอดพงษ์ มหาวงศ์[1/] เอกรัตน์ ธนูทอง[1/]
อุษณีย์ จินดากุล[1/] จรัญญา ปิ่นสุภา[2/]
[1/]กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิชาการ สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน

รายงานความก้าวหน้า

หญ้าดอกขาว (*Leptochloa chinensis*) เป็นวัชพืชสำคัญที่พบทั่วไปในนาหว่านน้ำตมภาคกลางและภาคเหนือตอนล่าง และมีรายงานว่าไม่สามารถควบคุมด้วยสารกำจัดวัชพืชที่มีกลไกการเข้าทำลายพืชกลุ่มยับยั้งการสร้างไขมัน ศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพิสูจน์ให้แน่ชัดว่าหญ้าดอกขาวเกิดความต้านทานสารกำจัดวัชพืช กลุ่มยับยั้งการสร้างไขมัน (cyhalofop-butyl และ fenoxaprop-p-ethyl วิธีดำเนินการเก็บเมล็ดหญ้าดอกขาวได้ 110 ประชากรในพื้นที่ปลูกข้าวนาหว่านน้ำตมในเขตภาคตะวันออก ภาคกลาง และภาคตะวันตก (ตารางที่ 1) ได้แก่ จังหวัด ปราจีนบุรี ฉะเชิงเทรา ชัยนาท นครปฐม นนทบุรี ราชบุรี สมุทรสงคราม สิงห์บุรี สุพรรณบุรี กาญจนบุรี ประจวบคีรีขันธ์ และ เพชรบุรี และทดสอบความต้านทานของหญ้าดอกขาวต่อสารกำจัดวัชพืช cyhalofop-butyl และ fenoxaprop-p-ethyl ในนาหว่านน้ำตม จำนวน 79 ประชากร จากประชากรที่เก็บมาทั้งหมด 110 ประชากร พบ 8 ประชากร กำลังพัฒนาความต้านทาน (developing resistance population) พบ 2 ประชากรที่ต้านทาน (resistant population) และจะดำเนินการทดสอบระดับความต้านทานของหญ้าดอกขาวต่อสารกำจัดวัชพืช cyhalofop-butyl และ fenoxaprop-p-ethyl ในประชากรที่ยังไม่ได้ทดสอบในปีต่อไป

คำหลัก : หญ้าดอกขาว ความต้านทานสาร สารกลุ่มยับยั้งการสร้างไขมัน

รหัสการทดลอง FF65-12-03-65-03-02-65

คำนำ

สถานการณ์วัชพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืชในนาข้าวทั่วโลกนั้น มีรายงานว่าพบวัชพืชประมาณ 50 ชนิดต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช สารกำจัดวัชพืชที่จำหน่ายในประเทศไทยเพื่อควบคุมวัชพืชในนาข้าวนั้น สามารถแบ่งตามกลุ่มการเข้าทำลายพืชได้ 8 กลุ่ม สามารถควบคุมวัชพืชใบแคบใบกว้าง และกก ได้ดี แต่จากรายงานตั้งแต่ปี พ.ศ. 2542 เป็นต้นมา พบวัชพืชใบแคบ 2 ชนิด ได้แก่ หญ้าข้าวนก และหญ้าดอกขาว ต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืชในกลุ่มยับยั้งเอนไซม์ ACCase กลุ่มยับยั้งการแบ่งเซลล์ และกลุ่มยับยั้งระบบการสังเคราะห์แสงที่ 2 (Maneechote *et al*., 1999; Maneechote, 2003; Maneechote *et al*., 2005) สำหรับกลุ่มยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ACCase นั้น ประกอบด้วยสารกำจัดวัชพืชที่มีโครงสร้างทางเคมีต่างกัน 2 กลุ่ม คือ Aryloxyphenoxypropionates (APPPs) และ Cyclohexanediones (CHDs) แต่มีกลไกการเข้าทำลายเหมือนกัน (Gronwald, 1991) หากประชากรหญ้าข้าวนกต้านทานต่อกลุ่ม APPs และ CHDs แสดงว่าเกิดความต้านทานแบบข้ามกลุ่ม (cross-resistance) แต่หากประชากรใดก็ตามที่ต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืชตั้งแต่ 2 กลไกขึ้นไป เรียกว่าเกิดความต้านทานแบบหลายกลไก (multiple resistance)

ปัจจุบันพบว่า สารกำจัดวัชพืชกลุ่มยับยั้งการสร้างไขมัน (cyhalofop-butyl และ fenoxaprop-p-ethyl) ไม่สามารถควบคุมหญ้าดอกขาวในนาข้าวได้ ทำให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตข้าว และเพิ่มต้นทุนการผลิตของเกษตรกรให้สูงขึ้น ดังนั้นการทดลองนี้ จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาสถานการณ์การเกิดความต้านทานสารกำจัดวัชพืชกลุ่มยับยั้งการสร้างไขมัน (cyhalofop-butyl และ fenoxaprop-p-ethyl) ในหญ้าดอกขาว ในประชากรหญ้าข้าวนกในแหล่งปลูกข้าวภาคกลาง ภาคตะวันตก และภาคตะวันออก เพื่อการจัดการปัญหาหญ้าดอกขาวต้านทานสารกำจัดวัชพืชที่ถูกต้องและมีประสิทธิภาพ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- กล้องถ่ายรูปแบบดิจิตอล
- โทรศัพท์ที่สามารถรับสัญญาณดาวเทียมระบุพิกัดภูมิศาสตร์ได้
- กระบะขนาด 30x45 เซนติเมตร
- เมล็ดหญ้าดอกขาว
- เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง หัวพ่นแบบรูปพัด
- อุปกรณ์ในการตวง เช่น บีกเกอร์ กระบอกตวง เป็นต้น
- สารกำจัดวัชพืช cyhalofop-butyl 10% EC และ fenoxaprop-P-ethyl 6.9% EC
- วัสดุและอุปกรณ์อื่นๆ เช่น ถุงเก็บเมล็ด ดินนา และป้ายปักแสดงกรรมวิธี

วิธีการ

ขั้นตอนที่ 1 สำรวจและเก็บตัวอย่างเมล็ดหญ้าดอกขาวในพื้นที่ปลูกข้าวสำคัญของประเทศไทย

แบบและวิธีการทดลอง

เดินสุ่มเก็บเมล็ดหญ้าดอกขาวในแนวเส้นทแยงมุม ตามวิธีการแบบ European Herbicide Resistance Committee (2017) บันทึกพิกัดตำแหน่งที่เก็บ

วิธีปฏิบัติการทดลอง

ดำเนินการสำรวจและเก็บตัวอย่างเมล็ดหญ้าดอกขาว พร้อมกับบันทึกพิกัดแปลงประวัติการใช้สารกำจัดวัชพืชย้อนหลัง 5 ปี ในนาข้าวเขต ภาคกลาง และภาคตะวันออก ภาคตะวันตก จำนวน 100 แปลงโดยเดินสุ่มในแนวทแยงมุม นำเมล็ดวัชพืชที่ได้มาคัดแยก เก็บไว้ในตู้เย็นเพื่อรอการทดสอบ และเก็บเมล็ดจากแปลงที่ไม่มีประวัติการใช้สารกำจัดวัชพืชเพื่อเป็นตัวควบคุมการทดลอง (susceptible check)

การบันทึกข้อมูล

บันทึกพิกัดตำแหน่งที่เก็บตัวอย่างเมล็ดหญ้าดอกขาว

ขั้นตอนที่ 2 ทดสอบความต้านทานของหญ้าดอกขาวต่อสารกำจัดวัชพืช cyhalofop-butyl และ fenoxaprop-p-ethyl ในนาหว่านน้ำตม

แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ

วิธีปฏิบัติการทดลอง

ดำเนินการเพาะเมล็ดหญ้าดอกขาวในถาดเพาะ จำนวน 100 ประชากร ประชากรละ 20 ต้นต่อถาด จำนวน 3 ซ้ำ จากนั้นพ่นสารกำจัดวัชพืชตามอัตราแนะนำ เมื่อหญ้าดอกขาวมีจำนวนใบ 3 – 5 ใบ โดยใช้เครื่องพ่นสารแบบสะพายหลัง หัวพ่นแบบพัด ปริมาณน้ำ 80 ลิตร/ไร่ หลังพ่นสารทำการนับจำนวนต้นวัชพืชที่รอดตาย ที่ระยะ 14 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช โดยเปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่พ่นสารกำจัดวัชพืชและนำค่าที่ได้คำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การรอดตายของวัชพืช โดยเปรียบเทียบกับจำนวนต้นของประชากรเดียวกันที่ไม่พ่นสาร โดยแบ่งระดับความต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืชเป็น 3 ระดับ ตามแบบ (Llewellyn and Powle, 2001) ดังนี้

เปอร์เซ็นต์การรอดตาย	ระดับความต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช
0	ประชากรอ่อนแอ (susceptible population)
1-20	ประชากรที่กำลังพัฒนาความต้านทาน (developing resistance population)
มากกว่า 20	ประชากรต้านทาน (resistant population)

การบันทึกข้อมูล

เปอร์เซ็นต์การรอดตายของวัชพืช

เวลาและสถานที่

ทำการทดลอง ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 – กันยายน 2565 ณ เรือนทดลอง กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ และแปลงนาข้าวของเกษตรกรในพื้นที่ที่พบความต้านทาน ในเขตภาคตะวันตก ภาคกลาง และภาคตะวันออก

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ทดสอบความต้านทานของหญ้าดอกขาวต่อสารกำจัดวัชพืช cyhalofop-butyl และ fenoxaprop-p-ethyl ในนาหว่านน้ำตม

ดำเนินการเพาะเมล็ดหญ้าดอกขาวในถาดเพาะ จำนวน 20 ประชากร จำนวน 3 ซ้ำ จากนั้นพ่นสารกำจัดวัชพืชตามอัตราแนะนำ เมื่อหญ้าดอกขาวมีจำนวนใบ 3 – 5 ใบ โดยใช้เครื่องพ่นสารแบบสะพายหลัง หัวพ่นแบบพัด ปริมาณน้ำ 80 ลิตร/ไร่ หลังพ่นสารทำการนับจำนวนต้นวัชพืชที่รอดตายที่ระยะ 14 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช โดยเปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่พ่นสารกำจัดวัชพืชและนำค่าที่ได้คำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การรอดตายของวัชพืช โดยเปรียบเทียบกับจำนวนต้นของประชากรเดียวกันที่ไม่พ่นสาร โดยแบ่งระดับความต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืชเป็น 3 ระดับตามแบบ (Llewellyn and Powle, 2001) ดังนี้

Survival (%)	Level of resistance
0	susceptible population
1-20	developing resistance population
> 20	resistant population

จากการทดสอบพ่นสาร cyhalofop-butyl 10% EC อัตรา 16 กรัม(ai)/ไร่ และ fenoxaprop-p-ethyl อัตรา (ai)/ไร่ 8.28 (อัตราแนะนำของกรมวิชาการเกษตร) กับประชากรหญ้าดอกขาวจำนวน 20 ประชากร พบประชากรหญ้าดอกขาว กำลังพัฒนาความต้านทาน (developing resistance population) จำนวน 4 ประชากร โดยเป็นประชากรในจังหวัด กาญจนบุรี และจังหวัดสุพรรณบุรี และ พบประชากรหญ้าดอกขาวที่ต้านทาน (resistant population) จำนวน 1 ประชากร โดยเป็นประชากรในจังหวัดสุพรรณบุรี

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ พนักงานราชการ ลูกจ้างประจำ และพนักงานจ้างเหมา ของกลุ่มวิจัยวัชพืช ที่ช่วยให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ความต้านทานของหญ้าดอกขาวต่อสารกำจัดวัชพืช cyhalofop-butyl และ fenoxaprop-p-ethyl ในนาหว่านน้ำตม จำนวน 79 ประชากร จากประชากรที่เก็บมาทั้งหมด 110 ประชากร พบ 8 ประชากร กำลังพัฒนาความต้านทาน (developing resistance population) พบ 2 ประชากรที่ต้านทาน (resistant population)

เอกสารอ้างอิง

Maneechote, C., K. Roedrew and P. Krasaesindhu. 1999. Propanil and butachlor resistance in barnyardgrass (*Echinochloa crusgalli* L. Beauv.). *Proceedings of 17th Asian Pacific Weed Science Society Conference*. November 1999, Bangkok.

Maneechote, C., S. Samanwong, X. Q. Zhang, and S.B. Powles. 2005. Resistance to ACCase-inihibiting herbicides in a population of sprangletop [*Leptochloa chinensis* (L.) Nees] in Thailand. *Weed Science* 53: 290-295.

Table 1 The number of sampling survey by region and province in wet seed rice during 2021-22

Region	Province	Sampling number
Eastern	Prachin Buri	2
	Chachoengsao	10
Central	Chai Nat	31
	Nakhon Pathom	11
	Nonthaburi	1
	Ratchaburi	6
	Samut Songkhram	3
	Sing Buri	12
	Suphan Buri	7
Western	Kanchanaburi	14
	Prachuap Khiri Khan	3
	Phetchaburi	10
Total		110

Table 2 Location of *Leptochloa chinensis* by region and province in wet seed rice during 2021-2022

No.	Population	District	Province	Coordinates	
				N/1	E
1	PB01	Cha-Am	Phetchaburi	12.85846	99.92283
2	PB02	Cha-Am	Phetchaburi	12.23314	99.79697
3	PB03	Khao Yoi	Phetchaburi	13.28353	99.82557
4	PB04	Khao Yoi	Phetchaburi	13.28307	99.82558
5	PB05	Khao Yoi	Phetchaburi	13.28179	99.82842
6	PB06	Khao Yoi	Phetchaburi	13.23542	99.83363
7	PB07	Khao Yoi	Phetchaburi	13.23499	99.83796
8	PB08	Khao Yoi	Phetchaburi	13.24312	99.83086
9	PB09	Khao Yoi	Phetchaburi	13.28178	99.82842
10	PB10	Khao Yoi	Phetchaburi	13.24312	99.83089
11	KC01	Phanom Thuan	Kanchanaburi	14.23369	99.80231
12	KC02	Phanom Thuan	Kanchanaburi	14.21866	99.78318
13	KC03	Phanom Thuan	Kanchanaburi	14.17252	99.73377
14	KC04	Phanom Thuan	Kanchanaburi	14.17252	99.73378
15	KC05	Phanom Thuan	Kanchanaburi	14.15959	99.71593
16	KC06	Tha Maka	Kanchanaburi	13.89576	99.72344
17	KC07	Tha Muang	Kanchanaburi	14.0303	99.63045
18	KC08	Tha Muang	Kanchanaburi	14.02044	99.62868
19	KC09	Phanom Thuan	Kanchanaburi	14.13655	99.70514
20	KC10	Phanom Thuan	Kanchanaburi	14.1596	99.71593
21	KC11	Phanom Thuan	Kanchanaburi	14.14042	99.70712
22	KC12	Tha Maka	Kanchanaburi	13.89924	99.73541
23	KC13	Tha Muang	Kanchanaburi	14.02453	99.6286
24	KC14	Tha Muang	Kanchanaburi	14.03031	99.63045
25	CN01	Hanka	Chai Nat	15.020329	100.04665
26	CN02	Hanka	Chai Nat	15.018452	100.04125
27	CN03	Nein Kham	Chai Nat	14.992048	99.820576

Table 2 Location of *Leptochloa chinensis* by region and province in wet seed rice during 2021-2022 (continue)

No.	Population	District	Province	Coordinates	
				N/[1]	E
28	CN04	Manorom	Chai Nat	15.284185	100.22072
29	CN05	Sankhaburi	Chai Nat	15.068808	100.25024
30	CN06	Sankhaburi	Chai Nat	15.036317	100.12802
31	CN07	Sankhaburi	Chai Nat	15.005941	100.23789
32	CN08	Sapphaya	Chai Nat	15.187421	100.24493
33	CN09	Hanka	Chai Nat	14.963972	100.02797
34	CN10	Hanka	Chai Nat	14.975638	100.02275
35	CN11	Hanka	Chai Nat	14.993022	100.02162
36	CN12	Hanka	Chai Nat	14.996255	100.02465
37	CN13	Hanka	Chai Nat	15.017948	100.04489
38	CN14	Hanka	Chai Nat	15.051674	100.01859
39	CN15	Hanka	Chai Nat	15.112464	100.02616
40	CN16	Hanka	Chai Nat	15.118159	100.0209
41	CN17	Wat Sing	Chai Nat	15.172342	100.04143
42	CN18	Hanka	Chai Nat	15.005148	100.00855
43	CN19	Manorom	Chai Nat	15.329883	100.13008
44	CN20	Manorom	Chai Nat	15.280211	100.21042
45	CN21	Hanka	Chai Nat	15.100919	100.02675
46	CN22	Sankhaburi	Chai Nat	14.958031	100.09184
47	CN23	Sankhaburi	Chai Nat	14.958279	100.09325
48	CN24	Sankhaburi	Chai Nat	14.957959	100.09682
49	CN25	Sankhaburi	Chai Nat	14.956497	100.09731
50	CN26	Sankhaburi	Chai Nat	14.971729	100.12238
51	CN27	Sankhaburi	Chai Nat	14.970702	100.12254
52	CN28	Sankhaburi	Chai Nat	14.976252	100.12655
53	CN29	Sankhaburi	Chai Nat	14.977972	100.12835
54	CN30	Sankhaburi	Chai Nat	14.9798	100.13027

Table 2 Location of *Leptochloa chinensis* by region and province in wet seed rice during 2021-2022 (continue)

No.	Population	District	Province	Coordinates	
				N/1	E
55	CN31	Sankhaburi	Chai Nat	14.991873	100.14225
56	NP01	Bang Len	Nakhon Pathom	14.05697	100.08329
57	NP02	Bang Len	Nakhon Pathom	14.16066	100.25738
58	NP03	Bang Len	Nakhon Pathom	14.01334	100.20146
59	NP04	Don Tum	Nakhon Pathom	14.03396	100.11107
60	NP05	Kamphaeng Saen	Nakhon Pathom	14.01369	100.03806
61	NP06	Kamphaeng Saen	Nakhon Pathom	14.00688	99.97147
62	NP07	Kamphaeng Saen	Nakhon Pathom	14.08848	99.9726
63	NP08	Kamphaeng Saen	Nakhon Pathom	13.91409	100.00955
64	NP09	Don Tum	Nakhon Pathom	13.96356	100.10706
65	NP10	Bang Len	Nakhon Pathom	14.01288	100.19893
66	NP011	Nakhon Chansri	Nakhon Pathom	13.80331	100.21958
67	NT01	Sai Noi	Nonthaburi	14.03926	100.31248
68	PJ01	Meung	Prachuap Khiri Khan	11.77008	99.689
69	PJ02	Thap Sakae	Prachuap Khiri Khan	11.60405	99.6614
70	PJ03	Pranburi	Prachuap Khiri Khan	12.41487	99.81728
71	PC01	Nadi	Prachin Buri	14.06484	101.92068
72	PC02	Nadi	Prachin Buri	14.06484	101.92068
73	RB01	Chom Bueng	Ratchaburi	13.63129	99.58858
74	RB02	Ban Pong	Ratchaburi	13.85116	99.89137
75	RB03	Paktor	Ratchaburi	13.37523	99.82121
76	RB04	Paktor	Ratchaburi	13.44589	99.80196
77	RB05	Paktor	Ratchaburi	13.39836	99.72661
78	RB06	Paktor	Ratchaburi	13.44591	99.80196
79	SS01	Amphawa	Samut Songkhram	13.34498	99.88015
80	SS02	Amphawa	Samut Songkhram	13.34468	99.86786

Table 2 Location of *Leptochloa chinensis* by region and province in wet seed rice during 2021-2022 (continue)

No.	Population	District	Province	Coordinates	
				N/1	E
81	SS03	Amphawa	Samut Songkhram	13.34467	99.86787
82	SB01	In Buri	Sing Buri	14.999805	100.31851
83	SB02	In Buri	Sing Buri	14.995682	100.31327
84	SB03	In Buri	Sing Buri	15.01796	100.2551
85	SB04	In Buri	Sing Buri	15.022494	100.27273
86	SB05	In Buri	Sing Buri	15.018802	100.28957
87	SB06	In Buri	Sing Buri	15.007579	100.29059
88	SB07	In Buri	Sing Buri	15.000089	100.28685
89	SB08	Bang Rachan	Sing Buri	14.938578	100.33557
90	SB09	Bang Rachan	Sing Buri	14.923661	100.34637
91	SB10	Bang Rachan	Sing Buri	14.909726	100.34698
92	SB11	Bang Rachan	Sing Buri	14.900687	100.3548
93	SB012	Bang Rachan	Sing Buri	14.866526	100.27958
94	SP01	U Thong	Suphan Buri	14.26008	99.9052
95	SP02	U Thong	Suphan Buri	14.3842	99.88582
96	SP03	Meung	Suphan Buri	14.42188	99.97801
97	SP04	Meung	Suphan Buri	14.46108	100.05202
98	SP05	Bangplama	Suphan Buri	14.40635	100.15719
99	SP06	Bangplama	Suphan Buri	14.2964	100.23632
100	SP07	U Thong	Suphan Buri	14.29737	99.89027
101	CH01	Meung	Chachoengsao	13.74993	101.07752
102	CH02	Meung	Chachoengsao	13.82445	100.92807
103	CH03	Meung	Chachoengsao	13.74993	101.07752
104	CH04	Meung	Chachoengsao	13.82445	100.92807
105	CH05	Meung	Chachoengsao	13.83933	100.92873
106	CH06	Meung	Chachoengsao	13.86612	100.95049

Table 2 Location of *Leptochloa chinensis* by region and province in wet seed rice during 2021-2022 (continue)

No.	Population	District	Province	Coordinates	
				N[1/]	E
107	CH07	Meung	Chachoengsao	13.86232	100.96630
108	CH08	Meung	Chachoengsao	13.86474	101.02913
109	CH09	Meung	Chachoengsao	13.96864	100.98543
110	CH10	Meung	Chachoengsao	13.96925	101.01021

[1/] Coordinates in latitude longitude system

Table 3 Survival (%) of of *Leptochloa chinensis* at 14 days after herbicide application i.e. cyhalofop-butyl and fenoxaprop-p-ethyl

No.1	Population	Province	Survival (%) 14 DAA[1/]		Level of resistance
			cyhalofop-butyl 10% EC rate 16 g ai/rai	fenoxaprop-p-ethyl 6.9% EC rate 8.28 g ai/rai	
1	KC01	Kanjanaburi	0	0	S[2/]
2	KC02	Kanjanaburi	13.3	17.2	DR
3	KC03	Kanjanaburi	0	0	S
4	KC04	Kanjanaburi	0	0	S
5	KC05	Kanjanaburi	0	0	S
6	KC06	Kanjanaburi	0	0	S
7	KC07	Kanjanaburi	0	0	S
8	KC08	Kanjanaburi	0	0	S
9	KC09	Kanjanaburi	5.5	7.3	DR
10	KC10	Kanjanaburi	75	13.3	DR
11	KC11	Kanjanaburi	0	0	S
12	KC12	Kanjanaburi	0	0	S
13	KC13	Kanjanaburi	0	0	S
14	KC14	Kanjanaburi	0	0	S
15	SP01	Supanburi	0	0	S
16	SP02	Supanburi	0	0	S
17	SP03	Supanburi	0	0	S
18	SP04	Supanburi	7.5	10.3	DR
19	SP05	Supanburi	0	0	S

Table 3 Survival (%) of of *Leptochloa chinensis* at 14 days after herbicide application i.e. cyhalofop-butyl and fenoxaprop-p-ethyl

No.1	Population	Province	Survival (%) 14 DAA[1/]		Level of resistance
			cyhalofop-butyl 10% EC rate 16 g ai/rai	fenoxaprop-p-ethyl 6.9% EC rate 8.28 g ai/rai	
20	SP06	Supanburi	21.3	29.5	R
21	CN01	Chai Nat	0	0	S
22	CN02	Chai Nat	0	0	S
23	CN03	Chai Nat	0	0	S
24	CN04	Chai Nat	0	0	S
25	CN05	Chai Nat	0	0	S
26	CN06	Chai Nat	0	0	S
27	CN07	Chai Nat	0	0	S
28	CN08	Chai Nat	0	0	S
29	CN09	Chai Nat	0	0	S
30	CN10	Chai Nat	7	5	DR
31	CN11	Chai Nat	0	0	S
32	CN12	Chai Nat	0	0	S
33	CN13	Chai Nat	0	0	S
34	CN14	Chai Nat	0	0	S
35	CN15	Chai Nat	0	0	S
36	CN16	Chai Nat	0	0	S
37	CN17	Chai Nat	0	0	S
38	CN18	Chai Nat	0	0	S
39	CN19	Chai Nat	0	0	S
40	CN20	Chai Nat	0	0	S
41	CN21	Chai Nat	0	0	S
42	CN22	Chai Nat	0	0	S
43	CN23	Chai Nat	0	0	S
44	CN24	Chai Nat	0	0	S
45	NP01	Nakhon Pathom	0	0	S
46	NP02	Nakhon Pathom	0	0	S
47	NP03	Nakhon Pathom	2	4	DR
48	NP04	Nakhon Pathom	0	0	S
49	NP05	Nakhon Pathom	0	0	S

Table 3 Survival (%) of of *Leptochloa chinensis* at 14 days after herbicide application i.e. cyhalofop-butyl and fenoxaprop-p-ethyl

No.1	Population	Province	Survival (%) 14 DAA[1/]		Level of resistance
			cyhalofop-butyl 10% EC rate 16 g ai/rai	fenoxaprop-p-ethyl 6.9% EC rate 8.28 g ai/rai	
50	NP06	Nakhon Pathom	0	0	S
51	NP07	Nakhon Pathom	3	5	DR
52	NP08	Nakhon Pathom	0	0	S
53	NP09	Nakhon Pathom	0	0	S
54	NP010	Nakhon Pathom	0	0	S
55	NP011	Nakhon Pathom	0	0	S
56	NT01	Nonthaburi	0	0	S
57	RB01	Ratchaburi	0	0	S
58	RB02	Ratchaburi	0	0	S
59	RB03	Ratchaburi	0	0	S
60	RB04	Ratchaburi	0	0	S
61	RB05	Ratchaburi	0	0	S
62	RB06	Ratchaburi	0	0	S
63	SS01	Samut Songkhram	0	0	S
64	SS02	Samut Songkhram	0	0	S
65	SS03	Samut Songkhram	0	0	S
66	SB01	Sing Buri	0	0	S
67	SB02	Sing Buri	0	0	S
68	SB03	Sing Buri	0	0	S
69	SB04	Sing Buri	0	0	S
70	SB05	Sing Buri	4	12	DR
71	SB06	Sing Buri	0	0	S
72	SB07	Sing Buri	0	0	S
73	SB08	Sing Buri	0	0	S
7475	SB09	Sing Buri	0	0	S
76	SB10	Sing Buri	0	0	S
77	SB11	Sing Buri	0	0	S
78	SB12	Sing Buri	0	0	S
79	SP07	Supanburi	33	26	R

DAA[1/] = Days after application

0 = [2/]Susceptible

1-20 = Developing Resistance

>20 = Resistance

Figure 1 collected seed of *Leptochloa chinensis* in wet seed rice

Figure 2 Characteristics of field rice in which an outbreak of *Leptochloa chinensis* in wet seed rice

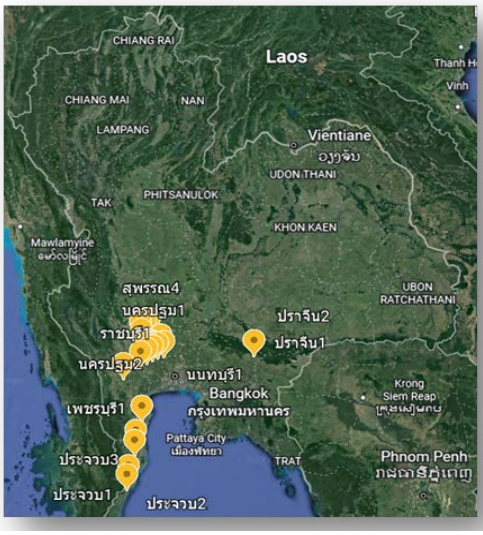


Figure 3 Distribution of *Leptochloa chinensis* in wet seed rice during 2021-2022

ศึกษาความต้านทานสารกำจัดวัชพืชกลุ่มยับยั้งการสร้างกรดอะมิโน (metsulfuron-methyl และ pyrazosulfuron-ethy) (HRAC: Group 2) ในหนวดปลาดุก (*Fimbristylis quinquangularis* (Vahl) Kunth) เพื่อการจัดการวัชพืช

Study herbicide resistance of metsulfuron-methyl and pyrazosulfuron-ethyl (HRAC: Group 2) on *Fimbristylis quinquangularis* (Vahl) Kunth for weeds control

เทอดพงษ์ มหาวงศ์[1/] จรัญญา ปิ่นสุภา[2/] ปรัชญา เอกฐิน[1/]

อุษณย์ จินดากุล[1/] เอกรัตน์ ธนูทอง[1/]

[1/]กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]กลุ่มวิชาการ สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน

รายงานความก้าวหน้า

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างเมล็ดหนวดปลาดุก 100 ประชากรในพื้นที่ปลูกข้าวในเขตภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือ พบว่า มีการกระจายตัวของประชากรเป็น 3 ระดับ คือ ระดับต้านทาน (resistant population) ระดับกำลังพัฒนาความต้านทาน (developing resistant population) และระดับอ่อนแอ (susceptible) ต่อสารกำจัดวัชพืชในกลุ่ม Sulfonylurea โดยพบระดับความต้านทาน จำนวน 23 ประชากรต่อสารในกลุ่ม Sulfonylurea โดยพบประชากรต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช metsulfuron-methyl จำนวน 15 ประชากร ในพื้นที่ปลูกข้าว จ.สุพรรณบุรี ลพบุรี และ พิษณุโลก ส่วนประชากรต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช pyrazosulfuron-ethyl พบจำนวน 19 ประชากร ในพื้นที่ปลูกข้าว จ.สุพรรณบุรี ลพบุรี ปทุมธานี และ พิษณุโลก และจะทำการทดสอบการตอบสนองต่อสารกำจัดวัชพืช (Dose response assay) ต่อไป

คำหลัก : หนวดปลาดุก สารกำจัดวัชพืช ความต้านทาน

รหัสการทดลอง FF65-12-03-65-03-03-65

คำนำ

ข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญทั้งการบริโภคภายในประเทศและส่งออกไปในตลาดโลก จากข้อมูลสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร ในปี พ.ศ. 2561/62 ประเทศไทยผลิตข้าวได้รวม 25.1 ล้านตัน ใช้เพื่อการบริโภค ทำพันธุ์ ส่งออกไปขายในตลาดโลก ข้าวเปลือกเจ้าราคาสูงขึ้นเนื่องจากผลผลิตไม่เพียงพอต่อความต้องการ และมีคำสั่งซื้อจากต่างประเทศเพิ่มขึ้น ประกอบกับผลกระทบจากภัยแล้งที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตในรอบนาปรัง (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2562) ปัญหาสำคัญอันดับหนึ่งที่ทำให้เกษตรกรไม่ได้ผลผลิตข้าวสูง และต้องเสียค่าใช้จ่ายในการดูแลรักษาแปลงปลูกข้าวมาก คือ การระบาดของวัชพืชหลากหลายชนิดรวมทั้งข้าวปนที่เมล็ดติดมากับเครื่องจักรที่ใช้ในการเก็บเกี่ยว วัชพืชสำคัญที่พบในนาข้าว เช่น หญ้าข้าวนก หญ้านกสีชมพู หญ้าดอกขาว หญ้าแดง ผักปอดนา ขาเขียด กกทราย กกขนาก หนวดปลาดุก ผักแว่น (กรมการข้าว, 2562) เพื่อให้ได้ผลผลิตข้าวสูง เกษตรกรจึงมีการกำจัดวัชพืชทุกครั้ง สำหรับการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานในนาหว่านน้ำตมทำได้ยากกว่าวิธีการทำนาชนิดอื่น ๆ เนื่องจากต้นข้าวและวัชพืชจะงอกพร้อม ๆ กัน ประกอบกับการหว่านข้าวลงในนาไม่ได้ปลูกเป็นแถวเป็นแนว และการจำแนกต้นอ่อนและต้นกล้าระหว่างข้าวกับวัชพืชก็ยิ่งทำได้ยากลำบาก ซึ่งความเสียหายจากการระบาดของวัชพืชมีผลทำให้ผลผลิตข้าวลดลงได้ถึง 30 – 70 % ขึ้นกับชนิดและปริมาณวัชพืช การใช้สารกำจัดวัชพืชในนาหว่านน้ำตมเป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว และหาซื้อได้ง่าย ประการสำคัญคือประหยัดกว่าการจ้างด้วยแรงงาน โดยการใช้สารกำจัดวัชพืชมีช่วงเวลาการใช้มีทั้งก่อนปลูกข้าว (pre-planting) แบบประเภทคุม (pre-emergence) แบบประเภทคุม-ฆ่า (early post-emergence) และประเภทฆ่า (post-emergence) สารกำจัดวัชพืชที่มีการแนะนำให้ใช้ในนาหว่านน้ำตม เช่น เพรททิลาคลอร์, บิวทาคลอร์, เพรทิลาคลอร์+ไพริเบนโซซิม, บิวทาคลอร์+โพรพานิล, ไพราโซซัลฟูรอน–เอทธิล, ไธโอเบนคาร์บ+2, 4-ดี, บิสไพริแบก – โซเดียม, 2, 4-ดี, โพรพานิล+2, 4-ดี, เมทซัลฟูรอน–เมทธิล+เบนซัลฟูรอน–เมทธิล (กลุ่มวิจัยวัชพืช, 2547) การเลือกใช้ยาหรือการใช้ยาตัวเดิมแบบซ้ำ ๆ ทุกฤดู อาจจะเกิดความต้านทานสารกับวัชพืชพืช จากการรายงานของเกษตรกรในเขตพื้นที่ อ.บางปลาม้า จ.สุพรรณบุรี และ อ.สรรคบุรี จ.ชัยนาท พบว่า หนวดปลาดุกไม่สามารถควบคุมได้ด้วยการใช้สารกำจัดวัชพืชในกลุ่มที่ยับยั้งเอนไซม์ acetolactate synthase (ALS) ซึ่งหนวดปลาดุก (*Fimbristylis quinquangularis* (Vahl) Kunth) เป็นวัชพืชที่เป็นปัญหาสำคัญในข้าวนาหว่านน้ำตม ทำให้ผลผลิตข้าวได้รับความเสียหายมากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ และอาจจะเกิดความต้านทานสารหลายกลุ่มในประชากรของหนวดปลาดุกสายพันธุ์ที่ต้านทานสารไปยังสารกำจัดวัชพืชชนิดอื่นๆ ที่ใช้ในนาข้าว (รุจนะ และ คณะ, 2560) ดังนั้น ควรนำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและทราบสถานการณ์หนวดปลาดุกต้านทานสารกลุ่มที่ยับยั้งเอนไซม์ acetolactate synthase (ALS) หาอัตราการใช้ที่เหมาะสม เพื่อให้มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชได้ดี ไม่กระทบต่อผลผลิตข้าว และเป็นทางเลือกให้เกษตรกร รวมทั้งใช้เป็นคำแนะนำของกลุ่มวิจัยวัชพืช ให้เกษตรกรใช้สารกำจัดวัชพืชได้ถูกต้อง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แบบสำรวจ
2. เครื่องจับพิกัด GPS
3. กระติกน้ำแข็ง
4. ถุงเก็บตัวอย่าง
5. กล้องถ่ายภาพ
6. สารกำจัดวัชพืช
7. กระบะ และดินปลูก
8. เมล็ดหนวดปลาดุก

วิธีการ.

ขั้นตอนที่ 1 สำรวจและเก็บตัวอย่างเมล็ดหนวดปลาดุกในพื้นที่ปลูกข้าวสำคัญของประเทศไทย

ดำเนินการสำรวจและเก็บตัวอย่างเมล็ดหนวดปลาดุก พร้อมกับบันทึกพิกัดแปลงประวัติการใช้สารกำจัดวัชพืชย้อนหลัง 5 ปี ในนาข้าวเขตภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 100 แปลงโดยเดินสุ่มในแนวทแยงมุม นำเมล็ดวัชพืชที่ได้มาคัดแยก เก็บไว้ในตู้เย็นเพื่อรอการทดสอบ และเก็บเมล็ดหนวดปลาดุกจากแปลงที่ไม่มีประวัติการใช้สารกำจัดวัชพืชเพื่อเป็นตัวควบคุมการทดลอง (susceptible check)

ขั้นตอนที่ 2 ทดสอบความต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืชกลุ่ม Sulfonylurea

ดำเนินการเพาะเมล็ดหนวดปลาดุกในถาดเพาะ จำนวน 100 ประชากร ประชากรละ 20 ต้นต่อถาด จำนวน 3 ซ้ำ จากนั้นพ่นสารกำจัดวัชพืชตามอัตราแนะนำ เมื่อหนวดปลาดุกมีจำนวนใบ 3 – 5 ใบ โดยใช้เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง หัวพ่นแบบพัด ปริมาณน้ำ 80 ลิตร/ไร่ หลังพ่นสารทำการนับจำนวนต้นวัชพืชที่รอดตาย ที่ระยะ 21 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช โดยเปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่พ่นสารกำจัดวัชพืชและนำค่าที่ได้คำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การรอดตายของวัชพืช โดยเปรียบเทียบกับจำนวนต้นของประชากรเดียวกันที่ไม่พ่นสาร โดยแบ่งระดับความต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืชเป็น 3 ระดับ ตามแบบ (Llewellyn and Powle, 2001) ดังนี้

เปอร์เซ็นต์การรอดตาย	ระดับความต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช
0	ประชากรอ่อนแอ (susceptible population)
1-20	ประชากรที่กำลังพัฒนาความต้านทาน (developing resistance population)
มากกว่า 20	ประชากรต้านทาน (resistant population)

เวลาและสถานที่

แปลงนาข้าวของเกษตรกรเขตภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 100 แปลง

โรงเรือนทดลองกลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชกรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ ระหว่างเดือน ตุลาคม 2564-กันยายน 2565

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1 สำรวจและเก็บตัวอย่างเมล็ดหนวดปลาดุกในพื้นที่ปลูกข้าวสำคัญของประเทศไทย

ดำเนินการสำรวจและก็บตัวอย่างเมล็ดหนวดปลาดุก พร้อมกับบันทึกพิกัดแปลงประวัติการใช้สารกำจัดวัชพืชย้อนหลัง 5 ปี ในนาข้าวเขตภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 100 แปลงโดยเดินสุ่มในแนวทแยงมุม นำเมล็ดวัชพืชที่ได้มาคัดแยก เก็บไว้ในตู้เย็นเพื่อรอการทดสอบ และเก็บเมล็ดหนวดปลาดุกจากแปลงที่ไม่มีประวัติการใช้สารกำจัดวัชพืชเพื่อเป็นตัวควบคุมการทดลอง (susceptible check)

เก็บเมล็ดหนวดปลาดุกได้ 100 ประชากรในพื้นที่ปลูกข้าวในเขตภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือ (Table 1) ได้แก่ จังหวัด สุพรรณบุรี ชัยนาท อ่างทอง นนทบุรี สิงหบุรี ลพบุรี พระนครศรีอยุธยา ปทุมธานี อุบลราชธานี ศรีสะเกษ สุรินทร์ นครราชสีมา พิษณุโลก อุตรดิตถ์ เชียงใหม่และ เชียงราย (Figure 1-2 and Table 1-2)

ขั้นตอนที่ 2 ทดสอบความต้านทานของหนวดปลาดุกต่อสารกำจัดวัชพืชกลุ่ม Sulfonylurea

พบว่า มีการกระจายตัวของประชากรเป็น 3 ระดับ คือระดับต้านทาน (resistant population) ระดับกำลังพัฒนาความต้านทาน (developing resistant population) และระดับอ่อนแอ (susceptible) ต่อสารกำจัดวัชพืชในกลุ่ม Sulfonylurea โดยพบระดับความต้านทานจำนวน 23 ประชากรต่อสารในกลุ่ม Sulfonylurea โดยพบประชากรต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช metsulfuron-methyl จำนวน 15 ประชากร ในพื้นที่ปลูกข้าว จ.สุพรรณบุรี ลพบุรี และ พิษณุโลก ส่วนประชากรต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช pyrazosulfuron-ethyl พบจำนวน 19 ประชากร ในพื้นที่ปลูกข้าว จ.สุพรรณบุรี ลพบุรี ปทุมธานี และ พิษณุโลก แสดงใน (Table 3)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างเมล็ดหนวดปลาดุก 100 ประชากรในพื้นที่ปลูกข้าวในเขตภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือ พบว่า มีการกระจายตัวของประชากรเป็น 3 ระดับ คือ ระดับต้านทาน (resistant population) ระดับกำลังพัฒนาความต้านทาน (developing resistant population) และระดับอ่อนแอ (susceptible) ต่อสารกำจัดวัชพืชในกลุ่ม Sulfonylurea โดยพบระดับความต้านทาน จำนวน 23 ประชากรต่อสารในกลุ่ม Sulfonylurea โดยพบประชากรต้านทาน

ต่อสารกำจัดวัชพืช metsulfuron-methyl จำนวน 15 ประชากร ในพื้นที่ปลูกข้าว จ.สุพรรณบุรี ลพบุรี และ พิษณุโลก ส่วนประชากรต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช pyrazosulfuron-ethyl พบจำนวน 19 ประชากร ในพื้นที่ปลูกข้าว จ.สุพรรณบุรี ลพบุรี ปทุมธานี และ พิษณุโลก

เอกสารอ้างอิง

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2562. [Online]. Available. http://www.oae.go.th/view/1/ดัชนีราคาและผลผลิต/TH-TH) (20/11/2562)

รุจนะ ภิญโญศักดิ์ จำเนียร ชมภู และ ทศพล พรพรหม.2560. การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 13. หน้า 382

กรมการข้าว. 2562. [Online]. Available. http://www.ricethailand.go.th/Rkb/weed/index.php- file=content.php&id=46.htm

Table 1 Resource of seed collected separate by region amount 100 locations

Region	Province	Amount
Central	Suphanburi	16
	Nonthaburi	1
	Angthong	6
	Singburi	5
	Chainat	6
	Lopburi	7
	Phranakhonsiayutthaya	5
	Pathumthani	4
North eastern	Ubolratchathani	10
	Sisaket	7
	Surin	7
	Nakhonratchasima	6
North	Phitsanulok	7
	Uttaradit	3
	Chiangmai	5
	Chiangrai	5
Total		100

Table 2 Population of *Fimbristylis quinquangularis* (Vahl) Kunth and resource of seed collected amount 100 locations in Central, North-east, and North region of Thailand

No.	Province	District	GPS[1/]	
			Lat.	Long.
1	Suphanburi	Sam Chuk	14.7732	100.1624
2	Suphanburi	Doem Bang Nang Buat	14.8312	100.0887
3	Suphanburi	Doem Bang Nang Buat	14.7967	100.0891
4	Suphanburi	Doem Bang Nang Buat	14.7917	100.0969
5	Suphanburi	Doem Bang Nang Buat	14.8292	100.1019
6	Suphanburi	Doem Bang Nang Buat	14.8848	100.0666
7	Suphanburi	Sriprachan	14.6365	100.1339
8	Suphanburi	Sriprachan	14.6072	100.1508
9	Suphanburi	Sriprachan	14.6076	100.1485
10	Nonthaburi	Sai Noi	14.0392	100.3124
11	Suphanburi	U-Thong	14.2600	99.9052
12	Suphanburi	U-Thong	14.3842	99.8858
13	Suphanburi	Muang	14.4218	99.9780
14	Suphanburi	Muang	14.4610	100.0520
15	Suphanburi	Bang Pla Ma	14.4063	100.1571
16	Suphanburi	Bang Pla Ma	14.2964	100.2363
17	Suphanburi	U-Thong	14.2973	99.8902
18	Angthong	Chaiyo	14.6773	100.4806
19	Angthong	Chaiyo	14.6776	100.4574
20	Angthong	Muang	14.5718	100.4631
21	Angthong	Muang	14.5512	100.4696
22	Angthong	Pa Mok	14.5236	100.4729
23	Angthong	Pa Mok	14.5070	100.4754
24	Singburi	Ban Mo	14.7324	100.4490
25	Singburi	Ban Mo	14.7636	100.4634
26	Singburi	Muang	14.8267	100.4195
27	Singburi	Muang	14.8546	100.4036

Table 2 Population of *Fimbristylis quinquangularis* (Vahl) Kunth and resource of seed collected amount 100 locations in Central, North-east, and North region of Thailand (continue)

No.	Province	District	GPS[1/]	
			Lat.	Long.
28	Singburi	Intraburi	14.9800	100.3596
29	Chainat	Sapphaya	15.1277	100.2436
30	Chainat	Sapphaya	15.1122	100.2566
31	Chainat	Nong Mamong	15.2742	99.8817
32	Chainat	Nong Mamong	15.2745	99.8546
33	Chainat	Wat Singh	15.2049	99.9579
34	Chainat	Wat Singh	15.1927	99.9428
35	Lopburi	Tha Wung	14.7938	100.5258
36	Lopburi	Tha Wung	14.7924	100.5088
37	Lopburi	Tha Wung	14.7771	100.5334
38	Lopburi	Ban Me	15.0535	100.5270
39	Lopburi	Ban Me	15.0443	100.5279
40	Lopburi	Ban Me	15.0298	100.5455
41	Lopburi	Ban Me	14.9729	100.5536
42	Phranakhonsiayutthaya	Bang Sai	14.3128	100.3075
43	Phranakhonsiayutthaya	Bang Sai	14.2966	100.2888
44	Phranakhonsiayutthaya	Sena	14.3166	100.3857
45	Phranakhonsiayutthaya	Sena	14.3241	100.3915
46	Phranakhonsiayutthaya	Rangjakhe	14.3450	100.3808
47	Pathumthani	Lamlukka	13.9445	100.8504
48	Pathumthani	Lamlukka	13.9931	100.8617
49	Pathumthani	Lamlukka	13.9808	100.9091
50	Pathumthani	Lamlukka	13.9742	100.9094
51	Ubolratchathani	Warin Chamrap	15.0958	104.8160
52	Ubolratchathani	Warin Chamrap	15.1075	104.8692
53	Ubolratchathani	Samrong	14.9703	104.7480
54	Ubolratchathani	Samrong	14.9458	104.7360

Table 2 Population of *Fimbristylis quinquangularis* (Vahl) Kunth and resource of seed collected amount 100 locations in Central, North-east, and North region of Thailand (continue)

No.	Province	District	GPS[1/]	
			Lat.	Long.
55	Ubolratchathani	Det Udom	14.9548	104.9715
56	Ubolratchathani	Det Udom	14.9501	104.9447
57	Ubolratchathani	Muang	15.3197	104.8869
58	Ubolratchathani	Muangsamsib	15.5256	104.7237
59	Ubolratchathani	Pibulmangsahan	15.1092	105.2863
60	Ubolratchathani	Pibulmangsahan	15.1159	105.2183
61	Sisaket	Benjarak	14.8524	104.6910
62	Sisaket	Khun Han	14.6866	104.4010
63	Sisaket	Khun Han	14.6866	104.4010
64	Sisaket	Namkleang	14.9694	104.4710
65	Sisaket	Kantharom	15.0379	104.5170
66	Sisaket	Kantharom	15.0445	104.5190
67	Sisaket	Kantharom	15.0445	104.5190
68	Surin	Sikharaphum	15.0067	103.8668
69	Surin	Sikharaphum	15.0452	103.8704
70	Surin	Sikharaphum	15.0447	103.8808
71	Surin	Prasat	14.5282	103.7356
72	Surin	Prasat	14.5285	103.3957
73	Surin	Phanomdongrak	14.5053	103.3202
74	Surin	Phanomdongrak	14.5059	103.2494
75	Nakhonratchasima	Pakthongchai	14.6143	101.8736
76	Nakhonratchasima	Pakthongchai	14.6568	101.8626
77	Nakhonratchasima	Pakthongchai	14.6143	101.9176
78	Nakhonratchasima	Phimai	15.1713	102.4041
79	Nakhonratchasima	Phimai	15.1951	102.3958
80	Nakhonratchasima	Phimai	15.1686	102.4233
81	Phitsanulok	Bangrakam	16.7753	100.0328

Table 2 Population of *Fimbristylis quinquangularis* (Vahl) Kunth and resource of seed collected amount 100 locations in Central, North-east, and North region of Thailand (continue)

No.	Province	District	GPS[1/]	
			Lat.	Long.
82	Phitsanulok	Bangrakam	16.7717	100.0397
83	Phitsanulok	Bangrakam	16.7667	100.0397
84	Phitsanulok	Brahmapiram	16.9836	100.2257
85	Phitsanulok	Brahmapiram	17.0135	100.2175
86	Phitsanulok	Brahmapiram	16.9938	100.2194
87	Phitsanulok	Brahmapiram	16.9814	100.2104
88	Uttaradit	Tron	17.4178	100.1326
89	Uttaradit	Tron	17.4288	100.1704
90	Uttaradit	Luplae	17.5501	100.0169
91	Chiangmai	Sanpatong	18.6072	98.9218
92	Chiangmai	Sanpatong	18.5813	98.9298
93	Chiangmai	Sanpatong	18.5718	98.9371
94	Chiangmai	Sanpatong	18.5782	98.9431
95	Chiangmai	Sanpatong	18.5864	98.9358
96	Chiangrai	Phan	19.4970	99.8215
97	Chiangrai	Phan	19.4900	99.8149
98	Chiangrai	Phan	19.4996	99.8289
99	Chiangrai	Phan	19.5137	99.8242
100	Chiangrai	Phan	19.5110	99.8084

[1/]เป็นการบอกพิกัดแปลงที่ในระบบ latitude longitude

Table 3 Survival (%) of *Fimbristylis quinquangularis* (Vahl) Kunth populations which resist to metsulfuron-methyl and pyrazosulfuron-ethyl

Population	Province	Survival (%)		Resistance Level[1/]	
		Met	Pyr	Met	Pyr
1	Suphanburi	90	95	R	R
2	Suphanburi	15	75	D	R
3	Suphanburi	5	80	D	R
4	Suphanburi	5	60	D	R
5	Suphanburi	85	87	R	R
6	Suphanburi	87	90	R	R
7	Suphanburi	90	70	R	R
8	Suphanburi	83	80	R	R
9	Suphanburi	80	95	R	R
10	Nonthaburi	0	0	S	S
11	Suphanburi	10	40	D	R
12	Suphanburi	10	30	D	R
13	Suphanburi	10	10	D	D
14	Suphanburi	30	45	R	R
15	Suphanburi	50	63	R	R
16	Suphanburi	45	0	R	S
17	Suphanburi	80	0	R	S
18	Angthong	0	0	S	S
19	Angthong	0	0	S	S
20	Angthong	0	0	S	S
21	Angthong	0	0	S	S
22	Angthong	0	0	S	S
23	Angthong	0	0	S	S
24	Singburi	0	0	S	S
25	Singburi	0	0	S	S
26	Singburi	0	0	S	S
27	Singburi	0	0	S	S
28	Singburi	0	0	S	S

Table 3 Survival (%) of *Fimbristylis quinquangularis* (Vahl) Kunth populations which resist to metsulfuron-methyl and pyrazosulfuron-ethyl (continue)

Population	Province	Survival (%)		Resistance Level[1/]	
		Met	Pyr	Met	Pyr
29	Chainat	10	0	D	S
30	Chainat	10	0	D	S
31	Chainat	15	0	D	S
32	Chainat	5	0	D	S
33	Chainat	0	0	S	S
34	Chainat	0	5	S	D
35	Lopburi	85	100	R	R
36	Lopburi	12	5	D	D
37	Lopburi	5	5	D	D
38	Lopburi	33	27	R	S
39	Lopburi	0	0	S	S
40	Lopburi	0	0	S	S
41	Lopburi	0	0	S	S
42	Phranakhonsiayutthaya	0	0	S	S
43	Phranakhonsiayutthaya	0	0	S	S
44	Phranakhonsiayutthaya	0	0	S	S
45	Phranakhonsiayutthaya	0	0	S	S
46	Phranakhonsiayutthaya	0	0	S	S
47	Pathumthani	0	0	S	S
48	Pathumthani	0	90	S	R
49	Pathumthani	0	75	S	R
50	Pathumthani	0	0	S	S
51	Ubolratchathani	0	0	S	S
52	Ubolratchathani	0	0	S	S
53	Ubolratchathani	0	0	S	S

Table 3 Survival (%) of *Fimbristylis quinquangularis* (Vahl) Kunth populations which resist to metsulfuron-methyl and pyrazosulfuron-ethyl (continue)

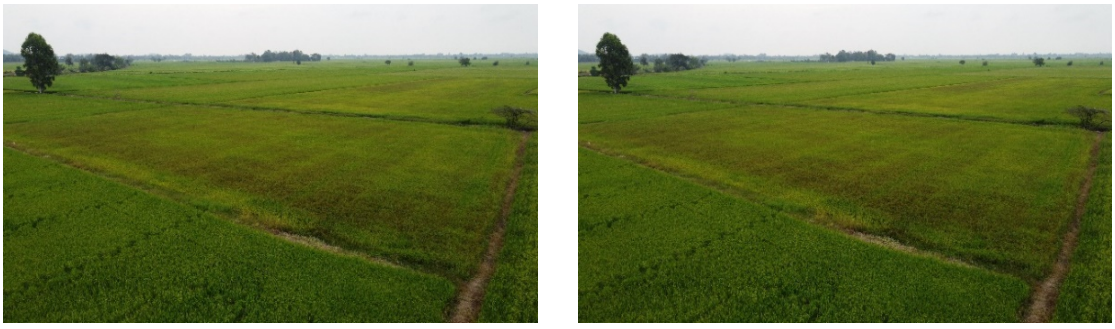
Population	Province	Survival (%)		Resistance Level[1/]	
		Met	Pyr	Met	Pyr
54	Ubolratchathani	0	0	S	S
55	Ubolratchathani	0	0	S	S
56	Ubolratchathani	0	0	S	S
57	Ubolratchathani	0	0	S	S
58	Ubolratchathani	0	0	S	S
59	Ubolratchathani	0	0	S	S
60	Ubolratchathani	0	0	S	S
61	Sisaket	0	0	S	S
62	Sisaket	0	0	S	S
63	Sisaket	0	0	S	S
64	Sisaket	0	0	S	S
65	Sisaket	0	0	S	S
66	Sisaket	0	0	S	S
67	Sisaket	0	0	S	S
68	Surin	0	0	S	S
69	Surin	0	0	S	S
70	Surin	0	0	S	S
71	Surin	0	0	S	S
72	Surin	0	0	S	S
73	Surin	0	0	S	S
74	Surin	0	0	S	S
75	Nakhonratchasima	0	0	S	S
76	Nakhonratchasima	0	0	S	S
77	Nakhonratchasima	0	0	S	S
78	Nakhonratchasima	0	0	S	S
79	Nakhonratchasima	0	0	S	S
80	Nakhonratchasima	0	0	S	S
81	Phitsanulok	77	60	R	R
82	Phitsanulok	80	77	R	R

Table 3 Survival (%) of *Fimbristylis quinquangularis* (Vahl) Kunth populations which resist to metsulfuron-methyl and pyrazosulfuron-ethyl (continue)

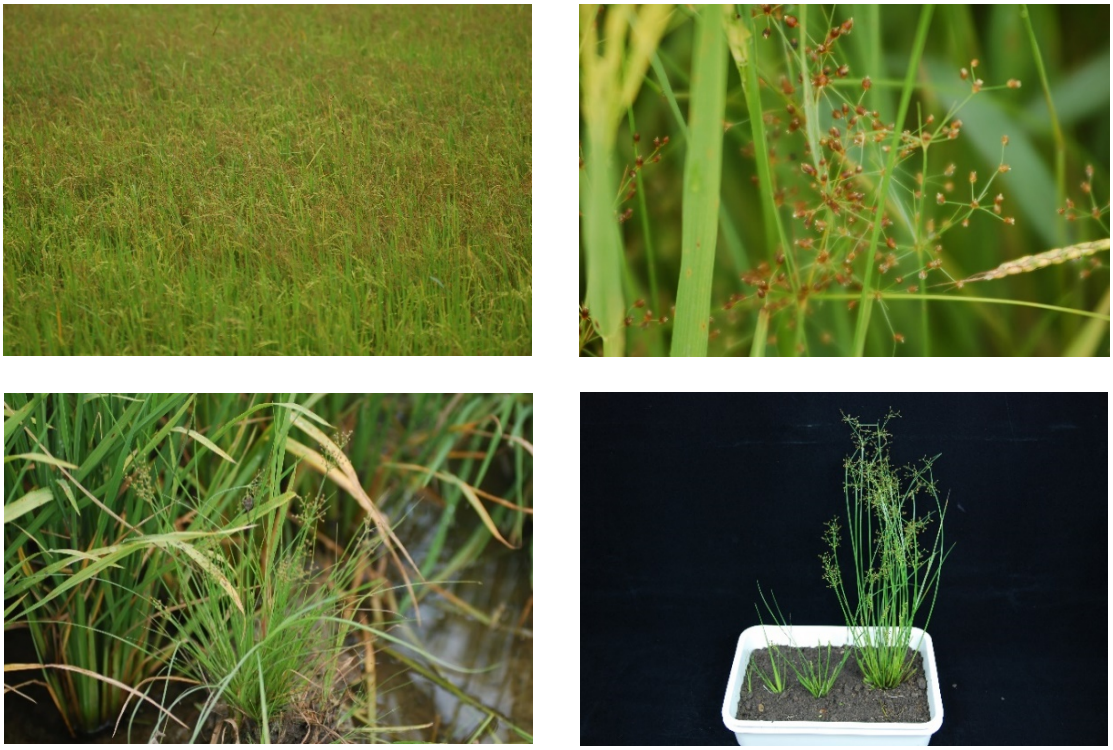
Population	Province	Survival (%)		Resistance Level[1/]	
		Met	Pyr	Met	Pyr
83	Phitsanulok	0	90	S	R
84	Phitsanulok	90	0	R	S
85	Phitsanulok	0	0	S	S
86	Phitsanulok	0	0	S	S
87	Phitsanulok	0	0	S	S
88	Uttaradit	0	0	S	S
89	Uttaradit	0	0	S	S
90	Uttaradit	0	0	S	S
91	Chiangmai	0	0	S	S
92	Chiangmai	0	0	S	S
93	Chiangmai	0	0	S	S
94	Chiangmai	0	0	S	S
95	Chiangmai	0	0	S	S
96	Chiangrai	0	0	S	S
97	Chiangrai	0	0	S	S
98	Chiangrai	0	0	S	S
99	Chiangrai	0	0	S	S
100	Chiangrai	0	0	S	S

[1/]Resistance Level: susceptible= S, developing resistance=D, resistant=R

Remark: Met = metsulfuron-methyl, Pyr = pyrazosulfuron-ethyl



ภาพที่ 1 ลักษณะแปลงที่พบการระบาดของหญ้าหนวดปลาดุกในข้าวเมื่อถ่ายจากภาพมุมสูง



ภาพที่ 2 พื้นที่เก็บเมล็ดหนวดปลาดุก และนำมาทดสอบเพาะในกระบะเพื่อดูความงอก

ศึกษาความต้านทานสารกำจัดวัชพืชกลุ่มยับยั้งการสร้างกรดอะมิโน (pyrazosulfuron-ethyl และ bensulfuron-methyl) ในกกขนาก (*Cyperus difformis* L.) เพื่อการจัดการวัชพืช

Study on Resistance of Amino acid-inhibiting Herbicides. (pyrazosulfuron-ethyl and bensulfuron-methyl) in Small-Flower Umbrella Sedge (*Cyperus difformis* L.) for Weed Management

เอกรัตน์ ธนูทอง[1/] ปรัชญา เอกฐิน[1/] เทอดพงษ์ มหาวงศ [1/]
อุษณีย์ จินดากุล[1/] จรัญญา ปิ่นสุภา[2/]
[1/]กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิชาการ สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน

รายงานความก้าวหน้า

ศึกษาความต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืชกลุ่มยับยั้งการสร้างกรดอะมิโน (pyrazosulfuron-ethyl และ bensulfuron-methyl) ในกกขนาก ดำเนินการทดลอง โดยเก็บเมล็ดกกขนากระบาดในพื้นที่ปลูกข้าวและสงสัยว่าต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช pyrazosulfuron-ethyl และ bensulfuron-methyl ในพื้นที่ปลูกข้าวนาหว่านน้ำตมเขตภาคตะวันตก ได้แก่ จังหวัดกาญจนบุรี เพชรบุรี และราชบุรี ภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดชัยนาท นครนายก นครปฐม ปทุมธานี พระนครศรีอยุธยา สุพรรณบุรี และอ่างทอง และภาคตะวันออก ได้แก่ จังหวัดปราจีนบุรี หลังจากนั้นนำเมล็ดกกขนาก จำนวน 100 ประชากร ที่เก็บในพื้นที่ปลูกข้าวดังกล่าวมาทดสอบระดับความต้านทานสารกำจัดวัชพืช pyrazosulfuron-ethyl และ bensulfuron-methyl อัตรา 6 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ (ตามคำแนะนำข้างฉลากสาร) พ่นที่ระยะกกขนากมีจำนวนใบ 3–5 ใบ พบว่า ประชากรกกขนากในเขตภาคกลาง โดยส่วนใหญ่มีความต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช pyrazosulfuron-ethyl และ bensulfuron-methyl โดยมีเปอร์เซ็นต์การรอดตายมากว่า 20 เปอร์เซ็นต์ มีเพียง 3 ประชากรที่พบในจังหวัดชัยนาท ที่พบว่าประชากรกกขนากกำลังพัฒนาความต้านทาน (Developing resistant population) โดยมีเปอร์เซ็นต์การรอดตายน้อยกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ สำหรับเขตภาคตะวันตกและภาคตะวันออกอยู่ในขั้นตอนของการศึกษาในปีถัดไป

คำหลัก : กกขนาก วัชพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืช สารกำจัดวัชพืชกลุ่มยับยั้งการสร้างกรดอะมิโน

รหัสการทดลอง FF65-12-03-65-03-04-65

คำนำ

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ได้มีนโยบายส่งเสริมให้เกษตรกรรวมตัวกันทำการเกษตรแบบแปลงใหญ่ ซึ่งเป็นการให้เกษตรกรที่ปลูกพืชชนิดเดียวกันในพื้นที่ใกล้เคียงกันมาร่วมกันทำการผลิตร่วมกันจัดหาปัจจัยการผลิตที่มีคุณภาพดี มีการบริหารจัดการฟาร์มที่ดี และร่วมกันทำการขายสินค้าเพื่อเพิ่มศักยภาพในการผลิต (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2561; สำนักเลขาธิการสภาผู้แทนราษฎร, 2561) ปัจจุบันนี้เกษตรกรที่ปลูกข้าวในระบบการทำเกษตรแปลงใหญ่มักใช้สารกำจัดวัชพืชมากขึ้น เนื่องจากพบว่าการระบาดของวัชพืชเพิ่มมากขึ้น ซึ่งมีความเป็นไปได้สูงที่วัชพืชสร้างความต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช

การที่วัชพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืชเป็นเพราะเกษตรกรมีการใช้สารกำจัดวัชพืชซ้ำ ๆ ติดต่อกันเป็นเวลานาน และไม่มีการหมุนเวียนกลุ่มสาร ทำให้วัชพืชมีการพัฒนาความต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช (จรรยา และคณะ, 2554) และความต้านทานของวัชพืชต่อสารกำจัดวัชพืชมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นในแหล่งปลูกพืชต่าง ๆ ของประเทศไทยโดยเฉพาะในพื้นที่ปลูกข้าว ซึ่งวัชพืชสำคัญในนาข้าวที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดความต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช ได้แก่ ผักปอด หญ้าข้าวนก หญ้าดอกขาว กกขนาก และหนวดปลาดุก ซึ่งหากไม่มีวิธีการจัดการวัชพืชต้านทานที่ดีอาจส่งผลให้ผลผลิตข้าวลดลงอย่างมาก (กลุ่มวิจัยวัชพืช, 2555; ประสาน, 2540; IRRI, 2019) ในปัจจุบันนี้สถานการณ์การระบาดของวัชพืชพวกกก ได้แก่ กกขนาก (*Cyperus difformis* L.) กกทราย (*Cyperus iria* L.) และหนวดปลาดุก (*Fimbristylis quinquangularis* (Vahl) Kunth) ที่ต้านทานสารในกลุ่มซัลโฟนิลยูเรีย (Sulfonylureas) โดยจากการสอบถามเกษตรกรชาวนาในพื้นที่อำเภอเมืองและอำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี ได้ข้อมูลว่าวัชพืชประเภทกก โดยเฉพาะหนวดปลาดุก และ กกขนาก ไม่สามารถควบคุมได้ด้วยการใช้สารกำจัดวัชพืชในกลุ่มที่ยับยั้งเอนไซม์ acetolactate synthase (ALS) โดยเฉพาะวัชพืชพวกกก ซึ่งนับว่าเป็นปัญหาสำคัญที่ทำให้เกิดการแพร่ระบาดของวัชพืชไบโอไทป์ที่ต้านทานสาร (Resistant-biotype)

ข้อมูลการวิจัยเพื่อจัดการปัญหาความต้านทานของวัชพืชต่อสารกำจัดวัชพืชที่ใช้ในนาข้าวในพื้นที่ต่าง ๆ ของประเทศไทยมีน้อยมาก ข้อมูลความต้านทานของวัชพืชในระดับพื้นที่ทำให้สามารถแก้ไขปัญหาได้ถูกจุดและมีประสิทธิภาพ ดังนั้นการประเมินความต้านทานของวัชพืชต่อสารกำจัดวัชพืชที่ใช้ในนาข้าวในระบบการทำเกษตรแปลงใหญ่และเทคโนโลยีในการจัดการปัญหาความต้านทานมีความสำคัญต่อเกษตรกร นักส่งเสริม และนักวิชาการ เพราะใช้เป็นข้อมูลในการตัดสินใจว่าจะจัดการปัญหาความต้านทานของวัชพืชในนาข้าวต่อสารกำจัดวัชพืชโดยวิธีการใด และใช้สารเคมีกลุ่มใดเพื่อควบคุมวัชพืชได้ทันในฤดูปลูก ในทันทีที่พบว่าวัชพืชเกิดความต้านทานและสารกำจัดวัชพืชที่เคยใช้มานานกลับใช้ไม่ได้ผล ซึ่งจะช่วยให้การป้องกันกำจัดวัชพืชต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืชในการปลูกข้าวในระบบเกษตรแปลงใหญ่ในประเทศไทยเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- กล้องถ่ายรูปแบบดิจิตอล
- โทรศัพท์ที่สามารถรับสัญญาณดาวเทียมระบุพิกัดภูมิศาสตร์ได้
- กระบะขนาด 30x45 เซนติเมตร
- เมล็ดกกขนาก
- เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง หัวพ่นแบบรูปพัด
- อุปกรณ์ในการตวง เช่น บีกเกอร์ กระบอกตวง เป็นต้น
- สารกำจัดวัชพืช pyrazosulfuron-ethyl 10% WP และ bensulfuron-methyl 10% WP
- วัสดุและอุปกรณ์อื่นๆ เช่น ถุงเก็บเมล็ด ดินนา และป้ายปักแสดงกรรมวิธี

วิธีการ

ขั้นตอนที่ 1 สำรวจและเก็บตัวอย่างเมล็ดกกขนากในพื้นที่ปลูกข้าวนาหว่านน้ำตม

สำรวจและเก็บเมล็ดกกขนากที่ระบาดในพื้นที่ปลูกข้าวที่สำคัญของประเทศไทย จำนวน 100 แปลง โดยเดินสุ่มเก็บในแนวเส้นทแยงมุม ตามวิธีการแบบ European Herbicide Resistance Committee (2017) บันทึกพิกัดตำแหน่งที่เก็บเมล็ดกกขนาก และเก็บเมล็ดกกขนากจากแปลงที่ไม่มีประวัติการใช้สารกำจัดวัชพืชเพื่อเป็นตัวควบคุมการทดลอง (susceptible check) นำเมล็ดแต่ละแปลงที่เก็บมาตากแดดประมาณ 7 วัน ในเรือนทดลอง และนำมาเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อทำการทดลองต่อไป

ขั้นตอนที่ 2 ทดสอบความต้านทานของกกขนากต่อสารกำจัดวัชพืช pyrazosulfuron-ethyl และ bensulfuron-methyl

ดำเนินการเพาะเมล็ดกกขนากในถาดเพาะ จำนวน 100 ประชากร ประชากรละ 20 ต้นต่อถาด จากนั้นพ่นสารกำจัดวัชพืช pyrazosulfuron-ethyl และ bensulfuron-methyl อัตรา 6 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ (ตามคำแนะนำข้างฉลากสาร) เมื่อกกขนากมีจำนวนใบ 3–5 ใบ โดยใช้เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง หัวพ่นแบบรูปพัด อัตราน้ำ 80 ลิตรต่อไร่ วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ โดยมีกรรมวิธีเป็นการพ่นสารกำจัดวัชพืชดังกล่าวเปรียบเทียบกับไม่พ่นสารกำจัดวัชพืช หลังพ่นสารทำการนับจำนวนต้นวัชพืชที่รอดตาย ที่ระยะ 21 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช โดยเปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่พ่นสารกำจัดวัชพืช และนำค่าที่ได้คำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การรอดตายของวัชพืช โดยเปรียบเทียบกับจำนวนต้นของประชากรเดียวกันที่ไม่พ่นสาร โดยแบ่งระดับความต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืชเป็น 3 ระดับ ตามแบบ (Llewellyn and Powle, 2001) ดังนี้

เปอร์เซ็นต์การรอดตาย	ระดับความต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช
0	ประชากรอ่อนแอ (Susceptible population)
1-20	ประชากรที่กำลังพัฒนาความต้านทาน (Developing resistance population)
มากกว่า 20	ประชากรต้านทาน (Resistant population)

เวลาและสถานที่

ทำการทดลอง ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 – กันยายน 2565 ณ เรือนทดลอง กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ และแปลงนาข้าวของเกษตรกรในพื้นที่ที่พบความต้านทาน ในเขตภาคตะวันตก ภาคกลาง และภาคตะวันออก

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การสำรวจและเก็บตัวอย่างเมล็ดกกขนากในพื้นที่ปลูกข้าวนาหว่านน้ำตม

ดำเนินการเก็บเมล็ดกกขนากได้จำนวน 100 ประชากร ในพื้นที่ปลูกข้าวนาหว่านน้ำตมเขตภาคตะวันตก ได้แก่ จังหวัดกาญจนบุรี เพชรบุรี และราชบุรี ภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดชัยนาท นครนายก นครปฐม ปทุมธานี พระนครศรีอยุธยา สุพรรณบุรี และอ่างทอง และภาคตะวันออก ได้แก่ จังหวัดปราจีนบุรี (Table 1-6 และ Figure 1)

การทดสอบความต้านทานของกกขนากต่อสารกำจัดวัชพืช pyrazosulfuron-ethyl และ bensulfuron-methyl

ผลการทดลอง พบว่าประชากรกกขนากในเขตภาคกลาง (Table 7-10) ได้แก่ จังหวัดชัยนาท นครนายก นครปฐม ปทุมธานี พระนครศรีอยุธยา สุพรรณบุรี และอ่างทอง มีความต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช pyrazosulfuron-ethyl และ bensulfuron-methyl โดยมีเปอร์เซ็นต์การรอดตายมากกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้นประชากรกกขนากในจังหวัดชัยนาท เป็นประชากรกกขนากกำลังพัฒนาความต้านทาน (Developing resistant population) โดยส่วนใหญ่ประชากรกกขนากในเขตภาคกลางมีเปอร์เซ็นต์รอดตายสูงมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ และพบว่ามีประชากรกกขนากมีเปอร์เซ็นต์รอดตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่

1. ตำบลหนองงูเหลือม	อำเภอเมืองนครปฐม	จังหวัดนครปฐม
2. ตำบลหนองกระทุ่ม	อำเภอกำแพงแสน	จังหวัดนครปฐม
3. ตำบลบ้านกร่าง	อำเภอศรีประจันต์	จังหวัดสุพรรณบุรี
4. ตำบลวังลึก	อำเภอสามชุก	จังหวัดสุพรรณบุรี
5. ตำบลหนองหญ้าไซ	อำเภอหนองหญ้าไซ	จังหวัดสุพรรณบุรี
6. ตำบลดอนเจดีย์	อำเภอดอนเจดีย์	จังหวัดสุพรรณบุรี

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ พนักงานราชการ ลูกจ้างประจำ และพนักงานจ้างเหมา ของกลุ่มวิจัยวัชพืช ที่ช่วยให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ประชากรกกขนากในเขตภาคกลาง ส่วนใหญ่มีความต้านทานสารกำจัดวัชพืช pyrazosulfuron-ethyl และ bensulfuron-methyl ส่วนประชากรกกขนากในเขตภาคตะวันตกและภาคตะวันออกอยู่ในขั้นตอนของการศึกษาในปีถัดไป

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2561. *สรุปสาระสำคัญโครงการตามนโยบายสำคัญ (Agenda) 15 โครงการ*. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : https://www.moac.go.th/dwl-files-401291791023. (2 ธันวาคม 2565).

กลุ่มวิจัยวัชพืช. 2555. *คำแนะนำการควบคุมวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืช ปี 2554*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. 149 หน้า.

จรรยา มณีโชติ วนิดา ธารถวิล สุพัตรา ชาวกงจักร ยุรวรรณ อนันตนมณี และสิริชัย สาธุวิจารณ์. 2554. สถานการณ์การระบาดและการจัดการวัชพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืชไกลโฟเสท. หน้า 954-958. *ใน* : *รายงานผลงานประจำปี 2554*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

ประสาน วงศาโรจน์. 2540. *การจัดการวัชพืชในนาข้าว*. กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สำนักเลขาธิการสภาผู้แทนราษฎร. 2561. *เกษตรแปลงใหญ่*. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : https://library2.parliament.go.th/ebook /content-issue/2561/hi2561-064.pdf. (2 ธันวาคม 2565).

International Rice Research Institute. 2019. *Rice knowledge bank*. (Online). Available. Available. http://www.knowledgebank.irri.org/training/fact-sheets/item/spheno clea-zeylanica (December 2, 2022).

Table 1 Small-Flower Umbrella Sedge (*Cyperus difformis* L.) location: sub-district, district, province and geographic position

Number	Geographic Position		Location		
	Latitude	Longitude	Sub-district	District	Province
1	14.924190	100.039730	Ban Chian	Hankha	Chai Nat
2	15.038553	100.213450	Thiang Thae	Sankhaburi	Chai Nat
3	15.246374	100.179827	U-Tapao	Manorom	Chai Nat
4	14.240633	101.084651	Phikun Ok	Ban Na	Nakhon Nayok
5	13.957796	101.387891	Phikun Ok	Ban Na	Nakhon Nayok
6	13.814519	100.037283	Lam Phaya	Mueang Nakhon Pathom	Nakhon Pathom
7	13.928196	99.945983	Nong Ngu Lueam	Mueang Nakhon Pathom	Nakhon Pathom
8	14.041923	100.080449	Phai Hu Chang	Bang Len	Nakhon Pathom
9	14.013449	100.197684	Bang Len	Bang Len	Nakhon Pathom
10	14.018772	100.220212	Bang Phasi	Bang Len	Nakhon Pathom
11	13.948521	100.203607	Lam Phaya	Bang Len	Nakhon Pathom
12	13.967307	100.186959	Khlong Nok Krathung	Bang Len	Nakhon Pathom
13	13.979013	100.119618	Don Tum	Bang Len	Nakhon Pathom
14	14.028270	99.847896	Nong Krathum	Kamphaeng Saen	Nakhon Pathom
15	13.891509	100.171376	Wat Lamut	Nakhon Chai Si	Nakhon Pathom
16	14.250002	100.844090	Bueng Ka Sam	Nong Suea	Pathum Thani
17	14.169129	100.844574	Bueng Ka Sam	Nong Suea	Pathum Thani

Table 1 Small-Flower Umbrella Sedge (*Cyperus difformis* L.) location: sub-district, district, province and geographic position (continue)

Number	Geographic Position		Location		
	Latitude	Longitude	Sub-district	District	Province
18	14.204345	100.809581	Bueng Ka Sam	Nong Suea	Pathum Thani
19	14.248875	100.846784	Noppharat	Nong Suea	Pathum Thani
20	14.162195	100.848399	Noppharat	Nong Suea	Pathum Thani
21	14.135577	100.844007	Bueng Ba	Nong Suea	Pathum Thani
22	14.135057	100.844502	Bueng Ba	Nong Suea	Pathum Thani
23	14.097468	100.525118	Khlong Khwai	Sam Khok	Pathum Thani
24	14.080227	100.502483	Khlong Khwai	Sam Khok	Pathum Thani
25	14.070860	100.489909	Bang Toei	Sam Khok	Pathum Thani
26	14.065430	100.478825	Khu Bang Luang	Lat Lum Kaeo	Pathum Thani
27	14.033203	100.451941	Khu Bang Luang	Lat Lum Kaeo	Pathum Thani
28	14.002077	100.450994	Khlong Phra Udom	Lat Lum Kaeo	Pathum Thani
29	14.329690	100.720119	Nong Nam Som	Uthai	Phra Nakhon Si Ayutthaya
30	14.251701	100.761484	Chamaep	Wang Noi	Phra Nakhon Si Ayutthaya
31	14.246071	100.749866	Chamaep	Wang Noi	Phra Nakhon Si Ayutthaya
32	14.288643	100.817080	Sanap Thuep	Wang Noi	Phra Nakhon Si Ayutthaya
33	14.226167	100.705152	Lam Sai	Wang Noi	Phra Nakhon Si Ayutthaya
34	14.169127	100.597816	Chiang Rak Noi	Bang Pa-in	Phra Nakhon Si Ayutthaya

Table 1 Small-Flower Umbrella Sedge (*Cyperus difformis* L.) location: sub-district, district, province and geographic position (continue)

Number	Geographic Position		Location		
	Latitude	Longitude	Sub-district	District	Province
35	14.164197	100.581251	Chiang Rak Noi	Bang Pa-in	Phra Nakhon Si Ayutthaya
36	14.133982	100.539829	Pho Taeng	Bang Sai	Phra Nakhon Si Ayutthaya
37	14.593940	100.117064	Bang Ngam	Si Prachan	Suphan Buri
38	14.637920	100.140845	Ban Krang	Si Prachan	Suphan Buri
39	14.601137	100.143990	Ban Krang	Si Prachan	Suphan Buri
40	14.778888	99.98710	Nong Sadao	Sam Chuk	Suphan Buri
41	14.766701	100.198006	Wang Luek	Sam Chuk	Suphan Buri
42	14.454294	100.047718	Don Pho Thong	Mueang Suphanburi	Suphan Buri
43	14.408458	99.964143	Sala Khao	Mueang Suphanburi	Suphan Buri
44	14.763066	99.968276	Nong Ya Sai	Nong Ya Sai	Suphan Buri
45	14.607823	100.055323	Don Chedi	Don Chedi	Suphan Buri
46	14.949827	100.060462	Paknam	Doem Bang Nang Buat	Suphan Buri
47	14.888257	100.087712	Doem Bang	Doem Bang Nang Buat	Suphan Buri
48	14.318682	99.895343	Yung Thalai	U Thong	Suphan Buri
49	14.334432	99.864403	Chorakhe Sam Phan	U Thong	Suphan Buri
50	14.388534	99.915312	Nong Ong	U Thong	Suphan Buri
51	14.394115	99.944454	Chedi	U Thong	Suphan Buri

Table 1 Small-Flower Umbrella Sedge (*Cyperus difformis* L.) location: sub-district, district, province and geographic position (continue)

Number	Geographic Position		Location		
	Latitude	Longitude	Sub-district	District	Province
52	14.471187	99.934968	Don Kha	U Thong	Suphan Buri
53	14.515362	99.913688	Phlapphla Chai	U Thong	Suphan Buri
54	14.683926	100.226670	Ram Masak	Pho Thong	Ang Thong
55	14.746875	100.316247	Sawangha	Sawangha	Ang Thong
56	13.945705	99.633024	Muang Chum	Tha Muang	Kanchanaburi
57	14.134718	99.700801	Phanom Thuan	Phanom Thuan	Kanchanaburi
58	14.175576	99.737845	Phang Tru	Phanom Thuan	Kanchanaburi
59	13.093556	99.920701	Rai Som	Mueang Phetchaburi	Phetchaburi
60	13.093635	99.995571	Chong Sakae	Mueang Phetchaburi	Phetchaburi
61	13.088709	100.007083	Chong Sakae	Mueang Phetchaburi	Phetchaburi
62	13.053423	99.989142	Pho Rai Wan	Mueang Phetchaburi	Phetchaburi
63	13.034880	100.007776	Nong Phlap	Mueang Phetchaburi	Phetchaburi
64	13.030401	100.009313	Nong Phlap	Mueang Phetchaburi	Phetchaburi
65	13.012823	100.001730	Nong Khanan	Mueang Phetchaburi	Phetchaburi
66	13.135905	99.859632	Ton Maphrao	Mueang Phetchaburi	Phetchaburi
67	13.072988	99.915951	Ban Hat	Ban Lat	Phetchaburi
68	13.049583	99.935603	Tha Sen	Ban Lat	Phetchaburi

Table 1 Small-Flower Umbrella Sedge (*Cyperus difformis* L.) location: sub-district, district, province and geographic position (continue)

Number	Geographic Position		Location		
	Latitude	Longitude	Sub-district	District	Province
69	13.056453	99.892763	Tha Chang	Ban Lat	Phetchaburi
70	12.986369	99.951815	Nong Krachet	Ban Lat	Phetchaburi
71	12.986406	99.951455	Nong Krachet	Ban Lat	Phetchaburi
72	12.980504	99.926644	Tha Yang	Tha Yang	Phetchaburi
73	12.934458	99.898951	Tha Yang	Tha Yang	Phetchaburi
74	12.928966	99.893687	Tha Yang	Tha Yang	Phetchaburi
75	12.957799	99.891996	Tha Koi	Tha Yang	Phetchaburi
76	12.952325	99.882330	Tha Koi	Tha Yang	Phetchaburi
77	12.914841	99.869250	Tha Koi	Tha Yang	Phetchaburi
78	13.325941	99.828712	Huai Rong	Khao Yoi	Phetchaburi
79	13.280089	99.820450	Bang Khem	Khao Yoi	Phetchaburi
80	13.267727	99.821595	Sa Phang	Khao Yoi	Phetchaburi
81	13.234831	99.823413	Khao Yoi	Khao Yoi	Phetchaburi
82	13.193556	99.831976	Thap Khang	Khao Yoi	Phetchaburi
83	13.162020	99.844331	Nong Prong	Khao Yoi	Phetchaburi
84	13.685964	99.768919	Nang Kaeo	Photharam	Ratchaburi
85	13.682131	99.771709	Nang Kaeo	Photharam	Ratchaburi
86	13.681645	99.776673	Nang Kaeo	Photharam	Ratchaburi

Table 1 Small-Flower Umbrella Sedge (*Cyperus difformis* L.) location: sub-district, district, province and geographic position (continue)

Number	Geographic Position		Location		
	Latitude	Longitude	Sub-district	District	Province
87	13.676732	99.780614	Nang Kaeo	Photharam	Ratchaburi
88	13.341280	99.844756	Wang Manao	Pak Tho	Ratchaburi
89	13.340660	99.836632	Wang Manao	Pak Tho	Ratchaburi
90	13.342723	99.859489	Wang Manao	Pak Tho	Ratchaburi
91	13.935187	101.371648	Phai Cha Lueat	Si Mahosot	Prachin Buri
92	13.982265	101.468984	Bang Kung	Si Maha Phot	Prachin Buri
93	14.013212	101.455947	Bang Boribun	Mueang Prachinburi	Prachin Buri
94	14.028205	101.465283	Prachan Takham	Prachan Takham	Prachin Buri
95	14.032773	101.750102	Na Khaem	Kabin Buri	Prachin Buri
96	14.095367	101.754196	Samphan Ta	Na Di	Prachin Buri
97	13.899926	101.167826	Bang Taen	Ban Sang	Prachin Buri
98	13.916559	101.185493	Bang Taen	Ban Sang	Prachin Buri
99	13.971845	101.222891	Bang Krabao	Ban Sang	Prachin Buri
100	13.993774	101.192263	Bang Krabao	Ban Sang	Prachin Buri

Table 2 Percentage of survival of Small-Flower Umbrella Sedge (*Cyperus difformis* L.) from tasting pyrazosulfuron-ethyl and bensulfuron-methyl resistance

Number	Sub-district	District	Province	Percentage of survival (%)	
				pyrazosulfuron-ethyl	bensulfuron-methyl
1	Ban Chian	Hankha	Chai Nat	15	10
2	Thiang Thae	Sankhaburi	Chai Nat	5	16
3	U-Tapao	Manorom	Chai Nat	13	7
4	Phikun Ok	Ban Na	Nakhon Nayok	72	90
5	Phikun Ok	Ban Na	Nakhon Nayok	80	73
6	Lam Phaya	Mueang Nakhon Pathom	Nakhon Pathom	84	79
7	Nong Ngu Lueam	Mueang Nakhon Pathom	Nakhon Pathom	100	100
8	Phai Hu Chang	Bang Len	Nakhon Pathom	63	73
9	Bang Len	Bang Len	Nakhon Pathom	92	97
10	Bang Phasi	Bang Len	Nakhon Pathom	59	62
11	Lam Phaya	Bang Len	Nakhon Pathom	73	84
12	Khlong Nok Krathung	Bang Len	Nakhon Pathom	84	95
13	Don Tum	Bang Len	Nakhon Pathom	90	85
14	Nong Krathum	Kamphaeng Saen	Nakhon Pathom	100	100
15	Wat Lamut	Nakhon Chai Si	Nakhon Pathom	62	79
16	Bueng Ka Sam	Nong Suea	Pathum Thani	85	93

Table 2 Percentage of survival of Small-Flower Umbrella Sedge (*Cyperus difformis* L.) from tasting pyrazosulfuron-ethyl and bensulfuron-methyl resistance(continue)

Number	Sub-district	District	Province	Percentage of survival (%)	
				pyrazosulfuron-ethyl	bensulfuron-methyl
17	Bueng Ka Sam	Nong Suea	Pathum Thani	78	69
18	Bueng Ka Sam	Nong Suea	Pathum Thani	60	73
19	Noppharat	Nong Suea	Pathum Thani	48	59
20	Noppharat	Nong Suea	Pathum Thani	44	51
21	Bueng Ba	Nong Suea	Pathum Thani	52	48
22	Bueng Ba	Nong Suea	Pathum Thani	59	64
23	Khlong Khwai	Sam Khok	Pathum Thani	30	41
24	Khlong Khwai	Sam Khok	Pathum Thani	41	39
25	Bang Toei	Sam Khok	Pathum Thani	38	52
26	Khu Bang Luang	Lat Lum Kaeo	Pathum Thani	29	36
27	Khu Bang Luang	Lat Lum Kaeo	Pathum Thani	31	28
28	Khlong Phra Udom	Lat Lum Kaeo	Pathum Thani	62	73
29	Nong Nam Som	Uthai	Phra Nakhon Si Ayutthaya	90	86
30	Chamaep	Wang Noi	Phra Nakhon Si Ayutthaya	85	73
31	Chamaep	Wang Noi	Phra Nakhon Si Ayutthaya	95	82
32	Sanap Thuep	Wang Noi	Phra Nakhon Si Ayutthaya	39	27

Table 2 Percentage of survival of Small-Flower Umbrella Sedge (*Cyperus difformis* L.) from tasting pyrazosulfuron-ethyl and bensulfuron-methyl resistance(continue)

Number	Sub-district	District	Province	Percentage of survival (%)	
				pyrazosulfuron-ethyl	bensulfuron-methyl
33	Lam Sai	Wang Noi	Phra Nakhon Si Ayutthaya	37	42
34	Chiang Rak Noi	Bang Pa-in	Phra Nakhon Si Ayutthaya	29	38
35	Chiang Rak Noi	Bang Pa-in	Phra Nakhon Si Ayutthaya	74	62
36	Pho Taeng	Bang Sai	Phra Nakhon Si Ayutthaya	89	60
37	Bang Ngam	Si Prachan	Suphan Buri	82	94
38	Ban Krang	Si Prachan	Suphan Buri	100	100
39	Ban Krang	Si Prachan	Suphan Buri	100	100
40	Nong Sadao	Sam Chuk	Suphan Buri	98	88
41	Wang Luek	Sam Chuk	Suphan Buri	100	100
42	Don Pho Thong	Mueang Suphanburi	Suphan Buri	94	79
43	Sala Khao	Mueang Suphanburi	Suphan Buri	86	65
44	Nong Ya Sai	Nong Ya Sai	Suphan Buri	100	100
45	Don Chedi	Don Chedi	Suphan Buri	100	100
46	Paknam	Doem Bang Nang Buat	Suphan Buri	59	48
47	Doem Bang	Doem Bang Nang Buat	Suphan Buri	47	25
48	Yung Thalai	U Thong	Suphan Buri	38	41

Table 2 Percentage of survival of Small-Flower Umbrella Sedge (*Cyperus difformis* L.) from tasting pyrazosulfuron-ethyl and bensulfuron-methyl resistance(continue)

Number	Sub-district	District	Province	Percentage of survival (%)	
				pyrazosulfuron-ethyl	bensulfuron-methyl
49	Chorakhe Sam Phan	U Thong	Suphan Buri	58	43
50	Nong Ong	U Thong	Suphan Buri	26	36
51	Chedi	U Thong	Suphan Buri	31	47
52	Don Kha	U Thong	Suphan Buri	42	39
53	Phlapphla Chai	U Thong	Suphan Buri	69	58
54	Ram Masak	Pho Thong	Ang Thong	25	32
55	Sawangha	Sawangha	Ang Thong	36	46

Figure 1 Survey sites of weed in Small-Flower Umbrella Sedge (*Cyperus difformis* L.)

อนุกรมวิธานด้วงที่พบในธัญพืชนำเข้าส่งออก

Taxonomy of beetles found in import-export cereals

อิทธิพล บรรณาการ[1/] กรรณิการ์ เพ็งคุ้ม[2/] สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์[1/]

[1/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร

Progress report

Taxonomy of beetles found in import-export cereals was studied by surveying and collecting in Plant Quarantine station in Bangkok and cereal processing factories in the Northern part, the North eastern part and the Middle part of Thailand during October 2021 and September 2022. Beetles were taken to Entomology and Zoology Group, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture for detecting by study the taxonomy and morphology including compared with the specimens of beetles in DOA Insect Museum. The result from detecting beetles found in import-export cereals, 110 were found to represent beetles in 6 genera 6 species: Lesser rice weevil; *Sitophilus oryzae*, Foreign grain beetle; *Ahasverus advena*, Saw-toothed grain beetle; *Oryzaephilus surinamensis*, Rusty grain beetle; *Cryptolestes ferrugineus*, Lesser meal worm; *Alphitobius diaperinus* and Red flour beetle; *Tribolium castaneum*. Key and photographic taxonomic characters of 6 species were provided. The results were contributed to be Insect Museum Databases for exported and imported agricultural goods considering and application of management strategies.

Keywords : Stored Product Beetle Import-Export cereals Taxonomy

---

รหัสการทดลอง FF65-20-01-65-01-01-65

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาอนุกรมวิธานด้วงที่พบในธัญพืชนำเข้าส่งออกจากด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพและโรงงานแปรรูปธัญพืชในกรุงเทพมหานคร ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 ถึงเดือนกันยายน 2565 นำตัวอย่างด้วงที่รวบรวมได้มาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพื่อตรวจจำแนกชนิด ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช สามารถเก็บรวบรวมด้วงที่พบในธัญพืชได้ 110 ตัวอย่างและสามารถจำแนกชนิดได้ 6 ชนิด ซึ่ง ได้แก่ ด้วงงวงข้าว *Sitophilus oryzae* ด้วงเมล็ดพืชต่างประเทศ *Ahasverus advena* มอดฟันเลื่อย *Oryzaephilus surinamensis* มอดหนวดยาว *Cryptolestes ferrugineus* ด้วงดำ *Alphitobius diaperinus* มอดแป้ง *Tribolium castaneum* ทำให้ทราบถึงชนิด พืชอาหาร ลักษณะการทำลาย เขตการแพร่กระจาย จัดทำแนวทางการวินิจฉัยชนิดและถ่ายภาพลักษณะสำคัญทางอนุกรมวิธานของด้วงที่พบในธัญพืชทั้ง 6 ชนิด นำตัวอย่างด้วงจัดเก็บในพิพิธภัณฑ์แมลงพร้อมนำข้อมูลที่รวบรวมได้จัดทำฐานข้อมูลพิพิธภัณฑ์แมลงกรมวิชาการเกษตร สำหรับใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานประกอบการจัดทำรายชื่อชนิดแมลงศัตรูพืชรองรับปัญหาด้านการนำเข้าและส่งออกสินค้าเกษตร

คำหลัก : ด้วงที่พบในธัญพืช ธัญพืช อนุกรมวิธาน

คำนำ

แมลงในกลุ่มด้วงที่พบในธัญพืชเป็นแมลงที่มีความสำคัญและพบมากในโรงงานแปรรูปต่างๆ มีความหลากชนิดและมีลำตัวขนาดเล็ก สามารถแพร่ขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็วในระยะเวลาสั้นๆ ทำให้เกิดปัญหาต่อผลผลิตทั้งทางตรงและทางอ้อม กล่าวคือทำให้ผลผลิตเสียหายโดยตรงในเรื่องของคุณภาพ ปริมาณ และน้ำหนัก นอกจากนี้หากมีแมลงกลุ่มนี้ติดไปกับสินค้าส่งออกนั้น จะทำให้ประเทศผู้ส่งออกถูกลดความเชื่อมั่นในเรื่องกระบวนการผลิตสินค้าให้มีความสะอาดปลอดภัย และอาจถูกแจ้งเตือนจนถึงขั้นระงับการนำเข้าสินค้าจากประเทศต้นทางเนื่องจากมีการตรวจพบชนิดของแมลงศัตรูที่เป็นแมลงศัตรูกักกัน ปัจจุบันปัญหาการตรวจพบแมลงในกลุ่มด้วงในสินค้านำเข้าและส่งออกที่สำคัญ เช่น ข้าว เมล็ดธัญพืช ผลิตภัณฑ์แปรรูปต่างๆ ถือเป็นปัญหาหลักของการผลิตสินค้าให้มีมาตรฐานตามหลักสุขอนามัยพืช จึงมีความจำเป็นต้องดำเนินการศึกษาและจัดทำแนวทางการตรวจวินิจฉัยชนิดของแมลงในกลุ่มนี้เพื่อทำให้ทราบถึงชนิดพืชอาหาร ลักษณะการทำลาย รวมถึงชนิดของแมลงในกลุ่มด้วงที่เป็นแมลงศัตรูกักกันที่สำคัญ ทั้งนี้สามารถนำผลที่ได้จากการศึกษาเป็นข้อมูลแมลงในกลุ่มด้วงที่พบในธัญพืชที่สำคัญของประเทศไทย และสามารถใช้ผลการศึกษานี้ในการตรวจวินิจฉัยชนิดแมลงที่ติดมากับสินค้านำเข้า ณ ด่านตรวจพืชที่เป็นจุดนำเข้าสินค้าที่สำคัญของประเทศไทย เพื่อตรวจจำแนกชนิดแมลงศัตรูกักกันที่อาจติดมากับสินค้านำเข้าช่วยให้ประเทศไทยปลอดจากแมลงศัตรูต่างถิ่นที่สำคัญที่อาจติดมากับสินค้าเกษตรนำเข้าในอนาคต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

ตัวอย่างด้วงที่พบในธัญพืชที่รวบรวมได้จากโรงงานแปรรูปผลิตภัณฑ์ธัญพืช โรงสีข้าว ด่านตรวจพืช อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ ปากคีบ พู่กัน ขวดดอง กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก ถังรักษาความเย็น แอลกอฮอล์ 70% อุปกรณ์ที่ใช้จัดรูปร่างแมลง ได้แก่ เข็มไร้สนิม เข็มหมุดหัวกลม ไม้จัดรูปร่างแมลง โหลชื้น ตู้อบแมลง กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope ที่ติด camera lucida เป็นอุปกรณ์เสริมช่วยในการวาดภาพแมลงที่พบ กล้องถ่ายภาพ อุปกรณ์วาดภาพ ได้แก่ ปากกา rotring และกระดาษไขเขียนแบบ เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของด้วงที่พบในธัญพืช

วิธีการ

การศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธาน

ศึกษา สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงในกลุ่มด้วงที่พบในธัญพืชด้วยวิธีการดังนี้

- ดำเนินการติดต่อประสานงานกับโรงงานแปรรูปผลิตภัณฑ์ธัญพืช โรงสีข้าวขนาดเล็กและขนาดใหญ่ในทุกภูมิภาคของประเทศไทย เพื่อสอบถามข้อมูล ปัญหา และขอความอนุเคราะห์เก็บตัวอย่างแมลงเพื่อดำเนินการศึกษาชนิดของแมลงที่สำรวจพบ
- เก็บรวบรวมจากด่านตรวจพืชที่ส่งตัวอย่างแมลงมาจำแนกชนิด เช่น ด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ ด่านตรวจพืชท่าเรือแหลมฉบัง ด่านตรวจพืชลาดกระบัง เป็นต้น
- เก็บรวบรวมจากบริษัทเอกชนที่ส่งตัวอย่างแมลงมาจำแนกชนิด
- ศึกษาเปรียบเทียบตัวอย่างชนิดแมลงศัตรูในโรงเก็บของกองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร ที่ได้ดำเนินการเลี้ยงขยายพันธุ์เพื่อดำเนินการทดลองวิทยาการป้องกันกำจัดหลังการเก็บเกี่ยว

เก็บตัวอย่างโดยเก็บตัวเต็มวัยในหลอดบรรจุแอลกอฮอล์ 70% หรือในขวดฆ่าที่บรรจุสารเอทิลอะซิเตท หลังจากด้วงตายให้เก็บตัวเต็มวัยในกระดาษรูปสามเหลี่ยมโดยห่อแบบท๊อฟฟี่ บันทึกรายละเอียดต่างๆ เช่น รูปร่าง ลักษณะ ขนาด สี พืชอาศัย วันเดือนปี ชื่อผู้เก็บ สภาพแวดล้อม อุณหภูมิ และพิกัดทางภูมิศาสตร์ (GPS) เป็นต้น จากนั้นนำแมลงที่รวบรวมได้มาดำเนินการจัดรูปร่างอบแห้ง และศึกษาชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานด้วยการใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยชนิดของแมลงในกลุ่มด้วงที่พบในธัญพืช ประกอบการเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์ บันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยการถ่ายภาพใต้กล้องจุลทรรศน์ รวมถึงให้รายละเอียดบนแผ่นป้ายบันทึกของตัวเต็มวัย ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ที่จำแนกได้ วัน/เดือน/ปี สถานที่เก็บตัวอย่าง และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง จัดทำแนวทางวินิจฉัย (key) สกุล และชนิดของแมลงในกลุ่มด้วงที่พบในธัญพืชที่รวบรวมได้พร้อมภาพประกอบ จัดเก็บตัวอย่างที่ได้ศึกษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากลของการเก็บรักษาตัวอย่างแมลง

การบันทึกข้อมูล

พืชอาหาร สถานที่ พิกัดทางภูมิศาสตร์ (GPS) วันเดือนปีที่เก็บตัวอย่าง

เวลาและสถานที่

เดือน ตุลาคม 2564 ถึง เดือน กันยายน 2565

1. ด่านตรวจพืชท่าเรือแหลมฉบัง ด่านตรวจพืชแหลมฉบัง

2. โรงงานแปรรูปธัญพืช โรงสีข้าวขนาดเล็กและขนาดใหญ่ในจังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ พะเยา อุดรธานี ร้อยเอ็ด อุบลราชธานี ฉะเชิงเทรา ชลบุรี ระยอง กาญจนบุรี ราชบุรี นครศรีธรรมราช สงขลา

3. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง ห้องปฏิบัติการกลาง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างด้วงที่พบในธัญพืชจากด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ และโรงงานแปรรูปธัญพืชในกรุงเทพมหานคร นำตัวอย่างที่รวบรวมได้มาศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานเพื่อตรวจจำแนกชนิด โดยใช้แนวทางการวินิจฉัยซึ่งปรับปรุงมาจาก Haines (1991) และ Rees (2004) ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช โดยสามารถเก็บรวบรวมตัวอย่างได้ 110 ตัวอย่าง และสามารถจำแนกชนิดด้วงที่พบในธัญพืชได้ 6 ชนิด ได้แก่ ด้วงงวงข้าว *Sitophilus oryzae* พบในข้าวสาลีนำเข้าจากประเทศออสเตรเลีย ด้วงเมล็ดพืชต่างประเทศ *Ahasverus advena* พบในถั่วลิสงนำเข้าจากประเทศอินเดีย มอดฟันเลื่อย *Oryzaephilus surinamensis* พบในข้าว มอดหนวดยาว *Cryptolestes ferrugineus* ด้วงดำ *Alphitobius diaperinus* พบในกากถั่วเหลือง มอดแป้ง *Tribolium castaneum* พบในข้าวสาลีนำเข้าจากประเทศออสเตรเลีย โดยมีแนวทางการวินิจฉัยชนิดและลักษณะทางอนุกรมวิธานดังนี้

แนวทางการวินิจฉัยชนิดของด้วงที่พบในธัญพืช

1 - Head of beetle with obvious snout, and elbowed antennae, colour dark to black in mature specimens, each elytra marked with two dull orange or yellow spots, flight wings present, pronotum marked with circular-shaped puncture, outer surface of aedeagus of male smooth and convex in cross-section..... .....***Sitophilus oryzae*** **(Linnaeus)**

- Head without obvious snout.....**2**

2 - Sides of pronotum adorned with teeth-like structures or tooth like structure at each front angle.....**3**

- Sides margins of pronotum smooth and not adorned with teeth-like.....**4**

3 - Colour light brown, pronotum with somewhat curved sides, obvious tooth like structure at corners of thorax, sides of abdomen somewhat curved.....*Ahasverus advena* (Waltl)

- Colour dark brown to dark grey, the area of head behind the eye long, pronotum with six teeth-like structure on front, flattened and parallel sided, not hairy, length of temple.....*Oryzaephilus surinamensis* (Linnaeus)

4 - Pronotum with raised line parallel with each side, head and pronotum large taking up about half length of body, body parallel-sides and highly flattened, antennae hair-like long and unclubbed, up to length of body, The first strial interspace of the elytra has 4 rows of setae, which are evenly and equally spaced.....*Cryptolestes ferrugineus* (Stephens)

- Not as above.....**5**

5 **-** Oval shaped or broad, sides of elytra somewhat curved, when viewed from below outer edge of elytra gradually narrowed towards, head widest at eyes, eye when viewed from side is devided, minimum number of eye facets at narrowest point is 3 to 4.....*Alphitobius diaperinus* (Panzer)

- Parallel sided and narrow, sides of elytra straight, colour – reddish brown, punctures in centre of pronotum small, eyes divided across middle by side margin of head, when viewed from underneath gap between eye is relatively narrow, last three segments of antennae from distinctive club..*Tribolium castaneum* (Herbst)

ด้วงงวงข้าว *Sitophilus oryzae* (Linnaeus, 1763)

Calandra bituberculatus (F.), *Calandra frugilegus* (De Geer), *Calandra funebris* (Rey), *Calandra granarius* (Stroem), *Calandra oryxae* var. minor, *Calandra oryzae* Linnaeus, *Calandra sasakii* Tak, *Calendra oryzae* Linnaeus, *Curculio oryza* Linnaeus, *Curculio oryzae* Linnaeus, *Diocalandra oryzae* Linnaeus, *Sitophilus oryzae* var. minor, *Sitophilus sasakii* (Takahashi)

ลำตัว (Body) สีน้ำตาลแดง หรือสีดำ ขนาดประมาณ 2.0-3.0 มิลลิเมตร (Figure 1-A)

หัว (Head) ส่วนหัวกลมมีขนาดเล็กกว่าอกปล้องแรก ตารวมมีขนาดใหญ่ ส่วนปากมีลักษณะเป็นงวงยาว มีหนวด 8 ปล้องเป็นแบบหักศอก บริเวณหนวดปล้องสุดท้ายขยายใหญ่ผิวเรียบมีกลุ่มขนที่บริเวณปลายปล้องหนวด ปรากฏช่องเก็บหนวดยาวอยู่ตอนต้นของงวง (Fig. 1-B)

อก (Thorax) ส่วนอกปล้องแรกขอบด้านล่างจะมีความกว้างกว่าขอบอกบน ทำให้มองเห็นมีรูปร่างลักษณะคล้ายลูกแพร์ มีร่องหลุ่มกลมกระจัดกระจายอยู่ทั่วอกปล้องแรก

ท้อง (Abdomen) ด้านบนของปีกคู่หน้ามีร่องหลุมเรียงตัวตามเส้นปีกในแนวยาว และมีแต้มวงรีสีส้ม 4 จุดบนปีกคู่หน้า (Fig. 1-C) ลักษณะอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ของด้วงงวงข้าวจะมีความนูนด้านข้างและส่วนกลางมีลักษณะเรียบ (Fig. 1-D)

เพศผู้ เพศผู้มีขนาดลำตัวใกล้เคียงกับเพศเมียแต่มีความแตกต่างที่บริเวณงวงของเพศผู้จะสั้นและกว้างกว่าเพศเมียที่มีงวงยาวและแคบกว่า

ปัจจุบันด้วงงวงข้าว (Lesser rice weevil) และด้วงงวงข้าวโพด (Maize weevil) อยู่ในวงศ์ Dryophtoridae มีลักษณะภายนอกที่คล้ายคลึงกันมากจนไม่สามารถดำเนินการจำแนกชนิดจากลักษณะสัณฐานวิทยาได้ แต่อย่างไรก็ตามสามารถจำแนกชนิดได้โดยการผ่าอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ในการจำแนกชนิดซึ่งลักษณะอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ของด้วงงวงข้าวจะมีความนูนด้านข้างและส่วนกลางมีลักษณะเรียบ ในขณะที่อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ของด้วงงวงข้าวโพดจะมีเส้นนูนบริเวณส่วนกลาง

ความสำคัญ ด้วงงวงข้าวและด้วงงวงข้าวโพดสามารถเจริญเติบโตได้ในหลายผลิตภัณฑ์ที่ทำจากธัญพืช เช่น พาสต้า แต่อย่างไรก็ตามความชอบของด้วงทั้งสองชนิดนี้จะมีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน กล่าวคือ ด้วงงวงข้าวจะพบมากในข้าวสาลี ในขณะที่ด้วงงวงข้าวโพดจะพบมากในข้าวโพด

พืชอาหาร ข้าวสาลี ข้าวโพด ข้าวโอ๊ต ข้าวบาร์เล่ย์ และผลผลิตธัญพืชที่เต็มเมล็ด

เขตการแพร่กระจาย พบได้ทั่วโลกโดยเฉพาะเขตอบอุ่น

ด้วงเมล็ดพืชต่างประเทศ *Ahasverus advena* (Waltl, 1832)

Cathartus advena Waltl, 1832, *Cryptophagus advena*, *Silvanus advena* Waltl

ลำตัว สีน้ำตาลอ่อน ขนาดประมาณ 2.0-2.5 มิลลิเมตร (Fig. 2-A)

หัว ส่วนหัวมีขนาดเล็กกว่าอกปล้องแรก ตารวมมีขนาดใหญ่ มีหนวด 11 ปล้อง หนวด 3 ปล้องสุดท้ายขยายขนาดใหญ่ และมีเส้นขนปกคลุมส่วนหนวดจำนวนมาก

อก ส่วนอกปล้องแรกมีเส้นขนปกคลุม ด้านข้างของอกปล้องแรกโค้งนูน และมีลักษณะคล้ายฟันยื่นออกมาจากมุมบนของอกปล้องแรก (Fig. 2-B)

ท้อง ด้านบนของปีกคู่หน้ามีร่องหลุมขนาดเล็กเรียงตัวตามเส้นปีกในแนวยาว และมีเส้นขนขนาดเล็กปกคลุมส่วนทั่วปีก ขอบปีกคู่หน้าโค้งและไม่ขนานกับลำตัว

ด้วงเมล็ดพืชต่างประเทศ (Foreign grain beetle) อยู่ในวงศ์เดียวกับมอดฟันเลื่อย (Silvanidae) แต่มีความแตกต่างกันในเรื่องสีของลำตัวและขนาดลำตัวเนื่องจากมีส่วนหัวที่มีขนาดเล็กกว่าอกปล้องแรก มีลักษณะฟันเลื่อยที่บริเวณมุมบนและมุมล่างของอกปล้องแรก และขอบปีกมีความโค้ง ในขณะที่มอดฟันเลื่อยจะมีส่วนหัวใกล้เคียงกับอกปล้องแรก และมีฟัน 6 ซี่ที่บริเวณข้างอกปล้องแรก รวมถึงขอบปีกจะขนานกัน

ความสำคัญ ด้วงเมล็ดพืชต่างประเทศเป็นศัตรูพืชที่เข้าทำลายผลผลิตในโรงเก็บหลังจากที่เมล็ดมีการแตกหักจากการทำลายของแมลงชนิดอื่นรวมถึงเมล็ดพืชที่เกิดเชื้อรา สามารถพบแมลงชนิดนี้ได้ในโรงเก็บที่ไม่ได้ดำเนินการควบคุมความแห้งของเมล็ดพืชก่อนนำเมล็ดเข้ามาเก็บรักษาในโรงเก็บ ประชากรของด้วงชนิดนี้จะเพิ่มปริมาณได้ภายในโรงเก็บที่มีปัญหาเรื่องความชื้นและจะแพร่ขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็ว

พืชอาหาร เมล็ดธัญพืช เมล็ดพืชน้ำมัน เนื้อมะพร้าวแห้ง ถั่วลิสง ผลไม้แห้ง สมุนไพรแห้ง และเมล็ดโกโก้
เขตการแพร่กระจาย แพร่กระจายได้ทั่วโลกโดยเฉพาะในเขตอบอุ่นและเขตร้อน แต่ไม่มีรายงานชนิดในประเทศไทยโดยปัจจุบันสำรวจพบในสินค้านำเข้าเท่านั้น

มอดฟันเลื่อย *Oryzaephilus surinamensis* (Linnaeus, 1758)

Dermestes surinamensis Linnaeus, *Silvanus surinamensis* Linnaeus, *Sylvanus surinamensis* Linnaeus

ลำตัว สีน้ำตาลเข้ม ขนาดประมาณ 2.5-3.0 มิลลิเมตร (Fig. 3-A)

หัว ส่วนหัวมีความยาวมากกว่าความกว้างและมีขนาดใกล้เคียงกับอกปล้องแรก ตารวมมีขนาดใหญ่ มีหนวด 11 ปล้อง หนวด 3 ปล้องสุดท้ายขยายขนาดใหญ่ พื้นที่ด้านหลังตารวมมีขนาดใกล้เคียงกับตารวม (Fig. 3-B)

อก ส่วนของอกปล้องแรกมีขนาดใหญ่และมีเส้นขนปลกคลุม ด้านข้างของอกปล้องแรกมีลักษณะคล้ายฟันเลื่อยจำนวน 6 ซี่ และมีสันนูน 3 เส้นตามแนวยาวของอก (Fig. 3-B)

ท้อง มีเส้นขนปกคลุมทั่วปีกคู่หน้าและร่องหลุมขนาดเล็กเรียงตัวตามเส้นปีกในแนวยาว

มอดฟันเลื่อย มีชื่อสามัญว่า Saw-toothed grain beetle อยู่ในวงศ์ Silvanidae มีความคล้ายคลึงกับมอดฟันเลื่อยใหญ่ (Merchant grain beetle) *O. Mercator* โดยมีความแตกต่างกันตรงที่พื้นหลังตารวมของ *O. Mercator* จะมีขนาดเล็กกว่าตารวมอย่างเห็นได้ชัดและจะพบในผลิตภัณฑ์ที่ทำจากผลไม้แห้งและพืชน้ำมันมากกว่าผลิตภัณฑ์จากธัญพืช พรทิพย์และคณะ (2551)
ความสำคัญ มอดฟันเลื่อยเป็นแมลงที่จะเข้าทำลายเมล็ดธัญพืชที่แตกหัก หรือทำลายจากแมลงชนิดอื่น เป็นแมลงศัตรูสำคัญที่พบมากในข้าวสารและธัญพืชแปรรูปอื่นๆ เช่น พาสต้า มักกะโรนี เป็นต้น
พืชอาหาร ข้าวสาร ผลิตภัณฑ์แป้งแปรรูป
เขตการแพร่กระจาย แพร่กระจายได้ทั่วโลกโดยเฉพาะในเขตอบอุ่นและเขตร้อน

มอดหนวดยาว *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens, 1831)

Cryptolestes carinulatus (Wollaston, 1877), *Cryptolestes concolor* (Smith, 1851), *Cryptolestes emgei* (Reitter, 1887), *Cryptolestes obsoletus* (Smith, 1851), *Cryptolestes testaceus* (Paykull, 1800), *Cryptolestes monilicornis* (Stephens, 1831), *Cucujus ferrugineus* Stephens, 1831, *Cucujus monilicornis* Stephens, 1831, *Cucujus testaceus* Paykull, 1800, *Laemophloeus carinulatus* Wollaston, 1877, *Laemophloeus concolor* Smith, 1851, *Laemophloeus emgei* Reitter, 1887, *Laemophloeus obsoletus* Smith, 1851

ลำตัว สีน้ำตาล แบนและมีขนาดเล็กประมาณ 1.5-2.0 มิลลิเมตร (Fig. 4-A)

หัว ส่วนหัวมีความกว้างมากกว่าความยาวและเมื่อรวมกับส่วนอกจะมีความยาวประมาณครึ่งหนึ่งของลำตัว ตารวมมีขนาดใหญ่ มีหนวด 11 ปล้อง หนวด 3 ปล้องสุดท้ายมีขนาดใกล้เคียงกับ

ปล้องอื่นๆ (Fig. 4-B) หนวดมีความยาวประมาณความยาวของส่วนหัวและอกรวมกัน มีเส้นขนละเอียดปกคลุมทั้งส่วนหัวและหนวด ด้านบนของส่วนหัวใกล้ตารวมจะมีเส้นนูนตามแนวยาว (Fig. 4-C)

อก ส่วนอกปล้องแรกมีขนาดยาวกว่าส่วนหัวประมาณ 1.5 เท่า ด้านข้างของอกปล้องแรกโค้งนูนและจะมีเส้นนูนบนด้านข้างของขอบอกชัดเจน และมีเส้นขนละเอียดปกคลุมทั่วอกปล้องแรก

ท้อง มุมโคนปีกคู่หน้าด้านบนกลมมนและขอบปีกจะขนานกันเล็กน้อย บริเวณปลายปีกกลมมีเส้นขนละเอียดปกคลุมทั่วปีก เส้นขนระหว่างร่องปีกเรียงตัวกัน 4 เส้น และปลายเส้นขนยาวไม่ถึงโคนเส้นขนที่อยู่ถัดไป ต้นขาใหญ่ หน้าแข้งยาว (Fig. 4-D)

เพศผู้ เพศผู้จะมีกระเปาะขา 5-5-4 ในเพศเมียจะมีกระเปาะขา 5-5-5

มอดหนวดยาวมีชื่อสามัญว่า Rusty grain beetle จัดอยู่ในวงศ์ Laemophloeidae ปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาชนิดในประเทศไทยมากนักเนื่องจากเป็นแมลงที่มีลำตัวขนาดเล็กและมีความผันแปรในเรื่องลักษณะสัณฐานวิทยาค่อนข้างมาก แต่อย่างไรก็ตามชนิดมอดหนวดยาว *C. ferrugineus* จะมีความแตกต่างบริเวณปล้องหนวดแต่ละปล้องจะสั้นกว่าปล้องหนวดของมอดฟันเลื่อย *C. Pusillus* ที่จะมีขนาดปล้องหนวดแต่ละปล้องยาวกว่า

ความสำคัญ มอดหนวดยาวเป็นแมลงศัตรูสำคัญของธัญพืช ผลิตภัณฑ์จากธัญพืช พืชน้ำมัน และอาหารแห้งที่ผลิตจากพืช ในประเทศเขตร้อนจะพบการแพร่กระจายในถั่ว โกโก้ และมันสำปะหลัง เมื่อเข้าทำลายในผลิตภัณฑ์ธัญพืชมอดหนวดยาวจะผสมพันธุ์อย่างรวดเร็วบนเศษธัญพืชหรือเมล็ดพืชที่ถูกแมลงอื่นทำลายหรือผลผลิตที่มีคุณภาพต่ำ มอดหนวดยาวจะพบบ่อยในเมล็ดที่มีความร้อน ทั้งนี้เนื่องจากการที่มีลำตัวขนาดเล็ก ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยสามารถเข้าไปในบรรจุภัณฑ์ที่ฉีกขาดหรือมีรูขนาดเล็กได้อย่างง่ายดาย สามารถพบชนิด *C. ferrugineus* และ *C. pusillus* ได้ทั่วโลก

พืชอาหาร เมล็ดธัญพืช ผลิตภัณฑ์จากธัญพืช อัลมอนด์ เมล็ดพืชน้ำมัน ผลิตภัณฑ์แห้งจากพืช

เขตการแพร่กระจาย แพร่กระจายได้ทั่วโลกโดยเฉพาะในเขตอบอุ่นและเขตร้อน

ด้วงดำ *Alphitobius diaperinus* (Panzer, 1797)

Tenebrio diaperinus Panzer, 1797

ลำตัว สีดำหรือสีน้ำตาลเข้มเป็นมัน ลำตัวแบน มีขนาดเล็กประมาณ 5.0-7.0 มิลลิเมตร (Fig. 5-A)

หัว ส่วนหัวมีความกว้างมากกว่าความยาวและมีขนาดเล็กเมื่อเทียบกับอกปล้องแรก มีหนวด 11 ปล้อง หนวดแต่ละปล้องมีลักษณะหดสั้นและมีเส้นขนสีเหลืองปกคลุม ปลายหนวดมีสีอ่อนกว่าปล้องหนวดตอนต้น ส่วนหัวมีสันขอบด้านหน้า มีร่องหลุมขนาดเล็กกระจัดกระจายทั่วส่วนหัว และบริเวณตามีสันขอบด้านบนซึ่งบางส่วนตั้งอยู่บนพื้นที่ตารวม (Fig. 5-B)

อก ส่วนอกปล้องแรกมีความกว้างกว่าความยาว 2 เท่า ขอบบนของอกปล้องแรกเป็นมุมแหลมชี้ไปด้านหน้าและจะค่อยๆ ขยายโค้งขึ้นจนถึงขอบอกปล้องแรก ปลายขอบอกมีสันขอบด้านข้าง ร่องหลุมขนาดเล็กกระจายตัวอยู่ด้านข้างของอกปล้องแรกมากกว่าพื้นที่กลางอกปล้องแรก (Fig. 5-C)

ท้อง ขอบปีกโค้งเล็กน้อย ปีกคู่หน้ามีร่องเส้นปีกและมีร่องหลุมขนาดเล็กกระจายอยู่ทั่วปีก แต่ร่องหลุมบนเส้นปีกมีขนาดใหญ่กว่า (Fig. 5-D) ลำตัวด้านล่างมีสีน้ำตาลแดง

ด้วงดำมีชื่อสามัญว่า Lesser meal worm อยู่ในวงศ์ Tenebrionidae มีความคล้ายคลึงกับชนิด *A. laevigatus* แต่จะมีความแตกต่างกันตรงที่บริเวณแผ่นแข็งส่วนหัวที่แบ่งพื้นที่ตารวม ซึ่งชนิด *A. diaperinus* จะมีแผ่นแข็งส่วนหัวแบ่งพื้นที่ตารวมและสามารถเห็นตารวมประมาณ 3-4 ตา ในขณะที่ชนิด *A. laevigatus* จะมีแผ่นแข็งส่วนหัวที่แบ่งพื้นที่ของตารวมและสามารถเห็นตารวมเพียง 1 ตาเท่านั้น

ความสำคัญ ด้วงดำเป็นพาหะสำคัญของเชื้อโรคและปรสิตในฟาร์มสัตว์ปีก เช่น เชื้อแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* (Loeffler) , *Escherichia coli* (Migula) , *Aspergillus* spp. and *Staphylococcus* ssp. นอกจากนี้ยังมีผลต่อสุขภาพของมนุษย์เนื่องจากด้วงในวงศ์ Tenebrionidae สามารถผลิตสารกลุ่มเบนโซควินโนน (Benzoquinones) ซึ่งมีผลต่อความเสี่ยงต่ออาการปวดศีรษะอย่างรุนแรง ระบบทางเดินหายใจ โรคผิวหนัง และโรคภูมิแพ้ จึงควรหลีกเลี่ยงการอยู่ในพื้นที่เป็นเวลานานและสวมอุปกรณ์ป้องกันในขณะปฏิบัติงานในฟาร์มสัตว์ปีกทุกครั้ง

พืชอาหาร เมล็ดธัญพืชที่มีความชื้น ผลผลิตธัญพืชที่ขึ้นรา

เขตการแพร่กระจาย แพร่กระจายได้ทั่วโลกโดยเฉพาะในเขตอบอุ่นและเขตร้อน

มอดแป้ง *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797)

Colydium castaneum Herbst, 1797

ลำตัว สีน้ำตาลปนแดง ลำตัวแบน มีขนาดเล็กประมาณ 2.3 - 4.4 มิลลิเมตร (Fig. 6-A)

หัว ส่วนหัวของมอดแป้งสามารถมองเห็นได้จากด้านบน มีหนวด 11 ปล้อง หนวด 3 ปล้องสุดท้ายขยายขนาดใหญ่ (Fig. 6-B) ส่วนหัวมีสันขอบด้านหน้า มีร่องหลุมขนาดเล็กกระจัดกระจายทั่วส่วนหัว และบริเวณตามีสันขอบด้านบนซึ่งบางส่วนตั้งอยู่บนพื้นที่ตารวมเล็กน้อย (Fig. 6-C) ระยะห่างระหว่างตารวมด้านล่างยาวไม่เกินกว่าความกว้างของตารวม (Fig. 6-D)

อก ส่วนอกปล้องแรกมีความกว้างมากกว่าความยาว ขอบบนของอกปล้องแรกโค้งมนและจะค่อยๆ ขยายโค้งขึ้นจนถึงด้านล่างขอบอกปล้องแรก ปลายขอบอกมีสันขอบด้านข้าง ร่องหลุมขนาดเล็กกระจายตัวอยู่ด้านข้างของอกปล้องแรกมากกว่าพื้นที่กลางอกปล้องแรก

ท้อง ขอบปีกขนานกัน ปีกคู่หน้ามีร่องเส้นปีกและมีร่องหลุมขนาดเล็กกระจายอยู่ทั่วปีก แต่ร่องหลุมบนเส้นปีกมีขนาดใหญ่กว่า

มอดแป้งมีชื่อสามัญว่า Red flour beetle อยู่ในวงศ์ Tenebrionidae มีความคล้ายคลึงกับชนิด *T. confusum* แต่จะมีความแตกต่างกันที่บริเวณหนวดของ *T. castaneum* นั้นส่วนปลายหนวด 3 ปล้องสุดท้ายจะขยายใหญ่จนเห็นได้ชัด ในขณะที่ปลายหนวดของ *T. confusum* จะค่อยๆ ขยายขนาดถัดจากปล้องอื่นๆ อย่างต่อเนื่อง นอกจากนี้พื้นที่ด้านล่างบริเวณตาของ *T. castaneum* นั้นจะมีพื้นที่ระหว่างตารวมใกล้เคียงกับขนาดของตารวมในขณะที่ *T. confusum* จะมีพื้นที่ระหว่างตารวมมากกว่าขนาดของตารวมประมาณ 2 เท่า และจะพบมากในประเทศเขตหนาวเท่านั้น (Li *et.a.l*, 2001) และ Wang (2015)

ความสำคัญ *T. castaneum* และ *T. confusum* เป็นแมลงศัตรูหลักของธัญพืชที่พบบ่อยและสามารถพบได้ทั่วโลก ทั้งนี้สามารถทำลายในผลิตภัณฑ์แห้งจากพืช ธัญพืช และผลิตภัณฑ์จากธัญพืช และเป็นศัตรูสำคัญของแป้ง แต่อย่างไรก็ตามมอดแป้ง *T. confusum* สามารถพบได้บ่อยในผลิตภัณฑ์จำพวกแป้งมากกว่าผลิตภัณฑ์ธัญพืชอื่นๆ

พืชอาหาร เมล็ดธัญพืชและธัญพืชแปรรูป ผลิตภัณฑ์จากสัตว์แปรรูป

เขตการแพร่กระจาย แพร่กระจายได้ทั่วโลกโดยเฉพาะในเขตอบอุ่นและเขตร้อน

การศึกษานี้ทำให้ทราบถึงชนิดของด้วงที่พบในธัญพืชจากด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ และโรงงานแปรรูปธัญพืชในกรุงเทพมหานคร สามารถใช้เป็นข้อมูลประกอบการจำแนกชนิดด้วงที่ติดมากับสินค้าธัญพืชนำเข้าและส่งออก และสามารถนำเทคนิควิธีการศึกษามาประยุกต์ใช้เพื่อพัฒนาวิธีการจำแนกชนิดแมลงชนิดอื่นๆ อีกทั้งยังสามารถเผยแพร่วิธีการและผลการศึกษาให้กับเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชสำหรับใช้ตรวจวินิจฉัยชนิดด้วงที่พบในธัญพืชช่วยลดระยะเวลาการกักเก็บสินค้าเพื่อตรวจสอบ และสามารถป้องกันชนิดแมลงศัตรูพืชสำคัญที่ติดมากับสินค้านำเข้าได้ทันต่อเหตุการณ์

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาอนุกรมวิธานด้วงที่พบในธัญพืชนำเข้าส่งออกจากด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ และโรงงานแปรรูปธัญพืชในกรุงเทพมหานคร ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 ถึงเดือนกันยายน 2565 นำตัวอย่างด้วงที่รวบรวมได้มาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพื่อตรวจจำแนกชนิด ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช สามารถเก็บรวบรวมด้วงที่พบในธัญพืชได้ 110 ตัวอย่างและสามารถจำแนกชนิดได้ 6 ชนิด ซึ่ง ได้แก่ ด้วงงวงข้าว *Sitophilus oryzae* พบในข้าวสารีนำเข้าจากประเทศออสเตรเลีย ด้วงเมล็ดพืชต่างประเทศ *Ahasverus advena* พบในถั่วลิสงนำเข้าจากประเทศอินเดีย มอดฟันเลื่อย *Oryzaephilus surinamensis* พบในข้าว มอดหนวดยาว *Cryptolestes ferrugineus* ด้วงดำ *Alphitobius diaperinus* พบในกากถั่วเหลือง มอดแป้ง *Tribolium castaneum* พบในข้าวสารีนำเข้าจากประเทศออสเตรเลีย ทำให้ทราบถึงชนิด พืชอาหาร ลักษณะการทำลาย เขตการแพร่กระจาย จัดทำแนวทางการวินิจฉัยชนิดและถ่ายภาพลักษณะสำคัญทางอนุกรมวิธานของด้วงที่พบในธัญพืชทั้ง 6 ชนิด นำตัวอย่างด้วงจัดเก็บในพิพิธภัณฑ์แมลงพร้อมนำข้อมูลที่รวบรวมได้จัดทำฐานข้อมูลพิพิธภัณฑ์แมลงกรมวิชาการเกษตร สำหรับใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานประกอบการจัดทำรายชื่อชนิดแมลงศัตรูพืชรองรับปัญหาด้านการนำเข้าและส่งออกสินค้าเกษตรตลอดจนใช้ในด้านการกักกันพืช ซึ่งเป็นไปตามมาตรการด้านสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measure: SPS Agreement) ขององค์การการค้าโลก (WTO) ที่ประเทศสมาชิกรวมทั้งประเทศไทยจะต้องใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืชเพื่อปกป้องสุขภาพมนุษย์ สัตว์ พืชและสิ่งแวดล้อม (อรุณี, 2543) และใช้เป็นข้อมูลสำหรับตรวจสอบความถูกต้องนำไปใช้อ้างอิงทาง

วิชาการสำหรับงานอนุกรมวิธานและงานกีฏวิทยาด้านอื่นๆ ทั้งนี้สามารถถ่ายทอดเทคนิคให้กับบุคลากรที่เกี่ยวข้องกับการปฏิบัติงานได้ในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

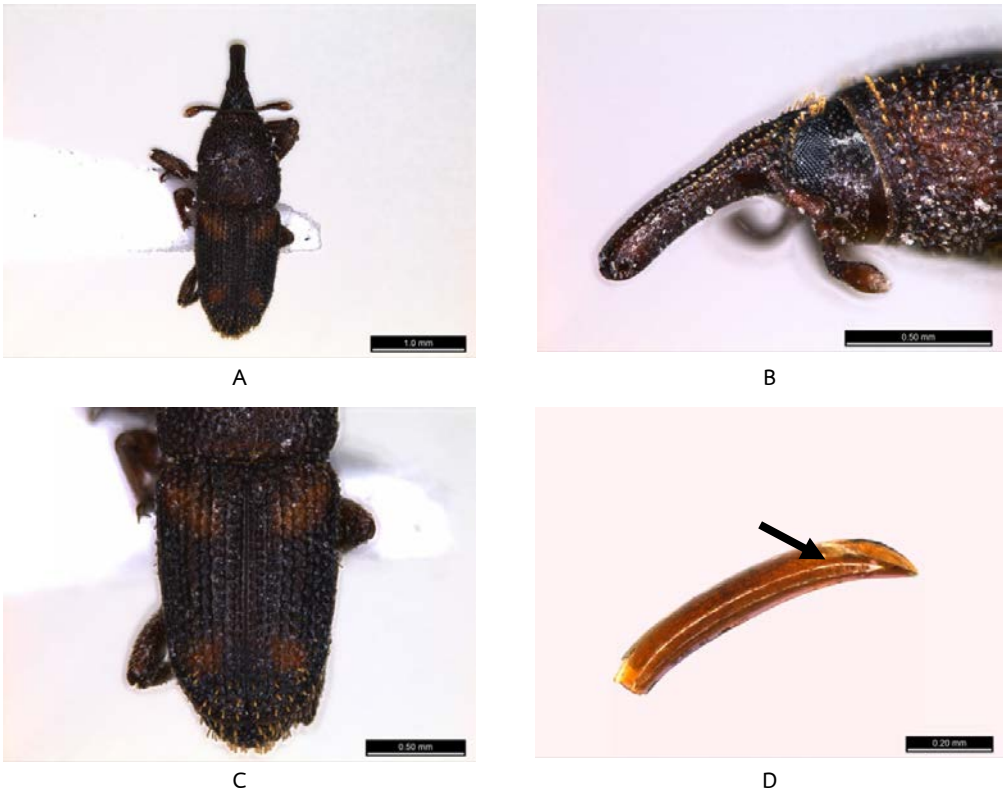
พรทิพย์ วิสารทานนท์ พรรณเพ็ญ ชโยภาส ใจทิพย์ อุไรชื่น รังสิมา เก่งการพานิช กรรณิการ์ เพ็งคุ้ม จิราภรณ์ ทองพันธ์ ดวงสมร สุทธิสุทธิ์ ลักขณา ร่มเย็น ภาวินี หนูชนะภัย และอัจฉรา เพชรโชติ. 2551. แมลงที่พบในผลิตผลเกษตรและการป้องกันกำจัด. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร. กรมวิชาการเกษตร. 180 หน้า.

Haines, C.P. (Ed.) 1991. Insect and Arachnids of Tropical Stored Products; Their Biology and Identification. Natural Resources Institute: Chatham, Kent, UK.

Li, C. J., Wang Y.Q. and Liu. W. 2001. Progress on Study of Functional Genome of *Tribolium castaneum*. Chinese Journal of Applied Entomology. 48 (6): 1544-1552.

Rees, D. 2004. Insects of Stored Products. CSIRO Publishing. Collingwood. Australia. 181 p.

Wang. Y. J. 2015. Molecular Techinques for Identification of Stored *Tribolium*. China Agrucultual University.



A B

C D

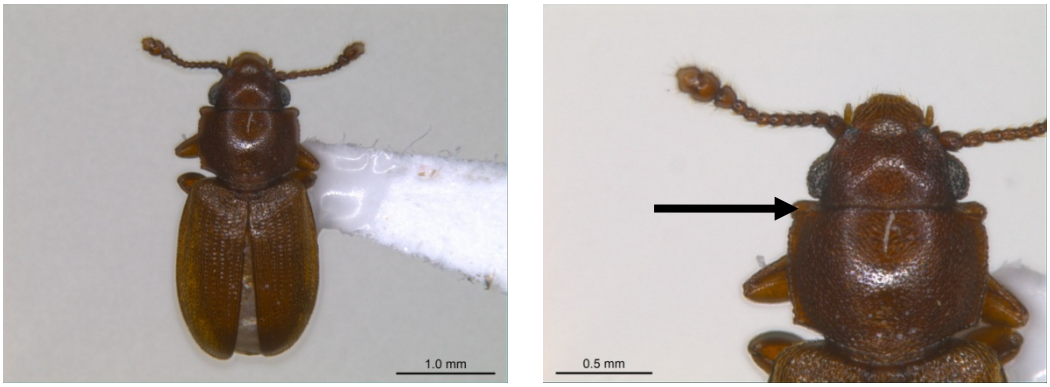
Figure 1 Morphology of *Sitophilus oryzae* (Linnaeus)

A. Dorsal

B. Elbowed antennae

C. Each elytra marked with two dull orange or yellow spots

D. Outer surface of aedeagus of male smooth and convex in cross-section

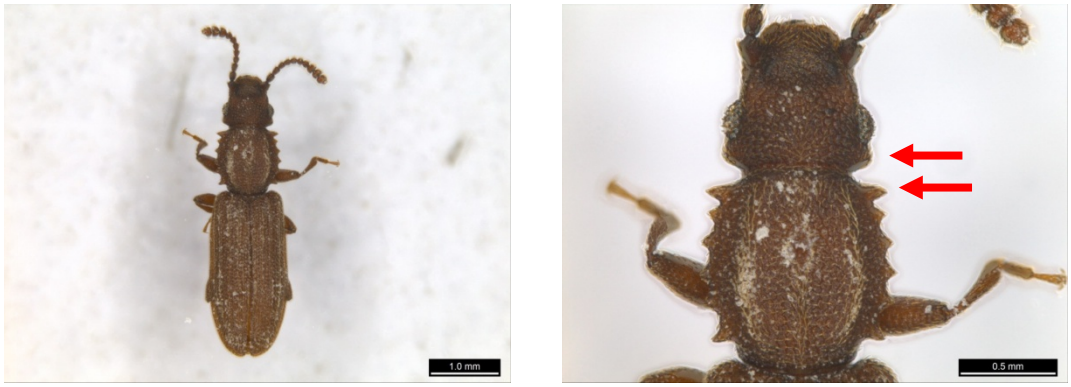


A B

Figure 2 Morphology of *Ahasverus advena* (Waltl)

A. Dorsal

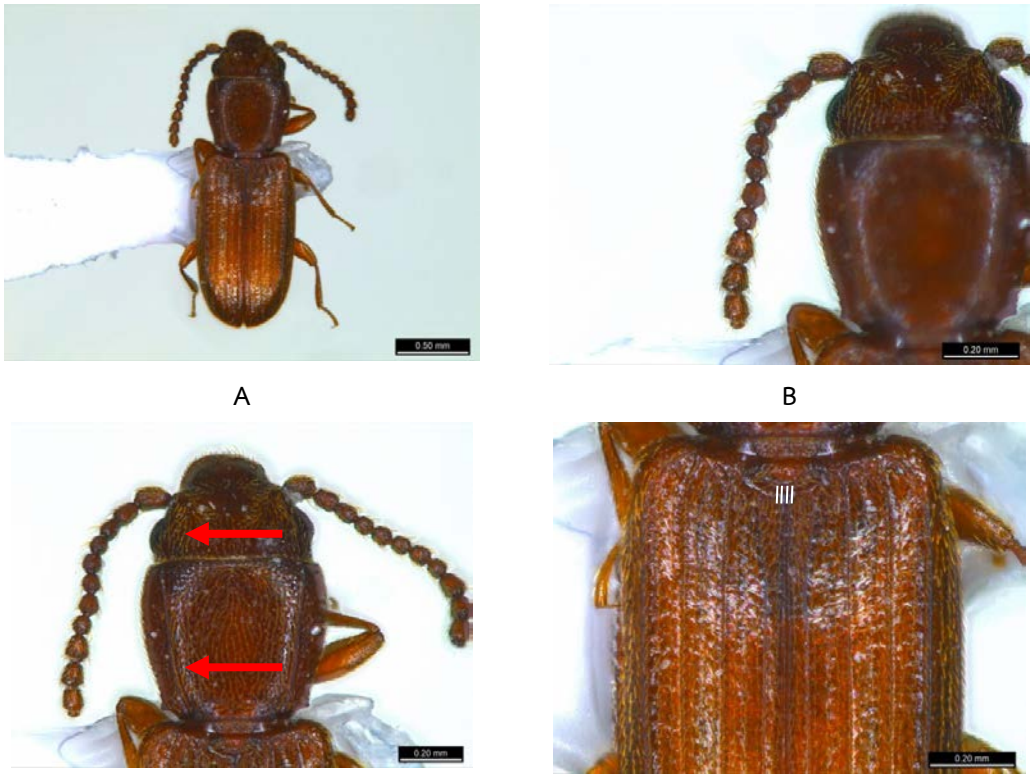
B. Obvious tooth like structure at corners of thorax



A B

Figure 3 Morphology of *Oryzaephilus surinamensis* (Linnaeus)

A. Dorsal B. The area of head behind the eye long, Pronotum with six teeth-like structure



A B C D

Figure 4 Morphology of *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens)

A. Dorsal B. Antennae hair-like long and unclubbed, up to length of body

C. Head-pronotum with raised line parallel with each side D. The first strial interspace of the elytra has 4 rows of setae, which are evenly and equally spaced.

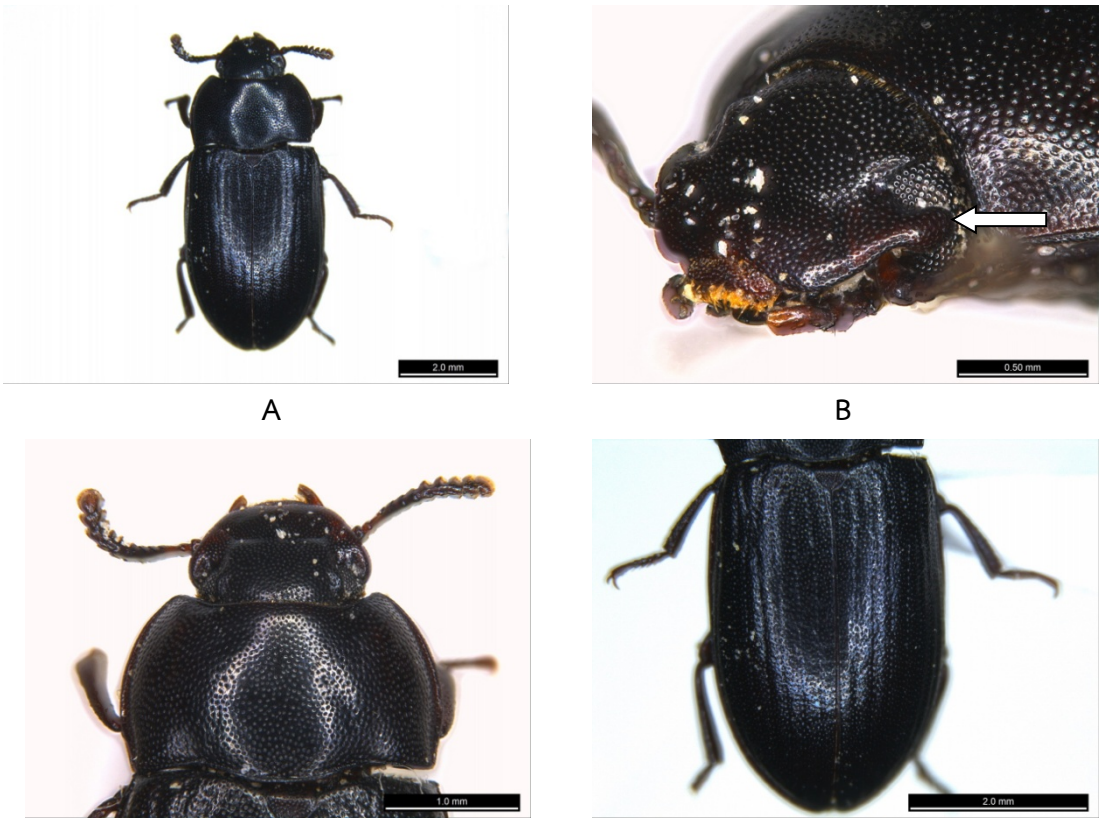


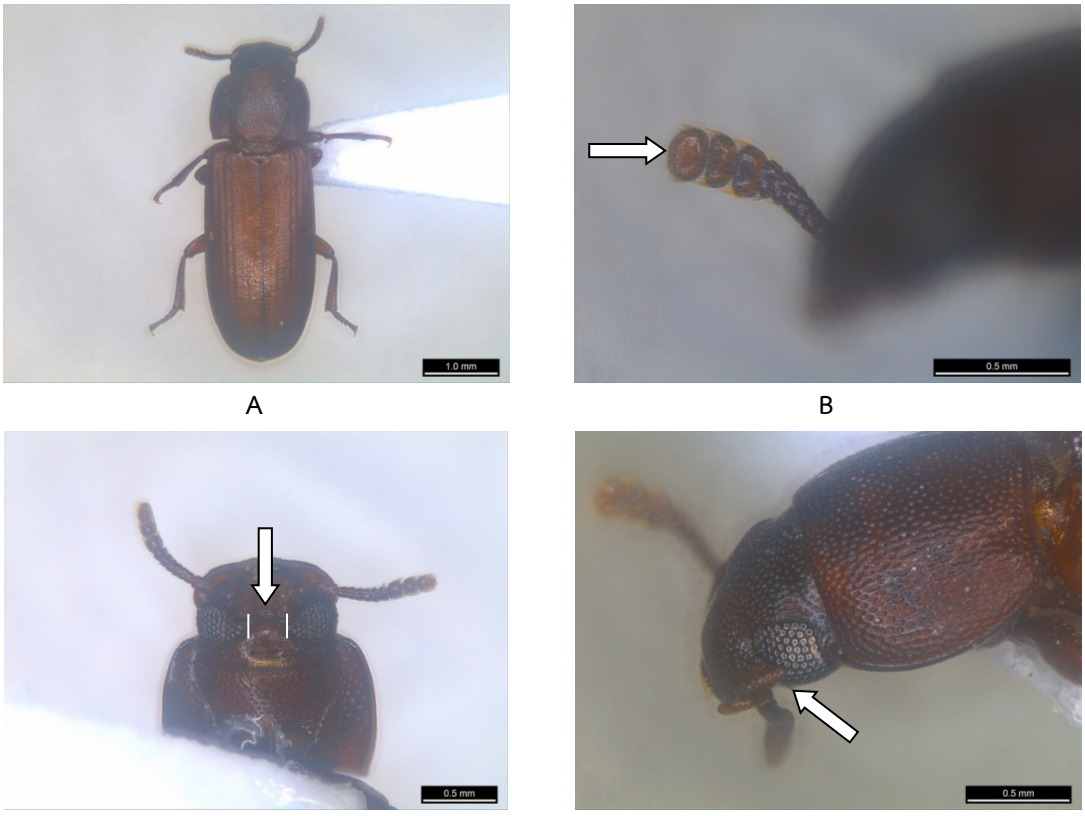
Figure 5 Morphology of *Alphitobius diaperinus* (Panzer)

A. Dorsal

B. Eye is devided, minimum number of eye facets at narrowest point is 3 to 4

C. Punctures in centre of pronotum small

D. Outer edge of elytra gradually narrowed towards



A B C D

Figure 6 Morphology of *Tribolium castaneum* (Herbst)

A. Dorsal

B. Last three segments of antennae expanded

C. Gap between eye is relatively narrow

D. Eyes divided across middle by side margin of head

อนุกรมวิธานและการแพร่กระจายเชิงภูมิศาสตร์ของทากศัตรูพืช

Taxonomy and the Geographical Distribution of Pest Slugs in Thailand

ดาราพร ริมทะรักษ์ อภินันท์ เอี่ยมสุวรรณสุข ศุภกร วงษ์เรืองพิบูล
ปิยาณี หนูกาฬ สมเกียรติ กล้าแข็ง
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ดำเนินการสำรวจและเก็บตัวอย่างทากในพื้นที่ป่าธรรมชาติ เขาหินปูนที่มีพื้นที่ติดต่อกับระบบนิเวศเกษตรที่มีการปลูกพืชเศรษฐกิจ และบันทึกพิกัดภูมิศาสตร์พื้นที่เก็บตัวอย่าง เพื่อนำข้อมูลไปจัดทำแผนที่การกระจายพันธุ์ของทาก ดังนี้ ภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเพชรบูรณ์ จำนวน 95 ตัวอย่าง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา หนองคาย เลย ชัยภูมิ จำนวน 84 ตัวอย่าง ภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดกรุงเทพฯ สมุทรสาคร และกาญจนบุรี จำนวน 32 ตัวอย่าง และภาคตะวันออก ได้แก่ จังหวัดระยอง จำนวน 7 ตัวอย่าง นำมาจำแนกชนิดตามระบบอนุกรมวิธานของหอยทาก ตามเอกสารของ Abbott (1989), Hemmen and Hemmen (2002) , Laws (1973), Panha (1996), Patterson (1971) และ Vaught (1989)

ผลการวิเคราะห์สัณฐานวิทยาของตัวอย่างทากทั้งหมด 218 ตัวอย่าง พบหอยทากลดเปลือก (semi slug) ชนิดที่เป็นศัตรูพืช 2 ชนิด ได้แก่ ทากเล็บมือนาง *Pamarion martensi* และ *Parmarion* sp.1 พบว่าทั้งสองชนิดมีจำนวนโครโมโซมค่าแฮพพลอยด์ (haploid, n) เท่ากับ 33 ค่าดิพพลอยด์ (diploid, 2n) เท่ากับ 66 และทั้ง 2 ชนิดพบว่ามีการแพร่กระจายทุกจังหวัดที่ดำเนินการการสำรวจ นอกจากนี้ยังพบทากศัตรูพืช (slug) unknown sp.1 จากจังหวัดเพชรบูรณ์ 1 ชนิด ขณะนี้อยู่ระหว่างศึกษาจำนวนโครโมโซมและการจัดเรียงคาริโอไทป์ของพบทากศัตรูพืช unknown sp.1 ดังกล่าวต่อไป

คำหลัก : ทากศัตรูพืช ทากลดเปลือก การแพร่กระจายเชิงภูมิศาสตร์ อนุกรมวิธาน

รหัสการทดลอง FF65-20-01-65-01-02-65

คำนำ

ในงานทางด้านอนุกรมวิธานของสัตว์ในกลุ่มหอยทากนั้น การใช้ข้อมูลเกี่ยวกับสัณฐานวิทยาในการจำแนก เช่น ลักษณะรูปทรงของเปลือก ทิศของการขดวน ขนาดของเปลือก สีสัน และลวดลายเป็นต้น ทำให้เกิดปัญหาในการจำแนก เนื่องจากเปลือกของหอยทากแต่ละชนิดมีความผันแปรมาก ทำให้การจำแนกชนิดโดยใช้สัณฐานวิทยาของเปลือกเพียงอย่างเดียวมีความซับซ้อน สับสนและขาดความชัดเจน โดยเฉพาะอย่างยิ่งหอยทากที่มีรูปทรงและขนาดของเปลือกใกล้เคียงกัน อีกทั้งข้อมูลทางสัณฐานวิทยาของหอย (snails) และทาก (slugs) หลายกลุ่มยังไม่สมบูรณ์มากพอที่จะใช้แยกหรือจำแนกได้ทุกชนิด ดังนั้นการใช้ลักษณะอื่นๆ อาทิ เช่น การศึกษาระดับโครโมโซม การใช้เทคนิคทางด้านมอร์โฟเมตริก (morphometrics) หรือลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ อาจช่วยให้การจำแนกมีความชัดเจนและแม่นยำมากยิ่งขึ้น

จากการศึกษาและค้นคว้างานทางด้านโครโมโซม พบว่าจำนวนโครโมโซมของหอยทากสามารถนำมาใช้ในการจำแนกหอยทากได้ในระดับวงศ์ (family) เท่านั้น โดยแต่ละวงศ์จะมีจำนวนโครโมโซมคงที่และมีลักษณะเป็นแบบเชิงอนุรักษ์ (conservatism) กล่าวคือหอยทากที่อยู่ในวงศ์เดียวกันจะมีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน ซึ่งหากจะจำแนกให้ได้ถึงระดับชนิด (species) จะต้องมีการศึกษารูปแบบของการจัดเรียงโครโมโซมหรือคาริโอไทป์ และข้อมูลด้านอื่นๆ สนับสนุนกัน อาทิเช่น หอยขัดเปลือก, *Macrochlamys limbata* และ *M. hepbagyra* เป็นหอยทากที่มีรูปทรงและขนาดของเปลือกคล้ายคลึงกันมากในทางสัณฐานวิทยา แต่เมื่อมีการศึกษาข้อมูลทางด้านโครโมโซมประกอบกัน พบว่าหอยทากทั้ง 2 ชนิด มีจำนวนแฮพพลอยด์ (haploid) เท่ากันคือ 10 โดยเมื่อนำมาจัดคาริโอไทป์ จะเห็นความแตกต่างกันอย่างชัดเจน และสามารถจำแนกได้ว่าเป็นคนละชนิด เป็นต้น แต่ในปัจจุบัน มีการศึกษาข้อมูลในระดับกายวิภาคและระดับโครโมโซมของหอยและทากน้อยมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มของทาก (slugs) ซึ่งจัดเป็นศัตรูพืชที่เริ่มมีความสำคัญในแง่ของการเป็นศัตรูพืชเศรษฐกิจ ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้ จึงมุ่งเน้นศึกษาอนุกรมวิธานในระดับโครโมโซม เพื่อข้อมูลสนับสนุนข้อมูลทางด้านสัณฐานวิทยา ตลอดจนศึกษาเขตการแพร่กระจายของทากศัตรูพืชที่พบในประเทศไทย เพื่อให้ฐานข้อมูลทางด้านอนุกรมวิธาน มีความชัดเจนและความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างทาก ได้แก่ กล่องพลาสติกขนาดต่างๆ สเปรย์ฉีดน้ำ ถุงมือแพทย์ คีมคีบ พู่กัน ไฟฉาย กระดาษทิชชูอเนกประสงค์
- อุปกรณ์สำหรับเพาะเลี้ยงทาก ได้แก่ ตู้กระจกขนาด 25x40x26 เซนติเมตร / ดิน และวัสดุสำหรับวางไข่ ได้แก่ กาบมะพร้าว ขุยมะพร้าว และอิฐแผ่น
- อาหารสำหรับทาก เช่น อาหารปลา ผักสดชนิดต่างๆ เช่น ผักกาดขาว แตงกวาและอาหาร

เสริมชนิดต่างๆ เช่น ผงแคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) เป็นต้น

- เครื่องมือและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น เวอร์เนียร์ thermo-hygrometer, forceps และเครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ และความชื้นในดิน
- อุปกรณ์ประกอบการถ่ายภาพ ได้แก่ กล้องถ่ายภาพดิจิตอล และกล้องจุลทรรศน์
- เอกสารประกอบการศึกษาชีววิทยาและการจำแนกชนิดหอยและทาก
- เครื่องวัดพิกัดภูมิศาสตร์ (GPS) สำหรับระบุพิกัด ที่เก็บตัวอย่างทาก
- อุปกรณ์ศึกษากายวิภาคและโครโมโซม ได้แก่ ขวดแก้วสำหรับใส่น้ำยาเคมี สไลด์แก้วและแผ่นแก้วปิดสไลด์ กล่องไม้สำหรับเก็บสไลด์ ชุด Jar สำหรับย้อมสี 1 ชุด
- สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมโครโมโซม ได้แก่ 0.01 % Colchicin , Giemsa Solution และ Carnoy Fixative Solution stock Giemsa's Solution
- ภาพถ่ายโครโมโซมขนาด 4x 6 สำหรับศึกษาคาริโอไทป์

วิธีการ

วิธีดำเนินการวิจัย แบ่งเป็น **3 ขั้นตอน ดังนี้**

1. สำรวจ/ เก็บตัวอย่าง และจัดทำแผนที่การแพร่กระจายเชิงภูมิศาสตร์

โดยสำรวจทุกๆ 2 เดือน ตามพื้นที่ป่า เขาหินปูน และพื้นที่ปลูกพืชเศรษฐกิจตามภาคต่างๆ ของประเทศไทย เก็บตัวอย่างพื้นที่ละ 30 ตัว และบันทึกพิกัดด้วย GPS เพื่อจัดทำแผนที่การแพร่กระจายเชิงภูมิศาสตร์ของทาก ด้วยโปรแกรม ArcView หรือ ArcGis จากนั้นนำตัวอย่างมาพักในตู้กระจกขนาด 25x40x26 เซนติเมตร และอ่างซีเมนต์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เมตร เพื่อรอจำแนกชนิดจากลักษณะสัณฐานวิทยาในห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานวิจัยสัตววิทยาการเกษตร โดยฉีดพ่นน้ำ วันละ 1 ครั้งและให้ผักชนิดต่างๆเป็นอาหาร สัปดาห์ละ 2 ครั้ง

2. ตรวจสอบและวิเคราะห์ชนิด

นำตัวอย่างที่ได้มาศึกษาชีววิทยา สัณฐานวิทยา และกายวิภาคศาสตร์ของระบบสืบพันธุ์ โดยนำตัวอย่างหอย ที่ยังมีชีวิตมาทำให้อวัยวะภายในยืดตัวโดยใช้ suffocation technique จนกระทั่งหอยมีการยืดตัวเต็มที่ และไม่ตอบสนองต่อการสัมผัส จึงนำมา fix และ dissection ด้วย 70% ethyl alcohol (criteria of Patterson, 1971) พร้อมสังเกต เปรียบเทียบ ถ่ายภาพและวาดภาพในห้องปฏิบัติการ

วิเคราะห์ชื่อตามระบบอนุกรมวิธาน เปรียบเทียบกับเอกสารหอยทากทั้งในและต่างประเทศ ยึดตามเอกสารของ Abbott (1989), Hemmen and Hemmen (2002) , Laws (1973), Panha (1996), Patterson (1971) และ Vaught (1989) จากนั้นคัดเลือกเฉพาะตัวอย่างที่มียังไม่สามารถจำแนกได้ด้วยการศึกษาสัณฐานวิทยา และกายวิภาคศาสตร์ ไปทำการศึกษาจำนวนโครโมโซมและการจัดเรียงคาริโอไทป์ขั้นตอนต่อไป

3. ขั้นตอนการศึกษาคาริโอไทป์ โดยศึกษาจากเนื้อเยื่อ ovotestis ดังนี้

3.1 Pre-treatment โดยการฉีด 0.01 - 0.02 % colchicines จำนวน 1 - 2 มิลลิลิตร เข้าไปในลำตัวหอยทาก เป็นเวลา 3 - 4 ชั่วโมง เพื่อยับยั้งการทำงานของ spindle fiber ในโครโมโซม

3.2 Hypotonic treatment โดยการนำเนื้อเยื่อ ovotestis ของหอยทากมาแช่ใน hypotonic solution (สารละลาย KCl) ประมาณ 30 - 45 นาที เพื่อให้เซลล์บวม (swelling)

3.3 Fixation โดยการนำเซลล์ไปปั่นด้วยเครื่อง centrifuge 1,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วใช้หลอดดูดส่วนที่เป็น supernatant ออกให้หมด แล้วเติมสาร fixative (Carnoy solution) 3 - 4 ครั้ง

3.4 Air dried slide ดูดตัวอย่างเซลล์ที่ผ่านขั้นตอน fixation ลงบนสไลด์ จากนั้นทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง

3.5 Staining ย้อมสไลด์ที่แห้งแล้วด้วย 20% Giemsa ที่มีส่วนผสมของ stock Giemsa's Solution เป็นเวลา 30 นาที จึงล้างออกด้วยน้ำกลั่นและทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง รอนำไปศึกษาต่อไป

3.6 Analysis นำสไลด์ไปศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง วิเคราะห์โครโมโซมโดยเลือกจากระยะเมทาเฟส (metaphase) ซึ่งมีการกระจายดี ไม่ซ้อนทับกัน นับจำนวนโครโมโซม จับคู่โครโมโซมคู่เหมือน (homologous chromosome) มาจัดเรียงคาริโอไทป์ตามความยาวของโครโมโซมแต่ละคู่ ถ่ายภาพเซลล์ที่เลือกไว้ จากนั้นใช้ภาพถ่ายมาวิเคราะห์และคำนวณหาค่า relative length (RL) และค่า centromeric index (CI) เพื่อจัดชนิดโครโมโซม ต่อไป

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาเริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2566 รวม 2 ปี

สถานที่ : พื้นที่เกษตรกรรม แหล่งปลูกพืชเศรษฐกิจและพื้นที่ป่าใกล้เคียงตามภาคต่างๆของประเทศไทย

: ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สอพ.

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสำรวจและเก็บตัวอย่าง

ผลการสำรวจ/ เก็บตัวอย่างทากอย่างละเอียดในแต่ละแปลงสำรวจในพื้นที่ป่าธรรมชาติเขาหินปูนที่มีพื้นที่ติดต่อกับระบบนิเวศเกษตรที่มีการปลูกพืชเศรษฐกิจ โดยเก็บตัวอย่างจากบนพื้นดินบนต้นไม้ และบริเวณที่หอยมักซ่อนตัวอยู่ เช่น ขอนไม้ผุ กองใบไม้ทับถม และบันทึกพิกัดภูมิศาสตร์พื้นที่ๆเก็บตัวอย่าง เพื่อนำข้อมูลไปจัดทำแผนที่การกระจายพันธุ์ของทากที่พบ (เมื่อสิ้นสุดการทดลอง) และจำแนกชนิดตามระบบอนุกรมวิธานของหอย ตามเอกสารของ Abbott (1989), Hemmen and Hemmen (2002) , Laws (1973), Panha (1996), Patterson (1971) และ Vaught (1989) ดังนี้

ภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเพชรบูรณ์ ได้ตัวอย่างรวม 95 ตัวอย่าง

ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา หนองคาย เลย ชัยภูมิ ได้ตัวอย่างรวม 84 ตัวอย่าง

ภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดกรุงเทพฯ สมุทรสาคร และกาญจนบุรี ได้ตัวอย่างรวม 32 ตัวอย่าง

ภาคตะวันออก ได้แก่ จังหวัดระยอง ได้ตัวอย่าง 7 ตัวอย่าง

pH ของดินในพื้นที่ ๆ เก็บตัวอย่าง อยู่ในช่วง 7.0 - 7.4 โดยส่วนใหญ่พบตัวอย่างทากจำนวนมากในสภาพที่เป็นภูเขาหินปูน และความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ 60% ขึ้นไป

2. ตรวจสอบและวิเคราะห์ชนิดจากสัณฐานวิทยา

นำตัวอย่างที่ได้มาศึกษาสัณฐานวิทยา พร้อมสังเกต เปรียบเทียบ ถ่ายภาพในห้องปฏิบัติการ วิเคราะห์ชนิดตามระบบอนุกรมวิธาน เปรียบเทียบกับเอกสารทั้งในและต่างประเทศ ยึดตามเอกสารของ Abbott (1989), Hemmen and Hemmen (2002) , Laws (1973), Panha (1996), Patterson (1971) และ Vaught (1989) โดยจะคัดเลือกเฉพาะตัวอย่างที่มียังไม่สามารถจำแนกได้ด้วยการศึกษาสัณฐานวิทยาและกายวิภาคศาสตร์ ไปทำการศึกษาจานวนโครโมโซมและการจัดเรียงคาริโอไทป์ขั้นตอนต่อไป

ผลการวิเคราะห์สัณฐานวิทยาของตัวอย่างทากทั้งหมด 218 ตัวอย่าง พบหอยทากลดเปลือก (semi slug) ชนิดที่เป็นศัตรูพืช 2 ชนิด ได้แก่ ทากเล็บมือนาง *Pamarion martensi* และ *Parmarion* sp.1 พบว่าทั้งสองชนิดมีจำนวนโครโมโซมค่าแฮพพลอยด์ (haploid, n) เท่ากับ 33 ค่าดิพพลอยด์ (diploid, 2n) เท่ากับ 66 และทั้ง 2 ชนิดพบว่ามีการแพร่กระจายทุกจังหวัดที่ดำเนินการการสำรวจ นอกจากนี้ยังพบทากศัตรูพืช (slug) unknown sp.1 จากจังหวัดเพชรบูรณ์ 1 ชนิด

นอกจากนี้ การศึกษาลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ระบบสืบพันธุ์ ยังสามารถใช้ในการจัดจำแนกชนิดประกอบกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเปลือกและลักษณะภายนอกได้อีกด้วย เช่น การวิเคราะห์การมี/ ไม่มีอวัยวะ dart apparatus หรือการวิเคราะห์ขนาดและรูปร่างของ penis สามารถนำมาใช้แยกทากสกุล *Parmarion* ออกจากสกุล *Muangnua* ได้ เป็นต้น

ขณะนี้อยู่ระหว่างศึกษาโครโมโซมและการจัดเรียงคาริโอไทป์ทากศัตรูพืช ชนิด unknown sp.1 ซึ่งยังไม่สามารถจำแนกได้ด้วยการศึกษาสัณฐานวิทยาในห้องปฏิบัติการ นอกจากนี้การศึกษาลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ระบบสืบพันธุ์ ยังสามารถใช้ในการจัดจำแนกชนิดประกอบกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเปลือกและลักษณะภายนอกได้อีกด้วย เช่น การวิเคราะห์การมี/ ไม่มีอวัยวะ dart apparatus หรือการวิเคราะห์ขนาดและรูปร่างของ penis สามารถนำมาใช้แยกทากสกุล *Parmarion* ออกจากสกุล *Muangnua* ได้ เป็นต้น

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทราบจำนวนและ รูปแบบการจัดเรียงโครโมโซม จะเป็นข้อมูลที่มีประโยชน์ ที่ช่วยสนับสนุนงานทางด้านการจำแนกชนิดและระบุชื่อวิทยาศาสตร์ได้แม่นยำยิ่งขึ้น ทั้งนี้เพื่อเป็นฐานข้อมูลทางอนุกรมวิธานทากศัตรูพืช รวมไปถึงการสำรวจการแพร่กระจายเชิงภูมิศาสตร์ของทากที่พบใน

ประเทศไทย สามารถนำข้อมูลไปประยุกต์ใช้ในด้านอื่นๆ เช่น การป้องกันกำจัดทากศัตรูสำคัญในพืชหลายชนิด รวมทั้งยังมีตัวอย่างทาก ที่วิเคราะห์ชนิดแล้ว เก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์เพื่อเป็นแหล่งค้นคว้าอ้างอิง และสามารถจัดทำเป็นเอกสารถ่ายทอดแก่เกษตรกรและผู้สนใจ ต่อไป

ข้อสังเกต : เนื่องจากการแพร่ระบาดของเชื้อโควิด 19 ในปี 2565 มีการระบาดในหลายพื้นที่ ตามมาตรการควบคุมการระบาดของโรค ทำให้การเบิกค่าใช้จ่ายเพื่อเดินทางไปปฏิบัติงานมีความล่าช้า ส่งผลให้การดำเนินงานวิจัยไม่ต่อเนื่อง/ครบถ้วนตามเป้าหมายที่กำหนดไว้

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ผศ. พงษ์รัตน์ ดำรงโรจน์วัฒนา อาจารย์คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ให้คำแนะนำและให้ความอนุเคราะห์เอกสารในการจำแนกชนิดหอยทาก

ขอขอบคุณ ผศ.ดร. ชนิดาพร ตุ้มปี่สุวรรณ อาจารย์คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่ให้ข้อมูลสนับสนุนอื่นๆที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยด้านหอยทาก

ขอขอบคุณนางสาวนุสรา สุขคะตะ นักวิทยาศาสตร์ และนางสาวศศินิภา องอาจ นักวิชาการเกษตร ที่ช่วยปฏิบัติงานภาคสนามและบันทึกข้อมูลที่จำเป็นตลอดการทดลอง

และท้ายที่สุด ขอขอบคุณแหล่งทุนอุดหนุนงานวิจัย จากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) จึงขอขอบคุณไว้ ณ ที่นี้

เอกสารอ้างอิง

ชมพูนุท จรรยาเพศ ปราสาททอง พรหมเกิด ปิยาณี หนูกาฬ และดาราพร รินทะรักษ์. 2550. ความหลากชนิดของหอยทากและทากในแหล่งสงวนชีวมณฑลสะแกราช. การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติครั้งที่ 8 : อารักขาพืชใต้ร่มพระบารมี. หน้า 60-72.

ดาราพร รินทะรักษ์ ณัฐฐิญา กาญจนนิธิพัฒน์ อภินันท์ เอี่ยมสุวรรณ และทรงทัพ แก้วตา. 2560. สำรวจความหลากชนิดหอยทากบกศัตรูพืชในระบบนิเวศเกษตรและสิ่งแวดล้อม..รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2560. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. หน้า 1822-1828.

ดาราพร รินทะรักษ์ อภินันท์ เอี่ยมสุวรรณ ณัฐฐิญา กาญจนนิธิพัฒน์ และทรงทัพ แก้วตา. 2561. ศึกษาโครโมโซมและการแพร่กระจายเชิงภูมิศาสตร์ของหอยศัตรูพืชวงศ์ Succineidae ในประเทศไทย. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2561. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. หน้า 143-149.

ปราสาททอง พรหมเกิด ดาราพร รินทะรักษ์ ปิยาณี หนูกาฬ สมเกียรติ กล้าแข็ง และทรงทัพ แก้วตา. 2554. ความหลากชนิดและประชากรของหอยทากและทากในโรงเรือนปลูกพืช.รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2554. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. หน้า 1822-1828.

พงษ์รัตน์ ดำรงโรจน์วัฒนา ชัดนารี มีสุขโข และชุตาภา คุณสุข. 2550. การศึกษาจำนวนโครโมโซมของหอยทากบกจำนวน 14 ชนิดของประเทศไทย. *วารสารวิจัย มข.* 12:(2) หน้า 102-108.

Abbott, R.T. 1989. *Compendium of landshell*. Melbourne,Australia : American Malacologist,Inc.

Cowie, R. H., Dillon, Jr., R. T., Robinson, D. G. and Smith, J. W. 2009. Alien non-marine snails and slugs of priority quarantine importance in the United States: A preliminary risk assessment. *Amer. Malac. Bull*. 27: 113-132.

Dumrongrojwattana, P., Chaijirawowg,R., Matchacheep, S. and R.G.Moolenbeek.2007. Comparative anatomy of land snail genus *Succinea* from eastern Thailand (Pulmonata : Succineidae). *Kasetsart Journal : Natural Science*, 41: 229-238.

Hemmen, J. and Hemmen, C. 2001. Akktualisierte liste der terrestrischen gastropoden Thailands. Schr. Malakozool. 18:53-70.

Laws, H.M.1973.The chromosome of some Australian camaenid land snails. *Cytologia*. 38:p.229-235.

Nakamura, H.K. 1985.A review of molluscan cytologenetic information based on the CISMOCH:Computerized index system for molluscan chromosomes, Bivalvia, polyplacophora and cephalopoda . *Venus* 44(3): 199-225.

Panha, S. 1996. A Checklist and classification of the terrestrial Pulmonate snails of Thailand. *Walkerana*. 8 (19): 11-64.

Patterson, C. M. 1971. Taxonomic studies of the land snails family Succineidae. *Malacological Reeview*. Vol. 4: 131-202.

Vaught, K.C. 1989. A classification of the living mollusca. U.S.A. : *American Malacologists*.

Figure 1 The terrestrial semi slug, *Pamarion martensi* is feeding on orchid buds in orchid plantation in Nakornratchasima province and in dragon fruit plantation in Loei province (adult with yellowish-brown flattened fingernail- shaped shellvisible on them dorsal)

Figure 2 The terrestrial semi slug, *Pamarion* sp 1 in Samutsakorn province. Adult with shell covered by mantle folds and are about 5 c.m. in length

Figure 3 Eggs and neonates of *Parmarion martensi*

Eggs are about 2.5 m.m. in diameter

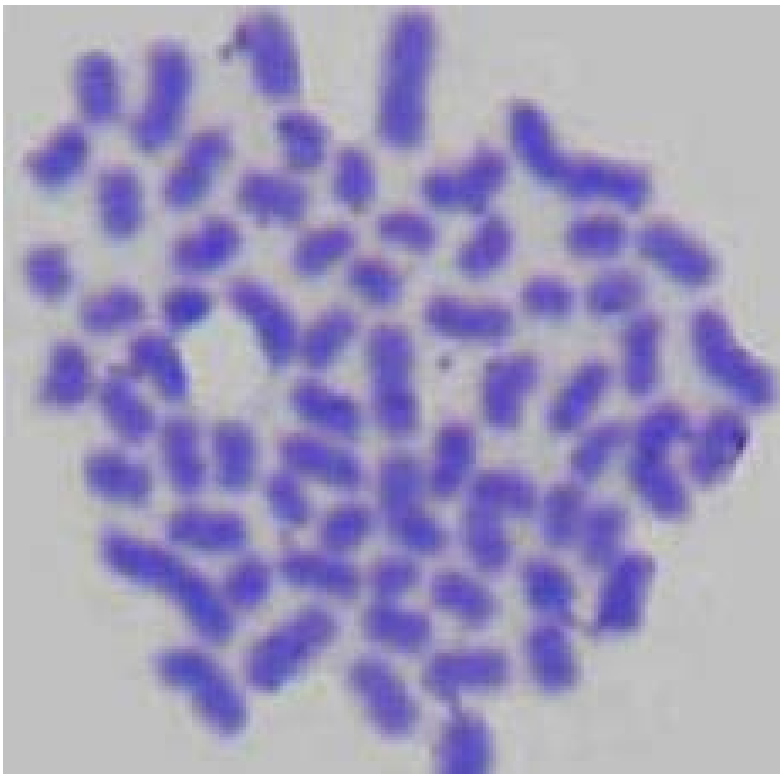


Figure 4 The metaphase chromosomes of semi slug, *Parmarion martensi*

The results showed that diploid chromosome (2n) were 66

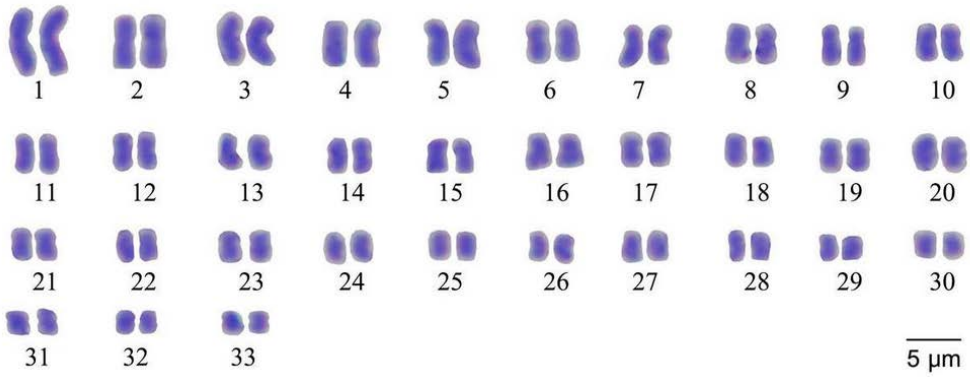


Figure 5 The karyotypes of semi slug, *Parmarion martensi* The results showed that haploid chromosome (n) were 33.

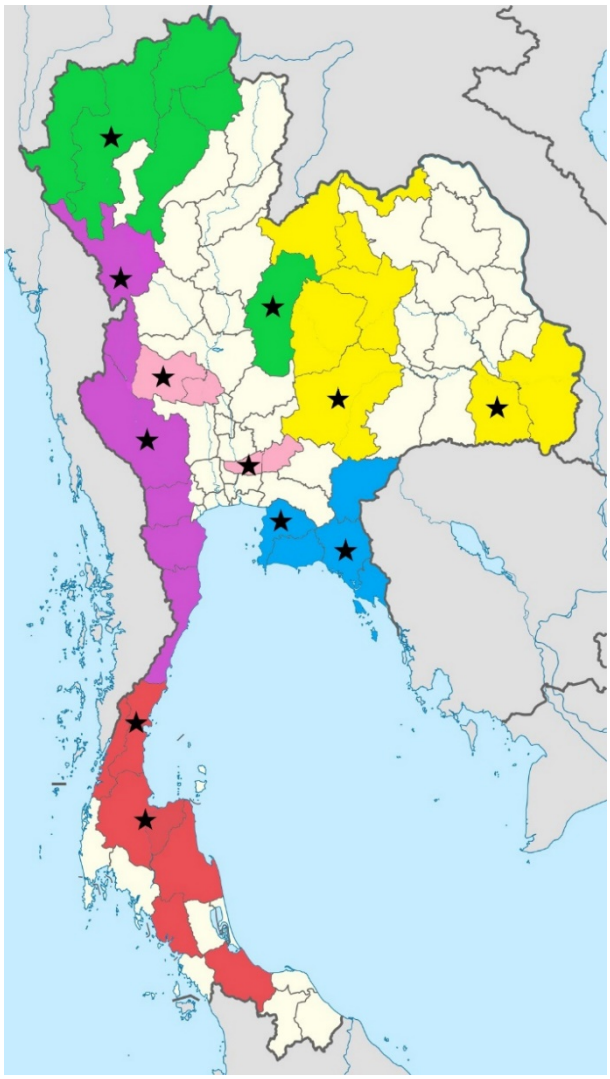


Figure 6 Species Diversity of Terrestrial Pest Snails in Agricultural Ecosystem and Environment in Thailand

อนุกรมวิธานเพลี้ยไฟที่พบในไม้ดอก

Taxonomy of Thrips in Flowering plants

อิทธิพล บรรณาการ เกศสุดา สนศิริ จอมสุรางค์ ดวงธิสาร

สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Progress report

Taxonomy of Thrips in flowering plants was studied by surveying and collecting the cut flowers in the Northern part, the North eastern part and the Middle part of Thailand during October 2021 and September 2022. Thrips was taken to Entomology and Zoology Group, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture for detecting by study the taxonomy and morphology from permanent slides including compared with the specimens of Thirps in DOA Insect Museum. The result from detecting Thrips, 140 were found to represent Thrips in Order Thysanoptera Family Thripidae (5 species 4 genera): western flower thrips; *Frankliniella occidentalis*, common blossom thrips; *Frankliniella schultzei,* composite thrips; *Microcephalothrips abdominalis,* Hawaiien flower thrips; *Thrips hawaiiensis* and Anthurium thrips; *Chaetanaphothrips orchidii*. Key and photographic taxonomic characters of 5 species were provided. The results were contributed to be Insect Museum Databases for exported and imported agricultural goods considering and application of management strategies.

Keywords : Thrips Cut Flowers Taxonomy

รหัสการทดลอง FF65-20-01-65-01-03-65

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาอนุกรมวิธานเพลี้ยไฟที่พบในไม้ดอก โดยการสำรวจรวบรวมและเก็บตัวอย่างเพลี้ยไฟในแหล่งปลูกไม้ดอกในจังหวัดชัยภูมิ นครราชสีมา ตาก เชียงใหม่ และเชียงราย ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 ถึงเดือนกันยายน 2565 นำตัวอย่างเพลี้ยไฟที่รวบรวมได้มาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพื่อตรวจจำแนกชนิด ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช สามารถเก็บรวบรวมเพลี้ยไฟได้ 140 ตัวอย่างและสามารถจำแนกชนิดเพลี้ยไฟได้ 5 ชนิด ซึ่งอยู่ในอันดับ Thysanoptera ได้แก่ เพลี้ยไฟดอกไม้ตะวันตก *Frankliniella occidentalis* เพลี้ยไฟดอกไม้ *Frankliniella schultzei* สำรวจพบในเบญจมาศและกุหลาบ เพลี้ยไฟขอบปล้องหยัก *Microcephalothrips abdominalis* เพลี้ยไฟดอกไม้ฮาวาย *Thrips hawaiiensis* สำรวจพบในดอกพิทูเนีย คอสมอส ผักเสี้ยนผี หงอนไก่ และเพลี้ยไฟดอกหน้าวัว *Chaetanaphothrips orchidii* สำรวจพบในดอกหน้าวัว ทำให้ทราบถึงชนิด ลักษณะการทำลาย เขตการแพร่กระจาย จัดทำแนวทางการวินิจฉัยชนิดและถ่ายภาพลักษณะสำคัญทางอนุกรมวิธานของเพลี้ยไฟทั้ง 5 ชนิด นำตัวอย่างเพลี้ยไฟจัดเก็บในพิพิธภัณฑ์แมลงพร้อมนำข้อมูลที่รวบรวมได้จัดทำฐานข้อมูลพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร สำหรับใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานประกอบการจัดทำรายชื่อชนิดแมลงศัตรูพืชรองรับปัญหาด้านการนำเข้าและส่งออกสินค้าเกษตร

คำหลัก : เพลี้ยไฟ ไม้ดอก อนุกรมวิธาน

คำนำ

ไม้ดอกเป็นกลุ่มพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจกลุ่มหนึ่งของประเทศไทย สามารถเพาะปลูกได้ในทุกพื้นที่ทั้งอากาศร้อนและอากาศเย็นโดยมีหลักการผลิตเพื่อใช้ภายในประเทศและสำหรับการส่งออก สามารถทำรายได้เข้าประเทศได้ปีละหลายร้อยล้านบาท แต่ในขณะเดียวกันก็มีการนำเข้าไม้ดอกจากต่างประเทศ เช่น จีน หรือสหภาพยุโรปเข้าสู่ประเทศไทยอย่างมากมายเช่นเดียวกัน ด้วยเหตุนี้จึงเป็นปัจจัยสำคัญที่ควรตระหนักถึงชนิดของศัตรูพืชรวมถึงขั้นตอนการตรวจวินิจฉัยชนิดของแมลงศัตรูพืชที่อาจติดไปกับสินค้า หรือแมลงศัตรูพืชที่อาจติดมาพร้อมกับสินค้านำเข้า โดยแมลงศัตรูพืชที่สำคัญของพืชในกลุ่มไม้ดอกที่สำคัญชนิดหนึ่ง คือ เพลี้ยไฟ ทั้งนี้เพลี้ยไฟเป็นกลุ่มแมลงปากดูดที่มีขนาดเล็กประมาณ 1-1.5 มิลลิเมตร ลงทำลายไม้ดอกรวมถึงพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศได้หลายชนิด สามารถหลบซ่อนบริเวณส่วนของกลีบดอก กลีบเลี้ยง หรือเกสรดอกไม้ นอกจากนี้ยังสามารถวางไข่ได้ภายในกลีบดอกหรือใบของพืชที่ถูกนำเข้าหรือส่งออกได้ หากประเทศปลายทางดำเนินการตรวจพบจะต้องมีการเผาทำลายและแจ้งเตือนมายังประเทศต้นทางให้ทราบถึงปัญหาการตรวจพบเพลี้ยไฟนั้นๆ โดยปัจจุบันในทุกภูมิภาคของประเทศไทยนิยมปลูกไม้ดอกเนื่องจากสามารถทำรายได้ตลอดทั้งปี การศึกษาชนิดของเพลี้ยไฟในไม้ดอกจึงมีความจำเป็นที่ต้องศึกษาเพื่อการรวบรวมข้อมูลชนิดของเพลี้ยไฟที่เป็นศัตรูสำคัญของไม้ดอกที่สำคัญของประเทศ ผลการศึกษาที่ได้สามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลในการประกอบการจำแนกชนิดของเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชในกรณีที่มีการนำเข้าไม้ดอกจาก

ต่างประเทศเข้ามาสู่ประเทศไทย เพื่อเป็นข้อมูลในการยืนยันและการระบุชนิดถึงเพลี้ยไฟบางชนิดที่เป็นศัตรูกักกันของประเทศไทย เช่น เพลี้ยไฟดอกแกลดิโอลัส (*Thrips simplex*) ที่เคยมีการสำรวจพบจากการนำเข้าดอกแกลดิโอลัสจากประเทศเมียนมาร์ ศิริณี และคณะ (2554) รวมถึงเพลี้ยไฟดอกไม้ตะวันตก (*Frankliniella occidentalis*) ซึ่งเป็นเพลี้ยไฟชนิดที่สำคัญและมักตรวจพบติดมากับไม้ดอกหลายชนิดที่นำเข้ามาจากประเทศจีนเสมอๆ การศึกษาอนุกรมวิธานเพลี้ยไฟที่พบในไม้ดอกของประเทศไทยจะทำให้ได้ข้อมูลเป็นประโยชน์ต่อการจำแนกชนิดเพลี้ยไฟอย่างถูกต้อง เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการตรวจจำแนกชนิดเพลี้ยไฟศัตรูกักกันที่อาจติดมากับสินค้านำเข้าช่วยให้ประเทศไทยปลอดจากเพลี้ยไฟศัตรูกักกันสำคัญที่อาจติดมากับสินค้าเกษตรนำเข้าในอนาคต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

ตัวอย่างเพลี้ยไฟที่รวบรวมได้จากแปลงปลูกไม้ดอก อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ สวิงจับแมลง ปากคีบ พู่กัน ขวดดอง กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก ถังรักษาความเย็น อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวร ได้แก่ สารเคมีต่างๆ เช่น น้ำกลั่น แอลกอฮอล์ 50-100% AGA โซเดียมไฮดรอกไซด์ 10% โคลฟออย แคนาดาบัลซัม เข็มเขี่ย แผ่นสไลด์แก้ว แผ่นแก้วปิดสไลด์ กล่องสไลด์ถาวร และ ตู้อบสไลด์ถาวร กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และ compound microscope ที่ติด camera lucida เป็นอุปกรณ์เสริมช่วยในการวาดภาพแมลงที่พบ กล้องถ่ายภาพ อุปกรณ์วาดภาพ ได้แก่ ปากกา rotring และกระดาษไขเขียนแบบ เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของเพลี้ยไฟ

วิธีการ

- การศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธาน

เก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยไฟในแหล่งปลูกไม้ดอก เช่น กุหลาบ เยอบีร่า เบญจมาศ มะลิ ดาวเรือง หน้าวัว กระเจียว บัวหลวง เป็นต้น ในแหล่งปลูกที่สำคัญในทุกภูมิภาคของประเทศไทย (โดยในปีงบประมาณ 2565 สำรวจในเขตภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคกลาง ปีงบประมาณ 2566 สำรวจในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันออก และภาคตะวันตก และ ปีงบประมาณ 2567 สำรวจในเขตภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคใต้) สำรวจโดยการสุ่มจำนวน 20 ต้นต่อหนึ่งแปลงตามวิธีการของ Funderburk *et. al.* (2019) และใช้วิธีการตีหรือเขย่าส่วนของพืช เช่น ใบ และดอกประมาณ 15 ครั้งเพื่อให้เพลี้ยไฟตกลงบนกระดาษขาวที่รองรับ และใช้พู่กันเขี่ยเพลี้ยไฟแต่ละตัวลงในขวดที่บรรจุน้ำยา AGA (Alcohol 60%: Glycerine: Acetic acid อัตราส่วน 10:1:1) สำหรับศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา บันทึกรายละเอียดของเพลี้ยไฟที่เก็บได้ เช่น พืชที่เก็บ ส่วนของพืชที่เก็บ สถานที่เก็บ ค่าพิกัดทางภูมิศาสตร์ (GPS) วันที่เก็บ และชื่อผู้เก็บ ลงในขวดดองเพลี้ยไฟ นำตัวอย่างทั้งหมดที่รวบรวมได้กลับไปยังห้องปฏิบัติการ โดยนำตัวเต็มวัยในน้ำยา AGA ไปทำสไลด์ถาวรตามวิธีการของศิริณี (2544) บันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยการถ่ายภาพใต้กล้องจุลทรรศน์ รวมถึงให้รายละเอียดบนแผ่นป้ายบันทึกของขวดดองตัวอ่อนและตัวเต็มวัย ได้แก่

ชื่อวิทยาศาสตร์ที่จำแนกได้ วัน/เดือน/ปี สถานที่เก็บตัวอย่าง และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง จัดทำแนวทางวินิจฉัยชนิด (key) ของเพลี้ยไฟที่รวบรวมได้ จัดเก็บตัวอย่างที่ได้ศึกษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากล

การบันทึกข้อมูล

พืชอาหาร สถานที่ พิกัดทางภูมิศาสตร์ (GPS) วันเดือนปีที่เก็บตัวอย่าง

เวลาและสถานที่ เดือน ตุลาคม 2564 ถึง เดือน กันยายน 2565

1. แปลงปลูกไม้ดอกในเขตภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคกลางของประเทศไทย

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง ห้องปฏิบัติการกลาง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างเพลี้ยไฟในแหล่งปลูกไม้ดอกในจังหวัดชัยภูมิ นครราชสีมา ตาก เชียงใหม่ และเชียงราย นำตัวอย่างเพลี้ยไฟที่รวบรวมได้มาศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานเพื่อตรวจจำแนกชนิด โดยใช้แนวทางการวินิจฉัยซึ่งปรับปรุงมาจาก Palmer *et. al*. (1989) และศิริณี (2544) ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช โดยสามารถเก็บตัวอย่างได้ 140 ตัวอย่าง และสามารถจำแนกชนิดเพลี้ยไฟวงศ์ Thripidae ได้ 5 ชนิด ซึ่งอยู่ในอันดับ Thysanoptera ได้แก่ เพลี้ยไฟดอกไม้ตะวันตก *Frankliniella occidentalis* เพลี้ยไฟดอกไม้ *Frankliniella schultzei* สำรวจพบในเบญจมาศและกุหลาบ เพลี้ยไฟขอบปล้องหยัก *Microcephalothrips abdominalis* เพลี้ยไฟดอกไม้ฮาวาย *Thrips hawaiiensis* สำรวจพบในดอกพิทูเนีย คอสมอส ผักเสี้ยนผี หงอนไก่ และเพลี้ยไฟดอกหน้าวัว *Chaetanaphothrips orchidii* โดยมีแนวทางการวินิจฉัยชนิดและลักษณะทางอนุกรมวิธานดังนี้

แนวทางการวินิจฉัยชนิดของเพลี้ยไฟที่พบในไม้ดอก

1 - Pronotum with a pair of long anteromarginal setae and an additional pair of small setae between the median posteromarginal setae Forewings clear; ocellar setae III close together within ocellar triangle but sometimes near anterior margin of posterior ocelli; abdominal tergitesV–VIII with paired ctenidia, these sometimes weakly developed on IV, on VIII anterolateral of spiracle.....**Genus *Frankliniella* 2**

- Pronotum without a pair of long anteromarginal setae and an additional pair of small setae between the median posteromarginal setae **3**

2 - Metanotum with paired of campaniform sensilla, sternites III to VII each with a small, transverse oval glandular area, most microtrichia absent from comb; body colour brown, yellow or bicoloured with pale head.....

.....***Frankliniella occidentalis* (Pergande)**

- Metanotum without paired campaniform sensilla, abdominal tergites VI–VIII with paired ctenidia, on VIII anterolateral to spiracle; posteromarginal comb weakly developed; Body color brown, yellow or bicoloured.....
.....***Frankliniella schultzei*** **(Trybom)**

3 – Fore wing pale with distinctive dark bands at base and medially. Tergal ctenidia absent even on VIII, microtrichia, when present, arranged in irregular groups.....
.....***Chaetanaphothrips orchidii*** **(Moulton)**

- Fore wing without distinctive dark bands, color yellow, pale and brown species. Abdominal tergite VIII with a pair of well developed ctenidia.....**4**

4 - Antennae 7-segmented; abdominal sternites with discal setae; pronotum with 5 to 6 pairs of posteromarginal setae; abdominal tergites with craspedum of triangular lobes on posterior margins .....***Microcephalothrips abdominalis*** **(Crawford)**

- Antennae 7- or 8-segmented; abdominal sternites with or without discal setae; Pronotum with 3-4 pairs of posteromarginal setae. Median metanotal setae usually situated at anterior margin with a pair of campaniform sensillae.....
.....***Thrips hawaiiensis*** **Morgan)**

เพลี้ยไฟดอกไม้ตะวันตก *Frankliniella occidentalis* (Pergande, 1895)

Euthrips occidentalis Pergande, 1895: 392., *Euthrips tritici* var. *californicus* Moulton, 1911: 16., *Euthrips helianthi* Moulton, 1911: 40., *Frankliniella tritici* var. *moultoni* Hood, 1914: 38., *Frankliniella nubila* Treherne, 1924: 84., *Frankliniella claripennis* Morgan, 1925: 142., *Frankliniella canadensis* Morgan, 1925: 143., *Frankliniella trehernei* Morgan, 1925: 144., *Frankliniella tritici maculata* Priesner, 1925: 15., *Frankliniella occidentalis* f. *brunnescens* Priesner,1932: 182., *Frankliniella occidentalis* f. *dubia* Priesner, 1932: 182., *Frankliniella venusta* Moulton, 1936: 172., *Frankliniella conspicua* Moulton, 1936: 173., *Frankliniella chrysanthemi* Kurosawa, 1941: 173., *Frankliniella dahliae* Moulton, 1948: 97., *Frankliniella dianthi* Moulton, 1948: 98., *Frankliniella syringae* Moulton, 1948: 98., *Frankliniella umbrosa* Moulton, 1948: 105

ลำตัว (Body) ขนาดใหญ่ ลำตัวสีน้ำตาลเหลือง (Figure 1-A) เพศผู้ขนาดลำตัวยาวเฉลี่ย 1.08 – 1.10 มิลลิเมตร (n=20) เพศเมียขนาดลำตัวยาวเฉลี่ย 1.20 – 1.45 มิลลิเมตร (n=20) เพศเมียมีปีกขนาดใหญ่

หัว (Head) ส่วนหัวกว้างกว่าความยาว มีหนวด 8 ปล้อง ปล้องหนวดปล้องที่ 3 และ 4 มีสีเหลืองและมีสีน้ำตาลตอนปลาย และเป็นที่ตั้งของอวัยวะรับความรู้สึกรูปส้อม ปล้องหนวดปล้องที่

8 ยาวกว่าปล้องที่ 7 มีขนบริเวณตาเดี่ยว 3 คู่ ขนตาเดี่ยวคู่ที่ 3 อยู่ด้านในของตาเดี่ยวที่เรียงตัวเป็นรูปสามเหลี่ยม (Fig. 1-C) และยาวกว่าระยะห่างขอบนอกตาเดี่ยวกับตาเดี่ยวคู่หลัง

อก (Thorax) ส่วนของอกปล้องแรกมีขนาดใหญ่ มีขนยาวตั้งอยู่บริเวณขอบบนและล่างของอกปล้องแรกรวม 5 คู่ ขนที่บริเวณมุมขอบบนยาวกว่าขนที่อยู่ถัดเข้ามาตรงกลางส่วนบนของอกปล้องแรก ปรากฏขนสั้น 1 คู่ที่บริเวณส่วนกลางของขอบอก (Fig. 1-D) สันหลังอกปล้องสุดท้ายมีขนยาวสองเส้นอยู่ที่ขอบด้านบน ปรากฏรูรับความรู้สึก (Fig. 1-E) ปีกคู่หน้าสีเหลืองและมีเส้นขนปีกสีด และมีการเรียงตัวของเส้นขนกันอย่างสมบูรณ์

ท้อง (Abdomen) ด้านบนปล้องท้องเกือบทุกปล้องมีแถบสีน้ำตาลบริเวณส่วนกลางของปล้องท้อง (Fig. 1-B) บริเวณด้านข้างของปล้องท้องปล้องที่ 5-8 มีเส้นขนขนาดเล็กเรียงตัวกันหนาแน่นและพบเส้นขนเรียงตัวเป็นรูปหวีที่บริเวณด้านข้างปล้องท้อง ลักษณะพิเศษรูปฟันที่ด้านล่างของขอบท้องปล้องที่ 8 พัฒนาสมบูรณ์ (Fig. 1-F)

เพศผู้ มีขนาดเล็กและมีสีลำตัวอ่อนกว่าเพศเมีย ด้านบนปล้องท้องปล้องที่ 8 ไม่มีเส้นขนรูปหวี ส่วนท้ายของปล้องท้องปล้องที่ 9 มีเส้นขนยาวและแผ่นแข็งด้านล่างของส่วนท้องปล้องที่ 3-7 มีร่องหลุมตามแนวขวาง

เพลี้ยไฟดอกไม้ตะวันตกมีอัตราการแปรผันทางลักษณะทางสัณฐานวิทยาทั้งในเรื่องรูปร่างขนาด และสีของลำตัวค่อนข้างมาก จึงเป็นเหตุให้เพลี้ยไฟดอกไม้ตะวันตกมีชื่อพ้อง (Synonym) จำนวนมาก และเกิดความสับสนในการจำแนกชนิด แต่อย่างไรก็ตามเพลี้ยไฟดอกไม้ตะวันตกมีความคล้ายคลึงกับ *F. Intonsa* โดยแตกต่างกันตรงที่บริเวณเส้นขนคู่สุดท้ายหลังตาเดี่ยวของ *F. Intonsa* จะมีขนาดยาวกว่าเพลี้ยไฟดอกไม้ตะวันตก

ความสำคัญ เพลี้ยไฟดอกไม้ตะวันตกเข้าทำลายไม้ตัดดอก กิ่งชำของพืชเมืองหนาวเกือบทุกชนิดในประเทศไทยพบเข้าทำลายไม้ดอกทุกชนิดที่ปลูกบนดอยอินทนนท์ และเกิดการระบาดอย่างรุนแรงมาตั้งแต่ปี พ.ศ.2540 ส่วนในประเทศญี่ปุ่นพบเป็นศัตรูสำคัญของพืชหลายชนิดที่ปลูกในโรงเรือน และเพลี้ยไฟชนิดนี้ยังเป็นพาหะนำโรคมาสู่ไม้ดอกพวกเบญจมาศ

พืชอาหาร กุหลาบพันปี กุหลาบ กุหลาบหิน แอฟริกันไวโอเลต เจอราตุ้ม เจอราเนียม เทียนราชินี บีโกเนีย ผีเสื้อ ไฮเดรนเยีย เยอบีร่า เบญจมาศ ฟรีเซีย พิทูเนีย โคมญี่ปุ่น เสี้ยนฝรั่ง กาลิซัม ดอกไม้จีน กล็อกซิเนีย อคาเพนทัส ซัลเวีย ลำโพง หน้าวัว บานไม่รู้โรย บัวตอง ดอกไข่ดาว ดอกจานขาว หลิวไต้หวัน คื่นฉ่าย บวบญี่ปุ่น กะทกรก มะเขือเทศ ผักชีลาว พริกหวาน พริก สตรอเบอรรี่ ท้อ

เขตการแพร่กระจาย ปัจจุบันสามารถพบได้ทั่วโลกโดยเฉพาะในเขตหนาว

เพลี้ยไฟดอกไม้ *Frankliniella schultzei* (Trybom, 1910)

Physopus schultzei Trybom 1910: 151., *Euthrips gossypii* Shiraki 1912: 56., *Frankliniella schultzei* Karny 1912: 334., *Frankliniella sulphurea* Schmutz 1913: 1018-1019.

ลำตัว ขนาดใหญ่ มีทั้งสีเหลืองอ่อนและสีน้ำตาลเข้ม (Fig. 2-A, 2-B) เพศผู้ขนาดลำตัวยาวเฉลี่ย 1.05 – 1.15 มิลลิเมตร (n=20) เพศเมียขนาดลำตัวยาวเฉลี่ย 1.15 – 1.45 มิลลิเมตร (n=20) เพศเมียมีปีกขนาดใหญ่

หัว ส่วนหัวกว้างกว่าความยาว มีหนวด 8 ปล้อง ปล้องหนวดปล้องที่ 3 และ 4 มีสีเทาอ่อนที่บริเวณตอนต้น มีสีเทาเข้มที่ตอนปลาย และเป็นที่ตั้งของอวัยวะรับความรู้สึกรูปส้อม ปล้องหนวดปล้องที่ 6 ถึง 8 มีสีน้ำตาล ปล้องหนวดปล้องที่ 8 ยาวกว่าปล้องที่ 7 มีขนบริเวณตาเดี่ยว 3 คู่ ขนตาเดี่ยวคู่ที่ 3 อยู่ด้านในของตาเดี่ยวที่เรียงตัวเป็นรูปสามเหลี่ยม (Fig. 2-C) และยาวเท่ากับระยะห่างของตาเดี่ยวทั้ง 3 ขนตาเดี่ยวด้านข้างอกปล้องแรกยาวเท่ากับความห่างของตาเดี่ยวที่ในส่วนฐาน

อก ส่วนของอกปล้องแรกมีขนาดใหญ่ มีขนยาวตั้งอยู่บริเวณขอบบนและล่างของอกปล้องแรกรวม 5 คู่ ขนที่บริเวณมุมขอบบนยาวกว่าขนที่อยู่ถัดเข้ามาตรงกลาง ปรากฏขนสั้น 1 คู่ที่บริเวณส่วนกลางของขอบอก (Fig. 2-D) สันหลังอกปล้องสุดท้ายมีขนยาวสองเส้นอยู่ที่ขอบด้านบน ไม่มีรูรับความรู้สึก (Fig. 2-E) ปีกคู่หน้าขาว โปร่งแสง และมีการเรียงตัวของเส้นขนกันอย่างสมบูรณ์ ขามีสีเดียวกับลำตัว ส่วนของปลายขามี 2 ปล้อง

ท้อง ส่วนท้องด้านบนของลำตัวปล้องที่ 6 ถึง 8 มีกลุ่มขนเรียงตัวกันเป็นเส้น ปล้องละ 1 คู่ ตำแหน่งการเรียงตัวอยู่บนรูหายใจที่บริเวณขอบด้านนอกของส่วนท้อง ลักษณะพิเศษรูปฟันที่ด้านล่างของขอบท้องปล้องที่ 8 ไม่พัฒนามาก (Fig. 2-F) ส่วนท้องปล้องที่ 3 มีขนที่ปลายของส่วนท้อง และส่วนท้องด้านล่างของลำตัวปล้องที่ 3 ถึง 7 ไม่มีเส้นขนที่ตั้งอยู่ตรงกลางส่วนท้อง และมีเส้นขนละเอียด (microtrichia) อยู่ที่บริเวณด้านล่างของปล้องท้องเล็กน้อย

เพลี้ยไฟดอกไม้ (common blossom thrips) มีความแปรผันภายในประชากรซึ่งสามารถพบได้ทั้งลำตัวสีเหลืองและลำตัวสีน้ำตาลโดยสีน้ำตาลมีปริมาณน้อยกว่า อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าเพลี้ยไฟดอกไม้ที่มีลำตัวสีเหลืองไม่สามารถเป็นพาหะนำโรคเหี่ยวในพริกได้เหมือนเพลี้ยไฟดอกไม้ลำตัวสีน้ำตาล

ความสำคัญ เพลี้ยไฟดอกไม้เข้าทำลายพืชได้หลายชนิด อาทิ ข้าวฟ่าง ถั่วลิสง ฝ้าย พริก หอมใหญ่ และไม้ดอกหลายชนิด โดยจะทำลายใบอ่อนและดอก ตั้งแต่ระยะยังเป็นตุ่มตา นอกจากนี้ยังเป็นพาหะนำโรคมาสู่พืชตระกูลถั่ว ทั้งนี้สามารถพบได้ในมีการระบาดของเพลี้ยไฟฝ้าย (*Thrips palmi* Karny) และ เพลี้ยไฟพริก (*Scirtothrips dorsalis* Hood) (Palmer *et al*., 1989)

พืชอาหาร ทานตะวัน พู่ม่วง พุดแอฟริกัน มะลิ บัว ดาวเรือง กล้วยไม้ กุหลาบ โป๊ยเซียน จำปา งวงช้าง ถั่วลิสง หน่อไม้ฝรั่ง ข้าวโพด พริก หอมหัวใหญ่ มะเขือยาว แตงไทย ฟักทอง กะเพรา มะเขือเทศ แฟง มะระ แตงกวา กวางตุ้ง กระเจี๊ยบ งา แตงเทศ ผักชีลาว โหระพา มะม่วง องุ่น แตงโม มะม่วงหิมพานต์ มังคุด

เขตการแพร่กระจาย ทวีปเอเชีย บังกลาเทศ อินเดีย อินโดนีเซีย อิสราเอล อิหร่าน อิรัก มาเลเซีย ปากีสถาน ฟิลิปปินส์ ศรีลังกา ไต้หวัน ไทย เยเมน ทวีปแอฟริกา แคมารูน อียิปต์ เอทิโอเปีย แกมเบีย

กานา เคนยา มาดากัสกา โมรอคโค นามิเบีย ไนจีเรีย ทวีปยุโรป อิตาลี เนเธอแลนด์ ออสเตรีย ทวีปอเมริกาใต้ บราซิล อาร์เจนติน่า ชิลี

เพลี้ยไฟดอกหน้าวัว *Chaetanaphothrips orchidii* (Moulton, 1907)

Euthrips orchidii Moulton, 1907: 52., *Euthrips marginemtorquens* Karny, 1914: 362

ลำตัว ขนาดเล็ก ลำตัวและขาสีเหลือง (Fig. 3-A) เพศผู้ขนาดลำตัวยาวเฉลี่ย 1.00 – 1.10 มิลลิเมตร (n=20) เพศเมียขนาดลำตัวยาวเฉลี่ย 1.20 – 1.25 มิลลิเมตร (n=20) เพศเมียมีปีกขนาดใหญ่

หัว ส่วนหัวกว้างกว่าความยาว มีหนวด 8 ปล้อง ปล้องหนวดปล้องที่ 3 และ 4 เป็นที่ตั้งของอวัยวะรับความรู้สึกรูปส้อมที่มีความยาว หนวดปล้องที่ 5-6 มีสีน้ำตาลที่ส่วนปลาย หนวดปล้องที่ 8 ยาวเป็น 6 เท่าของความกว้าง ไม่มีขนตาเดี่ยวคู่แรก ขนตาเดี่ยวคู่ที่ 3 มีขนาดเล็กและตั้งอยู่ภายในตาเดี่ยวที่เรียงตัวเป็นรูปสามเหลี่ยม (Fig. 3-B)

อก ส่วนของอกปล้องแรกมีขนาดใหญ่ มีขนขนาดเล็กที่บริเวณมุมขอบล่างของอกปล้องแรก 2 คู่ ขนคู่ด้านนอกสั้นกว่าความกว้างของหนวดปล้องที่ 3 สันหลังอกปล้องสุดท้ายมีลวดลายแบบร่างแหเล็กน้อย เส้นขนยาว 2 เส้นปรากฏด้านล่างของขอบสันหลังอกปล้องสุดท้ายและมีรูรับความรู้สึก (Fig. 3-C) ปีกคู่หน้ายาว โคนปีกและกลางปีกมีสีเข้มสลับกับสีขาว และมีการเรียงตัวของเส้นปีกบริเวณโคนปีก 3 เส้น บางเส้นขนที่ส่วนปลายปีกมีลักษณะเป็นลอนคลื่น

ท้อง แผ่นแข็งด้านบนปล้องท้องมีลวดลายขรุขระขวางลำตัว ขอบด้านล่างของส่วนท้องด้านบนมีแผ่นแข็งยื่นออกมาสมบูรณ์ ปล้องท้องด้านบนปล้องที่ 8 มีลักษณะคล้ายแผ่นล้อมรอบรูหายใจจนถึงมุมบนของปล้อง (Fig. 3-D) แผ่นแข็งด้านล่างลำตัวปล้องที่ 3-4 มีแผ่นแข็งวงรีขนาดใหญ่เรียงต่อกัน

เพศผู้ ยังไม่มีการศึกษา

เพลี้ยไฟสกุล *Chaetanaphothrips* มีรายงานทั่วโลกประมาณ 20 ชนิด ส่วนใหญ่พบในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ แต่ปัจจุบันสามารถพบได้ทั่วโลก ทั้งนี้เพลี้ยไฟดอกหน้าวัว *C. orchidii* มีลักษณะคล้ายคลึงกลับเพลี้ยไฟกล้วย (*C. signipennis*) แต่มีลักษณะที่แตกต่างคือ เพลี้ยไฟดอกหน้าวัวจะมีเส้นขนที่ปลายขอบล่างของอกปล้องแรกจำนวน 2 คู่ ในขณะที่เพลี้ยไฟกล้วยจะมีเส้นขนบริเวณดังกล่าวเพียง 1 คู่

ความสำคัญ เพลี้ยไฟดอกหน้าวัวมีชื่อสามัญว่า Anthurium thrips เป็นแมลงศัตรูสำคัญของดอกหน้าวัว กล้วย และกล้วยไม้ ปัจจุบันพบจำนวนมากขึ้นในพืชที่ปลูกในโรงเรือน เช่น ผักไฮโดรโพนิกส์

พืชอาหาร ดอกหน้าวัว กล้วยไม้ กล้วย เงาะ

เขตการแพร่กระจาย ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้

เพลี้ยไฟขอบปล้องหยัก *Microcephalothrips abdominalis* (Crawford, 1910)

Thrips abdominalis Crawford DL, 1910: 157., *Thrips femoralis* Jones, 1912: 4., *Thrips crenatus* Watson, 1922: 35., *Thrips microcephalus* Priesner, 1923: 116., *Thrips* (*Ctenothripiella*) *gillettei* Moulton, 1926: 126., *Thrips oklahomae* Watson, 1931: 342.,

Microcephalothrips armatus Ananthakrishnan, 1956: 133., *Aureothrips marigoldae* Raizada, 1966: 278., *Stylothrips brevipalpis* Karny, 1927: 206., *Paraphysopus burnsi* Girault. 1927: 2., *Microcephalothrips chinensis* Feng, Nan & Guo, 1998: 257., *Microcephalothrips jigongshanensis* Feng, Nan & Guo, 1998: 258., *Microcephalothrips yanglingensis* Feng, Zhang & Sha, 2002: 167

ลำตัว ขนาดเล็ก ลำตัวสีน้ำตาล ปลายแข้งและปลายขามีสีเหลือง ทั้งเพศผู้และเพศเมียมีปีกเจริญดีหรือมีปีกสั้นกว่าความกว้างของอก (Fig. 4-A) เพศผู้ขนาดลำตัวยาวเฉลี่ย 1.05 – 1.10 มิลลิเมตร (n=20) เพศเมียขนาดลำตัวยาวเฉลี่ย 1.15 – 1.20 มิลลิเมตร (n=20) เพศเมียมีปีกขนาดใหญ่

หัว ส่วนหัวมีขนาดเล็กและกว้างกว่าความยาว มีหนวด 7 ปล้อง หนวดปล้องที่ 3 มีสีเหลือง ปล้องหนวดปล้องที่ 3 และ 4 เป็นที่ตั้งของอวัยวะรับความรู้สึกรูปส้อมขนาดเล็ก มีขนตาเดี่ยว 2 คู่ ขนตาเดี่ยวคู่ที่ 3 มีขนาดเล็กและตั้งอยู่ด้านบนของตาเดี่ยวที่เรียงตัวกันเป็นรูปสามเหลี่ยม

อก ส่วนของอกปล้องแรกมีขนาดใหญ่กว่าหัว ขอบอกปล้องแรกด้านล่างกว้างกว่าขอบอกด้านบน (Fig. 4-B) มีเส้นขนสั้นที่บริเวณมุมขอบล่างของอกปล้องแรก 2 คู่ และมีขนบริเวณส่วนท้ายอกปล้องแรก 5 คู่ สันหลังอกปล้องสุดท้ายมีลวดลายขวางแบบร่างแหแบบเส้นยาว และมีลวดลายเหมือนวงกลมที่ขอบด้านล่างของอกปล้องสุดท้ายๆ เส้นขนยาว 2 เส้นปรากฏด้านล่างของขอบสันหลังอกปล้องสุดท้ายและมีรูรับความรู้สึก (Fig. 4-C) ปีกคู่หน้าสีน้ำตาล และมีการเรียงตัวของเส้นปีกบริเวณโคนปีก 3 เส้น ปีกคู่หน้ามีเส้นขน 3 เส้นบริเวณกึ่งกลางปีก

ท้อง แผ่นแข็งด้านบนลำตัวมีแผ่นแข็งรูปสามเหลี่ยมยื่นออกมาบริเวณขอบล่างของปล้องท้องบริเวณกลางจนถึงปลายปล้องท้องไม่มีลวดลายร่างแห แผ่นแข็งด้านบนของลำตัวปล้องที่ 5-8 มีการเรียงตัวของเส้นขนปล้องละ 1 คู่ ด้านล่างของปล้องท้องปล้องที่ 8 มีเส้นขนยาวขนาดเล็กบริเวณฐานของด้านข้าง แผ่นแข็งด้านล่างของส่วนท้องมีเส้นขนเรียงกันที่บริเวณกลางปล้อง 2 แถว (Fig. 4-D)

เพศผู้ ลำตัวสีเหลืองและมีขนาดเล็กกว่าเพศเมีย

เพลี้ยไฟขอบปล้องหยัก (Composite thrips) มีความคล้ายคลึงกับเพลี้ยไฟสกุล *Thrips* แต่จะมีลักษณะความแตกต่างกันอย่างเด่นชัดที่บริเวณด้านบนของปลายส่วนท้องจะมีแผ่นแข็งรูปสามเหลี่ยมยื่นออกมาจากปลายส่วนท้อง และส่วนหัวจะมีขนาดเล็กกว่าอกปล้องแรกอย่างเห็นได้ชัด

ความสำคัญ เพลี้ยไฟขอบปล้องหยัก ในประเทศไทยพบเพียง 1 ชนิด คือ *Microcephalothrips abdominalis* Crawford พืชที่พบ ได้แก่ หน่อไม้ฝรั่ง กะเพรา ถั่วลิสง ข้าวสาลี พริก ทุเรียน มังคุด และไม้ดอกไม้ประดับหลายชนิด

พืชอาหาร กุหลาบ บาร์เลย์ เบญจมาศ ดาวเรือง ดาวเรืองแอฟริกัน ถั่วลิสง ทานตะวัน ทุเรียน ผักชี ผักชีฝรั่ง พริก พิทูเนีย มังคุด เยอบีร่า หน่อไม้ฝรั่ง

เขตการแพร่กระจาย เพลี้ยไฟขอบปล้องหยักพบแพร่กระจายในสหรัฐอเมริกาและพบทั่วโลกในเขตร้อนและประเทศใกล้เขตร้อน

เพลี้ยไฟดอกไม้ฮาวาย *Thrips hawaiiensis* (Morgan, 1913)

Euthrips hawaiiensis Morgan, 1913: 3, *Physothrips emersoni* Girault, 1927a: 2, *Thrips io* Girault, 1927d: 351, *Thrips partirufus* Girault, 1927c: 1, *Thrips lacteicolor* Girault, 1928a: 2, *Physothrips marii* Girault, 1928b: 2, *Physothrips mjobergi* darci Girault, 1930: 1

ลำตัว ขนาดเล็ก ลำตัวสีน้ำตาลเข้ม หรือส่วนหัวและอกสีเหลืองส้ม ส่วนท้องสีน้ำตาล (Fig. 5-A, 5-B) เพศผู้ขนาดลำตัวยาวเฉลี่ย 1.10 – 1.15 มิลลิเมตร (n=20) เพศเมียขนาดลำตัวยาวเฉลี่ย 1.20 – 1.25 มิลลิเมตร (n=20) เพศเมียมีปีกขนาดใหญ่

หัว ส่วนหัวกว้างกว่าความยาว หนวดสีน้ำตาลอ่อน 7-8 ปล้อง หนวดปล้องที่ 3 สีเหลือง ปล้องหนวดปล้องที่ 3 และ 4 เป็นที่ตั้งของอวัยวะรับความรู้สึกรูปส้อม ปรากฏขนบริเวณตาเดี่ยว 3 คู่ อยู่ด้านนอกของตาเดี่ยวที่เรียงตัวเป็นรูปสามเหลี่ยม (Fig. 5-C) ขนตาเดี่ยวบริเวณท้ายส่วนหัวมีความยาวใกล้เคียงกับขนตาเดี่ยวคู่ที่ 3

อก ส่วนของอกปล้องแรกมีขนาดใหญ่ มีขนยาวตั้งอยู่บริเวณมุมขอบล่างของอกปล้องแรก 2 คู่ และมีขนบริเวณส่วนท้ายอกปล้องแรก 3 คู่ (Fig. 5-D) สันหลังอกปล้องสุดท้ายมีลวดลายขวางแบบร่างแหที่บริเวณขอบด้านบน และเป็นเส้นตรงแบบห่างมุ่งสู่ขอบด้านล่างของอกปล้องสุดท้ายๆ เส้นขนยาว 2 เส้นปรากฏบนขอบสันหลังอกปล้องสุดท้ายและมีรูรับความรู้สึก (Fig. 5-E) ปีกคู่หน้าขาวโปร่งแสง และมีการเรียงตัวของเส้นปีกบริเวณโคนปีก 3 เส้นและเส้นปีกรองสั้นกว่าเส้นปีกบริเวณปลายปีก ขามีสีเดียวกับลำตัว ส่วนของปลายขามี 2 ปล้อง

ท้อง ปล้องท้องปล้องที่ 2 มีขนด้านข้าง 2 คู่ เส้นขนรูปหวีที่ด้านล่างของขอบท้องปล้องที่ 8 พัฒนาสมบูรณ์แต่มีขนาดสั้น (Fig. 5-F) ส่วนท้องด้านล่างของลำตัวปล้องที่ 3 ถึง 7 ปรากฏเส้นขนกระจายทั่วท้องประมาณ 12-25 เส้น

เพศผู้ มีขนาดเล็กกว่าเพศเมีย ลำตัวสีน้ำตาล

เพลี้ยไฟดอกไม้ฮาวาย (Hawaiian thrips) มีลักษณะคล้ายคลึงกลับเพลี้ยไฟมะละกอ (*Thrips parvispinus* Karny) และเพลี้ยไฟหลากสี (*Thrips coloratus* Schmutz) เพลี้ยไฟทั้งสามชนิดนี้มีส่วนหัวและอกเป็นสีส้มเหลือง และส่วนท้องสีน้ำตาล แต่มีลักษณะที่แตกต่างคือ เพลี้ยไฟมะละกอจะไม่ปรากฏรูรับความรู้สึกที่บริเวณสันหลังอกปล้องสุดท้าย และเพลี้ยไฟหลากสีจะมีเส้นขนปรากฏด้านล่างของขอบบนสันหลังอกปล้องสุดท้ายและมีรูรับความรู้สึก

ความสำคัญ เพลี้ยไฟดอกไม้ฮาวาย สีน้ำตาลหรือน้ำตาลปนส้ม โดยมีส่วนอกสีน้ำตาลอ่อนปนส้มหรือสีส้ม ส่วนท้องสีน้ำตาลเข้ม พบเข้าทำลายส่วนดอกของพืชหลายชนิด เช่น กุหลาบ บัว พุด มะม่วง ส้มโอ เนคทาลีน กล้วย เป็นต้น ทั้งนี้สามารถพบได้ในมีการระบาดของเพลี้ยไฟฝ้าย *(Thrips palmi* (Karny)) และ เพลี้ยไฟพริก (*Scirtothrips dorsalis* Hood) (Palmer *et al*., 1989)

พืชอาหาร ข้าวโพด มะเขือ หน่อไม้ฝรั่ง พริก กวางตุ้ง สะเดา กระถิน กระเจี๊ยบเขียว กุหลาบ ดาวเรือง เข็มขาว บานชื่น ดาวกระจาย พุทธรักษา ลำโพง ยี่โถ พุดสามสี ทานตะวัน บัว ว่านสี่ทิศ

ปาล์ม มะคาเดเมีย ส้มโอ ส้มเขียวหวาน มังคุด ลองกอง ลำไย เงาะ ทุเรียน ลิ้นจี่ กล้วย กระท้อน ฝรั่ง มะยม มะละกอ มะม่วง มะม่วงหิมพานต์ ไผ่

เขตการแพร่กระจาย เพลี้ยไฟดอกไม้ฮาวายสามารถพบได้ทั้งในแถบเอเชียและแปซิฟิค มีรายงานการพบทางตอนใต้ของสหรัฐอเมริกา และจาไมก้า เพลี้ยไฟดอกไม้ฮาวายมีทั้งชนิดสีอ่อนและสีเข้ม ทั้งนี้ชนิดที่มีสีเข้มมีรายงานว่าเป็นพาหะนำโรค Tosopovirus ในพืชตระกูลแตง (Wang *et al*., 2010)

การศึกษานี้ทำให้ทราบถึงชนิดของเพลี้ยไฟที่เป็นศัตรูสำคัญในไม้ดอกในเขตภาคเหนือภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย และสามารถใช้เป็นข้อมูลประกอบการจำแนกชนิดเพลี้ยไฟที่ติดมากับสินค้าเกษตรนำเข้าและส่งออก และสามารถนำเทคนิควิธีการศึกษามาประยุกต์ใช้เพื่อพัฒนาวิธีการจำแนกชนิดเพลี้ยไฟหรือแมลงชนิดอื่นๆ อีกทั้งยังสามารถเผยแพร่วิธีการและผลการศึกษาให้กับเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชสำหรับใช้ตรวจวินิจฉัยชนิดเพลี้ยไฟ ช่วยลดระยะเวลาการกักเก็บสินค้าเพื่อตรวจสอบ และสามารถป้องกันชนิดแมลงศัตรูพืชสำคัญที่ติดมากับสินค้านำเข้าได้ทันต่อเหตุการณ์

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาอนุกรมวิธานเพลี้ยไฟที่พบในไม้ดอก โดยการสำรวจรวบรวมและเก็บตัวอย่างเพลี้ยไฟในแหล่งปลูกไม้ดอกในจังหวัดชัยภูมิ นครราชสีมา ตาก เชียงใหม่ และเชียงราย ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 ถึงเดือนกันยายน 2565 นำตัวอย่างเพลี้ยไฟที่รวบรวมได้มาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพื่อตรวจจำแนกชนิด ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช สามารถเก็บรวบรวมเพลี้ยไฟได้ 140 ตัวอย่างและสามารถจำแนกชนิดเพลี้ยไฟได้ 5 ชนิด ซึ่งอยู่ในอันดับ Thysanoptera ได้แก่ เก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยไฟในจังหวัดชัยภูมิ นครราชสีมา ตาก และเชียงใหม่ ได้ 140 ตัวอย่าง ดำเนินการจัดรูปร่างและวิเคราะห์ชนิด สามารถจำแนกชนิดเพลี้ยไฟได้ 5 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยไฟดอกไม้ตะวันตก *Frankliniella occidentalis* เพลี้ยไฟดอกไม้ *Frankliniella schultzei* สำรวจพบในเบญจมาศและกุหลาบ เพลี้ยไฟขอบปล้องหยัก *Microcephalothrips abdominalis* เพลี้ยไฟดอกไม้ฮาวาย *Thrips hawaiiensis* สำรวจพบในดอกพิทูเนีย คอสมอส ผักเสี้ยนผี หงอนไก่ และเพลี้ยไฟดอกหน้าวัว *Chaetanaphothrips orchidii* สำรวจพบในดอกหน้าวัว ทำให้ทราบถึงชนิด ลักษณะการทำลาย เขตการแพร่กระจาย จัดทำแนวทางการวินิจฉัยชนิดและถ่ายภาพลักษณะสำคัญทางอนุกรมวิธานของเพลี้ยไฟทั้ง 5 ชนิด นำตัวอย่างเพลี้ยไฟจัดเก็บในพิพิธภัณฑ์แมลงพร้อมนำข้อมูลที่รวบรวมได้จัดทำฐานข้อมูลพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร สำหรับใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานประกอบการจัดทำรายชื่อชนิดแมลงศัตรูพืชรองรับปัญหาด้านการนำเข้าและส่งออกสินค้าเกษตร สำหรับใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานประกอบการจัดทำรายชื่อชนิดแมลงศัตรูพืชรองรับปัญหาด้านการนำเข้าและส่งออกสินค้าเกษตรตลอดจนใช้ในด้านการกักกันพืช ซึ่งเป็นไปตามมาตรการด้านสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measure: SPS Agreement) ขององค์การการค้าโลก (WTO) ที่ประเทศสมาชิกรวมทั้งประเทศไทยจะต้องใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืชเพื่อปกป้อง

สุขภาพมนุษย์ สัตว์ พืชและสิ่งแวดล้อม (อรุณี, 2543) และใช้เป็นข้อมูลสำหรับตรวจสอบความถูกต้องนำไปใช้อ้างอิงทางวิชาการสำหรับงานอนุกรมวิธานและงานกีฏวิทยาด้านอื่นๆ ทั้งนี้สามารถถ่ายทอดเทคนิคให้กับบุคลากรที่เกี่ยวข้องกับการปฏิบัติงานได้ในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

ศิริณี พูนไชยศรี. 2544. เพลี้ยไฟ. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 75 หน้า.

ศิริณี พูนไชยศรี ชลิดา อุณหวุฒิ ลักขณา บำรุงศรี สุนัดดา เชาวลิต ชฎาภรณ์ เฉลิมวิเชียรพร เกศสุดา ปวนมณี. 2554. แมลงปากดูดชนิดที่สำคัญของประเทศไทย. เอกสารวิชาการประจำปี 2554. กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. 142 หน้า.

อรุณี วงษ์กอบรัษฎ์. 2543. การจัดทำบัญชีรายชื่อแมลง ไร และสัตว์ศัตรูพืช. เอกสาร ประกอบการบรรยายพิเศษการประชุมสัมมนา เรื่อง “การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช (Pest List) และการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis) เพื่อการนำเข้าและส่งออกสินค้าเกษตร” วันที่ 26 กันยายน 2543 ณ โรงแรมมิราเคิลแกรนด์ คอนเวนชั่น กรุงเทพฯ.

Funderburk, J., X. Martini, J. Freeman, I. Strzyzewski, E. Traczyk, T. Skarlinsky and S. Adkins. 2019. Sampling for Estimating *Frankliniella* Species Flower Thrips and *Orius* Species Predators in Field Experiments. J. Vis. Exp. (149).

Palmer, J. M., L. A. Mound and G. J. du Heaume. 1989. (ed.). CIE Guides to Insects of Importance to Man: 2. Thysanoptera. C. A. B International Institute of Entomology.

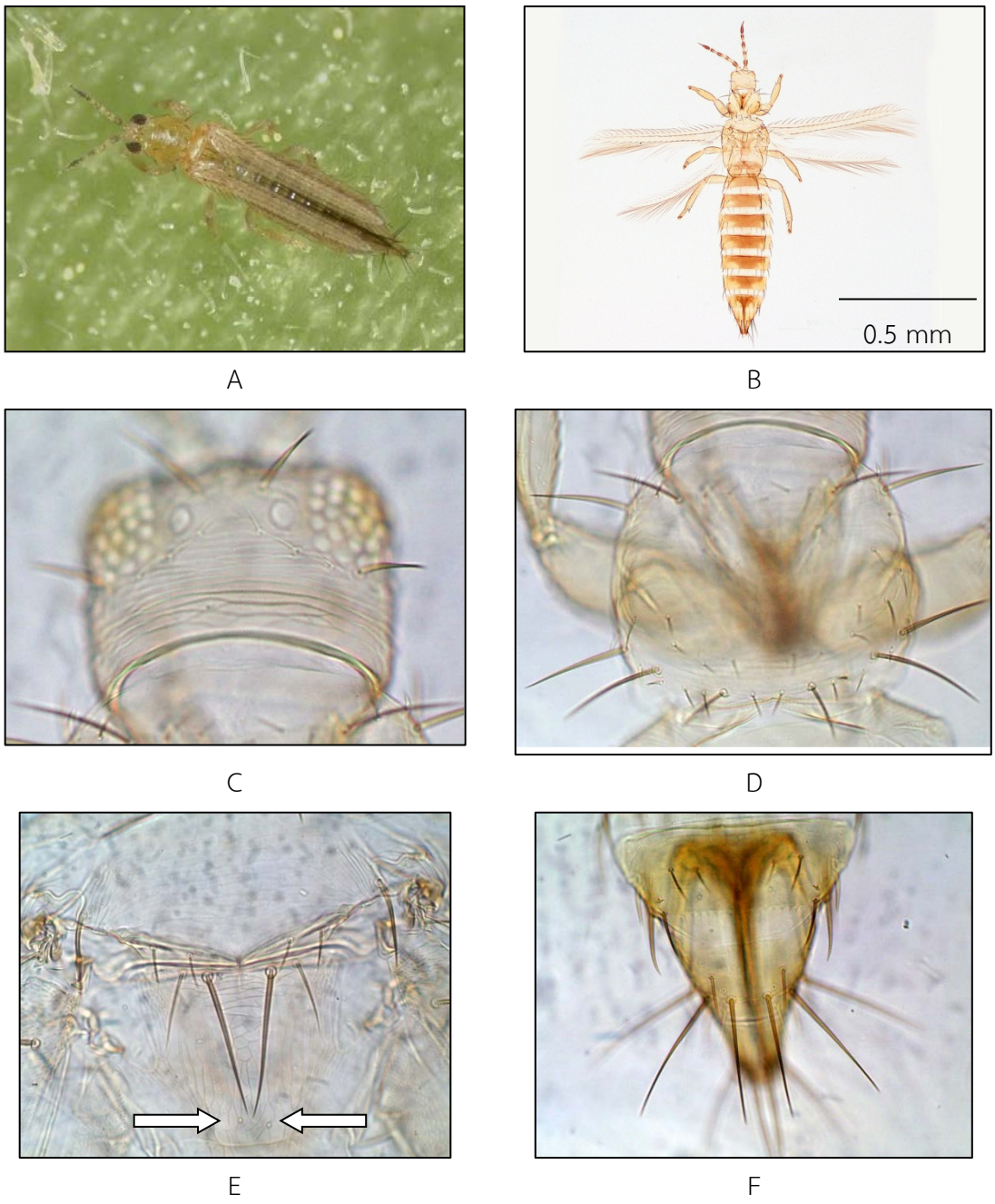


Figure 1 Morphology of Western flower thrips; *Frankliniella occidentalis* (Pergande)

A. Adult
B. Slide permanent
C. Head
D. Pronotum
E. Metanotum with paired of campaniform sensilla
F. Abdominal tergite VIII

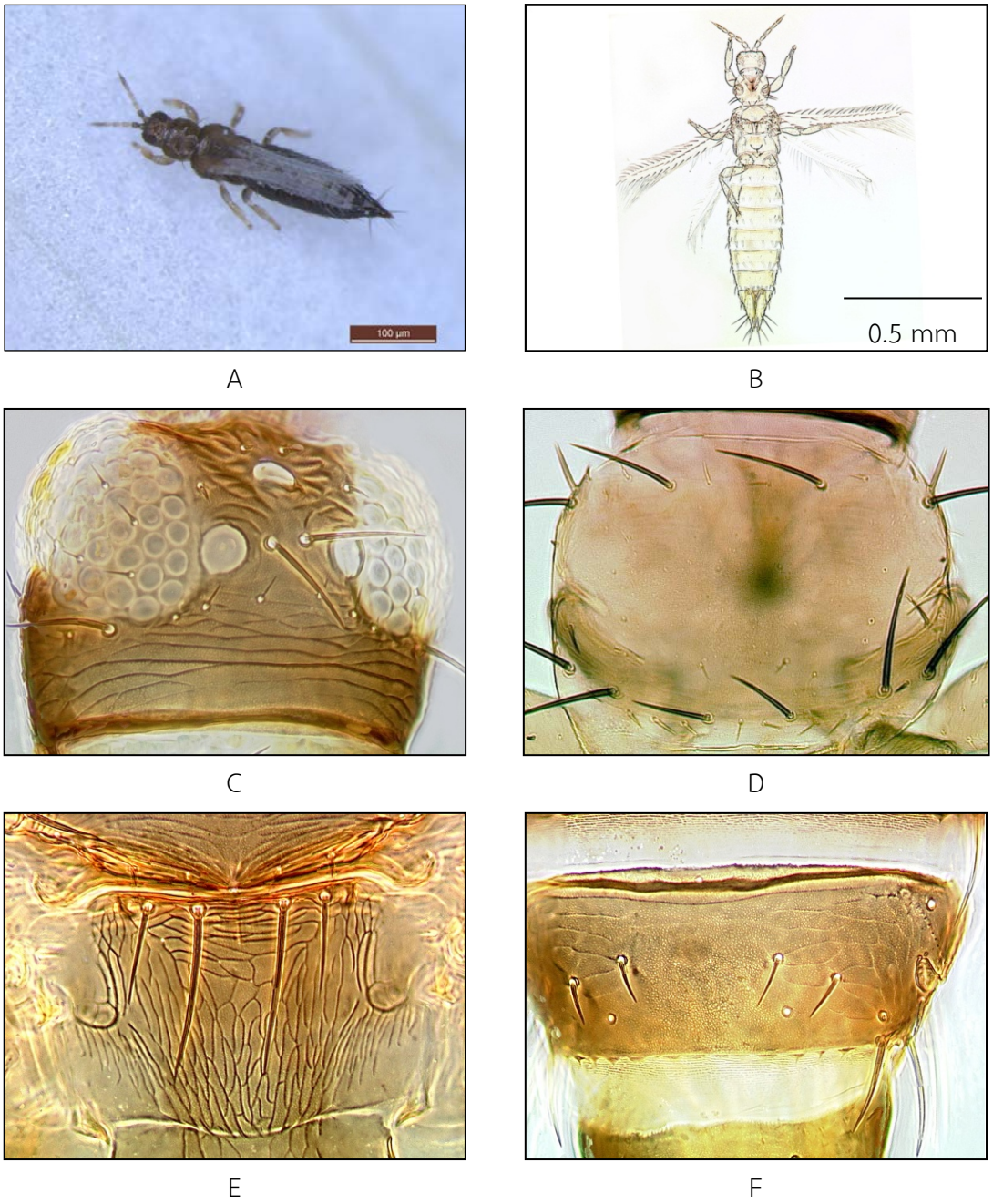


Figure 2 Morphology of Common blossom thrips; *Frankliniella schultzei* (Trybom)

A. Adult
B. Slide permanent
C. Head
D. Pronotum
E. Metanotum without paired of campaniform sensilla
F. Abdominal tergite VIII

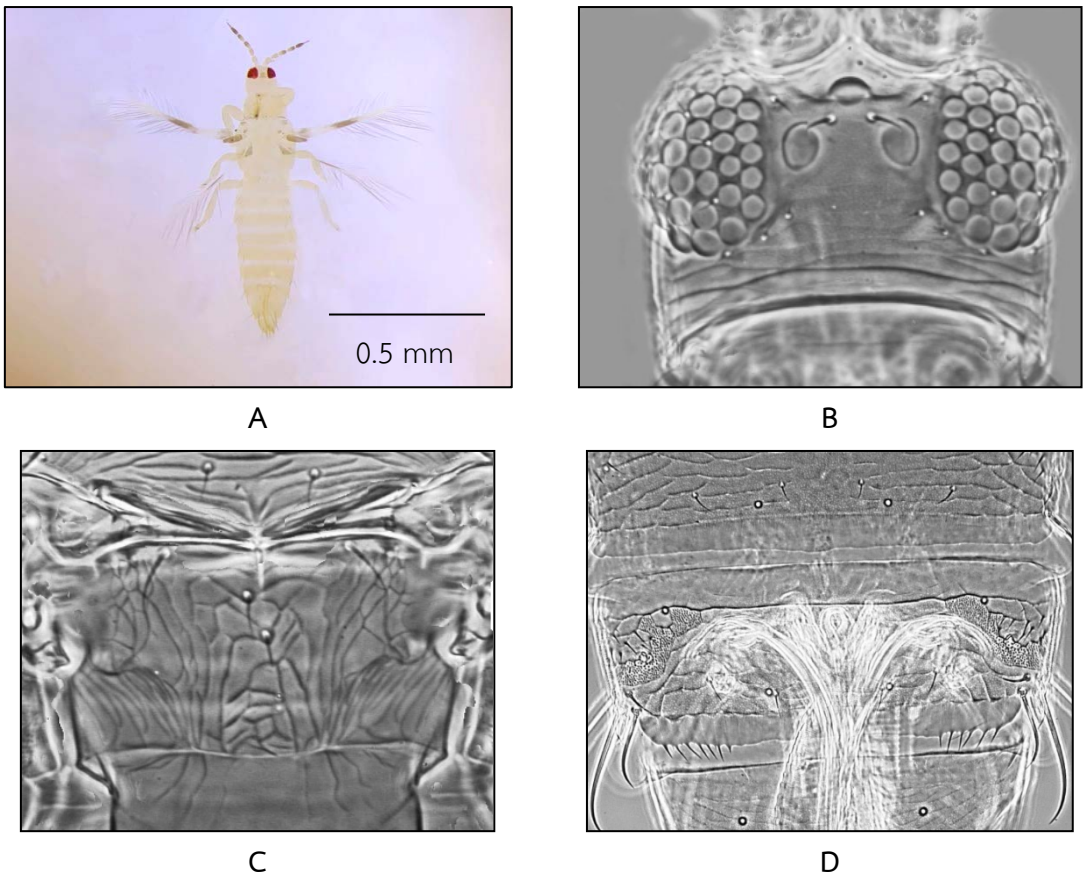


Figure 3 Morphology of Anthurium thrips; *Chaetanaphothrips orchidii* (Moulton)

A. Slide permanent B. Head

C. Metanotum D. tergite VIII with plastron-like sculpture extending around spiracle to antecostal ridge

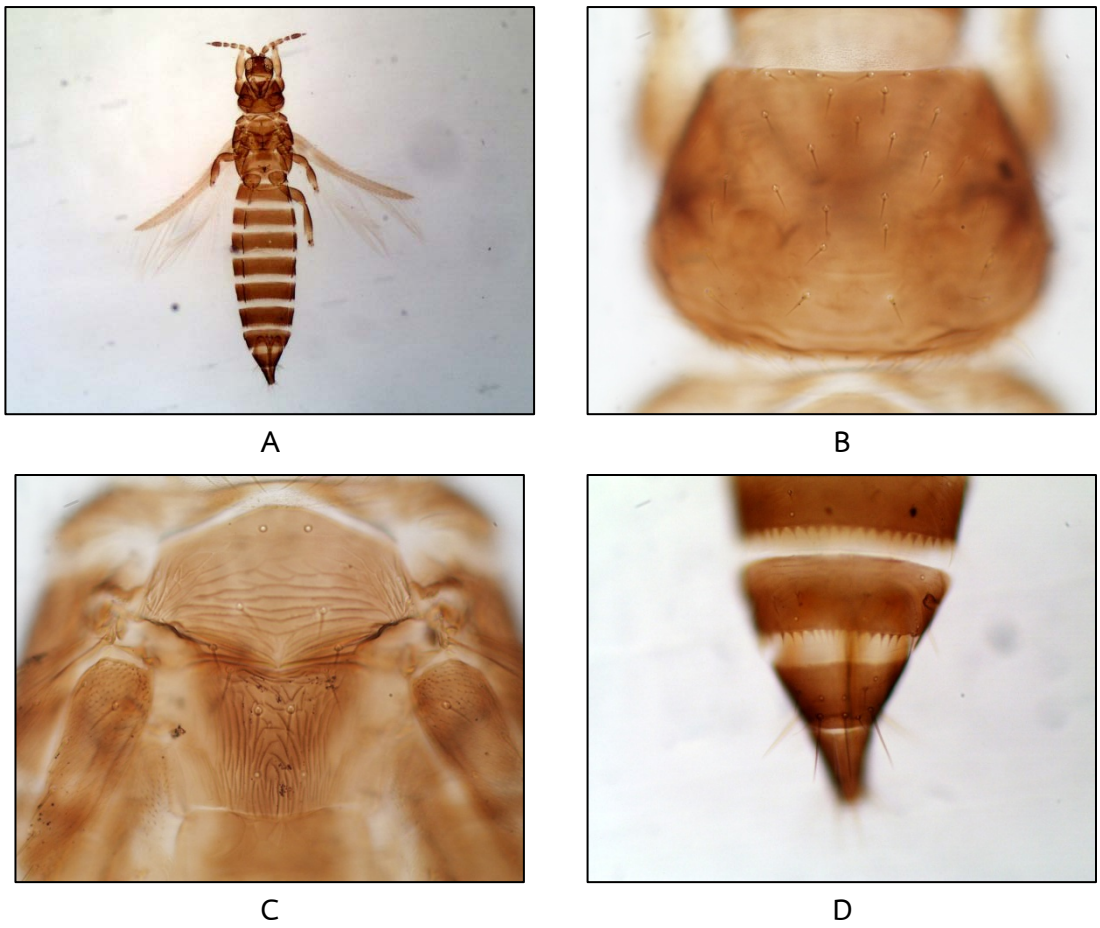


Figure 4 Morphology of Composite thrips; *Microcephalothrips abdominalis* (Crawford)

A. Slide permanent
B. Pronotum
C. Metanotum
D. Abdominal tergites with craspedum of triangular lobes on posterior margins

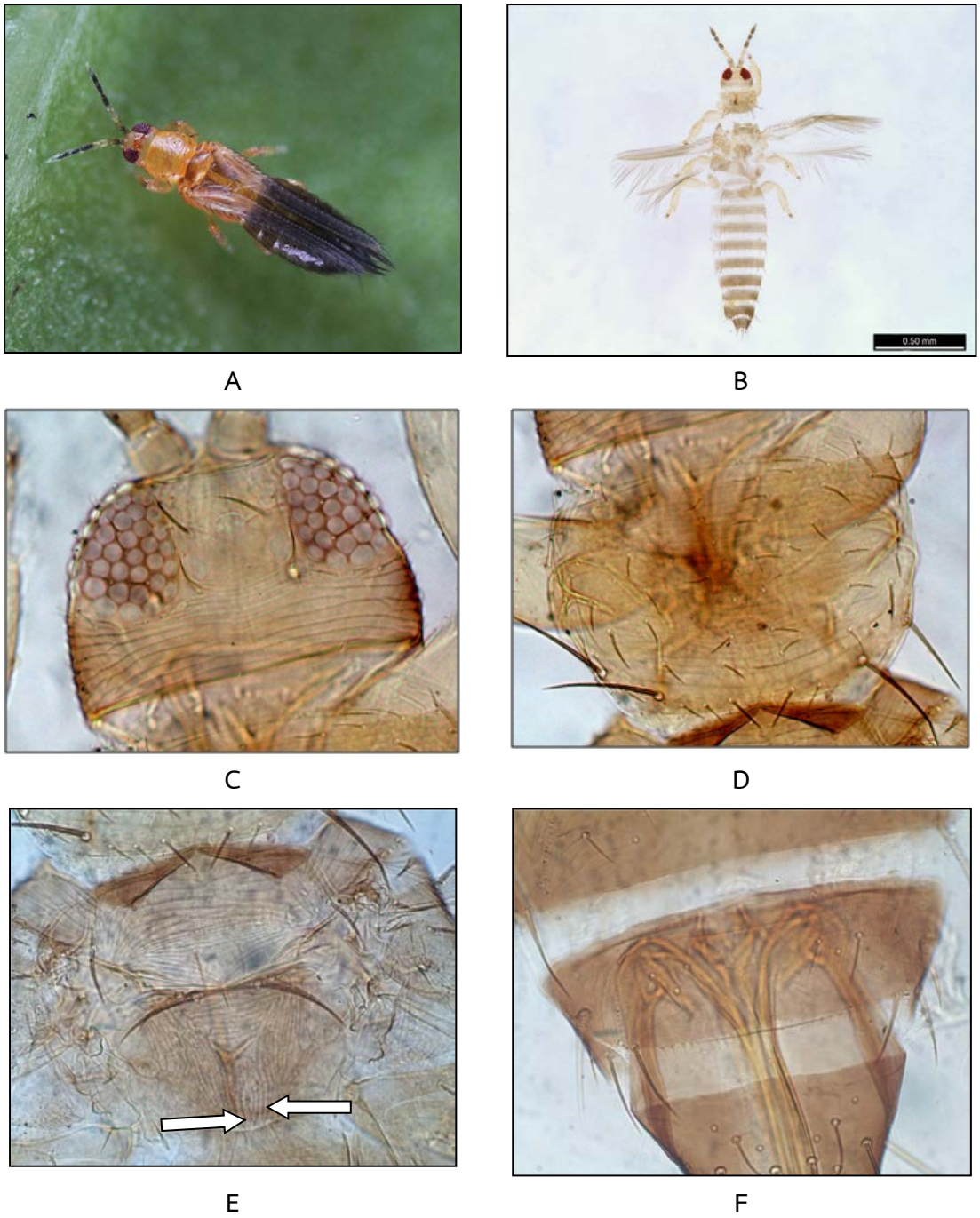


Figure 5 Morphology of Hawaiian thrips; *Thrips hawaiiensis* (Morgan)

A. Adult
B. Slide permanent
C. Head
D. Pronotum
E. Metanotum with paired of campaniform sensilla
F. Abdominal tergite VIII

Table 1 Location and number of thrips samples collected from flowering plants during October 2021 – September 2022

Province	District	Sub-district	Host Plants	Number of thrips samples	Location
Frankliniella occidentalis **(Pergande)**					
Chiang Mai	Mae rim	Pong yang	Chrysanthemum	22	N 18° 52′ 17.05” E 98° 47′ 30.59”
Chiang Mai	Chom thong	Ban luang	Gerbera	4	N 18° 33′ 45.83” E 98° 31′ 29.47”
Nakhon Ratchasima	Wang nam kheaw	Thai sa ma kee	Chrysanthemum	13	N 14° 21′ 49.79” E 101° 55′ 25.30”
Tak	Pob pra	Chong kaeb	Rose	2	N 16° 28′ 52.08” E 98° 42′ 07.14”
Frankliniella schultzei **(Trybom)**					
Nakhon Ratchasima	Wang nam kheaw	Thai sa ma kee	Chrysanthemum	12	N 14° 21′ 49.79” E 101° 55′ 25.30”
Chaiyaphum	Muang	Sub sri thong	Cosmos	6	N 16° 03′ 51.14” E 101° 57′ 58.73”
Chaiyaphum	Muang	Sub sri thong	Marigold	4	N 14° 21′ 49.79” E 101° 55′ 25.28”
Tak	Pob pra	Chong kaeb	Rose	14	N 16° 30′ 45.96” E 98° 43′ 35.69”

Table 1 Location and number of thrips samples collected from flowering plants during October 2021 – September 2022 (continued)

Province	District	Sub-district	Host Plants	Number of thrips samples	Location
Chaetanaphothrips orchidii **(Moulton)**					
Chiang Mai	Chom thong	Ban luang	Anthurium	3	N 18° 32′ 33.94” E 98° 31′ 04.53”
Microcephalothrips abdominalis **(Crawford)**					
Chiang Mai	Mae wang	Mea win	Rose	5	N 18° 37′ 47.41” E 98° 30′ 11.48”
Nakhon Ratchasima	Wang nam kheaw	Thai sa ma kee	Marigold	9	N 14° 21′ 49.79” E 101° 55′ 25.28”
Chaiyaphum	Muang	Sub sri thong	Cosmos	3	N 16° 03′ 51.14” E 101° 57′ 58.73”
Thrips hawaiiensis **(Morgan)**					
Chiang Rai	Chiang sean	Mae win	Chrysanthemum	13	N 20° 19′ 04.30” E 100° 17′ 09.17”
Chiang Rai	Mae fah luang	Mae salong nok	Rose	14	N 20° 09′ 54.83” E 99° 37′ 57.91”
Tak	Pob pra	Chong kaeb	Marigold	16	N 16° 31′ 56.37” E 98° 43′ 30.69”

อนุกรมวิธานของผีเสื้อหนอนกระทู้ สกุล *Spodoptera* Guenée, 1852 (Lepidoptera: Noctuidae)

Taxonomy of Armyworm Moths, Genus *Spodoptera* Guenée, 1852 (Lepidoptera: Noctuidae)

อาทิตย์ รักกสิกร[1/] สุนัดดา เชาวลิต[1/] อนุสรณ์ พงษ์มี[1/] ดนัย ชัยเรือนแก้ว[2/]

[1/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Progress report

Under the year 2565 budget a literature review of experimental procedures was conducted. Three species of armyworm moths, genus *Spodoptera* were found. Two of these, the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (Fabricius, 1775) and the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) were identified. The other unknown species is in the process of identification. Surveys were performed to collect samples by light trap and agricultural field surveys in Chiang Mai, Phayao, Nan, Uttaradit, Phitsanulok, Bueng Kan, Chonburi, Chantaburi, Kanchanaburi and Bangkok. 200 larvae and 10 pupae were collected from 4 kinds of host plants such as maize, tomato, hemp and crinum lily. The experimental results will be used as a pest database and dichotomous key for identification when the experimental phase is finished.

Keywords : Taxonomy *Spodoptera* Armyworm

รหัสการทดลอง FF65-20-01-65-01-04-65

รายงานความก้าวหน้า

ในปีงบประมาณ 2565 นั้น สิ่งที่ได้ดำเนินการแล้ว คือ สืบค้นเอกสารที่เกี่ยวข้องในการทดลอง พบตัวอย่างผีเสื้อหนอนกระทู้ สกุล *Spodoptera* ที่ได้ในปีงบประมาณ 2565 จำนวน 3 ชนิด ซึ่งสามารถวินิจฉัยได้ จำนวน 2 ชนิด คือ ผีเสื้อหนอนกระทู้ผัก *Spodoptera litura* (Fabricius, 1775) และผีเสื้อหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) และอยู่ระหว่างดำเนินการวินิจฉัยชนิด อีก 1 ชนิด นอกจากนี้ ได้ดำเนินการสำรวจเก็บตัวอย่าง ได้ตัวอย่างผีเสื้อหนอนกระทู้ โดยกับดักแสงไฟ และสำรวจจากแปลงเกษตร จากจังหวัดเชียงใหม่ พะเยา น่าน อุตรดิตถ์ พิษณุโลก บึงกาฬ ชลบุรี จันทบุรี กาญจนบุรี และกรุงเทพมหานคร ได้หนอนกระทู้ จำนวน 200 ตัวอย่าง และดักแด้ จำนวน 10 ดักแด้ จากพืชอาหารจำนวน 4 ชนิด คือ ข้าวโพด มะเขือเทศ กัญชา และพลับพลึง โดยผลการทดลองนี้จะนำไปเป็นฐานข้อมูลศัตรูพืช และจัดทำรูปวิธานได้ เมื่อการทดลองสิ้นสุด

คำหลัก : อนุกรมวิธาน *Spodoptera* หนอนกระทู้

คำนำ

ผีเสื้อหนอนกระทู้สกุล *Spodoptera* Guenée, 1852 (Lepidoptera: Noctuidae) เป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดเล็กถึงขนาดกลาง พบทั่วโลกประมาณ 30 ชนิด (Gilligan, T.M. & S.C. Passoa, 2014; OEPP/EPPO, 2015) ผีเสื้อในสกุลนี้หลายชนิดจัดเป็นศัตรูพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เนื่องจากพบการระบาดทำความเสียหายอย่างรุนแรงในพืชเศรษฐกิจ เช่น ธัญพืช พืชวงศ์ถั่ว พืชผัก ไม้ดอกไม้ประดับ และพืชเศรษฐกิจอื่นๆ (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร, 2559; Hill, 2008) ตัวหนอนมักจะทำลายพืชด้วยการกัดกินใบหรือดอก ตัวหนอนวัยอ่อนมักจะอยู่รวมกันเป็นกลุ่มกัดกินใบพืช หากมีการระบาดรุนแรงในพื้นที่เกษตรกรรม จะทำให้พืชชะงักการเจริญเติบโตและตายในที่สุด ส่งผลให้ผลผลิตลดลง นอกจากนี้ หนอนกระทู้บางชนิดยังพบเป็นปัญหาในการนำเข้าและส่งออกสินค้าเกษตรระหว่างประเทศ โดยปะปนไปกับสินค้าเกษตร เช่น กล้วยไม้สกุลหวายตัดดอก เป็นต้น (Gilligan, T.M. & S.C. Passoa, 2014)

นอกจากนี้ จากสถานการณ์การระบาดของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) ซึ่งเป็นศัตรูพืชต่างถิ่นที่พบการระบาดในประเทศไทยในช่วงปลายปี พ.ศ. 2561 โดยก่อความเสียหายอย่างรุนแรงต่อพื้นที่ปลูกข้าวโพดทุกภูมิภาคของประเทศในระยะเวลาไม่นานนัก และยากต่อการป้องกันกำจัดเพื่อควบคุมการแพร่ระบาด อีกทั้งยังสร้างความสับสนในการวินิจฉัยชนิดของหนอนกระทู้ชนิดนี้กับชนิดพื้นถิ่นที่พบในประเทศไทย (อาทิตย์ และคณะ, 2562) ดังนั้น การศึกษาอนุกรมวิธานของผีเสื้อหนอนกระทู้สกุล *Spodoptera* ในประเทศไทยนี้เป็นงานวิจัยที่มีความสำคัญ เนื่องจากทำให้ทราบชนิดและข้อมูลพื้นฐาน เพื่อประโยชน์ในการป้องกันกำจัด การบริหารจัดการโดยวิธีผสมผสาน หรือควบคุมการระบาดของผีเสื้อหนอนกระทู้สกุลนี้

และงานวิจัยนี้มุ่งเน้นในการศึกษาวิจัยและรวบรวมงานวิจัยที่เกี่ยวข้องมาเรียบเรียงให้เป็นฐานข้อมูล เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ตามที่กล่าวมาแล้วข้างต้นต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1) ผีเสื้อและหนอนกระทู้สกุล *Spodoptera* ที่รวบรวมได้จากแปลงปลูกพืช ทั่วประเทศไทย

2) ชุดอุปกรณ์เก็บตัวอย่างแมลง ชุดอุปกรณ์กับดักแสงไฟ อุปกรณ์เลี้ยงหนอน ได้แก่ กล่องพลาสติกสี่เหลี่ยม สารเคมีที่ใช้ในการเก็บและรักษาสภาพตัวอย่าง รวมถึงสารเคมีที่ใช้สำหรับการเตรียมสไลด์ถาวร พืชอาหารเลี้ยงหนอนกระทู้และอาหารเลี้ยงผีเสื้อหนอนกระทู้

3) กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope, compound microscope เครื่องวัดค่าพิกัดภูมิศาสตร์ (GPS) และกล้องถ่ายภาพ

4) เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของผีเสื้อหนอนกระทู้สกุล *Spodoptera* ได้แก่ FAO (2017), Gilligan, T.M. & S.C. Passoa (2014), Holloway (1989) และ OEPP/EPPO (2015) เป็นต้น

วิธีการ

1) สำรวจเก็บรวบรวมตัวอย่างผีเสื้อและหนอนกระทู้สกุล *Spodoptera* จากแปลงปลูกพืชทั่วประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 ถึงเดือนมิถุนายน 2567 หนอนกระทู้ชนิดต่างๆ ที่สำรวจพบ ส่วนหนึ่งนำไปดองรักษาสภาพ โดยแช่ในสารรักษาสภาพตัวหนอน แล้วจึงย้ายตัวอย่างดองในเอธิลแอลกอฮอล์ (Ethyl Alcohol) อีกส่วนหนึ่งนำไปเพาะเลี้ยง เพื่อให้ได้ดักแด้และตัวอย่างผีเสื้อที่มีสภาพสมบูรณ์ บันทึกข้อมูลขณะเก็บตัวอย่าง ได้แก่ ชื่อพืชเศรษฐกิจในแปลงนั้น พันธุ์พืช อายุพืช ลักษณะการทำลายพืชที่พบ สถานที่ พิกัดภูมิศาสตร์ สถานที่ วัน/เดือน/ปี ชื่อผู้เก็บตัวอย่าง ขนาดพื้นที่ และข้อมูลอื่นๆ เพื่อใช้จัดทำแผ่นป้ายบันทึกรายละเอียดของแมลงเมื่อเสร็จสิ้นการตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิด และนำตัวอย่างแมลงนั้นเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์ต่อไป

2) ตัวอย่างผีเสื้อหนอนกระทู้ชนิดต่างๆ ที่พบในการสำรวจ และที่เพาะเลี้ยงได้ในห้องปฏิบัติการ จับใส่ขวดฆ่า เมื่อตายแล้วนำตัวอย่างผีเสื้อไปจัดรูปร่าง นำไปอบให้แห้งในตู้อบ นำตัวอย่างผีเสื้อบางส่วนทั้งเพศผู้และเพศเมีย แยกส่วนท้องออกแล้วนำไปผ่านกระบวนการแยกอวัยวะสืบพันธุ์และจัดทำสไลด์ถาวร

3) นำตัวอย่างทั้งผีเสื้อและหนอนที่ดองรักษาสภาพไว้ รวมทั้งสไลด์ถาวรของอวัยวะสืบพันธุ์มาตรวจดูลักษณะภายนอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด Stereo แล้วบันทึกรายละเอียดต่างๆ ตรวจสอบลักษณะสัณฐานวิทยาที่สำคัญทางอนุกรมวิธานเพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างชนิดผีเสื้อหนอนกระทู้ โดยใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยที่เตรียมไว้ สรุปผลการศึกษาผีเสื้อหนอนกระทู้สกุล *Spodoptera* ในประเทศไทยว่าชนิดใดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ และความแตกต่างทางสัณฐานวิทยาระหว่างชนิดนั้นๆ เป็นอย่างไร

4) จัดเก็บตัวอย่างผีเสื้อหนอนกระทู้สกุล *Spodoptera* ทุกชนิดที่จำแนกเรียบร้อยแล้วไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากลของการเก็บรักษาตัวอย่างแมลง เพื่อการตรวจสอบสืบค้น และอ้างอิงในภายหลัง

เวลาและสถานที่

1) แหล่งปลูกพืชเศรษฐกิจต่างๆ ในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย น่าน พิษณุโลก เพชรบูรณ์ นครสวรรค์ ขอนแก่น อุบลราชธานี นครราชสีมา อ่างทอง นครปฐม สุพรรณบุรี กาญจนบุรี เพชรบุรี ชุมพร ระนอง สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช ตรัง สงขลา

2) ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1) สืบค้นเอกสารที่เกี่ยวข้องในการทดลอง

2) ดำเนินการสำรวจเก็บตัวอย่าง ได้ตัวอย่างผีเสื้อหนอนกระทู้ โดยกับดักแสงไฟ และสำรวจจากแปลงเกษตร จากจังหวัดเชียงใหม่ พะเยา น่าน อุตรดิตถ์ พิษณุโลก บึงกาฬ ชลบุรี จันทบุรี กาญจนบุรี และกรุงเทพมหานคร ได้หนอนกระทู้ จำนวน 200 ตัวอย่าง และดักแด้ จำนวน 10 ดักแด้ จากพืชอาหารจำนวน 4 ชนิด คือ ข้าวโพด มะเขือเทศ กัญชา และพลับพลึง

3) พบตัวอย่างผีเสื้อหนอนกระทู้ สกุล *Spodoptera* ที่ได้ในปีงบประมาณ 2565 จำนวน 3 ชนิด ซึ่งสามารถวินิจฉัยได้ จำนวน 2 ชนิด คือ ผีเสื้อหนอนกระทู้ผัก *Spodoptera litura* (Fabricius, 1775) และผีเสื้อหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) และอยู่ระหว่างดำเนินการวินิจฉัยชนิด อีก 1 ชนิด (Figure 5 & 6) โดยมีรายละเอียดดังนี้

Order Lepidoptera

Suborder Glossata

Superfamily Noctuoidea Latreille, 1809

Family Noctuidae Latreille, 1809

Subfamily Noctuinae Latreille, 1809

Tribe Prodeniini Forbes, 1954

Subtribe Prodeniina Forbes, 1954

Genus *Spodoptera* Guenée, 1852

Spodoptera Guenée, 1852: *Hist. nat. Ins., Spec. gén. Lépid*. 5 (Noct. 1): 153.

Laphygma Guenée, 1852: *Hist. nat. Ins., Spec. gén. Lépid*. 5 (Noct. 1): 156.

Prodenia Guenée, 1852: *Hist. nat. Ins., Spec. gén. Lépid*. 5 (Noct. 1): 159.

Calogramma Guenée, 1852: *Hist. nat. Ins., Spec. gén. Lépid*. 5 (Noct. 1): 165.

Ariathisa Walker, 1865: *List Spec. Lepid. Insects Colln Br. Mus*. 33: 747.

Rusidrina Staudinger, 1892: in Romanoff, *Mém. Lépid*. 6: 491, pl. 7, fig. 9.

Type species: *Spodoptera mauritia* (Boisduval, 1833)

1. *Spodoptera litura* (Fabricius, 1775)

Noctua litura Fabricius, 1775; *Syst. Ent.*: 601.

Noctua histrionica Fabricius, 1775; *Syst. Ent.*: 612.

Noctua elata Fabricius, 1781; *Spec. Ins.* 2: 220.

Prodenia ciligera Guenée, 1852; *Hist. nat. Ins., Spec. gén. Lépid.* 5 (Noct. 1): 164.

Prodenia tasmanica Guenée, 1852; *Hist. nat. Ins., Spec. gén. Lépid.* 5 (Noct. 1): 163.

Prodenia subterminalis Walker, 1856; *List Spec. Lepid. Insects Colln Br. Mus.* 9: 196.

Prodenia glaucistriga Walker, 1856; *List Spec. Lepid. Insects Colln Br. Mus.* 9: 197.

Prodenia declinata Walker, 1857; *List Spec. Lepid. Insects Colln Br. Mus.* 11: 723.

Mamestra albisparsa Walker, 1862; *J. Proc. Linn. Soc.* (Zool.) 6: 186.

Prodenia evanescens Butler, 1884; *Mem. Nat. Acad. Sci.* 2: 94.

Prodenia litura Hampson, 1909; *Cat. Lepid. Phalaenae Br. Mus.* 8: 245.

Spodoptera litura; Holloway, 1976, *Moths of Borneo.* 12: 136, pl. 4, 8.

ชื่อสามัญ

ผีเสื้อหนอนกระทู้ผัก หนอนกระทู้ฝ้าย หนอนกระทู้ยาสูบ หนอนรัง Common cutworm Rice cutworm Cotton leafworm

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ตัวเต็มวัย (Figure 2) เป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดกลาง เพศเมียมีขนาดใหญ่กว่าเพศผู้เล็กน้อย ความกว้างช่วงปีกประมาณ 28 – 36 มิลลิเมตร หนวดแบบ filiform ปีกคู่หน้ามีสีน้ำตาล orbicular spot รูปร่างยาวสีขาวอมเหลือง ส่วน reniform spot ลักษณะคล้าย “จุลภาค (,)” สีขาวอมเหลือง สังเกตได้ชัดเจน ปีกคู่หลังมีสีขาวที่ขอบปีกมีสีน้ำตาลเข้ม ในเพศผู้ ลวดลายบนปีกคู่หน้าเด่นชัดกว่าในเพศเมีย โดยมีแถบสีขาวอมเหลืองพาดเฉียงจากขอบปีกด้านบนผ่าน orbicular spot มาถึง postmedian line และพบเส้นสีขาวลักษณะคล้ายอักษร “Y” ตามแนวเส้นปีก cubitus anterior vein ที่ terminal line มีลักษณะเป็นลายสีน้ำตาลสลับสีดำ ที่ปลายปีกมีแถบสีขาวพาดตามแนว adterminal line ยาวมากกว่าหนึ่งในสองของความกว้างปีก อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ ส่วน valve กว้าง ส่วนลวดลายบนปีกคู่หน้าในเพศเมีย มีลักษณะคล้ายในเพศผู้ แต่ orbicular spot มีสีเข้มกว่า และแถบสีขาวบริเวณปลายปีกพาดตามแนว adterminal line ยาวประมาณหนึ่งในสองของความกว้างปีก และสีจางกว่าในเพศผู้ อวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย ส่วน corpus bursae ลักษณะเป็นก้อนกลม ductus bursae ยาว โดยมีความยาวมากกว่า 3 เท่าของความกว้าง

โครงสร้าง cremaster ที่ด้านท้ายของดักแด้ มีจำนวน 1 คู่ ลักษณะยาวส่วนปลายโค้งลงด้านล่าง (ventral) เล็กน้อย ที่ฐานทำมุมกว้างคล้ายอักษร “U”

ตัวหนอน แบบ eruciform พื้นผิวลำตัวค่อนข้างเรียบ มีแถบสีขาวพาดตามความยาวด้านข้างของลำตัว ใต้แนวช่องหายใจ (spiracles) และด้านหลัง (dorsal) นอกจากนี้ตามแนวยาวด้านข้างค่อนทางด้านหลังของลำตัว (subdorsal) มีลายเส้นสีขาวและเส้นประสีดำพาดจากปล้องท้องที่ 2 ถึง 8 สีของตัวหนอนมีสีน้ำตาลอ่อนถึงสีน้ำตาลเข้ม แต่ลักษณะเด่นที่มักพบได้สม่ำเสมอ คือ จุดสีเหลืองด้านข้างของปล้องอกที่ 2,3 (Figure 1) และปื้นสีดำที่ท้องปล้องแรก เหนือช่องหายใจ

การกระจายพันธุ์ทางภูมิศาสตร์

ผีเสื้อหนอนกระทู้ผักมีถิ่นกำเนิดในทวีปเอเชีย และออสเตรเลีย รวมทั้งหมู่เกาะในมหาสมุทรแปซิฟิก โดยเฉพาะในเขตร้อน ประเทศไทยพบได้ทุกภูมิภาคทั่วประเทศ

ฤดูกาลที่พบในประเทศไทย พบได้ทุกฤดูกาล

พืชอาศัย

ผีเสื้อหนอนกระทู้ผักมีพืชอาศัยจำนวนมาก ทั้งพืชผัก ธัญพืช และไม้ดอกไม้ประดับ ในประเทศไทยมีรายงานพืชอาศัยของผีเสื้อหนอนกระทู้ผักที่เป็นพืชเศรษฐกิจ ได้แก่ พืชผักตระกูลกะหล่ำ พริก มะเขือเทศ ยาสูบ ถั่วเหลือง ถั่วเขียว ถั่วลิสง ถั่วฝักยาว ถั่วลันเตา ฝ้าย ข้าวโพด ทานตะวัน และกล้วยไม้สกุลหวายตัดดอก เป็นต้น (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร, 2559)

2. *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797)

Phalaena frugiperda Smith, 1797; in Smith & Abbot, *Nat. Hist. Rarer Lepid. Ins. Georgia* 2: 191, pl. 95.

Laphygma macra Guenée, 1852; *Hist. nat. Ins., Spec. gén. Lépid.* 5 (Noct.1): 157, *Atlas* (Noctuelites) pl. 4, f. 6.

Laphygma inepta Walker, 1856; *List Spec. Lepid. Insects Colln Br. Mus.* 9: 190.

Prodenia signifera Walker, 1856; *List Spec. Lepid. Insects Colln Br. Mus.* 9: 193.

Prodenia plagiata Walker, 1856; *List Spec. Lepid. Insects Colln Br. Mus.* 9: 194.

Prodenia autumnalis Riley, 1871; 3rd Ann. Rep., Missouri: 109.

Laphygma frugiperda var. fulvosa Riley, 1876; 8th Ann. Rep., Missouri: 49, f. 27b.

Laphygma frugiperda var. obscura Riley, 1876; 8th Ann. Rep., Missouri: 49, f. 27c.

Laphygma macra Godman & Salvin, 1889; *Biol. centr.-amer., Lep. Heterocera* 1: 267.

Prodenia signifera Godman & Salvin, 1889; *Biol. centr.-amer., Lep. Heterocera* 1: 269.

Laphygma frugiperda Hampson, 1909; *Cat. Lepid. Phalaenae Br. Mus.* 8: 262, pl. 128, f. 26.

Spodoptera frugiperda; Becker & Miller, 2002, *J. Lep. Soc.* 56 (1): 21, f. 24-25.

<u>ชื่อสามัญ</u>

ผีเสื้อหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด Fall armyworm Corn leafworm Cogollero

<u>ลักษณะทางสัณฐานวิทยา</u>

ตัวเต็มวัย (Figure 4) เป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดกลาง เพศเมียมีขนาดใหญ่กว่าเพศผู้เล็กน้อย ความกว้างช่วงปีกประมาณ 21 – 36 มิลลิเมตร หนวดแบบ filiform ปีกคู่หน้ามีสีน้ำตาล orbicular spot รูปร่างยาวรีสีเหลืองอมน้ำตาล ส่วน reniform spot รูปไตสีน้ำตาลเข้มไม่เด่นชัด ปีกคู่หลังมีสีขาว ที่ขอบปีกมีสีน้ำตาลเข้ม ในเพศผู้ ลวดลายบนปีกคู่หน้าเด่นชัดกว่าในเพศเมีย โดยพื้นที่ปีกระหว่าง orbicular spot และ reniform spot มีแถบสีขาวอมเหลืองพาดผ่าน ที่พื้นที่ขอบปีกสามารถสังเกตเห็น postmedian line, adterminal line และ terminal line ได้ ที่ปลายปีกมีแถบสีขาวพาดตามแนว adterminal line ยาวประมาณหนึ่งในสองของความกว้างปีก อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ ส่วน valve กว้าง รูปร่างคล้ายสี่เหลี่ยม ส่วนลวดลายบนปีกคู่หน้าในเพศเมีย มักสังเกตเห็นเพียง orbicular spot, reniform spot และแถบสีขาวจางบริเวณปลายปีกเท่านั้น อวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย ส่วน corpus bursae ลักษณะเป็นก้อนกลม ductus bursae สั้น โดยมีความยาวน้อยกว่า 2 เท่าของความกว้าง

โครงสร้าง cremaster ที่ด้านท้ายของดักแด้ มีจำนวน 1 คู่ ลักษณะสั้น ที่ฐานทำมุมกว้าง คล้ายอักษร “U”

ตัวหนอน แบบ eruciform พื้นผิวลำตัวมีขนสั้นปกคลุมเล็กน้อย ที่ฐานของเส้นขนมีแผ่นรองเส้นขน ซึ่งมีสีเข้มกว่าพื้นผิวลำตัว ทำให้ดูเหมือนเป็นจุดกระจายทั่วลำตัว และมักพบแถบสีดำพาดตามความยาวด้านข้างของลำตัว ด้านบนแนวช่องหายใจ (spiracles) สีของตัวหนอนมักมีเหลืองอมน้ำตาลถึงสีน้ำตาลเข้ม แต่ลักษณะเด่นที่มักพบได้สม่ำเสมอ คือ จุดสีดำด้านบน (dorsal) ของปล้องท้องที่ 8 และ 9 ปล้องละ 2 จุด เรียงตัวแบบสี่เหลี่ยมจัตุรัส (Figure 3)

การกระจายพันธุ์ทางภูมิศาสตร์

ผีเสื้อหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดมีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนของทวีปอเมริกา แต่ปัจจุบันพบการแพร่กระจายทั้งในทวีปแอฟริกา ยุโรป และเอเชีย โดยเฉพาะในเขตร้อน ในประเทศไทยพบการระบาดครั้งแรกช่วงปลายปี พ.ศ. 2561 ปัจจุบันพบได้ทุกภูมิภาคทั่วประเทศในพื้นที่ปลูกข้าวโพด

ฤดูกาลที่พบในประเทศไทย พบได้ทุกฤดูกาล

พืชอาศัย

ผีเสื้อหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดมีพืชอาศัยจำนวนมาก โดย CABI (2019) ได้รายงานพืชอาศัยที่พบว่าหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดเข้าทำลายมีจำนวนมากกว่า 80 ชนิด ในจำนวนนี้ประกอบด้วยพืชอาศัยตามธรรมชาติของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด ได้แก่ พืชหลายชนิดในวงศ์หญ้า (Poaceae) วงศ์กก (Cyperaceae) วงศ์มะเขือ (Solanaceae) วงศ์ชะคราม (Chenopodiaceae) วงศ์ผักเบี้ย (Portulacaceae) และวงศ์ผักบุ้ง (Convolvulaceae) รวมทั้งพืชอื่นที่ไม่ใช่พืชอาศัยตามธรรมชาติ แต่เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ เช่น ข้าว ข้าวโพด ข้าวฟ่าง อ้อย พืชตระกูลถั่ว พืชตระกูลกะหล่ำ พืชตระกูลแตง พริก ฝ้าย หอม กระเทียม กล้วย ยาสูบ มันเทศ ขิง มะเขือ มันฝรั่ง และไม้ดอกไม้ประดับหลายชนิด

ในประเทศไทยมีรายงานพืชอาศัยอย่างเป็นทางการของผีเสื้อหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดเฉพาะในข้าวโพด เท่านั้น

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ในปีงบประมาณ 2565 นั้น สิ่งที่ได้ดำเนินการแล้ว คือ สืบค้นเอกสารที่เกี่ยวข้องในการทดลอง พบตัวอย่างผีเสื้อหนอนกระทู้ สกุล *Spodoptera* ที่ได้ในปีงบประมาณ 2565 จำนวน 3 ชนิด ซึ่งสามารถวินิจฉัยได้ จำนวน 2 ชนิด คือ ผีเสื้อหนอนกระทู้ผัก *Spodoptera litura* (Fabricius, 1775) และผีเสื้อหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) และอยู่ระหว่างดำเนินการวินิจฉัยชนิด อีก 1 ชนิด นอกจากนี้ ได้ดำเนินการสำรวจเก็บตัวอย่าง ได้ตัวอย่างผีเสื้อหนอนกระทู้ โดยกับดักแสงไฟ และสำรวจจากแปลงเกษตร จากจังหวัดเชียงใหม่ พะเยา น่าน อุตรดิตถ์ พิษณุโลก บึงกาฬ ชลบุรี จันทบุรี กาญจนบุรี และกรุงเทพมหานคร ได้หนอนกระทู้ จำนวน 200 ตัวอย่าง และดักแด้ จำนวน 10 ดักแด้ จากพืชอาหารจำนวน 4 ชนิด คือ ข้าวโพด มะเขือเทศ กัญชา และพลับพลึง โดยผลการทดลองนี้จะนำไปเป็นฐานข้อมูลศัตรูพืช และจัดทำรูปวิธานได้ เมื่อการทดลองสิ้นสุด

เอกสารอ้างอิง

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร. 2559. บัญชีรายชื่อแมลง ไร และสัตว์ ศัตรูพืชของพืชเศรษฐกิจในประเทศไทย. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ. 199 หน้า.

องุ่น ลิ่ววานิช. 2544. ผีเสื้อและหนอน. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 230 หน้า.

อาทิตย์ รักกสิกร สุนัดดา เชาวลิต ดนัย ชัยเรือนแก้ว อนุสรณ์ พงษ์มี กัลยา บุญสง่า และจินตนา ไชยวงค์. 2562. ความแตกต่างทางสัณฐานวิทยาของผีเสื้อหนอนกระทู้ สกุล *Spodoptera* Guenée, 1852 (Lepidoptera: Noctuidae) ชนิดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจในประเทศไทย. การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 14 ณ โรงแรมดุสิตธานี หัวหิน อำเภอชะอำ จังหวัดเพชรบุรี. 12 – 14 พฤศจิกายน 2562. หน้า 1 – 15.

CABI. 2019. *Spodoptera frugiperda* (fall armyworm). (Online). Available:https://www.cabi.org/isc/datasheet/29810

FAO. 2017. Fall Armyworm (Spodoptera frugiperda): Identification,Biology and Ecology. FAO, Rome,Italy.

Gilligan, T.M. & S.C. Passoa. 2014. LepIntercept - An identification resource for intercepted Lepidoptera larvae. (Online). Available: http://idtools.org/id/leps/lepintercept/spodoptera.html

Hill, D.S. 2008. Pests of Crops in Warmer Climates and Their Control. Springer Science + Business Media, Berlin. 704 pp.

Holloway, J.D. 1989. The Moths of Borneo Part 12. *The Malayan Nature Journal* 42: 132-138.

OEPP/EPPO. 2015. PM 7/124 *Spodoptera littoralis, Spodoptera litura, Spodoptera frugiperda, Spodoptera eridania*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*. 45(3): 410 – 444.

Figure 1 *Spodoptera litura* caterpillar feeding on maize leaf

Figure 2 *Spodoptera litura* (Fabricius, 1775) specimens

Figure 3 caterpillar of *Spodoptera frugiperda* on sunn hemp leaf

Figure 4 *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) adults

Figure 5 *Spodoptera* sp. from crinum lily leaf

Figure 6 *Spodoptera* sp. from crinum lily leaf, adult

การศึกษาชีววิทยาไรแดงอัญชัน *Tetranychus piercei* McGregor

Biology of Clitoria Red Mite, *Tetranychus piercei* McGregor

วีระชัย สมศรี พลอยชมพู กรวิภาสเรือง อทิติยา แก้วประดิษฐ์
วิมลวรรณ โชติวงศ์ ณพชรกร ธไภษัชย์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

Clitoria red mite (*Tetranychus piercei* McGrego) can infest plants from a wide variety of species throughout 11 countries. Economically significant crops such as butterfly pea, winged bean, soybean, marigold, and rose are attacked by Clitoria red mite in Thailand. Moreover, there is a lack of information about this mite species' biology in Thailand. This research aims to investigate the biology, egg production, and survival from hatching to death (life table) of Clitoria red mite fed on three host plants: soybean (*Glycine max* (L.)), winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus* (L.)), and butterfly pea (*Clitoria ternatea* L.). The experiment was conducted in the laboratory and experimental house of the Mite and Spider Research Group, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture, Thailand, from October 2021 to November 2022. The results showed that Clitoria red mite fed on soybeans, winged beans and butterfly pea took an average from eggs to adult of 10.05±0.74, 11.00±0.45 and 10.71±0.80 days respectively, Females had an average longevity of 19.62±2.92, 20.65±3.90 and 19.77±2.13 days and were able to lay all eggs on average 75.92±23.40, 174.47±52.29 and 120.23±33.85 eggs per individual, average 3.91±1.16, 8.46±1.92 and 6.04±1.19 eggs per day, respectively. Cohort generation time (T_C) Capacity for increase (r_c) Finite rate of increase (λ) and sex ratio were similar when fed on the three host plant species. However, the net reproductive rate of increase (R_0) was the highest when fed on winged bean. This result shown that Clitoria red mite had a good reproductive rate when fed on winged beans. Consequently, the population is rapidly expanding. This experiment provides information for the efficient and timely control of Clitoria red mite.

Keywords : Biology mite pest Clitoria red mite spider mite

รหัสการทดลอง FF65-20-01-65-02-01-65

บทคัดย่อ

ไรแดงอัญชัน *Tetranychus piercei* McGrego มีพืชอาศัยหลากหลายชนิด ประมาณ 91 ชนิด ใน 11 ประเทศ ในประเทศไทยไรชนิดนี้เข้าทำลายในพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ ได้แก่ อัญชัน ถั่วพู ถั่วเหลือง ดาวเรือง และกุหลาบ และยังไม่มีข้อมูลชีวิทยาของไรแดงชนิดนี้ในประเทศไทย การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทราบชีววิทยา ความสามารถในการผลิตไข่ตลอดอายุขัย และความสามารถในการอยู่รอดตั้งแต่ฟักจากไข่จนตาย (life table) ที่เลี้ยงด้วยพืชอาศัย 3 ชนิด คือถั่วเหลือง (*Glycine max* (L.)), ถั่วพู (*Psophocarpus tetragonolobus* (L.)) และอัญชัน (*Clitoria ternatea* L.) ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม 2564-พฤศจิกายน 2565 ในห้องปฏิบัติการและโรงเรือนทดลองของกลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ผลการทดลองพบว่าไรแดงอัญชันที่เลี้ยงด้วยถั่วเหลือง ถั่วพู และอัญชัน ใช้เวลาในการเจริญเติบโตจากไข่เป็นตัวเต็มวัยเฉลี่ย 10.05±0.74, 11.00±0.45 และ 10.71±0.80 วัน ตามลำดับ ตัวเต็มวัยเพศเมียมีอายุยาวนานเฉลี่ย 19.62±2.92, 20.65±3.90 และ 19.77±2.13 วัน และสามารถวางไข่ได้ทั้งหมดเฉลี่ย 75.92±23.40, 174.47±52.29 และ 120.23±33.85 ฟองต่อตัว เฉลี่ยวันละ 3.91±1.16, 8.46±1.92 และ 6.04±1.19 ฟองต่อวัน ตามลำดับ ชั่วอายุไขของกลุ่ม (T_C) ความสามารถในการขยายพันธุ์ทางกรรมพันธุ์ (r_C) อัตราการเพิ่มที่แท้จริง (λ) และอัตราส่วนทางเพศ (sex ratio) มีค่าใกล้เคียงกันเมื่อเลี้ยงด้วยพืชอาศัยทั้ง 3 ชนิด แต่อัตราการขยายพันธ์สุทธิ์ (R_0) มีค่ามากที่สุดเมื่อเลี้ยงด้วยถั่วพู นั่นแสดงให้เห็นว่าไรแดงอัญชันมีอัตราการขยายพันธ์ได้ดีเมื่อเลี้ยงบนถั่วพู ส่งผลให้การขยายจำนวนประชากรได้รวดเร็ว ซึ่งผลการทดลองนี้สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลในการป้องกันกำจัดไรแดงอัญชันได้อย่างมีประสิทธิภาพ และทันท่วงที

คำหลัก : ชีววิทยา ไรศัตรูพืช ไรศัตรูอัญชัน ไรแดง

คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมมีการปลูกพืชเศรษฐกิจหลายชนิด ทั้งปลูกเพื่อการบริโภคเองและปลูกเพื่อการส่งออกไปยังต่างประเทศ เช่นข้าว มันสำปะหลัง ถั่วเขียว ข้าวฟ่าง ข้าวโพด เป็นต้น (กรมการค้าระหว่างประเทศ, 2563) พืชปลูกหลายชนิดประสบปัญหากับศัตรูพืชหลายชนิด ไม่ว่าจะเป็นโรค แมลง และไร ไรจัดเป็นศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งและเนื่องจากมีขนาดเล็กยากแก่การมองเห็นด้วยตาเปล่า อาการที่เข้าทำลายในระยะแรกมักสังเกตได้ยาก เมื่อพบการระบาดรุนแรงจะทำให้ยากแก่การกำจัด โดยเฉพาะไรในวงศ์ Tetranychidae ซึ่งจัดเป็นกลุ่มไรที่มีความสำคัญระบาดทำความเสียหายกับพืชเศรษฐกิจหลายชนิด โดยไรจะเข้าทำลายพืชด้วยการดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบ ลำต้น ผล และดอก ไรจะอยู่เป็นกลุ่ม และสร้างเส้นใยขึ้นคลุมไข่ ตัวอ่อน และตัวเต็มวัย บริเวณที่ถูกไรดูดกินจะมีลักษณะเป็นจุดปะ ขาวซีด และแผ่ขยายเป็นปื้นเหลือง หรือสีขาว เมื่อระบาดรุนแรงจะทำให้ใบร่วง พืชหยุดชะงักการเจริญเติบโต และมีผลกระทบต่อผลผลิต งานพื้นฐานด้านการ

จำแนกชนิด และการศึกษาชีววิทยา จึงนับว่ามีความสำคัญช่วยให้ทราบถึงความสำคัญในแต่ละพืชเศรษฐกิจ ความสามารถในการขยายและเพิ่มปริมาณในแต่ละพืช ซึ่งไรศัตรูพืชที่สำคัญในประเทศไทยมีหลายชนิดเช่น ไรแดงหม่อน *Tetranychus truncatus* Ehara เป็นไรที่สำคัญในพืชเศรษฐกิจหลายชนิด เช่น มันสำปะหลัง บวบ แค ถั่วพู ถั่วฝักยาว ฯลฯ ไรสองจุด *Tetranychus urticae* Koch เป็นไรที่สำคัญในกุหลาบ สตรอเบอรี่ ไรแดงกระเจี๊ยบ *Tetranychus macfaranei* เข้าทำลายกระเจี๊ยบ น้ำเต้า ถั่วพู มะเขือ แตงไทย ไรแมงมุมคันซาวา *Tetranychus kanzawai* เข้าทำลายมะละกอ สตรอเบอรี่ องุ่น ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ถั่วลิสง และไรแดงอัญชัน *Tetranychus piercei* McGregor เป็นไรแดง ที่มีความสำคัญในพืชเศรษฐกิจหลายชนิด เช่น ใบกล้วย มันเทศ มะละกอ เผือก และมีเขตแพร่กระจายไปทั่วโลก 13 ประเทศ รวมทั้งประเทศไทย เช่น ประเทศจีน อินโดนีเซีย ไต้หวัน มาเลเซีย เป็นต้น (Bollad *et a.l*, 1998) ในต่างประเทศมีรายงานพบไรชนิดนี้บนมันเทศ และปาล์ม ในประเทศฟิลิปปินส์ และญี่ปุ่น (Jeppson *et al*., 1975) Lui and Lui, 1986 รายงานวงจรชีวิตของไร *T. piercei* โดยมีระยะไข่ ระยะตัวอ่อนวัยที่ 1 ตัวอ่อนวัยที่ 2 และตัวเต็มวัย เท่ากับ 3.3-3.8, 1.3-1.6, 2.9-3 และ 1-1.2 วัน ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 28-32 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 74-85% CABI ปี 2014 รายงานว่าไร *T. piercei* แพร่กระจายไปหลายประเทศ บนพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ เช่น มะละกอ ปาล์มน้ำมัน กล้วย ถั่วลิสง มันเทศ อัญชัน เป็นต้น สำหรับในประเทศไทย ไรชนิดนี้เป็นศัตรูพืชที่สำคัญในประเทศออสเตรเลีย พบเข้าทำลายใบกล้วยที่ประเทศออสเตรเลีย จึงเรียกชื่อไรชนิดนี้ว่า Banana spider mite พบเป็นศัตรูพืชที่พบในหลายประเทศ เช่น มาเลเซีย อินโดนีเซีย นิวกีนี (Plant Health Australia, 2013) INRA ปี 2019 รายงานพบไรชนิดนี้ใน 91 พืชปลูก 11 ประเทศ วัฒนาและคณะ ปี 2544 รายงานพบไรชนิดนี้เข้าทำลายพืชเศรษฐกิจหลายชนิด ได้แก่ อัญชัน หนอนตายอยาก หมากผู้หมากเมีย ฝ้าย ถั่วพู กระเทียม ถั่วเหลือง ละหุ่ง ดาวเรือง กุหลาบ และคูน

ดังนั้น งานวิจัยครั้งนี้จึงนับเป็นการศึกษาถึงชีววิทยาของไรแดงอัญชัน เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานทางด้านไรให้ครบทุกด้าน เพื่อเป็นประโยชน์ในการป้องกันกำจัด โดยเฉพาะกับเกษตรกร นักวิชาการ และหน่วยงานที่เกี่ยวข้องที่จะนำงานวิจัยนี้ไปใช้ประโยชน์ต่อไป

วัตถุประสงค์ของโครงการคือ เพื่อทราบชีววิทยา ความสามารถในการผลิตไข่ตลอดอายุขัย และความสามารถในการอยู่รอดตั้งแต่ฟักจากไข่จนตาย (life table) ของไรแดงอัญชัน

วิธีดำเนินการ

การศึกษาชีววิทยาของไรแดงอัญชัน (*Tetranychus piercei* McGrego) (2565)

1. การเลี้ยงเพิ่มปริมาณไรแดงอัญชันในห้องปฏิบัติการ โดยนำตัวอย่างไรที่เก็บได้บนพืชอาศัยชนิดต่างๆ มาเลี้ยงบนใบพืชอาศัย ได้แก่ ได้แก่ ถั่วเหลือง (*Glycine max* (L.)), ถั่วพู (*Psophocarpus tetragonolobus* (L.)) และอัญชัน (*Clitoria ternatea* L.) และวางอยู่บนสำลีชุ่มน้ำในถาดพลาสติกหล่อน้ำถาดเลี้ยงตลอดเวลา และวางบนชั้นใต้แสงไฟฟลูออเรสเซ็นต์ เป็นเวลา 8 ชั่วโมงต่อวัน

ในห้องปฏิบัติการอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 60-80 % RH เพื่อให้ไรเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณขึ้นเรื่อยๆ จนมากเพียงพอ

2. การศึกษาชีววิทยาไรแดงอัญชัน โดยนำตัวเต็มวัยเพศเมียของไรที่เลี้ยงไว้จำนวน 40-50 ตัว ลงบนใบพืชอาศัย (ถั่วพู ถั่วเหลือง และอัญชัน) ทิ้งไว้ให้วางไข่ 3-4 ชั่วโมง นำไข่ที่ได้มาแยกเลี้ยงเดี่ยวๆ บนใบพืชอาศัย (ถั่วพู ถั่วเหลือง และอัญชัน) ที่ตัดเป็นแผ่นวงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.7 เซนติเมตร วางบนแผ่นสำลีชุ่มน้ำในกล่องพลาสติก ทำการทดลอง 100 ตัว ในแต่ละพืชอาศัย บันทึกระยะเวลาการเจริญเติบโตทุกๆ 6 ชั่วโมง จากระยะไข่ ตัวอ่อนวัยต่างๆ จนเป็นตัวเต็มวัย เขี่ยไรตัวผู้ที่เลี้ยงไว้ใส่ลงไปบนใบให้ผสมพันธุ์กับไรตัวเมีย บันทึกจำนวนไข่และการตายของตัวเมียที่เกิดขึ้นทุกๆ 24 ชั่วโมง จนกระทั่งตัวเมียตาย เขี่ยไข่ที่ตัวเมียแต่ละตัวผลิตได้ทั้งหมดแยกออกรวมไว้ บันทึกจำนวนลูกที่ฟักออกเป็นเพศเมีย คำนวณอัตราส่วนทางเพศ (sex ratio) มีอัตราการขยายพันธ์สุทธิ์ (Net reproductive rate of increase, R_0) ชั่วอายุไขของกลุ่ม (Cohort generation time, T_C) ความสามารถในการขยายพันธุ์ทางกรรมพันธุ์ (Capacity for increase, r_c) และอัตราการเพิ่มที่แท้จริง (Finite rate of increase, λ)

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

บันทึกวงจรชีวิต ระยะเวลาในการเจริญเติบโตตั้งแต่ไข่จนเป็นตัวเต็มวัยทั้งเพศผู้และเพศเมีย ความสามารถในการผลิตไข่ตลอดอายุขัย ในแต่ละพืชอาศัย ได้แก่ ถั่วพู ถั่วเหลือง และอัญชัน

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มต้นเดือนตุลาคม 2564 สิ้นสุดเดือนพฤศจิกายน 2565

สถานที่ ห้องปฏิบัติการและโรงเรือนทดลองของกลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาชีววิทยาของไรแดงอัญชัน (*Tetranychus piercei* McGrego) (2565)

การเลี้ยงเพิ่มปริมาณไรแดงอัญชันในห้องปฏิบัติการ โดยนำตัวอย่างไรที่เก็บได้บนต้นอัญชันมาเลี้ยงบนใบพืชชนิดนั้นๆ และวางอยู่บนสำลีชุ่มน้ำในถาดพลาสติกหล่อน้ำถาดเลี้ยงตลอดเวลาและวางบนชั้นใต้แสงไฟฟลูออเรสเซ็นต์เป็นเวลา 8 ชั่วโมงต่อวัน เพื่อให้ไรเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณขึ้นเรื่อยๆ จนมากเพียงพอ การศึกษาวงจรชีวิตของไรแดงอัญชัน ในใบพืชอาศัย ได้แก่ ถั่วเหลือง (*Glycine max* (L.)), ถั่วพู (*Psophocarpus tetragonolobus* (L.)) และอัญชัน (*Clitoria ternatea* L.) โดยนำตัวเต็มวัยเพศเมียของไรที่เลี้ยงไว้จำนวน 40-50 ตัว ลงบนใบพืชอาศัย ทิ้งไว้ให้วางไข่ 3-4 ชั่วโมง นำไข่ที่ได้มาแยกเลี้ยงเดี่ยวๆ บนใบพืชอาศัยที่ตัดเป็นแผ่นวงกลมขนาด เส้นผ่านศูนย์กลาง 1.7 เซนติเมตร วางบนแผ่นสำลีชุ่มน้ำในกล่องพลาสติกในห้องปฏิบัติการอุณหภูมิ 25.59±0.64 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 68.31±3.68% RH ทำการทดลอง 100 ตัว ในแต่ละพืชอาศัย

บันทึกระยะเวลาการเจริญเติบโตทุกๆ 8 ชั่วโมง บันทึกวงจรชีวิต ระยะเวลา ในการเจริญเติบโตตั้งแต่ไข่จนเป็นตัวเต็มวัยทั้งเพศผู้และเพศเมียในแต่ละพืชอาศัย ผลการทดลองพบว่าไรแดงอัญชันมีระยะการเจริญเติบโต 5 ระยะ ได้แก่ ระยะไข่ (egg) ตัวอ่อนวัย 1 (larva) ตัวอ่อนวัย 2 (protonymph) ตัวอ่อนวัย 3 (deutonymph) และตัวเต็มวัย (adult) ไข่มีลักษณะกลม ตัวอ่อนเมื่อฟักออกจากไข่มีขา เพียง 3 คู่ ตัวอ่อนเจริญเติบโตโดยมีการลอกคราบ 3 ครั้ง ก่อนการลอกคราบแต่ละครั้งตัวอ่อนจะหยุดกินอาหาร ไม่เคลื่อนไหว หลังการลอกคราบครั้งที่ 1 ตัวอ่อนมีขาเพิ่มขึ้นเป็น 4 คู่ ไรแดงอัญชันเพศผู้ที่เลี้ยงบนใบถั่วเหลือง เพศผู้ใช้เวลาในการเจริญเติบโตจากไข่จนเป็นตัวเต็มวัยเฉลี่ยนาน 10.14±0.85 วัน โดยมีระยะไข่เฉลี่ย 3.86±0.36 วัน ระยะการเจริญเติบโตของตัวอ่อนระยะที่ 1, 2 และ 3 เฉลี่ย 1.86±0.36, 2.14±0.65 และ 2.29±0.71 วัน ตามลำดับ ตัวเต็มวัยเพศผู้มีอายุยืนยาวเฉลี่ย 18.00±6.21 วัน เพศเมียใช้เวลาในการเจริญเติบโตจากไข่จนเป็นตัวเต็มวัยเฉลี่ยนาน 10.00±0.68 วัน โดยมีระยะไข่เฉลี่ย 3.85±0.36 วัน ระยะการเจริญเติบโตของตัวอ่อนระยะที่ 1, 2 และ 3 เฉลี่ย 1.92±0.27, 2.00±0.56 และ 2.23±0.42 วัน ตามลำดับ ตัวเต็มวัยเพศเมียมีอายุยืนยาวเฉลี่ย 19.62±2.92 วัน (Table 1)

ไรแดงอัญชันเพศผู้ที่เลี้ยงบนใบถั่วพู ใช้เวลาในการเจริญเติบโตจากไข่จนเป็น ตัวเต็มวัยเฉลี่ยนาน 11.00±0.85 วัน โดยมีระยะไข่เฉลี่ย 4.33±0.49 วัน ระยะการเจริญเติบโตของ ตัวอ่อนระยะที่ 1, 2 และ 3 เฉลี่ย 3.00±0.85, 2.07±0.26 และ 1.60±0.91 วัน ตามลำดับ ตัวเต็มวัยเพศผู้มีอายุยืนยาวเฉลี่ย 23.00 ± 3.05 วัน เพศเมียใช้เวลาในการเจริญเติบโตจากไข่จนเป็นตัวเต็มวัยเฉลี่ยนาน 11.00±0.35 วัน โดยมีระยะไข่เฉลี่ย 4.41+0.62 วัน ระยะการเจริญเติบโตของตัวอ่อนระยะที่ 1, 2 และ 3 เฉลี่ย 2.65±0.59, 2.24±0.65 และ 1.71±0.57 วัน ตามลำดับ ตัวเต็มวัยเพศเมียมีอายุยืนยาวเฉลี่ย 20.65±3.90 วัน (Table 1)

ไรแดงอัญชันเพศผู้ที่เลี้ยงบนใบอัญชัน ใช้เวลาในการเจริญเติบโตจากไข่จนเป็น ตัวเต็มวัยเฉลี่ยนาน 11.03±0.79 วัน โดยมีระยะไข่เฉลี่ย 4.14±0.36 วัน ระยะการเจริญเติบโตของตัวอ่อนระยะที่ 1, 2 และ 3 เฉลี่ย 2.86±0.65, 2.00±0.54 และ 2.03±0.57 วัน ตามลำดับ ตัวเต็มวัยเพศผู้มีอายุยืนยาวเฉลี่ย 22.54±7.39 วัน เพศเมียใช้เวลาในการเจริญเติบโตจากไข่จนเป็น ตัวเต็มวัยเฉลี่ยนาน 10.54±0.75 วัน โดยมีระยะไข่เฉลี่ย 4.46±0.50 วัน ระยะการเจริญเติบโตของตัวอ่อนระยะที่ 1, 2 และ 3 เฉลี่ย 2.23±0.81, 1.77±0.58 และ 2.08±0.48 วัน ตามลำดับ ตัวเต็มวัยเพศเมียมีอายุยืนยาวเฉลี่ย 19.77±2.13 วัน (Table 1)

จากการศึกษาตารางชีวิต (life table) ของไรแดงอัญชันเมื่อเลี้ยงด้วยพืชอาศัย ได้แก่ ถั่วเหลือง ถั่วพู และอัญชัน พบว่าไรแดงอัญชันที่เลี้ยงบนใบถั่วเหลือง มีอัตราการขยายพันธ์สุทธิ์ (R_0) มีค่า 49.35 ชั่วอายุไขของกลุ่ม (T_C) มีค่า 19.72 วัน ความสามารถในการขยายพันธุ์ทางกรรมพันธุ์ (r_C) มีค่า 0.20 และอัตราการเพิ่มที่แท้จริง (λ) มีค่า 1.22 ตัวต่อวัน (Table 2) ตัวเต็มวัยเพศเมียสามารถวางไข่เฉลี่ยวันละ 3.91±1.16 ฟอง สามารถวางไข่ได้ตลอดอายุขัยเฉลี่ย 75.92±23.40 ฟอง และไข่ที่วางทั้งหมดของตัวเมียแต่ละตัวมีสัดส่วนของลูกที่ฟักเป็นเพศเมียเท่ากับ 0.57 (Table 3)

ไรแดงอัญชัน เลี้ยงบนใบถั่วพู มีอัตราการขยายพันธ์สุทธิ์ (R_0) มีค่า 148.30 ชั่วอายุไขของกลุ่ม (T_C) มีค่า 21.2 วัน ความสามารถในการขยายพันธุ์ทางกรรมพันธุ์ (r_C) มีค่า 0.24 และอัตราการเพิ่มที่แท้จริง (λ) มีค่า 1.27 ตัวต่อวัน (Table 2) ตัวเต็มวัยเพศเมียสามารถวางไข่เฉลี่ยวันละ 8.46±1.92 ฟอง สามารถวางไข่ได้ตลอดอายุขัยเฉลี่ย 174.47±52.29 ฟอง และไข่ที่วางทั้งหมดของตัวเมียแต่ละตัวมีสัดส่วนของลูกที่ฟักเป็นเพศเมียเท่ากับ 0.65 (Table 3)

ไรแดงอัญชันที่เลี้ยงบนใบอัญชัน มีอัตราการขยายพันธ์สุทธิ์ (R_0) มีค่า 78.15 ชั่วอายุไขของกลุ่ม (T_C) มีค่า 20.85 วัน ความสามารถในการขยายพันธุ์ทางกรรมพันธุ์ (r_C) มีค่า 0.21 และอัตราการเพิ่มที่แท้จริง (λ) มีค่า 1.23 ตัวต่อวัน (Table 2) ตัวเต็มวัยเพศเมียสามารถวางไข่เฉลี่ยวันละ 6.04±1.19 ฟอง สามารถวางไข่ได้ตลอดอายุขัยเฉลี่ย 120.23±35.85 ฟอง และไข่ที่วางทั้งหมดของตัวเมียแต่ละตัวมีสัดส่วนของลูกที่ฟักเป็นเพศเมียเท่ากับ 0.63 (Table 3)

จากผลการทดลองจะได้ได้ว่าปัจจัยที่มีผลต่ออัตราการเพิ่มปริมาณประชากรคือ อัตราการวางไข่เฉลี่ยต่อวัน ซึ่ง Snell (1978) และ Wrensch (1985) ที่ให้เหตุผลของการเพิ่มขึ้นของประชากรขึ้นกับปัจจัย 2 ปัจจัย คือ ระยะเวลาในการเจริญเติบโต และอัตราการวางไข่ ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโต คือพืชอาหาร ชนิดของพืชอาหารมีผลต่อการเจริญเติบโต อายุไข และอัตราการวางไข่ เนื่องจากโครงสร้างของพืช ธาตุอาหาร สรีรวิทยา และสารเคมีในพืชแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน องค์ประกอบเหล่านี้ล้วนส่งผลต่อการเจริญเติบโตและอัตราการขยายพันธุ์ของไร (อังศุมาลย์, 2550)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ไรแดงอัญชัน*Tetranychus piercei* McGrego มีระยะการเจริญเติบโต 5 ระยะ คือ ระยะไข่ (egg) ตัวอ่อนวัยที่ 1 (larva) ตัวอ่อนวัยที่ 2 (Protonymph) ตัวอ่อนวัยที่ 3 (Deutonymph) และตัวเต็มวัย (adult) ไรแดงอัญชันที่ลงทำลายบนถั่วเหลือง ถั่วพู และอัญชัน ใช้เวลาในการเจริญเติบโตจากไข่จนตัวเต็มวัยประมาณ 10-11 วัน ตัวเต็มวัยเพศเมียมีอายุยืนยาวประมาณ 19-20 วัน สามารถวางไข่ได้มากที่สุดเมื่อลงทำลายถั่วพู ซึ่งให้ปริมาณไข่โดยเฉลี่ยตลอดชีวิต 174.47 ฟอง และให้ปริมาณไข่โดยเฉลี่ยตลอดชีวิตน้อยที่สุดเมื่อลงทำลายถั่วเหลืองซึ่งให้ปริมาณไข่โดยเฉลี่ยตลอดชีวิต 75.92 ฟอง เมื่อลงทำลายในถั่วพูจะให้ค่าอัตราการขยายพันธ์สุทธิ์ (R_0) มีมากถึง 148.30 แต่ค่าชั่วอายุไขของกลุ่ม (T_C) ความสามารถในการขยายพันธุ์ทางกรรมพันธุ์ (r_C) อัตราการเพิ่มที่แท้จริง (λ) และสัดส่วนเพศ ใกล้เคียงกันทั้ง 3 พืชอาศัย ไรแมงมุมชนิดนี้จึงสามารถเพิ่มจำนวนประชากรได้ดีเมื่อมีถั่วพูเป็นพืชอาศัย และเป็นเหตุให้เกิดการระบาดได้อย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะในช่วงที่อากาศแห้งแล้งหรือฝนทิ้งช่วง จึงควรทำการป้องกันกำจัดให้ทันท่วงที และควรกำจัดไรแดงอัญชันบนพืชอาศัยอื่นๆ เช่น ถั่วเหลือง หรืออัญชัน ที่อยู่บริเวณแปลงถั่วพูซึ่งเป็นแหล่งหลบซ่อน และไรแดงชนิดนี้ยังมีความสามารถเพิ่มปริมาณได้ดีเมื่ออาศัยอยู่บนพืชอาศัยเหล่านี้

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นางสาวพลอยชมพู กรวิภาสเรือง นักกีฏวิทยาชำนาญการพิเศษ กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม ที่ให้ความอนุเคราะห์จำแนกชนิดของไรแดงอัญชัน ขอขอบคุณผู้ช่วยนักวิจัย คุณเจริญ เหลือทรัพย์ เจ้าหน้าที่กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ที่ช่วยทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงเป็นไปตามวัตถุประสงค์

เอกสารอ้างอิง

กรมการค้าต่างประเทศ. 2563. *สถิติสินค้านำเข้า ส่งออก.* http://www.dft.go.th/th-th/dft-service-data-statistic/cid/41 (Feb 18, 2020).

มกอช. ไม่ระบุปีที่พิมพ์. *Tetranychus piercei McGregor*. http://ippc.acfs.go.th/pest/G001/T012/MITE012. (March 18, 2020).

วัฒนา จารณศรี มานิตา คงชื่นสิน เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ และพิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์. 2544. *ไรศัตรูพืชและการป้องกันกำจัด.* เอกสารวิชาการของกองกีฏและสัตววิทยา ปี พ.ศ. 2544. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ. 192 น.

อังศุมาลย์ จันทราปัตย์. 2550. ไรการเกษตร. โรงพิมพ์สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพ. 315 น.

CABI, 2014. *Tetranychus piercei.* (Online) Available. https://www.cabidigitallibrary.org/doi/10.1079/cabicompendium.53362. (March 20, 2020).

INRA. 2019. *Spider mites web*. https://www1.montpellier.inra.fr/CBGP/spmweb/notes pecies.php?id=859. (March 18, 2020).

Jeppson, L.R., H.H. Keifer and E.W. Baker. 1975. *Mite injurious to economic plants*. University of California press, Berkeley. London.

Lui, Z.G. and N.Z. Lui. 1986. *A preliminary report on Tetranychus piercei McGregor.* (Online) Available. https://www.cabi.org/ISC/abstract/19881103831. (March 18, 2020)

Plant Health Australia. 2013. *Banana spider mite.* (Online) Available.https://www.plant healthaustralia.com.au/wp-ontent/uploads/2013/01/Banana-spider-mite-FS.pdf. (March 18, 2020).

Snell, T.W. 1978. Fecundity, developmental time and population growth rate. Oecologia. 32: 119-125.

Wrensch, D.L. 1985. Reproductive parameters. *In* Spider mite. Their Biology, Natural Enemies and Control, 1A (W. helle and M. Sabelis eds.). Elsevier Amsterdam. 165-170.

Table 1 Duration of various of developmental of *Tetranychus piercei* McGrego when rearing on *Glycine max* (L.), *Psophocarpus tetragonolobus* (L.) and *Clitoria ternatea* L. under laboratory condition

Stage	Deverlopment duration in day (Mean+S.D.)					
	G. max		*P. tetragonolobus*		*C. ternatea*	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female
egg	3.86±0.36	3.85±0.36	4.33±0.49	4.41±0.60	4.14±0.36	4.46±0.50
larva	1.86±0.36	1.92±0.27	3.00±0.85	2.65±0.59	2.86±0.65	2.23±0.81
Protonymph	2.14±0.65	2.00±0.56	2.07±0.26	2.24±0.65	2.00±0.54	1.77±0.58
Deutonymph	2.29±0.71	2.23±0.42	1.60±0.91	1.71±0.57	2.03±0.57	2.08±0.48
Total (egg-adult)	10.14±0.85	10.00±0.68	11.00±0.85	11.00±0.35	11.03±0.79	10.54±0.75
Female longevity	-	19.62±2.92	-	20.65±3.90	-	19.77±2.13
Male longevity	18.00±6.21	-	23.00±3.05	-	22.54±7.39	-

Table 2 Biological attribute of *Tetranychus piercei* McGrego when rearing on *Glycine max* (L.), *Psophocarpus tetragonolobus* (L.) and *Clitoria ternatea* L. under laboratory condition

Biological attribute	Host plant		
	G. max	*P. tetragonolobus*	*C. ternatea*
Net reproductive rate of increase (R_0)	49.35	148.30	78.15
Cohort generation time (T_c)	19.72	21.20	20.85
Capacity for increase (r_c)	0.20	0.24	0.21
Finite rate of increase (λ)	1.22	1.27	1.23
sex ratio	1:2	1:5.67	1:1.86
Proportion of female of F1	0.57	0.65	0.63

Table 3 Table Comparison of egg production and egg hatchability on *Glycine max* (L.), *Psophocarpus tetragonolobus* (L.) and *Clitoria ternatea* (L.)

Host plant	Average number of eggs per day per female	Average total of eggs per female
G. max	3.91+1.16	75.92+23.40
P. tetragonolobus	8.46+1.92	174.47+52.29
C. ternatea	6.04+1.19	120.23+35.85

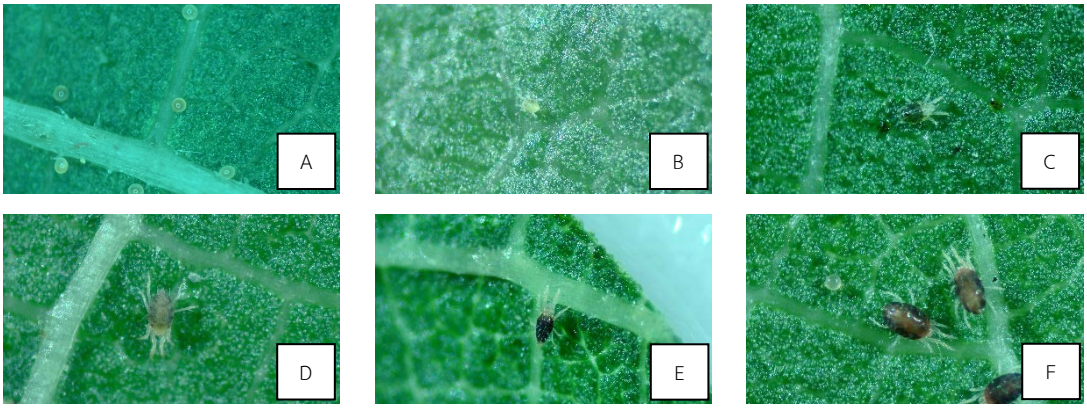


Figure 1 The duration developmental was 5 stages including (A) Egg (B) Larva (C) Protonymph (D) Deutonymph (E) Adult Male (F) Adult Female

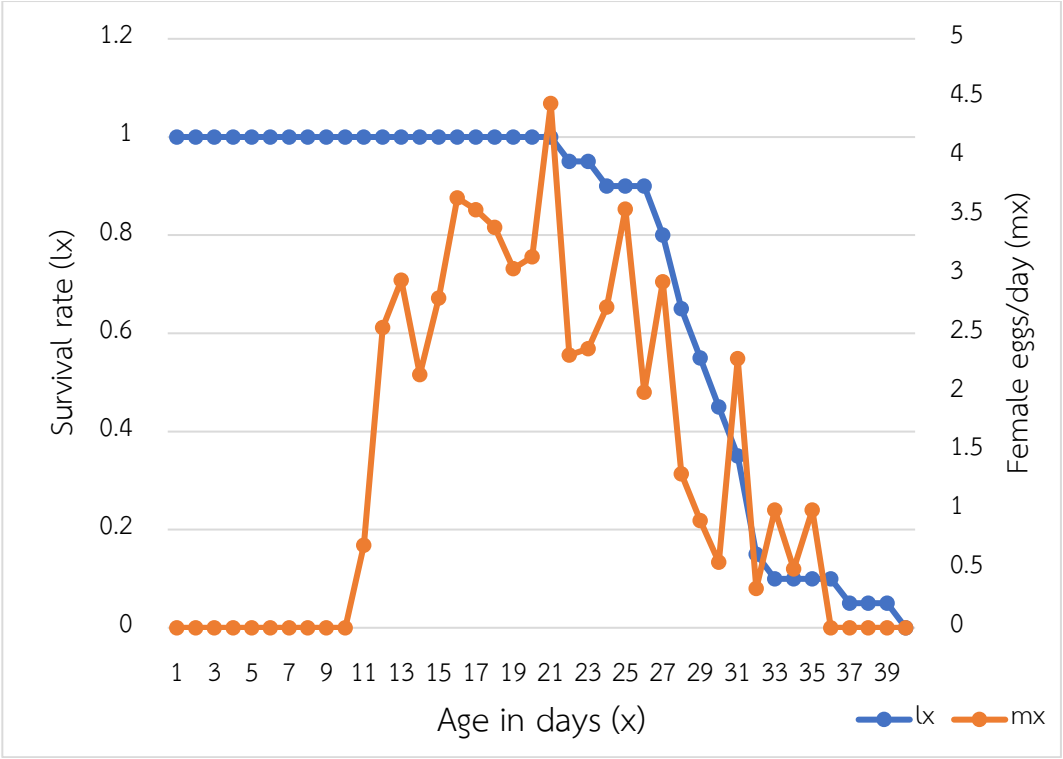


Figure 2 Survival rate and egg-laying rate of *Tetranychus piercei* McGrego fed on *Glycine max* (L.)

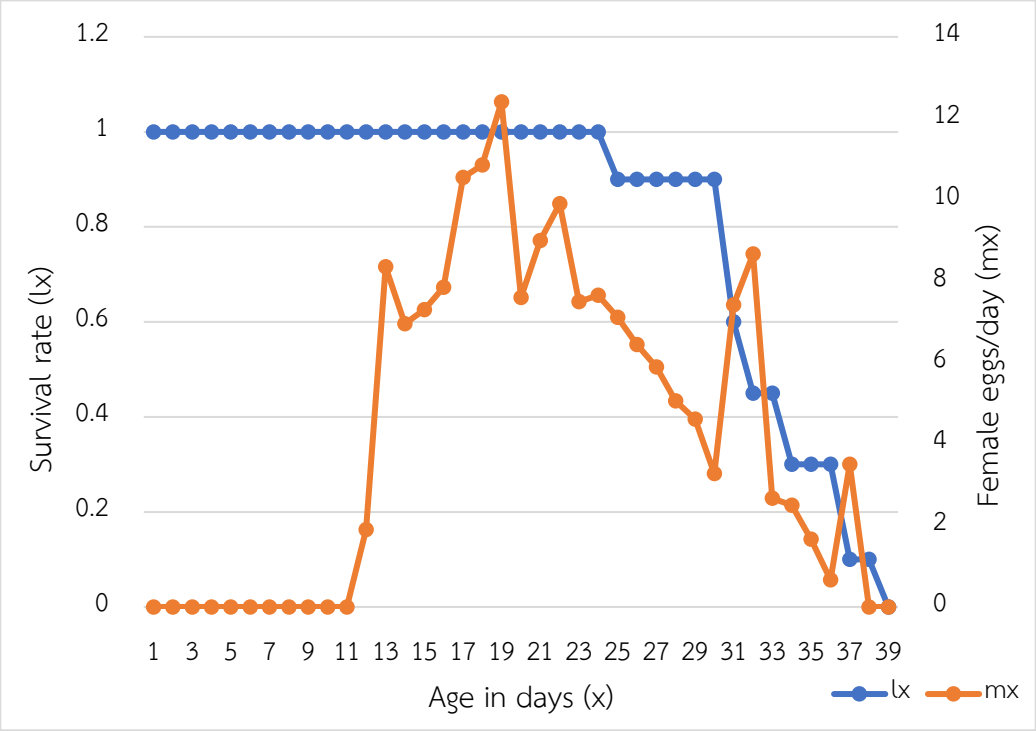


Figure 3 Survival rate and egg-laying rate of *Tetranychus piercei* McGrego fed on *Psophocarpus tetragonolobus* (L.)

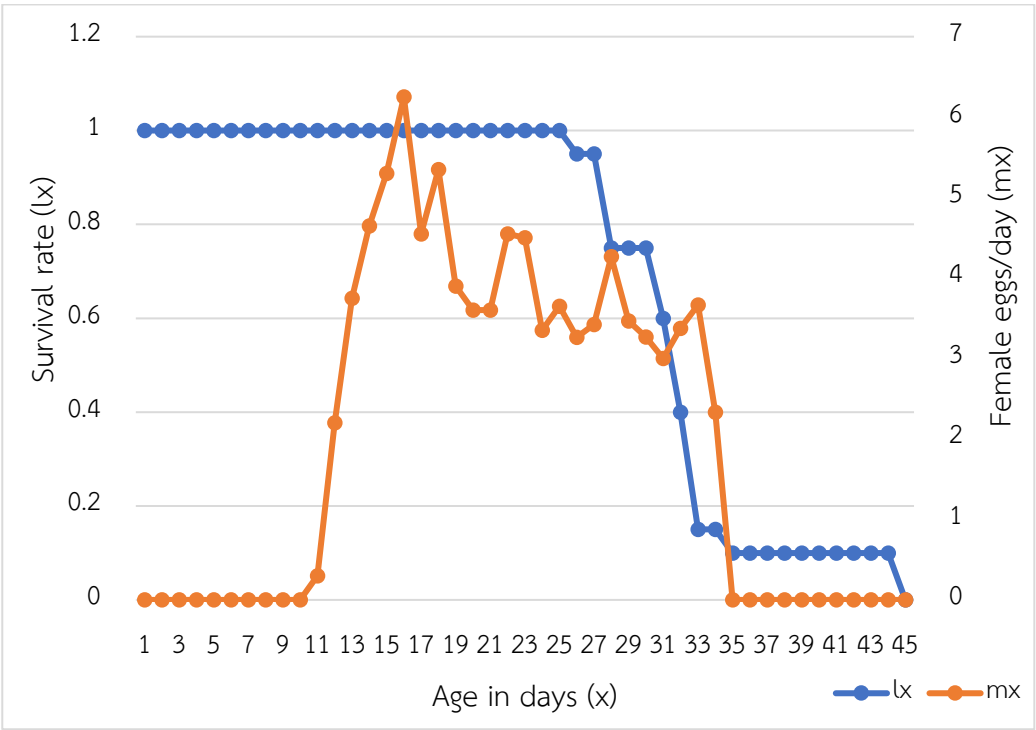


Figure 4 Survival rate and egg-laying rate of *Tetranychus piercei* McGrego fed on *Clitoria ternatea* (L.)

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

Biology and Predatory Potential of Brown Lacewings, *Micromus timidus* Hagen, 1853 (Neuroptera: Hemerobiidae) and Dusty-wing, *Semidalis aleyrodiformis* (Stephens, 1836) (Neuroptera: Coniopterygidae)

อาทิตย์ รักกสิกร ประภัสสร เชยคำแหง สุนัดดา เชาวลิต
ชมัยพร บัวมาศ อิทธิพล บรรณาการ
อทิติยา แก้วประดิษฐ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Progress report

Under the year 2565 budget a literature review of experimental procedures was conducted. Surveys were performed to collect samples in Bangkok, 50 adults, larvae and pupae of *Semidalis aleyrodiformis* were collected and reared in the laboratory for biological studies in the next step, but they did not complete the life cycle in laboratory conditions. From preliminary rearing, both species are similar in biology. The dusty-wing, *Semidalis aleyrodiformis* has 4 stages in the life cycle: eggs, 3 larval instars, pupae and adults; but the duration of each stage was unknown. The brown lacewing, *Micromus timidus* also has 4 stages in the life cycle: eggs, 3 larval instars lasting 10 days, pupae for 7 days and adults.

Keywords : Biology The brown lacewing The dusty-wing

รหัสการทดลอง FF65-20-01-65-02-02-65

รายงานความก้าวหน้า

ในปีงบประมาณ 2565 นั้น สิ่งที่ได้ดำเนินการแล้ว คือ สืบค้นเอกสารที่เกี่ยวข้องในการทดลอง เก็บตัวอย่างแมลงช้างปีกแป้งชนิด *Semidalis aleyrodiformis* ทั้งตัวเต็มวัย หนอน และดักแด้ จำนวน 50 ตัวอย่าง จากกรุงเทพมหานครฯ และดำเนินการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ เพื่อศึกษาชีววิทยาในขั้นต่อไป แต่ยังไม่สามารถเพาะเลี้ยงแมลงช้างทั้ง 2 ชนิด ได้ครบวงจรชีวิต แต่ทั้งนี้จากการเพาะเลี้ยงเบื้องต้น พบว่าแมลงช้างทั้ง 2 ชนิด มีชีววิทยาที่คล้ายกัน คือ แมลงช้างปีกแป้ง ชนิด *Semidalis aleyrodiformis* มีวงจรชีวิต 4 ระยะ คือ ระยะไข่ ระยะตัวหนอน จำนวน 3 วัย ระยะดักแด้ และระยะตัวเต็มวัย แต่ยังไม่ทราบเวลาในแต่ละระยะของวงจรชีวิต ส่วนแมลงช้างสีน้ำตาล ชนิด *Micromus timidus* มีวงจรชีวิต 4 ระยะ คือ ระยะไข่ ระยะหนอน จำนวน 3 วัย ใช้เวลาประมาณ 10 วัน ระยะดักแด้ประมาณ 7 วัน และระยะตัวเต็มวัย

คำหลัก : ชีววิทยา แมลงช้างสีน้ำตาล แมลงช้างปีกแป้ง

คำนำ

แมลงช้างอยู่ในอันดับ Neuroptera เป็นแมลงที่มีการเจริญเติบโตแบบสมบูรณ์ (complete metamorphosis) แมลงช้างเป็นแมลงตัวห้ำ กินแมลงและสัตว์ขนาดเล็กอื่นๆ เป็นอาหาร โดยเฉพาะในระยะตัวอ่อน แมลงช้างหลายชนิดเป็นศัตรูธรรมชาติของศัตรูพืชที่มีความสำคัญ โดยเป็นแมลงตัวห้ำของแมลงศัตรูพืช โดยเฉพาะแมลงปากดูด ซึ่งแมลงช้างในวงศ์ที่มีตวามสำคัญทางการเกษตร ได้แก่ แมลงช้างปีกใสสีเขียว วงศ์ Chrysopidae เป็นแมลงตัวห้ำของศัตรูพืช ได้แก่ เพลี้ยแป้ง เพลี้ยหอย เพลี้ยอ่อน ไรแดง และไข่ขนาดเล็กของแมลงอื่นๆ แมลงช้างสีน้ำตาล วงศ์ Hemerobiidae เป็นแมลงตัวห้ำของศัตรูพืช ได้แก่ เพลี้ยแป้ง เพลี้ยหอย เพลี้ยอ่อน แมลงหวี่ขาว ไรแดง และไข่ขนาดเล็กของแมลงอื่นๆ แมลงช้างปีกแป้ง วงศ์ Coniopterygidae เป็นแมลงตัวห้ำของศัตรูพืช ได้แก่ เพลี้ยแป้ง เพลี้ยหอย เพลี้ยอ่อน แมลงหวี่ขาว เพลี้ยไก่แจ้ ไรแดง และไข่ขนาดเล็กของแมลงอื่นๆ (ศานิต, 2550; ไสว, 2544; Cranshaw, 2004)

เนื่องจากงานการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี มีความสำคัญมากในการอารักขาพืชผลทางการเกษตร โดยเฉพาะในประเทศไทย แต่ฐานข้อมูลเกี่ยวกับแมลงช้างสีน้ำตาลและแมลงช้างปีกแป้งนั้นมีอยู่ไม่มากนัก ดังนั้น การศึกษาชีววิทยาและศักยภาพการกินเหยื่อ ของแมลงช้างสีน้ำตาล วงศ์ Hemerobiidae และแมลงช้างปีกแป้ง วงศ์ Coniopterygidae ในประเทศไทยนี้ จึงมีความสำคัญที่ทำให้ทราบข้อมูลพื้นฐาน เพื่อประโยชน์ในการพัฒนาการป้องกันกำจัดโดยชีววิธี หรือคัดเลือกชนิดแมลงช้างชนิดใหม่ๆ จากธรรมชาติของประเทศไทย ที่มีศักยภาพมาใช้ควบคุมการระบาดของแมลงศัตรูพืชได้ดียิ่งขึ้น ต่อไป (รัตนา, 2544; รัตนา และประภัสสร, 2554)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1) แมลงช้างสีน้ำตาล ชนิด *M. timidus* และแมลงช้างปีกแป้ง ชนิด *S. aleyrodiformis* รวมทั้งเหยื่อของแมลงช้าง ได้แก่ เพลี้ยแป้ง เพลี้ยอ่อน แมลงหวี่ขาว เพลี้ยไฟ และไรศัตรูพืช ที่รวบรวมได้จากแปลงปลูกพืช ทั่วประเทศไทย

2) ชุดอุปกรณ์เก็บตัวอย่างแมลงและอุปกรณ์เลี้ยงแมลง ได้แก่ กล่องพลาสติกสี่เหลี่ยม ขนาดกว้าง20 เซนติเมตร ยาว 30 เซนติเมตร สูง 15 เซนติเมตร กล่องพลาสติกกลมฝาเกลียว ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร สูง 3 เซนติเมตร ถาดรองกล่องเลี้ยงแมลง ผ้าขาวบาง สำลี กระดาษ label และกระดาษชำระ

3) พืชอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงแมลงเหยื่อของแมลงช้าง และอาหารเลี้ยงแมลงช้างตัวเต็มวัย

4) กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope, compound microscope เครื่องวัดค่าพิกัดภูมิศาสตร์ (GPS) และกล้องถ่ายภาพ

5) อุปกรณ์บันทึกผลการทดลอง

วิธีการ

1) เก็บรวบรวมแมลงช้างสีน้ำตาล ชนิด *M. timidus* และแมลงช้างปีกแป้ง ชนิด *S. aleyrodiformis* ทั้งระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัย รวมทั้งเหยื่อของแมลงช้าง ได้แก่ เพลี้ยแป้ง เพลี้ยอ่อน แมลงหวี่ขาว เพลี้ยไฟ และไรศัตรูพืช จากแปลงปลูกพืชทั่วประเทศไทย แมลงช้างและเหยื่อชนิดต่างๆ ที่สำรวจพบ นำไปเพาะเลี้ยงในกล่องเลี้ยงแมลง ในห้องปฏิบัติการ อุณหภูมิเฉลี่ย 25±2 องศาเซลเซียส เลี้ยงด้วยเหยื่อที่พบในธรรมชาติขณะเก็บตัวอย่าง จนได้แมลงช้างตัวเต็มวัย นำมาจับคู่ผสมพันธุ์ เพื่อได้จำนวนไข่และตัวอ่อนแมลงช้างสำหรับการทดลองขั้นต่อไป เมื่อได้ชนิดที่สามารถเพาะเลี้ยงได้ และมีจำนวนเพียงพอสำหรับการทดลองแล้ว นำไปเพาะเลี้ยงเพื่อศึกษาชีววิทยาและการเลือกกินเหยื่อของแมลงช้าง โดยเลี้ยงด้วยเหยื่อ ได้แก่ เพลี้ยแป้ง เพลี้ยอ่อน แมลงหวี่ขาว เพลี้ยไฟ และไรศัตรูพืช จนกระทั่งได้ตัวเต็มวัย นำมาจับคู่ผสมพันธุ์และชักนำให้วางไข่ ตลอดการเพาะเลี้ยงบันทึกขนาด จำนวนที่รอดชีวิตและตาย และระยะเวลาที่ใช้ในวงจรชีวิตของแมลงช้างระยะต่างๆ ได้แก่ ระยะไข่ ระยะหนอนวัยต่างๆ ระยะดักแด้ ระยะตัวเต็มวัย และจำนวนไข่ที่แมลงช้างเพศเมียรุ่นต่อมาวางไข่ได้ นำข้อมูลที่ได้ มาจัดทำตารางชีวิต (Biological life table) เพื่อวิเคราะห์การเจริญเติบโต ตามแนวทางของ อินทวัฒน์ (2548) และวิเคราะห์ชนิดของเหยื่อที่ตัวอ่อนแมลงช้างชนิดนั้นๆ ชอบ รวมทั้งระยะของแมลงช้างที่สามารถกินเหยื่อมากที่สุด

2) การทดสอบศักยภาพการกินเหยื่อของแมลงช้างที่สามารถเพาะเลี้ยงได้ โดยเพาะเลี้ยงแมลงช้างที่ศึกษา และเหยื่อ เพื่อเพิ่มปริมาณสำหรับการทดสอบต่อไป เมื่อได้จำนวนเพียงพอสำหรับการทดลองแล้ว นำไปเพาะเลี้ยงเพื่อศึกษาศักยภาพการกินเหยื่อของแมลงช้าง โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 10 ซ้ำ มี 5 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 เพาะเลี้ยงตัวอ่อนแมลงช้างด้วยเพลี้ยแป้ง
กรรมวิธีที่ 2 เพาะเลี้ยงตัวอ่อนแมลงช้างด้วยเพลี้ยอ่อน
กรรมวิธีที่ 3 เพาะเลี้ยงตัวอ่อนแมลงช้างด้วยแมลงหวี่ขาว
กรรมวิธีที่ 4 เพาะเลี้ยงตัวอ่อนแมลงช้างด้วยเพลี้ยไฟ
กรรมวิธีที่ 5 เพาะเลี้ยงตัวอ่อนแมลงช้างด้วยไรศัตรูพืช

นำเหยื่อแมลงช้างทั้ง 5 ชนิดๆ ละ 100 ตัว ใส่ลงบนใบพืชอาหารของเหยื่อชนิดนั้นๆ ที่มีขนาด 2×2 เซนติเมตร แล้วใส่ลงกล่องพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร สูง 3 เซนติเมตร ปล่อยตัวอ่อนแมลงช้างวัยที่สามารถกินเหยื่อได้มากที่สุดลงในกล่อง กล่องละ 1 ตัว ทิ้งไว้ให้กินเหยื่อนาน 48 ชั่วโมง บันทึกจำนวนของเหยื่อที่เหลืออยู่ทุกๆ 24 ชั่วโมง แล้วเติมเหยื่อใหม่ให้ครบ 100 ตัว เพื่อหาจำนวนที่ถูกกินไปเฉลี่ยต่อวัน ทำการทดลอง 10 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ ด้วยวิธี Analysis of Variance เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

3) สรุปผลการทดลอง ได้ข้อมูลทางชีววิทยาเพื่อประเมินศักยภาพการกินเหยื่อเบื้องต้นของแมลงช้างสีน้ำตาล ชนิด *M. timidus* และแมลงช้างปีกแป้ง ชนิด *S. aleyrodiformis* ที่จะสามารถนำมาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีได้ในอนาคต บันทึกรายงานผลการทดลอง

เวลาและสถานที่

1) แหล่งปลูกพืชเศรษฐกิจต่างๆ ในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย น่าน พิษณุโลก เพชรบูรณ์ นครสวรรค์ ขอนแก่น อุบลราชธานี นครราชสีมา อ่างทอง นครปฐม สุพรรณบุรี กาญจนบุรี เพชรบุรี ชุมพร ระนอง สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช ตรัง สงขลา

2) ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1) สืบค้นเอกสารที่เกี่ยวข้องในการทดลอง

2) สำรวจและเก็บตัวอย่างแมลงช้างปีกแป้งชนิด *S. aleyrodiformis* ทั้งตัวเต็มวัย หนอน และดักแด้ จำนวน 50 ตัวอย่าง จากเขตจตุจักร กรุงเทพมหานครฯ บนต้นขี้เหล็กเทศ ไทรใบเล็ก มะยม น้อยหน่า และการเวก และดำเนินการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ เพื่อศึกษาชีววิทยาในขั้นต่อไป แต่ยังไม่สามารถเพาะเลี้ยงได้ครบวงจรชีวิต

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ในปีงบประมาณ 2565 นั้น สิ่งที่ได้ดำเนินการแล้ว คือ สืบค้นเอกสารที่เกี่ยวข้องในการทดลอง เก็บตัวอย่างแมลงช้างปีกแป้งชนิด *S. aleyrodiformis* ทั้งตัวเต็มวัย หนอน และดักแด้ (Figure 1, 2 & 3.) จำนวน 50 ตัวอย่าง จากเขตจตุจักร กรุงเทพมหานครฯ บนต้นขี้เหล็กเทศ ไทรใบเล็ก มะยม น้อยหน่า และการเวก และดำเนินการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ เพื่อศึกษาชีววิทยาในขั้นต่อไป แต่ยัง

ไม่สามารถเพาะเลี้ยงแมลงช้างทั้ง 2 ชนิด ได้ครบวงจรชีวิต อีกทั้งสภาพอากาศที่มีช่วงฤดูฝนที่ยาวนาน ทำให้ไม่พบตัวอย่างแมลงช้างสีน้ำตาลที่จะนำมาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ เพื่อศึกษาชีววิทยา

แต่ทั้งนี้จากการเพาะเลี้ยงเบื้องต้น พบว่าแมลงช้างทั้ง 2 ชนิด มีชีววิทยาที่คล้ายกัน คือ แมลงช้างปีกแป้ง ชนิด *S. aleyrodiformis* มีวงจรชีวิต 4 ระยะ คือ ระยะไข่ ระยะตัวหนอน จำนวน 3 วัย ขนาดความยาวเฉลี่ยประมาณ 1.8 มิลลิเมตร ระยะดักแด้ และระยะตัวเต็มวัย แต่ยังไม่ทราบเวลาในแต่ละระยะของวงจรชีวิต ส่วนแมลงช้างสีน้ำตาล ชนิด *M. timidus* (Figure 4, 5, 6 & 7.) มีวงจรชีวิต 4 ระยะ คือ ระยะไข่ ระยะหนอน จำนวน 3 วัย ขนาดความยาวเฉลี่ยประมาณ 1.5 – 9.0 มิลลิเมตร ใช้เวลาประมาณ 10 วัน ระยะดักแด้ประมาณ 7 วัน และระยะตัวเต็มวัย

เอกสารอ้างอิง

จุรีรัตน์ รัตนทิพย์, นุชรีย์ ศิริ และ อังศุมาลย์ จันทราปัตย์. 2551. ประสิทธิภาพการห้ำของด้วงเต่า *Stethorus* spp. ต่อไรสองจุด *Tetranychus urticae* Koch. ว. วิทย์. กษ. 39(3) (พิเศษ).น. 226-229.

ฉัตรชัย ศฤงฆไพบูลย์, มานิตา คงชื่นสิน, วัฒนา จารณศรี และเทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์. 2537. การศึกษาวงจรชีวิตและปริมาณไข่ของตัวห้ำ *Stethorus pauperculus* (Weise) ที่กินไรแดงอ้อย *Oligonychus simus* Baker and Pritchard. หน้า 213-227.*ใน* รายงานผลการค้นคว้าปี 2537. กลุ่มงานอนุกรมวิธานและวิจัยไร. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

ฉัตรชัย ศฤงฆไพบูลย์, มานิตา คงชื่นสิน, เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ และวัฒนา จารณศรี. 2538. การศึกษาประสิทธิภาพในการกินไรแดงอ้อย *Oligonychus simus* Baker and Pritchard ของแมลงตัวห้ำ *Stethorus pauperculus* (Weise) ในห้องปฏิบัติการ. หน้า 201-224.*ใน* รายงานผลการค้นคว้าปี 2538. กลุ่มงานอนุกรมวิธานและวิจัยไร. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

รัตนา นชะพงษ์. 2544. การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยใช้แมลงห้ำ. หน้า 87-89. *ใน* เอกสารวิชาการ การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีเพื่อการเกษตรยั่งยืน. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

รัตนา นชะพงษ์ และประภัสสร เชยคำแหง. 2554. การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยใช้แมลงตัวห้ำ. หน้า 11-15. *ใน* เอกสารประกอบการอบรมหลักสูตร แมลง-สัตว์ศัตรูพืช และการป้องกันกำจัด ครั้งที่ 15. กลุ่มกีฏและสัตววิทยา 25-29 กรกฎาคม 2554 ณ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพ.

ศานิต รัตนภุมมะ. 2550. กีฏวิทยาแม่บท. ห้างหุ้นส่วนจำกัด ดีพริ้น และแทนก๊อปปี้เซนเตอร์, เชียงใหม่. 571 หน้า.

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร. 2559. บัญชีรายชื่อแมลง ไร และสัตว์ ศัตรูพืชของพืชเศรษฐกิจในประเทศไทย. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ. 199 หน้า.

ไสว บูรณพานิชพันธุ์. 2544. อนุกรมวิธานแมลง. ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.เชียงใหม่.441 หน้า.

อัจฉราภรณ์ ประเสริฐผล, อิทธิพล บรรณาการ, พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ และพลอยชมพู กรวิภาสเรือง. 2558. ประสิทธิภาพการกินของด้วงเต่าตัวห้ำสตีธอรัส *Stethorus pauperculus* (Weise) ต่อไรแมงมุม. หน้า 22-33.*ใน*การประชุมสัมมนาวิชาการอารักขาพืชประจำปี 2558, 24-27 สิงหาคม 2558. ณ โรงแรมระยองรีสอร์ท ต.เพ อ.เมือง จ.ระยอง

อินทวัฒน์ บุรีคำ. 2548. นิเวศวิทยาวิเคราะห์ทางกีฏวิทยา. ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ นครปฐม. 180 หน้า.

Chazeau, J., 1985. Predaceous insects. pp. 211-246. *In*: Helle, W., Sabelis, M.W. (Eds.), Spider Mites; Their Biology, Natural Enemies, and Control, Vol. B. Elsevier, Amsterdam.

Cranshaw, W. 2004. Garden Insects of North America: The Ultimate Guide to Backyard Bugs.

Hill, D.S. 2008. Pests of Crops in Warmer Climates and Their Control. Springer Science + Business Media, Berlin. 704 pp.

New, T.R. 2003. Fauna Malesiana Handbooks: The Neuroptera of Malesia. Fauna Malesiana Foundation, Leiden. 209 p.

Plant, C.W. 1991. An Introduction to the British Wax-flies (Neuroptera: Coniopterygidae) with a Revised Key to British Species. *Br. J. Ent. Nat. Hist*. 4(1991): 99-117.

Figure 1 adult *Semidalis aleyrodiformis*

Figure 2 *Semidalis aleyrodiformis* larva feeding on whitefly

Figure 3 cocoon & pupa of *Semidalis aleyrodiformis*

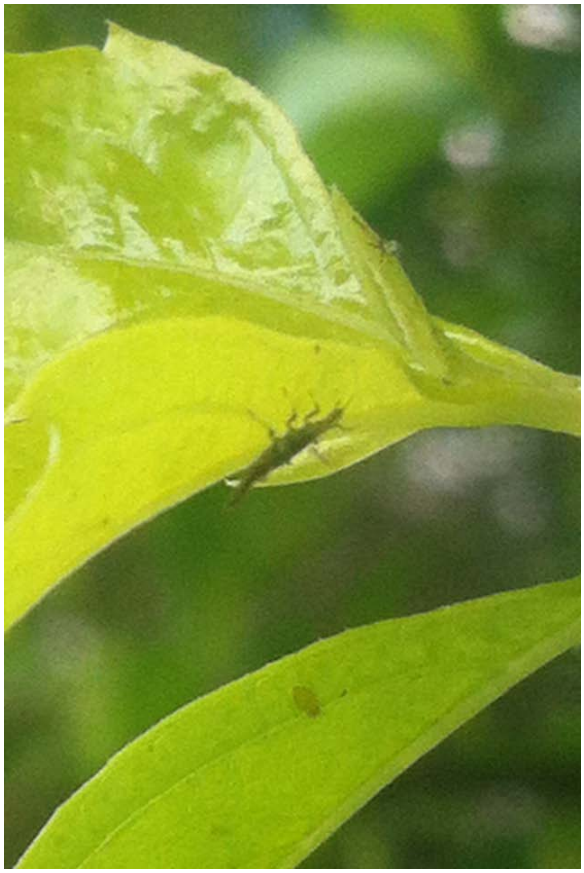


Figure 4 *Micromus timidus* larva feeding on aphids

Figure 5 *Micromus timidus* larva

Figure 6 *Micromus timidus* cocoons & pupae

Figure 7 adult *Micromus timidus*

การจำแนกชนิดและชีววิทยามวนตัวห้ำสกุล *Nesidiocoris* (Hemiptera: Miridae)

Identification and Biology of the genus *Nesidiocoris* (Hemiptera: Miridae)

จอมสุรางค์ ดวงธิสาร จารุวัตถ์ แต้กุล ยุวรินทร์ บุญทบ
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Progress Report

The genus *Nesidiocoris* (Hemiptera: Heteroptera: Miridae) is natural enemies. As the insect predators, they can consume several pests such as tomato, tobacco, sesame, potato and Cucurbitaceae. This genus can feed several insect pest such as aphid, white fly, common cutworm and tomato leafminer so they are important natural enemies. In Thailand nonetheless study about this genus before. The goals of this research are to identification the species of the genus as well as its morphology and distribution to help strengthening the knowledgebase of Entomology.This study was implemented from October 2021 to September 2022; the survey and collecting were executed on agricultural crops in North; Chiang Mai Province, Central; Suphan Buri and Nakhon Pathom Province, Northeast; Nakhon Phanom and Nong Khai Province, West; Kanchanaburi and Phetchaburi of Thailand. The species validation is mainly done via morphological characters found 1 specie: *Nesidiocoris tenuis* (Reuter, 1895). This species feed on leafminer, white fly, aphid and it can be able to insect pest feed on tomato and tobacco also. This results will continue to study life cycle and biology genus of *Nesidiocoris* to efficient biological control.

Keywords : Genus *Nesidiocoris* Biology Life cycle Life table

---

รหัสการทดลอง FF65-20-10-65-02-03-65

รายงานความก้าวหน้า

มวนตัวห้ำสกุล *Nesidiocoris* จัดอยู่ในอันดับ Hemiptera อันดับย่อย Heteroptera วงศ์ Miridae เป็นมวนตัวห้ำที่พบอาศัยในพืชหลายชนิด เช่น มะเขือเทศ ยาสูบ งา มันฝรั่ง และพืชตระกูลแตง เป็นต้น โดยสามารถกินแมลงศัตรูพืชได้หลายชนิด เช่น เพลี้ยอ่อน แมลงหวี่ขาวยาสูบ หนอนกระทู้ผัก และหนอนผีเสื้อชอนใบมะเขือเทศ จึงเป็นศัตรูธรรมชาติที่มีความสำคัญอย่างยิ่ง (Bhatt, 2018) ซึ่งในประเทศไทยยังไม่มีการศึกษาข้อมูลของแมลงสกุลนี้มาก่อน วัตถุประสงค์ของการศึกษาคือ ศึกษาจำแนกชนิดของมวนตัวห้ำสกุลนี้ เพื่อทราบชื่อชนิดที่ถูกต้อง ลักษณะความแตกต่างทางสัณฐานวิทยา พืชอาศัย แมลงศัตรูพืชอาหาร เขตการแพร่กระจาย เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานทางด้านกีฏวิทยา จากการศึกษาการจำแนกชนิดมวนตัวห้ำสกุล *Nesidiocoris* ในระหว่างเดือนตุลาคม 2564 – เดือนกันยายน 2565 โดยได้ทำการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างมวนตัวห้ำสกุล *Nesidiocoris* จากแหล่งปลูกพืชของเกษตรกรที่พบมวนตัวห้ำอาศัยอยู่ เช่น แปลงปลูกมะเขือเทศและยาสูบตามภูมิภาคต่างๆ ของประเทศไทย อาทิ ภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ ภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดสุพรรณบุรี และนครปฐม ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดนครพนม และหนองคาย ภาคตะวันตก ได้แก่ จังหวัดกาญจนบุรี และเพชรบุรี ผลการจำแนกชนิด สามารถจำแนกได้ 1 ชนิด คือ คือ *Nesidiocoris tenuis* (Reuter, 1895) ซึ่งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของมวนตัวห้ำชนิดนี้สามารถดูดกินหนอนชอนใบ แมลงหวี่ขาว และเพลี้ยอ่อน ที่พบทำลายต้นมะเขือเทศและยาสูบ และยังเป็นมวนศัตรูพืชดูดกินน้ำเลี้ยงต้นมะเขือเทศและยาสูบได้อีกด้วย ข้อมูลจากการศึกษานี้สามารถใช้ต่อยอดการศึกษาด้านชีววิทยา นิเวศวิทยา เพื่อพัฒนานำไปใช้ประโยชน์ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีได้อย่างเหมาะสมต่อไป

คำหลัก : มวนตัวห้ำสกุล *Nesidiocoris*,ชีววิทยา วงจรชีวิต ตารางชีวิต

คำนำ

มวนตัวห้ำสกุล *Nesidiocoris* จัดอยู่ในอันดับ Hemiptera อันดับย่อย Heteroptera วงศ์ Miridae มวนสกุลนี้พบแพร่กระจายในประเทศเขตยุโรป แอฟริกาใต้ อเมริกาเหนือ ออสเตรเลีย ญี่ปุ่น ฟิลิปปินส์ และอินเดีย เป็นต้น เป็นมวนตัวห้ำที่พบอาศัยในพืชหลายชนิด เช่น ยาสูบ มะเขือเทศ งา มันฝรั่ง และพืชตระกูลแตง เป็นต้น โดยสามารถกินแมลงศัตรูพืชได้หลายชนิด เช่น เพลี้ยอ่อน แมลงหวี่ขาวยาสูบ หนอนกระทู้ผัก และหนอนผีเสื้อชอนใบมะเขือเทศ จึงเป็นศัตรูธรรมชาติที่มีความสำคัญอย่างยิ่ง (Bhatt, 2018) หนอนผีเสื้อชอนใบมะเขือเทศ *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) เป็นแมลงศัตรูพืชที่มีความสำคัญสร้างความเสียหายให้กับการปลูกมะเขือเป็นอย่างมาก ทั้งในการปลูกในโรงเรือนและนอกโรงเรือน นับว่าเป็นปัญหาแก่เกษตรกรผู้ปลูกพืชอย่างยิ่ง ในต่างประเทศ เช่น ประเทศอิหร่าน และอินเดีย ได้มีการนำมวนตัวห้ำสกุล *Nesidiocoris* มาใช้ในการควบคุมหนอนผีเสื้อชอนใบมะเขือเทศแล้ว (Sohrabi, 2015) และในประเทศในแถบยุโรปได้นำมวนตัวห้ำสกุลนี้มาใช้ในการควบคุมหนอนผีเสื้อชอนในมะเขือเทศ และแมลงศัตรูพืชอื่นๆ ประสบผลสำเร็จ

เช่นกัน (Bhatt, 2018) ซึ่งในประเทศไทยยังไม่มีการศึกษาข้อมูลของแมลงสกุลนี้มาก่อน ดังนั้น จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาจำแนกชนิดของมวนตัวห้ำสกุลนี้ เพื่อทราบชื่อชนิดที่ถูกต้อง ลักษณะความแตกต่างทางสัณฐานวิทยา พืชอาศัย แมลงศัตรูพืชอาหาร เขตการแพร่กระจาย และข้อมูลทางชีววิทยา เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานทางด้านกีฏวิทยา และนำมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมแมลงศัตรูโดยชีววิธีได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

ตัวอย่างมวนตัวห้ำสกุล *Nesidiocoris* ที่รวบรวมได้จากแหล่งปลูกพืชของเกษตรกร เช่น มะเขือเทศ ยาสูบ เป็นต้น อุปกรณ์เก็บตัวอย่างแมลง ได้แก่ สวิงโฉบแมลง ขวดดองแมลง ปากคีบ (forcep) พู่กัน ถุงพลาสติก กล่องพลาสติก ผ้าตาข่าย ถังรักษาความเย็น เครื่องวัดค่าพิกัดภูมิศาสตร์ (GPS) สารเคมีต่างๆ ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างแมลง เช่น เอทิลอะซีเตท แอลกอฮอล์ 80% อุปกรณ์ที่ใช้จัดรูปร่างแมลง ได้แก่ เข็มไร้สนิม เบอร์ 3 เข็มหมุดหัวกลม กระดาษสามเหลี่ยม ไม้จัดรูปร่างแมลง ปากคีบ ตู้อบแมลง ฯลฯ กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope compound microscope เอกสารประกอบการวินิจฉัยแมลงของ Blanford (1904) ประกอบการเปรียบเทียบกับตัวอย่างแมลงที่เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์ และอุปกรณ์การเลี้ยงแมลง ได้แก่ กรงเลี้ยงแมลง กล่องพลาสติก โหลพลาสติก ผ้าตาข่าย สำลี กระบอกฉีดน้ำ กระดาษทิชชู่ ฯลฯ อุปกรณ์ปลูกพืชอาหารเลี้ยงแมลง ได้แก่ กรงเลี้ยงแมลง เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ ดิน พีชมอสสำหรับเพาะต้นกล้า ถาดเพาะเมล็ด ถุงดำ กระถาง ไม้ลวก เชือก ปุ๋ยคอก ฯลฯ

วิธีการ

การจำแนกชนิดมวนตัวห้ำสกุล *Nesidiocoris* (ปี2565)

1) เก็บรวบรวมตัวอย่างมวนตัวห้ำสกุล *Nesidiocoris* จากแหล่งปลูกพืชของเกษตรกร เช่น แปลงปลูกมะเขือเทศและยาสูบ ตามภูมิภาคต่างๆ ของประเทศไทย ดังต่อไปนี้ ภาคเหนือ ได้แก่จังหวัดเชียงราย และเชียงใหม่ ภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดสุพรรณบุรี และนครปฐม ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดนครพนม และหนองคาย ภาคตะวันตก ได้แก่ จังหวัดกาญจนบุรี และเพชรบุรี

2) ใช้สวิงโฉบต้นพืชที่พบตัวเต็มวัยมวนตัวห้ำสกุล *Nesidiocoris* เกาะอยู่ นำตัวอย่างมวนตัวเต็มวัยที่เก็บรวบรวมได้พร้อมพืชอาศัยใส่กล่องพลาสติก และทำการเก็บรักษาตัวอย่างมวนเพื่อนำไปจัดรูปร่าง ซึ่งมีวิธีการเก็บโดยนำมวนใส่ลงในขวดน็อคแมลง ซึ่งมีสารเอทิลอะซีเตทอยู่ภายในขวด เมื่อมวนตายสนิทนำมวนใส่ลงในซองสามเหลี่ยมที่เตรียมไว้ พับเก็บให้เรียบร้อยและนำเก็บลงในกล่องพลาสติกที่เตรียมไว้สำหรับเก็บซองสามเหลี่ยม พร้อมทั้งบันทึกข้อมูลเบื้องต้น เช่น พืชอาหาร สถานที่ พิกัดภูมิศาสตร์ (GPS) วัน เดือน ปี และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง ทุกครั้งที่ทำการเก็บตัวอย่าง

3) นำตัวอย่างมวนมาจัดรูปร่าง นำไปอบให้แห้งในตู้อบ (oven) ปรับอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 5-7 วัน ขึ้นกับขนาดตัวอย่าง รวมถึงบันทึกข้อมูลหมายเลข (Lot number) ตัวอย่างในแต่ละครั้งที่ทำการสำรวจอย่างละเอียดโดยจะแยกเป็นชนิด พืชอาศัย และสถานที่

4) นำตัวอย่างมวนที่รวบรวมได้มาตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิด โดยดูลักษณะภายนอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Stereo microscope บันทึกลักษณะสัณฐานวิทยา เช่น ขนาดลำตัว รูปร่าง สี ลักษณะของส่วนหัว อก ท้อง เพื่อนำไปเปรียบเทียบกันแต่ละชนิด โดยตรวจสอบลักษณะที่สำคัญและจำแนกชนิดด้วยการใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยของ Blanford (1904) ประกอบการเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์

5) ถ่ายภาพลักษณะต่างๆ ของมวนที่ได้จากการศึกษาและบันทึกรายละเอียดบนแผ่นป้ายบันทึกของมวนแต่ละตัว ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ วัน/เดือน/ปี สถานที่พบตัวอย่าง และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง

6) จัดเก็บตัวอย่างที่ได้ศึกษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากลของการเก็บรักษาตัวอย่างแมลง (มวนสกุลนี้ทุกชนิดที่รายงานไว้ต้องเก็บรักษาตัวอย่างจริงไว้เพื่อการตรวจสอบสืบค้น และอ้างอิงในภายหลัง)

การเตรียมพืชอาศัยและแมลงศัตรูธรรมชาติที่ใช้เป็นเหยื่อของมวนตัวห้ำสกุล *Nesidiocoris*

ทำการปลูกพืชอาศัยของแมลงศัตรูธรรมชาติ เช่น มะเขือเทศ เพื่อเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณศัตรูธรรมชาติที่ใช้เป็นเหยื่อ เช่น แมลงหวี่ขาว เพลี้ยอ่อน หนอนผีเสื้อชอนใบมะเขือเทศ เป็นต้น เตรียมไว้สำหรับเลี้ยงมวนตัวห้ำเพื่อใช้ในการศึกษาชีววิทยาต่อไป

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

บันทึกข้อมูลของมวนตัวห้ำที่ทำการศึกษา ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ วัน/เดือน/ปี สถานที่พบตัวอย่าง และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง

เวลาและสถานที่

เดือนตุลาคม 2564 - กันยายน 2565

แหล่งปลูกมะเขือเทศ และยาสูบ ในจังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ สุพรรณบุรี นครปฐม นครพนม หนองคาย กาญจนบุรี และเพชรบุรี และห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการเก็บรวบรวมตัวอย่างมวนตัวห้ำสกุล *Nesidiocoris* จากแหล่งปลูกพืชของเกษตรกรที่พบมวนตัวห้ำอาศัยอยู่ เช่น แปลงปลูกมะเขือเทศและยาสูบ ตามภูมิภาคต่างๆ ของประเทศไทย อาทิภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ ภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดสุพรรณบุรี และนครปฐม ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดนครพนม และหนองคาย ภาคตะวันตก ได้แก่ จังหวัดกาญจนบุรี และเพชรบุรี ได้ตัวอย่างมวนตัวห้ำจำนวน 150 ตัวอย่าง ทำการวิเคราะห์ชนิดโดยใช้แนวทางการวินิจฉัยของ Blanford (1904) พบว่าเป็นมวนตัวห้ำ *Nesidiocoris tenuis* (Reuter, 1895) โดยมีรายละเอียดรูปร่างลักษณะ ดังนี้

Nesidiocoris tenuis (Reuter, 1895) (figure 1)

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (description)

หัว (head): หัวมีลักษณะกลมรี สีน้ำตาลอมเขียว และมีแถบสีดำตัดขวางตรงส่วนฐานกะโหลก

หนวด (antennae): หนวดมีลักษณะเป็นเส้นด้ายค่อนข้างยาว โดยรวมเป็นสีน้ำตาลซีด บริเวณตรงกลางหนวดปล้องที่ 1 มีสีน้ำตาลดำ บริเวณโคนหนวดและปลายหนวดปล้องที่ 2 มีสีน้ำตาลดำ และบริเวณโคนหนวดปล้องที่ 3 มีสีน้ำตาลดำ

อกปล้องแรก (pronotum): มีสีเขียวอมน้ำตาล ไม่มีลวดลาย

ปีก (hemelytra): ปีกโดยทั่วไปมีสีเขียวอมน้ำตาล ปีกคู่หน้าบริเวณขอบท้ายของปีกส่วน corium มีจุดสีน้ำตาลดำ และบริเวณท้ายสุดของปีกส่วน cuneus มีจุดสีน้ำตาลดำ

ขา (leg): ขาโดยรวมมีสีน้ำตาลซีด ส่วนของต้นขา (Femur) และส่วนขาแข้ง (Tibia) มีสีค่อนข้างเหลือง บริเวณโคนขาส่วนขาแข้ง (Tibia) จุดสีน้ำตาลดำ และบริเวณปลายเท้า (Tarsi) ปล้องที่ 3 มีสีน้ำตาลดำ เห็นได้ชัดเขน

ลำตัว (body): ลำตัวมีขนาดเล็ก ยาวรี รูปไข่ มีความยาวเฉลี่ย 3 – 3.3 มิลลิเมตร มีสีเขียวอมน้ำตาลค่อนข้างซีด

แหล่งที่สำรวจพบ (distribution): จังหวัดเชียงใหม่ สุพรรณบุรี นครปฐม นครพนม หนองคาย กาญจนบุรี และเพชรบุรี **(figure 2 and 3)**

ความสำคัญและพืชอาศัย: ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของมวนตัวห้ำดูดกินหนอนชอนใบ แมลงหวี่ขาว และเพลี้ยอ่อน ที่พบทำลายต้นมะเขือเทศและยาสูบ และยังเป็นมวนศัตรูพืชดูดกินน้ำเลี้ยงต้นมะเขือเทศและยาสูบได้อีกด้วย

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาการจำแนกชนิดมวนตัวห้ำสกุล *Nesidiocoris* ในระหว่างเดือนตุลาคม 2564 – เดือนกันยายน 2565 โดยได้ทำการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างมวนตัวห้ำสกุล *Nesidiocoris* จากแหล่งปลูกพืชของเกษตรกรที่พบมวนตัวห้ำอาศัยอยู่ เช่น แปลงปลูกมะเขือเทศและยาสูบ ตามภูมิภาคต่างๆ ของประเทศไทย อาทิ ภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ ภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดสุพรรณบุรี และนครปฐม ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดนครพนม และหนองคาย ภาคตะวันตก ได้แก่ จังหวัดกาญจนบุรี และเพชรบุรี ผลการจำแนกชนิด สามารถจำแนกได้ 1 ชนิด คือ *Nesidiocoris tenuis* (Reuter, 1895) ซึ่งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของมวนตัวห้ำชนิดนี้สามารถดูดกินหนอนชอนใบ แมลงหวี่ขาว และเพลี้ยอ่อน ที่พบทำลายต้นมะเขือเทศและยาสูบ และยังเป็นมวนศัตรูพืชดูดกินน้ำเลี้ยงต้นมะเขือเทศและยาสูบได้อีกด้วย ข้อมูลจากการศึกษานี้สามารถใช้ต่อยอดการศึกษาด้านชีววิทยา นิเวศวิทยา เพื่อพัฒนานำไปใช้ประโยชน์ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีได้อย่างเหมาะสมต่อไป

เอกสารอ้างอิง

เรณู สุวรรณพรสกุล. 2548. นิเวศวิทยาของแมลง Insect Ecology. ภาควิชาอารักขาพืช คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่.

อินทวัฒน์ บุรีคำ. 2548. นิเวศวิทยาวิเคราะห์ทางกีฏวิทยา. ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน นครปฐม.

Alomar., O., M. Goula and R. Albajes. 2002. Colonisation of tomoto fields by predatory mirid bugs (Hemiptera: Heteroptera) in northern Spain. Agric. Ecosyst. Environ. 89 (1-2) : 105-115.

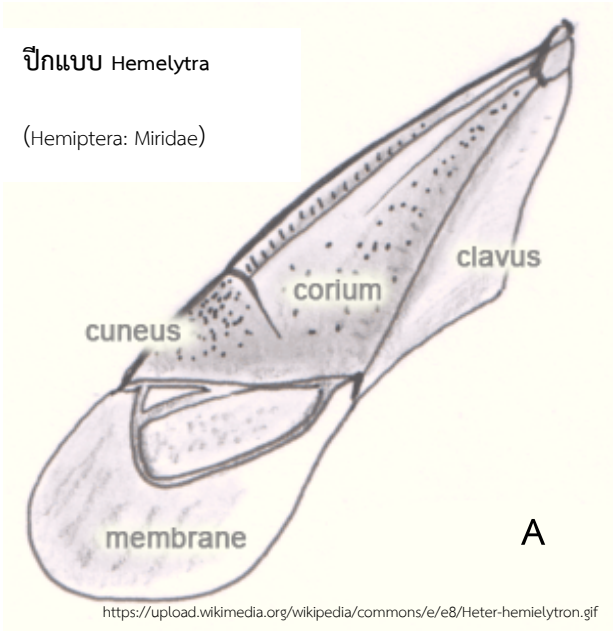
Bhatt NA. and P.V. Mayank. 2018. Tomato bug, *Nesidiocoris tenuis* (Reuter): A Zoophytophagous insect. Journal of Entomology and Zoology Studies. 2018; 6 (4) :1550-1556.

Blanford, W.T. 1904. The Fauna of British India, Ceylon and Burma, pp.17-19. Vol. II. Distant W. L., *Rhynchota (Heteroptera)*.

Perdikis, D.C. and D.P. Lykouressis. 2002. Life table and biological characteristics of *Macrolophus pygmaeus* when feeding on *Myzus persicae* and *Trialeurodes vaporariorum*. Entomol. Exp.Appl. 102 (3) : 261-272.

Sanchez, J.A. 2009. Density thresholds for *Nesidiocoris tenuis* (Heteroptera: Miridae) in tomoto crops. Biol. Control 51 (3) : 493-498.

Sohrabi F. and R. Hosseini. 2015. *Nesidiocoris tenuis* (Reuter) (Heteroptera: Miridae), a predatory species of the tomato leafminer, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) in Iran. Journal of Plant Protection Research. 2015; 55 (3) :322-323.



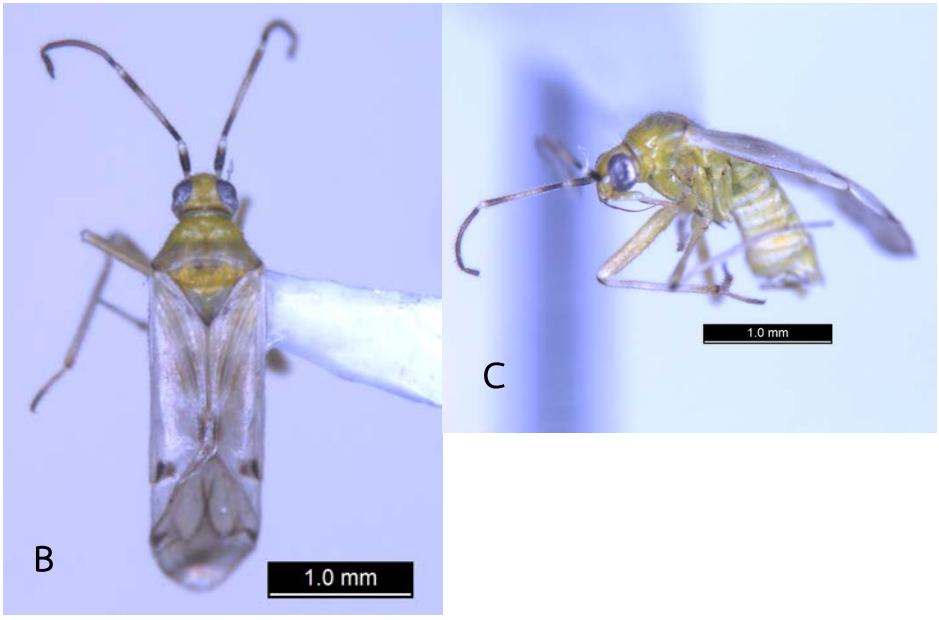


Figure 1 ***Nesidiocoris tenuis*** **(Reuter, 1895)**

A. Wing of Family Miridae

B. Dorsal habitus of adult

C. Lateral habitus of adult

Figure 2 Collecting *Nesidiocoris* sp. on tomato

Figure 3 Collecting *Nesidiocoris* sp. on tobacco

การจำแนกชนิดและเขตการแพร่กระจายจักจั่นศัตรูอ้อย (Hemiptera: Cicadidae) โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเทคนิคทางชีวโมเลกุล

Taxonomy of Cicada (Hemiptera: Cicadidae) attacking Sugar cane

เกศสุดา สนศิริ ยุวรินทร์ บุญทบ สุนัดดา เชาวลิต ชมัยพร บัวมาศ
อิทธิพล บรรณาการ จอมสุรางค์ ดวงธิสาร
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Progress report

In Thailand, serious outbreak of the cicadas have never been recorded on economic plants. Until recently the occurrence of large population of cicadas attacking sugar cane in Sam Chuk district, Suphan Buri Province was reported. The nymphs suck the sap from roots, which cause yellow and withered at the leaf tips and edges and then die. The objectives of this study are to gain better insight in the identification at species level as well as the distributions of the cicadas in Thailand. A survey and collecting were implemented from October 2021 – September 2022 on the sugar cane crops across the country. The insect samples were examined based on morphology and amplification of partial mitochondrial cytochrome oxidase I (mtCOI) gene and nucleotide sequenced revealed one species *Platypleura* (*Poecilopsaltria*) *cespiticola* Boulard. So this is the first record of cicadas damaging on sugar cane in Thailand.

Keywords : Taxonomy Cicada Cicadidae Hemiptera Sugar cane

รหัสการทดลอง FF65-20-02-65-00-01-65

บทคัดย่อ

อ้อย (*Saccharum officinarum* L.) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย นิยมปลูกกันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากเป็นพืชที่ปลูกง่ายและสร้างรายได้จำนวนมากให้แก่เกษตรกร ในปี 2559 มีรายงานการเข้าทำลายอ้อยโดยจักจั่นเป็นครั้งแรกในพื้นที่ ต.สามชุก จ.สุพรรณบุรี จำนวนหลายร้อยไร่ และมีการแพร่ระบาดไปยังหลายพื้นที่อย่างรวดเร็ว ลักษณะการทำลายโดยตัวอ่อนของจักจั่นจำนวนมากเข้าดูดกินน้ำเลี้ยงจากรากอ้อย ทำให้ต้นอ้อยแห้งเหี่ยวและตายทั้งกอทำความเสียหายให้แก่เกษตรกรผู้ปลูกอ้อยเป็นอย่างมาก ซึ่งที่ผ่านมาประเทศไทยยังไม่มีรายงานการเข้าทำลายอ้อยโดยจักจั่นชนิดนี้มาก่อน วัตถุประสงค์ของการศึกษาเพื่อทราบชนิด ชีววิทยาเบื้องต้น เขตการแพร่กระจาย พร้อมจัดทำแนวทางการวินิจฉัยชนิด เพื่อนำไปจัดทำฐานข้อมูลรายชื่อสำหรับเป็นแหล่งค้นข้อมูลศัตรูพืช รวมทั้งเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาด้านกีฏวิทยาทุกสาขาวิชาที่เกี่ยวข้อง ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2564 ถึง กันยายน 2565 โดยทำการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างจักจั่นศัตรูอ้อยจากแปลงปลูกที่สำคัญในจังหวัด สุพรรณบุรี กาญจนบุรี ชัยนาท นครปฐม ราชบุรี สิงห์บุรี อ่างทอง สระบุรี และลพบุรี นำมาจำแนกชนิดตามหลักอนุกรมวิธาน และจากการตรวจวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ พบจักจั่นศัตรูอ้อยจำนวน 1 ชนิด ได้แก่ จักจั่น *Platypleura cespiticola* Boulard ซึ่งไม่เคยมีรายงานว่าจักจั่นชนิดนี้เข้าทำลายอ้อยมาก่อนในประเทศไทย ทั้งนี้ได้บรรยายลักษณะทางสัณฐานวิทยา เขตการแพร่กระจาย ของจักจั่นศัตรูอ้อยที่ได้สำรวจพบในครั้งนี้ไว้ด้วยแล้ว

คำหลัก : จักจั่น อนุกรมวิธาน Cicadidae Hemiptera อ้อย

คำนำ

อ้อย (*Saccharum officinarum* L.) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย นิยมปลูกกันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากเป็นพืชที่ปลูกง่ายและสร้างรายได้จำนวนมากให้แก่เกษตรกร โดยปกติอ้อยมีแมลงศัตรูหลายชนิดเข้าทำลาย เช่น หนอนแถบลาย หนอนกอลายจุดใหญ่ แมลงนูนหลวง และด้วงหนวดยาว เป็นต้น (ศูนย์การปรับปรุงพันธุ์อ้อยแห่งประเทศไทย, 2562) ในปี 2559 มีรายงานการเข้าทำลายอ้อยโดยจักจั่นเป็นครั้งแรกในพื้นที่ ต.สามชุก จ.สุพรรณบุรี จำนวนหลายร้อยไร่ และมีการแพร่ระบาดไปยังหลายพื้นที่อย่างรวดเร็ว ลักษณะการทำลายโดยตัวอ่อนของ จักจั่นจำนวนมากเข้าดูดกินน้ำเลี้ยงจากรากอ้อย ทำให้ต้นอ้อยแห้งเหี่ยวและตายทั้งกอ ทำความเสียหายให้แก่เกษตรกรผู้ปลูกอ้อยเป็นอย่างมาก ซึ่งที่ผ่านมาประเทศไทยยังไม่มีรายงานการเข้าทำลายอ้อยโดยจักจั่นชนิดนี้มาก่อน ดังนั้นจึงเป็นสิ่งจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีการศึกษาเพื่อให้ทราบชนิด เขตการแพร่กระจาย พร้อมจัดทำแนวทางการวินิจฉัยชนิด เพื่อให้ผู้เกี่ยวข้องจำแนกชนิดได้อย่างถูกต้อง รวมถึงเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาด้านกีฏวิทยาทุกสาขาวิชาที่เกี่ยวข้อง และมีตัวอย่างเก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร เพื่อใช้เป็นแหล่งสืบค้น

อ้างอิง นอกจากนี้ยังเป็นข้อมูลในการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช (Pest list: PL) และการวิเคราะห์ความเสี่ยง (Pest Risk Analysis: PRA) สนับสนุนการนำเข้าและส่งออกของประเทศไทย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1) ตัวอย่างจักจั่นที่รวบรวมได้จากแปลงปลูกอ้อย และตัวอย่างที่เก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร

2) อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ สวิงจับแมลง (insect net) ขวดฆ่าแมลง (killing jar) ขวดดอง ปากคีบ พู่กัน กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก ซองกระดาษใส่ตัวอย่าง ถังรักษาความเย็น และเครื่องวัดค่าพิกัดภูมิศาสตร์ (GPS)

3) สารเคมีในการศึกษาสารพันธุกรรม เช่น Chelex, TBE nuclease free water, PCR master mix, DNA template, agarose gel, RedSafe loading dye, DNA Marker ladder

4) อุปกรณ์ที่ใช้ในการจัดรูปร่างแมลง เช่น เข็มไร้สนิม เบอร์ 0 เข็มหมุดหัวกลม ไม้จัดรูปร่างแมลง กระดาษว่าวสีใส กระดาษแข็งรูปสามเหลี่ยมขนาดเล็ก (card point) ปากคีบ โหลชื้น ตู้อบแมลง ฯลฯ

5) กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope (Olympus รุ่น SZ 51) compound microscope (Olympus รุ่น CX 41) กล้องถ่ายภาพ (Leica M165C) และอุปกรณ์วาดภาพ (camera lucida)

6) เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของจักจั่นในวงศ์ Cicadidae

วิธีการ

1) การเก็บรวบรวมตัวอย่างและการศึกษาเขตการแพร่กระจาย

ทำการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างจักจั่นศัตรูอ้อยในพื้นที่ปลูกอ้อยที่สำคัญของประเทศไทย สำหรับวิธีการเก็บตัวอย่างจะใช้สวิงโฉบตัวเต็มวัยและตั้งกับดักแสงไฟ พร้อมทั้งถ่ายภาพจักจั่นแต่ละระยะ บันทึกรายละเอียด พืชอาหาร สถานที่เก็บตัวอย่าง วัดค่าพิกัดภูมิศาสตร์ (GPS) ซึ่งประกอบด้วยค่าละติจูด (Latitude) ค่าลองติจูด (Longitude) ระดับความสูงจากระดับน้ำทะเล (Altitude) วัน เดือน ปี ที่เก็บตัวอย่างและชื่อผู้เก็บตัวอย่าง ทุกครั้งที่เก็บตัวอย่าง สำหรับตัวเต็มวัยของจักจั่นจะทำการฆ่าโดยใช้ขวดฆ่า (killing jar) ซึ่งบรรจุน้ำยา ethyl acetate หลังจากจักจั่นตายใช้ซองกระดาษรูปสามเหลี่ยมคลี่ออกเพื่อห่อในลักษณะคล้ายห่อทอฟฟี่นำไปเก็บไว้ในกล่องพลาสติกเพื่อป้องกันการเสียหาย และอีกส่วนจะเก็บในแอลกอฮอล์ 70 – 95 เปอร์เซ็นต์ และนำไปเก็บในตู้เก็บรักษาอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส นอกจากตัวอย่างจักจั่นที่ได้จากสภาพธรรมชาติแล้ว มีตัวอย่างจักจั่นที่มีอยู่เดิมในพิพิธภัณฑ์ กรมวิชาการเกษตร ตัวอย่างที่ได้จากนักวิชาการ และตัวอย่างจากผู้มาขอรับบริการตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิด เพื่อใช้ในการศึกษาครั้งนี้ด้วย

2) การศึกษาชีววิทยาเบื้องต้น

นำตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียของจักจั่นศัตรูอ้อยที่รวบรวมได้จากแปลงปลูก มาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ โดยนำตัวเต็มวัย จำนวน 40 ตัว มาเพาะเลี้ยงรวมกันในตู้กระจกขนาด 30 x 65 x 40 เซนติเมตร และทำการปลูกต้นอ้อยให้เป็นอาหาร สังเกตการเจริญเติบโตจนครบวงจรชีวิต บันทึกข้อมูล ทำการวัดขนาดและถ่ายภาพแต่ละระยะการเจริญเติบโต

3) การจัดจำแนกชนิดโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

นำตัวอย่างจักจั่นที่เก็บรวบรวมได้มาจัดรูปร่าง โดยนำตัวเต็มวัยที่ฆ่าแล้วไปจัดรูปร่างบนไม้จัดรูปร่างตัวอย่างแมลง ใช้เข็มไร้สนิมปักส่วนของสคิวเทลลัม (scutellum) เยื้องไปทางขวาเล็กน้อย จัดขาทั้ง 3 คู่ ให้อยู่ในลักษณะเกาะหรือเดิน โดยใช้เข็มหมุดขนาดกลางเป็นตัวยึด นำไปอบให้แห้งในตู้อบ (oven) ปรับอุณหภูมิ องศาเซลเซียส ใช้เวลา 15-30 วัน ขึ้นกับขนาด 50 ตัวอย่าง นำมาตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิด โดยดูลักษณะภายนอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo microscope แล้วบันทึกรายละเอียดต่างๆ เช่น ขนาดลำตัว รูปร่าง ลักษณะ และสี เป็นต้น นอกจากนี้ยังต้องตรวจลักษณะภายใน คือ อวัยวะเพศ (genitalia) ของทั้งเพศผู้และเพศเมียในการจำแนกชนิด เนื่องจากจักจั่นบางชนิดมีลักษณะภายนอกที่ใกล้เคียงกันมากไม่สามารถจำแนกได้ว่าเป็นชนิดไหน และตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานด้วยการใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยชนิดของ Boulard (2013) ประกอบการเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์ ตัวอย่างจักจั่นที่มีการจัดจำแนกแล้ว จะทำการจัดเก็บลงในกล่องกระดาษสี่เหลี่ยมสีขาว จัดเรียงตามอักษรของลำดับชนิด นำจัดเข้าลิ้นชักในตู้เก็บแมลงจัดเก็บแมลงในพิพิธภัณฑ์ โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากลของการเก็บรักษาตัวอย่างแมลง เพื่อตรวจสอบ สืบค้น และอ้างอิงในภายหลังจัดทำแนวทางวินิจฉัย (key) สกุลและชนิดของจักจั่น ที่รวบรวมได้พร้อมภาพประกอบ

4) การศึกษาลำดับพันธุกรรม

นำตัวอย่างจักจั่นที่เก็บรักษาในแอลกอฮอล์ 95% มาสกัดสารพันธุกรรม (DNA Extraction) โดยใช้ชุดสกัด Tissue Genomic DNA Extraction Mini Kit ของบริษัท Favorgen Biotech Corp. ทำการเพิ่มปริมาณ DNA เป้าหมายด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อยีน mtCOI ของจักจั่น (LCO1490 5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3' และ HCO2198 5'-TAAACTTCAGGGTGCCAAAAA ATCA-3' (Hebert *et al.,* 2003) และเพิ่มปริมาณชิ้น DNA เป้าหมาย โดยใช้ส่วนผสมของ MyTag HS Red DNA Polymerase (Bioline, Australia) ทำปฏิกิริยาในหลอดพีซีอาร์ขนาด 200 ไมโครลิตร ปริมาตรส่วนผสมรวม 25 ไมโครลิตร นำส่วนผสมของ MyTag HS Red DNA Polymerase ใส่ในเครื่องเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนของสารพันธุกรรม (PCR machine) ตรวจสอบ PCR product ด้วยวิธีการทำอิเล็กโทรโฟรีซีส (Electrophoresis) โดยหยอด PCR product ลงใน 2% agarose gel ใน 0.5X TBE (Tris-borate, EDTA) โดยใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลล์, 400 mp

(Voltage) เป็นเวลา 45 นาที ทำให้ PCR product มีความบริสุทธิ์ด้วย Isolate II PCR and Gel kit; Cat No. BIO-52060 ทำการวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ (DNA Sequencing) เพื่อตรวจหาลำดับเบสของดีเอ็นเอเป้าหมาย โดยส่งตัวอย่างดีเอ็นเอเป้าหมายที่บริสุทธิ์ของจักจั่นไปวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ประเทศเกาหลีใต้ นำข้อมูลของดีเอ็นเอที่ได้มาทำการวิเคราะห์โดยทำการเปรียบเทียบลำดับเบสจักจั่นที่นำมาศึกษาทั้งหมด (Sequence assembly) เพื่อให้ได้ DNA barcoding ที่มีความถูกต้อง โดยโปรแกรมที่สามารถวิเคราะห์ข้อมูลและจัดทำรหัสดีเอ็นเอ (assemble) เช่น Bioedit Sequence Alignment Editor Version 7.2.5 (Hall, 1999) บันทึกในรูปแบบของ FASTA ไฟล์ หรือที่เราเรียกว่า Barcode นำผลที่ได้มาเปรียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของจักจั่นที่อยู่ในฐานข้อมูล GeneBank ซึ่งเป็นแหล่งเก็บ รวบรวมฐานข้อมูล ทางพันธุกรรมศาสตร์จากทั่วโลกอีกครั้ง เพื่อยืนยันความถูกต้อง

ข้อมูลของรหัสดีเอ็นเอ (DNA barcode) ในการศึกษาจะถูกเก็บบันทึก และรายงานเพื่อใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงสำหรับการจัดทำบัญชีรายชื่อแมลงศัตรูพืช และดีเอ็นเอที่สกัดได้ จะจัดเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ณ พิพิธภัณฑ์แมลง กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช นอกจากนี้ยังสามารถนำข้อมูลของรหัสดีเอ็นเอที่ได้มาศึกษา

เวลาและสถานที่

เวลา : ตุลาคม 2561 สิ้นสุด กันยายน 2562

สถานที่ : - แหล่งปลูกในจังหวัดสุพรรณบุรี กาญจนบุรี ชัยนาท นครปฐม ราชบุรี สิงห์บุรี อ่างทอง สระบุรี และลพบุรี

- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างจักจั่นศัตรูอ้อยในจังหวัดสุพรรณบุรี กาญจนบุรี นครปฐม ราชบุรี ชัยนาท สิงห์บุรี อ่างทอง และสระบุรี นำมาจัดรูปร่าง อบแห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 50 – 60 องศาเซลเซียส นำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางด้านอนุกรมวิธาน รวมถึงการวิเคราะห์ชนิดโดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลทำการวิเคราะห์ DNA Barcode พบจักจั่นศัตรูอ้อย 1 ชนิด ได้แก่ *Platypleura cespiticola* Boulard

Platypleura cespiticola Boulard

Platypleura (Poecilopsaltria) cespiticola Boulard, 2006h. Lambillionea, CVI (4): 621 – 630. STh.

Platypleura (Poecilopsaltria) cespiticola, var fuscalae Boulard, 2006h: 623, 628.

Platypleura cespiticola Boulard, 2007a: 77.

Platypleura (Poecilopsaltria) cespiticola Boulard, 2008a: 16.

ชื่อวิทยาศาสตร์	*Platypleura cespiticola* Boulard
อันดับ	Hemiptera
วงศ์	Cicadidae
วงศ์ย่อย	Cicadinae
ชื่อสามัญ	จักจั่น (cicada)

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Description)

ส่วนหัวและอก (Head and Thorax) : ส่วนหัวสั้นและกว้างเท่ากับอกปล้องที่ 2 (mesonotum) ประกอบด้วยตารวม (compound eyes) จำนวน 1 คู่ สีแดงส้ม และมีเส้นทึบสีดำพาดในแนวขวางระหว่างตารวม มีตาเดี่ยว (ocelli) จำนวน 3 ตา สีแดงทับทิม ตั้งอยู่ระหว่างตารวม ตำแหน่งของตาเดี่ยวอยู่ใกล้กันมาก หน้าผาก (vertex) และแก้มมีสีเหลืองกระจายอยู่บนสีดำ ปาก (rostrum) สั้น มีสีเหลืองเมื่อพับลงความยาวไม่เกินส่วนอก อกปล้องแรก (pronotum) มีสีน้ำตาล อกปล้องที่สอง (mesonotum) สีเหลือง มีแถบสีดำทอดตามยาว 3 แถบ หนวด (antennae) สั้นเป็นแบบเส้นขน (setaceous) มี 4 ปล้อง

ปีก (Wings) : มี 2 คู่ ลักษณะปีกเป็นแผ่นบางใส มีเส้นปีกสีน้ำตาลเห็นเด่นชัด ปีกคู่หน้า (forewings) กว้างและยาวกว่าปีกคู่หลัง ส่วนโคนปีกมีสีน้ำตาลขุ่น ส่วนปลายปีกค่อนข้างใส ปีกคู่หลัง (hindwings) มีสีเหลืองและมีแถบสีน้ำตาลบริเวณใกล้ปลายปีกปรากฏเห็นเด่นชัด ปีกคู่หน้าเพศผู้ยาว 23.4 มิลลิเมตร ความกว้างของปีก 56.27 $\pm$ 1.67 มิลลิเมตร (n=15) (วัดจากขอบปีกด้านหนึ่งถึงปลายปีกอีกด้านหนึ่ง) เพศเมียยาว 23.7 มิลลิเมตร ความกว้างของปีก 55.14 $\pm$ 1.69 มิลลิเมตร (n=15)

ขา (Leg) : ขาคู่หน้า (fore leg) บริเวณต้นขา (forefemur) มีร่อง (sub-carinate teeth) สีน้ำตาลเข้ม ปลายขา (pretarsus) มีสีน้ำตาลเข้มถึงดำ ขาคู่กลาง (mid leg) โคนขา (coxa) ต้นขา (femur) มีสีเหลือง ส่วนปลายของต้นขามีสีน้ำตาลอ่อน หน้าแข้ง (tibia) มีสีน้ำตาลอ่อน และส่วนปลายขา (pretarsal claw) มีสีน้ำตาลดำ ขาคู่หลัง (hind leg) ต้นขา (femur) มีสีเหลือง หน้าแข้ง (tibia) มีสีเหลือง และมีหนามสีน้ำตาลเข้มถึงดำ

ส่วนท้อง (Abdomen) : ส่วนท้องมีลักษณะทรงกระบอกสีน้ำตาลเข้มถึงดำ ด้านล่าง (ventral) ท้องปล้องแรกมีแผ่น operculum สีเหลืองปิดทับอวัยวะทำเสียง ในจักจั่นเพศเมียถึงไม่ทำเสียงแต่มีแผ่น เช่นกัน แต่มีขนาดสั้นกว่าเพศผู้ เพศเมียมีลำตัวเล็กกว่าเพศผู้ และมีปลายส่วนท้องเล็กเรียวเป็นรูปกรวย

ขนาด (Measurements) : ขนาดลำตัวเพศผู้ยาวเฉลี่ย 19.76 $\pm$ 0.66 มิลลิเมตร เพศเมียยาวเฉลี่ย 17.88 $\pm$ 0.52 มิลลิเมตร (n=15) (วัดจากส่วนหัวถึงส่วนท้ายของลำตัว)

เขตการแพร่กระจาย (Distribution) : มีเขตการแพร่กระจายอย่างกว้างขวางในแถบแอฟริกา อินเดีย ปากีสถาน บังกลาเทศ ศรีลังกา เนปาล ภูฏาน มัลดีฟ และไทย

แหล่งที่สำรวจพบ (Collected locality) : สุพรรณบุรี อ่างทอง

ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา (Material examined) : จำนวน 40 ตัวอย่าง THAILAND: Suphanburi Prv. 15♂ 15♀ (EMBT.Hem. 012500 - 012540).

วิจารณ์ (Comments) : จักจั่น *P. cespiticola* มีลักษณะคล้ายคลึงกับจักจั่น *P. arminops* แต่มีขนาดเล็กกว่า และที่ปีกมีสีสรรมากกว่า การเข้าทำลายกัดกินรากอ้อยของจักจั่นชนิดนี้ถือว่าเป็นการพบครั้งแรกในประเทศไทย ซึ่งก่อนหน้านี้ไม่เคยมีรายงานการเข้าทำลายมาก่อน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาอนุกรมวิธานเขตการแพร่กระจายของจักจั่นศัตรูอ้อยในแหล่งปลูกอ้อยที่สำคัญในจังหวัดสุพรรณบุรี กาญจนบุรี ชัยนาท นครปฐม ราชบุรี สิงห์บุรี อ่างทอง สระบุรี และลพบุรี ผลการตรวจสอบชนิด โดยใช้แนวทางการวินิจฉัยตามหลักอนุกรมวิธานแมลง รวมทั้งเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่มีในพิพิธภัณฑ์แมลงของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร และทำการวิเคราะห์ชนิดโดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลทำการวิเคราะห์ DNA Barcode สามารถจัดจำแนกได้ 1 ชนิด จากจำนวนตัวอย่าง 50 ตัวอย่าง ได้แก่ จักจั่น *Platypleura cespiticola* Boulard พบในจังหวัดสุพรรณบุรี และอ่างทอง ซึ่งถือเป็นการเข้าทำลายอ้อยเป็นครั้งแรกของจักจั่นชนิดนี้ ตัวอย่างที่ได้จากการสำรวจเก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร เพื่อตรวจสอบความถูกต้อง พร้อมจัดทำฐานข้อมูล เพื่อหาแนวทางในการป้องกันกำจัดที่เหมาะสม และนำไปใช้อ้างอิงทางวิชาการสำหรับงานอนุกรมวิธานและงานกีฏวิทยาด้านอื่นๆ นอกจากนี้ยังเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการจัดทำบัญชีรายชื่อแมลงศัตรูพืชเพื่อประกอบในงานสำคัญด้านการส่งออกและนำเข้าสินค้าเกษตร

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณวารี หงพฤกษ์ ผู้เชี่ยวชาญอนุกรมวิธานเพลี้ยจักจั่นและจักจั่นในประเทศไทย ที่ให้คำแนะนำและช่วยเหลือในการจำแนกชนิด นักกีฏวิทยาและเจ้าหน้าที่กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยาทุกท่านที่มีส่วนช่วยในการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลง ตลอดจนเตรียมตัวอย่างแมลงเพื่อการจัดจำแนกชนิดจนงานวิจัยชิ้นนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

ศานิต รัตนภุมมะ. 2550. กีฏวิทยาแม่บท. ครั้งที่ 2. ห้างหุ้นส่วนจำกัดดีพริ้น เชียงใหม่. 571 หน้า.

ศูนย์การปรับปรุงพันธุ์อ้อยแห่งประเทศไทย. 2563. แมลงศัตรูอ้อยที่สำคัญ (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: http://www.thailand-sbc.org/2015/index.php/th/. (15 มค. 63).

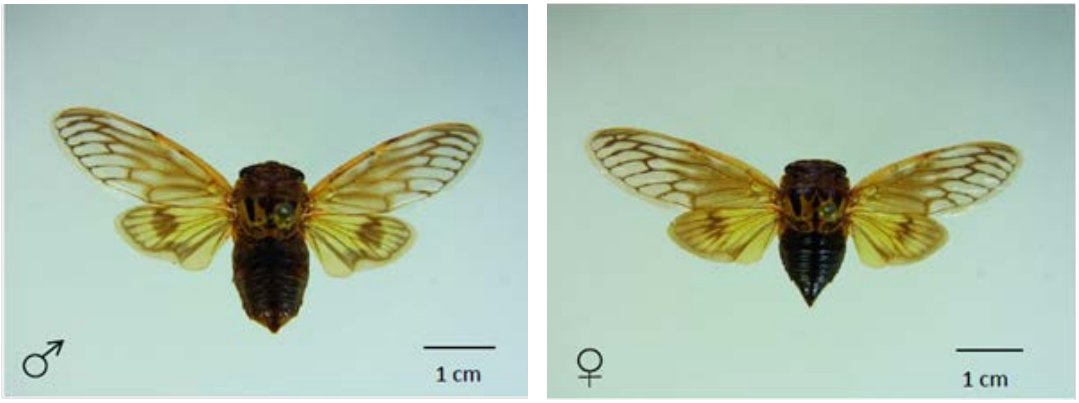
Boulard, M. 2013. The Cicadas of Thailand Volume 2 (Taxonomy and sonic Ethology. Siri Scientific Press Manchester UK. 436 p.

Simon, C. 2013. Cicada central University of Connecticul. (Online). Available. http://hydrodictyon.eeb.uconn.edu/projects/cicada/cc.php (May 9 2014).

Shizhen, L. and Bencao, G. 2013. Section of Insect. (Online). Available. http:// en.wikipedia.org/wiki/Cicada (May 11 2014).

ภาพที่ 1 การสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างจักจั่นศัตรูอ้อยในแปลง

ภาพที่ 3 ระยะตัวเต็มวัยจักจั่น *Platypleura cespiticola* Boulard



ภาพที่ 4 ระยะตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียจักจั่น *Platypleura cespiticola* Boulard

ภาพที่ 5 ลักษณะอาการอ้อยที่ถูกจักจั่น *Platypleura cespiticola* Boulard เข้าทำลาย

การจำแนกชนิดของเพลี้ยหอยเกล็ด สกุล *Pinnaspis* Cockerell, 1892 ด้วยสัณฐานวิทยาและเทคนิคทางชีวโมเลกุล

Identification of armored scale genus *Pinnaspis* Cockerell, 1892 based on morphological character and molecular technique

ชมัยพร บัวมาศ ยุวรินทร์ บุญทบ
จารุวัตถ์ แต้กุล สุนัดดา เชาวลิต
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การจำแนกชนิดของเพลี้ยหอยเกล็ด สกุล *Pinnaspis* Cockerell 1982 ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2564 ถึงเดือนกันยายน 2565 เพื่อทราบชนิด พืชอาศัย เขตการแพร่กระจายในพื้นที่ภาคกลาง ภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย เก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยหอยเกล็ด จากแหล่งปลูกพืชต่างๆ นำตัวอย่างที่รวบรวมได้จำแนกชนิดของเพลี้ยหอยเกล็ดสกุล *Pinnaspis* ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยการทำสไลด์ถาวรและใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล จากยีน *cox1* สามารถจำแนกได้จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ 1. เพลี้ยหอยเกล็ดเฟิร์น *Pinnaspis aspidiatrae* (Signoret, 1869) และ 2. เพลี้ยหอยเกล็ดขาวฝ้าย *Pinnaspis strachani* (Cooley, 1899)

คำหลัก : เพลี้ยหอยเกล็ด สกุล *Pinnaspis* สันฐานวิทยา ดีเอ็นเอ

รหัสการทดลอง FF65-20-02-65-00-02-65

คำนำ

เพลี้ยหอยเกล็ด (armored scale) จัดอยู่ในวงศ์ Diaspididae ทั่วโลกมีรายงานจำนวนชนิดมากถึง 2,413 ชนิด คิดเป็น 1 ใน 3 ของจำนวนชนิดแมลงในวงศ์ใหญ่ Coccoidea (Ben-Dov *et.al*, 2014) ซึ่งแมลงกลุ่มนี้จัดเป็นแมลงปากดูดที่สามารถสร้างความเสียหายให้กับพืชได้หลายชนิด ทั้งพืชสวน และพืชไร่ โดยดูดกินน้ำเลี้ยงจากส่วนต่าง ๆ ของพืช ทำให้บริเวณที่ถูกทำลายมีลักษณะผิดปกติ เช่น ใบเหลือง หงิกงอ ลำต้นคดงอ สำหรับเพลี้ยหอยในสกุล *Pinnaspis* Cockerell 1982 เป็นกลุ่มที่มีความหลากหลาย และมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ใกล้เคียงกันค่อนข้างสูง มีรายงานว่าพบมากถึง 44 ชนิดทั่วโลก พบลงทำลายในพืชต่างๆ ได้หลากหลาย เช่น พืชผัก ไม้ดอก ไม้ผล และพืชไร่ (García *et al.,* 2016) และมีรายงานพบเพลี้ยหอยชนิด *P. strachani* (Cooley) ในมันสำปะหลัง (William and Watson, 1988) ในประเทศไทยได้รายงานการสำรวจเพลี้ยหอยสีขาวส้ม (*Pinnaspis* sp.) พบในสวนส้มโอ อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบุรี (Duangthip *et al.,*2002) แต่ไม่ได้ระบุชนิดที่ชัดเจน ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อการเจรจาทางการค้าในการส่งออกส้มโอของประเทศไทยได้ในอนาคต และอาจสร้างความเสียหายให้แก่พืชเศรษฐกิจอื่นๆ ดังนั้นการศึกษาการจำแนกชนิดทั้งการใช้ข้อมูลสัณฐานวิทยาร่วมกับข้อมูลด้านชีวโมเลกุลย่อมทำให้สามารถจำแนกชนิดได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ และมีความน่าเชื่อถือเป็นที่ยอมรับ ทำให้สามารถนำกระบวนการที่ได้เหล่านี้นำไปประยุกต์ใช้กับการพัฒนาในด้านต่างๆ เช่น การพัฒนาชุดตรวจสอบแมลงศัตรูพืชในกลุ่มเพลี้ยหอยเกล็ด และข้อมูลที่ได้สามารถนำไปใช้อ้างอิงและจัดทำฐานข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดของแมลงศัตรูพืชในประเทศไทยต่อไปได้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ ขวดดอง ปากคีบ พู่กัน กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก ซองกระดาษใส่ตัวอย่างแมลง และถังรักษาความเย็น

2. อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวรเพลี้ยแป้ง ได้แก่ สารเคมีต่างๆ เช่น น้ำกลั่น แอลกอฮอล์ (alcohol) 50-100% โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) 10%, กรดแกลเซียลอะซิติก (glacial acetic acid) แอซิดฟุชซิน (acid fuchsin) โคล์ฟออย (clove oil) และ แคนาดาบัลซัม (Canada balsam) เข็มเขี่ย แผ่นสไลด์แก้ว แผ่นแก้วปิดสไลด์ กล่องใส่สไลด์ถาวร ตู้อบสไลด์ถาวร

3. อุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการชีวโมเลกุล ได้แก่ เตาไฟฟ้า ตู้แช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath shaker) เครื่องชั่งละเอียด 2 และ 4 ตำแหน่ง เครื่อง Thermal cycler เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูงควบคุมอุณหภูมิ เครื่อง Gel electrophoresis เครื่อง Gel Documentation UV-trans illuminator

4. กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope, compound microscope กล้องถ่ายภาพ และเครื่องระบุพิกัดทางภูมิศาสตร์ (GPS)

5. สารเคมีและอุปกรณ์ในการศึกษาดีเอ็นเอเช่น ชุดสกัดสารดีเอ็นเอ 100 bp DNA Ladder Agarose gel และ TE Buffer, MyTag HS Red DNA Polymerase primer ที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ และหลอดพลาสติกขนาด 2, 1.5 และ 0.5 ไมโครลิตร

วิธีการ

1. เก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยหอยเกล็ดสกุล *Pinnaspis*

1.1 เก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยหอยเกล็ดสกุล *Pinnaspis* โดยสำรวจแหล่งปลูกพืชที่สำคัญในเขตพื้นที่ภาคกลาง ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เมื่อพบตัวอย่างเพลี้ยหอยเกล็ดตัดชิ้นส่วนของพืชที่มีเพลี้ยหอยอาศัยอยู่ ใส่ในถุงกระดาษหรือห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์แล้วใส่ในถุงพลาสติก บันทึกสถานที่ พิกัดทางภูมิศาสตร์ (GPS) วัน เดือน ปี ที่เก็บตัวอย่างชนิดและส่วนของพืชที่ถูกทำลาย รวมทั้งชื่อผู้เก็บ สำหรับการเก็บตัวอย่างในแต่ละจุด จะเก็บให้ได้ตัวอย่างมากที่สุด เพื่อนำมาศึกษาต่อในห้องปฏิบัติการและจัดทำสไลด์ถาวรในการจำแนกชนิดต่อไป

1.2 นำตัวอย่างที่เก็บรวบรวมได้ มาตรวจดูลักษณะภายนอกด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope ถ่ายภาพ บันทึกรายละเอียด ทำการดองตัวอย่างในแอลกอฮอล์ 95% และเก็บตัวอย่างที่ได้ในตู้เก็บรักษาอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสนำไปศึกษาลักษณะทางพันธุกรรม ส่วนไคติน (chitin) ที่เหลือนำมาทำสไลด์ถาวรเพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเก็บรักษาเป็นตัวอย่างในพิพิธภัณฑ์ (Voucher specimen)

2. จำแนกชนิดพลี้หอยเกล็ดสกุล *Pinnaspis* ด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล

2.1 นำตัวอย่างเพลี้หอยเกล็ดที่เก็บรวบรวมจากพื้นที่ภาคกลาง ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่ดองในแอลกอฮอล์ 95% ที่ไว้ในตู้เก็บรักษาอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ทำการสกัดสารพันธุกรรม (DNA Extraction) ด้วยชุดสกัดสารพันธุกรรมสำเร็จรูป Isolate II Genomic DNA Kit MBL-BIO-52066 ซึ่งเป็นชุดสกัดสารพันธุกรรมที่ใช้สำหรับเนื้อเยื่อของมนุษย์และสัตว์ โดยนำตัวอย่างใส่ในหลอด microcentrifuge ขนาด 1.5 ml ซึ่งไคตินเพลี้หอยเกล็ดที่เหลือนำไปดองในแอลกอฮอล์ 70% นำไปทำสไลด์ถาวรเพื่อใช้ในการศึกษาสัณฐานวิทยาและเก็บไว้เป็นตัวอย่างในพิพิธภัณฑ์ (Voucher specimen) โดยนำของเหลวที่ได้มาสลายผนังเซลล์ (Lysis) ด้วยการเติม Lysis Buffer GL ปริมาณ 180 ไมโครลิตรและProtinase K Solution ปริมาณ 25 ไมโครลิตร ปิดหลอดให้สนิทพร้อมทั้งพันด้วย พาราฟีน (Paraffin) เพื่อป้องกันการปนเปื้อน จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 - 24 ชั่วโมง เขย่าอย่างรวดเร็ว และเติม ATL Buffer ปริมาณ 180 ไมโครลิตร และบ่มที่ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที และเขย่าให้สม่ำเสมอ หลังจากนั้นทำการจับสารพันธุกรรมด้วยการเขย่าอย่างรวดเร็ว และเติม แอลกอฮอล์บริสุทธิ์ (ethanol 100%) ปริมาณ 210 ไมโครลิตร และเขย่าให้สม่ำเสมอเขย่าอย่างเร็วประมาณ 15 วินาทีเติมสารละลายบัฟเฟร์ AL ปริมาณ 200 ไมโครลิตร เขย่าอย่างรวดเร็ว และเติม แอลกอฮอล์บริสุทธิ์ (ethanol 95%) ปริมาณ 200 ไมโครลิตร และเขย่าให้สม่ำเสมอ ดูดสารละลายทั้งหมดใส่ใน tube และตกตะกอน ด้วยเครื่องปั่นความเร็วสูง 11,000x g เป็นเวลา 1 นาที (ทิ้งของเหลวที่เหลือจากการตกตะกอน) หลังจากนั้นล้าง

ตะกอน (Wash silica membrane) โดยการเติม Wash Buffer AW1 ปริมาณ 500 ไมโครลิตร และตกตะกอนด้วย เครื่องปั่นความเร็วสูง 11,000x g เป็นเวลา 1 นาที (ทิ้งของเหลวที่เหลือจากการตกตะกอน) จากนั้นเติม Wash Buffer AW2 ปริมาณ 500 ไมโครลิตร และตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นความเร็วสูง 20,000x g เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นทิ้งของเหลวที่เหลือแล้วทำการตกตะกอนสารพันธุกรรมให้แห้ง (Dry silica membrane) ด้วยเครื่องปั่นความเร็วสูง 20,000x g เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นย้ายหลอดมาใส่ในหลอดทดลองขนาดเล็ก 1.5 ไมโครลิตร ละลายสารพันธุกรรม (Elute DNA) โดยการเติม Elution Buffer AE ปริมาณ 200 ไมโครลิตร จากนั้น ทำการบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 นาที ตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นความเร็วสูง 11,000x g เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำ DNA ที่ได้เก็บในอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในขั้นตอนต่อไป

2.2 ทำการเพิ่มปริมาณยีน mtCOI ด้วยวิธีการ Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยใช้ไพรเมอร์ C1J2195- 5′ TTGATTTTTTGGTCATCCAGAAGT 3′ และ TL2N3014 - 5′ TCCAATGCACTAATCTGCCATATTA 3′ ในการเพิ่มปริมาณ DNA (Chris *et al*., 1994) สังเคราะห์ยีน mtCOI ของเพลี้ยแป้งจากดีเอ็นเอที่เตรียมได้ โดยใช้ส่วนผสมของ MyTaq HS Red DNA Polymerase (Bioline, Cat No. BIO-21114) ทำปฏิกิริยาในหลอดพีซีอาร์ขนาด 200 ไมโครลิตร ประกอบไปด้วย Nuclease free water จำนวน 10.5 ไมโครลิตร 5x MyTaq Red Reaction Buffer จำนวน 4 ไมโครลิตร 10 µM CP-F จำนวน 1 ไมโครลิตร 10 µM CP-R จำนวน 1 ไมโครลิตร MyTaq HS DNA Polymerase จำนวน 0.5 ไมโครลิตร DNA template จำนวน 3 ไมโครลิตร รวมทั้งสิ้น 20 ไมโครลิตร ผสมส่วนผสมให้เข้ากันดี แล้วนำไปเข้าเครื่องควบคุมอุณหภูมิ (thermal cycler) ทำปฏิกิริยาในการสังเคราะห์โดย Predenaturation 94° C 5 นาที Threestep-cycling 35 cycles Denaturation 94° C 30 วินาที Annealing 50° C 30 วินาที Extension 72° C 45วินาที และ Final extension 72° C 10 นาที และนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปตรวจสอบขนาดของชิ้นส่วนของสารพันธุกรรมที่ต้องการ โดยการให้ประจุของสารที่มีประจุแยกออกจากกัน ด้วยวิธีการทำอิเล็กโทรโฟรีซีส (Electrophoresis) โดยหยด PCR product ลงในอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 1 % (1% agarose gel) และให้ PCR product เคลื่อนที่ผ่านสารละลาย TBE (Tris-borate, EDTA) โดยใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลล์, 400 mp (Voltage) เป็นเวลา 30 นาที

2.3 ส่ง PCR product เพื่อตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์ และนำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ มาทำการวิเคราะห์ โดยทำการเปรียบเทียบลำดับเบสเพลี้ยหอยเกล็ดสกุล *Pinnaspis* ที่นำมาศึกษาทั้งหมด (Sequence assembly) เพื่อให้ได้ DNA barcoding ที่มีความถูกต้อง โดยโปรแกรมที่สามารถวิเคราะห์ข้อมูลและจัดทำรหัสดีเอ็นเอ (assemble) เช่น Bioedit Sequence Alignment Editor Version 7.2.5 (Hall, 1999) และบันทึกข้อมูลในรูปแบบ FASTA ไฟล์ ในการศึกษาจะถูกเก็บบันทึกและรายงานเพื่อใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงสำหรับการจัดทำบัญชีรายชื่อแมลงศัตรูพืช และดีเอ็นเอที่สกัดได้จะจัดเก็บไว้ที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส ณ พิพิธภัณฑ์แมลง กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

3. การจำแนกชนิดเพลี้ยหอยเกล็ดสกุล *Pinnaspis* ด้วยสัณฐานวิทยา

3.1 นำไคตินที่เหลือจากการศึกษาในขั้นตอนที่ 2 ไปทำสไลด์ถาวรโดยดัดแปลงจากวิธีการของ Williams and Watson (1988) นำตัวอย่างสไลด์ที่ทำเสร็จเรียบร้อยไปอบให้แห้ง ในตู้อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ใช้เวลาอย่างน้อย 3 เดือน

3.2 ตรวจจำแนกชนิดเพลี้ยหอยเกล็ดบนแผ่นสไลด์ถาวร ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope ที่มีกำลังขยายสูง โดยใช้แนวทางการวินิจฉัยของ Williams and Watson (1988) Rosen (1990) Gill (1997) และ Miller and Devidson (2005) รวมทั้งเปรียบเทียบกับตัวอย่างสไลด์เพลี้ยหอยที่เก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง ของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตรและวาดรูปแสดงลักษณะสำคัญที่ใช้ในการจำแนกเพลี้ยหอยแต่ละชนิด และจัดทำแนวทางวินิจฉัยชนิดเพลี้ยหอยเกล็ด สกุล *Pinnaspis* ซึ่งจะนำตัวอย่างสไลด์ที่นำไคตินที่เหลือจากการศึกษาพันธุกรรมมาเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาต่างๆ ได้แก่ ขนาดความยาวของลำตัว ลักษณะของส่วนหัวและอก ความกว้างของ prosoma และ pygidium ใกล้เคียงกัน ผนังลำตัวด้านนอกของ prosoma เรียบและแคบกว่าส่วนท้อง หนวดเป็นติ่งมีขนค่อนข้างยาว มีรูเปิดรอบรูหายใจคู่ที่ 1 จำนวนมาก โดยส่วนท้องแต่ละปล้องมักมีลักษณะเป็นลอนอย่างชัดเจน มีต่อมหนามขนาดใหญ่และจำนวนมากบริเวณลอนของปล้องท้องแต่ละปล้อง ส่วน pygidium ประกอบด้วย macroducts แบบ 2 แถบ ลอนแข็งคู่ที่ 1 - 2 เห็นได้ชัดเจน คู่ที่ 1 มักมีขนาดใหญ่กว่า คู่ที่ 2 ส่วนคู่ที่ 3 มีขนาดค่อนข้างเล็ก หรืออาจจะไม่ปรากฏลอนแข็งคู่ที่ 2 - 4 ระหว่างฐานคู่ที่ 1 มีติ่งยื่นเข้าไปค่อนข้างยาวทำให้ลอนแข็งคู่ที่ 1 ทั้ง 2 อันชิดกัน ระหว่างลอนแข็งแต่ละคู่มีต่อมหนาม ช่องเปิดส่วนท้ายของระบบทางเดินอาหารมีขนาดเล็กกว่าลอนแข็งคู่ที่ 1 และอยู่ใกล้เกือบกึ่งกลางของ pygidium ผนังลำตัวด้านหลังปรากฏ macroducts ขนาดใหญ่เรียงตัวแต่ละด้านโดยเฉพาะบริเวณขอบของผนังลำตัว มีรูเปิดรอบช่องเปิดของระบบสืบพันธุ์ จำนวน 5 กลุ่มเพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างในแต่ละชนิด หลังจากนั้นจึงนำข้อมูลต่างๆที่ได้รวบรวมจัดทำแนวทางวินิจฉัยชนิดของเพลี้ยหอยเกล็ดในสกุลนี้

3.3 จัดเก็บตัวอย่างเพลี้ยหอยเกล็ดในกล่องใส่สไลด์ถาวรและนำเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามหลักสากล และจัดทำหมายเลขของตัวอย่างเพลี้ยหอยเกล็ดแต่ละสไลด์เพื่อเป็นฐานข้อมูลในการอ้างอิงทางวิทยาศาสตร์ต่อไป

การบันทึกข้อมูล

1) พืชอาศัย พิกัดภูมิศาสตร์ สถานที่ วัน/เดือน/ปี ที่เก็บตัวอย่างพร้อมรายละเอียดของเพลี้ยหอยเกล็ด เช่น ขนาด รูปร่างลักษณะและสีของตัวอย่างก่อนทำการดองตัวอย่างพร้อมทั้งถ่ายภาพประกอบ
2) ข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ด ในรูปแบบของ FASTA ไฟล์
3) ชื่อวิทยาศาสตร์ของเพลี้ยหอยเกล็ด

เวลาสถานที่

เวลา เดือนตุลาคม 2564 ถึง เดือนกันยายน 2565

สถานที่ 1. แหล่งปลูกพืชจังหวัดต่างๆ ในพื้นที่ภาคกลาง ภาคเหนือและ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

3. ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. เก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยหอยเกล็ดสกุล *Pinnaspis*

โดยสำรวจแหล่งปลูกพืชที่สำคัญในเขตพื้นที่ภาคกลาง เช่น จังหวัดสระบุรี ชัยนาท กำแพงเพชร อุทัยธานีและกรุงเทพมหานคร ภาคเหนือ เช่น จังหวัดลำปาง แพร่ น่าน และพิษณุโลก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น จังหวัดนครราชสีมา มหาสารคาม มุกดาหาร หนองคาย และอุบลราชธานี และเก็บรวบรวมตัวอย่างได้ทั้งสิ้น 60 ตัวอย่าง

2. จำแนกชนิดพลี้หอยเกล็ดสกุล *Pinnaspis* ด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล

สามารถจำแนกชนิดด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล โดยการสกัดดีเอ็นเอ และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ C1J2195/TL2N3014 จากยีน *cox1* สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอและตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอได้ขนาด 650 - 700 คู่เบส เมื่อนำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ไปตรวจวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ เปรียบเทียบพบเปอร์เซ็นต์ความเหมือนที่ 99 - 100 % ในฐานข้อมูล GenBank พบเพลี้ยหอยเกล็ด สกุล *Pinnaspis* จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ 1. *Pinnaspis aspidiatrae* (Signoret, 1869) 2. *Pinnaspis strachani* (Cooley, 1899)

3. การจำแนกชนิดเพลี้ยหอยเกล็ดสกุล *Pinnaspis* ด้วยสัณฐานวิทยา

สามารถจำแนกชนิดด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาจากไคตินที่นำมาทำสไลด์ถาวร จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ 1. *Pinnaspis aspidiatrae* (Signoret, 1869) 2. *Pinnaspis strachani* (Cooley, 1899) รายละเอียดดังนี้

3.1. *Pinnaspis aspidiatrae* (Signoret, 1869)

ชื่อพ้อง : *Chionaspis aspidistrae* Signoret, 1869; *Chionaspis brasiliensis* Signoret, 1869 ;*Chionaspis latus* Cockerell, 1896 ; *Pinnaspis ophiopogonis* Takahashi, 1952; *Pinnaspis caricis* Ferris, 1957; *Pinnaspis aspidistrae yunnanensis* Chen, 1983

ชื่อสามัญ : เพลี้ยหอยเกล็ดเฟิร์น (fern scale)

ลักษณะในธรรมชาติที่สำคัญ : <u>เพศเมีย</u> แผ่นปกคลุมลำตัวของตัวเต็มวัยค่อนข้างกลม สีน้ำตาล คราบของตัวอ่อนวัยที่ 1 และ 2 อยู่ขอบด้านบนของแผ่นปกคลุมลำตัวมีสีเข้มกว่าเล็กน้อย

ลักษณะทางอนุกรมวิธานที่สำคัญ : ตัวเต็มวัยเพศเมียรูปร่างยาวรี ความกว้างของ prosoma และ pygidium ใกล้เคียงกัน ผนังลำตัวด้านนอกเรียบมีขนาดแคบกว่าส่วนท้อง หนวดเป็นติ่งมีขนค่อนข้างยาว มีรูเปิดรอบรูหายใจคู่ที่ 1 จำนวนมาก โดยส่วนท้องแต่ละปล้องมักมีลักษณะเป็นลอน

อย่างชัดเจน มีต่อมหนามขนาดใหญ่และจำนวนมากบริเวณลอนของปล้องท้องแต่ละปล้อง ส่วน pygidium ประกอบด้วย macroducts แบบ 2 แถบ ลอนแข็งคู่ที่ 1 มักสั้นกว่าคู่ที่ 2 แต่มักมีขนาดใกล้เคียงกัน ระหว่างฐานคู่ที่ 1 มีติ่งยื่นเข้าไปค่อนข้างยาวทำให้ลอนแข็งคู่ที่ 1 ทั้ง 2 อันชิดกัน ส่วนคู่ที่ 2 มีลอนขนาดเล็กจำนวน 2 อัน มีต่อมหนามขนาดค่อนข้างยาวระหว่างลอนแข็งแต่ละคู่ช่องเปิดส่วนท้ายของระบบทางเดินอาหารมีขนาดเล็กกว่าลอนแข็งคู่ที่ 1 และอยู่ใกล้เกือบกึ่งกลางของ pygidium ผนังลำตัวด้านหลังปรากฏ macroducts ขนาดใหญ่เรียงตัวตั้งแต่ส่วนบนถึงท้องปล้องที่ 1 ปรากฏเส้นแข็งบริเวณผนังลำตัวด้านหลัง (dorsal preanal scleroses) มีรูเปิดรอบช่องเปิดของระบบสืบพันธุ์ จำนวน 5 กลุ่ม

3.2 *Pinnaspis strachani* (Cooley, 1899)

ชื่อพ้อง : *Hemichionaspis minor strachani* Cooley, 1899; *Hemichionaspis Marchali* Cockerell, 1902; *Hemichionaspis townsendi* Cockerell, 1905; *Chionaspis (Hemichionaspis) aspidistrae gossypii* Newstead, 1906; *Chionaspis (Hemichionaspis) aspidistrae gossypii* Newstead, 1908; *Hemichionaspis proxima* Leonardi, 1914; *Pinnaspis temporaria* Ferris, 1942

ชื่อสามัญ : เพลี้ยหอยเกล็ดขาวฝ้าย (cotton white scale)

ลักษณะในธรรมชาติ : <u>เพศเมีย</u> แผ่นปกคลุมลำตัวของตัวเต็มวัยค่อนข้างกลม สีขาว คราบของตัวอ่อนวัยที่ 1 และ 2 อยู่ขอบด้านบนของแผ่นปกคลุมลำตัวสีน้ำตาลหรือสีดำ

ลักษณะทางอนุกรมวิธาน : ตัวเต็มวัยเพศเมียรูปร่างยาวรี ความกว้างของ prosoma และ pygidium ใกล้เคียงกัน ผนังลำตัวด้านนอกของ prosoma เรียบและแคบกว่าส่วนท้อง หนวดเป็นติ่งมีขนค่อนข้างยาว มีรูเปิดรอบรูหายใจคู่ที่ 1 จำนวนมาก โดยส่วนท้องแต่ละปล้องมักมีลักษณะเป็นลอนอย่างชัดเจน มีต่อมหนามขนาดใหญ่และจำนวนมากบริเวณลอนของปล้องท้องแต่ละปล้อง ส่วน pygidium ประกอบด้วย macroducts แบบ 2 แถบ ลอนแข็งคู่ที่ 1 - 2 เห็นได้ชัดเจน คู่ที่ 1 มีขนาดใหญ่กว่าเป็นสองเท่าของคู่ที่ 2 ส่วนคู่ที่ 3 มีขนาดค่อนข้างเล็กมาก ระหว่างฐานคู่ที่ 1 มีติ่งยื่นเข้าไปค่อนข้างยาวทำให้ลอนแข็งคู่ที่ 1 ทั้ง 2 อันชิดกัน ระหว่างลอนแข็งแต่ละคู่มีต่อมหนามค่อนข้างยาว ผนังลำตัวด้านหลังปรากฏ macroducts ขนาดใหญ่เรียงตัวตั้งแต่ส่วนบนถึงท้องปล้องที่ 1 ไม่ปรากฏเส้นแข็งบริเวณผนังลำตัวด้านหลัง (dorsal preanal scleroses) ช่องเปิดส่วนท้ายของระบบทางเดินอาหารมีขนาดเล็กกว่าลอนคู่ที่ 1 และอยู่เกือบกึ่งกลางของ pygidium มีรูเปิดรอบช่องเปิดของระบบสืบพันธุ์ จำนวน 5 กลุ่ม

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการเก็บรวบรวมตัวอย่างจากแหล่งปลูกพืชที่สำคัญในเขตพื้นที่ภาคกลาง ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 60 ตัวอย่าง สามารถจำแนกชนิดของเพลี้ยหอยเกล็ดสกุล *Pinnaspis* ได้ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลด้วยใช้ไพรเมอร์ C1J2195/TL2N3014 จากยีน *cox1* ได้จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ 1. *Pinnaspis aspidiatrae* (Signoret,

1869) และ 2. *Pinnaspis strachani* (Cooley, 1899) อย่างไรก็ตามเมื่อมีข้อมูลเพิ่มเติมในส่วนของภูมิภาคอื่นๆ เพิ่มมากขึ้นจะทำให้ข้อมูลมีความสมบูรณ์และพัฒนาต่อไปได้ในอนาคต

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ผลจากการศึกษาในครั้งนี้ นำไปรวบรวมเพื่อจัดทำฐานข้อมูลแมลงศัตรูพืช ซึ่งยังมีข้อมูลอยู่น้อยและไม่เป็นปัจจุบัน ซึ่งสามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชและข้อมูลเพื่อดำเนินการด้านมาตรการสุขอนามัยในการส่งออกและนำเข้าผลผลิตทางการเกษตรยังประเทศคู่ค้าต่างๆ รวมถึงการหาแนวทางป้องกันกำจัดที่ถูกต้องเหมาะสมแก่เกษตรกรในอนาคตต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ข้าราชการ และลูกจ้างกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลงทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการเก็บและเตรียมตัวอย่างทั้งในภาคสนามและห้องปฏิบัติการ

เอกสารอ้างอิง

Ben-Dov, Y., Miller, D.R. and Gibson, G.A.P. 2014. ScaleNet: a database of the scale insects (Hemiptera; Coccoidea) *of the world.* http://www.sel.barc.usda.gov/scalenet/htm accessed May 2014.

Duangthip Kantha, Kosol Charernsom, Wiwat Suasa-ard and Oraphan Kern-asa. (2002). Annual symposium of The National Biological Control Research Center 2002. Survey and biology of mango scale, *Pseudaulacaspis cockerelli* (Homoptera: diaspididae) and of white armoured scale, *Pinnaspis* sp. (Homoptera: Diaspididae) and natural enemies. (pp. 94). Ubon Ratchathani (Thailand): Ubon Rajathanee University, Ubon Ratchathani (Thailand).

García, M. M., B.D. Denno, D.R. Miller, G.L. Miller, Y. Ben-Dov and N.B. Hardy. 2016. ScaleNet: A literature-based model of scale insect biology and systematics. Database. doi: 10.1093/database/bav118. http://scalenet.info. Accessed: February 12, 2022.

Hall, T.A. 1999. BioEdit: A User-Friendly Biological Sequence Alignment Editor and Analysis Program for Windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symposium Series, 41, 95-98.

Miller, D.R. and Davidson, J.A. 2005. Armored Insect Pests of Trees and Shrubs (Hemiptera: Diaspididae). Cornell University Press, New York. 442 pp.

Park, D.-S. Suh, S.-J., Oh, H.-W. and Hebert, P.D.N. 2010. Recovery of the mitochondrial COI barcode region in diverse Hexapoda through tRNA-based primers. BMC Genomics 11, 423.

Williams, D.J. and G.W. Watson. 1988. *The Scale Insects of the Tropical South Pacific Region Part I, the armored scale (Diaspididae).* CAB International Institute of Entomology, Wallingford. 290 pp.

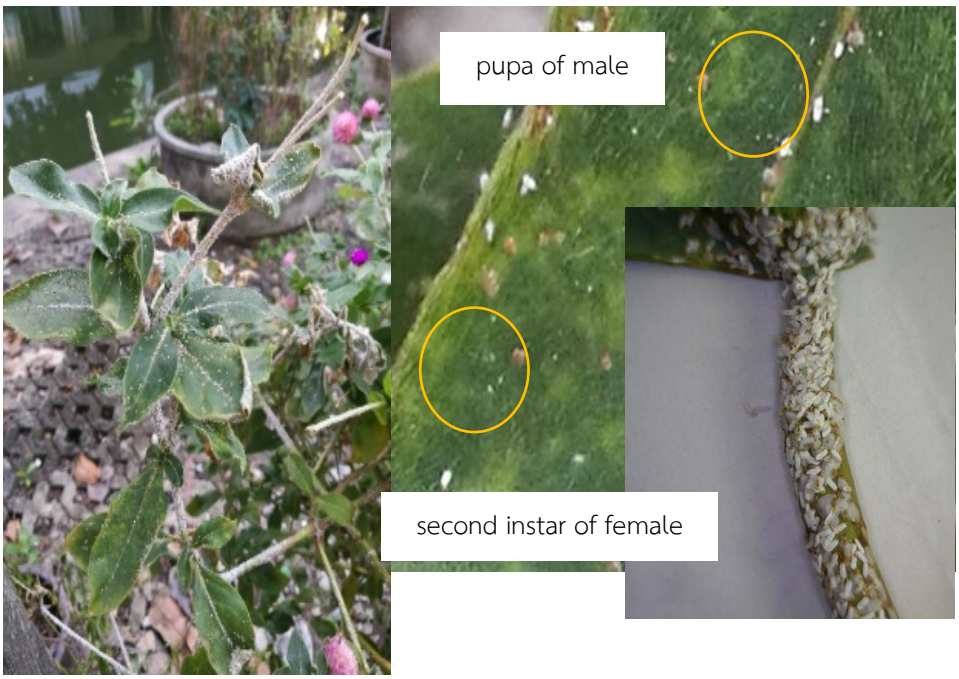


Figure 1 Field view of *Pinnaspis aspidiatrae* (Signoret, 1869)

Figure 2 Field view of *Pinnaspis strachani* (Cooley, 1899)

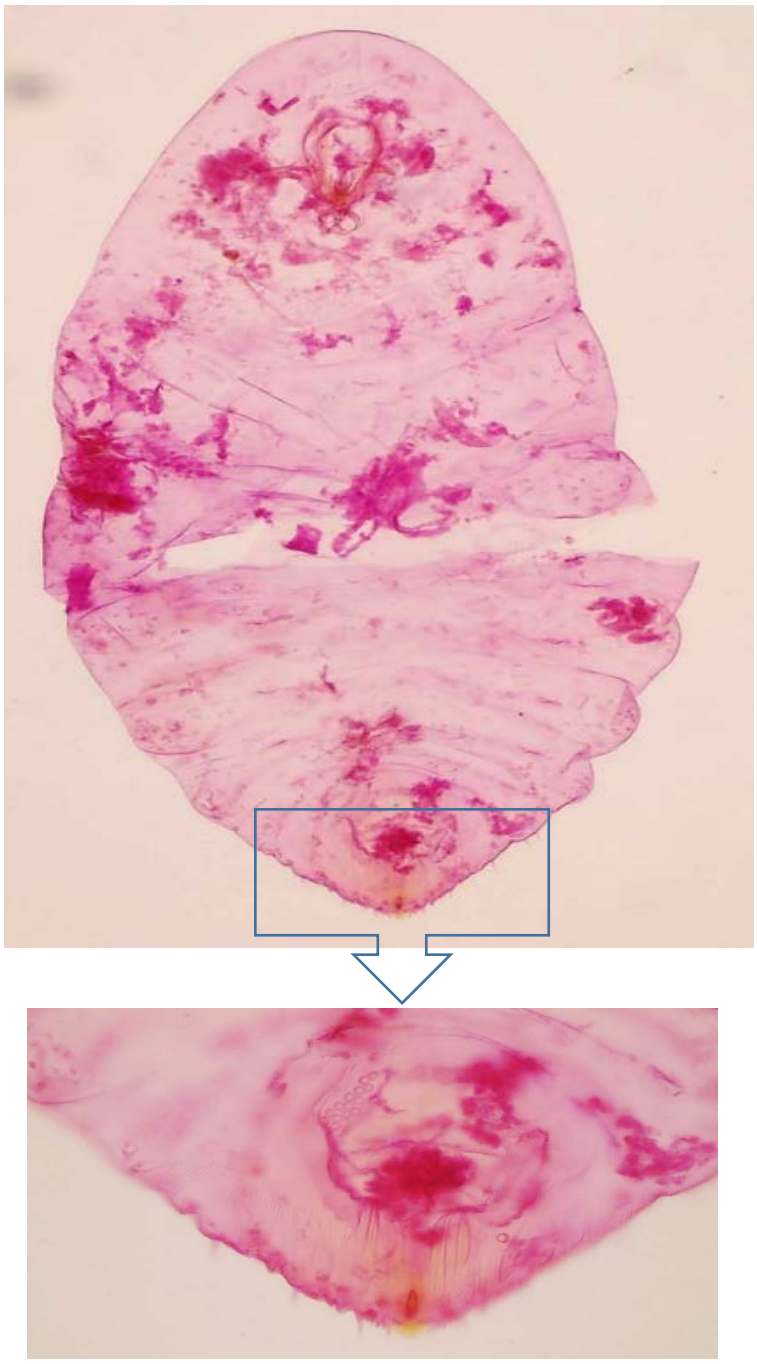


Figure 3 Microscope view of *Pinnaspis aspidiatrae* (Signoret, 1869)

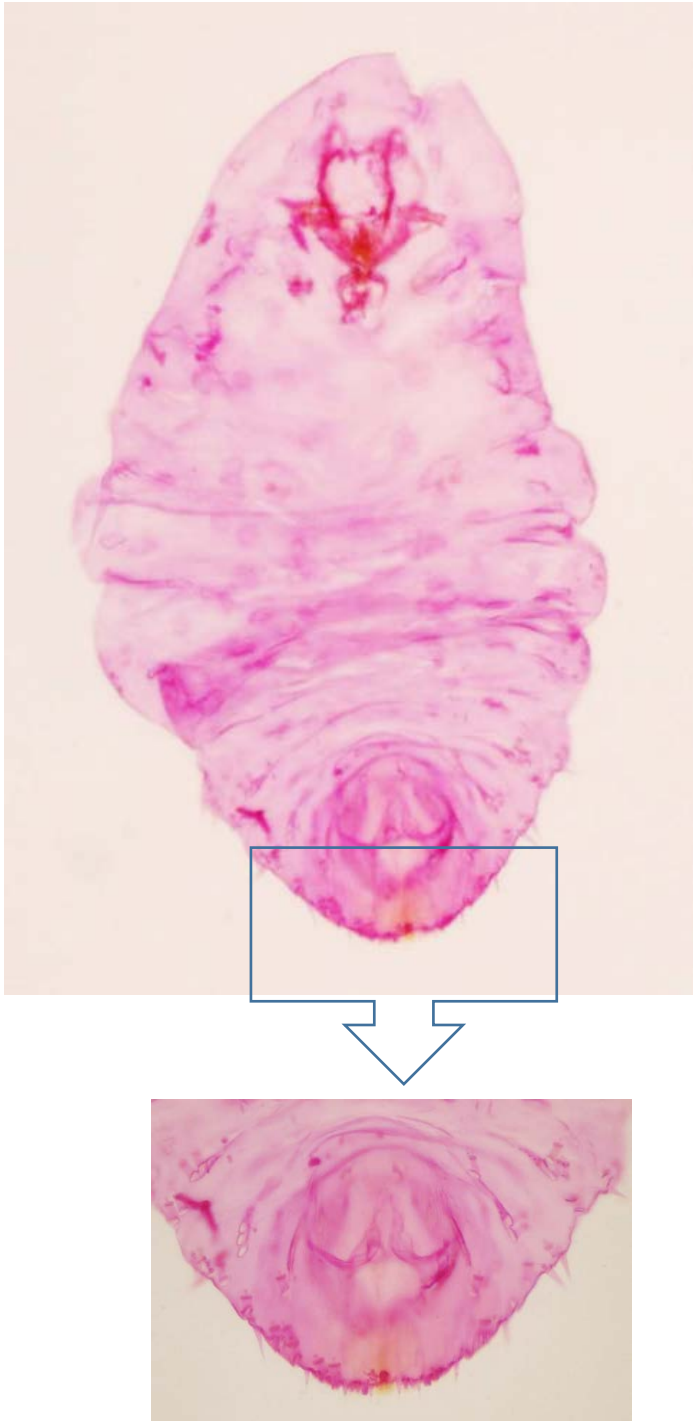


Figure 4 Microscope view of *Pinnaspis strachani* (Cooley, 1899)

การจำแนกชนิดของทากเล็บมือนางสกุล *Parmarion* ในประเทศไทยด้วยสัณฐานวิทยาและเทคนิคทางชีวโมเลกุล

Identification of Semi-Slug Genus *Parmarion* in Thailand Using Morphological and Molecular Genetic

ศุภกร วงษ์เรืองพิบูล ดาราพร รินทะรักษ์ อภินันท์ เอี่ยมสุวรรณสุข

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

งานวิจัยชิ้นนี้ดำเนินการเก็บตัวอย่างทากเล็บมือนางสกุล *Parmarion* จาก 5 ภูมิภาคทั่วประเทศไทยจำนวน 95 ตัวอย่าง ทำการเพิ่มปริมาณยีนไซโตโครม ซี ออกซิเดส ซับยูนิตหนึ่ง หรือ COI ความยาว 600 คู่เบสสำเร็จจำนวน 20 ตัวอย่าง จากนั้นเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ยีนดังกล่าวกับทากเล็บมือนางมาร์เทนส์จากฐานข้อมูล GenBank (ตัวอย่างจากประเทศไต้หวัน; Accession number: FJ481180) โดยการหาค่า pairwise distance และการสร้างไฟโลเจเนติกทรีวิธีการ Maximum likelihood และ Bayesian inference ผลปรากฏว่าลำดับพันธุกรรมของทากเล็บมือนางทั้ง 20 ตัวอย่างมีค่า pairwise distance ตั้งแต่ 0.00000 จนถึง 0.04228 และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.01874. ผลการสร้างไฟโลเจเนติกทรีทั้งสองวิธีพบการจับกลุ่มของลำดับพันธุกรรมทากเล็บมือนางแบ่งออกเป็นสองกลุ่มอย่างชัดเจน ได้แก่ เคลด A มีสมาชิกทากเล็บมือนางจำนวน 14 ตัวอย่างและ เคลด B ประกอบไปด้วยสมาชิกทากเล็บมือนางจำนวน 6 ตัวอย่าง ซึ่งมีการจับกลุ่มรวมกันกับทากเล็บมือนางมาร์เทนส์จากฐานข้อมูล GenBank พบตัวอย่างทากเล็บมือนางอย่างน้อยสองตัวอย่างจากจังหวัดเลย (NNLO01) และนครนายก (KDNN01) ถูกระบุชนิดว่าเป็นทากเล็บมือนางมาร์เทนส์เนื่องจากมีค่าความเหมือนของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่งยีน COI เหมือนกับทากเล็บมือนางมาร์เทนส์จาก GenBank 100% (Pairwise distance = 0.00000)

คำหลัก : ทากเล็บมือนาง *Parmarion* ลักษณะทางสัญฐานวิทยา ลักษณะทางพันธุกรรม ประเทศไทย

รหัสการทดลอง FF65-20-02-65-00-03-65

คำนำ

ทากเล็บมือนาง *Parmarion* spp. (Gastropoda, Stylommatophora, Helicarionidae) จัดอยู่ในกลุ่มหอยฝาเดียวอาศัยอยู่บนบกและหายใจด้วยปอด ส่วนเปลือกของทากจะมีการลดรูปกลายเป็นแผ่นเกล็ดเล็กสีเหลือง น้ำตาล จนถึงสีดำคล้ายเล็บมือติดอยู่ด้านบนของลำตัวทาก บริเวณเปลือกด้านบนยังหลงเหลือร่องรอยการขดวนเล็กน้อย และมีแผ่นหนังบาง ๆ ที่เรียกว่าแผ่น mantle lapp เลื่อนเปิดปิดคลุมส่วนเปลือก เนื้อเยื่อส่วนชั้นแมนเทิลมีขนาดใหญ่เมื่อเทียบกับลำตัว ลำตัวทากมีความหลากหลายของสีสันตั้งแต่เทาดำ สีน้ำตาลเหลือง ไปจนถึงเหลืองนวล ส่วนด้านปลายของหางมีลักษณะเป็นสันติ่งเนื้อสีจางกว่าลำตัวและมีลักษณะเป็นสันตั้งขึ้นมาจากลำตัวส่วนหาง (จิรศักดิ์และคณะ, 2561) ด้านข้างของลำตัวส่วนล่างมีร่องแบ่งระหว่างส่วนลำตัวส่วนบนกับส่วนเท้าออกจากกันชัดเจน ทากเล็บมือนางพบอาศัยอยู่ตามป่าที่มีความชื้นสูง ภูเขา ไปจนถึงพื้นที่เกษตรกรรม โดยเฉพาะเรือนเพาะชำ ทากสกุลดังกล่าวมีถิ่นกำเนิดในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ แต่ปัจจุบันกลายเป็นชนิดพันธุ์ต่างถิ่นรุกรานในบางประเทศ เช่น รัฐฮาวาย ประเทศสหรัฐอเมริกา และฟิจิ (Brodie & Barker, 2012) โดยเป็นศัตรูพืชที่สำคัญของพืชตระกูลกระหล่ำและมะละกอ นอกจากนี้ยังเป็นพาหะของพยาธิ *Angiostrongylus cantonensis* หรือพยาธิปอดหนูซึ่งสามารถก่อโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบชนิดอิโอสิโนฟิลิกในมนุษย์ จากการรายงานของ Cowie (2018) พบว่าทาก *P. martensi* เป็นหนึ่งในสัตว์อาศัยตัวกลางที่สำคัญของพยาธิตัวกลม *Angiostrongylus* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคพยาธิหอยโข่งที่พบได้บ่อยในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ซึ่งมีสัตว์อาศัยตัวกลาง ได้แก่ หอยโข่ง หอยเชอรี่ กุ้งน้ำจืด ปูน้ำจืด หอยทากบก และมีสัตว์อาศัยสุดท้ายคือหนู แต่มนุษย์สามารถเป็นสัตว์อาศัยโดยบังเอิญ (accidental host) ในกรณีที่รับประทานสัตว์อาศัยตัวกลางในลักษณะกึ่งสุกกึ่งดิบ

ความสำคัญของทากเล็บมือนางด้านการเกษตรของไทย ในปี 2554 มีการรายงานว่าทากสกุลนี้สามารถกัดกินและทำลายพืชผลทางการเกษตรโดยพบการเข้าทำลายในโรงเรือนปลูกพืชหลายชนิด ได้แก่ โรงเรือนกล้วยไม้ หน้าวัว เบญจมาศ ส้มปลอดโรค และโรงเรือนปลูกผักชีฝรั่ง ในพื้นที่ภาคกลาง ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันออก และภาคใต้ของประเทศ (ปราสาททองและคณะ, 2554) ในปี 2555 มีการรายงานว่ามีการเข้าทำลายพืชผลทางการเกษตรของทากเล็บมือนางในพื้นที่สวนกล้วยไม้ แปลงผัก สวนผลไม้ต่าง ๆ ในภาคกลางและภาคตะวันตก (ปิยาณีและคณะ, 2555) สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชระบุว่ามีทากเล็บมือนางในสกุล *Parmarion* จำนวนสองชนิดเป็นศัตรูพืชที่สำคัญของกล้วย ได้แก่ *P. setchaunensis* และ *P. siamensis* โดยมีการเข้าทำลายในส่วนของใบและหน่อเป็นหลัก (Plant Protection Research and Development Office, 2559) เนื่องจากมีขนาดตัวที่เล็กและแบนทำให้

สามารถในการหลบซ่อนตัวตามไปตามสินค้าและยานพาหนะขนส่งสินค้าเกษตรส่งออก ในกรณีที่ประเทศปลายทางมีความเข้มงวดเกี่ยวกับการตรวจสอบศัตรูพืชกักกันทางการเกษตร เช่น ญี่ปุ่น หรือสหภาพยุโรป หากมีการตรวจพบทากดังกล่าวในสินค้าอาจถูกส่งกลับหรือถูกเผาทำลายทั้งหมด ส่งผลกระทบต่อภาพลักษณ์ของประเทศไทยทางด้านการเป็นผู้ส่งออกสินค้าทางการเกษตรที่สำคัญ

ถึงแม้ว่าทากเล็บมือนางสกุลนี้จะมีความสำคัญต่อคนไทยในเชิงเกษตรกรรมและสาธารณสุข อย่างไรก็ตามข้อมูลเชิงอนุกรมวิธานการและการจำแนกชนิดทากกลุ่มดังกล่าวในประเทศไทยที่ยังไม่มีการศึกษาที่ชัดเจน ประกอบกับฐานของมูล National Center for Biotechnology Information (NCBI) หรือ Gen Bank ที่มีข้อมูลทางอณูชีววิทยาทากดังกล่าวเพียงเล็กน้อย ดังนั้นการศึกษาลักษณะทางสัณฐานประกอบกับข้อมูลทางพันธุกรรมเพื่อนำเอามาใช้เป็นเครื่องมือแก้ปัญหาความสับสนในการระบุชนิดของทากเล็บมือนางในประเทศไทยจึงเป็นสิ่งจำเป็น เพื่อที่จะทราบชนิดของทากเล็บมือนาง *Pamarion* spp. ที่มีเขตการกระจายพันธุ์ในประเทศไทยโดยใช้ข้อมูลทางสัณฐานวิทยาและข้อมูลทางอณูชีววิทยาในการจำแนก

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ภาชนะเลี้ยงหอยทากเล็บมือนาง ขนาดกว้าง x ยาว x สูง : 30 x 15 x 20 ซม พร้อมฝาปิด
2. วัสดุรองนอนได้แก่ กระดาษทิชชูชุ่มน้ำ และใบกล้วย
3. อาหารที่ใช้เลี้ยงหอยได้แก่ ผักต่าง ๆ หรือผลไม้
4. ชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป และสารเคมีที่ใช้ในการทำพีซีอาร์
5. กล้องสเตอริโอไมโครสโคป และอุปกรณ์ผ่าตัด

วิธีการ

1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของทาก

เก็บตัวอย่างทากเล็บมือนางจากแหล่งธรรมชาติหรือแปลงเกษตรที่เป็นพืชอาหาร ลงในแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 95% ดำเนินการผ่าตัดทากเล็บมือนางภายใต้กล้องสเตอริโอไมโครสโคป สังเกตุลักษณะสัญฐานของอวัยวะสืบพันธุ์พร้อมบันทึกภาพ เปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาดังกล่าวกับเอกสารทางวิชาการทั้งภายในและต่างประเทศ

2 การศึกษาข้อมูลทางอณูชีววิทยาของทากเล็บมือนาง (ยีน Cytochrome C oxidase subunit I หรือ COI) การเพิ่มปริมาณยีนด้วยเทคนิคพีซีอาร์

สกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างทากเล็บมือนางโดยชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูปสำหรับสกัดดีเอ็นเอจากเนื้อเยื่อของสัตว์ เก็บรักษาดีเอ็นเอของทากไว้ที่ตู้แช่งแข็งอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ทำการเพิ่มปริมาณ

ยีน COI ด้วยวิธีพีซีอาร์โดยใช้คู่ไพร์เมอร์ตามวิธีการของ Folmer *et* al., (1994) โดยแต่ละไพร์เมอร์มีลำดับนิวคลีโอไทด์ดังนี้

ฟอร์เวิร์ดไพรเมอร์ COI-1490 (5'--- GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G ---3')

รีเวิร์สไพรเมอร์ COI-2198 (5'--- TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA ---3')

การทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ปริมาตร 25 microlites ใช้สารเคมีต่อไปนี้

PCR Master Mix 2X (DreamTaq PCR Master Mix, Thermo Scientific)	12.5 µl
10 µM COI-1490 forward primer	2.5 µl
10 µM COI-2198 reverse primer	2.5 µl
template DNA (ดีเอ็นเอทากเล็บมือนาง)	3 µl
$MgCl_2$ ความเข้มข้น 52 millimolar (Optional)	0 - 1 µl
น้ำกลั่น (Water nuclease free)	4.5 – 5.5 µl

นำสารทั้งหมดใส่ในหลอดพีซีอาร์และผสมให้เข้ากัน หลังจากนั้นนำไปใส่ในเครื่อง thermocycler ภายใต้อุณหภูมิดังนี้

1) Initial Denaturation	95°C	เป็นเวลา 3 นาที
2) Denaturation	95°C	เป็นเวลา 30 วินาที
3) Annealing	50°C	เป็นเวลา 1 นาที
4) Extension	72°C	เป็นเวลา 1 นาที
5) Final Extension	72°C	เป็นเวลา 1 นาที

ทำขั้นตอนที่ 2 – 4 ซ้ำ จำนวน 40 รอบ

ทำการตรวจสอบว่ามียีนที่เราต้องการเพิ่มขึ้นมาในผลิตภัณฑ์พีซีอาร์เกิดขึ้นจากขั้นตอนการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอหรือไม่ โดยใช้อะกาโรสเจล (ไม่ต้องผสมสีย้อมหรือ Loading dye เนื่องจาก DreamTaq PCR Master Mix ผสมสีย้อมเรียบร้อยแล้ว) ความเข้มข้นของเนื้อเจลที่ 1.5% ต่อความเข้มข้นทีบีอีบัฟเฟอร์ 1X จ่ายกระแสไฟฟ้าที่ความต่างศักดิ์ 100 โวลต์ผ่านอะกาโรสเจลเป็นเวลา 40 นาที จากนั้นนำไปส่องดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงยูวีเพื่อเทียบขนาดกับดีเอ็นเอมาร์กเกอร์ด้วยเครื่องถ่ายและวิเคราะห์ภาพเจล Gel Documentation ในกรณีที่มียีน COI ที่เราต้องการเพิ่มขึ้นจะปรากฏแถบดีเอ็นเอที่ความยาวประมาณ 650 คู่เบส เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสรอการอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ต่อไป

การอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์

นำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ไปอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเครื่อง automated sequencer ที่มีให้บริการโดยบริษัทเอกชนที่รับจ้างอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จะนำไปวิเคราะห์และเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ยีน COI ในฐานข้อมูล Genbank และเปรียบเทียบข้อมูลทางพันธุกรรมโดยใช้โปรแกรม Nucleotide BLAST (Basic Local Alignment Search Tool)

การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

นำไฟล์ที่ได้จากการอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเครื่อง automated sequencer มาวิเคราะห์ และตัดบริเวณสัญญาณรบกวนออก นำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาจัดเรียงด้วยโปรแกรม ClustalX2 (Larkin *et* al., 2007) ดำเนินการหาค่า Pairwise distances เพื่อคำนวณความแตกต่างทางพันธุกรรมของทากเล็บมือนางแต่ละตัวอย่างเปรียบเทียบตัวอย่างลำดับนิวคลีโอไทด์ของทากเล็บมือนางมาร์เทนส์ *Parmarion martensi* ยีน COI จากฐานข้อมูล National Center for Biotechnology Information หรือ GenBank (Accession number: FJ481180) ซึ่งเป็นตัวอย่างจากประเทศไต้หวันจำนวน 1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ โดยใช้โปรแกรม MEGA version 11 (Tamura, Stecher, and Kumar 2021) จากนั้นคำนวณ Nucleotide substitution model ที่เหมาะสมกับชุดข้อมูลพันธุกรรมดังกล่าว ทำการสร้างไฟโลเจนเนติกทรีด้วยวิธีการ Maximum likelihood (Goldman, 1990) เพื่อวิเคราะห์หาความใกล้ชิดทางพันธุกรรมโดยใช้โปรแกรม MEGA version 11 และสร้างไฟโลเจนเนติกทรีด้วยวิธีการ Bayesian (Huelsenbeck and Ronquist, 2001) โดยใช้โปรแกรม MrBayes 3.1.2 (Ronquist and Huelsenbeck, 2003)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ดำเนินการเก็บตัวอย่างทากเล็บมือนางสกุล *Parmarion* ภูมิภาคต่าง ๆ ตั้งแต่ระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2564 จนถึงสิงหาคม 2565 (Figure 1) จากภาคเหนือที่ตำบลบ้านกลาง อำเภอสอง จังหวัดแพร่ (BSPR) จำนวน 22 ตัวอย่าง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือได้แก่ ตำบลนาดอกคำ อำเภอนาด้วง จังหวัดเลย (NNLO) จำนวน 12 ตัวอย่าง ตำบลดงพญาเย็น อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา (DPNS) จำนวน 1 ตัวอย่าง และสถานีวิจัยลำตะคอง ตำบลหนองสาหร่าย อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา (PCNS) จำนวน 15 ตัวอย่าง ภาคตะวันออกที่ตำบลด่านชุมพล อำเภอบ่อไร่ จังหวัดตราด (DBTR) จำนวน 14 ตัวอย่าง ภาคตะวันตกที่ตำบลลิ่นถิ่น อำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี (LTKC) จำนวน 6 ตัวอย่าง และภาคกลางได้แก่ ตำบลนาเกาะ อำเภอหล่มเก่า จังหวัดเพชรบูรณ์ (LKPB) จำนวน 15 ตัวอย่าง เขื่อนขุนด่าน อำเภอเมือง จังหวัดนครนายก (KDNN) จำนวน 1 ตัวอย่าง และศูนย์วิจัยเกษตรที่สูงเพชรบูรณ์ อำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ (KKPB) จำนวน 9 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 95 ตัวอย่าง (Table 1)

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์ทากเล็บมือนางสกุล *Parmarion* spp. ในประเทศไทยพบว่าเป็นแบบรวมเพศหรือมีสองเพศในตัวเดียวกัน (hermaphrodite) แต่ไม่สามารถผสมพันธุ์กับตัวเองได้ อวัยวะสืบพันธุ์สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ส่วนได้แก่ 1) ส่วนของเพศผู้ ประกอบไปด้วย penis, epiphallus และ flagellum 2) ส่วนของเพศเมียประกอบไปด้วย Vagina, Gametolytic sac และ Oviduct 3) ส่วนของ Dart apparatus ประกอบไปด้วย Dart Sac และ Dart apparatus ซึ่งภายในบรรจุศรรักหรือ Dart Love มีลักษณะคล้ายลูกศรสีขาว มีความแข็ง ประกอบไปด้วยแคลเซียม

คาร์บอเนตเป็นหลัก ซึ่งส่วนของ Dart love พบความแปรผันเกิดขึ้นระหว่างชนิด (Figure 2) อวัยวะสืบพันธุ์ทั้งสามส่วนนี้จะมีช่องเปิดร่วมกันที่เรียกว่า Atrium โดยช่องดังกล่าวจะเปิดที่บริเวณส่วนหน้าของลำตัวบริเวณด้านขวาใกล้ปากของทากเล็บมือนาง

การสกัดดีเอ็นเอและเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่ตำแหน่งยีน Cytochrome oxidase subunit I หรือยีน COI ความยาวประมาณ 650 คู่เบส ได้ทำการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์แล้วเสร็จทั้งสิ้นจำนวน 20 ตัวอย่างลำดับนิวคลีโอไทด์ ได้แก่ ตัวอย่างจากตำบลบ้านกลาง อำเภอสอง จังหวัดแพร่ จำนวน 5 ลำดับ ตำบลนาดอกคำ อำเภอนาด้วง จังหวัดเลย จำนวน 8 ลำดับ ตำบลนาเกาะ อำเภอหล่มเก่า จังหวัดเพชรบูรณ์ จำนวน 6 ลำดับ และเขื่อนขุนด่าน อำเภอเมือง จังหวัดนครนายก จำนวน 1 ลำดับ (Figure 3)

ผลการคำนวณหาค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมของตัวอย่างทากเมื่อเปรียบเทียบกันเป็นคู่ (Pairwise distances) ของลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้ง 20 ลำดับ เปรียบเทียบกับตัวอย่างลำดับนิวคลีโอไทด์ยีน COI ของทากเล็บมือนางมาร์เทนส์จากฐานข้อมูล GenBank (Accession number: FJ481180) พบว่ามีตัวอย่างลำดับนิวคลีโอไทด์ซึ่งมีความใกล้เคียงกับลำดับนิวคลีโอไทด์ทากมาร์เทนส์มากที่สุดจำนวน 2 ตัวอย่าง ได้แก่ ตัวอย่างจากเขื่อนขุนด่าน อำเภอเมือง จังหวัดนครนายก (KDNN1) และตัวอย่างจากตำบลนาดอกคำ อำเภอนาด้วง จังหวัดเลย (NNLO12) โดยมีค่าเท่ากับ 0.00000 ซึ่งตัวอย่างดังกล่าวน่าจะเป็นทากเล็บมือนางมาร์เทนส์ ในส่วนของตัวอย่างลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมกับลำดับนิวคลีโอไทด์ทากมาร์เทนส์มากที่สุด ได้แก่ตัวอย่างจากตำบลนาดอกคำ อำเภอนาด้วง จังหวัดเลย (NNLO4) มีค่า Pairwise distances เท่ากับ 0.04228 จากการคำนวณค่าเฉลี่ยของค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมของลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมด 21 ตัวอย่างลำดับ หรือค่า Overall mean distance มีค่าเท่ากับ 0.01874 (Table 2)

ผลการคำนวณ Nucleotide substitution model หรือโมเดลการแทนที่ลำดับนิวคลีโอไทด์ พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ยีน COI ของทากเล็บมือนางจำนวน 21 ลำดับ พบว่าโมเดล GTR+G (General Time-Reversible model + Gamma distribution) เป็นโมเดลที่เหมาะสมมากที่สุดสำหรับการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์เพื่อสร้างไฟโลเจเนติกทรี จากการสร้างไฟโลเจเนติกทรีด้วยวิธีการ Maximum likelihood (Bootstrap = 500 replicates) และ Bayesian inference (จำนวนเจเนอเรชั่น = 1,000,000) พบการจับกลุ่มของลำดับทางพันธุกรรมทากเล็บมือนางออกเป็นสองกลุ่มหรือสองเคลดอย่างชัดเจน (Figure 4, Figure 5) ประกอบไปด้วยเคลด A มีสมาชิกทากเล็บมือนางทั้งหมด 14 ตัวอย่าง ได้แก่ ตัวอย่างจากจังหวัดแพร่ 5 ตัวอย่าง (BSPR2 BSPR5 BSPR6 BSPR8 และ BSPR10) ตัวอย่างจากจังหวัดเพชรบูรณ์ 6 ตัวอย่าง (LKPB1 LKPB2 LKPB3 LKPB4 LKPB5 และ LKPB6) และตัวอย่างจาก

จังหวัดเลย 3 ตัวอย่าง (NNLO3 NNLO4 และ NNLO5) ซึ่งกลุ่มดังกล่าวมีค่า Bootstrap support และค่า Bayesian posterior probability เท่ากับ 100 และ 0.97 ตามลำดับ สำหรับเคลด B มีสมาชิกทากเล็บมือนางทั้งหมด 6 ตัวอย่าง ประกอบไปด้วยตัวอย่างจากจังหวัดนครนายก 1 ตัวอย่าง (KDNN01) และตัวอย่างจากจังหวัดเลย 5 ตัวอย่าง (NNLO1 NNLO8 NNLO10 NNLO11 และ NNLO12) ซึ่งเคลดดังกล่าวนี้มีการจับกลุ่มร่วมกันกับลำดับนิวคลีโอไทด์ยีน COI ของทากเล็บมือนางมาร์เทนส์ *Parmarion martensi* จากฐานข้อมูล GenBank โดยมีค่า Bootstrap support และค่า Bayesian posterior probability เท่ากับ 99 และ 0.99 ตามลำดับ

นอกจากนี้ยังพบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของทากเล็บมือนางทั้ง 21 ลำดับในไฟโลเจเนติกทรีมีการจับกลุ่มรวมเป็นกลุ่มก้อนเดียวกันหรือเป็นแบบ Monophyletic group (มีค่า Bootstrap support ที่กิ่งเท่ากับ 100) แสดงให้เห็นถึงการมีบรรพบุรุษร่วมกันของทากเล็บมือนางทั้งหมด และได้แบ่งแยกออกจากลำดับนิวคลีโอไทด์ยีน COI ของหอยทากชนิด *Macrochlamys* sp (Accession number: MT906154), ชนิด *Hemiplecta thailandica* (Accession number: MT654615), และชนิด *Sarika pellosa* (Accession number: MT894112) ซึ่งเป็น Out group เมื่อพิจารณาความยาวกิ่งของไฟโลเจเนติกทรีวิธีการ Maximum likelihood ระหว่างเคลดทั้งสอง พบว่าเคลด A และเคลด B มีความยาวกิ่งเท่ากับ 0.015 และ 0.017 ตามลำดับเมื่อทำการวัดจากจุดที่เป็นบรรพบุรุษร่วมกันของทั้งสองเคลด ดังนั้นสรุปได้ว่าระยะห่างทางพันธุกรรมยีน COI ของทากเล็บมือนางทั้งสองเคลดมีค่าเท่ากับ 0.032 หรือ 3.2% เมื่อดำเนินการเปรียบเทียบค่าดังกล่าวความแปรผันทางพันธุกรรมภายในชนิดเดียวกัน (Intraspecific genetic distance) ของสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ในอาณาจักรย่อย Eumetazoan ส่วนของยีน COI ในไมโทคอนเดรีย ได้แก่ *Dinogamasus saengdaoae* (Insecta; Hymenoptera) มีค่าระหว่าง 0.2–0.9% (Attasopa *et* al., 2021), *Rissoella* sp. (Mollusca, Gastropod) มีค่ามากที่สุดเท่ากับ 2.32% (Buršic *et* al., 2021), *Mytilus Galloprovincialis* (Mollusca, Bivalve) มีค่ามากที่สุดเท่ากับ 2.72% (Buršic *et* al., 2021), *Thenus uinmaculatus* (Crustacean; Decapoda) มีค่ามากที่สุดเท่ากับ 2.68% (Wongruengpibool, 2013), *Thenus orientalis* (Crustacean; Decapoda) มีค่ามากที่สุดเท่ากับ 1.8% (Iamsuwansuk, 2011), และ *Melanoconion* sp. (Insecta; Diptera) มีค่ามากที่สุดเท่ากับ 3% (เกศรินทร์และคณะ 2561), ในส่วนของยีน Cytochrome B ในไมโทคอนเดรีย ได้แก่ *Rattus argentiventer* (Mammalia, Rodentia) มีค่าระหว่าง 0.001-0.02% (วิชาญและคณะ, 2558) และในส่วนของยีน 12S rDNA ในไมโทคอนเดรีย ได้แก่ *Thenus uinmaculatus* (Crustacean; Decapoda) มีค่ามากที่สุดเท่ากับ 2.91% (Wongruengpibool, 2013) พบว่าทากเล็บมือนาง *Parmarion* spp.

มีแนวโน้มที่ความแปรผันทางพันธุกรรมภายในชนิดเดียวกันของทากสูงกว่าความแปรผันทางพันธุกรรมภายในชนิดเดียวกันสูงสุดของสัตว์ชนิดอื่นที่อยู่ในอาณาจักรย่อย Eumetazoa ดังข้อมูลที่แสดงในตารางที่ 3 นอกจากนี้งานวิจัยของ Buršic เมื่อปี 2021 รายงานว่าสัตว์ในไฟลัม Molluska ในทะเลที่มีขอบเขตที่แบ่งระหว่างค่าความแปรผันทางพันธุกรรมภายในชนิดเดียวกัน (intraspecific genetic distance) และความแปรผันทางพันธุกรรมระหว่างชนิด (interspecific genetic distance) ของยีน COI ดังกล่าวไม่เกิน 3% (Buršic *et* al., 2021; Meyer and Paulay, 2005; Audzijonyte *et* al., 2012; Breure, 2016; Zhang, 2018) ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่ทากเล็บมือนางที่อยู่ในเคลด A อาจเป็นคนละชนิดกับทากเล็บมือนางมาร์เทนส์ ทั้งนี้เพื่อตัดสินสมมุติฐานดังกล่าวจึงจำเป็นต้องศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์และศึกษาลักษณะทางสัญฐานวิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์จากทากเล็บมือนางตัวอย่างอื่นเพิ่มเติมต่อไปในปี พ.ศ. 2566

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ดำเนินการเก็บตัวอย่างทากเล็บมือนางจากจังหวัดต่าง ๆ ในภูมิภาคเหนือ ตะวันออกเฉียงเหนือ ตะวันออก ตะวันตก และภาคกลาง ทั้งหมด 95 ตัวอย่าง ทำการสกัดดีเอ็นเอและเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่ตำแหน่งยีน Cytochrome oxidase subunit I หรือ COI ได้สำเร็จทั้งสิ้น 20 ตัวอย่าง หาค่าความแตกต่างทางพันธุกรรม (Pairwise distances) ของลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้ง 20 ลำดับ เปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของทากเล็บมือนางมาร์เทนส์จากฐานข้อมูล GenBank พบว่ามีค่าอยู่ระหว่าง 0.00000 ถึง 0.04228 และมีค่าเฉลี่ยหรือค่า Overall mean distance เท่ากับ 0.01874 จากการสร้างไฟโลเจเนติกทรีด้วยวิธีการ Maximum likelihood และวิธีการ Bayesian inference พบว่าเกิดการจับกลุ่มของตัวอย่างทากเล็บมือนางออกเป็นสองกลุ่ม ประกอบไปด้วยเคลด A ซึ่งมีสมาชิกทั้งหมด 14 ลำดับนิวคลีโอไทด์ และเคลด B ทั้งหมด 6 ลำดับนิวคลีโอไทด์ ซึ่งตัวอย่างลำดับนิวคลีโอไทด์ของทากเล็บมือนางมาร์เทนส์จาก GenBank ได้ปรากฏขึ้นมาในเคลด B ทำให้มีสมาชิกภายในเคลดรวมเป็น 7 ลำดับนิวคลีโอไทด์ นอกจากนี้มีทากเล็บมือนางอย่างน้อย 2 ตัวอย่างที่น่าจะเป็นทากเล็บมือนางมาร์เทนส์ ได้แก่ ตัวอย่างจากจังหวัดเลย (NNLO12) และตัวอย่างจากนครนายก (KDNN01) เนื่องจากมีค่า Pairwise distance ของยีน COI เปรียบเทียบกับทากเล็บมือนางมาร์เทนส์ เท่ากับ 0.00000 เมื่อพิจารณาความยาวกิ่งของทั้งสองเคลดพบว่ามีค่าเท่ากับ 0.032 หรือมีความแตกต่างทางพันธุกรรม (Genetic divergent) หรือ 3.2% เป็นความเป็นไปได้ว่าทากเล็บมือนางจากทั้งสองเคลดอาจเป็นคนละชนิดกัน งานวิจัยนี้ยังไม่สิ้นสุด จึงต้องดำเนินการศึกษาต่อในปี พ.ศ. 2566

เอกสารอ้างอิง

เกศรินทร ทิพย์เพ็ชร, ณรงค จัตุรัส, และนพวรรณ บุญชู. 2561. ดีเอ็นเอบาร์โค๊ดสำหรับการระบุชนิดแมลงที่มีความสำคัญทางการแพทย์ของประเทศไทย DNA Barcodes for Identification of Medically-Important Insects of Thailand. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. ปีที่ 26 ฉบับที่ 2.

ปิยาณี หนูกาฬ ดาราพร รินทะรักษ์ เกรียงศักดิ์ หามะฤทธิ์ 2556. ศึกษาการป้องกันกำจัดทาก *Parmarion siamensis* ในสวนกล้วยไม้. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2555 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร 50 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 1:315-319.

ปราสาททอง พรหมเกิด ปิยาณี หนูกาฬ ดาราพร รินทะรักษ์ สมเกียรติ กล้าแข็ง ทรงทัพ แก้วตา. ความหลากชนิดและประชากรของหอยทากและทากในโรงเรือนปลูกพืช รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2554 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร 50 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 1:1822-1828.

Audzijonyte A., Krylova E. M., Sahling H., Vrijenhoek R. C., 2012. Molecular Taxonomy Reveals Broad Trans-Oceanic Distributions and High Species Diversity of Deep-Sea Clams (Bivalvia: Vesicomyidae: Pliocardiinae) in Chemosynthetic Environments. Syst. Biodivers., 10, 403–415.

Attasopa K., Ferrari R. R., Chantawannakul P., Banzinger H. 2021. Morphological description, DNA barcodes and phylogenetic placement of a new mite species: *Dinogamasus saengdaoae* sp. nov. (Mesostigmata: Laelapidae) found in the acarinarium of carpenter bees in Thailand. Systematic & Applied Acarology 26(2): 474–495.

Bingpeng X, Heshan L, Zhilan Z, Chunguang W, Yanguo W, JianjunW. 2018. DNA barcoding for identification of fish species in the Taiwan Strait. PLoS ONE 13(6): e0198109.

Brodie, G. & Barker, G.M. 2012. *Parmarion martensi* Simroth, 1893. Family Ariophantidae. 'USP Introduced Land Snails of the Fiji Islands Fact Sheet Series', No. 1.

Breure A. S. H. 2016. Caribbean *Bulimulus* Revisited: Physical Moves and Molecular Traces (Mollusca, Gastropoda, Bulimulidae). PeerJ, 4, e1836.

Burši´c M., Ivesa L., Jaklin A., Pijevac M. A., Ku˘cini´c M., Štifani´c M., Neal L., Mad¯aric B. B. 2021. DNA Barcoding of Marine Mollusks Associated with *Corallina officinalis* Turfs in Southern Istria (Adriatic Sea). Diversity. 13. 196.

Cowie, R. H. 2018. *Parmarion martensi* Simroth, 1893 (Gastropoda: Ariophantidae), an intermediate host of *Angiostrongylus cantonensis* (rat lungworm), on Maui Bishop Museum occasional papers. 123(2018): 7-10.

Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. and Vrijenhoek, R. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. Molecular Marine Biology and Biotechnology 3(1994): 294-297.

Goldman N. 1990. Maximum likelihood inference of phylogenetic trees, with special reference to a Poisson process model of DNA substitution and to parsimony analyses. Syst. Zool., 39(4):345-361.

Huelsenbeck, J.P., and F. Ronquist. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny. Bioinformatics 17:754-755.

Iamsuwansuk A. 2011. Genetic diversity of shovel-nosed lobster of the Genus *Thenus* in Thailand using cytochrome C oxidase subunit I gene. Thesis for the Degree of Master of Science Program in Zoology. Department of Biology Faculty of Science Chulalongkorn University.

Tamura K., Stecher G., and Kumar S. 2021. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. Molecular Biology and Evolution 38:3022-3027.

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

Liu J., Zhang H. 2018. DNA Barcoding for Species Identification in Deep-Sea Clams (Mollusca: Bivalvia: Vesicomyidae). Mitochondrial DNA Part. A 29, 1165–1173.

Meyer, C.P.; Paulay, G. 2005. DNA Barcoding: Error Rates Based on Comprehensive Sampling. PLoS Biol., 3, e422.

Plant Protection Research and Development Office. 2559. List of insects, mite and other zoological pests of economic plant in Thailand. โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 254 ถนนพญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพ 1: 2-188.

Ronquist F., Huelsenbeck J. P. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. Bioinformatics. 19(12):1572-4.

Wongruengpibool S. 2013. Genetic diversity of purple-legged shovel-nosed lobster *Thenus unimaculatus* in Thailand by Mitochondrial gene analysis. Thesis for the Degree of Master of Science Program in Zoology. Department of Biology Faculty of Science Chulalongkorn University.

Yue L., Liu X., Hayashi F., Wang M., Yang D. 2015. Molecular systematics of the fishfly genus Anachauliodes Kimmins, 1954 (Megaloptera: Corydalidae: Chauliodinae). Zootaxa 3941(1): 091–103.

Table 1 This table show data concerning ordinal location (form figure 1), GPS coordinates, locations, amount and area of each specimen collecting sites

ลำดับที่	สถานที่	พิกัด	ภูมิภาค	จำนวน	ลักษณะสถานที่
1	ต.บ้านกลาง อ.สอง จ.แพร่	18°28'57.1"N 100°10'27.2"E	เหนือ	22	สวนกล้วยติดที่อยู่อาศัย
2	ต.นาดอกคำ อ.นาด้วง จ.เลย	17°32'26.2"N 101°58'30.6"E	ตะวันออกเฉียงเหนือ	12	โรงเรือนเพาะเห็ดขอน
3	ต.นาเกาะ อ.หล่มเก่า จ.เพชรบูรณ์	16°52'57.5"N 101°11'11.7"E	กลาง	15	สวนป่าติดที่อยู่อาศัย
4	ศูนย์วิจัยเกษตรที่สูงเพชรบูรณ์ อ.เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์	16°52'57.5"N 101°11'11.7"E	กลาง	9	สวนป่าติดบ้านพักรับรอง
5	ต.ดงพญาเย็น อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา	14°34'57.3"N 101°15'11.8"E	ตะวันออกเฉียงเหนือ	1	สวนกล้วย
6	สถานีวิจัยลำตะคอง อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา	14°46'24.7"N 101°31'07.3"E	ตะวันออกเฉียงเหนือ	15	ต้นกล้วยบริเวณโรงเรือนเพาะชำ
7	เขื่อนขุนด่าน อ.เมือง จ.นครนายก	14°18'12.1"N 101°18'40.5"E	กลาง	1	สวนกล้วยติดที่อยู่อาศัย
8	ต.ลิ่นถิ่น อ.ทองผาภูมิ จ.กาญจนบุรี	14°33'36.8"N 98°45'20.7"E	ตะวันตก	6	สวนกล้วย
9	ต.ด่านชุมพล อ.บ่อไร่ จ.ตราด	12°27'03.0"N 102°38'27.5"E	ตะวันออก	14	สวนป่าติดที่อยู่อาศัย
			รวม	95	

Table 2 This table show locations, code names, pairwise distances and percentage distance of each semi-slug genus *Parmarion* specimens compared with *Parmarion martensi* COI nucleotide sequence from GenBank

Location and Code Name	Pairwise distances	Percentage (%)
ต.บ้านกลาง อ.สอง จ.แพร่, BSPR2	0.03372	3.372
ต.บ้านกลาง อ.สอง จ.แพร่, BSPR5	0.02859	2.859
ต.บ้านกลาง อ.สอง จ.แพร่, BSPR6	0.02859	2.859
ต.บ้านกลาง อ.สอง จ.แพร่, BSPR8	0.03032	3.032
ต.บ้านกลาง อ.สอง จ.แพร่, BSPR10	0.02859	2.859
เขื่อนขุนด่าน อ.เมือง จ.นครนายก, KDNN1	0.00000	0.000
ต.นาเกาะ อ.หล่มเก่า จ.เพชรบูรณ์, LKPB1	0.02859	2.859
ต.นาเกาะ อ.หล่มเก่า จ.เพชรบูรณ์, LKPB2	0.02859	2.859
ต.นาเกาะ อ.หล่มเก่า จ.เพชรบูรณ์, LKPB3	0.03202	3.202
ต.นาเกาะ อ.หล่มเก่า จ.เพชรบูรณ์, LKPB4	0.02859	2.859
ต.นาเกาะ อ.หล่มเก่า จ.เพชรบูรณ์, LKPB5	0.03028	3.028
ต.นาเกาะ อ.หล่มเก่า จ.เพชรบูรณ์, LKPB6	0.02859	2.859
ต.นาดอกคำ อ.นาด้วง จ.เลย, NNLO1	0.00164	0.164
ต.นาดอกคำ อ.นาด้วง จ.เลย, NNLO3	0.03032	3.032
ต.นาดอกคำ อ.นาด้วง จ.เลย, NNLO4	0.04228	4.228
ต.นาดอกคำ อ.นาด้วง จ.เลย, NNLO5	0.03032	3.032
ต.นาดอกคำ อ.นาด้วง จ.เลย, NNLO8	0.00329	0.329
ต.นาดอกคำ อ.นาด้วง จ.เลย, NNLO10	0.01831	1.831
ต.นาดอกคำ อ.นาด้วง จ.เลย, NNLO11	0.00825	0.825
ต.นาดอกคำ อ.นาด้วง จ.เลย, NNLO12	0.00000	0.000

Table 3 This table show maximum, average, or range of intraspecific genetic distance values (3 mitochondrial genes) of animal in subkingdom Eumetazoa

Animal (Classification)	Mitochondrial Genes	Primers	Intraspecific Genetic distance	References
Thenus orientalis (Crustacean: Decapod)	COI	LCO1490, HCO2198	Maximum = 1.8 % Average = 0.5 %	Iamsuwansuk, 2011
Thenus uinmaculatus (Crustacean: Decapod)	COI	LCO1490, HCO2198	Maximum = 2.68 % Average = 0.59 %	Wongruengpibool, 2013
Thenus uinmaculatus (Crustacean: Decapod)	12S rDNA	12SCRF, 12SCRR	Maximum = 2.91 % Average = 0.66 %	Wongruengpibool, 2013
Melanoconion sp. (Insecta: Diptera)	COI	LCO1490, HCO2198	Maximum ≈ 3 %	เกศรินทร์และคณะ, 2561
Anachauliodes sinensis (Insecta: Megaloptera)	COI	C1-J-21835, TL2-N-3014	Range = 0.0 – 2.6 %	Yue *et* al., 2015
Dinogamasus saengdaoae (Insecta: Hymenoptera)	COI	LCO1490, HCO2198	Range = 0.2 – 0.9 %	Attasopa *et* al., 2021
Rissoella sp. (Mollusca: Gastropod)	COI	LCO1490, HCO2198	Maximum = 2.32 %	Buršic *et* al., 2021
Cerithium traillii (Mollusca: Gastropod)	COI	LCO1490, HCO2198	Maximum = 2.6 % Average = 0.5 %	Ran *et* al., 2020
Mytilus Galloprovincialis (Mollusca: Bivalve)	COI	LCO1490, HCO2198	Maximum = 2.72 %	Buršic *et* al., 2021
Fish species in Taiwan Strait	COI	FishF1, FishF2, FishR1, FishR2	Average = 0.21 %	Bingpeng *et* al., 2018
Rattus argentiventer (Mammalia: Rodent)	Cytochrome b	R.a outer F new, R.a outer R new	Range = 0.1 – 2 %	วิชาญและคณะ, 2558

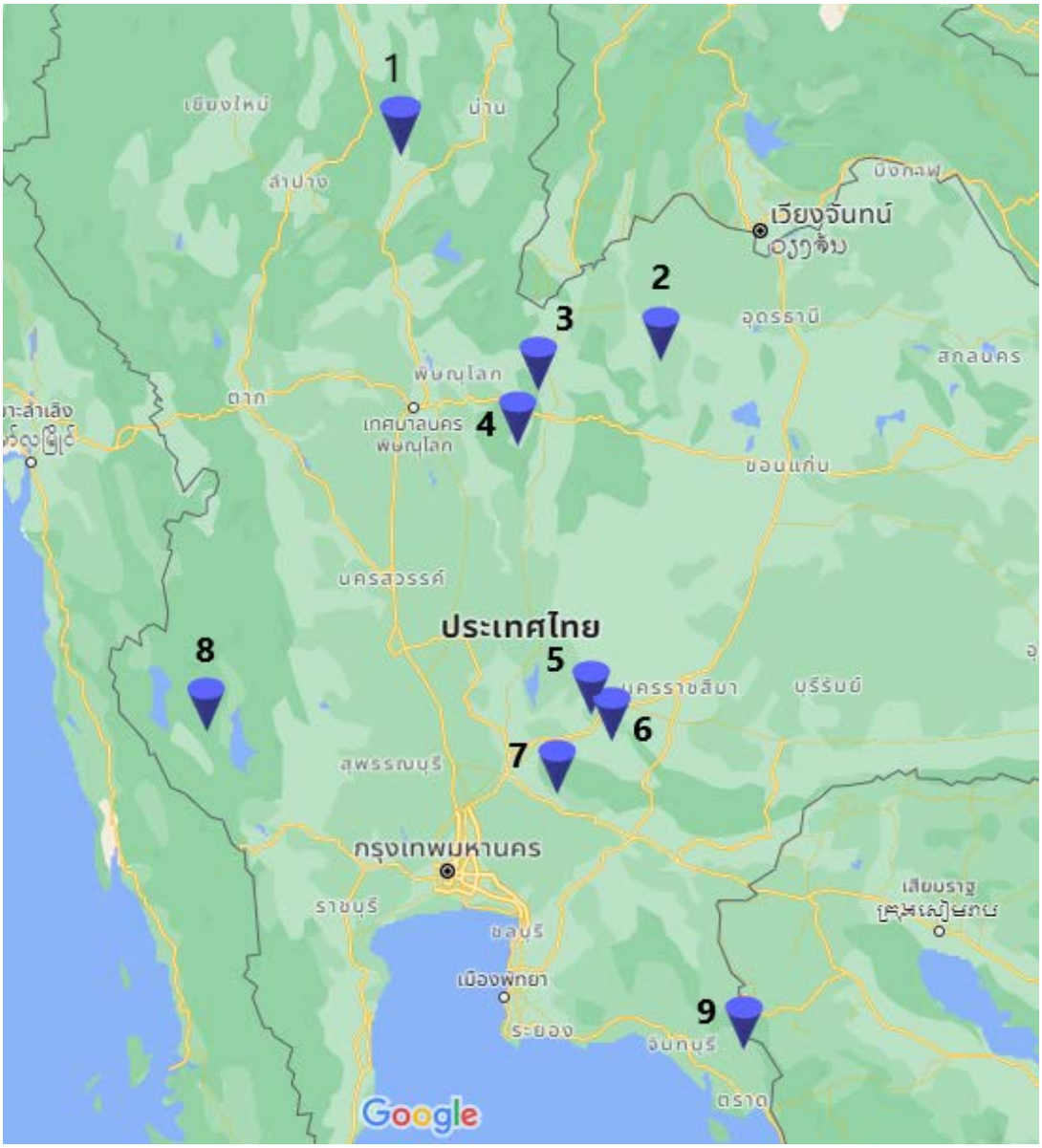


Figure 1 The figure show specimens of semi-slug in genus *Parmarion* collecting sites on nine locations

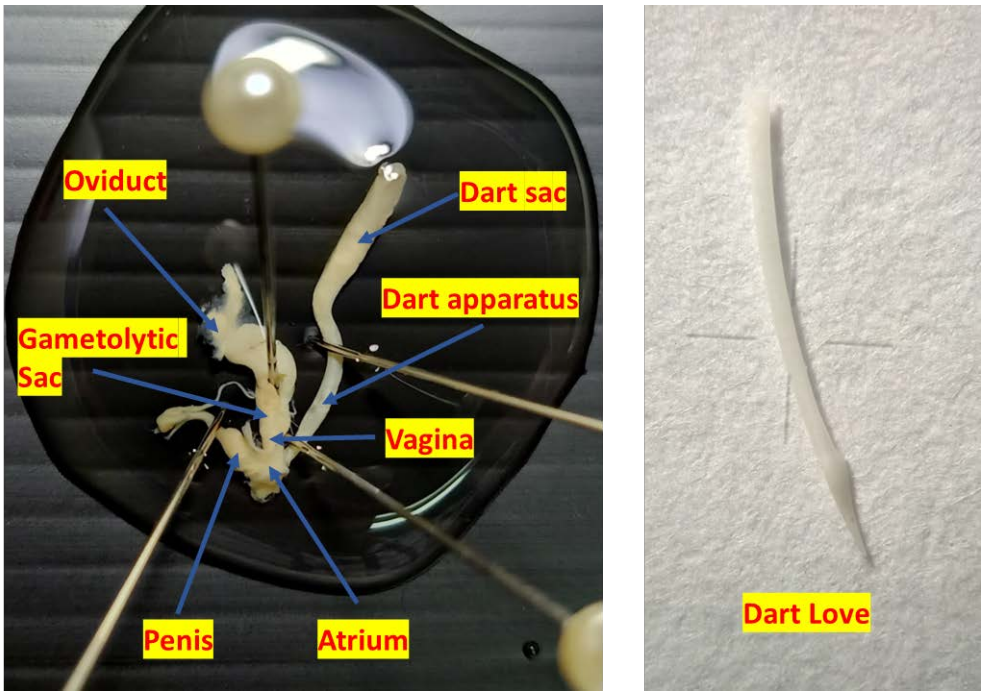


Figure 2 These pictures present semi-slug's genitalia specimen from Ban Klang Subdistrict, Song District, Phrae Province (left) and Dart love specimen (Right)

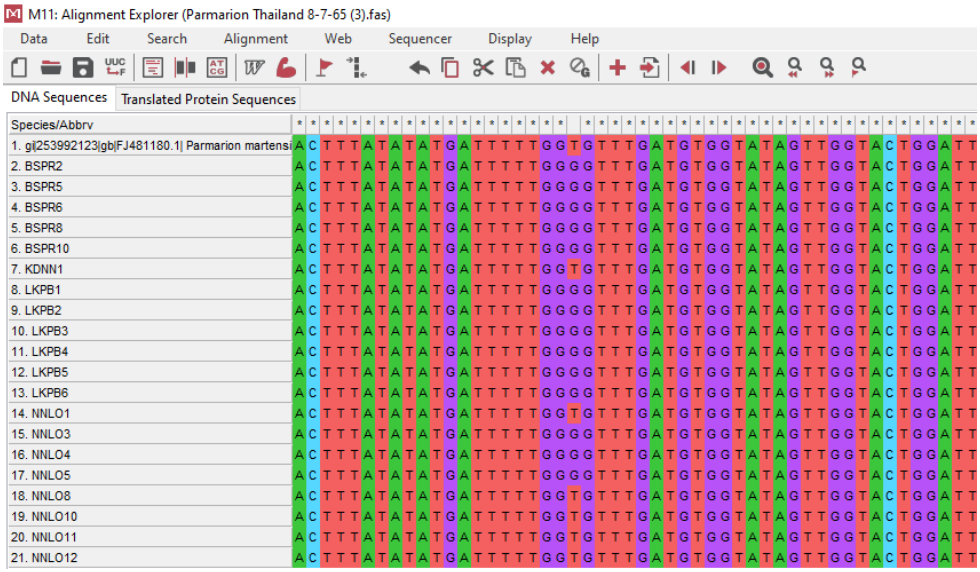


Figure 3 This figure represent 650 base-pairs of Cytochrome C oxidase subunit I or COI gene alignment (21 *Parmarion* sequences) showed on MEGA11 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11) software

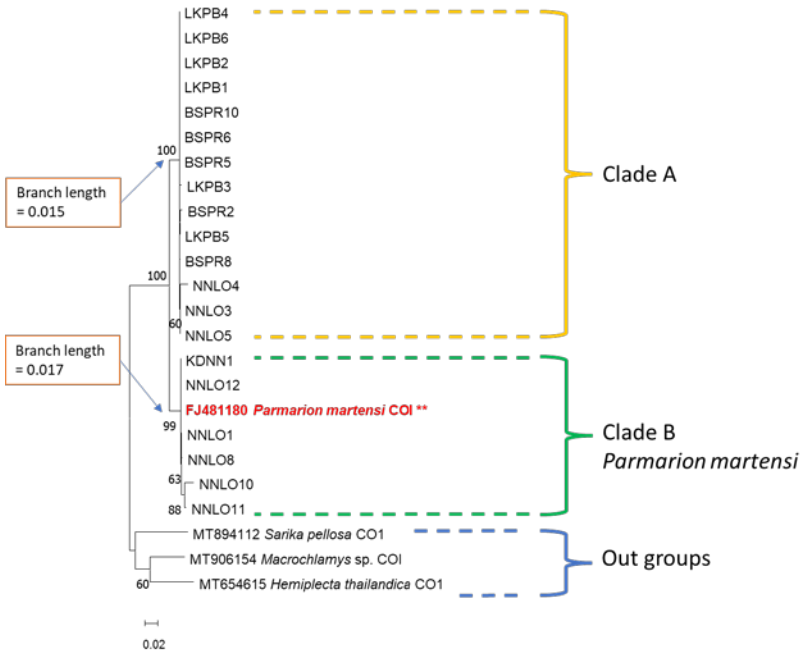


Figure 4 Maximum likelihood tree of Cytochrome C oxidase subunit I sequence alignment of 20 *Parmarion* specimens from Thailand and 1 sequence of *Parmarion martensi* from Taiwan. The numbers above branches indicated the percentage of bootstrap values (with 500 replicates)

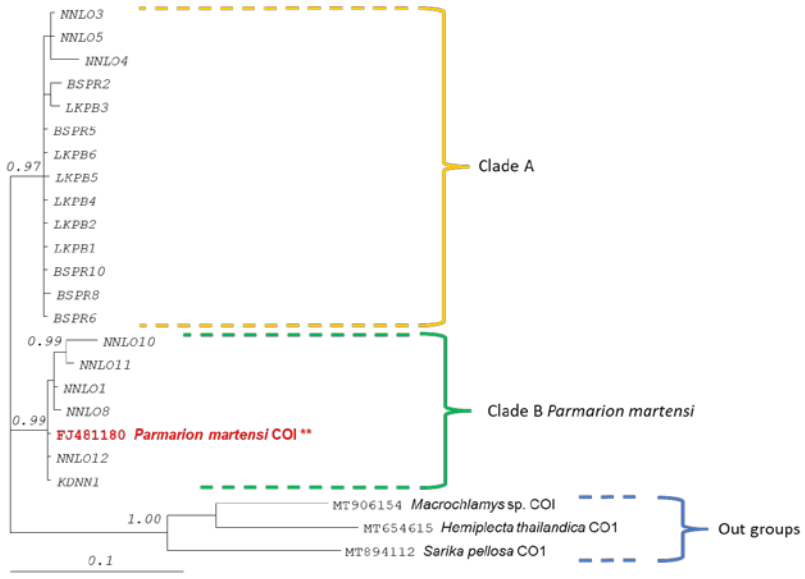


Figure 5 Bayesian tree inferred from 650 base-pairs COI data matrix of 20 *Parmarion* specimens from Thailand and 1 sequence of *Parmarion martensi* from Taiwan. The number along branches indicated the posterior probabilities of the nodes

การจำแนกชนิดและความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของเพลี้ยแป้ง cryptic species สกุล *Planococcus* Ferris 1950 ด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล

Species identification and phylogenetic relationship of mealybug cryptic species genus *Planococcus* Ferris 1950 by molecular techniques

ชมัยพร บัวมาศ ยุวรินทร์ บุญทบ จารุวัตถ์ แต้กุล สุนัดดา เชาวลิต

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การจำแนกชนิดของเพลี้ยแป้ง สกุล *Planococcus* Ferris 1950 ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2564 ถึงเดือนกันยายน 2565 เพื่อทราบชนิด พืชอาศัย เขตการแพร่กระจายในพื้นที่ภาคกลาง ภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย เก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยแป้งจากแหล่งปลูกพืชต่างๆ นำตัวอย่างที่รวบรวมได้จำแนกชนิดโดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล จากยีน *cox1* สามารถจำแนกได้จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ 1. *Planococcus lilacinus* (Cockerell, 1905) 2. *Planococcus minor* (Maskell, 1897) และ 3. *Planococcus citri* (Risso, 1813)

คำหลัก : เพลี้ยแป้ง ดีเอ็นเอ สกุล *Planococcus*

รหัสการทดลอง FF65-20-02-65-00-04-65

คำนำ

เพลี้ยแป้ง (mealybug) สกุล *Planococcus* Ferris, 1950 วงศ์ Pseudococcidae พบลงทำลายในพืชต่างๆ ได้หลากหลาย เช่น พืชผัก ไม้ดอก ไม้ผล และพืชไร่ ทั่วโลกพบรายงานแล้ว 48 ชนิด สำหรับในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้มีรายงานแล้ว 15 ชนิด (García *et al.*, 2016) สำหรับในประเทศไทย พบเพลี้ยสกุลนี้ จำนวน 2 ชนิด คือ *P. lilacinus* (Cockerell) ซึ่งพบลงทำลายใน เงาะ ทุเรียน น้อยหน่า และสละ เป็นต้น และ *P. minor* (Maskell) พบลงทำลายใน ทุเรียน กล้วยน้ำว้า น้อยหน่า เงาะ ลางสาด หงอนไก่ มันฝรั่ง และมะม่วงหิมพานต์ (บุปผาและชลิดา, 2543) นอกจากนี้ Williams (2004) ได้รายงานว่า ประเทศไทยพบเพลี้ยแป้งชนิด *P. citri* (Risso) ซึ่งเพลี้ยแป้งในสกุลนี้มีความคล้ายคลึงด้านสัณฐานวิทยาเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะชนิด *P. minor* และ *P. citri* เนื่องจากพืชอาศัยที่พบเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ความถูกต้องแม่นยำในการจำแนกชนิดจึงเป็นสิ่งที่มีความสำคัญซึ่งจะเป็นอย่างยิ่งหากเราสามารถนำเทคโนโลยีสมัยใหม่มาประยุกต์ใช้การการจัดจำแนกชนิดมีความถูกต้องแม่นยำ และยอมรับในระดับสากล และยังสามารถพัฒนาต่อยอดสู่การวิจัยเพื่อพัฒนาการตรวจสอบให้รวดเร็ว ทันต่อสถานการณ์ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการตรวจสอบศัตรูพืชในการนำเข้าสินค้าเกษตรของไทย และการวางแผนในการป้องกันกำจัดที่ถูกต้องเหมาะสมในอนาคตต่อไปได้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ ขวดดอง ปากคีบ พู่กัน กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก ซองกระดาษใส่ตัวอย่างแมลง และถังรักษาความเย็น

3. อุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการชีวโมเลกุล ได้แก่ เตาไฟฟ้า ตู้แช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath shaker) เครื่องชั่งละเอียด 2 และ 4 ตำแหน่ง เครื่อง Thermal cycler เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูงควบคุมอุณหภูมิ เครื่อง Gel electrophoresis เครื่อง Gel Documentation UV-trans illuminator

4. กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope, compound microscope กล้องถ่ายภาพ และเครื่องระบุพิกัดทางภูมิศาสตร์ (GPS)

5. สารเคมีและอุปกรณ์ในการศึกษาดีเอ็นเอเช่น ชุดสกัดสารดีเอ็นเอ 100 bp DNA Ladder Agarose gel และ TE Buffer, MyTag HS Red DNA Polymerase primer ที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ และหลอดพลาสติกขนาด 2, 1.5 และ 0.5 ไมโครลิตร

วิธีการ

1. เก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยแป้งสกุล *Planococcus*

เก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยแป้งสกุล *Planococcus* โดยสำรวจแหล่งปลูกพืชที่สำคัญในเขตพื้นที่ภาคกลาง เช่น จังหวัดสระบุรี ชัยนาท อุทัยธานีและกรุงเทพมหานคร ภาคเหนือ เช่น จังหวัดเชียงใหม่ และลำปาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น จังหวัดนครราชสีมา หนองหนองคาย

และมหาสารคาม เมื่อพบตัวอย่างเพลี้ยแป้งตัดชิ้นส่วนของพืชที่มีเพลี้ยแป้งอาศัยอยู่ ใส่ในถุงกระดาษแล้วใส่ในถุงพลาสติก บันทึกสถานที่ พิกัดทางภูมิศาสตร์ (GPS) วัน เดือน ปี ที่เก็บตัวอย่างชนิดและส่วนของพืชที่ถูกทำลาย รวมทั้งชื่อผู้เก็บ สำหรับการเก็บตัวอย่างในแต่ละจุด จะเก็บให้ได้ตัวอย่างมากที่สุด เพื่อนำมาตรวจดูลักษณะภายนอกด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope ถ่ายภาพบันทึกรายละเอียด ทำการดองตัวอย่างในแอลกอฮอล์ 95% และเก็บรักษาในตู้เก็บรักษาอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปศึกษาลักษณะทางพันธุกรรม ส่วนไคติน (chitin) ที่เหลือเก็บรักษาในแอลกอฮอล์ 70% และสามารถนำมาทำสไลด์ถาวรเพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเก็บรักษาเป็นตัวอย่างในพิพิธภัณฑ์ (Voucher specimen) ต่อไปได้

2. จำแนกชนิดเพลี้ยแป้งใน สกุล *Planococcus* ด้วยวิธีทางชีวโมเลกุล

2.1 นำตัวอย่างเพลี้ยแป้งที่เก็บรวบรวมจากพื้นที่ภาคกลาง ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่ดองในแอลกอฮอล์ 95% ที่ไว้ในตู้เก็บรักษาอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ทำการสกัดสารพันธุกรรม (DNA Extraction) ด้วยชุดสกัดสารพันธุกรรมสำเร็จรูป Isolate II Genomic DNA Kit MBL-BIO-52066 ซึ่งเป็นชุดสกัดสารพันธุกรรมที่ใช้สำหรับเนื้อเยื่อของมนุษย์และสัตว์ โดยนำตัวอย่างใส่ในหลอด microcentrifuge ขนาด 1.5 ml ซึ่งไคตินเพลี้ยแป้งที่เหลือนำไปสไลด์ถาวรเพื่อใช้ในการศึกษาสัณฐานวิทยาและเก็บไว้เป็นตัวอย่างในพิพิธภัณฑ์ (Voucher specimen) โดยนำของเหลวที่ได้มาสลายผนังเซลล์ (Lysis) ด้วยการเติม Lysis Buffer GL ปริมาณ 180 ไมโครลิตรและProtinase K Solution ปริมาณ 25 ไมโครลิตร ปิดหลอดให้สนิทพร้อมทั้งพันด้วย พาราฟีน (Paraffin) เพื่อป้องกันการปนเปื้อน จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 - 24 ชั่วโมง เขย่าอย่างรวดเร็ว และเติม ATL Buffer ปริมาณ 180 ไมโครลิตร และบ่มที่ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที และเขย่าให้สม่ำเสมอ หลังจากนั้นทำการจับสารพันธุกรรมด้วยการเขย่าอย่างรวดเร็ว และเติม แอลกอฮอล์บริสุทธิ์ (ethanol 100%) ปริมาณ 210 ไมโครลิตร และเขย่าให้สม่ำเสมอเขย่าอย่างเร็วประมาณ 15 วินาทีเติมสารละลายบัฟเฟร์ AL ปริมาณ 200 ไมโครลิตร เขย่าอย่างรวดเร็ว และเติม แอลกอฮอล์บริสุทธิ์ (ethanol 95%) ปริมาณ 200 ไมโครลิตร และเขย่าให้สม่ำเสมอ ดูดสารละลายทั้งหมดใส่ใน tube และตกตะกอน ด้วยเครื่องปั่นความเร็วสูง 11,000x g เป็นเวลา 1 นาที (ทิ้งของเหลวที่เหลือจากการตกตะกอน) หลังจากนั้นล้างตะกอน (Wash silica membrane) โดยการเติม Wash Buffer AW1 ปริมาณ 500 ไมโครลิตร และตกตะกอนด้วย เครื่องปั่นความเร็วสูง 11,000x g เป็นเวลา 1 นาที (ทิ้งของเหลวที่เหลือจากการตกตะกอน) จากนั้นเติม Wash Buffer AW2 ปริมาณ 500 ไมโครลิตร และตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นความเร็วสูง 20,000x g เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นทิ้งของเหลวที่เหลือแล้วทำการตกตะกอนสารพันธุกรรมให้แห้ง (Dry silica membrane) ด้วยเครื่องปั่นความเร็วสูง 20,000x g เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นย้ายหลอดมาใส่ในหลอดทดลองขนาดเล็ก 1.5 ไมโครลิตร ละลายสารพันธุกรรม (Elute DNA) โดยการเติม Elution Buffer AE ปริมาณ 200 ไมโครลิตร จากนั้น ทำการบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 นาที ตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นความเร็วสูง 11,000x g เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำ DNA ที่ได้เก็บในอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในขั้นตอนต่อไป

2.2 ทำการเพิ่มปริมาณยีน mtCOI ด้วยวิธีการ Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยใช้ไพรเมอร์ PcoF1- 5′CCTTCAACTAATCATAAAAATATYAG3′ และ LepR1- 5′ TAAACTTCTGGATG TCCAAAAAATCA3 ในการเพิ่มปริมาณ DNA (Park *et al*., 2010) สังเคราะห์ยีน mtCOI ของเพลี้ยแป้งจากดีเอ็นเอที่เตรียมได้ โดยใช้ส่วนผสมของ MyTaq HS Red DNA Polymerase (Bioline, Cat No. BIO-21114) ทำปฏิกิริยาในหลอดพีซีอาร์ขนาด 200 ไมโครลิตรประกอบไปด้วย Nuclease free water จำนวน 10.5 ไมโครลิตร 5x MyTaq Red Reaction Bufferจำนวน 4 ไมโครลิตร 10 µM CP-F จำนวน 1 ไมโครลิตร 10 µM CP-R จำนวน 1 ไมโครลิตร MyTaq HS DNA Polymerase จำนวน 0.5 ไมโครลิตร DNA template จำนวน 3 ไมโครลิตร รวมทั้งสิ้น 20 ไมโครลิตร ผสมส่วนผสมให้เข้ากันดี แล้วนำไปเข้าเครื่องควบคุมอุณหภูมิ (thermal cycler) ทำปฏิกิริยาในการสังเคราะห์โดย Predenaturation 94° C 5 นาที Threestep-cycling 35 cycles Denaturation 94° C 30 วินาที Annealing 50° C 30 วินาที Extension 72° C 45วินาที และ Final extension 72° C 10 นาที และนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปตรวจสอบขนาดของชิ้นส่วนของสารพันธุกรรมที่ต้องการ โดยการให้ประจุของสารที่มีประจุแยกออกจากกันด้วยวิธีการทำอิเล็กโทรโฟรีซีส (Electrophoresis) โดยหยด PCR product ลงในอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 1 % (1% agarose gel) และให้ PCR product เคลื่อนที่ผ่านสารละลาย TBE (Tris-borate, EDTA) โดยใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลล์, 400 mp (Voltage) เป็นเวลา 30 นาที

2.3 ส่ง PCR product เพื่อตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์ และนำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ มาทำการวิเคราะห์ โดยทำการเปรียบเทียบลำดับเบสเพลี้ยแป้งในสกุล *Planococcus* ที่นำมาศึกษาทั้งหมด (Sequence assembly) เพื่อให้ได้ DNA barcoding ที่มีความถูกต้อง โดยโปรแกรมที่สามารถวิเคราะห์ข้อมูลและจัดทำรหัสดีเอ็นเอ (assemble) เช่น Bioedit Sequence Alignment Editor Version 7.2.5 (Hall, 1999) และบันทึกข้อมูลในรูปแบบ FASTA ไฟล์ ในการศึกษาจะถูกเก็บบันทึกและรายงานเพื่อใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงสำหรับการจัดทำบัญชีรายชื่อแมลงศัตรูพืช และดีเอ็นเอที่สกัดได้จะจัดเก็บไว้ที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส ณ พิพิธภัณฑ์แมลง กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1) พืชอาศัย พิกัดภูมิศาสตร์ สถานที่ วัน/เดือน/ปี ที่เก็บตัวอย่าง
2) ข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ด ในรูปแบบของ FASTA ไฟล์
3) ชื่อวิทยาศาสตร์ของเพลี้ยแป้ง

เวลาสถานที่

เวลา เดือนตุลาคม 2564 ถึง เดือนกันยายน 2565

สถานที่ 1. แหล่งปลูกพืชจังหวัดต่างๆ ในพื้นที่ภาคกลาง ภาคเหนือและ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
3. ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. เก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยแป้งสกุล *Planococcus*

โดยสำรวจแหล่งปลูกพืชที่สำคัญในเขตพื้นที่ภาคกลาง เช่น จังหวัดสระบุรี และกรุงเทพมหานคร ภาคเหนือ เช่น จังหวัดพิษณุโลกและเชียงใหม่ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น จังหวัดนครราชสีมา มหาสารคาม และขอนแก่น และเก็บรวบรวมตัวอย่างได้ทั้งสิ้น 30 ตัวอย่าง

2. จำแนกชนิดเพลี้ยแป้งใน สกุล *Planococcus* ด้วยวิธีทางชีวโมเลกุล

สามารถจำแนกชนิดด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล โดยการสกัดดีเอ็นเอ และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ PcoF1/ LepR1 จากยีน *cox1* สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอและตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอได้ขนาด 650 - 700 คู่เบส เมื่อนำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ไปตรวจวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ เปรียบเทียบพบเปอร์เซ็นต์ความเหมือนที่ 99 - 100 % ในฐานข้อมูล GenBank สามารถจำแนกเพลี้ยแป้งสกุล *Planococcus* จำนวน 3 ชนิด (Table 1) ได้แก่ 1. *Planococcus lilacinus* (Cockerell, 1905), 2. *Planococcus minor* (Maskell, 1897), และ 3. *Planococcus citri* (Risso, 1813).

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการเก็บรวบรวมตัวอย่างจากแหล่งปลูกพืชที่สำคัญในเขตพื้นที่ภาคกลาง ภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 30 ตัวอย่าง นำมาจำแนกชนิดด้วยวิธีการทางชีวโมเลกุล โดยใช้ไพรเมอร์ PcoF1/ LepR1 จากยีน *cox1* สามารถจำแนกชนิดเพลี้ยแป้งสกุล *Planococcus* ได้จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ 1. *Planococcus lilacinus* 2. *Planococcus minor* และ 3. *Planococcus citri* อย่างไรก็ตามเมื่อมีข้อมูลเพิ่มเติมในส่วนของภูมิภาคอื่นๆ เพิ่มมากขึ้นจะทำให้ข้อมูลมีความสมบูรณ์และพัฒนาต่อไปได้ในอนาคต

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ผลจากการศึกษาในครั้งนี้ นำไปรวบรวมเพื่อจัดทำฐานข้อมูลแมลงศัตรูพืช ซึ่งยังมีข้อมูลอยู่น้อยและไม่เป็นปัจจุบัน ซึ่งสามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชและข้อมูลเพื่อดำเนินการด้านมาตรการสุขอนามัยในการส่งออกและนำเข้าผลผลิตทางการเกษตรยังประเทศคู่ค้าต่างๆ รวมถึงการหาแนวทางป้องกันกำจัดที่ถูกต้องเหมาะสมแก่เกษตรกรในอนาคตต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ข้าราชการ และลูกจ้างกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลงทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการเก็บและเตรียมตัวอย่างทั้งในภาคสนามและห้องปฏิบัติการ

เอกสารอ้างอิง

บุปผา เหล่าสินชัย และชลิดา อุณหวุฒิ. 2543. *เพลี้ยแป้งและเพลี้ยหอยศัตรูพืชที่สำคัญ.* โรงพิมพ์คุรุสภาลาดพร้าว, กรุงเทพฯ. 70 หน้า.

García Morales M, Denno BD, Miller DR, Miller GL, Ben-Dov Y, Hardy NB. 2016. ScaleNet: A literature-based model of scale insect biology and systematics. Database. doi: 10.1093/database/bav118. Accessed March 2020.

Hall, T.A. 1999. BioEdit: A User-Friendly Biological Sequence Alignment Editor and Analysis Program for Windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symposium Series, 41, 95-98.

Park, D.-S., Suh, S.-J., Oh, H.-W. and Hebert, P.D.N. 2010. Recovery of the mitochondrial COI barcode region in diverse Hexapoda through tRNA-based primers. BMC Genomics 11, 423

Williams, D.J. 2004. *Mealybug of Southern Asia.* The Natural History Museum, Kuala Lumpur: Southdene SDN. BHD, 896 pp.

Table 1 Nucleotide sequence analysis of the 690 bp DNA fragments from *Planoccus* samples amplified by *cox*1 gene (PcoF1/ LepR1)

No.	Scientific name	Nucleotide sequence
1.	*Planocccus minor*	atcattaaatgaatatattcaactaatcataaaaatattagattaatatacttatt atttggattttgatctggattaataggtttatcaataagatttattattcgaattgaa ctaataaatttaaataataattttaataataatataatttattatataataattact attcatgcttttattataatttttttataactatacctatcattattggaagattaa gaaattgactcttaccattaatattaatatcatcagatttaatttttcctcgattaa ataattttagattttgattattaattccatcacttattttaataataataaatataat attatctaataatattaataccggttgaacactttatccccctttaattaatcaaa attttattacattaaattttattatttttttctttacatttaaatgggatttcttctattt ttagatcaattaattttatttcatcaatttttattattaataataataactttttttta aataatattactttatatatttgatccattattattacaactattttattaattattt ctattccaattttatcaagagcaattactataattattttagataataatcttaata taaatt tttttaatccattaggaaatggtaatccaattttatatcaacatttatt
2.	*Planoccus citri*	atcattaaatgaatatattcaactaatcataaaaatattagattaatatacctttt atttggattttgatctggattaataggtttatcaataagatttattattcgaattgaa ctaataaatttaaataataattttaataacaatataatttattatataataattac tattcatgcttttattataatttttctttataactatacctatcattattggaagatta agaaattgacttttaccattaatattaatatcatcagatttaatttttccccgatta aataattttagattttgattattaattccatcacttattttaataataataaatata atattatctaataatattaatacaggttgaacactttaccctcctttaattaatca aaattttattacattaaattttattatttttttctttacatttaaatggaatttcttcta ttttttagatcaattaattttatttcatcaatttttattatcaataataataatttttttt taaataatattactttatatatttgatctattattattacaactattttattaattatt tctattccaattttatcaagagcaattactataattattttagataataatcttaat ataaatttttttaatccattaggaaatggtaatccaattttatatcaacatttatta
3.	*Planoccus lilacinus*	attattaaatgattatattcaactaatcataaaaatatcagtttaatatatttactt tttggattttgatccggtttaataggattatcaatgagatttattattcgaattgaat taataaatttaaataataactttaataataatataatttattatataataattact attcatgcttttattataatttttttataactataccaattattattggaagaataa gaaattgattattaccattaatattaatatcttcagatttaatttttcctcgattaa ataattttagattttgattattaattccttcattaattttaataatattaaatataat tttaataaataatattaatacgggttgaactttataccctccattaattaatcaaa attttattacattaaattttattatttttttcattacatttaaatggaatttcttcaatt tttagatcaatcaattttatttcatcaatttttattattaataataataatttttttttt aaataatatttctttatatatttgatcaattattattactacaattttattaattattt ctattcctattttatcaagagcaattactataatcattttagataataatttaaata taaatttttttaatcctttaggaaatggtaatcctattctctatcaacatttaaat

Figure 1 Field survey of mealybug in central, northeast and north of Thailand

A) B)

C) D)

Figure 2 Field view of A) *Planococcus lilacinus* (Cockerell) B) *Planococcus citri* (Risso) and C-D) *Planococcus minor* (Maskell)

การจำแนกไบโอไทป์ของแมลงหวี่ขาวยาสูบ *Bemisia tabaci* ในแหล่งปลูกพริกอินทรีย์และแหล่งปลูกพริกใช้สารเคมีในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยใช้เทคนิคชีวโมเลกุล

Identification of Tobacco Whitefly, *Bemisia tabaci* in chilli organic and chilli planting used chemicals in northeastern part of Thailand based on molecular traits

สุนัดดา เชาวลิต[1/] ศิลดา ประนาโส[2/] รัตติกาล ยุทธศิลป์[2/]

อิทธิพล บรรณาการ[1/] เกศสุดา สนศิริ[1/]

[1/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 3 จังหวัดขอนแก่น

Progress report

Chilli is an economic crop in Thailand. The planting areas are around the country, including northeast areas. The outbreak of whitefly, *Bemisia tabaci* is a vector for virus transmission, is one of the factor farmers use chemicals continuously, It may be related to the insecticide resistance of whitefly. This research aimed to investigate the relationship of the whiteflies in chilli organic and chilli planting used chemical. A sampling of *B. tabaci* on chilli organic and chilli planting used chemicals from October 2021 to September 2022 in Bueng Kan and Nakhon Phanom provinces. Sixty whitefly samples were collected. Biotypes of *B. tabaci* were inspected by amplification of partial mitochondrial cytochrome oxidase I (mtCOI) gene and nucleotide sequenced. The obtained DNA product was 850 base pairs. Nucleotide sequences revealed two biotypes including Asia I and Asia II_6 on chilli organic in a proportion of 93.3% and 6.67.% respectively. As, only Asia I on chilli planting used chemicals. Phylogenetic tree analysis divided the two branches of biotypes Asia I and Asia II_6. The biotype Asia I on chilli organic splitting from chilli planting used chemicals.

Keywords : Identification biotype *Bemisia tabaci* organic farming chemicals Molecular

---

รหัสการทดลอง FF65-20-02-65-00-05-65

รายงานความก้าวหน้า

พริกเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย มีการปลูกกันอย่างแพร่หลาย รวมทั้งในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ การระบาดของแมลงหวี่ขาวยาสูบซึ่งเป็นพาหะของโรคใบหงิกเหลืองเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกษตรกรต้องใช้สารเคมีอย่างต่อเนื่อง อาจส่งผลต่อความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงของแมลงหวี่ขาวยาสูบ จึงจำเป็นต้องทราบถึงความสัมพันธ์ของแมลงหวี่ขาวยาสูบในแหล่งปลูกพริกแบบอินทรีย์และแบบที่มีการใช้สารเคมี เพื่อเป็นแนวทางในการจัดการแมลงพาหะได้ดียิ่งขึ้น

เก็บตัวอย่างแมลงหวี่ขาวยาสูบบนต้นพริกที่ปลูกแบบอินทรีย์และพริกที่ปลูกโดยใช้สารเคมีในจังหวัดบึงกาฬ และนครพนม ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 - กันยายน 2565 จำนวนรวม 60 ตัวอย่าง จำแนกไบโอไทป์จากลำดับนิวคลิโอไทด์ของยีนไซโตโครมออกซิเดส (mtCOI) ขนาด 850 นิวคลิโอไทด์ สามารถจำแนกแมลงหวี่ขาวยาสูบได้ 2 ไบโอไทป์ ได้แก่ Asia I และ Asia II_6 โดยในแปลงปลูกพริกแบบอินทรีย์ พบ 2 ไบโอไทป์ ได้แก่ Asia I และ Asia II_6 ในสัดส่วน 93.33 เปอร์เซ็นต์ และ 6.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่พริกที่มีการใช้สารเคมีพบเฉพาะไบโอไทป์ Asia I ผลการวิเคราะห์ทางไฟโลจิเนติคส์พบว่าแมลงหวี่ขาวยาสูบจับกลุ่มเป็นกิ่งตามไบโอไทป์ Asia I และ Asia II_6 โดยไบโอไทป์ Asia I ในพริกที่ปลูกแบบอินทรีย์และพริกที่ปลูกแบบใช้สารเคมี มีแนวโน้มแยกกลุ่มออกจากกัน

คำหลัก : การจำแนกชนิด ไบโอไทป์ แมลงหวี่ขาวยาสูบ พริก เกษตรอินทรีย์ สารเคมี เทคนิคชีวโมเลกุล

คำนำ

พริกเป็นพืชผักสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย มีการผลิตเพื่อใช้ในประเทศและเพื่อการส่งออกในรูปของพริกสดและพริกเพื่อการแปรรูป ปัจจุบันการผลิตพริกประสบปัญหาทั้งด้านปริมาณและคุณภาพผลผลิตลดลง เนื่องจากการเข้าทำลายของโรคและแมลง โดยเฉพาะโรคในสกุล Begomovirus ทำความเสียหายให้พริกได้ตั้งแต่ในระยะต้นกล้าจนถึงเก็บเกี่ยว (Trisno *et al*., 2009) โรคใบหงิกเหลืองในพริกที่เกิดจากเชื้อ Pepper yellow leaf curl virus (PeYLCV) มีแมลงหวี่ขาวยาสูบเป็นแมลงพาหะ (Prakash and Singh, 2006) พบระบาดมากในแหล่งปลูกพริกทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือซึ่งเป็นแหล่งผลิตพริกที่สำคัญของประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา เลย ศรีสะเกษ อุบลราชธานี และชัยภูมิ (จิราภาม 2554) เนื่องจากเชื้อไวรัสสาเหตุโรคพืชไม่สามารถกำจัดได้โดยการใช้สารเคมี เกษตรกรจึงนิยมใช้การกำจัดแมลงหวี่ขาวซึ่งเป็นแมลงพาหะแทน และจากพฤติกรรมการใช้สารฆ่าแมลงของเกษตรกร เช่น การเลือกใช้สารเคมีที่ไม่ถูกต้อง การหมุนเวียนสารไม่ถูกกลุ่ม การใช้สารเคมีในปริมาณที่ไม่เหมาะสม เหล่านี้ล้วนทำให้เกิดปัญหาการดื้อยาและแมลงจะกลับมาระบาดเพิ่มมากขึ้น (Resurgence) ในที่สุด

แมลงหวี่ขาวยาสูบ *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) (Hemiptera: Aleyrodidae) เป็นแมลงชนิดที่มีความซับซ้อนทางพันธุกรรม และจัดเป็นศัตรูพืชสำคัญที่มีการระบาดรุนแรงทั่วโลก มีพืชอาหารมากกว่า 600 ชนิด ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดน้ำเลี้ยงบริเวณใบ (Polston *et al*., 2014) ทำให้พืชแคระ

แกร็น ชะงักการเจริญเติบโต จากความผันแปรทางพันธุกรรมของแมลงหวี่ขาวยาสูบส่งผลต่อการปรับตัวให้เข้ากับพืชอาหาร การถ่ายทอดเชื้อไวรัส การดึงดูดศัตรูธรรมชาติ รวมถึงประสิทธิภาพในการต้านทานสารฆ่าแมลง (Jones, 2003) Dinsdale *et al*. (2010) ได้แยก *B. tabaci* complex ออกเป็น 24 ไบโอไทป์ โดยเพิ่มชื่อไบโอไทป์ที่แตกต่างไปจากเดิม เช่น Middle East-Asia Minor 1 (MEAM1 เดิมเรียกว่า ไบโอไทป์ B) และ Mediterranean (MED เดิมเรียก ไบโอไทป์ Q) โดยอาศัยความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ของ mtCOI ที่ระดับ 3.5% ต่อมา Boykin and De Barro (2014) แบ่งกลุ่มของ *B. tabaci* complex ออกเป็น 34 ไบโอไทป์ นอกจากนี้ Monika and Stephan (2016) จำแนกไบโอไทป์ของ *B. tabaci* ที่เก็บจากพริก มะเขือเทศ และวัชพืชบางชนิดในประเทศไทยและเวียดนามโดยใช้ลำดับนิวคลิโอไทด์ของยีน mtCOI บางส่วน ผลการสำรวจในประเทศเวียดนาม พบไบโอไทป์ Asia1, AsiaII_1, AsiaII_6, MEAM1 และ MED โดยพบ MEAM1 มากที่สุด สำหรับประเทศไทยพบ Asia1, AsiaII_6 และ AsiaII_10 โดยพบ Asia1 มากที่สุด ต่อมาสุนัดดาและคณะ (2560) ได้จำแนก *B. tabaci* complex ในมันสำปะหลัง โดยใช้ลำดับนิวคลิโอไทด์ของยีน mtCOI บางส่วน พบ 2 ไบโอไทป์ ได้แก่ AsiaII_1 และ AsiaII_6

ปัจจุบันพบว่ามีการแพร่ระบาดของแมลงหวี่ขาวค่อนข้างมากเนื่องจากมีสภาพอากาศที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแมลงหวี่ขาว ซึ่งยากแก่การป้องกันกำจัด อีกทั้งเกษตรกรส่วนใหญ่ยังขาดความรู้และความเข้าใจในการจัดการที่ถูกต้อง การฉีดพ่นสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวโดยขาดองค์ความรู้จึงส่งผลให้แมลงเกิดการดื้อยา เกิดสารพิษตกค้างในพืช และส่งผลเสียต่อสภาพแวดล้อม นอกจากนี้การใช้สารเคมียังไม่สามารถควบคุมแมลงได้ 100% ดังนั้นสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ในฐานะหน่วยงานที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องกำกับดูแลงานด้านอารักขาพืช จึงจำเป็นต้องศึกษาไบโอไทป์ของแมลงหวี่ขาวยาสูบ ทั้งในแหล่งปลูกพริกแบบเกษตรอินทรีย์และแบบที่มีการใช้สารเคมี เพื่อความรู้ความเข้าใจในเรื่องของแมลงพาหะ และแนวทางในการจัดการแมลงพาหะได้ดียิ่งขึ้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1) ตัวอย่างแมลงหวี่ขาวยาสูบจากในแปลงปลูกพริกแบบอินทรีย์และแปลงปลูกพริกที่มีการใช้สารเคมี จากจังหวัดบึงกาฬ นครพนม ชัยภูมิ ขอนแก่น กาฬสินธุ์ และมุกดาหาร
2) เครื่องดูดแมลง (aspirator) หลอดใส่ตัวอย่างแมลง
3) กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และ compound microscope
4) สารเคมี ได้แก่ แอลกอฮอล์ 70-95 %, สารเคมีสำหรับสกัดและเพิ่มปริมาณ DNA ได้แก่ Chelex 5%, 2x Green PCR Master Mix, Primer Bem-Bt-forward 5' TGRTTTTTTGGTCATCCRGAAGT 3' และ Primer Bem- Bt-reverse 5' TTTACTGCACTTTCTGCC 3', Nuclease free water, 1.2% agarose gel, TBE buffer, RedSafe

5) เครื่องควบคุมอุณหภูมิ (thermal cycler)

6) เครื่อง Vortex mixer, Centrifuge, Incubator, และ Electrophoresis apparatus

7) ตู้แช่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

8) เครื่อง ChemiDoc Touch Image System (Biorad)

วิธีการ

1) เก็บตัวอย่างแมลงหวี่ขาวยาสูบ จากในแปลงปลูกพริกแบบอินทรีย์จังหวัดละ 3 แปลง และแปลงปลูกพริกที่มีการใช้สารเคมี จังหวัดละ 3 แปลง

- ปีที่ 1 (2565) จังหวัดบึงกาฬ และนครพนม
- ปีที่ 2 (2566) จังหวัดชัยภูมิ และขอนแก่น
- ปีที่ 3 (2567) จังหวัดกาฬสินธุ์ และมุกดาหาร

2) การตรวจสอบชนิดแมลงหวี่ขาวยาสูบ โดยใช้เทคนิคชีวโมเลกุล

สกัดดีเอ็นเอจากแมลงหวี่ขาวที่เก็บรักษาในแอลกอฮอล์ 95% ตามวิธีการของ Walsh *et al.* (1991) นำดีเอ็นเอที่สกัดได้มาใช้เป็นต้นแบบ (DNA template) ในการเพิ่มปริมาณยีน mtCOI ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (Polymerase Chain Reaction: PCR) ทำปฏิกิริยาในหลอดพีซีอาร์ขนาด 200 ไมโครลิตร ส่วนผสมของปฏิกิริยามีปริมาตร 22 ไมโครลิตร ประกอบด้วย nuclease free water 4.5 ไมโครลิตร master mix 12.5 ไมโครลิตร ไพรเมอร์ Bem-Bt-F (TGR TTT TTT GGT CAT CCR GAA GT) และ Bem-Bt-R (TTT ACT GCA CTT TCT GCC) (Shatters *et al.*, 2009) อย่างละ 1 ไมโครลิตร DNA template 3 ไมโครลิตร แล้วนำไปเข้าเครื่องควบคุมอุณหภูมิ (thermal cycler) โดยทำปฏิกิริยาในการสังเคราะห์ดังนี้ pre-denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที จำนวน 1 รอบ ตามด้วย denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 วินาที annealing ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที และ extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 วินาที ทำซ้ำจำนวน 35 รอบ และ final extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จำนวน 1 รอบ เมื่อปฏิกิริยาเสร็จสมบูรณ์ ตรวจสอบผลผลิตดีเอ็นเอด้วย 1% agarose gel electrophoresis จากนั้นส่งผลผลิตดีเอ็นเอไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ (บริษัท Macrogen ประเทศเกาหลีใต้) การจำแนก Biotype จากลำดับนิวคลิโอไทด์ของยีน mtCOI และวิเคราะห์ Phylogenetic tree

ตรวจสอบข้อมูลลำดับนิวคลิโอไทด์ของดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้จากแมลงหวี่ขาว ด้วยโปรแกรม DNAStar (DNAStar package, USA) และใช้โปรแกรม Blast (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast) ตรวจสอบชนิดยีนและไบโอไทป์ จากลำดับนิวคลิโอไทด์ที่ได้ นำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน mtCOI ที่ได้จัดเป็นรูปแบบ Fasta file มาเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ ของยีน mtCOI ของแมลงหวี่ขาว *B. tabaci* ที่มีรายงานในฐานข้อมูล GenBank ด้วยโปรแกรม Megalign (DNAStar package, USA) สร้าง Phylogenetic tree ตามวิธี neighbour joining ด้วยโปรแกรม MEGA 7 (Kumar *et al.*, 2016) เพื่อวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางวงวานวิวัฒนาการ

การบันทึกข้อมูล

1) พิกัดภูมิศาสตร์ สถานที่ วัน/เดือน/ปี ที่เก็บตัวอย่าง

2) การใช้ยาฆ่าแมลงหรือสารอื่นที่ใช้สำหรับควบคุมแมลงหวี่ขาวในพื้นที่ศึกษา

3) พืชอื่นๆที่เป็นพืชอาศัยของแมลงหวี่ขาวทั้งในแปลงและรอบแปลงพริกที่เก็บตัวอย่าง

4) ข้อมูลอื่นๆ ในระบบนิเวศน์ที่สามารถบันทึกได้ (อุณหภูมิ ความชื้น ปริมาณน้ำฝน)

5) biotype ของแมลงหวี่ขาวยาสูบในแต่ละพื้นที่

เวลาและสถานที่

เวลา : เดือนตุลาคม 2564 - กันยายน 2565

สถานที่ : แหล่งปลูกพริกทางภาคตะวันตกของประเทศไทย ได้แก่จังหวัดนครพนม หนองคาย และห้องปฏิบัติการสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ใช้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ขนาด 685 นิวคลีโอไทด์ของยีน mtCOI ขนาดประมาณ 850 นิวคลิโอทด์ จำแนกไบโอไทป์แมลงหวี่ขาวยาสูบจำนวน 60 ตัวอย่างที่จากแปลงปลูกพริกแบบอินทรีย์และแปลงปลูกพริกที่มีการใช้สารเคมี จากจังหวัดบึงกาฬ และจังหวัดนครพนม (Fig. 1-2) พบว่าแปลงปลูกพริกแบบอินทรีย์ พบ 2 ไบโอไทป์ ได้แก่ Asia I จำนวน 28 ตัวอย่าง Asia II_6 จำนวน 2 ตัวอย่าง ในขณะที่แปลงปลูกพริกที่มีการใช้สารเคมีพบเฉพาะ Asia I (Table 1-2)

จากนั้นสร้างแผนภูมิแบบ maximum likelihood phylogenetic tree โดยใช้ค่าความแตกต่าง (distance) ของข้อมูลยีน mtCOI ขนาด 685 นิวคลิโอไทด์ที่ได้จากการทำ multiple alignment คำนวณค่าความเชื่อมั่นจากการวิเคราะห์ bootstrap จำนวน 1000 replications ของแมลงหวี่ขาวยาสูบ 60 ตัวอย่าง เพื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างไบโอไทป์และพริกที่ปลูกแบบอินทรีย์ละพริกที่ปลูกแบบใช้สารเคมี พบว่า phylogenetic tree แยกได้ 2 กิ่ง (branch) โดยกิ่งที่ 1 เป็นไบโอไทป์ Asia I ทั้งหมด ซึ่งแยกเป็น 2 คลัสเตอร์ (cluster) คลัสเตอร์ที่ 1 พบไบโอไทป์ Asia I จำนวน 50 ตัวอย่าง แบ่งเป็น 2 เคลด ซึ่งพบว่าเคลดที่ 1 มีจำนวน 49 ตัวอย่าง แบ่งเป็นประชากรในแปลงปลูกพริกแบบอินทรีย์ 26 ตัวอย่าง พบว่าเป็นแมลงหวี่ขาวจากจังหวัดบึงกาฬ 13 ตัวอย่าง และจากจังหวัดบึงกาฬ 23 ตัวอย่าง ส่วนประชากรในแปลงปลูกพริกที่มีการใช้สารเคมีจำนวน 23 ตัวอย่าง พบว่าเป็นแมลงหวี่ขาวจากจังหวัดบึงกาฬ 11 ตัวอย่าง และจากจังหวัดบึงกาฬ 12 ตัวอย่าง คลัสเตอร์ที่ 2 พบไบโอไทป์ Asia I จำนวน 7 ตัวอย่าง แบ่งเป็น ประชากรในแปลงปลูกพริกแบบอินทรีย์จากบึงกาฬ 2 ตัวอย่าง และประชากรในแปลงปลูกพริกที่มีการใช้สารเคมีจากจังหวัดนครพนมทั้ง 5 ตัวอย่าง และกิ่งที่ 2 เป็นไบโอไทป์ Asia II_6 จาก แปลงปลูกพริกแบบอินทรีย์ จังหวัดนครพนมทั้ง 2 ตัวอย่าง (Fig. 3)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

แมลงหวี่ขาวยาสูบในพื้นที่ปลูกพริกแบบอินทรีย์และแปลงปลูกพริกที่มีการใช้สารเคมีจากจังหวัดบึงกาฬ และจังหวัดนครพนม จำแนกโดยใช้ลำดับนิวคลิโอไทด์ของยีน mtCOI ขนาด 850 นิวคลิโอไทด์ สามารถจำแนกแมลงหวี่ขาวยาสูบได้ 2 ไบโอไทป์ ได้แก่ AsiaI และ AsiaII_6 โดยในแปลงปลูกพริกแบบอินทรีย์ พบ 2 ไบโอไทป์ ได้แก่ Asia I จำนวน 28 ตัวอย่าง Asia II_6 จำนวน 2 ตัวอย่าง ในสัดส่วน 93.33 เปอร์เซ็นต์ และ 6.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่แปลงปลูกพริกที่มีการใช้สารเคมีพบเฉพาะ Asia I มีแนวโน้มว่าในพริกไบโอไทป์ที่โดดเด่นคือ Asia I สอดคล้องกับ Monika and Stephan (2016)

จากแผนภูมิแบบ maximum likelihood phylogenetic tree ข้างต้น เมื่อนำมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างไบโอไทป์กับพริกที่ปลูกแบบอินทรีย์และพริกที่ปลูกแบบใช้สารเคมี พบว่ากลุ่มประชากรไบโอไทป์ Asia I ในพริกที่ปลูกแบบอินทรีย์และพริกที่ปลูกแบบใช้สารเคมีมีแนวโน้มแยกกลุ่มออกจากกัน และรวมถึงความสัมพันธ์ระหว่างประชากรในสภาพภูมิศาสตร์ของพื้นที่ด้วย

คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณ ผอ. สอพ. ผู้เชี่ยวชาญด้านศัตรูพืช ตลอดจนคณะกรรมการฝ่ายวิชาการสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่ให้ความกรุณาชี้แนะและให้คำปรึกษาจนงานวิจัยนี้สำเร็จลงด้วยดี และขอบคุณทีมงานกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลงทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือในทุกด้านตลอดการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

กอบเกียรติ์ บันสิทธิ์, ปิยรัตน์ เขียนมีสุข, สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น, อุทัย เกตุนุติ, ลักษณา วรรณภีร์, สังคม ประสมทอง และ นิรันดร์ ทองพันธุ์. 2540. การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพริกโดยวิธีผสมผสาน. ใน: เอกสารวิชาการเรื่องการป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยวิธีผสมผสาน. กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร เขตจัตุจักร, กรุงเทพฯ.

จิราภา จอมไธสง. 2554. รายงานข้อมูลสถานการณ์การผลิต การตลาดสินค้าเกษตรชนิดสินค้าพริก. สำนักส่งเสริมและ จัดการสินค้าเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร

สุนัดดา เชาวลิต ภูวนาท มณีโชติ ปรียพรรณ พงศาพิชญ์ ภานุวัฒน์ มูลจันะ วันเพ็ญ ศรีชาติ ศิริลักษณ์ ล้านแก้ว วาสนา รุ่งสว่าง วิจิตรา โชคบุญ. 2560. การจำแนกชนิดแมลงหวี่ขาวยาสูบ, *Bemisia tabaci* บนมันสำปะหลังในประเทศไทย โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวโมเลกุล. การประชุมวิชาการ อารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 13 ณ โรงแรมเรือรัษฎา อำเภอเมือง จังหวัดตรัง. หน้า 183

สุเทพ สหายา และพวงผกา อ่างมณี. 2553. ทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวและหนอนชอนใบในผักสวนครัว (กะเพรา โหระพา และแมงลัก). กลุ่มกีฏและสตววิทยาและกลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. หน้า 1519 – 1531

Bedford, I.D., R.W. Briddon, J.K. Brown, R.C. Rosell & P.G. Markham.1994. Geminivirus transmission and biological characterisation of *Bemisia tabaci* (Gennadius) biotypes from different geographic regions. Ann Appl Biol. 125:311–325

Boykin, l.M. and P.J. De Barro. 2014. A practical guide to identifying members of the *Bemisia tabaci* species complex: and othermorphologically identical species. Front. Ecol. Evol. 2:1–5.

Casida, J. E. & G. B. Quistad. 1998. Golden age of insecticide research: past, present, or future Annu. Rev. Entomol. 43:1–16.

De Barro, P. J., S. S. Liu, L. M. Boykin, and A. B. Dinsdale. 2011. *Bemisia tabaci*: a statement of species status. Annu. Rev. Entomol. 56:1–19.

Fernández, E., Grávalos, C., Haro, P. J., Cifuentes, D. and P. Bielza. 2009. Insecticide resistance status of *Bemisia tabaci* Q-biotype in southeastern Spain. Pest Manag. Sci. 65:885–891.

Gorman, K. 2010. Cross-resistance relationships between neonicotinoids and pymetrozine in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). Pest Manag. Sci. 66:1186–1190.

Gutierrez, A. P., Ponti, L., Herren, H. R., Baumgärtner, J. and P. E, Kenmore. 2015. Deconstructing Indian cotton: weather, yields, and suicides. Environ. Sci. Eur. 27:1–17.

Horowitz, A. R., Kontsedalov, S., Khasdan, V. and I. Ishaaya, 2005. Biotypes B and Q of *Bemisia tabaci* and their relevance to neonicotinoid and pyriproxyfen resistance. Arch. Insect Biochem. Physiol. 58:216–225.

Horowitz, R., Kontsedalov, S., Khasdan, V., Breslauer, H. and I. Ishaaya. 2008. The biotypes B and Q of *Bemisia tabaci* in Israel-Distribution, resistance to insecticides and implications for pest management. J. Insect Sci. 8:23–24.

Jeschke, P., Nauen, R., Schindler, M. and A. Elbert. 2010. Overview of the status and global strategy for neonicotinoids. J. Agric. Food Chem. 59:2897–2908.

Kranthi, K. R. 2002. Insecticide resistance in five major insect pests of cotton in India. Crop Prot. 21:449–460.

Krishna, V. V. and M. Qaim. 2012. Bt cotton and sustainability of pesticide reductions in India. Agric. Syst. 107:47–55.

Monika, G. and W. Stephan. 2016. Diversity of *Bemisia tabaci* in Thailand and Vietnam and indications of species replacement. J. Asia Pacific Entomol. 19:537–543

Naranjo, S. E., Castle, S. J., De Barro, P. J. and S.-S. Liu. 2010. Population Dynamics, Demography, Dispersal and Spread of *Bemisia tabaci* in *Bemisia*: Bionomics and Management of a Global Pest. 185–226.

Naveen, N. C., Rahul Chaubey, Dinesh Kumar, Rebijith, K. B., Raman Rajagopal, Subrahmanyam, B. and S. Subramanian. 2017. Insecticide resistance status in the whitefly, *Bemisia tabaci* genetic groups Asia-I, Asia-II-1 and Asia-II-7 on the Indian subcontinent. https://www.nature.com/articles/srep40634

Prakash, S. and S. J. Singh. 2006. Insect transmitted virus of pepper: Vegetation Science. 33: 109-116

Quinlan, R.J. 1988. Use of fungi to control insects in glasshouses. In M.N. Burge, (ed). Fungi in Biocontrol Systems. Manchester University Press, Manchester, UK. pp 19 – 36.

Whalon, M. E., Mota-Sanchez, D., Hollingworth, R. M. and Gutierrez, R. Michigan. 2013. State University, Arthropod Pesticide Resistance Database (2 0 1 3) . http://www.pesticideresistance.com/Accessed January 5, 2016.

Table 1 Whitefly samples were collected on chilli organic plantations in Nakhon Phanom and Bueng Kan province (Sample name as follows: Biotype_Country (Th= Thailand)_Year of sampling_Location (NP= Nakhon Phanom, BK=Bueng Kan) _Host (ChO= chilli organic plantations))

Sample name	Biotype	Host	Province	Coordinates	Date
AsiaI_Th_22_NP_ ChO1	Asia I	*Capsicum* sp.	Mueang, Nakhon Phanom	N 17.143860, E 104.775181	28 Feb. 2022
AsiaI_Th_22_NP_ChO2	Asia I	*Capsicum* sp.	Mueang, Nakhon Phanom	N 17.143860, E 104.775181	28 Feb. 2022
AsiaII_6_Th_22_NP_ChO3	Asia II_6	*Capsicum* sp.	Mueang, Nakhon Phanom	N 17.143860, E 104.775181	28 Feb. 2022
AsiaI_Th_22_NP_ChO4	Asia I	*Capsicum* sp.	Mueang, Nakhon Phanom	N 17.143860, E 104.775181	28 Feb. 2022
AsiaI_Th_22_NP_ChO5	Asia I	*Capsicum* sp.	Mueang, Nakhon Phanom	N 17.143860, E 104.775181	28 Feb. 2022
AsiaI_Th_22_NP_ChO6	Asia I	*Capsicum* sp.	Pla Pak, Nakhon Phanom	N 17.205484, E 104.509585	1 Mar. 2022
AsiaI_Th_22_NP_ChO7	Asia I	*Capsicum* sp.	Pla Pak, Nakhon Phanom	N 17.205484, E 104.509585	1 Mar. 2022
AsiaI_Th_22_NP_ChO8	Asia I	*Capsicum* sp.	Pla Pak, Nakhon Phanom	N 17.205484, E 104.509585	1 Mar. 2022
AsiaI_Th_22_NP_ChO9	Asia I	*Capsicum* sp.	Pla Pak, Nakhon Phanom	N 17.205484, E 104.509585	1 Mar. 2022
AsiaI_Th_22_NP_ChO10	Asia I	*Capsicum* sp.	Pla Pak, Nakhon Phanom	N 17.205484, E 104.509585	1 Mar. 2022
AsiaI_Th_22_NP_ChO11	Asia I	*Capsicum* sp.	Na Kae, Nakhon Phanom	N 17.014932, E 104.564813	1 Mar. 2022
AsiaI_Th_22_NP_ChO12	Asia I	*Capsicum* sp.	Na Kae, Nakhon Phanom	N 17.014932, E 104.564813	1 Mar. 2022
AsiaI_Th_22_NP_ChO13	Asia I	*Capsicum* sp.	Na Kae, Nakhon Phanom	N 17.014932, E 104.564813	1 Mar. 2022
AsiaII_6_Th_22_NP_ChO14	Asia II_6	*Capsicum* sp.	Na Kae, Nakhon Phanom	N 17.014932, E 104.564813	1 Mar. 2022
AsiaI_Th_22_NP_ChO15	Asia I	*Capsicum* sp.	Na Kae, Nakhon Phanom	N 17.014932, E 104.564813	1 Mar. 2022
AsiaI_Th_22_BK_ChO16	Asia I	*Capsicum* sp.	Mueang, Bueng Kan	N 18.290918, E 103.844531	4 Mar. 2022
AsiaI_Th_22_BK_ChO17	Asia I	*Capsicum* sp.	Mueang, Bueng Kan	N 18.290918, E 103.844531	4 Mar. 2022
AsiaI_Th_22_BK_ChO18	Asia I	*Capsicum* sp.	Mueang, Bueng Kan	N 18.290918, E 103.844531	4 Mar. 2022

Table 1 Whitefly samples were collected on chilli organic plantations in Nakhon Phanom and Bueng Kan province (Sample name as follows: Biotype_Country (Th= Thailand)_Year of sampling_Location (NP= Nakhon Phanom, BK=Bueng Kan) _Host (ChO= chilli organic plantations)) (continue)

Sample name	Biotype	Host	Province	Coordinates	Date
Asial_Th_22_BK_ChO19	Asia I	*Capsicum* sp.	Mueang, Bueng Kan	N 18.290918, E 103.844531	4 Mar. 2022
Asial_Th_22_BK_ChO20	Asia I	*Capsicum* sp.	Mueang, Bueng Kan	N 18.290918, E 103.844531	4 Mar. 2022
Asial_Th_22_BK_ChO21	Asia I	*Capsicum* sp.	Mueang, Bueng Kan	N 18.340465, E 103.690213	3 Mar. 2022
Asial_Th_22_BK_ChO22	Asia I	*Capsicum* sp.	Mueang, Bueng Kan	N 18.340465, E 103.690213	3 Mar. 2022
Asial_Th_22_BK_ChO23	Asia I	*Capsicum* sp.	Mueang, Bueng Kan	N 18.340465, E 103.690213	3 Mar. 2022
Asial_Th_22_BK_ChO24	Asia I	*Capsicum* sp.	Mueang, Bueng Kan	N 18.340465, E 103.690213	3 Mar. 2022
Asial_Th_22_BK_ChO25	Asia I	*Capsicum* sp.	Mueang, Bueng Kan	N 18.340465, E 103.690213	3 Mar. 2022
Asial_Th_22_BK_ChO26	Asia I	*Capsicum* sp.	Si Wilai, Bueng Kan	N 18.118106, E 103.790924	4 Mar. 2022
Asial_Th_22_BK_ChO27	Asia I	*Capsicum* sp.	Si Wilai, Bueng Kan	N 18.118106, E 103.790924	4 Mar. 2022
Asial_Th_22_BK_ChO28	Asia I	*Capsicum* sp.	Si Wilai, Bueng Kan	N 18.118106, E 103.790924	4 Mar. 2022
Asial_Th_22_BK_ChO29	Asia I	*Capsicum* sp.	Si Wilai, Bueng Kan	N 18.118106, E 103.790924	4 Mar. 2022
Asial_Th_22_BK_ChO30	Asia I	*Capsicum* sp.	Si Wilai, Bueng Kan	N 18.118106, E 103.790924	4 Mar. 2022

Table 2 Whitefly samples were collected on chilli planting used chemicals in Nakhon Phanom and Bueng Kan province (Sample name as follows: Biotype_Country (Th= Thailand)_Year of sampling_Location (NP= Nakhon Phanom, BK=Bueng Kan) _Host (ChC= chilli planting used chemicals))

Sample name	Biotype	Host	Province	Coordinates	Date
Asial_Th_22_NP_ChC1	Asia I	*Capsicum* sp.	Mueang, Nakhon Phanom	N 17.176283, E 104.767168	28 Feb. 2022
Asial_Th_22_NP_ChC2	Asia I	*Capsicum* sp.	Mueang, Nakhon Phanom	N 17.176283, E 104.767168	28 Feb. 2022
Asial_Th_22_NP_ChC3	Asia I	*Capsicum* sp.	Mueang, Nakhon Phanom	N 17.176283, E 104.767168	28 Feb. 2022
Asial_Th_22_NP_ChC4	Asia I	*Capsicum* sp.	Mueang, Nakhon Phanom	N 17.176283, E 104.767168	28 Feb. 2022
Asial_Th_22_NP_ChC5	Asia I	*Capsicum* sp.	Mueang, Nakhon Phanom	N 17.176283, E 104.767168	28 Feb. 2022
Asial_Th_22_NP_ChC6	Asia I	*Capsicum* sp.	Renu Nakhon, Nakhon Phanom	N 17.107557, E 104.682719	2 Mar. 2022
Asial_Th_22_NP_ChC7	Asia I	*Capsicum* sp.	Renu Nakhon, Nakhon Phanom	N 17.107557, E 104.682719	2 Mar. 2022
Asial_Th_22_NP_ChC8	Asia I	*Capsicum* sp.	Renu Nakhon, Nakhon Phanom	N 17.107557, E 104.682719	2 Mar. 2022
Asial_Th_22_NP_ChC9	Asia I	*Capsicum* sp.	Renu Nakhon, Nakhon Phanom	N 17.107557, E 104.682719	2 Mar. 2022
Asial_Th_22_NP_ChC10	Asia I	*Capsicum* sp.	Renu Nakhon, Nakhon Phanom	N 17.107557, E 104.682719	2 Mar. 2022
Asial_Th_22_NP_ChC11	Asia I	*Capsicum* sp.	Phon Sawan, Nakhon Phanom	N 17.460189, E 104.401678	2 Mar. 2022
Asial_Th_22_NP_ChC12	Asia I	*Capsicum* sp.	Phon Sawan, Nakhon Phanom	N 17.460189, E 104.401678	2 Mar. 2022
Asial_Th_22_NP_ChC13	Asia I	*Capsicum* sp.	Phon Sawan, Nakhon Phanom	N 17.460189, E 104.401678	2 Mar. 2022
Asial_Th_22_NP_ChC14	Asia I	*Capsicum* sp.	Phon Sawan, Nakhon Phanom	N 17.460189, E 104.401678	2 Mar. 2022
Asial_Th_22_NP_ChC15	Asia I	*Capsicum* sp.	Phon Sawan, Nakhon Phanom	N 17.460189, E 104.401678	2 Mar. 2022
Asial_Th_22_BK_ChC16	Asia I	*Capsicum* sp.	Mueang, Bueng Kan	N 18.406955, E 103.523719	4 Mar. 2022
Asial_Th_22_BK_ChC17	Asia I	*Capsicum* sp.	Mueang, Bueng Kan	N 18.406955, E 103.523719	4 Mar. 2022
Asial_Th_22_BK_ChC18	Asia I	*Capsicum* sp.	Mueang, Bueng Kan	N 18.406955, E 103.523719	4 Mar. 2022

Table 2 Whitefly samples were collected on chilli planting used chemicals in Nakhon Phanom and Bueng Kan province (Sample name as follows: Biotype_Country (Th= Thailand)_Year of sampling_Location (NP= Nakhon Phanom, BK=Bueng Kan) _Host (ChC= chilli planting used chemicals))(continue)

Sample name	Biotype	Host	Province	Coordinates	Date
Asial_Th_22_BK_ChC19	Asia I	*Capsicum* sp.	Mueang, Bueng Kan	N 18.406955, E 103.523719	4 Mar. 2022
Asial_Th_22_BK_ChC20	Asia I	*Capsicum* sp.	Mueang, Bueng Kan	N 18.406955, E 103.523719	4 Mar. 2022
Asial_Th_22_BK_ChC21	Asia I	*Capsicum* sp.	Bueng Khong Long, Bueng Kan	N 18.051586, E 104.157231	5 Mar. 2022
Asial_Th_22_BK_ChC22	Asia I	*Capsicum* sp.	Bueng Khong Long, Bueng Kan	N 18.051586, E 104.157231	5 Mar. 2022
Asial_Th_22_BK_ chilli 23	Asia I	*Capsicum* sp.	Bueng Khong Long, Bueng Kan	N 18.051586, E 104.157231	5 Mar. 2022
Asial_Th_22_BK_ChC24	Asia I	*Capsicum* sp.	Bueng Khong Long, Bueng Kan	N 18.051586, E 104.157231	5 Mar. 2022
Asial_Th_22_BK_ChC25	Asia I	*Capsicum* sp.	Bueng Khong Long, Bueng Kan	N 18.051586, E 104.157231	5 Mar. 2022
Asial_Th_22_BK_ChC26	Asia I	*Capsicum* sp.	Bung Khla, Bueng Kan	N 18.299072, E 103.995154	5 Mar. 2022
Asial_Th_22_BK_ChC27	Asia I	*Capsicum* sp.	Bung Khla, Bueng Kan	N 18.299072, E 103.995154	5 Mar. 2022
Asial_Th_22_BK_ChC28	Asia I	*Capsicum* sp.	Bung Khla, Bueng Kan	N 18.299072, E 103.995154	5 Mar. 2022
Asial_Th_22_BK_ChC29	Asia I	*Capsicum* sp.	Bung Khla, Bueng Kan	N 18.299072, E 103.995154	5 Mar. 2022
Asial_Th_22_BK_ChC30	Asia I	*Capsicum* sp.	Bung Khla, Bueng Kan	N 18.299072, E 103.995154	5 Mar. 2022

Figure 1 Whitefly samples were collected on chilli organic plantations in Nakhon Phanom and Bueng Kan province

Figure 2 Whitefly samples were collected on chilli planting used chemicals in Nakhon Phanom and Bueng Kan province

Figure 3 Phylogenetic tree based on the maximum likelihood of mtCOI sequences of *B.tabaci* on chilli organic and chilli used chemicals plot in Nakhon Phanom and Bueng Kan province (Sample name as follows: Biotype_Country (Th= Thailand)_Year of sampling_Location (NP= Nakhon Phanom, BK=Bueng Kan) _Host (CHO = chilli organic, ChC= chilli planting used chemicals))

การศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ด ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ และมอร์โฟเมตริกส์ของแมลงวันหนอนชอนใบในพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย

DNA barcoding, phylogenetics and morphometric of the leafminer (Diptera: Agromyzidae) for economic plants in Thailand

ยุวรินทร์ บุญทบ สุนัดดา เชาวลิต ชมัยพร บัวมาศ
อาทิตย์ รักกสิกร สิริชัย สาธุวิจารณ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

Agromyzid leafminers comprise a pest group that causes both considerable economic losses and serious quarantine problems. In this study, molecular approaches, such as DNA "barcoding" of the *cytochrome* c *oxidase* (*cox*1) gene, was performed to assist in the species identification of pest species of Agromyzidae leafminers in economic vegetable crops in Thailand. Fresh materials for leafminers were collected from all regions of Thailand.Sequences were analyzed using a "barcode" approach. Species were identified using standard nucleotide BLAST from GENBANK. Five species of *Liriomyza* spp. were confirmed and their sequences deposited in Genbank: *Liriomyza brassicae* Riley, 1884; *L. chinensis* Kato, 1949; *L. huidobrensis* Blanchard, 1926; *L. sativae* Blanchard, 1938; and *L. trifolii* Burgess, 1880. Further phylogenetic analysis is needed to clarify the distinction among other species of Agromyzidae present in Thailand and nearby countries.

Keywords : DNA barcoding Agromyzidae and Leaf miner flies

รหัสการทดลอง FF65-20-02-65-00-06-65

บทคัดย่อ

แมลงวันหนอนชอนใบวงศ์ Agromyzidae เป็นศัตรูพืชที่ทำให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจและปัญหาด้านการกักกันพืชเป็นอย่างยิ่ง การศึกษาครั้งนี้ได้ใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล ได้แก่ การศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดจากยีน *cytochrome c oxidase* (*cox*1) gene มาช่วยในการจำแนกชนิดแมลงวันหนอนชอนใบ วงศ์ Agromyzidae ที่เป็นศัตรูพืชผักที่สำคัญในประเทศไทย โดยสำรวจและเก็บตัวอย่างแมลงวันหนอนชอนใบจากภูมิภาคต่าง ๆ ในประเทศไทย พบแมลงวันหนอนชอนใบ *Liriomyza* spp. และได้บันทึกข้อมูล ดีเอ็นเอบาร์โค้ดในฐานข้อมูล Genbank จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ *Liriomyza brassicae* (Riley, 1884), *L. chinensis* (Kato, 1949), *L. huidobrensis* (Blanchard, 1926), *L. sativae* Blanchard, 1938 และ *L. trifolii* (Burgess 1880) ในอนาคตมีความจำเป็นต้องทำการศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเพื่อยืนยันชี้แจงความแตกต่างระหว่างชนิดของแมลงวันหนอนชอนใบวงศ์ Agromyzidae ในประเทศไทยและประเทศใกล้เคียง

คำนำ

แมลงวันหนอนชอนใบเป็นศัตรูพืชที่มีความสำคัญต่อพืชผักที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจโดยเฉพาะอย่างยิ่งต่อพืชผักที่ส่งออกไปขายยังต่างประเทศ โดยมักพบหนอนแมลงวันชอนใบติดไปกับพืชผักที่ต้องการส่งออก ส่งผลต่อการกีดกันทางการค้าตามมาภายหลัง และในปัจจุบันพบว่าแมลงวันหนอนชอนใบเพิ่มจำนวนประชากรและแพร่กระจายได้อย่างรวดเร็ว เนื่องจากสามารถเข้าทำลายและก่อให้เกิดความเสียหายให้กับพืชหลากหลายชนิด ทำโดยมักพบเข้าทำลายพืชวงศ์แตง (Family) Cucurbitaceae ซึ่งได้แก่ แตงชนิดต่างๆ พืชวงศ์ถั่ว (Family) Leguminosae ได้แก่ ถั่วชนิดต่างๆ และพืชในวงศ์มะเขือ (Family) Solanaceae ได้แก่ มะเขือเทศ มะเขือเปราะ เป็นต้น และจากการแพร่กระจายตัวอย่างรวดเร็วของแมลงวันหนอนชอนใบรวมทั้งความหลากหลายของพืชอาหารนั้น ทำให้แมลงหนอนชอนใบเกิดความต้านทานยาฆ่าแมลงในการเพาะปลูกพืชผัก และไม้ดอกไม้ประดับหลายชนิด นอกจากนี้แมลงวันหนอนชอนใบหลายชนิดเกิดเป็นชนิดซับซ้อน (cryptic species) ยากต่อการจำแนกชนิดและควบคุม ก่อให้เกิดปัญหาต่อพืชผัก และพืชเศรษฐกิจหลายชนิดทั่วโลก

ด้วยเหตุนี้จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีที่น่าเชื่อถือและมีการยอมรับในระดับสากลมาร่วมใช้ในการจัดจำแนกชนิดแมลงวันหนอนชอนใบ ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงเป็นการใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลมาศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ด เพื่อใช้ในจำแนกชนิดของแมลงวันหนอนชอนใบ นอกจากนี้ยังสามารถนำข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ด ไปพัฒนาต่อยอดงานวิจัยเชิงลึกได้ รวมทั้งเป็นฐานข้อมูลในการศึกษาชนิดของแมลงวันหนอนชอนใบที่มีในประเทศไทยให้มีมาตรฐานทัดเทียมสากล และใช้ข้อมูลเหล่านี้เพื่อเป็นประโยชน์ต่อการนำเข้าส่งออกพืช ผักของไทยอีกด้วย และจะเป็นฐานข้อมูลในการวางยุทธศาสตร์ในการบริหารจัดการแมลงวันหนอนชอนใบอย่างยั่งยืนต่อไปในอนาคต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ (stereo microscope) Leica รุ่น M 165C (Leica Microsystems Ltd, Switzerland) พร้อมกล้องถ่ายรูปจากกล้องจุลทรรศน์

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

- อุปกรณ์และสารเคมีในการเก็บตัวอย่างแมลงวันหนอนชอนใบ (ขวดดอง กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก)

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

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

วิธีการ

1. การศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดของแมลงวันหนอนชอนใบ

1.1 นำตัวอย่างแมลงวันหนอนชอนใบที่ทำการจำแนกด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา มาทำการสกัดดีเอ็นเอ (DNA Extraction) โดยใช้วิธีการตาม Boontop *et al*., 2017 ร่วมกับคำแนะนำของชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป (ISOLATE II Genomic DNA kit; Bioline, Australia) ที่แนบมากับผลิตภัณฑ์บริษัท โดยนำขาด้านขวาจำนวนสามข้างของแมลงวันหนอนชอนใบ (25 mg) มาใส่ในหลอด microcentrifuge ขนาด 1.5 ml (ตัวอย่างแมลงที่เหลือเก็บไว้เพื่อเป็นตัวอย่างในพิพิธภัณฑ์ (Voucher specimen)) จากนั้นเติม Lysis BufferGL ปริมาณ 180 ไมโครลิตร และ Proteinase K Solution ปริมาณ 25 ไมโครลิตรปิดหลอดให้สนิท พร้อมทั้งพันด้วยพาราฟีน (Paraffin) เพื่อป้องกันการปนเปื้อน จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 16 - 20 ชั่วโมง แล้วเติม Lysis BufferG3 ปริมาณ 200 ไมโครลิตรและบ่มที่ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที และเขย่าให้สม่ำเสมอ เติมแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ (absolute alcohol) ปริมาณ 210 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นดูดสารละลายทั้งหมดใส่ใน ISOLATE II Genomic DNA tube ที่สวมอยู่บน collection tube นำไปปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง 11,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที (ทิ้งของเหลวที่เหลือจากการปั่นเหวี่ยง) เติม Wash Buffer GW1 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นความเร็วสูง 11,000x g เป็นเวลา 1 นาที (ทิ้งของเหลวที่เหลือจากการตกตะกอน) จากนั้นเติม Wash Buffer GW2 ปริมาณ 500 ไมโครลิตร และปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง 11,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที จากนั้น ทิ้งของเหลวที่เหลือจากการตกตะกอน และปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง 11,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาทีอีกครั้ง ย้ายหลอด ISOLATE II Genomic DNA tube มาใส่ในหลอด

ทดลองขนาดเล็ก (microcentrifuge) 1.5 ไมโครลิตร และเติม Elution Buffer G ปริมาณ 50 ไมโครลิตร ทำการบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง 11,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาทีจากนั้นนำ DNA ที่ได้เก็บในอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

1.2 เพิ่มปริมาตรดีเอ็นเอเป้าหมายด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยใช้คู่ไพรเมอร์universal primer จากยีน *cox1*:LCO1490 (GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG) และ HCO2198 (TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA) (Folmer *et al*., 1994) ส่วนผสมของปฏิกิริยา PCR ประกอบด้วยดีเอ็นเอต้นแบบ 1 ไมโครลิตร 10 µM ไพรเมอร์LCO1490 1 ไมโครลิตร 10 µM ไพรเมอร์ HCO2198 1 ไมโครลิตร สารละลาย GoTaq® 10 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อให้ปริมาตรรวม 20 ไมโครลิตรโดยนำปฏิกิริยา PCR ใส่เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ โดยกำหนดขั้นตอนและเวลาในปฏิกิริยา PCR cycle ดังนี้ 1) initial-denaturing 94 องศาเซลเซียส นาน 4 นาที 2) denaturing ที่ 94 องศาเซลเซียส 30 วินาที 3) annealing ที่ 50 องศาเซลเซียส 30 วินาที 4) extension ที่ 72 องศาเซลเซียส 30 วินาที (จำนวน 35 รอบ) (โดยในขั้นตอน 2-4 ทำซ้ำจำนวน 35 รอบ) และ 5) final extension ที่ 72 องศาเซลเซียส 5 นาที จำนวน 1 รอบ

1.3 ตรวจสอบผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ (PCR product) ด้วยวิธีเจลอิเล็คโตรโฟรีซีส (gel electrophoresis) ที่อะกาโรสเจลความความเข้มข้น 2% ผสม RedSafe dye ในสารละลาย 1X TBE buffer แล้วนำมาผ่านสนามไฟฟ้าความต่างศักย์ 100 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที และตรวจสอบแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต (UV) บันทึกผลด้วยเครื่องถ่ายภาพเจลพร้อมโปรแกรมวิเคราะห์ภาพ

1.4 ตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์ โดยส่งตัวอย่างผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่ได้ไปทำให้บริสุทธิ์ และหาลำดับ นิวคลีโอไทด์ด้วยเครื่อง ABI 3730 x 1 automated sequencer (Applied Biosystems, Forster City, CA, USA) ABI BigDye terminator chemistry ตามกรรมวิธีของบริษัท Macrogen ประเทศเกาหลีใต้

1.5 นำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์จากยีน *cox1* ของแมลงวันหนอนชอนใบที่นำมาศึกษาทั้งหมด ทำการวิเคราะห์ โดยเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ (sequence assembly) ด้วยโปรแกรม Bioedit Sequence Alignment Editor Version 7.2.5 (Hall, 1999) และบันทึกข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ในรูปแบบไฟล์ FASTA

1.6 เปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของแมลงวันหนอนชอนใบที่มีการรายงานในฐานข้อมูล GenBank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/) ด้วยการ Blast (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE_TYPE=BlastSearch) เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ความเหมือน (% identity) เพื่อยืนยันความถูกต้องลำดับนิวคลีโอไทด์ของแมลงวันหนอนชอนใบเก็บบันทึกลำดับ นิวคลีโอไทด์ของแมลงวันหนอนชอนใบไว้ในระบบฐานข้อมูลของ GenBank ในรูปแบบ accession number

การบันทึกข้อมูล

1) บันทึกข้อมูล ดีเอ็นเอบาร์โค้ด ในรูปแบบของ FASTA ไฟล์

2) บันทึกข้อมูลของดีเอ็นเอต้นแบบ ให้สอดคล้องกับชนิดแมลงวันหนอนชอนใบที่ใช้เป็นต้นแบบงานวิจัย ซึ่งประกอบด้วยพิกัดทางภูมิศาสตร์ วัน เดือน ปี ที่เก็บตัวอย่างแมลงวันหนอนชอนใบแต่ละชนิด และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง

3) ชื่อวิทยาศาสตร์ของแมลงวันหนอนชอนใบ พร้อมทั้งรายละเอียดของพืชอาหารที่พบแมลงวันหนอนชอนใบเข้าทำลาย

เวลาและสถานที่

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

สถานที่: 1) แหล่งปลูกพืชจังหวัดต่าง ๆ ในภาคกลาง ภาคตะวันตก ภาคเหนือ ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคใต้

2) ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดของแมลงวันหนอนชอนใบ

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างแมลงวันหนอนชอนใบในพื้นที่ต่าง ๆ ของประเทศไทย (Figure 1) และพบแมลงวันหนอนชอนใบ 5 ชนิด ได้แก่ ได้แก่ *Liriomyza brassicae* (Riley, 1884), *L. chinensis* (Kato, 1949), *L. huidobrensis* (Blanchard,1926), *L. sativae* Blanchard, 1938 และ *L. trifolii* (Burgess 1880) (Figure 2 - 6) จากการสกัดดีเอ็นเอ และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ LCO1490 / HCO2198 จากยีน *cox1* สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอและตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอได้ขนาด 650 - 700 คู่เบส (Figure 7) เมื่อนำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ไปตรวจวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ (ตารางที่ 1) เปรียบเทียบพบเปอร์เซ็นต์ความเหมือนที่ 99 - 100 % และบันทึกข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล GenBank (ตารางที่ 2) และจากข้อมูลที่ถูกต้องของลำดับนิวคลีโอไทด์ดังกล่าวแสดงว่าวิธีการสกัดดีเอ็นเอมีความเหมาะสมสามารถนำไปใช้สกัดดีเอ็นเอในตัวอย่างแมลงวันหนอนชอนใบได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นสามารถนำดีเอ็นเอจากวิธีการสกัดดังกล่าวมาทดสอบกับไพรเมอร์ที่ออกแบบได้

ผลการทดลองครั้งนี้ทำให้ทราบชนิดและชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้อง และได้ตัวอย่างลำดับนิวคลีโอไทด์ ข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดของแมลงวันหนอนชอนใบซึ่งข้อมูลทางชีวโมเลกุลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้จำทำให้ได้ข้อมูลสนับสนุนการจัดจำแนกชนิดแมลงวันหนอนชอนใบในประเทศไทยให้มีความถูกต้อง แม่นยำ และเป็นที่ยอมรับของสากลโลก ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้เป็นข้อมูลสนับสนุนสถานะของการจัดจำแนกแมลงวันหนอนชอนใบที่มีรายงานการพบในประเทศไทย เพื่อใช้ประกอบการพิจารณาหรือประเมินความเชื่อมั่นในการจัดจำแนกชนิดแมลงวันหนอนชอนใบของไทยอีกด้วย

นอกจากนี้ยังได้ข้อมูลสถานภาพของแมลงวันหนอนชอนใบที่พบในประเทศไทย สามารถนำผลดีเอ็นเอบาร์โค้ดที่ได้ ไปใช้ประยุกต์ร่วมกับความสัมพันธ์ด้านสัณฐานวิทยาของพืชอาหารของแมลงวันหนอนชอนใบแต่ละชนิดในประเทศไทย โดยข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้เป็นข้อมูลสนับสนุนชนิดของแมลงวันหนอนชอนใบในพื้นที่การเกษตร รวมทั้งเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการควบคุม ป้องกันกำจัด และข้อมูลในการนำเข้าส่งออก สามารถเป็นประโยชน์ในการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช เพื่อสนับสนุนมาตรการการค้าระหว่างประเทศ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงวันหนอนชอนใบพืชที่มีความสำคัญทางการเกษตรและนำมาศึกษาผลดีเอ็นเอบาร์โค้ด การศึกษาครั้งนี้ได้ผลดีเอ็นเอบาร์โค้ดของแมลงวันหนอนชอนใบและบันทึกไว้ในฐานข้อมูล GenBank จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ *Liriomyza brassicae*, *L. chinensis*, *L. huidobrensis*, *L. sativae* และ *L. trifolii*

คำขอบคุณ

ข้าราชการ พนักงานราชการ ลูกจ้างประจำ และพนักงานจ้างเหมาบริการ ของกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลงในการช่วยเหลือเก็บตัวอย่างแมลงวันหนอนชอนใบ จึงทำให้งานวิจัยในครั้งนี้สำเร็จและลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กอบเกียรติ์ บันสิทธิ์ และอัมพร วิโนทัย. 2544. *การแก้ไขปัญหาการระบาดของหนอนชอนใบบน พื้นที่สูงภาคเหนือ*. โรงพิมพ์คุรุสภาลาดพร้าว. กรุงเทพฯ. 42 หน้า.

รัตนา นชะพงษ์ ศิริณี พูนไชยศรี สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี พรรณเพ็ญ ชโยภาส. 2551. *อนุกรมวิธานแมลงวันหนอนชอนใบสกุล Liriomyza และ Chromatomyia*. รายงานเรื่องเต็ม ผลการวิจัยที่สิ้นสุด ปีงบประมาณ 2550. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพ.

International Plant Protection Convention (IPPC). 2016. ISPM 27 Diagnostic protocols for regulated pests DP 16: Genus *Liriomyza*. Available at: https://www.ippc.int/static/media/files/publication/en/2017/01/DP_16_2016_En_2017-01-30.pdf

OEPP/EPPO. 2005. Diagnostics Diagnostic PM 7/53. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 35: 271–273.

Lim G.S, S.S. Sastroutomo and W.H. Loke. 1999. Workshop on leafminers of vegetables in Southeast Asia. CABI-SEARC.

Malipatil, M. B., P.M. Ridland, A. Rauf, J. Watung and D. Kandowangko. 2004. New records of *Liriomyza* Mik (Agromyzidae: Diptera) leafminers from Indonesia. *Formosan Entomo*l. 24: 287-292.

Minkenberg O.P. 1988. Dispersal of *Liriomyza trifolii*. *Bulletin of the. European and Mediterranean.* Plant Protection Organisation 18: 173-182.

Parrella, M.P., C.B. Keil and J.G. Morse. 1984. Insecticide resistance in *Liriomyza trifolii.* California Agriculture 38: 22-33.

Sasakawa, M. 2013. Thailand Agromyzidae (Diptera) -2. *Zootaxa*. 3746(4): 501-28.

Shiao, S.F. 2004. Morphological diagnosis of six *Liriomyza* species (Diptera: Agromyzidae) of quarantine importance in Taiwan. *Applied Entomology and Zoology* 39(1): 27-39.

Spencer, K.A. 1973. *Agromyzidae (Diptera) of economic importance.* The Hague. Netherlands. 418 p.

Stegmaier, C.E. 1966. Host plants and parasites of *Liriomyza trifolii* in Florida (Diptera: Agromyzidae). *Florida Entomologist* 49: 75-80.

Table 1 Nucleotide sequence analysis of the 650 bp DNA fragments from leafminer samples amplified by *cox*1 gene (LCO1490 and HCO2198)

No.	Scientific name	Nucleotide sequence
1	*Liriomyza brassicae*	ATAGTAGGAACTTCTCTTAGAATTCTTATTCGAGCCGAATTAGGTCATCCAGGAGCTT TAATTGGAGATGATCAAATTTATAATGTAATTGTAACTGCTCATGCTTTTATTATAAT TTTTTTTATAGTTATACCTATTATAATCGGAGGGTTTGGAAACTGACTAGTACCTTTA ATATTAGGAGCTCCTGATATAGCCTTTCCTCGAATAAATAATATAAGTTTTTGATTAT TACCCCCTGCTCTTACCTTATTATTAATAAGCAGTATAGTGGAAAACGGGGCCGGAAC AGGATGAACAGTTTATCCTCCCCTCTCTTCTATTATTGCTCACGGTGGGGCATCTGTT GATCTAGCTATTTTTTCATTACACCTTGCAGGAATTTCTAGAATTTTAGGAGCAGTAA ATTTTATTACAACAATTATTAATATGCGATCCACAGGAATTAGATTTGATCGAATACC TTTATTTGTTTGATCTGTTCTTATTACTGCTATCTTATTACTTTTATCTTTACCAGTTC TAGCAGGAGCTATTACAATACTTCTAACAGACCGAAATTTTAACACATCATTTTTTGA TCCTGCAGGAGGTGGAGACCCAATTTTATATCAACACCTATTCTGATTTT
2	*Liriomyza chiensis*	ATAGTGGGAACTTCCTTAAGAATTTTAATTCGAGCTGAATTAGGACACCCTGGAGCTT TAATTGGTGATGACCAAATTTATAATGTAATTGTAACTGCACATGCTTTTATTATAAT TTTCTTTATAGTTATACCTATTATAATTGGAGGGTTTGGAAACTGATTAGTACCATTA ATATTAGGAGCACCCGATATAGCTTTTCCACGTATAAACAATATAAGTTTTTGATTAT TACCTCCAGCACTTACTTTACTTTTATTAAGAAGTATAGTAGAAAATGGAGCTGGGAC TGGTTGAACGGTTTACCCTCCCCTTTCTTCTGTAATCGCCCATGGAGGGGCTTCTGTT GATCTTGCTATTTTCTCTTTACATCTCGCAGGAATTTCATCAATTTTAGGGGCAGTAA ATTTTATTACCACTATTATTAATATACGATCTATAGGAATTAGTTTCGATCGAATACC GTTATTTGTTTGATCTGTTTTAATTACAGCTATTTTATTATTATTATCATTGCCTGTAT TAGCTGGAGCAATTACAATGCTATTAACAGATCGAAATTTTAACACTTCTTTTTTTGA CCCTGCTGGGGGAGGAGACCCAATTTTATATCAACATTTATTTTGATTTT
3	*Liriomyza huidrobrensis*	ATAGTGGGAACTTCTTTAAGAATTCTAATTCGTGCTGAATTAGGACACCCCGGTGCTT TAATTGGTGACGATCAAATTTATAATGTCATTGTAACTGCCCATGCATTTATTATAAT TTTTTTTATGGTTATACCTATTATAATTGGAGGATTCGGAAATTGATTAGTACCTTTA ATATTAGGGGCTCCTGATATAGCTTTTCCTCGAATAAATAACATAAGTTTTTGATTAT TACCTCCAGCTCTTACCCTTCTACTTATAAGAAGTATAGTTGAAAACGGAGCTGGGAC AGGATGAACGGTTTACCCTCCTCTTTCTTCTATTATTGCTCATGGAGGAGCTTCAGTA GATTTAGCTATTTTTTCTCTACATTTAGCTGGAATTTCATCTATTTTAGGGGCTGTAA ATTTTATTACAACAATTATTAATATACGATCAACTGGTATTACTTTTGATCGAATACC ATTATTTGTGTGATCTGTTCTAATTACTGCAGTTCTTTTACTGTTATCATTACCAGTAT TAGCCGGAGCTATTACTATACTTTTAACAGATCGAAATTTTAATACTTCTTTCTTTGA CCCGGCTGGGGGAGGAGACCCAATTTTATATCAACATTTATTTTGATTTT
4	*Liriomyza sativae*	ATAGTAGGAACTTCTCTTAGAATTCTTATTCGAGCAGAATTAGGACATCCGGGTGCTT TAATTGGTGATGACCAAATTTATAATGTTATTGTAACTGCTCATGCTTTTATTATAATT TTTTTTATAGTTATACCTATTATAATTGGAGGATTTGGTAATTGATTAGTTCCTTTAAT ATTAGGAGCTCCAGACATAGCATTTCCTCGAATAAATAATATAAGTTTTTGATTATTA CCCCCTGCTTTAACTCTTTTATTAATAAGCAGTATAGTAGAAAATGGGGCTGGGACAG GATGAACGGTTTACCCTCCACTTTCTTCAATTATTGCACATGGTGGTGCTTCAGTAGA TTTAGCTATTTTTTCTCTCCATTTAGCTGGAATTTCTTCTATTTTAGGGGCAGTAAATT TTATTACAACAATTATTAATATACGATCAACAGGAATTAGTTTTGATCGAATACCTTT ATTTGTGTGATCAGTTTTAATTACTGCTGTATTATTACTTTTATCATTGCCTGTGCTA GCTGGAGCAATTACTATATTATTAACAGATCGAAATTTTAATACATCATTTTTTGATC CAGCCGGTGGAGGAGACCCAATTTTATATCAACATTTATTTTGATTTT

Table 1 Nucleotide sequence analysis of the 650 bp DNA fragments from leafminer samples amplified by *cox*1 gene (LCO1490 and HCO2198) (continue)

No.	*Scientific name*	Nucleotide sequence
5	*Liriomyza trifolli*	ATAGTAGGAACTTCTCTTAGAATTCTTATTCGAGCAGAATTAGGGCACCCCGGTGCCCTAA TTGGTGATGACCAAATTTATAATGTTATTGTAACTGCTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTT ATAGTTATGCCTATTATAATTGGAGGATTTGGAAATTGATTAGTCCCTTTAATATTAGGAG CCCCAGATATAGCTTTCCCTCGAATAAATAACATAAGCTTTTGGTTATTACCCCCCGCTTT AACTCTTTTATTAATAAGCAGAATAGTAGAAAACGGAGCTGGTACAGGATGAACCGTTTAC CCTCCCCTTTCCTCAATTATTGCACATGGTGGAGCTTCAGTTGATTTAGCAATTTTTTCCTT ACATTTAGCAGGAATTTCTTCTATTTTAGGGGCAGTAAATTTTATTACAACAATTATTAATA TACGATCAACGGGAATTAATTTTGACCGAATACCTTTATTTGTTTGATCTGTGTTAATTACT GCTGTATTATTACTTTTATCATTGCCCGTTTTAGCTGGAGCAATTACAATACTATTAACAGA CCGAAATTTTAATACATCATTTTTTGACCCAGCTGGGGGAGGAGATCCAATTTTATACCAA CATCTATTTTGATTTT

Table 2 GenBank accession number(s) for the DNA barcode of the leafminer (Diptera: Agromyzidae) for economic plants in Thailand

	Scientific name	No. of nucleotide sequence(s)	GenBank accession number(s)
1	*Liriomyza brassicae*	20	OM327452 – 61, ON565771 - 80
2	*Liriomyza chiensis*	20	OM327462 – 71, ON565781 - 90
3	*Liriomyza huidrobrensis*	20	OM327472 – 81, ON565791 - 00
4	*Liriomyza sativae*	20	OM327482 – 99, ON565801 - 02
5	*Liriomyza trifolli*	20	OM327500 – 09, ON565803 - 10

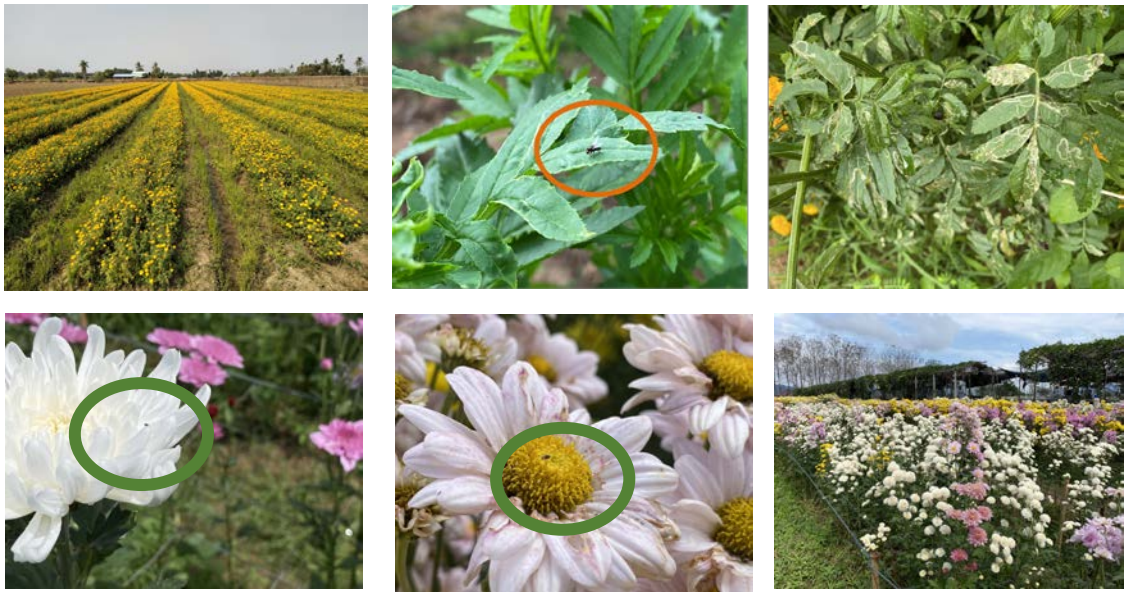


Figure 1 Samples of Agromyzid leafminer collected from host plants in Thailand

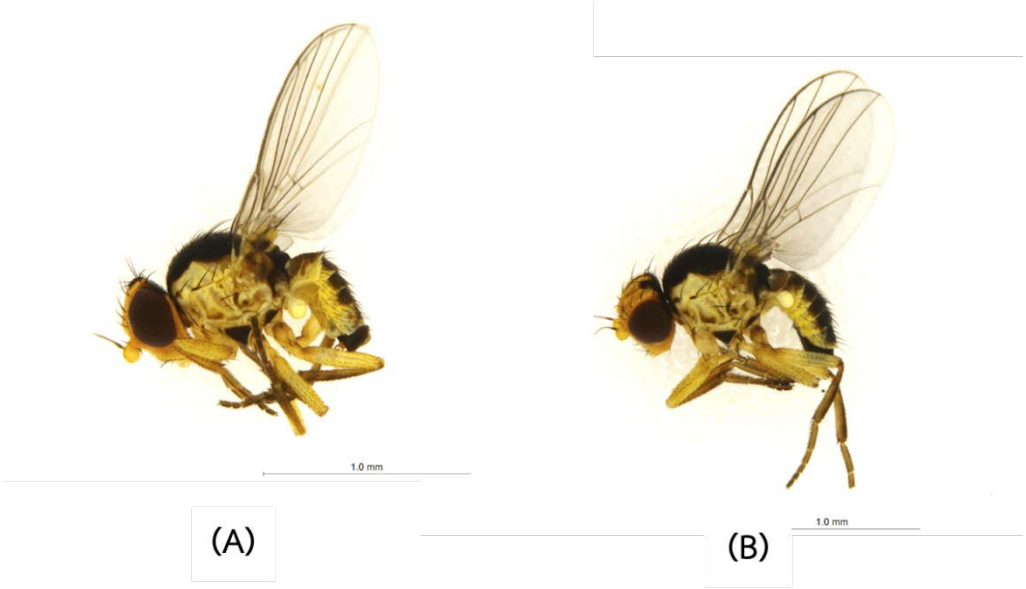


Figure 2 Adult of *Liriomyza brassicae* Riley, 1884

(A) Female of leafminer (B) Male of leafminer

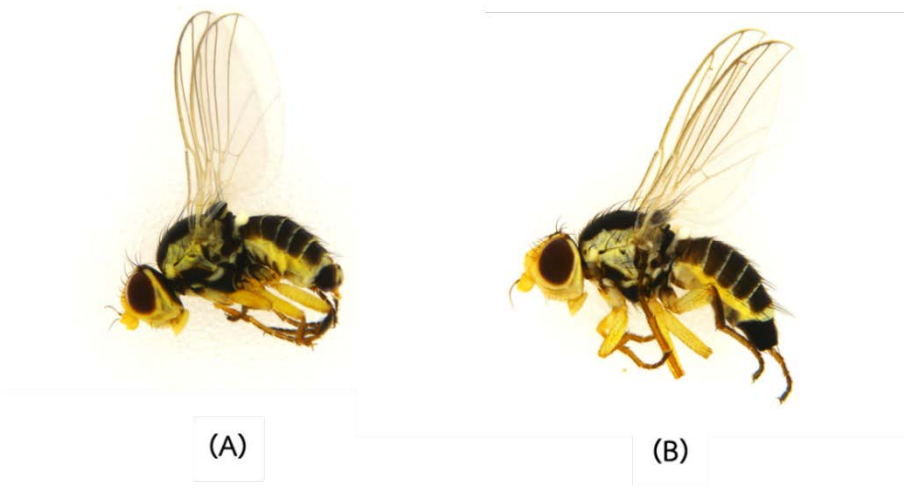


Figure 3 Adult of *Liriomyza chinensis* Kato, 1949
(A) Female of leafminer (B) Male of leafminer

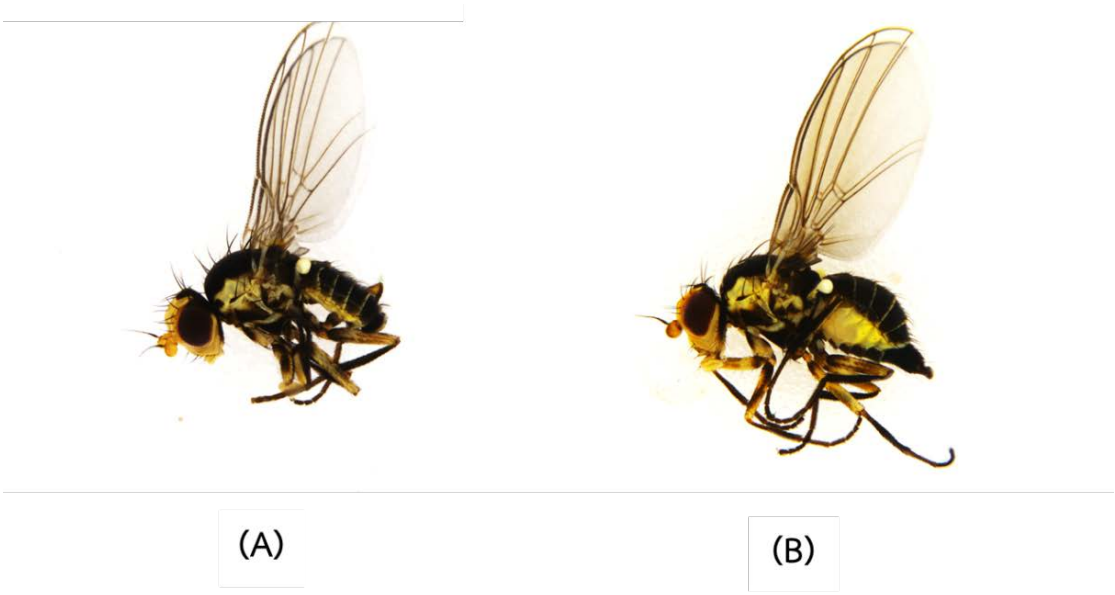


Figure 4 Adult of *Liriomyza huidrobrensis* Blanchard, 1926
(B) Female of leafminer (B) Male of leafminer

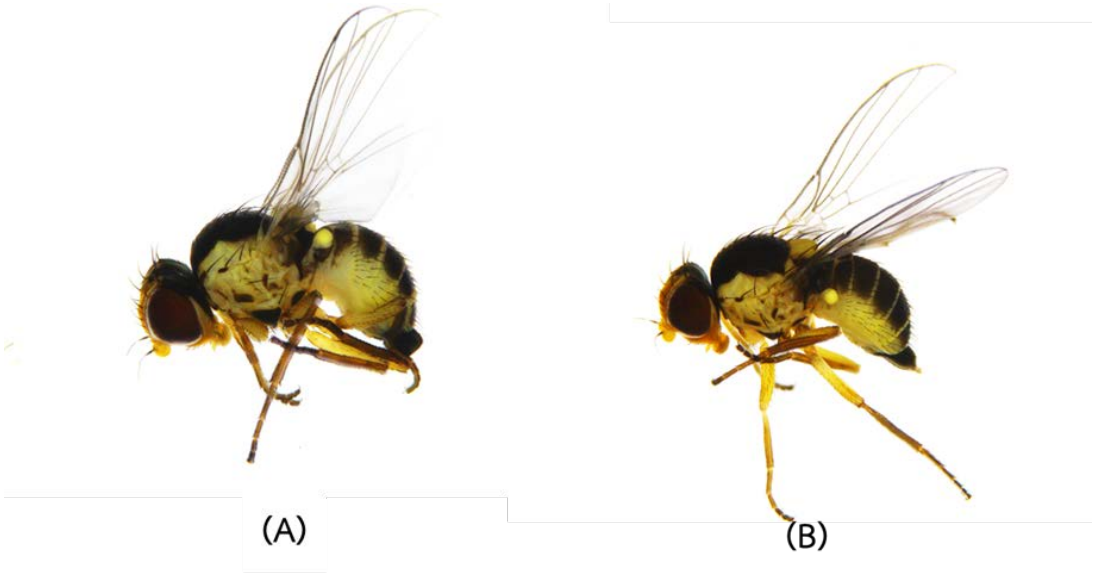


Figure 5 Adult of *Liriomyza sativae* Blanchard, 1938
(A) Female of leafminer (B) Male of leafminer

Figure 6 Adult of *Liriomyza trifolii* Burgess, 1880
(A) Female of leafminer (B) Male of leafminer

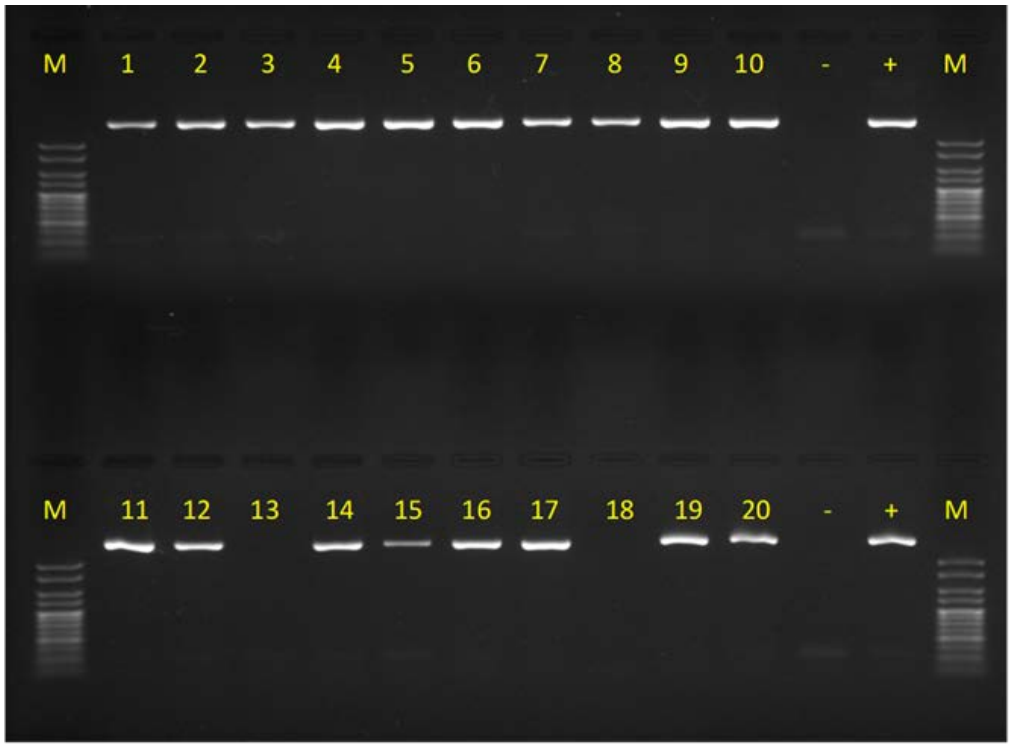


Figure 7 Some PCR results using the cox1 (LCO1490/HCO2198) universal primer pair.

Lane 1 - 4 = *Liriomyza brassicae* Lane 5- 8 = *Liriomyza chinensis*

Lane 9 - 12 = *Liriomyza huidobrensis* Lane 14 -16 = *Liriomyza sativae*

Lane 17, 19, 20 = *Liriomyza trifolii*

การจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยสกุล *Xiphinema* (Nematoda: Longidoridae)

Identification of plant parasitic nematode genus *Xiphinema* (Nematoda: Longidoridae)

ไตรเดช ข่ายทอง

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

เก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกพืชชนิดต่าง ๆ รวม 170 ตัวอย่าง แยกไส้เดือนฝอยจากตัวอย่างดิน ตรวจพบไส้เดือนฝอยสกุล *Xiphinema* จากตัวอย่างดินจากแปลงยูคาลิปตัส 1 ตัวอย่าง และแปลงไผ่ 1 ตัวอย่าง ตรวจพบไส้เดือนฝอยสกุลอื่น ๆ ได้แก่ *Meloidogyne* spp. *Pratylenchus* spp. *Tylenchorhynchus* spp. *Hirschmaniella* spp. *Helicotylenchus* spp. *Rotylenchulus* spp. *Heterodera* spp. *Criconemoides* spp. จัดทำแผนที่แสดงพิกัดการเก็บตัวอย่างดิน และพิกัดของตัวอย่างดินที่ตรวจพบไส้เดือนฝอย *Xiphinema* จำแนกไส้เดือนฝอย *Xiphinema* โดยใช้ polytomous key ของ Loof and Luc (1990) จากคุณสมบัติตาม polytomous key สามารถจำแนกได้เป็น *Xiphinema hunaniense*

คำหลัก : ไส้เดือนฝอยศัตรูพืช อนุกรมวิธาน บัญชีรายชื่อศัตรูพืช อณูชีววิทยา

รหัสการทดลอง FF65-20-03-65-00-02-65

คำนำ

ไส้เดือนฝอย *Xiphinema* เป็นไส้เดือนฝอยศัตรูพืชในวงศ์ Longidoridae ร่วมกับไส้เดือนฝอยสกุล *Longidorus* และ *Paralongidorus* ซึ่งเป็นวงศ์ที่มีความสามารถในการถ่ายทอดไวรัสโรคพืช อาศัยในดินและดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณปลายรากโดยที่ตัวอยู่ภายนอกราก (ectoparasitic nematode) มีพืชอาศัยหลายชนิด ส่วนใหญ่มีวงจรชีวิตยาวนาน 2-5 ปี และมีอัตราการเพิ่มจำนวนค่อนข้างต่ำ (Lamberti, 1975)

ไส้เดือนฝอย *Xiphinema* มีลำตัวยาวมากตั้งแต่ 2 – 12 มม. อวัยวะที่ใช้ในการดูดกินอาหาร (stylet) ยาวมาก (60 -250 ไมครอน) เมื่อเทียบกับไส้เดือนฝอยศัตรูพืชชนิดอื่น และมีรูตรงกลาง stylet ซึ่งเป็นทางผ่านของสารอาหาร เอ็นไซม์หรือสารต่าง ๆ ที่ไส้เดือนฝอยสร้างขึ้นรวมทั้งอนุภาคไวรัส stylet ของ *Xiphinema* ประกอบด้วย odontostyle คือส่วนบนสุดที่จะแทงเข้าไปในเนื้อเยื่อพืช ถัดมาคือ odontophore ซึ่งปลายสุดของส่วนนี้จะโป่งออกเรียก flanges ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของไส้เดือนฝอยสกุล *Xiphinema* ในระหว่างดูดกินน้ำเลี้ยงไส้เดือนฝอยจะถ่ายทอดไวรัสให้กับพืชอาศัย ซึ่งอนุภาคไวรัสจะอยู่ภายใน odontophore และ esophagus หรือหลอดอาหารของ *Xiphinema* ได้นานเป็นเดือนหรือหลายปี แต่จะหายไปหลังไส้เดือนฝอยลอกคราบ (Brown, 1995 และ Hull, 2014)

รากของพืชที่ถูกไส้เดือนฝอยชนิดนี้ทำลายจะแสดงอาการเหมือนไส้เดือนฝอย ectoparasite ชนิดอื่น ทำให้เนื้อเยื่อเสียหายและปริมาณรากลดลง โดยทั่วไปแล้วไส้เดือนฝอยชนิดนี้จะทำให้เกิดปุ่มปม (gall) ที่ปลายราก ยกเว้นไส้เดือนฝอยกลุ่ม *X. americanum* ปลายรากจะไม่มีปุ่มปม (Brown, 1995) อาการของส่วนเหนือดินจะแคระแกร็น เติบโตช้า ต่อมาพืชจะแสดงอาการของโรคไวรัสโดยเฉพาะบนใบ แต่พืชตระกูลหญ้าจะแสดงอาการไม่ชัดเจนนัก แปลงปลูกที่มีการระบาดของ *Xiphinema* จะเห็นพืชแสดงอาการผิดปรกติเป็นหย่อมๆ (patchy) ซึ่งเป็นลักษณะทั่วไปจากการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยศัตรูพืช

ไส้เดือนฝอย *Xiphinema* ที่สามารถถ่ายทอดไวรัสสาเหตุโรคพืชได้มีทั้งหมด 7 ชนิด ประกอบด้วย *X. americanum* – group ที่มีสมาชิกในกลุ่มถึง 55 ชนิด เช่น *X. bricolensis X. californicum X. diversicaudatum X. index X. italiae* และ *X. rivesi* สามารถถ่ายทอดไวรัสกลุ่ม *Nepovirus* เช่น *Cherry rasp leaf virus* (CRLV), *Peach rosette mosaic virus* (PRMV), *Tobacco ringspot virus* (TRSV), *Tomato ringspot virus* (ToRSV), *Arabis mosaic virus* (ArMV),*Strawberry latent ringspot virus* (SLRSV) และ *Grapevine fanleaf virus* (GFLV) เป็นต้น (Brown, 1995 และ Hull, 2014)

ปัจจุบันในหลายประเทศได้กำหนดให้ปลูกพืชหรือส่วนขยายพันธุ์พืชในดินที่ปราศจากไส้เดือนฝอยพาหะไวรัสสาเหตุโรคพืชด้วย เพื่อป้องกันไม่ให้พืชเป็นโรคไวรัสที่ถ่ายทอดโดยไส้เดือนฝอย ดังนั้นจึงต้องมีการจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยแต่เนิ่น ๆ และควรแยกให้ได้ระหว่าง *Xiphinema* ชนิดที่เป็นพาหะนำไวรัสสาเหตุโรคพืชกับชนิดที่ไม่ใช่พาหะ (Özturk *et al*., 2018) การจำแนกชนิดไส้เดือนฝอย

ดังกล่าวด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียวมีโอกาสผิดพลาดสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อมีไส้เดือนฝอยหลายชนิดในดินตัวอย่างเดียวกัน และ/หรือมีตัวอ่อนปะปนอยู่มาก จึงต้องนำเทคนิค DNA barcoding เข้ามาช่วยให้เกิดความแม่นยำยิ่งขึ้น Susulovska *et al*. (2018) ประสบควาสำเร็จในการจำแนก *X. ifacolum* จากศรีลังกาโดยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลิโอไทด์ตำแหน่ง D2-D3 ITS1 และ coxI ขณะที่ Özturk *et al*. (2018) ใช้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงชนิด วิเคราะห์ลำดับนิวคลิโอไทด์ในตำแหน่ง ITS1 ของ rDNA ในการจำแนก *X. americanum* ที่พบในต้นสน

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

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

วิธีการ

1. การสำรวจพื้นที่ปลูกพืชอาศัยและเก็บตัวอย่างดิน (2565-2566)

เก็บตัวอย่างดินจากพืชที่เคยมีรายงานการพบไส้เดือนฝอยสกุล *Xiphinema* เช่น ไผ่ ยูคาลิปตัส ส้ม กาแฟ เป็นต้น และพืชที่มีรายงานว่าเป็นพืชอาศัยของไส้เดือนฝอยสกุล *Xiphinema* ใช้พลั่วมือหรือแท่งเหล็กเก็บตัวอย่างดิน (auger) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 นิ้วเก็บตัวอย่างดินที่ระดับความลึก 25 – 30 ซม. หรือระดับเดียวกับความลึกของรากพืช โดยแต่ละตัวอย่างพืชจะสุ่มเก็บตามรูปแบบ zig zag pattern จำนวน 20 จุด/ไร่ เก็บดินรวมใส่ถุงพลาสติกให้มีน้ำหนักประมาณ 1 กก. ระบุวันที่ที่เก็บ พืชอาศัย ชื่อผู้เก็บตัวอย่าง

2. การจำแนกชนิดด้วยลักษณะสัณฐานวิทยา (2565-2566)

2.1 การแยกไส้เดือนฝอยจากตัวอย่างดิน

นำดินแต่ละตัวอย่างมาผสมให้เข้ากัน ชั่งน้ำหนัก 250 ก. ไปแยกไส้เดือนฝอยด้วยวิธี decanting and sieving (Cobb, 1917) ตามด้วย Baermann's tray เทตัวอย่างน้ำที่ได้จาก tray ซึ่งมีไส้เดือนฝอยอยู่ใส่ขวดแก้วใส ทิ้งให้ไส้เดือนฝอยตกตะกอนที่ก้นขวดอย่างน้อย 6 ชม. ดูดน้ำที่เกินทิ้งให้เหลือประมาณ 20 มล. นำน้ำที่ได้ (nematode suspension) ไปตรวจหาไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่สนใจภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบหัวกลับ

2.2 การทำสไลด์ถาวร

ไปเปตไส้เดือนฝอยที่ต้องการไปใส่ใน embrio dish ขนาด 30 มม. ที่มีน้ำสะอาดอยู่ประมาณ 400 ไมโครลิตร เมื่อได้จำนวน life specimens ที่ต้องการแล้ว ไปเปตน้ำส่วนเกินออกให้เหลือปริมาตรไม่เกิน 1,000 ไมโครลิตร แล้วจึงย้าย embrio dish ไปวางใน water bath ที่มีน้ำร้อนอุณหภูมิ 55 °C นาน 5 นาที ระวังไม่ให้น้ำใน water bath เข้าไปผสมกับน้ำใน embryo dish และไม่ให้น้ำภายใน embrio dish แห้งจนทำให้ไส้เดือนฝอยแห้งตาย จากนั้นจึงนำตัวอย่างไส้เดือนฝอยที่ได้ไป fix ด้วยวิธีของ De Grisse (1969) และทำสไลด์ถาวรด้วยวิธีประยุกต์จาก Cobb's method ระบุชนิดไส้เดือนฝอย จำนวน specimen วันที่เก็บตัวอย่าง พืชอาศัย และชื่อผู้เก็บ บนสไลด์

2.3 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

นำสไลด์ถาวรที่ได้มาตรวจดูลักษณะสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Olympus BX53 DIC Nomarski บันทึกข้อมูลและถ่ายภาพลำตัวทั้งหมด ส่วนหัว กลางลำตัว หาง stylet ลักษณะและตำแหน่งอวัยวะเพศ ระบบสืบพันธุ์ cuticle และลักษณะสำคัญอื่นที่ใช้ในการจัดจำแนก และ morphometric

3. การจำแนกชนิดไส้เดือนฝอย *Xiphinema* ด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล (2566-2567)

นำไส้เดือนฝอยที่แยกได้จากตัวอย่างดินมาฆ่าด้วยความร้อนในหม้อต้มควบคุมอุณหภูมิที่ 55 °C แล้วดูดไส้เดือนฝอยที่ต้องการมาเก็บในหลอด eppendorf ขนาด 2 มล. และเติม DESS solution ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อเก็บรักษาไส้เดือนฝอยสำหรับสกัด DNA ต่อไป สำหรับสกัด DNA จากตัวอย่างไส้เดือนฝอยที่มีชีวิตได้ทันทีโดยให้ใช้เข็มตักไส้เดือนฝอยที่ต้องการศึกษาจำนวน 1 ตัว ใส่ในหลอด PCR ที่มีสารละลายของ 10M NaOH และ 0.45% Tween20 ในอัตราส่วน 10:1 ปริมาตร 12 ไมโครลิตร จากนั้นย้ายไปใส่ใน PCR Thermocycler ที่ 95 °C 15 นาที แล้วเติมน้ำกลั่นฆ่าเชื้อไปอีก 20 ไมโครลิตร จะได้ DNA templates ปริมาตร 35 ไมโครลิตร เก็บตัวอย่างที่ได้ในตู้ -20 °C เพื่อเพิ่มปริมาณ DNA ด้วย PCR ต่อไป

เพิ่มปริมาณ DNA ของตัวอย่างไส้เดือนฝอยที่ได้ด้วยการไปเปต DNA templates ที่ได้จากขั้นตอนข้างต้นปริมาตร 3 ไมโครลิตร ใส่หลอด PCR จากนั้นเติม PCR master mixed ที่เตรียมไว้ซึ่งมีไพรเมอร์ที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณ DNA ในตำแหน่งจำเพาะ ปริมาตร 23 ไมโครลิตร ปิดฝาและเขียนกำกับบนหลอดให้เรียบร้อย ย้ายไปใส่เครื่อง PCR Thermocycler เมื่อปฏิกิริยาเสร็จสมบูรณ์ตรวจสอบดีเอ็นเอผลผลิตด้วย 1.2% agarose gel electrophoresis ที่เติม GelRed ใน 1X TAE buffer ใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ นาน 30 นาที ตรวจดูแถบดีเอ็นเอผลผลิตในเจลภายใต้แสง UV

ด้วยเครื่อง ChemiDoc Touch Imaging System (BioRad, USA) จากนั้นนำ DNA product ของตัวอย่างดังกล่าวส่งไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์ (sequencing) แล้ววิเคราะห์ด้วยซอฟแวร์จนได้ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สมบูรณ์ จากนั้นนำลำดับเบสที่ได้ไป Blast ใน GenBank เพื่อเปรียบเทียบหาชนิดของไส้เดือนฝอยสกุล *Xiphinema* ที่เคยมีผู้ศึกษาไว้ก่อนแล้ว หรือลงทะเบียนลำดับนิวคลีโอไทด์เพิ่มเข้าไปหากพบว่าเป็นไส้เดือนฝอยชนิดใหม่

4. การกระจายตัวของไส้เดือนฝอย *Xiphinema* ในประเทศไทย (2567)

บันทึกข้อมูลการสำรวจในระบบฐานข้อมูลที่ประกอบด้วยข้อมูลทางภูมิศาสตร์ (GPS coordinates) พืชอาศัย ระยะการเจริญเติบโต/อายุ พื้นที่ปลูก สภาพดิน ฤดูปลูก และ/หรือข้อมูลอื่นที่เกี่ยวข้อง จากนั้นนำข้อมูล GPS ที่ได้มาจัดทำแผนที่การกระจายตัวของไส้เดือนฝอยสกุล *Xiphinema* พาหะนำไวรัสสาเหตุโรคพืชในประเทศไทย

- การบันทึกข้อมูล

1. วัน เดือน ปีที่สำรวจ/เก็บตัวอย่าง พิกัดภูมิศาสตร์ ภาพถ่ายแปลง ขนาดพื้นที่ปลูก จำนวนแปลง จำนวนตัวอย่าง ผู้เก็บ

2. ภาพถ่ายพืชที่แสดงอาการผิดปรกติ ระยะการเจริญเติบโตของพืช พืชข้างเคียง และสภาพแวดล้อมอื่น ๆ ประวัติการเพาะปลูกและ/หรือเกษตรกรเจ้าของแปลง (ถ้ามี)

ถ่ายภาพลักษณะสัณฐานวิทยาที่สำคัญของไส้เดือนฝอย เช่น ลำตัวทั้งหมด ส่วนหัว กลางลำตัว หาง stylet ลักษณะและตำแหน่งอวัยวะเพศ ระบบสืบพันธุ์ cuticle และลักษณะสำคัญอื่นที่ใช้ในการจัดจำแนก และ morphometric

เวลาและสถานที่

- ระยะเวลาดำเนินการ : ตุลาคม 2564 – กันยายน 2567

- สถานที่ดำเนินการ :

1. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
2. พื้นที่ปลูกพืชของเกษตรกร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การสำรวจเก็บตัวอย่างดิน

เก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกพืชชนิดต่าง ๆ ได้แก่ กระเทียม กล้วย กะหล่ำ กาแฟ ข่า ข้าวฟ่าง เงาะ แตงกวา แตงโม ถั่วพู ถั่วลิสง ถั่วเหลือง ทานตะวัน ทุเรียน ผักกาด ผักสลัด ผักหวานป่า ไผ่ ฝรั่ง พริก พริกไทย มะเขือเทศ มะเขือเปราะ มะเขือยาว มะพร้าว มะม่วง มังคุด มันแกว มัน ฝรั่ง ยางพารา ยาสูบ ยูคาลิปตัส สับปะรด หญ้ามาเลเซีย หม่อน หอมแดง หอมหัวใหญ่ หัวไชเท้า รวม 170 ตัวอย่าง

การแยกไส้เดือนฝอยออกจากตัวอย่างดิน

แยกไส้เดือนฝอยจากตัวอย่างดิน ตรวจพบไส้เดือนฝอยสกุล *Xiphinema* จากตัวอย่างดินจากแปลงยูคาลิปตัส 1 ตัวอย่าง และแปลงไผ่ 1 ตัวอย่าง ตรวจพบไส้เดือนฝอยสกุลอื่น ๆ ได้แก่

Meloidogyne spp. *Pratylenchus* spp. *Tylenchorhynchus* spp. *Hirschmaniella* spp. *Helicotylenchus* spp. *Rotylenchulus* spp. *Heterodera* spp. *Criconemoides* spp.

การคงสภาพและทำสไลด์ถาวรของไส้เดือนฝอย

1. เตรียมสารเคมี

Solution 1 (กรณีที่เตรียม 100 ml)

ประกอบด้วย Formalin 4% ปริมาตร 99 ml

Glycerine ปริมาตร 1 ml

Solution 2 (กรณีที่เตรียม 100 ml)

ประกอบด้วย Ethanol 96% ปริมาตร 95 ml

Glycerine ปริมาตร 5 ml

Solution 3 (กรณีที่เตรียม 100 ml)

ประกอบด้วย Ethanol 96% ปริมาตร 50 ml

Glycerine ปริมาตร 50 ml

2. คัดเลือกไส้เดือนฝอยที่แยกได้จากตัวอย่างดินใส่ลงใน staining box (embryo dish) ที่มีน้ำสะอาด นำ staining box ไปแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ที่ 55 องศาเซลเซียส ประมาณ 5 นาที เพื่อให้ไส้เดือนฝอยอยู่ในสภาพคลายตัว

3. ดูดน้ำใน staining box ออก ให้เหลือปริมาตรเพียงเล็กน้อย จากนั้นเติม **solution 1** 0.5 มิลลิลิตร นำ staining box ไปใส่ในโถดูดความชื้น ที่บรรจุเอทานอล 96 เปอร์เซ็นต์สูงประมาณ 1 เซนติเมตร แล้วนำไปใส่ตู้อบที่ 40 องศาเซลเซียส นานประมาณ 12 ชั่วโมง

4. นำ staining box ออกจากโถดูดความชื้น เติม **solution 2** 4 หยด นำไปใส่ตู้อบที่ 40 องศาเซลเซียส โดยนำกระจกปิด staining box ไว้ประมาณ 3/4 ส่วน เพื่อเปิดให้น้ำระเหยออกไปได้อย่างช้า ๆ และ glycerol ซึมเข้าแทนที่น้ำในตัวไส้เดือนฝอยอย่างช้า ๆ เติม solution 2 ทุก ๆ 1 ชั่วโมงจนครบ 4 ครั้ง

5. นำ staining box ออกจากตู้อบ เติม **solution 3** ลงใน staining box 5-6 หยด ปิดกระจกแล้วนำไปเก็บในโถดูดความชื้นที่มี silica gel เพื่อนำไส้เดือนฝอยที่คงสภาพแล้วไปทำสไลด์ถาวรต่อไป

การจำแนกชนิดไส้เดือนฝอย *Xiphinema* ทางสัณฐานวิทยา

จำแนกไส้เดือนฝอย *Xiphinema* โดยใช้ polytomous key ของ Loof and Luc (1990) ซึ่งกำหนดรหัส (code) ขององค์ประกอบต่าง คือ A. Type of female genital apparatus. B. Uterine differentiation. C. Tail shape. D. Ratio tail length to anal body diameter (c'). E. Vulva position. F. Body length. G. Total spear length (odontostyle + odontophore). H. Outline of fore-part of body. I. Habitus. J. Tail shape of fourth-stage juvenile. K. Tail shape of first-stage juvenile. L. Males. ซึ่งรหัส (code) จะแบ่งออกเป็นกลุ่มย่อย เช่น G. Total

spear length คือความยาวของ spear จะแบ่งออกเป็น 1 <150 ไมโครเมตร 2. 150-199 ไมโครเมตร 3. 200-249 ไมโครเมตร และ 4. >250 ไมโครเมตร เป็นต้น

พบว่ารหัส (code) ของไส้เดือนฝอย *Xiphinema* ที่แยกได้คือ

A1 = No anterior genital branch

B4 = No uterine differentiation

C4 = Tail short conical (c' at most 2.5), distinctly digitate

D4 = Ratio tail length to anal body diameter (c') = 1.6-2.5

E1 = Vulva position <30

F2 = Body length 1.5-2.4 mm

G2 = Total spear length (odontostyle + odontophore) 150-199 μm

H2 = Outline of fore-part of body = Lip region separated by a weak depression or shallow constriction.

I3 = Habitus = Body hook-shaped, or in C- or J-shape

J4 = Tail shape of fourth-stage juvenile = Tail short conical (c' at most 2.5), distinctly digitate

L1 = Males = Unknown or very rare (female generally devoid of sperm).

จากคุณสมบัติตาม polytomous key สามารถจำแนกได้เป็น *Xiphinema hunaniense* (Figure 1)

อย่างไรก็ตามการจำแนกชนิดไส้เดือนฝอย *Xiphinema* โดยใช้ข้อมูลทางสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียวอาจยังไม่แน่ชัด และเป็นที่ยอมรับกันโดยทั่วไปว่าจำเป็นต้องใช้เทคนิคด้านอณูชีววิทยามาใช้ประกอบการจำแนกชนิดร่วมด้วย เพื่อความถูกต้องแม่นยำเพิ่มขึ้นจัดทำแผนที่แสดงพิกัดการเก็บตัวอย่างดิน และพิกัดของตัวอย่างดินที่ตรวจพบไส้เดือนฝอย *Xiphinema* (Figure 2)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การเก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกพืชชนิดต่าง ๆ รวม 170 ตัวอย่าง แยกไส้เดือนฝอยจากตัวอย่างดิน ตรวจพบไส้เดือนฝอยสกุล *Xiphinema* จากตัวอย่างดินจากแปลงยูคาลิปตัส 1 ตัวอย่าง และแปลงไผ่ 1 ตัวอย่าง จัดทำแผนที่แสดงพิกัดการเก็บตัวอย่างดิน และพิกัดของตัวอย่างดินที่ตรวจพบไส้เดือนฝอย *Xiphinema* จำแนกไส้เดือนฝอย *Xiphinema* โดยใช้ polytomous key ของ Loof and Luc (1990) จากคุณสมบัติตาม polytomous key สามารถจำแนกได้เป็น *Xiphinema hunaniense*

เอกสารอ้างอิง

Brown, D. J. F., Robertson, W. M., & Trudgill, D. L. 1995. Transmission of Viruses by Plant Nematodes. *Annual Review of Phytopathology*, 33(1), 223–249.

Hull, R. (2014). Plan to Plant Movement in Plant Virology (Fifth Edition).

Lamberti F, Taylor C. E. Seinhorst J. W., eds. 1975. *Nematode Vectors of Plant Viruses*. New York: Plenum. 460.

Özturk, L., Behmand, T., Sin, B., Avci, G.G. & Elekcioğlu, I.H. 2018. Morphologic and molecular identification of *Xiphinema americanum* associated with pine trees. International *Journal of Molecular Biology*, 3(3), 94-96.

Susulovska, S., Cantalapiedra-Navarrete, C., Susulovsky, A., Castillo, P., & Archidona-Yuste, A. 2018. Morphological and molecular characterisation of *Xiphinema ifacolum* Luc, 1961 (Nematoda: Longidoridae) from Sri Lanka. *Nematology* 0: 1-13.

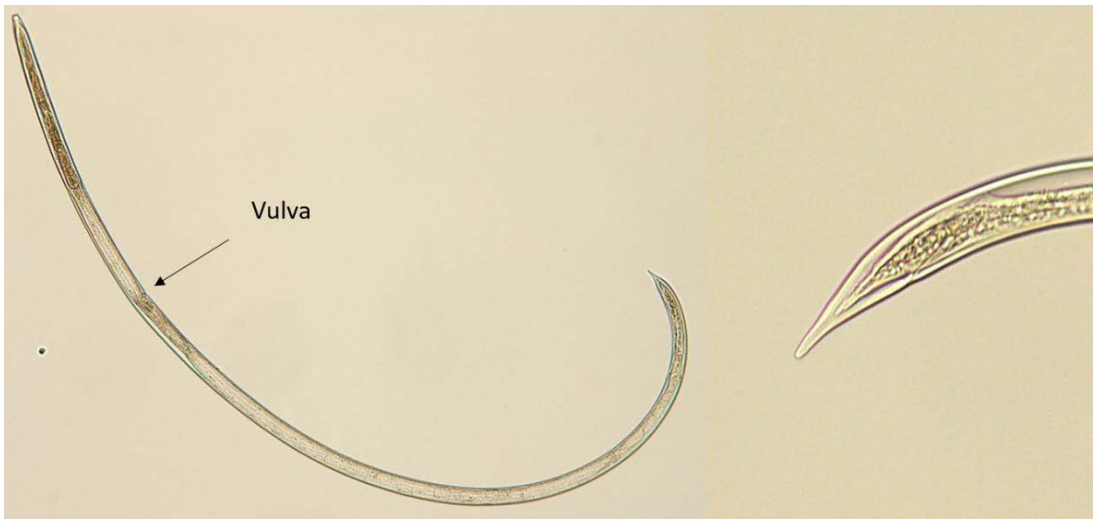


Figure 1 *Xiphinema hunaniense*

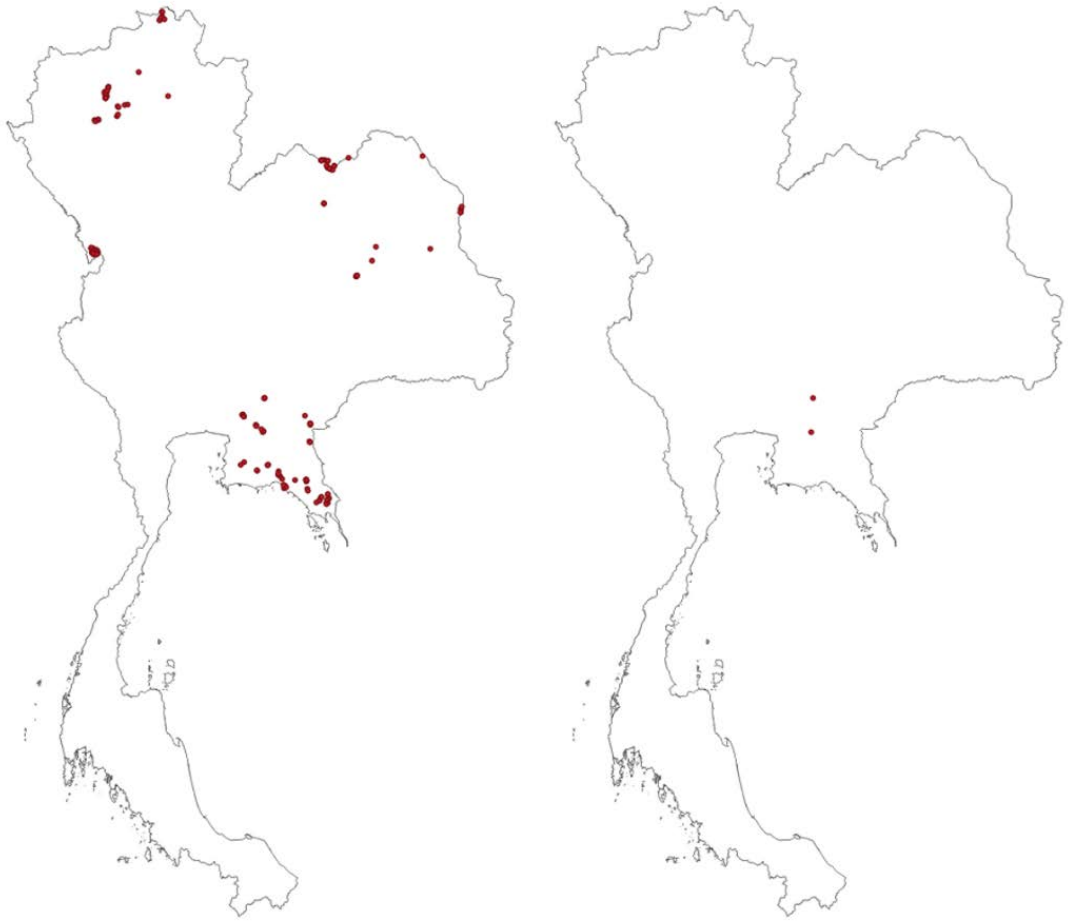


Figure 2 Locations of 170 fields which soil samples were taken (left) and locations where *Xiphinema* was detected (right)

การจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยสกุล *Scutellonema* (Nematoda: Hoplolaimidae)

Identification of plant parasitic nematode genus *Scutellonema* (Nematoda: Hoplolaimidae)

ไตรเดช ข่ายทอง

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

เก็บตัวอย่างดินจากแปลงมันสำปะหลัง 173 ตัวอย่าง แปลงอ้อย 36 ตัวอย่าง และแปลงข้าวโพด 12 ตัวอย่าง แยกไส้เดือนฝอยจากตัวอย่างดิน ตรวจพบไส้เดือนฝอยสกุล *Scuttellonema* จากตัวอย่างดินจากแปลงอ้อยจำนวน 7 ตัวอย่าง และ ตรวจพบไส้เดือนฝอยศัตรูพืชอื่น ๆ รวม 9 สกุล ได้แก่ *Meloidogyne* spp. *Pratylenchus* spp. *Tylenchorhynchus* spp. *Hirschmaniella* spp. *Helicotylenchus* spp. *Rotylenchulus* spp. *Hoplolaimus* spp. *Heterodera* spp. *Criconemoides* spp. ทำสไลด์ถาวรและจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอย *Scutellonema* ทางสัณฐานวิทยาโดยใช้แนวทางการจำแนกชนิดของ Kolombia *et al* (2017) แต่ยังไม่สามารถจำแนกชนิดได้ชัดเจน จำเป็นต้องใช้ข้อมูลด้านอณูชีววิทยามาประกอบการจำแนกชนิดต่อไป

คำหลัก : ไส้เดือนฝอยศัตรูพืช อนุกรมวิธาน บัญชีรายชื่อศัตรูพืช อณูชีววิทยา

รหัสการทดลอง FF65-20-03-65-00-03-65

คำนำ

ไส้เดือนฝอย *Scutellonema* เป็นไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ส่วนใหญ่เข้าทำลายราก หัว หรือลำต้นใต้ดินโดยที่ตัวไม่เข้าไปอยู่ในเซลล์พืช (ectoparasitic nematode) มักพบในพื้นที่เขตร้อนและเขตกึ่งร้อน เป็นไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่พบทั่วไปในทวีปแอฟริกาแม้ในดินที่ไม่ใช้ทำการเกษตร และกระจายตัวไปตามพื้นที่ต่าง ๆ ทั่วโลก เช่น สหรัฐอเมริกา คอสตาริก้า บราซิล เบลเยียม กรีซ เกาหลีใต้ ไทย เป็นต้น มีพืชอาศัยที่หลากหลาย เช่น แยม มันฝรั่ง มะเขือเทศ กระเจี๊ยบเขียว เมล่อน งา ถั่วเหลือง ข้าว ไม้ประดับ ยาสูบ เป็นต้น ปัจจุบันสามารถจำแนกได้มากกว่า 40 ชนิด โดย 3 ชนิดมีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ได้แก่ *S. bradys*, *S. cavenessi* และ *S. brachyurum* สำหรับประเทศไทย สืบศักดิ์ (2538) ได้รายงานว่าพบไส้เดือนฝอย *S. brachyurum* ที่จังหวัดตรังและเชียงใหม่ และต่อมาจึงพบในข้าว พริก และกล้วย

ไส้เดือนฝอย *S. bradys* หรือ yam nematode เป็นไส้เดือนฝอยที่มีความสำคัญที่สุดในการผลิตมันป่าหรือมันพื้นบ้าน (yam) ซึ่งเป็นพืชอาหารหลักของทวีปแอฟริกาตะวันตก (Asiedu & Sartie, 2010) ไส้เดือนฝอยชนิดนี้สามารถเข้าทำลายพืชได้ทุกระยะตั้งแต่ตัวอ่อนจนถึงตัวเต็มวัย และเป็น migratory endoparasite คือดูดกินอาหารภายในรากและเคลื่อนที่ไปในส่วนต่าง ๆ ของรากเพื่อหาอาหาร ทำให้หัวแยมเป็นรอยสีน้ำตาล ต่อมาทำให้เกิดอาการหัวเน่าแห้ง (dry rot) ส่งผลต่อคุณภาพและปริมาณผลผลิต นอกจากแยมแล้วยังมีพืชอาศัยอื่น เช่น ข้าวโพด ฝ้าย กล้วย มะพร้าว ทั้งนี้ประเทศไทยได้ประกาศให้ *S. bradys* เป็นศัตรูพืชต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507

ไส้เดือนฝอย *S. brachyurum* เป็น ectoparasitic nematode แต่บางครั้งสามารถเข้าทำลายลึกเข้าไปในเนื้อเยื่อพืชจนกลายเป็น endoparasitic ดูดกินน้ำเลี้ยงระหว่างและในเซลล์รากในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมสามารถเพิ่มจำนวนประชากรได้มาก มีพืชอาศัยหลายชนิดมาก เช่น ถั่วเหลือง ยาสูบ มันเทศ ข้าวบาร์เลย์ ถั่วอัลฟัลฟ่า ข้าว ชา อ้อย และ ไม้ประดับ เป็นต้น รากพืชที่ถูกทำลายจะมีแผลสีแดงและกลายเป็นสีน้ำตาล ปริมาณรากลดลง น้ำหนักหัวลดลง ส่งผลให้ผลผลิตตกต่ำ มีรายงานพบไส้เดือนฝอยชนิดนี้ในการผลิตแตงกวาและผักใบเป็นครั้งแรกที่เมืองครีต ประเทศกรีซ โดยสันนิษฐานว่าไส้เดือนฝอยนี้น่าจะติดมากับกระบองเพชรที่ล้อมมาปลูกในพื้นที่ดังกล่าว (Tzortzakakis *et al*., 2016) นอกจากนี้ ไส้เดือนฝอย *S. brachyurm* ยังเป็นศัตรูพืชกักกันสำหรับการส่งออกพืชตระกูลแคคตัสไปยังประเทศฟิลิปปินส์ด้วย

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติได้บรรจุไส้เดือนฝอยสกุล *Scutellonema* ในบัญชีรายชื่อศัตรูพืชของประเทศไทยไว้ 2 ชนิด ประกอบด้วย *S. brachyurus* และ *S. clathricaudatum* โดยชนิดแรกมีพืชอาศัยหลักคือ หน่อไม้ฝรั่ง ถั่วเหลือง และยาสูบ ขณะที่ชนิดที่สองทำลายกล้วยและพืชสกุลกล้วยเป็นหลัก โดยมีมันสำปะหลังเป็นหนึ่งในพืชอาศัย การจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยที่ถูกต้องเป็นส่วนสำคัญในการอารักขาพืช ทั้งในแง่ของการป้องกันกำจัด มาตรการกักกันพืช การสร้างความมั่นใจให้กับสินค้าส่งออกและการตรวจหาไส้เดือนฝอยศัตรูพืชจาก

ผลิตผลนำเข้า ซึ่งต้องใช้ทั้งเทคนิคพื้นฐานที่อาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและยืนยันชนิดด้วย DNA barcoding ซึ่งเป็นวิธีที่มีความแม่นยำสูงและเป็นที่ยอมรับระดับสากล

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

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

วิธีการ

1. การสำรวจพื้นที่ปลูกพืชอาศัยและเก็บตัวอย่างดิน (2565-2566)

สำรวจพื้นที่ปลูกพืชเศรษฐกิจสำคัญเริ่มจากชนิดพืชที่เคยมีรายงานว่าพบ *Scutellonema* เช่น อ้อย แล้วจึงขยายไปยังพืชอาศัยอื่นที่มีรายงาน ใช้พลั่วมือหรือแท่งเหล็กเก็บตัวอย่างดิน (auger) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 นิ้วเก็บตัวอย่างดินที่ระดับความลึก 25 – 30 ซม. หรือระดับเดียวกับความลึกของรากพืช โดยแต่ละตัวอย่างพืชจะสุ่มเก็บตามรูปแบบ zig zag pattern จำนวน 20 จุด/ไร่ เก็บดินรวมใส่ถุงพลาสติกให้มีน้ำหนักประมาณ 1 กก. ติด tag ระบุวันที่ที่เก็บ พืชอาศัย ชื่อผู้เก็บตัวอย่าง

2. การจำแนกชนิดด้วยลักษณะสัณฐานวิทยา (2565-2566)

2.1 การแยกไส้เดือนฝอยจากตัวอย่างดิน

นำดินแต่ละตัวอย่างมาผสมให้เข้ากัน ชั่งน้ำหนัก 250 ก. สกัดแยกไส้เดือนฝอยด้วยวิธี decanting and sieving (Cobb, 1917) ตามด้วย Baermann’s tray เทตัวอย่างน้ำที่ได้จาก tray ซึ่งมีไส้เดือนฝอยอยู่ใส่ขวดแก้วใส ทิ้งให้ไส้เดือนฝอยตกตะกอนที่ก้นขวดอย่างน้อย 6 ชม. ดูดน้ำที่เกินทิ้งให้เหลือประมาณ 20 มล. นำน้ำที่ได้ (nematode suspension) ไปตรวจหาไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่สนใจภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบหัวกลับ

2.2 การทำสไลด์ถาวร

ไปเปตไส้เดือนฝอยที่ต้องการไปใส่ใน embrio dish ขนาด 30 มม. ที่มีน้ำสะอาดอยู่ประมาณ 400 ไมโครลิตร เมื่อได้จำนวน life specimens ที่ต้องการแล้ว ไปเปตน้ำส่วนเกินออกให้เหลือปริมาตรไม่เกิน 1,000 ไมโครลิตร แล้วจึงย้าย embrio dish ไปวางใน water bath ที่มีน้ำร้อนอุณหภูมิ 55 °C นาน 5 นาที ระวังไม่ให้น้ำใน water bath เข้าไปผสมกับน้ำใน embryo dish และไม่ให้น้ำภายใน embrio dish แห้งจนทำให้ไส้เดือนฝอยแห้งตาย จากนั้นจึงนำตัวอย่างไส้เดือนฝอยที่ได้ไป fix ด้วยวิธีของ De Grisse (1969) และทำสไลด์ถาวรด้วยวิธีประยุกต์จาก Cobb's method ระบุชนิดไส้เดือนฝอย จำนวน specimen วันที่เก็บตัวอย่าง พืชอาศัย และชื่อผู้เก็บ บนสไลด์

2.3 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

นำสไลด์ถาวรที่ได้มาตรวจดูลักษณะสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Olympus BX53 DIC Nomarski บันทึกข้อมูล ถ่ายภาพลำตัวทั้งหมด ส่วนหัว กลางลำตัว หาง stylet ลักษณะและตำแหน่งอวัยวะเพศ ระบบสืบพันธุ์ cuticle และลักษณะสำคัญอื่นที่ใช้ในการจัดจำแนก และ morphometric

3. การจำแนกชนิดไส้เดือนฝอย *Scutellonema* โดยเทคนิคทางชีวโมเลกุล (2566-2567)

3.1 การสกัดดีเอ็นเอ

นำตัวอย่างน้ำจากข้อ 1.2 (ชุดที่ 2) มาดำเนินการตามขั้นตอนเช่นเดียวกับข้อ 2. แต่หลังฆ่าไส้เดือนฝอยใน water bath 55 องศาเซลเซียส แล้ว ให้ดูดน้ำที่มีไส้เดือนฝอยที่ต้องการมาเก็บในหลอด eppendorf ขนาด 2 มล. และเติม DESS solution ปริมาตร 1 มล. ลงไปเพื่อเก็บรักษาไส้เดือนฝอยสำหรับสกัด DNA ต่อไป แต่ถ้าสามารถสกัด DNA จากตัวอย่างไส้เดือนฝอยที่มีชีวิตได้ทันที ให้ใช้เข็มตักไส้เดือนฝอยที่ต้องการศึกษาจำนวน 1 ตัว ใส่ในหลอด PCR ที่มีสารละลายของ 10M NaOH และ 0.45%Tween20 ในอัตราส่วน 10:1 ปริมาตร 12 ไมโครลิตร จากนั้นย้ายไปใส่ใน PCR Thermocycler ที่ 95 องศาเซลเซียส 15 นาที แล้วเติมน้ำกลั่นฆ่าเชื้อไปอีก 20 ไมโครลิตร จะได้ DNA templates ปริมาตร 35 ไมโครลิตร เก็บตัวอย่างที่ได้ในตู้ -20 องศาเซลเซียส เพื่อเพิ่มปริมาณ DNA ด้วย PCR ต่อไป

3.2 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายและตรวจสอบผลิตภัณฑ์ PCR

เพิ่มปริมาณ DNA ตำแหน่ง D2-D3 rDNA และ Cytochrome c oxidase subunits 1 (*COI*) ตามที่ศึกษาไว้โดย Kolombia *et al*. (2017) ใช้ DNA templates ปริมาตร 3 ไมโครลิตร ใส่หลอด PCR จากนั้นเติม PCR master mixed ปริมาตร 23 ไมโครลิตร ปิดฝาและเขียนกำกับบนหลอดให้เรียบร้อย ย้ายไปใสเครื่อง PCR Thermocycler ตามวิธีการของ Van den Berg *et al*. (2013) เมื่อปฏิกิริยาเสร็จสมบูรณ์ตรวจสอบดีเอ็นเอผลผลิตด้วย 1.2% agarose gel electrophoresis ที่เติม Redsafe Nucleic Acid Straining Solution ใน 1X TBE buffer ใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ นาน 30 นาที ตรวจดูแถบดีเอ็นเอผลผลิตในเจลภายใต้แสง UV ด้วยเครื่อง ChemiDoc Touch Imaging System (BioRad, USA)

3.3 การวิเคราะห์และตรวจสอบลำดับนิวคลิโอไทด์

นำดีเอ็นเอผลผลิตของส่วน D2-D3 rDNA และ *COI* ที่ได้ไปวิเคราะห์หาลำดับนิวคลิโอไทด์ (sequencing) จากนั้นทำการวิเคราะห์ลำดับนิวคลิโอไทด์ของไส้เดือนฝอยสกุล *Scutellonema* ที่ได้มาเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลจาก Genbank ด้วยโปรแกรม Blastn และวิเคราะห์ความผันแปรทางพันธุกรรมด้วยโปรแกรม Clustal Omega แล้วทำการจัดกลุ่มของไส้เดือนฝอยสกุล *Scutellonema* ด้วยโปรแกรม MEGA 10 (Kumar *et al.*, 2018) โดยเปรียบเทียบหาชนิดของไส้เดือนฝอยสกุล *Scutellonema* ที่เคยมีผู้ศึกษาไว้ก่อนแล้ว เช่น Kolombia *et al*. (2017) หรือลงทะเบียนลำดับนิวคลิโอไทด์เพิ่มเข้าไปในฐานข้อมูล GeneBank หากพบว่าเป็นไส้เดือนฝอยชนิดใหม่

4. การกระจายตัวของไส้เดือนฝอย *Scutellonema* ในประเทศไทย (2567)

บันทึกข้อมูลการสำรวจในระบบฐานข้อมูลที่ประกอบด้วยข้อมูลทางภูมิศาสตร์ (GPS coordinates) พืชอาศัย ระยะการเจริญเติบโต/อายุ ภาพถ่ายอาการพืช พื้นที่ปลูก สภาพดิน ฤดูปลูก และ/หรือ ข้อมูลอื่นที่เกี่ยวข้อง จากนั้นนำข้อมูล GPS ที่ได้มาจัดทำแผนที่การกระจายตัวของไส้เดือนฝอยพาหะนำไวรัสสาเหตุโรคพืชในประเทศไทย

การบันทึกข้อมูล

1. วัน เดือน ปีที่สำรวจหรือเก็บตัวอย่าง พิกัดภูมิศาสตร์ ภาพถ่ายแปลง ขนาดพื้นที่ปลูก จำนวนแปลง จำนวนตัวอย่าง ผู้เก็บ

2. ภาพถ่ายพืชที่แสดงอาการผิดปรกติ ระยะการเจริญเติบโตของพืช พืชข้างเคียง และสภาพแวดล้อมอื่น ๆ ประวัติการเพาะปลูกและ/หรือเกษตรกรเจ้าของแปลง (ถ้ามี)

3. ถ่ายภาพลักษณะสัณฐานวิทยาที่สำคัญของไส้เดือนฝอย เช่น ลำตัวทั้งหมด ส่วนหัว กลางลำตัว หาง

เวลาและสถานที่

- **ระยะเวลาดำเนินการ :** ตุลาคม 2564 – กันยายน 2567
- **สถานที่ดำเนินการ :** ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การสำรวจเก็บตัวอย่างดิน

เก็บตัวอย่างดินจากแปลงมันสำปะหลัง 173 ตัวอย่าง แปลงอ้อย 36 ตัวอย่าง และแปลงข้าวโพด 12 ตัวอย่าง

การแยกไส้เดือนฝอยออกจากตัวอย่างดิน

แยกไส้เดือนฝอยจากตัวอย่างดิน ตรวจพบไส้เดือนฝอยสกุล *Scuttellonema* จากตัวอย่างดินจากแปลงอ้อย 7 ตัวอย่าง ตรวจพบไส้เดือนฝอยศัตรูพืชอื่น ๆ รวม 9 สกุล คือ *Meloidogyne* spp.

Pratylenchus spp. *Tylenchorhynchus* spp. *Hirschmaniella* spp. *Helicotylenchus* spp. *Rotylenchulus* spp. *Hoplolaimus* spp. *Heterodera* spp. *Criconemoides* spp.

การคงสภาพและทำสไลด์ถาวรของไส้เดือนฝอย

1. เตรียมสารเคมี

Solution 1 (กรณีที่เตรียม 100 ml)

ประกอบด้วย Formalin 4% ปริมาตร 99 ml

Glycerine ปริมาตร 1 ml

Solution 2 (กรณีที่เตรียม 100 ml)

ประกอบด้วย Ethanol 96% ปริมาตร 95 ml

Glycerine ปริมาตร 5 ml

Solution 3 (กรณีที่เตรียม 100 ml)

ประกอบด้วย Ethanol 96% ปริมาตร 50 ml

Glycerine ปริมาตร 50 ml

2. คัดเลือกไส้เดือนฝอยที่แยกได้จากตัวอย่างดินใส่ลงใน staining box (embryo dish) ที่มีน้ำสะอาด นำ staining box ไปแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ที่ 55 องศาเซลเซียส ประมาณ 5 นาที เพื่อให้ไส้เดือนฝอยอยู่ในสภาพคลายตัว

3. ดูดน้ำใน staining box ออก ให้เหลือปริมาตรเพียงเล็กน้อย จากนั้นเติม **solution 1** 0.5 มิลลิลิตร นำ staining box ไปใส่ในโถดูดความชื้น ที่บรรจุเอทานอล 96 เปอร์เซ็นต์สูงประมาณ 1 เซนติเมตร แล้วนำไปใส่ตู้อบที่ 40 องศาเซลเซียส นานประมาณ 12 ชั่วโมง

4. นำ staining box ออกจากโถดูดความชื้น เติม **solution 2** 4 หยด นำไปใส่ตู้อบที่ 40 องศาเซลเซียส โดยนำกระจกปิด staining box ไว้ประมาณ 3/4 ส่วน เพื่อเปิดให้น้ำระเหยออกไปได้อย่างช้า ๆ และ glycerol ซึมเข้าแทนที่น้ำในตัวไส้เดือนฝอยอย่างช้า ๆ เติม solution 2 ทุก ๆ 1 ชั่วโมงจนครบ 4 ครั้ง

5. นำ staining box ออกจากตู้อบ เติม **solution 3** ลงใน staining box 5-6 หยด ปิดกระจกแล้วนำไปเก็บในโถดูดความชื้นที่มี silica gel เพื่อนำไส้เดือนฝอยที่คงสภาพแล้วไปทำสไลด์ถาวรต่อไป

การจำแนกชนิดไส้เดือนฝอย *Scutellonema* ทางสัณฐานวิทยา

ทำสไลด์ถาวรและจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอย *Scutellonema* ทางสัณฐานวิทยาโดยใช้แนวทางการจำแนกชนิดของ Kolombia *et al* (2017) ยังไม่สามารถจำแนกชนิดได้ชัดเจน จำเป็นต้องใช้ข้อมูลด้านอณูชีววิทยามาประกอบการจำแนกชนิดต่อไป

จัดทำแผนที่แสดงพิกัดการเก็บตัวอย่างดิน และพิกัดของตัวอย่างดินที่ตรวจพบไส้เดือนฝอย *Scutellonema*

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เก็บตัวอย่างดินจากแปลงมันสำปะหลัง 173 ตัวอย่าง แปลงอ้อย 36 ตัวอย่าง และแปลงข้าวโพด 12 ตัวอย่าง แยกไส้เดือนฝอยจากตัวอย่างดิน ตรวจพบไส้เดือนฝอยสกุล *Scuttellonema* จากตัวอย่างดินจากแปลงอ้อยจำนวน 7 ตัวอย่าง และ ตรวจพบไส้เดือนฝอยศัตรูพืชอื่น ๆ รวม 9 สกุล ได้แก่ *Meloidogyne* spp. *Pratylenchus* spp. *Tylenchorhynchus* spp. *Hirschmaniella* spp. *Helicotylenchus* spp. *Rotylenchulus* spp. *Hoplolaimus* spp. *Heterodera* spp. *Criconemoides* spp. ทำสไลด์ถาวรและจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอย *Scutellonema* ทางสัณฐานวิทยาโดยใช้แนวทางการจำแนกชนิดของ Kolombia *et al* (2017) แต่ยังไม่สามารถจำแนกชนิดได้ชัดเจน จำเป็นต้องใช้ข้อมูลด้านอณูชีววิทยามาประกอบการจำแนกชนิดต่อไป

เอกสารอ้างอิง

สืบศักดิ์ สนธิรัตน. 2538. *ไส้เดือนฝอยศัตรูพืชในประเทศไทย*. สำนักพิมพ์รั้วเขียว. กรุงเทพ. 275 หน้า

Asiedu, R. & Sartie, A. (2010). Crops that feed the World 1. Yams. Yams for income and food security. *Food Security* 2:305-315.

Tzortzakakis, E.A., Cantalapiedra-Navarrete C., Archidona-Yuste, A., Palomares-Rius, J. E. & Castillo, P. (2016). First Report of the Carolina Spiral Nematode, Scutellonema brachyurus, from Soil of a Garden in Crete, Greece. *Journal of Nematology* 48 (1) :7–7.

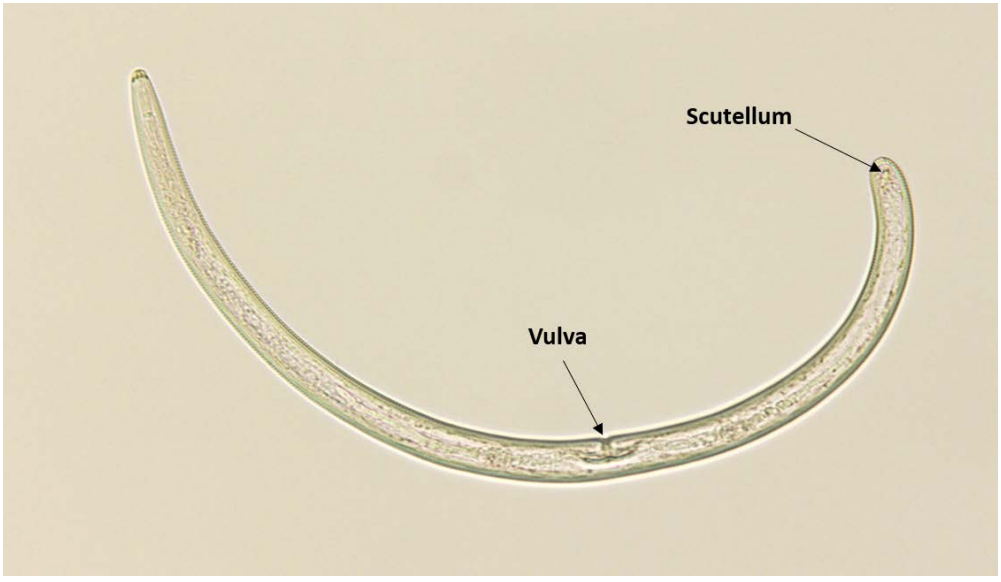


Figure 1 Scutellum is the key characteristic of *Scutellonema* sp.

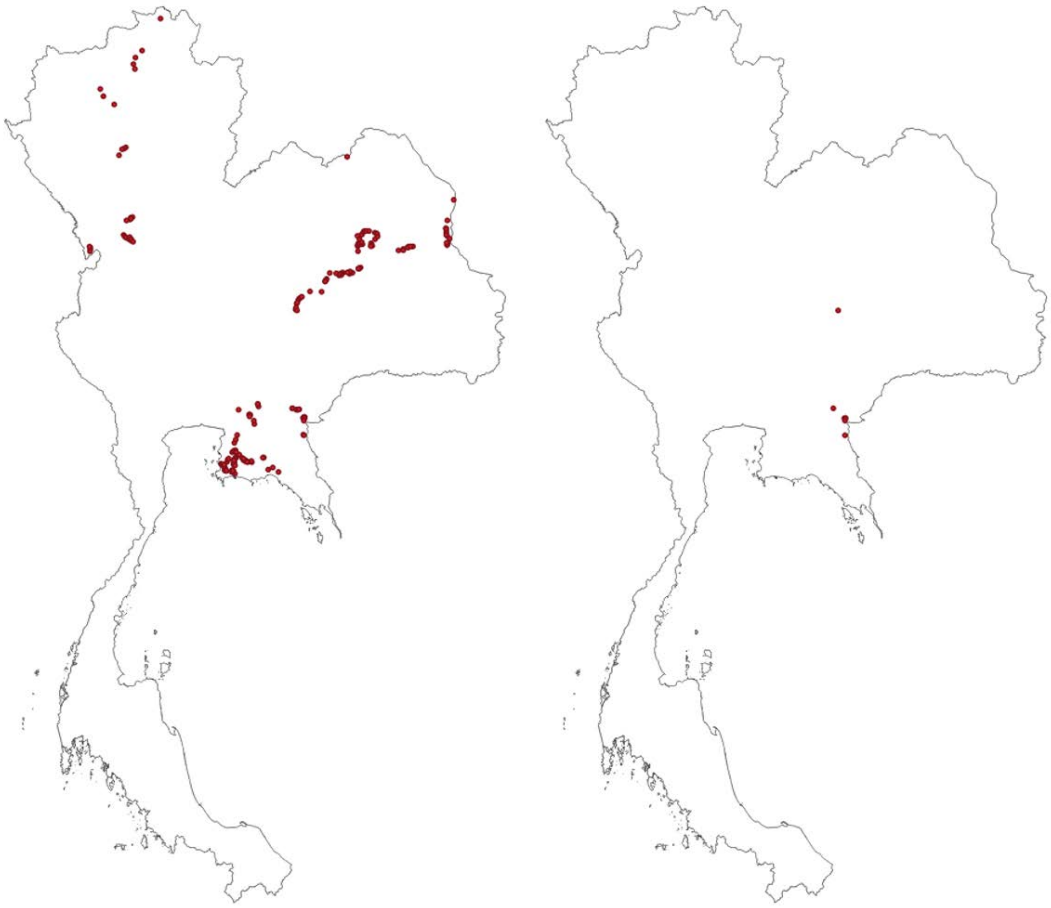


Figure 2 Locations where soil samples were collected, 173 samples from cassava fields, 36 samples from sugarcane fields and 12 samples from corn fields (left) locations where *Scutellonema* were found, 1 sample from a sugarcane field in Nakhon Ratchasima province and 6 samples from sugarcane fields in Sa Kaeo province (right)

อนุกรมวิธานของราน้ำค้างในพืชตระกูลแตงและพืชตระกูลกะหล่ำ

Taxonomy of Downy Mildew on Cucurbits and Crucifers

ชนินทร ดวงสอาด[1/] มะโนรัตน์ สุดสงวน[1/] วันวิสาข์ เพ็ชรอำไพ[1/] สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ[1/]
อมรรัชฎ์ คิดใจเดียว[1/] สุทธินี ลิขิตตระกูลรุ่ง[2/] สรัญญา วัลยะเสวี[3/]

[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 1
[3/]ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

รายงานความก้าวหน้า

สำรวจและเก็บตัวอย่างพืชตระกูลแตงและกะหล่ำที่มีลักษณะอาการคล้ายโรคราน้ำค้างจากแหล่งปลูกในจังหวัดกาญจนบุรี ราชบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี นนทบุรี ปทุมธานี สุพรรณบุรี เชียงใหม่ เชียงราย และเพชรบูรณ์ จำนวน 30 ตัวอย่าง นำมาตรวจดูลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบตัวอย่างที่มีโครงสร้างของเชื้อราน้ำค้าง จำนวน 12 ตัวอย่าง นำตัวอย่างที่พบโครงสร้างของเชื้อรามาทำการสกัดดีเอ็นเอ จำนวน 5 ไอโซเลต เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอต้นแบบด้วยเทคนิคพีซีอาร์ และส่งผลิตภัณฑ์พีซีอาร์เพื่อหาลำดับนิวคลีโอไทป์ ขณะนี้อยู่ระหว่างการวิเคราะห์ผลเพิ่มเติม

คำหลัก : สัณฐานวิทยา ราน้ำค้าง พืชตระกูลแตง พืชตระกูลกะหล่ำ

รหัสการทดลอง FF65-20-03-65-00-04-65

คำนำ

โรคราน้ำค้างในพืชตระกูลแตงและตระกูลกะหล่ำมีสาเหตุจากเชื้อรา *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. And Curt.) Rostw. และ *Peronospora parasitica* ตามลำดับ จัดอยู่ใน Phylum Oomycota Class Oomycetes Order Peronosporales Family Peronosporaceae มักพบระบาดในช่วงฤดูฝนและฤดูหนาวหรือช่วงสภาพอากาศเย็น มีความชื้นสูงและมีหมอกและน้ำค้างในช่วงเช้า พบระบาดทั่วทุกภาคของประเทศไทย หากระบาดรุนแรงจะทำให้ผลผลิตลดลง และมีคุณภาพต่ำ ราน้ำค้างสามารถกระจายโดยพลิวไปตามลม หยดน้ำฝน หรือ โดยเกษตรกรโดยการสัมผัส เนื่องจากราน้ำค้างสามารถเข้าทำลายพืชตระกูลแตงและตระกูลกะหล่ำได้หลายชนิด ทำให้พืชมีการตอบสนองต่อการเกิดโรคและแสดงอาการของโรคแตกต่างกันไป จากลักษณะอาการของโรคที่แสดงบนพืชแตกต่างกัน อาจเกี่ยวเนื่องจากความจำเพาะเจาะจงของเชื้อต่อพืชอาศัย การจำแนกชนิดของราน้ำค้างในระดับชีวโมเลกุลในประเทศไทยยังมีการศึกษาน้อย ประกอบกับชื่อชนิดของราน้ำค้างยังมีการเปลี่ยนแปลง ดังนั้น การจำแนกชนิดของราน้ำค้างจึงจำเป็นต้องศึกษาลักษณะอาการของโรคบนพืชอาศัยแต่ละชนิด ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อสาเหตุโรคควบคู่กับลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อราสาเหตุโรค เพื่อการจำแนกชนิดที่เป็นสากลและได้ชื่อที่เป็นปัจจุบันของเชื้อราน้ำค้าง

โรคราน้ำค้างในพืชตระกูลแตง สาเหตุจากเชื้อรา *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. And Curt.) Rostw. พบระบาดรุนแรงในช่วงที่มีสภาพอากาศเย็น มีความชื้นสูง มีหมอกและน้ำค้างในช่วงเช้า ลักษณะอาการในระยะแรกจุดสีเหลืองซีดบนผิวใบด้านบนต่อมาจะเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลจากกลางแผลและเมื่อพลิกดูใต้ใบจะพบกลุ่มสปอร์สีเทาดำอยู่บริเวณข้างใต้ใบที่พบแผลสีเหลือง แผลหรือจุดเหลืองมีลักษณะเป็นจุดเหลี่ยมอยู่ในขอบเขตของเส้นใบ หากอาการรุนแรงใบที่เป็นโรคจะค่อยๆ แห้งลง แต่ไม่หลุดร่วงจากเถา หากเกิดโรคในระยะกล้าหรือตอนต้นเล็กๆจะทำให้เถาแห้งตาย แต่หากพบโรคในระยะผลอ่อนจะทำให้ผลมีขนาดลีบเล็ก บิดเบี้ยว แคระแกร็น และคุณภาพต่ำ (ชนินทร, 2551; 2554)

โรคราน้ำค้างในพืชตระกูลกะหล่ำ สาเหตุจากเชื้อรา *Peronospora parasitica* ลักษณะอาการเริ่มแรกเกิดแผลสีเหลืองซีดที่ผิวใบจากนั้นแผลจะเริ่มขยายออกเป็นแผลสีเหลืองคล้ำและกระจายเป็นหย่อมๆ เมื่อพลิกดูใต้ใบจะพบเชื้อราสาเหตุโรคลักษณะเป็นขุยสีขาวอมเทา เชื้อราสาเหตุโรคสร้างเส้นใยแบบไม่มีผนังกั้นตามขวาง มี sporangiophore ลักษณะเรียวยาว แตกกิ่ง เป็นมุมแหลม ส่วนปลายเรียวยาวและโค้งเล็กน้อย สร้าง sporangium ลักษณะกลม หรือรูปไข่ (พีระวรรณและคณะ, 2551)

จากข้อมูลในข้างต้นจะเห็นได้ว่าการศึกษาและการจำแนกชนิดของราน้ำค้างส่วนใหญ่ใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียว อาจมีบางรายงานที่มีการนำข้อมูลทางด้านชีวโมเลกุลมาประกอบการจำแนก แต่อย่างไรก็ตามข้อมูลที่นำมาใช้ยังมีความหลากหลายไม่มากพอ อีกทั้งราน้ำค้างสามารถเข้าทำลายพืชได้หลายชนิดและมีพืชอาศัยที่กว้าง การจำแนกชนิดของราน้ำค้าง โดยใช้ข้อมูลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาควบคู่กับข้อมูลทางด้านชีวโมเลกุลที่มีความหลากหลาย

มากขึ้นจะช่วยในการจำแนกชนิดของราน้ำค้างในแต่ละสปีชีส์ได้ถูกต้องและแม่นยำมากยิ่งขึ้น ดังนั้น การศึกษาราน้ำค้างโดยใช้ข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยาและข้อมูลทางด้านชีวโมเลกุลร่วมด้วยจึงมีความสำคัญทำให้ได้ข้อมูลพื้นฐานในการจำแนกชนิดของราในกลุ่มนี้ นอกจากนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลในการศึกษาวิวัฒนาการของราสาเหตุโรคพืชกับพืชอาศัยต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ ถุงพลาสติก ถุงกระดาษ กรรไกรตัดแต่งกิ่ง ไม้ทับตัวอย่าง กระดาษหนังสือพิมพ์ ซองกระดาษสำหรับเก็บและรักษาตัวอย่าง

- อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง (centrifuge) เครื่อง Polymerase chain reaction (PCR machine) เครื่องเขย่า (vortex) เครื่อง tissue lyser เครื่องกำเนิดกระแสไฟ gel plate comb gel tank เครื่องถ่ายภาพเจล ไมโครเวฟ ไมโครปิเปต ขนาด 10 100 200 และ 1000 ไมโครลิตร กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และ compound พร้อมอุปกรณ์ถ่ายภาพ heat block เข็มเขี่ยปลายแหลม ปากคีบ มีดผ่าตัด

- วัสดุในห้องปฏิบัติการ กระจกสไลด์ กระจกปิดสไลด์ tips ขนาด 10 100 200 และ 1000 ไมโครลิตร PCR tube ใบมีดผ่าตัด

- อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ บิกเกอร์ ขวดดูแรน กระบอกตวง ตะเกียงแอลกอฮอล์ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ

- สารเคมี ได้แก่ เอนไซม์สำหรับทำปฏิกิริยา Taq DNA Polymerase Proteinase K enzyme Lithium Borate buffer (LB) ชุดสำหรับการสกัดดีเอ็นเอ และชุดสำหรับการสกัดเจล ชุดสำหรับทำความสะอาดดีเอ็นเอ Stain G loading dye agarose gel (PCR grade) PCR water DNA ladder และไพรเมอร์

- Sequence assemble programs เช่น Geneious Prime 2022

วิธีการ

1. การเก็บตัวอย่างโรคราน้ำค้าง (2565-2567)

เก็บตัวอย่างโรคราน้ำค้างจากแปลงปลูกพืชตระกูลแตง เช่น แตงกวา บวบ แคนตาลูป เป็นต้น และพืชตระกูลกะหล่ำ เช่น กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก คะน้า เป็นต้น โดยห่อด้วยกระดาษ ใส่ถุงพลาสติก และบันทึกรายละเอียด ชนิดพืช แหล่งที่เก็บ วันที่เก็บ ผู้เก็บ ข้อมูลพิกัดภูมิศาสตร์ และแบ่งตัวอย่างโรคพืชมาอัดทับตัวอย่างแห้ง จัดเก็บในพิพิธภัณฑ์โรคพืช ตึกอิงคศรีกสิการ กลุ่มวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร

2. ศึกษาและจำแนกชนิดของเชื้อราน้ำค้างโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (2565-2567)

2.1 ศึกษาลักษณะอาการของโรคและแยกเชื้อราโดยตรงจากชิ้นส่วนพืช ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอหรือ moist chamber บ่มที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ ประมาณ 1-2 วัน

ติดตามผลทุกวัน โดยตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ เมื่อพบเส้นใยหรือสปอร์ใช้เข็มเขี่ยส่วนของเชื้อรามาวางบนแผ่นสไลด์ หยดด้วย shear's solution ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ (cover slip)

2.2 ตัดขวาง (cross section) เนื้อเยื่อพืช โดยนำส่วนของพืชที่เป็นโรคมาตรวจดูโครงสร้างของราน้ำค้างภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอและตัดขวางเนื้อเยื่อบริเวณที่มีราน้ำค้างเจริญอยู่วางบนแผ่นสไลด์หยดด้วย shear's solution ปิดด้วยแผ่นกระจกปิดสไลด์ นำไปตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound เพื่อศึกษาลักษณะโครงสร้างต่าง ๆ ของเชื้อราน้ำค้าง

2.3 ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ ได้แก่ ลักษณะรูปร่าง ขนาด สีของสปอร์ และก้านชูสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอและ compound บันทึกรูปร่าง และขนาด พร้อมทั้งถ่ายภาพด้วยกล้องถ่ายภาพ และจำแนกชนิดของเชื้อราน้ำค้างโดยเปรียบเทียบลักษณะของเชื้อราน้ำค้างที่ทำการศึกษากับคู่มือการจัดจำแนกเชื้อราน้ำค้าง โดยสามารถใช้ข้อมูลบางส่วนจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้องซึ่งได้มีการศึกษาและจำแนกชนิดของเชื้อราน้ำค้างเพื่อประกอบการวิเคราะห์ต่อไป

3. การจำแนกชนิดของราน้ำค้างโดยใช้ข้อมูลพันธุกรรม (2565-2567)

การสกัดดีเอ็นเอ

นำเส้นใยของราน้ำค้างประมาณ 0.2-0.5 กรัม ใส่ลงในหลอดสำหรับสกัดดีเอ็นเอ ทำการสกัดตามวิธีของ Doungsa-ard *et al*. (2015) เก็บรักษาดีเอ็นเอไว้ที่อุณหภูมิ -20 หรือ -40 องศาเซลเซียส เพื่อรักษาสภาพและคุณภาพของดีเอ็นเอ

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมาย

ทดสอบหาอุณหภูมิที่เหมาะสมของคู่ไพร์เมอร์ของตำแหน่ง Large Subunit (LSU) และ cytochrome c oxidase (cox2) จากนั้นนำดีเอ็นเอที่สกัดได้จากแต่ละตัวอย่าง มาทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายตำแหน่ง LSU และ cox2 ด้วยวิธี Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยใช้ Taq DNA Polymerase ใช้ cycling และ condition ของปฏิกิริยาตามที่ผู้ผลิตแนะนำ

การตรวจสอบผลิตภัณฑ์ PCR

ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำ PCR โดยตรวจสอบขนาดของชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่ต้องการด้วยวิธี อิเล็กโทรโฟรีซิส (electrophoresis) ทำการผสมผลิตภัณฑ์ PCR ด้วย loading dye และ stain ในปริมาตร 4 1 และ 1 ไมโครลิตร ตามลำดับ ผสมให้เข้ากันจากนั้นหยอดลงใน agarose gel ที่ความเข้มข้น 1% ให้ผลิตภัณฑ์ PCR เคลื่อนที่ผ่านสารละลาย Lithium Borate buffer (LB buffer) ส่งผลิตภัณฑ์ PCR ไปยัง บริษัท Macrogen ประเทศเกาหลีใต้ เพื่อทำให้ผลิตภัณฑ์ PCR บริสุทธิ์ และหาลำดับนิวคลิโอไทด์

การวิเคราะห์ และตรวจสอบลำดับนิวคลิโอไทด์

นำข้อมูลลำดับนิวคลิโอไทด์ (sequence) ที่ได้จากการทดลองมาทำการวิเคราะห์โดยนำ forward sequence และ reverse sequence ที่ได้มาเปรียบเทียบเทียบกัน โดยใช้โปรแกรม Geneious Prime 2022 (http://www.geneious.com; Kearse *et al*., 2012) จะบันทึกข้อมูลของลำดับนิวคลิโอไทด์ในรูปแบบไฟล์ fasta ทำการตรวจสอบความถูกต้องของชนิดของจุลินทรีย์ที่

ทำการศึกษากับฐานข้อมูลทางพันธุกรรม เช่น Mycobank GenBank โดยเลือกวิธีเปรียบเทียบกับ type sequence

การจัดเรียงลำดับนิวคลิโอไทด์

นำ contig ของลำดับนิวคลิโอไทด์ (consencus sequence ที่บันทึกไว้ในรูปแบบ fasta ไฟล์) ที่ได้จากการทดลองและจากการรวบรวมข้อมูล มาจัดเรียง (align) ด้วยโปรแกรม MAFFT 6.611 (Katoh and Toh, 2008) จากนั้นตรวจสอบการจัดเรียง (alignment) โดยวิธี MUSCLE ในโปรแกรม MEGA 7 (Kumar *et al*., 2018) จากนั้นใช้โปรแกรม Gblocks (Talavera and Castresana, 2007) ทำการรวมชุดข้อมูลของดีเอ็นเอตำแหน่ง LSU และ cox2 เป็น combined dataset

วิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการเพื่อการจัดจำแนก

ประมวลผลและวิเคราะห์ข้อมูล ใช้เกณฑ์มาตรฐานคือ Maximum Likelihood โดยเตรียมชุดของข้อมูลที่จะใช้ในการวิเคราะห์ดังนี้ Maximum Likelihood (ML) เตรียมไฟล์ .phy ใช้โปรแกรม RAxML v8.1.15 (Stamatakis, 2014) ในการวิเคราะห์ กำหนดค่า model of evolution แบบ GTRGAMMA วิเคราะห์ด้วย rapid bootstrap (command –f a) เริ่มวิเคราะห์จาก random starting tree และ กำหนดค่า 1000 ซ้ำ สำหรับ maximum likelihood bootstrap

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

เก็บรักษาสายพันธุ์เชื้อราใน culture collection ดีเอ็นเอต้นแบบ (DNA templates) ข้อมูลรหัสดีเอ็นเอ (DNA barcodes หรือ consensus sequences) จะถูกเก็บบันทึกและใช้เป็นข้อมูลประกอบในการศึกษาด้านวิวัฒนาการต่อไป จัดเก็บดีเอ็นเอต้นแบบไว้ที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส ณ พิพิธภัณฑ์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน 2565

แปลงปลูกพืชตระกูลแตงและกะหล่ำ จังหวัดกาญจนบุรี ราชบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี นนทบุรี ปทุมธานี เชียงใหม่ เชียงราย และเพชรบูรณ์

กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การเก็บตัวอย่างโรคราน้ำค้าง

ตัวอย่างโรคพืชที่แสดงอาการโรคราน้ำค้างจากแหล่งปลูกพืชตระกูลแตงและกะหล่ำในจังหวัดกาญจนบุรี ราชบุรี นครปฐม นนทบุรี ปทุมธานี สุพรรณบุรี เชียงใหม่ เชียงราย และเพชรบูรณ์ จำนวน 30 ตัวอย่าง (Figure 1) จากการตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ พบตัวอย่างที่

มีโครงสร้างของเชื้อราน้ำค้าง จำนวน 12 ตัวอย่าง ดังนี้ พืชตระกูลแตง จำนวน 7 ตัวอย่าง ได้แก่ แตงกวา จำนวน 4 ตัวอย่าง บวบ 2 ตัวอย่าง และแตงไทย 1 ตัวอย่าง พืชตระกูลกะหล่ำ จำนวน 5 ตัวอย่าง ได้แก่ คะน้า 2 ตัวอย่าง และผักกาดขาว 3 ตัวอย่าง ได้ตัวอย่างแห้งโรคราน้ำค้างเพื่อใช้เป็นหลักฐานอ้างอิง จำนวน 12 ตัวอย่าง นำเข้าเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

อาการของราน้ำค้างในพืชตระกูลแตง

อาการเริ่มแรกเกิดจุดช้ำน้ำบริเวณใบ ต่อมาแผลเริ่มมีสีเหลืองซีดที่ผิวใบและเริ่มขยายออกเป็นแผลสีเหลืองและกระจายเป็นหย่อมๆ เมื่อพลิกดูใต้ใบจะพบเชื้อราสาเหตุโรคลักษณะเป็นขุยสีขาว สีเทาอ่อนจนถึงเทาเข้ม เมื่ออาการรุนแรงใบจะไหม้และแห้งตาย (Figure 2A, B)

อาการของราน้ำค้างในพืชตระกูลกะหล่ำ

อาการเริ่มแรกเกิดแผลสีเหลืองซีดที่ผิวใบ ต่อมาแผลมีสีเหลืองคล้ำเริ่มขยายขนาดและกระจายเป็นหย่อมๆ หากระบาดรุนแรงใบจะเป็นเปื้อนเหลืองและไหม้ เมื่อพลิกดูใต้ใบจะพบเชื้อราสาเหตุโรคลักษณะเป็นขุยสีขาวอมเทา (Figure 2C, D)

2. ศึกษาและจำแนกชนิดของเชื้อราน้ำค้างโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

นำตัวอย่างราน้ำค้างที่ได้มาทำสไลด์เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานของเชื้อรา ได้แก่ ลักษณะรูปร่าง ขนาด และสีของสปอร์แรงเจียมและก้านชูสปอร์ของเชื้อราน้ำค้าง ดังนี้

ลักษณะทางสัณฐานของเชื้อราน้ำค้างที่พบในพืชตระกูลแตง (Figure 3A)

เชื้อราสร้างเส้นใยแบบไม่มีผนังกั้นตามขวางและสร้างโครงสร้างขยายพันธุ์ เรียกว่า สปอร์แรงเจีย (sporangia) มีลักษณะรูปร่างคล้ายเลมอน (lemon-shaped) ปลายสปอร์แรงเจียมี papilla ที่ชัดเจน ผนังเรียบ มีสีเทาอ่อนจนถึงเทาเข้ม เกิดบนปลายของก้านชูสปอร์ (sporangiophores) ก้านชูสปอร์มีลักษณะเรียวยาวบริเวณปลายแตกแขนงเป็นมุมแหลม

ลักษณะทางสัณฐานของเชื้อราน้ำค้างที่พบในพืชตระกูลกะหล่ำ (Figure 3B)

เชื้อราสาเหตุโรคสร้างเส้นใยแบบไม่มีผนังกั้นตามขวาง และสร้างโครงสร้างขยายพันธุ์ เรียกว่า สปอร์แรงเจีย (sporangia) มีลักษณะกลม หรือรูปไข่ ไม่มีสี ผนังเรียบ เกิดบนปลายของก้านชูสปอร์ (sporangiophores) ก้านชูสปอร์มีลักษณะเรียวยาว แตกกิ่ง เป็นมุมแหลม ส่วนปลายเรียวยาวและโค้งเล็กน้อย สร้าง sporangium

3. การจำแนกชนิดของราน้ำค้างโดยใช้ข้อมูลพันธุกรรม

ได้ดำเนินการสกัดดีเอ็นเอของเชื้อรา จำนวน 5 ไอโซเลต ทำพีซีอาร์ไปที่บริษัท Macrogen ประเทศเกาหลีใต้ ส่งผลิตภัณฑ์พีซีอาร์เพื่อหาลำดับนิวคลีโอไทป์ ขณะนี้อยู่ระหว่างการวิเคราะห์ผลเพิ่มเติม

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เก็บตัวอย่างพืชตระกูลแตงและกะหล่ำที่มีลักษณะอาการคล้ายโรคราน้ำค้าง จำนวน 30 ตัวอย่าง พบตัวอย่างที่มีโครงสร้างของราน้ำค้าง จำนวน 12 ตัวอย่าง นำตัวอย่างที่พบโครงสร้างของเชื้อรามาทำการสกัดดีเอ็นเอ จำนวน 5 ไอโซเลต ทำพีซีอาร์ไปยังบริษัท Macrogen ประเทศเกาหลีใต้ ส่งผลิตภัณฑ์พีซีอาร์เพื่อหาลำดับนิวคลีโอไทป์ ขณะนี้อยู่ระหว่างการวิเคราะห์ผลเพิ่มเติม เนื่องจากงานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยต่เนื่อง 3 ปี และปีนี้เป็นปีที่ 1 จึงจำเป็นต้องมีการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างเพิ่มเติมเพื่อวิเคราะห์ผลต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณพี่ๆ และน้องๆ กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช ที่ให้ความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่าง การดำเนินการทดลอง และการเก็บข้อมูลในการทำงานวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

ชนินทร ดวงสอาด. 2551. พืชตระกูลแตง: โรคราน้ำค้าง. หน้า 60. *ใน* : สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ผู้รวบรวม. *คู่มือโรคผัก*. สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าเกษตร กรมวิชาการเกษตร. บริษัทเอ-วันฟิวเจอร์ จำกัด, จังหวัดนนทบุรี.

ชนินทร ดวงสอาด. 2554. พืชตระกูลแตง: โรคราน้ำค้าง. หน้า 61-63. *ใน* : กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ผู้รวบรวม. *โรคผักและการป้องกันกำจัด*. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

พีระวรรณ พัฒนวิภาส อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ พรพิมล อธิปัญญาคม และศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช. 2551. สำรวจ รวบรวมและจำแนกโรคราน้ำค้างในประเทศไทย. หน้า 3-4. *ใน : การประชุมสัมมนา วิชาการอารักขาพืช ประจำปี 2551*, 6-8 สิงหาคม 2551. ณ ชลพฤกษ์ รีสอร์ท จ. นครนายก

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.

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

Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., Buxton, S., Cooper, A., Markowitz, S., Duran, C., Thierer, T., Ashton, B., Mentjies, P. and A. Drummond. 2012. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop

software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* 28(12): 1647-1649.

Kumar, S., G. Stecher and K. Tamura. 2018. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. Molecular Evolutionary Genetics Analysis.

Talavera, G. and J. Castresana. 2007. Improvement of Phylogenies after Removing Divergent and Ambiguously Aligned Blocks from Protein Sequence Alignments. *Systematic Biology* 56(4): 564–577.

Figure 1 Cucurbits and crucifers in field

Figure 2 Symptoms of downy mildew on cucurbits (A and B) and crucifers (C and D)

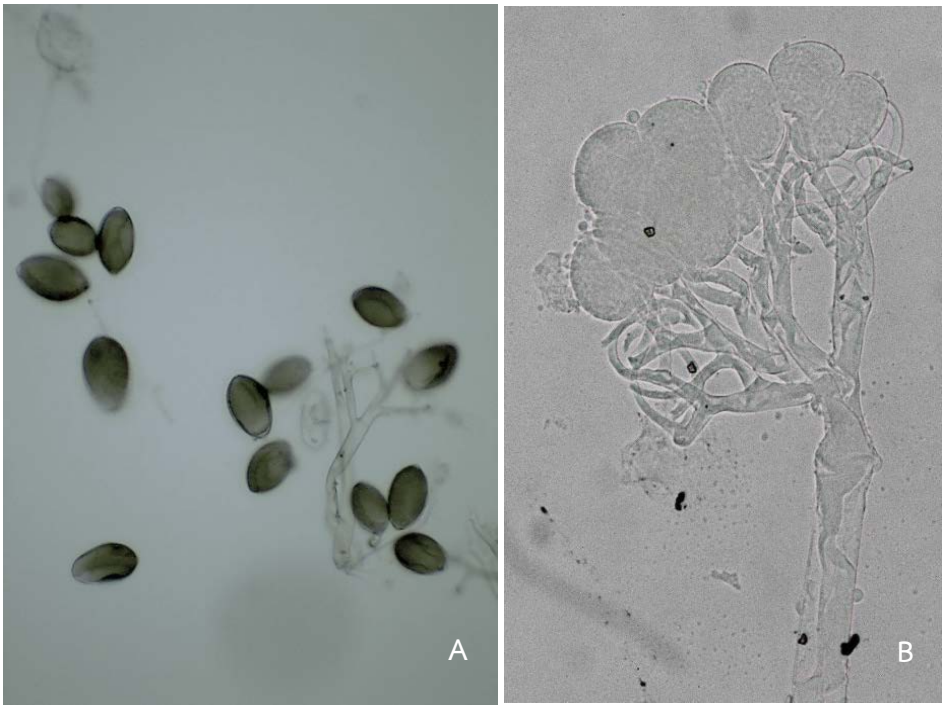


Figure 3 Sporangiophore and sporangium of downy mildew on cucurbit (A) and crucifer (B)

การจำแนกชนิดและคุณลักษณะชีวโมเลกุลของเชื้อไวรัสที่ก่อให้เกิดโรคในมันเทศ

Identification and molecular characterization of viruses infecting sweet potato

ภูวนารถ มณีโชติ ณฐมน แก้วนุ้ย ชนินทร ดวงสอาด ทิพวรรณ กันหาญาติ
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

เก็บตัวอย่างมันเทศที่แสดงอาการของโรคไวรัสในแปลงปลูกจังหวัดสุพรรณบุรี จำนวน 4 แปลง รวมทั้งสิ้น 49 ตัวอย่าง นำมาตรวจสอบเชื้อไวรัสในห้องปฏิบัติการด้วยเทคนิค RT-PCR ด้วยไพรเมอร์ที่จำเพาะเจาะจงกับชนิดเชื้อไวรัส จำนวน 10 ชนิด ผลปรากฏว่าพบเชื้อไวรัสในมันเทศจำนวน 2 ชนิด ได้แก่ *Sweet potato feathery mottle virus* (SPFMV) และ *Sweet potato chlorotic stunt virus* (SPCSV) และได้กำหนดสายพันธุ์และเก็บรวบรวมเชื้อไวรัสในต้นมันเทศไว้ที่โรงเรือนกลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช

คำหลัก : มันเทศ โรคมันของมันเทศ โรคไวรัสของมันเทศ

รหัสการทดลอง FF65-20-03-65-00-05-65

คำนำ

มันเทศถือเป็นพืชสำคัญชนิดหนึ่งที่นิยมปลูกกันอย่างแพร่หลายในประเทศไทย เนื่องจากเป็นพืชที่มีคุณค่าทางอาหารสูง เช่น วิตามินเอ วิตามินซี ธาตุเหล็ก โพแทสเซียม เส้นใยอาหาร รวมถึงปริมาณแป้งสูง นอกจากนี้ยังพบว่ามีการนำมาใช้ในอุตาสาหกรรมผลิตก๊าซชีวภาพ (Biofuel) อีกด้วย (Kim *et al*., 2017) จากรายงานโรคไวรัสของมันเทศพบว่ามีเชื้อไวรัสมากว่า 30 ชนิด (Clark *et al*., 2012) เช่น ไวรัสในสกุล *Begomovirus, Carlavirus, Cavemovirus, Crinivirus, Cucumovirus, Enamovirus, Ipomovirus, Nepovirus, Potyvirus, Solendovirus* และ *Tospovirus* เป็นต้น และยังพบว่ามันเทศที่มีเชื้อไวรัสเข้าทำลายมากกว่า 1 ชนิดนั้นส่งผลให้ผลผลิตเสียหายมากถึง 80-90 เปอร์เซ็นต์ เช่น การเข้าทำลายร่วมกันของเชื้อไวรัส 2 ชนิด ได้แก่ *Sweet potato chlorotic stunt virus* (SPCSV; Crinivirus) และ *Sweet potato feathery mottle virus* (SPMMV; Ipomovirus) (Loebenstein and Thottappilly, 2009; Mukasa *et al*., 2006) ลักษณะอาการของมันเทศที่ถูกเชื้อไวรัสเข้าทำลายส่วนใหญ่จะแสดงอาการใบด่าง อาการจุดด่าง เนื้อใบมีสีม่วง เส้นใบใส ใบหงิกและเสียรูป ลำต้นไม่เติบโตแคระแกร็นและหัวมันเทศมีขนาดเล็ก (Kwak *et al*., 2014) สำหรับประเทศไทยนั้นการปลูกมันเทศที่กระจายไปตามแหล่งปลูกต่างๆ ในหลายจังหวัดได้ประสบกับปัญหาโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส แต่ยังพบว่าข้อมูลของเชื้อไวรัสสาเหตุของโรคนั้นยังมีมากพอ ดังนั้นหากได้มีการจำแนกชนิดศึกษาคุณลักษณะของเชื้อไวรัสอย่างถูกต้องจะสามารถช่วยให้สามารถควบคุมหรือวางแนวทางการแก้ปัญหาเพื่อลดความเสียได้อย่างมีประสิทธิภาพ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างมันเทศที่แสดงอาการเป็นโรคไวรัส
2. สารเคมี ได้แก่

- ชุดไพรเมอร์สำหรับสังเคราะห์สารพันธุกรรมเชื้อไวรัส
- ไนโตรเจนเหลว
- ชุดสกัด FavorPrep Plant Total RNA Purification Mini Kit (Favorgen, Taiwan)
- ชุดสกัด FavorPrep Plant Genomic DNA Extraction 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 ได้แก่

- โกร่งบดตัวอย่างพืช

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

วิธีการ

1. การสำรวจและเก็บตัวอย่างมันเทศที่แสดงอาการของโรคไวรัส

สำรวจและเก็บตัวอย่างมันเทศที่มีลักษณะอาการใบด่างหรือด่างประ เส้นใบและเนื้อใบม่วง เส้นใบใส ใบเสียรูปทรง ใบม้วนและหงิกงอ จากแหล่งปลูกมันเทศในจังหวัดสุพรรณบุรี กาญจนบุรี พิจิตร และ เชียงใหม่ โดยบันทึกลักษณะอาการที่พบในแปลงปลูกและบันทึกพิกัดทางภูมิศาสตร์และถ่ายภาพในแปลงปลูก

2. การสกัดสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสในมันเทศ

สกัดดีเอ็นเอด้วยชุดสกัดสำเร็จรูป Plant Genomic DNA Extraction Mini Kit (FAVORGEN, Taiwan) และสกัดอาร์เอ็นเอด้วยชุดสกัดสำเร็จรูป Plant Total RNA Mini Kit (FAVORGEN, Taiwan) โดยชั่งตัวอย่างใบมันเทศปริมาณ 100 มิลลิกรัม และสกัดดดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิต

3. ไพรเมอร์และการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของเชื้อไวรัส

3.1 ไพรเมอร์ที่จำเพาะสำหรับตรวจสอบเชื้อไวรัส

ไพรเมอร์ที่ใช้สำหรับตรวจสอบเชื้อไวรัสแต่ละชนิดในมันเทศ ตามที่แสดงใน Table 1

3.2 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบางส่วนของเชื้อไวรัสด้วยเทคนิค PCR

โดยใช้ส่วนผสมของ 2x Green PCR master mix (Biotechrabbit, Germany) ทำปฏิกิริยาในหลอดพีซีอาร์ขนาด 200 ไมโครลิตร ปริมาตรส่วนผสมรวม 20 ไมโครลิตรประกอบด้วย

Nuclease free water	5	ไมโครลิตร
2x Green PCR master mix	10	ไมโครลิตร
10 pmole Forward	1	ไมโครลิตร
10 pmole Reverse	1	ไมโครลิตร
DNA template	3	ไมโครลิตร

ผสมส่วนผสมให้เข้ากันดี แล้วนำไปเข้าเครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (thermal cycler) โดยทำปฏิกิริยาการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ดังนี้

1) Pre-denaturation 94 °C 5 นาที

2) Three step-cycling 35 cycles

Denaturation 94 °C 30 วินาที

Annealing	XX °C	30 วินาที (อุณหภูมิที่ใช้ขึ้นอยู่ค่า Tm ของแต่ละไพรเมอร์)
Extension	72 °C	60 วินาที
3) Final extension	72 °C	5 นาที

3.3 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบางส่วนของเชื้อไวรัสด้วยเทคนิค One Step RT-PCR

โดยใช้ส่วนผสมของ One step RT-PCR (Biotechrabbit, Germany) ทำปฏิกิริยาในหลอดพีซีอาร์ขนาด 200 ไมโครลิตร ปริมาตรส่วนผสมรวม 20 ไมโครลิตรประกอบด้วย

Nuclease free water	4	ไมโครลิตร
2x One Step Master Mix	10	ไมโครลิตร
10 pmole Forward	1	ไมโครลิตร
10 pmole Reverse	1	ไมโครลิตร
20X RT-RI Blend	1	ไมโครลิตร
RNA template	3	ไมโครลิตร

ผสมส่วนผสมให้เข้ากันดี แล้วนำไปเข้าเครื่องควบคุมอุณหภูมิ (thermal cycler) โดยทำปฏิกิริยาในการสังเคราะห์ดังนี้

1) First strand synthesis	50 °C	30 นาที
Pre-denaturation	94 °C	5 นาที
2) Three step-cycling	35 cycles	
Denaturation	94 °C	30 วินาที
Annealing	XX °C	30 วินาที (อุณหภูมิที่ใช้ขึ้นอยู่ค่า Tm ของแต่ละไพรเมอร์)
Extension	72 °C	60 วินาที
3) Final extension	72 °C	5 นาที

เมื่อปฏิกิริยาเสร็จสมบูรณ์ตรวจสอบดีเอ็นเอผลผลิตด้วย 1.2% agarose gel electrophoresis ที่เติม Redsafe Nucleic Acid Straining Solution ใน 1X TAE buffer ใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ นาน 30 นาที ตรวจดูแถบดีเอ็นเอผลผลิตในเจลภายใต้แสง UV ด้วยเครื่อง ChemiDoc Touch Imaging System (BioRad, USA)

4. การวิเคราะห์ลำดับนิวคลิโอไทด์บางส่วนและการจำแนกชนิดเชื้อไวรัส

วิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอผลผลิตจากปฏิกิริยา RT-PCR มาเปรียบเทียบกับเชื้อไวรัสชนิดต่าง ๆ ด้วยโปรแกรม Blastn (http://www.ncbi. nlm.nih.gov/Blast) ที่อยู่ในฐานข้อมูล GenBank เพื่อจำแนกและจัดกลุ่มของไวรัสที่ก่อโรคในมันเทศ

5. การวิเคราะห์จีโนมที่สมบูรณ์ของไวรัสแต่ละชนิดด้วยเทคนิค Whole Genome Sequencing

ทำการสกัดดีเอ็นเอรวมและอาร์เอ็นเอรวม ตามวิธีการข้อ 2.1 และ 2.2 ตามลำดับ จากนั้นนำมาตรวจสอบความบริสุทธิ์และความเข้มข้นด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 230, 260 และ 280 นาโนเมตร แล้วนำมาหาค่าความบริสุทธิ์ด้วยค่าสัดส่วน A260/A280 = 1.8 - 2.2

สำหรับความเข้มข้นต้อง ≥ 2 นาโนกรัม/ไมโครลิตร สำหรับความเข้มข้นสำหรับการวิเคราะห์ต้อง ≥ 300 นาโนกรัม เมื่อเตรียมดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอได้ตามข้อกำหนดแล้ว จึงส่งไปทำการวิเคราะห์จีโนมด้วยเครื่อง Illuminar Hiseq 150 PE และวิเคราะห์ข้อมูลชีวสารสนเทศโดย บริษัท วิชูโอไบโอเมดิคอล (ไทยแลนด์) จำกัด เมื่อตรวจสอบความถูกต้องของจีโนมที่สมบูรณ์ของเชื้อไวรัสแต่ละชนิดที่พบเข้าก่อโรคมันเทศแล้วจึงทำการฝากข้อมูลจีโนมเข้าสู่ฐานข้อมูลของ GenBank ต่อไป

6. การพัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อไวรัสที่ก่อโรคในมันเทศด้วยเทคนิค Multiplex RT-PCR

เนื่องจากโรคไวรัสของมันเทศอาจจะมีการเข้าก่อโรคได้มากกว่า 1 ชนิดนั้น จากข้อมูลการจำแนกชนิดตามข้อ 3 และข้อมูลจีโนมที่สมบูรณ์ของไวรัสแต่ละชนิดตามข้อ 5 นั้น สามารถนำมาพัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อไวรัสที่เข้าก่อโรคหลายชนิดจากการตรวจสอบในสภาวะและหลอดเดียวกันได้ด้วยเทคนิค Multiplex RT-PCR โดยทำการออกแบบไพรเมอร์ให้มีความจำเพาะต่อชนิด (species) ในแต่ละวงศ์ (Family) เช่น ชนิดของไวรัสในวงศ์ *Potyviridae* หรือ วงศ์ *Closteroviridae* เป็นต้น ไพรเมอร์ที่ออกแบบจะต้องมีค่า Melting Temperature (Tm) ที่ใกล้เคียงกันเพื่อให้มีสภาวะในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอร่วมกันได้ ส่วนขนาดของชิ้นดีเอ็นผลผลิตจากการทำปฏิกิริยานั้นจะต้องมีความแตกกันและสามารถแยกออกจากกันได้อย่างชัดเจน

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2564 – กันยายน 2567

1. แปลงปลูกมันเทศในจังหวัดสุพรรณบุรี กาญจนบุรี พิจิตร ลำพูน เชียงราย และ เชียงใหม่
2. ห้องปฏิบัติการไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การตรวจวิเคราะห์เชื้อไวรัสในมันเทศ

เก็บตัวอย่างมันเทศที่แสดงอาการใบเหลืองคล้ายโรคไวรัสที่เกิดจากเชื้อ PeVYV (Figure 1) ในจังหวัดสุพรรณบุรี จำนวน 4 แปลง รวมทั้งสิ้น 49 ตังอย่าง นำมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการด้วยเทคนิค One-Step RT-PCR ตรวจพบเชื้อไวรัสในตัวอย่างมันเทศ 2 ชนิด ได้แก่ *Sweet potato feathery mottle virus* (SPFMV) จำนวน 49 ตัวอย่าง คิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ และ *Sweet potato chlorotic stunt virus* (SPCSV) จำนวน 41 ตัวอย่าง คิดเป็น 83.67 เปอร์เซ็นต์ (Table 2) โดยเป็นการติดเชื้อไวรัส SPFMV อย่างเดียว (single infection) จำนวน 8 ตัวอย่าง คิดเป็น 16.33 เปอร์เซ็นต์ และเป็นการติดเชื้อไวรัส SPFMV ร่วมกับ SPCSV จำนวน 41 ตัวอย่าง คิดเป็น 83.67 เปอร์เซ็นต์ (Figure 2)

2. การเปรียบเทียบลำดับนิวคลิโอไทด์ของเชื้อไวรัสด้วยการทำ multiple alignment

จากการทำ multiple alignment ของลำดับนิวคลิโอไทด์ยีน *Nuclear inclusion protein b* (*NIb*) บางส่วน ขนาด 250 คู่เบส ของเชื้อไวรัส SPFMV ทั้ง 12 ไอโซเลต (Table A1) พบว่ามีความคล้ายคลึงกันที่ระดับ 86.8 - 99.6 เปอร์เซ็นต์ (Table 3 และ Figure 3)

สำหรับจากการทำ multiple alignment ของลำดับนิวคลิโอไทด์ยีน *Heat shock protein 70* (*HSP70*) บางส่วน ขนาด 398 คู่เบส ของเชื้อไวรัส SPCSV ทั้ง 12 ไอโซเลต (Table A2) พบว่ามีความคล้ายคลึงกันที่ระดับ 99.7 - 100 เปอร์เซ็นต์ (Table 4 และ Figure 4)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เก็บตัวอย่างมันเทศที่แสดงอาการของโรคไวรัสในจังหวัดสุพรรณบุรี จำนวน 4 แปลง รวมทั้งสิ้น 49 ตัวอย่าง ตวจสอบเชื้อไวรัสด้วยเทคนิค RT-PCR ผลปรากฏว่าพบเชื้อไวรัสที่ติดเชื้อในมันเทศจำนวน 2 ชนิด ได้แก่ *Sweet potato feathery mottle virus* (SPFMV), และ *Sweet potato chlorotic stunt virus* (SPCSV) และได้กำหนดสายพันธุ์และเก็บรวบรวมเชื้อไวรัสในต้นมันเทศไว้ที่โรงเรือนกลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช

เอกสารอ้างอิง

Clark, C. A., and M. W. Hoy. 2006. Effects of Common Viruses on Yield and Quality of Beauregard Sweetpotato in Louisiana. *Plant Dis*. 90(1): 83-88.

Kim, J., J. W. Yang, H. R. Kwak, M. K. Kim, J. K. Seo, M. N. Chung, H. U. Lee, K. B. Lee, S. S. Nam, C. S. Kim, G. S. Lee, J. S. Kim, S. Lee, and H. S. Choi. 2017. Virus Incidence of Sweet Potato in Korea from 2011 to 2014. *Plant Pathol. J*. 33(5): 467-477.

Kwak, H. R., M. K. Kim, J. C. Shin, Y. J. Lee, J. K. Seo, H. U. Lee, M. N. Jung, S. H. Kim, and H. S. Choi. 2014. The current incidence of viral disease in korean sweet potatoes and development of multiplex rt-PCR assays for simultaneous detection of eight sweet potato viruses. *Plant Pathol. J*. 30(4): 416-424.

Lin, H. X., L. Rubio, A. B. Smythe, and B. W. Falk. 2004. Molecular population genetics of Cucumber mosaic virus in California: evidence for founder effects and reassortment. *J. Virol*. 78(12): 6666-6675.

Loebenstein, G., and G. Thottappilly. 2009. *The Sweetpotato*. Dordrecht, Netherlands: Springer. 522 pages.

Mukasa, S. B., P. R. Rubaihayo, and J. P. T. Valkonen. 2006. Interactions between a crinivirus, an ipomovirus and a potyvirus in coinfected sweetpotato plants. *Plant Pathol.* 55(3): 458-467.

Zhang, Z.-c., Q. Y.-h. QIAO Qi, D.-s. ZHANG, and Y.-t. TIAN. 2012. First evidence for occurrence of Sweet potato virus disease (SPVD) caused by dual infection of Sweet potato feathery mottle virus and Sweet potato chlorotic stunt virus in China. *Acta Phytopathologica Sinica* 42(3): 328-333.

Table 1 Primer pairs used for the detection of viruses infecting sweet potato by polymerase chain reaction (PCR)

Virus	Primer	Primer sequence (5'-----> 3')	Expected size (bp)	Reference
SPMMV	SPMMV 3-F	CCGCGCCAACAA AGGAACTA	298	Kwak *et al*. (2014)
	SPMMV 3-R	TTGATGGGGTAATAAAGCACT		
SPCSV	CSV70P1	GACGGKGGTACKATGAARGTCC	431	Zhang *et al*., 2012
	CSV70P2	GGCTCACAAACHGAYTTCATAAACAT		
SPMSV	SPMSV-1F	GCCAAAACCAACAAGCATCA	275	Kwak *et al*. (2014)
	SPMSV-1R	ATTCGCATTTCCTCATCATCT		
SPVCV	SPVCV-F	ATCCATTGCCAAATAAGATATTAAGA	308	Kwak *et al*. (2014)
	SPVCV-R	CTTCTTAAGCAATGTTTCATGCTC		
SPPV	SPPV-F	ATGAGGAGAA(C)CAGGGGCC	722	Kwak *et al*. (2014)
	SPPV-R	CCAACG(A)TTTGGAGTGTTGGAT		
SPC6V	SPC6V-F	AAAAGCTTGTTGGCAATTTGTG	590	Kwak *et al*. (2014)
	SPC6V-R	TTGGCATTTCGATTGTCCC		
SPLSV	SPLSV-F	ATGAGTACGGTCGTGGTTAGAAAC	612	Kwak *et al*. (2014)
	SPLSV-R	CTACCTATTTGGGTTCTGGAAGG		
SPLCV	SPG1	CCCCKGTGCGWRAATCCAT	912	Li *et al*. (2004)
	SPG2	ATCCVAAYWTYCAGGGAGCTAA		
CMV	CMV-2bF	TTATGGAATTGAACGTAGGTG	392	Lin *et al*. (2004)
	CMV-2bR	AATACTGCCAACTCAGCTCCC		

Table 2 Geographical locations where the infected sweet potato were collected, sample number, and virus species diagnosed by PCR

Fields	GPS		Sample	Virused	
	Lat	Long	No.	SPFMV	SPCSV
Field 1	14.564572	100.111717	1	+	-
	Mot Daeng Subdistrict		2	+	+
	Si Prachan District		3	+	-
	Suphan Buri Province		4	+	+
			5	+	-
			6	+	-
			7	+	+
Field 2	14.189476	100.138362	1	+	-
	Bang Ta Then Subdistrict		2	+	+
	Song Phi Nong District		3	+	+
	Suphan Buri Province		4	+	-
			5	+	+
			6	+	-
Field 3	14.19203689	100.1422981	1	+	+
	Bang Ta Then Subdistrict		2	+	+
	Song Phi Nong District		3	+	+
	Suphan Buri Province		4	+	+
			5	+	+
			6	+	+
Field 4	14.566186	100.118613	1	+	+
	Mot Daeng Subdistrict		2	+	+
	Si Prachan District		3	+	+
	Suphan Buri Province		4	+	+
			5	+	+
			6	+	+
			7	+	+
			8	+	+

Table 2 Geographical locations where the infected sweet potato were collected, sample number, and virus species diagnosed by PCR (continued)

Fields	GPS		Sample	Viruses	
	Lat	Long	No.	SPFMV	SPCSV
Field 4			9	+	+
			10	+	+
			11	+	+
			12	+	+
			13	+	+
			14	+	+
			15	+	+
			16	+	+
			17	+	+
			18	+	+
			19	+	+
			20	+	+
			21	+	+
			22	+	+
			23	+	+
			24	+	+
			25	+	+
			26	+	+
			27	+	+
			28	+	+
			29	+	+
			30	+	-
		Total	**49**	**49**	**41**

Table 3 Percent partial nuclear inclusion protein b (*NIb*) nucleotide sequence similarity among twelve SPFMV isolates

Isolate	SP1-2	SP1-6	SP1-7	SP2-2	SP2-3	SP2-4	SP3-4	SP3-5	SP3-6	SP4-1	SP4-2	SP4-3
SP1-2	-											
SP1-6	97.6	-										
SP1-7	99.2	96.8	-									
SP2-2	86	87.2	86	-								
SP2-3	99.6	97.2	99.6	86.4	-							
SP2-4	99.6	97.2	99.6	86.4	100	-						
SP3-4	97.6	99.2	96.8	86.4	97.2	97.2	-					
SP3-5	98	99.6	97.2	86.8	97.6	97.6	99.6	-				
SP3-6	98	99.6	97.2	86.8	97.6	97.6	99.6	100	-			
SP4-1	86.8	88	86.8	97.2	87.2	87.2	87.2	87.6	87.6	-		
SP4-2	86.8	88	86.8	97.2	87.2	87.2	87.2	87.6	87.6	100	-	
SP4-3	86.8	88	86.8	97.2	87.2	87.2	87.2	87.6	87.6	100	100	-

Table 4 Percent partial Heat shock protein 70 (*HSP70*) nucleotide sequence similarity among twelve SPCSV isolates

Isolate	SP1-2	SP1-6	SP1-7	SP2-4	SP2-5	SP2-6	SP3-4	SP3-5	SP3-6	SP4-1	SP4-2	SP4-3
SP1-2	-											
SP1-6	100	-										
SP1-7	99.7	99.7	-									
SP2-4	100	100	99.7	-								
SP2-5	100	100	99.7	100	-							
SP2-6	100	100	99.7	100	100	-						
SP3-4	99.7	99.7	100	99.7	99.7	99.7	-					
SP3-5	99.7	99.7	100	99.7	99.7	99.7	100	-				
SP3-6	100	100	99.7	100	100	100	99.7	99.7	-			
SP4-1	99.7	99.7	100	99.7	99.7	99.7	100	100	99.7	-		
SP4-2	99.7	99.7	100	99.7	99.7	99.7	100	100	99.7	100	-	
SP4-3	100	100	99.7	100	100	100	99.7	99.7	100	99.7	99.7	-

Figure 1 Sweet potato displayed chlorotic ring spot, chlorotic local lesion, and purpling in a cultivated field

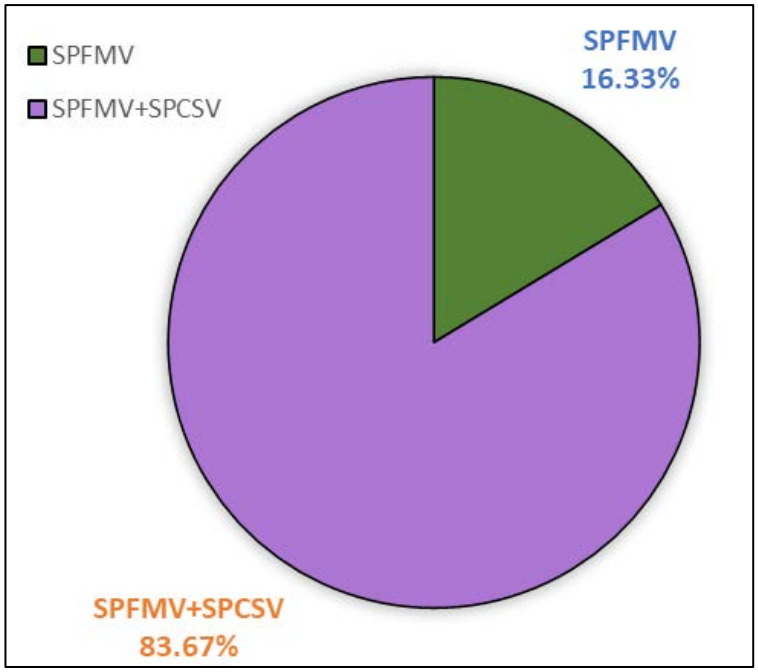


Figure 2 Pie chart displaying the percentage of *Sweet potato feathery mottle virus* (SPFMV), and *Sweet potato chlorotic stunt virus* (SPCSV) infecting sweet potato

```
SP1_7_SPFMV     TGGCAATGAGGCCAGATACAGCCCATTTACTGGATAAGTTTGGTGAATGTTTCTCTGAAT    60
SP1_2_SPFMV     TGGCAATGAGGCCAGATACAGCTCATTTACTGGATAAGTTTGGTGAATGTTTTTCTGAAT    60
SP2_3_SPFMV     TGGCAATGAGGCCAGATACAGCCCATTTACTGGATAAGTTTGGTGAATGTTTTTCTGAAT    60
SP2_4_SPFMV     TGGCAATGAGGCCAGATACAGCCCATTTACTGGATAAGTTTGGTGAATGTTTTTCTGAAT    60
SP3_4_SPFMV     TGGCAATGAGGCCAGATACAGCTCATTTACTGGATAAGTTTGGTGAATGTTTTTCTGAAT    60
SP1_6_SPFMV     TGGCAATGAGGCCAGATACAGCTCATTTACTGGATAAGTTTGGTGAATGTTTTTCTGAAT    60
SP3_5_SPFMV     TGGCAATGAGGCCAGATACAGCTCATTTACTGGATAAGTTTGGTGAATGTTTTTCTGAAT    60
SP3_6_SPFMV     TGGCAATGAGGCCAGATACAGCTCATTTACTGGATAAGTTTGGTGAATGTTTTTCTGAAT    60
SP2_2_SPFMV     TGGCAATGAGGCCAGATACAGCCCACTTACTGGATGCATTTAGTGAGTGCTTTTCCGAGC    60
SP4_1_SPFMV     TGGCAATGAGGCCAGATACAGCCCATTTACTGGATGAATTTAGTGAGTGCTTTTCCGAGC    60
SP4_2_SPFMV     TGGCAATGAGGCCAGATACAGCCCATTTACTGGATGAATTTAGTGAGTGCTTTTCCGAGC    60
SP4_3_SPFMV     TGGCAATGAGGCCAGATACAGCCCATTTACTGGATGAATTTAGTGAGTGCTTTTCCGAGC    60
                  ********************** ** *********   *** **** ** ** ** **

SP1_7_SPFMV     TAGGACTCAATTATGACTTTTCATCACGAACAAATAAGAAAGAAGATCTATGGTTTATGT    120
SP1_2_SPFMV     TAGGACTCAATTATGACTTTTCATCACGAACAAATAAGAAAGAAGATCTATGGTTTATGT    120
SP2_3_SPFMV     TAGGACTCAATTATGACTTTTCATCACGAACAAATAAGAAAGAAGATCTATGGTTTATGT    120
SP2_4_SPFMV     TAGGACTCAATTATGACTTTTCATCACGAACAAATAAGAAAGAAGATCTATGGTTTATGT    120
SP3_4_SPFMV     TAGGACTCAACTATGACTTTTCATCACGAACAAATAAGAAGGAAGATCTATGGTTTATGT    120
SP1_6_SPFMV     TAGGACTCAACTATGACTTTTCATCACGAACAAATAAGAAAGAAGATCTATGGTTTATGT    120
SP3_5_SPFMV     TAGGACTCAACTATGACTTTTCATCACGAACAAATAAGAAAGAAGATCTATGGTTTATGT    120
SP3_6_SPFMV     TAGGACTCAACTATGACTTTTCATCACGAACAAATAAGAAAGAAGATCTATGGTTTATGT    120
SP2_2_SPFMV     TGGGACTCAACTATGACTTTTCATCGCGAACGAATAGGAAAGAGGATCTATGGTTCATGT    120
SP4_1_SPFMV     TGGGGCTCAACTATGATTTTTCATCGCGAACGAATAGGAAAGAGGATCTATGGTTCATGT    120
SP4_2_SPFMV     TGGGGCTCAACTATGATTTTTCATCGCGAACGAATAGGAAAGAGGATCTATGGTTCATGT    120
SP4_3_SPFMV     TGGGGCTCAACTATGATTTTTCATCGCGAACGAATAGGAAAGAGGATCTATGGTTCATGT    120
                * ** ***** ***** ******** ***** **** *** ** *********** ****

SP1_7_SPFMV     CACACTGTGGCGTTAAACGTGATGGGATATTTATTCCGAAGTTGGAGCCTGAAAGAATTG    180
SP1_2_SPFMV     CACACTGTGGCGTTAAACGTGATGGGATATTTATTCCGAAGTTGGAGCCTGAAAGAATTG    180
SP2_3_SPFMV     CACACTGTGGCGTTAAACGTGATGGGATATTTATTCCGAAGTTGGAGCCTGAAAGAATTG    180
SP2_4_SPFMV     CACACTGTGGCGTTAAACGTGATGGGATATTTATTCCGAAGTTGGAGCCTGAAAGAATTG    180
SP3_4_SPFMV     CACACTGTGGTGTGAAACGTGATGGAATATTTATTCCGAAGTTGGAGCCTGAAAGAATTG    180
SP1_6_SPFMV     CACACTGTGGTGTGAAACGTGATGGAATATTTATTCCGAAGTTGGAGCCTGAAAGAATTG    180
SP3_5_SPFMV     CACACTGTGGTGTGAAACGTGATGGAATATTTATTCCGAAGTTGGAGCCTGAAAGAATTG    180
SP3_6_SPFMV     CACACTGTGGTGTGAAACGTGATGGAATATTTATTCCGAAGTTGGAGCCTGAAAGAATTG    180
SP2_2_SPFMV     CGCACTGTGGGGTGAAACGCGATGGAATATTCATTCCGAAGTTGGAACCTGAAAGAATAG    180
SP4_1_SPFMV     CACACTGTGGAGTGAAACGCGATGGAATATTCATTCCGAAGTTGGAACCTGAAAGAATAG    180
SP4_2_SPFMV     CACACTGTGGAGTGAAACGCGATGGAATATTCATTCCGAAGTTGGAACCTGAAAGAATAG    180
SP4_3_SPFMV     CACACTGTGGAGTGAAACGCGATGGAATATTCATTCCGAAGTTGGAACCTGAAAGAATAG    180
                * ******** ** ***** ***** ***** ************** *********** *

SP1_7_SPFMV     TTTCAATCCTTGAATGGGATCGTTCACACGAACCAATTCATCGACTGGAAGCAATATGTG    240
SP1_2_SPFMV     TTTCAATCCTTGAATGGGATCGTTCACACGAACCAATTCATCGACTGGAAGCAATATGTG    240
SP2_3_SPFMV     TTTCAATCCTTGAATGGGATCGTTCACACGAACCAATTCATCGACTGGAAGCAATATGTG    240
SP2_4_SPFMV     TTTCAATCCTTGAATGGGATCGTTCACACGAACCAATTCATCGACTGGAAGCAATATGTG    240
SP3_4_SPFMV     TTTCAATCCTTGAGTGGGATCGTTCACACGAACCAATTCATCGACTGGAAGCAATATGTG    240
SP1_6_SPFMV     TCTCAATCCTTGAGTGGGATCGTTCACACGAACCAATTCATCGACTGGAAGCAATATGTG    240
SP3_5_SPFMV     TTTCAATCCTTGAGTGGGATCGTTCACACGAACCAATTCATCGACTGGAAGCAATATGTG    240
SP3_6_SPFMV     TTTCAATCCTTGAGTGGGATCGTTCACACGAACCAATTCATCGACTGGAAGCAATATGTG    240
SP2_2_SPFMV     TCTCCATTCTTGAATGGGATCGCTCACATGAGCCGATTCATCGATTGGAAGCAATATGTG    240
SP4_1_SPFMV     TCTCCATTCTTGAATGGGATCGCTCACACGAGCCGATTCATCGATTGGAAGCAATATGTG    240
SP4_2_SPFMV     TCTCCATTCTTGAATGGGATCGCTCACACGAGCCGATTCATCGATTGGAAGCAATATGTG    240
SP4_3_SPFMV     TCTCCATTCTTGAATGGGATCGCTCACACGAGCCGATTCATCGATTGGAAGCAATATGTG    240
                * ** ** ***** ******** ***** ** ** ********** ***************

SP1_7_SPFMV     CCGCGATGGT         250
SP1_2_SPFMV     CCGCGATGGT         250
SP2_3_SPFMV     CCGCGATGGT         250
SP2_4_SPFMV     CCGCGATGGT         250
SP3_4_SPFMV     CCGCGATGGT         250
SP1_6_SPFMV     CCGCGATGGT         250
SP3_5_SPFMV     CCGCGATGGT         250
SP3_6_SPFMV     CCGCGATGGT         250
SP2_2_SPFMV     CTGCGATGGT         250
SP4_1_SPFMV     CTGCGATGGT         250
SP4_2_SPFMV     CTGCGATGGT         250
SP4_3_SPFMV     CTGCGATGGT         250
                * ********
```

Figure 3 Multiple alignment of partial nuclear inclusion protein b (*NIb*) nucleotide sequence among twelve SPCSV isolates

```
SP1_2_SPCSV     GTCCTTCGAATCAACGGATCGGAATTTATCCCAACGTGTTTATCTATTACTAAGAGTGGT     60
SP1_6_SPCSV     GTCCTTCGAATCAACGGATCGGAATTTATCCCAACGTGTTTATCTATTACTAAGAGTGGT     60
SP2_4_SPCSV     GTCCTTCGAATCAACGGATCGGAATTTATCCCAACGTGTTTATCTATTACTAAGAGTGGT     60
SP2_5_SPCSV     GTCCTTCGAATCAACGGATCGGAATTTATCCCAACGTGTTTATCTATTACTAAGAGTGGT     60
SP2_6_SPCSV     GTCCTTCGAATCAACGGATCGGAATTTATCCCAACGTGTTTATCTATTACTAAGAGTGGT     60
SP3_6_SPCSV     GTCCTTCGAATCAACGGATCGGAATTTATCCCAACGTGTTTATCTATTACTAAGAGTGGT     60
SP4_3_SPCSV     GTCCTTCGAATCAACGGATCGGAATTTATCCCAACGTGTTTATCTATTACTAAGAGTGGT     60
SP1_7_SPCSV     GTCCTTCGAATCAACGGATCGGAATTTATCCCAACGTGTTTATCTATTACTAAGAGTGGT     60
SP3_4_SPCSV     GTCCTTCGAATCAACGGATCGGAATTTATCCCAACGTGTTTATCTATTACTAAGAGTGGT     60
SP3_5_SPCSV     GTCCTTCGAATCAACGGATCGGAATTTATCCCAACGTGTTTATCTATTACTAAGAGTGGT     60
SP4_1_SPCSV     GTCCTTCGAATCAACGGATCGGAATTTATCCCAACGTGTTTATCTATTACTAAGAGTGGT     60
SP4_2_SPCSV     GTCCTTCGAATCAACGGATCGGAATTTATCCCAACGTGTTTATCTATTACTAAGAGTGGT     60
                ************************************************************

SP1_2_SPCSV     GATGTAATAGTCGGTGGTGCTGCACAAGTGTTAGACGCTTCTCAACTACCGCACTGTTAC     120
SP1_6_SPCSV     GATGTAATAGTCGGTGGTGCTGCACAAGTGTTAGACGCTTCTCAACTACCGCACTGTTAC     120
SP2_4_SPCSV     GATGTAATAGTCGGTGGTGCTGCACAAGTGTTAGACGCTTCTCAACTACCGCACTGTTAC     120
SP2_5_SPCSV     GATGTAATAGTCGGTGGTGCTGCACAAGTGTTAGACGCTTCTCAACTACCGCACTGTTAC     120
SP2_6_SPCSV     GATGTAATAGTCGGTGGTGCTGCACAAGTGTTAGACGCTTCTCAACTACCGCACTGTTAC     120
SP3_6_SPCSV     GATGTAATAGTCGGTGGTGCTGCACAAGTGTTAGACGCTTCTCAACTACCGCACTGTTAC     120
SP4_3_SPCSV     GATGTAATAGTCGGTGGTGCTGCACAAGTGTTAGACGCTTCTCAACTACCGCACTGTTAC     120
SP1_7_SPCSV     GATGTAATAGTCGGTGGTGCTGCACAAGTGTTAGATGCTTCTCAACTACCGCACTGTTAC     120
SP3_4_SPCSV     GATGTAATAGTCGGTGGTGCTGCACAAGTGTTAGATGCTTCTCAACTACCGCACTGTTAC     120
SP3_5_SPCSV     GATGTAATAGTCGGTGGTGCTGCACAAGTGTTAGATGCTTCTCAACTACCGCACTGTTAC     120
SP4_1_SPCSV     GATGTAATAGTCGGTGGTGCTGCACAAGTGTTAGATGCTTCTCAACTACCGCACTGTTAC     120
SP4_2_SPCSV     GATGTAATAGTCGGTGGTGCTGCACAAGTGTTAGATGCTTCTCAACTACCGCACTGTTAC     120
                ********************************** ************************

SP1_2_SPCSV     TTCTACGATCTAAAACGATGGGTTGGGGTTGATAGGCTGTCTTTTGAAGAAATCAAACGT     180
SP1_6_SPCSV     TTCTACGATCTAAAACGATGGGTTGGGGTTGATAGGCTGTCTTTTGAAGAAATCAAACGT     180
SP2_4_SPCSV     TTCTACGATCTAAAACGATGGGTTGGGGTTGATAGGCTGTCTTTTGAAGAAATCAAACGT     180
SP2_5_SPCSV     TTCTACGATCTAAAACGATGGGTTGGGGTTGATAGGCTGTCTTTTGAAGAAATCAAACGT     180
SP2_6_SPCSV     TTCTACGATCTAAAACGATGGGTTGGGGTTGATAGGCTGTCTTTTGAAGAAATCAAACGT     180
SP3_6_SPCSV     TTCTACGATCTAAAACGATGGGTTGGGGTTGATAGGCTGTCTTTTGAAGAAATCAAACGT     180
SP4_3_SPCSV     TTCTACGATCTAAAACGATGGGTTGGGGTTGATAGGCTGTCTTTTGAAGAAATCAAACGT     180
SP1_7_SPCSV     TTCTACGATCTAAAACGATGGGTTGGGGTTGATAGGCTGTCTTTTGAAGAAATCAAACGT     180
SP3_4_SPCSV     TTCTACGATCTAAAACGATGGGTTGGGGTTGATAGGCTGTCTTTTGAAGAAATCAAACGT     180
SP3_5_SPCSV     TTCTACGATCTAAAACGATGGGTTGGGGTTGATAGGCTGTCTTTTGAAGAAATCAAACGT     180
SP4_1_SPCSV     TTCTACGATCTAAAACGATGGGTTGGGGTTGATAGGCTGTCTTTTGAAGAAATCAAACGT     180
SP4_2_SPCSV     TTCTACGATCTAAAACGATGGGTTGGGGTTGATAGGCTGTCTTTTGAAGAAATCAAACGT     180
                ************************************************************

SP1_2_SPCSV     AAGATAGCTCCCCAGTATTCGGTCAAATTGGAAGGTAATGATGTTCTGATAACTGGTATT     240
SP1_6_SPCSV     AAGATAGCTCCCCAGTATTCGGTCAAATTGGAAGGTAATGATGTTCTGATAACTGGTATT     240
SP2_4_SPCSV     AAGATAGCTCCCCAGTATTCGGTCAAATTGGAAGGTAATGATGTTCTGATAACTGGTATT     240
SP2_5_SPCSV     AAGATAGCTCCCCAGTATTCGGTCAAATTGGAAGGTAATGATGTTCTGATAACTGGTATT     240
SP2_6_SPCSV     AAGATAGCTCCCCAGTATTCGGTCAAATTGGAAGGTAATGATGTTCTGATAACTGGTATT     240
SP3_6_SPCSV     AAGATAGCTCCCCAGTATTCGGTCAAATTGGAAGGTAATGATGTTCTGATAACTGGTATT     240
SP4_3_SPCSV     AAGATAGCTCCCCAGTATTCGGTCAAATTGGAAGGTAATGATGTTCTGATAACTGGTATT     240
SP1_7_SPCSV     AAGATAGCTCCCCAGTATTCGGTCAAATTGGAAGGTAATGATGTTCTGATAACTGGTATT     240
SP3_4_SPCSV     AAGATAGCTCCCCAGTATTCGGTCAAATTGGAAGGTAATGATGTTCTGATAACTGGTATT     240
SP3_5_SPCSV     AAGATAGCTCCCCAGTATTCGGTCAAATTGGAAGGTAATGATGTTCTGATAACTGGTATT     240
SP4_1_SPCSV     AAGATAGCTCCCCAGTATTCGGTCAAATTGGAAGGTAATGATGTTCTGATAACTGGTATT     240
SP4_2_SPCSV     AAGATAGCTCCCCAGTATTCGGTCAAATTGGAAGGTAATGATGTTCTGATAACTGGTATT     240
                ************************************************************

SP1_2_SPCSV     GATAAGGGGTATACATGTACATATACAGTTAAACAATTAATTCTTCTTTATGTAGATACT     300
SP1_6_SPCSV     GATAAGGGGTATACATGTACATATACAGTTAAACAATTAATTCTTCTTTATGTAGATACT     300
SP2_4_SPCSV     GATAAGGGGTATACATGTACATATACAGTTAAACAATTAATTCTTCTTTATGTAGATACT     300
SP2_5_SPCSV     GATAAGGGGTATACATGTACATATACAGTTAAACAATTAATTCTTCTTTATGTAGATACT     300
SP2_6_SPCSV     GATAAGGGGTATACATGTACATATACAGTTAAACAATTAATTCTTCTTTATGTAGATACT     300
SP3_6_SPCSV     GATAAGGGGTATACATGTACATATACAGTTAAACAATTAATTCTTCTTTATGTAGATACT     300
SP4_3_SPCSV     GATAAGGGGTATACATGTACATATACAGTTAAACAATTAATTCTTCTTTATGTAGATACT     300
SP1_7_SPCSV     GATAAGGGGTATACATGTACATATACAGTTAAACAATTAATTCTTCTTTATGTAGATACT     300
SP3_4_SPCSV     GATAAGGGGTATACATGTACATATACAGTTAAACAATTAATTCTTCTTTATGTAGATACT     300
SP3_5_SPCSV     GATAAGGGGTATACATGTACATATACAGTTAAACAATTAATTCTTCTTTATGTAGATACT     300
SP4_1_SPCSV     GATAAGGGGTATACATGTACATATACAGTTAAACAATTAATTCTTCTTTATGTAGATACT     300
SP4_2_SPCSV     GATAAGGGGTATACATGTACATATACAGTTAAACAATTAATTCTTCTTTATGTAGATACT     300
                ************************************************************
```

Figure 4 Multiple alignment of partial Heat shock protein 70 (*HSP70*) nucleotide sequence among twelve SPCSV isolates

```
SP1_2_SPCSV     CTTGTTAGGTTGTTTTCTAACGTTGAGAAGCTTAAGATTTTAAGTCTCAATGTGTCCGTC    360
SP1_6_SPCSV     CTTGTTAGGTTGTTTTCTAACGTTGAGAAGCTTAAGATTTTAAGTCTCAATGTGTCCGTC    360
SP2_4_SPCSV     CTTGTTAGGTTGTTTTCTAACGTTGAGAAGCTTAAGATTTTAAGTCTCAATGTGTCCGTC    360
SP2_5_SPCSV     CTTGTTAGGTTGTTTTCTAACGTTGAGAAGCTTAAGATTTTAAGTCTCAATGTGTCCGTC    360
SP2_6_SPCSV     CTTGTTAGGTTGTTTTCTAACGTTGAGAAGCTTAAGATTTTAAGTCTCAATGTGTCCGTC    360
SP3_6_SPCSV     CTTGTTAGGTTGTTTTCTAACGTTGAGAAGCTTAAGATTTTAAGTCTCAATGTGTCCGTC    360
SP4_3_SPCSV     CTTGTTAGGTTGTTTTCTAACGTTGAGAAGCTTAAGATTTTAAGTCTCAATGTGTCCGTC    360
SP1_7_SPCSV     CTTGTTAGGTTGTTTTCTAACGTTGAGAAGCTTAAGATTTTAAGTCTCAATGTGTCCGTC    360
SP3_4_SPCSV     CTTGTTAGGTTGTTTTCTAACGTTGAGAAGCTTAAGATTTTAAGTCTCAATGTGTCCGTC    360
SP3_5_SPCSV     CTTGTTAGGTTGTTTTCTAACGTTGAGAAGCTTAAGATTTTAAGTCTCAATGTGTCCGTC    360
SP4_1_SPCSV     CTTGTTAGGTTGTTTTCTAACGTTGAGAAGCTTAAGATTTTAAGTCTCAATGTGTCCGTC    360
SP4_2_SPCSV     CTTGTTAGGTTGTTTTCTAACGTTGAGAAGCTTAAGATTTTAAGTCTCAATGTGTCCGTC    360
                ************************************************************

SP1_2_SPCSV     CCAGCAGACTACAAAACAAAACAAAGAATGTTTATGAA  398
SP1_6_SPCSV     CCAGCAGACTACAAAACAAAACAAAGAATGTTTATGAA  398
SP2_4_SPCSV     CCAGCAGACTACAAAACAAAACAAAGAATGTTTATGAA  398
SP2_5_SPCSV     CCAGCAGACTACAAAACAAAACAAAGAATGTTTATGAA  398
SP2_6_SPCSV     CCAGCAGACTACAAAACAAAACAAAGAATGTTTATGAA  398
SP3_6_SPCSV     CCAGCAGACTACAAAACAAAACAAAGAATGTTTATGAA  398
SP4_3_SPCSV     CCAGCAGACTACAAAACAAAACAAAGAATGTTTATGAA  398
SP1_7_SPCSV     CCAGCAGACTACAAAACAAAACAAAGAATGTTTATGAA  398
SP3_4_SPCSV     CCAGCAGACTACAAAACAAAACAAAGAATGTTTATGAA  398
SP3_5_SPCSV     CCAGCAGACTACAAAACAAAACAAAGAATGTTTATGAA  398
SP4_1_SPCSV     CCAGCAGACTACAAAACAAAACAAAGAATGTTTATGAA  398
SP4_2_SPCSV     CCAGCAGACTACAAAACAAAACAAAGAATGTTTATGAA  398
                **************************************
```

Figure 4 Multiple alignment of partial Heat shock protein 70 (*HSP70*) nucleotide sequence among twelve SPCSV isolates (continued)

ภาคผนวก

Appendix Table 1 pNucleotide sequences of partial *Nuclear inclusion protein b* (*NIb*) gene of *Sweet potato feathery mottle virus* (SPFMV)

Isolate	Nucleotide sequence
SP1-2	TGGCAATGAGGCCAGATACAGCTCATTTACTGGATAAGTTTGGTGAATGTTTTTCTGAATTAG GACTCAATTATGACTTTTCATCACGAACAAATAAGAAAGAAGATCTATGGTTTATGTCACACT GTGGCGTTAAACGTGATGGGATATTTATTCCGAAGTTGGAGCCTGAAAGAATTGTTTCAATCC TTGAATGGGATCGTTCACACGAACCAATTCATCGACTGGAAGCAATATGTGCCGCGATGGT
SP1-6	TGGCAATGAGGCCAGATACAGCTCATTTACTGGATAAGTTTGGTGAATGTTTTTCTGAATTAG GACTCAACTATGACTTTTCATCACGAACAAATAAGAAAGAAGATCTATGGTTTATGTCACACT GTGGTGTGAAACGTGATGGAATATTTATTCCGAAGTTGGAGCCTGAAAGAATTGTCTCAATCC TTGAGTGGGATCGTTCACACGAACCAATTCATCGACTGGAAGCAATATGTGCCGCGATGGT
SP1-7	TGGCAATGAGGCCAGATACAGCCCATTTACTGGATAAGTTTGGTGAATGTTTCTCTGAATTAG GACTCAATTATGACTTTTCATCACGAACAAATAAGAAAGAAGATCTATGGTTTATGTCACACT GTGGCGTTAAACGTGATGGGATATTTATTCCGAAGTTGGAGCCTGAAAGAATTGTTTCAATCC TTGAATGGGATCGTTCACACGAACCAATTCATCGACTGGAAGCAATATGTGCCGCGATGGT
SP2-2	TGGCAATGAGGCCAGATACAGCCCACTTACTGGATGCATTTAGTGAGTGCTTTTCCGAGCTGG GACTCAACTATGACTTTTCATCGCGAACGAATAGGAAAGAGGATCTATGGTTCATGTCGCACT GTGGGGTGAAACGCGATGGAATATTCATTCCGAAGTTGGAACCTGAAAGAATAGTCTCCATTC TTGAATGGGATCGCTCACATGAGCCGATTCATCGATTGGAAGCAATATGTGCTGCGATGGT

Appendix Table 1 **p**Nucleotide sequences of partial *Nuclear inclusion protein b* (*NIb*) gene of *Sweet potato feathery mottle virus* (SPFMV) (continued)

SP2-3	TGGCAATGAGGCCAGATACAGCCCATTTACTGGATAAGTTTGGTGAATGTTTTTCTGAATTAG GACTCAATTATGACTTTTCATCACGAACAAATAAGAAAGAAGATCTATGGTTTATGTCACACT GTGGCGTTAAACGTGATGGGATATTTATTCCGAAGTTGGAGCCTGAAAGAATTGTTTCAATCC TTGAATGGGATCGTTCACACGAACCAATTCATCGACTGGAAGCAATATGTGCCGCGATGGT
SP3-4	TGGCAATGAGGCCAGATACAGCCCATTTACTGGATAAGTTTGGTGAATGTTTTTCTGAATTAG GACTCAATTATGACTTTTCATCACGAACAAATAAGAAAGAAGATCTATGGTTTATGTCACACT GTGGCGTTAAACGTGATGGGATATTTATTCCGAAGTTGGAGCCTGAAAGAATTGTTTCAATCC TTGAATGGGATCGTTCACACGAACCAATTCATCGACTGGAAGCAATATGTGCCGCGATGGT
SP3-5	TGGCAATGAGGCCAGATACAGCTCATTTACTGGATAAGTTTGGTGAATGTTTTTCTGAATTAG GACTCAACTATGACTTTTCATCACGAACAAATAAGAAAGAAGATCTATGGTTTATGTCACACT GTGGTGTGAAACGTGATGGAATATTTATTCCGAAGTTGGAGCCTGAAAGAATTGTTTCAATCC TTGAGTGGGATCGTTCACACGAACCAATTCATCGACTGGAAGCAATATGTGCCGCGATGGT
SP3_6	TGGCAATGAGGCCAGATACAGCTCATTTACTGGATAAGTTTGGTGAATGTTTTTCTGAATTAG GACTCAACTATGACTTTTCATCACGAACAAATAAGAAAGAAGATCTATGGTTTATGTCACACT GTGGTGTGAAACGTGATGGAATATTTATTCCGAAGTTGGAGCCTGAAAGAATTGTTTCAATCC TTGAGTGGGATCGTTCACACGAACCAATTCATCGACTGGAAGCAATATGTGCCGCGATGGT
SP4_1	TGGCAATGAGGCCAGATACAGCCCATTTACTGGATGAATTTAGTGAGTGCTTTTCCGAGCTGG GGCTCAACTATGATTTTTCATCGCGAACGAATAGGAAAGAGGATCTATGGTTCATGTCACACT GTGGAGTGAAACGCGATGGAATATTCATTCCGAAGTTGGAACCTGAAAGAATAGTCTCCATTC TTGAATGGGATCGCTCACACGAGCCGATTCATCGATTGGAAGCAATATGTGCTGCGATGGT
SP4_2	TGGCAATGAGGCCAGATACAGCCCATTTACTGGATGAATTTAGTGAGTGCTTTTCCGAGCTGG GGCTCAACTATGATTTTTCATCGCGAACGAATAGGAAAGAGGATCTATGGTTCATGTCACACT GTGGAGTGAAACGCGATGGAATATTCATTCCGAAGTTGGAACCT
SP4_3	TGGCAATGAGGCCAGATACAGCCCATTTACTGGATGAATTTAGTGAGTGCTTTTCCGAGCTGG GGCTCAACTATGATTTTTCATCGCGAACGAATAGGAAAGAGGATCTATGGTTCATGTCACACT GTGGAGTGAAACGCGATGGAATATTCATTCCGAAGTTGGAACCTGAAAGAATAGTCTCCATTC TTGAATGGGATCGCTCACACGAGCCGATTCATCGATTGGAAGCAATATGTGCTGCGATGGT

Appendix Table 2 Nucleotide sequences of partial *Heat shock protein 70* (*HSP70*) of *Sweet potato chlorotic stunt virus* (SPCSV)

Isolate	Nucleotide sequence
SP1-2	GTCCTTCGAATCAACGGATCGGAATTTATCCCAACGTGTTTATCTATTACTAAGAGTGGTGATGTA ATAGTCGGTGGTGCTGCACAAGTGTTAGACGCTTCTCAACTACCGCACTGTTACTTCTACGATCTA AAACGATGGGTTGGGGTTGATAGGCTGTCTTTTGAAGAAATCAAACGTAAGATAGCTCCCCAGTA TTCGGTCAAATTGGAAGGTAATGATGTTCTGATAACTGGTATTGATAAGGGGTATACATGTACATA TACAGTTAAACAATTAATTCTTCTTTATGTAGATACTCTTGTTAGGTTGTTTTCTAACGTTGAGAA GCTTAAGATTTTAAGTCTCAATGTGTCCGTCCCAGCAGACTACAAAACAAAACAAAGAATGTTTAT GAA
SP1-6	GTCCTTCGAATCAACGGATCGGAATTTATCCCAACGTGTTTATCTATTACTAAGAGTGGTGATGTA ATAGTCGGTGGTGCTGCACAAGTGTTAGACGCTTCTCAACTACCGCACTGTTACTTCTACGATCTA AAACGATGGGTTGGGGTTGATAGGCTGTCTTTTGAAGAAATCAAACGTAAGATAGCTCCCCAGTA TTCGGTCAAATTGGAAGGTAATGATGTTCTGATAACTGGTATTGATAAGGGGTATACATGTACATA TACAGTTAAACAATTAATTCTTCTTTATGTAGATACTCTTGTTAGGTTGTTTTCTAACGTTGAGAA GCTTAAGATTTTAAGTCTCAATGTGTCCGTCCCAGCAGACTACAAAACAAAACAAAGAATGTTTAT GAA
SP1-7	GTCCTTCGAATCAACGGATCGGAATTTATCCCAACGTGTTTATCTATTACTAAGAGTGGTGATGTA ATAGTCGGTGGTGCTGCACAAGTGTTAGATGCTTCTCAACTACCGCACTGTTACTTCTACGATCTA AAACGATGGGTTGGGGTTGATAGGCTGTCTTTTGAAGAAATCAAACGTAAGATAGCTCCCCAGTA TTCGGTCAAATTGGAAGGTAATGATGTTCTGATAACTGGTATTGATAAGGGGTATACATGTACATA TACAGTTAAACAATTAATTCTTCTTTATGTAGATACTCTTGTTAGGTTGTTTTCTAA CGTTGAGAAGCTTAAGATTTTAAGTCTCAATGTGTCCGTCCCAGCAGACTACAAAACAAAACAAA GAATGTTTATGAA
SP2-4	GTCCTTCGAATCAACGGATCGGAATTTATCCCAACGTGTTTATCTATTACTAAGAGTGGTGATGTA ATAGTCGGTGGTGCTGCACAAGTGTTAGACGCTTCTCAACTACCGCACTGTTACTTCTACGATCTA AAACGATGGGTTGGGGTTGATAGGCTGTCTTTTGAAGAAATCAAACGTAAGATAGCTCCCCAGTA TTCGGTCAAATTGGAAGGTAATGATGTTCTGATAACTGGTATTGATAAGGGGTATACATGTACATA TACAGTTAAACAATTAATTCTTCTTTATGTAGATACTCTTGTTAGGTTGTTTTCTAACGTTGAGAA GCTTAAGATTTTAAGTCTCAATGTGTCCGTCCCAGCAGACTACAAAACAAAACAAAGAATGTTTAT GAA
SP2-5	GTCCTTCGAATCAACGGATCGGAATTTATCCCAACGTGTTTATCTATTACTAAGAGTGGTGATGTA ATAGTCGGTGGTGCTGCACAAGTGTTAGACGCTTCTCAACTACCGCACTGTTACTTCTACGATCTA AAACGATGGGTTGGGGTTGATAGGCTGTCTTTTGAAGAAATCAAACGTAAGATAGCTCCCCAGTA TTCGGTCAAATTGGAAGGTAATGATGTTCTGATAACTGGTATTGATAAGGGGTATACATGTACATA TACAGTTAAACAATTAATTCTTCTTTATGTAGATACTCTTGTTAGGTTGTTTTCTAACGTTGAGAA GCTTAAGATTTTAAGTCTCAATGTGTCCGTCCCAGCAGACTACAAAACAAAACAAAGAATGTTTAT GAA

Appendix Table 2 Nucleotide sequences of partial *Heat shock protein 70* (*HSP70*) of *Sweet potato chlorotic stunt virus* (SPCSV) (continued)

Isolate	Nucleotide sequence
SP2-6	GTCCTTCGAATCAACGGATCGGAATTTATCCCAACGTGTTTATCTATTACTAAGAGTGGTGATGT AATAGTCGGTGGTGCTGCACAAGTGTTAGACGCTTCTCAACTACCGCACTGTTACTTCTACGATC TAAAACGATGGGTTGGGGTTGATAGGCTGTCTTTTGAAGAAATCAAACGTAAGATAGCTCCCCA GTATTCGGTCAAATTGGAAGGTAATGATGTTCTGATAACTGGTATTGATAAGGGGTATACATGTA CATATACAGTTAAACAATTAATTCTTCTTTATGTAGATACTCTTGTTAGGTTGTTTTCTAACGTTG AGAAGCTTAAGATTTTAAGTCTCAATGTGTCCGTCCCAGCAGACTACAAAACAAAACAAAGAAT GTTTATGAA
SP3-4	GTCCTTCGAATCAACGGATCGGAATTTATCCCAACGTGTTTATCTATTACTAAGAGTGGTGATGT AATAGTCGGTGGTGCTGCACAAGTGTTAGATGCTTCTCAACTACCGCACTGTTACTTCTACGATC TAAAACGATGGGTTGGGGTTGATAGGCTGTCTTTTGAAGAAATCAAACGTAAGATAGCTCCCCA GTATTCGGTCAAATTGGAAGGTAATGATGTTCTGATAACTGGTATTGATAAGGGGTATACATGTA CATATACAGTTAAACAATTAATTCTTCTTTATGTAGATACTCTTGTTAGGTTGTTTTCTAACGTTG AGAAGCTTAAGATTTTAAGTCTCAATGTGTCCGTCCCAGCAGACTACAAAACAAAACAAAGAAT GTTTATGAA
SP3_5	GTCCTTCGAATCAACGGATCGGAATTTATCCCAACGTGTTTATCTATTACTAAGAGTGGTGATGT AATAGTCGGTGGTGCTGCACAAGTGTTAGATGCTTCTCAACTACCGCACTGTTACTTCTACGATC TAAAACGATGGGTTGGGGTTGATAGGCTGTCTTTTGAAGAAATCAAACGTAAGATAGCTCCCCA GTATTCGGTCAAATTGGAAGGTAATGATGTTCTGATAACTGGTATTGATAAGGGGTATACATGTA CATATACAGTTAAACAATTAATTCTTCTTTATGTAGATACTCTTGTTAGGTTGTTTTCTAACGTTG AGAAGCTTAAGATTTTAAGTCTCAATGTGTCCGTCCCAGCAGACTACAAAACAAAACAAAGAAT GTTTATGAA
SP3_6	GTCCTTCGAATCAACGGATCGGAATTTATCCCAACGTGTTTATCTATTACTAAGAGTGGTGATGT AATAGTCGGTGGTGCTGCACAAGTGTTAGACGCTTCTCAACTACCGCACTGTTACTTCTACGATC TAAAACGATGGGTTGGGGTTGATAGGCTGTCTTTTGAAGAAATCAAACGTAAGATAGCTCCCCA GTATTCGGTCAAATTGGAAGGTAATGATGTTCTGATAACTGGTATTGATAAGGGGTATACATGTA CATATACAGTTAAACAATTAATTCTTCTTTATGTAGATACTCTTGTTAGGTTGTTTTCTAACGTTG AGAAGCTTAAGATTTTAAGTCTCAATGTGTCCGTCCCAGCAGACTACAAAACAAAACAAAGAAT GTTTATGAA

Appendix Table 2 Nucleotide sequences of partial *Heat shock protein 70* (*HSP70*) of *Sweet potato chlorotic stunt virus* (SPCSV) (continued)

Isolate	Nucleotide sequence
SP4_1	GTCCTTCGAATCAACGGATCGGAATTTATCCCAACGTGTTTATCTATTACTAAGAGTGGTGATGT AATAGTCGGTGGTGCTGCACAAGTGTTAGATGCTTCTCAACTACCGCACTGTTACTTCTACGATC TAAAACGATGGGTTGGGGTTGATAGGCTGTCTTTTGAAGAAATCAAACGTAAGATAGCTCCCCA GTATTCGGTCAAATTGGAAGGTAATGATGTTCTGATAACTGGTATTGATAAGGGGTATACATGTA CATATACAGTTAAACAATTAATTCTTCTTTATGTAGATACTCTTGTTAGGTTGTTTTCTAACGTTG AGAAGCTTAAGATTTTAAGTCTCAATGTGTCCGTCCCAGCAGACTACAAAACAAAACAAAGAAT GTTTATGAA
SP4_2	GTCCTTCGAATCAACGGATCGGAATTTATCCCAACGTGTTTATCTATTACTAAGAGTGGTGATGT AATAGTCGGTGGTGCTGCACAAGTGTTAGATGCTTCTCAACTACCGCACTGTTACTTCTACGATC TAAAACGATGGGTTGGGGTTGATAGGCTGTCTTTTGAAGAAATCAAACGTAAGATAGCTCCCCA GTATTCGGTCAAATTGGAAGGTAATGATGTTCTGATAACTGGTATTGATAAGGGGTATACATGTA CATATACAGTTAAACAATTAATTCTTCTTTATGTAGATACTCTTGTTAGGTTGTTTTCTAACGTTG AGAAGCTTAAGATTTTAAGTCTCAATGTGTCCGTCCCAGCAGACTACAAAACAAAACAAAGAAT GTTTATGAA
SP4_3	GTCCTTCGAATCAACGGATCGGAATTTATCCCAACGTGTTTATCTATTACTAAGAGTGGTGATGT AATAGTCGGTGGTGCTGCACAAGTGTTAGACGCTTCTCAACTACCGCACTGTTACTTCTACGATC TAAAACGATGGGTTGGGGTTGATAGGCTGTCTTTTGAAGAAATCAAACGTAAGATAGCTCCCCA GTATTCGGTCAAATTGGAAGGTAATGATGTTCTGATAACTGGTATTGATAAGGGGTATACATGTA CATATACAGTTAAACAATTAATTCTTCTTTATGTAGATACTCTTGTTAGGTTGTTTTCTAACGTTG AGAAGCTTAAGATTTTAAGTCTCAATGTGTCCGTCCCAGCAGACTACAAAACAAAACAAAGAAT GTTTATGAA

การจำแนกชนิดของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* race 1 complex สาเหตุโรคตายพรายกล้วย

The Identification of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* race 1 Complex, the Causal Agent of Banana Wilt Disease

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

รายงานความก้าวหน้า

เพื่อจำแนกชนิดของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (Foc) race 1 เก็บและรวบรวมตัวอย่างเนื้อเยื่อสีน้ำตาลจากต้นกล้วยที่แสดงอาการโรคตายพรายจากแปลงปลูกกล้วยจากพื้นที่ 28 จังหวัด จำนวน 75 ตัวอย่าง นำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์และจำแนกชนิดเบื้องต้นด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ได้เชื้อรา *Fusarium* จำนวน 49 ไอโซเลท สกัดดีเอ็นเอ และ ทำ PCR ได้ลำดับนิวคลิไทด์ของยีนตำแหน่ง *tef1* เมื่อตรวจสอบชนิดของ forma specialis พบว่าได้เชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense* จำนวน 40 ไอโซเลท โดยอีก 9 ไอโซเลท พบว่าอยู่ในกลุ่มของเชื้อรา *F. sonali F. incarnatum-equiseti* และ *F. fujikuroi* complex จากการดำเนินงาน ได้ดีเอ็นเอ และต้นแบบของเชื้อรา *F. oxysporum* ระดับ forma specialis *cubense* ที่บริสุทธิ์ และมีคุณภาพเพื่อใช้เปรียบเทียบในการจำแนกชนิดที่ถูกต้องเป็นเป็นปัจจุบันต่อไป นอกจากนี้ยังพบว่า พบว่าเชื้อรา Foc race 1 พี่พบในประเทศไทย เป็น species complex มีจำนวนอย่างน้อย 3 สปีชีส์ทั้งนี้ตัวอย่างที่ได้สามารถใช้อ้างอิงทางอนุกรมวิธานสำหรับจัดทำฐานพันธุกรรมความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อรา *F. oxysporum* ระดับ forma specialis ในประเทศไทย

คำหลัก : โรคตายพราย การจำแนกชนิด *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* race 1

รหัสการทดลอง FF65-20-04-65-00-02-65

คำนำ

โรคตายพราย หรือ โรคเหี่ยวกล้วย (Panama disease หรือ Fusarium wilt) มีสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* หรือ Foc สามารถเข้าทำลายและก่อให้เกิดความเสียหายต่อกล้วย และพืชสกุล *Heliconia* เชื้อจะเข้าทำลายและก่อให้เกิดความเสียหายต่อระบบท่อลำเลียงของพืช การเข้าทำลายส่วนใหญ่มักจะเข้าทางราก เจริญขึ้นไปตามท่อน้ำ (xylem) เริ่มจากบริเวณกาบใบด้านนอกของส่วนลำต้น (Warman and Aitken, 2018) โรคนี้เป็นโรคที่สำคัญต่อการปลูกกล้วย ซึ่งทำความเสียหายให้กับผลผลิตกล้วยอย่างรุนแรง และเป็น soil borne สามารถคงอยู่ได้ในดินในรูปของ chlamydospore ได้นานกว่า 20 ปี ตั้งแต่ตอนต้นศตวรรษที่ 1900 โรคตายพรายที่เกิดจากเชื้อรา Foc สายพันธุ์ race 1 ทำความเสียหายให้กับกล้วยสายพันธุ์ Gros Michel ซึ่งเป็นกล้วยที่มีความสำคัญทางการค้าในภูมิภาคลาตินอเมริกาซึ่งเป็นแหล่งปลูกกล้วยสำคัญของโลก

เชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (E.F. Sm.) W.C. Snyder & H.N. Hansen, race 1 (Foc race 1 หรือ Foc R1) สาเหตุ Panama disease *Fusarium* wilt หรือ โรคตายพราย หรือ โรคเหี่ยว ประกอบไปด้วย 4 race ได้แก่

1. *F. oxysporum* f.sp. *cubense* race 1 เข้าทำลายกล้วย เช่น พันธุ์ Gros Michel (กล้วยหอมทอง genome type AAA) Pisang Awak (กล้วยน้ำว้า genome type ABB) เป็นต้น

2. *F. oxysporum* f.sp. *cubense* race 2 เข้าทำลายกล้วย เช่น พันธุ์ Bluggoe (กล้วยหักมุก genome type ABB) เป็นต้น

3. *F. oxysporum* f.sp. *cubense* race 3 เข้าทำลายพืชในกลุ่ม *Heliconia* species

4. *F. oxysporum* f.sp. *cubense* race 4 เข้าทำลายกล้วยพันธุ์ Cavendish (กล้วยหอมเขียว genome type AAA) Foc race 4 แยกออกได้เป็น 2 strain คือ subtropical race 4 (Foc SR4) พบการระบาดเฉพาะในเขต subtropics และ Tropical race 4 (Foc TR4) พบในเขต Tropics และกำลังระบาดและทำความเสียหายแก่อุตสาหกรรมการผลิตกล้วยทั่วโลกอยู่ในขณะนี้

เชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense* เข้าสู่พืชทางราก และแพร่กระจายเข้าสู่ท่อลำเลียงน้ำ ทำให้เกิดอาการเนื้อเยื่อของลำต้นเทียมตายเป็นสีน้ำตาล และลุกลามขึ้นสู่ก้านใบ โคนใบแก่ด้านนอกมีสีซีดเหลือง และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล โดยเริ่มพบจากใบล่างด้านนอกรอบลำต้น จะแสดงลักษณะเหี่ยว เฉา และเริ่มมีสีเหลือง และเป็นเกือบรอบต้น หลังจากแสดงอาการใบเหลือง มักพบอาการขอบใบแห้ง ใบหักพับภายใน 1-2 สัปดาห์ เมื่อเป็นโรคอย่างรุนแรง ใบล่างรอบลำต้นเหี่ยวเฉา ใบไหม้ และโค้งงอลงรอบลำต้น ทำให้มีลักษณะคล้ายกระโปรง (skirt) และยืนต้นตายในที่สุด เมื่อผ่าลำต้นเทียมหรือกาบใบบริเวณโคนต้น จะพบท่อลำเลียงเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เมื่อผ่าตามแนวยาวจะเห็นเป็นสีน้ำตาลเป็นแนวต่อเนื่อง แต่เมื่อผ่าตามขวางจะเห็นเป็นสีน้ำตาลหรือน้ำตาลอมม่วงในช่องของท่อลำเลียง บริเวณหน่อหรือโคนต้นอาจพบลักษณะลำต้นแตก หรือโคนต้นแตก บริเวณเหง้าเมื่อผ่าดูจะพบเป็นปื้นเหลืองและเมือกหรือยางกล้วยเป็นสีเหลือง

การวินิจฉัยโรคและชนิดของเชื้อราสาเหตุสามารถแบ่งระดับของการวินิจฉัย ได้ดังนี้

การวินิจฉัยในแปลงปลูก

การวินิจฉัยว่าเป็นโรคตายพรายในระดับแปลง สามารถทำได้โดยดูจากลักษณะอาการของโรคเหี่ยว หรือโรคตายพราย หากมีอาการ จะสามารถอนุมานได้เบื้องต้นว่าเป็นโรคตายพราย แต่ไม่สามารถยืนยันชนิดของเชื้อราได้

การวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

นำตัวอย่างต้นกล้วยที่แสดงอาการเหี่ยวหรือตายพรายมาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ จากนั้นจัดจำแนกชนิดเชื้อราบริสุทธิ์ที่แยกได้ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา เช่น ลักษณะของโคโลนี สีของเส้นใย ลักษณะและขนาดของสปอร์ ซึ่งจะสามารถระบุได้เบื้องต้นว่าเป็นเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *cubense* (Foc) หรือไม่ แต่ไม่สามารถระบุ ชนิดของสายพันธุ์ (race) ของเชื้อรา Foc ได้

การวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการด้วยลักษณะ phenotype

การจัดจำแนกชนิดของสายพันธุ์ (race) ของเชื้อรา Foc ไม่สามารถใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาในการจัดจำแนกเนื่องจากมีความแตกต่างไม่เพียงพอ ต้องดูลักษณะการแสดงออกของเชื้อรา (phenotyping) การทำปฏิกิริยาระหว่างสายพันธุ์ โดยใช้วิธีการ vegetative compatibility groups หรือ VCGs ที่ออกแบบโดย Cove (1976) และ ปรับปรุงวิธีการโดย Puhalla (1985) และ Correll *et al.,* (1987) ซึ่งค่อนข้างยุ่งยากเนื่องมีข้อจำกัดมากมาย เช่น ต้องมี Foc จากแต่ละกลุ่ม VCGs เพื่อใช้ในการทดสอบ มีเพียงห้องปฏิบัติการไม่กี่แห่ง ที่มี Foc สำหรับการทดสอบ VCGs อีกทั้งการจัดจำแนกด้วย VCGs ใช้เวลาในการตรวจสอบค่อนข้างนาน

การวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการด้วยข้อมูลชีวโมเลกุล

การจัดจำแนกชนิดของสายพันธุ์ (race) ของเชื้อรา Foc ทำได้โดยใช้วิธีการทางชีวโมเลกุลโดยการวิเคราะห์ลำดับเบส สำหรับเชื้อรา Foc TR4 ที่มีการศึกษาและจำแนกอย่างถูกต้องแล้ว สามารถพัฒนาต่อโดยได้ออกแบบไพร์เมอร์ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อรา Foc TR4 เพื่อตรวจสอบชนิดของเชื้อราสาเหตุ อีกทั้งเป็นวิธีการที่แม่นยำและซึ่งมีความรวดเร็วกว่าการจำแนกชนิดด้วย VCGs (Bentley *et al*., 2001; Dita *et al.*, 2010; Dita *et al*., 2011; Fraser-Smith *et al*., 2014)

Maryani *et al.,* 2019 ศึกษาอนุกรมวิธานของเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense* โดยใช้ข้อมูลของ systematics และ genealogical concordance พบว่าเชื้อรา Foc R1 ประกอบไปด้วยเชื้อรากว่า 7 ชนิด ได้แก่ *F. duoseptatum F. gromichellii F. hexaseptatum F. phialophorum F. tardichlamydosporum* และ *F. purpurascens* โดยใช้ข้อมูลของยีนตำแหน่ง *rpb1 rpb2* และ *tef1*

เพื่อให้เข้าใจและรู้จักชนิดของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* race 1 ที่เข้าทำลายกล้วย ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีความซับซ้อนและมีแนวโน้มประกอบด้วยเชื้อมากกว่าหนึ่งชนิดภายใต้ชื่อเดิม ดังนั้นการทดลองนี้จะจำแนกชนิดของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* race 1 เพื่อให้สามารถระบุชนิดหรือจำแนกชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้องและเป็นปัจจุบัน ด้วยวิธีการมาตรฐานและเป็นสากล เพื่อนำไปใช้ในการหาแนวทางป้องกันกำจัดที่ถูกต้องเหมาะสมและมีประสิทธิภาพ และเป็นข้อมูลสำคัญในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับเปิดตลาดสินค้าเกษตร การเจรจาการค้า

ระหว่างประเทศ ซึ่งข้อมูลดังกล่าวนี้ เกษตรกร เอกชน และหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง สามารถนำเทคโนโลยี ระบบการผลิตพืชไปใช้ประโยชน์ ในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตพืช มีความมั่นคงด้านอาหารและพลังงานอย่างยั่งยืน

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ ถุงพลาสติก ถุงกระดาษ กรรไกรตัดแต่งกิ่ง ไม้ทับตัวอย่าง กระดาษหนังสือพิมพ์ ซองกระดาษสำหรับเก็บและรักษาตัวอย่าง

2. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่

- เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง (microcentrifuge)
- Thermal cyclers
- เครื่องเขย่า Vortex
- Tissue Lyser
- Gel electrophoresis (gel tank เครื่องกำเนิดกระแสไฟ gel plate comb)
- เครื่องถ่ายภาพเจล
- microwave
- micropipette ขนาด 10 100 200 และ 1000 ไมโครลิตร
- กล้องจุลทรรศน์แบบ compound
- กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo
- dry heat block
- water bath

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

4. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ บิกเกอร์ ขวดดูแรน กระบอกตวง ตะเกียงแอลกอฮอล์ plate

5. สารเคมี ได้แก่

- Green Hot Start PCR Master Mix (biotechrabbit™)
- Lysing Enzymes from *Trichoderma harzianum* (Glucanex®)
- Lithium Borate buffer (LB)
- PureDireX Genomic DNA Isolation Kit
- QIAquick Gel Extraction Kit
- SERVA HiSens Stain G
- Nuclease-Free Water
- อาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ potato dextrose agar (PDA)

- ไพร์เมอร์ ได้แก่

EF-1	ATGGGTAAGGARGACAAGAC (O'Donnell *et al*., 1998)
EF-2	GGARGTACCAGTSATCATGTT (O'Donnell *et al*., 1998)
RPB1-Fa	CAYAARGARTCYATGATGGGWC (O'Donnell *et al*., 2010)
RPB1-G2R	GTCATYTGDGTDGCDGGYTCDCC (O'Donnell *et al*., 2010)
RPB2-5f2	GGGGWGAYCAGAAGAAGGC (O'Donnell *et al*., 2010)
RPB2-7cr	CCCATRGCTTGYTTRCCCAT (O'Donnell *et al*., 2010)

6. Sequence assemble programs เช่น Geneious Prime 2022

วิธีการ

1. เก็บรวบรวมตัวอย่าง (2565)

เก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อสีน้ำตาลที่แสดงอาการของโรคตายพราย ห่อตัวอย่างด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ บันทึกข้อมูลพิกัดทางภูมิศาสตร์ วันที่เก็บตัวอย่าง ผู้เก็บตัวอย่าง พันธุ์ของกล้วยที่เก็บตัวอย่าง โดยเขียนรายละเอียดกำกับให้ชัดเจน เพื่อนำมาตรวจแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ

2. การแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืช (2565-2566)

- แยกเชื้อราสาเหตุโรคพืชจากตัวอย่างเนื้อเยื่อพืช

แยกเชื้อราโดยวิธี tissue transplanting นำตัวอย่างส่วนของท่อน้ำท่ออาหารของต้นกล้วยที่มีสีน้ำตาลแช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปรคลอไรท์ 10 % เป็นเวลา 3-5 นาที ล้างในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำไปซับบนกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้แห้ง ตัดเป็นเส้นเล็ก ๆ แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ ห้องปฏิบัติการ นาน 7-21 วัน แยกราให้บริสุทธิ์ และเลี้ยงบนอาหาร PDA

- แยกเชื้อราสาเหตุโรคพืชจาก culture collection

เขี่ยเส้นใยของเชื้อรามาวางลงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ ห้องปฏิบัติการ นาน 7-21 วัน

- แยกเชื้อให้บริสุทธิ์

แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ โดยวิธี single spore isolation ย้ายสปอร์เดี่ยวของเชื้อรา เลี้ยงลงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ ห้องปฏิบัติการ นาน 7-21 วัน หากไม่มีการปนเปื้อน สามารถดำเนินการสกัดดีเอ็นเอ เชื้อที่เจริญจากสปอร์เดี่ยว จะทำการแยกเลี้ยงบนอาหาร PDA จากนั้นนำเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้เลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ศึกษาต่อไป

3. จำแนกชนิดของราโดยใช้ข้อมูลพันธุกรรม

- สกัดดีเอ็นเอ (2566)

ตักและย้ายเส้นใยของเชื้อรา *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 (2566)

นำดีเอ็นเอที่สกัดได้จากแต่ละตัวอย่าง มาทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายของ *Fusarium* spp. ตำแหน่ง the RNA polymerase largest subunit gene (*rpb1*) ด้วยไพร์เมอร์ RPB1-Fa/RPB1-G2R (O'Donnell *et* al., 2010) ตำแหน่ง the RNA polymerase second largest subunit gene (*rpb2*) ด้วยไพร์เมอร์ RPB2-5f2/RPB2-7cr (O'Donnell *et al*., 2010) และ the translation elongation factor 1-alpha gene (*tef1*) (O'Donnell *et al*., 1998) กำหนด annealing temperature ของแต่ละตำแหน่งที่ 56 องศาเซลเซียส ด้วยวิธี Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยใช้ Taq DNA Polymerase ใช้ cycling และ condition ของปฏิกิริยาตามที่ผู้ผลิตแนะนำ

- การตรวจสอบผลิตภัณฑ์ PCR (2566)

ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำ PCR โดยตรวจสอบขนาดของชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่ต้องการ ด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส (Electrophoresis) ทำการผสมผลิตภัณฑ์ PCR ด้วย loading dye และ stain ในปริมาตร 4 1 และ 1 ไมโครลิตร ตามลำดับ ผสมให้เข้ากันจากนั้นหยอดลงใน agarose gel ที่ความเข้มข้น 1% ให้ผลิตภัณฑ์ PCR เคลื่อนที่ผ่านสารละลาย Lithium Borate buffer (LB buffer) ส่งผลิตภัณฑ์ PCR ไปยัง บริษัท Macrogen Korea เพื่อทำให้ผลิตภัณฑ์ PCR บริสุทธิ์ และหาลำดับนิวคลีโอไทด์

- การวิเคราะห์ และตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์ (2566)

นำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ (sequence) มาทำการวิเคราะห์ โดยนำ forward sequence และ reverse sequence ที่ได้มาเปรียบเทียบเทียบกัน โดยใช้โปรแกรม Geneious Prime 2022 (http://www.geneious.com; Kearse *et al*., 2012) บันทึกข้อมูลของลำดับนิวคลีโอไทด์ในรูปแบบไฟล์ชนิด fasta ทำการตรวจสอบความถูกต้องของชนิดของจุลินทรีย์ที่ทำการศึกษากับฐานข้อมูลทางพันธุกรรม เช่น GenBank, Mycobank, Fusarium MLST DATABASE และ Fusarium-ID

- การจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ (2567)

นำ contig ของลำดับนิวคลีโอไทด์ (consencus sequence ที่บันทึกไว้ในรูปแบบ fasta ไฟล์) มาจัดเรียง (align) ด้วยโปรแกรม MAFFT 6.611 (Katoh and Toh, 2008) จากนั้นตรวจสอบการจัดเรียง (alignment) โดยวิธี MUSCLE ในโปรแกรม the MEGA (Kumar *et al*., 2016) จากนั้นใช้โปรแกรม Gblocks (Talavera and Castresana, 2007) ทำการรวมชุดข้อมูลของดีเอ็นเอตำแหน่ง *rpb1 rpb2* และ *tef1* เป็น combined dataset บันทึกชุด alignment ในรูปแบบไฟล์. nexus หรือ . nex โดยใช้โปรแกรม Mesquite

- วิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการเพื่อการจัดจำแนก (2567)

ประมวลผลและวิเคราะห์ข้อมูล ใช้สองเกณฑ์มาตรฐานคือ Maximum Likelihood ใช้โปรแกรม RAxML v8.1.15 (Stamatakis, 2014) และ Bayesian Inference ใช้โปรแกรม MrBayes (Ronquist and Huelsenbeck, 2003)

การบันทึกข้อมูล

เก็บรักษาสายพันธุ์เชื้อราใน Culture Collection ดีเอ็นเอต้นแบบ (DNA templates) ข้อมูลรหัสดีเอ็นเอ (DNA barcodes หรือ consensus sequences) จะถูกเก็บบันทึกและใช้เป็นข้อมูลอ้างอิง รวมถึงสามารถใช้เป็นข้อมูลประกอบในการศึกษาด้านวิวัฒนาการต่อไป จัดเก็บดีเอ็นเอต้นแบบไว้ที่อุณหภูมิ –40 องศาเซลเซียส ณ พิพิธภัณฑ์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2564 – กันยายน 2565

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การเก็บรวบรวมตัวอย่าง

เก็บและรวบรวมตัวอย่างเนื้อเยื่อสีน้ำตาลจากต้นกล้วยที่แสดงอาการโรคตายพรายจากแปลงปลูกกล้วย จากพื้นที่ 28 จังหวัด จำนวน 75 ตัวอย่าง จากจังหวัดสระบุรี หนองบัวลำภู นครพนม สุรินทร์ ศรีสะเกษ เพชรบูรณ์ อุบลราชธานี เชียงราย เชียงใหม่ จันทบุรี กาญจนบุรี พิษณุโลก ปทุมธานี นนทบุรี น่าน พะเยา แม่ฮ่องสอน ตาก นครปฐม เลย สงขลา ลำพูน อุตรดิตถ์ สกลนคร นครราชสีมา สุโขทัย อุดรธานี หนองคาย

2. การแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืช

แยกเชื้อให้บริสุทธิ์และจำแนกชนิดเบื้องต้นด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ได้เชื้อรา *Fusarium* จำนวน 49 ไอโซเลท นำมาแยกให้บริสุทธิ์อีกครั้งด้วยวิธี single spore isolation โดยย้ายสปอร์เดี่ยวของเชื้อรา Foc เลี้ยงลงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ นาน 7-21 วัน จากนั้นนำไปสกัดดีเอ็นเอ เชื้อที่เจริญจากสปอร์เดี่ยว จะทำการแยกเลี้ยงบนอาหาร PDA จากนั้นนำเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้ เลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ศึกษาต่อไป

3. จำแนกชนิดเบื้องต้น

จำแนกชนิดเบื้องต้นด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ได้เชื้อรา *Fusarium* จำนวน 49 ไอโซเลท สกัดดีเอ็นเอ และ PCR ได้ลำดับนิวคลีไทด์ของยีนตำแหน่ง *tef1* เมื่อตรวจสอบชนิดของ forma specialis พบว่าได้เชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense* จำนวน 40 ไอโซเลท นอกจากนี้ยังพบว่า พบว่าเชื้อรา Foc race 1 พี่พบในประเทศไทย เป็น species complex มีจำนวนอย่างน้อย 3 สปีชีส์ และเชื้อรา *Fusarium* อีก 9 ไอโซเลทพบว่าอยู่ในกลุ่มของเชื้อรา *F. sonali F. incarnatum-equiseti* และ *F. fujikuroi* complex (Figure 1) จากการดำเนินงาน ได้ดีเอ็นเอ และต้นแบบของเชื้อรา *F. oxysporum* ระดับ forma specialis *cubense* ที่บริสุทธิ์ และมีคุณภาพเพื่อใช้เปรียบเทียบในการจำแนกชนิด และใช้อ้างอิงทางอนุกรมวิธานสำหรับจัดทำฐานพันธุกรรมความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อรา *F. oxysporum* ระดับ forma specialis ในประเทศไทย

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการศึกษาเพื่อจำแนกชนิดของเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense* race 1 complex ผลการศึกษาเบื้องต้นพบว่า เชื้อรา Foc Race 1 ในประเทศไทย เป็น species complex มีจำนวนอย่างน้อย 3 สปีชีส์ นอกจากนี้ยังพบว่า เชื้อรา *Fusarium* ที่พบในต้นกล้วยที่แสดงอาการเหี่ยว ดินบริเวณรอบราก สามารถพบได้ทั้งเชื้อรา *F. oxysporum F. solani* และ *F. fujikuroi* เมื่อทำการจำแนกชนิดเชื้อราที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่า จากการจำแนกชนิดในระดับ species และ forma specialis ค่อนข้างยากเนื่องลักษณะและขนาดของจากสปอร์ของเชื้อรามีความใกล้เคียงกันมาก จึงจำเป็นต้องนำข้อมูลทางพันธุกรรมมาร่วมวิเคราะห์เพื่อจำแนกชนิด

คำขอบคุณ

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

เอกสารอ้างอิง

Bentley S, N.Y. Moore and J. Pattemore. 2001. *Fusarium wilt diagnostics laboratory manual*. CRC for Tropical Plant Protection, Brisbane.

Correll, J.C., C.J.R. Klittich and J.F. Leslie. 1987. Nitrate non-utilizing mutants of *Fusarium oxysporum* and their use in vegetative compatibility tests. *Phytopathology* 77: 1640-1646.

Dita, M.A., C. Waalwijk, I.W. Buddenhagen, M.T. Jr Souza and G.H. Kema. 2010. A molecular diagnostic for tropical race 4 of the banana fusarium wilt pathogen. *Plant Pathology* 59: 348–357.

Dita, M.A., C. Waalwijk, I.W. Buddenhagen, M.T. Jr Souza and G.H. Kema. 2011. Corrigendum. *Plant Pathology* 60: 384.

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

Fraser-Smith, S., E. Czislowski, R.A. Meldrum, M. Zander, G.R. Balali and E.A.B. Aitken. 2014. Sequence variation in the putative effector gene SIX8 facilitates

molecular differentiation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Plant Pathology* 63: 1044 –1052. doi: 10.1111/ppa.12184.

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

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

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

Maryani N., L. Lombard, Y.S. Poerba, S. Subandiyah, P.W. Crous P.W. and G.H.J. Kema. 2019. Phylogeny and genetic diversity of the banana Fusarium wilt pathogen *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* in the Indonesian centre of origin. *Studies in Mycology* 92: 155-194.

O'Donnell, K., H.C. Kistler, E. Cigelnik and R.C. Ploetz. 1998. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95: 2044–2049.

O'Donnell, K., D.A. Sutton, M.G. Rinaldi MG, B.A Sarver, S.A. Balajee, H.J. Schroers, R.C. Summerbell, V.A. Robert, P.W. Crous, N. Zhang, T. Aoki, K. Jung, J. Park, Y.H. Lee, S. Kang, B. Park and D.M. Geiser. 2010. Internet-accessible DNA sequence database for identifying fusaria from human and animal infections. *Journal of Clinical Microbiology* 48(10): 3708-3718. doi: 10.1128/JCM.00989-10.

Puhalla, J.E. 1985. Classification of strains of *Fusarium oxysporum* on the basis of vegetative compatibility. *Canadian Journal of Botany* 63: 179–183.

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

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

Talavera, G. and J. Castresana. 2007. Improvement of phylogenies after removing divergent and ambiguously aligned blocks from protein sequence alignments. *Systematic Biology* 56: 564-577.

Warman, N.M. and E.A.B. Aitken. 2018. The movement of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (Sub-Tropical Race 4) in susceptible cultivars of banana. *Frontiers in Plant Science* 9: 1-9.

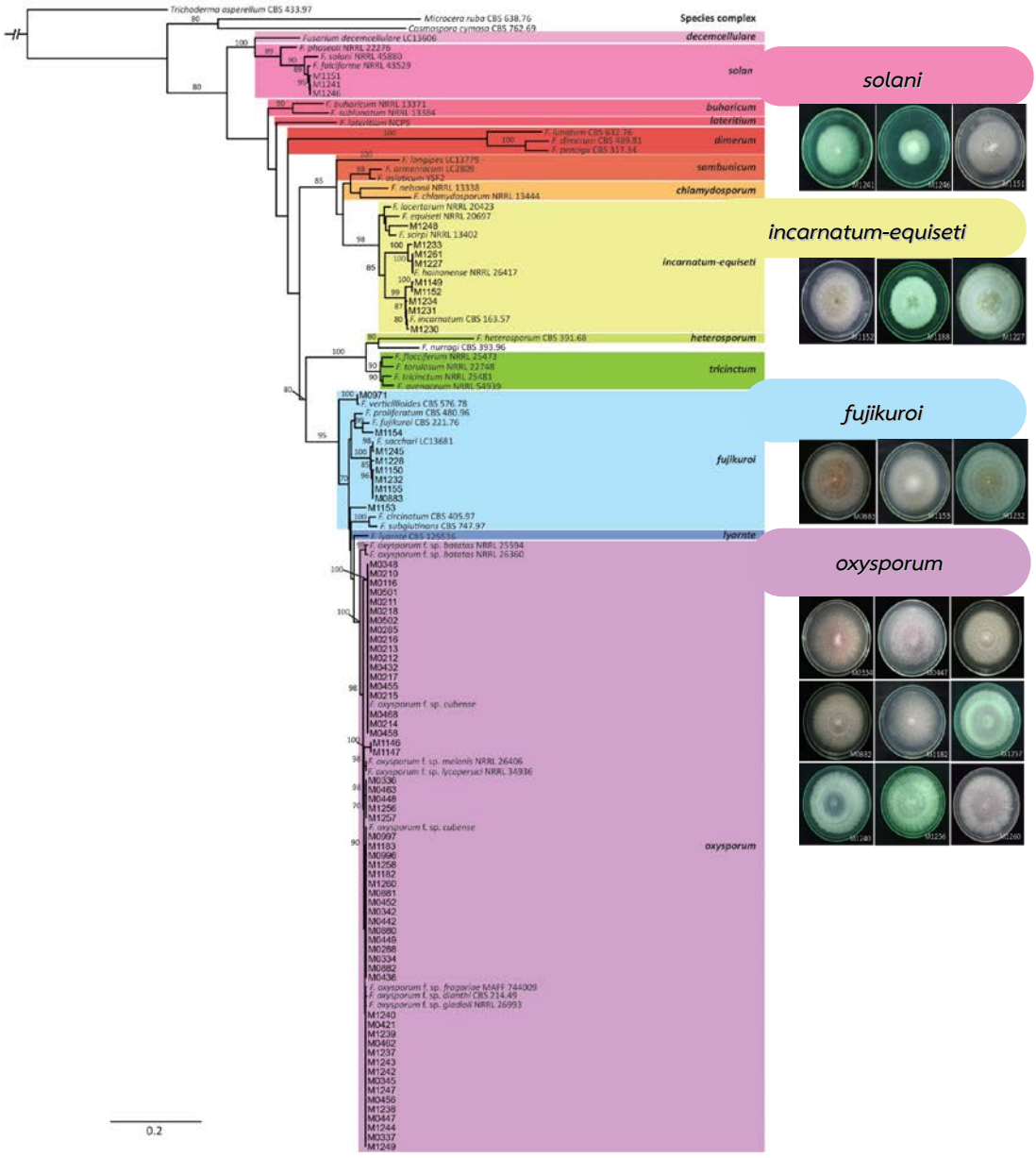


Figure 1 Phylogram of *Fusarium* spp. obtained in a maximum likelihood search in RAxML of concatenated dataset of the translation elongation factor 1-alpha (*tef1*) gene region. Bootstrap support values (≥70%) from 1,000 replicates above nodes

การจำแนกชนิดของแบคทีเรีย *Xanthomonas* spp. สาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ

Identification of *Xanthomonas* spp. associated with Bacterial Spot of Chili and Tomato

ทิพวรรณ กันหาญาติ[1/] ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล[1/] บูรณี พั่ววงษ์แพทย์[1/]
รุ่งนภา ทองเครั่ง[1/] กาญจนา ศรีไม้[1/] วันเพ็ญ ศรีชาติ[2/]
[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิชาการ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2

รายงานความก้าวหน้า

โรคใบจุดที่เกิดจากแบคทีเรียในกลุ่ม *Xanthomonas* ของพริกและมะเขือเทศเป็นโรคที่สำคัญของประเทศผู้ผลิตพริกและมะเขือเทศทั่วโลก เนื่องจากทำให้ผลผลิตลดลงและสามารถถ่ายทอดผ่านเมล็ดได้ เชื้อแบคทีเรียในกลุ่มนี้มีลักษณะอาการของโรคคล้ายคลึงกัน พบรายงานเชื้อหลายชนิดที่เป็นสาเหตุโรคซึ่งมีการจัดจำแนกและเปลี่ยนชื่อใหม่หลายครั้ง ดังนั้น การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas* spp. สาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศที่พบระบาดในประเทศไทยให้ข้อมูลชนิดของเชื้อเป็นปัจจุบัน โดยการทดลองในเดือนตุลาคม 2564 - กันยายน 2565 ได้ดำเนินการสำรวจและเก็บตัวอย่างอาการใบจุดพริกและมะเขือเทศจากจังหวัดเชียงราย น่าน ตาก พิษณุโลก หนองคาย สกลนคร ขอนแก่น และนครราชสีมา แยกเชื้อในห้องปฏิบัติการได้เชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas* spp. จำนวน 10 ไอโซเลท และทำการฟื้นฟูเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดที่เก็บรักษาไว้ในแหล่งเก็บจุลินทรีย์ของกลุ่มวิจัยโรคพืชได้เชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas* spp. จำนวน 10 ไอโซเลท เชื้อทั้งหมดสามารถก่อโรคต่อมะเขือเทศและพริกได้ จากนั้นนำเชื้อทั้งหมดมาทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี และตรวจสอบเชื้อเบื้องต้นด้วยเทคนิค PCR ต่อไป

คำหลัก : จำแนกชนิด ใบจุด พริก มะเขือเทศ

รหัสการทดลอง FF65-20-04-65-00-03-65

คำนำ

โรคใบจุดที่เกิดจากแบคทีเรียในกลุ่ม *Xanthomonas* ของพริกและมะเขือเทศเป็นโรคที่สำคัญของประเทศผู้ผลิตพริกและมะเขือเทศทั่วโลกโดยเฉพาะในเขตร้อนและร้อนชื้นเนื่องจากทำให้ผลผลิตลดลงถึง 50% (Pohronezny and Volin, 1983) เชื้อแบคทีเรียในกลุ่มนี้มีลักษณะอาการของโรคคล้ายคลึงกันและพบว่ามีเชื้อแบคทีเรียหลายชนิดเป็นสาเหตุโรค โรคใบจุดของมะเขือเทศพบระบาดครั้งแรกในปี ค .ศ.1914 ที่อเมริกาใต้จำแนกเชื้อสาเหตุเป็น *Bacterium vesicatorium* (Doidge, 1921) และที่ยูโกสลาเวีย Sutic (1957) จำแนกเชื้อสาเหตุอาการจุดขอบสีขาวบนผลมะเขือเทศเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas gardneri* ต่อมามีการจัดจำแนกเชื้อสาเหตุโรคใบจุดที่เกิดจากแบคทีเรียของพริกและมะเขือเทศและเปลี่ยนชื่อใหม่อีกหลายครั้ง โดยเชื้อ *B. vesicatorium* เปลี่ยนชื่อเป็น *X. vesicatoria* และ *X. campestris* pv. *vesicatoria* ตามลำดับ (Young *et al*., 1978) แต่เมื่อศึกษาข้อมูลการใช้แหล่งคาร์บอนและ DNA-DNA hybridization ของเชื้อทำให้แบ่งเชื้อ *X. campestris* pv. *vesicatoria* ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่ม A และ B ที่มีความแตกต่างกัน โดยเชื้อ *X. campestris* pv. *vesicatoria* กลุ่ม A มีดีเอ็นเอคล้ายคลึงกับเชื้อในกลุ่ม *X. axonopodis* จึงตั้งชื่อใหม่เป็น *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* ในขณะที่เชื้อ *X. campestris* pv. *vesicatoria* กลุ่ม B มีดีเอ็นเอคล้ายคลึงกับเชื้อในกลุ่ม *X. vesicatoria* จึงให้ชื่อใหม่เป็น *X. vesicatoria* (Stall *et al*., 1994; Vauterin *et al*., 1995) ต่อมาในปี 2000 Jones *et al.* ได้แบ่งเชื้อเพิ่มเติมอีก 2 กลุ่ม คือ กลุ่ม C และ D โดยกลุ่ม C คือ *X. perforans* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุของโรคใบจุดกลุ่มใหม่ที่พบรายงานที่รัฐฟลอริดา สหรัฐอเมริกา (Jones *et al*., 1995) และกลุ่ม D คือเชื้อ *X. gardneri* ชื่อเดิม คือ เชื้อ *P. gardneri* (Jones *et al*., 2000) ในปี 2004 Jones *et al*. จำแนกเชื้อใหม่อีกครั้งพบความแตกต่างกันภายในกลุ่มเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดในพริกและมะเขือเทศ จากการใช้แหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกันและผลการศึกษา DNA-DNA hybridization ทำให้แบ่งกลุ่มเชื้อใหม่เป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ *X. euvesicatoria* คือเชื้อกลุ่ม A เดิม *X. perforans* *X. vesicatoria* และ *X. gardneri* โดยเชื้อทั้ง 4 กลุ่ม มีความสัมพันธ์ของดีเอ็นเอระหว่างกลุ่มต่ำกว่า 70% (Jones *et al*., 2004) ในปัจจุบันมีการเสนอเปลี่ยนชื่อเชื้อทั้ง 4 ชนิด เป็น *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* *X. euvesicatoria* pv. *perforans X. hortorum* pv. *gardneri* และ *X. vesicatoria* ตามลำดับ (Constantin *et al*., 2016; Timilsina *et al*., 2020; Morinière *et al*., 2020) สำหรับประเทศไทยมีรายงานเชื้อสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศเกิดจากเชื้อ *X .campestris* pv. *vesicatoria* (Uematsu *et al*., 1983) และรายงานการจำแนกชนิดแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศโดยการเปรียบเทียบลำดับ นิวคลีโอไทด์หลายตำแหน่งพบเชื้อ 2 ชนิด ได้แก่ *X. euvesicatoria* และ *X. perforans* (สันติพงษ์ และคณะ, 2563)

โรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas* spp. ทั้ง 4 ชนิด จัดเป็นศัตรูพืชกักกันที่มีรายชื่ออยู่ใน EPPO A2 list (EPPO, 2013) และเป็นกลุ่ม complex species ซึ่งไม่สามารถจำแนกได้เบื้องต้นจากอาการของโรคเมื่อพบการระบาดในแปลงหรือด้วยข้อมูลทางสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียว รวมถึงมีการจัดจำแนกและเปลี่ยนชื่อเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas*

spp. สาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศใหม่ ดังนั้น การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas* spp. สาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศที่พบระบาดในประเทศไทยให้ข้อมูลชนิดของเชื้อเป็นปัจจุบัน ใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการจัดทำข้อมูลศัตรูพืช และเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกัน

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่องแก้ว และอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น กระบอกตวง จานเลี้ยงเชื้อ ลูป
2. อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติก ยางรัด
3. ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven)
4. หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave)
5. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Incubator)
6. เครื่องชั่ง
7. ปิเปต (Pipette)
8. เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)
9. อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)
10. เครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ (Refrigerated Centrifuge)
11. เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (Thermal cycler)
12. เครื่องแยกวิเคราะห์สารพันธุกรรม (Gel Electrophoresis System)
13. เครื่องถ่ายภาพสารพันธุกรรม (Gel Documentation)
14. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ สกัดดีเอ็นเอ และทำปฏิกิริยา PCR เช่น ชุดสกัดดีเอ็นเอ QIAamp DNA Mini kit (Qiagen, USA) สารเคมี One PCR Master Mix (GeneDirex® Inc., Taiwan) ดีเอ็นเอขนาดมาตรฐาน Onemark 100 (GeneDirex® Inc., Taiwan)

วิธีการ

1. สำรวจและเก็บตัวอย่างโรค

ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างที่มีลักษณะอาการคล้ายโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศจากแหล่งปลูกที่สำคัญ ได้แก่ จังหวัดอุบลราชธานี ชัยภูมิ เลย เพชรบูรณ์ สระบุรี นครราชสีมา กาญจนบุรี น่าน เชียงใหม่ และเชียงราย เป็นต้น บันทึกข้อมูลลักษณะอาการของโรค ถ่ายภาพ วันที่เก็บ และแหล่งที่พบ จากนั้นนำตัวอย่างกลับมาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ โดยตัดส่วนของพืชบริเวณรอยต่อของส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรคเป็นชิ้นเล็กๆ แต่ละชิ้นตัวอย่างนำมาแช่ในแอลกอฮอล์ 70% นาน 5 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง แล้วนำมาบดในน้ำกลั่น และแยกเชื้อบนอาหาร PSA หลังจากนั้นบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เลือกเก็บเชื้อแบคทีเรียที่มีลักษณะ

โคโลนี กลมนูน ขอบเรียบ ผิวเป็นมันวาวสีเหลือง และทำให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์ โดยเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อกลีเซอรอล 15% และ 50% ไว้ใช้ในการศึกษาต่อไป

2. ทดสอบการเกิดโรค (Pathogenicity test)

นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากการเก็บตัวอย่างและที่เก็บรักษาไว้ในแหล่งเก็บจุลินทรีย์ของกลุ่มวิจัยโรคพืช มาทดสอบการเกิดโรคกับพริกและมะเขือเทศ โดยเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนอาหาร PSA บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำมาปรับระดับความเข้มข้นของเชื้อโดยใช้ค่าดูดกลืนแสง O.D.600 nm เท่ากับ 0.2 ด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ มีความเข้มข้นของเชื้อประมาณ 10^8 CFU/ml พ่นเชื้อแบคทีเรียบนพืชทดสอบแล้วใช้ถุงพลาสติกคลุมไว้ให้มีความชื้นเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จึงเปิดถุงออก และสังเกตอาการต้นพืชเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่พ่นด้วยน้ำเปล่า และพิสูจน์โรคตามวิธีการของ Koch (Koch's postulation)

3. ศึกษาคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาและชีวเคมีของเชื้อ

ทำการศึกษาคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาและชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรียบางประการตามวิธีการของ Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria Third Edition (Schaad *et al*., 2001)

4. การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศด้วยเทคนิค PCR

ตรวจสอบเชื้อโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศด้วยเทคนิค PCR ตามรายงานของ Koenraadit *et al.* (2009) โดยใช้ปริมาตรรวมในการทำปฏิกิริยา PCR 20 ไมโครลิตร ประกอบด้วยดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรียความเข้มข้น 100 ng/µl, One PCR Master Mix (GeneDirex® Inc., Taiwan) และไพรเมอร์ชนิดละ 0.2 µM เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องควบคุมอุณหภูมิ Biometra® (Biometra biomedizinische Analytik GmbH, Germany) ตรวจสอบผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส และตรวจดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอุลตราไวโอเลตด้วยเครื่อง UVITEC Cambridge Platinum (Uvitec Ltd., UK)

5. การจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศด้วยวิธี multilocus sequence analysis (MLSA)

แยกสกัดดีเอ็นเอเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศด้วยชุดสกัด QIAamp DNA Mini kit (Qiagen, USA) นำดีเอ็นเอที่สกัดได้มาเพิ่มปริมาณ housekeeping gene จำนวน 4 ยีน ได้แก่ ยีน *atpD, dnaK, efp* และ *gyrB* ตามรายงานของ Roach *et al.* (2018) โดยใช้ปริมาตรรวมในการทำปฏิกิริยา PCR 50 ไมโครลิตร ประกอบด้วยดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรียความเข้มข้น 100 ng/µl, One PCR Master Mix (GeneDirex® Inc., Taiwan) และไพรเมอร์ชนิดละ 0.5 µM เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องควบคุมอุณหภูมิ Biometra® (Biometra biomedizinische Analytik GmbH, Germany) กำหนดอุณหภูมิและเวลาให้เริ่มต้นแยกสายดีเอ็นเอแม่แบบ (denaturing) ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที แยกสายดีเอ็นเอแม่แบบต่อที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที ไพรเมอร์เริ่มต้นจับคู่กับดีเอ็นเอแม่แบบ (annealing) ที่อุณหภูมิ 54

องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วินาที สังเคราะห์ดีเอ็นเอ (extension) ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที และสังเคราะห์ดีเอ็นเอรอบสุดท้าย (final extension) ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ทำปฏิกิริยาทั้งหมด 30 รอบ จากนั้นนำดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยา PCR มาตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส (agarose gel electrophoresis) โดยใช้ 2% agarose ใน 0.5X TBE ใช้กระแสไฟฟ้าที่ค่าความต่างศักย์ 100 โวลต์ นาน 25 นาที ตรวจดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอุลตราไวโอเลตด้วยเครื่อง UVITEC Cambridge Platinum (Uvitec Ltd., UK) ส่งผลผลิต PCR ที่มีขนาดดีเอ็นเอเป้าหมายเพื่อวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ ตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยโปรแกรม Bioedit จัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้ง 4 ยีน ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป MEGA X (Kumar *et al*., 2018) และวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการเพื่อจัดจำแนกเชื้อเปรียบเทียบกับเชื้อแบคทีเรีย type strain ที่มีรายงานอยู่ใน GenBank โดยใช้การประมวลผลและวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Maximum Likelihood (ML) ด้วยโปรแกรม RAxML v 8.1.15 (Stamatakis, 2014) กำหนดค่า model of evolution แบบ GTRGAMMA วิเคราะห์ด้วย rapid bootstrap (command –f a) เริ่มวิเคราะห์จาก random starting tree และกำหนดค่า maximum likelihood bootstrap 1,000 ซ้ำ

เวลาและสถานที่

เวลา	ตุลาคม 2564 – กันยายน 2565
สถานที่	1. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
	2. แหล่งปลูกพริกและมะเขือเทศ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

สำรวจและเก็บตัวอย่างอาการใบจุดพริกและมะเขือเทศจากจังหวัดเชียงราย น่าน ตาก พิษณุโลก หนองคาย สกลนคร ขอนแก่น และนครราชสีมา จำนวน 50 ตัวอย่าง แยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ ได้เชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas* spp. จำนวน 10 ไอโซเลท ทำการฟื้นฟูเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดที่เก็บรักษาไว้ในแหล่งเก็บจุลินทรีย์ของกลุ่มวิจัยโรคพืชได้เชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas* spp. จำนวน 10 ไอโซเลท พบว่าทั้ง 20 ไอโซเลท สามารถก่อโรคต่อมะเขือเทศและพริกได้ จากนั้นนำเชื้อทั้งหมดมาทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี และตรวจสอบเชื้อเบื้องต้นด้วยเทคนิค PCR ต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas* spp. จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างอาการใบจุดพริกและมะเขือเทศจากจังหวัดเชียงราย น่าน ตาก พิษณุโลก หนองคาย สกลนคร ขอนแก่น และนครราชสีมา นำมาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการได้จำนวน 10 ไอโซเลท และจากการฟื้นฟูเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดที่เก็บรักษาไว้ในแหล่งเก็บจุลินทรีย์ของกลุ่มวิจัยโรคพืช จำนวน 10 ไอโซเลท ทั้ง 20

ไอโซเลท สามารถก่อโรคต่อมะเขือเทศและพริก เพื่อนำมาทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี และตรวจสอบเชื้อเบื้องต้นด้วยเทคนิค PCR ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

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

Constantin, E.C., I. Cleenwerck, M. Maes, S. Baeyen, C. Van Malderghem and P. De Vos. 2016. Genetic characterization of strains named as *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* leads to a taxonomic revision of the *X. axonopodis* species complex. *Plant Pathol*. 65, 792–806. doi: 10.1111/ppa. 12461.

Doidge, E.M. 1921. A tomato canker. *Ann. Appl. Biol*. 7: 407-430.

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

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

Jones, J.B., H. Bouzar, R.E. Stall, E.C. Almira, P.D. Roberts, B.W. Bowen, J. Sudberry, P.M. Strickler and J. Chun. 2000. Systematic analysis of xanthomonads (Xanthomonas spp.) associated with pepper and tomato lesions. *Int J Syst Evol Microbiol* 50:1211–1219. doi: 10.1099/00207713-50-3-1211.

Jones, J.B., R.E. Stall, J.W. Scott, G.C. Somodi, H. Bouzar and N.C. Hodge. 1995. A third tomato race of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Plant Disease* 79: 395-398.

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

Kumar, S., G .Stecher, M .Li, C .Knyaz and K .Tamura .2018 .MEGA X :Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms .*Molecular Biology and Evolution* 35 :1547-1549.

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

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

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

Schaad, N. W., J. B. Jones and G. H. Lacy. 2001. Laboratory Guide for the Identification of Plant Pathogenic Bacteria. *American Phytopathological Society*. Minnesota 175-199.

Stall, R.E., C. Beaulieu, D. Egel, N.C. Hodge, R.P. Leite, G.V. Minsavage, H. Bouzar, J.B. Jones, A.M. Alvarez and A.A. Benedict. 1994. Two genetically diverse groups of strains are included in *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Int. J. Syst. Bacteriol*. 44: 47-53.

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

Sutic, D. 1957. Bakterioze crvenog patlidzana (tomato bacteriosis). Posebna Izd. Inst. Zasht. Bilja Beograd (Spec. Edit. Inst. Plant Prot. Beograd) 6, 1–65. English summary. *Review of Applied Mycology* 36: 734-735.

Timilsina, S., M. O. Jibrin, N. Potnis, G. V. Minsavage, M. Kebede, A. Schwartz, R. Bart, B. Staskawicz, C. Boyer, G. E. Vallad, O. Pruvost, J. B. Jones and E. M. Goss. 2015. Multilocus sequence analysis of xanthomonads causing bacterial spot of tomato and pepper plants reveals strains generated by recombination among species and recent global spread of *Xanthomonas gardneri*. *Applied and Environmental Microbiology* 81: 1520-1529.

Uematsu, T., S. Chuenchitt, S. Kanjanarat, S. Vitithajinda, N. Napheerong, S. Benjathikul, S. Nilmanee, W. Dhirabhava and D. Buangsuwon. 1983. *Bacterial diseases on economic crops in Thailand*. Trop. Agr. Res. Center, Ministry of Agr., Forestry and Fisheries, Japan and Dept. of Agr., Ministry of Agr. and Coop. Thailand. 266 p.

Vauterin, L., B. Hoste, K. Kersters and J. Swings. 1995. Reclassification of *Xanthomonas*. *Int. J. Syst. Bacteriol*. 45(3): 472-489.

Young, J.M., D.C .Park, H.M .Shearman and E .Fargier .2008 .A multilocus sequence analysis of Xanthomonas .*Sys .Appl .Microbiol* .31 :366-377.

Young, J.M., D.W. Dye, J.F. Bradbury, C.G. Panagopoulos and C.F. Robbs. 1978. A proposed nomenclature and classification for plant pathogenic bacteria. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 21, 153-177.

ชนิดและสัณฐานวิทยาของวัชพืชสกุล *Echinochloa* P. Beauv

Species and Morphology of the genus *Echinochloa* P. Beauv

อุษณีย์ จินดากุล[1/] จรัญญา ปิ่นสุภา[2/] ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย[1/]
ปรัชญา เอกฐิน[1/] เทอดพงษ์ มหาวงศ์[1/] ธัญชนก จงรักไทย[1/]
[1/]กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิชาการ สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาชนิดและลักษณะสัณฐานของหญ้าสกุล *Echinochloa* P. Beauv. ในประเทศไทย ตั้งแต่เดือนตุลาคม พ.ศ. 2564 ถึงเดือนกันยายน พ.ศ. 2565 สำรวจและเก็บตัวอย่างต้นและเมล็ดวัชพืชสกุล *Echinochloa* P.Beauv. รวมแหล่งสำรวจทั้งสิ้นจำนวน 66 แหล่ง ได้ตัวอย่างต้นและเมล็ดวัชพืชสกุล *Echinochloa* P. Beauv. ทั้งหมด 66 ตัวอย่าง สามารถจัดทำตัวอย่างแห้งสำหรับเก็บเข้าพิพิธภัณฑ์ได้ 1 ชนิด จำนวน 42 ตัวอย่าง และจากการจำแนกชนิด พบหญ้าสกุลนี้ 2 ชนิด และสามารถระบุชนิดได้ 1 ชนิดแล้วได้แก่ *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv โดยสามารถเก็บเมล็ดได้ทั้ง 2 ชนิด ลักษณะที่สามารถระบุชนิดของวัชพืชดังกล่าวได้คือ ปลายกาบล่างของดอกย่อยล่างมีรยางค์แข็ง และลักษณะการไม่มีลิ้นใบ ดังนั้นสามารถนำข้อมูลดังกล่าวมาใช้ในการระบุชนิดได้

คำหลัก : หญ้าข้าวนก สัณฐานวิทยา *Echinochloa*

รหัสการทดลอง FF65-20-05-65-01-01-65

คำนำ

จากการสำรวจวัชพืชที่ระบาดและเป็นวัชพืชร้ายแรงที่พบแพร่กระจายในแหล่งที่ทำการปลูกข้าวชนิดหว่านน้ำตม ในเขตพื้นที่ภาคกลางคือ หญ้าข้าวนก (จากข้อมูลการขอขึ้นทะเบียนสารกำจัดวัชพืชของกลุ่มวิจัยวัชพืชในปี พ.ศ. 2561 พบว่าสารกำจัดวัชพืชที่เคยใช้มีแนวโน้มการใช้ในอัตราที่เพิ่มสูงมากขึ้น แสดงให้เห็นว่าเริ่มมีการปรับตัวของหญ้าข้าวนกที่สามารถต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช โดยลักษณะดังกล่าวสามารถถ่ายทอดทางพันธุกรรมไปสู่รุ่นลูกหลานได้เนื่องจากหญ้าข้าวนก เป็นพืชที่สามารถผสมตัวเองได้สูง (highly self-fertilizing) และสามารถผสมข้ามได้ (gene flow) 5.6-12.5 เปอร์เซ็นต์ ในระยะห่างระหว่างต้น 0-0.25 เมตร ประกอบกับข้อมูลการจำแนกชนิดของวัชพืชในสกุลหญ้าข้าวนกในประเทศไทยได้จัดทำครั้งล่าสุดในปี พ.ศ. 2557 พบหญ้าสกุลนี้ 3 ชนิด ได้แก่ หญ้าข้าวนก (*Echinochloa colona* (L.) Link) หญ้าปล้องละมาน (*E. crus-galli* (L.) P. Beauv.) และหญ้าปล้องใหญ่ (*E. stagnina* (Retz.) P. Beauv.) การจัดอนุกรมวิธานให้วัชพืชสกุลหญ้าข้าวนกในการระบุเป็นชนิดยังเป็นเรื่องที่มีความยากเนื่องจากวัชพืชในสกุลนี้มีความหลากหลายสูงเนื่องจากมีทั้ง intra-species และ inter-species ซึ่งมีแนวโน้มในการรวมเป็นกลุ่มเดียวกันที่สูงมาก การจำแนกลักษณะทางอนุกรมวิธานของพืชสกุลนี้เป็นความท้าทายที่สำคัญสำหรับนักวิทยาศาสตร์ด้านวัชพืช เนื่องจากความสับสนด้านอนุกรมวิธาน (taxonomy) ซึ่งเกิดขึ้นจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology) และการแปรผันของฟีโนโลจี (phenology) ทำให้ยากต่อการที่จะจำแนกชนิดภายในสกุล (Barrett, 1982) ซึ่งบางชนิดของวัชพืชสกุล *Echinochloa* P.Beauv. มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่อยู่ตรงกลางระหว่าง 2 ชนิด ซึ่งการกำหนดลักษณะที่ไม่ชัดเจนของวัชพืชในสกุลนี้ส่งผลให้มีการการระบุตัวอย่างผิดพลาด (Costea and Tardif 2002; Michael 2003) ระดับของความพร้อมในการใช้งานข้อมูลในการจำแนกที่จำกัด เช่น การใช้ภาพถ่ายยังคงเป็นปัญหาในการจำแนกวัชพืชในสกุลนี้ (Damalas *et al*. 2008) ซึ่งนักอนุกรมก็เสนอวิธีการในการจำแนกวัชพืชสกุลนี้อย่างหลากหลาย เช่น Costea and Tardif (2002) จะใช้ลักษณะของ lemma กับ caryopsis ในการจำแนกวัชพืชสกุลนี้โดยสามารถจำแนกได้ถึง 5 ชนิด รวมถึงหญ้าข้าวนก (barnyard grass) ด้วย ดังนั้นข้อมูลของวัชพืชสกุล *Echinochloa* P.Beauv. จึงมีความจำกัดมาก ซึ่งโครงการวิจัยส่วนใหญ่จะมุ่งเน้นไปที่หญ้าข้าวนก (barnyardgrass) เป็นส่วนใหญ่ โดยจะไม่คำนึงสายพันธุ์หรือชนิดอื่นๆ ในการนำมาเปรียบเทียบภาย ใต้สภาพแวดล้อมในการเจริญเติบโตเดียวกัน (Damalas *et al.* 2008)

ในปัจจุบันการค้าสินค้าเกษตรระหว่างประเทศในปัจจุบัน ผู้ส่งออกจำเป็นต้องยื่นบัญชีรายชื่อศัตรูพืชของพืชนั้นๆ ให้ประเทศคู่ค้า เพื่อประโยชน์ในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช โดยการวิเคราะห์ความเสี่ยงซึ่งจำเป็นต้องมีข้อมูลเกี่ยวกับศัตรูพืชภายในประเทศที่ถูกต้องและเป็นปัจจุบัน ดังนั้นการศึกษา

ชนิด และสัณฐานวิทยาของวัชพืชที่สำคัญ เพื่อจัดทำฐานข้อมูลวัชพืช.ให้ถูกต้องและเป็นปัจจุบัน สนับสนุนการปรับปรุงฐานข้อมูลศัตรูพืชในประเทศไทย และเป็นข้อมูลสนับสนุนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชที่เกี่ยวข้องกับวัชพืช ใช้เป็นข้อมูลประกอบการนำเข้าและส่งออกสินค้าเกษตร เพื่อช่วยให้ประเทศไทยเพิ่มศักยภาพให้สามารถแข่งขันสินค้าเกษตรกับนานาประเทศได้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. กล้องถ่ายรูปแบบดิจิตอล
2. กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscope)
3. เลนส์ขยาย 10 เท่า สำหรับการตรวจสอบเบื้องต้นในภาคสนาม
4. กรรไกร มีด เสียม หรือพลั่ว สำหรับตัด/ขุด ตัวอย่างพืช
5. ดินและกระถาง สำหรับปลูกพืชทดสอบในเรือนทดลอง
6. แผงอัดตัวอย่างพรรณไม้พร้อมกระดาษฟูก ฟองน้ำและหนังสือพิมพ์ พร้อมเชือกไส้ตะเกียงและป้ายชื่อสำหรับผูกตัวอย่างพืช
7. กระดาษติดตัวอย่างพืช พร้อมแฟ้มปก
8. ขวดแก้ว และน้ำยาสำหรับดองตัวอย่างพืช (หากจำเป็น)
9. น้ำยาชุบตัวอย่างวัชพืช ประกอบด้วย ฟีนอล เมอคิวริคคลอไรด์ เอทธิลแอลกอฮอล์
10. การบูร
11. เครื่องรับสัญญาณดาวเทียม เพื่อระบุพิกัด
12. อุปกรณ์อื่นๆ ที่จำเป็น เช่น ถุงพลาสติกขนาดต่างๆ กระถางพลาสติก กระบะปูน และป้ายแสดงกรรมวิธี
13. สมุดบันทึก

วิธีการ

1. การศึกษานิเวศวิทยาและการแพร่กระจาย

1) สำรวจและเก็บตัวอย่างต้นและเมล็ดวัชพืชสกุล *Echinochloa* P.Beauv. โดยใช้วิธีแบบการสืบพบ (detection survey) ในพื้นที่การเกษตรและสิ่งแวดล้อม ดังนี้ ปี 2565 ภาคเหนือ (เช่น จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ ลำปาง แพร่ น่าน) ภาคกลาง (เช่น จังหวัดนครสวรรค์ พิษณุโลก นครปฐม สุพรรณบุรี ชัยนาท) และภาคตะวันตก (เช่น จังหวัดตาก กาญจนบุรี ราชบุรี เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์)

บันทึกข้อมูล สถานที่หรือพิกัดที่เก็บตัวอย่าง สภาพนิเวศ ชนิดพืชปลูกหลัก ลักษณะพืชเป้าหมาย การถูกทำลายโดยศัตรูธรรมชาติ วัน/เดือน/ปี ที่เก็บ แมลง และศัตรูธรรมชาติ ที่พบในพื้นที่ที่สำรวจ

2) การจัดทำตัวอย่างแห้ง นำตัวอย่างต้นวัชพืชสกุล *Echinochloa* P.Beauv. มาอัดในแผงพรรณไม้ ขนาดประมาณ 50 X 30 เซนติเมตร เมื่อแห้งแล้วติดลงบนกระดาษขาว ขนาด 45 x 30 เซนติเมตร พร้อมติดป้าย ระบุ ชื่อวัชพืช สถานที่เก็บตัวอย่าง นิเวศวิทยา พืชอาศัย วันและเวลา ชื่อผู้เก็บ โดยเก็บรักษาไว้ ณ กลุ่มวิจัยวัชพืช และพิพิธภัณฑ์กรุงเทพฯ กรมวิชาการเกษตร โดยดำเนินการทดลอง ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยวัชพืช

3) เมล็ด นำเมล็ดที่เก็บได้ไปทำความสะอาด ผึ่งในที่ร่มให้แห้ง แบ่งเป็นสองส่วน คือ ส่วนที่ 1 นำไปเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส จนกว่าจะใช้ ส่วนที่ 2 เก็บใส่กล่องพลาสติก พร้อมติดป้าย ระบุ ชื่อวัชพืช สถานที่เก็บตัวอย่างนิเวศวิทยา พืชอาศัย วันและเวลา ชื่อผู้เก็บ โดยเก็บรักษาไว้ ณ กลุ่มวิจัยวัชพืช โดยดำเนินการทดลอง ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยวัชพืช

2. การตรวจสอบชนิด

ตรวจสอบชนิด โดยเทียบกับตัวอย่างพันธุ์ไม้ในพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพ อาคารพิพิธภัณฑ์พืช สิรินธร กรมวิชาการเกษตร หอพรรณไม้ กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพรรณพืช พิพิธภัณฑ์พืชของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น และองค์การสวนพฤกษศาสตร์ รวมถึงสอบถามจากผู้ทรงคุณวุฒิ และการตรวจสอบกับเอกสารคู่มือต่าง ๆ

1) การศึกษาสัณฐานวิทยาของเมล็ด สุ่มเมล็ดที่เก็บได้มาใช้จำนวน 100 เมล็ด นำไปวัดขนาด และถ่ายภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์

บันทึกข้อมูล ความกว้าง ความยาว รูปร่าง ลักษณะ และสีของเมล็ด องค์ประกอบของเมล็ด เช่น หาง ปีกหรือหนาม ที่เป็นปัจจัยในการแพร่กระจาย โดยดำเนินการทดลอง ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยวัชพืช

2) การศึกษาสัณฐานวิทยาของต้นสดที่ได้จากการเก็บตัวอย่าง และต้นอ่อนที่ได้จากการนำเมล็ดที่เก็บได้มาปลูกเพื่อศึกษาสัณฐานวิทยาต้นอ่อนของวัชพืชแต่ละชนิดในสกุล และศึกษารายละเอียดเพิ่มเติมให้ครบสมบูรณ์หากตัวอย่างที่เก็บได้จากพื้นที่ต่าง ๆ ไม่ครบ โดยสุ่มเมล็ดที่แก่ และสมบูรณ์ ชนิดละ 50 เมล็ด ใส่ในกระถาง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 12 นิ้ว ที่บรรจุดินผสม ชนิดละ 5 กระถาง นำไปวางในเรือนทดลอง

บันทึกข้อมูล ลักษณะต่าง ๆ ตั้งแต่เริ่มงอก จนกระทั่งออกดอกและติดเมล็ด โดยดำเนินการทดลอง ณ ห้องปฏิบัติการ และเรือนทดลอง กลุ่มวิจัยวัชพืช

เวลาและสถานที่

- ห้องปฏิบัติการ และเรือนทดลอง กลุ่มวิจัยวัชพืช
- ระหว่างเดือน ตุลาคม 2564 - กันยายน 2565

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การศึกษานิเวศวิทยาและการแพร่กระจาย

สำรวจและเก็บตัวอย่างต้นและเมล็ดวัชพืชสกุล *Echinochloa* P.Beauv. โดยใช้วิธีแบบการสืบพบ ในพื้นที่การเกษตรและสิ่งแวดล้อม ในภาคเหนือ จำนวน 15 แหล่ง 2 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่และน่าน พื้นที่ภาคกลาง 18 แหล่ง จำนวน 8 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดปทุมธานี ปราจีนบุรี พิษณุโลก ลพบุรี สระบุรี สุโขทัย สุพรรณบุรี และพระนครศรีอยุธยา พื้นที่ภาคตะวันออก 7 แหล่ง จำนวน 2 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดฉะเชิงเทรา และนครนายก และพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 4 แหล่ง จำนวน 3 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดกาฬสินธุ์ มหาสารคาม และร้อยเอ็ด ภาคตะวันตก 22 แหล่ง จำนวน 4 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดกาญจนบุรี ราชบุรี เพชรบุรี และประจวบคีรีขันธ์ รวมแหล่งสำรวจทั้งสิ้น 66 แหล่ง ได้ตัวอย่างต้นและเมล็ดวัชพืชสกุล *Echinochloa* P. Beauv. ทั้งหมด 66 ตัวอย่าง และเก็บรักษาเมล็ด ไว้ในตู้แช่เมล็ดอุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส (Table 1) สำหรับการจัดทำตัวอย่างแห้ง สามารถจัดทำตัวอย่างแห้งสำหรับเก็บเข้าพิพิธภัณฑ์ได้ 1 ชนิด จำนวน 42 ตัวอย่าง

2. การตรวจสอบชนิด

วัชพืชสกุล *Echinochloa* P. Beauv. เป็นไม้ล้มลุกปีเดียวหรือหลายปี จากการสำรวจพบวัชพืชสกุล *Echinochloa* P. Beauv. จำนวน 2 ชนิด และสามารถระบุชนิดได้แล้ว 1 ชนิด คือ *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv โดยสามารถเก็บเมล็ดได้ทั้ง 2 ชนิด ลักษณะที่สามารถระบุชนิดของวัชพืชดังกล่าวได้คือ ปลายกาบล่างของดอกย่อยล่างมีรยางค์แข็ง และลักษณะการไม่มีลิ้นใบ โดยมีรายละเอียดดังนี้

ลักษณะลำต้น เป็นข้องอ โค้งขึ้นด้านบนหรือทอดชูยอด ลักษณะของใบเป็นใบรูปแถบ เกลี้ยงไม่มีขน ไม่มีลิ้นใบ และหูใบ

ลักษณะช่อดอก เป็นแบบช่อแยกแขนง ช่อแขนงเป็นแบบช่อกระจะ เรียงสลับตามแกนกลางช่อดอก ช่อดอกย่อย จะออกเป็นคู่ เรียง 4 แถวแน่น และออกด้านเดียวตามแกนกลางช่อแขนง เป็นรูปไข่หรือรูปรีด้านหนึ่งแบน อีกด้านหนึ่งโค้งนูน และมีขนสาก

ลักษณะดอกย่อย มีจำนวน 2 ดอก เพศของดอกย่อยแตกต่างกัน กาบช่อดอกย่อยล่างเป็นรูปไข่กว้าง ยาวประมาณ 1 ใน 3 หรือครึ่งหนึ่งของความยาวช่อดอกย่อย โอบหุ้มที่โคนช่อดอกย่อย มีเส้นกาบ 3 เส้น กาบช่อ ดอกย่อยบนยาวเท่ากับช่อดอกย่อย มีเส้นกาบ 3-5 เส้น ดอกย่อยล่าง เป็นดอกเพศผู้หรือไม่มีเพศ กาบล่างรูปรีปลายเป็นติ่งแหลมหรือมีรยางค์แข็ง กาบบนเนื้อบางใส ขอบพับเป็นสัน ดอกย่อยที่อยู่ด้านบนเป็นดอกสมบูรณ์เพศ กาบล่างและกาบบนเนื้อหนาคล้ายแผ่นหนัง เกลี้ยงเป็นมัน กาบล่างปลายแหลมหรือเป็นจะงอยสั้น โค้งขึ้น กาบบนขอบพับเป็นสัน ปลายแหลม กลีบเกล็ด 2 อัน มีเกสรเพศผู้ 3 เกสร ก้านยอดเกสรเพศเมีย 2 ก้าน ยอดเกสรเพศเมียมีขนยาวนุ่มเป็นพู่คล้าย ขนนก

ลักษณะผล (เมล็ด) เป็นแบบผลแห้งเมล็ดติด รูปทรงรีหรือ รูปทรงค่อนข้างกลม (Figure 1)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาชนิดและลักษณะสัณฐานของหญ้าสกุล *Echinochloa* P. Beauv. ในประเทศไทย ตั้งแต่เดือนตุลาคม พ.ศ. 2564 ถึงเดือนกันยายน พ.ศ. 2565 สำรวจและเก็บตัวอย่างต้นและเมล็ดวัชพืชสกุล *Echinochloa* P.Beauv. รวมแหล่งสำรวจทั้งสิ้นจำนวน 66 แหล่ง ได้ตัวอย่างต้นและเมล็ดวัชพืชสกุล *Echinochloa* P. Beauv. ทั้งหมด 66 ตัวอย่าง สามารถจัดทำตัวอย่างแห้งสำหรับเก็บเข้าพิพิธภัณฑ์ได้ 1 ชนิด จำนวน 42 ตัวอย่าง และจากการจำแนกชนิด พบหญ้าสกุลนี้ 2 ชนิด และสามารถระบุชนิดได้ 1 ชนิด แล้วได้แก่ *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv โดยสามารถเก็บเมล็ดได้ทั้ง 2 ชนิด ลักษณะที่สามารถระบุชนิดของวัชพืชดังกล่าวได้คือ ปลายกาบล่างของดอกย่อยล่างมีรยางค์แข็ง และลักษณะการไม่มีลิ้นใบ ดังนั้นสามารถนำข้อมูลดังกล่าวมาใช้ในการระบุชนิดได้

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ พนักงานราชการ ลูกจ้างประจำ และพนักงานจ้างเหมา ของกลุ่มวิจัยวัชพืช ที่ช่วยให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

Damalas CA., Dhima KV. and Eleftherohorinos IG. 2008. Morphological and physiological variation among species of the genus *Echinochloa* P.Beauv. in northern *Greece. Weed Sci* 56:416-423.

Michael PW. 2003. *Echinochloa* P.Beauv. Pages 390, 392-403 in Barkworth ME, Long S, Piep M, eds. Flora of North America. New York: Oxford University Press.

Mohamad Soerjani., Kostermans A.J.G.H. and Gembong T. 1987. *weeds of rice in Indonesia*. Balai Pustaka, Jakarta. 716 p.

National weed science research institute project. 1994. *Major Weeds in Thailand.* Japan international Cooperation Agency and Department of Agriculture, Ministry of Agriculture and Cooperatives, Thailand. 164 p.

Ni H., Moody K., Robles RP. and Restituta P. 2004. Analysis of competition between wet-seeded rice and barnyardgrass (*Echinochloa* P.Beauv. *crus-galli*) using a response–surface model. *Weed Sci.* 52:142–146

Table 1 Survey site of *Echinochloa* P.Beauv. in Thailand

Location			Plant	GPS	
Tambon	District	Province		latitude (N)	longitude (E)
Tung Satok	Sanpa Tong	Chiang Mai	Onion	98.848306	18.568576
Don Pao	Mae Wang	Chiang Mai	Onion	98.821725	18.606593
Don Pao	Mae Wang	Chiang Mai	Onion	98.833864	18.613038
Nam Boloung	Sanpa Tong	Chiang Mai	Onion	98.846687	18.643018
Samoung Tai	Sa Moeng	Chiang Mai	Rice	98.756596	18.852225
Pong Yang	Mae Rim	Chiang Mai	Rice	98.821619	18.916279
Klang Weing	Wieng Sa	Nan	Rice	100.743197	18.575692
Mae Kaning	Wieng Sa	Nan	Rice	100.584909	18.651319
Nam Pua	Wieng Sa	Nan	Rice	100.697549	18.655088
Sob Tia	Jom Thong	Chiang Mai	Rice	98.672174	18.348396
Ban Loung	Jom Thong	Chiang Mai	Rice	98.672234	18.424401
Khuen Phak	Phraw	Chiang Mai	Rice	99.191906	19.304784
Long Khod	Phraw	Chiang Mai	Rice	99.158277	19.091019
Sansai loung	Sansai	Chiang Mai	Rice	99.041469	18.847454
Sansai Noi	Sansai	Chiang Mai	Rice	99.026467	18.814336
Lam Luk Ka	Lam Luk Ka	Pathum Thani	Rice	100.885382	14.054092
Phai Chalued	Si Mahosot	Prachin Buri	Rice	101.365847	13.920134
Khu Lampan	Si Mahosot	Prachin Buri	Rice	101.408291	13.941334
Bung Phra	Mueang	Phitsanulok	Rice	100.263386	16.753934
Bung Phra	Mueang	Phitsanulok	Rice	100.279078	16.740654
ThaTan	Bang Krathum	Phitsanulok	Rice	100.315179	16.639373
Klong Khet	Khok Samrong	Lop Buri	Rice	100.434747	14.976301
Nong Suang	Wihan Daeng	Saraburi	Rice	100.976734	14.340122
Phra Phutthabat	Phra Phutthabat	Saraburi	Rice	100.777334	14.714792
Tha Chanuan	Kong Krailat	Sukhothai	Rice	99.888345	16.884462
Nong Ya Sai	Nong Ya Sai	Suphan Buri	Rice	99.941424	14.810621
Nong Ya Sai	Nong Ya Sai	Suphan Buri	Rice	99.911623	14.766533

Table 1 Survey site of *Echinochloa* P.Beauv. in Thailand (continue)

Location			Plant	GPS	
Tambon	District	Province		latitude (N)	longitude (E)
Bang Ngam	Si Prachan	Suphan Buri	Rice	100.099635	14.597666
Don Chedi	Don Chedi	Suphan Buri	Rice	100.030345	14.608789
Nam Tao	Bang Ban	Phra Nakhon Si Ayutthaya	Rice	100.441262	14.324661
Klong Loung	Bang Pa-in	Phra Nakhon Si Ayutthaya	Rice	100.585442	14.302306
Nong Kanhak	Tha Ruea	Phra Nakhon Si Ayutthaya	Rice	100.747881	14.502623
Na Koo	Phak hai	Phra Nakhon Si Ayutthaya	Rice	100.269346	14.461837
Don Cha aim	Tha Maka	Kanchanaburi	Baby corn	99.785623	13.9692
Tha Muang	Tha Muang	Kanchanaburi	Egg plant	99.657435	13.9647
Tha Muang	Tha Muang	Kanchanaburi	Kale	99.659123	13.9503
Tung Tong	Tha Muang	Kanchanaburi	Kale	99.656784	13.983
Huai Kayeng	Thong Pha Phum	Kanchanaburi	Chili	98.548036	14.66396
Nong Sano	Lao Khwan	Kanchanaburi	Casava	99.512634	14.0372696
Dan Tabtako	Chom Bueng	Ratchaburi	Rice	99.457767	13.683
Dan Tabtako	Chom Bueng	Ratchaburi	Corn	99.442754	13.6694
Dan Tabtako	Chom Bueng	Ratchaburi	Long been	99.416532	13.649
Ang Hin	Pak Tho	Ratchaburi	Rice	99.615862	13.473173
Yang Huk	Pak Tho	Ratchaburi	Rice	99.547073	13.353846
Tung Loung	Pak Tho	Ratchaburi	Rice	99.702422	13.415747
Don rae	Mueang Ratchaburi	Ratchaburi	Rice	99.749624	13.480919
NoNg Chumphon	Khao Yoi	Phetchaburi	Coconut	99.755034	13.256114
Nong Prong	Khao Yoi	Phetchaburi	Coconut	99.781036	13.180701
Yang Yong	Tha Yang	Phetchaburi	Rice	99.878197	12.98507
Klad loung	Tha Yang	Phetchaburi	Coconut	99.803382	12.892052
Ta mai roug	Tha Yang	Phetchaburi	Rice	99.792808	12.785512

Table 1 Survey site of *Echinochloa* P.Beauv. in Thailand (continue)

Location			Plant	GPS	
Tambon	District	Province		latitude (N)	longitude (E)
Nong Ya Plong	Nong Ya Plong	Phetchaburi	Rice	99.75778	13.16119
Tha Takroa	Nong Ya Plong	Phetchaburi	Rice	99.741837	13.050059
Chang Raek	Bang Saphan Noi	Prachuap Khiri Khan	Pineapple	99.317834	11.096034
Sai Thong	Bang Saphan Noi	Prachuap Khiri Khan	Pineapple	99.452798	10.998716
Bang Khla	Bang Khla	Chachoengsao	Rice	101.217903	13.72716
Muang Kao	Phanom Sarakham	Chachoengsao	Rice	101.296656	13.725134
Phra Ajan	Ongkharak	Nakhon Nayok	Rice	100.977651	14.026182
Sisa Krabue	Ongkharak	Nakhon Nayok	Rice	101.031036	14.050354
ดอนฉิมพลี	Bang Nam Priao	Chachoengsao	Rice	100.969089	13.899003
Lad Kwang	Ban Pho	Chachoengsao	Rice	101.027844	13.600939
Tung Sadao	Plaeng Yao	Chachoengsao	Rice	101.281958	13.585253
Jao Tha	Kamalasai	Kalasin	Rice	103.648265	16.211764
Hua Kwang	Kosum Phisai	Maha Sarakham	Rice	103.051126	16.243653
Dong Sing	Changhan	Roi Et	Rice	103.588911	16.181397
Si Kaew	Mueang Roi Et	Roi Et	Rice	103.545541	16.134871

Figure 1 *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv in Thailand: A. Inflorescence, B. Floret, C. Floret and Lemma, D. Ligule and E. เกสรเพศผู้และเกสรเพศเมีย

ชนิดและสัณฐานวิทยาของวัชพืชสกุล *Fimbristylis* Vahl

Species and Morphology of *Fimbristylis* Vahl

ธัญชนก จงรักไทย[1/] อัณศยา พรมมา[1/] กาญจนา พฤษพันธ์[2/]

[1/]กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]กลุ่มวิจัยพฤกษศาสตร์และพิพิธภัณฑ์พืช สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาชนิดและลักษณะสัณฐานของวัชพืชสกุล *Fimbristylis* Vahl ในประเทศไทย ระหว่างตุลาคม พ.ศ. 2564 ถึงเดือนกันยายน พ.ศ. 2565 สำรวจและเก็บตัวอย่างต้นและเมล็ดวัชพืชสกุล *Fimbristylis* Vahl โดยใช้วิธีแบบการสืบพบ ในพื้นที่การเกษตรและสิ่งแวดล้อม ในภาคเหนือ จำนวน 23 แหล่ง 7 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ แพร่ พะเยา ลำปาง อุตรดิตถ์ และลำพูน และภาคกลาง จำนวน 22 แหล่ง 13 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดกำแพงเพชร ชัยนาท นครสวรรค์ นนทบุรี พระนครศรีอยุธยา พิจิตร พิษณุโลก ลพบุรี สิงห์บุรี สุโขทัย สุพรรณบุรี นครปฐม และอ่างทอง รวม 45 แหล่ง พบวัชพืชสกุล *Fimbristylis* Vahl จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ *Fimbristylis quinquangularis* (Vahl) Kunth; *Fimbristylis dichotoma* (L.) Vahl *Fimbristylis polytrichoides* (Retz.) Vahl; *Fimbristylis gracilenta* Hance และ *Fimbristylis littoralis* Gaudich. จัดทำตัวอย่างแห้งสำหรับเก็บเข้าพิพิธภัณฑ์ได้ 5 ชนิด จำนวน 65 ตัวอย่าง เก็บตัวอย่างมาปลูกและเก็บเมล็ดสำหรับใช้ในการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาต่อไป

คำหลัก : หนวดปลาดุก สัณฐานวิทยา *Fimbristylis*

รหัสการทดลอง FF65-20-05-65-00-02-65

คำนำ

ปัจจัยหนึ่งที่ทำให้การจัดการหรือควบคุมวัชพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ จำเป็นต้องมีการจำแนกที่ถูกต้อง แต่จากการศึกษาความหลากหลายของวัชพืชที่พบในพื้นที่ปลูกพืชส่งออกและนำเข้าตั้งแต่ปี 2554 จนถึงปัจจุบัน พบว่ามีวัชพืชหลายชนิดที่มีลักษณะใกล้เคียงกัน ยากต่อการระบุชนิดในทันที และบางชนิดยังไม่สามารถระบุชนิดได้ นอกจากนั้นหากมีการปนเปื้อนของเมล็ดไปกับสินค้าเกษตรจะยิ่งจำแนกได้ยากมากขึ้น วัชพืชบางชนิดมีเมล็ดขนาดเล็ก บางชนิดมีขนาดและลักษณะใกล้เคียงกับพืชปลูก ยากต่อการแยกออก การจัดการทำได้ยาก

วัชพืชสกุล *Fimbristylis* จัดอยู่ในวงศ์ Cyperaceae มีประมาณ 200 กว่าชนิด กระจายอยู่ในเขตร้อน และเขตอบอุ่น พบมากในเอเชียใต้ อินโดจีน และมาเลเซีย สำหรับประเทศไทยพบ 60 ชนิด เป็นพืชขนาดเล็ก หรือขนาดกลาง เป็นพืชอายุฤดูเดียว หรือหลายฤดู (Simpson and Koyama, 1998) ชอบขึ้นในพื้นที่โคลนที่ชื้นแฉะ บางชนิดพบขึ้นในที่ดอนที่มีการให้น้ำ พบขึ้นได้ตั้งแต่ความสูงระดับน้ำทะเลจนถึง 1,500 เมตร (National weed science research institute project, 1994; CABI, 2019) โดยพบแพร่กระจายในพืชปลูกหลายชนิด เช่น ข้าว มะม่วง เผือก ฟักทอง มะยงชิด อ้อย มันสำปะหลัง ยาสูบ เมลอน และมะนาว (กลุ่มวิจัยวัชพืช, 2554; ศิริพร และธัญชนก, 2556; ศิริพร และคณะ, 2557; ศิริพร และคณะ, 2558; ศิริพร และคณะ, 2560; Mohamad *et al*., 1987) โดย Begum *et al*. (2009) ได้ศึกษาผลการแข่งขันระหว่างข้าว และ *F. miliacea* พบว่า ที่ความหนาแน่นวัชพืชต่ำ (500 ต้นต่อตารางเมตร) ผลผลิตข้าวเพิ่มขึ้นสัมพันธ์กับการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนเพิ่ม ในขณะที่ความหนาแน่นของวัชพืชสูงกว่า (1,000 ต้นต่อตารางเมตร) การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนเพิ่มขึ้นเป็น 170 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ ไม่มีผลต่อการเพิ่มผลผลิต และการมีวัชพืชหนาแน่นต่ำสุด คือ 250 ต้นต่อตารางเมตร จึงจะทำให้ได้ผลผลิตข้าวใกล้เคียงกับวิธีกำจัดวัชพืชออกหมด นอกจากนี้ยังพบว่ามีผลกระทบในหลายๆ ด้าน เช่น ผลกระทบต่อพืชท้องถิ่น ทำลายระบบนิเวศ และส่งผลเสียต่อการเกษตร (CABI, 2019)

การศึกษาชนิด และสัณฐานวิทยาของวัชพืชที่สำคัญ เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ถูกต้องและเป็นปัจจุบัน สนับสนุนการปรับปรุงฐานข้อมูลศัตรูพืชในประเทศไทย และเป็นข้อมูลสนับสนุนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชที่เกี่ยวข้องกับวัชพืช ใช้เป็นข้อมูลประกอบการนำเข้าและส่งออกสินค้าเกษตร เพื่อช่วยให้ประเทศไทยเพิ่มศักยภาพให้สามารถแข่งขันสินค้าเกษตรกับนานาประเทศได้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. กล้องถ่ายรูปแบบดิจิตอล
2. กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscope)
3. เลนส์ขยาย 10 เท่า สำหรับการตรวจสอบเบื้องต้นในภาคสนาม

4. กรรไกร มีด เสียม หรือพลั่ว สำหรับตัด/ขุด ตัวอย่างพืช

5. ดินและกระถาง สำหรับปลูกพืชทดสอบในเรือนทดลอง

6. แผงอัดตัวอย่างพรรณไม้พร้อมกระดาษฟูก ฟองน้ำและหนังสือพิมพ์ พร้อมเชือกไส้ตะเกียง และป้ายชื่อสำหรับผูกตัวอย่างพืช

7. กระดาษติดตัวอย่างพืช พร้อมแฟ้มปก

8. ขวดแก้ว และน้ำยาสำหรับดองตัวอย่างพืช (หากจำเป็น)

9. น้ำยาชุบตัวอย่างวัชพืช ประกอบด้วย ฟีนอล เมอคิวริคคลอไรด์ เอทธิลแอลกอฮอล์

10. การบูร

11. เครื่องรับสัญญาณดาวเทียม เพื่อระบุพิกัด

12. อุปกรณ์อื่นๆ ที่จำเป็น เช่น ถุงพลาสติกขนาดต่างๆ กระถางพลาสติก กระบะปูน และป้ายแสดงกรรมวิธี

13. สมุดบันทึก

วิธีการ

1. การศึกษานิเวศวิทยาและการแพร่กระจาย

1) สำรวจและเก็บตัวอย่างต้นและเมล็ดวัชพืชสกุล *Fimbristylis* Vahl โดยใช้วิธีแบบการสืบพบ (detection survey) ในพื้นที่การเกษตรและสิ่งแวดล้อม ภาคเหนือ (เช่น จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ ลำปาง แพร่) และภาคกลาง (เช่น จังหวัดสุโขทัย นครสวรรค์ พิษณุโลก สระบุรี ลพบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี ชัยนาท อ่างทอง)

บันทึกข้อมูล สถานที่หรือพิกัดที่เก็บตัวอย่าง สภาพนิเวศ ชนิดพืชปลูกหลัก ลักษณะพืชเป้าหมาย การถูกทำลายโดยศัตรูธรรมชาติ วัน/เดือน/ปี ที่เก็บ แมลง และศัตรูธรรมชาติ ที่พบในพื้นที่ที่สำรวจ

2) การจัดทำตัวอย่างแห้ง นำตัวอย่างต้นวัชพืชสกุล *Fimbristylis* Vahl มาอัดในแผงพรรณไม้ขนาดประมาณ 50 X 30 เซนติเมตร เมื่อแห้งแล้วติดลงบนกระดาษขาว ขนาด 45 x 30 เซนติเมตร พร้อมติดป้าย ระบุ ชื่อวัชพืช สถานที่เก็บตัวอย่าง นิเวศวิทยา พืชอาศัย วันและเวลา ชื่อผู้เก็บ โดยเก็บรักษาไว้ ณ กลุ่มวิจัยวัชพืช และพิพิธภัณฑ์กรุงเทพฯ กรมวิชาการเกษตร โดยดำเนินการทดลอง ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยวัชพืช

3) เมล็ด นำเมล็ดที่เก็บได้ไปทำความสะอาด ผึ่งในที่ร่มให้แห้ง แบ่งเป็นสองส่วน คือ ส่วนที่ 1 นำไปเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส จนกว่าจะใช้ ส่วนที่ 2 เก็บใส่กล่องพลาสติก พร้อมติดป้าย ระบุ ชื่อวัชพืช สถานที่เก็บตัวอย่างนิเวศวิทยา พืชอาศัย วันและเวลา ชื่อผู้เก็บ โดยเก็บรักษาไว้ ณ กลุ่มวิจัยวัชพืช โดยดำเนินการทดลอง ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยวัชพืช

2. การตรวจสอบชนิด

ตรวจสอบชนิด โดยเทียบกับตัวอย่างพันธุ์ไม้ในพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพ อาคารพิพิธภัณฑ์พืชสิรินธร กรมวิชาการเกษตร หอพรรณไม้ กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพรรณพืช พิพิธภัณฑ์พืช

ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น และองค์การสวนพฤกษศาสตร์ รวมถึงสอบถามจากผู้ทรงคุณวุฒิ และการตรวจสอบกับเอกสารคู่มือต่าง ๆ

เวลาและสถานที่

ทำการทดลอง ระหว่าง ตุลาคม 2564 - กันยายน 2565 (ระยะเวลา 1 ปี) ณ ห้องปฏิบัติการและเรือนทดลอง กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ และพื้นที่การเกษตรและสิ่งแวดล้อม ในภาคเหนือ และภาคกลาง

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การศึกษานิเวศวิทยาและการแพร่กระจาย

สำรวจและเก็บตัวอย่างต้นและเมล็ดวัชพืชสกุล *Fimbristylis* Vahl โดยใช้วิธีแบบการสืบพบในพื้นที่การเกษตรและสิ่งแวดล้อม ในภาคเหนือ จำนวน 23 แหล่ง 7 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ แพร่ พะเยา ลำปาง อุตรดิตถ์ และลำพูน และภาคกลาง จำนวน 22 แหล่ง 13 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดกำแพงเพชร ชัยนาท นครสวรรค์ นนทบุรี พระนครศรีอยุธยา พิจิตร พิษณุโลก ลพบุรี สิงห์บุรี สุโขทัย สุพรรณบุรี นครปฐม และอ่างทอง รวม 45 แหล่ง โดยพบการแพร่กระจายทั้งในพื้นที่การเกษตร เช่น นาข้าว พืชผัก และไม้ผล และพื้นที่สิ่งแวดล้อมข้างเคียง เช่นบริเวณข้างพันที่เกษตร ข้างถนน ซึ่งทุกพื้นที่ล้วนเป็นพื้นที่ชุ่มน้ำ มีน้ำขัง และไม่มีน้ำขัง โดยพบวัชพืชสกุล *Fimbristylis* Vahl จำนวน 5 ชนิด

2. การตรวจสอบชนิด

จากการตรวจสอบชนิด พบวัชพืชสกุล *Fimbristylis* Vahl จำนวน 5 ชนิด ที่สำรวจพบ โดยตรวจสอบกับเอกสาร Flora of Thailand Volume Six Part Four สามารถระบุชนิดที่พบ ได้แก่ *Fimbristylis quinquangularis* (Vahl) Kunth; *Fimbristylis dichotoma* (L.) Vahl *Fimbristylis polytrichoides* (Retz.) Vahl; *Fimbristylis gracilenta* Hance และ *Fimbristylis littoralis* Gaudich. ทั้งนี้ได้จัดทำตัวอย่างแห้งสำหรับเก็บเข้าพิพิธภัณฑ์ได้ทั้ง 5 ชนิด จำนวน 65 ตัวอย่าง และเก็บตัวอย่างมาปลูกและเก็บเมล็ดสำหรับใช้ในการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ พนักงานราชการ ลูกจ้างประจำ และพนักงานจ้างเหมา ของกลุ่มวิจัยวัชพืช ที่ช่วยให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาชนิดและลักษณะสัณฐานของวัชพืชสกุล *Fimbristylis* Vahl ในประเทศไทย ระหว่างตุลาคม พ.ศ. 2564 ถึงเดือนกันยายน พ.ศ. 2565 สำรวจและเก็บตัวอย่างต้นและเมล็ดวัชพืชสกุล *Fimbristylis* Vahl โดยใช้วิธีแบบการสืบพบ ในพื้นที่การเกษตรและสิ่งแวดล้อม ในภาคเหนือ

จำนวน 23 แหล่ง 7 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ แพร่ พะเยา ลำปาง อุตรดิตถ์ และลำพูน และภาคกลาง จำนวน 22 แหล่ง 13 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดกำแพงเพชร ชัยนาท นครสวรรค์ นนทบุรี พระนครศรีอยุธยา พิจิตร พิษณุโลก ลพบุรี สิงห์บุรี สุโขทัย สุพรรณบุรี นครปฐม และอ่างทอง รวม 45 แหล่ง พบวัชพืชสกุล *Fimbristylis* Vahl จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ *Fimbristylis quinquangularis* (Vahl) Kunth; *Fimbristylis dichotoma* (L.) Vahl *Fimbristylis polytrichoides* (Retz.) Vahl; *Fimbristylis gracilenta* Hance และ *Fimbristylis littoralis* Gaudich. จัดทำตัวอย่างแห้งสำหรับเก็บเข้าพิพิธภัณฑ์ได้ 5 ชนิด จำนวน 65 ตัวอย่าง เก็บตัวอย่างมาปลูกและเก็บเมล็ดสำหรับใช้ในการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ศิริพร ซึงสนธิพร ธัญชนก จงรักไทย และอัณศยา สุริยะวงศ์ระการ. 2557. การศึกษาชนิดของวัชพืชของพืชส่งออก ได้แก่ เผือก และฟักทอง พืชนำเข้า ได้แก่ มันสำปะหลัง และยาสูบ. หน้า 1307-1318. *ใน : รายงานผลงานประจำปี 2557 เล่ม 3.* สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

ศิริพร ซึงสนธิพร ธัญชนก จงรักไทย และอัณศยา สุริยะวงศ์ระการ. 2558. การศึกษาชนิดของวัชพืชของพืชส่งออก ได้แก่ เผือก และฟักทอง พืชนำเข้า ได้แก่ มันสำปะหลัง และยาสูบ. หน้า 1516-1558. *ใน : รายงานผลงานประจำปี 2558 เล่ม 3*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

ศิริพร ซึงสนธิพร และอัณศยา สุริยะวงศ์ระการ ธัญชนก จงรักไทย เอกรัตน์ ธนูทอง และกาญจนา พฤษพันธ์. 2560. การศึกษาชนิดของวัชพืชของพืชส่งออก ได้แก่ กล้วย มะยงชิด พืชนำเข้า ได้แก่ เมลอน มะนาวหน้า 407-448. *ใน : รายงานผลงานประจำปี 2560 เล่ม 1*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

ศิริพร ซึงสนธิพร และธัญชนก จงรักไทย. 2556. การศึกษาชนิดของวัชพืชของพืชส่งออก ได้แก่ ข้าวโพดฝักอ่อน และมะม่วง พืชนำเข้า ได้แก่ อ้อย และ ข้าวฟ่าง. หน้า 2692-2720. *ใน : รายงานผลงานประจำปี 2556 เล่ม 4*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

กลุ่มวิจัยวัชพืช. 2554. *คำแนะนำการควบคุมวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืช.* กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 149 หน้า.

Begum M., Juraimi A.S., Amirthalingam R., Omar S. R. S. and man. A. B. 2009. Effect of *Fimbristylis miliacea* Competition with MR220 Rice in Relation to Different Nitrogen Levels and Weed Density. *International journal of agriculture & biology*: 11: 183–187.

CABI. 2019. *Fimbristylis dichotoma.* Online. Available: https://www.cabi.org/isc/datasheet/20680# toimpactSummary (September 19, 2019).

Mohamad Soerjani., Kostermans A.J.G.H. and Gembong T. 1987. *weeds of rice in Indonesia*. Balai Pustaka, Jakarta. 716 p.

National weed science research institute project. 1994. *Major Weeds in Thailand.* Japan international Cooperation Agency and Department of Agriculture, Ministry of Agriculture and Cooperatives, Thailand. 164 p.

Simpson D.A. and Koyama T. 1998. *Flora of Thailand: Cyperaceae. V. 6 part four.* The forest herbarium, royal forest department, Bangkok. 485 p.

ศึกษาชีววิทยา และนิเวศวิทยาของผักกระฉูด (*Neptunia plena* (L.) Benth) วัชพืชแพร่ระบาดในพื้นที่ชุ่มน้ำทางการเกษตร

Study Biology and Ecology of *Neptunia plena* (L.) Benth Weed Spread in Agricultural Wetlands

อัณศยา พรมมา ธัญชนก จงรักไทย

กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาชีววิทยา และนิเวศวิทยาของผักกระฉูด ทำการทดลองระหว่าง ตุลาคม 2564 - กันยายน 2565 โดยการสำรวจและเก็บตัวอย่างต้นและเมล็ดผักกระฉูดโดยใช้วิธีแบบการสืบพบในพื้นที่ชุ่มน้ำทางการเกษตร และนิเวศเกษตร ในภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันตก จำนวน 134 แหล่ง พบผักกระฉูด 80 แหล่ง ใน 18 จังหวัด ได้แก่ พะเยา แพร่ อุตรดิตถ์ กำแพงเพชร ชัยนาท นครปฐม นครสวรรค์ นนทบุรี พระนครศรีอยุธยา พิจิตร พิษณุโลก ลพบุรี สิงห์บุรี สุพรรณบุรี กาญจนบุรี ตาก ราชบุรี และประจวบคีรีขันธ์ ลักษณะเมล็ดผักกระฉูดเป็นรูปไข่แบน ผิวเมล็ดเรียบมัน สีน้ำตาล บริเวณกลางเมล็ดมีเส้นสีดำลักษณะตัวยู เมล็ดกว้าง 0.26 - 0.43 เซนติเมตร ยาว 0.40 - 0.46 เซนติเมตร 100 เมล็ด หนัก 4.0641 กรัม เมล็ดผักกระฉูดงอกในห้องปฏิบัติการ 17.20 เปอร์เซ็นต์ และงอกในสภาพเรือนทดลอง 53.20 เปอร์เซ็นต์

คำหลัก : ชีววิทยา การแพร่กระจาย นิเวศวิทยา วัชพืชต่างถิ่น การงอกของเมล็ด

รหัสการทดลอง FF65-20-06-65-00-01-65

คำนำ

ผักกระฉูด (*Neptunia plena* (L.) Benth.) จัดอยู่ในวงศ์ Leguminosae (The plant list, 2013) มีถิ่นกำเนิดในอเมริกาใต้ คล้ายกับผักกระเฉด (*N. oleracea* Lour.) ยอดอ่อนรับประทานได้แต่เหนียวกว่าผักกระเฉด ผักกระฉูดแตกต่างจากผักกระเฉดคือ ใบย่อยส่วนมากมีมากกว่า 20 คู่ ผลติดกันเป็นกระจุก ผลมีเมล็ด 8-20 เมล็ด (สารานุกรมพืช, 2563; Queensland Government, 2020) ผักกระฉูดเป็นพืชล้มลุกอายุหลายฤดู ต้นลอยน้ำหรือเลื้อยแผ่ใกล้ชายฝั่ง ลำต้นลอยน้ำเหมือนผักกระเฉด แต่ลำต้นใหญ่กว่า และแข็งแรงกว่า แผ่นใบใหญ่กว่าและมีสีเขียวสด ต้นที่ขึ้นชายน้ำหรือบนดินจะมีลำต้นแข็งสีน้ำตาล ไม่มีนวมสีขาวหุ้ม ดอกสีเหลืองออกเป็นช่อ ผลเป็นฝักแบน ผลอ่อนสีเขียว ผลแก่สีน้ำตาล เมื่อแก่ฝักจะแตกออก กระจายพันธุ์ตาม หนองน้ำ ริมห้วย (กรมประมง, 2558) ผักกระฉูดจัดเป็นวัชพืชที่กำจัดยาก หากให้เลื้อยคลุมพืชชนิดอื่นจะตายหมด (นายเกษตร, 2557) ซึ่งส่วนจัดสรรน้ำและบำรุงรักษาสำนักชลประทานที่ 15 (2553) รายงานว่า การขาดการดำเนินการแก้ปัญหาอย่างต่อเนื่องในช่วงปี 2547-2551 ทำให้เกิดการแพร่กระจายของวัชพืชน้ำขึ้นอีก และวัชพืชที่แพร่กระจายอย่างรวดเร็วในเขตพื้นที่ลุ่มน้ำปากพนัง คือผักกระเฉดยักษ์ หรือผักกระฉูด ซึ่งจำนวนคลองที่มีการแพร่กระจายของวัชพืช 673 คลอง เป็นผักกระฉูดถึง 374 คลอง และได้วางแผนกำจัดวัชพืชในปี 2552 จำนวนคลองทั้งสิ้น 297 สาย แยกเป็นวัชพืชประเภทผักตบชวา (วัชพืชลอยน้ำ) จำนวน 86 สาย ประเภทผักกระฉูด (รากหยั่งดิน) จำนวน 211 สาย งบประมาณรวม 14,919,600 บาท และในปี 2553 กำจัดวัชพืชในคลองทั้งสิ้น 351 สายแยกเป็นวัชพืชประเภทผักตบชวา (วัชพืชลอยน้ำ) จำนวน 201 สาย ประเภทผักกระฉูด (รากหยั่งดิน) จำนวน 150 สาย งบประมาณรวม 11,336,500 บาท และสรุปผลจากการดำเนินการ และปัญหาอุปสรรคว่า วัชพืชในพื้นที่ปัจจุบันนอกจากผักตบชวาซึ่งเป็นวัชพืชลอยน้ำแล้ว ยังมีผักกระฉูดที่หยั่งรากถึงท้องคลองยากแก่การกำจัด และสำนักนโยบายและแผนทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม (2561) ได้จัดผักกระฉูดเป็นทะเบียนรายการ 1 ชนิดพันธุ์ต่างถิ่นที่รุกรานแล้ว ซึ่งเป็นชนิดพันธุ์ต่างถิ่นที่ควรป้องกัน ควบคุม และกำจัดของประเทศไทย ดังนั้นการศึกษาชีววิทยา และนิเวศวิทยาของผักกระฉูด รวมถึงวิธีการจัดการ จึงเป็นข้อมูลพื้นฐานที่มีความสำคัญอย่างยิ่ง เพื่อให้ได้ข้อมูลพื้นฐานสนับสนุนการแจ้งเตือนเกษตรกร และเป็นข้อมูลประกอบการวางแผนป้องกันและกำจัดที่เหมาะสมต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- กล้องถ่ายรูปแบบดิจิตอล
- กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscope)
- เครื่องแก้วต่างๆ ที่จำเป็น เช่น จานแก้ว บีกเกอร์

- กระดาษกรอง
- ตู้อบไฟฟ้า
- เลนส์ขยาย 10 เท่า สำหรับการตรวจสอบเบื้องต้นในภาคสนาม
- กรรไกร มีด เสียม หรือพลั่ว สำหรับตัด/ขุด ตัวอย่างพืช
- ดินและกระถาง สำหรับปลูกพืชทดสอบในเรือนทดลอง
- แผงอัดตัวอย่างพรรณไม้พร้อมกระดาษฟูก ฟองน้ำและหนังสือพิมพ์ พร้อมเชือกไส้ตะเกียงและป้ายชื่อสำหรับผูกตัวอย่างพืช
- กระดาษติดตัวอย่างพืช พร้อมแฟ้มปก
- น้ำยาชุบตัวอย่างวัชพืช ประกอบด้วย ฟีนอล เมอคิวริคคลอไรด์ เอทธิลอัลกอฮอล์
- การบูร
- เครื่องรับสัญญาณดาวเทียม เพื่อระบุพิกัด
- อุปกรณ์อื่นๆ ที่จำเป็น เช่น ถุงพลาสติกขนาดต่างๆ กระถางพลาสติก กระบะปูน และป้ายแสดงกรรมวิธี
- สมุดบันทึก

วิธีการ

<u>นิเวศวิทยา</u>

1) สำรวจและเก็บตัวอย่างต้นและเมล็ดผักกระฉูดโดยใช้วิธีแบบการสืบพบ (detection survey) โดยมีผักกระฉูดเป็นพืชเป้าหมาย ทำการสำรวจในพื้นที่ชุ่มน้ำทางการเกษตร และนิเวศเกษตรในภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันตก บันทึก สถานที่หรือพิกัดที่เก็บตัวอย่าง สภาพนิเวศ ชนิดพืชปลูกหลัก ลักษณะพืชเป้าหมาย การถูกทำลายโดยศัตรูธรรมชาติ วัน/เดือน/ปี ที่เก็บ แมลง และศัตรูธรรมชาติที่พบในพื้นที่ที่สำรวจ

2) การจัดทำตัวอย่างแห้ง นำตัวอย่างต้นวัชพืชมาอัดในแผงพรรณไม้ ขนาดประมาณ 50 X 30 เซนติเมตร เมื่อแห้งแล้วติดลงบนกระดาษขาว ขนาด 45 x 30 เซนติเมตร พร้อมติดป้าย ระบุ ชื่อวัชพืช สถานที่เก็บตัวอย่าง นิเวศวิทยา พืชอาศัย วันและเวลา ชื่อผู้เก็บ โดยเก็บรักษาไว้ ณ กลุ่มวิจัยวัชพืช กรมวิชาการเกษตร

<u>ศึกษาลักษณะเมล็ด</u>

นำเมล็ดผักกระฉูดที่เก็บจากที่ต่างๆ มารวมกัน แล้วเลือกเมล็ดที่แก่และสมบูรณ์ จำนวน 100 เมล็ด ศึกษาลักษณะ รูปร่าง ขนาด ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ บันทึกข้อมูล รูปร่าง ลักษณะลวดลายและสีของผิวเมล็ด ความกว้าง ความยาวของเมล็ด น้ำหนักต่อ 100 เมล็ด

ศึกษาการงอกในห้องปฏิบัติการ และสภาพเรือนทดลอง

1) การงอกในห้องปฏิบัติการ นำเมล็ดผักกระฉูดที่เก็บจากที่ต่างๆ มารวมกัน แล้วเลือกเมล็ดที่แก่และสมบูรณ์ จำนวน 50 เมล็ด ใส่ในจานแก้ว ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9.5 เซนติเมตร ที่บรรจุกระดาษกรอง 1 แผ่น และเติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ปิดฝา จำนวน 10 จาน นำไปวางในห้องปฏิบัติการ สภาพอุณหภูมิห้อง บันทึกข้อมูล จำนวนเมล็ดงอกทุกวัน เป็นเวลา 3 เดือน

2) การงอกในห้องสภาพเรือนทดลอง นำเมล็ดผักกระฉูดที่เก็บจากที่ต่างๆ มารวมกัน แล้วเลือกเมล็ดที่แก่และสมบูรณ์ จำนวน 100 เมล็ด โรยในกระถางเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 เซนติเมตร ที่บรรจุดินจนถึงขอบล่างของกระถาง จำนวน 10 กระถาง รดน้ำให้ความชื้นทุกวัน บันทึกข้อมูล จำนวนเมล็ดงอกทุกวัน เป็นเวลา 3 เดือน

เวลาและสถานที่

ทำการทดลอง ระหว่าง ตุลาคม 2564 - กันยายน 2565 (ระยะเวลา 1 ปี) ณ กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ และพื้นที่การเกษตรและสิ่งแวดล้อม ในภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันตก

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

นิเวศวิทยา

นิเวศวิทยา สำรวจและเก็บตัวอย่างต้นและเมล็ด ผักกระฉูดโดยใช้วิธีแบบการสืบพบในพื้นที่ชุ่มน้ำทางการเกษตร และนิเวศเกษตร ในภาคเหนือ จำนวน 22 แหล่ง 6 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ พะเยา แพร่ ลำปาง และอุตรดิตถ์ ภาคกลาง จำนวน 82 แหล่ง 13 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดกำแพงเพชร ชัยนาท นครปฐม นครสวรรค์ นนทบุรี พระนครศรีอยุธยา พิจิตร พิษณุโลก ลพบุรี สระบุรี สิงห์บุรี สุโขทัย และสุพรรณบุรี ภาคตะวันตก จำนวน 30 แหล่ง 5 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดกาญจนบุรี ตาก ราชบุรี เพชรบุรี และประจวบคีรีขันธ์ รวม 134 แหล่ง พบผักกระฉูด 80 แหล่ง ใน 18 จังหวัด ได้แก่ พะเยา แพร่ อุตรดิตถ์ กำแพงเพชร ชัยนาท นครปฐม นครสวรรค์ นนทบุรี พระนครศรีอยุธยา พิจิตร พิษณุโลก ลพบุรี สิงห์บุรี สุพรรณบุรี กาญจนบุรี ตาก ราชบุรี และประจวบคีรีขันธ์ พื้นที่ที่พบ ได้แก่ สวน อินทผลัม พื้นที่ถมดิน ข้างทาง แอ่งน้ำ คลองชลประทาน และสระน้ำ และในธรรมชาติยังไม่พบศัตรูธรรมชาติที่มีศักยภาพในการเข้าทำลายผักกระฉูด (Table 1 - 3 และ Figure 1 - 2) เนื่องจากต้นผักกระฉูดที่พบมีการออกดอกและสร้างเมล็ดได้เป็นจำนวนมาก ดังนั้นปัจจัยหลักส่วนหนึ่งในการแพร่กระจายคือเมล็ด เพราะเมื่อเมล็ดที่หล่นลงพื้น และมีการนำดินไปถมที่อื่น จะมีเมล็ดผักกระฉูดติดไปด้วย นอกจากนี้ต้นผักกระฉูดที่ขึ้นในบริเวณคลองชลประทาน น้ำจะเป็นตัวพาเมล็ดลอยไปยังที่ต่างๆ จึงเป็นสาเหตุหนึ่งในการแพร่กระจายผักกระฉูดอย่างรวดเร็ว

ศึกษาลักษณะเมล็ด

ลักษณะเมล็ดเป็นรูปไข่ แบน ผิวเมล็ดเรียบมัน สีน้ำตาล บริเวณกลางเมล็ดมีเส้นสีดำลักษณะตัวยู เมล็ดกว้าง 0.26-0.43 เซนติเมตร ยาว 0.40-0.46 เซนติเมตร 100 เมล็ด หนัก 4.0641 กรัม (Figure 3)

ศึกษาการงอกในห้องปฏิบัติการ และสภาพเรือนทดลอง

ศึกษาการงอกของเมล็ดผักกระฉูดในห้องปฏิบัติการ และสภาพเรือนทดลอง เป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่า เมล็ดผักกระฉูดมีลักษณะทยอยงอก โดยในห้องปฏิบัติการเมล็ดงอกน้อย ทยอยงอกตลอดระยะเวลา 3 เดือน ในสภาพเรือนทดลองมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงสุดในเดือนแรก และเมื่อครบ 3 เดือน ในห้องปฏิบัติการเมล็ดงอกทั้งหมด 17.20 เปอร์เซ็นต์ และในสภาพเรือนทดลองเมล็ดงอกทั้งหมด 53.20 เปอร์เซ็นต์ (Figure 4) เมล็ดผักกระฉูดมีเปอร์เซ็นต์ความงอกต่ำ สาเหตุอาจมาจากสภาพแวดล้อมที่ยังไม่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ด ดังเช่น Sharma *et al*. (1984) รายงานว่า เมล็ด *Neptunia oleracea* Lour. สามารถงอกได้ 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเมล็ดแช่น้ำบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง และบ่มที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง และการนำเมล็ดแห้งที่ไม่แช่น้ำไปวางที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน เมล็ดงอกเพียง 77.5 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นหากสามารถหาสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ดได้ จะสามารถกระตุ้นให้เมล็ดงอกพร้อมๆ กัน และวางแผนจัดการได้ง่ายขึ้น

จากการตรวจสอบเอกสารต่างๆ ที่ผ่านมา ประเทศไทยมีรายงานสกุล *Neptunia* เพียง 2 ชนิด คือ *Neptunia oleracea* Lour. หรือผักกระเฉด ซึ่งเป็นชนิดที่รับประทานกันแพร่หลาย และอีกชนิดคือ *N. plena* (L.) Benth หรือผักกระฉูด ซึ่งมียอดเหนียว ไม่นิยมนำมารับประทาน ต้นมีอายุหลายปี ส่วนใหญ่จะพบขึ้นเป็นต้นตั้งตรง ถ้าขึ้นบนบกต้นสูง 0.5 - 2 เมตร บางครั้งขึ้นในน้ำซึ่งลำต้นจะเลื้อยลอยน้ำได้ยาวถึง 7 เมตร และมีนวมนุ่มสีขาวหุ้มลำต้น ชอบขึ้นตามที่โล่งแจ้งตามขอบบึง คูน้ำ มีน้ำนิ่งหรือไหลเอื่อย และมีระดับน้ำลึกไม่เกิน 50 เซนติเมตร หรือพื้นดินที่ชื้นแฉะข้างทาง ที่ความสูงจากระดับน้ำทะเลไม่เกิน 1,000 เมตร ออกดอกและติดผลตลอดทั้งปี (หอพรรณไม้, 2563) แต่จากรายงานของ อุไร และคณะ (2565) รายงานว่า วัชพืชสกุล *Neptunia* ที่แพร่ระบาดในพื้นที่ชลประทานสามารถแยกได้เป็นสองชนิด คือ กระฉูดหรือกระเฉดเทศ (*N. plena* (L.) Benth) มีลักษณะลำต้นเหนียวและแข็ง เมื่ออยู่ในน้ำจะทอดยอดมีฟองน้ำหุ้มลำต้น เมื่ออยู่บนบกลำต้นจะทอดเลื้อยและชูยอดตั้งขึ้น ลักษณะเด่นคือ พบตุ่มที่ก้านคู่สุดท้าย 1 - 2 ตุ่ม เกสรเพศผู้มีต่อมที่ปลายด้านบนของอับเรณู และไม่พบเมล็ด จัดเป็นวัชพืชแพร่ระบาดในพื้นที่ชลประทาน บริเวณคลองส่งน้ำ คลองระบาย อ่างเก็บน้ำ รวมทั้งแหล่งน้ำอื่นๆ และชนิดที่สองคือ กระเฉดบก หรือกระเฉดโคก (*N. javanica* Miq) ลำต้นทอดขนานแตกแขนงไปบนผิวน้ำ มีนวมสีขาวคล้ายฟองน้ำหุ้มอยู่ทำให้ลอยน้ำได้ ชูส่วนใบและดอกโผล่พ้นผิวน้ำขึ้นมา เมื่ออยู่บนบกต้นจะตั้งตรงแตกกิ่งก้านสาขามีเนื้อไม้แข็งแรง มีลักษณะเด่นคือมีต่อมรูปภูเขาไฟที่ก้านใบคู่สุดท้าย ติดฝักและมีเมล็ด

พบแพร่ระบาดในพื้นที่ชลประทานบริเวณคันคลองส่งน้ำ ซึ่งจากการสำรวจลักษณะต้นผักกระฉูดที่พบส่วนใหญ่มีลักษณะคล้ายกับ *N. javanica* Miq ตามรายงานของ อุไร และคณะ (2565) อย่างไรก็ตามยังต้องมีการตรวจสอบเพื่อยืนยันความถูกต้องอีกครั้ง ดังนั้นในการรายงานครั้งนี้จึงยังไม่ระบุชนิดในผลการทดลองสำหรับชื่อการทดลอง เมื่อยืนยันความถูกต้องแล้วจึงจะแก้ไขต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การสำรวจและเก็บตัวอย่างต้นและเมล็ดผักกระฉูดโดยใช้วิธีแบบการสืบพบในพื้นที่ชุ่มน้ำทางการเกษตร และนิเวศเกษตร ในภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันตก จำนวน 134 แหล่ง พบผักกระฉูด 80 แหล่ง ใน 18 จังหวัด ได้แก่ พะเยา แพร่ อุตรดิตถ์ กำแพงเพชร ชัยนาท นครปฐม นครสวรรค์ นนทบุรี พระนครศรีอยุธยา พิจิตร พิษณุโลก ลพบุรี สิงห์บุรี สุพรรณบุรี กาญจนบุรี ตาก ราชบุรี และประจวบคีรีขันธ์ ลักษณะเมล็ดผักกระฉูดเป็นรูปไข่แบน ผิวเมล็ดเรียบมัน สีน้ำตาล บริเวณกลางเมล็ดมีเส้นสีดำลักษณะตัวยู เมล็ดกว้าง 0.26 - 0.43 เซนติเมตร ยาว 0.40 - 0.46 เซนติเมตร 100 เมล็ดหนัก 4.0641 กรัม เมล็ดผักกระฉูดงอกในห้องปฏิบัติการ 17.20 เปอร์เซ็นต์ และในสภาพเรือนทดลอง 53.20 เปอร์เซ็นต์

ผักกระฉูดผลิตเมล็ดได้เป็นจำนวนมาก แต่การทดสอบความงอกในห้องปฏิบัติการ และเรือนทดลอง เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์ความงอกต่ำ และทยอยงอก สาเหตุอาจมาจากสภาพแวดล้อมที่ยังไม่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ด ดังนั้นหากสามารถหาสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ดได้ จะสามารถกระตุ้นให้เมล็ดงอกพร้อมๆ กัน และวางแผนจัดการได้ง่ายขึ้น และเนื่องจากต้นมีเนื้อไม้ ดังนั้นนอกจากกำจัดต้นอ่อนที่งอกแล้ว ยังจำเป็นต้องหาวิธีกำจัดในระยะที่เป็นต้นโตด้วย และต้องหาวิธีการที่เหมาะสมเพื่อให้สามารถกำจัดผักกระฉูดได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ดร.ศิริพร ซึงสนธิพร ที่ช่วยแนะนำ และให้คำปรึกษา และขอขอบคุณพนักงานและจ้างเหมา ของกลุ่มวิจัยวัชพืช ที่ช่วยให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กรมประมง. 2558. *Family Mimosaceae วงศ์ไมยราบ: ผักกระฉูด*. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : http://www.fisheries.go.th/if-suratthani/web2/images/download/179.pdf (29 มิถุนายน 2563)

นายเกษตร. 2557. *"ผักกระฉูด" ยอดอ่อนอร่อย*. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : https://www.thairath.co.th/content/405967 (29 มิถุนายน 2563)

ส่วนจัดสรรน้ำและบำรุงรักษา สำนักชลประทานที่ 15. 2553. *โครงการกำจัดวัชพืชในเขตพื้นที่ลุ่มน้ำปากพนัง จังหวัดนครศรีธรรมราช ปีงบประมาณ 2552-2553*. กรมชลประทาน. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : http://kmcenter.rid.go.th/kmc15/over8m/gk01.pdf (29 มิถุนายน 2563)

สารานุกรมพืช. 2563. *ผักกระเฉด (Neptunia oleracea Lour.)*. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : http://www.dnp.go.th/botany/mindexdictdetail.aspx?runno=3590 (29 มิถุนายน 2563)

สำนักนโยบายและแผนทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. 2561. *โครงการศึกษาและวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อจัดทำรายงานแห่งชาติด้านความหลากหลายทางชีวภาพ*. เอกสารประกอบการประชุม สถานภาพปัจจุบันด้านความหลากหลายทางชีวภาพของประเทศไทย. 96 หน้า.

หอพรรณไม้. 2563. *กระฉูด (Neptunia plena (L.) Benth.). กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช* (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : https://www.facebook.com/ForestHerbarium/posts/5312785638747080/กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช (15 ธันวาคม 2565)

อุไร เพ่งพิศ สรัญญา วัชโรทัย ศิริพร บุญดาว และทิพากร สีวอ. 2565. วัชพืชสกุล *Neptunia* ที่แพร่ระบาดในพื้นที่ชลประทาน. *การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติครั้งที่ 15 วันที่ 22 – 24 พฤศจิกายน 2565 ณ โรงแรมรามาการ์เด้นส์ กรุงเทพมหานคร*. หน้า 69 -70.

Queensland Government. 2020. *Weed of Australia: Neptunia oleracea Lour. and Neptunia plena (L.) Benth*. (Online). Available. https://keyserver.lucidcentral.org/weeds/data/media/Html/neptunia_oleracea_and_neptunia_plena.htm (June 29, 2020).

Sharma, K.P., T.I. Khan and N. Bhardwaj. 1984. Temperature-regulated seed germination in *Neptunia oleracea* Lour. and its ecological significance. *Aquatic Botany*. Volume 20, Issues 1–2, 185-188.

The plant list. 2013. Neptunia plena (L.) Benth. (Online). Available. http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/ild-20259 (20 July, 2020).

Table 1 Survey area in the north

No.	Sub-district	District	Province	Habitat	Latitude-N	Longitude-E	Found	Not found
1	Mueang Chiang Rai	Muang	Chiang Rai	rice	19.9288356	99.8553015		/
2	Huai Chomphu	Muang	Chiang Rai	lychees	19.8261830	99.6155933		/
3	Wawee	Mae Suai	Chiang Rai	roadside	19.8094641	99.5634570		/
4	Wawee	Mae Suai	Chiang Rai	roadside	19.7602352	99.5648318		/
5	Mae Korn	Muang	Chiang Rai	roadside	19.845552	99.744548		/
6	Mae Ram	Mae Rim	Chiang Mai	roadside	18.9428743	98.7973964		/
7	Mae Ram	Mae Rim	Chiang Mai	roadside	18.9651116	98.8500923		/
8	Ban Luang	Chom Thong	Chiang Mai	roadside	18.5452748	98.5458947		/
9	Mae Win	Mae Wang	Chiang Mai	roadside	18.6277217	98.5058088		/
10	Mae Najorn	Mae Chaem	Chiang Mai	roadside	18.6577026	98.4735282		/
11	Tha Wang Thong	Muang	Phayao	roadside	19.2054881	99.9432620	/	
12	Huay Kaew	Phu Kam Yao	Phayao	rice	19.3096622	99.9916215		/
13	Dong Suwan	Dok Kham Tai	Phayao	roadside	19.2260794	100.0463702		/
14	Huai Or	Long	Phrae	wetlands	18.0804072	99.8304426	/	
15	Pamat	Muang	Phrae	roadside	18.1333688	100.1212039	/	
16	Thung Hong	Muang	Phrae	rice	18.1924137	100.1838508		/
17	Mae Sai	Rong Kwang	Phrae	rice	18.3816253	100.3224666		/
18	Cho Hae	Muang	Phrae	rice	18.0895738	100.1929854		/
19	Wiang Tan	Hang Chat	Lampang	roadside	18.3086848	99.3518290		/
20	Chompoo	Muang	Lampang	rice	18.2243910	99.4446170		/
21	Ban Dan Na Kham	Muang	Uttaradit	date palm	17.7793500	100.1080163		/
22	Phayaman	Phichai	Uttaradit	roadside	17.2059620	100.0576822	/	
	Total						4	18

Table 2 Survey area in the central

No.	Sub-district	District	Province	Habitat	Latitude -N	Longitude -E	found	not found
1	Klong Khlung	Khlong Khlung	Kamphaeng Phet	roadside	16.1857750	99.7121992	/	
2	Khlong Lan Phatthana	Khlong Lan	Kamphaeng Phet	wetlands	16.0983971	99.3637280	/	
3	Khlong Nam Lai	Khlong Lan	Kamphaeng Phet	roadside	16.2416614	99.3386444		/
4	Pong Nam Ron	Khlong Lan	Kamphaeng Phet	roadside	16.3309805	99.2990962		/
5	Na Bo Kham	Muang	Kamphaeng Phet	roadside	16.4205687	99.3897206		/
6	Dong Khon	Sankhaburi	Chai Nat	irrigation area	15.0198666	100.1390855	/	
7	Phraek Sriracha	Sankhaburi	Chai Nat	roadside	15.0441821	100.1487083	/	
8	Bang Khut	Sankhaburi	Chai Nat	roadside	15.0058228	100.2028676	/	
9	Bang Khut	Bang Len	Nakhon Pathom	roadside	13.9707994	100.1576964	/	

Table 2 Survey area in the central (continue)

No.	Sub-district	District	Province	Habitat	Latitude -N	Longitude -E	found	not found
10	Lamyei	Don Tum	Nakhon Pathom	roadside	13.9666501	100.0281449	/	
11	Wang Nam Khiao	Kamphaeng Saen	Nakhon Pathom	roadside	13.9804067	100.0081109	/	
12	Don Khoi	Kamphaeng Saen	Nakhon Pathom	roadside	14.0162145	100.0193629	/	
13	Kamphaeng Saen	Kamphaeng Saen	Nakhon Pathom	wetlands	14.0082006	99.9702186	/	
14	Nong Din Daeng	Muang	Nakhon Pathom	roadside	13.7996746	99.9867116	/	
15	Khun Kaew	Nakhon Chai Si	Nakhon Pathom	roadside	13.7707549	100.2038194	/	
16	Tha Tamnak	Nakhon Chai Si	Nakhon Pathom	roadside	13.7719714	100.1808684	/	
17	Sisathong	Nakhon Chai Si	Nakhon Pathom	roadside	13.8113377	100.1237766	/	
18	Nong Din Daeng	Muang	Nakhon Pathom	wetlands	13.8016253	99.9959033	/	
19	Sakathiam	Muang	Nakhon Pathom	roadside	13.7975689	99.9760992	/	
20	Phayuha	Phayuha Khiri	Nakhon Sawan	roadside	15.4496565	100.1460590	/	
21	Nakhon Sawan municipality	Muang	Nakhon Sawan	roadside	15.6948121	100.1025729	/	
22	Nong Nom Wua	Lat Yao	Nakhon Sawan	roadside	15.7828510	99.9214356		/
23	Lat Yao	Lat Yao	Nakhon Sawan	roadside	15.7534654	99.7781464	/	
24	San Chao Kai Tor	Lat Yao	Nakhon Sawan	corn	15.8072012	99.6657150		/
25	Wangsan	Mae Wong	Nakhon Sawan	roadside	15.8363820	99.6369131		/
26	Khao Chon Kan	Mae Wong	Nakhon Sawan	roadside	15.8291083	99.4980740	/	
27	Khamang	Chum Saeng	Nakhon Sawan	roadside	15.9544662	100.3025169		/
28	Keichai	Chum Saeng	Nakhon Sawan	roadside	15.8676034	100.2718057		/
29	Kriangkrai	Muang	Nakhon Sawan	roadside	15.7286748	100.1858861	/	
30	Ratniyom	Sai Noi	Nonthaburi	roadside	14.0670559	100.3246288	/	
31	Lahan	Bang Bua Thong	Nonthaburi	date palm	13.9254168	100.4424947	/	
32	Bang Bua Thong	Bang Bua Thong	Nonthaburi	roadside	13.9265920	100.4110675	/	
33	Sai Noi	Sai Noi	Nonthaburi	wetlands	13.9854134	100.3188495	/	
34	Klong Khwang	Sai Noi	Nonthaburi	roadside	13.9879836	100.3143902	/	
35	Bang Mae Nang	Bang Yai	Nonthaburi	wetlands	13.8881971	100.3801324	/	
36	Bang Khu Wiang	Bang Kruai	Nonthaburi	roadside	13.8222394	100.4143417	/	

Table 2 Survey area in the central (continue)

No.	Sub-district	District	Province	Habitat	Latitude -N	Longitude -E	found	not found
37	Sam Mueang	Lat Bua Luang	Phra Nakhon Si Ayutthaya	roadside	14.1556083	100.2909926	/	
38	Nakhon Luang	Nakhon Luang	Phra Nakhon Si Ayutthaya	roadside	14.4737595	100.6271289	/	
39	Lam Ta Sao	Wang Noi	Phra Nakhon Si Ayutthaya	wetlands	14.2795164	100.7294963	/	
40	Hantaphao	Wang Noi	Phra Nakhon Si Ayutthaya	wetlands	14.2982368	100.7337339	/	
41	Nong Nam Som	Uthai	Phra Nakhon Si Ayutthaya	irrigation area	14.3088469	100.7283809	/	
42	Lam Ta Sao	Wang Noi	Phra Nakhon Si Ayutthaya	irrigation area	14.2768833	100.6919541	/	
43	Lam Ta Sao	Wang Noi	Phra Nakhon Si Ayutthaya	date palm	14.3022170	100.6919450	/	
44	Bo Ta Lo	Wang Noi	Phra Nakhon Si Ayutthaya	irrigation area	14.2697883	100.6760394	/	
45	Khlong Khachen	Muang	Phichit	roadside	16.4597760	100.2870659		/
46	Muang	Muang	Phichit	roadside	16.4291223	100.3480448	/	
47	Khamang	Muang	Phichit	rice	16.3323667	100.3818775		/
48	Huay Ket	Taphan Hin	Phichit	roadside	16.2222293	100.4104760		/
49	Ho Krai	Bang Mun Nak	Phichit	wetlands	16.0747183	100.3912547	/	
50	Hua Ro	Muang	Phitsanulok	roadside	16.8525853	100.2709713	/	
51	Matong	Phrom Phiram	Phitsanulok	wetlands	17.0772505	100.1547401	/	
52	Tha Chang	Phrom Phiram	Phitsanulok	irrigation area	16.9796953	100.1437574	/	
53	Hua Ro	Muang	Phitsanulok	irrigation area	16.8648835	100.2488227	/	
54	Tha Pho	Muang	Phitsanulok	roadside	16.7542759	100.2152086	/	
55	Tha Thong	Muang	Phitsanulok	wetlands	16.7686106	100.1502229	/	
56	Bueng Kok	Bang Rakam	Phitsanulok	roadside	16.7211121	100.0403375	/	
57	Nong Kula	Bang Rakam	Phitsanulok	wetlands	16.6375405	99.9532952	/	
58	Tha Pho	Muang	Phitsanulok	roadside	16.7380575	100.1800342		/
59	Nong Bua	Phatthana Nikhom	Lopburi	roadside	14.8726976	101.0643129	/	
60	Bang Khamod	Ban Mo	Saraburi	roadside	14.5867912	100.7308137	/	
61	In Buri	In Buri	Sing Buri	irrigation area	14.9979678	100.3155326	/	

Table 2 Survey area in the central (continue)

No.	Sub-district	District	Province	Habitat	Latitude -N	Longitude -E	found	not found
62	Tha Ngam	In Buri	Sing Buri	roadside	15.0510611	100.3355199	/	
63	Bang Man	Muang	Sing Buri	wetlands	14.9075748	100.4080696	/	
64	Muang Moo	Muang	Sing Buri	wetlands	14.8780087	100.4344769	/	
65	Ban Kluai	Muang	Sukhothai	roadside	17.0718395	99.8116659		/
66	Klong Tan	Si Samrong	Sukhothai	roadside	17.1628765	99.8616905		/
67	Sali	Bang Pla Ma	Suphan Buri	roadside	14.3237607	100.2178697	/	
68	Takha	Bang Pla Ma	Suphan Buri	roadside	14.3487841	100.1881285	/	
69	Khok Khram	Bang Pla Ma	Suphan Buri	roadside	14.4067110	100.1574734	/	
70	Tha Rahat	Muang	Suphan Buri	non-crop	14.4451255	100.1313924	/	
71	Wang Yang	Si Prachan	Suphan Buri	non-crop	14.5460552	100.1314718	/	
72	Nong Phak Nak	Sam Chuk	Suphan Buri	roadside	14.7676669	99.9993735	/	
73	Khao Phra	Doem Bang Nang Buat	Suphan Buri	roadside	14.8509681	100.0980436	/	
74	Dermbang	Doem Bang Nang Buat	Suphan Buri	roadside	14.8783907	100.1145410	/	
75	Dan Chang	Dan Chang	Suphan Buri	roadside	14.7964797	99.5922849	/	
76	Nong Kham	Nong Ya Sai	Suphan Buri	roadside	14.7684744	99.7660545	/	
77	Thap Luang	Nong Ya Sai	Suphan Buri	wetlands	14.7209030	99.8262729	/	
78	Sra Krajom	Don Chedi	Suphan Buri	roadside	14.6304970	99.8772298	/	
79	Phlapphlachai	U Thong	Suphan Buri	roadside	14.5374141	99.9085300		/
80	Ban Pho	Muang	Suphan Buri	roadside	14.4896488	100.0698025	/	
81	Don Chedi	Don Chedi	Suphan Buri	roadside	14.6374247	100.0113503		/
82	Nong Phak Nak	Sam Chuk	Suphan Buri	roadside	14.7683691	99.9891297		/
	Total						65	17

Table 3 Survey area in the western

No.	Sub-district	District	Province	Habitat	Latitude-N	Longitude-E	found	not found
1	Nong Phai	Dan Makham Tia	Kanchanaburi	pond	13.8396540	99.4171485	/	
2	Rang Sali	Tha Muang	Kanchanaburi	roadside	13.8704406	99.5293971		/
3	Koh Samrong	Muang	Kanchanaburi	roadside	13.9203850	99.4956970		/
4	Lum Sum	Sai Yok	Kanchanaburi	roadside	14.1226361	99.1776369		/
5	Tha Sao	Sai Yok	Kanchanaburi	roadside	14.1952577	99.1245904		/
6	Chong Sadao	Muang	Kanchanaburi	roadside	14.2154755	99.2396243		/
7	Ladya	Muang	Kanchanaburi	roadside	14.1329277	99.3887214		/
8	Nong Kum	Bo Phloi	Kanchanaburi	roadside	14.2022093	99.5026539		/
9	Lumrang	Bo Phloi	Kanchanaburi	roadside	14.5055778	99.4653887		/
10	Somdet Charoen	Nong Prue	Kanchanaburi	roadside	14.7769139	99.4372513		/
11	Wang Chan	Sam Ngao	Tak	roadside	17.2465969	99.1270258	/	
12	Mae Tho	Muang	Tak	roadside	16.8292136	99.0923738		/
13	Mahawan	Mae Sot	Tak	rice	16.5839383	98.6352410		/
14	Mahawan	Mae Sot	Tak	roadside	16.5887914	98.6266696		/
15	Mae Tao	Mae Sot	Tak	rice	16.6501956	98.5281599		/
16	Tha Sai Luat	Mae Sot	Tak	roadside	16.7131496	98.5034404		/
17	Mae Pa	Mae Sot	Tak	roadside	16.7655764	98.5574717		/
18	Wang Prachop	Muang	Tak	roadside	16.9184236	99.3080400		/
19	Pa Wai	Suan Phueng	Ratchaburi	wetlands	13.6155965	99.3909153	/	
20	Nakhon Chum	Ban Pong	Ratchaburi	roadside	13.7842056	99.8766207	/	
21	Nong Or	Ban Pong	Ratchaburi	roadside	13.7951036	99.9530619	/	
22	Wang Yen	Bang Phae	Ratchaburi	roadside	13.7036102	99.8937955	/	
23	Ban Luek	Photharam	Ratchaburi	wetlands	13.6977263	99.8900519	/	
24	Ban Khong	Photharam	Ratchaburi	wetlands	13.6830055	99.8805099	/	
25	Ban Sing	Photharam	Ratchaburi	roadside	13.6568946	99.8649739	/	
26	Tha Rap	Muang	Ratchaburi	roadside	13.5810728	99.8301589	/	
27	Rang Bua	Chom Bueng	Ratchaburi	roadside	13.5450457	99.5509011		/
28	Berk Phrai	Chom Bueng	Ratchaburi	roadside	13.6543497	99.5650516		/
29	Laem Phak Bia	Ban Laem	Phetchaburi	roadside	13.0251515	100.0798271		/
30	Huay Yang	Thap Sakae	Prachuap Khiri Khan	roadside	11.6064737	99.6631289	/	
	Total						11	19

Table 4 Seed size of *Neptunia* sp

Seed size (cm)					
Average		Maximum		Minimum	
Width	Length	Width	Length	Width	Length
0.30	0.43	0.34	0.46	0.26	0.40

Not = Average from 100 seeds.

Figure 1 Habitat of *Neptunia* sp

Figure 2 *Neptunia* sp.; (a) inflorescence, (b) leaf, and (c - d) seeds and pods

Figure 3 Seeds of *Neptunia* sp

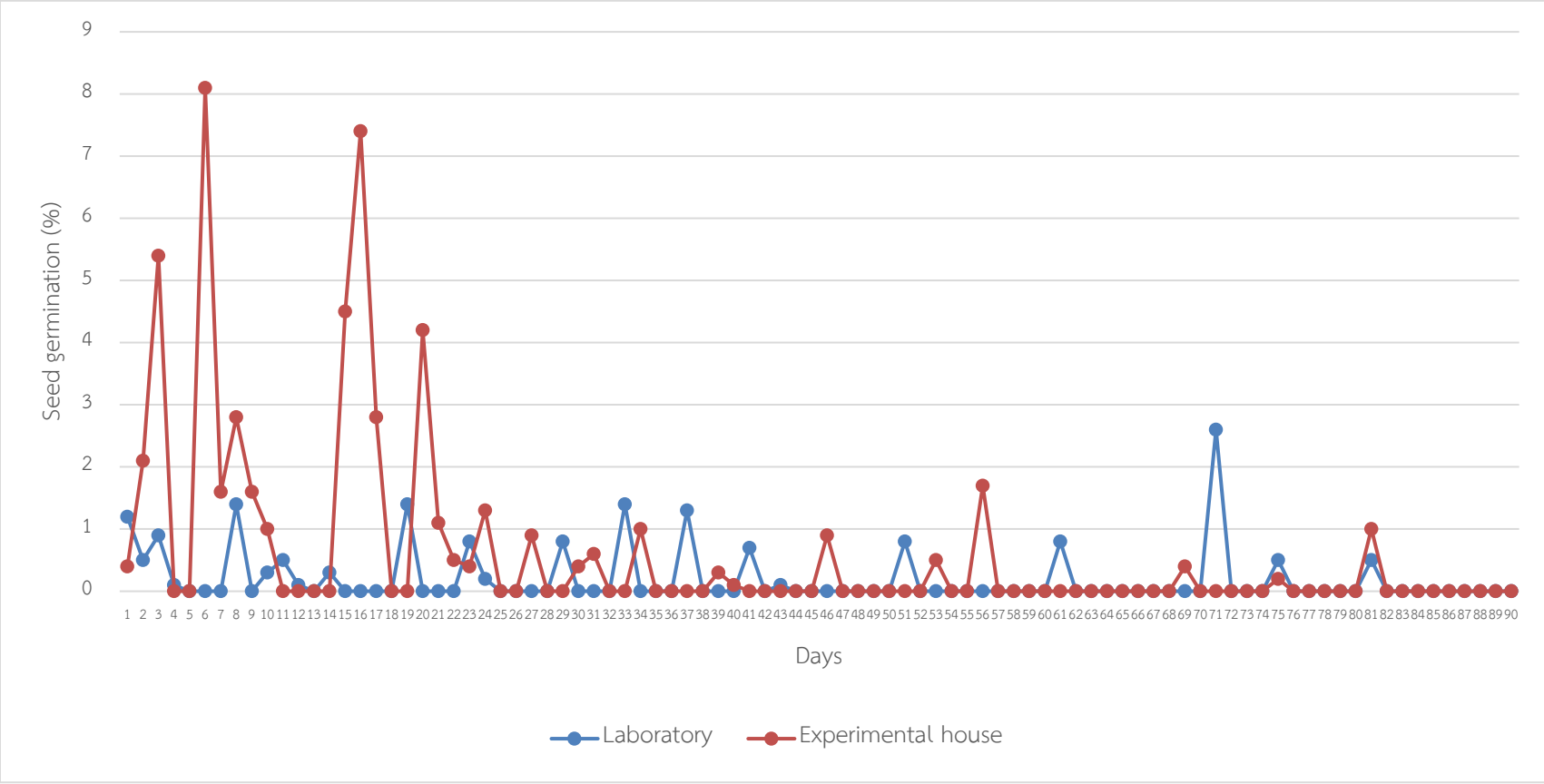


Figure 4 Seeds germination of *Neptunia* sp

ศึกษาชีววิทยา และนิเวศวิทยาของโทงเทงประดับ (*Nicandra physalodes* (L.) Gaertn) วัชพืชแพร่ระบาดในพื้นที่เกษตรภาคเหนือ

Study Biology and Ecology of *Nicandra physalodes* (L.) Gaertn Weed Spread in Northern Agricultural Areas

ธัญชนก จงรักไทย[1/] อัณศยา พรมมา[1/] สุพัฒธณกิจ โพธิ์สว่าง[2/]
ฉัตต์นภา ข่มอาวุธ[3/]
[1/]กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยเกษตรและพัฒนา ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่
[3/]ผู้อำนวยการ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแพร่

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาชีววิทยา และนิเวศวิทยาของโทงเทงประดับ ทำการทดลองระหว่าง เดือนตุลาคม 2564 - พฤศจิกายน 2565 โดยทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างต้นและเมล็ดโทงเทงประดับโดยใช้วิธีแบบการสืบพบ ในพื้นที่เกษตรภาคเหนือ จำนวน 55 แหล่ง 9 จังหวัด พบโทงเทงประดับ 3 แหล่ง ในจังหวัดเชียงใหม่ โดยพบในแปลงมันฝรั่ง สตรอเบอรี่ กะหล่ำปลี ผักชี และมะเขือเทศ เมล็ดโทงเทงประดับมีลักษณะกลม แบน ผิวเมล็ดมีลายลักษณะรูปเหลี่ยมต่อกัน เมล็ดสีน้ำตาลแดง กว้าง 0.10 - 0.16 เซนติเมตร ยาว 0.10-0.18 เซนติเมตร 100 เมล็ด หนัก 0.203 กรัม และศึกษาการงอกของเมล็ดโทงเทงประดับในห้องปฏิบัติการและสภาพเรือนทดลอง บันทึกการงอกเป็นระยะเวลา 3 เดือน ยังไม่พบการงอกทั้งในห้องปฏิบัติการ และในสภาพเรือนทดลอง

คำหลัก : ชีววิทยา การแพร่กระจาย นิเวศวิทยา วัชพืชต่างถิ่น การงอกของเมล็ด

รหัสการทดลอง FF65-20-06-65-00-02-65

คำนำ

โทงเทงประดับ (*Nicandra physalodes* (L.) Gaertn) มีถิ่นกำเนิดในอเมริกาใต้ ปัจจุบันได้แพร่กระจายไปทั่วโลกแล้ว และมีรายงานเป็นวัชพืชแล้ว 35 ประเทศ แพร่ระบาดในพืชปลูกได้หลายชนิด เช่น ธัญพืช ถั่ว ทุ่งหญ้า ไม้ผล และผัก เป็นพืชฤดูเดียว ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด เมล็ดสามารถงอกได้ตลอดปี ถ้าสภาพอากาศและความชื้นเหมาะสม ที่ความลึก 75 เซนติเมตร หรือมากกว่าจากผิวดิน เมล็ดมีอายุอยู่ในดินได้นานถึง 5 ปี (CABI, 2021) สำหรับในประเทศไทยจากการสำรวจเบื้องต้นในพื้นที่เกษตรที่สูงของประเทศไทย พบเป็นวัชพืชในแปลงมะเขือเทศ มันฝรั่ง ไม้ผล ผลบางต้นมีลักษณะสีม่วงสวยงาม จึงอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่มีการเก็บไปปลูกเป็นไม้ประดับ ต้นมีผลจำนวนมาก ในหนึ่งผลมีเมล็ดเป็นจำนวนมากเช่นกัน และพบต้นอ่อนขึ้นหนาแน่นในฤดูฝน

การที่วัชพืชแพร่ระบาดได้รวดเร็วนั้นเมล็ดเป็นสาเหตุหนึ่ง เนื่องจากเมล็ดทำให้มีจำนวนวัชพืชเพิ่มมากขึ้นในพื้นที่ เมื่อวัชพืชผลิตเมล็ดแล้ว การจะกำจัดให้หมดไปจากพื้นที่จึงแทบจะเป็นไปไม่ได้ สำหรับเมล็ดที่พักตัวอยู่ในดิน เมื่อมีการไถพรวน เมล็ดที่ขึ้นมาอยู่ระดับหน้าดิน เมื่อได้รับสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม จะงอกขึ้นมาแข่งขันกับพืชปลูกต่อไป (กลุ่มวิจัยวัชพืช, 2555) เนื่องจากโทงเทงประดับสามารถผลิตเมล็ดได้จำนวนมาก และเมล็ดมีชีวิตอยู่ในดินได้เป็นเวลานาน จึงอาจกลายเป็นวัชพืชที่สำคัญในอนาคตได้ ดังนั้นการศึกษานิเวศวิทยา ชีววิทยา รวมถึงวิธีการจัดการ จึงเป็นข้อมูลพื้นฐานที่มีความสำคัญอย่างยิ่ง เพื่อให้ได้ข้อมูลพื้นฐานสนับสนุนการแจ้งเตือนเกษตรกร และเป็นข้อมูลประกอบการวางแผนป้องกันและกำจัดที่เหมาะสมต่อไปในอนาคต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- กล้องถ่ายรูปแบบดิจิตอล
- กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscope)
- เครื่องแก้วต่างๆ ที่จำเป็น เช่น จานแก้ว บีกเกอร์
- กระดาษกรอง
- ตู้อบไฟฟ้า
- เลนส์ขยาย 10 เท่า สำหรับการตรวจสอบเบื้องต้นในภาคสนาม
- กรรไกร มีด เสียม หรือพลั่ว สำหรับตัด/ขุด ตัวอย่างพืช
- ดินและกระถาง สำหรับปลูกพืชทดสอบในเรือนทดลอง
- แผงอัดตัวอย่างพรรณไม้พร้อมกระดาษฟูก ฟองน้ำและหนังสือพิมพ์ พร้อมเชือกไส้ตะเกียงและป้ายชื่อสำหรับผูกตัวอย่างพืช

- กระดาษติดตัวอย่างพืช พร้อมแฟ้มปก
- น้ำยาชุบตัวอย่างวัชพืช ประกอบด้วย ฟีนอล เมอคิวริคคลอไรด์ เอทธิลอัลกอฮอล์
- การบูร
- เครื่องรับสัญญาณดาวเทียม เพื่อระบุพิกัด
- อุปกรณ์อื่นๆ ที่จำเป็น เช่น ถุงพลาสติกขนาดต่างๆ กระถางพลาสติก กระบะปูน และป้ายแสดงกรรมวิธี
- สมุดบันทึก

วิธีการ

นิเวศวิทยา

1) สำรวจและเก็บตัวอย่างต้นและเมล็ดโทงเทงประดับโดยใช้วิธีแบบการสืบพบ (detection survey) ในพื้นที่เกษตรที่สูงในภาคเหนือ โดยมีโทงเทงประดับเป็นพืชเป้าหมาย โดยการสุ่มเดินแบบซิกแซก รูปตัว W โดยมีพื้นที่ในการสุ่มไม่น้อยกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่สำรวจ เมื่อพบพืชเป้าหมาย จะทำการสำรวจพื้นที่ใกล้เคียง เพื่อทราบขอบเขตการระบาดในแหล่งนั้น พร้อมเก็บตัวอย่างและถ่ายภาพเป็นหลักฐาน นำตัวอย่างต้นมาจัดทำตัวอย่างแห้ง บันทึกข้อมูล สถานที่หรือพิกัดที่เก็บตัวอย่าง สภาพนิเวศ ชนิดพืชปลูกหลัก วัน/เดือน/ปี ที่เก็บ ร่องรอยการถูกทำลายโดยศัตรูธรรมชาติในพื้นที่สำรวจ

2) การจัดทำตัวอย่างแห้ง นำตัวอย่างต้นวัชพืชมาอัดในแผงพรรณไม้ ขนาดประมาณ 50 X 30 เซนติเมตร เมื่อแห้งแล้วติดลงบนกระดาษขาว ขนาด 45 x 30 เซนติเมตร พร้อมติดป้าย ระบุ ชื่อวัชพืช สถานที่เก็บตัวอย่าง นิเวศวิทยา พืชอาศัย วันและเวลา ชื่อผู้เก็บ โดยเก็บรักษาไว้ ณ กลุ่มวิจัยวัชพืช

ศึกษาลักษณะเมล็ด

นำเมล็ดโทงเทงประดับที่เก็บจากที่ต่างๆ มารวมกัน แล้วเลือกเมล็ดที่แก่และสมบูรณ์ จำนวน 100 เมล็ด ศึกษาลักษณะ รูปร่าง ขนาด ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ บันทึกข้อมูล รูปร่าง ลักษณะลวดลายและสีของผิวเมล็ด ความกว้าง ความยาวของเมล็ด น้ำหนักต่อ 100 เมล็ด

ศึกษาการงอกในห้องปฏิบัติการ และสภาพเรือนทดลอง

1) การงอกในห้องปฏิบัติการ นำเมล็ดโทงเทงประดับที่เก็บจากที่ต่างๆ มารวมกัน แล้วเลือกเมล็ดที่แก่และสมบูรณ์ จำนวน 50 เมล็ด ใส่ในจานแก้ว ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9.5 เซนติเมตร ที่บรรจุกระดาษกรอง 1 แผ่น และเติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ปิดฝา จำนวน 10 จาน นำไปวางในห้องปฏิบัติการ สภาพอุณหภูมิห้อง บันทึกข้อมูล จำนวนเมล็ดงอกทุกวัน นาน 3 เดือน

2) การงอกในห้องสภาพเรือนทดลอง นำเมล็ดโทงเทงประดับที่เก็บจากที่ต่างๆ มารวมกัน แล้วเลือกเมล็ดที่แก่และสมบูรณ์ จำนวน 100 เมล็ด โรยในกระถางเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 เซนติเมตร ที่บรรจุดินจนถึงขอบล่างของกระถาง จำนวน 10 กระถาง รดน้ำให้ความชื้นทุกวัน บันทึกข้อมูล จำนวนเมล็ดงอกทุกวัน นาน 3 เดือน

เวลาและสถานที่

ทำการทดลอง ระหว่าง ตุลาคม 2564 – พฤศจิกายน 2565 ณ กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ และพื้นที่เกษตรที่สูงในภาคเหนือ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

นิเวศวิทยา

ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างต้นและเมล็ดโทงเทงประดับโดยใช้วิธีแบบการสืบพบในพื้นที่เกษตรที่สูงในภาคเหนือ จำนวน 55 แหล่ง 9 จังหวัด พบโทงเทงประดับ 3 แหล่ง ในจังหวัดเชียงใหม่ โดยพบเป็นวัชพืชในแปลงมันฝรั่ง สตรอเบอรี่ กะหล่ำปลี ผักชี และมะเขือเทศ ต้นที่พบมีหลายระยะการเจริญเติบโตและมีขนาดแตกต่างกัน บางพื้นที่พบต้นสูงมากกว่า 1 เมตร ภายในผลมีเมล็ดเป็นจำนวนมาก พบต้นอ่อนขึ้นหนาแน่นเป็นบริเวณกว้าง และพบมีโรคเข้าทำลาย ได้แก่ โรคใบจุด ไวรัส และโรคราแป้ง ถึงแม้จะมีโรคเข้าทำลายแต่ต้นโทงเทงประดับสามารถเจริญเติบโตจนกระทั่งออกดอกและติดเมล็ดได้ (Table 1 และ Figure 1 - 3)

ศึกษาลักษณะเมล็ด

เมล็ดโทงเทงประดับมีลักษณะกลม แบน ผิวเมล็ดมีลายลักษณะรูปเหลี่ยมต่อกัน เมล็ดสีน้ำตาลแดง กว้าง 0.10 - 0.16 เซนติเมตร ยาว 0.10-0.18 เซนติเมตร 100 เมล็ด หนัก 0.203 กรัม (Table 2 และ Figure 4)

ศึกษาการงอกในห้องปฏิบัติการ และสภาพเรือนทดลอง

ศึกษาการงอกของเมล็ดโทงเทงประดับในห้องปฏิบัติการและสภาพเรือนทดลอง บันทึกการงอกเป็นระยะเวลา 3 เดือน ยังไม่พบการงอกทั้งในห้องปฏิบัติการ และในสภาพเรือนทดลอง จึงหาวิธีทำลายการพักตัวของเมล็ด โดยนำเมล็ดไปแช่น้ำที่อุณหภูมิห้อง แช่น้ำที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แช่น้ำร้อน และตัดขอบเมล็ด ยังไม่สามารถทำลายการพักตัวของเมล็ดได้ อย่างไรก็ตามมีรายงานที่สามารถกระตุ้นการงอกของเมล็ดโทงเทงประดับได้ เช่น Hajime *et al.* (2002) รายงานว่า การเพาะเมล็ดโทงเทงประดับโดยใช้อุณหภูมิสลับ 25 และ 15 องศาเซลเซียส เพาะในที่มืด เมล็ดงอกได้ดีกว่าการใช้อุณหภูมิคงที่ และเพาะในสภาพมีแสง และการใช้ GA_3 สามารถเพิ่มการงอกของเมล็ดได้ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ดังนั้นในการศึกษาการเจริญเติบโตและความสามารถในการผลิตเมล็ดในปีงบประมาณ 2566 จึงต้องทดลองใช้ต้นอ่อนที่งอกในพื้นที่ที่ระบาดสำหรับทำการทดลองไปก่อน พร้อมกับหาวิธีทำลายการพักตัวของเมล็ดเพื่อทำการทดลองซ้ำอีกครั้ง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างต้นและเมล็ดโทงเทงประดับโดยใช้วิธีแบบการสืบในพื้นที่เกษตรภาคเหนือ จำนวน 55 แหล่ง 9 จังหวัด พบโทงเทงประดับ 3 แหล่ง ในจังหวัดเชียงใหม่ โดยพบเป็นวัชพืชในแปลงมันฝรั่ง สตรอเบอรี่ กะหล่ำปลี ผักชี และมะเขือเทศ เมล็ดโทงเทงประดับมีลักษณะกลม แบน ผิวเมล็ดมีลายลักษณะรูปเหลี่ยมต่อกัน เมล็ดสีน้ำตาลแดง กว้าง 0.10 - 0.16 เซนติเมตร ยาว 0.10-0.18 เซนติเมตร 100 เมล็ด หนัก 0.203 กรัม และศึกษาการงอกของเมล็ดโทงเทงประดับในห้องปฏิบัติการและสภาพเรือนทดลอง บันทึกการงอกเป็นระยะเวลา 3 เดือน ยังไม่พบการงอกทั้งในห้องปฏิบัติการ และในสภาพเรือนทดลอง และได้ใช้หลายวิธีในการทำลายการพักตัวของเมล็ด แต่ยังไม่ประสพผลสำเร็จ อย่างไรก็ตามบริเวณที่พบการระบาดของโทงเทงประดับ พบมีต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดขึ้นหนาแน่น ดังนั้นการที่เมล็ดไม่งอกน่าจะมาจากสภาพแวดล้อมที่ยังไม่เหมาะสมต่อการงอก ซึ่งจำเป็นที่จะต้องศึกษาต่อไป เพื่อจะได้หาวิธีที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพในการป้องกันและกำจัดโทงเทงประดับต่อไปในอนาคต

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ดร.ศิริพร ซึงสนธิพร ที่ช่วยแนะนำ และให้คำปรึกษา และขอขอบคุณพนักงานและจ้างเหมา ของกลุ่มวิจัยวัชพืช ที่ช่วยให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มวิจัยวัชพืช. 2555. *การควบคุมวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืช ปี 2554*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. 149 หน้า.

CABI. 2021. *Nicandra physalodes (apple of Peru)*. (Online). Available. https:// www.cabidigitallibrary.org/doi/10.1079/cabicompendium.36289 (December 15, 2022).

Hajime Watanabe, Yoshino Kusagaya and Masahiko Saigusa. 2002. Environmental Factors Affecting Germination of Apple of Peru. *Weed Science*. 50(2): 152-156

.

Table 1 Survey area in the north

No.	Sub-district	District	Province	Habitat	Latitude-N	Longitude-E	Found	Not found
1	Mueang Chiang Rai	Muang	Chiang Rai	rice	19.9288356	99.8553015		/
2	Huai Chomphu	Muang	Chiang Rai	lychees	19.8261830	99.6155933		/
3	Wawee	Mae Suai	Chiang Rai	lawn	19.8094641	99.5634570		/
4	Wawee	Mae Suai	Chiang Rai	corn	19.7602352	99.5648318		/
5	Mae Korn	Muang	Chiang Rai	roadside	19.8455520	99.7445480		/
6	Mae Ram	Mae Rim	Chiang Mai	cabbage	18.9428743	98.7973964		/
7	Mae Ram	Mae Rim	Chiang Mai	rice	18.9651116	98.8500923		/
8	Ban Luang	Chom Thong	Chiang Mai	rice	18.5452748	98.5458947		/
9	Mae Win	Mae Wang	Chiang Mai	potato, strawberry	18.6277217	98.5058088	/	
10	Mae Win	Mae Wang	Chiang Mai	cabbage, coriander, strawberry	18.6226677	98.5214129	/	
11	Mae Win	Mae Wang	Chiang Mai	rice	18.6543267	98.5340254		/
12	Mae Win	Mae Wang	Chiang Mai	non-crop	18.6371909	98.5078832		/
13	Mae Najorn	Mae Chaem	Chiang Mai	non-crop	18.6577026	98.4735282		/
14	Mae Najorn	Mae Chaem	Chiang Mai	chinese cabbage	18.6520155	98.4806029		/
15	Mae Win	Mae Wang	Chiang Mai	strawberry	18.6112438	98.5077307		/
16	Mae Ram	Mae Rim	Chiang Mai	lily	18.9536780	18.7985730		/
17	Tha Wang Phrao	San Pa Tong	Chiang Mai	date palm	18.5131400	98.8784180		/
18	Mae Ram	Mae Rim	Chiang Mai	cabbage	18.9299480	98.8181850		/
19	Kong Khaek	Mae Chaem	Chiang Mai	cabbage	18.4306000	98.3859800		/
20	Kong Khaek	Mae Chaem	Chiang Mai	pumpkin	18.2855750	98.3800480		/
21	Kong Khaek	Mae Chaem	Chiang Mai	tomato	18.3487170	98.3715830	/	
22	Mae Suek	Mae Chaem	Chiang Mai	passion fruit	18.7832370	98.1610820		/
23	Ban Luang	Chom Thong	Chiang Mai	cabbage	18.5415920	98.5580030		/
24	Tha Wang Thong	Muang	Phayao	non-crop	19.2054881	99.9432620		/
25	Huay Kaew	Phu Kam Yao	Phayao	non-crop	19.3096622	99.9916215		/
26	Dong Suwan	Dok Kham Tai	Phayao	rice	19.2260794	100.0463702		/
27	Huay Kaew	Phu Kam Yao	Phayao	date palm	19.3079670	99.9914720		/
28	Huay Kaew	Phu Kam Yao	Phayao	rice	19.3096620	99.9916220		/
29	Huai Pu Ling	Muang	Mae Hong Son	roadside	19.218865	98.079213		/
30	Mok Champae	Muang	Mae Hong Son	non-crop	19.58441944	97.94618889		/

Table 1 Survey area in the north (continue)

No.	Sub-district	District	Province	Habitat	Latitude-N	Longitude-E	Found	Not found
31	Mae Yuam	Mae Sariang	Mae Hong Son	rice	18.044667	97.912444		/
32	Huai Pu Ling (Ban Huai Hee)	Muang	Mae Hong Son	roadside	-	-		/
33	Mae Sam Lab	Sop Moei	Mae Hong Son	roadside	17.99525	97.818639		/
34	Wiang Tan	Hang Chat	Lampang	rice	18.3086848	99.3518290		/
35	Chompoo	Muang	Lampang	rice	18.2243910	99.4446170		/
36	Mai Phatthana	Koh Kha	Lampang	date palm	18.2402760	99.3451810		/
37	Mai Phatthana	Koh Kha	Lampang	date palm	18.2352180	99.3494430		/
38	Phichai	Muang	Lampang	date palm	18.3415380	99.5420340		/
39	Mae Tuen	Li	Lamphun	cabbage	17.92662	98.907747		/
40	Pa Phai	Li	Lamphun	non-crop	17.87198	989250914		/
41	Pa Phai	Li	Lamphun	roadside	17.8454560	98.9863070		/
42	Pa Phai	Li	Lamphun	roadside	17.8213812	98.9309092		/
43	Mae Tuen	Li	Lamphun	corn	17.912911	98.9146848		/
44	Ban Dan Na Kham	Muang	Uttaradit	date palm	17.7792390	100.1081910		/
45	Huai Or	Long	Phrae	non-crop	18.0804072	99.8304426		/
46	Pamat	Muang	Phrae	non-crop	18.1333688	100.1212039		/
47	Thung Hong	Muang	Phrae	rice	18.1924137	100.1838508		/
48	Mae Sai	Rong Kwang	Phrae	rice	18.3816253	100.3224666		/
49	Cho Hae	Muang	Phrae	rice	18.0895738	100.1929854		/
50	Cho Hae	Muang	Phrae	date palm	18.0892060	100.1931830		/
51	Kong Khwai	Muang	Nan	chili	18.4027000	100.4510230		/
52	Nam Pu	Wiang Sa	Nan	chili	18.4021110	100.4513760		/
53	Santha	Na Noi	Nan	roadside	18.2769310	100.5212330		/
54	Na Noi	Na Noi	Nan	roadside	18.3346390	100.6991670		/
55	Na Noi	Na Noi	Nan	corn	18.3386030	100.6799830		/
56	Santha	Na Noi	Nan	tomato	18.2748470	100.5136690		/
	Total						3	51

Table 2 Seed size of *N. physalodes*

Seed size (cm)					
Average		Maximum		Minimum	
Width	Length	Width	Length	Width	Length
0.12	0.15	0.16	0.18	0.10	0.10

Not = Average from 100 seeds.

Figure 1 *N. physalodes* as a weed in fields; (a) strawberry, (b) tomato, (c) coriander, and (d) cabbage

Figure 2 *N. physalodes*; (a) flower, (b-d) fruit, (e-h) habitat

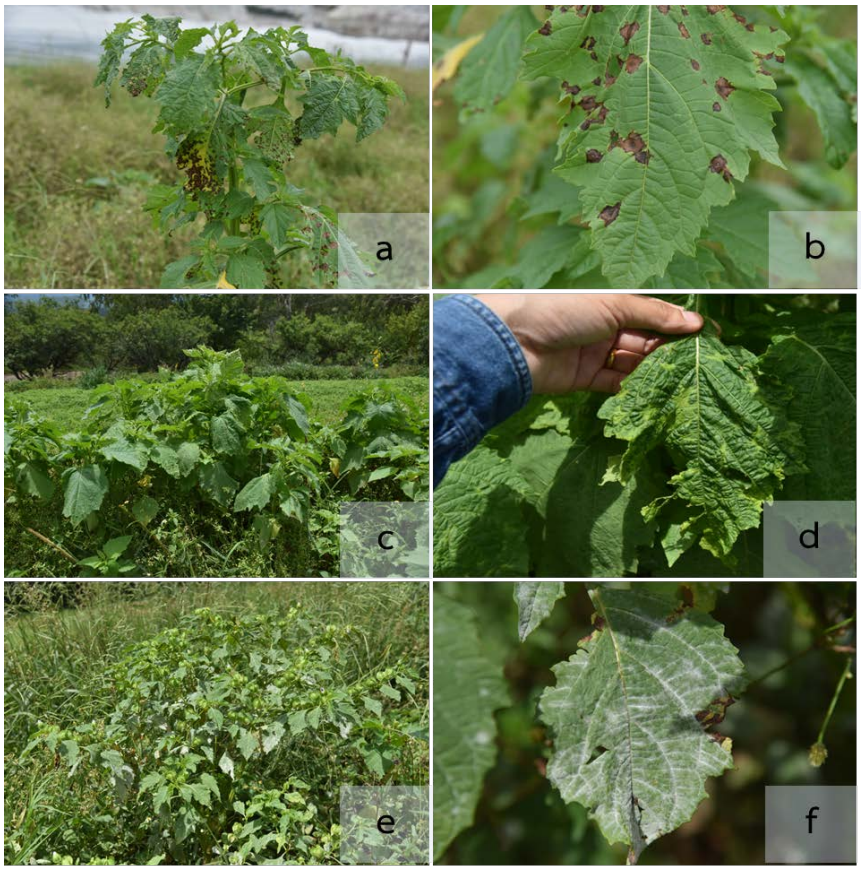


Figure 3 The disease on leaves and stems in *N. physalodes*; (a-b) Early blight, (c-d) Virus, and (e-f) Powdery mildew

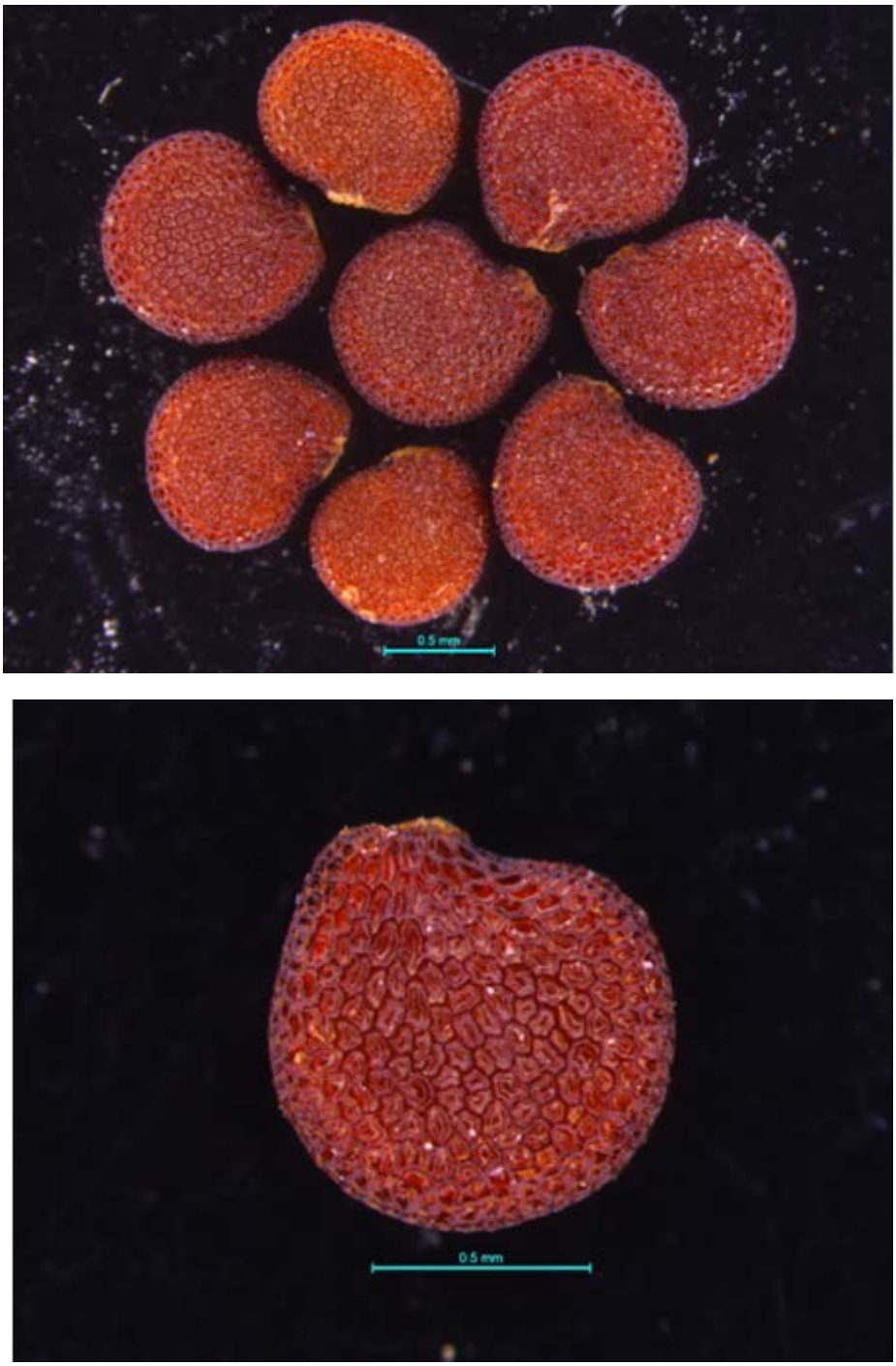


Figure 4 Seeds of *N. physalodes*

ศึกษาชีววิทยา และนิเวศวิทยาของ *Oxalis debilis* Kunth วัชพืชแพร่ระบาดในพื้นที่เกษตรภาคเหนือ

Study Biology and Ecology of *Oxalis debilis* Kunth Weed Spread in Northern Agricultural Areas

อัณศยา พรมมา ธัญชนก จงรักไทย

กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาชีววิทยา และนิเวศวิทยาของ *Oxalis debilis* Kunth ทำการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม 2564 - กันยายน 2565 โดยทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างต้น และหัว *O. debilis* โดยใช้วิธีแบบการสืบพบในพื้นที่เกษตรที่สูงในภาคเหนือ จำนวน 54 แหล่ง 9 จังหวัด พบ *O. debilis* 3 แหล่ง ใน 2 จังหวัด คือ จังหวัดเชียงใหม่ และเชียงราย พบขึ้นเป็นวัชพืชในแปลงสตรอเบอรี่ มันฝรั่ง กะหล่ำปลี และแปลงสวนย่อม เก็บหัวจากแปลงนำมาแยกได้ 4 ขนาด และศึกษาการงอกของหัวทั้ง 4 ขนาด พบว่าหัวที่มีขนาดใหญ่และมีน้ำหนักมากมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงกว่าหัวที่มีขนาดเล็ก โดยมีการงอก 91.50, 91.00, 82.50 และ 68.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

คำหลัก : ชีววิทยา การแพร่กระจาย นิเวศวิทยา วัชพืชต่างถิ่น การงอกของหัว

รหัสการทดลอง FF65-20-06-65-00-03-65

คำนำ

Oxalis debilis Kunth จัดอยู่ในวงศ์ Oxalidaceae มีถิ่นกำเนิดในอเมริกาใต้ (Shixiao Luo *et al.*, 2006) พบแพร่ระบาดอย่างรวดเร็วในอเมริกา โดยหัวแม่จะสร้างหัวย่อยจำนวนมาก และสามารถสร้างไหล (rhizomes) เจริญเป็นต้นใหม่ได้อย่างรวดเร็ว (The Flora of North America, 2020) จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างต้นในแหล่งจำหน่ายไม้ประดับ ในพื้นที่กรุงเทพฯ ปริมณฑล พื้นที่การเกษตรและสิ่งแวดล้อม ระหว่าง ตุลาคม 2559 - กันยายน 2561 พบ *O.debilis* เป็นไม้ประดับต่างถิ่นที่มีแนวโน้มการเป็นวัชพืช เนื่องจากในการสำรวจพบระบาดในสวนย่อม โดยขึ้นปะปนกับไม้ประดับชนิดอื่นๆ และพบเจริญเติบโตได้ดีในแปลงกะหล่ำปลี และมันฝรั่ง โดยพบว่าหนึ่งหัวสร้างหัวย่อยได้เป็นจำนวนมาก เมื่อมีการไถพรวนทำให้หัวย่อยหลุดออกจากต้นแม่ ทำให้เกิดการแพร่กระจายไปทั่วแปลงปลูกพืช (อัณศยา และคณะ, 2562)

วัชพืชนอกจากมีการขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดแล้ว ยังสามารถขยายพันธุ์จากส่วนอื่นๆ ได้ โดย พรชัย (2540) รายงานว่าในกรณีที่สภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม หรือส่วนของลำต้น และใบถูกกำจัดออกไป ไม่สามารถผลิตเมล็ดได้ วัชพืชสามารถพัฒนาส่วนของลำต้นให้ขยายพันธุ์ต่อไปได้ เช่น ไหล (stolon และ runner) เหง้า (rhizome) หัว (tuber) และ Bulb โดยวัชพืชที่มีการขยายพันธุ์ด้วยหัวมักจะกำจัดได้ยาก เช่น แห้วหมู ซึ่งจัดเป็นวัชพืชที่ร้ายแรงชนิดหนึ่งของโลก เนื่องจากเมื่อกำจัดส่วนที่อยู่บนดินแล้ว ยังมีหัวที่อยู่ใต้ดินสามารถขยายพันธุ์ต่อไปได้ ปัจจุบันแม้ยังพบ *O.debilis* แพร่กระจายไม่มาก แต่เนื่องจากมีส่วนขยายพันธุ์เป็นหัวอยู่ใต้ดินเช่นเดียวกับแห้วหมู ซึ่งอาจแพร่ระบาดได้ในอนาคต และยังไม่มีการศึกษาวิธีการป้องกันกำจัด ดังนั้นการศึกษานิเวศวิทยา ชีววิทยา รวมถึงวิธีการจัดการ จึงเป็นข้อมูลพื้นฐานที่มีความสำคัญอย่างยิ่ง เพื่อให้ได้ข้อมูลพื้นฐานสนับสนุนการแจ้งเตือนเกษตรกร และเป็นข้อมูลประกอบการวางแผนป้องกันและกำจัดที่เหมาะสมต่อไปในอนาคต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- กล้องถ่ายรูปแบบดิจิตอล
- กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscope)
- เครื่องแก้วต่างๆ ที่จำเป็น เช่น จานแก้ว บีกเกอร์
- กระดาษกรอง
- ตู้อบไฟฟ้า
- เลนส์ขยาย 10 เท่า สำหรับการตรวจสอบเบื้องต้นในภาคสนาม
- กรรไกร มีด เสียม หรือพลั่ว สำหรับตัด/ขุด ตัวอย่างพืช
- ดินและกระถาง สำหรับปลูกพืชทดสอบในเรือนทดลอง

- แผงอัดตัวอย่างพรรณไม้พร้อมกระดาษฟูก ฟองน้ำและหนังสือพิมพ์ พร้อมเชือกไส้ตะเกียงและป้ายชื่อสำหรับผูกตัวอย่างพืช

- กระดาษติดตัวอย่างพืช พร้อมแฟ้มปก

- น้ำยาชุบตัวอย่างวัชพืช ประกอบด้วย ฟีนอล เมอคิวริคคลอไรด์ เอทธิลอัลกอฮอล์

- การบูร

- เครื่องรับสัญญาณดาวเทียม เพื่อระบุพิกัด

- อุปกรณ์อื่นๆ ที่จำเป็น เช่น ถุงพลาสติกขนาดต่างๆ กระถางพลาสติก กระบะปูน และป้ายแสดงกรรมวิธี

- สมุดบันทึก

วิธีการ

นิเวศวิทยา

1) สำรวจและเก็บตัวอย่างต้น และหัว *O. debilis* โดยใช้วิธีแบบการสืบพบ (detection survey) ในพื้นที่เกษตรที่สูงในภาคเหนือ โดยมี *O. debilis* เป็นพืชเป้าหมาย โดยการสุ่มเดินแบบซิกแซก รูปตัว W โดยมีพื้นที่ในการสุ่มไม่น้อยกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่สำรวจ เมื่อพบพืชเป้าหมาย จะทำการสำรวจพื้นที่ใกล้เคียง เพื่อทราบขอบเขตการระบาดในแหล่งนั้น พร้อมเก็บตัวอย่างและถ่ายภาพเป็นหลักฐาน นำตัวอย่างต้นมาจัดทำตัวอย่างแห้ง บันทึกข้อมูล สถานที่หรือพิกัดที่เก็บตัวอย่าง สภาพนิเวศ ชนิดพืชปลูกหลัก วัน/เดือน/ปี ที่เก็บ ร่องรอยการถูกทำลายโดยศัตรูธรรมชาติในพื้นที่สำรวจ

2) การจัดทำตัวอย่างแห้ง นำตัวอย่างต้นวัชพืชมาอัดในแผงพรรณไม้ ขนาดประมาณ 50 X 30 เซนติเมตร เมื่อแห้งแล้วติดลงบนกระดาษขาว ขนาด 45 x 30 เซนติเมตร พร้อมติดป้าย ระบุ ชื่อวัชพืช สถานที่เก็บตัวอย่าง นิเวศวิทยา พืชอาศัย วันและเวลา ชื่อผู้เก็บ โดยเก็บรักษาไว้ ณ กลุ่มวิจัยวัชพืช

ศึกษาการงอกของหัวในสภาพเรือนทดลอง

เก็บตัวอย่างต้น *O. debilis* ที่มีขนาดใกล้เคียงกัน และอยู่ในระยะสร้างหัว จากพื้นที่สำรวจ นำมาคัดเลือกขนาดหัวที่เท่าๆ กัน สามารถแยกหัวได้ 4 ขนาด วัดความกว้าง ความยาว และชั่งน้ำหนัก ขนาดละ 100 หัว จากนั้นนำหัวแต่ละขนาดปลูกในกระถางขนาด 12 นิ้ว กระถางละ 20 หัว จำนวน 10 กระถางต่อหัวหนึ่งขนาด รดน้ำให้ความชื้นทุกวัน บันทึกข้อมูล จำนวนหัวที่งอกทุกวัน เป็นเวลา 2.5 เดือน

เวลาและสถานที่

ทำการทดลอง ระหว่าง ตุลาคม 2564 - กันยายน 2565 (ระยะเวลา 1 ปี) ณ กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ และพื้นที่เกษตรที่สูงในภาคเหนือ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

นิเวศวิทยา

สำรวจและเก็บตัวอย่างต้น และหัว *O. debilis* โดยใช้วิธีแบบการสืบพบในพื้นที่เกษตรที่สูงในภาคเหนือ จำนวน 54 แหล่ง 9 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ พะเยา แม่ฮ่องสอน ลำปาง ลำพูน อุตรดิตถ์ แพร่ และน่าน พบ *O. debilis* 3 แหล่ง ใน 2 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเชียงราย และเชียงใหม่ โดยพบ *O. debilis* เป็นวัชพืชแพร่ระบาดในแปลงสตรอเบอรี่ มันฝรั่ง กะหล่ำปลี และแปลงสวนย่อม ไม่พบแมลงศัตรูธรรมชาติ แต่พบราสนิมเข้าทำลายใบ (Table 1 และ Figure 1 - 3) จากการขุดหัวในพื้นที่ที่พบการระบาด พบว่า หัว *O. debilis* มีลักษณะเป็น bulb โดยมีหัวแม่แล้วสร้างไหลเกิดเป็นหัวย่อยล้อมรอบหัวแม่ ไหลที่อยู่ระหว่างหัวแม่และหัวย่อยเปราะ และหักง่าย การขุด หรือไถพรวนจะทำให้หัวย่อยหลุดออกจากหัวแม่แพร่กระจายไปยังพื้นที่ข้างเคียง ไม่สามารถคราดเก็บออกจากพื้นที่ได้ เนื่องจากหัวมีขนาดเล็ก

ศึกษาการงอกของหัวในสภาพเรือนทดลอง

แยกหัว *O. debilis* ได้ 4 ขนาด พบว่า หัวขนาดที่ 1, 2 และ 3 เริ่มงอกในวันที่ 4 หลังปลูก และหัวขนาดที่ 4 เริ่มงอกในวันที่ 7 หลังปลูก หัวขนาดที่ 1 และ 2 มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงในช่วง 7 วันหลังปลูก หัวขนาดที่ 3 มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงในช่วง 14 วันหลังปลูก และ 34 วันหลังปลูก ในขณะที่หัวขนาดที่ 4 มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงที่ 34 วันหลังปลูก และหลังปลูก 45 วัน (2.5 เดือน) พบว่าหัวที่มีขนาดใหญ่และมีน้ำหนักมากมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงกว่าหัวที่มีขนาดเล็ก โดยมีการงอก 91.50, 91.00, 82.50 และ 68.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 2 และ Figure 4 - 5) ทั้งนี้หัวที่มีขนาดใหญ่มีอาหารสะสมมากกว่าจึงอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้หัวงอกได้เร็ว และงอกดีกว่าหัวที่มีขนาดเล็ก

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

สำรวจและเก็บตัวอย่างต้น และหัว *O. debilis* โดยใช้วิธีแบบการแบบสืบพบในพื้นที่เกษตรที่สูงในภาคเหนือ จำนวน 54 แหล่ง 9 จังหวัด พบ *O. debilis* 3 แหล่ง ใน 2 จังหวัด คือ จังหวัดเชียงราย และเชียงใหม่ พบ *O. debilis* ขึ้นเป็นวัชพืชในแปลงสตรอเบอรี่ มันฝรั่ง กะหล่ำปลี และแปลงสวนย่อม และการศึกษาการงอกของหัวในสภาพเรือนทดลอง หัวที่มีขนาดใหญ่และมีน้ำหนักมากมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงกว่าหัวที่มีขนาดเล็ก โดยมีการงอก 91.50, 91.00, 82.50 และ 68.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อย่างไรก็ตามหัวทุกขนาดสามารถงอกเจริญเป็นต้นใหม่ได้ ไม่สามารถไถพรวนแล้วคราดเก็บออกจากพื้นที่ได้ เนื่องจากหัวมีขนาดเล็ก ดังนั้นจึงต้องหาวิธีกระตุ้นให้หัวงอกพร้อมๆ กัน เพื่อให้สามารถกำจัดได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ดร.ศิริพร ซึงสนธิพร ที่ช่วยแนะนำ และให้คำปรึกษา และขอขอบคุณพนักงานและจ้างเหมา ของกลุ่มวิจัยวัชพืช ที่ช่วยให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

พรชัย เหลืองอาภาพงศ์. 2540. *วัชพืชศาสตร์ (Weed Science)*. โรงพิมพ์ลินคอร์น, กรุงเทพฯ. 585 หน้า.

อัณศยา พรมมา ศิริพร ซึงสนธิพร ธัญชนก จงรักไทย และเอกรัตน์ ธนูทอง. 2562. ศักยภาพการเป็นวัชพืชของไม้ประดับต่างถิ่น. *ใน : รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2561 เล่ม 3*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

Shixiao Luo, Dianxiang Zhang and Susanne S. Renner. 2006. *Oxalis debilis* in China: Distribution of Flower Morphs, Sterile Pollen and Polyploidy. *Annals of Botany*. 98: 459-464.

The Flora of North America. 2020. *Oxalis debilis Kunth*. (Online). Available. http://floranorthamerica.org/Oxalis_debilis (December 15, 2022).

Table 1 Survey area in the north

No.	Sub-district	District	Province	Habitat	Latitude-N	Longitude-E	Found	Not found
1	Mueang Chiang Rai	Muang	Chiang Rai	rice	19.9288356	99.8553015		/
2	Huai Chomphu	Muang	Chiang Rai	lychees	19.8261830	99.6155933		/
3	Wawee	Mae Suai	Chiang Rai	lawn	19.8094641	99.5634570	/	
4	Wawee	Mae Suai	Chiang Rai	corn	19.7602352	99.5648318		/
5	Mae Korn	Muang	Chiang Rai	roadside	19.8455520	99.7445480		/
6	Mae Ram	Mae Rim	Chiang Mai	cabbage	18.9428743	98.7973964	/	
7	Mae Ram	Mae Rim	Chiang Mai	rice	18.9651116	98.8500923		/
8	Ban Luang	Chom Thong	Chiang Mai	rice	18.5452748	98.5458947		/
9	Mae Win	Mae Wang	Chiang Mai	lawn, potato, strawberry	18.6277217	98.5058088	/	
10	Mae Win	Mae Wang	Chiang Mai	rice	18.6543267	98.5340254		/
11	Mae Win	Mae Wang	Chiang Mai	non-crop	18.6371909	98.5078832		/
12	Mae Najorn	Mae Chaem	Chiang Mai	non-crop	18.6577026	98.4735282		/
13	Mae Najorn	Mae Chaem	Chiang Mai	chinese cabbage	18.6520155	98.4806029		/
14	Mae Win	Mae Wang	Chiang Mai	strawberry	18.6112438	98.5077307		/

Table 1 Survey area in the north (continue)

No.	Sub-district	District	Province	Habitat	Latitude-N	Longitude-E	Found	Not found
15	Mae Ram	Mae Rim	Chiang Mai	lily	18.9536780	18.7985730		/
16	Tha Wang Phrao	San Pa Tong	เชียงใหม่	date palm	18.5131400	98.8784180		/
17	Mae Ram	Mae Rim	Chiang Mai	cabbage	18.9299480	98.8181850		/
18	Kong Khaek	Mae Chaem	Chiang Mai	cabbage	18.4306000	98.3859800		/
19	Kong Khaek	Mae Chaem	Chiang Mai	pumpkin	18.2855750	98.3800480		/
20	Mae Suek	Mae Chaem	Chiang Mai	passion fruit	18.7832370	98.1610820		/
21	Ban Luang	Chom Thong	Chiang Mai	cabbage	18.5415920	98.5580030		/
22	Tha Wang Thong	Muang	Phayao	non-crop	19.2054881	99.9432620		/
23	Huay Kaew	Phu Kam Yao	Phayao	non-crop	19.3096622	99.9916215		/
24	Dong Suwan	Dok Kham Tai	Phayao	rice	19.2260794	100.0463702		/
25	Huay Kaew	Phu Kam Yao	Phayao	date palm	19.3079670	99.9914720		/
26	Huay Kaew	Phu Kam Yao	Phayao	rice	19.3096620	99.9916220		/
27	Huai Pu Ling	Muang	Mae Hong Son	roadside	19.218865	98.079213		/
28	Mok Champae	Muang	Mae Hong Son	non-crop	19.58441944	97.94618889		/
29	Mae Yuam	Mae Sariang	Mae Hong Son	rice	18.044667	97.912444		/
30	Huai Pu Ling (Ban Huai Hee)	Muang	Mae Hong Son	roadside	-	-		/
31	Mae Sam Lab	Sop Moei	Mae Hong Son	roadside	17.99525	97.818639		/
32	Wiang Tan	Hang Chat	Lampang	rice	18.3086848	99.3518290		/
33	Chompoo	Muang	Lampang	rice	18.2243910	99.4446170		/
34	Mai Phatthana	Koh Kha	Lampang	date palm	18.2402760	99.3451810		/
35	Mai Phatthana	Koh Kha	Lampang	date palm	18.2352180	99.3494430		/
36	Phichai	Muang	Lampang	date palm	18.3415380	99.5420340		/
37	Mae Tuen	Li	Lamphun	cabbage	17.92662	98.907747		/
38	Pa Phai	Li	Lamphun	non-crop	17.87198	989250914		/
39	Pa Phai	Li	Lamphun	roadside	17.8454560	98.9863070		/
40	Pa Phai	Li	Lamphun	roadside	17.8213812	98.9309092		
41	Mae Tuen	Li	Lamphun	corn	17.912911	98.9146848		/
42	Ban Dan Na Kham	Muang	Uttaradit	date palm	17.7792390	100.1081910		/

Table 1 Survey area in the north (continue)

No.	Sub-district	District	Province	Habitat	Latitude-N	Longitude-E	Found	Not found
43	Huai Or	Long	Phrae	non-crop	18.0804072	99.8304426		/
44	Pamat	Muang	Phrae	non-crop	18.1333688	100.1212039		/
45	Thung Hong	Muang	Phrae	rice	18.1924137	100.1838508		/
46	Mae Sai	Rong Kwang	Phrae	rice	18.3816253	100.3224666		/
47	Cho Hae	Muang	Phrae	rice	18.0895738	100.1929854		/
48	Cho Hae	Muang	Phrae	date palm	18.0892060	100.1931830		/
49	Kong Khwai	Muang	Nan	chili	18.4027000	100.4510230		/
50	Nam Pu	Wiang Sa	Nan	chili	18.4021110	100.4513760		/
51	Santha	Na Noi	Nan	roadside	18.2769310	100.5212330		/
52	Na Noi	Na Noi	Nan	roadside	18.3346390	100.6991670		/
53	Na Noi	Na Noi	Nan	corn	18.3386030	100.6799830		/
54	Santha	Na Noi	Nan	tomato	18.2748470	100.5136690		/
	Total						3	51

Table 2 The weight, width, length and germination of bulbs *O.debilis*

Size of Bulbs	weight/Bulb (g)	Width (mm)	Length (mm)	Germination (%)
1	0.798	9.94	16.17	91.50
2	0.3831	8.27	12.78	91.00
3	0.1825	6.11	9.75	82.50
4	0.0797	4.58	7.82	68.50

Not = Average from 100 bulbs.

Figure 1 *O.debilis* as a weed in (a) strawberry, (b) potato, (c) cabbage, and (d) lawn

Figure 2 *O.debilis*; (a) habitat, (b) flower (c) leaf, and (d - e) Bulbs

Figure 3 The rust disease on leaves of *O.debilis*

Figure 4 Size of bulbs *O.debilis*

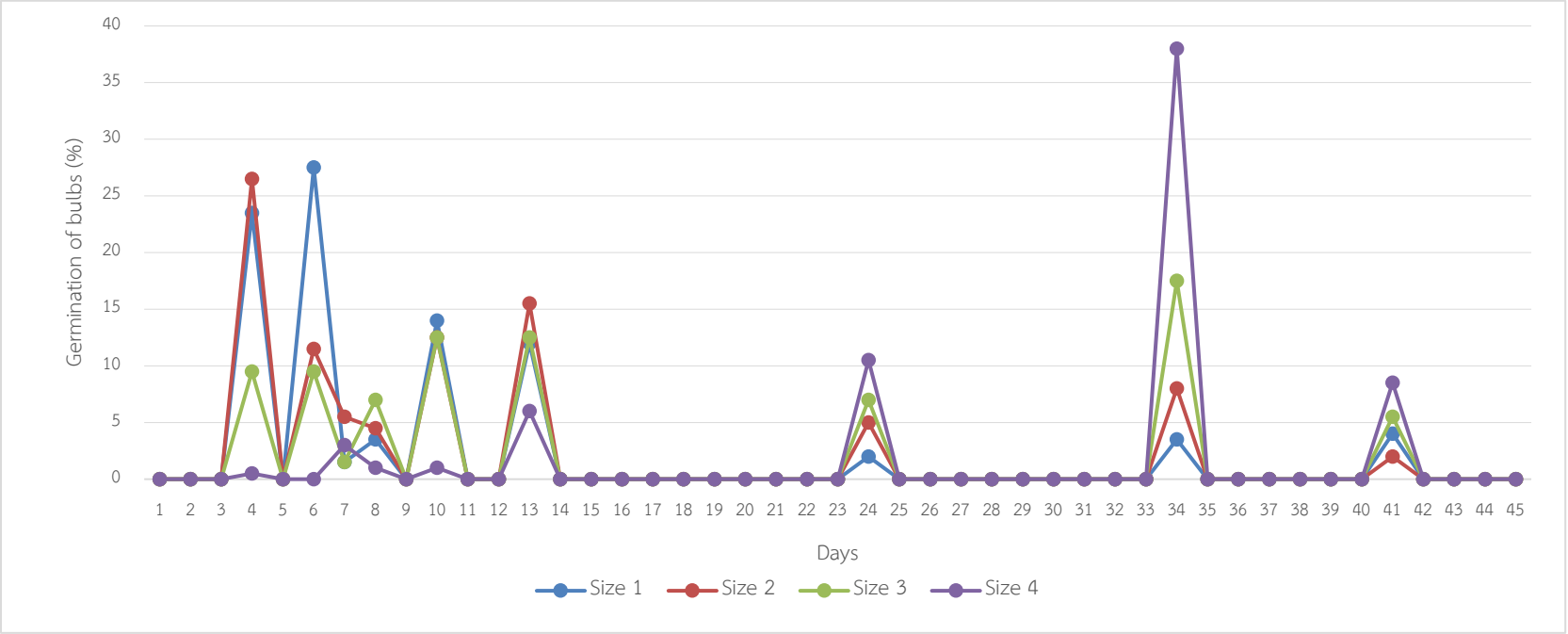


Figure 5 Germination of bulbs *O.debilis*

ทดสอบความต้านทานต่อโรคใบด่างมันสำปะหลังในมันสำปะหลังโดยการเสียบยอด
Test of Cassava Lines Resistance to the Cassava Mosaic Disease by Grafting

วานิช คำพานิช[1/] ธิดาวรรณ ชมเดช[1/] ภูวนารถ มณีโชติ[2/] สุวลักษณ์ อะมะวัลย์[3/]
ดนัย ชัยเรือนแก้ว[1/] พรรณิภา เปชัยศรี[1/]
ชุติมา อ้อมกิ่ง[1/] วาสนา รุ่งสว่าง[1/]
[1/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[3/]ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง สถาบันพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน

รายงานความก้าวหน้า

การทดสอบความต้านทานต่อโรคใบด่างมันสำปะหลังในมันสำปะหลังโดยการเสียบยอดมันสำปะหลัง 17 สายพันธุ์ เปรียบเทียบกับมันสำปะหลังสายพันธุ์ CMR43-08-89 ซึ่งอ่อนแอต่อโรคใบด่าง นาน 8 สัปดาห์ ผลการทดสอบพบว่ามันสำปะหลังทุกสายพันธุ์มีระดับความรุนแรงของโรคและเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเกิดโรคใบด่างเพิ่มมากขึ้นตามอายุของมันสำปะหลัง เมื่อนำประเมินความต้านทานโรคใบด่างในสัปดาห์ที่ 8 หลังปลูกเชื้อ พบว่า มันสำปะหลังสายพันธุ์ TMS-920057 และ C33 มีความต้านทานโรคใบด่าง TMS-980581, TMS-972205, TMS-980505, TME B419, CMR64-180-03 และ CMR53-106-24 มีความต้านทานโรคปานกลาง TME3, CMK23-67-313, CMR58-75-110, CMR59-55-303 และพันธุ์ห้านาที มีความอ่อนแอต่อโรคใบด่าง CMR64-180-02 และ CMR56-71-68 และระยอง 11 มีความอ่อนแอต่อโรคใบด่างสูง เมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์ CMR 43-08-89 ซึ่งมีความอ่อนแอต่อโรคใบด่างสูง และเมื่อนำมาตรวจหาเชื้อสาเหตุโรคใบด่างมันสำปะหลังด้วยเทคนิคพีซีอาร์ พบเชื้อ Sri Lankan cassava mosaic virus ในมันสำปะหลังทุกสายพันธุ์

คำหลัก : ทดสอบ ความต้านทาน โรคใบด่างมันสำปะหลัง มันสำปะหลัง การเสียบยอด

รหัสการทดลอง FF65-23-02-65-01-04-65

คำนำ

มันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญของประเทศไทย สร้างรายได้ให้ประเทศจากการส่งออกผลิตภัณฑ์ปีละ 1 แสนล้านบาท โดยหัวมันสำปะหลังสดจะเข้าสู่กระบวนการแปรรูปเป็นมันเส้น มันอัดเม็ด และแป้งมันสำปะหลัง ในปี 2564 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกมันสำปะหลัง 10.4 ล้านไร่ มีผลผลิตหัวสด 35.09 ล้านตัน คิดเป็นผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่ 3.37 ตัน มีมูลค่าการส่งออกผลิตภัณฑ์มันสำปะหลัง 121,815 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2565) ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยองได้รวบรวมเชื้อพันธุกรรมหลักมันสำปะหลัง ที่ได้รับมาจากศูนย์เกษตรเขตร้อนนานาชาติ (International Center for Tropical Agriculture: CIAT) 559 พันธุ์ และพันธุ์ของไทย 262 พันธุ์/สายพันธุ์ รวมทั้งหมด 821 พันธุ์/ สายพันธุ์ ซึ่งได้มีการนำเชื้อพันธุกรรมมันสำปะหลังที่มีอยู่มาใช้ประโยชน์ในงานด้านการปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ได้ลักษณะที่ดีตามต้องการ

โรคใบด่างมันสำปะหลัง (Cassava mosaic disease, CMD) เกิดจากเชื้อไวรัส Cassava mosaic virus (CMV) โดยมีแมลงหวี่ขาวยาสูบ (*Bemisia tabaci*) เป็นพาหะนำโรค จนถึงปัจจุบันมีการค้นพบเชื้อไวรัส CMV หลายสายพันธุ์ (strain) เช่น African cassava mosaic virus (ACMV), East African cassava mosaic virus (EACMV), Ugandan variant of EACMV (EACMV-Ug), South African cassava mosaic virus (SACMV), Madagascar cassava mosaic virus (MCMV), Indian cassava mosaic virus (ICMV) และ Sri Lankan cassava mosaic virus (SLCMV) (Malathi *et al.*, 1987; Geddes, 1990; Hong *et al.*, 1993; Zhou *et al.*, 1997; Thresh *et al.*, 1998) พบการแพร่ระบาดของโรค CMD ในประเทศทางแอฟริกา เช่น ยูกันดา แทนซาเนีย และมาดากัสการ์ ในอเมริกากลางและอเมริกาใต้พบการแพร่ระบาดของไวรัสสายพันธุ์ Cassava common mosaic virus (CsCMV) ซึ่งเป็นไวรัสชนิด RNA สายเดี่ยว (a single-stranded RNA virus) สกุล Potexvirus (CABI, 2020) Thresh *et al*. (1997) รายงานว่าโรคใบด่างมันสำปะหลังสร้างความสูญเสียต่อผลผลิตมันสำปะหลังในทวีปแอฟริกาคิดเป็นมูลค่าประมาณ 440 ล้านดอลลาร์สหรัฐต่อปี ส่วนในทวีปเอเชียพบการระบาดในประเทศอินเดียและประเทศศรีลังกา มันสำปะหลังที่เป็นโรคนี้จะแสดงอาการใบด่างจนถึงเหลือง ใบเสียรูปทรง ต้นเตี้ย ลำต้นแคระแกร็น และทำให้ผลผลิตลดลงมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ Wang *et al*. (2016) รายงานว่าพบอาการคล้ายโรคไวรัสในแปลงปลูกมันสำปะหลัง ในจังหวัดรัตนะคีรี ประเทศกัมพูชา เมื่อเดือนพฤษภาคม 2558 และทำการเก็บตัวอย่างใบที่แสดงอาการของโรค และแมลงหวี่ขาวเพื่อตรวจหาเชื้อไวรัส พบว่าเป็นเชื้อไวรัส Sri Lankan cassava mosaic virus โดยมีแมลงหวี่ขาวยาสูบเป็นพาหะ ซึ่งเป็นการรายงานครั้งแรกที่พบโรคใบด่างมันสำปะหลังในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ Uke *et al*. (2018) รายงานว่าพบอาการคล้ายโรคไวรัสในแปลงปลูกมันสำปะหลังในจังหวัดเตนินท์ ประเทศเวียดนาม เมื่อเดือนพฤษภาคม 2560 และพบว่า เป็นเชื้อไวรัส Sri Lankan cassava mosaic virus ชนิดเดียวกันกับที่พบในประเทศกัมพูชา Wang *et al*. (2019) รายงานว่าในเดือนมกราคม 2560 พบอาการของโรคใบด่างมันสำปะหลังในแปลงรวบรวมเชื้อพันธุกรรมของสถาบันวิทยาศาสตร์การเกษตรเขตร้อนของจีน (CATAS) ในปี 2563 ประเทศไทยพบการระบาด 29 จังหวัด

คิดเป็นพื้นที่ 442,564 ไร่ (ไทยรัฐออนไลน์, 2563) และยังไม่พบพันธุ์ต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลังในพันธุ์ที่เกษตรกรปลูกเพื่อการค้า การทดลองครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบความต้านทานต่อโรคใบด่างมันสำปะหลังในมันสำปะหลังโดยการเสียบยอดในโรงเรือนปลูกพืชหากพบพันธุ์ที่ต้านทานต่อโรคใบด่างจะทำการขยายต้นแล้วนำไปปลูกทดสอบความต้านทานโรคใบด่างในแปลงเพื่อใช้เป็นพันธุ์ทางเลือกให้แก่เกษตรกรหรือใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ต้านทานโรคต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ท่อนพันธุ์มันสำปะหลังลูกผสมที่มียีน *CMD2* เช่นเดียวกับพันธุ์ TME3 ซึ่งเป็นพันธุ์ต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลัง ปีละ 1 ชุดลูกผสม ประมาณ 17 สายพันธุ์ ได้แก่ TMS-980581, TMS-972205, TMS-980505, TMS-920057, TME B419, C33, TME3, CMK23-67-313, CMR64-180-02, CMR64-180-03, CMR53-106-24, CMR56-71-68, CMR58-75-110, CMR59-55-303, ห้านาที (Hanatee) ระยอง 11 (Rayong 11) และ CMR 43-08-89
2. ท่อนพันธุ์มันสำปะหลังเปรียบเทียบ ได้แก่ สายพันธุ์ CMR43-08-89 (อ่อนแอต่อโรคใบด่างมันสำปะหลัง)
3. ต้นมันสำปะหลังที่มีอาการโรคใบด่างมันสำปะหลัง
4. กระถางพลาสติก
5. ปุ๋ยเคมีเกรด 46-0-0
6. ดีเอ็นเอเครื่องหมายที่ใช้ตรวจสอบเชื้อ SLCMV
7. ดีเอ็นเอเครื่องหมายที่ใช้ตรวจสอบความต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลัง
8. สารเคมีสำหรับสังเคราะห์ชิ้นดีเอ็นเอ
9. เครื่องมือและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ สำหรับการเสียบยอด
10. โรงเรือนปลูกพืชทดสอบ

วิธีการ

1. ปลูกมันสำปะหลังพันธุ์ทดสอบ และพันธุ์เปรียบเทียบในกระถางพลาสติก พันธุ์ละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 3 กระถาง กระถางละ 1 ต้น (ทดสอบที่มันสำปะหลังอายุ 3 เดือนหลังปลูก)
2. นำส่วนยอดของมันสำปะหลังที่ใช้ทดสอบมาเสียบบนต้นมันสำปะหลังที่แสดงอาการโรคใบด่างมันสำปะหลัง เพื่อดูว่าสามารถทำให้มันสำปะหลังที่ใช้ทดสอบเป็นโรคได้หรือไม่
3. ทำการประเมินการเข้าทำลายของโรคใบด่างมันสำปะหลัง สัปดาห์ละ 1 ครั้ง เปรียบเทียบในแต่ละพันธุ์ จนครบ 8 สัปดาห์
4. นำส่วนยอดของมันสำปะหลังที่ทดสอบทุกต้น ไปทำการตรวจหาเชื้อไวรัส ในห้องปฏิบัติการไวรัสวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ตามวิธีของภูวนารถ และคณะ (2558) โดยนำ

ใบอ่อนจากต้นมันสำปะหลังแต่ละตัวอย่างน้ำหนัก 100 กรัม ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ บดในไนโตรเจนเหลวให้ละเอียด จากนั้นสกัดดีเอ็นเอโดยใช้ชุดสกัดดีเอ็นเอรวม (Plant genomic DNA Extraction Mini Kit, FAVORGEN, Taiwan) ตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิตในขั้นตอนสุดท้ายได้สารละลายดีเอ็นเอปริมาตร 50 ไมโครลิตร แบ่งดีเอ็นเอมา 3 ไมโครลิตรเพื่อทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ ใช้ไพรเมอร์ 2 สายที่จำเพาะต่อยีนเรพลิเคสของไวรัส SLCMV คือ forward primer AV1432 และ reverse primer AC2178 ให้ผลผลิตดีเอ็นเอขนาด 747 คู่เบส (ภูวนารถ และคณะ, 2561) เตรียมหลอดปฏิกิริยาพีซีอาร์ ปริมาตรรวม 20 ไมโครลิตร ใช้ส่วนผสมของ Green PCR Master Mix (Biotechrabbit, Germany) ประกอบด้วย 2x master mix buffer ปริมาตร 10 ไมโครลิตร nuclease-free water ปริมาตร 5 ไมโครลิตร ไพรเมอร์ forward AV1432 (10 pmole) ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ไพรเมอร์ reverse AC2178 (10 pmole) ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ดีเอ็นเอต้นแบบที่สกัดได้จากใบอ่อนมันสำปะหลัง ปริมาตร 3 ไมโครลิตร ทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ ตามขั้นตอนดังนี้ pre-denaturation 94 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที จากนั้นทำปฏิกิริยาพีซีอาร์จำนวน 35 รอบ แต่ละรอบประกอบด้วย denaturation 94 องศาเซลเซียส นาน 20 วินาที annealing 56 องศาเซลเซียส นาน 20 วินาที และ extension 72 องศาเซลเซียส นาน 45 วินาที และขั้นตอนสุดท้าย final extension 72 องศาเซลเซียส นาน 7 นาที เมื่อปฏิกิริยาเสร็จสมบูรณ์แล้ว ตรวจสอบดีเอ็นเอผลผลิตด้วย agarose gel electrophoresis 1.2 % ที่เติม RedSafe Nucleic Acid Staining Solution, 2000x (INTRON Biotecnology, Korea) ใน 1X TAE buffer ใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ นาน 30 นาที แล้วตรวจดูแถบดีเอ็นเอ ด้วยเครื่อง ChemiDoc Gel Imaging System (Biorad, USA)

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. ประเมินลักษณะอาการที่เกิดขึ้นกับต้นมันสำปะหลังในแต่ละสายพันธุ์ทุกสัปดาห์ จนครบ 4 สัปดาห์ และบันทึกข้อมูลการวิเคราะห์ตรวจหาเชื้อไวรัส ในห้องปฏิบัติการ

2. การประเมินระดับความรุนแรงของโรคโดยดัดแปลงจากวิธีของ Ariyo *et al*. (2015); Islam *et al*. (2010) และ Fauquet and Fargette (1990) ตั้งแต่ 0 – 5 แบ่งระดับความรุนแรงในการเกิดโรคหลังจากการถ่ายทอดเชื้อ ดังนี้

ระดับ 0 ไม่แสดงอาการของโรค

ระดับ 1 ใบมันสำปะหลังมีอาการด่าง และเปลี่ยนรูป เล็กน้อย เพียง 1 ใบ

ระดับ 2 ใบมันสำปะหลังมีอาการด่าง และเปลี่ยนรูป มากกว่า 1 ใบ แต่ไม่เกิน 20 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น

ระดับ 3 ใบมันสำปะหลังมีอาการด่างรุนแรงและม้วนหงิกงอประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น

ระดับ 4 ใบมันสำปะหลังมีอาการด่างรุนแรงและม้วนหงิกงอ ประมาณ 45 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้นยอดและต้นหดสั้น

ระดับ 5 ใบมันสำปะหลังมีอาการด่างรุนแรง ม้วนหงิกงอเสียรูป เกิน 50 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้นขึ้นไป

3. นับจำนวนต้นของแต่ละระดับความรุนแรงของโรค นำมาคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเกิดโรค จากสูตร (Hooda *et al*., 2018)

4. ระดับความต้านทานจากค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเกิดโรค ดังนี้

เปอร์เซ็นต์ดัชนีการเกิดโรค	ระดับความต้านทาน	ตัวย่อ
0 – 10	ต้านทานมาก (High Resistant)	HR
10.1 – 20	ต้านทาน (Resistant)	R
20.1 – 30	ต้านทานปานกลาง (Moderately Resistant)	MR
30.1 – 40	อ่อนแอ (Susceptible)	S
40.1 – 100	อ่อนแอมาก (High Susceptible)	HS

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาเริ่มต้น : ตุลาคม 2564 – กันยายน 2567

สถานที่ : ห้องปฏิบัติการ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
โรงเรือนปลูกพืช กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การทดสอบความต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลัง (*Sri Lankan cassava mosaic virus*; SLCMV) โดยประเมินระดับความรุนแรงของโรค เปอร์เซ็นต์ดัชนีการเกิดโรค ในสัปดาห์ที่ 2 4 6 และ 8 หลังปลูกเชื้อ โดยนำส่วนยอดของมันสำปะหลังที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ 17 สายพันธุ์ TMS-980581, TMS-972205, TMS-980505, TMS-920057, TME B419, C33, TME3, CMK23-67-313, CMR64-180-02, CMR64-180-03, CMR53-106-24, CMR56-71-68, CMR58-75-110, CMR59-55-303, Hanatee (ห้านาที) CMR43-08-89 และระยอง 11 มาเสียบบนต้นตอมันสำปะหลังสายพันธุ์ CMR43-08-89 ซึ่งอ่อนแอต่อโรคใบด่าง ผลการทดสอบพบว่ามันสำปะหลังทุกสายพันธุ์มีระดับความรุนแรงของโรคและเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเกิดโรคใบด่างเพิ่มมากขึ้นตามอายุของมันสำปะหลัง

2. การประเมินความต้านทานโรคใบด่าง SLCMV ที่สัปดาห์ที่ 8 หลังปลูกเชื้อ ผลพบว่ามันสำปะหลังสายพันธุ์ TMS-920057 และ C33 มีความต้านทานโรคใบด่าง TMS-980581, TMS-972205, TMS-980505, TME B419, CMR64-180-03 และ CMR53-106-24 มีความต้านทานโรคปานกลาง TME3, CMK23-67-313, CMR58-75-110, CMR59-55-303 และ Hanatee (ห้านาที) มีความอ่อนแอต่อโรคใบด่าง CMR64-180-02 และ CMR56-71-68 และระยอง 11 มีความอ่อนแอต่อโรคใบด่างสูง เมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์ CMR 43-08-89 และ ซึ่งมีความอ่อนแอต่อโรคใบด่างสูง (Table 1 และ Figure 1)

3. การตรวจดูอาการบนต้นพืชร่วมกับการตรวจหาเชื้อ SLCMV ที่สัปดาห์ที่ 4 หลังปลูกเชื้อ พบแถบดีเอ็นเอผลผลิตจากปฏิกิริยาพีซีอาร์ขนาด 747 คู่เบส ของเชื้อไวรัส SLCMV ในมันสำปะหลังทุกต้นทุกพันธุ์ที่เสียบยอดและอยู่รอดชีวิต ซึ่งพบทั้งต้นที่แสดงอาการรุนแรงตั้งแต่ระดับ 1-4 จึงทำให้มีผลของอัตราการติดโรคทุกพันธุ์เป็น 100 เปอร์เซ็นต์ (Figure 2)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบความต้านทานต่อโรคใบด่างมันสำปะหลังในมันสำปะหลังโดยการเสียบยอดมันสำปะหลัง 17 สายพันธุ์ เปรียบเทียบกับมันสำปะหลังสายพันธุ์ CMR43-08-89 ซึ่งอ่อนแอต่อโรคใบด่าง นาน 8 สัปดาห์ ผลการทดสอบพบว่ามันสำปะหลังทุกสายพันธุ์มีระดับความรุนแรงของโรคและเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเกิดโรคใบด่างเพิ่มมากขึ้นตามอายุของมันสำปะหลัง เมื่อนำประเมินความต้านทานโรคใบด่าง ที่สัปดาห์ที่ 8 หลังปลูกเชื้อ ผลพบว่า มันสำปะหลังสายพันธุ์ TMS-920057 และ C33 มีความต้านทานโรคใบด่าง TMS-980581, TMS-972205, TMS-980505, TME B419, CMR64-180-03 และ CMR53-106-24 มีความต้านทานโรคปานกลาง TME3, CMK23-67-313, CMR58-75-110, CMR59-55-303 และ ห้านาที มีความอ่อนแอต่อโรคใบด่าง CMR64-180-02 และ CMR56-71-68 และระยอง 11 มีความอ่อนแอต่อโรคใบด่างสูง เมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ CMR 43-08-89 และซึ่งมีความอ่อนแอต่อโรคใบด่างสูง และเมื่อนำมาตรวจหาเชื้อสาเหตุโรคใบด่างมันสำปะหลังด้วยเทคนิคพีซีอาร์ พบเชื้อ Sri Lankan cassava mosaic virus ในมันสำปะหลังทุกสายพันธุ์

คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณ สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ที่สนับสนุนงบประมาณในการศึกษาวิจัย คุณสุรพล ยินอัศวพรรณ และคณะกรรมการที่ปรึกษาด้านวิชาการ ตลอดจนข้าราชการ พนักงานราชการ และพนักงานจ้างเหมา ของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่ให้คำแนะนำช่วยเหลือในการทำงานวิจัยให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

ไทยรัฐออนไลน์. 2563. โรคใบด่างมันสำปะหลังยังไม่จบ. แหล่งข้อมูล: https://www.thairath.co.th/news/local/ 1920836. ค้นเมื่อ วันที่ 21 ธันวาคม 2563.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2565. ข้อมูลการผลิตสินค้าเกษตร ปี 2564. แหล่งข้อมูล: http://www. oae.go.th/assets/ portals/1/fileups/prcaidata/files/casava64.pdf. ค้นเมื่อ วันที่ 11 มิถุนายน 2565.

Ariyo, O.A., A.G.O. Dixon, G.I. Atiri, E.W. Gachomo and S.O. Kotchoni. 2015. Disease resistance characterisation of improved cassava genotypes to cassava mosaic disease at different ecozones. Arch. Phytopathology Plant Protect. 48: 504-518.

Fauquet, C. and D. Fargette, 1990. *African cassava mosaic virus*: etiology, epidemiology and control. *Plant Dis*. 74: 404–411.

Geddes, A.M. 1990. The relative importance of crop pests in sub Saharan Africa. Bulletin 36; Chatham Natural Resource Institute (NRI).

Hooda, K.S., P.K. Bagaria, M. Khokhar, H. Kaur, and R. Sujay. 2018. Mass Screening Techniques for Resistance to Maize Diseases. ICAR-Indian Institute of Maize Research, PAU Campus, Ludhiana- 141004, 93 pp.

Islam, S., A.D. Munshi, B. Mandal, R. Kumar and T.K. Behera. 2010. Genetics of resistance in *Luffa cylindrical* Roem. Against *Tomato leaf curl New Delhi virus*. *Euphytica*. 1741): 83-89.

Thresh, J.M., G.W. Otim-Nape, M. Thankappan and V. Muniyappa. 1998. The mosaic diseases of cassava in Africa and India caused by whitefly-borne geminiviruses. Rev. Plant. Pathol. 77: 935-946.

Hong, Y.G., D.J. Robinson and B.D. Harrison. 1993. Nucleotide sequence evidence for the occurrence of three distinct whitefly-transmitted geminiviruses in cassava. J. Gen. Virol. 74: 2437-2443.

Malathi, V.G., M. Thankappan, N.G. Nair, B. Nambison and S.P. Ghosh. 1987. Cassava mosaic disease in India. In: The International Seminar on African Cassava Mosaic Disease and its Control. Yamoussoukro, Cote d' Ivoire, CTA/FAO/ORSTOM /IITA/IAPC, pp. 189–198.

Uke, A., T.X. Hoat, M.V. Quan, N.V. Liem, M. Ugaki and K.T. Natsuaki. 2018. First Report of Sri Lankan Cassava Mosaic Virus Infecting Cassava in Vietnam. APS J. Plant Disease. 102: 2669.

Wang, H. L., X.Y. Cui, X.W. Wang, S.S. Liu, Z.H. Zhang and X.P. Zhou. 2016. First Report of Sri Lankan Cassava Mosaic Virus Infecting Cassava in Cambodia. APS J. Plant Disease. 100: 1029.

Zhou, X., Y. Liu, L. Calvert, C. Munoz, G.W. Otim-Nape, D.J. Robinson and B.D. Harrison. 1997. Evidence that DNA-A of a geminivirus associated with severe cassava mosaic disease in Uganda has arisen by inter-specific recombination. J. Gen. Virol. 78: 2101-2111.

Table 1 Disease severity score, percentage of disease Incidence index and resistant level of cassava mosaic disease (SLCMV) on 8 cassava lines at 2, 4, 6 and 8 weeks after inoculation (WAI)

Cassava lines	Mean of disease severity score / disease incidence index (%)								Resistance level
	2 WAI		4 WAI		6 WAI		8 WAI		
1. TMS-980581	0.22	4.45	1.11	22.22	1.22	24.45	1.33	26.67	MR
2. TMS-972205	0.00	0.00	0.57	11.11	0.78	15.55	1.11	22.22	MR
3. TMS-980505	0.11	2.22	0.78	15.56	1.11	22.22	1.11	22.22	MR
4. TMS-920057	0.00	0.00	0.33	6.67	0.89	17.78	1.00	20.00	R
5. TME B419	0.00	0.00	1.00	20.00	1.11	22.22	1.11	22.22	MR
6. C33	0.00	0.00	0.57	13.33	0.89	17.78	1.00	20.00	R
7. TME3	0.11	2.22	0.78	17.78	0.89	17.78	1.67	33.33	S
8. CMK23-67-313	1.22	24.44	2.00	40.00	2.00	40.00	2.00	40.00	S
9. CMR64-180-02	0.78	15.56	1.11	22.22	1.89	37.78	2.22	44.44	HS
10. CMR64-180-03	0.78	15.56	0.89	20.00	1.22	20.00	1.22	24.44	MR
11. CMR53-106-24	0.67	13.33	1.00	20.00	1.11	22.22	1.22	24.44	MR
12. CMR56-71-68	1.00	20.00	1.78	35.56	2.11	42.12	2.11	42.12	HS
13. CMR58-75-110	1.00	20.00	1.67	33.33	2.00	40.00	2.00	40.00	S
14. CMR59-55-303	0.89	17.78	1.00	20.00	1.22	24.44	1.56	31.11	S
15. Hanatee	1.33	26.67	1.89	37.78	1.89	37.78	2.00	40.00	S
16. Rayong 11	1.00	20.00	1.56	31.11	2.11	42.22	2.80	55.56	HS
17. CMR 43-08-89 (S. check)	0.22	4.44	2.22	48.89	2.57	51.11	3.22	64.45	HS

Remark: 0 – 10 = HR, 10.1 – 20 = R, 20.1 – 30 = MR, 30.1 – 40 = S and 40.1 – 100 = HS.

Figure 1 Graft inoculated cassava plants with disease symptoms and evaluated resistance level of cassava mosaic disease (SLCMV) on 17 cassava lines from 8 weeks after inoculation

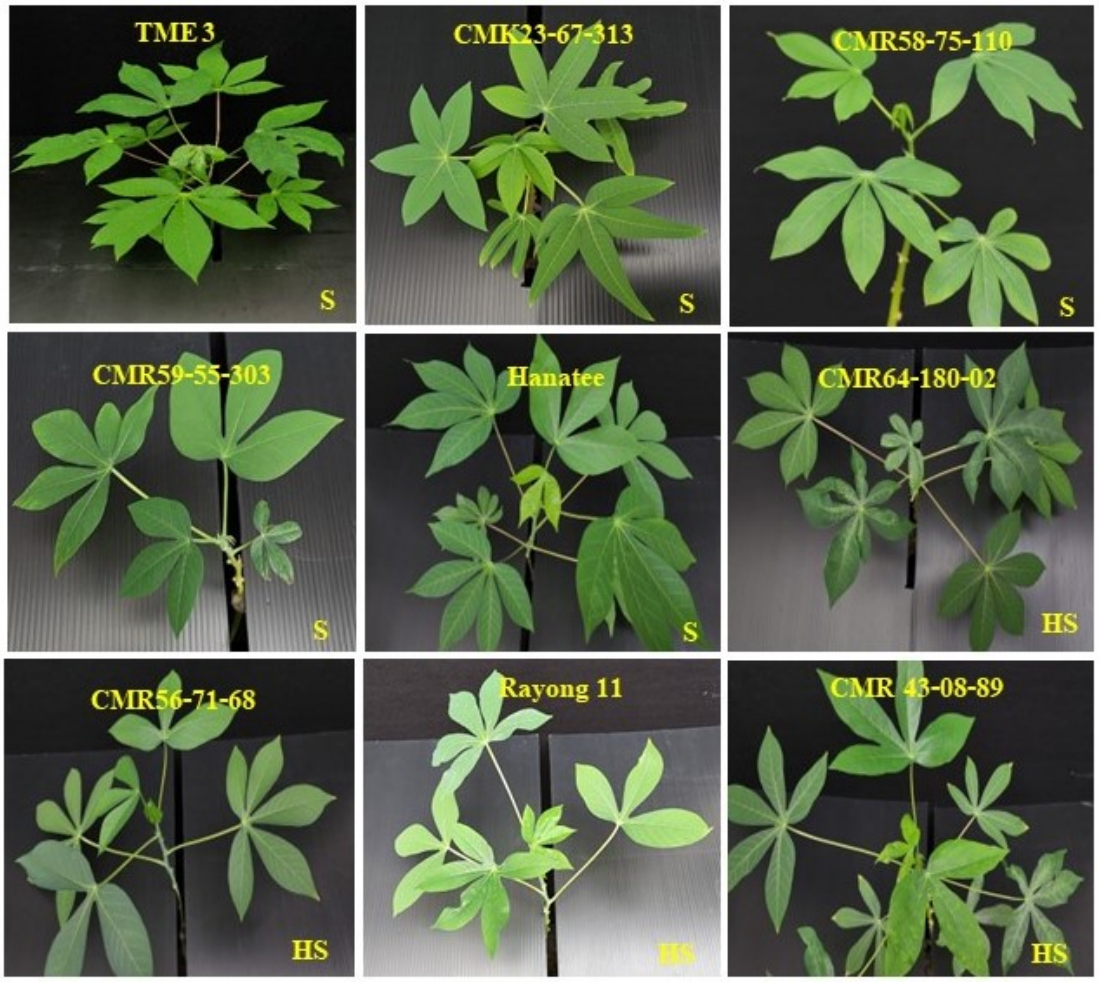


Figure 1 Graft inoculated cassava plants with disease symptoms and evaluated resistance level of cassava mosaic disease (SLCMV) on 17 cassava lines from 8 weeks after inoculation (continue)

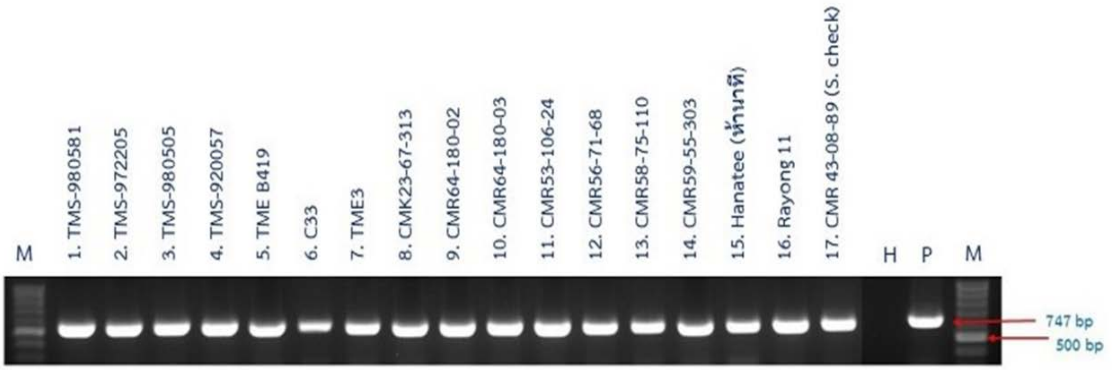


Figure 2 Electrophoresed agarose gel for size determination of PCR- amplified DNA fragments of 747 bp (white bands) from DNA extract of cassava plant after graft inoculation of cassava mosaic disease (SLCMV) for resistance evaluation. M, 100 bp Ladder; H, DNA extract of healthy cassava plant; P, DNA of SLCMV-infected plant. Names of cassava

ผลกระทบของสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ทางใบต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวโพดหวาน

Impact of leaf systemic/contact herbicides on growth and production of sweet corn

ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย[1/] อุษณีย์ จินดากุล[1/] ปรัชญา เอกฐิน[1/] เทอดพงษ์ มหาวงศ์[1/] เอกรัตน์ ธนูทอง[1/] อมฤต ศิริอุดม[2/] เชาวนาถ พฤทธิเทพ[3/]

[1/]กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[3/]ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาผลกระทบของสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ทางใบต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวโพดหวาน เพื่อหาช่วงเวลาการพ่นสารที่เหมาะสมที่ช่วยป้องกันการสูญเสียผลผลิตจากการใช้ที่ไม่ถูกต้องและเกิดความเป็นพิษต่อข้าวโพดน้อยที่สุด ดำเนินการทดลองที่แปลงเกษตรกรอำเภอตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์ ระหว่างเดือน ตุลาคม 2564 – กันยายน 2565 วางแผนการทดลอง แบบ RCB มี 4 ซ้ำ จำนวน 8 กรรมวิธี ประกอบด้วยการพ่นสารกำจัดวัชพืช glufosinate ammnonium 15% SL และ diquat dibromide 37.3% SL ที่ระยะ 3, 4 และ 5 สัปดาห์หลังปลูก เปรียบเทียบกับการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานคน และวิธีไม่กำจัดวัชพืช พบว่าการพ่นสารกำจัดวัชพืช glufosinate ammnonium 15% SL และ diquat dibromide 37.3% SL ที่ระยะ 4 สัปดาห์หลังปลูก เป็นพิษเล็กน้อย ซึ่งอาการเป็นพิษดังกล่าวจะเกิดขึ้นเฉพาะส่วนของใบล่างข้าวโพด และสามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติ และยังสามารถกำจัดวัชพืชประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้าตีนกา (*Eleusine indica* (L.) Gaertn) หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colona* (L.) Link.) หญ้าตีนนก (*Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.) และหญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium* (L.) P. Beauv.) วัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ ผักเบี้ยหิน(*Trianthema portulacustrum* L.) หญ้ายาง (*Euphorbia heterophylla* L.) และลูกใต้ใบ (*Phyllanthus amarus* Schum&Thonn.) ได้ดี สามารถลดปริมาณจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืช อีกทั้งยังไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต และผลผลิตของข้าวโพดหวาน

คำหลัก : ผลกระทบของสารกำจัดวัชพืช ข้าวโพดหวาน

รหัสการทดลอง FF65-45-04-65-01-10-65

คำนำ

วัชพืชเป็นปัญหาสำคัญต่อการผลิตข้าวโพดในพื้นที่ขนาดใหญ่ โดยเฉพาะในฤดูฝน คือ การงอกใหม่ของวัชพืชอย่างรวดเร็ว ถ้าไม่กำจัดวัชพืชเลยจะทำความเสียหายให้กับผลผลิตข้าวโพดได้ถึง 80 เปอร์เซ็นต์ หรือมากกว่านั้นความเสียหายขึ้นอยู่กับปริมาณวัชพืชที่ขึ้นเบียดบังข้าวโพดว่ามีมาก น้อยเพียงใดและความสามารถในการแข่งขันกับ วัชพืชของข้าวโพดแต่ละพันธุ์ วัชพืชจะแก่งแย่งธาตุอาหารในดิน ความชื้นและแสงแดดที่ข้าวโพดควรจะได้รับทำให้ข้าวโพดมีการเจริญเติบโตลดลงอีก ทั้งยังเป็นที่อยู่อาศัยของแมลงศัตรูข้าวโพดชนิดอื่น ได้แก่ โรค แมลงพาหะนำโรค แมลงศัตรู เป็นต้น ช่วงวิกฤตของข้าวโพดที่ควรปลอดวัชพืชอยู่ที่ระยะ 2-6 สัปดาห์หลังงอก (นิรนาม, 2552ข)

เมื่อแรงงานขาดแคลน ค่าแรงสูงขึ้น จำเป็นต้องเร่งกำจัดวัชพืชให้ทันก่อนเกิดความเสียหายต่อต้นข้าวโพดการใช้สารกำจัดวัชพืชเป็นทางเลือกหนึ่งที่ช่วยแก้ปัญหาดังกล่าวได้ หากใช้อย่างถูกต้องในอัตราที่เหมาะสม เพราะสามารถควบคุมวัชพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ สะดวก และต้นทุนต่ำกว่าการใช้แรงงาน

เมื่อแรงงานขาดแคลน ค่าแรงสูงขึ้น จำเป็นต้องเร่งกำจัดวัชพืชให้ทันก่อนเกิดความเสียหายต่อต้นข้าวโพด การใช้สารกำจัดวัชพืชเป็นทางเลือกหนึ่งที่ช่วยแก้ปัญหาดังกล่าวได้ หากใช้อย่างถูกต้องในอัตราที่เหมาะสม เพราะสามารถควบคุมวัชพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ สะดวก และต้นทุนต่ำกว่าการใช้แรงงาน สารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นก่อนวัชพืชงอก (pre-emergence herbicides) ที่แนะนำในข้าวโพดมีหลายชนิด ได้แก่ อะทราซีน อะลาคลอร์ เพนดิเมทาลิน และอะซีโทคลอร์ เป็นต้น (กลุ่มวิจัยวัชพืช, 2554) หากมีวัชพืชหลงเหลือจากการใช้สารประเภทก่อนงอก และสามารถรบกวนผลผลิตข้าวโพดได้ เนื่องจากข้าวโพดเป็นพืชที่มีอายุเก็บเกี่ยวนาน 75 วันหรืออยู่ในระยะวิกฤต เกษตรกรจะแก้ปัญหาด้วยการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอก เช่น พาราควอต (paraquat) (กลุ่มวิจัยวัชพืช, 2554) หรือ กลูโฟสิเนทแอมโมเนียม (glufosinate ammonium) (ภัทร์พิชชาและคมสัน, 2561) พ่นระหว่างแถวข้าวโพดหลังวัชพืชงอกสูงประมาณ 30 เซนติเมตร สารกำจัดวัชพืชที่ใช้หลังงอกเหล่านี้เป็นสารที่ไม่เลือกทำลาย ดังนั้น การพ่นสารต้องทำอย่างระมัดระวัง โดยกรมวิชาการเกษตรมีคำแนะนำให้ใช้อุปกรณ์ครอบหัวพ่น เพื่อป้องกันไม่ให้ละอองสารสัมผัสใบข้าวโพด อย่างไรก็ตามในทางปฏิบัติ เกษตรกรไม่นิยมใช้อุปกรณ์ครอบหัวพ่น ทำให้ละอองสารสัมผัสใบข้าวโพด ทำให้การเจริญเติบโตของข้าวโพดหยุดชะงัก ส่งผลถึงผลผลิตของข้าวโพดได้ แต่ยังไม่มีการศึกษาที่แน่ชัดว่าผลผลิตข้าวโพดจะสูญเสียกี่เปอร์เซ็นต์ โดยเฉพาะในข้าวโพด ซึ่งอ่อนแอต่อการใช้สารกำจัดวัชพืช ดังนั้นจึงทำการศึกษาผลกระทบของการใช้สารกำจัดวัชพืชชนิดใช้ทางใบประเภทไม่เลือกทำลายต่อการสูญเสียผลผลิตของข้าวโพดที่ระยะเวลาการเจริญเติบโตของข้าวโพดต่าง ๆ กัน เพื่อเป็นคำแนะนำในการใช้สารกำจัดวัชพืชในข้าวโพดอย่างถูกต้อง และช่วยป้องกันการสูญเสียผลผลิตจากการใช้ที่ไม่ถูกต้องต่อไป พิษต่อข้าวโพดน้อยที่สุด และใช้เป็นข้อมูลในการจัดทำคู่มือคำแนะนำ สำหรับเกษตรกรหรือผู้สนใจต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ข้าวโพดหวาน พันธุ์ Hibrix3
2. สารกำจัดวัชพืช ได้แก่ glufosinate ammnonium 15% SL และ diquat dibromide 37.3% SL
3. สารป้องกันกำจัดโรคและแมลง ปุ๋ยสูตร 15-15-15
4. ถุงกระดาษ เชือกฟาง และถุงพลาสติก

วิธีการ

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาช่วงเวลาการพ่นสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ทางใบในข้าวโพดหวาน

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 3 ซ้ำ 8 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 พ่นสาร glufosinate ammnonium 15% SL อัตรา 105 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ พ่น 3 สัปดาห์หลังปลูก

กรรมวิธีที่ 2 พ่นสาร glufosinate ammnonium 15% SL อัตรา 105 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ พ่น 4 สัปดาห์หลังปลูก

กรรมวิธีที่ 3 พ่นสาร glufosinate ammnonium 15% SL อัตรา 105 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ พ่น 5 สัปดาห์หลังปลูก

กรรมวิธีที่ 4 พ่นสาร diquat dibromide 37.3% SL อัตรา 261.1 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ พ่น 3 สัปดาห์หลังปลูก

กรรมวิธีที่ 5 พ่นสาร diquat dibromide 37.3% SL อัตรา 261.1 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ พ่น 4 สัปดาห์หลังปลูก

กรรมวิธีที่ 6 พ่นสาร diquat dibromide 37.3% SL อัตรา 261.1 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ พ่น 5 สัปดาห์หลังปลูก

กรรมวิธีที่ 7 การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน

กรรมวิธีที่ 8 ไม่กำจัดวัชพืช

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

เตรียมดินโดยใช้รถไถ ทำการไถดะด้วยผาล 3 จำนวน 1 ครั้ง ไถแปรด้วยผาล 7 จำนวน 1 ครั้ง และทำการไถพรวนเพื่อยกร่อง โดยมีขนาดความกว้างของร่องที่ใช้ปลูกข้าวโพด 1.2 เมตร ระยะห่างระหว่างร่อง 70 เซนติเมตร แบ่งแปลงย่อยขนาด 5x6 เมตร หยอดเมล็ดข้าวโพดหวาน จำนวน 2 เมล็ดต่อหลุม ระยะปลูกระหว่างแถว 0.75 เมตร ระหว่างต้น 0.25 เมตร หลังปลูกให้น้ำ พ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีทดลอง หลังปลูกข้าวโพดหวาน 3, 4 และ 5 สัปดาห์หลังปลูก โดยใช้อัตราน้ำ 80 ลิตรต่อไร่ และกรรมวิธีที่ 7 การกำจัดวัชพืชแรงงาน ที่ระยะ 15, 30 และ 45 วันหลังปลูก ใส่ปุ๋ยตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร และหากพบการระบาดของโรคและแมลงศัตรูพืช ทำการป้องกันกำจัดตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร

ทำการประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืช โดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0-10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ 0 = ไม่เป็นพิษ และ 10 = พืชปลูกตาย บันทึกข้อมูล 3 ครั้ง ที่ระยะ 7, 15, 30 และ 45 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช

ทำการประเมินประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชโดยการให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0-10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ โดย 0 = ควบคุมวัชพืชไม่ได้, 1-3 = ควบคุมวัชพืชได้เล็กน้อย, 4-6 = ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง, 7-9 = ควบคุมวัชพืชได้ดี และ 10 = ควบคุมวัชพืชได้สมบูรณ์ โดยบันทึกข้อมูลประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืช จำนวน 3 ครั้ง ที่ระยะ 7, 15, 30 และ 45 วันหลังใช้สารกำจัดวัชพืช

จากนั้นทำการนับจำนวนต้นวัชพืช และชั่งน้ำหนักแห้งวัชพืชจำแนกเป็นชนิด ที่ระยะ 30 วันหลังพ่นสารและนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. คะแนนประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช และความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืช
2. ชนิดวัชพืชและน้ำหนักแห้งของวัชพืช
3. ความสูงต้น
4. ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตของข้าวโพด เช่น ผลผลิตฝักสดทั้งเปลือกและปอกเปลือกเป็นกิโลกรัมต่อไร่ ความยาวฝักทั้งเปลือกและปอกเปลือกข้าวโพดเฉลี่ยจาก 10 ต้น

เวลาและสถานที่

ดำเนินการทดลองที่แปลงเกษตรกรอำเภอตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์ ระหว่างเดือน ตุลาคม 2564-กันยายน 2565

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองพบวัชพืชในแปลงทดลองข้าวโพดหวาน ได้แก่ หญ้าตีนกา (*Eleusine indica* (L.) Gaertn) หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colona* (L.) Link.) หญ้าตีนนก (*Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.) และหญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium* (L.)P. Beauv.) หญ้ายาง (*Euphorbia heterophylla* L.) ผักเบี้ยหิน (*Trianthema portulacustrum* L.) และ ลูกใต้ใบ (*Phyllanthus amarus* Schum&Thonn.) (Table1)

<u>การประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืช</u>

ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืช ที่ระยะ 7 วันหลังพ่นสาร ในกรรมวิธีพ่นสาร diquat dibromide 37.3% SL อัตรา 261.1 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ที่ระยะ 3 สัปดาห์หลังปลูก ข้าวโพดหวานมีอาการเป็นพิษเล็กน้อยถึงปานกลางบริเวณปลายใบล่างที่สัมผัสกับละอองสาร จะมีลักษณะเป็นจุดสีเหลืองซีด ส่วนบริเวณปลายใบที่สัมผัสกับละอองสารในปริมาณที่มากจะมีลักษณะสีเหลืองซีดเป็นแถบและจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลคล้ายอาการใบไหม้ ส่วนการพ่นสาร glufosinate ammnonium 15% SL ที่ระยะ 3 สัปดาห์หลังปลูก พบว่าใบล่างของข้าวโพดหวานที่สัมผัสละอองสาร เริ่มมีอาการสี

เหลืองอ่อนๆ บริเวณขอบใบ ซึ่งอาการดังกล่าวจะค่อยๆ ชัดเจนขึ้นที่ระยะ 15 วันหลังพ่นสาร และขึ้นอยู่กับปริมาณสารที่ตกกระทบบนผิวใบเนื่องจากต้นข้าวโพดยังมีขนาดเล็ก เช่นเดียวกับการพ่นสารกำจัดวัชพืช glufosinate ammnonium 15% SL และ การพ่นสาร diquat dibromide 37.3% SL ที่ระยะ 4, 5 สัปดาห์หลังปลูก แต่จะเป็นพิษต่อข้าวโพดเล็กน้อยเพียงระยะแรก และความเป็นพิษลดลงที่ระยะ 30 วันหลังการพ่นสาร (Figure 1) ซึ่งอาการเป็นพิษดังกล่าวจะเกิดขึ้นเฉพาะส่วนของใบล่างข้าวโพด ซึ่งเป็นบริเวณที่มีโอกาสสัมผัสกับสารมากที่สุด เมื่อข้าวโพดมีการเจริญเติบโตใบล่างที่สัมผัสสารจะค่อย ๆ แห้ง และตายไป สอดคล้องกับ อรรถสิทธิ์และคณะ (2546) รายงานว่า การพ่นสาร paraquat dichloride ทำให้อ้อยได้รับพิษจากการใช้สารแต่อ้อยสามารถฟื้นตัวกลับมาเป็นปกติได้ง่าย เพราว่าสารกำจัดวัชพืช paraquat dichloride เป็นสารกำจัดวัชพืชประเภทสัมผัสตายทำให้ใบอ้อยที่เป็นสีเขียวไหม้เท่านั้น ซึ่งในขณะที่พ่นสารมีความจำเป็นที่จะต้องใช้ตัวครอบหัวพ่นและกดหัวพ่นให้ต่ำ และให้สัมผัสกับต้นข้าวโพดน้อยที่สุด (Table 2)

<u>ประสิทธิภาพการกำจัดวัชพืช</u>

การประเมินประสิทธิภาพในการกำจัดวัชพืชที่ระยะ 7, 15 และ 30 วันหลังพ่นสาร พบว่า การพ่นสารกำจัดวัชพืช glufosinate ammnonium 15% SL และ การพ่นสาร diquat dibromide 37.3% SL ที่ระยะ 3, 4 สัปดาห์หลังปลูก มีประสิทธิภาพในการกำจัดวัชพืชประเภทใบแคบ และประเภทใบกว้างได้ดี และลดลงเล็กน้อยในระยะ 30 วันหลังพ่นสาร จะเห็นได้ว่าการพ่นสารกำจัดวัชพืชที่ 3 และ 4 สัปดาห์หลังปลูก จะมีประสิทธิภาพในการกำจัดวัชพืชได้ดี เนื่องจากช่วงเวลาดังกล่าววัชพืชที่งอกขึ้นมามีขนาดเล็กมีความสูงไม่เกิน 30 เซนติเมตร ทำให้สารกำจัดวัชพืชมีประสิทธิภาพดีกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับการพ่นสารในช่วงเวลา สัปดาห์หลังปลูก วัชพืชมีขนาดต้นที่ใหญ่ขึ้นละอองสารกำจัดวัชพืชไม่สามารถตกกระทบถึงส่วนต่าง ๆ ของพืชได้ ทำให้วัชพืชสามารถฟื้นตัวได้รวดเร็ว (Table2)

<u>จำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืช</u>

การสุ่มเก็บตัวอย่างจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืชที่ระยะ 60 วันหลังปลูก พบวัชพืชประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้าตีนกา หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนนก หญ้าปากควาย ผักเบี้ยหิน หญ้ายาง และ ลูกใต้ใบ การพ่นสารกำจัดวัชพืช glufosinate ammnonium 15% SL และ การพ่นสาร diquat dibromide 37.3% SL ที่ระยะ 3 และ 4 สัปดาห์หลังปลูก มีจำนวนต้นวัชพืชน้อยกว่าการพ่นสารกำจัดวัชพืช glufosinate ammnonium 15% SL และ การพ่นสาร diquat dibromide 37.3% SL ที่ระยะ 5 สัปดาห์หลังปลูก เนื่องจากช่วงเวลาการพ่นสาร ที่ระยะ 5 สัปดาห์หลังปลูก วัชพืชมีขนาดต้นที่สูงและใหญ่กว่าทำให้ประสิทธิภาพของสารกำจัดวัชพืชลดลง มีผลทำให้วัชพืชฟื้นตัวสามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติ และเมื่อนำไปหาน้ำหนักแห้งวัชพืชทำให้มีน้ำหนักแห้งวัชพืชมากกว่าการพ่นสารกำจัดวัชพืช glufosinate ammnonium 15% SL และ การพ่นสาร diquat dibromide 37.3% SL ที่ระยะ 3 และ 4 สัปดาห์หลังปลูก (Table 3 - 4)

การเจริญเติบโตและผลผลิตข้าวโพดหวาน

เมื่อสุ่มวัดความสูงต้นข้าวโพด ที่ระยะ 30 วันหลังพ่นสาร และก่อนเก็บเกี่ยว พบว่าที่ระยะ 30 วันหลังพ่นสาร และความสูงต้นก่อนเก็บเกี่ยวข้าวโพด ทุกกรรมวิธีการกำจัดวัชพืชมีความสูงไม่แตกต่างกันโดยมีความสูงเฉลี่ยของข้าวโพด 89.30-95.10 และ 168.83-171.98 เซนติเมตร แต่มีความสูงมากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช (Table 5)

น้ำหนักฝักสด10 ฝัก พบว่า ทุกกรรมวิธีการกำจัดวัชพืชมีน้ำหนักฝักสดไม่แตกต่างกันทั้งน้ำหนักฝักทั้งเปลือก และปอกเปลือก แต่การพ่นสารกำจัดวัชพืช glufosinate ammnonium 15% SL และ การพ่นสาร diquat dibromide 37.3% SL ที่ 3 และ 4 สัปดาห์หลังปลูก มีน้ำหนักฝักทั้งเปลือก และปอกเปลือก ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีกำจัดวัชพืชด้วยมือ แต่มากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช (Table 5)

ผลผลิตข้าวโพดหวาน พบว่า การพ่นสารกำจัดวัชพืช glufosinate ammnonium 15% SL ที่ระยะ 4 สัปดาห์หลังปลูก และ การพ่นสาร diquat dibromide 37.3% SL ที่ระยะ 3 และ 4 สัปดาห์หลังปลูก มีผลผลิตทั้งเปลือกไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการพ่นสารกำจัดวัชพืช glufosinate ammnonium 15% SL ที่ระยะ 3 สัปดาห์หลังปลูก และการพ่นสาร diquat dibromide 37.3% SL ที่ระยะ 5 สัปดาห์หลังปลูก มากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับพบว่า การพ่นสารกำจัดวัชพืช glufosinate ammnonium 15% SL ที่ระยะ 5 สัปดาห์หลังปลูก และกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช ส่วนผลผลิตข้าวโพดปอกเปลือก พบว่า การพ่นสาร diquat dibromide 37.3% SL ที่ระยะ 4 สัปดาห์หลังปลูก และกรรมวิธีกำจัดวัชพืชด้วยมือ มีผลผลิตมากกว่าการพ่นสารกำจัดวัชพืช glufosinate ammnonium 15% SL และ การพ่นสาร diquat dibromide 37.3% SL ที่ 5 สัปดาห์หลังปลูก ที่มีผลผลิตข้าวโพดน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับการพ่นสารกำจัดวัชพืชอื่น ๆ (Table5) เนื่องจากจำนวน และปริมาณวัชพืชมีมาก วัชพืชมีการเจริญเติบโตแข่งขันกันกับการเจริญเติบโตของข้าวโพดหวาน อีกทั้งช่วงเวลาการพ่นสารดังกล่าวอยู่ในช่วงข้าวโพดกำลังออกดอกซึ่งส่งผลกระทบต่อผลผลิตข้าวโพดหวาน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การพ่นสาร glufosinate ammnonium 15% SL และ การพ่นสาร diquat dibromide 37.3% SL อัตรา 105 และ 261.1 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ตามลำดับ พ่นที่ระยะ 3 และ 4 สัปดาห์หลังปลูก เป็นพิษต่อข้าวโพดเล็กน้อย ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต และมีประสิทธิภาพในการกำจัดวัชพืชประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้าตีนกา หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนนก และหญ้าปากควาย และวัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ ผักเบี้ยหิน หญ้ายาง และ ลูกใต้ใบ ได้ดี อีกทั้งยังไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต และผลผลิตของข้าวโพดหวาน ซึ่งจะนำกรรมวิธีดังกล่าวไปทดสอบในขั้นตอนต่อไปในปี 2566

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มวิจัยวัชพืช. 2554. *คำแนะนำการป้องกันกำจัดวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืช*. กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 194 หน้า.

อรรถสิทธิ์ บุญธรรม ธงชัย ตั้งเปรมศรี และเฉลิมพล ไหลรุ่งเรือง. 2546. *ผลของการใช่สารกำจัดวัชพืชหลังอ้อยงอกชนิดต่างๆ ในอ้อยพันธุ์ Phill 66-07*. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2543 “อ้อย”. ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี สถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

Richards, P.V.M. and P.E.L. Thomas. 1970. An approach to the control of *Rottboellia exaltata* L.f. in maize. *Proceeding British Weed Control Conference*. 10: 689-696.

Table 1 Dominant weed species on untreated treatment of the efficacy trials at 30 days after application, at AmphoeTakfa, Nakhonsawan, 2022

Dominant weed species	number of weeds/1 m^2	%
- *Eleusine indica* (L.) Gaertn.	13.0	8.1
- *Echinochloa colona* (L.) Link.	35.0	21.7
- *Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.	25.0	15.5
- *Dactyloctenium aegyptium* (L.) P. Beauv	14.0	8.7
- *Trianthema portulacustrum* L.	23.5	14.6
- *Euphorbia heterophylla* L.)	38.5	23.9
- *Phyllanthus amarus* Schum & Thonn.	12.0	7.5
total	161	100

Table 2 Phytotoxicity of herbicides and effect of herbicide for overall weed control at 7, 15 and 30 days after application in sweet corn at AmphoeTakfa, Nakhonsawan, 2022

Treatment	Rate (g ai/rai)	Phytotoxicity of herbicides [1/]			Visual weed control[2/]		
		7 DDA [3/]	15 DAA	30 DAA	7 DDA [3/]	15 DAA	30 DAA
glufosinate ammnonium 15% SL (3 WAP[2/])	105	3	4	5	7	9	8
glufosinate ammnonium 15% SL (4 WAP)	105	3	2	1	7	9	8
glufosinate ammnonium 15% SL (5 WAP)	105	2	2	1	7	6	5
diquat dibromide 37.3% SL (3 WAP)	261.1	4	3	2	9	9	8
diquat dibromide 37.3% SL (4 WAP)	261.1	2	1	1	9	8	8
diquat dibromide 37.3% SL (5 WAP)	261.1	2	1	1	7	6	5
hand Weeding	-	0	0	0	10	10	10
control	-	0	0	0	0	0	0

[1/]Phytotoxicity 0 = normal 1 – 3 = slightly toxic 4– 6 = moderately toxic 7– 9 = severely toxic 10 = completely killed

[2/] Weed control 0 = no control 1 – 3 = slightly control 4 – 6 = moderately control7 – 9 = good control 10 = completely

[3/]DAA= days after application

Table 3 Number of weed at 30 days after application herbicide tank-mix on sweet corn at AmphoeTakfa, Nakhonsawan, 2022

Treatment	Rate (g ai/rai)	Number of weed/ m^2						
		ELEIN	ECHCO	DIGSA	DACAE	TRIPO	EUPHE	PHYAM
glufosinate ammnonium 15% SL (3 WAP[2/])	105	9.5 a[1/]	11.5 a	8.7 a	4.5 a	17.0 b	17.5 b	9.5 a
glufosinate ammnonium 15% SL (4 WAP)	105	8.0 a	13.5 a	11.2 a	9.2 a	2.5 a	10.0 a	8.0 a
glufosinate ammnonium 15% SL (5 WAP)	105	13.0 ab	17.0 b	16.8 b	24.0 b	14.0 b	32.0 bc	16.7 b
diquat dibromide 37.3% SL (3 WAP)	261.1	5.0 a	8.0 a	8.0 a	6.7 a	3.5 a	5.5 a	7.5 a
diquat dibromide 37.3% SL (4 WAP)	261.1	7.0 a	6.0 a	15.8 a	8.0 a	2.0 a	9.5 a	11.0 ab
diquat dibromide 37.3% SL (5 WAP)	261.1	14.5 b	25.8 bc	24.0 bc	18.5 b	33.5 bc	22.5 b	21.2 bc
hand Weeding	-	0.0 a	0.0 a	0.0 a	0.0 a	0.0 a	0.0 a	0.0 a
control	-	19.0 c	37.0 c	35.5 c	45.0 c	52.5 c	46.0 c	32.0 c
C.V. (%)		54.8	56.9	38.5	44.7	56.1	55.5	43.1

[1/] Means followed by the same letter in column are not significantly different at 5% level by DMRT

ELEIN = *Eleusine indica* (L.) Gaertn.

ECHCO = *Echinochloa colona* (L.) Link.)

EIGSA = *Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.)

DACAE = *Dactyloctenium aegyptium* (L.) P. Beauv.

TRIPO = *Trianthema portulacustrum* L.)

EUPHE = *Euphorbia heterophylla* L.)

PHYAM = *Phyllanthus amarus* Schum & Thonn.

[2/] WAP: Weeks After Planting**Table 4** Dry weight of weed at 30 days after application herbicide tank-mix on sweet corn at Amphoe Takfa, Nakhonsawan, 2022

Treatment	Rate (g ai/rai)	Dry weight of weed d (g/m^2)						
		ELEIN[1/]	ECHCO	DIGSA	DACAE	TRIPO	EUPHE	PHYAM
glufosinate ammnonium 15% SL (3 WAP[2/])	105	6.5 a	10.5 a	7.7 a	5.5 a	2.7 a	3.8 a	4.3 a
glufosinate ammnonium 15% SL (4 WAP)	105	8.3 a	8.8 a	10.2 a	11.8 a	8.5 ab	9.8 ab	6.5 a
glufosinate ammnonium 15% SL (5 WAP)	105	21.5 b	39.5 b	39.5 bc	49.1bc	17.8 b	41.5 c	29.5 b
diquat dibromide 37.3% SL (3 WAP)	261.1	2.8 a	2.6 a	6.0 a	7.7 a	8.9 ab	8.1 a	7.7 a
diquat dibromide 37.3% SL (4 WAP)	261.1	6.5 a	8.6 a	5.8 a	11.6 a	6.5 a	12.5 ab	11.0 a
diquat dibromide 37.3% SL (5 WAP)	261.1	19.5 b	40.2 b	29.5 b	35.5 b	21.5 b	24.1 b	41.7 bc
hand Weeding	-	0.0 a	0.0 a	0.0 a	0.0 a	0.0 a	0.0 a	0.0 a
control	-	42.6 c	77.4 c	59.5 c	69.8 c	75.5 c	60.7c	55.0 c
C.V. (%)		95.0	81.2	71.8	51.4	58.9	62.3	65.4

[1/] Means followed by the same letter in column are not significantly different at 5% level by DMRT

ELEIN = *Eleusine indica* (L.) Gaertn.

ECHCO = *Echinochloa colona* (L.) Link.)

EIGSA = *Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.)

DACAE = *Dactyloctenium aegyptium* (L.) P. Beauv.

TRIPO = *Trianthema portulacustrum* L.)

EUPHE = *Euphorbia heterophylla* L.)

PHYAM = *Phyllanthus amarus* Schum & Thonn.

[2/] WAP: Weeks After Planting

Table 5 Effect of herbicide for yield components of sweet corn at Amphoe Takfa, Nakhonsawan, 2022

Treatment	Rate (g ai/rai)	Plant height (cm.)		fresh weight (kg./10 pods)		Yield (kg/rai)	
		30 DDA	Pre harvest	With husk	Without husk	With husk	Without husk
glufosinate ammnonium 15% SL (3 WAP[2/])	105	85.3 ab	168.3 ab	4.1 a	2.1 ab	2,091 ab	1,525 ab
glufosinate ammnonium 15% SL (4 WAP)	105	90.8 a	169.6 ab	4.0 a	2.7 a	2,257 a	1,651 a
glufosinate ammnonium 15% SL (5 WAP)	105	86.5 ab	170.8 a	3.8 ab	2.2 ab	1,787 b	1,065 b
diquat dibromide 37.3% SL (3 WAP)	261.1	93.8 a	173.0 a	4.3 a	3.0 a	2,301 a	1,551 ab
diquat dibromide 37.3% SL (4 WAP)	261.1	94.3 a	174.0 a	4.3 a	2.9 a	2,586 a	1,603 a
diquat dibromide 37.3% SL (5 WAP)	261.1	85.0 ab	163.8 ab	3.8 ab	2.0 ab	2,000 ab	1,016 b
hand Weeding	-	93.0 a	170.5 a	5.0 a	3.1 a	2,679 a	1,791 a
control	-	80.5 b	152.3 b	3.5 b	1.4 b	1,287 c	611 c
C.V. (%)		7.9	6.5	6.9	7.4	12.5	13.0

[1/] Means followed by the same letter in column are not significantly different at 5% level by DMRT

[2/]WAP: weeks after planting

diquat dibromide 37.3% SL (3 WAP)

diquat dibromide 37.3% SL (4 WAP)

diquat dibromide 37.3% SL (5 WAP)

glufosinate ammnonium 15% SL (3 WAP)

glufosinate ammnonium 15% SL (4 WAP)

glufosinate ammnonium 15% SL (5 WAP)

Figure 1 Phytotoxicity of pre-emergence herbicide at 15 days after

ผลของน้ำบาดาลและน้ำผิวดินต่อประสิทธิภาพการกำจัดวัชพืชในพื้นที่ปลูกข้าวโพดหวาน

Effect of groundwater and surface water on herbicide efficiency in sweet corn

อมฤต ศิริอุดม[1/] ยุรวรรณ อนันตนมณี[1/] ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย[2/]

[1/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้หลังปลูก (post-emergence herbicides) ในข้าวโพดหวาน ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนธันวาคม 2565 ถึงกุมภาพันธ์ 2566 ในแปลงข้าวโพดหวานของเกษตรกร อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 10 กรรมวิธี เพื่อทดสอบผลของคุณภาพน้ำที่แตกต่างกันต่อประสิทธิภาพของสารกำจัดวัช พบว่า การใช้สารกำจัดวัชพืชทุกกรรมวิธีในการทดลองไม่มีความเป็นพิษต่อข้าวโพด การเจริญเติบโตและผลผลิตไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช ที่ระยะ 7 และ 14 วันหลังพ่นสาร ทุกกรรมวิธีที่มีการใช้สารกำจัดวัชพืชมีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชได้เพียงเล็กน้อย (คะแนนประเมิน 1-3 คะแนน) ส่วนที่ระยะ 30 และ 45 วันหลังพ่นสาร ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชไม่แตกต่างจากการไม่พ่นสารกำจัดวัชพืช จำนวนวัชพืชต่อตารางเมตร พบว่า การใช้สารกำจัดวัชพืช topramezone 33.6% SC อัตรา 5.04 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ และ atrazine 90 % WG อัตรา 414 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ผสมน้ำบาดาลหรือน้ำผิวดินในการฉีดพ่นกำจัดวัชพืช จำนวนต้นหญ้าดอกขาวต่อตารางเมตรมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีไม่กำจัดวัชพืช ส่วน nicosulfuron 6% OD อัตรา 12 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ผสมกับน้ำบาดาลส่งผลให้จำนวนต้นหญ้าดอกขาวมีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช และการใช้สาร tembotrione 42% SC อัตรา 61.8 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ผสมกับน้ำผิวดินฉีดพ่น จำนวนต้นหญ้าดอกขาวมีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช น้ำหนักแห้งวัชพืชต่อตารางเมตร พบว่า การใช้สารกำจัดวัชพืชทุกกรรมวิธีทำให้น้ำหนักแห้งหญ้าดอกขาวมีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช

คำหลัก : ข้าวโพดหวาน สารกำจัดวัชพืช น้ำบาดาล น้ำผิวดิน

รหัสงานทดลอง FF65-45-04-65-01-11-65

คำนำ

น้ำเป็นตัวกลางหรือตัวทำละลายที่สำคัญในการใช้สารกำจัดวัชพืช สารบางชนิดที่ละลายอยู่ในน้ำอาจมีผลต่อประสิทธิภาพของสารกำจัดวัชพืชได้ โดยปกติน้ำที่เกษตรกรใช้ในการพ่นสารกำจัดวัชพืชเป็นน้ำที่สามารถหาได้สะดวกในพื้นที่นั้นๆ เช่น น้ำบ่อ น้ำบาดาล หรือน้ำในท้องร่อง คู คลองต่างๆ น้ำจากแหล่งเหล่านี้มักมีสิ่งเจือปนมากโดยเฉพาะตะกอนของอนุภาคดินเหนียว ซึ่งจะเห็นน้ำมีสีขุ่น หรือน้ำบางแหล่งมีเกลือแร่ต่างๆ ละลายอยู่มาก เช่น $CaCO_3$, NaCl เป็นต้น โดยเฉพาะน้ำใต้ดิน สิ่งเจือปนเหล่านี้อาจจับกับโมเลกุลของสารกำจัดวัชพืชแล้วทำให้เกิดการตกตะกอนหรือทำให้คุณสมบัติของสารกำจัดวัชพืชเปลี่ยนแปลงไปอาจทำให้ประสิทธิภาพของสารกำจัดวัชพืชลดลงได้ นอกจากคุณสมบัติของน้ำแล้ว คุณสมบัติของตัวสารกำจัดวัชพืชเองก็เป็นอีกองค์ประกอบส่วนหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับการลดลงของประสิทธิภาพในการควบคุมกำจัดวัชพืช โดยเฉพาะสารกำจัดวัชพืชที่มีการแตกตัวเป็นประจุบวกเมื่อละลายน้ำ เมื่อสารกลุ่มนี้ลงไปในดินจะยึดติดกับอนุภาคดินอย่างหนาแน่น เนื่องจากประจุบวกในโมเลกุลของสารจะจับกับประจุลบของอนุภาคดินเหนียวได้ดี เมื่อใช้สารกำจัดวัชพืชเหล่านี้โดยผสมกับน้ำที่มีอนุภาคดินเหนียวหรือมีเกลือต่างๆ ละลายอยู่ก็จะทำให้ประสิทธิภาพของสารกำจัดวัชพืชลดลงอย่างมาก

จากที่ได้กล่าวมาทั้งหมดข้างต้นชี้ให้เห็นว่าลักษณะของดินที่แตกต่างกันในแต่ละพื้นที่และคุณภาพของน้ำที่นำมาใช้ในการพ่นสารกำจัดวัชพืชนั้นอาจมีผลต่อประสิทธิภาพของสารกำจัดวัชพืชที่ใช้ในการผลิตข้าวโพดหวาน การใช้สารกำจัดวัชพืชในพื้นที่หนึ่งอาจมีประสิทธิภาพที่ดี แต่การนำไปใช้ในอีกพื้นที่หนึ่งที่ลักษณะดินแตกต่างกันออกไป สารกำจัดวัชพืชนั้นๆ อาจมีประสิทธิภาพลดลงก็เป็นได้ ดังนั้นจึงควรมีการทดลองเกี่ยวกับคุณภาพของน้ำต่อประสิทธิภาพของสารกำจัดวัชพืช เพื่อเป็นข้อมูลคำแนะนำในการใช้สารกำจัดวัชพืชให้มีประสิทธิภาพแก่เกษตรกรและผู้ที่เกี่ยวข้องต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สารกำจัดวัชพืช topramezone 33.6% SC, nicosulfuron 6% OD, tembotrione 42% SC และ atrazine 90 % WG
2. ถังพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง (knapsack sprayer) หัวพ่นแบบรูปพัด (fan nozzle)
3. สว่านเจาะเก็บตัวอย่างดิน
4. กระบอกบรรจุเก็บตัวอย่างน้ำ

วิธีการ

ขั้นตอนการปฏิบัติงาน

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาผลของน้ำในแหล่งปลูกจังหวัดกาญจนบุรีต่อประสิทธิภาพของสารกำจัดวัชพืชในข้าวโพดหวาน

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block จำนวน 4 ซ้ำ 10 กรรมวิธี

1. พ่นสาร topramezone 33.6% SC อัตรา 5.04 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ผสมน้ำบาดาล
2. พ่นสาร nicosulfuron 6% OD อัตรา 12 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ผสมน้ำบาดาล
3. พ่นสาร tembotrione 42% SC อัตรา 61.8 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ผสมน้ำบาดาล
4. พ่นสาร atrazine 90 % WG อัตรา 414 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ผสมน้ำบาดาล
5. พ่นสาร topramezone 33.6% SC อัตรา 5.04 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ผสมน้ำผิวดิน
6. พ่นสาร nicosulfuron 6% OD อัตรา 12 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ผสมน้ำผิวดิน
7. พ่นสาร tembotrione 42% SC อัตรา 61.8 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ผสมน้ำผิวดิน
8. พ่นสาร atrazine 90 % WG อัตรา 414 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ผสมน้ำผิวดิน
9. กำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน
10. ไม่กำจัดวัชพืช (กรรมวิธีควบคุม)

โดยเลือกพื้นที่ทำการทดลองที่เป็นชุดดินท่าม่วง ก่อนดำเนินการทดลอง ทำการเก็บตัวอย่างดินเพื่อนำไปทำการวิเคราะห์ โดยใช้เครื่องเจาะ จอบ หรือเสียม ความลึกของดินประมาณ 15 เซนติเมตร โดยเจาะเก็บดินในพื้นที่ 10 จุดกระจายให้ทั่วแปลง น้ำหนักแต่ละจุดประมาณ 1 กิโลกรัม รวมตัวอย่างแต่ละจุดในถังพลาสติก คลุกเคล้าให้เข้ากันดี เพื่อจะได้เป็นตัวแทนของดินในพื้นที่นั้น ๆ แล้วเก็บตัวอย่างดิน 1 กิโลกรัมใส่ถุงพลาสติกมัดปากถุงให้แน่นก่อนส่งวิเคราะห์คุณสมบัติของดิน (Rahman, 1976) ได้แก่ ปริมาณอินทรียวัตถุ (%) ชนิดของเนื้อดิน ความสามารถในการแลกเปลี่ยนประจุ ความจุในการอุ้มน้ำของดิน ความหนาแน่นรวม และความเป็นกรดเป็นด่างของดิน โดยส่งตัวอย่างวิเคราะห์ที่กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

2. เก็บตัวอย่างน้ำเพื่อนำไปทำการวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำ ได้แก่ ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ความกระด้างของน้ำ ความขุ่นของน้ำ และความเค็มของน้ำ โดยใช้วิธีการเก็บตัวอย่างแบบผสมรวม (composite sampling) ในช่วงเวลา 2 ชั่วโมง หรือทุก 3 ชั่วโมงในเวลา 1 วัน แล้วนำมารวมกัน เพื่อทราบค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของตัวอย่างน้ำในกรณีแหล่งน้ำนั้นมีคุณสมบัติเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา หรือเป็นการเก็บตัวอย่าง ณ เวลาเดียวกัน แต่หลายจุด และนำมาผสมกัน ซึ่งจะใช้ในกรณีของแม่น้ำหรือแหล่งน้ำที่มีความแตกต่างกันในแนวหน้าตัด ทั้งตามความยาวและความลึกของแหล่งน้ำ โดยส่งตัวอย่างวิเคราะห์ที่กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

3. ทดสอบประสิทธิภาพของสารกำจัดวัชพืชในข้าวโพดหวาน จากแหล่งปลูกข้าวโพด จำนวน 2 แปลงเตรียมดินโดยไถดะด้วยผาล 3 จำนวน 1 ครั้ง ไถแปรด้วยผาล 7 จำนวน 1 ครั้ง และทำการไถพรวนเพื่อยกร่อง โดยมีขนาดความกว้างของร่องที่ใช้ปลูกข้าวโพด 1.2 เมตร ระยะห่างระหว่างร่อง 70 เซนติเมตร แบ่งแปลงย่อยขนาด 5x6 เมตร หยอดเมล็ดข้าวโพด 3 จำนวน 2 เมล็ดต่อหลุม ลงในแต่ละแปลงย่อย ระยะปลูกระหว่างแถว 0.75 เมตร ระหว่างต้น 0.25 เมตร หลังปลูกให้น้ำเพื่อดินมีความชื้น

พ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีที่หลังปลูกข้าวโพด หลังวัชพืชงอกมีจำนวนใบ 3- 5 ใบ โดยใช้เครื่องพ่นสารแบบโยกสะพายหลัง (knapsack sprayer) หัวพ่นรูปพัด ใช้อัตราน้ำ 80 ลิตรต่อไร่ การกำจัดวัชพืชแรงงาน ที่ระยะ 15, 30 และ 45 วันหลังปลูก ใส่ปุ๋ยตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร และหากมีการระบาดของโรคแมลงศัตรูพืช ให้ใช้คำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร ทำการประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืช โดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0 - 10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ 0 = ไม่เป็นพิษ และ 10 = พืชปลูกตาย บันทึกข้อมูล 3 ครั้ง ที่ระยะ 7, 15, 30 และ 45 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช

ทำการประเมินประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืช โดยการให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0 - 10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้ โดย 0 = ควบคุมวัชพืชไม่ได้, 1-3 = ควบคุมวัชพืชได้เล็กน้อย, 4-6 = ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง, 7-9 = ควบคุมวัชพืชได้ดี และ 10 = ควบคุมวัชพืชได้สมบูรณ์ โดยบันทึกข้อมูลประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืช จำนวน 3 ครั้ง ที่ระยะ 7 15, 30 และ 45 วันหลังใช้สารกำจัดวัชพืช

จากนั้นทำการนับจำนวนต้นวัชพืช และชั่งน้ำหนักแห้งวัชพืชจำแนกเป็นชนิด ที่ระยะ 30 วันหลังพ่นสารและนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. คะแนนประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช และความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืช
2. ชนิดวัชพืชและน้ำหนักแห้งของวัชพืช
3. ความสูงต้น
4. ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตของข้าวโพดหวาน

เวลาและสถานที่

เดือนตุลาคม 2564 - กันยายน 2567

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร แปลงเกษตรกร จังหวัดนครราชสีมา หรือจังหวัดกาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อข้าวโพด

การใช้สารกำจัดวัชพืชทุกกรรมวิธีในการทดลองไม่มีความเป็นพิษต่อข้าวโพดในทุกระยะการประเมิน (table 1)

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช

ระยะ 7 และ 14 วันหลังพ่นสาร ทุกกรรมวิธีที่มีการใช้สารกำจัดวัชพืชมีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชได้เพียงเล็กน้อย (คะแนนประเมิน 1-3 คะแนน) ส่วนที่ระยะ 30 และ 45 วันหลังพ่นสารประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชไม่แตกต่างจากการไม่พ่นสารกำจัดวัชพืช (table 2)

จำนวนต้นวัชพืช

วัชพืชหลักที่พบในแปลงทดลองคือหญ้าดอกขาว โดยมีสัดส่วนมากถึง 69.5 เปอร์เซ็นต์ ส่วนวัชพืชชนิดอื่นที่พบ ได้แก่ หญ้านกสีชมพู ผักเบี้ยหิน หญ้าตีนกา หญ้าหางนกยูงใหญ่ และผักเบี้ยใหญ่ (7.0, 6.7, 5.9, 5.7 และ 5.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างวัชพืชที่ระยะ 30 วันหลังพ่นสาร

หญ้าดอกขาว พบว่า การใช้สารกำจัดวัชพืช topramezone 33.6% SC อัตรา 5.04 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ และ atrazine 90 % WG อัตรา 414 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ผสมน้ำบาดาลหรือน้ำผิวดินในการฉีดพ่นกำจัดวัชพืช จำนวนต้นหญ้าดอกขาวต่อตารางเมตรมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีไม่กำจัดวัชพืช ส่วน nicosulfuron 6% OD อัตรา 12 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ เมื่อใช้ผสมกับน้ำบาดาลจึงจะส่งผลให้จำนวนต้นหญ้าดอกขาวมีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช และการใช้สาร tembotrione 42% SC อัตรา 61.8 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ เมื่อใช้ผสมกับน้ำผิวดินฉีดพ่นจะทำให้จำนวนต้นหญ้าดอกขาวมีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช (table 3)

หญ้านกสีชมพู พบว่า ทุกกรรมวิธีที่มีการใช้สารกำจัดวัชพืชไม่ว่าจะผสมน้ำบาดาลหรือน้ำผิวดิน จำนวนต้นหญ้านกสีชมพูมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช (table 3)

ผักเบี้ยหิน พบว่า ทุกกรรมวิธีการใช้สารกำจัดวัชพืชผสมน้ำบาดาล จำนวนต้นผักเบี้ยหินมีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช (table 3)

หญ้าตีนกา พบว่า ทุกกรรมวิธีในการทดลองนี้ จำนวนต้นหญ้าตีนกามีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช (table 3)

หญ้าหางนกยูงใหญ่ พบว่า ทุกกรรมวิธีในการทดลองนี้ จำนวนต้นหญ้าตีนกามีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช (table 3)

ผักเบี้ยใหญ่ พบว่า ทุกกรรมวิธีการใช้สารกำจัดวัชพืชผสมน้ำบาดาล จำนวนต้นผักเบี้ยใหญ่มีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช (table 3)

น้ำหนักแห้งวัชพืช

หญ้าดอกขาว พบว่า การใช้สารกำจัดวัชพืชทุกกรรมวิธีทำให้น้ำหนักแห้งหญ้าดอกขาวมีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช การใช้สาร nicosulfuron 6% OD ผสมน้ำบาดาลหรือน้ำผิวดิน น้ำหนักแห้งหญ้าดอกขาวไม่แตกต่างจากกรรมวิธีกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน (table 4)

หญ้านกสีชมพู พบว่า ทุกกรรมวิธีในการทดลองนี้ น้ำหนักแห้งหญ้านกสีชมพูมีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช (table 4)

ผักเบี้ยหิน พบว่า ทุกกรรมวิธีการใช้สารกำจัดวัชพืชผสมน้ำบาดาล น้ำหนักแห้งผักเบี้ยหินมีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช (table 4)

หญ้าตีนกา พบว่า การใช้สาร topramezone 33.6% SC ผสมน้ำบาดาลหรือน้ำผิวดิน และ atrazine 90 % WG ผสมน้ำผิวดิน น้ำหนักแห้งหญ้าตีนกามีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช (table 4)

หญ้าหางนกยูงใหญ่ พบว่า ทุกกรรมวิธีการใช้สารกำจัดวัชพืชผสมน้ำบาดาล น้ำหนักแห้งหญ้าหางนกยูงใหญ่มีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช (table 4)

ผักเบี้ยใหญ่ พบว่า การใช้สาร สาร tembotrione 42% SC สาร tembotrione 42% SC ผสมน้ำบาดาล และ สาร tembotrione 42% SC ผสมน้ำผิวดิน น้ำหนักแห้งผักเบี้ยใหญ่มีความไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช (table 4)

การเจริญเติบโตของข้าวโพด

วัดความสูงของต้นข้าวโพดที่ระยะเก็บเกี่ยว พบว่า ทุกกรรมวิธีในการทดลองความสูงของต้นข้าวโพดไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (table 5)

ผลผลิต

น้ำหนักฝักสดทั้งเปลือก พบว่า การใช้สาร nicosulfuron 6% OD อัตรา 12 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ผสมน้ำบาดาลทำให้น้ำหนักฝักทั้งเปลือกข้าวโพดมีความแตกต่างจากกรรมวิธีไม่พ่นสารกำจัดวัช

น้ำหนักฝักสดปอกเปลือก และความยาวฝัก พบว่า ทุกกรรมวิธีในการทดลองไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (table 6)

ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติของดินและน้ำในแปลงทดลอง

ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติน้ำและดินยังอยู่ระหว่างดำเนินการ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การใช้สารกำจัดวัชพืชทุกกรรมวิธีในการทดลองไม่มีความเป็นพิษต่อข้าวโพด การเจริญเติบโตและผลผลิตไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช ที่ระยะ 7 และ 14 วันหลังพ่นสารทุกกรรมวิธีที่มีการใช้สารกำจัดวัชพืชมีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชได้เพียงเล็กน้อย ส่วนที่ระยะ 30 และ 45 วันหลังพ่นสาร ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชไม่แตกต่างจากการไม่พ่นสารกำจัดวัชพืช การใช้สารกำจัดวัชพืช topramezone 33.6% SC อัตรา 5.04 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ และ atrazine 90 % WG อัตรา 414 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ผสมน้ำบาดาลหรือน้ำผิวดินในการฉีดพ่นกำจัดวัชพืช จำนวนต้นหญ้าดอกขาวต่อตารางเมตรมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีไม่กำจัดวัชพืช ส่วน nicosulfuron 6% OD อัตรา 12 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ผสมกับน้ำบาดาลส่งผลให้จำนวนต้นหญ้าดอกขาวมีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช และการใช้สาร tembotrione 42% SC อัตรา 61.8 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ผสมกับน้ำผิวดินฉีดพ่น จำนวนต้นหญ้าดอกขาวมีความแตกต่างทาง

สถิติกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช น้ำหนักแห้งวัชพืชต่อตารางเมตร พบว่า การใช้สารกำจัดวัชพืชทุกกรรมวิธีทำให้น้ำหนักแห้งหญ้าดอกขาวมีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช

ในการทดลองครั้งนี้ผู้วิจัยได้ทำการพ่นสารกำจัดวัชพืชทุกกรรมวิธีในช่วงระยะเวลาเดียวกัน คือ ที่ 20 วันหลังปลูกข้าวโพด ซึ่งวัชพืชในแปลงปลูกมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วกว่าที่คาดการณ์ไว้ กล่าวคือ ภายในระยะเวลา 20 วันหลังปลูกข้าวโพด วัชพืชในแปลงมีจำนวนใบมากกว่า 3-5 ใบ จึงทำให้การควบคุมวัชพืชในการทดลองครั้งนี้อยู่ในเกณฑ์ที่ไม่ดี

เอกสารอ้างอิง

เฉลิมชัย วงศ์วัฒนะ. 2540. ปฏิบัติการ วัชพืชและการป้องกันกำจัด. เอกสารประกอบการสอน ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒประสานมิตร.

รณยุทธ์ สัตยานิคม. 2534. อิทธิพลของคุณสมบัติดิน ต่อการดูดยึด การปลดปล่อย การเคลื่อนย้าย และประสิทธิภาพของสารกำจัดวัชพืชกลุ่ม s-Triazine. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย. กรุงเทพฯ. 92 หน้า

รังสิต สุวรรณเขตนิคม. 2547. สารป้องกันกำจัดวัชพืช : พื้นฐานและวิธีใช้. กรุงเทพฯ. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 467 หน้า.

สดใส ช่างสลัก รังสิต สุวรรณเขตนิคม และ สมชัย ลิ่มอรุณ. 2550. ประสิทธิภาพของ isoxaflutole ควบคุมวัชพืชในข้าวโพดหวาน. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: http://kucon.lib.ku.ac.th/Fulltext/KC4301089.pdf.

Table 1 Phytotoxicity of herbicides at 7, 15, 30 and 45 day after planting

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	7 DAA	15 DAA	30 DAA	45 DAA
1	topramezone 33.6% SC+groundwater	5.18	0	0	0	0
2	nicosulfuron 6% OD+groundwater	12	0	0	0	0
3	tembotrione 42% SC+groundwater	61.8	0	0	0	0
4	atrazine 90 % WG+groundwater	414	0	0	0	0
5	topramezone 33.6% SC+surface water	5.18	0	0	0	0
6	nicosulfuron 6% OD+surface water	12	0	0	0	0
7	tembotrione 42% SC+surface water	61.8	0	0	0	0
8	atrazine 90 % WG+surface water	414	0	0	0	0
9	Hand weeding	-	0	0	0	0
10	control	-	0	0	0	0

Phytotoxic 0 = normal, 1-3 = slightly toxic, 4-6 = moderately toxic, 7-9 = severely toxic, 10 = completely kill

DAA = day after planting

Table 2 Efficacy of herbicides on 3-5 leaf stage of weeds overall

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	7 DAA	15 DAA	30 DAA	45 DAA
1	topramezone 33.6% SC+groundwater	5.18	3	2	0	0
2	nicosulfuron 6% OD+groundwater	12	4	3	0	0
3	tembotrione 42% SC+groundwater	61.8	1	0	0	0
4	atrazine 90 % WG+groundwater	414	1	0	0	0
5	topramezone 33.6% SC+surface water	5.18	3	2	0	0
6	nicosulfuron 6% OD+surface water	12	4	2	0	0
7	tembotrione 42% SC+surface water	61.8	1	0	0	0
8	atrazine 90 % WG+surface water	414	0	0	0	0
9	Hand weeding	-	10	10	10	10
10	control	-	0	0	0	0

Efficacy 0 = no control, 1-3 = slightly control, 4-6 =moderately control, 7-9 = good control, 10 = completely control

Table 3 Effect of post-emergence herbicide on weed number in sweet corn at 30 days after application

Treatment	Rate g ai/rai	*Leptochloa chinensis* (L.) Nees	*Echinochloa colonum* (L.) Link	*Trianthema portulacastrum* L.	*Eleusine indica* (L.) Gaertn	*Acrachne racemosa* (Roemer & J. A. Schultes) Ohwi	*Portulaca oleraceae* L.
1. topramezone 33.6% SC + ground water	5.04	248 b	10 a	7 a	8 a	14 b	6 a
2. nicosulfuron 6% OD + ground water	12	257 b	7 a	8 a	10 a	11 ab	5 a
3. tembotrione 42% SC + ground water	61.8	297 bc	6 a	12 a	12 a	11 ab	8 a
4. atrazine 90 % WG + ground water	414	239 b	6 a	13 a	13 a	8 ab	9 a
5. topramezone 33.6% SC + surface water	5.04	201 b	8 a	19 ab	9 a	8 ab	14 ab
6. nicosulfuron 6% OD + surface water	12	324 bc	10 a	19 ab	14 a	10 ab	10 ab
7. tembotrione 42% SC + surface water	61.8	194 b	9 a	18 ab	12 a	7 ab	7 ab
8. atrazine 90 % WG + surface water	414	248 b	8 a	18 ab	9 a	14 b	8 ab
9. hand weeding	5.04	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a
10. Untreated	-	429 c	43 b	42 b	37 b	35 c	32 b

[1/] Number followed by the same letter or no letter in a column are not significantly different at the 0.05 according to Duncan's test.

ns = not significantly different at the 0.05 according to Duncan's test.

Table 4 Effect of post-emergence herbicide on weed dry matter in sweet corn at 30 days after application

Treatment	Rate g ai/rai	*Leptochloa chinensis* (L.) Nees	*Echinochloa colonum* (L.) Link	*Trianthema portulacastrum* L.	*Eleusine indica* (L.) Gaertn	*Acrachne racemosa* (Roemer & J. A. Schultes) Ohwi	*Portulaca oleraceae* L.
1. topramezone 33.6% SC + ground water	5.04	78.35 ab	4.25 a	7.0 a	7.0 a	20.25 a	7.1 a
2. nicosulfuron 6% OD + ground water	12	144.5 bc	4.8 a	8.0 a	11.6 ab	14.70 a	8.2 a
3. tembotrione 42% SC + ground water	61.8	229.75 c	2.7 a	11.5 a	11.6 ab	14.90 a	21.9 ab
4. atrazine 90 % WG + ground water	414	180.6 c	3.5 a	13.0 a	11.3 ab	16.55 a	15.8 a
5. topramezone 33.6% SC + surface water	5.04	72.6 ab	5.4 a	18.5 ab	9.8 a	8.50 a	25.4 ab
6. nicosulfuron 6% OD + surface water	12	153.2 ab	5.9 a	18.5 ab	14.6 ab	14.25 a	8.9 a
7. tembotrione 42% SC + surface water	61.8	145.1 ab	6.9 a	17.5 ab	14.0 ab	11.60 a	7.1 a
8. atrazine 90 % WG + surface water	414	173.65 c	6.1 a	18.0 ab	8.8 a	19.35 a	9.1 a
9. hand weeding	5.04	0.0 a	0.0 a	0.0 a	0.0 a	0.00 a	0.0 a
10. Untreated	-	325.5 d	25.5 b	41.5 b	26.5 b	51.9 b	51.1 b

[1/] Number followed by the same letter or no letter in a column are not significantly different at the 0.05 according to Duncan's test.

ns = not significantly different at the 0.05 according to Duncan's test.

Table 5 Effect of post-emergence herbicide on growth, yield and yield component in sweet corn

Treatment	Herbicide	Rate (g ai/rai)	Hight (cm.)	Corn ears + husk (gram./ears)	Corn ears (gram./ears)	Corn ears length (cm.)
1	topramezone 33.6% SC+groundwater	5.18	175.3 a	0.50 ab	0.37 a	16.2 a
2	nicosulfuron 6% OD+groundwater	12	178.4 a	0.54 a	0.40 a	17.4 a
3	tembotrione 42% SC+groundwater	61.8	170.3 a	0.47 ab	0.37 a	16.2 a
4	atrazine 90 % WG+groundwater	414	169.9 a	0.48 ab	0.36 a	16.2 a
5	topramezone 33.6% SC+surface water	5.18	170.1 a	0.42 ab	0.37 a	16.9 a
6	nicosulfuron 6% OD+surface water	12	165.8 a	0.48 ab	0.32 a	15.3 a
7	tembotrione 42% SC+surface water	61.8	168.3 a	0.45 ab	0.33 a	14.8 a
8	atrazine 90 % WG+surface water	414	168.0 a	0.45 ab	0.34 a	15.6 a
9	Hand weeding	-	178.8 a	0.48 ab	0.36 a	16.9 a
10	control	-	169.4 a	0.40 b	0.30 a	14.5 a

[1/] Number followed by the same letter or no letter in a column are not significantly different at the 0.05 according to Duncan's test.

ns = not significantly different at the 0.05 according to Duncan's test.

การศึกษาชนิดของแมลงศัตรู อินทผลัม มันเทศ ลิลลี่ กล้วยไม้สกุลหวาย และสกุลฟาแลนนอปซิส เพื่อจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช

Study on Insect Pests in Date Palm, Sweet Potato, Lilly, *Dendrobium* and *Phalaenopsis*

เกศสุดา สนศิริ จารุวัตถ์ แต้กุล ยุวรินทร์ บุญทบ สุนัดดา เชาวลิต ชมัยพร บัวมาศ
อิทธิพล บรรณาการ อาทิตย์ รักกสิกร จอมสุรางค์ ดวงธิสาร
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

กล้วยไม้สกุลหวายและฟาแลนนอปซิส อินทผาลัม มันเทศ และลิลลี่ เป็นสินค้านำเข้าและส่งออกที่สำคัญของประเทศไทย หน้าที่หลักขององค์กรอารักขาพืชระดับประเทศตามอนุสัญญา IPPCคือ การรายงานสถานะของศัตรูพืชจากการสำรวจและตรวจสอบความถูกต้องเพื่อให้ได้เป็นข้อมูลมาตรฐานสากลสนับสนุนการค้าขายระหว่างประเทศในปัจจุบัน ซึ่งขณะนี้ข้อมูลด้านแมลงศัตรูของพืชดังกล่าวยังมีอยู่น้อยและไม่เป็นปัจจุบัน วัตถุประสงค์ของการศึกษาเพื่อจัดทำบัญชีรายชื่อแมลงศัตรูพืชที่ถูกต้องตามหลักวิทยาศาสตร์ และได้ตัวอย่างศัตรูพืชเก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์เพื่อเป็นหลักฐานทางวิชาการ โดยทำการสำรวจรวบรวมตัวอย่างแมลงศัตรูพืชทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยจากแหล่งปลูกที่สำคัญของประเทศไทย ระหว่างเดือน ตุลาคม 2564 ถึง กันยายน 2565 นำตัวอย่างมาตรวจวิเคราะห์ชนิดตามหลักอนุกรมวิธาน รวมทั้งตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้องและเป็นปัจจุบันของแมลงศัตรูพืชทั้งหมดที่พบ ในการศึกษาครั้งนี้พบแมลงศัตรูในอินทผลัม 2 อันดับ 5 วงศ์ 5 ชนิด ได้แก่ ด้วงงวงมะพร้าว *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier) ด้วงแรด *Oryctes rhinoceros* (Linnaeus) หนอนปลอกใหญ่ *Mahasena corbetti* Tams ด้วงแทะใบปาล์ม *Promecotheca cumingii* Baly และหนอนหัวดำมะพร้าว *Opisina arenosella* Walker สำหรับกล้วยไม้สกุลหวายและฟาแลนนอปซิส มันเทศ และลิลลี่ แมลงศัตรูที่สำรวจพบอยู่ในขั้นตอนการจัดรูปร่างและทำสไลด์ถาวรเพื่อทำการจัดจำแนก ทั้งนี้ได้บรรยายลักษณะทางสัณฐานวิทยา ชีววิทยาเบื้องต้น พืชอาหารและเขตการแพร่กระจาย ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้สามารถนำไปใช้ประกอบการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช (Pest Lists: PL) และการวิเคราะห์ความเสี่ยง (Pest Risk Analysis: PRA) สนับสนุนการนำเข้าและส่งออกของประเทศไทย

คำหลัก : พืชนำเข้า พืชส่งออก แมลงศัตรู Import Export Insect pest

---

รหัสการทดลอง FF65-55-01-65-00-01-65

คำนำ

การจัดตั้งองค์การการค้าโลก (World Trade Organization, WTO) ซึ่งทุกประเทศเห็นพ้องต้องกันในการลดกำแพงภาษีสำหรับสินค้าเกษตร เพื่อสนับสนุนให้เกิดการค้าเสรี เพื่อป้องกันมิให้มีการใช้มาตรการกีดกันไม่ใช้ภาษี (non tariff barrier, NTB) อันจะก่อให้เกิดปัญหาอุปสรรคต่อการค้าระหว่างประเทศ จึงมีความตกลงว่าด้วยการใช้บังคับมาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures, SPS Agreement) ประเทศสมาชิก WTO รวมทั้งประเทศไทยจะใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืชได้เท่าที่จำเป็นในการปกป้องสุขภาพของมนุษย์ สัตว์ และพืช ดังนั้นประเทศผู้นำเข้าจะต้องมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis) ของพืชนำเข้าและสามารถกำหนดการห้ามนำเข้า โดยมีเหตุผลสนับสนุนเพียงพอและพิสูจน์ได้ตามหลักวิทยาศาสตร์ (อรุณี, 2543) พืชเศรษฐกิจที่ประเทศไทยมีการค้าขายกับต่างประเทศ ได้แก่ กล้วยไม้ พืชนำเข้า ได้แก่ องุ่น อินทผาลัม มันเทศ และลิลลี่ มีแมลงเป็นศัตรูพืชสำคัญ บางชนิดเป็นศัตรูพืกักกันของประเทศนำเข้า ซึ่งต้องมีการเร่งรัดงานวิจัยและพัฒนา เพื่อแก้ปัญหาศัตรูพืชเหล่านั้น พร้อม ๆ ไปกับการวิจัย เพื่อรวบรวมชนิดศัตรูพืช อันเป็นการเตรียมความพร้อมด้านข้อมูลส่งให้ประเทศผู้นำเข้าเมื่อมีการร้องขอ ซึ่งจะช่วยให้เกิดความสะดวก และรวดเร็วในการเจรจาต่อรองทางการค้ากับประเทศคู่ค้าเดิม และเป็นการเพิ่มโอกาสในการเปิดตลาดการค้ากับประเทศผู้นำเข้ารายอื่นๆต่อไป นอกจากนี้ยังสามารถนำข้อมูลที่ได้มาใช้อ้างอิงในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของพืชนำเข้าจากต่างประเทศได้ ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยเพื่อจัดทำบัญชีรายชื่อแมลงศัตรูพืช ที่ถูกต้องตามหลักวิทยาศาสตร์ การศึกษาชนิดของแมลงศัตรูของพืชส่งออก ได้แก่ กล้วยไม้สกุลหวาย และสกุลฟาแลนอปซิส พืชนำเข้า ได้แก่ องุ่น อินทผาลัม มันเทศ และลิลลี่ สำหรับเป็นข้อมูลในการสนับสนุนการส่งออกและนำเข้าสินค้าเกษตร

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างแมลงศัตรูพืชชนิดต่างๆที่รวบรวมได้จากแปลงปลูกกล้วยไม้สกุลหวาย สกุลฟาแลนอปซิส องุ่น อินทผาลัม มันเทศ และลิลลี่

2. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างและจัดรูปร่างแมลง ได้แก่ ขวดดองตัวอย่างแมลง แอลกอฮอล์80 % หรือน้ำยา AGA ซองกระดาษสามเหลี่ยม พู่กัน สวิงจับแมลง กล่องพลาสติก ขวดฆ่าแมลง กล่องรักษาความเย็น ไม้จัดรูปร่างตัวอย่างแมลง เข็มไร้สนิม เข็มหมุด ตู้อบ และหีบไม้

3. อุปกรณ์และสารเคมีต่างๆที่ใช้ทำสไลด์ถาวร ได้แก่ สารเคมีต่างๆ เช่น NaOH 5%, KOH 10% (Carbol xylene), hydrochlorlic acid10 %, carbon-xylol, lactic acid, clove oil, และ canada balsum แผ่นสไลด์แก้ว แผ่นแก้วปิดสไลด์ เข็มเขี่ย ตู้อบสไลด์ถาวร และกล่องใส่สไลด์ถาวร

4. กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และชนิด compound microscope และเครื่อง GPS

5. เอกสารประกอบการจำแนกชนิดแมลงศัตรูพืช

วิธีการ

1) สืบค้นข้อมูล (2565 – 2566)

สืบค้นข้อมูลแมลงศัตรูของของกล้วยไม้สกุลหวาย และ ฟาแลนอปซิส องุ่น อินทผาลัม มันเทศ และลิลลี่ ที่มีรายงานในประเทศไทยจากเอกสารต่าง ๆ หรือจากข้อมูลอิเล็กทรอนิกส์

2) การสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่าง (2565 – 2567)

สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงศัตรูพืช จากแหล่งปลูกกล้วยไม้ องุ่น อินทผาลัม มันเทศ และ ลิลลี่ ที่มีแมลงศัตรูพืชเข้าทำลาย เช่น ใบ ผล ลำต้น และราก โดยเก็บตัวอย่างจากแหล่งปลูกพืชในจังหวัดต่าง ๆ ของประเทศไทย ทำการสำรวจและเก็บรวบรวมแมลงศัตรูพืช ทุกๆ 2 เดือน โดย ใช้สวิงโฉบ เคาะหรือเขย่ากิ่งต้นพืชให้แมลงตกลงมาบนอุปกรณ์ที่รองรับใช้พู่กันเขี่ยใส่ขวดบรรจุน้ำยาดอง แมลงที่มีขนาดลำตัวใหญ่ เช่น ด้วง มวน และตั๊กแตนเมื่อทำการโฉบหรือจับมาได้ฆ่าโดยใช้ killing jar ซึ่งบรรจุน้ำยา ethyl acetate หลังจากแมลงตาย ใช้ปากคีบ คีบตัวแมลงใส่ซองกระดาษห่อ หากตัวอย่างแมลงที่รวบรวมได้อยู่ในระยะหนอนตัวอ่อน ต้องนำไปเลี้ยงในห้องปฏิบัติการจนเป็นตัวเต็มวัย แมลงจำพวกปากดูดที่มีขนาดเล็ก จะเขี่ยใส่ขวดที่บรรจุน้ำยาดอง AGA หรือแอลกอฮอล์ 80% นำกลับมาทำสไลด์ถาวรที่ห้องปฏิบัติการ บันทึกข้อมูลเบื้องต้น เช่น พืชอาหาร สถานที่ วัน เดือน ปี พิกัดภูมิศาสตร์ GPS ซึ่งประกอบด้วยค่าละติจูด (Latitude) ค่าลองติจูด (Longitude) ระดับความสูงจากระดับน้ำทะเล (Altitude) และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง ทุกครั้งที่เก็บตัวอย่าง

กำหนดพื้นที่ ในการสำรวจ จากแหล่งปลูกพืชที่สำคัญ

กล้วยไม้ : กรุงเทพมหานคร นครปฐม นนทบุรี สมุทรสาคร ราชบุรี กาญจนบุรี ปทุมธานี และพระนครศรีอยุธยา

อินทผาลัม : สระบุรี นครราชสีมา จันทบุรี ราชบุรี กาญจนบุรี สุพรรณบุรี ชัยนาท ชัยภูมิ นครสวรรค์ เพชรบูรณ์ ยโสธร สกลนคร นครพนม บุรีรัมย์ หนองคาย และอุดรธานี

มันเทศ : นครปฐม ราชบุรี สุพรรณบุรี พระนครศรีอยุธยา เพชรบูรณ์ นครราชสีมา พิจิตร ลพบุรี เชียงราย พะเยา อุบลราชธานี เชียงใหม่ พิษณุโลก พิจิตร ขอนแก่น เลย สุรินทร์ ตราด ระยอง สระแก้ว เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ สุราษฎร์ธานี และสงขลา

ลิลลี่ : เชียงใหม่ เชียงราย นครราชสีมา เลย และตาก

วางแผนการสำรวจ อย่างมีระบบ สำรวจแบบเฉพาะเจาะจง โดยทำการสำรวจแบบตรวจหากำหนดพื้นที่ จำนวนอย่างน้อย 20 แปลง ต่อจังหวัด ทำการสุ่มตรวจโดยเดินเป็นแถว เว้น 2 แถว และแต่ละแถวสุ่มตรวจต้นห่างกัน 5 ต้น จำนวน 50 ต้นต่อแปลง

3) การเตรียมตัวอย่างเพื่อตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิด

นำตัวอย่างแมลงที่เก็บรวบรวมได้มาจัดรูปร่าง (set) บนไม้จัดรูปร่าง (setting board) ตัวอย่างแมลง โดยใช้เข็มไร้สนิมปักบริเวณด้านหน้าตรงมุมของปีกขวา ใช้ปากคีบจัดขาทั้ง (บริเวณมุมที่ปีกจรดกัน) สามคู่ให้อยู่ในลักษณะเกาะหรือเดินโดยใช้เข็มหมุดขนาดกลางเป็นตัวยึด ตัวเต็มวัยขนาด เช่น เพลี้ยจักจั่น เพลี้ยกระโดด และด้วงที่มีขนาดเล็กให้ติดลงบนกระดาษรูปสามเหลี่ยมขนาดเล็ก จัดรูปร่างให้เห็นด้านหลังและด้านข้าง นำไปอบให้แห้งในตู้อบตัวอย่างแมลง อุณหภูมิ 50 – 60^{O}C ใช้เวลา 30 – 60 วัน ขึ้นกับขนาดของแมลง

การทำสไลด์ถาวร แมลงจำพวกปากดูดที่มีขนาดเล็ก เช่น เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน เพลี้ยแป้ง เพลี้ยหอย และแมลงหวี่ขาว ต้องนำมาทำสไลด์ถาวรตามวิธีการของ Mound and Kibby (1999), Poonchaisri (2004), Blackman and Eastop (2000), Williams and Watson (1988), Williams (2004) และ Martin (1987) และนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 – 60 ^{O}C

4) นำตัวอย่างของแมลงศัตรูพืชที่รวบรวมได้มาตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิด

โดยดูลักษณะภายนอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo microscope สำหรับแมลงปากดูดที่มีขนาดเล็กเมื่อทำสไลด์ถาวรและนำไปอบแห้งตามระยะเวลาที่กำหนดแล้ว นำมาจำแนกชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound แล้วบันทึกรายละเอียดต่างๆ เช่น ขนาดลำตัว รูปร่าง ลักษณะ และสี เป็นต้น นอกจากนี้แมลงศัตรูพืชบางชนิด เช่น ด้วง ผีเสื้อ และเพลี้ยจักจั่น ยังต้องตรวจลักษณะภายใน คือ อวัยวะเพศ (genitalia) ของทั้งเพศผู้และเพศเมียในการจำแนกชนิด เนื่องจากแมลงศัตรูพืชบางชนิดมีลักษณะภายนอกที่ใกล้เคียงกันมากไม่สามารถจำแนกได้ว่าเป็นชนิดไหน และตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานด้วยการใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยของแมลงแต่ละชนิด ประกอบการเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์

5) เก็บรักษาตัวอย่าง

นำตัวอย่างแมลงศัตรูพืชที่ได้ศึกษาวิจัยแล้วเก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากล (แมลงศัตรูพืชทุกชนิดที่รายงานไว้ต้องมีตัวอย่างจริงเก็บรักษาไว้เพื่อการตรวจสอบ/ สืบค้น/ อ้างอิง)

6) สรุปและจัดทำรายงานผลการวิจัย จัดทำรายงานผลการวิจัยฉบับเต็ม

7) จัดทำรายชื่อและข้อมูลศัตรูพืช รวบรวมข้อมูลทั้งหมดจัดทำรายชื่อและข้อมูลศัตรูพืชตามระบบสากล

8) เผยแพร่ผลงานวิจัย ตีพิมพ์ผลงานวิจัย

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

บันทึกรายละเอียดของแมลงศัตรูพืช ส่วนของพืชที่พบตัวอย่าง ลักษณะการทำลาย วัน/เดือน/ปี สถานที่ แหล่งที่พบ พิกัดภูมิศาสตร์)GPS) และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง รวมทั้งบันทึกโดยการถ่ายภาพ

เวลาและสถานที่

เวลา เดือนตุลาคม 2564 ถึง เดือนกันยายน 2565

สถานที่ 1. แปลงปลูกกล้วยไม้สกุลหวาย สกุลฟาแลนอปซิส องุ่น อินทผาลัม มันเทศ และลิลลี่ ในจังหวัดต่าง ๆ ทุกภาคของประเทศไทย

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงศัตรูอินทผลัมในจังหวัดนครราชสีมา บุรีรัมย์ หนองคาย อุดรธานี บึงกาฬ และนครราชสีมา นำตัวอย่างที่ได้มาทำการศึกษาโดยการจัดรูปร่าง และนำไปอบแห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 30 – 60 วัน และนำไปจำแนกชนิดตามหลักอนุกรมวิธาน รวมทั้งเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่มีในพิพิธภัณฑ์ พบแมลงศัตรูอินทผลัม 5 ชนิด ได้แก่ ด้วงงวงมะพร้าว *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier) ด้วงแรด *Oryctes rhinoceros* (Linnaeus) หนอนปลอกใหญ่ *Mahasena corbetti* Tams ด้วงแทะใบปาล์ม *Promecotheca cumingii* Baly และหนอนหัวดำมะพร้าว *Opisina arenosella* Walker (ตารางที่ 1) ตัวอย่างที่ได้จากการศึกษาเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร เพื่อใช้เป็นแหล่งเป็นหลักฐานในการตรวจสอบ อ้างอิง ทางวิชาการ

ตารางที่ 1 รายชื่อแมลงศัตรูอินทผลัม (Date palm; *Phoenix dactylifera* Linnaeus) ตุลาคม2 558 – กันยายน2 560

อันดับ (order) วงศ์ (family)	**ชื่อวิทยาศาสตร์ (scientific name)**	**ชื่อสามัญ (common name)**	**แหล่งที่สำรวจพบ (distribution)**	**ส่วนที่ถูทำลาย (plant parth affected)**
Coleoptera (Curculionidae)	*Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier)	ด้วงงวงมะพร้าว (red palm weevil)	หนองคาย นครราชสีมา สุพรรณบุรี กาญจนบุรี ประจวบคีรีขันธ์ เพชรบุรี ราชบุรี นครสวรรค์ ลำพูน ลำปาง เชียงใหม่	เจาะลำต้น
Coleoptera (Scarabaeidae)	*Oryctes rhinoceros* (Linnaeus)	ด้วงแรด (rhinoceros beetle)	ประจวบคีรีขันธ์ เพชรบุรี ราชบุรี นครสวรรค์ อุทัยธานี นครราชสีมา หนองคาย กาญจนบุรี สุพรรณบุรี ลำปาง ลำพูน เชียงใหม่	กัดกินใบ ยอด
Coleoptera (Chrysomelidae)	*Promecotheca cumingii Baly*	ด้วงแทะใบปาล์ม (palm leaf miner beetle)	นครราชสีมา	กัดกินใบ
Lepidoptera (Oecophoridae)	*Opisina arenosella* Walker	หนอนหัวดำมะพร้าว (coconut black-headed caterpillar)	ประจวบคีรีขันธ์ เพชรบุรี ราชบุรี เชียงใหม่ ลำพูน ลำปาง	กัดกินผิวใบ
Lepidoptera (Psychidae)	*Mahasena corbetti* Tams	หนอนปลอกมะพร้าว (coconut case caterpillar)	นครราชสีมา หนองคาย ประจวบคีรีขันธ์	กัดกินใบ

รายละเอียดแมลงศัตรูพืชนำเข้า-ส่งออกแต่ละชนิด

***Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier)** (ภาพที่ 6)

อันดับ Coleoptera

วงศ์ Curculionidae

ชื่อสามัญ ด้วงงวงมะพร้าว (red palm weevil)

ลักษณะสำคัญ

เป็นด้วงงวงขนาดกลาง ตัวเต็มวัยมีลำตัวสีน้ำตาล ปีกมีสีน้ำตาลดำ อกมีสีน้ำตาลและมีจุดสีดำ ขนาดลำตัวยาวประมาณ 25 - 28 มิลลิเมตร ทั้งตัวผู้และตัวเมียมีขนาดและลักษณะภายนอกคล้ายคลึงกัน ต่างกันที่ตัวผู้มีขนที่ด้านบนของงวงใกล้ส่วนปลาย ตัวหนอนมีสีเหลืองปนน้ำตาล ดักแด้เป็นปลอกทำด้วยเศษชิ้นส่วนจากพืชที่กินเป็นอาหาร ตัวหนอนจะอาศัยและกัดกินบริเวณยอดอ่อน ตัวเต็มวัยจะเกาะกินเนื้อเยื่อด้านในของลำต้นลึกจนเป็นโพรง ซึ่งอาจทำให้ต้นตายได้ โดยจะบินออกหากินในเวลากลางวัน สามารถบินได้ไกลถึง 900 เมตร และอาจซ้ำกินซ้ำเติมจากที่ด้วงแรดมะพร้าว (*Oryctes rhinoceros*) ซึ่งเป็นด้วงกว่างกินแล้วด้วย ตัวเมียใช้เวลาวางไข่นาน 5 - 8 สัปดาห์ ในปริมาณเฉลี่ย 400 ฟอง

พืชอาหาร พืชตระกูลปาล์ม เช่น มะพร้าว สาคู เป็นต้น

แหล่งที่สำรวจพบ จังหวัดหนองคาย นครราชสีมา สุพรรณบุรี กาญจนบุรี ประจวบคีรีขันธ์ เพชรบุรี ราชบุรี นครสวรรค์ และหนองคาย

***Oryctes rhinoceros* (Linnaeus)** (ภาพที่ 4, 5)

อันดับ Coleoptera

วงศ์ Scarabaeidae

ชื่อสามัญ ด้วงแรดมะพร้าวชนิดเล็ก (rhinoceros beetle)

ลักษณะสำคัญ

ตัวเต็มวัยเป็นด้วงปีกแข็งสีดำเป็นมันวาว ใต้ท้องมีสีน้ำตาลแดง กว้าง 20 – 23 มิลลิเมตร ยาว 30 – 52 มิลลิเมตร เพศผู้มีเขาลักษณะคล้ายเขาแรดอยู่บนส่วนหัวยาวโค้งไปทางด้านหลัง ส่วนเพศเมียมีเขาที่สั้นกว่า และบริเวณท้องปล้องสุดท้ายของเพศเมียมีขนสีน้ำตาลแดงขึ้นหนาแน่นกว่าของเพศผู้ วงจรชีวิตตั้งแต่ไข่จนถึงตัวเต็มวัยใช้เวลาประมาณ 120 – 270 วัน โดยเฉลี่ย 180 วัน **ไข่** มีลักษณะกลมรี สีขาวนวล กว้าง 2 – 3 มิลลิเมตร ยาว 3 – 4 มิลลิเมตร เมื่อใกล้ฟักไข่จะมีสีน้ำตาลอ่อน โดยปกติไข่จะถูกวางลึกลงไปจากดินประมาณ 5 – 15 เซนติเมตร ในแหล่งขยายพันธุ์ที่มีการย่อยสลายของอินทรีย์วัตถุต่างๆ สมบูรณ์แล้ว **หนอน** เมื่อฟักออกจากไข่ใหม่ๆ ลำตัวมีสีขาว ขนาด 2 x 7.5 มิลลิเมตร หัวกะโหลกสีน้ำตาลอ่อนกว้างประมาณ 2 – 2.5 มิลลิเมตร มีขาจริง 3 คู่ ด้านข้างลำตัวมีรูหายใจจำนวน 9 คู่ เมื่อหนอนกิน

อาหารแล้วผนังลำตัวจะมีลักษณะโปร่งใส มองเห็นภายในสีดำ หนอนเมื่อเจริญเติบโตเต็มที่จะมีขนาดลำตัวยาวประมาณ 60 – 90 มิลลิเมตร **ดักแด้** เมื่อหนอนเจริญเติบโตเต็มที่จะหยุดกินอาหารและสร้างรังเป็นโพรง หนอนจะหดตัวอยู่ภายในเป็นเวลา 5 – 8 วัน จึงเปลี่ยนรูปร่างเป็นดักแด้สีน้ำตาลแดง ขนาดประมาณ 22 x 50 มิลลิเมตร (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, 2560)

พืชอาหาร มะพร้าว และพืชตระกูลปาล์มต่างๆ

แหล่งที่สำรวจพบ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ เพชรบุรี ราชบุรี นครสวรรค์ อุทัยธานี นครราชสีมา หนองคาย กาญจนบุรี สุพรรณบุรี ลำปาง ลำพูน และเชียงใหม่

Promecotheca cumingii Baly (ภาพที่ 7)

อันดับ Coleoptera

วงศ์ Chrysomelidae

ชื่อสามัญ ด้วงแทะใบปาล์ม (palm leaf miner beetle)

ลักษณะสำคัญ

ตัวเต็มวัยเป็นด้วงปีกแข็งขนาดลำตัวยาว 9 มิลลิเมตร ลำตัวมีสีน้ำตาลแดง มีลักษณะคล้ายคลึงกับหิ่งห้อย ตัวเต็มวัยมีอายุขัยประมาณ 2.5 เดือน ในระยะตัวเต็มวัยสามารถวางไข่ได้ตลอด ไข่จะถูกวางใต้ผิวใบประมาณ 2 มิลลิเมตร หนอนจะกัดกินบนใบและใต้ใบ ระยะหนอนมี 3 วัย หนอนวัย 3 โตเต็มที่มีขนาด 12 มิลลิเมตร ระยะหนอนประมาณ 30 วัน

พืชอาหาร พืชตระกูลปาล์ม อินทผลัม มะพร้าว

แหล่งที่สำรวจพบ จังหวัดนครราชสีมา

***Opisina arenosella* Walker** (ภาพที่ 8)

อันดับ Lepidoptera

วงศ์ Oecophoridae

ชื่อสามัญ หนอนหัวดำมะพร้าว (coconut black-headed caterpillar)

ลักษณะสำคัญ

ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางคืน ขนาดลำตัวยาวอ1 – 1.2 เซนติเมตร ปีกมีสีเทาอ่อน บริเวณปลายปีกมีจุดสีเทาเข้ม ผีเสื้อเพศเมียมีขนาดใหญ่กว่าเพศผู้เล็กน้อย ผีเสื้อเพศเมียที่ผสมพันธุ์แล้วสามารถวางไข่และไข่ฟักเป็นตัวหนอน ผีเสื้อที่ไม่ได้รับการผสมพันธุ์ก็สามารถวางไข่ได้ แต่ไข่ทั้งหมดไม่ฟักเป็นตัวหนอน ผีเสื้อหนอนหัวดำมะพร้าวเพศเมียสามารถวางไข่ตั้งแต่ 49 – 490 ฟอง **ไข่** ของผีเสื้อหนอนหัวดำมะพร้าวมี

ลักษณะกลมรี แบน วางไข่เป็นกลุ่ม ไข่เมื่อวางใหม่ๆมีสีเหลืองอ่อนสีจะเข้มขึ้นเมื่อใกล้ฟัก ระยะไข่ 4 – 5 วัน **ตัวหนอน** เมื่อฟักออกจากไข่จะอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม ก่อนที่จะย้ายเข้าไปกัดกินใบมะพร้าว ตัวหนอนที่ฟักใหม่ๆ จะมีหัวสีดำ ลำตัวสีเหลือง สีของส่วนหัวจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มเมื่ออายุมากขึ้น ตัวหนอนมีสีน้ำตาลอ่อนและมีลายสีน้ำตาลเข้มพาดยาวตามลำตัว เมื่อโตเต็มที่จะมีลำตัวยาว 2 – 2.5 เซนติเมตร หนอนจะมีการลอกคราบทั้งหมด 6 - 10 ครั้ง ระยะหนอน 32 – 48 วัน ดักแด้มีสีน้ำตาลเข้ม ดักแด้เพศผู้มีขนาดเล็กกว่าดักแด้เพศเมียเล็กน้อย ระยะดักแด้ 9 – 11 วัน (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, 2560)

พืชอาหาร มะพร้าว ตาลโตนด อินทผลัม หมาก ปาล์มน้ำมัน ปาล์มประดับต่างๆ เช่น ตาลฟ้า ปาล์มหางกระรอก หมากเขียว หมากแดง เป็นต้น

แหล่งที่สำรวจพบ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ เพชรบุรี ราชบุรี เชียงใหม่ ลำพูน และลำปาง

Mahasena corbetti Tams (ภาพที่ 9)

อันดับ Lepidoptera

วงศ์ Psychidae

ชื่อสามัญ หนอนปลอกมะพร้าว (coconut case caterpillar)

ลักษณะสำคัญ

ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อขนาดเล็ก ขนาดลำตัววัดจากขอบปีกด้านหนึ่งถึงขอบปีกอีกด้านหนึ่งกว้าง 2.2-2.7 เซนติเมตร หัวสีน้ำตาลโคนหนวดเป็นแบบฟันหวี ลำตัวอ้วนป้อมมีขนสีน้ำตาลปกคลุมทั่วลำตัว ปีกคู่หน้าสีน้ำตาล เข้มมุมปีกค่อนข้างเรียวแหลม ปีกคู่หลังมีขนาดเล็กสีน้ำตาล หนอนที่ฟักจะสร้างปลอกโดยกัดผิวใบผสมกับเส้นใยของตัวเองเป็นปลอกหุ้มตัว กัดกินใบเป็นรูทั่วทั้งใบทำให้ใบเหลืองแห้งหรือเหลือแต่ก้านใบ

พืชอาหาร ปาล์มน้ำมัน มะพร้าว กล้วย กระท้อน

แหล่งที่สำรวจพบ จังหวัดนครราชสีมา หนองคาย ประจวบคีรีขันธ์

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาชนิดแมลงศัตรูพืชเพื่อการนำเข้าและส่งออก ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 ถึง เดือนกันยายน 2565 พบแมลงศัตรูพืชในอินทผลัม ทั้งหมด 2 อันดับ 5 วงศ์ 5 ชนิด ได้แก่ อันดับ Coleoptera 3 วงศ์ 3 ชนิด และอันดับ Lepidoptera 2 วงศ์ 2 ชนิด

การศึกษาในครั้งนี้นอกจากจะเป็นการสำรวจศัตรูพืชในพืชนำเข้าและส่งออกทั้ง 5 พืชแล้ว ยังนำตัวอย่างแมลงศัตรูพืชที่พบมาศึกษาทางด้านอนุกรมวิธานโดยการตรวจวิเคราะห์ชนิดและสืบค้นข้อมูลที่เป็น

ปัจจุบัน รวมทั้งได้จัดเก็บตัวอย่างแมลงทั้งหมดไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลงเพื่อการยืนยัน ตรวจสอบ และอ้างอิง ซึ่งจะเป็นหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่เป็นประโยชน์อย่างมากในการจัดทำบัญชีรายชื่อแมลงศัตรูพืชนำเข้าและส่งออก และสามารถนำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่ได้ไปใช้ในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชนำเข้าทั้ง 5 พืช ตลอดจนสามารถนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ประกอบในการพิจารณาเพื่อกำหนดแมลงศัตรูพืชกักกัน อีกทั้งยังใช้เป็นหลักฐานในการเจรจาต่อรองทางการค้า และกำหนดเงื่อนไขการนำเข้าพืชตามพระราชบัญญัติกักพืช ซึ่งการศึกษาเกี่ยวกับชนิดของศัตรูพืชเพื่อประโยชน์ทางการค้า จำเป็นอย่างยิ่งจะต้องศึกษาอย่างต่อเนื่องและเตรียมพร้อมข้อมูลให้เป็นปัจจุบันตลอดเวลา โดยเฉพาะอย่างยิ่งต้องประสานกับหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง เพื่อกำหนดลำดับความสำคัญของพืชหรือสินค้าเกษตรที่ต้องการนำเข้าหรือส่งออก นอกจากนี้ควรมีการรวบรวมรายชื่อแมลงศัตรูพืชทั้งหมดที่ได้ศึกษา จัดพิมพ์เป็นเอกสารให้สมบูรณ์ ซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นหลักฐานทางเอกสารวิชาการที่เป็นปัจจุบันต่อไป ทั้งนี้เพื่อประโยชน์สูงสุดของประเทศไทยในการเจรจาต่อรองการค้ากับประเทศคู่ค้า

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณนักกีฏวิทยาและเจ้าหน้าที่กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยาทุกท่านที่มีส่วนช่วยในการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลง ตลอดจนเตรียมตัวอย่างแมลงเพื่อการจัดจำแนกชนิดจนงานวิจัยชิ้นนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

อรุณี วงษ์กอบรัษฎ์ .การจัดทำบัญชีรายชื่อแมลง ไร และสัตว์ศัตรูพืช .2543 .เอกสารประกอบการบรรยายพิเศษการประชุมสัมมนา เรื่อง “การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช (Pest List) และการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis) เพื่อการนำเข้าและส่งออกสินค้าเกษตร” วันที่ .ณ โรงแรมมิราเคิลแกรนด์ คอนเวนชั่น กรุงเทพฯ 2543 กันยายน 26

Blackman, R. L. and V. F. Eas. 2000. Aphids on the world’s Crops and Identification and Information Guide. John Wiley & Sons Ltd. Chichester, England. Entomology, Wallingford. Lumpur.

Martin, J. H. 1987. An Identification Guide to Common Whitefly Pest Species of the World (Homoptera: Aleyrodidae). Tropical Pest Management. 33(4): 298-322.

Mound, L. A. and G. Kibby. 1999. Thysanoptera An Identification Guide. CAB International. London. 70 p.

Poonchaisri, S. 2004. Preserving Insect Specimens for Research. The Agricultural Co-Operative Ferderation of Thailand., Limited. Bangkok.

Williams, D. J. 2004. Mealybugs of Southern Asia. United Selangor Press. Bhd., Kuala

Williams, D. J. and G. W. Watson. 1988. The Scale Insects of the Tropical South Pacific.

ภาพที่ 1 ทำการสำรวจแมลงศัตรูในแปลงอินทผลัม

ภาพที่ 2 ลักษณะการทำลายของด้วงงวงมะพร้าวในอินทผลัม

ภาพที่ 3 ลักษณะดักแด้และตัวเต็มวัยของด้วงงวงมะพร้าว

ภาพที่ 4 ลักษณะการเข้าทำลายของด้วงแรดมะพร้าวในต้นอินทผลัม

ภาพที่ 5 ด้วงแรด *Oryctes rhinoceros* (Linnaeus)

ภาพที่ 6 ด้วงงวงมะพร้าว *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier)

ภาพที่ 7 ด้วงแทะใบปาล์ม *Promecotheca cumingii Baly*

ภาพที่ 8 หนอนหัวดำมะพร้าว *Opisina arenosella* Walker

ภาพที่ 9 หนอนปลอกใหญ่ *Mahasena corbetti* Tams

การศึกษาชนิดของไรศัตรู อินทผลัม มันเทศ ลิลลี่ กล้วยไม้สกุลหวาย และสกุลฟาแลนนอปซิส เพื่อจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช

Mite Pest Species of Date Palm, Sweet Potato, Lily and Orchidfor Pest List

พลอยชมพู กรวิภาสเรือง ดาราพร รินทะรักษ์ วิมลวรรณ โชติวงศ์
อทิติยา แก้วประดิษฐ์ วีระชัย สมศรี ณพชรกร ธไภษัชย์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Progress Report

Dates palm and lily are economic crops that have not previously been reported on pest mites in the country. Surveying pests, in addition to being the basic information that can be used for the control mites. The species name of mites can also be used for pest risk analysis. The survey on mite pests of date plam was implemented in 5 provinces in Thailand including Lampang Kanchanaburi Buri Ram Ratchaburi and Nakhon Pathom from October 2022 to September 2023. The results revealed that 6 species in 2 families of mites pests were found:5 species in families Tetranychidae i.e. *Eutetranychus orientalis* (Klein), *Oligonychus oryzae* (Hirst), *Oligonychus pratensis* (Banks). *Tetranychus kanzawai* Kishida, *Tetranychus fijiensis* Hirst. and *Raoiella indica* Hirst in family Tenuipalpidae. The survey found that *Oligonychus pratensis* (Banks) is a mite that has never been reported before in Thailand (new record) and *Raoiella indica* Hirst is a mite pest reported in coconut and palm crops. However, the survey of lily was not found mite pest.

Keywords : mite pest import crop export crop mite spider mite tarsonemid mite eriophyid mite false spider mite

---

รหัสการทดลอง FF65-55-01-65-00-02-65

รายงานความก้าวหน้า

อินทผลัมและลิลลี่เป็นพืชเศรษฐกิจที่ยังไม่มีข้อมูลรายงานชนิดของไรศัตรูพืชในประเทศมาก่อน การสำรวจศัตรูพืชนอกจากจะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่นำไปใช้ประโยชน์ในการป้องกันกำจัดแล้วยังสามารถนำข้อมูลชนิดของศัตรูพืชนำไปวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชได้อีกด้วย จากการสำรวจไรศัตรูพืชในแปลงอินทผลัมรวมทั้งสิ้น 6 อำเภอ 5 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดกาญจนบุรี ลำปาง บุรีรัมย์ ราชบุรี และนครปฐม พบไรศัตรูอินทผลัมทั้งหมด 6 ชนิด 2 วงศ์ วงศ์ Tetranychidae พบไรศัตรูพืช ได้แก่ 5 ชนิด ได้แก่ *Eutetranychus orientalis* (Klein) *Oligonychus oryzae* (Hirst), *Oligonychus pratensis* (Banks), *Tetranychus kanzawai* Kishida, *Tetranychus fijiensis* Hirst วงศ์ Tenuipalpidae พบไรศัตรูจำนวน 1 ชนิด ได้แก่ *Raoiella indica* Hirst จากการสำรวจพบว่าไร *Oligonychus pratensis* (Banks) เป็นไรที่ยังไม่เคยมีรายงานการพบไรชนิดนี้มาก่อนในประเทศไทย (new record) และไร *Raoiella indica* Hirst เป็นไรศัตรูที่มีรายงานในมะพร้าวและพืชตระกูลปาล์ม สำหรับแปลงปลูกลิลลี่สำรวจไม่พบไรศัตรูพืช

คำหลัก : ไรศัตรูพืช พืชนำเข้า พืชส่งออก ไร ไรแดง ไรแดงเทียมปาล์ม ไรขาว ไรสี่ขา

คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมที่มีการปลูกพืชหลากหลายชนิด โดยเฉพาะพืชเศรษฐกิจที่มีการนำเข้าและส่งออก ทั้งพืชผัก ไม้ดอก ไม้ประดับ ไม้ผล พืชเศรษฐกิจใหม่ของประเทศที่เริ่มมีการปลูกกันตั้งแต่ปี 2555-2558 โดยนิยมปลูกพันธุ์บริโภคสด ได้แก่ อินทผลัม ผลผลิตให้ราคาสูง ทำให้มีการขยายการปลูกกันไปในหลายพื้นที่ (สยามรัฐ, 2566) พืชอินทผลัม มีรายงานพบไรศัตรูหลายชนิด ได้แก่ *Eutetranychus banksi* (McGregor, 1914), *Eutetranychus bredini* Baker & Pritchard, 1960, *Eutetranychus orientalis* (Klein, 1936), *Eutetranychus palmatus* Attiah, 1967, *Oligonychus afrasiaticus* (McGregor, 1939), *Oligonychus pratensis* (Banks, 1912), *Oligonychus tylus* Baker&Pritchard, 1960, *Tetranychus urticae* Koch, 1836 (Bolland *et. al*., 1998)

นอกจากนี้พืชที่มีการปลูกเพื่อการส่งออกและสร้างรายได้ให้กับประเทศมีหลายชนิด เช่น มันเทศ และกล้วยไม้ มันเทศมีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนแถบอเมริกากลางและอเมริกาใต้ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Ipomoea batatas* (L.) Lam อยู่ในวงศ์ Convolvulaceae มันเทศเป็นพืชอาหารที่สำคัญอันดับ 7 ของโลกรองจากข้าวโพด ข้าวสาลี มันฝรั่ง มันสำปะหลัง และถั่วเหลือง ประเทศที่มีการผลิตมันเทศมากที่สุดในโลก ลคือ ประเทศจีน ไนจีเรีย แทนซาเนีย เอธิโอเปีย และอินโดนีเซีย สำหรับศัตรูมันเทศที่สำคัญมีหลายชนิด ที่สำคัญได้แก่ ด้วงงวงมันเทศ หนอนเจาะเถามันเทศ หนอนชอนใบมันเทศ หนอนกระทู้หอม (สถาบันวิจัยพืชสวน, 2559) ปี 2559 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ได้รวบรวมชนิดของแมลง ไร และหนูศัตรูมันเทศไว้ 15 ชนิดด้วยกัน ได้แก่ หนอนผีเสื้อเหยี่ยว เพลี้ยอ่อนฝ้าย หนอนชอนใบ แมลงหวี่ขาวยาสูบ ด้วงงวงมันเทศ หนอนกระทู้คอรวง เพลี้ยอ่อนลูกท้อ หนอนเจาะเถามันเทศ

หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก ไรแดงหม่อน หนูพุกใหญ่ หนูพุกเล็ก หนูท้องขาวบ้าน สำหรับไรศัตรูพืชมีรายงานในมันเทศหลายชนิดได้แก่ *Eutetranychus orientalis* (Klein, 1936) *Paraponychus incanus* Gonzalez&Flechtmann, 1977, *Tetranychus bastosi* Tuttle, Baker&Sales, 1977, *Tetranychus canadensis* (McGregor, 1950), *Tetranychus desertorum* Banks, 1900, *Tetranychus evansi* Baker&Pritchard, 1960, *Tetranychus gloveri* Banks, 1900, *Tetranychus ludeni* Zacher, 1913, *Tetranychus marianae* McGregor, 1950, *Tetranychus neocaledonicus* André, 1933, *Tetranychus okinawanus* Ehara, 1995, *Tetranychus piercei* McGrego, 1950, *Tetranychus truncatus* Ehara, 1956, *Tetranychus urticae* Koch, 1836, *Tetranychus yusti* McGregor, 1955 (Bolland *et. al*., 1998)

กล้วยไม้เป็นพืชเศรษฐกิจที่มีการปลูกในหลายจัดหวัดของประเทศ โดยมีการปลูกกันมากในพื้นที่ภาคกลางและภาคตะวันตก ได้แก่ จังหวัดนครปฐม สมุทรสาคร กรุงเทพ ราชบุรี และกาญจนบุรี ปี 2564 ผลผลิตกล้วยไม้ 33,729 ตัน ลดลงจากปี 2563 เท่ากับ 5,076 ตัน และลดลงจากปี 2562 เท่ากับ 15,066 ตัน โดยมีแนวโน้มที่ผลผลิตจะลดลองอย่างต่อเนื่อง อย่างไรก็ตามกล้วยไม้มีปริมาณการส่งออกมากกว่าปริมาณนำเข้า โดยมีมูลค่าการส่งออกในปี 2564 มีปริมาณเท่ากับ 44,867.85 ตัน คิดเป็นมูลค่าเท่ากับ 2,203.19 ล้านบาท มากกว่าปี 2563 จำนวน 3465.59 ตัน คิดเป็นมูลค่าเท่ากับ 465 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2564) กล้วยไม้เป็นพืชที่มีศัตรูพืชหลายชนิด ปี 2553 กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ได้รายงานโรคในกล้วยไม้หลายชนิดได้แก่ โรคเน่าดำ โรคจุดสนิม โรคใบปื้นเหลือง โรคใบจุด โรคเกสรดำ โรคแอนเทรคโนส โรคยอดไหม้ โรคต้นเน่าแห้ง โรคราดำ โรคเน่าเละ โรคเน่า โรคใบจุดแบคทีเรีย และโรคใบด่างที่เกิดจาก CyMV กล้วยไม้ มีรายงานพบไร *Oligonychus sacchari* (McGregor, 1942; Bolland *et al*., 1998) สำหรับประเทศไทยมีรายงานการพบไรแดงเทียม 2 ชนิดในกล้วยไม้ ได้แก่ *Dolichotretranychus vandergooti* (Oudemans) และ *Tenuipalpus pacificus* Baker (วัฒนาและคณะ, 2544; กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม, 2556)

ลิลลี่เป็นไม้ดอกที่มีการปลูกในประเทศน้อย แต่มีการนำเข้าไม้ตัดดอกเข้าในประเทศ มูลค่าหลายล้านบาท โดยในปี 2563 มีการนำเข้าลิลลี่คิดเป็นมูลค่าเท่ากับ 38.88 ล้านบาท (สุภาพรและอำนวย, 2563) มีรายงานพบไรศัตรูในลิลลี่ *Tetranychus urticae* Koch (Bolland *et. al*., 1998)

ปัจจุบันการส่งออกสินค้าเกษตรในหลายๆ ประเทศจะมีการกำหนดมาตราการการส่งออกสินค้าเกษตร โดยประเทศคู่ค้าจะต้องมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ที่อาจจะติดไปปะปนไปกับสินค้าเกษตร ดังนั้นประเทศคู่ค้า จึงต้องมีการสำรวจศัตรูพืชในประเทศของตน และจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช เพื่อนำไปวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช เพื่อเปิดตลาดทางการค้า ดังนั้นการสำรวจชนิดของไรศัตรูที่พบบนพืชนำเข้าและส่งออกนี้ นอกจากจะทำให้ทราบชนิดของไร เขตแพร่กระจายของไรบนพืชนำข้า และส่งออกแล้ว ยังเป็นข้อมูลพื้นฐาน เพื่อนำไปจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช และนำไปใช้ในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างไรศัตรูพืช ที่สำรวจได้จากการทดลอง

2. อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง: ได้แก่ ถุงพลาสติกใสขนาดต่างๆ กล่องพลาสติก พู่กันเบอร์ 0 ขวดดองตัวอย่างไร ขนาด 1 แดรม บรรจุแอลกอฮอล์ 70% พู่กัน กล่องพลาสติกรักษาความเย็น ขนาด 68 ควอทซ์ แว่นขยาย (กำลังขยาย 20x) ตะเกียงแอลกอฮอล์ โคมไฟ เข็มเขี่ยปลายแหลม และปลายงอ สำลี ตู้อบ เครื่องอุ่นสไลด์ ตั้งอุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียส แป้นหมุนสำหรับผนึกขอบสไลด์ น้ำยาผนึกขอบสไลด์

3. กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscop BX 53 กล้องจุลทรรศน์ (stereo microscope)

4. คู่มือการจำแนก (key) สำหรับใช้จำแนกชนิดของไรศัตรูพืช

5. เครื่องวัดพิกัดภูมิศาสตร์ (GPS) สำหรับระบุพิกัด ที่เก็บตัวอย่าง

วิธีการ

มีขั้นตอนและวิธีการดังต่อไปนี้

1. <u>สืบค้นข้อมูล (2565-2566)</u>

สืบค้นข้อมูลไรศัตรู อินทผลัม มันเทศ ลิลลี่ กล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิส ที่มีรายงานในประเทศไทย จากเอกสารต่างๆ หรือจากข้อมูลอิเลคโทรนิค

2. <u>การสำรวจไร (2565-2567)</u>

ปี 2565-2566 สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างไรศัตรูพืช จากแหล่งปลูก อินทผลัม และลิลลี่

ปี 2566-2567 สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างไรศัตรูพืช จากแหล่งปลูก มันเทศและกล้วยไม้สกุลหวาย และ ฟาแลนอปซิส

กำหนดพื้นที่ ในการสำรวจ จากแหล่งปลูกพืชที่สำคัญ

ปี 2565 สำรวจในพื้นที่ จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ หนองคาย อุดรธานี นครสวรรค์ และอุทัยธานี

ปี 2566 สำรวจในพื้นที่ จังหวัดอุบลราชธานี ศรีสะเกษ พิษณุโลก สุพรรณบุรี เพชรบูรณ์ และอุดรธานี

ปี 2567 สำรวจในพื้นที่ จังหวัดสงขลา นครศรีธรรมราช ตราด ระยอง นครปฐม และราชบุรี

วางแผนการสำรวจ การวางแผนวิธีการสำรวจตามมาตรฐาน ISPM No. 6 (Guidelines for surveillance) โดยทำการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (Specific survey) สำรวจแบบสืบพบ (Detection survey) เป็นการตรวจสอบศัตรูพืชทุกชนิดที่พบ อย่างน้อยควรทำการสำรวจระยะการเจริญเติบโตของพืช ดังต่อไปนี้ ระยะการงอกของต้นกล้า ระยะแตกหน่อ ระยะออกดอก ระยะออกผล และระยะติดเมล็ดกำหนดพื้นที่ของจังหวัดที่ปลูก ทำการสำรวจไม่น้อยกว่า 10 แปลง/จังหวัด แต่ละ

แปลงทำการสุ่มตัวอย่างโดยเดินเป็นแถว เว้น 3 แถว ตรวจแถวละ 10 ต้น สุ่มตัวอย่าง 20 ต้น/แปลง (สุ่มเก็บตัวอย่างใบ 1 ต้นเว้น 5 ต้น)

3. การศึกษาชนิดของไรศัตรูพืช (2565-2567)

3.1 การเก็บตัวอย่างไรศัตรูพืช เก็บใบ กิ่ง ผล หรือส่วนต่างๆ ของพืช อินทผาลัม มันเทศ ลิลลี่ กล้วยไม้สกุลหวาย และฟาเรนนอปซิส ที่แสดงอาการผิดปกติจากจังหวัดต่างๆ ในประเทศไทย ลงในกล่องพลาสติก หรือถุงกระดาษพับปากถุง บันทึกข้อมูลเกี่ยวกับตัวอย่างไร เช่น ชื่อพืช วันที่เก็บ ผู้เก็บ สถานที่ที่เก็บ บันทึกข้อมูลพิกัด (GPS) จากนั้นนำตัวอย่างแช่ลงในกระติกน้ำแข็งก่อนนำกลับมายังห้องปฏิบัติการ

3.2 การจัดทำสไลด์ถาวร ตัวอย่างไรศัตรูพืชที่ได้กลับมาทำสไลด์ถาวรภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด Stereomicroscope หยด Hoyer's solution ลงบนสไลด์ 1 หยด ใช้พู่กันเขี่ยตัวไรลงบนหยดน้ำยาจัดตัวอย่างไรให้อยู่ในสภาพที่เห็นส่วนต่างๆ ได้ชัดเจน โดยจัดท่าทางของไรให้อยู่ในท่าคว่ำ และท่าตะแคงข้าง เพื่อตรวจดูลักษณะต่างๆ ที่ใช้ในการจำแนก จากนั้นปิดสไลด์ด้วย coverglass ใช้ปากกาเขียนแก้ววงกลมล้อมรอบตัวไรทันทีหลังจากทำสไลด์เรียบร้อยแล้ว เพื่อสะดวกในการหาตัวไรได้ง่ายขึ้น นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ประมาณ 1 สัปดาห์ ผนึกขอบ coverglass ด้วยน้ำยา ทาเล็บ และปิดป้ายบันทึกข้อมูลเกี่ยวกับ สถานที่เก็บ วันที่ ชื่อผู้เก็บและพืชอาศัยที่ด้านขวามือของแผ่นสไลด์

3.3 การจำแนกชนิด นำตัวอย่างไรที่ทำสไลด์ถาวรแล้วมาจำแนกชนิดภายใต้กล้อง compound microscope จำแนกชนิด จากตำราต่างๆ ที่เกี่ยวข้อง บันทึกผลการจำแนกไว้ด้านซ้ายมือของแผ่นสไลด์ก่อนที่จะนำเข้าเก็บในพิพิธภัณฑ์

การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลเบื้องต้น เช่น พืชอาหาร สถานที่ วัน เดือน ปี พิกัดภูมิศาสตร์ (GPS) ซึ่งประกอบด้วยค่าละติจูด (Latitude) ค่าลองติจูด (Longitude) ระดับความสูงจากระดับน้ำทะเล (Altitude) และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง ทุกครั้งที่เก็บตัวอย่าง รวมทั้งการถ่ายภาพและชนิดไรศัตรูพืชที่พบ

ระยะเวลาดำเนินการ

ระยะเวลาโครงการ 3 ปี 0 เดือน

วันที่เริ่มต้น 1 ตุลาคม 2564 วันที่สิ้นสุด 30 กันยายน 2567

เวลาและสถานที่

กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม กลุ่มงานสัตววิทยาทางการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ หนองคาย อุดรธานี นครสวรรค์ และอุทัยธานี

ระยะเวลา : ระยะเวลาโครงการ 2 ปี 0 เดือน

: วันที่เริ่มต้น 1 ตุลาคม 2565 วันที่สิ้นสุด 30 กันยายน 2567

สถานที่ : กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร พื้นที่สำรวจ 5 จังหวัด ได้แก่ กาญจนบุรี ลำปาง บุรีรัมย์ ราชบุรี และนครปฐม

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจไรศัตรูพืชในแปลงอินทผลัม รวมทั้งสิ้น 6 อำเภอ 5 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดกาญจนบุรี ลำปาง บุรีรัมย์ ราชบุรี และนครปฐม พบไรศัตรูอินทผลัมทั้งหมด 6 ชนิด 2 วงศ์ วงศ์ Tetranychidae พบไรศัตรูพืช ได้แก่ 5 ชนิดได้แก่ *Eutetranychus orientalis* (Klein) *Oligonychus oryzae* (Hirst), *Oligonychus pratensis* (Banks), *Tetranychus kanzawai* Kishida, *Tetranychus fijiensis* Hirst วงศ์ Tenuipalpidae พบไรศัตรูจำนวน 1 ชนิด ได้แก่ *Raoiella indica* Hirst จากการสำรวจพบว่า ไร *Oligonychus pratensis* (Banks) เป็นไรที่ยังไม่เคยมีรายงานการพบไรชนิดนี้มาก่อนในประเทศไทย (new record) และไร *Raoiella indica* Hirst เป็นไรศัตรูที่มีความสำคัญในมะพร้าวและพืชตระกูลปาล์ม สำหรับการสืบค้นข้อมูลทางเอกสารวิชาการในประเทศลิลลี่ และอินทผลัม ยังไม่เคยมีรายงานการสำรวจไรศัตรูพืชในพืชทั้งสองชนิดนี้มาก่อน เนื่องจากอินทผลัมเป็นพืชเศรษฐกิจใหม่ที่เริ่มนิยมปลูกในประเทศเพียงไม่กี่ปีมานี้ ข้อมูลรายงานชนิดของไรศัตรูพืชจึงยังไม่มีรายงานการสำรวจพบในประเทศ ส่วนลิลลี่เป็นไม้ตัดดอกที่มีมูลค่าสูง ส่วนใหญ่มีการนำเข้าจากต่างประเทศ และมีการปลูกน้อยมากในประเทศ จึงยังไม่พบรายงานชนิดของไรศัตรูใน ลิลลี่เช่นกัน ประกอบกับมีการใช้สารเคมีในปริมาณสูงมาก ดังนั้นการสำรวจไรศัตรูในลิลลี่ครั้งนี้จึงไม่พบไรศัตรูในแปลงลิลลี่เช่นกัน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจไรศัตรูพืชในแปลงอินทผลัมรวมทั้งสิ้น 6 อำเภอ 5 จังหวัด พบไรศัตรูอินทผลัมทั้งหมด 6 ชนิด 2 วงศ์ วงศ์ Tetranychidae พบไรศัตรูพืช ได้แก่ 5 ชนิดได้แก่ *Eutetranychus orientalis* (Klein) *Oligonychus oryzae* (Hirst), *Oligonychus pratensis* (Banks), *Tetranychus kanzawai* Kishida, *Tetranychus fijiensis* Hirst วงศ์ Tenuipalpidae พบไรศัตรูจำนวน 1 ชนิด ได้แก่ *Raoiella indica* Hirst จากการสำรวจพบว่า ไร *Oligonychus pratensis* (Banks) เป็นไรที่ยังไม่เคยมีรายงานการพบไรชนิดนี้มาก่อนในประเทศไทย (new record) และไร *Raoiella indica* Hirst เป็นไรศัตรูที่มีความสำคัญในมะพร้าวและพืชตระกูลปาล์ม

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ดร. Carlos Holger Wenzel Flechtmann ประเทศบราซิล ที่ให้เอกสารวิชาการที่เป็นประโยชน์ในงานวิจัยและยืนยันชื่อวิทยาศาตร์ที่ถูกต้อง

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มวิจัยโรคพืช. 2553. *โรคไม้ดอกไม้ประดับ.* กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 163 หน้า.

กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม. 2556. *คู่มือตรวจไรศัตรูพืชเศรษฐกิจ.* กลุ่มวิจัยไรและแมงมุม กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 140 หน้า.

วัฒนา จารณศรี มานิตา คงชื่นสิน เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ และพิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์. 2544. *ไรศัตรูพืชและการป้องกันกำจัด*. เอกสารวิชาการของกองกีฏและสัตววิทยา ปี พ.ศ. 2544. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ. 192 น.

สยามรัฐ. 2566. *อินทผลัมพืชเศรษฐกิจของเศรษฐี.* แหล่งข้อมูล : https://siamrath.co.th/n/376725 กล้วยไม้ (13 กุมภาพันธ์ 2566).

สถาบันวิจัยพืชสวน. 2559. *เทคโนโลยีการผลิตมันเทศ.* สถาบันพืชสวน กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 63 หน้า.

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. 2559. *บัญชีรายชื่อแมลง ไร และสัตว์ ศัตรูพืชของพืชเศรษฐกิจในประเทศไทย.* โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ. 199 หน้า.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2564. *ผลผลิตกล้วยไม้แยกตามจังหวัด ปี 2564*. เศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. แหล่งข้อมูล: mis-app.oae.go.th/product/กล้วยไม้ (13 กุมภาพันธ์ 2566).

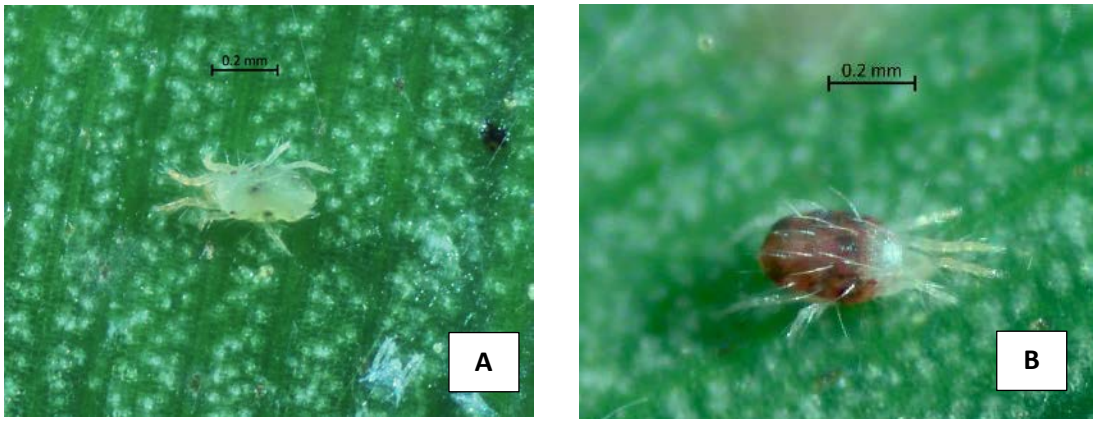
สุภาพร สัมโย และอำนวย อรรถลังรอง. 2563. *สถาณการณ์ไม้ดอกไม้ประดับของประเทศไทย ปี 2563 (มกราคม - มีนาคม).* แหล่งข้อมูล: doa.go.th/hort/wp-content/uploads /2020/05/สถานการณ์ไม้ดอกไม้ประดับ_พฤษภาคม63.pdf. (23 กุมภาพันธ์ 2566).

Bolland, H.R., J. Gutierrez and C.H.W. Flechtmann. 1998. *World Catalogue of the spider mite family (Acari: Tetranychidae).* Koninklijke Brill NV, Leiden, The Netherlands. 392 p.

Table 1 List of Mites were found on imported crop of Cultivated Date palm (*Phoenix dactylifera* L.) from different location in Thailand. (October, 2021-December, 2022)

Order (Family)	Scientific name of mite	Location	Symptom of injury	GPS	
				Lat (N)	Long (E)
Trombidiformes (Tetranychidae)	*Eutetranychus orientalis* (Klein)	NongKum Sub-district, Bo Phloi District, Kanchanaburi Province		14°15.754'	099°27.552'
	Oligonychus oryzae (Hirst)	Phichai Sub-district, Mueang District, Lampang Province		18°20.536'	099°32.479'
	Oligonychus pratensis (Banks)	NongKum Sub-district, Bo Phloi District, Kanchanaburi Province		14°15.754'	099°27.552'
		Chum Saeng Sub-district, Krasang District, Buriram Province		15°00.494'	103°21.848'
		Kaem On Sub-district, Chom Bueng District, Ratchaburi Province		13°45.719'	099°24.744'
		Huai Mon Thong Sub-district, Kamphaeng Saen District, Nakhon Pathom Province		13°95.516'	099°91.298'
	Tetranychus kanzawai Kishida	Phichai Sub-district, Mueang District, Lampang Province		18°20.536'	099°32.479'
	Tetranychus fijiensis Hirst	Phichai Sub-district, Mueang District, Lampang Province		18°20.536'	099°32.479'
Trombidiformes (Tenuipalpidae)	*Raoiella indica* Hirst	NongKum Sub-district, Bo Phloi District, Kanchanaburi Province		14°15.754'	099°27.552'

ภาพที่ 1 A. ใบอินทผลัมที่พบไร *Oligonychus pratensis* (Banks) ลักษณะอาการที่พบใต้ใบอินทผลัมของไร B. ไรแดง *Oligonychus pratensis* (Banks) ตัวเต็มวัยเพศเมีย



ภาพที่ 2 A. ไร *Oligonychus oryzae* (Hirst)
B. ไรแดง *Tetranychus kanzawai* Kishida ตัวเต็มวัยเพศเมีย

การศึกษาชนิดของโรคอินทผลัม มันเทศ ลิลลี่ กล้วยไม้สกุลหวาย และสกุลฟาแลนนอปซิส เพื่อจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช

Plant Disease Survey and Diagnosis on Date Palm, Sweet Potato, Lily, Dendrobium and Phalaenopsis to Supplement Thailand's Pest List

วันวิสาข์ เพ็ชรอำไพ มะโนรัตน์ สุดสงวน ชนินทร ดวงสอาด
ภูวนารถ มณีโชติ ทิพวรรณ กันหาญาติ กาญจนา ศรีไม้
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาชนิดของโรคอินทผลัม มันเทศ ลิลลี่ กล้วยไม้สกุลหวาย และสกุลฟาแลนนอปซิส ดำเนินการในปีงบประมาณ พ.ศ. 2565-2567 โดยแบ่งการศึกษา ดังนี้ การศึกษาชนิดของโรคอินทผลัม และ ลิลลี่ (ปีงบประมาณ พ.ศ. 2565-2566) การศึกษาชนิดของโรคมันเทศ กล้วยไม้สกุลหวาย และ สกุลฟาแลนนอปซิส (ปีงบประมาณ พ.ศ. 2566-2567) โดยสืบค้นข้อมูลและรวบรวมรายชื่อโรคพืชที่มีรายงานพบในประเทศไทย ดังนี้ อินทผลัม โรคที่เกิดจากเชื้อรา 3 ชนิด ลิลลี่ โรคที่เกิดจากเชื้อรา 7 ชนิด เชื้อไวรัส 1 ชนิด มันเทศ โรคที่เกิดจากเชื้อรา 4 ชนิด ไส้เดือนฝอย 1 ชนิด เชื้อไวรัส 2 ชนิด กล้วยไม้สกุลหวาย โรคที่เกิดจากเชื้อรา 7 ชนิด เชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิด เชื้อไวรัส 3 ชนิด กล้วยไม้สกุลฟาแลนนอปซิส โรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย 4 ชนิด จากการสำรวจ รวบรวมและศึกษาชนิดของโรคอินทผลัมและลิลลี่ ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 – เดือนกันยายน 2565 ในพื้นที่จังหวัดจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย พะเยา อุตรดิตถ์ ชัยภูมิ อุดรธานี หนองคาย อุบลราชธานี บุรีรัมย์ เพชรบูรณ์ กำแพงเพชร พิษณุโลก สุโขทัย นครสวรรค์ อุทัยธานี และตาก นำมาศึกษาและจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุได้ ดังนี้ อินทผลัม พบโรคใบจุด Graphiola หรือ False Smut สาเหตุจากเชื้อรา *Graphiola phoenicis* โรคใบจุด (leaf spot) สาเหตุจากเชื้อรา *Pestalotiopsis* sp. และโรคราดำ สาเหตุจากเชื้อรา *Meliola* sp. นอกจากนี้ยังพบลักษณะอาการขาดธาตุโพแทสเซียมและธาตุไนโตรเจน ส่วนลิลลี่พบโรคใบด่าง สาเหตุจากเชื้อไวรัส *Cucumber mosaic virus* (CMV)

คำหลัก : โรคพืช อินทผลัม ลิลลี่ บัญชีรายชื่อศัตรูพืช

รหัสการทดลอง FF65-55-01-65-00-03-65

คำนำ

ปัจจุบันระบบการค้าและระบบโลจิสติกส์ได้ขยายตัวอย่างรวดเร็วทั้งในประเทศและระหว่างประเทศ ทำให้ผู้ประกอบการทั้งขนาดเล็กและขนาดใหญ่มีการเคลื่อนย้ายสินค้าเกษตรเป็นจำนวนมากและมีแนวโน้มการเพิ่มปริมาณมากยิ่งขึ้น ดังนั้นแต่ละประเทศจึงใช้มาตรการสุขอนามัยพืชเป็นตัวควบคุมการนำเข้าหรือเป็นตัวกีดกันทางการค้ากับสินค้าเกษตรเพื่อการปกป้องสินค้าเกษตรภายในประเทศของตนเอง

ในการดำเนินการเกี่ยวกับการนำเข้าและส่งออกสินค้าเกษตร ปัจจัยที่สำคัญอย่างหนึ่งคือข้อมูลเกี่ยวกับศัตรูพืชโดยเฉพาะชนิดของศัตรูพืชจำเป็นต้องศึกษาข้อมูลและชนิดศัตรูพืชตามหลักวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้อง เพื่อทราบชนิดของศัตรูพืชที่มีอยู่ปัจจุบัน ซึ่งมีความสำคัญต่อการนำไปใช้ในการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชกับพืชที่มีการค้าขายระหว่างประเทศ เนื่องจากประเทศผู้นำเข้าและประเทศผู้ส่งออกมีความจำเป็นต้องใช้ข้อมูลดังกล่าว เช่น ประเทศผู้ส่งออกต้องใช้ข้อมูลศัตรูพืชส่งให้ประเทศคู่ค้าประกอบการเปิดตลาดสินค้าส่งออกไปต่างประเทศตามที่ประเทศคู่ค้ากำหนด หรือประเทศผู้นำเข้าใช้เป็นข้อมูลสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเพื่อกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้า

เพื่อได้มาซึ่งข้อมูลที่สามารถใช้ในการกำหนดมาตราการสุขอนามัยพืชจึงจำเป็นต้องทำการสำรวจและจำแนกชนิดของศัตรูพืช เพื่อเป็นข้อมูลในการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชของไทยที่ถูกต้องและเป็นปัจจุบัน โดยดำเนินการศึกษาในพืช 5 ชนิด ได้แก่ อินทผลัม มันเทศ ลิลลี่ กล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิส ดำเนินการในปีงบประมาณ พ.ศ. 2565-2567 โดยแบ่งการศึกษา ดังนี้

1. การศึกษาชนิดของโรคอินทผลัมและลิลลี่ (ปีงบประมาณ พ.ศ. 2565-2566)
2. การศึกษาชนิดของโรคมันเทศ กล้วยไม้สกุลหวาย และสกุลฟาแลนนอปซิส (ปีงบประมาณ พ.ศ. 2566-2567)

การศึกษาครั้งนี้จึงได้ทำการสำรวจ เก็บรวบรวมตัวอย่าง และศึกษาชนิดของเชื้อสาเหตุโรคพืชเพื่อให้ได้มาซึ่งข้อมูลที่เป็นปัจจุบันและสามารถนำข้อมูลที่ได้มาเป็นข้อมูลในการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่พบในประเทศไทย เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับการเจรจาการค้าระหว่างประเทศต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างได้แก่ ถุงพลาสติก กระดาษบันทึก ปากกาเคมี เครื่องระบุพิกัดภูมิศาสตร์
2. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อ หม้อนึ่งความดัน ตู้อบฆ่าเชื้อ
3. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดทดลอง ขวดดูแรน บีกเกอร์ สไลด์และแผ่นแก้วปิดสไลด์ กระบอกตวง แท่งแก้ว ตะเกียงแอลกอฮอล์ เข็มเขี่ยปลายแหลม ห่วงถ่ายเชื้อ ปากคีบ ใบมีดผ่าตัด
4. กล้องจุลทรรศน์แบบ compound และ stereo พร้อมกล้องถ่ายภาพ

5. อาหารแยกและเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ water agar (WA) potato dextrose agar (PDA) และ (NA)

6. สารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ ได้แก่ สารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ และ เอธิลแอลกอฮอล์ 75%

7. อุปกรณ์ทำตัวอย่างแห้ง เช่น กระดาษหนังสือพิมพ์ ไม้อัดตัวอย่าง กระดาษฟางซองกระดาษสำหรับใส่ตัวอย่าง

วิธีการ

1. สืบค้นข้อมูล (2565-2566)

สืบค้นข้อมูลโรคของอินทผลัม มันเทศ ลิลลี่ กล้วยไม้สกุลหวายและฟาแลนนอปซิส ที่มีรายงานในประเทศไทยจากเอกสารต่าง ๆ หรือจากข้อมูลอิเล็กทรอนิกส์

2. การสำรวจโรค (2565-2567)

- ปี 2565-2566 สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างชนิดโรคพืช จากแหล่งปลูก อินทผลัมและลิลลี่

- ปี 2566-2567 สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างชนิดโรคพืช จากแหล่งปลูก มันเทศและกล้วยไม้สกุลหวาย และ ฟาแลนนอปซิสกำหนดพื้นที่ในการสำรวจ จากแหล่งปลูกพืชที่สำคัญ

- ปี 2565 สำรวจในพื้นที่ จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ หนองคาย อุดรธานี นครสวรรค์ และอุทัยธานี

- ปี 2566 สำรวจในพื้นที่ จังหวัดอุบลราชธานี ศรีสะเกษ พิษณุโลก สุพรรณบุรี เพชรบูรณ์ และอุดรธานี

- ปี 2567 สำรวจในพื้นที่ จังหวัดสงขลา นครศรีธรรมราช ตราด ระยอง นครปฐม และราชบุรี

วางแผนการสำรวจตามมาตรฐาน ISPM No. 6 (Guidelines for surveillance) โดยทำการสำรวจแบบสืบพบ (Detection survey) เป็นการตรวจสอบศัตรูพืชทุกชนิดที่พบ อย่างน้อยควรทำการสำรวจระยะการเจริญเติบโตของพืช ดังต่อไปนี้ ระยะการงอกของต้นกล้า ระยะแตกหน่อ ระยะออกดอก ระยะออกผล และระยะติดเมล็ด กำหนดพื้นที่ของจังหวัดที่ปลูก ทำการสำรวจไม่น้อยกว่า 10 แปลง/จังหวัด ทำการสุ่มตัวอย่างโดยเดิน 1 แถว เว้น 2 แถว แบบตัวยู และสุ่ม 1 ต้น เว้น 5 ต้น การสุ่มตัวอย่าง 20 ต้น/แปลง

3. การศึกษาชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (2565-2567)

3.1. การศึกษาเชื้อสาเหตุจากตัวอย่างพืชเป็นโรค

ศึกษาสาเหตุจากตัวอย่างโรคพืช ภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ และเขี่ยเชื้อจากตัวอย่างโรคพืชลงบนแผ่นสไลด์ (slide) จากนั้นตรวจเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3.2. แยกเชื้อราจากเนื้อเยื่อพืชเป็นโรค

แยกเชื้อจากส่วนที่เป็นโรค โดยตัดตัวอย่างโรคพืชบริเวณที่เป็นรอยต่อของส่วนที่เป็นโรคและส่วนปกติ ขนาดประมาณ 2x2 มิลลิเมตร ทำการฆ่าเชื้อที่ผิวพืชโดยแช่ชิ้นส่วนพืชลงในสารละลายโซเดียมไฮโปร์คลอไรด์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที ซับให้แห้งด้วยกระดาษกรองที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วจนแห้งสนิท นำชิ้นส่วนพืชมาวางบนอาหาร half strength Potato Dextrose Agar (1/2

PDA) แล้วบ่มไว้ในห้องปฏิบัติการ เป็นเวลา 1-3 วัน ตรวจดูเส้นใยราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ ตัดส่วนปลายเส้นใยของราที่เจริญออกมาจากชิ้นตัวอย่างพืช วางลงบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และนำไปศึกษารายละเอียดของราเพื่อการจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุต่อไป

3.3. การจำแนกชนิดเชื้อราสาเหตุโรคพืช

ศึกษารูปร่างลักษณะของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo และ compound โดยตรวจดูลักษณะเส้นใย conidiophore และสปอร์ และศึกษาลักษณะของสปอร์และโครงสร้างอื่น ๆ ของเชื้อรา โดยการ mount slide ด้วยน้ำหรือ shear's solution

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา ได้แก่ ลักษณะของเส้นใย ขนาด สี ลักษณะของสปอร์ conidiophore สี ขนาด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และ compound บันทึกขนาด รูปร่าง และบันทึกภาพด้วยกล้องถ่ายภาพ

4. การศึกษาชนิดของแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช (2565-2567)

4.1. การแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช

แยกเชื้อจากส่วนของพืชที่มีอาการของโรค ตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาด 2x2 มิลลิเมตร ระหว่างรอยต่อของส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แต่ละชิ้นตัวอย่างนำมาล้างด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง หลังจาก surface sterilize แล้วนำมาบดในน้ำกลั่น ใช้ loop จุ่มในพืชที่บด นำมา streak บนจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร NA (Nutrient agar) แล้วบ่มไว้ในห้องปฏิบัติการ นาน 48-72 ชั่วโมง แล้วเก็บโคโลนี ทำให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์โดยวิธี streak plate หลาย ๆ ครั้ง เก็บ single colony เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์

4.2. จำแนกลักษณะแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช

จำแนกชนิดแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา ศึกษาลักษณะบนอาหารสังเคราะห์ ลักษณะและสีของโคโลนีของแบคทีเรีย

จำแนกลักษณะสายพันธุ์เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชตามคุณสมบัติทางชีวเคมีและฟิสิกส์

5. การศึกษาชนิดของไวรัสสาเหตุโรคพืช (2565-2567)

5.1 การตรวจสอบโรคพืชที่เกิดจากเชื้อไวรัสตรวจดูจากลักษณะอาการภายนอก ส่วนใหญ่พืชที่ถูกเชื้อไวรัสเข้าทำลายจะมีการเจริญที่ผิดปกติในส่วนต่างๆ ของพืชที่มีการเจริญเติบโต โดยเฉพาะบริเวณใบอ่อนหรือยอดอ่อน อาการผิดปกติรวมไปถึงรูปร่างและสีของใบ ดอก ผล เช่น อาการใบด่าง ดอกด่าง ผลบิดเบี้ยว ต้นพืชเตี้ยแคระแกร็นกว่าปกติ

5.2 การตรวจสอบชนิดของเชื้อไวรัส โดยการตรวจสอบด้วยเทคนิค Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) และ/หรือ การศึกษาข้อมูลและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อไวรัส

6. การศึกษาชนิดของไส้เดือนฝอยสาเหตุโรคพืช (2565-2567)

6.1 การเก็บตัวอย่างดิน

เก็บตัวอย่างดินจากแหล่งปลูกพืชในประเทศไทย โดยใช้ท่อเก็บตัวอย่างดินขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 นิ้ว เก็บดินลึกประมาณ 20 เซนติเมตร โดยสุ่มเก็บจำนวน 20 จุดต่อ 1 ตัวอย่าง บันทึกวันที่เก็บตัวอย่าง ชนิดพืช ชนิดดิน อุณหภูมิของดินในขณะเก็บตัวอย่าง บันทึกพิกัดทางภูมิศาสตร์โดยใช้เครื่อง GPS

6.2 การแยกไส้เดือนฝอยจากตัวอย่างดินและจัดจำแนก

แยกไส้เดือนฝอยออกจากตัวอย่างดินโดยวิธีการรินผ่านตะแกรง ร่วมกับการใช้ถาดแยกตัวอย่าง (Decanting and Sieving with Baermann's Tray Technique) คงสภาพไส้เดือนฝอยใน Glycerol และทำสไลด์ถาวร (Cob's Slide) จัดจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา บันทึกภาพ

7. เก็บรักษาตัวอย่างแห้งโรคพืช

เก็บตัวอย่างโรคพืชและมาจัดทำตัวอย่างแห้ง โดยนำส่วนของพืชที่แสดงอาการโรค วางบนกระดาษฟางพร้อมแนบกระดาษบันทึกข้อมูลพืช แล้วปิดทับด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ อัดทับด้วยแผงไม้อัดตัวอย่างโรคพืชเปลี่ยนกระดาษทุกวัน จนกระทั่งตัวอย่างพืชแห้ง แล้วนำตัวอย่างแห้งโรคพืชมาเก็บในถุงกระดาษ พร้อมลงรายละเอียดข้อมูล ได้แก่ ชื่อพืช ลักษณะอาการโรค สถานที่เก็บ ชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคพืช วันที่เก็บ ชื่อผู้เก็บ และชื่อผู้จัดจำแนกชนิดเชื้อรา เป็นต้น แล้วส่งเก็บในพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

บันทึกรายละเอียดของชนิดของโรคพืช ส่วนของพืชที่พบตัวอย่าง ลักษณะอาการของโรค วัน/เดือน/ปี สถานที่ แหล่งที่พบ พิกัดภูมิศาสตร์ (GPS) และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง รวมทั้งการถ่ายภาพและชนิดศัตรูพืชที่ตรวจพบ

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2564 – กันยายน 2565

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสืบค้นข้อมูลโรคพืชของอินทผลัมและลิลลี่

จากการสืบค้นข้อมูลโรคของอินทผลัมและลิลลี่ ที่มีรายงานในประเทศไทยจากเอกสารต่าง ๆ หรือจากข้อมูลอิเล็กทรอนิกส์ พบโรคของอินทผลัมที่เกิดจากเชื้อรา จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ โรคใบเฉา (wilt) สาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* โรคใบร่วง (leaf fall, leaf spot) สาเหตุจากเชื้อรา *Graphiola phoenicis* และโรคช่อดอกเน่า (leaf blight) สาเหตุจากเชื้อรา *Mauginiella seaettae* และโรคของลิลลี่ ที่เกิดจากเชื้อรา 7 ชนิด และ เชื้อไวรัส 1 ชนิด ได้แก่ โรครากและโคนเน่าดำ (black root and stem rot) สาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* โรคหัว

เน่าราเขียว (Blue mold) สาเหตุจากเชื้อรา *Penicillium* sp. โรคใบจุด (Leaf spot) สาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*, *Alternaria*, *Phoma*, *Mycosphaerella*, โรคใบไหม้ (Leaf blight) สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Botrytis cinereal* และโรคใบด่าง (Mosaic) สาเหตุเกิดจากเชื้อไวรัส *Cucumber mosaic virus* (CMV) (Table 1)

2. การสำรวจ เก็บตัวอย่างโรค และจำแนกชนิด

สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคของอินทผลัมและลิลลี่ ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 ถึง เดือนกันยายน 2565 ในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย พะเยา อุตรดิตถ์ ชัยภูมิ อุดรธานี หนองคาย อุบลราชธานี บุรีรัมย์ เพชรบูรณ์ กำแพงเพชร พิษณุโลก สุโขทัย นครสวรรค์ อุทัยธานี และตาก รวม 16 จังหวัด นำมาศึกษาและจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุได้ ดังนี้ อินทผลัม พบโรคใบจุด Graphiola หรือ False Smut สาเหตุจากเชื้อรา *Graphiola phoenicis* (Figure 1) โรคใบจุด (leaf spot) สาเหตุจากเชื้อรา *Pestalotiopsis* sp. (Figure 2) และโรคราดำ (Sooty Mold) สาเหตุจากเชื้อรา *Meliola* sp. (Figure 3) นอกจากนี้ยังพบลักษณะอาการใบจุดสีเหลืองออกส้มที่เกิดจากการขาดธาตุโพแทสเซียม และอาการใบล่างเหลืองที่เกิดจากการขาดธาตุไนโตรเจน ลิลลี่ พบโรคใบด่าง สาเหตุจากเชื้อไวรัส *Cucumber mosaic virus* (CMV) (Figure 4) ดัง Table 2

ตัวอย่างโรคพืชที่ได้จากการศึกษาจะเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจ รวบรวม และศึกษาชนิดของโรคอินทผลัมและลิลลี่ ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 – เดือนกันยายน 2565 ในพื้นที่จังหวัดจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย พะเยา อุตรดิตถ์ ชัยภูมิ อุดรธานี หนองคาย อุบลราชธานี บุรีรัมย์ เพชรบูรณ์ กำแพงเพชร พิษณุโลก สุโขทัย นครสวรรค์ อุทัยธานี และตาก นำมาศึกษาและจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุได้ ดังนี้ อินทผลัม พบโรคใบจุด Graphiola หรือ False Smut สาเหตุจากเชื้อรา *Graphiola phoenicis* โรคใบจุด (leaf spot) สาเหตุจากเชื้อรา *Pestalotiopsis* sp. และโรคราดำ สาเหตุจากเชื้อรา *Meliola* sp. นอกจากนี้ยังพบลักษณะอาการขาดธาตุโพแทสเซียมและธาตุไนโตรเจน ส่วนลิลลี่พบโรคใบด่าง สาเหตุจากเชื้อไวรัส *Cucumber mosaic virus* (CMV) ซึ่งการสำรวจและศึกษาจำแนกเชื้อสาเหตุโรคของอินทผลัมและลิลลี่จะดำเนินการต่อเนื่องในปีถัดไปเพื่อให้ครอบคลุมทุกระยะการเจริญเติบโตของพืชและพื้นที่ปลูกของประเทศไทย

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณสมาชิกห้องปฏิบัติการวิทยาไมโค กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช ที่ให้ความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างและดำเนินการทดลอง รวมถึงขอขอบคุณเกษตรกรสวนอินทผลัมและลิลลี่ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการสำรวจและให้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในการทำงานวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

พรพิมล อธิปัญญาคม สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ ชนินทร ดวงสอาด ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และ เยาวภา ตันติวานิช. 2555. การศึกษาชนิดของโรคพืชของพืชเพื่อการส่งออก (มะละกอ และ มะพร้าวน้ำหอม) และพืชนำเข้า (ปาล์มน้ำมันและหัวพันธุ์ไม้ดอก). หน้า 1198-1214. *ใน*: *ผลงานวิจัยประจำปี 2554*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

สุมิตร วิลัยพร. 2565. จับตายศัตรูตัวร้ายในสวนอินทผลัม. *น.ส.พ. กสิกร* 95(3/2565) : 33-40.

สัมฤทธิ์ เฟื่องจันทร์. 2519. อินทผลัมปลูกได้ในประเทศไทยหรือ. *แก่นเกษตร* 4(4): 32-37.

สุรภี กีรติยะอังกูร และธารทิพย ภาสบุตร. 2548. โรคของลิลลี่. หน้า 90-101. ใน : โรคไม้ดอก. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ. 132 หน้า.

Table 1 Diseases associated with date palm and lily in Thailand

Plant Diseases	Pathogens	References
Date palm (*Phoenix dactylifera* L.)		
FUNGI		
Wilt	*Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*	Feungchan (1976)
Leaf fall, Leaf spot	*Graphiola phoenicis*	Feungchan (1976); Wilaiphon (2022)
Leaf blight	*Mauginiella seaettae*	Feungchan (1976)
Lilly (*Lilium speciosum*)		
FUNGI		
Black root and stem rot	*Fusarium oxysporum*	Kiratiya-angul and Passabut (2005)
Blue mold	*Penicillium* sp.	Kiratiya-angul and Passabut (2005)
Leaf spot	*Colletotrichum gloeosporioides*, *Alternaria*, *Phoma*, *Mycosphaerella*,	Athipanyakom *et al.* (2012)
Leaf blight	*Botrytis cinereal*	Athipanyakom *et al*. (2012)
VIRUS		
Mosaic	*Cucumber mosaic virus* (CMV)	Kiratiya-angul and Tharntip (2005)

Table 2 Disease of date palm and lily collected from various locations during October 2021 to September 2022

Plant Diseases	Pathogens	Location
Date palm (*Phoenix dactylifera* L.)		
Graphiola leaf spot, False Smut	*Graphiola phoenicis*	**Chiang Mai province** (Doi Saket district) **Phayao province** (Phu Kamyao district) **Uttaradit province** (Mueang Uttaradit district, Laplae district) **Sukhothai province** (Si Samrong district) **Phitsanulok province** (Wang Thong district, Phrom Phiram district) **Tak province** (Mueang Tak district, Mae Sot district, Wang Chao district) **Phetchabun province** (Mueang Phetchabun district) **Udon Thani province** (Mueang Udon Thani district, Ban Phue district) **Nong Khai province** (Phon Phisai district, Rattanawapi district) **Ubon Ratchathani province** (Mueang Ubon Ratchathani district) **Buri Ram province** (Mueang Buri Ram district, Krasang district) **Kamphaeng Phet province** (Kosamphi Nakhon district, Khanu Woralaksaburi district) **Nakhon Sawan province** (Mueang Nakhon Sawan district) **Uthai Thani province** (Ban Rai district)

Table 2 Disease of date palm and lily collected from various locations during October 2021 to September 2022

Plant Diseases	Pathogens	Location
Sooty mold	*Meliola* sp.	**Uttaradit province** (Mueang Uttaradit district, Laplae district)
Leaf spot	*Pestalotiopsis* sp.	**Nong Khai province** (Phon Phisai district) **Phayao province** (Phu Kamyao district) **Uttaradit province** (Mueang Uttaradit district) **Phitsanulok province** (Wang Thong district)
Lilly (*Lilium speciosum*)		
โรคใบด่าง (Mosaic)	*Cucumber mosaic virus* (CMV)	**Chiang Mai province** (Mae Rim district)

Figure 1 Graphiola leaf spot (False Smut) disease on date palm caused by *Graphiola phoenicis* at Mueang Udon Thani district, Udon Thani province

Figure 2 Leaf spot disease on date palm caused by *Pestalotiopsis* sp. at Mueang Uttaradit district, Uttaradit province

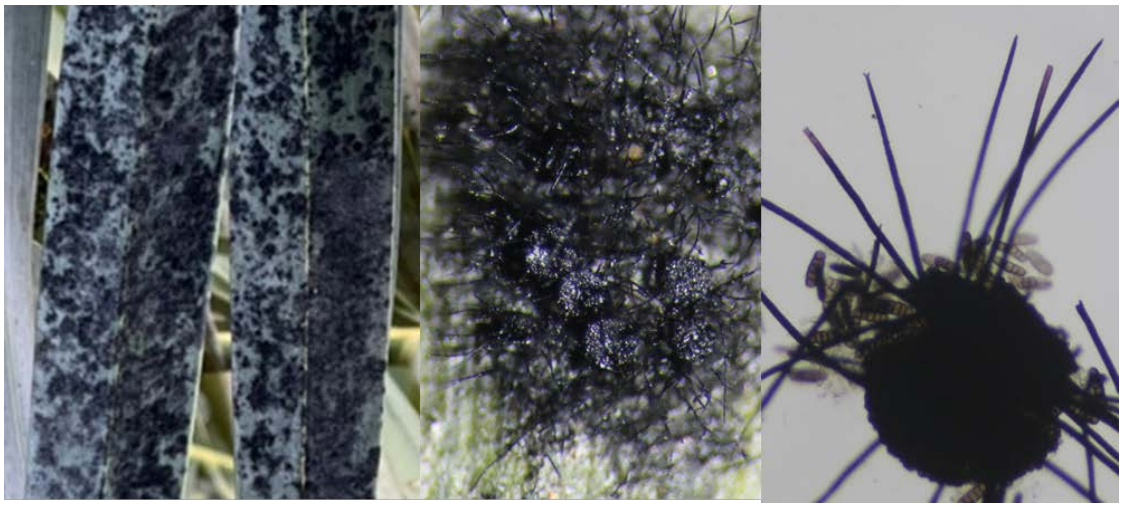


Figure 3 Sooty mold disease on date palm caused by *Meliola* sp. at Laplae district, Uttaradit province.

Figure 4 Mosaic disease on lily caused by *Cucumber mosaic virus* (CMV) at Mae Rim district, Chiang Mai province

การศึกษาชนิดของวัชพืชใน อินทผลัม มันเทศ ลิลลี่ กล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิส เพื่อจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช

Studies on weed species in date-palm, sweet potato, lily, dendrobium and phalaenopsis orchids. to create a list of pests

ธัญชนก จงรักไทย อัณศยา พรมมา

กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาชนิดของวัชพืชใน อินทผลัม มันเทศ ลิลลี่ กล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิส เพื่อจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม 2564–กันยายน 2565 โดยดำเนินการสำรวจวัชพืชในอินทผลัม และลิลลี่ ในภาคเหนือ จำนวน 7 จังหวัด ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 8 จังหวัด ภาคกลาง จำนวน 13 จังหวัด พบแปลงอินทผลัม 55 แปลง และลิลลี่ 2 แปลง สามารถระบุชนิดวัชพืชรวมได้ 65 ชนิด โดยเป็นวัชพืชที่พบในอินทผลัม 55 ชนิด และในลิลลี่ 11 ชนิด และจัดทำตัวอย่างแห้งของวัชพืชเก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์วัชพืช 25 ตัวอย่าง และเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์วัชพืช กลุ่มวิจัยวัชพืช

คำหลัก : วัชพืช อินทผลัม มันเทศ ลิลลี่ กล้วยไม้สกุลหวาย กล้วยไม้สกุลฟาแลนนอปซิส

รหัสการทดลอง FF65-55-01-65-00-04-65

คำนำ

การเคลื่อนย้ายสิ่งต่างๆ ผ่านสิ่งกีดขวางทางภูมิศาสตร์ อาจมีสิ่งมีชีวิตอื่นที่ไม่พึงประสงค์ติดไป และเมื่อถึงแหล่งใหม่ก็อาจสามารถเจริญเติบโต ขยายพันธุ์และแพร่กระจาย จนกลายเป็นปัญหาในแหล่งนั้นได้ ผลผลิตทางการเกษตรที่มีการจัดการไม่ดี มักมีศัตรูพืชติดไป ดังนั้นแต่ละประเทศจึงมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช และกำหนดมาตรการลดความเสี่ยง มิให้ศัตรูพืชติดไป ซึ่งการจะวิเคราะห์ความเสี่ยงได้มีประสิทธิภาพ จำเป็นต้องมีข้อมูลศัตรูพืชที่ถูกต้อง เป็นปัจจุบัน และขณะเดียวกันการเปิดตลาดสินค้าเกษตรชนิดใดในต่างประเทศ ประเทศผู้ส่งออกจะต้องจะต้องส่งรายชื่อศัตรูพืชให้ประเทศผู้นำเข้า การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช เป็นงานที่สนับสนุนการส่งออก และเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยง เพื่อป้องกันมิให้ศัตรูอื่น ๆ ที่ยังไม่มีในประเทศไทย เข้ามาระบาด โดยมาตรการทางกฎหมาย การศึกษาชนิดวัชพืชส่งออก และพืชน้ำเข้าจึงมีความสำคัญ และรวบรวมตัวอย่างพืชเข้าพิพิธภัณฑ์พืช-ศัตรูพืช ใช้เป็นหลักฐานในการสืบค้น สำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช และกำหนดมาตรการลดความเสี่ยงในการนำเข้า และส่งออกสินค้าเกษตรต่อไป

ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ จึงเป็นการศึกษาชนิดวัชพืชในอินทผลัม มันเทศ ลิลลี่ กล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิส และได้ตัวอย่างวัชพืชเก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์เพื่อเป็นหลักฐานทางวิชาการ เพื่อประโยชน์ในการค้าระหว่างประเทศการจัดทำฐานข้อมูลวัชพืชที่ถูกต้องและเป็นปัจจุบัน และเป็นข้อมูลสนับสนุนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ที่เกี่ยวข้องกับวัชพืช

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- การสำรวจ ได้แก่ แผนที่ สมุดบันทึก กรรไกร ถุงพลาสติก ปากกาเขียนพลาสติกหรือกระดาษป้ายชื่อ กล้องถ่ายภาพ เครื่องวัดพิกัดภูมิศาสตร์ หรือโทรศัพท์ที่สามารถรับสัญญาณดาวเทียมระบุพิกัดภูมิศาสตร์ได้

- การตรวจสอบชนิดพืช ได้แก่ แว่นขยายขนาด 10 เท่า กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ เข็มเขี่ย ปากคีบ หนังสือคู่มือการจำแนกพรรณไม้ต่างๆ

วิธีการ

การสำรวจแปลงพืชเป้าหมายในพื้นที่ที่สามารถเข้าถึงโดยรถยนต์ หรืออยู่ในระยะที่สามารถเดินเข้าถึงได้ การสำรวจโดยเดินตามแนวตั้งฉากกับด้านยาวของแปลงอย่างน้อย 3 แนว และ/หรือแนวทแยงมุม จดบันทึกวัชพืชทุกชนิดที่พบ จนกว่าจะไม่พบชนิดใหม่เพิ่มเติม สำหรับวัชพืชที่ไม่สามารถระบุชนิดได้นำตัวอย่างสด หรือจัดทำตัวอย่างแห้ง เพื่อศึกษารายละเอียดเพิ่มเติม ที่กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร

การวิเคราะห์ข้อมูล ชนิด และปริมาณ เนื่องจากวัชพืชที่พบในแต่ละแหล่ง แต่ละแปลงแตกต่างกันทั้งชนิดและปริมาณ การเปรียบเทียบจึงต้องทำปรับให้เป็นหน่วยเดียวกันก่อน โดยปรับเปลี่ยนเป็นความถี่ในการพบแต่ละชนิด เป็นความถี่สัมพัทธ์ของวัชพืชแต่ละชนิด โดยคำนวณตามสูตรดังนี้

ความถี่สัมพัทธ์ของวัชพืช ก. = (จำนวนครั้งที่พบพืช ก / จำนวนครั้งที่พบพืชทุกชนิดรวมกัน) x 100

การตรวจสอบชนิดพืช โดยการเทียบกับตัวอย่างพันธุ์ไม้ในพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพ อาคารพิพิธภัณฑ์พืชสิรินธร กรมวิชาการเกษตร หรือหอพรรณไม้ กรมอุทยาน พรรณพืชและสัตว์ป่า และ/หรือ ตรวจสอบกับเอกสารเกี่ยวกับวัชพืช และพืชพรรณต่างๆ เช่น Flora of Thailand, Weeds of Rice in Indonesia, Common Weeds of Malaysia, Major Weed of Thailand, Weeds in Highland of Northern Thailand, Major Weeds of the Philippines, Common Weeds in Vietnam, Weeds of Soybean Fields in Thailand, Wild Flowers of Japan, Chinese Colored Weed Illustrated Book, Weed Flora of Japan – Illustrated by Colour, Weeds in Australia, Western Weeds, Weeds เป็นต้น

เวลาและสถานที่

ทำการสำรวจเก็บตัวอย่างในภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ระหว่างเดือนตุลาคม 2564–กันยายน 2565

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

สำรวจวัชพืชในอินทผลัม และลิลลี่ ในภาคเหนือ จำนวน 7 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ พะเยา ลำปาง แพร่ อุตรดิตถ์ และลำพูน จำนวน 16 แปลง ประกอบด้วย อินทผลัม 14 แปลง และลิลลี่ 2 แปลง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 8 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดนครพนม บุรีรัมย์ อุดรธานี อุบลราชธานี หนองคาย นครราชสีมา กาฬสินธุ์ และสกลนคร จำนวน 17 แปลง เป็นแปลงอินทผลัมทั้งหมด และภาคกลาง จำนวน 13 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดสุพรรณบุรี ชัยนาท สิงห์บุรี ลพบุรี นครสวรรค์ นนทบุรี นครปฐม พระนครศรีอยุธยา อ่างทอง กำแพงเพชร อุทัยธานี พิษณุโลก และสระบุรี จำนวน 24 แปลง เป็นแปลงอินทผลัมทั้งหมด

จากการสำรวจวัชพืชจำนวน 57 แปลง ประกอบด้วย อินทผลัม 55 แปลง และลิลลี่ 2 แปลง สามารถระบุชนิดวัชพืชรวมได้ 65 ชนิด โดยแยกเป็นในอินทผลัม 55 ชนิด และในลิลลี่ 11 ชนิด และยังไม่สามารถระบุชนิดได้อีกหลายตัวอย่าง เช่น วงศ์ Asteraceae และได้ตัวอย่างวัชพืชเก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์วัชพืช 25 ตัวอย่าง และเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์วัชพืช กลุ่มวิจัยวัชพืช

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจพื้นที่ปลูกอินทผลัม และลิลลี่ ในภาคเหนือ จำนวน 7 จังหวัด ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 8 จังหวัด ภาคกลาง จำนวน 13 จังหวัด พบแปลงอินทผลัม 55 แปลง และลิลลี่ 2 แปลง สามารถระบุชนิดวัชพืชรวมได้ 65 ชนิด โดยเป็นวัชพืชที่พบในอินทผลัม 55 ชนิด และในลิลลี่ 11 ชนิด และจัดทำตัวอย่างแห้งของวัชพืชเก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์วัชพืช 25 ตัวอย่าง และเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์วัชพืช กลุ่มวิจัยวัชพืช

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณบุคลากรที่ช่วยปฏิบัติงานวิจัย ทั้งข้าราชการ พนักงานราชการ ลูกจ้างประจำ และพนักงานจ้างเหมา นอกจากนี้ยังมีผู้ที่ให้ความช่วยเหลือสนับสนุนในด้านต่างๆ แต่มิได้เอ่ยนามไว้ ซึ่งล้วนแต่มีส่วนส่งเสริมให้การวิจัยนี้ดำเนินงานจนเป็นผลสำเร็จ

เอกสารอ้างอิง

ก่องกานดา ชยามฤต และนันท์นภัส ภัทรหิรัญไตรสิน. 2551. *ลักษณะประจำวงศ์พรรณไม้ 3*. กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ 90 หน้า.

ก่องกานดา ชยามฤต. 2548. *ลักษณะประจำวงศ์พรรณไม้.* กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. กรุงเทพฯ 113 หน้า.

ก่องกานดา ชยามฤต. 2549. *ลักษณะประจำวงศ์พรรณไม้ 2.* กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช. อรุณการพิมพ์. กรุงเทพฯ 88 หน้า.

คริสเตียน พุฟ ก่องกานดา ชยามฤต และวรดลย์ แจ่มจำรูญ. 2548. *พืชวงศ์เข็มของประเทศไทย คู่มือภาพสกุลที่พบในประเทศและสกุลที่นำเข้ามาปลูก พร้อมคำบรรยายประกอบ.* สำนักหอพรรณไม้ กรมอุทยานแห่งชาติสัตว์ป่าและพันธุ์พืช. บริษัทประชาชน จำกัด. 245 หน้า.

ปัญญา ติดมา. 2552. พรรณไม้ ภูฝอยลม. *สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช.* ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย 112 หน้า.

ภาควิชาเภสัชพฤกษศาสตร์. 2539. สมุนไพรสวนสิรีรุกขชาติ. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. อมรินทร์พริ้นติ้ง แอนด์ พับลิชชิ่ง. 257 หน้า.

มูลนิธิมหาวิทยาลัยมหิดล. 2543. *สารานุกรมสมุนไพร เล่มที่ 4: กกยาอีสาน.* อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด (มหาชน). 266 หน้า.

เมธินี ดาฤมาศสวัสดิ์ 2549. *พรรณไม้ห้วยทราย จังหวัดเพชรบุรี.* สำนักหอพรรณไม้. สำนักหอพรรณไม้ กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช. ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย 221 หน้า.

ยุทธนา ธนาสินทรัพย์. 2541. *พรรณไม้ป่าเมืองไทย*. สทรีท พริ้นติ้ง จำกัด. กรุงเทพฯ 128 หน้า

ราชบัณฑิตยสถาน. 2547. *อนุกรมวิธานพืช อักษร ข.* หจก.อรุณการพิมพ์. กรุงเทพฯ. 263หน้า.

ราชบัณฑิตยสถาน. 2547. *อนุกรมวิธานพืช อักษร ก.* (พิมพ์ครั้งที่ 2) หจก.อรุณการพิมพ์. กรุงเทพฯ. 524 หน้า.

วงศ์สถิตย์ ฉั่วกุล พร้อมจิต ศรลัมพ์ และสมภพ ประธานธุรารักษ์. 2543. *สารานุกรมสมุนไพร เล่ม 2 สยามไภษัชยพฤกษ์.* คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. อมรินทร์พริ้นติ้ง แอนด์ พับลิชชิ่ง. 255 หน้า.

วงศ์สถิตย์ ฉั่วกุล พร้อมจิต ศรลัมพ์ วิชิต เปานิล และรุ่งระวี เต็มศิริฤกษ์กุล. 2539. *สมุนไพรพื้นบ้านล้านนา.* ภาควิชาเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์ พับลิชชิ่ง.264 หน้า.

วีระชัย ณ นคร (บรรณาธิการ). 2537. *สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ เล่ม 1.* องค์การสวนพฤกษศาสตร์ สำนักนายกรัฐมนตรี. โอ เอส พริ้นติ้งเฮ้าส์. กรุงเทพฯ 115 หน้า.

วีระชัย ณ นคร (บรรณาธิการ). 2538. *สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ เล่ม 2.* องค์การสวนพฤกษศาสตร์ สำนักนายกรัฐมนตรี. โอ เอส พริ้นติ้งเฮ้าส์. กรุงเทพฯ. 153 หน้า.

วีระชัย ณ นคร (บรรณาธิการ). 2539. *สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ เล่ม 3.* องค์การสวนพฤกษศาสตร์ สำนักนายกรัฐมนตรี. โอ เอส พริ้นติ้งเฮ้าส์. กรุงเทพฯ 154 หน้า.

วีระชัย ณ นคร (บรรณาธิการ). 2544. *สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ เล่ม 4.* องค์การสวนพฤกษศาสตร์ สำนักนายกรัฐมนตรี. โอ เอส พริ้นติ้งเฮ้าส์. กรุงเทพฯ 154 หน้า.

วีระชัย ณ นคร (บรรณาธิการ). 2544. *สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ เล่ม 5* พิมพ์ครั้งที่ 2. องค์การสวนพฤกษศาสตร์ สำนักนายกรัฐมนตรี. โอ เอส พริ้นติ้งเฮ้าส์. กรุงเทพฯ 205 หน้า.

วีระชัย ณ นคร (บรรณาธิการ). 2545. *พรรณไม้น้ำบึงบอระเพ็ด.* องค์การสวนพฤกษศาสตร์ สำนักนายกรัฐมนตรี. โอ เอส พริ้นติ้งเฮ้าส์. กรุงเทพฯ 132 หน้า.

สมจิตร พงศ์พงัน และสุภาพ ภู่ประเสริฐ. 2534. *พืชกินได้และพืชมีพิษในป่าเมืองไทย.* สมาคมวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทยในพระบรมราชูปถัมภ์. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. กรุงเทพฯ 176 หน้า.

สมาคมวิทยาการวัชพืชแห่งประเทศไทย. 2545. *วัชพืชสามัญภาคกลาง.* ฟันนี่พับบลิชชิ่ง. 135 หน้า.

สุชาดา ศรีเพ็ญ, คุณหญิง. 2542. พรรณไม้น้ำในประเทศไทย. อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง. 312 หน้า.

สุรชัย มัจฉาชีพ. 2538. *วัชพืชในประเทศไทย.* สำนักพิมพ์แพร่พิทยา. 200 หน้า.

อุไร จิรมงคลการ. 2547. *ผักพื้นบ้าน 1*. อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด (มหาชน). กรุงเทพฯ 223 หน้า

อุไร จิรมงคลการ. 2547. *ผักพื้นบ้าน 2.* อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด (มหาชน). กรุงเทพฯ 223 หน้า

Auld, B.A. and Medd, R.W. 2002. *Weeds An Illustrated botanical guide to the weeds of Australia*. Inkata Press. Australia. 255p.

C. Erichsen-Brown. 1979. *Medicinal and other Uses of North American Plants : a Historical Survey with Special Reference to the Eastern Indian* Tribes. Dover Publication, Inc. New York 512p.

Cheung Siu-Cheong. and Li Ning-hon. 1980. *Chinese Medicinal herbs of Hong Kong. Vol.1*. Chinese Medical Research Institute. Hong Kong. 216p.

Cheung Siu-Cheong. and Li Ning-hon. 1984. *Chinese Medicinal herbs of Hong Kong. Vol.2.* Chinese Medical Research Institute. Hong Kong. 219p.

Cheung Siu-cheong and Li Ning-hon. 1985. *Chinese Medicinal herbs of Hong Kong. Vol.4.* Chinese Medical Research Institute. Hong Kong. 220p.

Cheung Siu-cheong and Li Ning-hon. 1986. *Chinese Medicinal herbs of Hong Kong. Vol.5.* Chinese Medical Research Institute. Hong Kong. 286p.

D.E. Barnes and L.G. Chan. 1990. *Common Weeds of Malaysia and their Control.* Percetakan Seasons Sdn. 349p.

Ditomaso, J.M. and E.A. Healy. 2003. *Aquatic and riparian Weeds of the West.* University of California. 442p.

Ermert, S. and L. Clapp. 2001. *Gardener's Companion to Weeds. 2nd ed.* Kyodo Printing, Singapore. 240p.

Foo Tok Shiew and Tan Bee Hong. 2002. *A Guide to the Wildflowers of Singapore.* Singapore Science Centre. Singapore. 160p.

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

Harada, J., H. Shibayama, and H. Morita. 1996. *Weeds in the Tropics. Association for International Cooperation of Agriculture & Forestry, Japan*. Sanbi Printing. 304p.

Haslam, S.M. River plants: 1978. *The macrophytic vegetation of watercourses. Cambridge University Press. London*. 396p.

Hobbs, R.J. and Humphries, S.E. 1995. *An Integrated Approach to the Ecology and Management of Plant Invasions.* Conservation Biology: 9-4 p761-770.

Holm, L., J.V. Pancho, J.P. Herberger. and D.L. Plucknett. 1979. *A Geographical Atlas of World Weeds*. John Wiley & Sons, New York. 391p.

Holm, L., D.L. Plucknett, J.V. Pancho,.and J.P. Herberger, J.P. 1977. *The World's Worst Weeds; Distribution and Biology.* The East-West Center by the University press of Hawaii, Honolulu. 609p.

Hussey, B.M.J., G.J. Keighery, J. Dodd, S.G. Lloyd, and P.D. Cousens. 2007. *Western Weeds 2nd ed. A guide to the weeds of Western Australia*. Scott Print, perth. 294p. Lamp, C. and F. Collet. 2002. Field Guide to Weeds in Australia 3rd ed. Inkata Press. Sydney.

M. Numata and N. yoshizawa. 1975. *Weed flora of Japan Illustrated by Colour. Zenkoku Noson Kyoiku Kyokai*. Japan. 416p.

Maxwell, J.F. 2006. *Vascular Flora of Ko Hong Hill, songkla Province, Thailand. Thai Studies inBiodiversity No.6.* Urai Graphics, Nontaburi. Thailand. 472pp.

Na Songkhla, B. and C. Khumwasi. 1993. *The Study on Ten Genera of Convolvulaceae in Thailand*. Thai Forest Bulletin (Botany) 20:1-92.

Shuji Uyemura, T. Katsuyama, N. Shimizu, M. Mizuta, H. Morita, S. Hirota and N. Ikehara. 2010. *Plant invader 500 species, 2nd ed*. Zenkoku Noson Kyoiku Kyokai. Japan. 580p.

Simpson, D.A. and Koyama, T. 1998. Cyperaceae. Flora o Thailand Vol. 6(4): pp.247-485. Smithinand, T and K. Larsen. 1984. *Flora of Thailand. Vol. 2 Part 1.* The Forest Herbarium, Royal Forest Department. Bangkok.

Smithinand, T and K. Larsen. 1985. *Flora of Thailand. Vol. 2 Part 2.* The Forest Herbarium, Royal Forest Department. Bangkok.

Smithinand, T and K. Larsen. 1987. *Flora of Thailand. Vol. 5 Part 1.* The Forest Herbarium, Royal Forest Department. Bangkok.

Smithinand, T and K. Larsen. 1990. *Flora of Thailand. Vol. 5 Part 2.* The Forest Herbarium, Royal Forest Department. Bangkok.

Smithinand, T and K. Larsen. 1991. *Flora of Thailand. Vol. 5 Part 3.* The Forest Herbarium, Royal Forest Department. Bangkok.

Smithinand, T and K. Larsen. 1992. *Flora of Thailand. Vol. 5 Part 4.* The Forest Herbarium, Royal Forest Department. Bangkok.

Smithinand, T and K. Larsen. 1993. *Flora of Thailand. Vol. 6 Part 1.* The Forest Herbarium, Royal Forest Department. Bangkok.

Smithinand, T and K. Larsen. 1996. *Flora of Thailand. Vol. 5 Part 2.* The Forest Herbarium, Royal Forest Department. Bangkok.

Smithinand, T and K. Larsen. 1997. *Flora of Thailand. Vol. 5 Part 3.* The Forest Herbarium, Royal Forest Department. Bangkok.

Soerjani M., A.J.G.H. Kostermans and G. Tjitrosoepomo. 1987. *Weeds of Rice in Indonesia*. Balai Pustaka. Jakarta. 716p.

Suk Jin Koo, yong Woong Kwon and Duang Van Chin. 2005. *Common Weeds in Vietnam*. Saigon Plant Protection Stated Limited Company. Vietnam. 488p.

Tavatchai Radanachaless and J.F. Maxwell. 1994. *Weeds of Soybean fields in Thailand*. Multiple Cropping Center. Chiangmai. 408p.

Table 1 weed species found in the survey on date-palm

No.	Family	Sciencetific name	commom name (Thai name)
1	Amaranthaceae	*Achyranthes aspera* L.	พันงูขาว
2	Leguminosae	*Aeschynomene americana* L.	โสนดอน
3	Asteraceae	*Ageratum conyzoides* (L.) L.	สาบแร้งสาบกา
4	Amaranthaceae	*Amaranthus viridis* L.	ผักโขม
5	Lythraceae	*Ammannia baccifera* L.	มะไฟนกคุ้ม
6	Acanthaceae	*Asystasia gangetica* (L.) T.Anderson	บาหยา
7	Poaceae	*Axonopus compressus* (Sw.) P.Beauv.	หญ้ามาเลเซีย
8	Asteraceae	*Bidens pilosa* L.	ก้นจ้ำขาวดอกใหญ่
9	Nyctaginaceae	*Boerhavia diandra* L.	ผักโขมหินใบแหลม
10	Nyctaginaceae	*Boerhavia diffusa* L.	ผักโขมหิน
11	Nyctaginaceae	*Boerhavia repens* L.	ผักโขมหิน
12	Poaceae	*Brachiaria reptans* (L.) C.A.Gardner & C.E.Hubb.	หญ้าตีนติด
13	Asteraceae	*Chromolaena odorata* (L.) R.M.King & H.Rob.	สาบเสือ
14	Cleomaceae	*Cleome rutidosperma* DC.	ผักเสี้ยนดอกม่วง
15	Cleomaceae	*Cleome viscosa* L.	ผักเสี้ยนผี
16	Cucurbitaceae	*Coccinia grandis* (L.) Voigt	ตำลึง
17	Commelinaceae	*Commelina benghalensis* L.	ผักปลาบไร่
18	Commelinaceae	*Commelina diffusa* Burm.f.	ผักปลาบ
19	Malvaceae	*Corchorus aestuans* L.	ปอวัชพืช
20	Asteraceae	*Cyanthillium cinereum* (L.) H.Rob.	หญ้าละออง
21	Poaceae	*Cynodon dactylon* (L.) Pers.	หญ้าแพรก
22	Cyperaceae	*Cyperus difformis* L.	กกขนาก
23	Cyperaceae	*Cyperus irria* L.	กกทราย

Table 1 weed species found in the survey on date-palm (continue)

No.	Family	Sciencetific name	commom name (Thai name)
24	Cyperaceae	*Cyperus laxus* Lam.	หญ้าตีนกา
25	Cyperaceae	*Cyperus rotundus* L.	แห้วหมู
26	Poaceae	*Dactyloctenium aegyptium* (L.) Willd.	หญ้าปากควาย
27	Poaceae	*Digitaria ciliaris* (Retz.) Koeler	หญ้าตีนนก
28	Poaceae	*Echinochloa colona* (L.) Link	หญ้านกสีชมพู
29	Asteraceae	*Eclipta prostrata* (L.) L.	กะเม็ง
30	Asteraceae	*Emilia sonchifolia* (L.) DC. ex DC.	หูปลาช่อน
31	Euphorbiaceae	*Euphorbia heterophylla* L.	หญ้ายาง
32	Euphorbiaceae	*Euphorbia hirta* L.	น้ำนมราชสีห์
33	Convolvulaceae	*Evolvulus nummularius* (L.) L.	ใบต่างเหรียญ
34	Cyperaceae	*Fimbristylis quinquangularis* (Vahl) Kunth	หนวดปลาดุก
35	Amaranthaceae	*Gomphrena celosioides* Mart.	บานไม่รู้โรยป่า
36	Boraginaceae	*Heliotropium indicum* L.	หญ้างวงช้าง
37	Poaceae	*Imperata cylindrica* (L.) Raeusch.	หญ้าคา
38	Convolvulaceae	*Ipomoea aquatica* Forssk.	ผักบุ้ง
39	Onagraceae	*Ludwigia hyssopifolia* (G.Don) Exell	เทียนนา
40	Poaceae	*Melinis repens* (Willd.) Zizka	หญ้าดอกแดง
41	Malvaceae	*Melochia corchorifolia* L.	เซ่งใบมน
42	Asteraceae	*Mikania micrantha* Kunth	ขี้ไก่ย่าน
43	Leguminosae	*Mimosa diplotricha* Sauvalle	ไมยราบเครือ
44	Leguminosae	*Mimosa pigra* L.	ไมยราบยักษ์
45	Leguminosae	*Mimosa pundica* L.	ไมยราบหนาม
46	Cucurbitaceae	*Momordica charantia* L.	มะระขี้นก
47	Passifloraceae	*Passiflora foetida* L.	กะทกรก
48	Phyllanthaceae	*Phyllanthus amarus* Schumach. & Thonn.	ลูกใต้ใบ
49	Phyllanthaceae	*Phyllanthus virgatus* G.Forst.	ขางอำไพ
50	Solanaceae	*Physalis minima* L.	โทงเทง
51	Asteraceae	*Praxelis clematidea* (Griseb.) R.M.King & H.Rob.	สาบม่วง
52	Acanthaceae	*Ruellia tuberosa* L.	ต้อยติ่ง
53	Plantaginaceae	*Scoparia dulcis* L.	กระต่ายจาม
54	Asteraceae	*Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski	กระดุมทองเลื้อย
55	Asteraceae	*Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn.	ผักแครด

Table 2 weed species found in the survey on Lilly

No.	Family	Sciencetific name	commom name (Thai name)
1	Asteraceae	*Ageratum conyzoides* (L.) L.	สาบแร้งสาบกา
2	Amaranthaceae	*Amaranthus viridis* L.	ผักโขม
3	Apiaceae	*Centella asiatica* (L.) Urb.	ใบบัวบก
4	Asteraceae	*Chromolaena odorata* (L.) R.M.King & H.Rob.	สาบเสือ
5	Asteraceae	*Conyza sumatrensis* (Retz.) Wolker	จ้อล่อ
6	Cyperaceae	*Cyperus laxus* Lam.	หญ้าตีนกา
7	Asteraceae	*Galinsoga quadriradiata* Ruiz & Pav.	
8	Asteraceae	*Mikania micrantha* Kunth	ขี้ไก่ย่าน
9	Oxalidaceae	*Oxalis corniculata* L.	ส้มกบ
10	Urticaceae	*Pilea microphylla* (L.) Liebm.	ขมหินใบน้อย
11	Asteraceae	*Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn.	ผักแครด

Figure 1 Date-palm crop at Chiang Rai province

Figure 2 Date-palm crop at Phayao province

Figure 4 Lilly crop at Chiang Rai province

Figure 5 Lilly crop at Chiang Mai province

การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้าลิลลี่จากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก

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

วาสนา ฤทธิ์ไธสง[1/] อลงกต โพธิ์ดี[1/] วานิช คำพานิช[1/] ณฐมน แก้วนุ้ย[2/]
จันทร์พิศ เดชหามาตย์[1/] วาสนา รุ่งสว่าง[1/] สุรศักดิ์ แสนโคตร[1/]
กาญจนา วาระวิชะนี[2/]
[1/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ลิลลี่ (*Lilium* spp.) เป็นไม้ดอกเมืองหนาว ซึ่งมีการนำเข้ามาในประเทศไทยทั้งในรูปแบบของไม้ตัดดอก ต้นพร้อมกระถาง และหัวพันธุ์เพื่อการค้า โดยนำเข้ามาจากสาธารณรัฐประชาชนจีนและสาธารณรัฐสังคมนิยมเวียดนามเป็นจำนวนมาก คิดเป็นมูลค่ากว่า 191 ล้านบาท เนื่องจากลิลลี่จัดเป็นสิ่งกำกัดการนำเข้าจึงมีเพียงใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาพร้อมกับสินค้าโดยไม่มีมาตรการจัดการก่อนนำเข้า ซึ่งอาจเป็นสาเหตุให้ศัตรูพืชของลิลลี่ที่ไม่มีรายงานพบในประเทศติดเข้ามากับส่วนของลิลลี่ที่นำเข้า ทั้งนี้จากการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชของลิลลี่พบศัตรูพืชรวม 113 ชนิด เมื่อนำมาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชในส่วนของดอก และต้นลิลลี่พบว่ามีศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานพบประเทศไทยและมีโอกาสติดเข้ามากับดอกและต้นลิลลี่นำเข้าได้รวม 41 ชนิด ซึ่งจะนำศัตรูพืชดังกล่าวมาวิเคราะห์ระดับความเสี่ยง และหาแนวทางการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันแต่ละชนิดของลิลลี่ต่อไป

คำหลัก : ลิลลี่ การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช ภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก

รหัสการทดลอง FF65-55-02-65-00-07-65

คำนำ

จากภาพรวมสถานการณ์และทิศทางไม้ดอกไม้ประดับของประเทศไทยมีแนวโน้มไปในทางที่ดีขึ้น รวมทั้งมีการเพิ่มการนำเข้าไม้ดอกไม้ประดับชนิดอื่น ๆ จากประเทศคู่ค้า อีกทั้งมีการส่งเสริมให้เกษตรกรหันมาปลูกเลี้ยงไม้ดอกเมืองหนาวมากเพิ่มขึ้น เนื่องจากการผลิตไม้ดอกไม้ประดับเขตหนาวของประเทศไทยมีปริมาณไม่เพียงพอต่อความต้องการ ด้วยสภาพภูมิประเทศและภูมิอากาศที่ไม่เอื้ออำนวยต่อการปลูกไม้ดอกเขตหนาว และบางกรณีมีคุณภาพไม่เป็นที่ต้องการของตลาด จึงมีการนำเข้าไม้ดอกไม้ประดับหลายชนิดจากต่างประเทศ เช่น เบญจมาศ คาร์เนชั่น กุหลาบ และลิลลี่มาจากต่างประเทศในปี 2562 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกไม้ดอกไม้ประดับทั่วประเทศทั้งหมดประมาณ 67,203 ไร่ เนื้อที่เก็บเกี่ยวผลผลิตได้ประมาณ 658,126 ไร่ โดยมีผลผลิตที่เก็บเกี่ยวได้ประมาณ 116.33 ล้านกิโลกรัม (เสาวลักษณ์, 2563) ซึ่งลิลลี่จัดเป็นสิ่งกำกัดตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งกำกัด ข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พ.ศ. 2550 การนำเข้ามามีเพียงการรับรองด้านสุขอนามัยพืช โดยไม่มีมาตรการในการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชที่อาจติดเข้ามากับส่วนของลิลลี่ที่นำเข้า ทั้งนี้ประเทศไทยมีการนำเข้าทั้งดอก ต้น และหัวพันธุ์ลิลลี่จากสาธารณรัฐประชาชนจีน และสาธารณรัฐสังคมนิยมเวียดนามมากถึง 1,100 ตัน คิดเป็นมูลค่ากว่า 169 ล้านบาท และจากผลการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชในเบื้องต้นพบว่ามีศัตรูพืชกักกันที่มีความเสี่ยงสูงมีโอกาสติดมากับหัวพันธุ์ลิลลี่นำเข้าจากต่างประเทศหลายชนิด เช่น แมลง (*Aphis fabae*) ไร (*Petrobia latens*) ไส้เดือนฝอย (*Aphelenchoides fragariae*, *Ditylenchus destructor*) แบคทีเรีย (*Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis*) รา (*Chalara elegans*, *Phytophthora cryptogea*) และไวรัส (*Apple stem grooving virus*, *Lily symptomless virus*, *Tulip breaking virus*) (CABI, 2020) ในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของดอก ต้น และหัวพันธุ์ลิลลี่ที่นำเข้าจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิกซึ่งเป็นแหล่งสำคัญที่มีการส่งออกลิลลี่มายังประเทศไทย เพื่อกำหนดชนิดศัตรูพืชกักกันและมาตรการสุขอนามัยพืชให้เหมาะสม จึงมีความสำคัญที่จะนำไปสู่การแก้ไขปรับปรุงกฎระเบียบต่าง ๆ ให้รัดกุมยิ่งขึ้นต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. มาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 2 เรื่อง กรอบสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Framework for Pest Risk Analysis (2007))
2. มาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกัน (Pest Risk Analysis for Quarantine Pests (2013))
3. แนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืชของประชาคมตลาดร่วมแคริบเบียน (Caribbean Community and Common Market, CARICOM)

4. หนังสือ ตำรา วารสาร เอกสารวิชาการที่เกี่ยวข้องทั้งในและต่างประเทศ และฐานข้อมูลออนไลน์ เช่น Crop Protection Compendium, Description of Fungi and Bacteria, Description Maps of Plant Pests, Description Maps of Plant Diseases เป็นต้น

5. วัสดุคอมพิวเตอร์ เช่น หมึกพิมพ์ และแผ่นบันทึกข้อมูล เป็นต้น

6. วัสดุเกษตร เช่น ดิน กระถาง ต้นและดอกลิลลี่ เป็นต้น

7. วัสดุวิทยาศาสตร์ เช่น อาหารแยกเชื้อ จานเพาะเชื้อ สารเคมี เป็นต้น

วิธีการ

มีขั้นตอนและวิธีการ ดังต่อไปนี้

1. การสืบค้นและรวบรวมข้อมูล (2565-2566)

1.1 สืบค้นและรวบรวมข้อมูลทั่วไปของลิลลี่ที่นำเข้า เช่น ชื่อวิทยาศาสตร์ พันธุ์หรือสายพันธุ์ แหล่งผลิตในประเทศผู้ส่งออก ผลผลิต การรับรองสุขอนามัยของประเทศผู้ส่งออก เป็นต้น

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

2. การตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับลิลลี่นำเข้าในห้องปฏิบัติการ/โรงเรือน (2565-2567)

เก็บตัวอย่างลิลลี่นำเข้าจากด่านตรวจพืช/โรงเรือน/แปลงปลูก นำมาตรวจสอบ ดังนี้

2.1 ตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับลิลลี่นำเข้า เช่น แมลง ไร หอย วัชพืช เชื้อรา และแบคทีเรีย โดยตรวจสอบภายนอกหรือภายในหากพบอาการผิดปกติ และสังเกตลักษณะผิดปกติที่อาจเกิดจากโรคพืชหรือแมลงศัตรูพืช

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

2.3 หากพบอาการผิดปกติที่อาจเกิดจากเชื้อสาเหตุโรคพืชให้ตรวจสอบด้วยวิธีการ ดังนี้

(1) ตรวจสอบเชื้อราด้วย Blotter method (Mathur and Kongdal, 2003) และตรวจจำแนกชนิดของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและกำลังขยายสูง และ/หรือตรวจสอบจำแนกเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) เพื่อตรวจสอบและจำแนกชนิดของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและกำลังขยายสูง

(2) ตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียด้วย Dilution plate method เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar (NA) เพื่อตรวจสอบและจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

(3) ตรวจสอบไส้เดือนฝอยด้วยวิธีการของ Cobb’s sieving & Baermann และจำแนกชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (compound microscope) ในห้องปฏิบัติการ

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

3. การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (2565-2567)

ดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเชิงคุณภาพ ในการนำเข้าดอก ต้น และหัวพันธุ์ลิลลี่จากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิกโดยการประยุกต์แนวทางการวิเคราะห์ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 2 เรื่อง กรอบสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Framework for Pest Risk Analysis adopted 2007) (FAO, 2007) และฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกัน (Pest risk analysis for quarantine pests, adopted 2013) (FAO, 2017) และแนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืชของประชาคมตลาดร่วมแคริบเบียน (Caribbean Community and Common Market) (CAHFSA, 2016) ซึ่งประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ดังนี้

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

1.1 ระบุจุดเริ่มต้นของการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช/ระบุพื้นที่ซึ่งมีการดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช/ตรวจสอบว่าเคยมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงโดยศัตรูพืช หรือเส้นทางศัตรูพืช หรือนโยบายของรัฐจากแหล่งข้อมูลภายในประเทศไทยและต่างประเทศพิจารณานำมาใช้ประกอบการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

1.2 นำข้อมูลศัตรูพืชที่ได้จากการสืบค้นและรวบรวมจากหนังสือ ตำรา เอกสารวิชาการ ฐานข้อมูลศัตรูพืช และจากการตรวจสอบศัตรูพืชที่พบติดมากับลิลลี่ที่นำเข้าจากต่างประเทศ มาจัดทำตารางศัตรูพืชเพื่อใช้สำหรับการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนต่อไป

ขั้นตอนที่ 2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 2: Pest Risk Assessment) (2565-2567)

การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชมี 4 ขั้นตอนที่สัมพันธ์กัน ดังนี้

2.1 การจัดประเภทศัตรูพืช (Pest categorization) (2565-2567)

2.1.1 นำรายชื่อศัตรูพืชที่ได้จากขั้นตอนที่ 1 มาพิจารณาจัดประเภทศัตรูพืชว่ามีคุณสมบัติเป็นศัตรูพืชกักกันหรือไม่ โดย (1) ระบุชนิดของศัตรูพืช (pest identity) (2) ตรวจสอบว่าเป็นศัตรูพืชที่มีพบในประเทศไทยหรือไม่ (3) ตรวจสอบสถานภาพการควบคุมศัตรูพืช (Regulatory status) กรณีที่ศัตรูพืชชนิดนั้นมีปรากฏในประเทศไทย (4) ประเมินศักยภาพของศัตรูพืชในการเข้ามาตั้งรกรากและการแพร่กระจายในประเทศไทยหรือไม่ โดยพิจารณาข้อมูลทางชีววิทยาของศัตรูพืช สภาพแวดล้อมและสภาพภูมิอากาศที่เหมาะสมต่อการเจริญแพร่พันธุ์ พืชอาศัย/พืชอาหาร และพาหะของศัตรูพืชชนิดนั้นที่มีรายงานการพบในประเทศไทย (5) ประเมินศักยภาพของศัตรูพืช ในการก่อให้เกิดผลตามมาทางเศรษฐกิจในประเทศไทย

2.1.2 จัดทำตารางผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนการจัดประเภทศัตรูพืช และนำรายชื่อศัตรูพืชที่มีศักยภาพติดมากับเส้นทางศัตรูพืช (ส่วนของพืชที่นำเข้า) มีในประเทศผู้ส่งออกและไม่มีในประเทศไทย หรือมีแต่อยู่ภายใต้การควบคุมอย่างเป็นทางการ มีศักยภาพในการตั้งรกราก และ

การแพร่กระจายในประเทศไทย ตลอดจนมีศักยภาพที่จะทำให้เกิดความเสียหายหรือผลกระทบทางเศรษฐกิจไปวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป

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

นำรายชื่อศัตรูพืชที่ได้จากการประเมินในข้อ 2.1 มาประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการนำเข้ามาและแพร่กระจายของศัตรูพืชภายหลังการตั้งรกรากของศัตรูพืช โดยแยกประเมินศัตรูพืชแต่ละชนิด ดังนี้

2.2.1 การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการนำเข้ามา (introduction) ของศัตรูพืช ประกอบด้วย

(1) การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการเข้ามา (probability of entry) ของศัตรูพืช โดยประเมินความน่าจะเป็นไปได้ที่ศัตรูพืชจะปะปนมากับดอก ต้น และหัวพันธุ์ลิลลี่ที่นำเข้ามาในประเทศไทย

(2) การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการตั้งรกราก (probability of establish) ของศัตรูพืช โดยประเมินความน่าจะเป็นไปได้ที่ศัตรูพืชสามารถมีชีวิตอยู่รอดและเจริญแพร่ขยายพันธุ์ได้ในประเทศไทย

2.2.2 การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการแพร่กระจายหลังการตั้งรกราก (Probability of spread after establishment) Spread) โดยประเมินความน่าจะเป็นไปได้ที่ศัตรูพืชสามารถแพร่กระจายในประเทศไทย

ปัจจัยที่นำมาใช้พิจารณาประเมินความน่าจะเป็นไปได้ใช้ตามแนวทางการวิเคราะห์ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกัน (FAO, 2013) สำหรับรายละเอียดหลักเกณฑ์การประเมินความน่าจะเป็นไปได้แต่ละเหตุการณ์ ตลอดจนการรวมผลการประเมินใน 2 เหตุการณ์ โดยใช้กฎเมตริกซ์สำหรับการรวมโอกาสที่จะเกิดขึ้นเชิงคุณภาพ (Matrix of rules for combining qualitative likelihoods) ดำเนินการตามแนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืชของประชาคมตลาดร่วมแคริบเบียน (CAHFSA, 2016)

2.3 การประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้น (Assessment of Potential Economic Consequence) ภายหลังการเข้ามาของศัตรูพืช (2566-2567)

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

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

นำผลการประเมินความน่าจะเป็นไปได้ในข้อ 2.2.1 การนำเข้ามาและการแพร่กระจายของศัตรูพืช และข้อ 2.2.2 การประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้นภายหลังการเข้ามาของศัตรูพืช มารวมกันโดยใช้ เมตริกซ์การประเมินความเสี่ยง (risk estimation matrix) (CAHFSA, 2016) บันทึกปัจจัยที่ไม่แน่นอน (uncertainty)

ขั้นตอนที่ 3 การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 3: Pest Risk Management) (2566-2567)

นำรายชื่อศัตรูพืชกักกัน ที่ได้จากการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนที่ 2 มาพิจารณาหาแนวทางการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชเพื่อจัดการความเสี่ยงของศัตรูพืชแต่ละชนิด โดยจำแนกวิธีการที่จะดำเนินการกับความเสี่ยงศัตรูพืชในการเข้ามาเจริญและแพร่กระจายในประเทศไทยตลอดจนผลกระทบทางด้านเศรษฐกิจเพื่อลดความเสี่ยงลงให้ถึงระดับต่ำสุดที่ยอมรับได้ โดยมีความเป็นไปได้ในทางปฏิบัติและไม่เป็นอุปสรรคต่อการค้าระหว่างประเทศ สำหรับนำไปใช้เป็นแนวทางในการกำหนดเงื่อนไขการนำเข้าตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 และที่แก้ไขเพิ่มเติม ทั้งนี้ การพิจารณาระดับความเสี่ยง (Level of risk) ใช้หลักการจัดการความเสี่ยงให้อยู่ในระดับที่มีระดับที่เหมาะสมซึ่งสามารถยอมรับได้ (Appropriate Level of acceptable; ALOP) หรือระดับความเสี่ยงที่สามารถยอมรับได้ (acceptable) โดยในการทดลองนี้กำหนดให้มีระดับความเสี่ยงที่ยอมรับได้ คือ “ความเสี่ยงในระดับที่ละเลยได้ (negligible)”

4. สรุปผลศึกษาการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (2566, 2567)

สรุปผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนต่าง ๆ รวมถึงรายชื่อศัตรูพืชกักกันของการนำเข้าดอก ต้น และหัวพันธุ์ลิลลี่จากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก ที่มีระดับความเสี่ยงแตกต่างกัน แนวทางการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันแต่ละชนิด และมาตรการสนับสนุนอื่น ๆ สำหรับใช้เป็นข้อมูลกำหนดมาตรการทางกฎหมายต่อไป

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. รายละเอียดของศัตรูลิลลี่แต่ละชนิด เช่น ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อสามัญ เขตแพร่กระจาย ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย/อาศัย และมีพาหะ หรือเป็นพาหะของศัตรูพืชชนิดอื่นหรือไม่ การติดมากับส่วนของพืชที่นำเข้า พืชอาศัย ชีววิทยา นิเวศวิทยา เอกสารอ้างอิง
2. ชนิดของศัตรูพืชกักกัน ศัตรูพืช หรืออื่น ๆ ที่ปนเปื้อนหรือติดมากับลิลลี่นำเข้า วัน เวลา สถานที่ และวิธีการที่ใช้ในการจำแนกชนิดศัตรูพืช ลักษณะอาการบนพืช
3. สถานภาพของศัตรูพืชแต่ละชนิดว่ามีรายงานพบในประเทศไทยหรือไม่ และเอกสารอ้างอิง
4. ชนิดของศัตรูพืชกักกัน เขตแพร่กระจาย (ชื่อประเทศ) ในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก และมาตรการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันของลิลลี่นำเข้าจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาดำเนินการ : เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน พ.ศ. 2567 รวม 3 ปี

สถานที่ดำเนินการ :

1. ห้องปฏิบัติการและโรงเรือนทดลอง กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
2. ด่านตรวจพืชเชียงของ จังหวัดเชียงราย/ ด่านตรวจพืชท่าลี่ จังหวัดเลย/ ด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ จังหวัดสมุทรปราการ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร
3. แปลงปลูก/ โรงเรือนปลูกลิลลี่ของโครงการหลวง/ เกษตรที่สูง/ บริษัท/ แปลงเกษตรกร จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ และเลย

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสืบค้นและรวบรวมข้อมูล

1.1. สืบค้นและรวบรวมข้อมูลทั่วไปของลิลลี่

ลิลลี่ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Lilium* spp. เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ลิเลียซีอี้ (Liliaceae) ซึ่งเป็นไม้ดอกเมืองหนาว มีถิ่นกำเนิดในจีน และตอนเหนือของญี่ปุ่น เป็นไม้ดอกประเภทหัว มีดอกขนาดใหญ่ เป็นสง่าและสวยงามมาก บางชนิดมีกลิ่นหอมมาก ปัจจุบันมีมากกว่า 300 ชนิด บางชนิดมีเหง้าและกระเปาะ ลิลลี่เป็นไม้ดอกที่มีหัวสะสมอาหารอยู่ใต้ดิน หัว (bulb) ของลิลลี่ คือ ส่วนลำต้นที่อัดตัวกันแน่น ประกอบด้วยฐานของหัว ลักษณะเป็นแผ่นแบน ๆ ด้านบนเป็นกลีบเรียงซ้อนกันเป็นชั้นคล้ายกลีบหอมหัวใหญ่ ทำหน้าที่เก็บสะสมอาหาร ด้านล่างของฐานจะมีรากงอกออกมา หัวของลิลี่จะเจริญเติบโตและเพิ่มขนาดขึ้นเรื่อย ๆ ในแต่ละปีจะสร้างจุดเจริญใหม่ภายในหัว เมื่อหัวพัฒนาเต็มที่และได้ผ่านช่วงฤดูหนาวเกิดการทำลายการฟักตัวของหัว ยอดใหญ่จะเจริญเติบโตเป็นลำต้นเหนือดินและส่วนยอดจะสร้างช่อดอก ดอกมีกลิ่นหอมเฉพาะตัว ลักษณะดอกมี 6 กลีบ แยกจากกัน ช่อดอกตั้งตรง ดอกมีหลายสี ตั้งแต่สีขาว แดง ชมพู และม่วง นับว่าเป็นดอกไม้ที่มีราคาแพงที่สุดในปัจจุบัน ใช้ได้ทั้งเป็นไม้ตัดดอกและไม้กระถาง ชนิดที่นิยมปลูกในปัจจุบันคือ ลิลลี่ปากแตร เนื่องจากดอกมีรูปทรงเหมือนแตร ชนิดนี้มีดอกสีขาวมีกลิ่นหอม ในต่างประเทศเรียก Easter lily อีกชนิดหนึ่งเป็นลูกผสมเอเชีย (Asiatic hybrids) มีช่อดอกตั้ง มีดอกหลายสี ชนิดนี้มีดอกไม่หอม ชนิดที่มีดอกหอมมากมีราคาแพงที่สุด คือลูกผสม Oriental hybrids พันธุ์ที่นิยมปลูกในประเทศไทย มีพันธุ์คาซาบลังก้า ดอกสีขาว พันธุ์สีขาว พันธุ์อาคาปุลโก้ ดอกสีชมพู และพันธุ์โซลีมีโอ้ ดอกสีม่วงอมน้ำตาล แหล่งปลูกที่เหมาะสมกับลิลลี่ต้องมีอุณหภูมิกลางวัน 20-25 องศาเซลเซียส ส่วนกลางคืน 13-18 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 70-75 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้น การปลูกลิลลี่ที่ให้ผลดีจึงปลูกบนที่สูง เหนือจากระดับน้ำทะเลปานกลาง อย่างน้อย 400 เมตร การขยายพันธุ์ของลิลลี่สามารถขยายพันธุ์ได้หลายวิธี เช่น ใช้หัวพันธุ์ ชำกลีบ ชำหัวย่อย ชำใบ และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ปัจจุบันนี้โครงการหลวงได้ทำการวิจัยขยายพันธุ์ลิลลี่

โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อให้เกษตรกรชาวเขาปลูก นอกจากนี้ยังได้ทำการปรับปรุงพันธุ์ลิลลี่ลูกผสมต่างชนิด โดยใช้พ่อแม่พันธุ์ที่นำเข้าจากต่างประเทศผสมกับลิลลี่ดอย ในปี 2561 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกลิลลี่มากที่สุดในจังหวัดเชียงใหม่ (ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร กรมส่งเสริมการเกษตร, 2562)

จากการรวบรวมข้อมูลการนำเข้าลิลลี่จากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิกระหว่างเดือนมกราคม ถึง ธันวาคม 2565 พบว่ามีการนำเข้าดอกและต้นลิลลี่จากสาธารณรัฐประชาชนจีนและสาธารณรัฐสังคมนิยมเวียดนาม รวม 732 ชิปเมนท์ (shipment) คิดเป็นมูลค่ากว่า 191 ล้านบาท โดยมีการนำเข้าทางด่านตรวจพืช ดังนี้ ด่านตรวจพืชเชียงของ ด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ ด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ และด่านตรวจพืชหนองคาย

1.2 สืบค้นและรวบรวมข้อมูลศัตรูลิลลี่

ผลจากการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชของลิลลี่พบศัตรูพืชรวม 113 ชนิด เป็นแมลง 35 ชนิด ไร 3 ชนิด หอยทาก 1 ชนิด ทาก 1 ชนิด ไส้เดือนฝอย 15 ชนิด แบคทีเรีย 4 ชนิด ไฟโตพลาสมา 2 ชนิด รา 24 ชนิด ไวรัส 24 ชนิด และวัชพืช 4 ชนิด นำมาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของดอก และต้นลิลลี่นำเข้าจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก ในขั้นตอนการจัดประเภทศัตรูพืชพบว่าเป็นศัตรูพืชที่ไม่มีในประเทศไทยและมีโอกาสติดเข้ามากับดอกและต้นลิลลี่นำเข้ารวม 41 ชนิด ดังนี้

1) แมลง 6 ชนิด ได้แก่ *Adelphocoris lineolatus, Agrotis segetum, Lilioceris lilii, Macrosiphum euphorbiae, Peridroma saucia* และ *Theretra oldenlandiae*

2) ไร 2 ชนิด ได้แก่ *Petrobia latens* และ *Tyrophagus putrescentiae*

3) ไส้เดือนฝอย 9 ชนิด ได้แก่ *Aphelenchoides fragariae, Ditylenchus destructor, Ditylenchus dipsaci, Pratylenchus brachyurus, Pratylenchus penetrans, Pratylenchus vulnus, Pratylenchus zeae, Trichodorus* และ *Tylenchorhynchus claytoni*

4) แบคทีเรีย 2 ชนิด ได้แก่ *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli* และ *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis*

5) ไฟโตพลาสมา 1 ชนิด ได้แก่ *Clover phyllody phytoplasma*

6) รา 7 ชนิด ได้แก่ *Botryotinia fuckeliana, Chalara elegans, Colletotrichum boninense, Globisporangium irregulare, Penicillium expansum, Phytophthora cactorum* และ *Phytophthora cryptogea*

7) ไวรัส 12 ชนิด ได้แก่ *Apple stem grooving virus, Bean yellow mosaic virus, Broad bean wilt virus, Carnation mottle virus, Dasheen mosaic virus, Lily mottle virus, Prunus necrotic ringspot virus, Tobacco rattle virus, Tobacco ringspot virus, Tobacco streak virus, Tomato ringspot virus* และ *Turnip mosaic virus*

8) วัชพืช 2 ชนิด ได้แก่ *Polygonum aviculare* และ *Senecio vulgaris* โดยจะนำศัตรูพืชทั้ง 41 ชนิด ที่ได้จากการจัดกลุ่มศัตรูพืชมาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของดอก และต้นลิลลี่ ในขั้นตอนการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชต่อไป

2. การตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับลิลลี่นำเข้าในห้องปฏิบัติการ/โรงเรือน

จากการเก็บตัวอย่างดอกลิลลี่นำเข้า ณ ด่านตรวจพืชหนองคาย จังหวัดหนองคาย และด่านตรวจพืชเชียงของ จังหวัดเชียงราย มาตรวจสอบศัตรูพืชที่ห้องปฏิบัติการของด่านตรวจพืช พบเพียงซากของแมลง ได้แก่ แมลงหวี่ขาว และเพลี้ยไฟที่ไม่มีชีวิตจากตัวอย่างดอกและต้นลิลลี่ที่นำเข้า และไม่พบอาการผิดปกติที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคพืช

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ลิลลี่ (*Lilium* spp.) เป็นไม้ดอกประเภทหัว ดอกมีกลิ่นหอม ซึ่งมีมากกว่า 300 ชนิด การปลูกลิลลี่ที่ให้ผลดีต้องปลูกบนที่สูงและมีอากาศเย็น ซึ่งในประเทศไทยสามารถปลูกได้บนพื้นที่สูงทางภาคเหนือของประเทศ โดยมีการนำพันธุ์เข้ามาเพื่อปรับปรุงพันธุ์ลิลลี่ในประเทศ และมีการนำเข้าดอกและต้นลิลลี่จากต่างประเทศเข้ามาเพื่อการค้าโดยนำเข้ามาจากสาธารณรัฐประชาชนจีน และสาธารณรัฐสังคมนิยมเวียดนามเป็นจำนวนมากคิดเป็นมูลค่ากว่า 191 ล้านบาท ซึ่งจากการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชของลิลลี่พบศัตรูพืชรวม 113 ชนิด เมื่อนำมาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชในส่วนของดอกและต้นลิลลี่นำเข้าพบว่าเป็นศัตรูพืชที่ไม่มีในประเทศไทยและมีโอกาสติดเข้ามากับดอกและต้นลิลลี่นำเข้ารวม 41 ชนิด ทั้งนี้ในระหว่างการสืบค้นและรวบรวมข้อมูลลิลลี่และศัตรูพืชของลิลลี่อาจพบรายงานศัตรูพืชชนิดอื่นเพิ่มเติมซึ่งจะนำผลที่ได้มาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเพื่อดูโอกาสการติดเข้ามาของศัตรูพืชต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณพี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ กลุ่มงานวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับคำปรึกษา คำแนะนำ และความช่วยเหลือต่าง ๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อการปฏิบัติงาน และขอขอบคุณบิดา-มารดา ผู้เป็นกำลังใจที่สำคัญเสมอมา

เอกสารอ้างอิง

ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร กรมส่งเสริมการเกษตร. 2562. ลิลลี่. สำนักส่งเสริมการค้าสินค้าเกษตรและอุตสาหกรรม. กรมส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ. ระบบออนไลน์. แหล่งข้อมูล : http://www.agriinfo.doae.go.th/year62/plant/rortor/flower/lily.pdf (12 มีนาคม 2563)

เสาวลักษณ์ กิตติธนวัตร. 2563. สถานการณ์และทิศทางไม้ดอกไม้ประดับของประเทศไทยในปี 2563. สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล:

http://www.doa.go.th/hort/wp-content/uploads/2020/02/สถานการณ์และทิศทางไม้ดอกไม้ประดับของประ.pdf (6 มีนาคม 2563).

CABI (Centre for Agriculture and Bioscience International). 2020. Crop Protection Compendium. Wallingford, UK: CAB International. (Online). Available. http://www.cabi.org/. (March 06, 2020).

CAHFSA (Caribbean Agricultural Health and Food Safety Agency). 2016. Guidelines for pest risk analysis of imported plant and plant products. Version 1.1 published October 2016. 33p.

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

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2013. International Standards for Phytosanitary Measures No. 11 (ISPM 11): Pest risk analysis for quarantine pests. (Online). Available. https://www.ippc.int/en/core-activities/standards-setting/ispms/. (February 6, 2021)

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

Figure 1 Lily production under greenhouse condition

Figure 2 Lily production and harvest under greenhouse condition

Figure 3 Lily bouquets before shipping

Figure 4 Lily growing in the containers with planting material

Figure 5 The plant quarantine officers inspected lily cut flowers at the point of entry

Figure 6 Samples of lily cut flower for inspection at the laboratory of plant quarantine station

Figure 7 Inspection of lily cut flowers at the laboratory of plant quarantine station

การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้ากล้วยไม้สกุลหวาย และสกุลฟาแลนนอปซิสจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก

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

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

[1/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[3/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

กล้วยไม้สกุลหวาย และฟาแลนนอปซิสเป็นกล้วยไม้ที่เป็นที่นิยมและนำเข้ามามากที่สุดของประเทศ ซึ่งมีการนำเข้ามาในประเทศในรูปแบบของต้นกล้วยไม้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กิ่งชำ ก้านช่อ การนำเข้าโดยส่วนใหญ่เพื่อการค้าและการเพาะปลูกจากประเทศจีน เวียดนาม ไต้หวัน ญี่ปุ่น เกาหลี และมาเลเซีย เนื่องจากกล้วยไม้จัดเป็นสิ่งกำกัดการนำเข้าจึงมีเพียงใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาพร้อมกับสินค้าโดยไม่มีมาตรการจัดการก่อนนำเข้า ซึ่งอาจเป็นสาเหตุให้ศัตรูพืชของกล้วยไม้ที่ไม่มีรายงานพบในประเทศติดเข้ามากับส่วนของกล้วยไม้ที่นำข้า ทั้งนี้จากการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชของจากการสืบค้นชนิดศัตรูพืชของกล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิสมีรายงานศัตรูพืชรวมทั้งสิ้น 112 ชนิด เมื่อนำมาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชในส่วนของ ต้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กิ่งชำ ก้านช่อกล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิส พบว่ามีศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานพบประเทศไทยและมีโอกาสติดเข้ามากับนำเข้าได้รวม 12 ชนิด ซึ่งจะนำศัตรูพืชดังกล่าวมาวิเคราะห์ระดับความเสี่ยง และหาแนวทางการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันแต่ละชนิดของกล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิส

คำหลัก : กล้วยไม้สกุลหวาย กล้วยไม้ฟาแลนนอปซิส การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช ภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก

รหัสการทดลอง FF65-55-02-65-00-08-65

คำนำ

ประเทศไทยเป็นแหล่งผลิตกล้วยไม้มีปริมาณและมูลค่าการส่งออกมากที่สุดเป็นอันดับหนึ่งตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบันทำรายได้เข้าประเทศมากกว่าสองพันล้านบาทต่อ ประเทศคู่ค้ากล้วยไม้ของประเทศไทย ที่สำคัญได้แก่ สหรัฐอเมริกา ญี่ปุ่น เนเธอร์แลนด์ จีน อิตาลี เป็นต้น อย่างไรก็ตามปัญหาเศรษฐกิจของไทยและเศรษฐกิจโลกได้ส่งผลกระทบต่อการส่งออกไม้ดอกไม้ประดับจากประเทศไทย การถูกกีดกันทางการค้า การกดราคาของประเทศคู่ค้า และการเพิ่มขึ้นของประเทศคู่แข่ง ประเทศไทยจึงต้องเร่งพัฒนาและปรับปรุงคุณภาพ ความหลากหลายของสายพันธุ์ไม้ดอกไม้ประดับเพื่อรักษาตำแหน่งผู้ส่งออกไม้ดอกไม้ประดับที่สำคัญของโลกต่อไป การนำเข้ากล้วยไม้ของประเทศไทยจากต่างประเทศจึงมีวัตถุประสงค์เพื่อนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธ์เป็นหลัก หรือนำเข้ามาเลี้ยงขยายพันธุ์เพื่อการส่งออกต่อไป ชนิดกล้วยไม้ที่สำคัญที่มีการนำเข้าจากต่างประเทศได้แก่ กล้วยไม้สกุลหวายและกล้วยไม้ฟาแลนนอปซิส กล้วยไม้จัดเป็นสิ่งกำกัดตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่องกำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งกำกัด ข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พ.ศ. 2550 การนำเข้ามามีเพียงการรับรองด้านสุขอนามัยพืช โดยไม่มีมาตรการในการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชที่อาจติดเข้ามากับส่วนของกล้วยไม้ที่นำเข้า ทั้งนี้ประเทศไทยมีการนำเข้าต้นกล้วยไม้ต้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กิ่งชำ และก้านช่อ จีน เวียดนาม ไต้หวัน ญี่ปุ่น เกาหลี และมาเลเซีย จากผลการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชในเบื้องต้นพบว่ามีศัตรูพืชกักกันที่มีความเสี่ยงสูงมีโอกาสติดมากับต้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กิ่งชำ และก้านช่อ ของกล้วยไม้สกุลหวายและกล้วยไม้ฟาแลนนอปซิสนำเข้าจากต่างประเทศหลายชนิด พบรายงานศัตรูพืชรวมทั้งสิ้น 112 ชนิด ประกอบด้วย ไร 6 ชนิด แมลง 35 ชนิด เชื้อรา 21 ชนิด แบคทีเรีย 11 ชนิด ไวรัส 32 ชนิด ไวรอยด์ 1 ชนิด ไส้เดือนฝอย 3 ชนิด และหอยทาก 3 ชนิด (CABI, 2021) ในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของต้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กิ่งชำ และก้านช่อที่นำเข้าจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิกมายังประเทศไทย เพื่อกำหนดชนิดศัตรูพืชกักกันและมาตรการสุขอนามัยพืชให้เหมาะสมจึงมีความสำคัญที่จะนำไปสู่การแก้ไขปรับปรุงกฎระเบียบต่าง ๆ ให้รัดกุมยิ่งขึ้นต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. มาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 2 เรื่อง กรอบสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Framework for Pest Risk Analysis (2007))

2. มาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกัน (Pest Risk Analysis for Quarantine Pests (2013))

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

4. หนังสือ ตำรา วารสาร เอกสารวิชาการที่เกี่ยวข้องทั้งในและต่างประเทศ และฐานข้อมูลออนไลน์ เช่น Crop Protection Compendium, Description of Fungi and Bacteria, Description Maps of Plant Pests, Description Maps of Plant Diseases เป็นต้น

5. วัสดุคอมพิวเตอร์ เช่น หมึกพิมพ์ และแผ่นบันทึกข้อมูล เป็นต้น

6. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างศัตรูพืช เช่น พู่กัน กล่องพลาสติก เป็นต้น

7. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น ขวดแก้ว อุปกรณ์ในการทำสไลด์ กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และ compound microscope เป็นต้น

8. สารเคมี เช่น สารเคมีสำหรับเก็บรักษาตัวอย่างศัตรูพืช สารเคมีกันเชื้อรา สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและแยกเชื้อ เป็นต้น

วิธีการ

มีขั้นตอนและวิธีการ ดังต่อไปนี้

1. การสืบค้นและรวบรวมข้อมูล (2565-2566)

1.1 สืบค้นและรวบรวมข้อมูลทั่วไปของกล้วยไม้สกุลหวาย สกุลฟาแลนนอปซิสที่นำเข้า เช่น ชื่อวิทยาศาสตร์ พันธุ์หรือสายพันธุ์ แหล่งผลิตในประเทศผู้ส่งออก ผลผลิต การรับรองสุขอนามัยของประเทศผู้ส่งออก เป็นต้น

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

2. การตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับกล้วยไม้สกุลหวาย สกุลฟาแลนนอปซิสนำเข้าในห้องปฏิบัติการ/โรงเรือน (2565-2567)

เก็บตัวอย่างกล้วยไม้สกุลหวาย สกุลฟาแลนนอปซิสนำเข้าจากด่านตรวจพืช/โรงเรือน/แปลงปลูก นำมาตรวจสอบ ดังนี้

2.1 ตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับกล้วยไม้สกุลหวาย สกุลฟาแลนนอปซิสนำเข้า เช่น แมลง ไร หอย วัชพืช เชื้อรา และแบคทีเรีย โดยตรวจสอบภายนอกหรือภายในหากพบอาการผิดปกติ และสังเกตลักษณะผิดปกติที่อาจเกิดจากโรคพืชหรือแมลงศัตรูพืช

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

2.3 หากพบอาการผิดปกติที่อาจเกิดจากเชื้อสาเหตุโรคพืชให้ตรวจสอบด้วยวิธีการ ดังนี้

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

จำแนกเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) เพื่อตรวจสอบและจำแนกชนิดของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและกำลังขยายสูง

(2) ตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียด้วย Dilution plate method เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar (NA) เพื่อตรวจสอบและจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

(3) ตรวจสอบไส้เดือนฝอยด้วยวิธีการของ Cobb's sieving & Baermann และจำแนกชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (compound microscope) ในห้องปฏิบัติการ

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

3. การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (2565-2567)

ดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเชิงคุณภาพ ในการนำเข้าดอก ต้น และหัวพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวาย สกุลฟาแลนนอปซิสจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิกโดยการประยุกต์แนวทางการวิเคราะห์ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 2 เรื่อง กรอบสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Framework for Pest Risk Analysis adopted 2007) (FAO, 2007) และฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกัน (Pest risk analysis for quarantine pests, adopted 2013) (FAO, 2017) และแนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืชของประชาคมตลาดร่วมแคริบเบียน (Caribbean Community and Common Market) (CAHFSA, 2016) ซึ่งประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ดังนี้

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

1.1 ระบุจุดเริ่มต้นของการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช/ระบุพื้นที่ซึ่งมีการดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช/ตรวจสอบว่าเคยมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงโดยศัตรูพืช หรือเส้นทางศัตรูพืช หรือนโยบายของรัฐจากแหล่งข้อมูลภายในประเทศไทยและต่างประเทศพิจารณานำมาใช้ประกอบการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

1.2 นำข้อมูลศัตรูพืชที่ได้จากการสืบค้นและรวบรวมจากหนังสือ ตำรา เอกสารวิชาการ ฐานข้อมูลศัตรูพืช และจากการตรวจสอบศัตรูพืชที่พบติดมากับกล้วยไม้สกุลหวาย สกุลฟาแลนนอปซิสที่นำเข้าจากต่างประเทศ มาจัดทำตารางศัตรูพืชเพื่อใช้สำหรับการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนต่อไป

ขั้นตอนที่ 2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 2: Pest Risk Assessment) (2565-2567)

การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชมี 4 ขั้นตอนที่สัมพันธ์กัน ดังนี้

2.1 การจัดประเภทศัตรูพืช (Pest categorization) (2565-2567)

2.1.1 นำรายชื่อศัตรูพืชที่ได้จากขั้นตอนที่ 1 มาพิจารณาจัดประเภทศัตรูพืชว่ามีคุณสมบัติเป็นศัตรูพืชกักกันหรือไม่ โดย (1) ระบุชนิดของศัตรูพืช (pest identity) (2) ตรวจสอบว่าเป็นศัตรูพืชที่มีพบในประเทศไทยหรือไม่ (3) ตรวจสอบสถานภาพการควบคุมศัตรูพืช (Regulatory status) กรณีที่ศัตรูพืชชนิดนั้นมีปรากฏในประเทศไทย (4) ประเมินศักยภาพของศัตรูพืชในการเข้ามาตั้งรกราก

และการแพร่กระจายในประเทศไทยหรือไม่ โดยพิจารณาข้อมูลทางชีววิทยาของศัตรูพืช สภาพแวดล้อมและสภาพภูมิอากาศที่เหมาะสมต่อการเจริญแพร่พันธุ์ พืชอาศัย/พืชอาหาร และพาหะของศัตรูพืชชนิดนั้นที่มีรายงานการพบในประเทศไทย (5) ประเมินศักยภาพของศัตรูพืช ในการก่อให้เกิดผลตามมาทางเศรษฐกิจในประเทศไทย

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

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

นำรายชื่อศัตรูพืชที่ได้จากการประเมินในข้อ 2.1 มาประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการนำเข้ามาและแพร่กระจายของศัตรูพืชภายหลังการตั้งรกรากของศัตรูพืช โดยแยกประเมินศัตรูพืชแต่ละชนิด ดังนี้

2.2.1 การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการนำเข้ามา (introduction) ของศัตรูพืช ประกอบด้วย

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

(2) การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการตั้งรกราก (probability of establish) ของศัตรูพืช โดยประเมินความน่าจะเป็นไปได้ที่ศัตรูพืชสามารถมีชีวิตอยู่รอดและเจริญแพร่ขยายพันธุ์ได้ในประเทศไทย

2.2.2 การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการแพร่กระจายหลังการตั้งรกราก (Probability of spread after establishment) Spread) โดยประเมินความน่าจะเป็นไปได้ที่ศัตรูพืชสามารถแพร่กระจายในประเทศไทย

ปัจจัยที่นำมาใช้พิจารณาประเมินความน่าจะเป็นไปได้ใช้ตามแนวทางการวิเคราะห์ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกัน (FAO, 2013) สำหรับรายละเอียดหลักเกณฑ์การประเมินความน่าจะเป็นไปได้แต่ละเหตุการณ์ ตลอดจนการรวมผลการประเมินใน 2 เหตุการณ์ โดยใช้กฎเมตริกซ์สำหรับการรวมโอกาสที่จะเกิดขึ้นเชิงคุณภาพ (Matrix of rules for combining qualitative likelihoods) ดำเนินการตามแนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืชของประชาคมตลาดร่วมแคริบเบียน (CAHFSA, 2016)

2.3 การประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้น (Assessment of Potential Economic Consequence) ภายหลังการเข้ามาของศัตรูพืช (2566-2567)

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

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

นำผลการประเมินความน่าจะเป็นไปได้ในข้อ 2.2.1 การนำเข้ามาและการแพร่กระจายของศัตรูพืช และข้อ 2.2.2 การประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้นภายหลังการเข้ามาของศัตรูพืช มารวมกันโดยใช้ เมตริกซ์การประเมินความเสี่ยง (risk estimation matrix) (CAHFSA, 2016) บันทึกปัจจัยที่ไม่แน่นอน (uncertainty)

ขั้นตอนที่ 3 การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 3: Pest Risk Management) (2566-2567)

นำรายชื่อศัตรูพืชกักกัน ที่ได้จากการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนที่ 2 มาพิจารณาหาแนวทางการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชเพื่อจัดการความเสี่ยงของศัตรูพืชแต่ละชนิด โดยจำแนกวิธีการที่จะดำเนินการกับความเสี่ยงศัตรูพืชในการเข้ามาเจริญและแพร่กระจายในประเทศไทย ตลอดจนผลกระทบทางด้านเศรษฐกิจเพื่อลดความเสี่ยงลงให้ถึงระดับต่ำสุดที่ยอมรับได้ โดยมีความเป็นไปได้ในทางปฏิบัติและไม่เป็นอุปสรรคต่อการค้าระหว่างประเทศ สำหรับนำไปใช้เป็นแนวทางในการกำหนดเงื่อนไขการนำเข้าตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 และที่แก้ไขเพิ่มเติม ทั้งนี้ การพิจารณาระดับความเสี่ยง (Level of risk) ใช้หลักการจัดการความเสี่ยงให้อยู่ในระดับที่มีระดับที่เหมาะสมซึ่งสามารถยอมรับได้ (Appropriate Level of acceptable; ALOP) หรือระดับความเสี่ยงที่สามารถยอมรับได้ (acceptable) โดยในการทดลองนี้กำหนดให้มีระดับความเสี่ยงที่ยอมรับได้ คือ “ความเสี่ยงในระดับที่ละเลยได้ (negligible)”

4. สรุปผลศึกษาการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (2566, 2567)

สรุปผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนต่าง ๆ รวมถึงรายชื่อศัตรูพืชกักกันของการนำเข้าดอก ต้น และหัวพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวาย สกุลฟาแลนนอปซิสจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก ที่มีระดับความเสี่ยงแตกต่างกัน แนวทางการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันแต่ละชนิด และมาตรการสนับสนุนอื่น ๆ สำหรับใช้เป็นข้อมูลกำหนดมาตรการทางกฎหมายต่อไป

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. รายละเอียดของศัตรูพืชแต่ละชนิด เช่น ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อสามัญ เขตแพร่กระจาย ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย/อาศัย และมีพาหะ หรือเป็นพาหะของศัตรูพืชชนิดอื่นหรือไม่ การติดมากับส่วนของพืชที่นำเข้า พืชอาศัย ชีววิทยา นิเวศวิทยา เอกสารอ้างอิง

2. ชนิดของศัตรูพืชกักกัน ศัตรูพืช หรืออื่น ๆ ที่ปนเปื้อนหรือติดมากับกล้วยไม้สกุลหวายและฟาแลนนอปซิส นำเข้า วัน เวลา สถานที่ และวิธีการที่ใช้ในการจำแนกชนิดศัตรูพืช ลักษณะอาการบนพืช

3. สถานภาพของศัตรูพืชแต่ละชนิดว่ามีรายงานพบในประเทศไทยหรือไม่ และเอกสารอ้างอิง

4. ชนิดของศัตรูพืชกักกัน เขตแพร่กระจาย (ชื่อประเทศ) ในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก และมาตรการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันของกล้วยไม้สกุลหวายและฟาแลนนอปซิสนำเข้าจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาดำเนินการ เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน พ.ศ. 2567 รวม 3 ปี

สถานที่ดำเนินการ

1.ห้องปฏิบัติการและโรงเรือนทดลอง กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

2.ห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

3.ด่านตรวจพืชท่าอากาศสุวรรณภูมิ จ.สมุทรปราการ และด่านตรวจพืชท่าอากาศยานเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร

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

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสืบค้นและรวบรวมข้อมูล

1.1 การสืบค้นและรวบรวมข้อมูลทั่วไปของกล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิส

กล้วยไม้สกุลหวาย กระจายตัวของกล้วยไม้สกุลหวายพบได้ตั้งแต่เทือกเขาหิมาลัย อินเดีย จีน เกาหลี ญี่ปุ่น ประเทศในกลุ่มเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ไปจนถึงนิวกีนี และ ออสเตรเลียทางด้านควีนส์แลนด์ ฝั่งตะวันออกของออสเตรเลีย ไปจนถึงนิวซีแลนด์ และตาฮิติ ลักษณะใบเรียงสลับกันหรือเรียงซ้อนทับกัน ใบเดี่ยว แบนแข็งหนา สีเขียว เส้นใบขนานกันไปตามความยาวของใบ ดอก ดอกช่อ ออกตามซอกใบ ดอกเรียงสลับ 6-8 คู่ ปลายคี่ กลีบเลี้ยง 3 กลีบ สีเดียวกับกลีบดอก แต่สีเข้มกว่าเล็กน้อย กลีบดอก 5 กลีบ มักมี 3 สีภายใน 1 ดอก มีกลีบดอก 1 กลีบเปลี่ยนรูปร่างไป เนื่องจากมีเกสรเพศผู้ และยอดเกสรเพศเมียลดรูปมารวมอยู่ด้วยกัน มีลักษณะเป็นปาก (labellum) มีสีเข้มเด่นชัดกว่ากลีบอื่นๆ ผลเป็นฝักสีเขียว เมื่อแก่จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ภายในมีเมล็ดจำนวนมาก

กล้วยไม้สกุลฟาแลนนอปซิส เป็นไม้ดอกไม้ประดับที่ได้รับความนิยม เนื่องจากมีความสวยงาม ดอกบานทนทาน และมีความหลากหลาย เป็นไม้ดอกกระถางที่มีความสำคัญในตลาดไม้ดอกของโลก มีประมาณ 60 ชนิด สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 แหล่งใหญ่ด้วยกันคือ 1. ที่แห้งแล้ง 2. ที่ที่มีอากาศเย็น และ 3. ที่ที่ชุ่มชื้นอยู่เสมอ มีการผลิตอย่างแพร่หลายโดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศเยอรมนี

ญี่ปุ่น เนเธอร์แลนด์ ไต้หวัน ไทย และสหรัฐอเมริกา ลำต้นเป็นพวก monopodial ที่มีส่วนของลำต้นสั้น (ปล้องสั้น) ราก ลักษณะของรากจะขึ้นอยู่กับชนิด ซึ่งอาจมีรากเป็นแบบ รากอากาศ หรือรากกึ่งอากาศได้ พวกที่มีรากเป็นแบบรากอากาศนั้น ปลายรากอาจมีสีเขียวหรือม่วงก็ได้ รากกึ่งอากาศมีลักษณะเป็นทรงกระบอก มีขนาดค่อนข้างใหญ่และที่ปลายรากไม่มีสีเคลือบอยู่ โดยทั่วไปแล้ว รากของฟาเลนนอปซิส ไม่มีการแตกแขนง ยกเว้นในกรณีที่รากโดนทำลายอาจเกิดกิ่งก้านสาขาได้ ใบอวบน้ำ ใบอาจมีลายได้ขึ้นอยู่กับชนิด โดยทั่วไป ใบมีสีเขียวเข้ม ช่อดอก มีทั้งที่เป็นช่อเดี่ยว (raceme) และช่อที่มีการแตกแขนง (panicle) ดอก มีหลากหลายขนาดตั้งแต่ดอกขนาดจิ๋วไปจนถึงขนาดใหญ่ กลีบดอกมักมีขนาดเท่า ๆ กันและมีสีเหมือนกัน ในขณะที่ปากสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ส่วนด้วยกัน 2 ส่วนด้านข้างมักจะตั้งขึ้นหรือโค้งขึ้นมา ส่วนตรงกลาง อาจมีปลายแหลม หรือมน หรือหยักก็ได้ และบริเวณโคนปาก มีสันนูนขึ้นมา อาจมี 1 - 3 แถบ (Mahasan, 2535)

ข้อมูลการผลิตกล้วยไม้สุกลหวายและฟาแลนนอปซิสจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก มีดังนี้

(1) จีนปลูกดอกกล้วยใหม้ได้ในหลายพื้นที่ พื้นที่ที่ถือว่าเป็นแหล่งผลิตดอกกล้วยไม้ที่สำคัญในจีนได้แก่ มณฑลกวางตุ้งและมณฑลฝูเจี้ยน นอกจากนี้ พื้นที่การเพาะปลูกของดอกกล้วยไม้ในจีนยังกระจายตัวอยู่ใน มณฑลยูนนาน เจ้อเจียง เสฉวน หูหนาน หูเป่ย เจียงซู เป็นต้น โดยการเพาะปลูกในบางมณฑลได้รับการสนับสนุนจากรัฐบาลจีนและสมาคมดอกกล้วยไม้จีนในการสร้างแผนพัฒนาอุตสาหกรรม สร้างสวนอุตสาหกรรม และดำเนินโครงการสนับสนุนในการพัฒนาอุตสาหกรรมดอกกล้วยไม้ ประเทศคู่ค้าที่สำคัญ ได้แก่ นิวซีแลนด์ เนเธอร์แลนด์ ไต้หวัน อเมริกาใต้ ไทยนำเข้าดอกกล้วยไม้สกุลหวาย ต้นกล้วยไม้สกุลฟาแลนนอปซิสลูกผสม

(2) ญี่ปุ่นสามารถผลิตกล้วยไม้เมืองร้อนที่ปลูกในโอกินาวา ประเทศญี่ปุ่นทำการขยายพันธุ์กล้วยไม้ฟาแลนนอปซิสโดยการผสมพันธุ์ต้นพ่อ-แม่พันธุ์ เมื่อได้ฝักแล้วส่งมาขายพันธุ์ที่ประเทศไทย เพราะค่าใช้จ่ายในการเพาะพันธุ์ที่ญี่ปุ่นมีต้นทุนสูงกว่า 5-6 เท่า เพาะเลี้ยงและอนุบาลเป็นไม้ขวดส่งกลับไปยังญี่ปุ่น นอกจากฝักแล้วไทยยังนำเข้ากล้วยไม้สกุลหวายลูกผสม (Dendrobium hybrid) จากญี่ปุ่น ประเทศคู่ค้าที่สำคัญ ได้แก่ ไทย ไต้หวัน

(3) เวียดนาม จากข้อมูลสถิติของกรมเกษตรและพัฒนาชนบทนครโฮจิมินห์ บริเวณปลูกกล้วยไม้ขนาดใหญ่ของ ภาคใต้เวียดนามอยู่ที่ เมืองดาลัด จังหวัดลำด่อง โดยมีการปลูกกล้วยไม้ พันธุ์ Cymbidium Hybrid และเขตนอกเมืองนครโฮจิมินห์ปลูกพันธุ์ Dendrobium, Mokara, Vanda, Oncidium ฯลฯ ดอกกล้วยไม้สกุลฟาแลนอปซีสลูกผสม และต้นกล้วยไม้สกุลฟานอปซิสเป็นสินค้าที่ส่งออกของเวียดนาม

(4) ไต้หวันถือเป็นผู้ส่งออกกล้วยไม้ที่สำคัญของโลกอีกแห่งหนึ่ง โดยอุตสาหกรรมกล้วยไม้ของไต้หวันได้รับการยอมรับว่ามี ศักยภาพในระดับนานาชาติทั้งในส่วนของการ ผสมพันธุ์ การวิจัยและพัฒนาพันธุ์ แหล่งเพาะปลูกกล้วยไม้ที่สำคัญของไต้หวันอยู่ในเขตจังหวัดไถหนาน เจียอี้ หนานโถ ผิงตง ไถจง ซึ่งเป็นที่ตั้งของ Taiwan Orchid Plantation ประเทศคู่ค้าที่สำคัญ ได้แก่ สิงคโปร์

เนเธอร์แลนด์ ไทย สินค้ากล้วยไม้ที่ไต้หวันส่งออกมาก ได้แก่ กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสม ต้นกล้วยไม้สกุลฟาแลนนอปซิสลูกผสม Phalaenopsis hybrid กล้วยไม้ขวด (Orchids's flask) เป็นต้น

(5) ฟิลิปปินส์มีการผลิตกล้วยไม้มากที่สุดที่เมืองดาเวา เกาะมินดาเนา จนได้รับขนานนามว่าเป็นเมืองหลวงกล้วยไม้ฟิลิปปินส์ พันธุ์ที่เป็นที่นิยมปลูก คือ Vanda sanderiana ซึ่งเป็นที่รู้จักและมีชื่อเสียง ฟิลิปปินส์มีสมาคมเกี่ยวกับการปลูกกล้วยไม้ และมีศักยภาพเพื่อพัฒนาอุตสาหกรรมเพื่อการส่งออกในอนาคต อุตสาหกรรมกล้วยไม้ในฟิลิปปินส์เจริญเติบโตเนื่องจากมีหน่วยงานสนับสนุนการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ได้แก่ Department of Agriculture และ Department of Science and technology ประเทศคู่ค้าที่สำคัญของฟิลิปปินส์ได้แก่ ไทย จีน เอกวาดอร์ เนเธอร์แลนด์ ไต้หวัน อิตาลี ญี่ปุ่นและเวียดนาม

ส่วนการนำเข้ากล้วยไม้ของไทยจากต่างประเทศนั้น เป็นลักษณะการนำเข้ามาเพื่อการขยายพันธุ์ เช่น วิธีการปั่นตา การเพาะเมล็ด การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และส่งออกในลักษณะดอกกล้วยไม้ และต้นกล้วยไม้ต่อไป

1.2 สืบค้นและรวบรวมข้อมูลศัตรูกล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิส

จากการสืบค้นชนิดศัตรูพืชของกล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิสรวมทั้งสิ้น 112 ชนิด ประกอบด้วย ไร 6 ชนิด แมลง 35 ชนิด เชื้อรา 21 ชนิด แบคทีเรีย 11 ชนิด ไวรัส 32 ชนิด ไวรอยด์ 1 ชนิด ไส้เดือนฝอย 3 ชนิด และหอยทาก 3 ชนิด โดยนำข้อมูลศัตรูพืชที่ได้มานำมาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของต้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กิ่งชำ ก้านช่อของกล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิสนำเข้าจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิกต่อไป

2. การตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับกล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิสนำเข้าในห้องปฏิบัติการ

ช่วงเดือน มกราคม-ธันวาคม 2565 ไทยนำเข้ากล้วยไม้ชนิดต่าง ๆ ได้แก่ ต้นกล้วยไม้สกุลหวาย ดอกกล้วยไม้สกุลหวาย ดอกกล้วยไม้สกุลฟาแลนอปซีส ก้านช่อดอกล้วยไม้สกุลฟาแลนนอปซีส และต้นกล้วยไม้สกุลฟาแลนนอปซิสลูกผสม จากกลุ่มประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิกประเทศที่ได้แก่ ญี่ปุ่น ไต้หวัน เนเธอร์แลนด์ มาเลเซีย เกาหลี และจีน การตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับตัวอย่างกล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิส (ต้นกล้วยไม้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และก้านช่อดอก) ที่นำเข้าในห้องปฏิบัติการจำนวน 25 ตัวอย่าง ได้แก่ ต้นกล้วยไม้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสกุลหวาย จำนวน 8 ตัวอย่าง ต้นกล้วยไม้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อฟาแลนนอปซีสจำนวน 12 ตัวอย่าง และก้านช่อกล้วยไม้ฟาแลนนอปซีส จำนวน 5 ตัวอย่าง ตรวจสอบชนิดศัตรูพืชเบื้องต้นโดยการสังเกตด้วยตาเปล่าและตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo เพื่อตรวจหาเส้นใยของเชื้อรา อาการฉ่ำน้ำของแบคทีเรีย ไส้เดือนฝอย ตัวอ่อน ไข่ หนอนของแมลงวัน และหอยทาก การตรวจสอบเชื้อไวรัสในห้องปฏิบัติการโดยใช้เทคนิคเซรุ่มวิทยาด้วยวิธี ImmunoStrip® Tests (Agdia, USA) สำหรับตรวจสอบเชื้อไวรัส

Cucumber mosaic virus (CMV), *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), *Impatiens necrotic spot virus* (INSV) and *Tobacco mosaic virus* (TMV) เทคนิคทางชีวโมเลกุลด้วยวิธี Polymerase chain reaction (PCR) และ Reverse Transcriptase PCR (RT-PCR) สำหรับการตรวจสอบเชื้อไวรัส *Cymbidium mosaic virus* (CyMV) and *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) และ Potyvirus Group ผลการตรวจไม่พบ แมลง ไร หอยทาก เชื้อรา และแบคทีเรีย พบเชื้อไวรัส TMV, ORSV และ CyMV ในกล้วยไม้ฟาแลนนอปซีส (ภาพที่ 1 และ 3) และไวรัส CyMV ในกล้วยไม้สกุลหวายเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (ภาพที่ 2) สำหรับตัวอย่างก้านช่อกล้วยไม้ฟาแลนนอปซีสตรวจไม่พบเชื้อไวรัส (ภาพที่ 4) เชื้อไวรัสทั้งสามชนิดที่ตรวจพบในกล้วยไม้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นเป็นศัตรูพืชของกล้วยไม้ที่มีรายงานในประเทศไทย

3. การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

กล้วยไม้จัดอยู่ในวงศ์ออคิดาซีอี้ (Orchidaceae) ส่วนหนึ่งส่วนใดของพืชในวงศ์ออคิดาซีอี้จัดเป็นสิ่งกำกัด ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งกำกัด ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พ.ศ. 2550 ซึ่งการนำเข้าต้องนำเข้านำผ่านทางด่านตรวจพืช และต้องมีใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาด้วย ปัจจุบันประเทศไทยนำเข้าส่วนต่าง ๆ ของกล้วยไม้เพื่อการค้า และการขยายพันธุ์ กล้วยไม้ที่มีความสำคัญทางการค้า

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

ประเทศไทยมีการนำเข้ากล้วยไม้จากต่างประเทศโดยไม่มีมาตรการสุขอนามัยพืชใด ๆ การนำเข้ามีเพียงใบรับรองสุขอนามัยพืชแนบมากับสินค้าเท่านั้น จึงมีความเสี่ยงที่อาจมีศัตรูพืชร้ายแรงที่ไม่มีในประเทศไทยจะติดมากับส่วนหนึ่งส่วนใดของกล้วยไม้ เชื้อไวรัส Tomato ringspot virus เป็นศัตรูพืชที่ไม่มีในประเทศไทยและถูกประกาศเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 ซึ่งศัตรูพืชที่กล่าวมานี้มีรายงานในประเทศคู่ค้าของไทย หากการนำเข้า

กล้วยไม้มีศัตรูพืชที่ร้ายแรงข้ามาจะส่งผลกระทบอย่างยิ่งต่อการส่งออกกล้วยไม้ของไทย ซึ่งจะสร้างความเสียหายที่ส่งผลกระทบต่อมูลค่าทางเศรษฐกิจอย่างมหาศาล

การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช

การจัดประเภทศัตรูพืช (pest categorization)

ผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนการจัดประเภทศัตรูพืช โดยนำรายชื่อศัตรูพืชที่มีศักยภาพติดมากับเส้นทางศัตรูพืช (ต้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และก้านช่อดอก) มีในประเทศผู้ส่งออก และไม่มีในประเทศไทย หรือมีแต่อยู่ภายใต้การควบคุมอย่างเป็นทางการ ศัตรูพืชเหล่านี้มีศักยภาพในการตั้งรกราก และการแพร่กระจายในประเทศไทย ตลอดจนมีศักยภาพที่จะทำให้เกิดความเสียหายหรือผลกระทบทางเศรษฐกิจ จึงได้รายชื่อศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกันของกล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิสนำเข้าจากประเทศต้นทางในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก ศัตรูพืชที่มีความเสี่ยงสูง ได้แก่ ไวรัส 11 ชนิด คือ *Calanthe mosaic virus, Capsicum chlorosis virus-phalaenopsis isolate, Impatiens necrotic spot virus, Dendrobium mosaic virus, Dendrobium vein necrosis virus, Orchid fleck virus, Phalaenopsis chlorotic spot virus, Tobacco rattle virus, Tomato ringspot virus, Tomato spotted wilt orthotospovirus, Vanilla mosaic virus* และ ไวรอยด์ 1 ชนิด คือ *Dendrobium viroid*

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

กล้วยไม้สกุลหวาย และฟาแลนนอปซิสเป็นกล้วยไม้ที่เป็นที่นิยมและนำเข้ามามากที่สุดของประเทศ ซึ่งมีการนำเข้ามาในประเทศในรูปแบบของต้นกล้วยไม้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กิ่งชำ ก้านช่อ ดอก และเมล็ดพันธุ์ เป็นการนำเข้ามาเพื่อการค้าและการเพาะปลูก จากสาธารณรัฐประชาชนจีน และสาธารณรัฐสังคมนิยมเวียดนาม ไต้หวัน ญี่ปุ่น เป็นจำนวนมาก เนื่องจากกล้วยไม้จัดเป็นสิ่งกำกัดการนำเข้าจึงมีเพียงใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาพร้อมกับสินค้าโดยไม่มีมาตรการจัดการก่อนนำเข้า ซึ่งอาจเป็นสาเหตุให้ศัตรูพืชของกล้วยไม้ที่ไม่มีรายงานพบในประเทศติดเข้ามากับส่วนของกล้วยไม้ที่นำข้า ทั้งนี้จากการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชของจากการสืบค้นชนิดศัตรูพืชของกล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิสมีรายงานศัตรูพืชรวมทั้งสิ้น 112 ชนิด เมื่อนำมาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชในส่วนของ ต้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กิ่งชำ ก้านช่อของกล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิส พบว่ามีศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานพบประเทศไทยและมีโอกาสติดเข้ามากับนำเข้าได้รวม 12 ชนิด ซึ่งจะนำศัตรูพืชดังกล่าวมาวิเคราะห์ระดับความเสี่ยง และหาแนวทางการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันแต่ละชนิดของกล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิส เพื่อป้องกันมิให้ศัตรูพืชต่างถิ่นที่เป็นศัตรูพืชกักกันหรือศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชร้ายแรงเข้ามาแพร่ระบาดทำความเสียหายให้กับการเกษตรในประเทศ

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นักวิชาการและเจ้าหน้าที่กลุ่มงานวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช กลุ่มวิจัยการกักกันพืชและกลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช ทุกท่าน ที่ช่วยให้คำแนะนำและความช่วยเหลือในการทำงานวิจัย รวมทั้งขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร ในการให้ข้อมูลทางวิชาการที่เกี่ยวข้องกับการดำเนินงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

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

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

CAHFSA (Caribbean Agricultural Health and Food Safety Agency). 2016. Guidelines for pest risk analysis of imported plant and plant products. Version 1.1 published October 2016. 33p.

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

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2013. International Standards for Phytosanitary Measures No. 11 (ISPM 11): Pest risk analysis for quarantine pests. (Online). Available. https://www.ippc.int/en/core-activities/standards-setting/ispms/. (February 6, 2021)

Mahasan, 2535. กล้วยไม้. ระบบออนไลน์. แหล่งข้อมูล: https://mahasan2535.wordpress.com/ (12 มีนาคม 2563)

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

Figure 1 Shows importation of Phalaenopsis species from the Asia-Pacific region

Figure 2 Shows importation of Dendrobium species from the Asia-Pacific region

Figure 3 Shows the signs and symptoms of the CyMV virus on the leaves of tissue-cultured phalaenopsis orchids

Figure 4 Phalaenopsis species stalk imported from the Asia-Pacific region

การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้าวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูกจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก

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

อลงกต โพธิ์ดี วาสนา ฤทธิ์ไธสง วานิช คำพานิช
สุรศักดิ์ แสนโคตร
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้าวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูกจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม 2565 - กันยายน 2567 ซึ่งจากการจัดทำแผนและประสานงานกับด่านตรวจพืชในเบื้องต้น และร่วมตรวจสอบขาเข้าสินค้าที่ส่งมอบกับพนักงานเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชท่าเรือแหลมฉบังและด่านตรวจพืชเชียงของในปี 2565 พบว่าพืชสำหรับปลูกที่นำเข้า เช่น ไม้ประดับ (ไม้กระถาง) โดยชนิด (species) ของพืชสำหรับปลูกดังกล่าวจัดเป็นสิ่งกำกัดและสิ่งไม่ต้องห้ามตามกฎหมายว่าด้วยการกักพืชซึ่งยังไม่มีข้อกำหนดการนำเข้าด้านสุขอนามัยพืชเฉพาะ และพบว่าวัสดุปลูกที่ใช้เป็นหรือมีส่วนประกอบเป็นสิ่งต้องห้ามหรือส่วนหนึ่งส่วนใดของสิ่งต้องห้าม เช่น เส้นใยมะพร้าว (กาบมะพร้าว ขุยมะพร้าว) รวมทั้งการนำเข้าพืชสำหรับปลูกจะมีดินติดเข้ามาด้วย ตลอดจนพบสิ่งมีชีวิต เช่น แมลง (ตัวอ่อนแมลงในอันดับ Coleoptera วงศ์ Scarabaeidae) ทาก หอย และไส้เดือน นอกจากนี้ สินค้าที่ส่งมอบดังกล่าว มีใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาด้วย

คำหลัก : วัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูก การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช ภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก

รหัสการทดลอง FF65-55-02-65-00-09-65

คำนำ

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

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

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. มาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 2 เรื่อง กรอบสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Framework for pest risk analysis (2007))
2. มาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกัน (Pest risk analysis for quarantine pests (2013))
3. มาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 40 เรื่อง การเคลื่อนย้ายวัสดุปลูกร่วมกับพืชพืชสำหรับปลูกระหว่างประเทศ (International movement of growing media in association with plants for planting (2017))

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

5. หนังสือ ตำรา วารสาร เอกสารวิชาการที่เกี่ยวข้องทั้งในและต่างประเทศ และฐานข้อมูลออนไลน์ เช่น Crop Protection Compendium, Description of Fungi and Bacteria, Description Maps of Plant Pests, Description Maps of Plant Diseases เป็นต้น

6. วัสดุคอมพิวเตอร์ เช่น หมึกพิมพ์ และแผ่นบันทึกข้อมูล เป็นต้น

7. วัสดุเกษตร เช่น ดิน กระถาง เป็นต้น

8. วัสดุวิทยาศาสตร์ เช่น อาหารแยกเชื้อ จานเพาะเชื้อ สารเคมี เป็นต้น

วิธีการ

มีขั้นตอนและวิธีการ ดังต่อไปนี้

1. การสืบค้นและรวบรวมข้อมูล (2565-2566)

1.1 สืบค้นและรวบรวมข้อมูลทั่วไปของวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูกที่นำเข้า เช่น ชนิด ต้นกำเนิด ส่วนประกอบของวัสดุปลูก รวมทั้งข้อมูลของพืชสำหรับปลูก แหล่งผลิตในประเทศผู้ส่งออก การรับรองสุขอนามัยของประเทศผู้ส่งออก เป็นต้น

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

2. การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (2565-2567)

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

มาตรการผสมผสานสำหรับพืชสำหรับปลูก (Integrated measures for plants for planting 2012) ซึ่งประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ดังนี้

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

1.1 ระบุจุดเริ่มต้นของการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช/ระบุพื้นที่ซึ่งมีการดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช/ตรวจสอบว่าเคยมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงโดยศัตรูพืช หรือเส้นทางศัตรูพืช หรือนโยบายของรัฐจากแหล่งข้อมูลภายในประเทศไทยและต่างประเทศพิจารณานำมาใช้ประกอบการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

1.2 นำข้อมูลศัตรูพืชที่ได้จากการสืบค้นและรวบรวมจากหนังสือ ตำรา เอกสารวิชาการ ฐานข้อมูลศัตรูพืช และจากการตรวจสอบศัตรูพืชที่พบติดมากับวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูกที่นำเข้าจากต่างประเทศ มาจัดทำตารางศัตรูพืชเพื่อใช้สำหรับการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนต่อไป

ขั้นตอนที่ 2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 2: Pest Risk Assessment) (2565-2567)

การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชมี 4 ขั้นตอนที่สัมพันธ์กัน ดังนี้

2.1 การจัดประเภทศัตรูพืช (Pest categorization) (2565-2567)

2.1.1 นำรายชื่อศัตรูพืชที่ได้จากขั้นตอนที่ 1 มาพิจารณาจัดประเภทศัตรูพืชว่ามีคุณสมบัติเป็นศัตรูพืชกักกันหรือไม่ โดย (1) ระบุชนิดของศัตรูพืช (pest identity) (2) ตรวจสอบว่าเป็นศัตรูพืชที่มีพบในประเทศไทยหรือไม่ (3) ตรวจสอบสถานภาพการควบคุมศัตรูพืช (Regulatory status) กรณีที่ศัตรูพืชชนิดนั้นมีปรากฏในประเทศไทย (4) ประเมินศักยภาพของศัตรูพืชในการเข้ามาตั้งรกรากและการแพร่กระจายในประเทศไทยหรือไม่ โดยพิจารณาข้อมูลทางชีววิทยาของศัตรูพืช สภาพแวดล้อมและสภาพภูมิอากาศที่เหมาะสมต่อการเจริญแพร่พันธุ์ พืชอาศัย/พืชอาหาร และพาหะของศัตรูพืชชนิดนั้นที่มีรายงานการพบในประเทศไทย (5) ประเมินศักยภาพของศัตรูพืช ในการก่อให้เกิดผลตามมาทางเศรษฐกิจในประเทศไทย

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

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

นำรายชื่อศัตรูพืช/กลุ่มศัตรูพืชที่ได้จากการประเมินในข้อ 2.1 มาประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการนำเข้ามาและแพร่กระจายของศัตรูพืชภายหลังการตั้งรกรากของศัตรูพืช โดยแยกประเมินศัตรูพืชแต่ละชนิด ดังนี้

2.2.1 การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการนำเข้ามา (introduction) ของศัตรูพืช ประกอบด้วย

(1) การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการเข้ามา (probability of entry) ของศัตรูพืช โดยประเมินความน่าจะเป็นไปได้ที่ศัตรูพืชจะปะปนมากับวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูกที่นำเข้ามาในประเทศไทย

(2) การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการตั้งรกราก (probability of establish) ของศัตรูพืช โดยประเมินความน่าจะเป็นไปได้ที่ศัตรูพืชสามารถมีชีวิตอยู่รอดและเจริญแพร่ขยายพันธุ์ได้ในประเทศไทย

2.2.2 การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการแพร่กระจายหลังการตั้งรกราก (Probability of spread after establishment) Spread) โดยประเมินความน่าจะเป็นไปได้ที่ศัตรูพืชสามารถแพร่กระจายในประเทศไทย

ปัจจัยที่นำมาใช้พิจารณาประเมินความน่าจะเป็นไปได้ใช้ตามแนวทางการวิเคราะห์ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกัน (FAO, 2013) สำหรับรายละเอียดหลักเกณฑ์การประเมินความน่าจะเป็นไปได้แต่ละเหตุการณ์ ตลอดจนการรวมผลการประเมินใน 2 เหตุการณ์ โดยใช้กฎเมตริกซ์สำหรับการรวมโอกาสที่จะเกิดขึ้นเชิงคุณภาพ (Matrix of rules for combining qualitative likelihoods) ดำเนินการตามแนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืชของประชาคมตลาดร่วมแคริบเบียน (CAHFSA, 2016)

2.3 การประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้น (Assessment of Potential Economic Consequence) ภายหลังการเข้ามาของศัตรูพืช (2566-2567)

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

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

นำผลการประเมินความน่าจะเป็นไปได้ในข้อ 2.2.1 การนำเข้ามาและการแพร่กระจายของศัตรูพืช และข้อ 2.2.2 การประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้นภายหลังการเข้ามาของศัตรูพืช มารวมกันโดยใช้ เมตริกซ์การประเมินความเสี่ยง (risk estimation matrix) (CAHFSA, 2016) บันทึกปัจจัยที่ไม่แน่นอน (uncertainty)

ขั้นตอนที่ 3 การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 3: Pest Risk Management) (2567)

นำรายชื่อศัตรูพืชกักกัน/กลุ่มศัตรูพืช ที่ได้จากการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนที่ 2 มาพิจารณาหาแนวทางการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชเพื่อจัดการความเสี่ยงของศัตรูพืชแต่ละชนิด โดยจำแนกวิธีการที่จะดำเนินการกับความเสี่ยงศัตรูพืชในการเข้ามาเจริญและแพร่กระจายในประเทศไทยตลอดจนผลกระทบทางด้านเศรษฐกิจเพื่อลดความเสี่ยงลงให้ถึงระดับต่ำสุดที่ยอมรับได้ โดยมีความเป็นไปได้ในทางปฏิบัติและไม่เป็นอุปสรรคต่อการค้าระหว่างประเทศ สำหรับนำไปใช้เป็นแนวทางในการกำหนดเงื่อนไขการนำเข้าตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 และที่แก้ไขเพิ่มเติม ทั้งนี้ การพิจารณาระดับความเสี่ยง (Level of risk) ใช้หลักการจัดการความเสี่ยงให้อยู่ในระดับที่มีระดับที่เหมาะสมซึ่งสามารถยอมรับได้ (Appropriate Level of acceptable; ALOP) หรือระดับความเสี่ยงที่สามารถยอมรับได้ (acceptable) โดยในการทดลองนี้กำหนดให้มีระดับความเสี่ยงที่ยอมรับได้ คือ “ความเสี่ยงในระดับที่ละเลยได้ (negligible)”

4.สรุปผลศึกษาการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (2567)

สรุปผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนต่าง ๆ รวมถึงรายชื่อศัตรูพืชกักกัน/กลุ่มศัตรูพืชของการนำเข้าวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูกจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิกที่มีระดับความเสี่ยงแตกต่างกัน แนวทางการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันแต่ละชนิด และมาตรการสนับสนุนอื่น ๆ สำหรับใช้เป็นข้อมูลกำหนดมาตรการทางกฎหมายต่อไป

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาดำเนินการ เริ่มต้น ตุลาคม 2564 สิ้นสุด กันยายน พ.ศ. 2567 รวม 3 ปี

สถานที่ดำเนินการ

1. ห้องปฏิบัติการและโรงเรือนทดลอง กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
2. ด่านตรวจพืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการดำเนินงานของการทดลอง (ปี 2565)

1. การสืบค้นและรวบรวมข้อมูล

1.1 ระเบียบข้อบังคับ (regulations)

ตามมาตรา 4 แห่งพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 ซึ่งแก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 กำหนดนิยามคำว่า “ดิน” หมายความว่า ดินชนิดที่มีอินทรีย์วัตถุหรือเป็นที่อาศัยของศัตรูพืชได้ และคำว่า “พาหะ” หมายความว่า เครื่องปลูก ดิน ทราย ภาชนะ หรือสิ่งอื่นที่ใช้ห่อหุ้มมาพร้อมกับพืช ปุ๋ยอินทรีย์หรือสิ่งอื่นใดที่อาจเป็นสื่อนำศัตรูพืช ซึ่งกระทรวงเกษตร

และสหกรณ์ได้ออกประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 ลงวันที่ 26 เมษายน พ.ศ. 2550 กำหนดให้พืชและพาหะตามรายชื่อแนบท้ายประกาศจากทุกแหล่งเป็นสิ่งต้องห้าม ซึ่งในรายชื่อดังกล่าวนี้ มี “ดิน” และ “ปุ๋ยอินทรีย์” โดยประกาศฉบับนี้ได้ให้นิยามคำว่า “ปุ๋ยอินทรีย์” หมายความว่า ปุ๋ยที่ได้หรือทำมาจากวัสดุอินทรีย์ ซึ่งผลิตด้วยกรรมวิธีทำให้ชื้น สับ หมัก บด ร่อน สกัด หรือด้วยวิธีการอื่น แต่ไม่ใช่ปุ๋ยเคมีและปุ๋ยชีวภาพ นอกจากนี้ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ได้ออกประกาศกำหนดให้พืช ศัตรูพืช และพาหะ เป็นสิ่งต้องห้ามหรือสิ่งกำกัดอีกหลายฉบับ ซึ่งการนำเข้าหรือนำผ่านซึ่งสิ่งต้องห้ามหรือสิ่งกำกัดต้องปฏิบัติตามหลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไขที่อธิบดีกรมวิชาการเกษตรกำหนด อย่างไรก็ดี ยังไม่มีข้อกำหนดการนำเข้าด้านสุขอนามัยพืชเฉพาะที่จัดทำขึ้นเกี่ยวกับวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูกซึ่งเคลื่อนย้ายเข้าสู่ประเทศ

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

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

1.4 วัสดุปลูกก่อให้เกิดความเสี่ยงเนื่องจากมีศักยภาพเป็นที่อยู่ หลบซ่อนหรือเป็นสื่อนำกลุ่มศัตรูพืชที่มีความเสี่ยง เช่น เมล็ดวัชพืช รา แบคทีเรีย ไส้เดือนฝอย แมลง ไร หอยทาก

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

ระยะเวลาของวงจรการผลิตพืช และปริมาณของวัสดุปลูกที่มีอยู่ร่วมกับพืชสำหรับปลูกทั้งหมดในสินค้าที่ส่งมอบ (consignment)

2. การตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูกนำเข้า

2.1 จากการจัดทำแผนและประสานงานกับด่านตรวจพืชในเบื้องต้น และร่วมตรวจสอบขาเข้าสินค้า ที่ส่งมอบกับพนักงานเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชท่าเรือแหลมฉบังและด่านตรวจพืชเชียงของ พบว่าพืชสำหรับปลูกที่นำเข้า เช่น ไม้ประดับ (ไม้กระถาง) โดยชนิด (species) ของพืชสำหรับปลูกดังกล่าวจัดเป็นสิ่งกำกัดและสิ่งไม่ต้องห้ามตามกฎหมายว่าด้วยการกักพืชซึ่งยังไม่มีข้อกำหนดการนำเข้าด้านสุขอนามัยพืชเฉพาะ และพบว่าวัสดุปลูกที่ใช้เป็นหรือมีส่วนประกอบเป็นสิ่งต้องห้ามหรือส่วนหนึ่งส่วนใดของสิ่งต้องห้าม เช่น เส้นใยมะพร้าว (กาบมะพร้าว ขุยมะพร้าว) รวมทั้งการนำเข้าพืชสำหรับปลูกจะมีดินติดเข้ามาด้วย ตลอดจนพบสิ่งมีชีวิต เช่น แมลง (ตัวอ่อนแมลงในอันดับ Coleoptera วงศ์ Scarabaeidae) ทาก หอย และไส้เดือน นอกจากนี้ สินค้าที่ส่งมอบดังกล่าว มีใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาด้วย

3. การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

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

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

ขั้นตอนที่ 2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 2: Pest Risk Assessment)

2.1 การจัดประเภทศัตรูพืช (Pest categorization)

นำรายชื่อกลุ่มศัตรูพืชที่ได้จากขั้นตอนที่ 1 มาดำเนินการจัดประเภทของศัตรูพืชว่าศัตรูพืชมีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน พบว่า กลุ่มศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน เช่น รา เช่น *Chalara elegans*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lilii*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *narcissi*, *Phytophthora boehmeriae*, *Phytophthora capsica*, *Phytophthora citricola*, *Phytophthora cryptogea*, *Phytophthora hibernalis*, *Phytophthora katsurae*, *Phytophthora megakarya*, *Phytophthora megasperma*, *Phytophthora porri*, *Sclerotium cepivorum*

ทั้งนี้ ยังดำเนินการไม่แล้วเสร็จ ซึ่งต้องดำเนินการต่อในปี 2566-2567

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

พืชสำหรับปลูกที่นำเข้า เช่น ไม้ประดับ (ไม้กระถาง) โดยชนิดของพืชสำหรับปลูกดังกล่าวจัดเป็นสิ่งกำกัดและสิ่งไม่ต้องห้ามตามกฎหมายว่าด้วยการกักพืชซึ่งยังไม่มีข้อกำหนดการนำเข้าด้านสุขอนามัยพืชเฉพาะ และพบว่าวัสดุปลูกที่ใช้เป็นหรือมีส่วนประกอบเป็นสิ่งต้องห้ามหรือส่วนหนึ่งส่วนใดของสิ่งต้องห้าม เช่น เส้นใยมะพร้าว (กาบมะพร้าว ขุยมะพร้าว) รวมทั้งการนำเข้าพืชสำหรับปลูกจะมีดินติดเข้ามาด้วย ตลอดจนพบสิ่งมีชีวิต เช่น แมลง (ตัวอ่อนแมลงในอันดับ Coleoptera วงศ์ Scarabaeidae) ทาก หอย และไส้เดือน นอกจากนี้ สินค้าที่ส่งมอบดังกล่าว มีใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาด้วย และจากการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนการจัดประเภทศัตรูพืช กลุ่มศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน เช่น รา ในสกุล *Chalara, Fusarium, Phytophthora* และ *Sclerotium*

เอกสารอ้างอิง

CABI (Centre for Agriculture and Bioscience International). 2020. Crop Protection Compendium. Wallingford, UK: CAB International. (Online). Available. http://www.cabi.org/. (March 06, 2020).

CAHFSA (Caribbean Agricultural Health and Food Safety Agency). 2016. Guidelines for pest risk analysis of imported plant and plant products. Version 1.1 published October 2016. 33p.

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

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

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2013. International Standards for Phytosanitary Measures No. 11 (ISPM 11): Pest risk analysis for quarantine pests. (Online). Available. https://www.ippc.int/en/core-activities/standards-setting/ispms/. (February 6, 2021)

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

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

Figure 2 Samples of prohibited growing media and pests

การตรวจวินิจฉัยชนิดของไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้า

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

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

รายงานความก้าวหน้า

มะเขือเทศ (Tomato, *Solanum lycopersicum*) และพริก (Pepper, *Capsicum annuum* L.) อยู่ในวงศ์ *Solanaceae* จากการสุ่มตัวอย่างระหว่างเดือนตุลาคม 2564-กันยายน 2565 เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจาก 24 ประเทศ จำนวน 275 ตัวอย่าง และเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจาก 21 ประเทศ จำนวน 235 ตัวอย่าง ตรวจวินิจฉัยชนิดของไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ด้วยเทคนิค reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) ไม่พบไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ที่เป็นศัตรูพืชกักกันติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้า และผลการปลูกสังเกตอาการและการติดตามศัตรูพืชในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกไม่พบไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ศัตรูพืชกักกัน

คำหลัก : เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ เมล็ดพันธุ์พริก นำเข้า ไวรัสจีนัส *Tobamovirus*

รหัสการทดลอง FF65-55-03-65-00-01-65

คำนำ

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

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

ในปี 2557 มีรายงานพบเชื้อไวรัสชนิดใหม่ในจีนัส *Tobamovirus* โดยมีชื่อเรียกว่า *Tomato brown rugose fruit virus* (ToBRFV) เป็นครั้งแรก ในแหล่งปลูกมะเขือเทศประเทศอิสราเอล ต่อมามีรายงานพบไวรัสชนิดนี้ในหลายภูมิภาคดังนี้ ปี 2558 พบในจอร์แดน ปี 2561 พบในเม็กซิโก เยอรมัน

และในรัฐแคลิฟอร์เนีย สหรัฐอเมริกา ปี 2562 พบในอิตาลี ปาเลสไตน์ ตุรกี สหราชอาณาจักร และในมณฑลซานตง สาธารณรัฐประชาชนจีน (EPPO, 2019) ToBRFV สามารถเข้าทำลาย และก่อให้เกิดโรคกับมะเขือเทศสายพันธุ์การค้าในปัจจุบันที่มียีนส์ *Tm22* และพริกที่มียีนส์ *L1*, *L3* และ *L4* ซึ่งต้านทานต่อ *Tobamovirus* ชนิดอื่น ทำให้เกิดอาการรุนแรง คุณภาพผลผลิตไม่เป็นที่ต้องการของตลาด มีรายงานการระบาดอย่างรุนแรงเกือบ 100 เปอร์เซ็นต์ กับมะเขือเทศในจอร์แดน และในอิสราเอลพบครั้งแรกทางตอนใต้ของประเทศในปี 2557 และเกิดระบาดในพื้นที่ปลูกมะเขือเทศทั่วประเทศภายในระยะเวลา 2 ปี (Luria และคณะ, 2017) ขณะนี้หลายประทศ เช่น อเมริกา สหภาพยุโรป ออสเตรเลีย และนิวซีแลนด์ เป็นต้น เริ่มตื่นตัวและมีการเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัส ToBRFV โดยออกกฎระเบียบในการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและพริก ต้องมีการรับรองว่ามาจากประเทศหรือแหล่งผลิตที่ปลอดจากเชื้อไวรัส ToBRFV หรือต้องตรวจเมล็ดในห้องปฏิบัติการว่าปราศจากเชื้อไวรัส ToBRFV (กรมวิชาการเกษตร, 2562) ถึงจะส่งออกไปยังประเทศปลายทางตามเงื่อนไขที่กำหนด ปัจจุบันเชื้อ ToBRFV ยังไม่มีรายงานปรากฏในประเทศไทย และมีความสำคัญต่อการค้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกอย่างยิ่ง ดังนั้นจึงเป็นที่มาของวัตถุประสงค์ของงานวิจัยในครั้งนี้ การตรวจวินิจฉัยชนิดไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้า เพื่อไม่ให้มีศัตรูพืชร้ายแรงที่มีผลกระทบต่อการค้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศไทย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

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

วิธีการ

1. สืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับเชื้อไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ที่มีรายงานการเข้าทำลายในมะเขือเทศทั้งของประเทศไทยและประเทศคู่ค้า รวมทั้งข้อมูลในเรื่องของวิธีการตรวจสอบด้วยเทคนิคด้านเซรุ่มวิทยาและชีวโมเลกุล เพื่อนำมาใช้ในการวางแผนการตรวจสอบ

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

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

3.1 สกัดสารพันธุกรรมชนิดอาร์เอ็นเอ (Total RNA) จากเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็พันธุ์พริกนำเข้าแต่ละรายการ โดยใช้ชุดสกัดสำเร็จรูป

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

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

3.4 ตัวอย่างที่ปรากฏแถบแบนของดีเอ็นเอเป้าหมายถือว่าให้ผลบวกกับการตรวจสอบ ทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมอีกครั้งเพื่อส่งตัวอย่างไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

3.5 วิเคราะห์และเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของแต่ละตัวอย่างไป โดยจัดการข้อมูลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป DNASTAR และเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลใน GenBank

4. ปลูกพืชตรวจสอบอาการที่เกิดจากเชื้อไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ในโรงเรือน

5. ติดตามตรวจสอบไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ภายหลังการนำเข้า โดยทำการติดตามตรวจสอบในแปลงผลิตหรือในโรงเรือนเพาะเมล็ดของบริษัทที่นำเข้าในจังหวัดขอนแก่น สกลนคร อุดรธานี เชียงใหม่ เชียงราย และตาก

6. สรุปผลการทดลอง

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาดำเนินการ : ปีเริ่มต้น 2565 สิ้นสุดปี 2566

สถานที่ดำเนินการ : ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช โรงเรือนเพาะกล้าของบริษัทเอกชนและพื้นที่เพาะปลูกเมล็ดพันธุ์นำเข้าในจังหวัดขอนแก่น สกลนคร อุดรธานีเชียงใหม่ เชียงราย และตาก

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. จากการสืบค้นข้อมูล ไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ได้แก่ *Tobacco mosaic virus* (TMV) *Tomato mosaic virus* (ToMV) *Pepper mild mottle virus* (PMMoV, PMMV) *Tobacco mild green mosaic virus* (TMGMV) *Tomato mottle mosaic virus* (ToMMV) *Tomato brown rugose fruit virus* (ToBRFV) *Tobacco mild green mosaic virus* (TMGMV) ซึ่งไวรัสจีนัส *Tobamovirus* มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและพริก (Carlye *et. al*., 2000) และรายงานพบเชื้อไวรัสชนิดใหม่ในจีนัส *Tobamovirus* โดยมีชื่อเรียกว่า *Tomato brown rugose fruit virus* (ToBRFV) เป็นครั้งแรก ในแหล่งปลูกมะเขือเทศประเทศอิสราเอล ต่อมามีรายงานพบไวรัสชนิดนี้ในหลายภูมิภาคดังนี้ ปี 2558 พบในจอร์แดน ปี 2561 พบในเม็กซิโก เยอรมัน และในรัฐแคลิฟอร์เนีย สหรัฐอเมริกา ปี 2562 พบในอิตาลี ปาเลสไตน์ ตุรกี สหราชอาณาจักร และในมณฑลซานตง

สาธารณรัฐประชาชนจีน (EPPO, 2019) ToBRFV สามารถเข้าทำลาย และก่อให้เกิดโรคกับมะเขือเทศสายพันธุ์การค้าในปัจจุบันที่มียีนส์ *Tm22* และพริกที่มียีนส์ *L1*, *L3* และ *L4* ซึ่งต้านทานต่อ *Tobamovirus* ชนิดอื่น ทำให้เกิดอาการรุนแรง คุณภาพผลผลิตไม่เป็นที่ต้องการของตลาด มีรายงานการระบาดอย่างรุนแรงเกือบ 100 เปอร์เซ็นต์ กับมะเขือเทศในจอร์แดน และในอิสราเอลพบครั้งแรกทางตอนใต้ของประเทศในปี 2557 และเกิดระบาดในพื้นที่ปลูกมะเขือเทศทั่วประเทศภายในระยะเวลา 2 ปี (Luria และคณะ, 2017) ขณะนี้หลายประทศ เช่น อเมริกา สหภาพยุโรป ออสเตรเลีย และนิวซีแลนด์ เป็นต้น เริ่มตื่นตัวและมีการเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัส ToBRFV โดยออกกฎระเบียบในการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและพริก ต้องมีการรับรองว่ามาจากประเทศหรือแหล่งผลิตที่ปลอดจากเชื้อไวรัส ToBRFV หรือต้องตรวจเมล็ดในห้องปฏิบัติการว่าปราศจากเชื้อไวรัส ToBRFV (กรมวิชาการเกษตร, 2562) ถึงจะส่งออกไปยังประเทศปลายทางตามเงื่อนไขที่กำหนด ปัจจุบันเชื้อ ToBRFV ยังไม่มีรายงานปรากฏในประเทศไทย และมีความสำคัญต่อการค้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกอย่างยิ่ง

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

2. จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าตามมาตรฐาน International Seed Testing Association เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ มีการนำเข้า จำนวน 275 ตัวอย่าง นำเข้าจาก 24 ประเทศ ได้แก่ Brazil Chile China England France Guatemala Hungary India Indonesia Israel Italy Japan Kenya Korea Malaysia Myanmar Netherlands Peru Philippines South Africa Spain Taiwan USA และ Vietnam ทำการตรวจวินิจฉัยเชื้อไวรัสจีนัส *Tobamovirus* โดยใช้เทคนิค RT-PCR ผลการตรวจเชื้อไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ในห้องปฏิบัติการด้วยเทคนิค RT-PCR ไม่พบไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้า และเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจำนวน 235 ตัวอย่าง นำเข้าจาก 21 ประเทศ ได้แก่ Chile China France India Indonesia Israel Italy Japan Korea Malaysia Netherlands Peru Philippines Spain Taiwan Tanzania UK USA และ Vietnam ผลการตรวจเชื้อไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ในห้องปฏิบัติการด้วยเทคนิค RT-PCR ไม่พบไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้า

3.ปลูกสังเกตุลักษณะอาการผิดปกติในโรงเรือนปลูกพืช ไม่พบอาการผิดปกติที่เกิดจากเชื้อไวรัสจีนัส *Tobamovirus*

4. ติดตามตรวจสอบเชื้อไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและพริกนำเข้า จังหวัดขอนแก่น อุดรธานี สกลนคร เชียงใหม่ เชียงราย และตาก จำนวน 30 แปลง ผลการ

ดำเนินงานไม่พบเชื้อไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ที่เป็นศัตรูพืชกักกันในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและพริกนำเข้า

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการตรวจวินิจฉัยไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้า ผลการตรวจวินิจฉัยไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ในห้องปฏิบัติการด้วยเทคนิค PCR ไม่พบไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริก เมื่อทำการปลูกสังเกตุลักษณะอาการผิดปกติในโรงเรือนปลูกพืช ไม่พบอาการผิดปกติที่เกิดจากเชื้อไวรัสจีนัส *Tobamovirus* และจากการติดตามในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและพริกนำเข้า จังหวัดขอนแก่น อุดรธานี สกลนคร เชียงใหม่ เชียงราย และตาก ผลการดำเนินงานไม่พบเชื้อไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ที่เป็นศัตรูพืชกักกันในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ และพริกนำเข้า

ปัจจุบันมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกจากหลายประเทศ ซึ่งเมล็ดพันธุ์ทั้งสองชนิดเป็นพืชอาศัยหลักของไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ที่มีโอกาสที่จะติดเข้ามาแพร่ระบาดสร้างความเสียหายได้ โดยเฉพาะเชื้อไวรัส *Tomato brown rugose fruit virus* ซึ่งเป็นศัตรูพืชที่มีความสำคัญต่อการส่งออกเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกเป็นอย่างยิ่ง ปัจจุบันในการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกนั้น ประเทศไทยได้มีการกำหนดเงื่อนไขการนำเข้า ตามประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ และเงื่อนไขการนำเข้าเมล็ดพันธุ์พริก ประเทศใดที่จะนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกต้องมาจากประเทศที่ไม่พบศัตรูพืชกักกันตามที่กำหนดหรือต้องทดสอบในห้องปฏิบัติการด้วยวิธีที่เหมาะสมว่าปราศจากศัตรูพืชกักกันที่กำหนด จากการกำหนดมาตรการหรือเงื่อนการนำเข้านั้น ทำให้ลดความเสี่ยงของการเข้ามาแพร่ระบาดของศัตรูพืชกักกันหรือศัตรูพืชที่ยังไม่มีในประเทศไทย แต่อย่างไรก็ตามหากตรวจพบไวรัสจีนัส *Tobamovirus* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริก หากเป็นศัตรูพืชกักกันจะดำเนินมาตรการโดยทำลายหรือส่งสินค้ากลับ และหากเป็นไวรัสที่มีรายงานพบในประเทศไทยจะดำเนินการ โดยให้คำแนะนำแก่บริษัทหรือผู้ประกอบการให้ทำการกำจัดศัตรูพืชด้วยสารเคมี 10% TSP ก่อนนำเมล็ดพันธุ์ไปเพาะปลูก เพื่อลดความเสียหายที่อาจเกิดจากการเข้าทำลายของไวรัสจีนัส *Tobamovirus*

คำขอบคุณ

ขอบคุณเจ้าหน้าที่กลุ่มงานวินิจฉัยศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช ที่ให้ความร่วมมือและมีส่วนช่วยในการวิจัยในครั้งนี้สำเร็จได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Table 1 *Tobamovirus* associated with tomato seeds

	Countries	1 ต.ค. 64-30 ก.ย.65 (1 ปี)		*Tobamovirus*
		Quantity (kg)	Consignment	
1	Brazil	0.01	1	ไม่พบ
2	Chile	0.507	3	ไม่พบ
3	China	37.895	6	ไม่พบ
4	England	0.022	1	ไม่พบ
5	France	148.964	23	ไม่พบ
6	Hungary	0.0048	1	ไม่พบ
7	Guatemala	3.568	2	ไม่พบ
8	India	2,036.48	48	ไม่พบ
9	Indonesia	2.437	5	ไม่พบ
10	Isael	3.717	23	ไม่พบ
11	Italy	1.002	3	ไม่พบ
12	Japan	4.022	14	ไม่พบ
13	Kenya	3.395	3	ไม่พบ
14	Korea	0.045	1	ไม่พบ
15	Malaysia	1.114	1	ไม่พบ
16	Myanmar	11.218	2	ไม่พบ
17	Netherlands	7,057	83	ไม่พบ
18	Peru	2.513	4	ไม่พบ
19	Philippines	409.893	5	ไม่พบ
20	South Africa	0.656	2	ไม่พบ
21	Spain	1.851	6	ไม่พบ
22	Taiwan	1.047	5	ไม่พบ
23	USA	292.328	32	ไม่พบ
24	Vietnam	30	1	ไม่พบ
	รวม	**10,050.0728**	**275**	

Table 2 *Tobamovirus* associated with pepper seeds

	Countries	1 ต.ค. 64-30 ก.ย.65 (1 ปี)		*Tobamovirus*
		Quantity (kg)	Consignment	
1	Chile	12.742	3	ไม่พบ
2	China	3,811.060	12	ไม่พบ
3	France	19.719	34	ไม่พบ
4	Guatemala	13.324	1	ไม่พบ
5	Hungary	0.175	1	ไม่พบ
6	India	4,907.069	45	ไม่พบ
7	Indonesia	44.885	10	ไม่พบ
8	Isael	30.875	11	ไม่พบ
9	Italy	2.160	1	ไม่พบ
10	Japan	1.086	5	ไม่พบ
11	Korea	130.852	6	ไม่พบ
12	Malaysia	480.559	3	ไม่พบ
13	Netherlands	726.800	38	ไม่พบ
14	Peru	63.368	1	ไม่พบ
15	Philippines	38.930	3	ไม่พบ
16	Spain	8.842	14	ไม่พบ
17	Taiwan	10.672	4	ไม่พบ
18	Tanzania	0.018	1	ไม่พบ
19	UK	0.217	1	ไม่พบ
20	USA	329.157	37	ไม่พบ
21	Vietnam	64.561	4	ไม่พบ
	รวม	**10,697.071**	**235**	

figure 1 Seedling symptom test

Figure 2 Field inspection in tomato crops

Figure 3 Field inspection in pepper crops

การตรวจวินิจฉัยไส้เดือนฝอยศัตรูพืช Potato cyst nematode ที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้า

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

สุรศักดิ์ แสนโคตร[1/] ไตรเดช ข่ายทอง[2/] อังคณา พวงเงินมาก[2/]
วานิช คำพานิช[1/] โสภา มีอำนาจ[1/] จันทร์พิศ เดชหามาตย์[1/]
วาสนา รุ่งสว่าง[1/] วันเพ็ญ ศรีชาติ[3/]
[1/]กลุ่มวิจัยกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[3/]กลุ่มวิชาการ สำนักวิจัยพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2

Progress Report

Diagnosis of potato cyst nematode quarantine pest by the sampling of imported seed potatoes during October 2021 to September 2022. Imports from 4 countries are 1) Scotland imported 21 shipments, total weight 4,256,750 kg. 2) USA, imported 1 shipment, total weight 322 kg. 3) Australia, imported 5 shipments, total weight 505,000 kg. and 4) the Netherlands, imported 3 shipments, total weight 137,500 kg. Nematodes extraction from the seed potato and associated soil, then diagnosed and identified the species of parasitic nematodes by morphological character and multiplex polymerase chain reaction (Multiplex PCR) technique. The result was not found potato cyst nematode. Not found potato cyst nematode by the monitoring and inspected imported seed potato in the planting areas of Phop Phra District, Tak Province Wiang Pa Pao District, Thoeng District, Chiang Rai Province, Mae Chaem District, Chiang Mai Province and Chiang Kham District, Phayao Province.

Keywords : Potato cyst nematode *Globodera pallida* *Globerdera rostochiensis* PCR

รหัสการทดลอง FF65-55-03-65-00-02-65

รายงานความก้าวหน้า

การตรวจวินิจฉัยไส้เดือนฝอยซีสต์มันฝรั่ง (potato cyst nematode) จากการสุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจากต่างประเทศระหว่างเดือนตุลาคม 2564 ถึง กันยายน 2565 มีการนำเข้าจาก 4 ประเทศ ได้แก่ 1) สกอตแลนด์ นำเข้าจำนวน 21 ครั้ง น้ำหนักรวม 4,256,750 กิโลกรัม 2) สหรัฐอเมริกา นำเข้าจำนวน 1 ครั้ง น้ำหนักรวม 322 กิโลกรัม 3) เครือรัฐออสเตรเลีย นำเข้าจำนวน 5 ครั้ง น้ำหนักรวม 505,000 กิโลกรัม 4) เนเธอร์แลนด์ นำเข้าจำนวน 3 ครั้ง น้ำหนักรวม 137,500 กิโลกรัม นำมาทำการแยกไส้เดือนฝอยศัตรูพืชจากหัวพันธุ์และเศษดินที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่ง และตรวจวินิจฉัยและจัดจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยศัตรูพืชด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ร่วมกับเทคนิค PCR จากการตรวจสอบหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้ายังไม่พบไส้เดือนฝอยศัตรูพืชชนิด potato cyst nematode และติดตามตรวจสอบในแปลงปลูกหัวพันธุ์มันฝรั่งภายหลังการนำเข้าในพื้นที่ปลูก อำเภอ พบพระ จังหวัดตาก อำเภอเวียงป่าเป้า อำเภอ เทิง จังหวัดเชียงราย อำเภอ แม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่ และ อำเภอเชียงคำ จังหวัดพะเยา จากกระบวนการตรวจสอบศัตรูพืชยังไม่พบไส้เดือนฝอยศัตรูพืชชนิด potato cyst nematode

คำหลัก : ไส้เดือนฝอยซีสต์มันฝรั่ง ไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ศัตรูพืชกักกัน พืชนำเข้า หัวพันธุ์มันฝรั่ง

คำนำ

มันฝรั่ง (Potato, *Solanum tuberosum*) เป็นพืชที่จัดว่าเป็นสิ่งต้องห้ามตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 และเป็นพืชที่ประเทศไทยได้มีการนำเข้ามาปริมาณมากเพื่อใช้ทำพันธุ์ปลูกและใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรม เช่นแปรรูปเป็นมันฝรั่งทอดกรอบประเทศไทยมีการนำเข้ามันฝรั่งจากหลายประเทศด้วยกันได้แก่ ประเทศออสเตรเลีย สก็อตแลนด์ สหรัฐอเมริกา แคนาดา นิวซีแลนด์ เนเธอร์แลนด์ อิสราเอล เป็นต้น ประเทศไทยในฐานะประเทศสมาชิกองค์การค้าโลก ต้องปฏิบัติตามกฎเกณฑ์เกี่ยวกับการค้าสินค้าเกษตรภายใต้ข้อตกลงที่ว่าด้วยการบังคับใช้มาตรการด้านสุขอนามัย และสุขอนามัยพืช ซึ่งเป็นมาตรการในการป้องกันมิให้ศัตรูพืชเข้ามาทำอันตรายหรือก่อให้เกิดความเสียหายต่อสุขภาพมนุษย์ สัตว์ พืช และสิ่งแวดล้อม วิธีการปฏิบัติคือประเทศผู้นำเข้าสินค้าเกษตรต้องมีการตรวจสอบศัตรูพืช โดยทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชและมีการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชซึ่งอาจจะเป็นไส้เดือนฝอยชนิดใดชนิดหนึ่งซึ่งอาจจะติดมากับสินค้าเกษตร ดังเช่นหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ

ปัญหาของการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งในปีที่ผ่านมา นอกจากจะมีดินติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งแล้วยังมีเชื้อโรคพืช ได้แก่ เชื้อรา ไวรัส รวมทั้งอาจจะมีศัตรูพืชชนิดอื่นติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่ง เช่นไส้เดือนฝอยศัตรูพืชบางชนิดที่ยังไม่มีรายงานในประเทศไทย ซึ่งอยู่ในข้อตกลงระหว่างประเทศและเงื่อนไขการนำเข้า เช่น Potato cyst nematode (*Globodera pallida* และ *G. rostochiensis*)

ซึ่งเป็นศัตรูพืชกักกันตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ.2507 (ฉบับที่ 6 พ.ศ. 2550) และเป็นไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่มีความสำคัญกับผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่ง ในการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจากประเทศจากแหล่งที่มีการแพร่ระบาดของไส้เดือนฝอย potato cyst nematode มีความเสี่ยงต่อการนำไส้เดือนฝอยศัตรูพืชร้ายแรงจะติดเข้ามาทั้งในส่วนของดินและหัวพันธุ์มันฝรั่ง ดังนั้นจึงจำเป็นที่ต้องหาวิธีการตรวจวินิจฉัยไส้เดือนฝอย Potato cyst nematode ที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจากต่างประเทศ ที่รวดเร็ว แม่นยำ มีประสิทธิภาพเพื่อเป็นการสกัดกั้นมิให้ potato cyst nematode ที่เป็นศัตรูพืชกักกันติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งภายหลังการนำเข้าจากต่างประเทศ และป้องกันมิให้เข้ามาระบาดในพื้นที่เพาะปลูกมันฝรั่งและพืชอาศัยในประเทศไทย และลดความเสี่ยงศัตรูพืชที่เกิดจากไส้เดือนฝอย potato cyst nematode

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

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

วิธีการ

1. สืบค้นข้อมูล Potato cyst nematode

ทำการสืบค้นข้อมูล **Potato cyst nematode** และวิธีการตรวจวินิจฉัยจากฐานข้อมูลตำราวิชาการ วารสารทางวิชาการ รายงานการประชุมและสัมมนาทางวิชาการ และเอกสารวิชาการที่สามารถสืบค้นข้อมูลจากแหล่งต่างๆ ทั่วโลก เช่น ฐานข้อมูล EPPO CABI

2. การสุ่มเก็บตัวอย่าง

สุ่มเก็บตัวอย่างหัวพันธุ์นำเข้า 600 หัว ตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งและดินที่ติดมา จากด่านตรวจพืชสุ่มตัวอย่างนำส่งมา ตรวจดูอาการภายนอก บันทึกภาพตัวอย่าง และข้อมูลการนำเข้า ชื่อประเทศนำเข้า น้ำหนัก ฯลฯ

3. วิธีการแยกไส้เดือนฝอย Potato cyst nematode (EPPO, 2013)

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

1) หั่นหัวมันฝรั่งเป็นชิ้นเล็ก ๆ

2) เติมน้ำและปั่นให้ละเอียดนานไม่เกิน 30 วินาที

3) กรองผ่านกระแกรง (sieve) ขนาด 120 Mesh และ 325 Mesh ตามลำดับ

4) นำตัวอย่างน้ำที่กรองผ่าน sieve ขนาด 325 Mesh ในขั้นตอนสุดท้ายซึ่งมีเม็ดแป้งและเนื้อเยื่อหัวมันฝรั่งไปปั่นเหวี่ยง เพื่อแยกไส้เดือนฝอยออกจากตะกอน

5) นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที โดยเนื้อเยื่อหัวมันฝรั่งและไส้เดือนฝอยจะอยู่ที่ก้นหลอด และเทส่วนใสทิ้ง

6) นำตะกอนที่ได้เติมด้วย 40% sucrose syrup (น้ำเชื่อม) ปริมาตร 20 มิลลิลิตรต่อหลอด ละลายตะกอนให้เข้ากัน

7) นำตะกอนที่ละลายในน้ำเชื่อมไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 rpm เป็นเวลา 3 นาที

8) เทส่วนใสอย่างระมัดระวังผ่านตะแกรงขนาด 325 Mesh แล้วรีบล้างด้วยน้ำสะอาดและเก็บไส้เดือนฝอยในบีกเกอร์เพื่อนำไปตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และจัดจำแนกชนิดต่อไป

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

1. นำดินตัวอย่างที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งละลายในน้ำ

2. เทสารละลายดินลงในหลอดขนาด 80 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที

3. นำตะกอนที่ได้เติมด้วย sucrose syrup (น้ำเชื่อม) 40 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตรต่อหลอด ละลายตะกอนให้เข้ากัน

4. นำตะกอนที่ละลายในน้ำเชื่อมไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 rpm เป็นเวลา 3 นาที

5. เทส่วนใสอย่างระมัดระวังผ่านตะแกรงขนาด 325 Mesh แล้วรีบล้างด้วยน้ำสะอาดและเก็บไส้เดือนฝอยในบีกเกอร์เพื่อนำไปตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และจัดจำแนกชนิดต่อไป

4. วิธีการจัดจำแนกไส้เดือนฝอย Potato cyst nematode (EPPO, 2017)

4.1 จัดจำแนกชนิดด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphological)
ทำการจัดจำแนกชนิดด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายกล้องจุลทรรศน์

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

4.2.1 การสกัดดีเอ็นเอไส้เดือยฝอยศัตรูพืช มีขั้นตอนดังนี้

1.แยกตัวอ่อนไส้เดือนฝอยระยะที่ 2 3 และ 4 (J2 J3 and 4) จากหัวพันธุ์มันฝรั่งโดยดัดแปลงจากวิธี Maceration และ centrifugal flotation (Coolen and D'Herde, 1972) สำหรับตัวเต็มวัยเพศเมีย (cyst nematode) ที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งหรือดินที่ติดมากับหัวพันธุ์ด้วยวิธี Centrifugal flotation (Caveness and Jensen, 1955)

2.เติมสารละลาย DNA extraction kit ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงในหลอด PCR ขนาด 200 ไมโครลิตร แล้วเขี่ยไส้เดือนฝอยภายใต้กล้องสเตริโอโดยใช้เข็มเขี่ยที่ทำความสะอาดด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ก่อนเขี่ยไส้เดือนฝอยลงหลอด

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

4.นำไปเก็บรักษาตัวอย่างดีเอ็นเอไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

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

1. ทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในส่วนของยีน 18S rRNA gene ถึง ส่วน ITS1

2. โดยใช้ไพรเมอร์ 3 คู่ คือ ITS5 PITSp4 และ PITSr3

ITS5 5'-GGAAGTAAAAGTAACAAGG-3'

PITSp4 5'-ACAACAGCAATCGTCGAG-3'

PITSr3 5'-AGCGCAGACATGCCGCAA-3'

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

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

3. สารละลายในปฏิกิริยา Polymerase Chain Reaction (PCR) ประกอบไปด้วย

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

กระบวนการปฏิกิริยา PCR

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

Gel electrophoresis

Agarose 2 เปอร์เซ็นต์ในสารละลาย TBE buffer 0.5X โดยใช้กระแสไฟฟ้าขนาด 100 โวลต์ นาน 45 นาที และตรวจสอบแถบดีเอ็นเอเป้าหมายด้วยเครื่องถ่ายภาพผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอ (Gel documentation) นำข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยา และวิธีทางชีวโมเลกุลด้วยเทคนิค PCR เพื่อระบุชนิดของไส้เดือนฝอยศัตรูพืชชนิด Potato cyst nematode

5. ติดตามและตรวจสอบในแปลงปลูกมันฝรั่งภายหลังการนำเข้า

ติดตามและตรวจสอบในแปลงปลูกของบริษัทเอกชนหรือเกษตรกรที่ปลูกจากหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าในพื้นที่จังหวัด เชียงใหม่ เชียงราย และ พะเยา

เวลาและสถานที่

ปฏิบัติงานระว่างวันที่ 30 กันยายน 2564 ถึง 30 ณ ด่านตรวจพืชลาดกระบัง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช แปลงปลูกหัวพันธุ์มันฝรั่งจังหวัด เชียงใหม่ เชียงราย พะเยา

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สืบค้นข้อมูล Potato cyst nematode

ไส้เดือนฝอยศัตรูพืชชนิด *Globodera rostochiensis* เป็นไส้เดือนฝอยศัตรูแพร่กระจายในเขตประเทศอบอุ่นและเขตอบอุ่นของประเทศเขตร้อนเช่นเขตนิกริลลิสของอินเดีย การกระจายไปกับหัวมันฝรั่ง ไส้เดือนฝอย cyst nematode มันฝรั่ง พบการระบาดครั้งแรกที่ภูมิภาค Andes ของอเมริกาใต้แล้วแพร่กระจายไปยังยุโรปด้วยหัวมันฝรั่ง จากการขนส่งข้ามทวีปพบว่า cyst nematode ติดมากับรากมันฝรั่ง หัวมัน และอนุภาคดินในระหว่างการขนส่งก่อให้เกิดการระบาดใหม่ที่สภาพภูมิอากาศและแหล่งอาหารเหมาะสม และสามารถปนเปื้อนไปกับเครื่องจักรการเกษตร อุปกรณ์ รองเท้า และยังสามารถแพร่กระจายโดยทางลมได้กรณีเกิดพายุหมุนพัดนำเศษดินและ cyst ไปด้วย และยังสามารถแพร่กระจายไปกับน้ำฝน ระบบคลองชลประทานได้ (CABI, 2019)

ไส้เดือนฝอยศัตรูชนิด *G. pallida* สามารถผลิตไข่ได้มากถึง 500 ฟองต่อตัว ไข่พักตัวอยู่ในดินได้นานหลายปี ปัจจัยที่มีผลต่อการฟักของไข่จะคล้ายกันมากกับไส้เดือนฝอยชนิด *G.rostochiensis* ปริมาณความชื้นในดินมีผลกระทบต่อการเคลื่อนไหวของตัวอ่อนระยะที่สอง ดังนั้นความชื้นในดินมีความสำคัญในการเข้าทำลายรากพืชของไส้เดือนฝอยและสารกระตุ้นการฟักไข่

ไส้เดือนฝอยจากรากพืช เช่น root diffusate (Perry และ Beane, 1988) และสารประกอบอินทรีย์และอนินทรีย์เคมีบางชนิด (Clarke และ Hennessy, 1987) G. pallida ฟักไข่ที่อุณหภูมิประมาณ 10 ° C หรือน้อยกว่าและสามารถปรับตัวให้เหมาะกับการพัฒนาที่อุณหภูมิเย็นระหว่าง 10 ° C และ 18 ° C ซึ่งไส้เดือนฝอยชนิด *G. rostochiensis* ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต 15 ° C ถึง 25 ° C (Franco, 1979) ชั่วโมงของแสงสว่างมีผลต่อการฟักไข่ไส้เดือนฝอย โดยช่วงแสงที่ยาวจะกระตุ้นการฟักไข่ ได้ดีกว่าช่วงแสงสั้น (Hominick, 1986)

วิธีการแยกไส้เดือนฝอย Potato cyst nematode มีหลายวิธีดังนี้ วิธีการแยกตาม EPPO (2013) วิธีแยกไส้เดือนฝอยจากหัวพันธุ์มันฝรั่งด้วยวิธี Maceration และ centrifugal flotation (Coolen and D'Herde, 1972) และ วิธีแยก cyst ของไส้เดือยฝอย potato cyst nematode ออกจากดินที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่ง ด้วยวิธี Centrifugal flotation method (Caveness และ Jensen, 1955)

2. การสุ่มเก็บตัวอย่าง

จากการสุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจากทุกประเทศตามมาตรฐาน ISPM 31 (Methodologies for sampling of consignments) โดยทำการสุ่มตัวอย่างจากด่านตรวจพืช ได้แก่ ด่านตรวจพืชลาดกระบังที่มีการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งที่มีการนำเข้าจากต่างประเทศระหว่างเดือนตุลาคม 2564 ถึง มิถุนายน 2565 มีการนำเข้าจาก 4 ประเทศ ได้แก่ 1) สกอตแลนด์ นำเข้าจำนวน 21 ครั้ง น้ำหนักรวม 4,256,750 กิโลกรัม 2) สหรัฐอเมริกา นำเข้าจำนวน 1 ครั้ง น้ำหนักรวม 322 กิโลกรัม 3) เครือรัฐออสเตรเลีย นำเข้าจำนวน 3 ครั้ง น้ำหนักรวม 276,000 กิโลกรัม และ 4) เนเธอร์แลนด์ นำเข้าจำนวน 3 ครั้ง น้ำหนักรวม 137,500 กิโลกรัม

3.วิธีการแยกและตรวจวินิจฉัยไส้เดือนฝอย Potato cyst nematode

ผลการแยกไส้เดือยฝอยศัตรูพืชจากหัวพันธุ์มันฝรั่งและเศษดินที่ติดมากับหัวพันธุ์จากตัวอย่างนำเข้าตามวิธีการของ EPPO, 2017 และการตรวจสอบและจัดจำแนกชนิดทางลักษณะสันฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วย ตรวจแล้วไม่พบไส้เดือนฝอย potato cyst nematode หากตรวจพบศัตรูพืชกักกัน Cyst nematode ให้ดำเนินการควบคุมกำกับดูแลโดยอาศัยอำนาจตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ.2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดย พ.ร.บ. กักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ.2542 และ พ.ร.บ. กักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ.2551 เพื่อป้องกันมิให้ศัตรูพืชกักกันดังกล่าวติดเข้ามากับหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้า

4.ติดตามและตรวจสอบในแปลงปลูกมันฝรั่งภายหลังการนำเข้า

ผลการติดตามและตรวจสอบในแปลงปลูกมันฝรั่งภายหลังการนำเข้าในพื้นที่แปลงปลูกอำเภอ เวียงป่าเป้า อำเภอ เทิง จังหวัดเชียงราย อำเภอ แม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่ และ อำเภอเชียงคำ จังหวัดพะเยา สุ่มเก็บตัวอย่างดินในแปลงปลูกหัวพันธุ์มันฝรั่ง นำมาแยก ตรวจวินิจฉัยและจัดจำแนกผลปรากฏว่าตรวจแล้วไม่พบ potato cyst nematode แต่ตรวจพบไส้เดือนฝอยชนิด *Meloidogyne* spp. ซึ่งมีลักษณะการเข้าทำลายและการฝังตัวในหัวมันฝรั่งคล้ายกับ potato cyst nematode ในระยะตัวอ่อน รวมทั้งไส้เดือนฝอยชนิดอื่น ๆ (Table 1)

แต่อย่างไรก็ตามยังมีความจำเป็นที่จะต้องมีการตรวจสอบ และติดตาม ตรวจสอบในทุก ๆ พื้นที่ที่มีการปลูกมันฝรั่งที่ใช้หัวพันธุ์ที่นำเข้า เพื่อป้องกันมิให้ไส้เดือนฝอย potato cyst nematode ซึ่งอาจจะมาแพร่ระบาดทำความเสียหายต่อการปลูกมันฝรั่งในประเทศไทยต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. จากการสุ่มตรวจตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าโดยการแยกไส้เดือนฝอยจากหัวพันธุ์และเศษดินที่ติดมากับหัวพันธุ์ และนำไปตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และจัดจำแนกชนิด โดยวิธีการแยกไส้เดือนฝอยศัตรูพืชในหัวพันธุ์มันฝรั่งด้วยวิธีการ Maceration และ Centrifugal flotation และวิธีการแยก cyst nematode ตัวเต็มวัยเพศเมียจากดินด้วยวิธีการ Centrifugal flotation method ร่วมกับการใช้สารละลาย sucrose syrup 40 % สามารถแยกไส้เดือนฝอยได้ดี

2. จากการตรวจวินิจฉัยตัวอย่างหัวพันธุ์และดินที่ติดกับมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าตาม EPPO และวิธีการที่เหมาะสม ตรวจแล้วไม่พบ potato cyst nematode

3. จากการติดตามและตรวจสอบในแปลงปลูกมันฝรั่งภายหลังการนำเข้าในพื้นที่แปลงปลูกนำมาตรวจวินิจฉัยตาม EPPO และวิธีการที่เหมาะสม ตรวจแล้วไม่พบ potato cyst nematode

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการจัดจำแนกลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์และการจัดจำแนกชนิดด้วยเทคนิคทางด้านชีวโมเลกุลแต่ไม่มีตัวอย่างให้ทดสอบกับไพรเมอร์ที่จำเพาะเจาะจงได้ และได้ทดสอบวิธีการสกัดดีเอ็นเอและการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอกับตัวอย่างโรครากปมในหัวมันฝรั่งที่เกิดจากไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* spp. จากแหล่งปลูกที่พบอาการ ซึ่งไส้เดือนฝอยศัตรูพืชชนิดดังกล่าวมีลักษณะการเข้าทำลายและลักษณะทางชีววิทยาใกล้เคียงกับ cyst nematode จึงใช้ตัวอย่างโรครากปมในมันฝรั่งเป็นตัวอย่างทดสอบในการแยกไส้เดือนฝอยจากหัวมันฝรั่งและนำตัวอ่อนไส้เดือนฝอยที่แยกได้นำไปสกัดดีเอ็นเอและเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR ได้อย่างรวดเร็ว ถูกต้อง แม่นยำ ในการตรวจวินิจฉัยไส้เดือนฝอยศัตรูพืชในหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าต่อไป เพื่อเป็นการสกัดกั้นศัตรูพืชร้ายแรงที่จะติดมาและเข้ามาแพร่ระบาดสร้างความเสียหายภายในประเทศต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชลาดกระบัง สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ที่อำนวยความสะดวกในการสุ่มตรวจตัวอย่างและข้อมูลการนำเข้า

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2550. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 ประกาศ ณ วันที่ 26 เมษายน 2550 ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 124 ตอนพิเศษ 66 ง. ลงวันที่ 1 มิถุนายน 2550.

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

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

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

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

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

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

Hominick WM. 1986. Photoperiod and diapause in the potato cyst-nematode *Globodera rostochiensis*. Nematologica, 32:408-418

Table 1 The monitoring potato cyst nematode in the planting area from imported seed potatoes

Code of Soil sample	Planting Area	Location (GPS)	potato cyst nematode result	Other Plant-parasitic nematode result
PVP1	Wiang Pa Pao District, Chiang Rai Province	19.209906,99.524330	Not found	*Aphelenchus* spp. *Tylenchus* spp.
PVP2	Wiang Pa Pao District, Chiang Rai Province	19.212894,99.533905	Not found	*Aphelenchus* spp. *Helicotylenchus* spp.
PMC1	Mae Chaem District, Chiang Mai Province	18.505785,98.348495	Not found	*Meloidogyne* spp.
PMC2	Mae Chaem District, Chiang Mai Province	18.516085,98.356354	Not found	*Tylenchus* spp. *Meloidogyne* spp.
PMC3	Mae Chaem District, Chiang Mai Province	18.516088,98.356400	Not found	*Meloidogyne* spp.
PMC4	Mae Chaem District, Chiang Mai Province	18.503693,98.355118	Not found	*Meloidogyne* spp.
PCH1	Chiang Kham District, Phayao Province	19.460657,100.336754	Not found	*Tylenchorhynchus* spp.
PCH2	Chiang Kham District, Phayao Province	19.458719,100.336143	Not found	*Tylenchorhynchus* spp.
PCH3	Chiang Kham District, Phayao Province	19.463728,100.340408	Not found	*Tylenchorhynchus* spp.
PCH4	Chiang Kham District, Phayao Province	19.470993,100.337334	Not found	*Tylenchorhynchus* spp.

Table 1 The monitoring potato cyst nematode in the planting area from imported seed potatoes (continue)

Code of Soil sample	Planting Area	Location (GPS)	potato cyst nematode result	Other Plant-parasitic nematode result
PTT1	Thoeng District, Chiang Rai Province	19.680710,100.264610	Not found	*Tylenchorhynchus* spp.
PTT2	Thoeng District, Chiang Rai Province	19.707636,100.286598	Not found	*Tylenchorhynchus* spp.
PPT1	Phop Phra District, Tak Province	16.593417,98.776481	Not found	*Helicotylenchus* spp. *Pratylenchus* spp.
PPT2	Phop Phra District, Tak Province	16.593586,98.775317	Not found	*Helicotylenchus* spp. *Pratylenchus* spp. *Criconemella* spp.
PPT3	Phop Phra District, Tak Province	16.529611,98.746911	Not found	*Helicotylenchus* spp. *Pratylenchus* spp. *Meloidogyne* spp.
PPT4	Phop Phra District, Tak Province	16.554108,98.823697	Not found	*Helicotylenchus* spp. *Pratylenchus* spp. *Meloidogyne* spp.

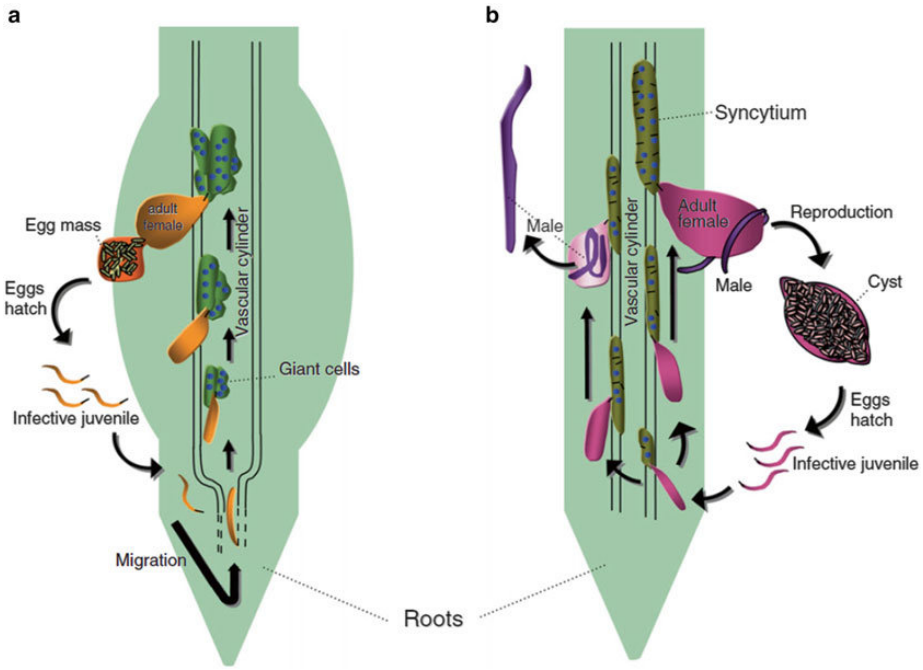


Figure 1 Life cycle of (a) root-knot nematode and (b) cyst nematode (Abad and Williamson, 2010)

Figure 2 Mature and immature potato cyst nematode cysts adhering to potato root (DPIRD, 2023)

ที่มา : https://www.agric.wa.gov.au/potatoes/potato-cyst-nematode-western-australia?page=0%2C1 (March, 10 2023)

Figure 3 White potato cyst nematode (*Globodera pallida*) infesting a potato tuber

ที่มา : https://www.business.qld.gov.au/industries/farms-fishing-forestry/agriculture/crop growing /priority-pest-disease/potato-cyst-nematodes (March, 10 2023)

Figure 4 Golden potato cyst nematode (*G. rostochiensis*) cysts infesting potato roots. Note the cysts are white, yellow, golden and tan-coloured

ที่มา : https://www.business.qld.gov.au/industries/farms-fishing-forestry/agriculture/crop-growing/ priority-pest-disease/potato-cyst-nematodes (March, 10 2023)

ผู้รวบรวมและแก้ไข

นางสาวภัทรพร	สรรพนุเคราะห์
นางสาวดาราพร	รินทะรักษ์
นางสาวอมรรัชฎ์	คิดใจเดียว
นางสาวกาญจณา	วาระวิชะณี
นางสาวอุษณีย์	จินดากุล
นายเอกรัตน์	ธนูทอง
นางวรัญญา	มาลี
นางศรีจำนรรจ์	ศรีจันทรา
นางสาววิภาดา	ปลอดครบุรี

ผู้สอบทาน

นางสาวณฐวรรณ	ชนะโชติ
นางสาวจิราภรณ์	สินทร

DOA TOGETHER
Hearing for Changing, Acting for Moving forward

50 ปีกรมวิชาการเกษตร
DOA TOGETHER

กรมวิชาการเกษตร
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

ANNUAL REPORT 2023